

UNIVERZITA KARLOVA
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Eliška Švárová

MODIFIKACE BOREM DOPOVANÉ DIAMANTOVÉ
ELEKTRODY ELEKTROCHEMICKOU OXIDACÍ
p-AMINONOBENZOOVÉ KYSELINY

Modification of boron doped diamond electrode by
electrochemical oxidation of *p*-aminobenzoic acid

Bakalářská práce

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

Konzultant: doc. RNDr. Karolína Schwarzová, Ph.D.

Praha 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto 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.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 23. srpna 2023.

Poděkování

Ráda bych poděkovala RNDr. Janu Fischerovi, Ph.D. za vedení mé bakalářské práce, trpělivost a ochotu. Jeho cenné rady a připomínky mi byly velmi nápomocné při jejím zpracování. Poděkování patří i doc. RNDr. Karolíně Schwarzové, Ph.D. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za obrovskou podporu během celého studia.

Tato práce byla vypracována za finanční podpory grantu Grantové agentury České republiky (GAČR 23-05688S).

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá modifikací borem dopované diamantové elektrody (BDDE) elektrochemickou oxidací kyseliny *p*-aminobenzoové. Následně byla zkoumána stabilita modifikované elektrody vlivem aplikace různých parametrů.

Modifikace elektrody byla provedena metodou cyklické voltametrie (CV) v elektrolytu LiClO₄. Úspěšnost modifikace a její následná stabilita byla zkoumána též metodou CV v elektrolytu KCl v přítomnosti redoxního systému [Fe(CN)₆]^{4-/3-}.

Stabilita byla testována z hlediska čištění v isopropanolu ultrazvukem a anodického čištění v 0,5 mol l⁻¹ H₂SO₄. Bylo zjištěno, že modifikace povrchu čištěním v isopropanolu ultrazvukem zcela odstranit nelze, naopak při anodickém čištění stačí pro úplně odstranění modifikace pouhý 2s pulz o vysokém kladném potenciálu.

Byly stanoveny optimální podmínky pro stabilitu modifikace povrchu. Ideální počet cyklů při modifikaci povrchu byl stanoven na 5 cyklů. Použitím různých elektrolytů při modifikaci (KClO₄ a LiClO₄) bylo určeno, že v případě modifikace v elektrolytu KClO₄ je možné měřit v rozsahu potenciálového okna od -400 do +1600 mV a v případě LiClO₄ v rozsahu od -400 do +1500 mV bez porušení modifikované vrstvy. Z hlediska stárnutí elektrody se objevila větší stabilita u modifikace v přítomnosti LiClO₄.

Klíčová slova:

Borem dopovaná diamantová elektroda

Cyklická voltametrie

p-aminobenzoová kyselina

Modifikace povrchu elektrody

Grafting

Abstract

This bachelor's thesis deals with the modification of a boron-doped diamond electrode (BDDE) by the electrochemical oxidation of *p*-aminobenzoic acid. Subsequently, the stability of the modified electrode was investigated by a study of various parameters.

The modification of the electrode was performed using cyclic voltammetry (CV) in LiClO₄ electrolyte. The success of the modification and its subsequent stability was investigated by the CV method in electrolyte KCl in the presence of the redox system [Fe(CN)₆]^{4-/3-}.

Stability was tested in terms of ultrasonic cleaning in isopropanol and anodic cleaning in 0.5 mol l⁻¹ H₂SO₄. It was found that the modification of the surface cannot be completely removed by ultrasonic cleaning in isopropanol, in contrast, pulses of period 2 seconds with a high positive potential are enough to completely remove the modification.

Optimal conditions for surface stability were determined. The ideal number of cycles for surface modification was set at 5 cycles. The use of different electrolytes during modification (KClO₄ and LiClO₄) determined that in the case of modification in the KClO₄ electrolyte, it is possible to measure in the range of the potential window from -400 to +1600 mV and in the case of LiClO₄ in the range of -400 to +1500 mV without breaking the modified layers. From the point of view of aging of the electrode, greater stability appeared for the modification in the presence of LiClO₄.

Key words:

Boron-doped diamond electrode

Cyclic voltammetry

p-aminobenzoic acid

Modification of the electrode surface

Grafting

Obsah

Seznam použitých zkratk a symbolů	- 8 -
1 Teoretická část	- 9 -
1.1 Cíl práce	- 9 -
1.2 Borem dopovaná diamantová elektroda	- 9 -
1.2.1 Široké potenciálové okno	- 9 -
1.2.2 Morfologie borem dopované diamantové elektrody	- 10 -
1.2.3 Příprava borem dopovaných diamantových filmů	- 11 -
1.2.4 Modifikace borem dopované diamantové elektrody	- 11 -
1.2.5 H-terminace a O-terminace	- 12 -
1.3 Kovalentní modifikace povrchu	- 13 -
1.3.1 Aplikace modifikovaných elektrod	- 14 -
1.3.2 Možné způsoby modifikace povrchu elektrody	- 14 -
1.3.2.1 Elektrochemická oxidace aminů	- 15 -
1.3.2.2 Redukce diazoniových solí	- 15 -
1.4 Klik chemie	- 17 -
2 Experimentální část	- 18 -
2.1 Použité chemikálie a příprava roztoků	- 18 -
2.2 Použité přístroje	- 18 -
2.3 Příprava roztoků	- 18 -
2.4 Pracovní postupy	- 19 -
2.4.1 Příprava povrchu elektrody k modifikaci	- 19 -
2.4.2 Modifikace povrchu elektrody	- 19 -
2.5 Vyhodnocení cyklických voltamogramů	- 20 -
3 Výsledky a diskuze	- 21 -
3.1 Modifikace elektrody elektrochemickou oxidací <i>p</i> -aminobenzoové kyseliny	- 21 -
3.2 Chování modifikované borem dopované diamantové elektrody v neutrálním a kyselém prostředí	- 22 -
3.3 Stabilita modifikace borem dopované diamantové elektrody	- 23 -
3.3.1 Čištění modifikované elektrody v isopropanolu	- 23 -
3.3.2 Anodická oxidace modifikované elektrody	- 24 -
3.3.3 Závislost proudu píku na počtu cyklů při modifikaci	- 25 -
3.3.4 Porovnání chování elektrody po modifikaci v přítomnosti dvou různých elektrolytů	- 27 -
3.3.4.1 Porovnání modifikované borem dopované diamantové elektrody v kyselém a neutrálním prostředí	- 27 -
3.3.4.2 Stárnutí modifikované elektrody	- 27 -

3.3.4.3 Zvětšování potenciálového okna	- 28 -
4 Závěr.....	- 32 -
5 Seznam použité literatury	- 34 -

Seznam použitých zkratek a symbolů

BDD	Borem dopovaný diamant
BDDE	Borem dopovaná diamantová elektroda
CV	Cyklická voltametrie
E	Potenciál
I	Proud
I_p	Proud píku
pH	Záporný dekadický logaritmus aktivity oxoniových iontů
s_r	Relativní směrodatná odchylka
t	Čas
v	Rychlost polarizace

1 Teoretická část

1.1 Cíl práce

Cílem této bakalářské práce bylo kovalentně navázat kyselinu *p*-aminobenzoovou na borem dopovanou diamantovou elektrodu (BDDE). Touto reakcí lze získat modifikovanou elektrodu, která je základem pro další modifikace k detekci větší škály látek, než je tomu u nemodifikované BDDE. Je také základem pro tvorbu biosenzorů. Následně byl zkoumán vliv různých faktorů na stabilitu takto modifikované BDDE.

1.2 Borem dopovaná diamantová elektroda

Borem dopované diamantové elektrody (BDDE) jsou oblíbeným elektrodovým materiálem z hlediska širokého potenciálového okna (dosahující nejčastěji hodnot kolem 3-3,5 V, cit. ¹), nízkého proudu pozadí, biokompabilitě a výborné chemické a fyzikální stabilitě ve vodných roztocích. BDDE se vyznačují inertností vůči adsorpci, proto je potlačena pasivace elektrod. To umožňuje citlivou a spolehlivou elektrochemickou detekci ².

Kvalita BDDE je založena na několika faktorech – morfologie povrchu, koncentrace obsaženého boru, přítomnost jakéhokoliv nediamantové složky a terminace povrchu. Čistý diamant je elektrický izolant, jehož vodivost lze zvýšit různými dopanty. Nejvíce používaným je bor. Obsah boru ovlivňuje vodivost připravovaného diamantu, a proto ovlivňuje jeho elektrochemické vlastnosti. Bor má nedostatek elektronů ve vnějším obalu, to znamená, že je dobrým akceptorem elektronů. Díky tomu dává diamantovým elektrodám polovodičové vlastnosti typu *p*, cit. ³. Celkový obsah boru, který dopuje diamantový film, je možné stanovit Ramanovou spektrometrií nebo nepřímo pomocí elektrochemických technik. Čím vyšší je obsah boru, tím se generuje vyšší proud pozadí a zužuje potenciálové okno. Zároveň vyšším obsahem boru roste i obsah nediamantových sp^2 uhlíků. Udává se, že ideální obsah je $3 \cdot 10^{20}$ atomů boru na cm^3 diamantu ^{1, 4, 5}.

1.2.1 Široké potenciálové okno

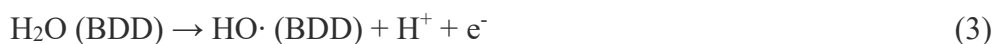
Další významnou vlastností BDD filmu je vynikající mikrostrukturální stabilita při extrémních katodických a anodických potenciálech v případě vodných elektrolytů. Široké potenciálové okno BDDE ve vodném prostředí je způsobeno adsorpcí vody na

povrch BDDE a následné její elektrolýzy. Vlivem toho dochází k pozdějšímu katodickému vývoji vodíku (HER) a anodickému vývoji kyslíku (OER). Vývoje zmíněných plynů vymezují rozsah potenciálového okna ^{6, 7, 8}.

Mechanismus HER byl popsán následujícími rovnicemi. Nejprve dochází k absorpci H^+ na povrch elektrody a následně ke katodické redukci na atomární vodík (Volmerův krok). Tento děj je popsán rovnicí (1). V dalším kroku interaguje atomární vodík absorbovaný na povrchu elektrody s dalším H^+ . Opět dochází k redukci, ale tentokrát na molekulární vodík (Heyrovského krok). Tento děj je popsán rovnicí (2).



