



**UNIWERSYTET MARII CURIE-SKŁODOWSKIEJ
W LUBLINIE**

**Wydział Chemii
Instytut Nauk Chemicznych**

mgr Agnieszka Sasal

**ANALIZA ŚLADOWA SKŁADNIKÓW
LEKÓW PRZECIWBÓLOWYCH
Z WYKORZYSTANIEM ELEKTROD
SITODRUKOWANYCH W PRÓBKACH WÓD**

Rozprawa doktorska
wykonana w Katedrze Chemii Analitycznej
pod kierunkiem dr hab. Katarzyny Tyszczyk-Rotko, prof. UMCS

Lublin 2020

Pragnę złożyć serdeczne podziękowania Pani Promotor
dr hab. Katarzynie Tyszczyk-Rotko, prof. UMCS
za nieocenioną pomoc, cenne wskazówki, cierpliwość i wyrozumiałość
w trakcie przygotowywania niniejszej rozprawy doktorskiej.

Chciałabym również podziękować
Mężowi, Rodzicom oraz Przyjaciółom
za nieustanne wsparcie, motywację
oraz nigdy niegasnącą wiarę we mnie.

Niniejszą rozprawę doktorską
pragnę zadedykować
mojemu Mężowi.

Spis treści

Lista publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej	4
Współpraca naukowa	5
Wstęp	6
Cel badań	8
1. Aktualny stan wiedzy.....	9
1.1. Zanieczyszczenie środowiska wodnego farmaceutykami.....	9
1.2. Analiza polowa.....	12
1.3. Czujniki sitodrukowane	14
1.4. Sposoby modyfikacji powierzchni czujników sitodrukowanych.....	16
1.4.1. Modyfikacja błoną metalu	16
1.4.2. Modyfikacja nanomateriałami węglowymi	17
1.5. Zastosowanie czujników sitodrukowanych do analizy wybranych substancji czynnych preparatów farmaceutycznych	19
2. Badania własne	22
2.1. Woltamperometryczne procedury oznaczania kofeiny, paracetamolu i diklofenaku z wykorzystaniem czujników sitodrukowanych	22
2.2. Charakterystyka powierzchni czujników sitodrukowanych i badanie charakteru procesów elektrodowych.....	30
2.2.1. Charakterystyka powierzchni czujników sitodrukowanych	30
2.2.2. Badanie charakteru procesów elektrodowych	35
2.3. Wpływ interferentów na sygnał analityczny i sposoby ich minimalizacji.....	39
2.4. Zastosowanie opracowanych procedur	43
2.5. Perspektywy dalszego zastosowania czujników sitodrukowanych	47
3. Podsumowanie i wnioski	48
4. Literatura.....	50
5. Streszczenie w języku polskim	55
6. Streszczenie w języku angielskim	58
7. Pozostałe osiągnięcia naukowe.....	61
ANEKS – TEKSTY PUBLIKACJI BĘDĄCYCH PRZEDMIOTEM ROZPRAWY DOKTORSKIEJ I OŚWIDCZENIA	75

Lista publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej

Publikacja 1

K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Green electrochemical sensor for caffeine determination in environmental water samples: the bismuth film screen-printed carbon electrode*, Journal of The Electrochemical Society, 164 (7) (2017) B342-B348.

(IF₂₀₁₇ = 3,662 MNiSW = 40 pkt.)

Publikacja 2

A. Sasal, K. Tyszczyk-Rotko, M. Chojecki, T. Korona, A. Nosal-Wiercińska, *Direct determination of paracetamol in environmental samples using screen-printed carbon/carbon nanofibers sensor – experimental and theoretical studies*, Electroanalysis, 32 (7) (2020) 1618-1628.

(IF₂₀₁₉ = 2,544 MNiSW = 70 pkt.)

Publikacja 3

A. Sasal, K. Tyszczyk-Rotko, M. Wójciak, I. Sowa, *First electrochemical sensor (screen-printed carbon electrode modified with carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes) for ultratrace determination of diclofenac*, Materials, 13 (2020) 781.

(IF₂₀₁₉ = 3,130 MNiSW = 140 pkt.)

Publikacja 4

A. Sasal, K. Tyszczyk-Rotko, M. Wójciak, I. Sowa, M. Kuryło, *Simultaneous analysis of paracetamol and diclofenac using MWCNTs-COOH modified screen-printed carbon electrode and pulsed potential accumulation*, Materials, 13 (14) (2020) 3091.

(IF₂₀₁₉ = 3,130 MNiSW = 140 pkt.)

Łączny IF: 12,466

Łączna liczba punktów MNiSW: 390

Współpraca naukowa

Badania do niniejszej rozprawy doktorskiej prowadzone były przy współpracy z:

1. **Šp. prof. Karel Vyřasem** - Uniwersytet w Pardubicach, Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Technologii Chemicznej, Pardubice, Czechy;
2. **Dr hab. Tatianę Koronę i mgr. Michałem Chojeckim** - Pracownia Chemii Kwantowej, Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski;
3. **Prof. dr hab. n. med. Magdalenę Wójciak i prof. dr. hab. n. farm. Ireneuszem Sową** - Zakład Chemii Analitycznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie;
4. **Dr. Michałem Kuryło** - Centralne Laboratorium Miejskiego Przedsiębiorstwa Wodociągów i Kanalizacji w Lublinie.

Wstęp

Substancje czynne preparatów farmaceutycznych stanowią bardzo szeroką grupę związków aktywnych biologicznie, które po wprowadzeniu do organizmu żywego wykazują działanie terapeutyczne. Postęp nauki doprowadził do lawinowego wzrostu liczby sprzedawanych i spożywanych przez społeczeństwo leków i suplementów diety. Najpopularniejszą grupę stanowią niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) (ang. *nonsteroidal anti-inflammatory drugs*), do których zaliczane są substancje o działaniu przeciwzapalnym, przeciwbólowym i przeciwgorączkowym. Polski rynek sprzedaży farmaceutyków według danych firm KPMG i PMR zajmuje 6 miejsce w Europie. Blisko 34% rynku stanowią preparaty dostępne bez recepty (ang. *over the counter drug*, OTC), z czego 26% stanowią leki przeciwbólowe [1].

Wzrost spożycia preparatów farmaceutycznych przekłada się bezpośrednio na wzrost zanieczyszczenia środowiska naturalnego, w tym ekosystemów wodnych, substancjami leczniczymi i produktami ich rozkładu. Śladowe ilości farmaceutyków wykryto w próbkach oczyszczonych ścieków, wód powierzchniowych i gruntowych. Stwierdzono, że najpowszechniej występującymi lekami w środowisku są leki z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych, paracetamol, antybiotyki, leki regulujące gospodarkę lipidową, środki hormonalne, β -blokery i leki psychotropowe [2]. Preparaty farmaceutyczne mogą przedostawać się do środowiska jako odpady z zakładów przemysłowych, szpitali i ośrodków zdrowia. Jednak największa ilość zanieczyszczeń powstaje w wyniku spożywania leków przez ludzi i zwierzęta. Znaczna ilość substancji farmakologicznie czynnych produkowana jest na potrzeby weterynarii. Ponadto źródłem zanieczyszczenia jest praktycznie każde gospodarstwo domowe. Spożyte preparaty farmaceutyczne ulegają w organizmie biotransformacji i są wydalone z organizmu w formie niezmienionej lub jako metabolity. Wszystkie te substancje trafiają do oczyszczalni ścieków. Tradycyjne metody oczyszczania ścieków są niewystarczające do usuwania 100% pozostałości preparatów farmaceutycznych ze ścieków, co sprawia, że komunalne oczyszczalnie stanowią poważne źródło przedostawania się leków i ich metabolitów do środowiska. Ponadto, przeterminowane i niewykorzystane preparaty farmaceutyczne często są wyrzucane bez odpowiedniej utylizacji, trafiają na składowisko odpadów, gdzie zalegając, mogą przedostać się do wód powierzchniowych. Podobna sytuacja występuje w przypadku stosowania

leków w hodowli zwierząt i rolnictwie. Obecność preparatów farmaceutycznych w środowisku stanowi poważny problem, dlatego ich poziom powinien być stale monitorowany.

W literaturze znajduje się wiele prac poświęconych metodom oznaczania pozostałości leków w próbkach wód, jednak prace te głównie koncentrują się na metodach laboratoryjnych, często charakteryzujących się wysokim kosztem aparatury oraz samego pomiaru. Zwykle są to metody chromatograficzne, w przypadku których należy również często mówić o czasochłonnym etapie przygotowania próbki do analizy oraz dużym zużyciu odczynników chemicznych [1]. Z wykorzystaniem odpowiednich narzędzi można również prowadzić ciągłą i szybką kontrolę, zarówno jakościową, jak i ilościową wód w terenie (analiza polowa). Taki rodzaj analizy umożliwia między innymi wczesne wykrywanie awaryjnych skażeń wody, może być wstępną analizą do późniejszych bardziej szczegółowych badań. Niniejsza praca poświęcona jest opracowaniu nowych narzędzi (woltamperometrycznych procedur z wykorzystaniem czujników sitodrukowanych), które mogą w przyszłości znaleźć zastosowanie w analizie polowej.

Cel badań

Celem badań prowadzonych w ramach realizacji niniejszej rozprawy doktorskiej było:

- zaprezentowanie nowych możliwości zastosowania czujników sitodrukowanych do analizy wybranych związków biologicznie aktywnych na poziomie śladowym;
- poprawa parametrów elektrochemicznych czujników sitodrukowanych poprzez modyfikację powierzchni elektrody pracującej błonką bizmutu lub warstwą nanomateriałów węglowych;
- charakterystyka powierzchni elektrod sitodrukowanych z wykorzystaniem nowoczesnych technik instrumentalnych oraz określanie charakteru procesów elektrodowych;
- opracowaniu procedur minimalizacji interferencji pochodzących od składników próbek wód naturalnych;
- opracowanie woltamperometrycznych procedur oznaczania składników leków przeciwbólowych na czujnikach sitodrukowanych, charakteryzujących się niższymi granicami wykrywalności i lepszą selektywnością w porównaniu z metodami opisanymi w literaturze;
- zastosowanie opracowanych procedur elektrochemicznych do oznaczania substancji czynnych preparatów farmaceutycznych w próbkach środowiskowych.

1. Aktualny stan wiedzy

1.1. Zanieczyszczenie środowiska wodnego farmaceutykami

Zanieczyszczenie środowiska wodnego substancjami czynnymi preparatów farmaceutycznych i ich metabolitami stanowi poważny problem dzisiejszych czasów i jest ogromnym wyzwaniem dla naukowców. Polska należy do najmniej zasobnych w wodę krajów Europy, i z tego powodu, wiele wodociągów jest zaopatrywanych z wód powierzchniowych, które są znacznie bardziej narażone na zanieczyszczenia niż wody głębinowe. Farmaceutyki wraz ze ściekami komunalnymi, a także ściekami z różnych źródeł, m.in. zakładów przemysłowych, szpitali i ośrodków zdrowia, wpływają do oczyszczalni ścieków. Zaobserwowano, że związki o charakterze zasadowym i hydrofobowym, np. antybiotyki z łatwością osadzają się na cząstkach stałych osadu ściekowego. Jednakże związki o charakterze kwasowym, np. diklofenak, naproksen czy kwas acetylosalicylowy, praktycznie nie ulegają sorpcji na osadzie, i w postaci jonowej, pozostają w fazie ciekłej. Sprawność procesu oczyszczania dla każdej substancji leczniczej jest inna, dla przykładu w tradycyjnej oczyszczalni ścieków zawartość diklofenaku w ścieku spada zaledwie o ok. 20-30% [1].

Zawartość farmaceutyków w ekosystemach wodnych wykazuje ogromną zmienność, w zależności od warunków hydrologicznych, klimatycznych, demograficznych, a także sposobu użytkowania gruntów [3]. Zaobserwowano większe stężenie preparatów farmaceutycznych w wodach ściekowych dużych miast, a także zmienność sezonową [4]. Wzrost spożycia preparatów farmaceutycznych przypada głównie na jesienno-zimowy okres zwiększonego zachorowania na grypę i przeziębienia. Przekłada się to bezpośrednio na wzrost zanieczyszczenia wód gruntowych i powierzchniowych. Badania wykazały, że farmaceutyki, których substancje czynne posiadają charakter kwasowy ulegają akumulacji w wodach jezior [5]. Niska temperatura wody utrudnia proces biodegradacji, a krótki dzień ogranicza proces fotolizy, co dodatkowo sprzyja kumulacji związków organicznych przez rośliny i zwierzęta. Substancje czynne preparatów farmaceutycznych wykazują określoną aktywność biologiczną w stosunku do organizmów żywych, na przykład kwas acetylosalicylowy zaburza rozrodczość u gatunków rozwielitki (*D. magna*) i wioślarki (*D. longispina*), natomiast diklofenak wykazuje ostrą toksyczność u pstręga tęczowego (*O. mykiss*) oraz fitoplanktonu i zooplanktonu [1]. Znacznie bardziej

niebezpieczne dla organizmów żywych są mieszanki niesteroidowych leków przeciwzapalnych z innymi substancjami leczniczymi. Obecność preparatów farmaceutycznych w wodzie pitnej stanowi również poważne zagrożenie dla ludzi, gdyż zaburza równowagę w organizmie oraz potęguje problem lekooporności [1,6,7].

W niniejszej pracy skupiono się na substancjach czynnych występujących w popularnych preparatach farmaceutycznych (kofeina, paracetamol i diklofenak). W **Tabeli 1** zebrano dane literaturowe dotyczące zawartości tych substancji w wodach powierzchniowych [1,2,8]. Jak można zauważyć stężenia te wahają się w granicach od 10^{-8} – 10^{-11} mol L⁻¹.

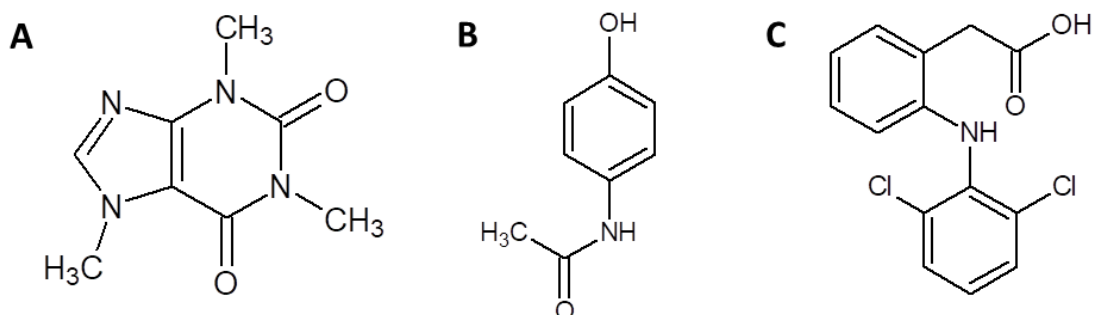
Tabela 1. Stężenia wybranych substancji (kofeina, paracetamol, diklofenak) w wodach powierzchniowych.

Substancja czynna	Stężenie [mol L ⁻¹]	Kraj	Literatura
Kofeina	$3,6 \times 10^{-11}$ – $4,5 \times 10^{-10}$	Norwegia	[9]
	$9,8 \times 10^{-9}$	Niemcy	[10]
	$8,2 \times 10^{-11}$	Morze Północne	[10]
	$3,7 \times 10^{-11}$ – $1,1 \times 10^{-8}$	Francja	[11]
	$1,9 \times 10^{-9}$	Hiszpania	[12]
	$2,6 \times 10^{-9}$ – $5,0 \times 10^{-9}$	Polska	[13]
Paracetamol	$7,0 \times 10^{-11}$ – $7,5 \times 10^{-8}$	Francja	[11]
	$1,2 \times 10^{-9}$ – $1,9 \times 10^{-8}$	Hiszpania	[14]
	$1,5 \times 10^{-9}$ – $6,6 \times 10^{-9}$	Wielka Brytania	[15]
	$7,3 \times 10^{-11}$ – $3,8 \times 10^{-10}$	Polska	[15]
Diklofenak	$8,4 \times 10^{-11}$ – $5,7 \times 10^{-10}$	Szwecja	[7]
	$1,1 \times 10^{-9}$ – $1,1 \times 10^{-8}$	Hiszpania	[7]
	$4,6 \times 10^{-12}$ – $1,6 \times 10^{-9}$	Francja	[11]
	$1,1 \times 10^{-11}$	Hiszpania	[12]
	$3,0 \times 10^{-11}$ – $1,7 \times 10^{-10}$	Słowenia	[16]
	$5,7 \times 10^{-11}$ – $1,6 \times 10^{-9}$	Polska	[17]
	$7,7 \times 10^{-11}$ – $4,6 \times 10^{-10}$	Chiny	[18]
	$1,6 \times 10^{-9}$	Polska	[19]
	$8,4 \times 10^{-11}$ – $5,7 \times 10^{-10}$	Szwecja	[20]
	$8,1 \times 10^{-11}$ – $3,1 \times 10^{-9}$	Węgry	[21]
	$3,0 \times 10^{-11}$ – $1,4 \times 10^{-10}$	Wielka Brytania	[22]
	$1,0 \times 10^{-9}$ – $1,7 \times 10^{-9}$	Polska	[23]

Kofeina (CA, 1,3,7-trimetylo-1H-puryno-2,6(3H,7H)-dion, **Rys. 1A**) jest organicznym związkiem z grupy alkaloidów purynowych, naturalnie występującym w kawie, herbacie, liściach ostrokrzewu paragwajskiego, nasionach guarany, ziarnach kakaowca i orzeszkach coli. Kofeina wywołuje wiele efektów farmakologicznych w organizmie człowieka, m. in. wpływa na ośrodkowy układ nerwowy, przyspiesza metabolizm, wpływa na wydzielanie soku żołądkowego. Ponadto podnosi ciśnienie tętnicze krwi, zmniejsza senność oraz poprawia nastrój i koncentrację. Ze względu na swoje właściwości pobudzające, kofeina jest powszechnie spożywana na całym świecie w postaci tradycyjnej kawy, herbaty, napojów gazowanych, energetycznych i czekolady. Z tego powodu kofeina jest często stosowana jako wskaźnik antropogenicznego zanieczyszczenia środowiska. Ponadto kofeina jest składnikiem suplementów diety dla sportowców, podnoszących wydolność organizmu oraz wspomagających odchudzanie. Kofeina wzmacnia działanie wielu substancji leczniczych, m. in.: paracetamolu, ibuprofenu, kwasu acetylosalicylowego, etenzamidu czy kodeiny, dlatego jest powszechnie stosowana jako składnik leków przeciwbólowych. Pomaga w leczeniu astmy, przekrwienia błony śluzowej nosa, bóli głowy, migreny, łagodzi napięcie oraz zwiększa produkcję dopaminy [24-26].

