

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie
Studijní obor: Klinická a toxikologická analýza



Alice Janků

**ÚPLNÁ ELEKTROCHEMICKÁ DEGRADACE SALICYLOVÉ KYSELINY NA BOREM
DOPOVANÉ DIAMANTOVÉ ELEKTRODĚ**

Total electrochemical degradation of salicylic acid at boron-doped diamond electrode

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Jan Fischer, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: Mgr. Martin Šefčík

Praha, 2025

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 12. května 2025.

Alice Janků

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá elektrochemickou oxidací kyseliny salicylové. Ta probíhala ve vsádkové cele vyrobené pomocí technologie 3D tisku. Pro oxidaci bylo využito dvouelektrodrového zapojení, kde jako anoda byla použita borem dopovaná diamantová elektroda (BDDE) a jako katoda nerezová elektroda.

Hlavní náplní byla úplná oxidace kyseliny salicylové a zanalyzování jejích degradačních produktů. Pro analýzu zdegradovaných roztoků byla použita metoda UHPLC-MS. Úplné oxidace salicylové kyseliny bylo dosaženo při době degradace 90 minut při napětí 2,75 V. V roztocích po degradaci byly zjištěna dva hlavní degradační produkty, kterými jsou kyselina gentisová a 2,3-dihydroxybenzoová kyselina.

Klíčová slova

borem dopovaná diamantová elektroda (BDDE), degradace, organické polutanty, salicylová kyselina (SA), ultravysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí (UHPLC-MS)

Abstract

This bachelor thesis deals with the electrochemical oxidation of salicylic acid. The electrochemical degradation was carried out in a flow cell fabricated using 3D printing technology. A two-electrode setup was used for oxidation, with a boron doped diamond electrode (BDDE) as the working electrode and a stainless steel electrode as the auxiliary electrode. The main fulfilment was the complete oxidation of salicylic acid and the analysis of its degradation products. The UHPLC-MS method was used for the analysis of the degraded solutions. Complete oxidation of salicylic acid was achieved at a degradation time of 90 minutes at a voltage of 2.75 V. Two main degradation products were detected in the solutions after degradation, which are gentisic acid and 2,3-dihydroxybenzoic acid.

Key words

boron doped diamond electrode (BDDE), degradation, organic pollutants, salicylic acid (SA), ultra-high-performance liquid chromatography-mass spectrometry (UHPLC-MS)

Poděkování

Ráda bych poděkovala RNDr. Janu Fischerovi, Ph. D. za odborné vedení, vstřícnost při konzultacích a za věcné připomínky při zpracovávání této práce. Také bych ráda poděkovala Mgr. Martinu Šefčíkovi za zprostředkování degradační vsádkové cely, ve které byla prováděna degradace, za pomoc a rady při zpracovávání této práce a za trpělivost při mé práci v laboratoři.

Tato práce byla vypracována za finanční podpory grantu Grantové agentury České republiky (projekt 23-05688S) a Grantové agentury Univerzity Karlovy (projekt GAUK 392825).

Obsah

1. TEORETICKÝ ÚVOD	11
1.1. Složení léčiva	11
1.2. Vstup léčiv do životního prostředí	11
1.3. Výskyt léčiv a jejich metabolitů v ekosystému.....	12
1.4. Kvantifikace organických polutantů ve vodách.....	12
1.5. Způsoby eliminace organických polutantů	13
1.6. Pokročilé oxidační procesy	14
1.6.1. Elektrochemické pokročilé oxidační procesy.....	14
1.6.2. Fentonova reakce.....	15
1.7. Borem dopované diamantové elektrody	15
1.7.1. Potenciálové okno BDDE	16
1.7.2. Pasivace a regenerace povrchu BDDE	16
1.7.3. Princip elektrochemické oxidace látek za využití BDDE	17
1.7.4. Elektrochemické uspořádání	18
1.8. Kyselina salicylová	18
1.8.1. Toxicita salicylové kyseliny.....	19
1.8.2. Kyselina salicylová v životním prostředí	20
1.8.3. Elektrochemická oxidace	20
1.9. Kyselina gentisová	21
1.10. Ultravysokoučinná kapalinová chromatografie	22
2. CÍLE PRÁCE	24
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	25
3.1. Seznam použitých chemikálií	25
3.2. Seznam použitého vybavení a softwaru.....	25
3.3. Příprava roztoků a jejich uchování.....	25
3.3.1. Příprava roztoku chloridu draselného.....	25
3.3.2. Příprava tlumivého roztoku octanu amonného.....	25
3.3.3. Příprava 2 mmol l ⁻¹ roztoku kyseliny salicylové	26
3.3.4. Příprava roztoku kyseliny sírové.....	26
3.3.5. Příprava roztoků mobilní fáze pro chromatografickou analýzu	26
3.4. Konstrukce a parametry vsádkové degradační cely	26
3.5. Závislost potenciálu pracovní a pomocné elektrody na napětí mezi nimi vloženém.....	29
3.6. Degradační čas	29

3.7.	Chromatografická analýza	29
3.7.1.	Mobilní fáze	29
3.7.2.	Chromatografické podmínky.....	30
3.8.	Statistické zpracování získaných dat.....	Chyba! Záložka není definována.
4.	VÝSLEDKY A DISKUZE	31
4.1.	Závislost potenciálu pracovní a pomocné elektrody na napětí vloženém mezi nimi vloženém	31
4.2.	Degradační čas	33
4.3.	Chromatografická analýza degradačních produktů.....	35
5.	ZÁVĚR	41
6.	LITERATURA	42

Použité zkratky

- AOPs – pokročilé oxidační procesy (z anglického Advanced Oxidation Processes)
- API – účinná farmaceutická látka (z anglického Active Pharmaceutical Ingredient)
- APT – anodická polarizace (z anglického Anodic Polarization Treatment)
- ASA – acetylsalicylová kyselina (z anglického Acetylsalicylic Acid)
- BDDE – borem dopovaná diamantová elektroda (z anglického Boron Doped Diamond Electrode)
- BOD – biochemická spotřeba kyslíku (z anglického Biochemical Oxygen Demand)
- COD – chemická spotřeba kyslíku (z anglického Chemical Oxygen Demand)
- CPT – katodická polarizace (z anglického Cathodic Polarization Treatment)
- CVD – chemická depozice par (z anglického Chemical Vapor Deposition)
- ČOV – čistička odpadních vod
- EAOPs – elektrochemické pokročilé oxidační procesy (z anglického Electrochemical Advanced Oxidation Processes)
- ESI – elektrosprej (z anglického Electrospray Ionization)
- GA – kyselina gentisová (z anglického Gentisic Acid)
- HER – vývoj molekulárního vodíku (z anglického Hydrogen Evolution Reaction)
- HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie (z anglického High-Performance Liquid Chromatography)
- LC – kapalinová chromatografie (z anglického Liquid Chromatography)
- MS – hmotnostní spektrometrie (z anglického Mass Spectrometry)
- NMR – nukleární magnetické rezonance
- OER – vývoj molekulárního kyslíku (z anglického Oxygen Evolution Reaction)
- PDA – detektor s diodovým polem (z anglického Photo Diode Array)
- ROS – reaktivní formy kyslíku (z anglického Reactive Oxygen Species)
- RP-HPLC – kapalinová chromatografie s reverzní fází (z anglického Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography)
- SA – salicylová kyselina (z anglického Salicylic Acid)
- SHE – standardní vodíková elektroda (z anglického Standard Hydrogen Electrode)
- TOC – celkový organický uhlík (z anglického Total Organic Carbon)
- UHPLC – ultravysokoúčinná kapalinová chromatografie (z anglického Ultra-High-Performance Liquid Chromatography)

UHPLC-MS – ultravysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí
(z anglického Ultra-High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry)

2,3-DHBA – 2,3-dihydroxybenzoová kyselina (z anglického 2,3-dihydroxybenzoic acid)

1. Teoretický úvod

V dnešní době hrají léčiva v naší společnosti velmi důležitou roli a jsou nezbytnou součástí moderního světa. Díky nim se zlepšila kvalita i délka trvání lidského života.

První farmaka byla využívána již v pátém století před našim letopočtem. V této době ale ještě neexistovaly medikamenty v podobě, jak je známe dnes. Jednalo se spíše o užívání látek rostlinného a živočišného původu v malých množstvích. Přelom v rozvoji výroby léčiv nastal po druhé světové válce a trvá dodnes [1].

Naše populace se neustále zvětšuje a zároveň i stárne celosvětový růst ve spotřebě léčiv. Tento fakt má i svou stinnou stránku a tou je, že xenobiotika a jejich metabolity se dostávají v nízkých koncentracích do půd či vod. Vzhledem k tomu, že tyto látky jsou biologicky aktivní, představuje kontaminace životního prostředí těmito látkami potenciální hrozbu pro naše zdraví. Abychom se vyvarovali nepříznivým vlivům na nejen lidské zdraví, ale i na zdraví zvířat, je nutné, aby tyto metabolity byly odstraňovány z odpadních vod [2,3]. Toto se ale netýká pouze farmaceutik, ale i kosmetických přípravků, detergentů nebo pesticidů [3].

1.1. Složení léčiva

Léčivo se skládá z dvou hlavních složek. Jednou je účinná farmaceutická látka, zkráceně API, která je biologicky aktivní a poskytuje žádané účinky. Druhou složkou léků jsou látky pomocné, které neposkytují farmakologický účinek, ale léku dodávají například lepší chuť či určitou barvu. Klasickým příkladem pomocné látky je laktóza či minerální olej [4].

1.2. Vstup léčiv do životního prostředí

Významným zdrojem xenobiotik kontaminující ekosystémy jsou nemocniční odpadní vody, veterinární stanice nebo znečištěné vody z průmyslové výroby. Primárním zdrojem medikamentů a jejich metabolitů, které se dostávají do odpadních vod, jsou pacienti užívající tyto medikamenty anebo např. ženy, které užívají hormonální antikoncepci. Po užití farmaka je aktivní látka v těle částečně biotransformována na příslušné metabolity. Jsou tedy vyloučeny aktivní látky v nezměněné podobě nebo jejich metabolity. Z těla jsou látky eliminovány formou moči či výkalů, které skrze splašky odcházejí do čistírny odpadních vod (ČOV). Ty nedokážou tyto látky dostatečně efektivně odstranit. Proto dále putují do životního prostředí, které následně mohou negativně ovlivňovat [1].

Nelze vyloučit ani kontaminaci podzemních vod nebo zdrojů pitné vody. Dalším problémem může být použití stabilizovaných čistírenských kalů jako druhotného hnojiva

na zemědělské půdy, kdy může dojít ke kontaminaci půdy a také k proniknutí perzistentních léčiv či jejich metabolitů do potravních řetězců lidí či zvířat [1].

Dalším neopomenutelným zdrojem jsou léčiva s expirovanou dobou trvanlivosti, které se doživotního prostředí dostávají skrze průsaky ze skládek nebo spláchnutím do odpadu. Jako další zdroje lze zařadit i stabilizovaný kal z ČOV nebo farmaceutické výrobní zařízení [1].

1.3. Výskyt léčiv a jejich metabolitů v ekosystému

Hlavním problémem je obtížná biologická rozložitelnost xenobiotik v přírodě [5].

Nejvíce jsou kontaminaci vystaveny povrchové vody, zejména střední a dolní toky řek, kde se vyskytují velké aglomerace, a i mnoho ČOV. Podzemní vody jsou zatím málo znečištěné organickými perzistentními polutanty z toho důvodu dobré izolace od vod povrchových. Tento fakt je dán dobrou sorpční vlastností zemin, kterými podzemní voda proudí, a díky vrstvám s nízkým koeficientem propustnosti. Většina případů, kdy byly podzemní vody znečištěny, kontaminující látky pocházely z bodových zdrojů, jako jsou například kanalizace nebo ČOV. Nicméně je pouze otázkou času, kdy se míra kontaminovaných podzemní vod zvýší, ať už kvůli změně vnějších podmínek nebo úplnému nasycení zemin [1]. Pitná voda vykazuje velmi malou míru kontaminace. Tato skutečnost je dána především tím, že veřejná pitná voda je ve většině případů získávána z podzemních či povrchových zdrojů. V České republice přibližně pětina povrchové vody využívané veřejnými vodárenskými systémy pochází ze středních a dolních částí řek, kde může kvalitu vody výrazně ovlivnit přítomnost odpadních vod [6]. Do půdy se léčiva dostávají skrze čistírenské kaly, které se využívají jako hnojivo na zemědělské půdy [1]. Dalšími způsoby, jak se léčiva mohou dostat do půdy, jsou pastvy, likvidace hnoje a prošlých či nepoužitých léčiv nebo náhodné úniky průmyslové výroby nebo distribuce [7].

Důkazy o přítomnosti xenobiotik a jejich metabolitů v životním prostředí jasně ukazují, že nejsou efektivně odstraňovány ani prostřednictvím ČOV, ani přirozeným biologickým rozkladem v ekosystému [5] a proto je nutné zavést nové způsoby dekontaminace vodní zdrojů a půdní plochy.