V anodické oblasti potenciálů dochází vlivem oxidace k tvorbě hydroxylových radikálů $\cdot OH$. Jedná se o produkty reakce, při které je 1 elektron přenášen z vody při vysokých anodických potenciálech ve vodném prostředí v oblasti $pH < 9,0$ (reakce 3). Tyto hydroxylové radikály jsou navázány na povrch BDD. Následně mohou reagovat mezi sebou nebo s meziprodukty. Typ a distribuce chemických funkčních skupin obsahující kyslík na povrchu polykrystalického BDD závisí na úrovni dopování borem, velikosti zrna a podílu různých orientací zrn ⁹.



1.2.2 Morfologie borem dopované diamantové elektrody

Diamant je extrémně tvrdá krystalická forma uhlíku. Každý uhlík je tetraedricky vázán ke 4 dalším sp^3 hybridizovaným uhlíkům. Kromě diamantových sp^3 uhlíků obsahuje BDDE i nediamantové sp^2 uhlíky. Nižší obsah sp^2 je výhodnější pro elektrokatalytické a elektrosyntetické aplikace. Obsah sp^2 je možné stanovit Ramanovou spektrometrií. V cyklických voltamogramech způsobuje přítomnost sp^2 uhlíků vznik anodického píku proudu, který vzniká ještě před vývojem kyslíku. Při opakovaných skenech se vrchol zmenšuje a mizí během třetího skenu. Čím vyšší je obsah sp^2 nediamantového uhlíku, tím menší je rozsah potenciálového okna mezi vývojem vodíku a kyslíku ve vodných elektrolytech. S vyšším obsahem sp^2 uhlíků se zvětšuje i proud pozadí. V současnosti existuje možnost deaktivace těchto sp^2 uhlíkových nečistot pomocí anodické oxidace ve vodných elektrolytech ^{5, 10}.

1.2.3 Příprava borem dopovaných diamantových filmů

Diamantové elektrody se většinou používají ve formě polykrystalických filmů. Tyto polykrystalické diamantové filmy mohou být vytvořeny technikami chemické depozice z plynné fáze (CVD). Nejčastěji je k tomu využívána směs methanu a vodíku, která je zdrojem uhlíku. K zajištění potřebných elektrochemických vlastností diamantových filmů se do směsi přidávají dopanty boru (např. diboran).

Dochází k chemické reakci probíhající nad substrátem v plynné fázi, která způsobuje ukládání diamantu na tento substrát. Jako substrát se využívá většinou křemík.

Techniky CVD vyžadují pro výrobu diamantových filmů aktivaci prekurzorových molekul, které obsahují uhlík v plynné fázi. Aktivace molekul plynné fáze může být dosažena třemi způsoby: tepelně, prostřednictvím plazmové aktivace a pomocí spalovacího plamene.

Následně probíhá odštěpování vodíku ze stabilních molekul uhlovodíků v plynné fázi a jsou produkovány radikály obsahující uhlík. Tímto způsobem mohou původně nereaktivní uhlovodíky růst na diamantu. Radikály tedy difundují k substrátu a reagují s ním za vzniku vazby C-C. Atomový vodík za CVD podmínek způsobuje zároveň leptání diamantu, ale rychlost růstu převyšuje rychlost leptání. Z toho důvodu může diamant růst.

Morfologie a kvalita výsledných diamantových filmů závidí na přesných podmínkách růstu – na reakčních plynech, jejich směšovacích poměrech a teplotě substrátu. Krystalická morfologie mizí s rostoucím tlakem a vznikají diamantové filmy. Ty získávají amorfni strukturu, která připomíná neuspořádaný grafit. Tato struktura obsahuje malé shluky diamantových nanokrystalů. Specifickými podmínkami se dají vytvořit nanokrystalické a ultrakrystalické diamantové filmy, které mají mnohem hladší povrch a zlepšené elektronické vlastnosti ^{11, 12}.

1.2.4 Modifikace borem dopované diamantové elektrody

Modifikace je způsob, kterým je možné ovlivnit elektrochemické vlastnosti elektrod. Velmi záleží na tom, jaké skupiny jsou na povrch elektrody navázány, protože každá navázaná skupina bude způsobovat rozdílné elektrochemické vlastnosti. Chemická modifikace může být provedena elektrochemicky, plazmochemicky nebo fotochemicky. Pro povrchovou modifikaci byla vyvinuta řada metod, mezi které patří použití elektrostatických interakcí, nespecifické adsorpce, nekovalentní interakce a kovalentní interakce. Oproti ostatním způsobům modifikace má kovalentní interakce výhodu ve

stabilitě, reprodukovatelnosti funkcionalizace povrchu elektrody a snižování nespecifické adsorpce. Modifikace je velmi dobrý způsob pro zajištění zvýšení citlivosti a selektivity při detekci různých látek^{5, 13, 14}.

Cyklická voltametrie (CV) je metoda, která se velmi hojně využívá k rozlišení povrchových stavů diamantu. To je možné, protože reakce přenosu elektronů několika redoxních mediátorů na BDD rozhraní je závislá na mediátoru. Tyto mediátory dělíme na 2 skupiny – přenos elektronu vnější sféry, tzv. ‚*outer-sphere*‘ (např. $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3-/4-}$) a přenos elektronu vnitřní sféry, tzv. ‚*inner-sphere*‘ (např. $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$). V případě přenosu z vnější sféry je kinetika elektronů pro tento typ reakce relativně necitlivá na faktory, jako je povrchové zakončení a mikrostruktura. Při přenosu vnitřní sféry je kinetika elektrody naopak vysoce citlivá na povrchové zakončení elektrody¹⁵. Z toho důvodu je redoxní systém $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ využíván při měření s modifikovanými povrchy.

1.2.5 H-terminace a O-terminace

Diamant se skládá jen z uhlíku, ale při výrobě pomocí chemické depozice z plynné fáze (CVD) se jeho povrch stabilizuje vazbou na vodík (H-terminace). I přes velkou stabilitu H-terminované elektrody se poměrně lehce oxidují (kyslíková plazma, var v kyselině, anodická oxidace apod.). Povrch BDDE se stává O-terminovaným. Výsledný oxidovaný povrch je tak stabilní, že ho lze zpět převést na H-terminovaný pouze vodíkovou plazmou za zvýšené teploty nebo katodickou redukcí.

H-terminace a O-terminace se řadí mezi 2 hlavní způsoby elektrochemické předúpravy BDD povrchů. Právě způsob předúpravy diamantového povrchu velmi ovlivňuje mechanismus přenosu elektronů a zároveň i absorpční vlastnosti povrchu. Povrch terminovaný vodíkem je hydrofobní a má negativní elektronovou afinitu. O-terminovaný povrch je hydrofilní a má kladnou elektronovou afinitu. Provedená předúprava tedy ovlivňuje to, jaké funkční skupiny se budou na BDD povrch vázat. Různé způsoby předúpravy ovlivňují elektrochemické chování přítomných funkčních skupin. To způsobuje značné rozdíly v odezvách v CV. O-terminace způsobuje nižší rychlost přenosu náboje. Tento nižší přenos náboje se projevuje širšími píky ve voltametrii. Pokud jsou na O-terminovaném povrchu navázány skupiny -COOH nebo -OH, za neutrálních či bazických podmínek se tyto skupiny negativně nabíjí. To způsobuje ještě pomalejší přenos náboje, posun píků nebo jejich štěpení.

Dále je možné zmínit mechanický způsob předúpravy leštěním BDD povrchu, kterým vzniká povrch svými vlastnosti více blízký H-terminovanému povrchu^{14, 16, 17}.

1.3 Kovalentní modifikace povrchu

Již v minulosti byla snaha stanovit purinové báze DNA pomocí nemodifikované BDDE, ale přítomné necílové proteiny nebo polysacharidy způsobovaly rušivé signály. Z toho důvodu byla provedena modifikace povrchu elektrody modifikátorem s určitou funkční skupinou. To napomohlo detekci specifického nukleotidu a rušivé signály tímto byly odstraněny. Vznikl druh modifikace, při kterém se váže organická sloučenina kovalentní vazbou k povrchu. Tomuto typu modifikace se přezdívá ‚grafting‘ neboli graftování¹⁸.

Modifikace navázáním biomolekul je možné uskutečnit spontánní chemisorpcí modifikátoru, fyzikální adsorpcí modifikátoru anebo graftingem – kovalentním navázáním modifikátoru obsahující vhodnou skupinu na povrch elektrody. Kovalentní navázání modifikátoru je nejsilnějším možným připojením ze všech zmíněných způsobů modifikace organickými sloučeninami či biomolekulami.

Současně existuje pouze několik metod, které umožňují vytvoření těchto pevných kovalentních vazeb. Nejrozšířenějším způsobem připojení organické sloučeniny k povrchu BDDE je přes aminovou skupinu dané organické sloučeniny. Podobně se mohou navázat i alkoholy nebo karboxyláty. Za podmínek ultravysokého vakua lze nechat BDDE bez obsahu vodíku reagovat s alkeny s obsahem fluoru, chloru nebo perfluorbutylem. V dnešní době se velké pozornosti dostává modifikaci BDDE redukcí diazoniových solí^{18,19}.

Mezi metody, kterými bylo provedeno kovalentní připojení organické sloučeniny k povrchu, se řadí elektrochemická oxidace aminů. Je několik možností, jak provést aminaci povrchu. Současně se pracuje na jednoduchých postupech, pomocí kterých budou na povrch zavedeny organické sloučeniny jedнокrokovou reakcí. To by měly splňovat sloučeniny tvořící na povrchu polymerové filmy. Příkladem mohou být fenoly či aromatické aminy, které tuto tvorbu polymerních filmů na povrchu elektrody způsobují¹⁷.

Existuje mnoho studií o elektrochemii biomolekul na celé řadě povrchů jako např. sklo, křemík a zlato. Od těchto substrátů se muselo ustoupit z důvodu náchylnosti k degradaci. Bylo navrženo, že ideálním podkladem pro navázání biomolekul by mohl být právě diamant díky jeho vlastnostem. Stále ale u diamantových elektrod nenajdeme mnoho studií, které by popisovaly vztahy mezi povrchovou terminací, morfologií, kinetikou přenosu elektronů a adsorpcí biomolekul^{13,20}.

Tenké vrstvy, které vznikly modifikací, byly charakterizovány různými technikami jako jsou např. infračervené spektroskopie, rentgenová fotoelektronová spektroskopie, elipsometrie, mikroskopie atomárních sil či rastrovací tunelová mikroskopie ¹⁴.

1.3.1 Aplikace modifikovaných elektrod

Současně je velmi oblíbená modifikace povrchu využitím DNA a enzymů. Organické funkční skupiny, jako jsou aminoskupiny a karboxylové skupiny navázané kovalentní vazbou na povrch BDDE, mohou sloužit ke kovalentnímu navázání těchto biomolekul.