Paracetamol (PA, acetaminofen, N-(4-hydroksyfenylo)etanoamid, **Rys. 1B**) to hydroksylowa pochodna acetanilidu. Paracetamol nie wykazuje właściwości przeciwzapalnych i nie zapobiega krzepnięciu krwi, natomiast działa przeciwbólowo i przeciwgorączkowo. Ponadto, paracetamol charakteryzuje się niskim ryzykiem pojawienia się działań niepożądanych i nie uszkadza błony śluzowej żołądka [27-29].

Diklofenak (DF, kwas o-N-(2,6-dichlorofenylo)aminofenylooctowy, **Rys. 1C**) należy do grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ), jest pochodną kwasu aminofenylooctowego o silnym działaniu przeciwzapalnym, przeciwbólowym i przeciwgorączkowym. Działanie leku powoduje hamowanie cyklooksygenaz indukowanych, odpowiedzialnych za syntezę prostaglandyn prozapalnych. Diklofenak jest stosowany jako lek przeciwbólowy i przeciwzapalny w reumatoidalnym zapaleniu stawów i innych chorobach układowych tkanki łącznej, ataku dny moczanowej, chorobie zwyrodnieniowej stawów oraz w zapobieganiu i leczeniu bólu pooperacyjnego i nerwobólów. Diklofenak nie jest zalecany dla dzieci poniżej 12 roku życia oraz osób cierpiących na wrzody żołądka i dwunastnicy, astmę aspirynową, zaburzenia czynności wątroby, niewydolność nerek i porfirię [30].



Rys. 1. Wzory strukturalne A) kofeiny, B) paracetamolu, C) diklofenaku [opracowanie własne].

1.2. Analiza polowa

Parametry wody pitnej oraz dokładność i częstotliwość ich mierzenia określa Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dn. 29 marca 2007 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. Woda pobierana z ujęć powierzchniowych i głębinowych objęta jest monitoringiem kontrolnym i przeglądowym, których częstotliwość jest zależna od wielkości ujęcia i ilości osób zaopatrywanych w wodę z danego źródła.

Monitoring kontrolny ujęć powierzchniowych obejmuje:

- badanie parametrów fizycznych i organoleptycznych (np.: barwy, mętności, odczynu, przewodności, zapachu i smaku);
- badanie parametrów chemicznych (obecności licznych związków, np.: azotanów, chlorków, cyjanków, jonów metali, fenoli, węglowodorów);
- badanie parametrów mikrobiologicznych (obecności mikroorganizmów np. *Escherichia coli*, enterokoki, bakterie grupy *coli*, *Clostridium perfringens*).

Monitoring przeglądowy ma szerszy zakres i obejmuje podstawowe i dodatkowe badania mikrobiologiczne, chemiczne, organoleptyczne, fizykochemiczne, radiologiczne oraz na obecność wolnego chloru i ozonu w zależności od stosowanych metod oczyszczania ścieków [31]. Warto dodać, że zgodnie z dyrektywą Parlamentu Europejskiego i Rady (2013/39/UE), diklofenak został wskazany, jako substancja podlegająca monitoringowi w środowisku wodnym na terenie całej Unii Europejskiej.

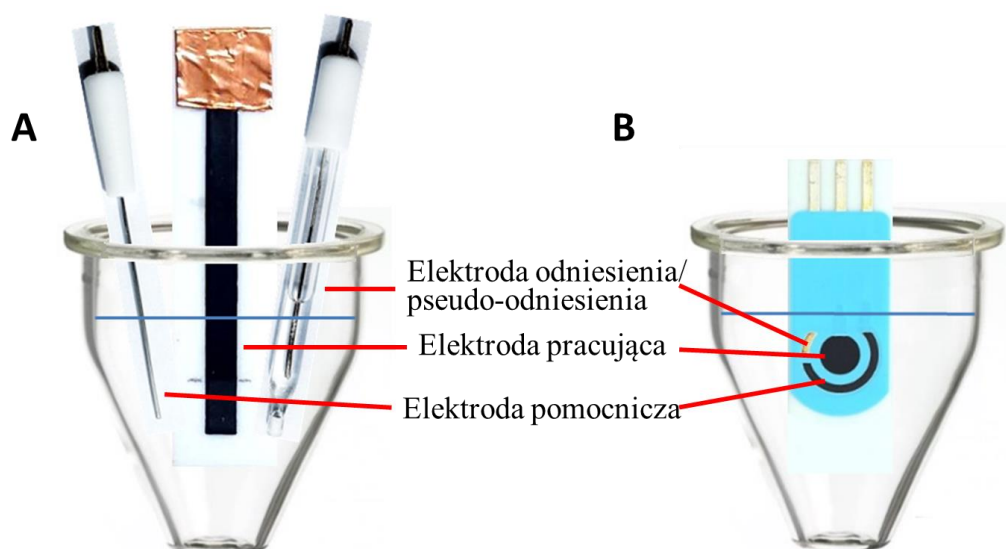
Wzrost zanieczyszczenia środowiska wodnego, i związane z tym ryzyko dla zdrowia, wymusza na naukowcach opracowywanie nowych metod pozwalających na prostą, szybką i ciągłą kontrolę analityczną, która powinna dostarczyć jakościowej i ilościowej informacji o stanie zbiorników wodnych. Tradycyjne metody analizy wody, wymagające specjalistycznego sprzętu, np. chromatografia czy spektroskopia mogą być zastosowane jedynie w laboratorium. Metody te wymagają stosunkowo dużego nakładu kosztów i zużycia odczynników chemicznych. Ponadto są czasochłonne, gdyż konieczne jest przetransportowanie próbki do laboratorium, przechowywanie jej w odpowiednich warunkach, a także wieloetapowy proces przygotowania próbki do analizy. Rozwiązaniem dla wielu tych problemów mogą być analizatory przenośne, które pozwalają na monitorowanie jakości wody bezpośrednio w terenie. Analiza polowa umożliwia pomiar parametrów ulegających szybkim zmianom, ocenę jakości wody, a także wykrywanie awaryjnych skażeń wody. Z jej wykorzystaniem można otrzymywać również wstępne wyniki do późniejszych badań w laboratorium [32,33]. Analizatory przenośne znalazły zastosowanie do kontroli jakości wód powierzchniowych, podziemnych, wody morskiej, ścieków przemysłowych i wody pitnej.

Analizatory polowe charakteryzują się m.in. małą masą pozwalającą na transport przez jedną osobę, zasilaniem akumulatorowym, szybkością pomiaru od kilku do kilkunastu minut oraz względnie prostą procedurą pomiarową. Pomiaru mogą być wykonywane bezpośrednio poprzez zanurzenie sondy w toni wodnej lub pośrednio poprzez pobranie próbki do naczynia, dodanie odpowiednich odczynników i odczekanie określonego czasu w zależności od opracowanej procedury pomiarowej. Aparaty polowe mogą mierzyć jeden, kilka lub nawet kilkadziesiąt parametrów w jednym czasie. Działanie analizatorów przenośnych oparte jest przede wszystkim na dwóch metodach pomiarowych: kolorymetrii oraz elektrochemii. W metodach kolorymetrycznych wykorzystywane są papierki wskaźnikowe, przyrządy z wizualną oceną barwy roztworu, proste kolorymetry oraz różnej klasy spektrofotometry z siatką dyfrakcyjną. Natomiast metody elektrochemiczne wykorzystują różnorodne elektrody, m.in.: pH-metry, elektrody jonoselektywne, konduktometry, a także cieszące się ostatnio coraz większą popularnością, czujniki sitodrukowane.

1.3. Czujniki sitodrukowane

Sitodruk znany był na Dalekim Wschodzie od tysięcy lat, jednak większą popularność zdobył w XIX - XX w., kiedy został wykorzystany w sztuce i druku wielkoformatowym. Pod koniec lat osiemdziesiątych ubiegłego wieku technologię sitodruku po raz pierwszy wykorzystano do produkcji elektronicznych układów stosowanych do oznaczania stężenia glukozy we krwi. Obecnie dzięki zastosowaniu tej technologii otrzymywane są elektrochemiczne czujniki sitodrukowane (ang. *screen-printed electrodes*, SPEs), które są produkowane masowo i szeroko dostępne w handlu. Automatyzacja produkcji zapewnia dobrą powtarzalność, niski koszt oraz dużą dostępność czujników. Na początku procesu przygotowywana jest forma drukowa, inaczej sito, na które naciągnięta jest siatka. Na siatkę nakładany jest zaprojektowany szablon, który zakrywa miejsca niepoddawane drukowaniu. Następnie farba nanoszona jest na całą powierzchnię siatki i przeciskana przez puste przestrzenie w matrycy na odpowiednie podłoże, stanowiąc drukowany obraz. Po usunięciu matrycy, farba jest utrwalana poprzez odparowanie rozpuszczalnika, naświetlanie UV lub reakcję chemiczną. Po oczyszczeniu, matryca może zostać ponownie wykorzystana do dalszej produkcji czujników [34-36].

Ze względu na możliwość druku wielowarstwowego, powyższa technologia pozwala na produkcję czujników sitodrukowanych m.in. w postaci pojedynczej elektrody pracującej (**Rys. 2A**) lub zespolonego układu trzech elektrod: elektrody pracującej, pseudo-odniesienia oraz elektrody pomocniczej (**Rys. 2B**). Przygotowanie czujników sitodrukowanych obejmuje nakładanie m.in.: warstwy przewodzącej, właściwej warstwy elektrodowej i warstwy izolującej. Wszystkie warstwy utwardzane są odpowiednią metodą, właściwą dla rodzaju nanoszonego tuszu.



Rys. 2. A) Klasyczny układ trójelektrodowy; **B)** zespolony czujnik sitodrukowany [opracowanie własne].

Do produkcji czujników sitodrukowanych najczęściej wykorzystywane są tusze węglowe i srebrne. Ścieżki przewodzące oraz elektrody odniesienia nadrukowywane są przy użyciu tuszu srebrnego. Natomiast tusz węglowy, złożony ze sproszkowanego grafitu i polimeru rozpuszczonego w odpowiednim rozpuszczalniku, stosowany jest do produkcji elektrod pracujących. Ze względu na chemiczną obojętność węgla, skład tuszu węglowego może być modyfikowany w szerokim zakresie, w zależności od potrzeb. Elektrody pracujące mogą być również produkowane ze złota, jednak, ze względu na wysoką cenę, są one stosowane zwykle w czujnikach biologicznych opierających się na reakcjach enzymatycznych lub immunologicznych. [37,38]. Tusze do produkcji elektrod sitodrukowanych nanoszone są na specjalne podłoże ceramiczne (tlenek glinu(III)) lub polimerowe (polichlorek winylu). Zaletą płytek ceramicznych, w porównaniu z polimerowymi, jest większa odporność na temperaturę oraz niższy poziom szumów, co jest szczególnie istotne podczas pomiaru prądu na niskim poziomie. Skład tuszu często jest wzbogacony o polimery i oleje mineralne, których zadaniem jest zwiększenie przyczepności do płytki. Zabieg ten może powodować trudności w przewodzeniu prądu, a tym samym zmniejszanie sygnału analitycznego [39,40]. W celu poprawy szybkości przenoszenia elektronów, do tuszu dodawane są różnorodne substancje, np. metale szlachetne oraz tlenki metali, np. tlenek manganu(IV) [41] lub tlenek bizmutu(III) [42]. Czujniki sitodrukowane pozwalają na szybką analizę związków organicznych [43] i jonów metali [44] na niskich poziomach stężeń.

1.4. Sposoby modyfikacji powierzchni czujników sitodrukowanych

Powierzchnia czujników elektrochemicznych może być modyfikowana w celu zwiększenia powierzchni aktywnej, poprawy selektywności i czułości oznaczeń, a także wzmocnienia i lepszego rozdzielania sygnałów analitycznych. W literaturze opisanych jest wiele sposobów modyfikacji powierzchni czujników sitodrukowanych za pomocą np. nanocząsteczek metali [45] i materiałów węglowych, np. grafenu [46], nanorurek [47] i nanowłókien [48,49] węglowych, a także za pomocą polimerów [50] i enzymów [51]. Poniżej przedstawione zostały wybrane przykłady modyfikacji powierzchni czujników sitodrukowanych nawiązujące do tematyki badań prowadzonych w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej.

1.4.1. Modyfikacja błonką metalu

Ze względu na niski koszt produkcji, szeroki zakres potencjałów oraz chemiczną obojętność, sitodrukowane czujniki węglowe są chętnie wykorzystywane w pomiarach elektroanalitycznych. Jednakże ostateczne właściwości elektrody, takie jak powierzchnia aktywna, poziom prądu tła czy aktywność elektrochemiczna zależne są od rodzaju i składu tuszu. Modyfikacja tuszu za pomocą metalu jest jednym z najczęściej stosowanych sposobów wzmocnienia sygnału analitycznego badanej substancji. Rozdrobnione cząstki metali (np. Au, Ag, Bi, Sb, Sn) mogą zostać wprowadzone do roztworu tuszu i naniesione na elektrodę podczas procesu drukowania, a następnie utwardzone poprzez wygrzewanie w wysokiej temperaturze lub odparowanie rozpuszczalnika. Innym sposobem modyfikacji jest osadzanie warstwy metalu na powierzchni elektrody pracującej. Pierwsze doniesienia o możliwości zastosowania czujnika sitodrukowanego pokrytego błonką rtęci do oznaczania jonów ołowiu(II) w moczu przedstawiono w pracy J. Wang i B. M. Tian [52]. W kolejnych latach powyższą metodę zastosowano również do oznaczania innych jonów metali, m.in. miedzi(II), kadmu(II) i cynku(II) [53,54].

Alternatywą dla modyfikacji elektrody za pomocą błonki rtęci może być błonka bizmutu [55] lub ołowiu [56,57]. Osadzanie błonki metalu polega na elektrochemicznej redukcji odpowiednich jonów (np. Pb^{2+} , Bi^{3+}) do postaci metalicznej na powierzchni elektrody. Najczęściej osadzanie błonki prowadzone jest metodą *in situ*

[55] lub *ex situ* [58] (z osobnego naczynka pomiarowego). Obecność drobin metalu na powierzchni elektrody zwiększa powierzchnię aktywną czujnika, co wpływa na ilość nagromadzonego analitu, a w konsekwencji przekłada się na wyższy i lepiej ukształtowany sygnał analityczny. Błonekę metalu można też osadzać na powierzchni elektrody sitodrukowanej z wykorzystaniem mediatora. W tym celu do roztworu, oprócz jonów metalu tworzących błonekę (np. Pb^{2+} , Bi^{3+}) wprowadzane są jednocześnie jony innego metalu (np. Zn^{2+} , Cd^{2+}) [59,60]. Potencjał przykładany do elektrody w pierwszym etapie procesu powoduje redukcję jonów obu metali do postaci metalicznej. Natomiast w drugim etapie, potencjał jest tak dobrany, że zachodzi osadzanie błonki i utlenianie mediatora. W literaturze odnaleźć można również zastosowanie nanocząstek tlenków metali jako modyfikatorów powierzchni, np. tlenku ceru do oznaczania kofeiny w surowicy [61] lub tlenku bizmutu do oznaczania paracetamolu w preparatach farmaceutycznych [45].