1.4. Kvantifikace organických polutantů ve vodách

Pro kvantifikaci organických znečišťujících látek ve vodách se používají vhodné ukazatele, které udávají jejich celkovou koncentraci. Mezi tyto ukazatele spadá biochemická spotřeba kyslíku (BOD), chemická spotřeba kyslíku (COD) [8] či celkový organický uhlík (TOC) [9].

Biologická spotřeba kyslíku je zpravidla udáváno za pět dní (BOD₅). Udává množství kyslíku potřebné pro degradaci organických kontaminantů ve vodách aerobními

mikroorganismy po dobu pěti dní při konstantní teplotě 20 °C. Koncentrace organických polutantů je přímo úměrná množství spotřebovaného kyslíku [8].

Chemická spotřeba kyslíku je definována jako množství spotřebovaného kyslíku při mineralizaci organických látek ve vodě na nízkomolekulární látky za použití silného oxidačního činidla za určitých podmínek. Těmito oxidačními činidly jsou nejčastěji dichroman a manganistan [10].

Celkový organický uhlík udává celkové množství oxidu uhličitého vzniklého oxidací organické látky [9]. Podobně jako COD a BOD, TOC poskytuje pouze kvantitativní informaci, nikoliv však kvalitativní.

1.5. Způsoby eliminace organických polutantů

Po biotransformaci může aktivita látek obsažených v léčivech i několikanásobně vzrůst. Dvě skupiny látek vyžadují zvýšenou pozornost vzhledem k jejich možným expozičním důsledkům [1]. První skupinou jsou antibiotika, která při nízkých koncentracích při chronické expozici mohou způsobit větší imunitu u patogenních bakterií [11], což v důsledku může mít zásadní vliv na způsob a možnosti léčby některých onemocnění. Druhou skupinu léčiv představuje hormonální antikoncepce, které mohou mít negativní dopad na reprodukční vlastnosti některých živočichů [1].

Léčiva a jejich metabolity jsou látky málo těkavé, takže jejich šíření v životním prostředí je závislé na vodním transportu [12]. V zásadě existují dva druhy eliminace organických polutantů z ekosystému – sorpce a biodegradace [1,12].

Sorpční mechanismus se využívá v ČOV evropského typu. Při sorpci na aktivovaný kal se využívá dvou mechanismů: absorpce a adsorpce. Absorpce uplatňuje hydrofobní interakce alifatických a aromatických skupin léčiva s lipofilní membránou mikroorganismů a s lipofilní částí kalu [13]. Adsorpce využívá fyzikální interakce mezi kladně nabitými skupinami farmaka a záporně nabitým povrchem biomasy [1].

Druhým mechanismem je biodegradace léčiv. V tomto případě jsou medikamenty rozloženy úplně nebo jen částečně na jejich degradační produkty působením mikroorganismů v aktivovaném kalu [1].

Další postupy vhodné pro eliminaci léčiv z životního prostředí jsou procesy využívající redoxních reakcí. Velké pozornosti se nyní dostává pokročilým oxidačním procesům (AOPs – advanced oxidation processes), mezi které spadá například elektrochemická oxidace farmaceutik. Tento způsob oxidace organických kontaminantů se ukázal být efektivní a také

environmentálně příznivý [3]. Díky těmto oxidačním procesům dokážeme příslušný polutant rozložit až na nízkomolekulární látky [2], jako je oxid uhličitý a voda.

1.6. Pokročilé oxidační procesy

Užití AOPs k úpravě odpadních vod, které obsahují rekalcitranční sloučeniny obtížně rozložitelné běžně užívanými technologiemi, se neustále zvyšuje [14]. Spadají mezi oxidační metody, při kterých se vytváří vysoce reaktivní formy kyslíku (ROS). Mezi tuto skupinu se například řadí volné radikály (hydroxylové, radikály superoxidu či hydroperoxyly), ale zahrnují i singletový kyslík, ozon nebo peroxid vodíku [14,15]. Tyto formy kyslíku jsou neselektivní a vysoce reaktivní. Z ROS jsou nejreaktivnější skupinou hydroxylové radikály.

Díky AOPs jsme schopni organické kontaminanty rozložit na nízkomolekulární látky. V nejlepším případě by měla proběhnout kompletní mineralizace, kdy konečnými produkty oxidace by byl oxid uhličitý a voda [16]. Dalším žádoucím faktorem AOPs je menší toxicita a vyšší biologická rozložitelnost produktů oxidace. V některých případech jsou vedlejší produkty oxidačního procesu mnohem toxičtější či méně biologicky rozložitelné než primární kontaminanty.

Mezi AOPs můžeme řadit heterogenní a homogenní fotokatalýzu v oblasti blízké ultrafialovému záření a viditelné oblasti světla, Fentonova reakce, ozonizace, ionizace či elektrochemická oxidace, kde se jako slibný materiál pro elektrochemickou mineralizaci organických polutantů ukazují borem dopované diamantové elektrody (BDDE) [17].

Z těchto vyjmenovaných typů AOPs mají velký potenciál pro mineralizaci organických polutantů v odpadních vodách elektrochemické pokročilé oxidační procesy (EAOPs), zejména anodická oxidace a elektro-Fentonova reakce [16].

1.6.1. Elektrochemické pokročilé oxidační procesy

V dnešní době se dbá na ekologii ve velkém množství oblastí, proto velký potenciál je vkládán do EAOPs, kde pro odstranění organických polutantů není zapotřebí chemikálií, pouze elektronů, a nevznikají tak další odpadní látky [18].

Význam EAOPs je dán jejich možností automatizace, univerzálností a environmentální příznivostí. Velké pozornosti se dostává anodické oxidaci mimo potenciálové okno elektrody, při níž organické kontaminanty přímo reagují s hydroxylovými radikály generující se oxidací vody na povrchu anody [16].

1.6.2. Fentonova reakce

Fentonova reakce je široce využívána pro odstranění organických polutantů. Tato reakce je založena na využití železnatých iontů a peroxidu vodíku. Tato směs je nazývána Fentonova směs. Železnaté ionty katalyzují rozklad peroxidu vodíku na hydroxylové radikály a zároveň se železnaté ionty oxidují na ionty železité [19,20]. Reakce je znázorněna v rovnici 1:



Existuje několik typů Fentonovy reakce, jako například elektro-Fentonova reakce, foto-Fentonova reakce či foto-elektro-Fentonova reakce [19].

1.6.2.1. Elektro-Fentonova reakce

Elektro-Fentonova reakce kombinuje princip Fentonovy reakce a anodické oxidace. Díky zahrnutí Fentonovy směsi obsahující železnaté ionty a peroxid vodíku, je podpořena tvorba hydroxylových radikálů a tím i rozložitelnost organických polutantů.

Výhodou elektro-Fentonovy reakce je anodické generování peroxidu vodíku a katodická regenerace železitých iontů [19] popsané rovnicemi 2 a 3:



1.7. Borem dopované diamantové elektrody

V posledních letech se BDDE hojně používají v elektroanalytické chemii pro oxidaci organických sloučenin. Jsou oblíbené díky jejich elektrochemickým vlastnostem. Mezi tyto vlastnosti spadá široké potenciálové okno ve vodném i nevodném prostředí, mechanická a chemická stabilita, nízký nabíjecí proud a šum v pozadí, odolnost vůči pasivaci a biologická kompatibilita [21–24]. Tyto vlastnosti jsou dány strukturou diamantu, úrovní dopace borem a chemickou kvalitou povrchu [25].

Rozdíl oproti konvenčním elektrodovým materiálům na bázi uhlíku, jako jsou uhlíková vlákna, grafit či skelný uhlík, je v hybridizaci materiálu elektrod. Tyto uhlíkové materiály mají hybridizaci orbitalů sp^2 , naopak diamant se vyznačuje hybridizací orbitalů sp^3 , kdy je ve struktuře krystalové mřížky každý atom uhlíku obklopen dalšími čtyřmi atomy uhlíku [26].

Čistý diamant je ale kvůli své tetraedrické struktuře izolant, neboť má plně zaplněné valenční orbitály osmi elektrony. Abychom tedy změnili jeho elektrochemické vlastnosti, musíme do jeho struktury zavést vodivý či polovodivý prvek. Nejčastěji je diamant dopován borem, který má polokovový charakter [23]. Zavedením boru, který má ve své valenční vrstvě tři elektrony, do krystalové mřížky diamantu působí bor jako prostředník kladně nabitých děr, do kterých se mohou elektrony z okolních atomů uhlíků přesunout. Touto delokalizací děr

a elektronů v krystalové mřížce se diamant dopovaný borem (BDD) stává vodivým [27]. Dalšími používanými dopanty jsou dusík, síra a fosfor [26].

Je zde několik způsobů, jak lze diamantovou elektrodu dopovat borem, nejčastějším způsobem je příprava chemickou depozicí par (CVD) [22,28]. Při CVD je vytvořena vrstva tenkého polykrystalického filmu na povrchu vhodného nosiče, kterým je nejčastěji křemíková destička [26,29,30]. Jako zdroj boru se zde používá oxid boritý či diboran, který je součástí dopační směsi. Dále dopační směs obsahuje vodík a methan. Proces CVD probíhá při tlaku 6,5 kPa a teplotě 750 °C [31].

1.7.1. Potenciálové okno BDDE

Rozsah potenciálového okna BDDE je vymezen dvěma redoxními ději. Z katodické strany je ohraničeno vývojem molekulárního vodíku (HER), ke kterému dochází při hodnotě potenciálu $-2,0$ V (oproti standardní vodíkové elektrodě). Ze strany anodické je potenciálové okno BDDE ohraničeno vývojem molekulárního kyslíku (OER), k čemuž dochází při hodnotě potenciálu $+2,0$ V (oproti standardní vodíkové elektrodě) [28,32]. K vývoji obou těchto plynů dochází v důsledku elektrolýzy vody adsorbované na povrchu elektrody. Hodnoty potenciálů vymezující potenciálový rozsah BDDE jsou pouze orientační, jelikož rozsah potenciálového okna je závislý na pH, teplotě a množství atomů uhlíku s hybridizací sp^2 kontaminující krystalovou mřížku diamantu [27,33]. Poloreakce, které probíhají na elektrodách (na katodě probíhá redukce a na anodě probíhá oxidace) v neutrálním, kyselém a bazickém prostředí jsou popsány chemickými rovnicemi (4–7):

HER – redukce, neutrální a bazické prostředí:



HER – redukce, kyselé prostředí:



OER – oxidace, neutrální + kyselé prostředí:



OER – oxidace, bazické prostředí:



1.7.2. Pasivace a regenerace povrchu BDDE

Po určité době styku elektrody s elektrolytem či jeho rozpouštědlem se na povrchu elektrody může vytvořit vrstva látek, která brání přístupu iontů elektrolytu k povrchu elektrody. Tento děj se nazývá pasivace [34]. Vůči pasivaci je BDDE velmi odolná, tudíž může být použita po delší dobu bez regenerace jejího povrchu. Regeneraci elektrodového povrchu lze

provést hned několika způsoby. Jedním způsobem je leštění povrchu elektrody, nejčastěji pomocí vodné suspenze částic oxidu hlinitého, která je nanášena na lešticí podložku. Tento způsob regenerace není moc častý. Častějším způsobem je elektrochemická aktivace pomocí elektrolytu, kterým je často kyselina sírová. Elektrochemická aktivace je prováděna buď v katodické oblasti, kde probíhá HER (4, 5), či v oblasti anodické, kde probíhá OER (6, 7). Právě vývojem plynů při HER a OER je film nečistot, který je nanášený na povrchu elektrody, odstraněn a dochází tak i k jeho chemické úpravě. Chemickou úpravu způsobuje buď anodická polarizace (AP) nebo katodická polarizace (CP) elektrodového povrchu. Anodická polarizace povrchu BDDE je vyvolána hydroxylovými radikály, které jsou generovány v počátečním kroku rozkladu vody nebo oxidací hydroxidových iontů. Tyto děje popisují chemické rovnice 8, 9 [35]:

AP – neutrální a kyselé prostředí



AP – bazické prostředí



Katodická polarizace povrchu BDDE může být vyvolána vodíkovými radikály, které jsou generovány při rozkladu vody nebo redukcí protonu. Tyto děje jsou popsány chemickými rovnicemi 10, 11 [35]:

CP – v neutrální a bazickém prostředí



CP – kyselé prostředí



1.7.3. Princip elektrochemické oxidace látek za využití BDDE

Při elektrochemických oxidacích jsou organické polutanty degradovány buďto přímo (elektronovým mechanismem) nebo zprostředkovaně (radikálovým mechanismem) [36]. Produkci hydroxylových radikálů jsme schopni oxidovat organické polutanty na nízkomolekulární látky. Hydroxylové radikály mají vysoký standardní redoxní potenciál a dokážou tak oxidovat organické polutanty až na oxid uhličitý a vodu [37].