Existují biologické polymery, které mohou být využity jako vhodný podklad. Příkladem mohou být karboxylové skupiny kyseliny akrylové tvořící polymerní film na povrchu BDDE, které slouží jako vazebná místa pro připojení DNA. Polymer zde zvyšuje přenos elektronů mezi DNA a BDDE ¹⁷.

Velmi často jsou polymerní filmy tvořeny z enzymů, které mohou být využity pro stanovení cílových analytů. Některé enzymy mají poměrně velkou afinitu k O-terminaci povrchu. To je dále využitelné při tvorbě biosenzorů. Příkladem je imobilizace glukózy oxidázy pro stanovení glukózy, který je zatím nejčastěji používaným enzymem pro modifikaci. Dále stojí za zmínění tyrozináza pro detekci fenolických sloučenin ^{17,20}.

Další úspěšné využití této modifikace bylo zaznamenáno v oblasti boji proti rakovině, kdy Weng a kol. dokázali detekovat rakovinové buňky bohaté na folátové receptory (buňky HeLa) pomocí BDDE modifikované kyselinou listovou imobilizovanou na nanočásticích zlata ²¹.

Z jiné oblasti lze zmínit využití modifikace při technikách pro čištění vod. Některé znečišťující látky ovlivňují kvalitu pitné vody a vodních ekosystémů a je obtížné je odstranit konvenčním procesem. Pokud je na povrchu navázána aminová funkční skupina, vykazuje užitečné vlastnosti pro zachycování kationtových, aniontových nebo neutrálních polutantů z vodných médií. Adsorpce je proto považována za jednu z nejvhodnějších, protože je jednoduchá na obsluhu a je možné vybírat ze široké škály adsorpčních materiálů ²².

1.3.2 Možné způsoby modifikace povrchu elektrody

V následných podkapitolách budou popsány dva možné způsoby modifikace BDDE. Jeden z nich se týká elektrochemické oxidace aminů. Jedná se o typ modifikace,

který byl využit i v této bakalářské práci. Druhý popsaný typ modifikace je redukcí diazoniových solí, z důvodu její současné velké oblíbenosti.

1.3.2.1 Elektrochemická oxidace aminů

Jak bylo dříve uvedeno, často probíhá kovalentní připojení organické látky k povrchu přes aminovou skupinu, a to pomocí elektrochemické oxidace. Je možné navázat jak aromatické aminy, tak i ty alifatické. Jediné omezení je z hlediska typu alifatických aminů. Modifikace primárními alifatickými aminy je velmi účinná, ale u sekundárních už reaktivita klesá a terciální nereagují vůbec, nejpravděpodobněji v důsledku sterického bránění¹⁴.

Alifatické aminy jsou oxidovány na elektrodě nevratným jednoelektronovým redoxním procesem. Dochází zde k pomalému přenosu elektronů vedoucí k radikálovému kationtu. Mechanismus navázání aminů na povrch probíhá podle následujících rovnic (4–7).



Nejprve dochází k deprotonaci radikálového kationtu, vzniká uhlíkový radikál a posunem vodíku následně aminylový radikál. Ten se váže na povrch BDDE^{14,23}.

1.3.2.2 Redukce diazoniových solí

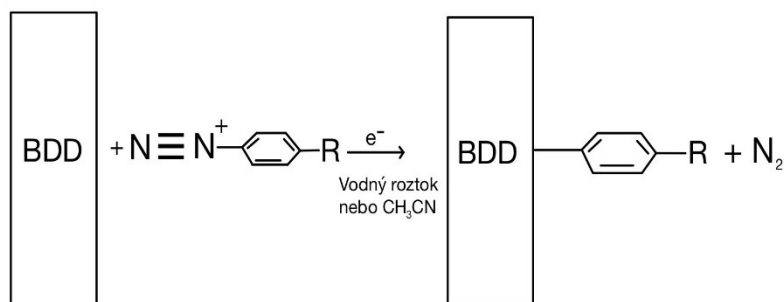
Jak bylo zmíněno, diazoniové soli jsou v současné době velmi hojně využívanou sloučeninou pro modifikaci BDDE. Snadno a rychle se syntetizují z aromatických aminů v jednom kroku. Mnohé z nich jsou již komerčně dostupné. Je možné navázat celou řadu diazoniových solí. Jednou z nevýhod je, že jsou stabilní ve vodném kyselém roztoku jen asi do pH 2–3. V neutrálním a zásaditém pH vznikají diazohydroxidy a diazoáty. Diazoniové soli jsou poměrně lehké na přípravu^{11,14,24}.

K modifikaci může docházet několika způsoby. Je možné ji provádět elektrochemicky, ale i spontánně. Spontánní reakce diazoniových solí na různých substrátech je široce využívána. Spočívá v jednoduchém ponoření substrátu do roztoku diazoniové soli a není nutné k tomu využívat žádné elektrochemické zařízení.

Aby mohla být provedena spontánní reakce, musí být splněny určité podmínky. Při spontánní reakci musí být povrch dostatečně redukován, aby redukoval diazoniovou sůl na radikál, který následně bude schopen reagovat se stejným povrchem. Důležité jsou i redukční vlastnosti diazoniové soli. S obtížně redukovatelnou solí nelze spontánní modifikaci povrchu provádět²⁵.

Nejčastější možnost přípravy je způsobem *in situ* generováním. Tato reakce probíhá při teplotě nižší než 5 °C a reaguje při ní aromatický amin s dusitanem sodným v přítomnosti přebytku kyseliny. Účinnost imobilizace arylových skupin závisí na povaze aminu (primární, sekundární a terciární), délce řetězce alkylového substituentu a poloze substituce na aromatickém kruhu^{26,27}.

Nejjednodušší způsob, jak popsat mechanismus modifikace pomocí diazoniových solí je znázorněn na Obr. 1. Substituovaná aryldiazoniová sůl se redukuje, tedy odevzdává jeden elektron. V důsledku této redukce je povrch modifikován arylovými skupinami. Výsledkem je povrch se silně vázanými arylovými skupinami. Může nastat situace, že arylový radikál vznikne daleko od elektrody. V tom případě může při odštěpení atomu vodíku reagovat s rozpouštědlem nebo je redukován původním radikálovým aniontem. Pokud vzniká arylový radikál daleko od elektrody, nedá se předpokládat, že by difundoval zpět k povrchu a reagoval s ním^{19,28}.



Obr. 1 Modifikace pomocí diazoniových solí²⁸.

V případě elektrochemické modifikace se typicky objevuje na cyklickém voltamogramu ireverzibilní pík při prvním skenu a druhým skenem mizí. To znázorňuje vytvoření organické vrstvy na povrchu, která blokuje přístup dalších diazoniových kationtů k elektrodě. Ireverzibilní pík při prvním skenu vzniká v důsledku štěpení a ztráty N_2 . Po větším počtu opakování cyklů je tvořena čím dál větší vrstva, proto je nutné elektrodu opláchnout za použití ultrazvuku, aby došlo k odstranění sloučenin vytvořených v roztoku a uložených na povrchu elektrody. Vrstva je pevně připojená,

proto odolává opláchnutí v různých rozpouštědlech. Tato odolnost vůči rozpouštědlům a ultrazvuku se běžně využívá jako důkaz existence kovalentní vazby^{14, 25, 28}.

Modifikace redukcí aryldiazoniových solí poskytuje vysoce stabilní organické molekulární vrstvy. Generované arylové radikály však vedou k tvorbě neuspořádaných polyarylových více vrstev, u kterých není možná kontrola nad tloušťkou a organizací vrstev, jelikož první imobilizovaná arylová skupina může být napadena jiným arylovým radikálem. To se vyřešilo použitím aryldiazoniových derivátů nesoucích stericky bráněnou ochrannou skupinu. Po dokončení imobilizace aryldiazoniových solí na povrch se ochranná skupina snadno odstraní. Tím se uvolní funkční skupina, která může sloužit jako vazebné místo pro další organické látky. Příkladem jsou pak diazoniové soli arylalkynu chráněné silylovými skupinami, kdy po odstranění silylových skupin je možné na acetylovou skupinu vázat další organická látka. Této možnosti navázání další organické látky se přezdívá „click chemistry“ (klik chemie)^{29, 30}.

1.4 Klik chemie

Kombinace imobilizace aryldiazoniových solí na povrch a klik chemie v poslední době přitahuje značný zájem o aplikace v nanotechnologiích a biomedicínských vědách. Prvotní záměr využití klik chemie byl v organické syntéze. Současně je to ale jedna z nejužitečnějších metod pro začlenění funkčních skupin do různých materiálů. Poskytuje vysoké výtěžky, velkou toleranci funkčních skupin, necitlivost reakce na rozpouštědla, mírné reakční teploty, možnost práce v homogenních i heterogenních systémech, krátkou reakční dobu a vysokou selektivitu. Rozvoj klik chemie nejvíce napomohl v oblasti přípravy elektrochemických imunosenzorů³¹.

Jedna z nejuniverzálnějších metod pro konjugaci organických skupin s povrchy je mědí katalyzovaná azid-alkynová cykloadice (CuAAC). Jedná se o klik reakci, která probíhá mezi terminálními alkynovými a azidovými skupinami v přítomnosti katalytického systému za mírných reakčních podmínek. Metoda je rychlá, reprodukovatelná, s minimem vedlejších reakcí a vysoce tolerantní k různým reakčním podmínkám³².

2 Experimentální část

2.1 Použité chemikálie a příprava roztoků

Chloristan lithný (98%, Sigma-Aldrich, USA)

Kyselina *p*-aminobenzoová (Carl Roth, Německo)

Chlorid draselný (Lach-Ner, ČR)

Kyselina chlorovodíková (37%, Lach-Ner, Neratovice, ČR)

Kyselina sírová (96%, Lach-Ner, Neratovice, ČR)

Trihydrát hexakynoželezitanu draselného (98%, Sigma-Aldrich, USA)

Chloristan draselný (Buchs SG, Švýcarsko)

Oxid hlinitý – suspenze o velikosti částic 0,5 μm (Elektrochemické detektory, ČR).