1.4.2. Modyfikacja nanomateriałami węglowymi

W ostatnich latach bardzo dużą popularnością cieszą się nanomateriały węglowe. Naukowcy stale znajdują dla nich nowe zastosowania, a ich bardzo rozbudowana powierzchnia aktywna spowodowała, że zaczęto stosować je również w elektrochemii jako modyfikacja elektrod pracujących. Pierwszym nanomateriałem, którego zaczęto używać na masową skalę, w tym również do modyfikacji powierzchni elektrod pracujących był grafen [40]. Grafen jest alotropem węgla w postaci pojedynczej warstwy atomów w dwuwymiarowej heksagonalnej sieci. Charakteryzuje się bardzo wysoką przewodnością, stabilnością i wytrzymałością. Jednocześnie grafen jest podatny na modyfikacje chemiczne, a jego powierzchnię można funkcjonalizować różnymi grupami. Niemodyfikowana sitodrukowana elektroda grafenowa znalazła zastosowanie w oznaczaniu paracetamolu [29], z kolei grafen modyfikowany polianiliną zastosowano do jednoczesnego oznaczania cynku, kadmu i ołowiu [62]. Obecnie duże zainteresowanie naukowców budzi tlenek grafenu [63] oraz zredukowany tlenek grafenu [64], których warstwy węglowe również mogą zostać funkcjonalizowane odpowiednimi grupami. Przykładem zastosowania nanokompozytu tlenku grafenu oraz tlenków żelaza(III) i krzemu(II) jest zaproponowana procedura oznaczania paracetamolu w preparatach farmaceutycznych i moczu [65]. Z kolei ciekawym

połączeniem modyfikacji powierzchni sitodrukowanej elektrody pracującej jest jednocześnie zastosowanie zredukowanego tlenku grafenu i nafionu do oznaczania kofeiny [66] lub zredukowanego tlenku grafenu i sadzy do oznaczania paracetamolu [67].

Kolejnym często stosowanym nanomateriałem są nanorurki węglowe, które powstają przez zwinięcie płaszczyzny grafenu w formę rurki pustej w środku. Nanorurki mogą być jednościenne (ang. *single-walled nanotubes*, SWNTs), które złożone są z jednej warstwy atomów lub wielościenne (ang. *multi-walled nanotubes*, MWNTs) złożone z wielu warstw atomów. Nanorurki są jednymi z najbardziej wytrzymałych i najsztwniejszych znanych materiałów, mają bardzo wysoką wytrzymałość na rozciąganie, pomimo niewielkiej gęstości. W porównaniu do klasycznych elektrod węglowych, nanorurki węglowe charakteryzują się szybszą wymianą elektronów, co powoduje większą aktywność elektrochemiczną. Możliwe są modyfikacje nanorurek węglowych poprzez osadzanie na ich powierzchni różnych grup funkcyjnych, na przykład grup karboksylowych. Nanorurki węglowe mają szerokie zastosowanie w oznaczaniu związków organicznych np.: dopaminy [68], kapsaicyny [69] czy paracetamolu [47]. Ciekawym przykładem jest jednocześnie zastosowanie modyfikacji za pomocą wielościennej nanorurki węglowej i chitozanu. Powstała membrana może być dodatkowo modyfikowana rtęcią, co powoduje powstanie niewielkich kropelek rtęci rozmieszczonych równomiernie na powierzchni. Zaprezentowana metoda znalazła zastosowanie do oznaczania metali ciężkich [70]. Innym przykładem jest jednocześnie modyfikacja jednościnnymi nanorurkami węglowymi, nanokompozytem polipirołu i peroksydazą chrzanową, która znalazła zastosowanie w oznaczaniu paracetamolu [71].

Dużym zainteresowaniem naukowców cieszą się również nanowłókna węglowe. W przeciwieństwie do nanorurek, nanowłókna są pełne w środku i zbudowane z ułożonych na sobie warstw grafenu. Materiał ten charakteryzuje się dużą wytrzymałością i przewodnością elektryczną, dlatego doskonale sprawdza się jako modyfikator powierzchni elektrody pracującej. Przykładem zastosowania elektrod sitodrukowanych modyfikowanych nanowłóknami węglowymi jest procedura oznaczania kofeiny w napojach [72] lub wodzie kranowej i ściekach szpitalnych [73].

1.5. Zastosowanie czujników sitodrukowanych do analizy wybranych substancji czynnych preparatów farmaceutycznych

Szeroka oferta dostępnych czujników sitodrukowanych, a także mnogość sposobów modyfikacji powierzchni elektrod pracujących, stwarza ogromne możliwości aplikacyjne. W **Tabeli 2** zebrano dotychczas opisane w literaturze woltamperometryczne procedury oznaczania wybranych substancji czynnych leków (kofeiny, paracetamolu i diklofenaku) na niemodyfikowanych i modyfikowanych czujnikach sitodrukowanych. Dane porównano z wynikami badań prowadzonych w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej (**Publikacje 1-4**).

Warto zauważyć, że znaczącą większość metod przedstawionych w poniższej tabeli zastosowano do analizy produktów spożywczych (kofeina) lub preparatów farmaceutycznych i próbek biologicznych (paracetamol). Tylko w jednej pracy [73] opisano zastosowanie elektrody sitodrukowanej w oznaczeniach paracetamolu i kofeiny w próbkach wody kranowej i ścieków szpitalnych. Niemniej jednak, w pracy tej próbki wody kranowej były wzbogacane roztworami wzorcowymi paracetamolu i kofeiny (dodatek rzędu 10^{-5} mol L⁻¹). Według danych literaturowych [11,14,15] stężenie paracetamolu w wodach naturalnych utrzymuje się na poziomie 10^{-11} – 10^{-8} mol L⁻¹, podczas gdy granica wykrywalności zaproponowanej procedury wynosi 2×10^{-7} mol L⁻¹.

Jak można zauważyć, procedury będące podstawą niniejszej rozprawy doktorskiej (**Publikacje 1-4**) charakteryzują się najniższymi granicami wykrywalności, przy jednocześnie szerokich zakresach liniowych krzywych kalibracyjnych. Ponadto, po raz pierwszy opracowano woltamperometryczne procedury na elektrodach sitodrukowanych pozwalające na oznaczanie realnych stężeń kofeiny, paracetamolu i diklofenaku w próbkach wód. Opracowane procedury nie wymagają czasochłonnego etapu przygotowanie elektrody i próbki.

Tabela 2. Zestawienie woltamperometrycznych procedur oznaczania kofeiny, paracetamolu i diklofenaku na elektrodach sitodrukowanych.

Elektroda	Technika	Zakres liniowy [mol L ⁻¹]	Granica wykry- walności [mol L ⁻¹]	Zastosowanie	Lit.
Kofeina					
CeO ₂ /SPE	DPV	$5,0 \times 10^{-6} - 2,9 \times 10^{-4}$	$2,4 \times 10^{-6}$	Surowica	[61]
RGO/Nafion/SPE	CV	$2,9 \times 10^{-7} - 2,6 \times 10^{-6}$	$2,2 \times 10^{-7}$	Kawa	[66]
CNFs/SPCE	DPV	$2,0 \times 10^{-7} - 1,0 \times 10^{-6}$	$5,6 \times 10^{-8}$	Napoje	[72]
CNFs/SPCE	DPV	$1,0 \times 10^{-6} - 5,7 \times 10^{-6}$	$2,6 \times 10^{-7}$	Woda kranowa, ścieki szpitalne	[73]
ARI/SPCE	SWV	$5,0 \times 10^{-7} - 2,0 \times 10^{-5}$	$5,0 \times 10^{-8}$	Napoje energetyczne, mleczne, soki	[74]
NMP/Nafion/SPE	DPV	$1,0 \times 10^{-7} - 9,0 \times 10^{-7}$ $1,0 \times 10^{-6} - 5,3 \times 10^{-6}$	$2,1 \times 10^{-8}$	Kawa, napoje	[75]
ALP/SPE	CV	$1,0 \times 10^{-7} - 1,0 \times 10^{-5}$	$8,0 \times 10^{-8}$	Kawa, herbata, napoje	[76]
EIGPU	DPV	$4,0 \times 10^{-6} - 2,0 \times 10^{-4}$	$1,6 \times 10^{-6}$	Prep. farmaceutyczne	[77]
BiF/SPCE	DPV	$1,0 \times 10^{-7} - 2,0 \times 10^{-5}$	$2,7 \times 10^{-8}$	Woda rzeczna	Publi- kacja 1
Paracetamol					
SPCE	DPV	$3,3 \times 10^{-5} - 2,0 \times 10^{-4}$	$6,6 \times 10^{-7}$	Prep. farmaceutyczne	[28]
SPGrE	CV	$1,0 \times 10^{-7} - 5,0 \times 10^{-5}$	$2,0 \times 10^{-8}$	Ślina ludzka	[29]
BiO-SPE	DPV	$5,0 \times 10^{-7} - 9,7 \times 10^{-5}$	$3,0 \times 10^{-8}$	Surowica ludzka, prep. farmaceutyczne	[45]
CNT/SPCE	DPV	$1,0 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-3}$	-	Prep. farmaceutyczne	[47]
	CV	$2,5 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-3}$	-		
MBs/Protein- G/SPE	DPV	$0 - 7,5 \times 10^{-4}$	$1,8 \times 10^{-6}$	Prep. farmaceutyczne	[51]
CeO ₂ /SPE	DPV	$9,0 \times 10^{-8} - 72,0 \times 10^{-6}$	$5,1 \times 10^{-8}$	Surowica	[61]
AGrO/SPE	SWV	$0 - 1,0 \times 10^{-5}$	$1,7 \times 10^{-7}$	Prep. farmaceutyczne, surowica	[63]
GO/Fe ₂ O ₃ /SiO ₂ - /SPE	DPV	$5,0 \times 10^{-7} - 1,0 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-7}$	Prep. farmaceutyczne, mocz	[65]
EIGPU	CV	$1,0 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-4}$	$8,0 \times 10^{-7}$	Prep. farmaceutyczne	[66]
CB-ERGO/SPCE	SWV	$9,9 \times 10^{-6} - 9,5 \times 10^{-5}$	$2,8 \times 10^{-8}$	---	[67]
HRP/SWCNT/Ppy/ SPE	DPV	$2,4 \times 10^{-5} - 1,2 \times 10^{-4}$	$8,1 \times 10^{-6}$	Prep. farmaceutyczne	[71]
CNFs/SPCE	DPV	$6,0 \times 10^{-7} - 5,3 \times 10^{-6}$	$2,0 \times 10^{-7}$	Woda kranowa, ścieki ze szpitala	[73]
EIGPU	DPV	$1,0 \times 10^{-6} - 4,0 \times 10^{-5}$	$8,4 \times 10^{-5}$	Prep. farmaceutyczne	[77]
EIGPU	DPV	$1,0 \times 10^{-6} - 4,0 \times 10^{-5}$	$8,4 \times 10^{-7}$	Prep. farmaceutyczne	[78]
CeBiO _x NFs/SPE	DPV	$2,5 \times 10^{-6} - 1,3 \times 10^{-4}$	$2,0 \times 10^{-7}$	Prep. farmaceutyczne, surowica	[79]

SPCE	DPV	$5,0 \times 10^{-8} - 1,9 \times 10^{-4}$	$1,3 \times 10^{-8}$	Prep. farmaceutyczne	[80]
PEDOT/SPE	DPV	$4,0 \times 10^{-6} - 4,0 \times 10^{-4}$	$1,4 \times 10^{-6}$	Prep. farmaceutyczne	[81]
	CV	$1,0 \times 10^{-5} - 1,0 \times 10^{-3}$	$3,7 \times 10^{-6}$		
MXene/SPE	DPV	$2,5 \times 10^{-7} - 2,0 \times 10^{-3}$	$4,8 \times 10^{-8}$	Prep. farmaceutyczne,	[82]
ZY/SDS/MSPE	SWV	$4,0 \times 10^{-7} - 1,0 \times 10^{-4}$	$8,0 \times 10^{-8}$	Prep. farmaceutyczne, mocz, surowica	[83]
CNFs/SPCE	DPAdSV	$2,0 \times 10^{-9} - 5,0 \times 10^{-8}$ $1,0 \times 10^{-7} - 2,0 \times 10^{-6}$	$5,4 \times 10^{-10}$	Woda rzeczna, morska	Publi- kacja 2

Diklofenak

SPCE/MWCNTs- COOH	DPAdSV	$1,0 \times 10^{-10} - 1,0 \times 10^{-8}$	$2,8 \times 10^{-11}$	Woda rzeczna, prep. farmaceutyczne, surowica	Publi- kacja 3
----------------------	--------	--	-----------------------	--	-------------------

Paracetamol i diklofenak

SPCE/MWCNTs- COOH	DPAdSV	PA $5,0 \times 10^{-9} - 5,0 \times 10^{-6}$ DF $1,0 \times 10^{-10} - 2,0 \times 10^{-8}$	PA $1,4 \times 10^{-9}$ DF $3,0 \times 10^{-11}$	Woda rzeczna, ścieki	Publi- kacja 4
----------------------	--------	---	---	----------------------	-------------------

CeO₂/SPE – elektroda sitodrukowana modyfikowana tlenkiem ceru(IV); **RGO/Nafion/SPE** – Elektroda sitodrukowana modyfikowana zredukowanym tlenkiem grafenu i Nafionem; **CNFs/SPCE** – węglowa elektroda sitodrukowana modyfikowana nanowłóknami węglowymi; **ARI/SPCE** – węglowa elektroda sitodrukowana modyfikowana alizaryną; **NMP/Nafion/SPE** – elektroda sitodrukowana modyfikowana Nafionem i N – metylopirolidonem; **ALP/SPE** – Elektroda sitodrukowana modyfikowana glutaraldehydem, fosfatazą alkaliczną i cysteaminą; **EIGPU** – grafitowa i poliuretanowa kompozytowa elektroda sitodrukowana; **BiF/SPCE** – węglowa elektroda sitodrukowana modyfikowana błonką bizmutu; **SPCE** – węglowa elektroda sitodrukowana; **SPGrE** – grafenowa elektroda sitodrukowana; **BiO-SPE** – sitodrukowana elektroda grafitowa modyfikowana Bi₂O_{2,33}; **CNT/SPCE** – węglowa elektroda sitodrukowana modyfikowana nanorurkami węglowymi; **MBs/Protein-G/SPE** – elektroda sitodrukowaną modyfikowaną białkiem magnetycznym G; **AGrO/SPE** – elektroda sitodrukowana z aktywowanym tlenkiem grafenu; **GO/Fe₂O₃/SiO₂/SPE** – grafitowa elektroda sitodrukowana modyfikowana nanokompozytem tlenkiem grafenu, Fe₂O₃ i SiO₂; **CB-ERGO/SPCE** – węglowa elektroda sitodrukowana modyfikowana zredukowanym tlenkiem grafenu i sadzą; **HRP/SWCNT/Ppy/SPE** – elektroda sitodrukowana modyfikowana jednościennymi nanorurkami węglowym, nanokompozytem polipiroli i peroksydazą chrzanową; **CeBiO_xNFs/SPE** – elektroda sitodrukowana modyfikowana nanowłóknami CeBiO_x; **PEDOT/SPE** – elektroda sitodrukowana modyfikowana poli(3,4-etylenodioksytiofenem); **MXene/SPE** – elektroda sitodrukowana modyfikowana MXene; **ZY/SDS/MSPE** – elektroda sitodrukowana modyfikowana kryształami zeolitu i dodecylosiarczanem sodu; **SPCE/MWCNTs-COOH** – elektroda sitodrukowana modyfikowana wielościennymi nanorurkami węglowymi funkcjonalizowanymi grupami karboksylowymi; **DPV** – woltamperometria impulsowo-różnicowa; **SWV** – woltamperometria fali prostokątnej; **CV** – woltamperometria cykliczna; **DPADSV** – impulsowo-różnicowa adsorpcyjna woltamperometria stripingowa.

2. Badania własne

Badania przeprowadzone w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej miały na celu opracowanie woltamperometrycznych procedur oznaczania wybranych składników leków przeciwbólowych, kofeiny, paracetamolu i diklofenaku, z wykorzystaniem czujników sitodrukowanych, a także sprawdzenie możliwości ich praktycznego zastosowania w analizie próbek wód. W tym celu:

- zoptymalizowano skład elektrolitu podstawowego, sposób modyfikacji powierzchni czujnika sitodrukowanego oraz parametry techniki (**Rozdz. 2.1**);
- scharakteryzowano powierzchnie czujników sitodrukowanych z wykorzystaniem nowoczesnych technik instrumentalnych oraz zbadano charakter zachodzących procesów elektrodowych (**Rozdz. 2.2**);
- zbadano wpływ możliwych interferentów oraz opracowano sposoby ich minimalizacji (**Rozdz. 2.3**);
- zastosowano opracowane procedury w analizie próbek wód i ścieków (**Rozdz. 2.4**).