Nicméně povaha a množství generovaných hydroxylových radikálů závisí na charakteru použitého anodického materiálu. Anody se dělí na dva typy, na aktivní a neaktivní. Takovéto rozdělení závisí na tom, zdali aktivní složka se na anodický materiál sorbuje chemicky či fyzikálně. U aktivních anod hydroxylové radikály vzniklé rozkladem vody zůstávají silně chemicky sorbovány na povrchu elektrody. To umožňuje pouze částečnou oxidaci organické

látky. Aktivní anody také vykazují nízké potenciály OER, což zapříčiňuje tvorbu kyslíkových bublinek na anodickém povrchu, které tak obsazují aktivní místo pro oxidaci a zabraňují i generování dalších hydroxylových radikálů. Příkladem aktivních anodických materiálů je Pt, IrO₂ nebo RuO₂ [36–38].

U neaktivních anod je interakce mezi hydroxylovými radikály a elektrodoým povrchem pouze slabá fyzikální. Proto dochází snadno k jejich desorpci a rozsáhlé degradaci organických sloučenin. Vyznačují se i vyšší OER. Mezi neaktivní anody spadá např. BDDE, TiO₂, PbO₂ či SnO₂ [36].

Neaktivní anody jsou oproti aktivním anodám vhodnější pro elektrochemické degradace, díky svým vlastnostem.

1.7.4. Elektrochemické uspořádání

Jsou využívány dva typy vodivostních cel, a to vsádkové a průtokové. Vsádková cela se využívá v případech, kdy je objem vzorku konstantní. Během probíhající chemické reakce je nezbytné zajistit míchání roztoku, jelikož bez něj by transport látek k povrchu elektrody probíhal výhradně prostřednictvím difuze. Tento proces je řízen koncentračním gradientem a je relativně pomalý. Míchání však umožňuje dodatečný transport látek konvekcí, tedy pohybem kapaliny k elektrodoému povrchu.

Na rozdíl od vsádkových cel fungují průtokové cely na principu kontinuálního proudění kapaliny přes povrch elektrodoého materiálu. V tomto případě je transport analytů k elektrodě zajištěn jak difuzí, tak konvekcí. Průtokové cely lze dále klasifikovat na základě směru proudění kapaliny vůči pracovní elektrodě. Mezi nejčastější uspořádání patří tenkovrstvé (thin-layer) cely, kde je pracovní elektroda umístěna rovnoběžně s tokem kapaliny. Dalším typem jsou tzv. „wall-jet“ cely, ve kterých je elektroda přímo omývána analyzovaným vzorkem. Specifickou variantu představují tubulární cely, v nichž pracovní elektroda obklopuje vnitřní stěnu trubice [39].

1.8. Kyselina salicylová

Kyselina salicylová (SA), systematickým názvem 2-hydroxybenzoová kyselina, jejíž relativní molekulová hmotnost je 138,12, se řadí do skupiny aromatických karboxylových kyselin. SA je bílá krystalická látka bez zápachu. Sumární vzorec SA je C₇H₆O₃. Spadá také do skupiny fytohormonů ovlivňujících obranyschopnost rostlin vůči patogenním činitelům. Lze ji nalézt v přírodních zdrojích jako je ovoce, zelenina a koření. [40].

Běžně využívána je SA ve farmaceutickém průmyslu pro své léčivé účinky. Tato kyselina má protizánětlivé účinky a je používána pro léčbu řady nemocí.

Je také běžně využívána v kosmetice při léčbě akné či bradavic. Dermatologické přípravky s SA používané pro léčbu akné obsahují nižší koncentrace SA, cca kolem 5 %. Pro léčbu bradavic se používají farmaceutické přípravky s vysokém obsahem SA mezi 10 až 40 % [41].

Další využití nachází SA v potravinářském průmyslu, kde je využívána jako konzervační prostředek pro ovoce a zeleninu [42].

Je prekurzorem pro výrobu acetylsalicylové kyseliny (ASA), která se prodává pod obchodním názvem Aspirin [43].

Aspirin je velmi známé analgetikum, antipyretikum a antiflogistikum. Salicylová kyselina je zároveň metabolitem Aspirinu. Lék je při požití v plazmě hydrolyzován za pomoci esterasových enzymů na SA [40,43,44]. Acetylsalicylovou kyselinu lze připravit chemickou syntézou, kdy reaguje SA s nadbytkem acetanhydridu.



Obr. 1: Syntéza Aspirinu reakcí SA s nadbytkem acetanhydridu

1.8.1. Toxicita salicylové kyseliny

Toxicita SA se odvíjí od vzájemné polohy hydroxylové a karboxylové skupiny v rámci benzenového jádra nacházejícího se v struktuře SA. Díky umístění hydroxylové skupiny do ortho polohy na benzenovém jádře získala SA své analgetické, antiflogistické a antipyretické účinky. Avšak při špatném užívání může SA působit i toxicky.

Toxicita způsobená SA se nazývá „salicylismus“ (z anglického salicylism). Toxicita SA se projeví při koncentraci SA v krvi vyšší než 350 mg/l a může být akutní či chronická [41]. Projevy otravou SA zahrnují nevolnost, zvracení, zmatenost, závratě, psychózu a v krajních případech i smrt. Otrava SA může způsobit i tinnitus, neboť se zvýší tlak působící na labyrint vnitřního ucha a má vliv na vláskové buňky kochleárního systému [45].

Salicylová kyselina se do těla dokáže absorbovat skrz kůži či po pozření se absorbuje v gastrointestinálním traktu. Po absorpci je SA distribuována do tkání a transcelulárních tekutin procesy, které jsou závislé na hodnotě pH. 80 až 90 % absorbovaného salicylátu je v plazmě vázána na proteiny. Salicyláty jsou převážně biotransformovány v endoplazmatickém retikulu a mitochondriích. Z jsou z těla vylučovány močí a jejich poločas rozpadu je závislý na dávce [46].

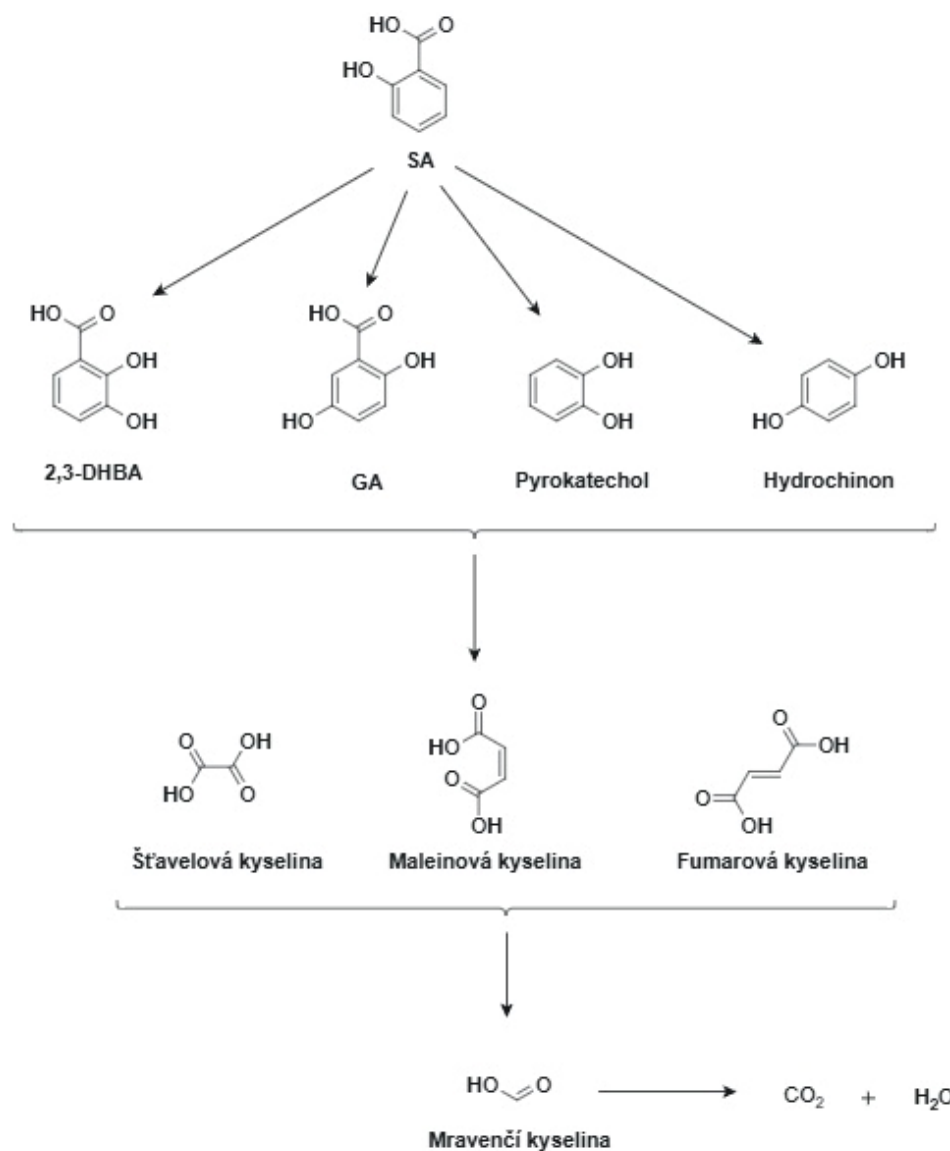
1.8.2. Kyselina salicylová v životním prostředí

Salicylová kyselina se do životního prostředí může dostat různými způsoby. Jako hlavní zdroje kontaminace SA jsou uváděny průmyslové a komunální odpadní vody či ze zemědělství [42]. Odpadní vody mohou být kontaminovány SA různými cestami. Nejčastějším způsobem, jak se SA dostane do odpadní vody, je ve formě metabolitů vyloučených močí po pozření léků pacientem. Proto asi největším zdrojem kontaminace odpadních vod SA jsou nemocniční odpadní vody, které obsahují zvýšenou koncentraci SA a jeho sekundárních metabolitů [47]. Dalším významným zdrojem SA je prošlý Aspirin a další medikamenty obsahující deriváty SA.

Jakmile se SA dostane do životního prostředí, vydrží zde po velmi dlouhou dobu a může negativně ovlivňovat vodní faunu. Jedním z faktorů indikující kontaminaci vodní plochy SA je vysoký výskyt řas, protože SA zvyšuje odolnost řas vůči stresovým faktorům, což je příčinou jejich rychlejšího růstu [48].

1.8.3. Elektrochemická oxidace

Dle článku Machado Alencar a spol. [49] se SA začíná oxidovat při +1,1 až +1,3 V za použití pulzní amperometrie. V dalším článku [50] byl popsán vznik několika degradačních produktů elektrochemické oxidace SA. Při elektrochemické galvanostatické oxidaci SA za použití BDDE, vzniká hned několik produktů degradace. Povaha produktů závisí na hodnotě proudu a koncentraci SA v roztoku. Při oxidaci SA o vysoké koncentraci za nízkého proudu vznikají produkty strukturou podobné SA. Tyto degradační produkty vznikají buďto elektrofilní adicí hydroxylových radikálů na aromatické jádro (kyselina gentisová (GA) a 2,3-dihydroxybenzoová kyselina (2,3-DHBA), anebo dekarboxylací (hydrochinon a pyrokatechol). Při středních hodnotách proudu a koncentrace SA může dojít k otevření aromatického kruhu a vznikají tak karboxylové kyseliny: šťavelová, maleinová a fumarová. Když na roztok s nízkou koncentrací SA aplikujeme vysoký proud, může tak dojít k degradaci na mravenčí kyselinu nebo až na vodu a oxid uhličitý. Všechny výše popsané reakce jsou shrnuty ve schématu na **Obr. 2** [50].



Obr. 2: Schéma znázorňující vznik jednotlivých degradačních produktů SA popsaných v textu výše. Převzato a upraveno podle Rabaoui a kol. [50].

1.9. Kyselina gentisová

Kyselina gentisová, systematickým názvem 2,5-dihydroxybenzoová kyselina, je fenolická kyselina. Jedná se o bílou krystalickou látku, jejíž molekulový vzorec je $\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})_2\text{COOH}$ [51]. Molární hmotnost GA činí $154,12 \text{ g mol}^{-1}$.

Je primárním produktem degradace SA, který vzniká elektrofilní adicí hydroxylového radikálu na aromatické jádro. Zároveň je také metabolitem Aspirinu, který je nejdříve metabolizován na SA, která je následně přeměněna pomocí enzymů na GA a 2,3-DHBA.

Bylo také zjištěno, že GA se nachází v plazmě u jedinců, kteří neužili Aspirin, což poukazuje na to, že GA se nachází v ovoci a zelenině. Příkladem přírodního zdroje GA jsou

rostliny rodu *Gentiana*. Dalším přírodním zdrojem GA jsou citrusy, červené santalové dřevo, olivy, jablka, ořechy či avokádo [51].

Existuje mnoho studií prokazujících prospěšné vlastnosti biologicky aktivní GA, jako jsou protizánětlivé, hepatoprotektivní, neuroprotektivní, antimutagenní, antimikrobiální či antioxidační účinky [51,52].

