

MOŽNOSTI ELEKTROCHEMICKEJ DETEKČIE PEROXIDU VODÍKA

EVA CULKOVÁ^a, ZUZANA LUKÁČOVÁ-
CHOMISTEKOVÁ^a, RENATA BELLOVÁ^a,
DANICA MELICHERČIKOVÁ^a, JAROSLAV
TIMKO^b, MIROSLAV RIEVAJ^a, KATARÍNA
GYŐRYOVÁ^a a PETER TOMČÍK^a

^a Katedra chémie a fyziky, Pedagogická fakulta, Katolícka univerzita v Ružomberku, Hrabovská cesta 1, 034 01 Ružomberok, Slovenská republika, ^b Katedra laboratórnych vyšetrovacích metód v zdravotníctve, Fakulta zdravotníctva, Katolícka univerzita v Ružomberku, Námestie A. Hlinku 48, 034 01 Ružomberok, Slovenská republika
eva.culkova@ku.sk

Došlo 13.3.19, prijaté 6.9.19.

Kľúčové slová: peroxid vodíka, voltampérometria, (bio)senzor, elektróda, nanokompozit

Obsah

1. Úvod
2. Detekcia pomocou uhlíkových elektród
3. Detekcia pomocou mikroelektród a ich súborov
4. Detekcia pomocou stacionárnych kovových elektród
5. Detekcia pomocou biosenzorov a senzorov na báze (nano)kompozitov
6. Záver

1. Úvod

Peroxid vodíka je pomerne jednoduchá molekula s vysokým ($\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$, $E^\circ = 1,78 \text{ V}$) aj nízkym ($\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$, $E^\circ = -0,682 \text{ V}$) štandardným redoxným potenciálom. Hromadenie tejto zlúčeniny v bunke spôsobuje oxidačný stres, ktorý môže vyvolať poškodenie proteínov a DNA, čo sa spája so starnutím a závažnými ochoreniami^{1,2}. Koncentrácia peroxidu vodíka je významným biologickým parametrom, pretože H_2O_2 je reaktívna forma kyslíka (ROS) a produkt oxidačného metabolizmu v ľudskom tele³. Úrad pre bezpečnosť a ochranu zdravia pri práci stanovil povolený limit expozície človeka peroxidom vodíka na $2,94 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ ako osemhodinový časovo vážený priemer (TWA) alebo 1,4 mg peroxidu vodíka na meter kubický vzduchu (mg m^{-3}) (cit.⁴).

V posledných rokoch je obrovský záujem o detekciu H_2O_2 aj vďaka jeho širokým aplikáciám v potravinárskom priemysle, kde sa používa ako dezinfekčné činidlo pri výrobe potravín⁵, sterilizácii zmiešavacích, transportných, plniacich a baliacich prístrojov⁶, v textilnom priemysle pri bielení buničiny a papiera, pri vývoji palivových článkov, chemickej syntéze, výrobe rôznych organických peroxidov a polovodičov⁷, ako aj pri mnohých oxidačných biologických reakciách⁸ v lekárstve, baníctve a procese spracovania odpadových vôd. Zistilo sa tiež, že vysoké koncentrácie H_2O_2 spôsobujú závažné gastrointestinálne problémy⁹.

Úlohou tohto referátu je podať prehľad o tom, ako elektrochémiu rieši detekciu peroxidu vodíka v rôznych vzorkách. Zamerali sme sa na rôzne environmentálne akceptovateľné tuhé elektródové materiály, ktoré možno použiť ako čisté, alebo modifikované rôznymi látkami.

2. Detekcia pomocou uhlíkových elektród

Uhlíková pasta patrí medzi obľúbené elektródové materiály, ktoré sa používajú na výrobu rôznych typov voltampérometrických senzorov. Uhlíková pastová elektróda (CPE) má nízky prúd pozadia, široké potenciálové okno a je pomerne lacná. Elektródový materiál sa pripravuje zo spojiva a grafitového prášku v špecifickom pomere¹⁰. Dôležitou črtou senzora na báze CPE je vysokoopakovateľné obnovovanie povrchu posunom piesta, čo likviduje možné spodiny elektródovej reakcie.

Mikroporézne kovové organické štruktúry sú novou triedou kryštalických materiálov tvorených iónmi kovov a organickým ligandom viazanými koordináčnou kovalentnou väzbou. CPE modifikovaná zeolitmi a organickou kovovou štruktúrou sa dá ľahko vyrobiť a je stabilná¹¹. Sherino a spol. modifikovali CPE kyselinou adipovou, ktorá slúžila ako viazač uhlíkových častíc a komplexom piperazínu s niklom. Tento systém vykazoval vysokú elektrochemickú aktivitu pre H_2O_2 , dobrú opakovateľnosť, stabilitu a dobrú selektivitu. Nakoľko samotný systém je nevodivý, zavedenie niklu zabezpečuje veľmi vysokú vodivosť systému¹², čo umožňuje rýchly prenos elektrónov. Katodická redukcia H_2O_2 bola študovaná vo fosfátovom tlmivom roztoku (PBS). Tento senzor sa úspešne aplikoval na stanovenie peroxidu vodíka v roztoku na čistenie šošoviek¹³.

V posledných desaťročiach sa dostávali do popredia elektrochemické reakcie katalyzované komplexami prechodných kovov, ktoré majú vynikajúce elektrokatalytické vlastnosti¹⁴. Mnohé výskumy sa zameriavali na neenzymatické senzory modifikované rôznymi nanočasticami kovov, ako sú Pt (cit.¹⁵), Au (cit.¹⁶), Ag (cit.¹⁷) a Pd (cit.¹⁸). Nanoštruktúrovaný CuFe_2O_4 je vhodný pre senzory H_2O_2

kvôli jeho veľkému mernému povrchu, uspokojivej elektrochemickej aktivite a malému napätiu. Preto sa peroxid vodíka stanovil aj na uhlíkovej pastovej elektróde modifikovanej redukovaným oxidom grafénu a nanočasticami CuFe_2O_4 . Kombinácia týchto zložiek zvyšuje efektívny povrch plochy elektródy, jej katalytické vlastnosti a znižuje napätie peroxidu vodíka. Vyvinutá elektróda vykazujúca za optimálnych podmienok (PBS s pH 5) rýchlu ampérometrickú odozvu nižšiu ako 2 s sa použila na rýchle voltampérometrické stanovenie stopových množstiev H_2O_2 v biologických a farmaceutických vzorkách¹⁹.