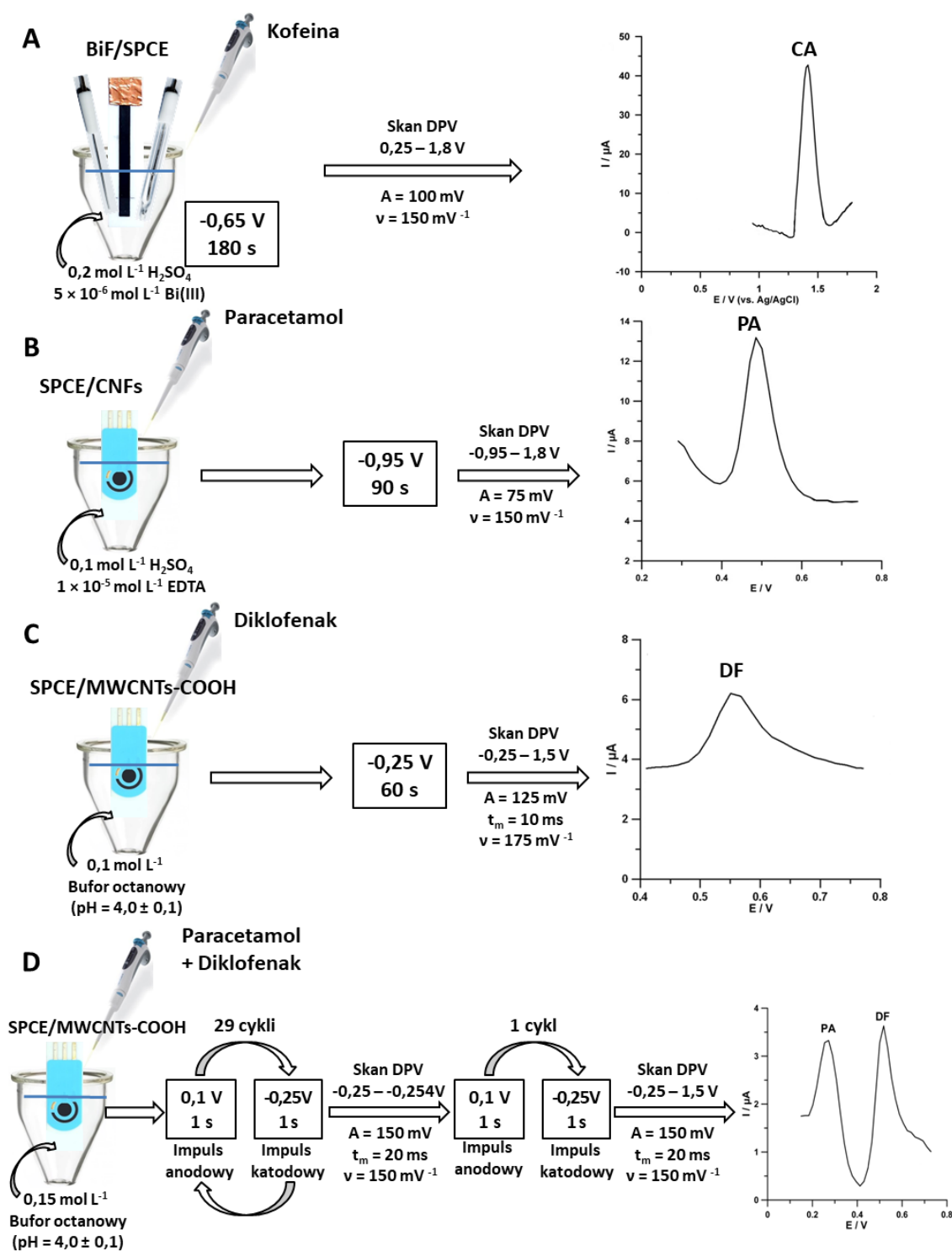
2.1. Woltamperometryczne procedury oznaczania kofeiny, paracetamolu i diklofenaku z wykorzystaniem czujników sitodrukowanych

W trakcie optymalizacji poszczególnych procedur oznaczania wybranych substancji czynnych leków przeciwbólowych, każdorazowo optymalizowano pH oraz stężenie elektrolitu podstawowego. W przypadku procedury oznaczania kofeiny (**Publikacja 1**) dodatkowo zoptymalizowano stężenie jonów bizmutu(III). W kolejnym etapie badań zoptymalizowano potencjał i czas osadzania błonki bizmutu (**Publikacja 1**) lub nagromadzania analitu (**Publikacja 2-4**). Następnie zoptymalizowano rodzaj i parametry technik rejestracji sygnału (**Publikacja 1-4**).

Oznaczenia woltamperometryczne w zoptymalizowanych warunkach pomiaru prowadzono z zastosowaniem woltamperometrii impulsowo-różnicowej (DPV), impulsowo-różnicowej adsorpcyjnej woltamperometrii stripingowej (DPAdSV) lub DPAdSV z nagromadzaniem impulsami potencjałowymi. Pomiaru woltamperometryczne prowadzono z wykorzystaniem analizatora elektrochemicznego

(μ Autolab, Holandia), statywu elektrodowego (MTM-anko) i komputera z oprogramowaniem GPES (Holandia). W naczynku elektrochemicznym umieszczano trzy oddzielne elektrody lub jeden zespolony czujnik pomiarowy (**Rys. 3**). W **publikacji 1** zastosowano układ trójelektrodowy składający się z: wyprodukowanej przy współpracy ze **śp. prof. K. Vyřasem (Uniwersytet w Pardubicach, Czechy)** sitodrukowanej elektrody węglowej modyfikowanej w trakcie pomiaru błonką bizmutu (BiF/SPCE, elektroda pracująca), elektrody chlorosrebrowej (elektroda odniesienia) i drucika platynowego (elektroda pomocnicza). W **publikacjach 2, 3 i 4** wykorzystano dostępne w handlu zespolone czujniki sitodrukowane, składające się z: pracującej elektrody węglowej modyfikowanej nanowłóknami węglowymi (SPCE/CNFs) lub wielościennymi nanorurkami węglowymi funkcjonalizowanymi grupami karboksylowymi (SPCE/MWCNTs-COOH), węglowej elektrody pomocniczej oraz srebrnej elektrody pseudo-odniesienia.

Podczas oznaczania kofeiny na BiF/SPCE (**Publikacja 1**), błonkę bizmutu osadzano elektrochemicznie metodą *in situ*. W tym celu do analizowanego roztworu wprowadzano dodatkowo jony bizmutu(III) o stężeniu 5×10^{-6} mol L⁻¹. Przy potencjale -0,65 V przez 180 s osadzano błonkę bizmutu na powierzchni SPCE, a następnie rejestrowano sygnał anodowy kofeiny (**Rys. 3A**). W procedurze oznaczania paracetamolu (**Publikacja 2**), PA nagromadzano na SPCE/CNFs przy potencjale -0,95 V przez 90 s, a następnie rejestrowano woltamperogramy w kierunku potencjałów bardziej dodatnich (**Rys. 3B**). Diklofenak (**Publikacja 3**) nagromadzano na SPCE/MWCNTs-COOH przy potencjale -0,25 V przez 60 s (**Rys. 3C**). W identycznym układzie prowadzono jednocześnie oznaczenie paracetamolu i diklofenaku (**Publikacja 4**) (**Rys. 3D**). W tej pracy, w celu wzmocnienia sygnałów analitycznych pochodzących od paracetamolu i diklofenaku, a także minimalizacji interferencji od surfaktantów, zastosowano nagromadzanie impulsami potencjałowymi. Naprzemiennie przykładano do elektrody potencjał 0,1 V przez 1 s (impuls anodowy) i -0,25 V przez 1 s (impuls katodowy). Po każdym z 29 cykli rejestrowano woltamperogramy w zakresie od -0,25 do -0,254 V. Po przeprowadzeniu trzydziestego cyklu zarejestrowano właściwy woltamperogram w zakresie potencjałów od -0,25 do 1,5 V (**Rys. 3D**). Szczegółowy skład elektrolitu oraz parametry techniki dla poszczególnych procedur zestawiono w **Tabeli 3**.



Rys. 3. Schemat procedur pomiarowych stosowanych podczas oznaczania: A) kofeiny (**Publikacja 1**); B) paracetamolu (**Publikacja 2**); C) diklofenaku (**Publikacja 3**); D) paracetamolu i diklofenaku (**Publikacja 4**).

Tabela 3. Zestawienie składu elektrolitu podstawowego oraz parametrów poszczególnych procedur oznaczania kofeiny, paracetamolu i diklofenaku (**Publikacje 1-4**).

Analit	Kofeina (Publikacja 1)	Paracetamol (Publikacja 2)	Diklofenak (Publikacja3)	Paracetamol + Diklofenak (Publikacja 4)
Elektroda	SPCE/BiF	SPCE/CNFs	SPCE/MWCNTs-COOH	SPCE/MWCNTs-COOH
Skład roztworu	0,2 mol L ⁻¹ H ₂ SO ₄ 5 × 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ Bi ³⁺	0,1 mol L ⁻¹ H ₂ SO ₄ 1 × 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ EDTA	0,1 mol L ⁻¹ bufor octanowy (pH = 4,0 ± 0,1)	0,15 mol L ⁻¹ bufor octanowy (pH = 4,0 ± 0,1)
Potencjał i czas osadzania blonki metalu	-0,65 V, 180 s	-	-	-
Potencjał i czas nagromadzania analitu	-	-0,95 V, 90 s	-0,25 V, 60 s	30 cykli 0,10 V, 1 s -0,25 V, 1s
Technika i zakres rejestracji sygnałów	DPV 0,25 – 1,80 V	DPAdSV -0,95 – 1,80 V	DPAdSV -0,25 – 1,50 V	DPAdSV -0,25 – 1,50 V
Amplituda (A)	100 mV	75 mV	125 mV	150 mV
Szybkość skanowania (v)	150 mV s ⁻¹	150 mV s ⁻¹	175 mV s ⁻¹	150 mV s ⁻¹
Czas modulacji (t_m)	40 ms	40 ms	10 ms	20 ms

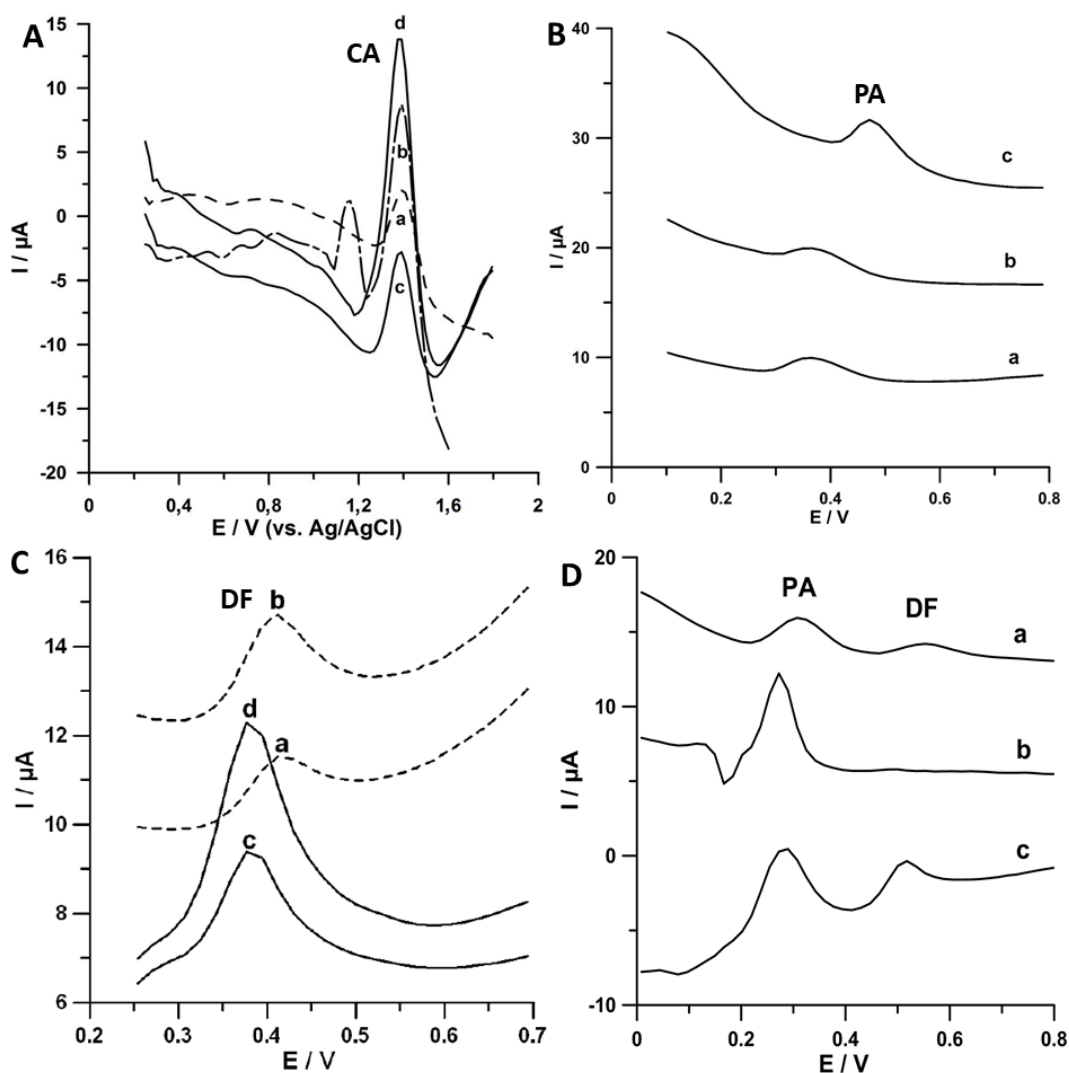
*SPCE/BiF – sitodrukowana elektroda węglowa modyfikowana błonką bizmutu;

SPCE./CNFs – sitodrukowana elektroda węglowa modyfikowana nanowłóknami węglowymi;

SPCE/MWCNTs-COOH – sitodrukowana elektroda węglowa modyfikowana wielościennymi nanorurkami węglowymi funkcjonalizowanymi grupami karboksylowymi.

Na **rysunku 4** porównano woltamperogramy otrzymane podczas oznaczania kofeiny, paracetamolu i diklofenaku na niemodyfikowanych sitodrukowanych elektrodach węglowych i modyfikowanych błonką bizmutu lub warstwą nanomateriałów węglowych. Jak można zauważyć zastosowanie modyfikacji powierzchni elektrody za pomocą błonki bizmutu (**Rys. 4A**) przyczynia się do wzmocnienia sygnału analitycznego kofeiny oraz obniżenia prądu tła. W przypadku oznaczania paracetamolu (**Rys. 4B**), porównano dostępne w handlu czujniki sitodrukowane, w których elektrodę pracującą stanowiła elektroda węglowa (**a**), węglowa modyfikowana nanorurkami węglowymi funkcjonalizowanymi grupami karboksylowymi (**b**) lub nanowłóknami węglowymi (**c**). Zaobserwowano, że najwyższe natężenie prądu pikowego paracetamolu otrzymano na elektrodzie SPCE modyfikowanej nanowłóknami węglowymi. Podczas analizy diklofenaku porównano niemodyfikowaną SPCE (**Rys. 4C, krzywe a i b**) oraz SPCE modyfikowaną wielościennymi nanorurkami węglowymi funkcjonalizowanymi grupami karboksylowymi (**Rys. 4C, krzywe c i d**). Jak można zauważyć, powyższa modyfikacja SPCE pozwoliła na wzmocnienie sygnału analitycznego diklofenaku oraz obniżenie prądu tła. W procedurze jednoczesnego oznaczania paracetamolu i diklofenaku (**Rys. 4D**) porównano niemodyfikowaną SPCE (**a**), SPCE/CNFs (**b**) oraz SPCE/MWCNTs-COOH (**c**). W przypadku, gdy modyfikacją elektrody były nanowłókna węglowe, otrzymano najwyższe natężenie prądu dla paracetamolu, jednak nie zaobserwowano pików diklofenaku. Na SPCE/MWCNTs-COOH zarejestrowano sygnały analityczne pochodzące od obydwu substancji, które były znacząco wyższe niż dla niemodyfikowanej SPCE.

Podsumowując, obecność błonki bizmutu lub nanomateriałów węglowych (nanowłókien węglowych/wielościennych nanorurek węglowych funkcjonalizowanych grupami karboksylowymi) na powierzchni elektrody pracującej przyczynia się między innymi do wzmocnienia sygnału analitycznego kofeiny, paracetamolu i diklofenaku. To wzmocnienie sygnałów analitycznych związane jest głównie ze zwiększeniem powierzchni aktywnej elektrody, co potwierdzono w dalszych badaniach.



Rys. 4. Woltamperogramy otrzymane podczas oznaczania: **A)** $2,0 \times 10^{-6}$ (a, c) oraz $1,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ (b, d) kofeiny na SPCE (a, b) oraz BiF/SPCE (c, d) (**Publikacja 1**); **B)** $5,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ paracetamolu na SPCE (a), SPCE/MWCNTs-COOH (b), SPCE/CNFs (c) (**Publikacja 2**); **C)** $5,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ (a, c) oraz $1,0 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ (b, d) diklofenaku na SPCE (a, b) oraz SPCE/MWCNTs-COOH (c, d) (**Publikacja 3**); **D)** $2,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ paracetamolu i $2,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ diklofenaku na SPCE (a), SPCE/CNFs (b), SPCE/MWCNTs-COOH (c) (**Publikacja 4**).