1.10. Ultravysokoúčinná kapalinová chromatografie

Princip ultravysokoúčinné kapalinové chromatografie (UHPLC) je vyvozen z vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC).

HPLC je používána ve farmaceutickém průmyslu, potravinářském průmyslu, pro monitoring životního prostředí či při forenzní analýzách [53].

Princip kapalinové chromatografie (LC) tkví v rozdělování kapalné složky mezi dvě nesteroidní fáze – stacionární (nepohyblivou) a mobilní (pohyblivou) fází. Mobilní fází v LC je kapalina, která unáší kapalné analyty na kolonu. Stacionární fáze je pevná látka, která je vázána v koloně, a tudíž není pohyblivá.

V HPLC je využíváno několika rozlišných separačních systémů. Tyto separační systémy se dělí podle polarity jednotlivých fází. Nejvíce používaným separačním systémem je chromatografie s reverzními fázemi (RP-HPLC). Při RP-HPLC je využíváno nepolární stacionární fáze a polární mobilní fáze. Stacionární fáze se skládá ze silikagelu, na který je kovalentně navázány funkční skupiny s alifatickými řetězci. Nejčastěji je tímto alifatickým řetězcem oktadecylový s označením C18. Mobilní fáze je polární směs vody s organickými rozpouštědly. Příkladem organických rozpouštědel mohou být acetonitril, methanol, či tetrahydrofuran.

Na rozdíl od HPLC je UHPLC prováděna při vyšších tlacích a s menší velikostí částic stacionární fáze (pod 2 μm). Při použití UHPLC můžeme dosáhnout rychlejší separace, lepšího rozlišení a vyšší citlivosti [53].

Pro detekci analytů se v chromatografických systémech nejčastěji využívá spektrometrický detekce v UV/VIS oblasti, hmotnostní spektrometrie (MS), detektor s diodovým polem (PDA), nukleární magnetické rezonance (NMR), infračervené spektrometrie či fluorescenční detekce [54]. V této práci byla použita detekce pomocí MS a detektoru s diodovým polem (PDA).

Detektor diodového pole snímá celé spektrum v reálném čase. Je tvořen polem fotodiod, jejichž počet určuje spektrální rozlišení. Záření prošlé vzorkem se spektrálně rozkládá na holografické mřížce, takže na každou fotodiodu dopadá tok záření o určité vlnové délce [54].

Detekce pomocí MS je založena na ionizaci vzorku a následné detekci vzniklých iontů. V prvním kroku je analyt, který je rozpuštěný v mobilní fázi, ionizován pomocí iontového zdroje. Následně je tento ion analyzován podle poměru jeho hmotnosti ku náboji (m/z). Při této práci byl jako iontový zdroj použit elektrosprej (ESI). ESI spadá do měkkých ionizačních metod. Analyt rozpuštěný v mobilní fázi prochází kapilárou, na kterou je vloženo vysoké napětí. Po průchodu roztoku kapilárou vzniká sprej vysoce nabitých kapiček, ze kterých následným odpařením rozpouštědla vznikají ionty [55].

2. Cíle práce

Cílem této bakalářské práce bylo zjistit, za jak dlouho se zdegraduje SA elektrochemickou oxidací pomocí BDD elektrody. Oxidace probíhala ve vsádkové cele vyrobené pomocí technologie 3D tisku.

3. Experimentální část

3.1. Seznam použitých chemikálií

acetonitril, LC-MS ($\geq 99,95\%$), HiPerSolv CHROMANORM®, VWR Chemicals BDA, USA
chlorid draselný, p. a., Lachema, Československo
kyselina salicylová, p. a. ($\geq 99,0\%$), Sigma-Aldrich, USA
kyselina sírová, g. r., (96%), Lach:ner, Česká republika
octan amonný, LC (99,6 %) HiPerSolv CHROMANORM®, VWR Chemicals BDA, USA
voda, LC-MS ($\geq 99,9\%$), HiPerSolv CHROMANORM®, VWR Chemicals BDA, USA

3.2. Seznam použitého vybavení a softwaru

analytické váhy, 262 SMA-FR, Sartorius, Švýcarsko
borem dopovaná diamantová elektroda, B/C = 230 000 ppm, Fyzikální ústav akademie věd
České republiky (skupina Andrew Taylora) [56]
kapalinový chromatogram UPLC Water Acquity H-Class, USA ovládaný softwarem
Empower® 3, Waters Corporation, USA
laboratorní zdroj OWON P4603, Čína (0-60 V/0-3 A)
magnetické míchadlo, Thermo Fischer Scientific, USA
nerezová elektroda, materiál 1.4301; ČSN 17 240
referenční argentchloridová elektroda s 3 mol l⁻¹ KCl, Monokrystaly, Česká republika
pH metr, JENWAY 3540 pH/conductivity metr, UK
ultrazvukový sonikátor, Elma S15, Elmasonic, Německo

3.3. Příprava roztoků a jejich uchování

3.3.1. Příprava roztoku chloridu draselného

50 ml roztok chloridu draselného o koncentraci 3 mol l⁻¹ obsahuje 11,18 g pevného chloridu draselného. Takto připravený roztok byl použit pro referenční argentchloridovou elektrodu.

3.3.2. Příprava tlumivého roztoku octanu amonného

Octanový pufr o pH = 4, objemu 250 ml a koncentraci 200 mmol/l byl připraven následujícím způsobem: Do 50 ml kádinky bylo odváženo 3,85 g octanu amonného a k tomu bylo přidáno zhruba 200 ml deionizované vody. Při konstantním míchání na magnetické míchače bylo pH roztoku octanu amonného upraveno na hodnotu pH = 4 pomocí koncentrované kyseliny octové. Nakonec byl okyselený roztok octanu amonného přelit do 250ml odměrné baňky a jeho objem byl doplněn deionizovanou vodou po rysku.

Připravený roztok pufru byl skladován v 50ml plastových kónických zkumavkách v mrazáku při teplotě cca $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.3.3. Příprava 2 mmol l^{-1} roztoku kyseliny salicylové

2 mmol l^{-1} roztok SA o objemu 100 ml v octanovém pufru o $\text{pH} = 4$ byl připraven následujícími kroky: Na skleněné navažovací lodičce bylo odváženo 0,028 g SA, která byla kvantitativně převedena do 100ml odměrné baňky a doplněna octanovým pufrem po rysku.

Takto připravený roztok byl skladován ve dvou plastových 50ml kónických zkumavkách mrazáku při teplotě cca $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.3.4. Příprava roztoku kyseliny sírové

Roztok kyseliny sírové o koncentraci $0,5\text{ mol l}^{-1}$ a o objemu 250 ml byl připraven následujícím postupem: do 250ml kádinky bylo přidáno zhruba 200 ml deionizované vody. Pomocí 10ml skleněné pipety bylo do této deionizované vody napipetováno 7 ml 96% kyseliny sírové. Takto připravený roztok byl přelit do 250ml odměrné baňky a objem roztoku byl doplněn po rysku.

Roztok byl skladován v kruhové lahvi se šroubovacím uzavíráním v lednici při teplotě cca $3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

3.3.5. Příprava roztoků mobilní fáze pro chromatografickou analýzu

Mobilní fáze pro UHPLC-MS obsahovala dvě složky, acetonitril obsahující 0,1% (v/v) mravenčí kyselinu a vodu obsahující 0,1% (v/v) mravenčí kyselinu. Komponenty mobilní fáze byly připraveny následujícím způsobem: Do 250ml skleněné lahve bylo nalito zhruba 100 ml dané složky mobilní fáze. Poté k tomuto objemu bylo pomocí automatické pipety napipetováno 250 μl mravenčí kyseliny. Nakonec byl objem roztoku doplněn po rysku příslušnou komponentou mobilní fáze.

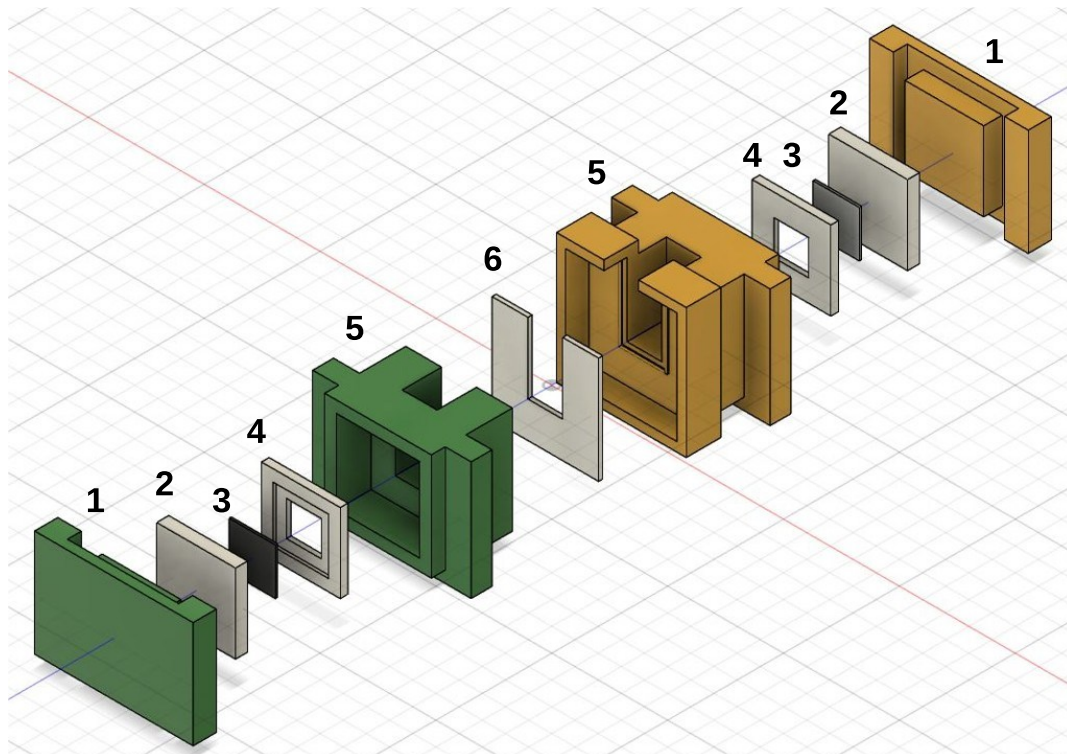
3.4. Konstrukce a parametry vsádkové degradační cely

V této práci byla použita degradační cela, která byla zhotovena pomocí technologie 3D tisku.

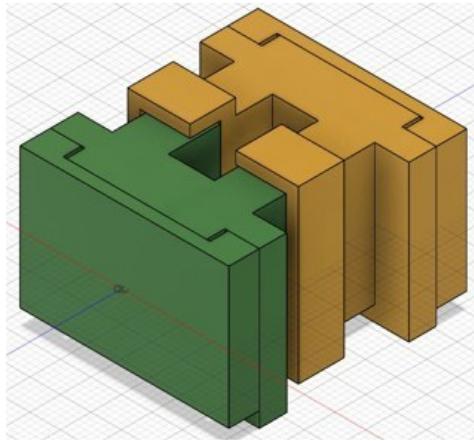
Degradační cela se skládala ze čtyř částí, jež byly tvořeny fotopolymerní pryskyřicí Clear V4 od firmy Formlabs. Část tvořící degradační prostor, kam byl napipetován roztok, tvořily dvě oddělitelné části. Maximální objem degradačního prostoru byl 2 ml. Mezi jednotlivými prostředními částmi degradační cely byly při sestavování vloženy silikonová těsnění. Na každém konci cely byly umístěny čtvercová silikonová těsnění, jejichž prostřední část byla vyříznuta do tvaru čtverce o obsahu $56,25\text{ mm}^2$, aby zde mohly být vloženy elektrody.

Na jednom konci byla umístěna nerezová katoda a na konci druhém pracovní BDDE (anoda). Každá elektroda byla čtvercového půdorysu s efektivním povrchem velikosti 30 mm². Jednotlivé elektrody byly kontaktovány hliníkovou folií obdélníkového tvaru a navrch bylo vloženo další těsnění o délce stran 17×17 mm a tloušťce 2,6 mm, které chránilo elektrody, zejména BDDE, před tlakem způsobeným svorkou, která držela celu pohromadě. Takto umístěné elektrody byly kryty koncovou částí cely. Mezi prostředními částmi cely bylo umístěno těsnění tvaru hranatého U o rozměrech 23×23 a tloušťce 0,9 mm. Elektrické míchadlo bylo upevněno v držáku vytvořeném pomocí technologie 3D tisku.

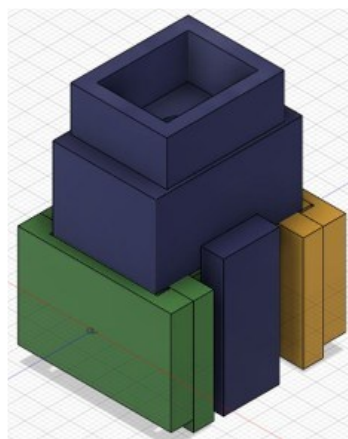
Napětí vložené mezi BDDE a nerezovou elektrodu bylo vkládáno z laboratorního zdroje OWON. Maximální hodnota proudu byla pro všechna měření nastavena na 2,0 A. Míchání roztoku bylo zajištěno elektrickým míchadlem.