Deionizovaná voda (Millipore Mili plus Q System, Billerica, USA) s rezistivitou menší než 18,2 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$

2.2 Použité přístroje

Veškerá elektrochemická měření byla provedena pomocí přístroje Eco-Tribo polarografu (Eco-Trend plus, ČR), který byl propojen se softwarem MultiElChem 3.2. (Ústav fyzikální chemie Jaroslav Heyrovského AV ČR). Měření probíhalo v tříelektrodovém zapojení, kde referenční elektrodou byla argentchloridová (3 mol l^{-1} KCl, Elektrochemické detektory, ČR), pomocnou byl platinový drátek (Elektrochemické detektory, ČR) a jako pracovní sloužila borem dopovaná diamantová elektroda s poměrem dopování B/C 230 000 ppm (Fyzikální ústav AV ČR) o ploše 33 mm^2 . Pracovní elektroda byla během měření umístěna do skleněné cely s gumovým těsněním, které na ní vymezovalo disk o průměru 3 mm a ploše 7,1 mm^2 . Voltamogramy byly dále vyhodnocovány v programu OriginPro 2023.

2.3 Příprava roztoků

Základním elektrolytem pro modifikaci byl LiClO_4 o koncentraci $0,75 \text{ mol l}^{-1}$, který byl připraven odvážením příslušného množství LiClO_4 a následným rozpuštěním v deionizované vodě. V další fázi experimentu se pro modifikaci využíval elektrolyt KClO_4 o koncentraci 78 mmol l^{-1} . Ten byl připraven odvážením požadovaného množství KClO_4 a rozpuštěním v deionizované vodě.

Elektroda byla modifikována kyselinou *p*-aminobenzoovou o koncentraci 15 mmol l⁻¹. Tento roztok kyseliny byl připraven odvážením patřičného množství kyseliny *p*-aminobenzoové a jeho rozpuštěním v deionizované vodě.

Chování modifikované elektrody bylo zkoumáno v elektrolytech KCl a HCl. Elektrolyt KCl o koncentraci 1 mol l⁻¹ byl připraven odvážením příslušného množství KCl a následným rozpuštěním v deionizované vodě. Elektrolyt HCl o koncentraci 0,5 mol l⁻¹ byl připraven zředěním 37% roztoku HCl deionizovanou vodou.

Dále byl připraven marker K₄[Fe(CN)₆] o koncentraci 0,1 mol l⁻¹, kdy se odvážilo potřebné množství K₄[Fe(CN)₆] · 3 H₂O a tato navážka se rozpustila v deionizované vodě.

Při anodickém čištění povrchu elektrody se využívala H₂SO₄ o koncentraci 0,5 mol l⁻¹. Tento roztok byl připraven zředěním 96% H₂SO₄ deionizovanou vodou.

2.4 Pracovní postupy

Při každém měření byla BDDE umístěna do dna skleněné nádoby s gumovým těsněním společně s alobalem, který zajišťoval vedení elektrického proudu. Do měřicí nádoby byl vždy pipetován 1 ml elektrolytu a 100 μl markeru či modifikátoru. Ve všech případech měření byla využita metoda cyklické voltametrie (CV) a není-li uvedeno jinak, byla rychlost skenu 100 mV s⁻¹.

2.4.1 Příprava povrchu elektrody k modifikaci

Před každou modifikací povrchu elektrody byla elektroda leštěna krouživými pohyby vodnou suspenzí oxidu hlinitého po dobu 2 minut. Následně byla důkladně opláchnuta deionizovanou vodou, usušena buničinou a umístěna do měřicí skleněné nádoby. Čistota povrchu elektrody byla otestována skenem v elektrolytu KCl o koncentraci 1 mol l⁻¹ s obsahem markeru [Fe(CN)₆]⁴⁻ o koncentraci 0,1 mol l⁻¹. Pro kontrolu byly prováděny 3 skeny CV.

2.4.2 Modifikace povrchu elektrody

Při modifikaci byly využity 2 různé elektrolyty – 0,75 mol l⁻¹ LiClO₄ a 78 mmol l⁻¹ KClO₄. K elektrolytu byl dále přidán modifikátor – 15 mmol l⁻¹ kyselina *p*-aminobenzoová. Měření probíhalo v potenciálovém okně v rozsahu od 0 do +1200 mV. Nejprve byl změřen pouze základní elektrolyt, poté byl k němu přidán modifikátor. V tomto případě byl prováděn 1 sken.

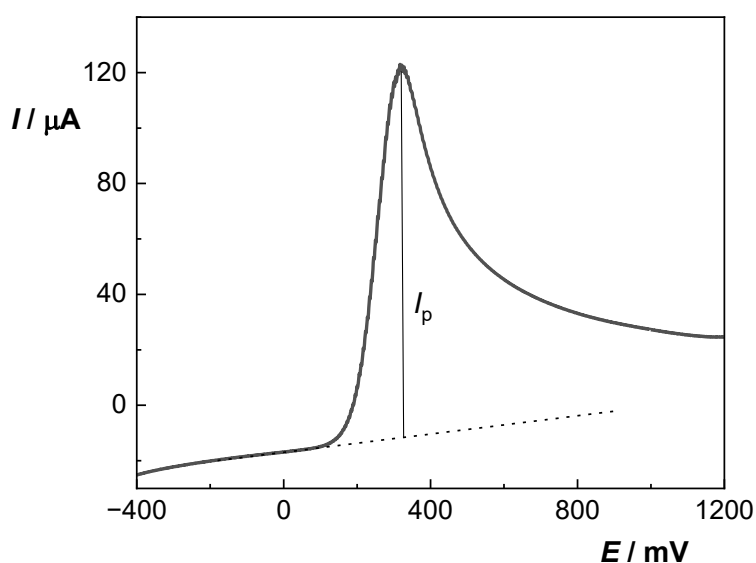
Úspěšnost modifikace byla dokazována chováním v roztocích 0,5 mol l⁻¹ HCl

a 1 mol l^{-1} KCl s přidavkem markeru $0,1 \text{ mol l}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$. Nejprve byl opět změřen samotný elektrolyt a následně bylo provedeno měření s přidavkem markeru. Byly prováděny 3 skeny elektrolytu a následně 3 skeny po přidavku markeru. Měření probíhala v rozmezí potenciálů od -400 mV do $+1200 \text{ mV}$. Vždy byly prováděny 2 cykly CV.

Následně byla sledována stabilita modifikace elektrody vlivem testovaných podmínek. Po aplikaci těchto určitých podmínek byl vždy stav modifikace kontrolován metodou CV v elektrolytu 1 mol l^{-1} KCl s přidavkem markeru $0,1 \text{ mol l}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$. I v tomto případě byly provedeny 3 skeny a šířka potenciálového okna byla nastavena v rozsahu od -400 do $+1200 \text{ mV}$. Počet cyklů CV byl 2.

2.5 Vyhodnocení cyklických voltamogramů

Všechny voltametrické křivky byly vyhodnocovány v programu MultiElChem 3.2. Proudové píky cyklických voltamogramů byly vyhodnoceny prodloužením základní linie, která vedla před daným píkem, a byla odečtena výška proudu v jeho maximu (Obr. 2).



Obr. 2 Postup vyhodnocování velikosti proudu píku.

Z dat zpracovaných v programu MultiElChem 3.2. byly následně zhotoveny grafy v OriginPro 2023. Při tvorbě grafů cyklických voltamogramů byl vždy využíván druhý cyklus měření.

V případě výpočtů směrodatných odchylek bylo použito 5 hodnot měření. Výpočet byl proveden v programu Microsoft Excel.

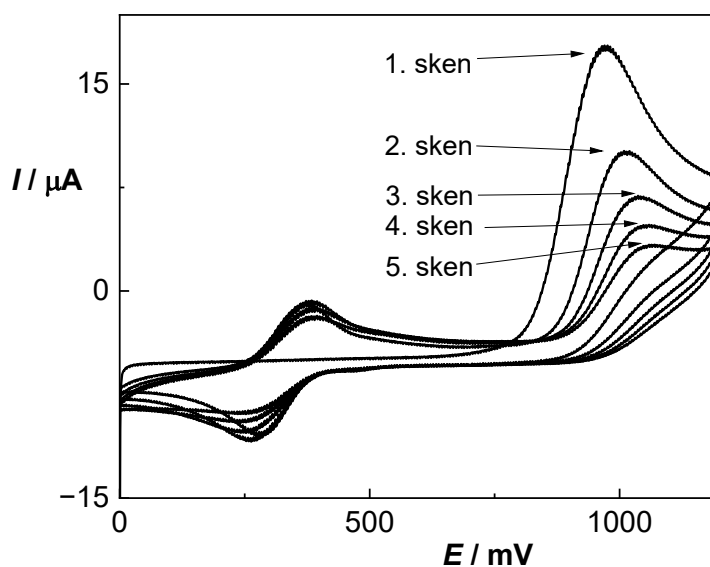
3 Výsledky a diskuze

3.1 Modifikace elektrody elektrochemickou oxidací *p*-aminobenzoové kyseliny

Experiment byl prováděn za účelem navázání *p*-aminobenzoové kyseliny na povrch elektrody. Díky karboxylové skupině *p*-aminobenzoové kyseliny mohou být navázány další biomolekuly. To může být využito při další aplikaci jako např. při tvorbě biosenzorů.

Metodou CV byla provedena modifikace povrchu BDDE elektrochemickou oxidací *p*-aminobenzoové kyseliny. Před každou modifikací byl povrch elektrody leštěn aluminou. Jako elektrolyt byl používán $0,75 \text{ mol l}^{-1} \text{ LiClO}_4$ s přidávkou modifikátoru 15 mmol l^{-1} *p*-aminobenzoové kyseliny. Měření probíhalo v rozmezí potenciálů od 0 k $+1200 \text{ mV}$. Při modifikaci povrchu BDDE, pokud není zmíněno jinak, bylo prováděno 5 cyklů při rychlosti $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. Tyto podmínky byly převzaty z článku³³.