W **Tabeli 4** zestawiono parametry analityczne opracowanych woltamperometrycznych procedur oznaczania kofeiny, paracetamolu i diklofenaku z wykorzystaniem czujników sitodrukowanych. Jak można zauważyć, najniższą granicę wykrywalności i oznaczalności uzyskano dla diklofenaku na SPCE/MWCNTs-COOH rzędu 10^{-11} mol L⁻¹. Warto w tym miejscu podkreślić, że po raz pierwszy zaproponowano zastosowanie czujników sitodrukowanych w oznaczeniach diklofenaku (**Publikacje 3 i 4**). W części „Aktualny stan wiedzy” (Rozdział 1.5) niniejszej pracy, przedstawiono porównanie uzyskanych parametrów analitycznych na czujnikach sitodrukowanych z danymi dostępnymi w literaturze. Stwierdzono, że otrzymane granice wykrywalności są najniższymi spośród procedur oznaczania poszczególnych związków na czujnikach sitodrukowanych [61-83]. Ponadto, porównując powyższe wyniki z parametrami analitycznymi otrzymanymi na innych rodzajach czujników elektrochemicznych, stwierdzono, że w przypadku oznaczania:

- kofeiny – istnieje tylko kilka prac opisujących możliwości oznaczania kofeiny na porównywalnych i niższych poziomach stężeń [24, 84-91], jednakże żadna z opracowanych procedur nie została zastosowana do oznaczania kofeiny w próbkach środowiskowych, ponadto proponowane czujniki w większości przypadków wymagają pracochłonnej procedury modyfikacji ich powierzchni;
- paracetamolu, diklofenaku oraz jednoczesnego oznaczania paracetamolu i diklofenaku – nie znaleziono prac opisujących procedury, w których osiągnięto by niższe granice wykrywalności.

Tabela 4. Parametry analityczne opracowanych procedur oznaczania kofeiny, paracetamolu i diklofenaku z wykorzystaniem czujników sitodrukowanych (Publikacje 1-4).

Analit	Granica wykrywalności [mol L ⁻¹]	Granica oznaczalności [mol L ⁻¹]	Zakres liniowy krzywej kalibracyjnej [mol L ⁻¹]	Współczynnik korelacji
Kofeina (Publikacja 1)	$2,7 \times 10^{-8}$	$9,0 \times 10^{-8}$	$1,0 \times 10^{-7} - 2,0 \times 10^{-5}$	0,9927
Paracetamol (Publikacja 2)	$5,4 \times 10^{-10}$	$1,8 \times 10^{-9}$	$2,0 \times 10^{-9} - 5,0 \times 10^{-8}$ $1,0 \times 10^{-7} - 2,0 \times 10^{-7}$	0,9991 0,9994
Diklofenak (Publikacja 3)	$2,8 \times 10^{-11}$	$9,4 \times 10^{-11}$	$1,0 \times 10^{-10} - 1,0 \times 10^{-8}$	0,9999
Paracetamol + Diklofenak (Publikacja 4)	$1,3 \times 10^{-9}$ $1,2 \times 10^{-11}$	$4,5 \times 10^{-9}$ $5,1 \times 10^{-11}$	$5,0 \times 10^{-9} - 5,0 \times 10^{-6}$ $1,0 \times 10^{-10} - 2,0 \times 10^{-8}$	0,9971 0,9989

Granica wykrywalności: $LOD = 3 SD_a/b$;
Granica oznaczalności: $LOQ = 10 SD_a/b$;
 SD_a – odchylenie standardowe z a ($n = 3$);
a – wyraz wolny;
b – współczynnik kierunkowy krzywej kalibracyjnej ($n = 3$).

W trakcie prowadzonych badań do niniejszej rozprawy doktorskiej wyznaczono również powtarzalność sygnałów analitycznych oraz odtwarzalność elektrody do elektrody. Otrzymane wyniki zebrano w **Tabeli 5**. Uzyskane wartości względnego odchylenia standardowego świadczą o dobrej powtarzalności sygnałów analitycznych oraz o zadawalającej odtwarzalności elektrody do elektrody.

Tabela 5. Powtarzalność sygnałów analitycznych i odtwarzalność elektrody do elektrody (Publikacje 1-4).

Analit	Czujnik	Stężenie [mol L ⁻¹]	Powtarzalność RSD [%]	Odtwarzalność RSD [%] (n = 9)
Kofeina (Publikacja 1)	BiF/SPCE	$1,0 \times 10^{-7} - 2,0 \times 10^{-5}$	1,4 – 6,3 (n = 3)	---
Paracetamol (Publikacja 2)	SPCE/CNFs	$2,0 \times 10^{-7} - 1,0 \times 10^{-6}$	3,1 (n = 10) 3,3 (n = 10)	---
Diklofenak (Publikacja 3)	SPCE/MWCNTs-COOH	$1,0 \times 10^{-8}$	0,7 (n = 10)	2,9
Paracetamol + Diklofenak (Publikacja 4)	SPCE/MWCNTs-COOH	PA $1,0 \times 10^{-6}$ DF $1,0 \times 10^{-8}$	3,7 (n = 10) 5,3 (n = 10)	4,9 5,2

RSD – względne odchylenie standardowe

2.2. Charakterystyka powierzchni czujników sitodrukowanych i badanie charakteru procesów elektrodowych

Morfologię i skład powierzchni niemodyfikowanych czujników sitodrukowanych oraz modyfikowanych błonką bizmutu lub nanomateriałami węglowymi (nanowłóknami węglowymi/wielościennymi nanorurkami węglowymi) scharakteryzowano z wykorzystaniem:

- mikroskopii optycznej (**Publikacja 4**);
- profilometrii optycznej (**Publikacja 3**);
- skaningowej mikroskopii elektronowej (**Publikacje 1, 3 i 4**) w połączeniu z spektroskopią dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (**Publikacja 1**);
- woltamperometrii cyklicznej (**Publikacje 1-4**).

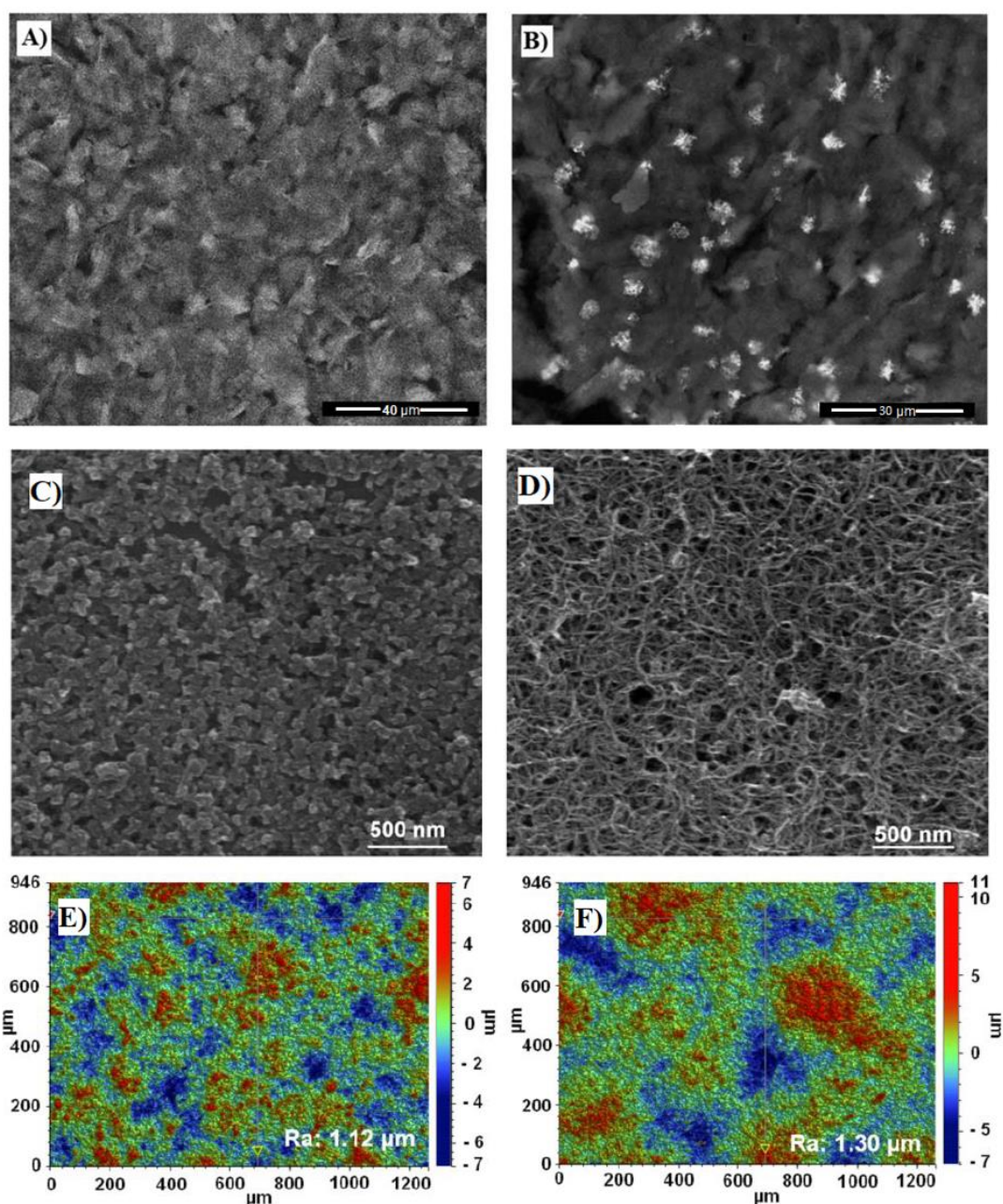
Charakter procesów elektrodowych zachodzących na powierzchni elektrody pracującej zbadano z wykorzystaniem:

- woltamperometrii cyklicznej (**Publikacje 1-4**);
- elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej (**Publikacja 2**);
- teorii funkcjonału gęstości (**Publikacja 2**).

2.2.1. Charakterystyka powierzchni czujników sitodrukowanych

W celu wyjaśnienia wpływu modyfikacji powierzchni elektrody na sygnał analityczny badanych substancji zastosowano szereg technik instrumentalnych. W **publikacjach 1, 3 i 4** powierzchnię elektrod zobrazowano z wykorzystaniem skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM, **Rys. 5**). Na **Rys. 5A i 5B** przedstawiono obrazy SEM powierzchni sitodrukowanej elektrody węglowej niemodyfikowanej i modyfikowanej błonką bizmutu (**Publikacja 1**). Obecność bizmutu (jasne punkty) na powierzchni elektrody modyfikowanej potwierdzono z wykorzystaniem spektroskopii dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego (EDS). Natomiast oprogramowanie „NIS-Elements” posłużyło do wyznaczenia średnicy ekwiwalentnej drobin bizmutu (1,75-7,5 μm). Obrazy SEM (**Publikacja 1**) wykonane przy większej rozdzielczości pokazały, że powierzchnia elektrody pokryta jest agregatami drobin bizmutu.

Na **Rys. 5C i 5D** porównano obrazy SEM handlowo dostępnych czujników SPCE oraz SPCE/MWCNTs-COOH (**Publikacje 3 i 4**). Stwierdzono, że warstwa nanorurek węglowych jest równomiernie rozłożona na powierzchni sitodrukowanej elektrody węglowej i tworzy strukturę trójwymiarową. Dodatkowo, wykonane profile optyczne SPCE i SPCE/MWCNTs-COOH (**Publikacja 3**) pokazały niewielkie różnice w chropowatości powierzchni ($R_a = 1,12 \mu\text{m}$ dla SPCE i $R_a = 1,30 \mu\text{m}$ dla SPCE/MWCNTs-COOH), co pokazuje że powierzchnia elektrody pokryta jest cienką warstwą nanorurek węglowych.



Rys. 5. Obrazy SEM: **A)** SPCE, **B)** SPCE/BiF, **C)** SPCE, **D)** SPCE/MWCNTs-COOH. Profile optyczne: **E)** SPCE i **F)** SPCE/MWCNTs-COOH (**Publikacje 1, 3 i 4**).

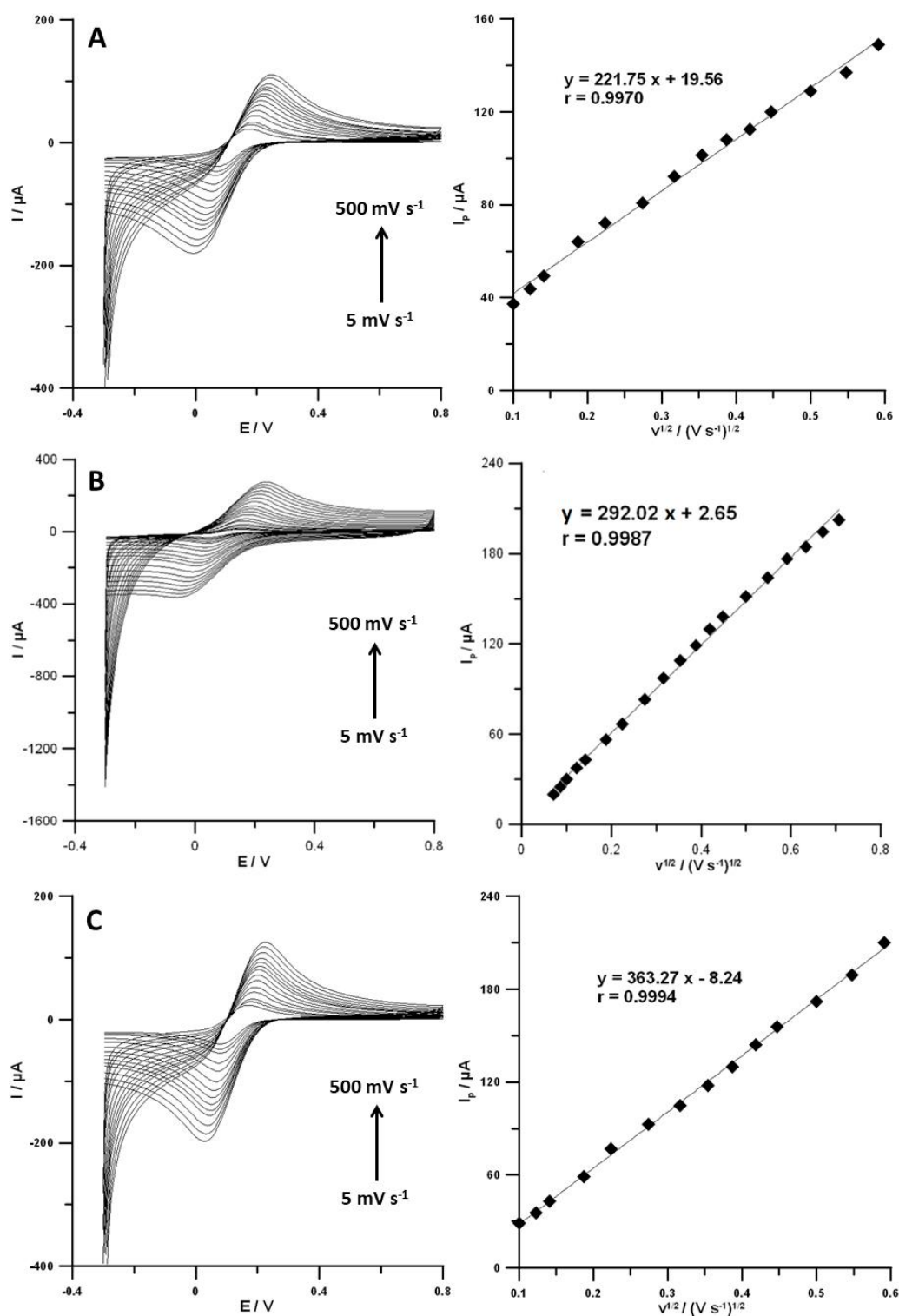
W celu dalszej charakterystyki powierzchni elektrod rejestrowano woltamperogramy cykliczne (CV) w roztworze $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ KCl zawierającego $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ przy zmiennej szybkości skanowania. Na podstawie równania Randlesa-Sevicka [92] i wykreślonych zależności między natężeniem prądu piku anodowego a pierwiastkiem kwadratowym z szybkości skanowania obliczono powierzchnię aktywną (A_s) dostępnych w handlu czujników: SPCE, SPCE/CNFs, SPCE/MWCNTs-COOH (**Rys. 6, Tabela 6**). Należy dodać, że geometryczne powierzchnie wszystkich elektrod są takie same ($12,56 \text{ mm}^2$). Wyniki pokazują, że SPCE/MWCNTs-COOH posiada większą powierzchnię aktywną niż niemodyfikowana SPCE i SPCE/CNFs. Zależność ta wyjaśnia wzmocnienie sygnałów paracetamolu i diklofenaku w stosunku do niemodyfikowanej SPCE oraz sygnału diklofenaku w porównaniu do SPCE/CNFs (**Publikacja 4**). Warto w tym miejscu dodać, że większy sygnał paracetamolu na SPCE/CNFs niż SPCE/MWCNTs-COOH związany jest z faktem iż powierzchnia SPCE/CNFs ułatwia adsorpcję paracetamolu, którego elektrochemiczne utlenianie jest kontrolowane wyłącznie przez proces adsorpcji. Ponadto, najprawdopodobniej obecność grup karboksylowych przyczynia się do wzmocnienia sygnału analitycznego diklofenaku na SPCE/MWCNTs-COOH w porównaniu do SPCE i SPCE/CNFs (**Publikacja 4**).