Hoci enzymatické elektródy predstavujú jednoduché, citlivé a vysoko selektívne senzory, sú pomerne drahé a natívne enzýmy postupne strácajú svoju katalytickú aktivitu po opakovaných meraniach. Z toho dôvodu sa uprednostňujú neenzymatické senzory H_2O_2 s nízkym detekčným limitom. Elektródy modifikované rôznymi elektroaktívnymi materiálmi majú schopnosť detegovať H_2O_2 pri nízkych potenciáloch. Vynikajúcim mediátorom je reaktívna modrá 19 (RB), ktorá efektívne znižuje pracovné potenciály a eliminuje účinky rôznych elektroaktívnych látok v reálnych vzorkách²⁰. RB možno ľahko imobilizovať na povrch elektródy zo sklovitého uhlíka (GCE) modifikovanej mnohostennými uhlíkovými nanorúrkami (MWCNT). Kinetické parametre, koeficient prenosu náboja α a rýchlostná konštanta prenosu náboja sa zistili pomocou cyklickej voltampérometrie (CV). Takáto elektróda vykazuje dramatický nárast prúdu píku a pokles napätia katodической redukcie H_2O_2 v porovnaní s GCE modifikovanej len s MWCNT a aktivovanej GCE. Reálnymi vzorkami boli ovocné džúsy²¹.

Na GCE možno naniesť aj vrstvu nanočastíc zlata upravenú opakovaným cyklovaním potenciálu medzi +0,3 a -0,4 V (vs. nasýtená kalomelová elektróda (SCE)) v PBS s pH 6. Nanočastice zlata (AuNP) sa pripravili redukciou kyseliny tetrachlorozlatitej s použitím aniónov $[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$. Následne bol oxid grafénu deponovaný na tenkej vrstve AuNP-GCE a potom sa redukoval potenciálom medzi -0,4 a -1,2 V (vs. SCE) v PBS (pH 6). Vrstva elektrochemicky redukovaného oxidu grafénu významne zvyšuje citlivosť AuNP na peroxid vodíka. Neenzymatické senzory na báze AuNP s grafénovými materiálmi majú predĺženú stabilitu a širší dynamický koncentračný lineárny rozsah. Zosilnené katalytické vlastnosti vďaka synergii elektrokatalytickej aktivity grafénu a nanočastíc vedú k nízkemu detekčnému limitu (LOD)²².

Modifikácia diamantovej elektródy dopovanej bórom (BDDE) kovom je výhodná z toho hľadiska, že rozptýlené kovové častice v organickom polyméri alebo na inertnom povrchu zvyšujú katalytickú aktivitu a tým citlivosť elektródy na H_2O_2 . Kov sa na diamant dopovaný bórom nanáša implantačnou metódou nezávislou od vodivosti diamantu. Elektrochemická depozícia nie je vhodná, pretože nerovnomerný obsah bóru v diamantových kryštáloch spôsobuje nehomogénnu povrchovú vodivosť. Platina sa vpravila do štruktúry BDD bombardovaním povrchu BDDE jej vysokoenergetickými iónmi s energiou 750 keV s dávkou $5 \cdot 10^{14} \text{ cm}^{-2}$. Elektróda vykazovala vysokú katalytickú

aktivitu, vynikajúcu elektrochemickú stabilitu s veľmi nízkym prúdom pozadia oproti Pt elektróde, na ktorej LOD bol $2,5 \times$ vyšší²³.

3. Detekcia pomocou mikroelektród a ich súborov

Obrovskou výhodou ampérometrickeho senzora na báze mikro- alebo nanoelektrod je možnosť skúmania biologických procesov v reálnom čase priamo v tkanivách.

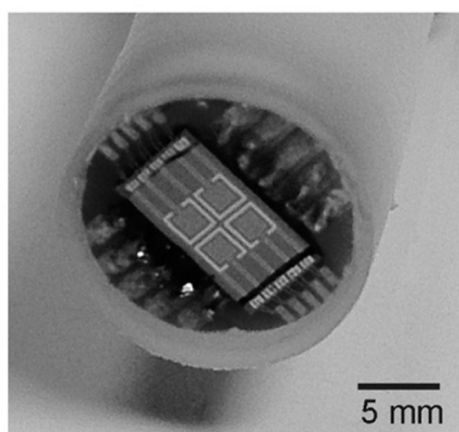
Ako príklad môže slúžiť nanosenzor pre detekciu H_2O_2 modifikovaný berlínskou modrou (PB). Uhlíkové nanoelektrody boli pripravené pyrolytickým rozkladom butánu v kremennej nanopipete, potom sa elektrochemicky leptali metódou CV (od 0 do 2 V) v roztoku obsahujúcom $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ KOH}$ a $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ KCl}$. PB sa deponovala vo vytvorenej nanokavite. Tento postup významne zvýšil stabilitu PB filmov, pričom sa zachovala citlivosť pre chronoampérometrickú detekciu H_2O_2 pri $E_{1/2} = -50 \text{ mV}$ (vs. Ag|AgCl) v neutrálnom prostredí. Takto konštituovaný senzor sa stal základom k intracelulárnemu monitorovaniu oxidačného stresu v živých bunkách²⁴.

Aj mikroelektrody oproti makroelektrodám majú množstvo výhod (zvýšenú rýchlosť transportu látky, rýchlu dobu odozvy a nízku kapacitu elektródovej dvojvrstvy)²⁵.

Na detekciu H_2O_2 možno využiť aj sústavy ultramikroelektrod (UME), ktoré predstavujú desiatky až stovky mikrometrických až submikrometrických diskov alebo pásov. Takýmto spôsobom sa dosiahne väčšia aktívna plocha elektrodového povrchu pri súčasnom zachovaní mikrometrickej veľkosti jedného z ich rozmerov a následne špecifických vlastností transportu elektroaktívnej látky.