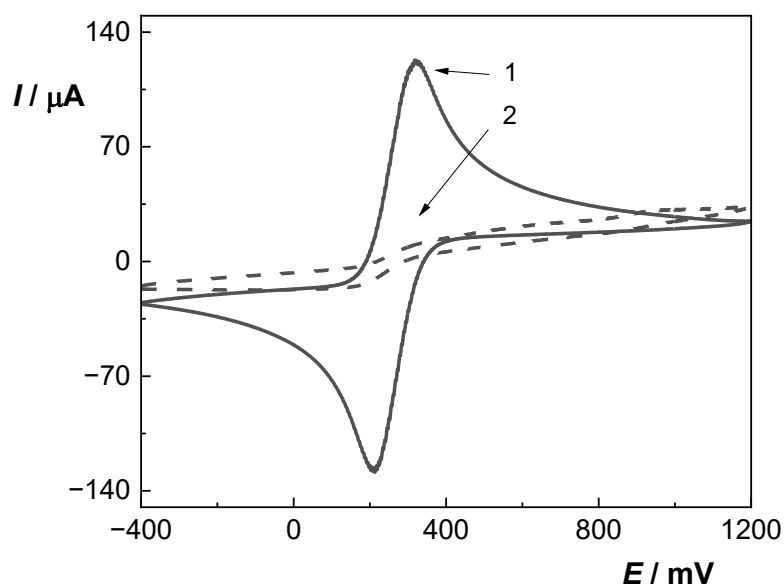
Při prvním skenu na Obr. 3 se objevil anodický pík při potenciálu 1000 mV . Ten byl přiřazen elektrochemické oxidaci aminoskupiny *p*-aminobenzoové kyseliny na její kationtový radikál. Se zvyšujícím se počtem cyklů tento pík klesal. Pokles byl způsoben imobilizací organické vrstvy na elektrodě a tím docházelo k blokování přenosu elektronů mezi povrchem elektrody a elektrochemicky aktivními sloučeninami.



Obr. 3 Cyklické voltamogramy na BDDE ($v = 100 \text{ mV s}^{-1}$) v $0,75 \text{ mol l}^{-1} \text{ LiClO}_4$ vodného roztoku obsahující 15 mmol l^{-1} *p*-aminobenzoové kyseliny.

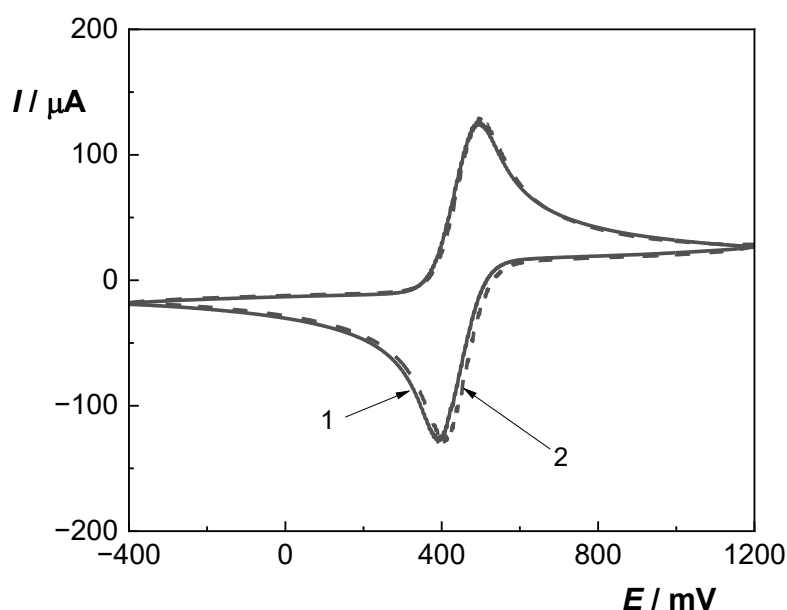
3.2 Chování modifikované borem dopované diamantové elektrody v neutrálním a kyselém prostředí

Bylo prokázáno, že v přítomnosti neutrálního elektrolytu KCl dochází k omezení přenosu elektronu mezi BDDE a $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. Karboxylová skupina navázané *p*-aminobenzoové kyseliny je při neutrálním pH v disociované formě a z toho důvodu dochází vlivem elektrostatického odpuzování k omezené difúzi $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ k povrchu BDD. Toto omezení přenosu elektronu se projevuje zmizením oxidačního i redukčního píku (Obr. 4).



Obr. 4 Cyklické voltamogramy ($\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$) $0,1 \text{ mol l}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ v $1 \text{ mol l}^{-1} \text{ KCl}$ na nemodifikované (1 – plná křivka) a modifikované (2 – čárkovaná křivka) BDDE.

Naopak při použití HCl jako elektrolytu je pH roztoku v kyselé oblasti a karboxylová skupina *p*-aminobenzoové kyseliny je v nedisociované formě. K elektrostatickému odpuzování tedy nedochází, tudíž výměna elektronu mezi $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ a modifikovanou BDDE probíhá bez problému. Cyklický voltamogram modifikované BDDE je proto totožný s cyklickým voltamogramem nemodifikované elektrody (Obr. 5).



Obr. 5 Cyklické voltamogramy ($v = 100 \text{ mV s}^{-1}$) $0,1 \text{ mol l}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ v $0,5 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCl}$ na modifikované (1 – plná křivka) a nemodifikované (2 – čárkovaná křivka) BDDE.

3.3 Stabilita modifikace borem dopované diamantové elektrody

V této podkapitole bylo cílem zjistit, jak ovlivňují různé podmínky modifikaci BDDE, a tedy zjistit ideální podmínky pro co nejlepší možnou stabilitu modifikované elektrody.

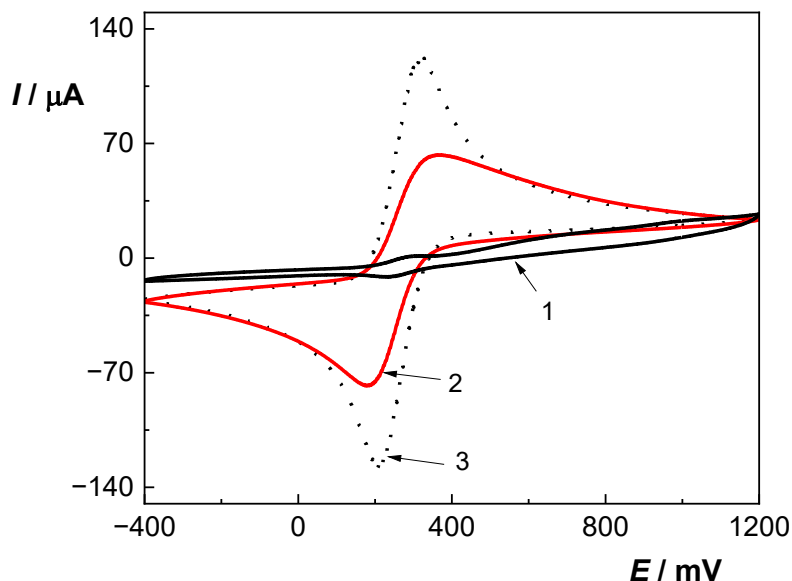
3.3.1 Čištění modifikované elektrody v isopropanolu

Cílem tohoto experimentu bylo zjistit, zda je možné modifikaci zcela odstranit čištěním v isopropanolu ultrazvukem. Z hlediska tohoto experimentu lze dedukovat, jak silně je organická vazba navázána na povrch BDDE.

Modifikovaná BDDE byla čištěna v isopropanolu ultrazvukem po dobu 5 minut při teplotě $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Stav povrchu BDDE byl kontrolován v $1 \text{ mol l}^{-1} \text{ KCl}$ s $0,1 \text{ mol l}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ metodou CV.

Na Obr. 6 si lze všimnout, že křivka modifikované elektrody po čištění v isopropanolu se nachází téměř přesně mezi křivkou modifikované elektrody a nemodifikované. Z toho je možné dedukovat, že modifikace je narušena, ale nedochází k úplné obnově povrchu, proto tato metoda není vhodná pro odstranění modifikace elektrody. To je i důkaz toho, že kovalentní vazba mezi povrchem BDDE a

p-aminobenzoovou kyselinou je silná.



Obr. 6 Cyklické voltamogramy ($\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$) $0,1 \text{ mol l}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ v $1 \text{ mol l}^{-1} \text{ KCl}$ na modifikované BDDE (1 – plná černá křivka), na BDDE po čištění v isopropanolu bezprostředně po modifikaci (2 – plná červená křivka) a na nemodifikované BDDE (3 – tečkovaná černá křivka).

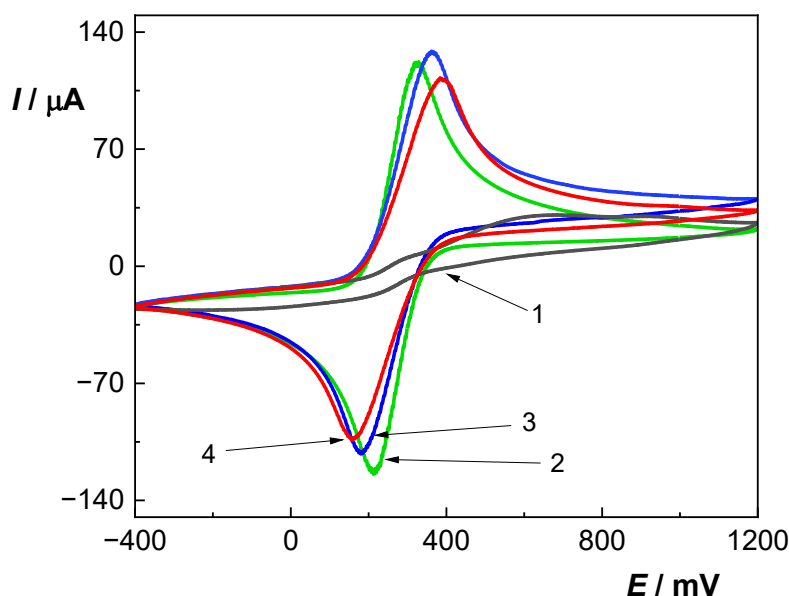
3.3.2 Anodická oxidace modifikované elektrody

Anodická aktivace je běžným postupem pro obnovu povrchu BDDE. Při vysokých kladných potenciálech a v kyselém prostředí dochází k terminaci povrchu kyslíkem a lze odstranit veškeré nečistoty z povrchu elektrody.

Stabilita modifikace byla testována vkládáním krátkých pulzů o velikosti $+2400 \text{ mV}$ v $0,5 \text{ mol l}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$. Jednalo se o anodickou oxidaci BDDE. Následně byla provedena kontrola modifikace v $1 \text{ mol l}^{-1} \text{ KCl}$ s obsahem $0,1 \text{ mol l}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ metodou CV.

Už při vložení pulzu o délce trvání $0,5 \text{ s}$ docházelo k téměř úplné obnově povrchu BDDE, jak je patrné z grafu na Obr. 7. K úplné obnově povrchu dochází při pulzu o délce trvání 2 s .

Anodická oxidace je vhodnou metodou pro vyčištění elektrody, protože k obnově povrchu dochází po velmi krátkém časovém úseku.