Na podstawie pomiarów wykonanych w $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ roztworze KCl zawierającym $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ wyznaczono dla wybranej szybkości skanowania ($\nu = 175 \text{ mV s}^{-1}$) różnice między potencjałami piku anodowego i katodowego (ΔE) (**Publikacje 3 i 4**). W przypadku czujników modyfikowanych nanomateriałami węglowymi zaobserwowano mniejsze wartości ΔE ($169,0 \pm 1,7 \text{ mV}$ dla SPCE/CNFs oraz $149,0 \pm 1,5 \text{ mV}$ dla SPCE/MWCNTs-COOH) względem czujnika niemodyfikowanego ($189,0 \pm 1,9 \text{ mV}$ dla SPCE), co świadczy o tym że nanomateriały poprawiają odwracalność procesów. W pracy poświęconej procedurze oznaczania diklofenaku (**Publikacja 3**) obliczono również względne rozdzielnie sygnałów (χ^0), równe $2,57 \pm 0,025$ dla SPCE/MWCNTs-COOH oraz $3,26 \pm 0,031$ dla niemodyfikowanej SPCE. Wartość χ^0 dla czujnika modyfikowanego jest bliższa wartości teoretycznej niż w przypadku czujnika niemodyfikowanego, co świadczy o poprawie szybkości przenoszenia elektronów.

Tabela 6. Charakterystyka powierzchni czujników sitodrukowanych z wykorzystaniem woltamperometrii cyklicznej w 0,1 mol L⁻¹ roztworze KCl zawierającym 5 × 10⁻³ mol L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆], $\nu = 175 \text{ mV s}^{-1}$ (**Publikacje 3 i 4**).

Rodzaj czujnika	A_s (n = 3) [cm ²]	ΔE (n = 3) [mV]	χ^0 (n = 3)
SPCE	0,061 ± 0,00058	189,0 ± 1,9	3,26 ± 0,031
SPCE/CNFs	0,081 ± 0,0014	169,0 ± 1,7	---
SPCE/MWCNTs-COOH	0,100 ± 0,00097	149,0 ± 1,5	2,57 ± 0,025

A_s – powierzchnia aktywna;
 ΔE – różnica potencjałów piku anodowego i katodowego;
 χ^0 – względne rozdzielenie pików.

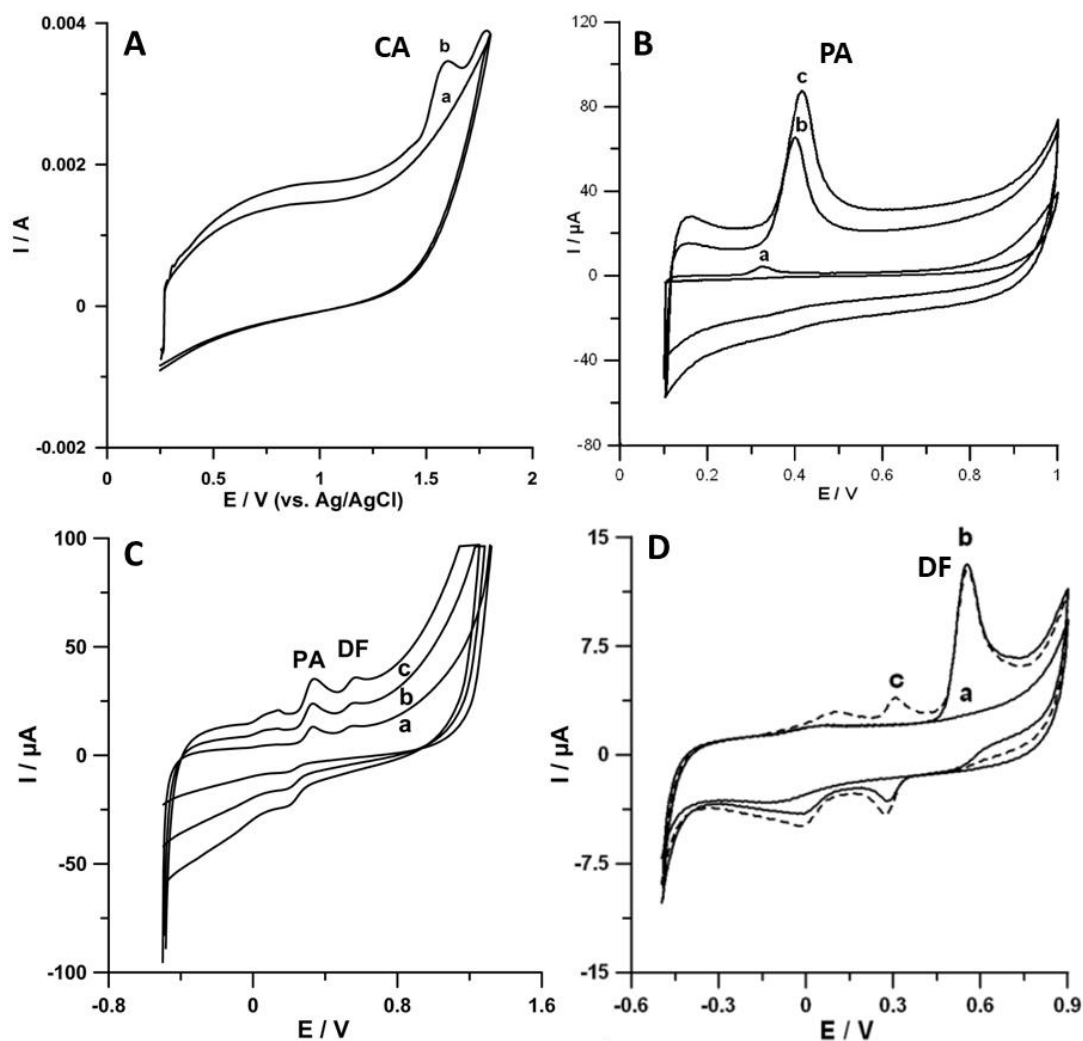


Rys. 6. Woltamperogramy cykliczne zarejestrowane 0,1 mol L⁻¹ roztworze KCl zawierającym 5×10^{-3} mol L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆] przy szybkości skanowania w zakresie 5 – 500 mV s⁻¹ oraz wykreślone na ich podstawie zależności $I_p = f(v^{1/2})$ dla: **A)** SPCE, **B)** SPCE/CNFs, **C)** SPCE/MWCNTs-COOH (**Publikacje 3 i 4**).

2.2.2. *Badanie charakteru procesów elektrodowych*

Odwracalność oraz charakter procesów utleniania kofeiny, paracetamolu i diklofenaku na powierzchni stosowanych elektrod zbadano z wykorzystaniem woltamperometrii cyklicznej. Badania wykazały, że zarówno kofeina na BiF/SPCE (**Rys. 7A**), jak i paracetamol na SPCE/CNFs i SPCE/MWCNTs-COOH (**Rys. 7B i 7C**) daje jeden pik utlenienia, przy jednoczesnym braku piku redukcji. Ponadto, potencjał pików utlenienia wraz ze zwiększaniem szybkości skanowania przesuwają się w kierunku potencjałów bardziej dodatnich, co potwierdza nieodwracalność procesów elektrodowych (**Publikacje 1, 2 i 4**). Natomiast w przypadku oznaczeń diklofenaku na SPCE/MWCNTs-COOH (**Rys. 7C i 7D**) rejestrowano pik utlenienia przy potencjale o 550 mV i jeden/dwa piki w części katodowej. Dodatkowy pik/piki utlenienia przy potencjałach mniej dodatnich należy powiązać z powstawianiem elektrochemicznie aktywnych produktów utleniania diklofenaku (**Publikacje 3 i 4**).

Na podstawie zarejestrowanych woltamperogramów cyklicznych wykreślono zależności pomiędzy natężeniem prądu piku utleniania badanej substancji (I_p) a pierwiastkiem kwadratowym z szybkości skanowania ($v^{1/2}$). Liniowa zależność sugeruje, że transport substancji od/do powierzchni elektrody odbywa się na drodze dyfuzji, natomiast nieliniowa zależność świadczy o jej adsorpcji na powierzchni elektrody. W celu potwierdzenia wyników, wykreślono zależność pomiędzy logarytmem natężenia prądu piku utleniania ($\log I_p$) a logarytmem z szybkości skanowania ($\log v$). Wartość współczynnika nachylenia prostej bliska 0,5 potwierdza dyfuzję, natomiast bliska 1 sugeruje, że utlenianie badanych substancji jest kontrolowane przez adsorpcję. Jeżeli współczynnik ten przyjmuje wartość ok. 0,7, to nie można jednoznacznie stwierdzić, czy proces jest w pełni kontrolowany przez dyfuzję, czy przez adsorpcję. Proces ma wtedy charakter mieszany [72].



Rys. 7. Woltamperogramy cykliczne zarejestrowane podczas oznaczania: **A)** (a) 0 i (b) 5×10^{-4} mol L⁻¹ kofeiny na BiF/SPCE, $\nu = 150$ mV s⁻¹; **B)** 5×10^{-4} mol L⁻¹ paracetamolu na SPCE/CNFs, dla ν równego (a) 50, (b) 100 i (c) 150 mV s⁻¹; **C)** jednoczesnego oznaczania 1×10^{-4} mol L⁻¹ paracetamolu i 1×10^{-6} mol L⁻¹ diklofenaku na SPCE/MWCNTs-COOH, dla ν równego (a) 50, (b) 100 i (c) 175 mV s⁻¹; **D)** (a) 0, (b) pierwszy cykl i (c) drugi cykl 1×10^{-6} mol L⁻¹ diklofenaku na SPCE/MWCNTs-COOH, $\nu = 175$ mV s⁻¹; D) (**Publikacje 1-4**).

W **Tabeli 7** zestawiono szczegółowe parametry wykreślonych zależności dla badanych związków. W przypadku oznaczania kofeiny na BiF/SPCE (**Publikacja 1**) obydwie zależności potwierdzają dyfuzyjny charakter procesu elektrodowego. Podczas oznaczania paracetamolu na SPCE/CNFs (**Publikacja 2**) stwierdzono, że elektrochemiczne utlenianie paracetamolu jest kontrolowane przez adsorpcję. Przeprowadzono również pomiary z wykorzystaniem elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej i na podstawie krzywych pojemności różniczkowej warstwy podwójnej na granicy faz: SPCE/CNFs/0,1 mol L⁻¹ H₂SO₄ dla wzrastających stężeń paracetamolu, potwierdzono proces adsorpcyjny. Jednakże podczas oznaczania tej samej substancji na SPCE/MWCNTs-COOH (**Publikacja 4**) liniowa zależność $I_p = f(v^{1/2})$ świadczy o procesie dyfuzyjnym, natomiast zależność $\log I_p = f(\log v)$ bliska 0,7 nie pozwala jednoznacznie go zdefiniować, sugerując mieszany charakter procesu. Podobna sytuacja ma miejsce w przypadku oznaczania diklofenaku na SPCE/MWCNTs-COOH (**Publikacje 3 i 4**).

Tabela 7. Zestawienie wyników badania procesów elektrodowych techniką CV dla kofeiny, paracetamolu i diklofenaku (**Publikacje 1-4**).

Analit	Elektroda	$I_p = f(v^{1/2})$	$\log I_p = f(\log v)$	Charakter procesu elektrodowego	Pub.
Kofeina	SPCE/BiF	0,9816	0,44	Dyfuzja	1
Paracetamol	SPCE/CNFs	0,9723	0,83	Adsorpcja	2
Diklofenak	SPCE/MWCNTs-COOH	0,9934	0,69	Proces mieszany	3
Paracetamol	SPCE/MWCNTs-	0,9970	0,67	Proces mieszany	4
Diklofenak	COOH	0,9879	0,72	Proces mieszany	

Dodatkowo, przeprowadzono rozważania teoretyczne oddziaływań paracetamolu z warstwami węglowymi (**Publikacja 2**). Badania te realizowane były przy współpracy z **dr hab. Tatianą Koroną i mgr. Michałem Chojeckim z Pracowni Chemii Kwantowej Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego**. Optymalizacja geometrii kompleksu grafenu z cząsteczką paracetamolu wykazała, że najbardziej korzystna energetycznie jest struktura, w której pierścienie aromatyczne obu cząsteczek

są równoległe i nieco przesunięte względem siebie, tak by powstała w przybliżeniu struktura typu AB. Dla znalezionych geometrii zostały następnie obliczone energie oddziaływania międzycząsteczkowego za pomocą rachunku zaburzeń o adaptowanej symetrii (SAPT) z cząsteczkami opisywanymi na poziomie DFT (funkcjonał PBE0 z poprawką asymptotyczną). Metoda SAPT umożliwia bezpośrednie obliczenie energii oddziaływania, a jednocześnie podaje jej podział na składniki o prostej interpretacji fizycznej (energia elektrostatyczna, indukcyjna, dyspersyjna, oraz ich odpowiedniki wymienne, wynikające z wymuszania zakazu Pauliego na przybliżonej funkcji falowej). Do obliczeń metodą SAPT(DFT) wykorzystana była ta sama baza def2-TZVP, a w przypadku energii dyspersyjnej dodatkowo przeprowadzono estymację do bazy zupełnej. Po dodaniu do otrzymanej w ten sposób energii oddziaływania energii deformacji i poprawki na energię drgań zerowych uzyskano energię stabilizacji, która dla wszystkich podanych przypadków miała podobną wartość, co umożliwiło oszacowanie energii stabilizacji dla kompleksowania paracetamolu przez grafen na ok. -68 kJ mol^{-1} .

2.3. Wpływ interferentów na sygnał analityczny i sposoby ich minimalizacji

W celu sprawdzenia selektywności opracowanych procedur zbadano wpływ potencjalnych interferentów mogących występować w próbkach rzeczywistych oraz zaproponowano ewentualne sposoby minimalizacji ich wpływu. W **publikacjach 1 i 2** badano 10-krotnie mniejsze, równe i 10-krotnie większe stężenie interferenta w stosunku do analitu. Natomiast w **publikacjach 3 i 4** analizowano wzrastające stężenia interferentów aż do zmiany wartości początkowej sygnałów o $\pm 10\%$ (**Tabela 8**).

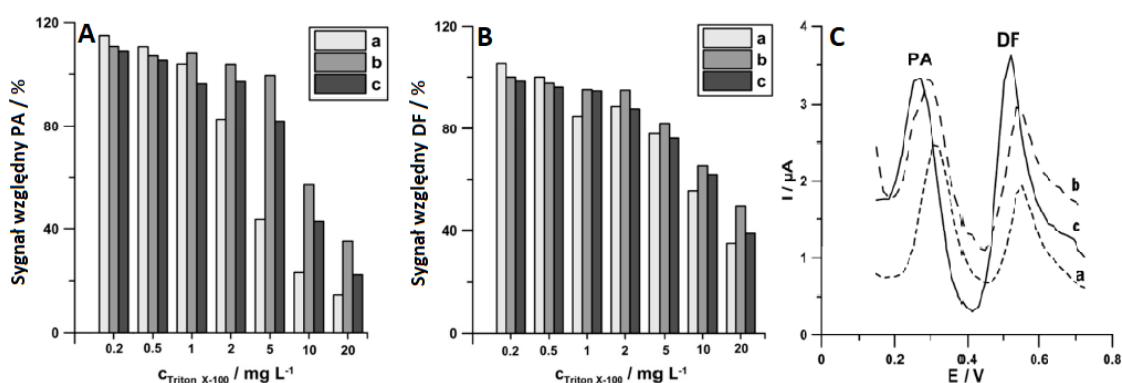
W przypadku oznaczania kofeiny na BiF/SPCE (**Publikacja 1**) większość analizowanych jonów metali nie wpłynęła w istotny sposób na wysokość sygnału analitycznego. Tylko 10-krotny nadmiar jonów żelaza(III) i miedzi(II) spowodował spadek sygnału kofeiny odpowiednio do 77,3 i 86,6% jego pierwotnej wartości. W przypadku analizy wpływu 2 mg L^{-1} surfaktantów, zaobserwowano wzmocnienie sygnału analitycznego kofeiny do 111,9% (Triton X-100) i 102,6% (CTAB) oraz spadek sygnału do 73,1% (SDS) względem pierwotnej wartości. Należy zauważyć, że pomimo zmiany wartości natężenia prądu o więcej niż $\pm 10\%$, we wszystkich przypadkach piki kofeiny nadal były dobrze ukształtowane i łatwe do zmierzenia.

Podczas oznaczania paracetamolu na SPCE/CNFs (**Publikacja 2**) do naczynka elektrochemicznego wprowadzono $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ roztworu soli dwusodowej kwasu etylenodiaminotetraoctowego, która tworząc trwałe kompleksy z jonami metali ogranicza ich wpływ na sygnał analityczny [55,93]. Większość badanych jonów metali wykazywała nieznaczny wpływ na sygnał paracetamolu (sygnały względne paracetamolu mieściły się w zakresie 92,4 – 105,1%). Największą zmianę, do $79,5 \pm 3,4\%$ oryginalnej wartości sygnału zaobserwowano po dodaniu 10-krotnego nadmiaru Fe(III) w stosunku do stężenia paracetamolu. Ponadto, zbadano wpływ na sygnał paracetamolu, ibuprofenu oraz surfaktantów. Stwierdzono, że 10-krotny nadmiar ibuprofenu nie wpłynął na sygnał analityczny paracetamolu, natomiast surfaktanty dodane w ilości 20 mg L^{-1} spowodowały jego spadek do 62,3% (Triton X-100), 72,8% (SDS) i 62,5% (CTAB). Warto zauważyć, że przy tak wysokich stężeniach substancji powierzchniowo czynnych sygnał analityczny paracetamolu był dalej dobrze ukształtowany i łatwy do zmierzenia.