Konfigurácia ultramikroelektrodového usporiadania (16 diskových ultramikroelektrod s priemerom $20 \mu\text{m}$) na zvýšenie celkového elektroaktívneho povrchu a následne faradaických prúdov sa využila aj pri detekcii H_2O_2 . Usporiadanie platinových ultramikroelektrod integrovaných na kremíkovom čípe (obr. 1) sa charakterizovalo cyklickou voltampérometriou pred a po platináciou pomocou redukcie hexakyanidoželezitanu draselného a oxidáciou peroxidu vodíka v porovnaní so samostatnou platinovou mikroelektrodou (priemer $20 \mu\text{m}$). Coulometrické poplatinovanie súboru UME sa uskutočnilo pri rôznych nábojoch ($0,04 \mu\text{C} \mu\text{m}^{-2}$ až $3,2 \mu\text{C} \mu\text{m}^{-2}$), aby sa dosiahol najlepší pomer medzi faradaickým a kapacitným prúdom spojeným s oxidáciou peroxidu vodíka. Chronoampérometrickou metódou pri 300 mV (vs. Ag|AgCl) sa študovala citlivosť a detekčný limit pre H_2O_2 rôznych ultramikroelektrodových usporiadaní. Takto modifikované UME sa nakoniec použili na monitorovanie produkcie H_2O_2 z mitochondrií, pretože nízky LOD H_2O_2 v PBS umožňuje biologické merania²⁶.

Zlaté mikroelektrody a semimikroelektrody s priemerom $10 \mu\text{m}$ a $25 \mu\text{m}$ sa modifikovali PB ako katalyzátorom pre detekciu H_2O_2 pomocou CV pri 20 mV s^{-1} v roztoku



Obr. 1. Mikrotechnologická integrácia mikroelektrodového usporiadania na kremíkovom nosiči. Integrovaný mikročip obsahuje štyri platinové ultramikroelektrodové usporiadania (16 mikroelektrod s priemerom 20 μm a geometrickou plochou povrchu 350 μm^2) a štyri spojené platinové pomocné mikroelektrody (pásové elektrody s geometrickou plochou povrchu približne 0,135 mm^2) (cit.²⁶). Obrázok bol získaný so súhlasom vydavateľa.

obsahujúcom $4,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1} \text{ FeCl}_3$ a $4,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1} \text{ K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ v $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ KCl}$ a $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCl}$. Stabilita hexakyanoželezitanu železitého (ktorá sa znižuje, ak sa znižuje priemer elektrody) sa zvýšila použitím platinovo-uhlíkového kompozitu, ktorý obsahoval 60 % atómov C a 24 % atómov Pt nanosených technikou zaostreného iónového zväzku. Takto modifikovaná zlatá mikroelektroda pokrytá PB (priemer 13 μm) sa použila na detekciu redukčného signálu H_2O_2 pri $-0,05 \text{ V}$ (vs. $\text{Ag}|\text{AgCl}$) a ukázala zlepšenú citlivosť ako aj rýchlostnú konštantu, ktorá je

o tri rády vyššia v porovnaní s platinou. Dlhodobá stabilita filmu PB sa verifikovala pomocou skenovacej elektrochemickej mikroskopie. Výhodou vyvinutého mikrosenzora je nízky pracovný potenciál a tým minimalizácia vplyvu interferujúcich látok prítomných v reálnych vzorkách²⁷. Prehľad analytických charakteristík uhlíkových (ultra)mikroelektrod na stanovenie peroxidu vodíka je uvedený v tab. I.

4. Detekcia pomocou stacionárnych kovových elektrod

S vývojom nanotechnológií sa čoraz viac pozornosti venuje nanočasticiam kovov, ktoré zlepšujú výkon kovového elektrochemického senzora vzhľadom na ich veľký merný povrch, vynikajúcu vodivosť a biokompatibilitu. Nanočastice striebra sa aplikovali na prípravu striebornej zdrsnenej elektrody ako jednoduchého senzora pre detekciu peroxidu vodíka oxidačno-redukčnými cyklami od $-0,35 \text{ V}$ do $+0,35 \text{ V}$ (vs. SCE) v roztoku KCl. Mikroskopia atómových síl a elektrochemické merania potvrdili, že elektrokatalytická schopnosť vyplýva hlavne z tvorby Ag nanočastíc v procese aktivácie, ktoré zväčšili aktívnu plochu v porovnaní s nemodifikovanou kovovou elektrodou²⁸.

Aj porézne strieborné elektrody možno využiť na voltampérometrickú detekciu H_2O_2 . Ich výroba je založená na depozícii striebra na Cu a Au nosiče z roztoku Ag^+ iónov v octane amónnom za veľkej prúdovej hustoty (-2 A cm^{-2}). Takéto vrstvy striebra majú makroskopickú pórovitosť a hubovitú štruktúru. Voltampérometriou s lineárnym nárastom potenciálu sa skúmal transport látky v hydrodynamickom móde (za využitia rotujúcich diskových elektrod). Zistila sa $2\times$ vyššia citlivosť a pomerne

Tabuľka I

Prehľad analytických charakteristík uhlíkových (ultra-mikro)elektrod a ich aplikácií pre stanovenie H_2O_2

Pracovná elektroda ^a	Reálna vzorka	LOD ^b [mol l^{-1}]	LDR ^c [mol l^{-1}]	Lit.
AP-Ni-MOF/CPE	roztok čistiaci šošovky	$9,0 \cdot 10^{-7}$	$4,0 \cdot 10^{-6}$ – $6,0 \cdot 10^{-2}$	13
RGO/CuFe ₂ O ₄ /CPE	biol. a farmaceut. vzorky	$6,4 \cdot 10^{-8}$	$2,0 \cdot 10^{-6}$ – $1,0 \cdot 10^{-3}$	19
RB/MWCNT/GCE	ovocné džúsy	$2,7 \cdot 10^{-7}$	$9,9 \cdot 10^{-7}$ – $2,8 \cdot 10^{-5}$	21
ERGO/AuNP/GCE	–	$5,6 \cdot 10^{-8}$	–	22
Pt/BDDE	–	$3,0 \cdot 10^{-8}$	$1,0 \cdot 10^{-7}$ – $1,0 \cdot 10^{-5}$	23
PB nanosenzor	živé bunky	$1,0 \cdot 10^{-5}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$ – $3,0 \cdot 10^{-3}$	24
Pt/UME	mitochondrie	$1,0 \cdot 10^{-8}$	$1,0 \cdot 10^{-8}$ – $4,0 \cdot 10^{-5}$	26
PB/Pt/C/AuME	–	–	$1,0 \cdot 10^{-5}$ – $2,0 \cdot 10^{-3}$	27