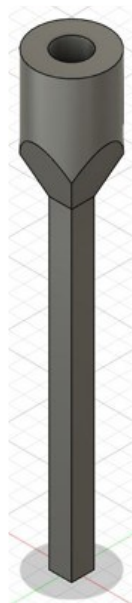
Obr. 3: Degradací cely rozdělená na jednotlivé části označené čísly; 1 – koncové kryty vsádkové cely, 2 – svrchní těsnění elektrod, 3 – elektrody, 4 – těsnění s čtvercovým výřezem, 5 – prostřední části tvořící degradační prostor, 6 – těsnění v tvaru hranatého U



Obr. 4: Degradální vsádková cela v složeném stavu



Obr. 5: Držák (značený modře) na elektrické míchadlo



Obr. 6: Míchadlo vyrobené pomocí technologie 3D tisku, které bylo připevněno k elektrickému motoru

3.5. Závislost potenciálu pracovní a pomocné elektrody na napětí mezi nimi vloženém

Měření probíhalo ve vsádkové cele ocelkovém o objemu 2 ml. Pro měření závislosti potenciálu mezi elektrodami bylo použito tříelektrodové uspořádání, ve kterém byla zahrnuta pracovní BDD elektroda (WORK), pomocná nerezová elektroda (AUX) a referenční argentchloridová elektroda s chloridem draselným o koncentraci 3 mol l^{-1} (REF). Elektrolytem byl 200 mmol l^{-1} tlumivý roztok octanu amonného o $\text{pH} = 4$ a objemu 1,5 ml. Proměřena byla závislost napětí mezi pracovní BDDE (WORK) a referenční argentchloridovou elektrodou (REF) na napětí vloženém mezi pracovní BDDE (WORK) a pomocnou nerezovou elektrodou (AUX). Napětí vložené mezi pracovní (BDDE) a pomocnou elektrodou (nerezová) mělo následující hodnoty: 0,00; 0,01; 0,50; 1,00; 1,50; 2,00; 2,50; 3,00; 3,50; 4,00; 4,50; 5,00; 5,50; 6,00; 6,50; 7,00; 7,50 a 8,00 V. Každá hodnota napětí byla proměřena celkem třikrát. Mezi každou sadou měření byla BDD elektroda aktivována $0,5 \text{ mol l}^{-1}$ kyselinou sírovou o objemu 1,5 ml při napětí 4,00 V po dobu 5 min. Získané výsledky byly statisticky zpracovány.

3.6. Degradční čas

V této sérii měření byla studována míra degradace SA na čase při napětí 2,75 V. Napětí bylo zvoleno na základě diplomové práce Mgr. Šefčíka [57]. Při tomto měření bylo použito dvouelektrodového zapojení, které zahrnovalo BDD anodu a nerezovou katodu. Degradace byla provedena při následujících časech: 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 a 90 min. Objem roztoku SA byl 1,5 ml. Každá degradace byla provedena při daném čase celkem třikrát a mezi každým měřením byl povrch BDD elektrody aktivován $0,5 \text{ mol l}^{-1}$ kyselinou sírovou o objemu 1,5 ml po dobu 5 min.

Takto zdegradované roztoky SA byly z degradační vsádkové cely jímány do 2ml skleněných vialek a následně byly analyzovány pomocí UHPLC-MS. Výsledky získané UHPLC-MS analýzou byly statisticky zpracovány.

3.7. Chromatografická analýza

3.7.1. Mobilní fáze

Při UHPLC-MS analýze byla jako mobilní fáze použita směs vody s 0,1% kyselinou mravenčí (v/v) a acetonitrilu s 0,1% kyselinou mravenčí (v/v).

3.7.2. Chromatografické podmínky

Produkty degradace byly analyzovány pomocí UHPLC-MS Waters Acquity H-class s PDA a MS detekcí s měkkou ionizační technikou (elektrosprej) a s analyzátořem typu kvadrupól. Použitá kolona byla Kinetex C18; 1,7 μm ; 100 \times 2,1 mm. Dvousložková mobilní fáze se skládala z roztoků acetonitrilu (A) a vody (B). Obě tyto komponenty mobilní fáze obsahovaly 0,1% (v/v) kyseliny mravenčí. Nastavení metody a chromatografické podmínky byly převzaty z diplomové práce Bc. Barbory Tonnerové [58]. Chromatografické podmínky zahrnovaly: průtoková rychlost: 0,3 ml/min, objem dávkovaného vzorku: 1 μl , teplota injektoru: 15,0 $^{\circ}\text{C}$ a teplota kolony: 25,0 $^{\circ}\text{C}$, eluce: gradientová. Pro detekci degračních produktů byla použita PDA detekce o vlnové délce 240 nm a MS detekce v negativní módu.

3.8. Výpočty použité při vyhodnocování získaných dat

Výpočet % zastoupení zbytkové SA v roztoku analytu:

$$A_{SA,x,y,\%} = \frac{A_x \cdot 100}{A_{SA, \text{std}, \text{med}}} \quad (12)$$

kde $A_{SA, x, y, \%}$ je plocha píku SA pro x -tý degradovaný vzorek a y -tý roztok standardu SA (nezdegradované) v procentech, A_x plocha píku analytu pro x -tý degradovaný vzorek a $A_{SA, \text{std}, \text{med}}$ medián plochy píku SA v roztoku standardu.

Z vypočítaných hodnot $A_{SA, x, y, \%}$ byl spočten medián. Medián reprezentuje hodnotu ležící uprostřed intervalu hodnot výsledků seřazených podle velikosti.

Velikosti Výpočet rozpětí souboru výsledků (R):

$$R = A_{SA,x,y,\%,\text{max}} - A_{SA,x,y,\%,\text{min}} \quad (13)$$

kde $A_{SA, x, y, \%, \text{max}}$ je nejvyšší hodnota plochy píku SA pro x -tý degradovaný vzorek a y -tý roztok standardu SA (nezdegradované) v procentech, $A_{SA, x, y, \%, \text{min}}$ je nejnižší hodnota plochy píku SA pro x -tý degradovaný vzorek a y -tý roztok standardu SA (nezdegradované) v procentech

Výpočet intervalu spolehlivosti ($L_{1,2}$):

$$L_{1,2} = K_n \cdot R \quad (14)$$

kde K_n je tabelovaný koeficient tzv. Lordova rozdělení a R je rozpětí.

4. Výsledky a diskuse

4.1. Závislost potenciálu pracovní a pomocné elektrody na napětí vloženém mezi tyto elektrody

Při elektrochemických degradacích bylo použito dvouelektrodové zapojení. Jako anoda byla v této práci použita BDDE a jako katoda byla použita nerezová elektroda. Napětí mezi dvěma elektrodami a jejich potenciál jsou odlišné veličiny. Potenciál elektrody je dán napětím článku, který sestává z dvou elektrod. Elektrodový potenciál dané elektrody je definován jako napětí mezi danou elektrodou a standardní vodíkovou elektrodou (SHE), jejíž potenciál byl zvolen jako nulový. Z praktických důvodů se potenciál elektrody určuje z napětí mezi námi zvolenou elektrodou a elektrodou referenční, jejíž potenciál je znám.

V této práci byla jako referenční elektroda použita elektroda argentchloridová, jejíž potenciál nabývá hodnoty +0,210 V oproti SHE.

Z hodnot vloženého napětí mezi BDD elektrodou jako pracovní a pomocnou nerezovou elektrodou a naměřených hodnot napětí mezi BDDE a referenční argentchloridovou elektrodou, která obsahovala 3 mol l^{-1} chlorid draselný, byl spočten potenciál BDDE (ANODA) a nerezové elektrody (KATODA). Způsob výpočtů je popsán níže.

Díky známé hodnotě potenciálu referenční argentchloridové elektrody (REF) (0,210 V) a naměřených hodnot napětí mezi BDDE (WORK) a argentchloridovou elektrodou (REF) byl vypočten potenciál BDDE (ANODA) dle vztahu (15):

$$E_{\text{ANODA}} = E_{\text{REF}} + U_{\text{ANODA} \leftrightarrow \text{REF}} \quad (15)$$

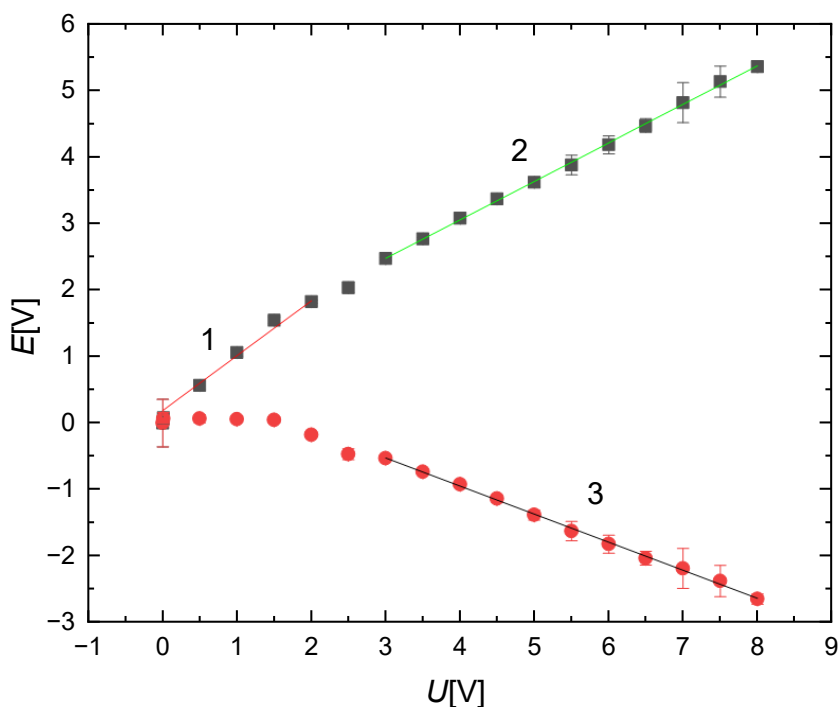
E_{ANODA} značí potenciál BDDE (ANODA), E_{REF} značí potenciál argentchloridové elektrody (REF) a $U_{\text{ANODA} \leftrightarrow \text{REF}}$ značí napětí mezi anodou a referenční elektrodou.

Z vypočtených hodnot potenciálu BDDE (ANODA) a vloženého napětí mezi BDDE (ANODA) a nerezovou elektrodou (KATODA) byl spočten potenciál nerezové elektrody dle vztahu (10):

$$E_{\text{KATODA}} = E_{\text{ANODA}} - U_{\text{ANODA} \leftrightarrow \text{KATODA}} \quad (16)$$

E_{AUX} značí potenciál pomocné nerezové elektrody (AUX), E_{WORK} značí potenciál pracovní BDDE (WORK) a $U_{\text{WORK} \leftrightarrow \text{AUX}}$ značí vložené napětí mezi BDDE (WORK) a pomocnou nerezovou elektrodou (AUX).

Statisticky zpracované výsledky byly použity pro sestavení grafu závislosti potenciálu pracovní BDDE (WORK) a pomocné nerezové elektrody (AUX) na napětí mezi ně vloženém (Obr. 7).



Obr. 7: Graf závislosti potenciálu (E) pracovní BDD elektrody (■, závislost 1 a 2) a pomocné nerezové elektrody (●, závislost 3) na napětí mezi BDDE a nerezovou elektrodou (U)

Chybové úsečky jsou v grafu reprezentovány pomocí intervalu spolehlivosti pro hladinu významnosti $\alpha = 0,05$. U některých bodů má interval spolehlivosti tak nízkou hodnotu, že v grafu u těchto bodů nejsou chybové úsečky viditelné. Lineární úseky v grafu byly proloženy lineární regresí. Jednotlivé regrese jsou označeny čísly 1–3. Parametry jednotlivých regresí jsou shrnuty v **Tab. 1**.