W przypadku oznaczeń diklofenaku na SPCE/MWCNTs-COOH (**Publikacja 3**), powszechnie występujące w wodach jony metali oraz substancje czynne preparatów farmaceutycznych, tj. ibuprofen, kofeina i paracetamol miały znikomy wpływ na wysokość sygnału analitycznego (sygnały względne mieściły się w zakresie 93,7 – 100,1%). W przypadku surfaktantów: 5,0 mg L⁻¹ Triton X-100, 1 mg L⁻¹ CTAB, 2 mg L⁻¹ SDS oraz 10 mg L⁻¹ kwasów humusowych, sygnały względne mieściły się w zakresie 90,4 – 92,0%.

Podczas jednoczesnego oznaczania paracetamolu i diklofenaku na SPCE/MWCNTs-COOH (**Publikacja 4**) minimalizowano wpływ substancji powierzchniowo czynnych na sygnały analityczne poprzez zastosowanie nagromadzania impulsami potencjałowym [94,95]. Jest to szybki i prosty sposób minimalizacji interferencji od substancji powierzchniowo czynnych, który może być zastosowany poza laboratorium. W tym celu do elektrody naprzemiennie przykładano w jednym cyklu potencjał 0,1 V przez 1 s (impuls anodowy) oraz -0,25 V przez 1 s (impuls katodowy). Po przeprowadzeniu 60 cykli, rejestrowano sygnały analityczne paracetamolu i diklofenaku. Potencjały były tak dobrane, żeby w trakcie impulsu anodowego następowała desorpcja interferentów z powierzchni elektrody, a w trakcie impulsu katodowego maksymalna adsorpcja analitów. Wyniki porównano do nagromadzania przy stałym potencjale -0,25 V przez 60 s oraz do 60 cykli nagromadzania impulsami potencjałowymi: -0,25 V przez 1 s (impuls katodowy) i skan DPV -0,25 – 0,1 V (impuls anodowy). Zgodnie z danymi literaturowymi [94], zawartość surfaktantów w wodach naturalnych można porównać do stężenia 0,2 – 2 mg L⁻¹ Tritonu X-100. Z tego względu związek ten wykorzystano jako wzorzec do badania wpływu nagromadzania impulsami potencjałowymi na minimalizację interferencji pochodzących od surfaktantów. Na **Rys. 8A i 8B** zaprezentowano porównanie sygnałów względnych paracetamolu i diklofenaku po wprowadzeniu określonego stężenia Tritonu X-100 i zastosowaniu wymienionych wcześniej procedur pomiarowych. Jak można zaobserwować, nagromadzanie impulsami potencjałowymi (słupki b i c) przyczyniło się do zminimalizowania wpływu Tritonu X-100 na sygnał PA i DF w porównaniu z nagromadzeniem przy stałym potencjale (słupki a).

Zaobserwowano, że zastosowanie nagromadzenia impulsami potencjałowymi (0,1 V 1 s, -0,25 V 1 s, $n_{\text{cykli}} = 60$) przyczyniło się również do wzmocnienia sygnałów analitycznych paracetamolu i diklofenaku. Szczegółowy opis procedury pomiarowej przedstawiono w rozdziale 2.1 niniejszej rozprawy doktorskiej. Warto podkreślić, że zaproponowana procedura pomiarowa, po raz pierwszy została wykorzystana nie tylko do minimalizowania interferencji od Tritonu X-100, ale również do wzmocnienia sygnałów analitycznych paracetamolu i diklofenaku.



Rys. 8. Sygnał względny **A)** $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ PA oraz **B)** $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ DF przy wzrastającym stężeniu Tritonu X-100 w warunkach opisanych zgodnie z Rys. 8C; **C)** Woltamperogramy DPAdSV zarejestrowane w roztworze zawierającym $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ PA i $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ DF przy zastosowaniu nagromadzenia: (a) przy stałym potencjale -0,25 V przez 60 s; oraz impulsami potencjałowymi: (b) -0,25 V 1 s (impuls katodowy) i skan DPV -0,25 – 1 V (impuls anodowy) ($n = 60$); (c) 0,1 V 1 s (impuls anodowy) i -0,25 V 1 s (impuls katodowy) ($n = 60$) (**Publikacja 4**).

Tabela 8. Posumowanie badań selektywności opracowanych procedur (**Publikacje 1-4**). Zestawienie poszczególnych interferentów w stosunku do oznaczanej substancji, niepowodujące zmiany pierwotnej wartości sygnału analitycznego o $\pm 10\%$.

Publikacja		1	2	3	4	
Interferent	Analit	Kofeina	Paracetamol	Diklofenak	Paracetamol	Diklofenak
Nadmiar interferenta w stosunku do analitu	Ni ²⁺	10	10	1000	500	1000
	Mo ⁶⁺	10	10	100	100	5000
	Fe ³⁺	1	1	1000	50	5000
	Cu ²⁺	1	10	100	10	1000
	V ⁵⁺	10	10	100	50	1000
	Pb ²⁺	10	10	500	100	5000
	Cd ²⁺	10	10	500	10	1000
	Zn ²⁺	10	10	500	500	5000
	Sb ³⁺	---	---	500	100	10000
	Na ⁺	---	---	---	100	5000
	K ⁺	---	---	---	100	5000
	Cl ⁻	---	---	---	100	5000
	NO ₃ ⁻	---	---	---	5000	5000
	SO ₄ ²⁻	---	---	---	50	1000
	PO ₄ ³⁻	---	---	---	500	5000
	Ibuprofen	---	10	2000	---	---
	Kofeina	---	1	2000	---	---
	Paracetamol	---	---	1000	---	---
	Dopamina	---	---	---	2	1000
	Glukoza	---	---	---	100	1000
	Kwas askorbinowy	---	---	---	100	1000
	Kwas moczowy	---	---	---	50	5000
	Mocznik	---	---	---	50	5000
	CTAB [mg L ⁻¹]	1	3	1	---	---
	SDS [mg L ⁻¹]	2	10	2	---	---
	Triton X-100 [mg L ⁻¹]	1	1	5	2	2
	Kwasy humusowe	---	---	10	---	---

2.4. Zastosowanie opracowanych procedur

Opracowane woltamperometryczne procedury na czujnikach sitodrukowanych zastosowano do oznaczania wybranych substancji czynnych popularnych leków w próbkach wód. Analizie poddano próbki pobrane z polskich rzek, morza Bałtyckiego i oczyszczalni ścieków. Należy zaznaczyć, że próbki nie były w żaden sposób przygotowywane przed pomiarem. Odpowiednia ilość próbki do analizy była pobierana bezpośrednio z pojemnika czerpakowego. Jako metodę porównawczą zastosowano wysokosprawną chromatografię cieczową z detektorem PDA (HPLC/PDA, **Publikacja 1, 3 i 4**) oraz impulsowo-różnicową adsorpcyjną woltamperometrię stripingową (DPAdSV) na modyfikowanej Nafionem i bizmutem elektrodzie diamentowej domieszkowanej borem (BDDE/Nafion/Bi, **Publikacja 2**).

Wykonano następujące analizy:

- kofeiny na BiF/SPCE w próbkach z rzeki Bystrzycy (Lublin) i Mlecznej (Radom) (**Publikacja 1**);
- paracetamolu na SPCE/CNFs w próbkach z rzeki Bystrzycy (Lublin), Wisły (Warszawa) i Morza Bałtyckiego (Kołobrzeg) (**Publikacja 2**);
- diklofenaku na SPCE/MWCNTs-COOH w próbkach z rzeki Wisły (w pobliżu miejsca zrzutu ścieków do rzeki oraz w miejscu oddalonym o 5 km) (**Publikacja 3**);
- jednoczesnego oznaczania paracetamolu i diklofenaku na SPCE/MWCNTs-COOH w wodzie z rzeki Bystrzycy (Lublin) oraz w próbce oczyszczonych ścieków (Lublin) (**Publikacja 4**).

Podczas oznaczania kofeiny na BiF/SPCE (**Publikacja 1**) w wodach rzek Mlecznej i Bystrzycy stwierdzono, że stężenie analitu znajdowało się poniżej granicy wykrywalności, dlatego zdecydowano się na zbadanie odzysków. Jako metodę porównawczą dla woltamperometrii zastosowano wysokosprawną chromatografię cieczową z detektorem PDA. Badania chromatograficzne wykonano przy współpracy z prof. dr hab. n. med. Magdaleną Wójciak oraz prof. dr. hab. n. farm. Ireneuszem Sową z Uniwersytetu Medycznego w Lublinie. Otrzymane wartości odzysków (**Tabela 9**) w zakresie $100,2 \pm 2,3 - 105,0 \pm 2,2$ % oraz wyniki zbliżone do metody

porównawczej świadczą o niewielkim wpływie składników próbek na sygnał analityczny kofeiny.

W przypadku oznaczania paracetamolu (**Publikacja 2**) w próbkach wód pobranych z rzek Bystrzycy i Wisły oraz Morza Bałtyckiego ponownie stwierdzono, że stężenie analitu znajduje się poniżej granicy wykrywalności i zastosowano analizę odzysków. W tym przypadku, jako metodę porównawczą, zastosowano opracowaną wcześniej w Katedrze Chemii Analitycznej UMCS, procedurę oznaczania paracetamolu na elektrodzie diamentowej domieszkowanej borem modyfikowanej Nafionem i bizmutem [91]. W wyniku badań stwierdzono, że wartości odzysków otrzymane na SPCE/CNFs dla stężenia paracetamolu 5-200 nmol L⁻¹ mieszczą się w przedziale 96,2 ± 2,0 – 104,6 ± 51 %, co ponownie potwierdza niewielki wpływ składników próbek na sygnał elektrochemiczny analitu.

Diklofenak (**Publikacja 3**) oznaczano na SPCE/MWCNTs-COOH w próbkach wody z rzeki Wisły pobranych w dwóch miejscach: tuż przy zrzucie do rzeki ścieków oraz w odległości 5 km od tego miejsca. Należy zauważyć, że w próbkach tuż przy zrzucie ścieków z powodzeniem oznaczono diklofenak na poziomie 0,42 ± 0,08 nmol L⁻¹. W przypadku próbek pobranych 5 km dalej sygnał analityczny diklofenaku nie był widoczny, co związane jest z rozcieńczaniem roztworu diklofenaku w wodzie rzecznej. Otrzymane wartości odzysków na poziomie 99,6 – 100,5% świadczą o dokładności zaprezentowanej procedury. W celu potwierdzenia otrzymanych wyników zastosowano metodę HPLC/PDA, której czułość pozwoliła na oznaczenie diklofenaku dopiero na poziomie stężeń 50 nmol L⁻¹. Warto w tym miejscu dodać, że w **Publikacji 3** opisano pierwszą elektrochemiczną procedurę, która pozwoliła na bezpośrednie oznaczanie diklofenaku w próbce naturalnej bez jej wstępnego przygotowania.

Procedurę jednoczesnego oznaczania paracetamolu i diklofenaku na SPCE/MWCNTs-COOH (**Publikacja 4**) zastosowano do analizy próbek pobranych z rzeki Bystrzycy oraz w oczyszczonych ściekach. Stężenie paracetamolu i diklofenaku w wodzie z Bystrzycy znajdowało się poniżej otrzymanej granicy wykrywalności. Z tego względu zdecydowano się na zbadanie odzysków (5, 500 nmol L⁻¹ dla PA oraz 0,5, 50 nmol L⁻¹ dla DF). Otrzymane wyniki porównano z wynikami uzyskanymi metodą HPLC/PDA, która pozwoliła na oznaczenie odzysków paracetamolu dopiero na

poziomie 500 nmol L⁻¹ oraz diklofenaku na poziomie 50 nmol L⁻¹ w próbkach Bystrzycy. Opracowaną procedurę woltamperometryczną zastosowano również do oznaczania paracetamolu i diklofenaku w próbkach oczyszczonych ścieków, które otrzymano dzięki współpracy z **dr. Michałem Kuryło z Centralnego Laboratorium Miejskiego Przedsiębiorstwa Wodociągów i Kanalizacji w Lublinie**. Wartym zauważenia jest fakt, że w próbkach oczyszczonych ścieków z powodzeniem oznaczono realne stężenie paracetamolu ($24,3 \pm 0,5$ nmol L⁻¹) oraz diklofenaku ($3,7 \pm 0,7$ nmol L⁻¹). Uzyskane wyniki porównano do metody HPLC/PDA i stwierdzono, że otrzymane stężenie paracetamolu jest porównywalne ($25,4 \pm 6,0$ nmol L⁻¹), natomiast stężenie diklofenaku znajduje się poniżej granicy wykrywalności metody porównawczej. W kolejnym etapie zdecydowano również o zbadaniu odzysków o stężeniach identycznych, jak w przypadku wody z rzeki Bystrzycy. Wyniki uzyskane metodą HPLC/PDA były porównywalne do wyników woltamperometrycznych dla wszystkich stężeń paracetamolu, jednakże stężenie diklofenaku oznaczono metodą HPLC/PDA dopiero na poziomie 50 nmol L⁻¹. Otrzymane dla wszystkich pomiarów wartości odzysków na poziomie 96,5 – 104,8% dają satysfakcjonujące rezultaty i potwierdzają możliwość zastosowania czujnika SPCE/MWCNTs-COOH do analizy próbek rzeczywistych. Z kolei oznaczone realne stężenia paracetamolu i diklofenaku w oczyszczonych ściekach świadczą o tym, że składniki leków przeciwbólowych nie są w pełni usuwane ze ścieków komunalnych w trakcie ich oczyszczania i koniecznym jest monitorowanie ich obecności.

Tabela 9. Zestawienie wyników otrzymanych podczas oznaczania badanych substancji w próbkach wód naturalnych i oczyszczonych ścieków.

Analit	Próbka wody	Dodano [nmol L ⁻¹]	Oznaczono DPV ¹ lub DPAdSV ² [nmol L ⁻¹]	Oznaczono HPLC/PDA ³ lub BDDE/Nafion/Bi ⁴ [nmol L ⁻¹]	Odzysk DPV [%]
Kofeina ^{1,3} (Publikacja 1)	Bystrzyca	0	-	-	-
		500	501	498	100,2 ± 2,3
		2000	2080	1990	104,0 ± 1,8
	Mleczna	0	-	-	-
		500	517	513	103,4 ± 3,1
		2000	2100	2020	105,0 ± 2,2
Paracetamol ^{2,4} (Publikacja 2)	Bystrzyca	0	-	-	-
		5	5,03	-	100,6 ± 4,1
		20	20,38	-	101,9 ± 3,8
		80	77,41	-	96,8 ± 4,1
		200	199,67	202,60	99,8 ± 1,8
	Wisła	0	-	-	-
		5	4,99	-	99,8 ± 2,7
		20	19,24	-	96,2 ± 2,0
		80	79,92	-	99,9 ± 4,1
		200	209,20	195,20	104,6 ± 51
	Morze Bałtyckie	0	-	-	-
		5	4,82	-	96,4 ± 1,8
		20	19,98	-	99,9 ± 4,5
		80	80,08	-	100,1 ± 3,9
		200	207,00	205,60	103,5 ± 4,5
	Diklofenak ^{2,3} (Publikacja 3)	Wisła (miejsce zrzutu ścieków)	0	0,42 ± 0,08	-
5,0			5,40 ± 0,20	-	99,6
50,0			50,80 ± 1,40	52,30 ± 4,08	100,5
Wisła (5 km od miejsca zrzutu ścieków)		0	-	-	-
		0,4	0,4 ± 0,01	-	100,0
		5,0	5,38 ± 0,33	-	99,6
		50,0	51,0 ± 0,90	49,80 ± 4,25	100,5
Paracetamol ^{2,3} (Publikacja 4)	Bystrzyca	0	-	-	-
		5,0	5,09 ± 0,044	-	101,8
		500,0	505,0 ± 4,0	514,0 ± 6,5	101,0
		0	-	-	-
Diklofenak ^{2,3} (Publikacja 4)	Bystrzyca	0,5	0,51 ± 0,007	-	102,0
		50,0	50,5 ± 0,4	49,6 ± 0,8	101,0
		0	24,3 ± 0,5	25,4 ± 6,0	-
Paracetamol ^{2,3} (Publikacja 4)	Oczyszczone ścieki	5,0	29,2 ± 5,5	31,3 ± 2,7	99,7
		500,0	523,0 ± 9,0	529,0 ± 8,6	99,8
		0	3,7 ± 0,7	-	-
Diklofenak ^{2,3} (Publikacja 4)	Oczyszczone ścieki	0,5	4,4 ± 0,6	-	104,8
		50,0	51,8 ± 0,7	49,7 ± 1,1	96,5

DPV – woltamperometria impulsowo-różnicowa;

DPAdSV – impulsowo-różnicowa adsorpcyjna woltamperometria strippingowa;

HPLC/PDA – wysokosprawna chromatografia cieczowa z detektorem diodowym;

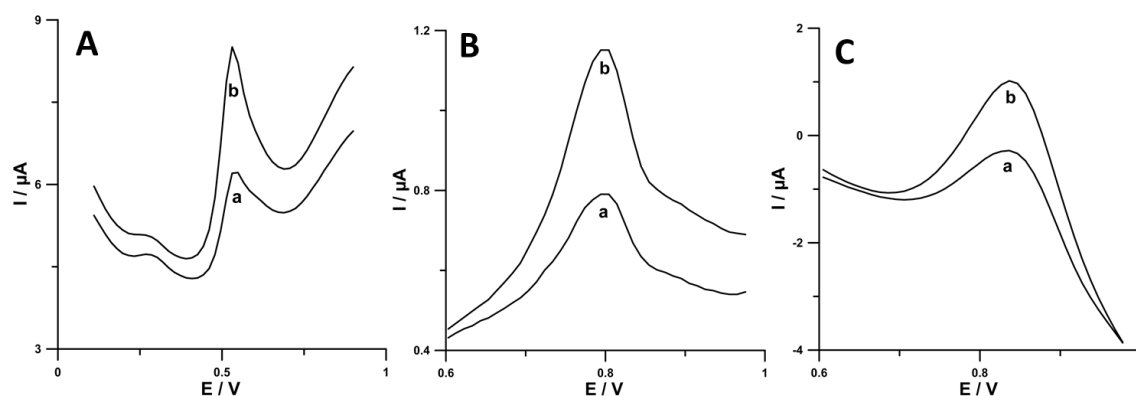
BDDE/Nafion/Bi – elektroda diamentowa domieszkowana borem modyfikowana błonką Nafionu i nanocząstkami bizmutu.