^a AP-N-MOF: kovová organická štruktúra kyseliny adipovej a piperazínu s nikelom, CPE: uhlíková pastová elektroda, RGO/CuFe₂O₄: redukovaný oxid grafénu a nanočastice diželezitanu meďnatého, RB: reaktívna modrá 19, MWCNT: mnohostenné uhlíkové nanorúrky, GCE: elektroda zo sklovitého uhlíka, ERGO: elektrochemicky redukovaný oxid grafénu, AuNP: nanočastice zlata, BDDE: bórom dopovaná diamantová elektroda, PB: berlínska modrá, UME: ultramikroelektroda, Pt/C: platinovo-uhlíkový kompozit, AuME: zlatá mikroelektroda, ^b LOD: medza detekcie, ^c LDR: lineárny dynamický rozsah

nízky detekčný limit oproti plochým Ag katódam. Okrem zvýšeného hydrodynamického transportu sú ďalšími výhodami jednoduchšia a rýchlejšia príprava a širší lineárny koncentračný rozsah následkom väčšej plochy²⁹.

Materiály na báze striebra sú sľubné pre vývoj vysokovýkonných senzorov³⁰, vzhľadom na svoju vysokú elektrokatalytickú aktivitu, dobrú vodivosť a nižšie náklady ako iné ušľachtilé materiály (Pt a Au). Strieborné atramentové elektródy sa podobne použili na monitorovanie H₂O₂ uvoľňovaného zo živých buniek. Elektródy pokryté Ag nanočasticami sa vyrobili technológiou atramentovej tlače na plastovom substráte a nasledovaným procesom spekania pri izbovej teplote. Merný odpor týchto elektród bol asi $64,0 \pm 5,3 \mu\Omega \text{ cm}$. Dosiadnutá elektrochemická odozva takýchto vysoko vodivých elektród pre H₂O₂ je takmer 300× vyššia ako u tradičných sieťotlačových Ag elektród³¹.

Lee a spol. vo svojej práci predstavili strieborné nanodrôtové (AgNW) elektródy pre ampérometrickú detekciu H₂O₂ v antiseptických roztokoch. Veľká plocha umožňuje rýchly transport látky a elektrokatalyzované procesy majú väčšiu prúdovú hustotu pri nižšom potenciáli oproti bežnej makroelektrode. Takéto detektory možno vyrobiť depozíciou na membránu zo zmiešaných esterov celulózy vákuovou filtráciou. Vyrobené AgNW elektródy vykazujú vynikajúce mechanické vlastnosti pri opakovaných testoch adhézie a dobrú odolnosť voči teplu a roztokom NaCl. Časová odozva elektródy (2 s) je pomerne krátka. Vplyv iných potenciálnych interferentov, ako sú kyselina L-askorbová, glukóza a šťaveľan sodný, bol zanedbateľný. Elektróda zo strieborného nanodrôtu mala stabilnú ampérometrickú odozvu na redukcii H₂O₂ aj po dlhšom skladovaní³².

Zvýšený signál redukcii peroxidu vodíka sa pozoroval na zlatej polykryštalickej elektróde modifikovanej ortuťou ako adsorbovaným atómom v alkalických, kyslych aj neutrálnych vodných roztokoch v oblasti potenciálov od

–0,2 do –0,6 V (vs. Ag|AgCl|KCl (nas.)). Signál je nezávislý od pH roztoku v oblasti pH 3–10 (cit.³³).

Peroxid vodíka sa používa aj ako východisková zložka pri výrobe výbušnín, ktoré obsahujú palivo a oxidačné činidlo v tej istej molekule. Pre jeho stanovenie v takomto type vzorky sa použila zlatá elektróda ako ampérometrický detektor v kvapalinovej chromatografii s obrátenou fázou. H₂O₂ sa stanovuje na základe jeho oxidácie pri potenciáli 0,4 V (vs. Pd/H₂). LOD pre H₂O₂ dosiahol hodnotu 10× nižšiu ako v prípade vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie s fluorescenčnou detekciou založenej na reakcii H₂O₂ s kyselinou *p*-hydroxyfenyloctovou, keď za prítomnosti hemínu vzniká jej dimér, ktorý poskytuje fluorescenčný signál. Obidvoma chromatografickými detekčnými systémami sa analyzovali trosky po výbuchu z detonácie zmesi koncentrovaného peroxidu vodíka a nitrometánu³⁴.

Ampérometrické techniky sú čoraz atraktívnejšie v biologických aplikáciách, lebo poskytujú informácie o produkcii a spotrebe H₂O₂ v reálnom čase. Aby sa vyhlo interferenciám, pracovný potenciál detekcie peroxidu vodíka musí byť nízky. H₂O₂ uvoľnený z buniek kultúry *Arabidopsis thaliana* možno priamo stanoviť aj na holej Pt anóde vďaka jej stabilite, inertnosti a vynikajúcej reprodukovateľnosti jej redoxných potenciálov. Takáto analýza peroxidu vodíka v reálnom čase môže byť potenciálnym markerom pre hodnotenie oxidačného stresu v kultúrach rastlinných buniek³⁵.