Obr. 7 Cyklické voltamogramy ($v = 100 \text{ mV s}^{-1}$) $0,1 \text{ mol l}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ v $1 \text{ mol l}^{-1} \text{ KCl}$ na modifikované BDDE (1 – černá křivka) a po vložení pulzu o velikosti 2400 mV po dobu a) 2 s (2 – zelená křivka), b) 1 s (3 – modrá křivka), c) 0,5 s (4 – červená křivka).

3.3.3 Závislost proudu píku na počtu cyklů při modifikaci

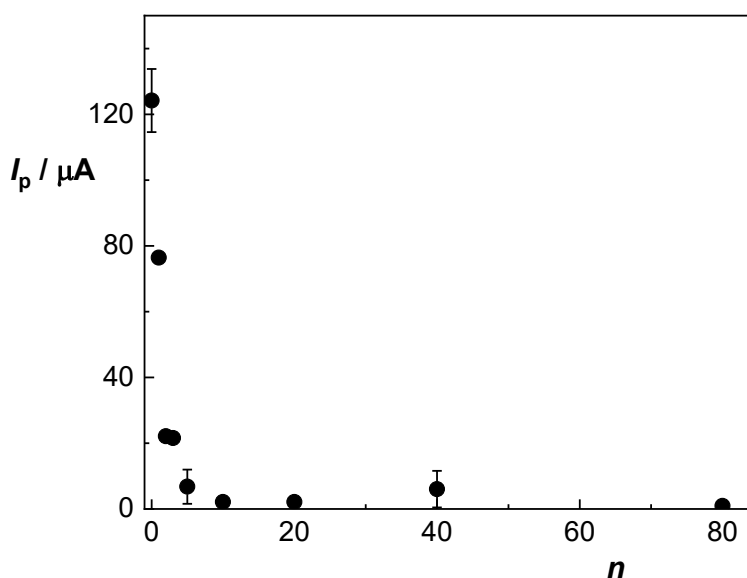
Předmětem pozorování bylo, jak závisí počet cyklů při modifikaci na stabilitě modifikované BDDE. Modifikace elektrody byla provedena s 1, 2, 5, 10, 20, 40 a 80 cykly metodou CV. Následně byla stabilita modifikace BDDE měřena v $1 \text{ mol l}^{-1} \text{ KCl}$ s přidavkem $0,1 \text{ mol l}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$.

V grafu na Obr. 8 lze pozorovat, že použití 1, 2 a 3 cyklů je nedostačující, protože byl naměřen vyšší proud píku ve srovnání s proudem píku při běžně využívaných 5 cyklech. Jedná se tedy o neúspěšnou modifikaci BDDE. Minimální počet cyklů pro tvorbu stabilní organické vrstvy na povrchu BDDE je proto 5. S rostoucím počtem cyklů už se proudy píků zásadně nemění, proto je vhodné pracovat s 5 cykly.

U počtu cyklů 0, 5 a 40 byla vypočtena směrodatná odchylka a následně vynesena do grafu na Obr. 8. U ostatních počtů cyklů se měření provádělo pouze jednou z hlediska časové náročnosti experimentu. Z toho důvodu byly vybrány pro výpočet pouze tyto 3 hodnoty. Směrodatná odchylka byla vypočtena ke zjištění reprodukovatelnosti měření. Jinak řečeno nám říká, jestli je metoda stanovení přesná, či zda je více zatížena chybou. Díky směrodatné odchylce je možné tvrdit, že modifikace při počtu cyklů 5 se výrazně neliší od modifikace při větším počtu cyklů.

Směrodatná odchylka u nemodifikované BDDE (počet cyklů 0) je větší než u zbývajících počtů cyklů. To je nejspíše způsobeno tím, že před každým jednotlivým měřením byla nemodifikovaná elektroda leštěna. Doba leštění nebo prodleva mezi leštěním a vlastním měření se může projevit na výsledku měření. Do výpočtu směrodatné odchylky byly použity hodnoty naměřené v různých časových úsecích. U počtu cyklů 0 byla zahrnuta měření v rozpětí necelých 2 měsíců a v případě počtu cyklů 5 a 40 byla všechna měření provedena v 1 den. Z tohoto důvodu se toto větší časové rozpětí mohlo projevit větší směrodatnou odchylkou. V případě počtu cyklů 5 a 40 není směrodatná odchylka tak velká jako u počtu cyklů 0. Směrodatné odchylky u počtu cyklů 5 a 40 jsou velmi podobné.

Závěrem tohoto experimentu lze říct, že ideální počet pro provádění modifikace je 5 cyklů, protože větší počet cyklů se výrazným způsobem neodlišuje od počtu cyklů 5 a též by byl větší počet cyklů časově náročný. Směrodatná odchylka u nemodifikované elektrody je větší ve srovnání s ostatními vypočtenými kvůli aspektům jako doba leštění a možné prodlevě mezi leštěním a vlastním měřením. Směrodatné odchylky u počtu cyklů 5 a 40 jsou si podobné, proto lze potvrdit, že počet cyklů 5 pro modifikaci je dostačující.



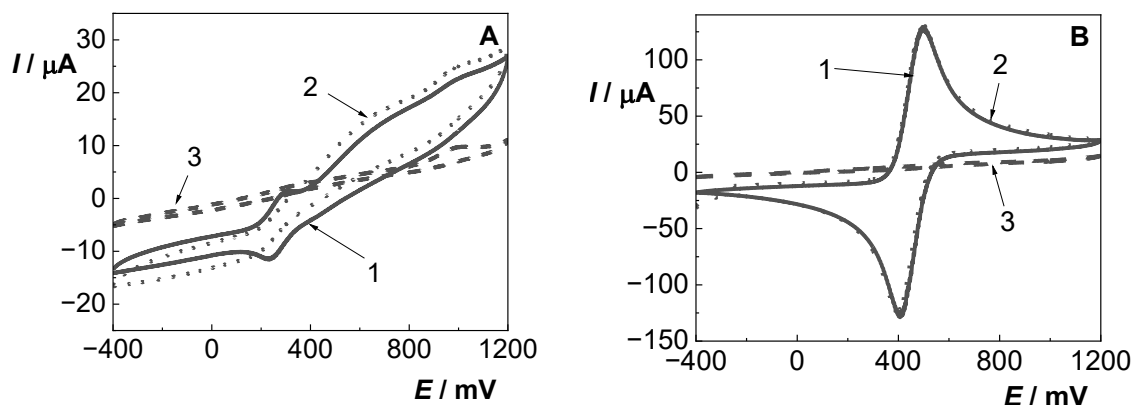
Obr. 8 Závislost proudu anodického píku na počtu cyklů použitých při modifikaci BDDE a následné měření v roztoku $0,1 \text{ mol l}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ a $1 \text{ mol l}^{-1} \text{ KCl}$. Pouze u 0, 5 a 40 cyklů vynesena směrodatná odchylka.

3.3.4 Porovnání chování elektrody po modifikaci v přítomnosti dvou různých elektrolytů

Při modifikaci byly využívány dva různé elektrolyty – KClO_4 a LiClO_4 . Na počátku byl pro modifikaci využíván $0,75 \text{ mol l}^{-1}$ LiClO_4 , který byl již dříve ověřen³³. Cílem bylo zjistit, zda dražší varianta LiClO_4 hraje podstatnou roli při modifikaci nebo naopak bude dostačující levnější varianta KClO_4 . V prostředí KClO_4 bylo dosaženo stejných výsledků jako u elektrolytu LiClO_4 . K měření byl využíván 78 mmol l^{-1} KClO_4 . Elektrolyt KClO_4 musel být zředěnější než LiClO_4 kvůli jeho menší rozpustnosti.

3.3.4.1 Porovnání modifikované borem dopované diamantové elektrody v kyselém a neutrálním prostředí

Modifikace BDDE pomocí elektrolytu KClO_4 byla porovnána s modifikací za přítomnosti elektrolytu LiClO_4 . Porovnání bylo prováděno v 1 mol l^{-1} KCl s přídavkem $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ (Obr. 9A) a v $0,5 \text{ mol l}^{-1}$ HCl s přídavkem $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ (Obr. 9B). Z obrázků je patrné, že chování obou modifikovaných BDDE je téměř totožné. V případě využití elektrolytu KClO_4 dokonce dochází k úplnému potlačení oxidačních a redukčních píků.



Obr. 9 Cyklické voltamogramy ($\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$) modifikované BDDE v $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ a 1 mol l^{-1} KCl (graf A) a $0,5 \text{ mol l}^{-1}$ HCl (graf B) v případě použití elektrolytu LiClO_4 (1 – plná křivka) a KClO_4 (2 – tečkovaná křivka) během modifikace. V grafech zobrazen průběh základního elektrolytu KCl a HCl (3 – čárkovaná křivka).

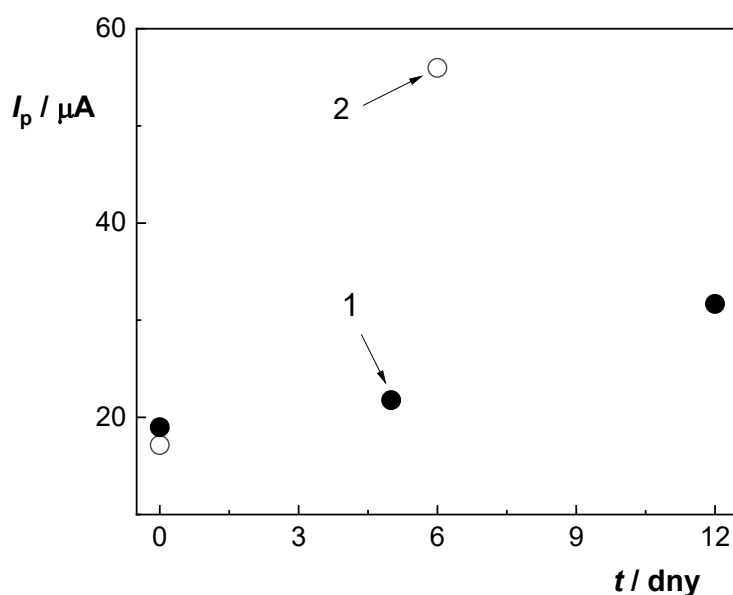
3.3.4.2 Stárnutí modifikované elektrody

Cílem bylo zjistit, jak se bude projevovat modifikace v průběhu času a po jakou

dobu zůstává modifikace povrchu elektrody stabilní.