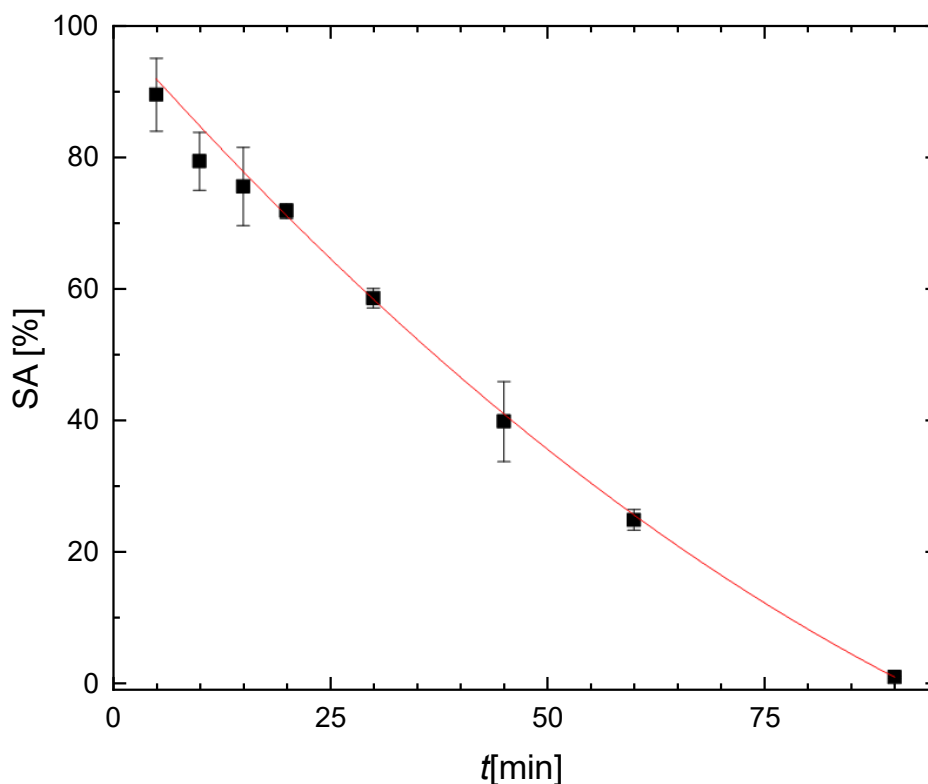
Tab. 1: Hodnoty parametrů regresních přímek, které jsou vyobrazeny v grafu na Obr. 7; regrese jsou označeny čísly, r – Pearsonův korelační koeficient, směrnice±chyba – směrnice a její chyba, úsek±chyba – úsek a jeho chyba

číslo regrese	r	směrnice±chyba [$\Delta V / \Delta V$]	úsek±chyba [V]
1	0,9937	0,825±0,047	0,185±0,083
2	0,9998	0,5821±0,0083	0,720±0,032
3	-0,9995	-0,4220±0,0043	0,738±0,016

V grafu lineární závislost potenciálu (E) na napětí (U) vykazují 3 úseky. V závislosti potenciálu pracovní BDDE (WORK) na napětí mezi BDDE (WORK) a nerezovou pomocnou elektrodou (AUX) linearitu vykazují 2 úseky, regrese jsou označeny čísly **1** a **2**. Regrese **1**, značena červenou přímkou, vyazuje linearitu v oblasti napětí 0–2,00 V. Regrese **2**, značena zelenou přímkou, vyazuje linearitu v oblasti napětí 2,50–8,00 V. V závislosti potenciálu pomocné nerezové elektrody (AUX) na napětí mezi BDDE (WORK) a nerezovou pomocnou elektrodou (AUX) linearitu vyazuje 1 úsek označena číslem **3**. Regrese **3**, značena černou přímkou, vyazuje linearitu v oblasti napětí 3,00–8,00 V. V úseku napětí 0,00–1,50 V lze potenciál pomocné nerezové elektrody (AUX) považovat za konstantní. Z grafu je dále patrné, že v celém rozsahu vloženého napětí mezi pracovní BDD elektrodu (WORK) a pomocnou nerezovou elektrodu (AUX) dochází ke větší změně potenciálu u BDDE (WORK) než u nerezové elektrody (AUX).

4.2. Degradací čas

Roztok SA o koncentraci 2 mmol l^{-1} byl elektrochemicky degradován při napětí +2,75 V v rozsahu časů 5–90 min. Hodnota napětí byla zvolena na základě diplomové práce Mgr. Šefčíka [57], kde bylo optimalizováno degradační napětí pro 2 mmol l^{-1} SA. Při tomto napěťovém nastavení byla zaznamenána nejintenzivnější degradace SA, přičemž současně docházelo k tvorbě nejvyššího množství GA jako hlavního degradačního produktu. Tato hodnota napětí se tak ukázala jako optimální kompromis mezi mírou degradace a spolehlivou detekcí degradačních produktů pomocí zvolené analytické metody. Po degradaci byla provedena analýza degradačních roztoků a roztoků standardu SA pomocí UHPLC-MS. Po analýze byly z chromatogramů získány hodnoty ploch píků SA z degradovaných roztoků a nedegradované SA z roztoku standardu. Z těchto hodnot bylo vypočteno procentuální zastoupení SA v degradovaných roztocích. Z vypočtených dat byl vynesena graf závislosti procentuálního zastoupení SA v degradovaných roztocích na čase pro koncentraci 2 mmol l^{-1} standardního roztoku SA (**Obr. 8**).



Obr. 8: Graf závislosti procentuálního zastoupení SA v degradovaných roztocích po elektrochemické degradaci na čase pro koncentraci 2 mmol l^{-1} standardního roztoku SA

Parametry hodnot polynomicke přímky jsou shrnuty v **Tab. 2**. Při elektrochemické degradaci 2 mmol l^{-1} SA při napětí $+2,75 \text{ V}$ trvajícím 90 minut bylo zdegradováno 99 % SA. Nízká opakovatelnost degradace může být dána pasivací BDDE. Proto je nutné dbát na regeneraci povrchu BDDE před každým začátkem měření i mezi jednotlivými degradacemi. Další příčinou nízké opakovatelnosti degradace může být dáno nepřesným pipetováním. Nepřesné pipetování zapříčiňuje nekonstantní objem degradovaných roztoků.

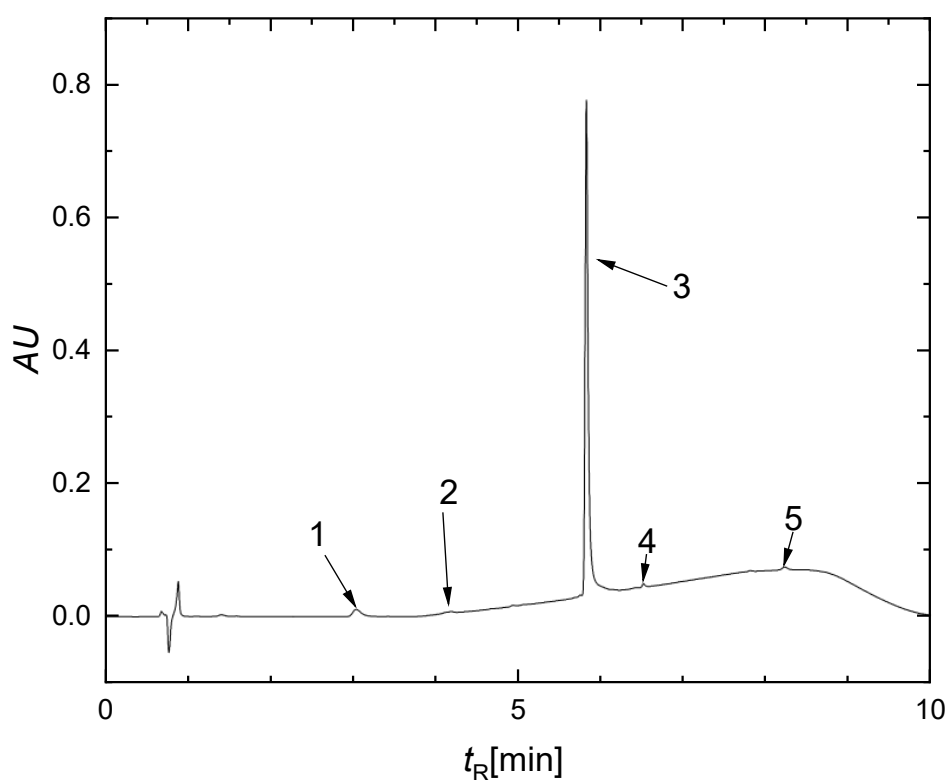
Tab. 2: hodnoty parametrů polynomicke křivky, která je vyobrazena v grafu na Obr. 4; úsek±chyba – úsek a jeho chyb, B1±chyba – směrnice č. 1 a její chyba, B2±chyba – směrnice č. 2 a její chyba, R^2 – korelační determinace

rovnice přímky	$y = \text{úsek} + B1 \cdot x^1 + B2 \cdot x^2$
úsek±chyba [$\Delta\%/\Delta t$]	$99,357 \pm 1,858$
B1±chyba [%]	$-1,4991 \pm 0,0906$
B2±chyba [%]	$0,00451 \pm 7,94144 \cdot 10^{-4}$
R^2	0,9996

Tvar křivky je dán kinetikou reakce. Doba degradace mezi 5 až 30 minutami má lineární průběh. Kinetika reakce probíhá reakcí nultého řádu. Po 30. minutě začne křivka nabývat polynomického tvaru. Od tohoto bodu kinetika reakce probíhá kinetikou prvního řádu.

4.3. Chromatografická analýza degradačních produktů

UHPLC-MS analýzou elektrochemicky degradovaných roztoků SA byly získány chromatogramy, ve kterých jsou nejvíce patrné 3 píky. Pík nezdegradované SA a píky degradačních produktů SA. Chromatogramy elektrochemicky degradovaných roztoků 2 mmol l⁻¹ SA po dobu 10, 30, 45 a 90 minut při +2,75 V jsou zobrazeny na **Obr. 9–12**.

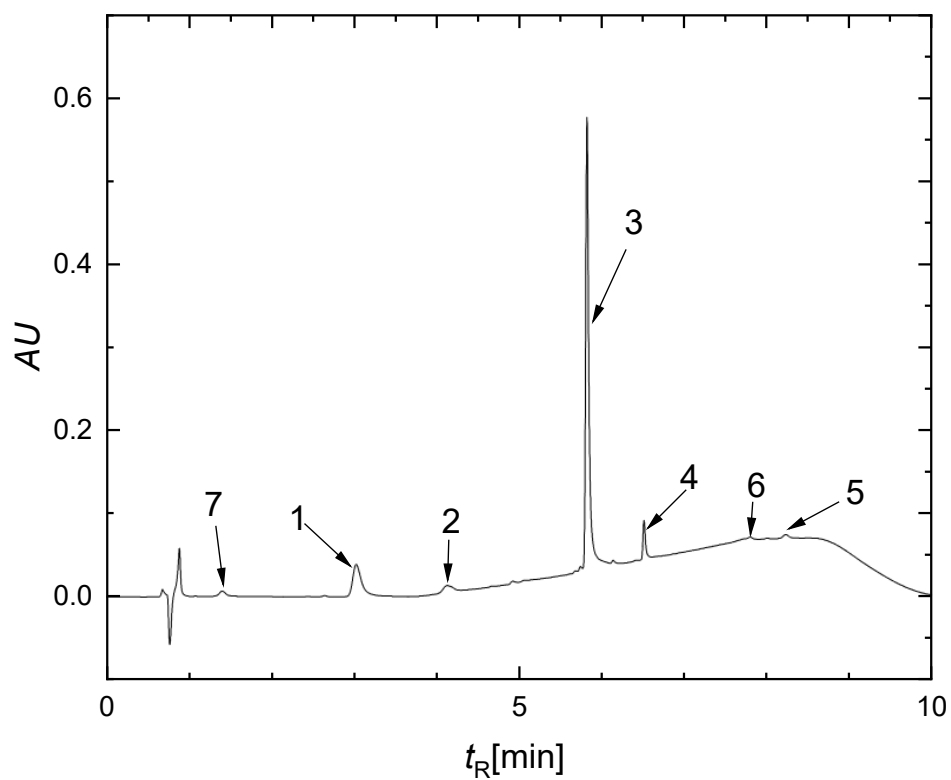


Obr. 9: Chromatogram degradovaného roztoku SA po 10 minutách elektrochemické degradace při napětí +2,75 V, t_R – retenční čas v minutách, AU – absorbance units (PDA detekce při $\lambda = 240$ nm)

Tab. 3: Popis jednotlivých píků z chromatogramu na **Obr. 9**, t_R – retenční čas, m/z – poměr hmotnosti k náboji

číslo píku	t_R [min]	m/z	sloučenina
1	3,04	153	GA
2	4,19	153	2,3-DHBA
3	5,83	137	SA