Modifikácia kovových elektród nanočasticami rôznych veľkostí môže viesť k veľmi odlišnej zrnitosti povrchu, ktorá má významný vplyv na selektivitu a citlivosť pri detekcii H₂O₂. Na detekciu peroxidu vodíka možno takto použiť elektródu pripravenú elektrochemickou depozíciou platinových nanočastíc na ITO (cínom dopovaný oxid inditý). V porovnaní s existujúcimi senzormi H₂O₂ na báze Pt táto nová platforma vykazuje širší dynamický lineárny koncentračný rozsah a nižší detekčný limit. Pt nanočastice so silnejším hydrofilným povrchom majú väč-

Tabuľka II

Prehľad analytických charakteristík stacionárnych kovových elektród a ich aplikácií pre stanovenie H₂O₂

Pracovná elektróda ^a	Reálna vzorka	LOD ^b [mol l ⁻¹]	LDR ^c [mol l ⁻¹]	Lit.
Ag zdrsnená E	–	$6,0 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-5}$ – $2,3 \cdot 10^{-2}$	28
Porézna AgE	–	$4,1 \cdot 10^{-6}$	$5,0 \cdot 10^{-4}$ – $9,0 \cdot 10^{-3}$	29
IPAgE	živé bunky	$5,0 \cdot 10^{-6}$	$1,0 \cdot 10^{-4}$ – $6,8 \cdot 10^{-3}$	31
AgNWE	antiseptické roztoky	$4,6 \cdot 10^{-5}$	$2,0 \cdot 10^{-4}$ – $3,4 \cdot 10^{-3}$	32
AgE	trosky z detonácie	$6,0 \cdot 10^{-7}$	$7,4 \cdot 10^{-6}$ – $1,5 \cdot 10^{-2}$	34
PtE	rastlinné bunky	$3,1 \cdot 10^{-6}$	$7,0 \cdot 10^{-3}$ – $2,1 \cdot 10^{-2}$	35
PtFE	–	$1,3 \cdot 10^{-8}$	$4,0 \cdot 10^{-8}$ – $5,0 \cdot 10^{-7}$	36
PtNP/PtME	nápoje	$2,0 \cdot 10^{-7}$	$8,0 \cdot 10^{-7}$ – $8,0 \cdot 10^{-4}$	37

^a E: elektróda, IPAgE: strieborné elektródy vyrobené technológiou atramentovej tlače, AgNWE: strieborné nanodrôtové elektródy, PtFE: platinová filmová elektróda, PtNP: nanočastice platiny, PtME: platinová mikrodisková elektróda, ^b LOD: medza detekcie, ^c LDR: lineárny dynamický rozsah

šiu elektrokatalytickú odozvu na H_2O_2 , čím sa dosahuje vyššia citlivosť³⁶. Takýto senzor možno použiť aj ako detektor v kapilárnej zónovej elektroforéze pre simultánne stanovenie H_2O_2 a kyseliny askorbovej v nápojoch³⁷. Analytické charakteristiky stacionárnych kovových elektród pre detekciu peroxidu vodíka sú zhrnuté v tab. II.

5. Detekcia pomocou biosenzorov a senzorov na báze (nano)kompozitov

Elektrochemické biosenzory na stanovenie H_2O_2 využívajú často enzýmy imobilizované na elektróde, avšak ich aplikácia si vyžaduje optimalizáciu experimentálnych parametrov (teplota, pH). Príprava enzýmov je nákladná a pri ich dlhodobom používaní môže dôjsť k ich denaturácii³⁸, preto sa hľadajú aj iné riešenia detekcie H_2O_2 na báze iných biomolekúl.

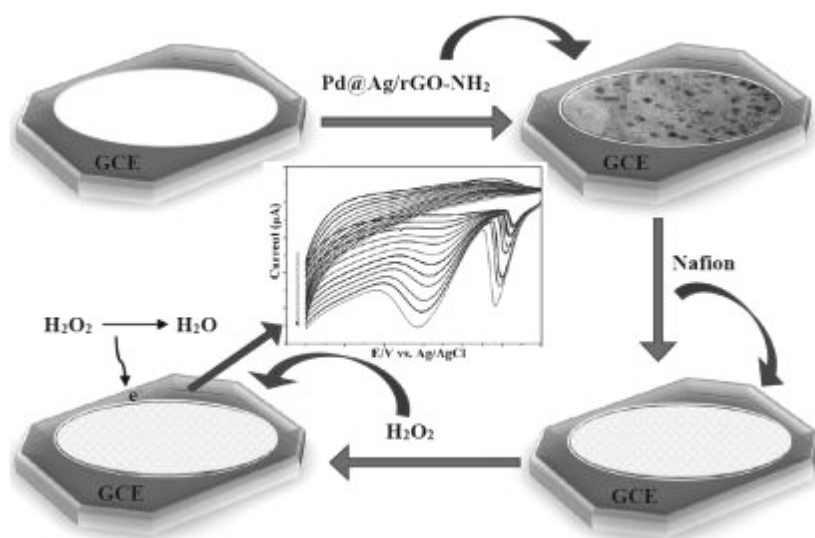
Hemoglobín je vhodná biomolekula pre konštrukciu biosenzorov kvôli svojej vysokej citlivosti na H_2O_2 . Na elektrochemickú detekciu peroxidu vodíka bol skonštruovaný biosenzor imobilizáciou hemoglobínu spolu s komplexom $\text{Fe}(\text{pyterpy})^{2+}$ na Au elektróde. Monovrstvy komplexu deponované na zlatej elektróde poskytujú maticu, na ktorú sa viaže záporne nabitá DNA. Tieto monovrstvy majú dôležitú úlohu pri zvyšovaní rýchlosti prenosu náboja medzi hemoglobínom, DNA a elektródou. Elektrochemické vlastnosti monovrstiev sa študovali cyklickou voltampérometriou v základných elektrolytoch NaClO_4 a Na_2SO_4 s koncentráciou $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ (cit.³⁹). Ďalšou biomolekulou je porfyrín železa na mezoporéznom uhlíku.

Fe^{3+} ión silne koordinuje s karboxylovými skupinami porfyrínu, čo prispieva k stabilite senzora. Uhlíkom sa zvyšuje elektrická vodivosť, čím sa dosiahne efektívnejšia elektrokatalýza. Okrem toho mezoporézny uhlík má viac mezoporórov, čo urýchľuje difúziu. Takto pripravený biosenzor má dlhodobú stabilitu, opakovateľnosť a je odolný voči interferenciám. Možno ho použiť na detekciu H_2O_2 uvoľneného zo živých buniek⁴⁰.