V případě obou elektrolytů použitých při modifikaci byla pozorována stabilita imobilizované vrstvy v závislosti na čase uplynulém od modifikace. Velikost proudu píku se měřila pátý a dvanáctý den od modifikace v případě elektrolytu LiClO_4 a šestý den v případě elektrolytu KClO_4 . Ve srovnání s nemodifikovanou elektrodou, jejíž proud píku se pohyboval kolem $120 \mu\text{A}$, dosahoval proud píku modifikované BDDE využitím elektrolytu KClO_4 téměř poloviční hodnoty už šestý den od modifikace. Využitím elektrolytu LiClO_4 proud píku byl třetinový až dvanáctý den po modifikaci. Modifikace byla kontrolována v $1 \text{ mol l}^{-1} \text{ KCl}$ s $0,1 \text{ mol l}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ metodou CV.

Z grafu na Obr. 10 je patrné, že nárůst velikosti proudu píku je pro KClO_4 mnohem větší než pro elektrolyt LiClO_4 . Z hlediska toho lze říct, že využití elektrolytu LiClO_4 vede ke stabilnější modifikaci, ale bylo by nutné ověřit reprodukovatelnost výsledku, protože experiment byl prováděn pouze jednou.

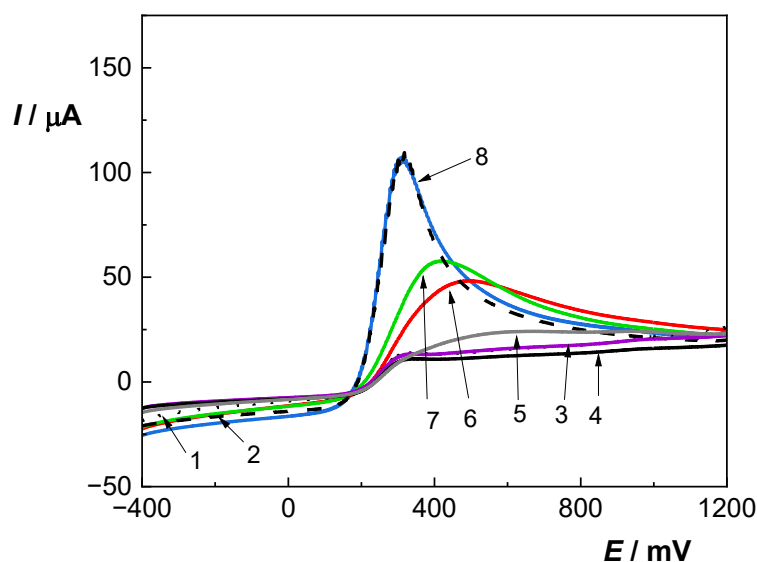


Obr. 10 Závislost proudu píku na počtu dnů uplynulých od modifikace BDDE. Měřeno v roztoku $0,1 \text{ mol l}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ a $1 \text{ mol l}^{-1} \text{ KCl}$. Modifikace byla prováděna v LiClO_4 (1 – plné body) a KClO_4 (2 – prázdné body).

3.3.4.3 Zvětšování potenciálového okna

Metodou CV byla zkoumána stabilita modifikace BDDE zvětšováním potenciálového okna. Cílem bylo zjistit, v jakém rozsahu potenciálového okna je modifikace ještě stále stabilní a je při ní bezpečné měřit bez jejího narušení.

Graf na Obr. 11 zobrazuje stabilitu modifikované BDDE v elektrolytu LiClO_4 , která byla měřena v 1 mol l^{-1} KCl s přidavkem $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$. Z měření vyplývá, že modifikace zůstává stabilní v rozsahu potenciálového okna od -400 do $+1500$ mV. Už při potenciálovém okně od -400 do $+1600$ mV dochází ke zvýšení signálu, a tedy narušení vazby mezi BDDE a imobilizovanou *p*-aminobenzoovou kyselinou.



Obr. 11 Oxidační píky měřené cyklickou voltametrií ($\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$) modifikované v elektrolytu $0,75 \text{ mol l}^{-1}$ LiClO_4 (1 – černá tečkovaná křivka, překryta fialovou křivkou) a nemodifikované (2 – černá čárkovaná křivka) elektrody v 1 mol l^{-1} KCl a $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ při potenciálovém okně od -400 do $+1200$ mV a následně po měření v potenciálovém okně od -400 do $+1500$ mV (3 – fialová křivka), od -400 do $+1600$ mV (4 – černá plná křivka), od -400 do $+1700$ mV (5 – šedá křivka), od -400 do $+1800$ mV (6 – červená křivka), od -400 do $+2000$ mV (7 – zelená křivka) a od -400 do $+2200$ mV (8 – modrá křivka).

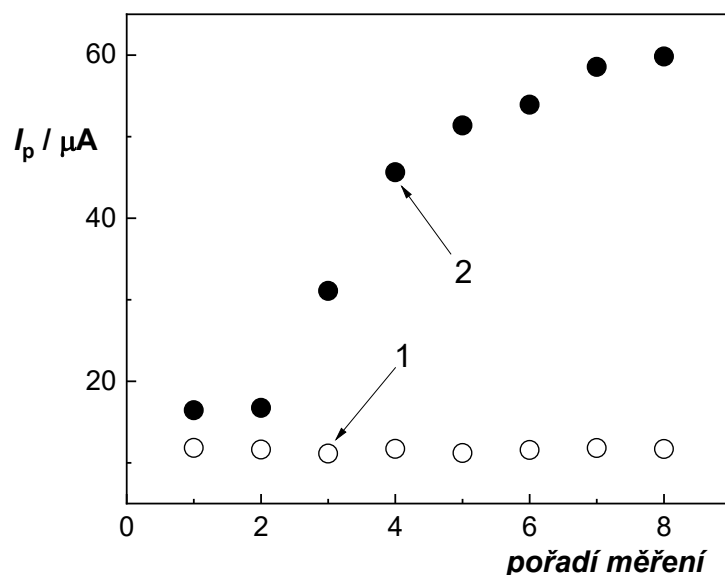
V případě modifikace s využitím LiClO_4 jako elektrolytu byly provedeny dva cykly CV v potenciálovém okně od -400 do $+1500$ mV. Následně se potenciálové okno zúžilo na rozsah od -400 do $+1200$ mV a bylo naměřeno 8 cyklů metodou CV. Měření bylo prováděno v 1 mol l^{-1} KCl s přidavkem $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$. Cílem bylo zjistit, zda se původním rozšířením potenciálového okna narušila stabilita modifikace nebo zda je bezpečné při tomto potenciálovém okně dále pracovat. Stejný postup se provedl u rozsahu potenciálového okna od -400 do $+1600$ mV. V případě modifikace v elektrolytu KClO_4 bylo provedeno totéž, s tím rozdílem, že potenciálová okna byla nastavena do

hodnot 1600 mV a 1700 mV, protože bylo předběžným měřením zjištěno, že v této oblasti je imobilizovaná vrstva ještě stále poměrně stabilní.

Z grafů na Obr. 12 a Obr. 13 vyplývá, že v případě využití elektrolytu LiClO_4 byla modifikace BDDE ještě stále stabilní, pokud CV byla prováděna v rozsahu od -400 do $+1500$ mV (Obr. 12). Důkazem bylo to, že proud píku se s opakováním cyklů metodou CV v rozsahu potenciálů od -400 do $+1200$ mV neměnil. Naopak v rozsahu od -400 do $+1600$ mV je vidět, že modifikace je vyšším nastaveným potenciálem narušena a s počtem provedených cyklů metodou CV roste i proud píku. Ten samý případ byl pozorován i při využití elektrolytu KClO_4 , ale v tomto případě byla modifikace stabilní do potenciálu 1600 mV. K narušení došlo až při potenciálu 1700 mV.

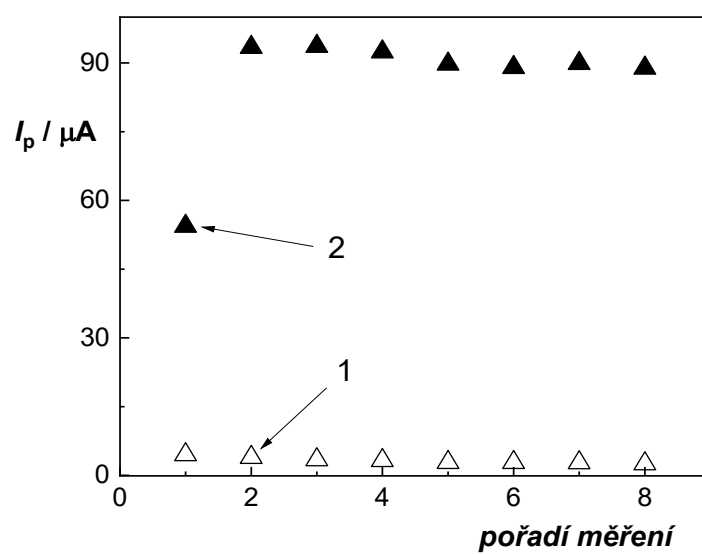
Porovnáním grafů na Obr. 12 a Obr. 13 si lze všimnout, že proud píku na Obr. 12 roste s opakováním měření pozvolna, zatímco na Obr. 13 je tato změna skoková a po druhém měření konstantní. Proud píku po 8 cyklech i dosahuje vyšší hodnoty, než je tomu na Obr. 12.

V případě elektrolytu KClO_4 můžeme využít vyšší rozsah potenciálů, tedy od -400 do $+1600$ mV, ve srovnání s elektrolytem LiClO_4 , kde je bezpečný rozsah potenciálů pouze v rozmezí od -400 do $+1500$ mV.



Obr. 12 Závislost proudu píku na pořadí měření při potenciálu od -400 do $+1500$ mV (1 – prázdné kruhové body) a při potenciálu od -400 do $+1600$ mV (2 – plné kruhové body) v roztoku $0,1 \text{ mol l}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ a $1 \text{ mol l}^{-1} \text{ KCl}$ v případě použití

elektrolytu LiClO_4 .



Obr. 13 Závislost proudu píku na počtu měření při potenciálu od -400 do $+1600$ mV (1 – prázdné trojúhelníky) a při potenciálu od -400 do $+1700$ mV (2 – plné trojúhelníky) v roztoku $0,1 \text{ mol l}^{-1} [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ a $1 \text{ mol l}^{-1} \text{ KCl}$ v případě KClO_4 .

4 Závěr

Podářilo se elektrochemickou oxidací kyseliny *p*-aminobenzoové modifikovat povrch borem dopované diamantové elektrody (BDDE) využitím elektrolytu LiClO₄. Úspěšnost modifikace byla ověřena v elektrolytech KCl a HCl s obsahem redoxního systému [Fe(CN)₆]^{3-/4-}. V kyselém elektrolytu HCl nedocházelo na cyklických voltamogramech k žádným změnám oproti nemodifikovanému povrchu. V případě neutrálního elektrolytu KCl došlo k potlačení anodického i katodického píku vlivem elektrostatického odpuzování. To vedlo k omezení difúze [Fe(CN)₆]^{3-/4-} k povrchu elektrody.