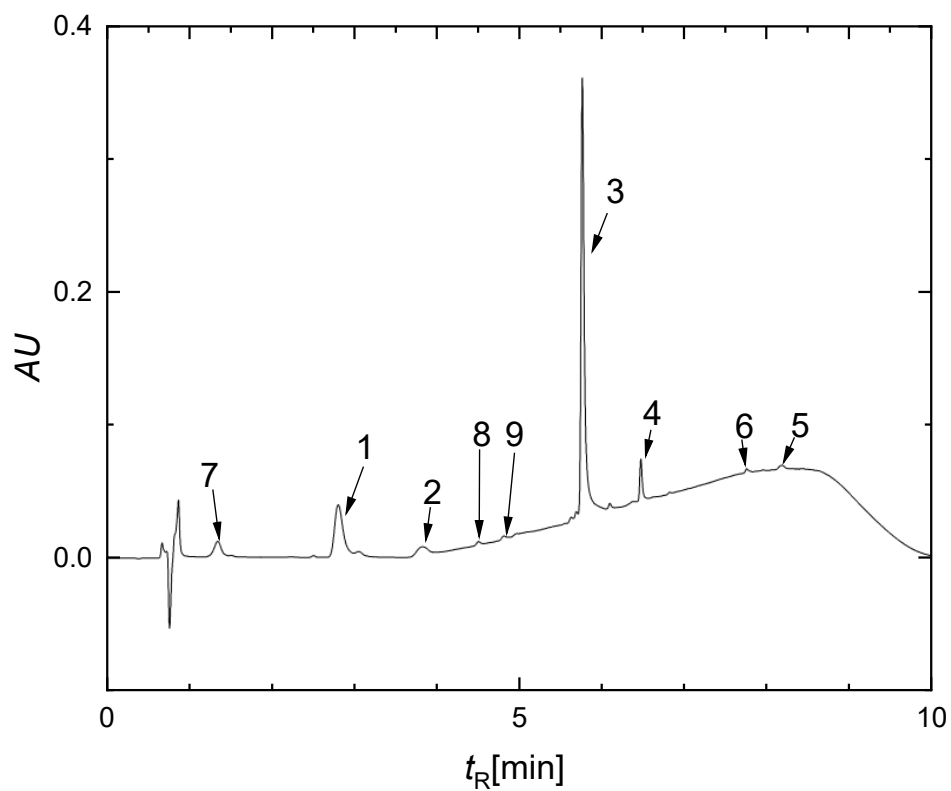
4	6,52	243	–
5	8,24	–	–



Obr. 10: Chromatogram degradovaného roztoku SA po 30 minutách elektrochemické degradace při napětí +2,75 V, t_R – retenční čas v minutách, AU – absorbance units (PDA detekce při $\lambda = 240$ nm)

Tab. 4: Popis jednotlivých píků z chromatogramu na **Obr. 10**, t_R – retenční čas, m/z – poměr hmotnosti k náboji

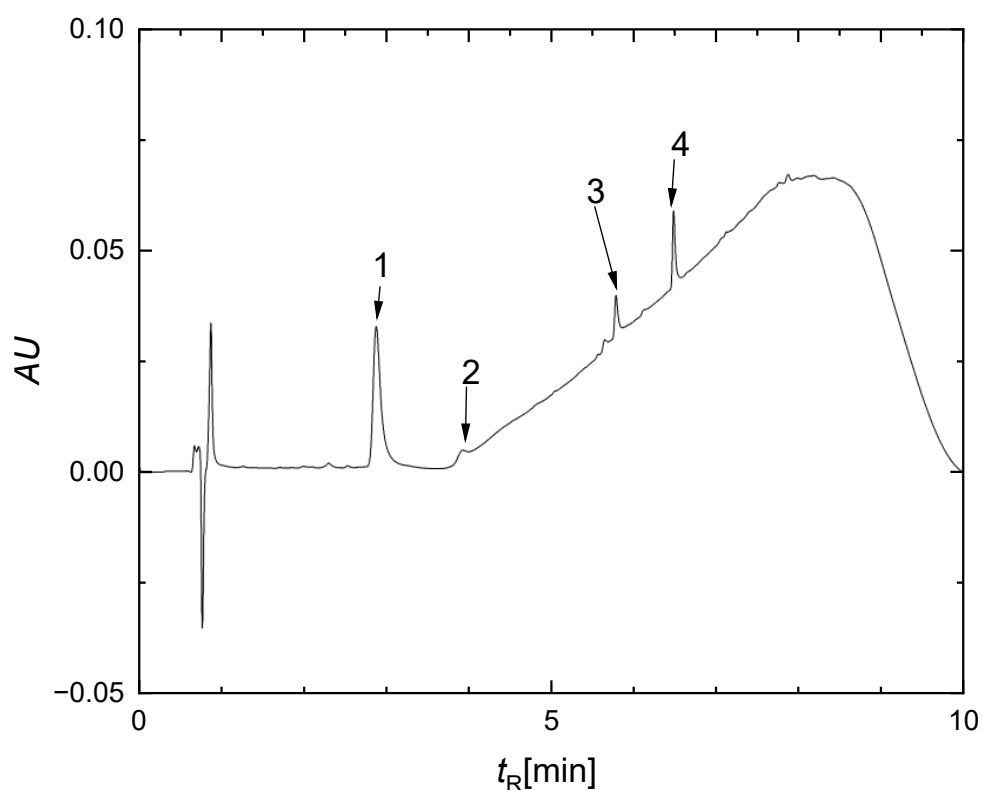
číslo píku	t_R [min]	m/z	sloučenina
1	3,04	153	GA
2	4,19	153	2,3-DHBA
3	5,82	137	SA
4	6,52	243	–
5	8,24	–	–
6	7,80	–	–
7	1,40	–	–



Obr. 11: Chromatogram degradovaného roztoku SA po 45 minutách elektrochemické degradace při napětí +2,75 V, t_R – retenční čas v minutách, AU – absorbance units (PDA detekce při $\lambda = 240$ nm)

Tab. 5: Popis jednotlivých píků z chromatogramu na Obr. 11, t_R – retenční čas, m/z – poměr hmotnosti k náboji

číslo píku	t_R [min]	m/z	sloučenina
1	3,04	153	GA
2	4,19	153	2,3-DHBA
3	5,82	137	SA
4	6,52	243	–
5	8,24	–	–
6	7,80	–	–
7	1,40	–	–
8	4,52	–	–
9	4,83	–	–

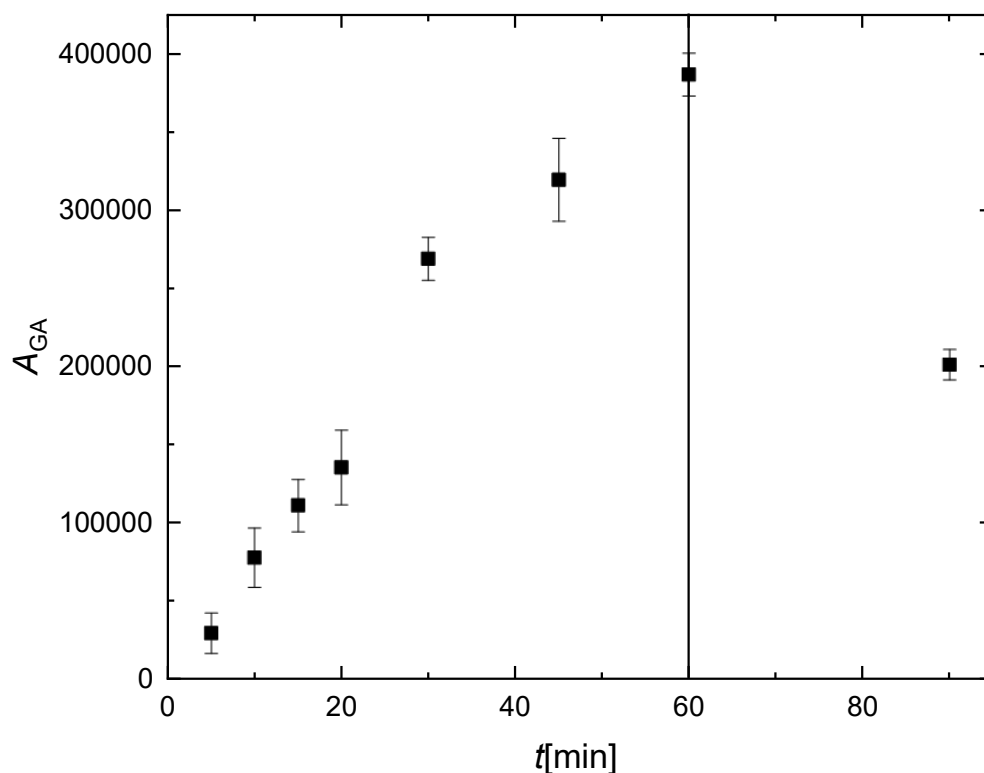


Obr. 12: Chromatogram degradovaného roztoku SA po 90 minutách elektrochemické degradace při napětí +2,75 V, t_R – retenční čas v minutách, AU – absorbance units (PDA detekce při $\lambda = 240$ nm)

Tab. 6: Popis jednotlivých píků z chromatogramu na Obr. 12, t_R – retenční čas, m/z – poměr hmotnosti k náboji

číslo píku	t_R [min]	m/z	sloučenina
1	3,04	153	GA
2	4,19	153	2,3-DHBA
3	5,82	137	SA
4	6,52	243	–

Z jednotlivých chromatogramů je patrný úbytek SA při déle trvající elektrochemické degradaci, ale zároveň se v roztoku navyšuje koncentrace degradačních produktů či se formují nové degradační produkty. Dále lze z chromatogramů vyčíst, že primárním degradačním produktem SA je GA (pík č. 1). Průběh množství GA v degradovaných roztocích na čase je ukázáno na Obr. 13. Druhým hlavním degradačním produktem je 2,3-DHBA, jež se v chromatogramech objevuje jako pík č. 2.



Obr. 13: Graf závislosti plochy píku GA (A_{GA}) na době trvání degradace (t)

Nejvyšší koncentrace GA v roztoku je dosaženo při době trvání elektrochemické degradace 60 min. Po překročení této doby koncentrace GA v roztoku klesá. Po 60 minutě elektrochemické degradace při napětí +2,75 V je vyčerpáno množství SA, ze kterého by se oxidovala nová GA, tudíž se GA začne oxidovat na jiné degradační produkty, které jsou uvedeny ve schématu na **Obr. 2**.

Jak se mění množství SA a GA v degradovaných roztocích na čase je shrnuto v **Tab. 6**. Při kratších dobách trvání elektrochemické degradace množství nově vzniklé GA rapidně roste, jakmile se blíží své maximální koncentraci, vznik nové GA se zpomalí. Toto je zapříčiněno tím, že v degradovaném roztoku dochází množství SA, ze kterého by mohla vznikat nová GA.

Tab. 7: Velikost plochy píků SA a GA na čase, t – čas elektrochemické degradace, $A_{\text{medián}}$ – medián plochy píků SA a GA

t [min]	$A_{\text{medián}}(\text{SA})$ [$\mu\text{V s}^{-1}$]	$A_{\text{medián}}(\text{GA})$ [$\mu\text{V s}^{-1}$]
5	2259960	29357
10	2005434	77708
15	1908413	111003
20	1814200	135487
30	1480299	268970
45	1005844	319435
60	629137	386722
90	24765	201145

5. Závěr

Byla studována elektrochemická degradace roztoku SA ve vsádkové cele zhotovené pomocí technologie 3D tisku. Při degradaci bylo využito dvouelektrodového zapojení. Jako pracovní elektroda byla zvolena BDDE a pomocnou elektrodou byla nerezová elektroda. Mezi pracovní a pomocnou elektrodou bylo vkládáno napětí o hodnotě +2,75 V. Cílem bylo zjistit, za jak dlouho se zoxiduje veškerá SA v roztoku a jaké degradační produkty při oxidaci vznikají.

BDDE je vhodná volba pro elektrochemické oxidace, protože se prokázalo, že SA je možné zcela degradovat.

Úplné oxidace 2 mmol l⁻¹ SA bylo dosaženo při času degradace 90 min, kdy v roztoku zbývalo necelé 1 % standardní 2 mmol l⁻¹ SA. Primárním degradačním produktem je GA, která při době degradace 60 min vykazovala nejvyšší koncentrace a při času vyšším již množství GA v roztoku ubývalo.