Hu a spol. predstavili nový druh koordinačného polyméru napodobňujúceho nukleovú kyselinu založeného na interakcii koenzýmu A (CoA) a Au^{III} . Mechanizmus detekcie H_2O_2 spočíva vo vytvorení štruktúry s opakovanými jednotkami $-\text{thiol}-\text{Au}^{\text{I}}$ a interakcii medzi grafénom a $\text{CoA}-\text{Au}^{\text{I}}$ (cit.⁴¹). Jednoduchou kryštalizačnou metódou sa syntetizoval Bi_2S_3 kvetinovej nanoštruktúry *in situ* na povrchu redukovaného oxidu grafénu dopovaného dusíkom. Tiomočovina slúžila ako zdroj dusíka a redukčné činidlo pre oxid grafénu. Morfológia povrchu takto pripravených kompozitov bola analyzovaná autoemisnou skenovacou elektrónovou mikroskopiou a transmisnou elektrónovou mikroskopiou⁴².

Pre elektrochemickú detekciu peroxidu vodíka bol vyvinutý aj senzor, ktorý pracuje na báze elektrokatalytických vlastností kompozitu chitosanových a strieborných nanočastíc. Uvedený kompozit sa takisto imobilizoval na elektródu zo sklovitého uhlíka. Signál peroxidu vodíka sa meral pomocou CV v PBS, square-wave voltampérometrie a elektrochemickej impedančnej spektroskopie. Časová odozva bola menšia ako 10 s (cit.⁴³).

Príprava hybridnej anorganicko-organickej kompozitnej elektródy na základe polyhemínu a oxidu grafénu (GO)



Obr. 2. Schéma postupnej výroby $\text{Nf/Pd@Ag/rGO-NH}_2/\text{GCE}$. Elektróda zo sklovitého uhlíka (GCE) sa najprv modifikovala nanokompozitom (Pd@Ag/rGO-NH_2) – bimetalickými nanočasticami pália a striebra (Pd@Ag), ktoré boli nanesené na (3-aminopropyl)trietoxysiláne funkcionalizovanom redukovaným oxidom grafénu (rGO-NH_2). Nakoniec sa na takto upravenú vysušenú elektródu nakvapkal roztok Nafionu, ktorý slúžil ako ochranná membrána. Výsledná elektróda $\text{Nf/Pd@Ag/rGO-NH}_2/\text{GCE}$ sa použila na stanovenie peroxidu vodíka. Stred obrázku: cyklický voltampérogram rôznych prídavkov H_2O_2 (0; 0,98; 1,96; 2,94; 3,92; 4,90; 5,88; 6,86; 7,84; 8,82; 9,80 a 10,78 mmol l^{-1}) do $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ PBS (pH 7) na $\text{Nf/Pd@Ag/rGO-NH}_2/\text{GCE}$, polarizačná rýchlosť $0,1 \text{ V s}^{-1}$ (cit.⁴⁵). Obrázok bol získaný so súhlasom vydavateľa.

Tabuľka III

Prehľad analytických biosenzorov a senzorov na báze (nano)kompozitov a ich aplikácií pre stanovenie H₂O₂

Pracovná elektróda ^a	Reálna vzorka	LOD ^b [mol l ⁻¹]	LDR ^c [mol l ⁻¹]	Lit.
Hb–DNA/Fe(pyterpy) ²⁺ /AuE	–	7,0·10 ⁻⁷	3,0·10 ⁻⁶ –9,0·10 ⁻⁴	39
pFeMOF/OMC/GCE	živé bunky	5,0·10 ⁻⁷	5,0·10 ⁻⁷ –1,8·10 ⁻³	40
CP/GO/GCE	ľudské rakovin. bunky	2,0·10 ⁻⁸	1,0·10 ⁻⁷ –3,0·10 ⁻⁴	41
Bi ₂ S ₃ @N-G/GCE	šampóny	1,9·10 ⁻⁶	1,0·10 ⁻⁵ –4,3·10 ⁻⁵	42
CS/AgNP/GCE	–	5,0·10 ⁻⁶	2,0·10 ⁻⁵ –1,5·10 ⁻³	43
G/rGO/polyHm E	dezinfekčný prostriedok	8,9·10 ⁻⁶	9,9·10 ⁻⁶ –5,0·10 ⁻⁵	44
Nf/Pd@Ag/rGO-NH ₂ /GCE	mlieko	7,0·10 ⁻⁷	2,0·10 ⁻⁶ –1,9·10 ⁻²	45
CTAB/SAMN/CPE	biologické vzorky	2,8·10 ⁻⁶	1,0·10 ⁻⁵ –1,5·10 ⁻³	46

^a Hb–DNA/Fe(pyterpy)²⁺/AuE: hemoglobín a deoxyribonukleová kyselina imobilizovaná s komplexom Fe(pyterpy)²⁺ na zlatú elektródu, pFeMOF/OMC: kovová organická štruktúra porfyrínu železa na usporiadanom mezoporéznom uhlíku, GCE: elektróda zo sklovitého uhlíka, CP/GO: koordinačný polymér naviazaný na oxid grafénu, Bi₂S₃@N-G: sulfid bizmutitý kvetinovej nanoštruktúry *in situ* na povrchu redukovaného oxidu grafénu dopovaného dusíkom, CS: chitosan, AgNP: nanočastice striebra, G: grafit, rGO: redukovaný oxid grafénu, polyHm: polyhemín, E: elektróda, Nf: Nafion, Pd@Ag: bimetalické nanočastice paládia a striebra, rGO-NH₂: (3-aminopropyl)triethoxysilán funkcionalizovaný redukovaným oxidom grafénu, CTAB: bromid cetyltrimetylamónny, SAMN: povrchovo aktívne nanočastice maghemitu, CPE: uhlíková pastová elektróda, ^b LOD: medza detekcie, ^c LDR: lineárny dynamický rozsah

zahŕňa depozíciu GO dispergovaného v roztoku TRIS (2-amino-2-hydroxymetyl-1,3-propanediol; C₄H₁₁NO₃) nanesením kvapky na grafit, redukciiu GO a súčasnú elektropolymerizáciu hemínu. Týmto postupom sa zachováva aktivita hemínu, ktorá je podobná peroxidáze. Takto konštituovaná elektróda vykazuje vynikajúce elektrokatalytické vlastnosti voči redukcii H₂O₂ (cit.⁴⁴).