Anodickou oxidací byl povrch zcela obnoven už po 2 s. To je důkazem, že toto vkládání vysoce kladných potenciálů v kyselém prostředí je vhodným způsobem obnovy povrchu. Čištění povrchu elektrody v isopropanolu ultrazvukem vedlo k narušení modifikace nevedlo, ale ne k úplné obnově povrchu.

Bylo zjištěno, že optimální počet cyklů pro vytvoření stabilní modifikace je 5. Při menším počtu cyklů byla na cyklických voltamogramech pozorována nedostatečná modifikace povrchu elektrody. Při vyšším počtu cyklů se signál nelišil od výsledku při počtu cyklů 5. Z časového hlediska je 5 cyklů pro modifikaci nejvíce vyhovujícím.

Porovnáním elektrolytů KClO₄ a LiClO₄ využitých při modifikaci bylo zjištěno, že jejich chování je téměř totožné. Z tohoto hlediska je možné využívat levnější variantu elektrolytu KClO₄ namísto dražší varianty LiClO₄.

Dalším aspektem bylo stárnutí elektrody, kde bylo zjištěno, že modifikace v elektrolytu LiClO₄ se projevila jako stabilnější, protože proud píku v případě elektrolytu LiClO₄ nedosahoval ani 12 dní po modifikaci takových hodnot jako šestý den po modifikaci při využití elektrolytu KClO₄.

Poslední částí pozorování bylo zvětšování potenciálového okna, kdy v případě elektrolytu LiClO₄ byla pozorována stabilita modifikované elektrody v rozsahu potenciálů do +1500 mV. Využitím elektrolytu KClO₄ byla tato modifikovaná elektroda stabilní v rozsahu do +1600 mV. Modifikace v elektrolytu KClO₄ může být využita pro měření při o něco málo větším rozsahu potenciálového okna.

Tato bakalářská práce shrnuje optimální podmínky pro tvorbu stabilní

modifikované BDDE a popisuje stabilitu takto modifikované elektrody. To je důležitý aspekt pro její další využití.

5 Seznam použité literatury

1. Rehacek, V.; Hotovy, I.; Marton, M.; Mikolasek, M.; Michniak, P.; Vincze, A.; Kromka, A.; Vojs, M. Voltammetric characterization of boron-doped diamond electrodes for electroanalytical applications. *J. Electroanal. Chem.* 862, 114020 (2020)
2. Kondo, T. Recent electroanalytical applications of boron-doped diamond electrodes. *Curr. Opin. Electrochem.* 32, 100891, (2022)
3. Enache, T.A.; Chiorcea-Paquim, A-M.; Fatibello-Filho, O.; Oliveira-Brett, A.M. Hydroxyl radicals electrochemically generated in situ on a boron-doped diamond electrode, *Electrochem. Commun.* 11(7), 1342-1345 (2009)
4. Ivandini, T.A.; Einaga, Y. Polycrystalline boron-doped diamond electrodes for electrocatalytic and electrosynthetic applications, *Electrochem. Commun.* 53, 1338-1347 (2017)
5. Sobaszek, M.; Strąkowski, M.; Skowroński, Ł.; Siuzdak, K.; Sawczak, M.; Własny, I.; Wyszmołek, A.; Wieloszyńska, A.; Pluciński, J.; Bogdanowicz, R. In-situ monitoring of electropolymerization processes at boron-doped diamond electrodes by Mach-Zehnder interferometer. *Sens. Actuators B Chem.* 304, 127315 (2020)
6. Barek, J.; Fischer, J.; Navrátil, T.; Pecková, K.; Yosypchuk, B.; Zima, J. Nontraditional Electrode Materials in Environmental Analysis of Biologically Active Organic Compounds. *Electroanalysis.* 19, 2003-2004, (2007)
7. Suffredini, H.B.; Machado, S.A.S.; Avaca, L.A. The water decomposition reactions on boron-doped diamond electrodes. *J. Braz. Chem. Soc.* 15, 16-21 (2004)
8. Cvačka, J.; Swain, G. M.; Barek, J. Stanovení aminonaftalenů a aminobifenyľů kapalinovou chromatografií s amperometrickou detekcí na diamantové filmové elektrodě. *Chem. List.* 96, 33-38 (2002)
9. Schwarzová-Pecková, K.; Vosáhlová, J.; Barek, J.; Šloufová, I.; Pavlova, E.; Petrák, V.; Zavázalová, J. Influence of boron content on the morphological, spectral, and electroanalytical characteristics of anodically oxidized boron-doped diamond electrodes. *Electrochim. Acta* 243, 170-182 (2017)
10. Luong, J.H.T.; Male, K.B.; Glennon, J.D. Boron-doped diamond electrode: synthesis, characterization, functionalization and analytical applications. *Analyst,*

134, 1965-1979 (2009)

11. Szunerits, S.; Boukherroub, R.; Different strategies for functionalization of diamond surfaces. *J. Solid State Electrochem.* 12, 1205-1218 (2008)
12. Musilová, J.; Barek, J.; Pecková, K. Použití diamantových filmových elektrod dopovaných borem pro stanovení organických látek. *Chem. listy* 103, 469-478 (2009)
13. Svítková, J.; Ignat, T.; Švorc, L.; Labuda, J.; Barek, J. Chemical Modification of Boron-Doped Diamond Electrodes for Applications to Biosensors and Biosensing. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 46(3), 248-56 (2016)
14. Bélanger, D.; Pinson, J. Electrografting: a powerful method for surface modification. *Chem. Soc. Rev.* 40, 3995-4048 (2011)
15. Szunerits, S.; Boukherroub, R. Different strategies for functionalization of diamond surfaces. *J. Solid State Electrochem.* 12, 1205-1218 (2008)
16. 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. *Anal. Chim. Acta* 1077, 30-66 (2019)
17. Hrdlička, V.; Matvieiev, O.; Navrátil, T.; Šelešovská, R. Recent advances in modified boron-doped diamond electrodes: A review. *Electrochim. Acta* 456, 142435 (2023)
18. Niedziałkowski, P.; Ossowski, T.; Zięba, P.; Cirocka, A.; Rochowski, P.; Pogorzelski, S.J.; Ryl, J.; Sobaszek, M.; Bogdanowicz, R. Poly-l-lysine-modified boron-doped diamond electrodes for the amperometric detection of nucleic acid bases. *J. Electroanal. Chem.* 756, 84-93 (2015)
19. Pinson, J.; Podvorica, F. Attachment of organic layers to conductive or semiconductive surfaces by reduction of diazonium salts. *Chem. Soc. Rev.* 34, 429-439 (2005)
20. Hasoň, S.; Daňhel, A.; Schwarzová-Pecková, K.; Fojta, M. Chapter 3 – Carbon Electrodes in Electrochemical Analysis of biomolecules and Bioactive Substances: Roles of Surface Structures and Chemical Groups. In *Advanced Nanomaterials, Nanotechnology and Biosensors; Elsevier sci.* 51-111 (2018)
21. Wengh, J.; Zhang, Z.; Sun, L.; Wang, J. High sensitive detection of cancer cell with a folic acid-based boron-doped diamond electrode using an AC impedimetric approach. *Biosens. and Bioelectron.* 26(5), 1847-1852 (2011)

22. Wamba, A.G.N.; Kofa, G.P.; Koungou, S.N.; Thue, P.S.; Lima, E.C.; dos Reis, G.S.; Kayem, J.G. Grafting of Amine functional group on silicate based material as adsorbent for water purification: A short review. *J. Environ. Chem. Eng.* 6(2), 3192-3203 (2018)
23. Orqusha, N. Grafting of the gold surface by heterocyclic moieties derived through electrochemical oxidation of amino triazole – an experimental and “ab initio“ study. *RSC Adv.* 12, 23017-23025 (2022)
24. Shul, G.; Actis, P.; Marcus, B.; Opallo, M.; Boukherroub, R.; Szunerits, S. Solvent-free chemical functionalization of hydrogen-terminated boron-doped diamond electrodes with diazonium salts in ionic liquids, *Diam. Relat. Mater.* 17(7-10), 1394-1398 (2008)
25. Mesnage, A.; Lefevre, X.; Jégou, P.; Deniau, G.; Palacin, S., Spontaneous Grafting of Diazonium Salts: Chemical Mechanism on Metallic Surfaces. *Langmuir* 28(32), 11767-11778 (2012)
26. Allongue, P.; Delemar, M.; Desbat, B.; Fagebaume, O.; Hitmi, R.; Pinson, J.; Savéant, J. Covalent Modification of Carbon Surfaces by Aryl Radicals Generated from the Electrochemical Reduction of Diazonium Salts. *J. Am. Chem. Soc.* 119(1), 201-207 (1997)
27. Rempp, P.F.; Lutz, P.J. 12 – Synthesis of Graft Copolymers. *Comprehensive Polymer Science and Supplements, Pergamon*, 403-421 (1989)
28. Hetemi, D.; Noël, V.; Pinson, J. Grafting of Diazonium Salts on Surfaces: Application to Biosensors. *Biosensors* 10(1), 4 (2020)
29. Szunerits, S.; Boukherroub, R. Different strategies for functionalization of diamond surfaces. *J. Solid State Electrochem.* 12, 1205-1218 (2008)
30. Yamamoto, T.; Akahori, M.; Natsui, K.; Saitoh, T.; Einaga, Y. Controlled decoration of boron-doped diamond electrodes by electrochemical click reaction (e-CLICK). *Carbon* 130, 350-354 (2018)
31. Guerrero, S.; Agüí, L.; Yáñez-Sedeño, P.; Pingarrón, J.M. Design of electrochemical immunosensors using electro-click chemistry. Application to the detection of IL-1 β cytokine in saliva, *Bioelectrochemistry* 133, 107484 (2020)
32. Randriamahazaka, H.; Ghilane, J. Electrografting and Controlled Surface Functionalization of Carbon Based Surfaces for Electroanalysis. *Electroanalysis* 28, 13-26 (2016)
33. Tran, G.T.; de Sanoit, J.; Pierre, S.; Arnault, J.-CH.; Bergonzo, P. Diamond

electrodes for trace alpha pollutant sequestration via covalent grafting of nitrilotriacetic acid (NTA) ligand. *Electrochim. Acta* 136, 430-434 (2014)