6. Literatura

1. Kotyza J, Soudek P, Kafka Z, Vaněk T. Léčiva - “nový” environmentální polutant. *Chemické Listy*. 2008;(103):540-547.
2. Mai NL, Ambauen N, Hallé C, Meyn T, Trinh TT. Initial degradation mechanism of salicylic acid via electrochemical process. *Chemical Physics*. 2021;543(1). doi:10.1016/j.chemphys.2020.111071
3. de Souza AB, Gadi N, van de Goor T, Boelee NC, Dewil R, Cabooter D. Occurrence and elimination of pharmaceutical residues in municipal wastewater effluent by electrochemical anodic oxidation. *Journal of Water Process Engineering*. 2024;66(4). doi:10.1016/j.jwpe.2024.105899
4. Kumar V, Bansal V, Madhavan A, et al. Active pharmaceutical ingredient (API) chemicals: a critical review of current biotechnological approaches. *Bioengineered*. 2022;13(2):4309-4327. doi:10.1080/21655979.2022.2031412
5. Kümmerer K. Pharmaceuticals in the environment. *Annual Review Of Environment And Resources*. 2010;35:57-75. doi:10.1146/annurev-environ-052809-161223
6. Kozisek F, Pomykacova I, Jeligova H, Cadek V, Svobodova V. Survey of human pharmaceuticals in drinking water in the Czech Republic. *Journal Of Water Health*. 2013;11(1):84-97. doi:10.2166/wh.2013.056
7. Li WC. Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. *Environmental Pollution*. 2014;187:193-201. doi:10.1016/j.envpol.2014.01.015
8. Qi M, Han Y, Zhao Z, Li Y. Integrated determination of chemical oxygen demand and biochemical oxygen demand. *Pol J Environ Stud*. 2021;30(2):1785-1794. doi:10.15244/pjoes/122439
9. Yoon GS, Park SM, Yang H, Tsang DCW, Alessi DS, Baek K. Selection criteria for oxidation method in total organic carbon measurement. *Chemosphere*. 2018;199:453-458. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.02.074
10. Silva CR, Conceição CDC, Bonifácio VG, Filho OF, Teixeira MFS. Determination of the chemical oxygen demand (COD) using a copper electrode: A clean alternative method. *Journal of Solid State Electrochemistry*. 2009;13(5):665-669. doi:10.1007/s10008-008-0580-9
11. Nygaard K, Lunestad BT, Hektoen H, Berge JA, Hormazabal V. Resistance to oxytetracycline, oxolinic acid and furazolidone in bacteria from marine sediments. *Aquaculture*. 1992;104(1-2):31-36. doi:10.1016/0044-8486(92)90135-8

12. Šídlová P, Podlipná R, Vaněk T. Cytostatická léčiva v životním prostředí. *Chemické Listy*. 2011;105:8-14.
13. Larsen TA, Lienert J, Joss A, Siegrist H. How to avoid pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal Of Biotechnology*. 2004;113(1-3):295-304. doi:10.1016/J.JBIOTEC.2004.03.033
14. Fernández-Castro P, Vallejo M, San Román MF, Ortiz I. Insight on the fundamentals of advanced oxidation processes: Role and review of the determination methods of reactive oxygen species. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 2015;90(5):796-820. doi:10.1002/jctb.4634
15. Brown GC, Borutaite V. *A Focus Topic at BioScience2006, Held at SECC Glasgow.*; 2006.
16. Ghime D, Ghosh P. Removal of Organic Compounds Found in the Wastewater through Electrochemical Advanced Oxidation Processes: A Review. *Russian Journal of Electrochemistry*. 2019;55(7):591-620. doi:10.1134/S1023193519050057
17. Comninellis C, Kapalka A, Malato S, Parsons SA, Poulios I, Mantzavinos D. Advanced oxidation processes for water treatment: Advances and trends for R&D. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 2008;83(6):769-776. doi:10.1002/jctb.1873
18. Dewil R, Mantzavinos D, Poulios I, Rodrigo MA. New perspectives for Advanced Oxidation Processes. *Journal Of Environmental Management*. 2017;195:93-99. doi:10.1016/j.jenvman.2017.04.010
19. Laghrib F, Bakasse M, Lahrich S, El Mhammedi MA. Advanced oxidation processes: photo-electro-Fenton remediation process for wastewater contaminated by organic azo dyes. *International Journal Of Environmental Analytical Chemistry*. 2021;101(15):2947-2962. doi:10.1080/03067319.2020.1711892
20. Salazar R, Ureta-Zañartu MS. Mineralization of triadimefon fungicide in water by electro-fenton and photo electro-fenton. *Water Air Soil Pollution*. 2012;223(7):4199-4207. doi:10.1007/s11270-012-1184-7
21. Pražáková L, Fischer J, Taylor A, Kubíčková A. Comparison of Chemical and Electrochemical Approaches to Abacavir Oxidative Stability Testing. *Sensors*. 2023;23(5). doi:10.3390/s23052776
22. Svítková J, Ignat T, Švorc L, Labuda J, Barek J. Chemical Modification of Boron-Doped Diamond Electrodes for Applications to Biosensors and Biosensing. *Critical*

- Reviews In Analytical Chemistry*. 2016;46(3):248-256.
doi:10.1080/10408347.2015.1082125
23. Macpherson J V. A practical guide to using boron doped diamond in electrochemical research. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2015;17(5):2935-2949.
doi:10.1039/c4cp04022h
24. Medel A, Bustos E, Apátiga LM, Meas Y. Surface Activation of C-sp³ in Boron-Doped Diamond Electrode. *Electrocatalysis*. 2013;4(4):189-195. doi:10.1007/s12678-013-0158-x
25. Pecková K, Barek J. *Boron Doped Diamond Microelectrodes and Microelectrode Arrays in Organic Electrochemistry*. Vol 15.; 2011.
26. Pecková K, Musilová J, Barek J. Boron-doped diamond film electrodes-new tool for voltammetric determination of organic substances. *Critical Reviews In Analytical Chemistry*. 2009;39(3):148-172. doi:10.1080/10408340903011812
27. He Y, Lin H, Guo Z, Zhang W, Li H, Huang W. Recent developments and advances in boron-doped diamond electrodes for electrochemical oxidation of organic pollutants. *Separation And Purification Technology*. 2019;212:802-821.
doi:10.1016/j.seppur.2018.11.056
28. Cvačka J; SGM; BJ. Stanovení aminonaftalenů a aminobifenyľů kapalinovou chromatografií s amperometrickou detekcí na diamantové filmové elektrodě. *Chemické Listy*. 2002;(96):33-38.
29. Luo D, Zhi J. Fabrication and electrochemical behaviour of vertically aligned boron-doped diamond nanorod forest electrodes. *Electrochemistry Communications*. 2009;11(6):1093-1096. doi:10.1016/j.elecom.2009.03.011
30. Chang L, Stacchiola DJ, Hu YH. An Ideal Electrode Material, 3D Surface-Microporous Graphene for Supercapacitors with Ultrahigh Areal Capacitance. *ACS Applied Materials And Interfaces*. 2017;9(29):24655-24661. doi:10.1021/acsami.7b07381
31. Almeida EC, Diniz A V., Trava-Airoldi VJ, Ferreira NG. Electrochemical characterization of doped diamond-coated carbon fibers at different boron concentrations. *Thin Solid Films*. 2005;485(1-2):241-246.
doi:10.1016/j.tsf.2005.03.053
32. Baluchová S, Daňhel A, Dejmková H, Ostatná V, Fojta M, Schwarzová-Pecková K. Recent progress in the applications of boron doped diamond electrodes in electroanalysis of organic compounds and biomolecules – A review. *Analytica Chimica Acta*. 2019;1077:30-66. doi:10.1016/j.aca.2019.05.041

33. McLaughlin MHS, Corcoran E, Pakpour-Tabrizi AC, de Faria DC, Jackman RB. Influence of temperature on the electrochemical window of boron doped diamond: a comparison of commercially available electrodes. *Scientific Reports*. 2020;10(1). doi:10.1038/s41598-020-72910-x
34. Teófilo RF, Kiralj R, Ceragioli HJ, et al. QSPR Study of Passivation by Phenolic Compounds at Platinum and Boron-Doped Diamond Electrodes. *Journal Of The Electrochemical Society*. 2008;155(10):D640. doi:10.1149/1.2953588
35. Lourencao BC, Brocenschi RF, Medeiros RA, Fatibello-Filho O, Rocha-Filho RC. Analytical Applications of Electrochemically Pretreated Boron-Doped Diamond Electrodes. *ChemElectroChem*. 2020;7(6):1291-1311. doi:10.1002/celec.202000050
36. Martínez-Sánchez C, Robles I, Godínez LA. Review of recent developments in electrochemical advanced oxidation processes: application to remove dyes, pharmaceuticals, and pesticides. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2022;19(12):12611-12678. doi:10.1007/s13762-021-03762-9
37. Durán FE, de Araújo DM, do Nascimento Brito C, Santos EV, Ganiyu SO, Martínez-Huitle CA. Electrochemical technology for the treatment of real washing machine effluent at pre-pilot plant scale by using active and non-active anodes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 2018;818:216-222. doi:10.1016/j.jelechem.2018.04.029
38. Pointer Malpass GR, de Jesus Motheo A. Recent advances on the use of active anodes in environmental electrochemistry. *Current Opinion In Electrochemistry*. 2021;27. doi:10.1016/j.coelec.2021.100689
39. Tóth K, Štulík K, Kutner W, Fehér Z, Lindner E". Electrochemical detection in liquid flow analytical techniques: Characterization and classification. *IUPAC Technical Report*. Vol 76.; 2004. <http://www.FIA.unf.com>
40. Randjelović P, Veljković S, Stojiljković N, et al. The beneficial biological properties of salicylic acid. *Acta Facultatis Medicae Naissensis*. 2015;32(4):259-265. doi:10.1515/afmnai-2015-0026
41. Madan RK, Levitt J. A review of toxicity from topical salicylic acid preparations. *The Journal Of The American Academy Of Dermatology*. 2014;70(4):788-792. doi:10.1016/j.jaad.2013.12.005
42. Gackowska A, Studziński W, Shyichuk A. Intermediates of Hydrogen Peroxide-Assisted Photooxidation of Salicylic Acid: Their Degradation Rates and Ecotoxicological Assessment. *International Journal Of Molecular Sciences*. 2025;26(2). doi:10.3390/ijms26020697

43. Sambyal K, Singh RV. Production of salicylic acid; a potent pharmaceutically active agent and its future prospects. *Critical Reviews In Biotechnology*. 2021;41(3):394-405. doi:10.1080/07388551.2020.1869687
44. Abedi F, Razavi BM, Hosseinzadeh H. A review on gentisic acid as a plant derived phenolic acid and metabolite of aspirin: Comprehensive pharmacology, toxicology, and some pharmaceutical aspects. *Phytotherapy Research*. 2020;34(4):729-741. doi:10.1002/ptr.6573
45. Hessel AB, Cruz-Ramon JC, Klinger DM, Lin AN. Agents used for treatment of hyperkeratosis. *Comprehensive Dermatologic Drug Therapy: Expert Consult - Online and Print*. Published online January 1, 2013:595-603.e2. doi:10.1016/B978-1-4377-2003-7.00051-0
46. Singh P, Roberts MS. Skin permeability and local tissue concentrations of nonsteroidal anti-inflammatory drugs after topical application. *Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics*. 1994;268(1):144-151. doi:10.1016/S0022-3565(25)38459-4
47. Mejías C, Martín J, Santos JL, Aparicio I, Alonso E. Occurrence of pharmaceuticals and their metabolites in sewage sludge and soil: A review on their distribution and environmental risk assessment. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*. 2021;30. doi:10.1016/j.teac.2021.e00125
48. Xu Q, Shi M, Wang S, Qing Y. Study on the Effect of Exogenous Salicylic Acid on Algae Growth in the Environment. In: *E3S Web of Conferences*. Vol 165. EDP Sciences; 2020. doi:10.1051/e3sconf/202016502001
49. Machado Alencar L, Backes dos Santos R, de Jesus Guedes T, et al. Fast and Selective Simultaneous Determination of Acetaminophen, Aspirin and Caffeine in Pharmaceutical Products by Batch Injection Analysis with Multiple Pulse Amperometric Detection. *Electroanalysis*. 2018;30(2):296-303. doi:10.1002/elan.201700721
50. Rabaaoui N, Allagui MS. Anodic oxidation of salicylic acid on BDD electrode: Variable effects and mechanisms of degradation. *Journal Of Hazardous Materials*. 2012;243:187-192. doi:10.1016/j.jhazmat.2012.10.016
51. Abedi F, Razavi BM, Hosseinzadeh H. A review on gentisic acid as a plant derived phenolic acid and metabolite of aspirin: Comprehensive pharmacology, toxicology, and some pharmaceutical aspects. *Phytotherapy Research*. 2020;34(4):729-741. doi:10.1002/ptr.6573

52. Cavalcante FML, Almeida IV, Düsman E, Mantovani MS, Vicentini VEP. Cytotoxicity, mutagenicity, and antimutagenicity of the gentisic acid on HTC cells. *Drug Chem Toxicol.* 2018;41(2):155-161. doi:10.1080/01480545.2017.1322606
53. Sarangdhar VA, Kachave RN. Overview of UHPLC-MS: an Effective and Sensitive Hyphenated Technique. *Journal of Analytical Chemistry.* 2022;77(11):1386-1398. doi:10.1134/S1061934822110119
54. Swartz M. HPLC detectors: A brief review. *Journal Of Liquid Chromatography Related Technologies.* 2010;33(9-12):1130-1150. doi:10.1080/10826076.2010.484356
55. Loney AC, Heck AJR. Native Mass Spectrometry: What is in the Name? *J Am Soc Mass Spectrom.* 2017;28(1):5-13. doi:10.1007/s13361-016-1545-3
56. Brycht M, Baluchová S, Taylor A, et al. Comparison of electrochemical performance of various boron-doped diamond electrodes: Dopamine sensing in biomimicking media used for cell cultivation. *Bioelectrochemistry.* 2021;137. doi:10.1016/j.bioelechem.2020.107646
57. Šefčík M. *Vývoj Elektrochemické Tenkovrstvé Degradální Cely pro Studium Oxidačního Stresu Léčiv.* Diplomová práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta; 2023.
58. Tonnerová B. *Degradální Studie Elektrochemické a Chemické Oxidace Kyseliny Salicylové a Kyseliny Acetylsalicylové.* Diplomová práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Katedra analytické chemie; 2022.