Na inom princípe je založený senzor na stanovenie peroxidu vodíka v mlieku, ktorý opísal vo svojej práci Guler a spol. Základom tohto senzora sa stal Nafion a bimetalické nanočastice Pd-Ag nanesené na (3-aminopropyl)triethoxysiláne funkcionalizovanom redukovaným oxidom grafénu (rGO-NH₂) na elektróde zo sklovitého uhlíka (obr. 2). Elektrochemické vlastnosti takto syntetizovaného nanokompozitu boli skúmané pomocou elektrochemickej impedančnej spektroskopie a cyklickej voltampérometrie v základnom elektrolyte 0,1 mol l⁻¹ PBS s pH 7 (cit.⁴⁵).

Uhlíková pastová elektróda modifikovaná nanočasticami γ -Fe₂O₃ slúžiacimi ako elektrokatalyzátor peroxidu vodíka pri nízkom potenciáli sa použila na stanovenie prirodzenej aktivity monoaminoxidázy v neporušených suspenziách mitochondrií a aplikovala sa na biologické vzorky. Elektróda je schopná katalyzovať elektroredukciu H₂O₂ už pri $E = -0,1$ V (vs. SCE). Zavedenie surfaktantu bromidu cetyltrimetylamónneho ako monomolekulovej vrstvy na povrch elektródy zlepšuje elektrokatalytické vlastnosti pripravenej elektródy a takisto chráni jej povrch pred znečistením⁴⁶. Analytické charakteristiky biosenzorov a senzorov na báze (nano)kompozitov sú sumarizované v tab. III.

6. Záver

Predložený referát opisuje možnosti elektrochemického stanovenia peroxidu vodíka v rôznych matriciach s využitím rozličných elektródových materiálov. Na detekciu peroxidu vodíka sa použili rozmanité elektródy na báze uhlíka ako uhlíková pasta, sklovitý uhlík, uhlíkové nanorúrky, bórom dopovaný diamant, sieťotlačové elektródy, nanoelektrody a mikroelektrody z uhlíkových vlákien. Ďalšiu skupinu detektorov predstavujú elektródy zo striebra, zlata a platiny. Najmodernejšími technológiami boli pripravené biosenzory, kompozity a nanokompozity. Vývin nanokompozitov vedie k novej triede materiálov spájajúcich výhody fyzikálnych a chemických vlastností jednotlivých zložiek. Tieto nanomateriály majú v súčasnej dobe veľký potenciál pre široký rozsah aplikácií vďaka vysokej vodivosti, vynikajúcej citlivosti, selektivitve, opakovateľnosti, relatívne nízkym nákladom a jednoduchej príprave. Najnižší potenciál značne redukujúci vplyv interferentov pri ampérometrickej detekcii H₂O₂ bol -500 mV (vs. Ag|AgCl) (strieborná nanodrôťová elektróda) pre redukciiu a $+300$ mV (vs. Ag|AgCl) (Pt/UME) pre oxidáciu H₂O₂. Najnižší limit detekcie pre H₂O₂ ($1,0 \cdot 10^{-8}$ mol l⁻¹) sa dosiahol na platinovej ultramikroelektóde, ktorý sa takmer zhoduje s LOD ($1,3 \cdot 10^{-8}$ mol l⁻¹) získaným platinovou filmovou elektródou. Takto možno sledovať koncentrácie peroxidu vodíka v reálnom čase aj v móde *in vivo*, t.j. priamo v blízkosti biologického zdroja analytu, tak aby sa vyhol jeho zriedeniu telovými tekutinami. Takýmto spôsobom sa získa viac informácií o priebehu niektorých biologických procesov, ako je napríklad oxidačný stres buniek⁴⁷.

Táto práca bola podporená Kultúrnou a edukačnou grantovou agentúrou KEGA (projektom č. 006KU-4/2017).

LITERATÚRA

1. Qu L. L., Liu Y. Y., He S. H., Chen J. Q., Liang Y., Li H. T.: *Biosens. Bioelectron.* 77, 292 (2016).
2. Chen W., Cai S., Ren Q. Q., Wen W., Zhao Y. D.: *Analyst* 137, 49 (2012).
3. Louvet A., Mathurin P.: *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 12, 231 (2015).
4. Gardner R.: *Ann. Occup. Hyg.* 56, 326 (2012).
5. Hsu C. L., Chang K. S., Kuo J. C.: *Food Control* 19, 223 (2008).
6. Durgajanani S., Jeyaprakash B. G., Maheswari K. U., Sridharan M., Rayappan J. B. B.: *Physica E* 43, 1804 (2011).
7. Zhang R., Chen W.: *Biosens. Bioelectron.* 89, 249 (2017).
8. Yang G. H., Zhou Y. H., Wu J. J., Cao J. T., Li L. L., Liu H. Y., Zhu J. J.: *RSC Adv.* 3, 22597 (2013).
9. Silva R. A. B., Montes R. H. O., Richter E. M., Munoz R. A. A.: *Food Chem.* 133, 200 (2012).
10. Khani H., Rofouei M. K., Arab P., Gupta V. K., Vafaie Z.: *J. Hazard. Mater.* 183, 402 (2010).
11. Nezamzadeh-Ejhih A., Esmaeilian A.: *Microporous Mesoporous Mater.* 147, 302 (2012).
12. Sel K., Demirci S., Meydan E., Yildiz S., Ozturk O. F., Al-Lohedan H., Sahiner N.: *J. Electron. Mater.* 44, 136 (2015).
13. Sherino B., Mohamad S., Abdul Halim S. N., Abdul Manan N. S.: *Sens. Actuators, B* 254, 1148 (2018).
14. Raymundo-Pereira P. A., Teixeira M. F., Fatibello-Filho O., Dockal E. R., Bonifácio V. G., Marcolino-Junior L. H.: *Mater. Sci. Eng., C* 33, 4081 (2013).
15. Wang X., Li L., Li Z., Wang J., Fu H., Chen Z.: *J. Electroanal. Chem.* 712, 139 (2014).
16. Jiao X. X., Luo H. Q., Li N. B.: *J. Electroanal. Chem.* 691, 83 (2013).
17. Zhang A., Tian Y., Liu M., Xiao Y., Jia D., Li F.: *RSC Adv.* 4, 43973 (2014).
18. Jiang F., Yue R., Du Y., Xu J., Yang P.: *Biosens. Bioelectron.* 44, 127 (2013).
19. Benvidi A., Nafar M. T., Jahanbani S., Tezerjani M. D., Rezaeinasab M., Dalirnasab S.: *Mater. Sci. Eng., C* 75, 1435 (2017).
20. Chen X., Chen Z., Zh J., Xu C., Yan W., Yao C.: *Bioelectrochemistry* 82, 87 (2011).
21. Nasirizadeh N., Shekari Z., Nazari A., Tabatabaee M.: *J. Food Drug Anal.* 24, 72 (2016).
22. Berbec S., Żołądek S., Jabłońska A., Pałys B.: *Sens. Actuators, B* 258, 745 (2018).
23. Ivandini T. A., Sato R., Makide Y., Fujishima A., Einaga Y.: *Diamond Relat. Mater.* 14, 2133 (2005).
24. Clausmeyer J., Actis P., Córdoba A. L., Korchev Y., Schuhmann W.: *Electrochem. Commun.* 40, 28 (2014).
25. Wu Z. Y., Chen L. G., Shen G. L., Yu R. Q.: *Sens. Actuators, B* 119, 295 (2006).
26. Ben-Amor S., Vanhove E., Sékli-Belaïdi F., Charlot S., Colin D., Rigoulet M., Devin A., Sojic N., Launay J., Temple-Boyer P., Arbault S.: *Electrochim. Acta* 126, 171 (2014).
27. Voronin O. G., Hartmann A., Steinbach C., Karyakin A. A., Khokhlov A. R., Kranz C.: *Electrochem. Commun.* 23, 102 (2012).
28. Lian W., Wang L., Song Y., Yuan H., Zhao S., Li P., Chen L.: *Electrochim. Acta* 54, 4334 (2009).
29. Mattarozzi L., Cattarin S., Comisso N., Guerriero P., Musiani M., Verlato E.: *Electrochim. Acta* 198, 296 (2016).
30. Bansal V., Li V., O'Mullane A. P., Bhargava S. K.: *CrystEngComm* 12, 4280 (2010).
31. Shi L., Layani M., Cai X., Zhao H., Magdassi S., Lan M.: *Sens. Actuators, B* 256, 938 (2018).
32. Lee J. H., Huynh-Nguyen B. C., Ko E., Kim J. H., Seong G. H.: *Sens. Actuators, B* 224, 789 (2016).
33. Matsumoto F., Uesugi S., Koura N., Ohsaka T.: *J. Electroanal. Chem.* 549, 71 (2003).
34. Tarvin M., McCord B., Mount K., Sherlach K., Mark L., Miller M. L.: *J. Chromatogr. A* 1217, 7564 (2010).
35. González-Sánchez M. I., González-Macia L., Pérez-Prior M. T., Valero E., Hancock J., Killard A. J.: *Plant Cell Environ.* 36, 869 (2013).
36. Su X., Dong X., Jin H., Zhu T., Yan C., Liu A., Wang S.: *Int. J. Electrochem. Sci.* 12, 4479 (2017).
37. Wang J., Zhou M., Dong R., Cong X., Zhang R., Wang X.: *Electroanalysis* 29, 2483 (2017).
38. Li Y., Lu Q., Wu S., Wang L., Shi X.: *Biosens. Bioelectron.* 15, 576 (2013).
39. Lee D. Y., Park S. H., Qian D. J., Kwon Y. S.: *Curr. Appl. Phys.* 9, e232 (2009).
40. Liu J., Bo X., Yang J., Yin D., Guo L.: *Sens. Actuators, B* 248, 207 (2017).
41. Hu Y., Zhang Q., Guo Z., Wang S.: *J. Electroanal. Chem.* 801, 306 (2017).
42. Kumar D. R., Kesavan S., Baynosa M. L., Nguyen V. Q., Shim J. J.: *J. Colloid Interface Sci.* 530, 361 (2018).
43. Tran H. V., Huynh C. D., Tran H. V., Piro B.: *Arab. J. Chem.* 11, 453 (2018).
44. Deac A. R., Muresan L. M., Cotet L. C., Baia L., Turdean G. L.: *J. Electroanal. Chem.* 802, 40 (2017).
45. Guler M., Turkoglu V., Bulut A., Zahmakiran M.: *Electrochim. Acta* 263, 118 (2018).
46. Magro M., Baratella D., Pianca N., Toninello A., Grancara S., Zbořil R., Vianello F.: *Sens. Actuators, B* 176, 315 (2013).
47. Habánová H., Berka M.: *Chem. Listy* 112, 421 (2018).

E. Culková^a, Z. Lukáčová-Chomisteková^a, R. Bellová^a, D. Melicherčíková^a, J. Timko^b, M. Rievaj^a, K. Györyová^a, and P. Tomčík^a (^a*Department of Chemistry and Physics, Faculty of Education, The Catholic University in Ružomberok, Ružomberok, Slovak Republic,* ^b*Department of Laboratory Methods in Health Care, Faculty of Health Care, The Catholic University in Ružomberok, Ružomberok, Slovak Republic*): **Electrochemical Detection Possibilities for Hydrogen Peroxide**

This review deals with a survey of analytical methods for the determination of hydrogen peroxide. Since high concentrations of this simple compound may cause diseases connected with oxidative stress like cancer, cardiovascular disorders, and Alzheimer disease, its monitoring is very essential. Therefore, cheap, sensitive, selective and

fast electrochemical methods are desirable for its detection. Various electrode materials based on carbon, silver, gold and platinum are described here, as well as their applications to analysis of various samples. Biosensing applications with ultramicroelectrodes allow one to detect H₂O₂ directly in cells which helps to understand in depth their oxidative stress and other processes connected with the production of hydrogen peroxide.

Keywords: hydrogen peroxide, voltammetry, (bio)sensor, electrode, nanocomposite

Acknowledgements

This study was supported by the Slovak Cultural and Educational Grant Agency (KEGA) (Grant number: 006KU-4/2017).