2.5. Perspektywy dalszego zastosowania czujników sitodrukowanych

Podczas badań prowadzonych w trakcie realizacji niniejszej rozprawy doktorskiej pojawiały się dalsze perspektywy zastosowania czujników sitodrukowanych, które nie zostały ujęte w treści publikacji naukowych. Otrzymane wyniki są obiecujące i po optymalizacji procedur pomiarowych mogą stanowić alternatywne narzędzie do oznaczania substancji czynnych leków przeciwbólowych na poziomie śladowym.

Wykonano wstępne próby zastosowania:

- sitodrukowanych czujników węglowych modyfikowanych węglowymi kropkami kwantowymi z grupami aminowymi do oznaczania diklofenaku (**Rys. 9 A**);
- sitodrukowanych czujników węglowych pokrytych nanowłóknami węglowymi do oznaczania ibuprofenu (**Rys. 9 B**);
- sitodrukowanych czujników węglowych pokrytych nanowłóknami węglowymi do oznaczania kwasu acetylosalicylowego (**Rys. 9 C**).



Rys. 9. Woltamperogramy impulsowo-różnicowe otrzymane podczas oznaczania **A)** (a) 5×10^{-8} , (b) 1×10^{-7} mol L^{-1} diklofenaku na sitodrukowanym czujniku węglowym modyfikowanym węglowymi kropkami kwantowymi z grupami aminowymi; **B)** (a) 1×10^{-6} , (b) 2×10^{-6} mol L^{-1} ibuprofenu oraz **C)** (a) 1×10^{-5} , (b) 2×10^{-5} mol L^{-1} kwasu acetylosalicylowego na sitodrukowanym czujniku węglowym pokrytym nanowłóknami węglowymi.

3. Podsumowanie i wnioski

W niniejszej rozprawie doktorskiej zaprezentowano nowe możliwości zastosowania czujników sitodrukowanych do analizy składników popularnych leków (kofeiny, paracetamolu i diklofenaku) na poziomie śladowym w próbkach wód i ścieków. Opracowano woltamperometryczne procedury oznaczania kofeiny na sitodrukowanych czujnikach węglowych modyfikowanych błonką bizmutu (BiF/SPCE), paracetamolu na sitodrukowanych czujnikach węglowych modyfikowanych nanowłóknami węglowymi (SPCE/CNFs), diklofenaku na sitodrukowanych czujnikach węglowych modyfikowanych wielościennymi nanorurkami węglowymi funkcjonalizowanymi grupami karboksylowymi (SPCE/MWCNTs-COOH) oraz jednoczesnego oznaczania paracetamolu i diklofenaku na sitodrukowanych czujnikach węglowych modyfikowanych wielościennymi nanorurkami węglowymi funkcjonalizowanymi grupami karboksylowymi (SPCE/MWCNTs-COOH) (**Publikacje 1-4**).

Modyfikacja powierzchni czujnika sitodrukowanego za pomocą błonki bizmutu lub nanomateriałów węglowych, nanorurek i nanowłókien węglowych, przyczyniła się między innymi do zwiększenia powierzchni aktywnej elektrody pracującej, a tym samym do wzmocnienia sygnałów analitycznych badanach związków. Rozwinięcie powierzchni elektrod oraz zmiany w morfologii i składzie po modyfikacji potwierdzono z wykorzystaniem profilometrii i mikroskopii optycznej, skaningowej mikroskopii elektronowej z detektorem EDS, także woltamperometrii cyklicznej. Dodatkowo, w celu wzmocnienia sygnału analitycznego paracetamolu i diklofenaku (**Publikacja 4**) zastosowano technikę impulsowo-różnicowej adsorpcyjnej woltamperometrii stripingowej z nagromadzeniem impulsami potencjałowymi.

W trakcie realizacji niniejszej rozprawy doktorskiej określono odwracalność reakcji elektrodowych z wykorzystaniem woltamperometrii cyklicznej. Badania wykazały, że zarówno kofeina na BiF/SPCE jak i paracetamol na SPCE/CNFs i SPCE/MWCNTs-COOH daje jeden pik utlenienia, przy jednoczesnym braku piku redukcji (**Publikacje 1, 2 i 4**). Natomiast w przypadku oznaczeń diklofenaku na SPCE/MWCNTs-COOH rejestrowano jeden pik utleniania i jeden/dwa piki w części katodowej. Dodatkowy pik/piki utleniania przy potencjałach mniej dodatnich należy powiązać z powstawianiem elektrochemicznie aktywnych produktów utleniania

diklofenaku (**Publikacje 3 i 4**). Ponadto określono charakter procesów elektrodowych. Badania wykazały, że transport kofeiny do powierzchni BiF/SPCE zachodzi na drodze dyfuzji, natomiast paracetamol adsorbuje się na SPCE/CNFs. Z kolei w przypadku oznaczania paracetamolu i diklofenaku na SPCE/MWCNTs-COOH charakter procesu elektrodowego określono jako mieszany.

W celu minimalizacji potencjalnych interferencji pochodzących od składników próbek naturalnych, zastosowano dodatek do próbki roztworu soli dwusodowej kwasu etylenodiaminotetraoctowego (**Publikacja 2**), a także nagromadzanie impulsami potencjałowymi (**Publikacja 4**). Zaproponowana technika pozwoliła na minimalizację negatywnego wpływu substancji powierzchniowo czynnych na sygnał analityczny oraz zgodnie z moim stanem wiedzy po raz pierwszy została zastosowana do wzmocnienia sygnałów analitycznych paracetamolu i diklofenaku.

Opracowane procedury woltamperometryczne charakteryzują się szerokimi zakresami liniowymi krzywych kalibracyjnych oraz najniższymi granicami wykrywalności spośród dostępnych w literaturze prac opisujących oznaczanie wybranych substancji czynnych leków z wykorzystaniem czujników sitodrukowanych. Należy podkreślić, że po raz pierwszy zaprezentowano możliwość zastosowania czujników sitodrukowanych do oznaczania diklofenaku (**Publikacja 3**) oraz jednoczesnego oznaczania paracetamolu i diklofenaku (**Publikacja 4**).

Możliwości aplikacyjne otrzymanych czujników sitodrukowanych modyfikowanych błonką bizmutu lub nanomateriałami węglowymi sprawdzono podczas oznaczania kofeiny, paracetamolu i diklofenaku w próbkach wód i oczyszczonych ścieków. Z powodzeniem oznaczono diklofenak w próbkach wody rzecznej (**Publikacja 3**) oraz jednocześnie diklofenak i paracetamol w próbkach oczyszczonych ścieków (**Publikacja 4**). Warto zauważyć, że są to pierwsze doniesienia o zastosowaniu technik woltamperometrycznych i czujników sitodrukowanych w oznaczeniach rzeczywistych stężeń paracetamolu i diklofenaku w próbkach naturalnych. Należy podkreślić, że próbki przed pomiarem nie były w żaden sposób przygotowywane, co stwarza możliwość zastosowania zaproponowanych czujników i procedur w analizie polowej.

4. Literatura

- [1] A. Szymonik, J. Lach, *Inżynieria i Ochrona Środowiska*, 15 (3) (2012) 249.
- [2] A. Nikolaou, S. Meric, D. Fatta, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387 (2007).
- [3] A. B. A. Boxall, M. A. R. Rudd, B. W. Brooks et al., *Environmental Health Perspectives*, 120 (9) (2012) 1221.
- [4] Y. Yu, L. Wu, A. C. Chang, *Science of the Total Environment*, 442 (2013) 310.
- [5] A. Daneshvar, J. Svanfelt, L. Kronberg, *Environmental Science and Pollution Research* 17 (2010) 908.
- [6] L. A. Schaidler, K. M. Rodgers, R. A. Rudel, *Environmental Science & Nanotechnology*, 51 (2017) 7304.
- [7] A. Koszowska, M. Ebisz, T. Krzyśko-Łupicka, *Medycyna Środowiskowa – Environmental Medicine*, 18 (1) (2015) 62.
- [8] B. Czech, *Adsorbenty i Katalizatory – Wybrane Technologie a Środowisko*, 2 (2012) 453.
- [9] A. Nikolaou, S. Meric, D. Fatta, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 297 (2007) 1225.
- [10] A. Wasik-Kot, J. Dębska, J. Namieśnik, *Chemia i Inżynieria Ekologiczna*, 10 (2003) 723.
- [11] A. Togola, H. Budzinski, *Journal of Chromatography A*, 1177 (2008) 150.
- [12] M. R. Boleda, M. T. Galceran, F. Ventura, *Environmental Pollution*, 159 (2011) 1584.
- [13] A. Jagoda, W. Żukowski, B. Dąbrowska, *Czasopismo Techniczne Środowisko*, 6 (2011) 99.
- [14] Y. Valcarcel, S. Gonzalez Alonso, J. L. Rodriguez-Gil, *Chemosphere*, 82 (2011) 1062.
- [15] B. Kasprzyk-Hordern, R. M. Dinsdale, A. J. Guwy, *Journal of Chromatography A*, 1161 (2007) 132.
- [16] T. Kosjek, E. Heath, A. Krbavcic, *Environment International*, 31 (2005) 679.
- [17] B. Kasprzyk-Hordern, A. Dąbrowska, N. Vieno, L. Kronberg, J. Nawrocki, *Analytical Chemistry*, 52 (2007) 289.
- [18] L. Wang, G. G. Ying, J. L. Zhao, X. B. Yang, F. Chen, R. Tao, S. Liu, L. J. Zhou, *Science of the Total Environment*, 408 (2010) 3139.

- [19] I. Baranowska, B. Kowalski, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89 (2012) 908.
- [20] A. Daneshvar, J. Svanfelt, L. Kronberg, G. A. Weyhenmeyer, *Environmental Science and Pollution Research*, 17 (2010) 908.
- [21] A. Helenkar, A. Sebok, G. Zaray, I. Molnar-Perl, A. Vasanits-Zsigrai, *Talanta*, 82 (2010) 600.
- [22] B. Kasprzyk-Hordern, R. M. Dinsdale, A. J. Guwy, *Water Research*, 43 (2009) 363.
- [23] J. Dębska, A. Kot-Wasik, J. Namieśnik, *Journal of Separation Science*, 28 (2005) 2419.
- [24] V. K. Gupta, A. K. Jain, S. K. Shoora, *Electrochimica Acta*, 93 (2013) 248.
- [25] Y. Yardim, E. Keskin, Z. Senturk, *Talanta*, 116 (2013) 1010.
- [26] W. Y. H. Khoo, M. Pumera, A. Bonanni, *Analytica Chimica Acta*, 804 (2013) 92.
- [27] S. B. Tanuja, B. E. Kumara Swamy, K. Vasantakumar Pai, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 798 (2017) 17.
- [28] S. Sharma, S. K. Khanna, J. Singh, S. P. Satsangee, *Oreintal Journal of Chemistry*, 31 (2015) 201.
- [29] C. Fernandez, Z. Heger, R. Kizek, T. Ramakrishnappa, A. Boruń, N. H. Faisal, *International Journal of Electrochemical Science*, 10 (2015) 7440.
- [30] B. Mekassa, P. G. L. Baker, B. S. Chandravanshi, M. Tessema, *Journal of Solid State Electrochemistry*, 22 (2018) 3607.
- [31] P. Stepnowski, E. Synak, B. Szafranek, Z. Kaczyński, *Monitoring i analityka zanieczyszczeń w środowisku*, Uniwersytet Gdański, Gdańsk 2010.
- [32] A. Hayat, J. L. Marty, *Sensors*, 14 (2014) 10432.
- [33] M. Chudy, W. Wróblewski, A. Dybko, Z. Brzózka, *Centrum Doskonałości Analityki i Monitoringu Środowiskowego*, Gdańsk 2003.
- [34] J. Dziak, R. Kochaniak, A. Łękowska-Kochaniak, *Sitodruk cz. I*, Warszawa 1993.
- [35] M. Hatala, P. Gemeiner, M. Hvojnik, M. Mikula, *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 30 (2019) 1034.
- [36] Z. Chu, J. Peng, W. Jin, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 243 (2017) 919.
- [37] V. Serafin, L. Agui, P. Yanez-Sedeno, J. M. Pinngarron, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 656 (2011) 152.
- [38] S. V. Pereira, F. A. Bertolino, M. A. Fernandez-Blado, G. A. Meddina, *Analyst*, 136 (2011) 4745.

- [39] M. Trojanowicz, Trends in Analytical Chemistry, 84 (2016) 22.
- [40] M. Maczuga, A. Bobrowski, A. Królicka, J. Zerebski, Problemy współczesnej elektrochemii, Kraków 2014.
- [41] B. R. Sljukic, R. O. Kadara, C. E. Banks, Analytical Methods, 3 (2011) 105.
- [42] G. H. Hwang, W. K. Han, J. S. Park, S. G. Kang, Sensors and Actuators B: Chemical, 135 (2008) 309.
- [43] R. A. S. Couto, J. L. F. C. Lima, M. B. Quinaz, Talanta, 146 (2016) 801.
- [44] J. Barton, M. B. G. Garcia, D. H. Santos, P. Fanjul-Bolado, A. Ribotti, M. McCaul, D. Diamond, P. Magni, Microchimica Acta, 183 (2016) 503.
- [45] B. G. Mahmoud, M. Khairy, F. A. Rashwan, C. E. Banks, Analytical Chemistry, 89 (2017) 2170.
- [46] S. Kruanetr, R. Prabhu, P. Pollard, C. Fernandez, Surface Engineering and Applied Electrochemistry, 51 (3) (2015) 283.
- [47] P. Fanjul-Bolado, P. J. Lamas-Ardisana, D. Hernandez-Santos, A. Costa-Garcia, Analytica Chimica Acta, 638 (2009) 133.
- [48] I. M. Apetrei, A. A. Bejinaru, M. Boev, C. Apetrei, O. D. Buzia, Farmacia, 65 (2017) 5.
- [49] W. Zhai, N. Srikanth, L. B. Kong, K. Zhou, Carbon, 19 (2017) 150.
- [50] C. Zhao, J. Lin, International Journal of Electrochemical Science, 12 (2017) 10177.
- [51] O. Hosu, M. Tertis, R. Sandulescu, C. Cristea, Farmacia, 63 (2015) 1.
- [52] J. Wang, B. M. Tian, Analytical Chemistry, 64 (1992) 1706.
- [53] D. Desmond, B. Lane, J. Alderman, G. Hall, Sensor and Actuators B: Chemical, 34 (1996) 466.
- [54] D. Desmond, B. Lane, J. Alderman, M. Hill, D. W. M. Arrigan, J. D. Glennon Sensors and Actuators B: Chemical, 48 (1998) 409.
- [55] K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, Analytica Chimica Acta, 1036 (2018) 16.
- [56] K. Tyszczyk-Rotko, K. Jędruchiewicz, Journal of The Electrochemical Society, 166 (2019) B837.
- [57] K. Jędruchiewicz, K. Tyszczyk-Rotko, Journal of Electroanalytical Chemistry, 847 (2019) 113228.
- [58] K. Tyszczyk-Rotko, R. Metelka, K. Vytrās, Electrochimica Acta, 92 (2013) 335.
- [59] K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, K. Vytrās, R. Metelka, A. Nosal-Wiercińska, M. Sýs, Open Chemistry, 15 (2017) 28.

- [60] K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Journal of the Electrochemical Society*, 164 (2017) H537.
- [61] M. Khairy, B. G. Mahmoud, C. E. Banks, *Sensor and Actuators B: Chemical*, 259 (2018) 142.
- [62] N. Ruecha, N. Rodthongkum, D. M. Cate, J. Volckens, O. Chailapakul, C. S. Henry, *Analytica Chimica Acta*, 874 (2015) 40.
- [63] M. Tertiş, O. Hosu, L. Fritea, C. Farcau, A. Cernat, R. Săndulescu, C. Cristea, *Electroanalysis*, 27 (2015) 638.
- [64] X. Xuan, M. F. Hossain, J. Y. Park, A. Fully, *Scientific Reports*, 6 (2016) 33125.
- [65] H. Beitollahi, F. Garkani-Nejad, S. Tajik, M. R. Ganjali, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 18 (1) (2019) 80.
- [66] I. Vasilescu, S. A. V. Eremia, R. Penu, C. Albu, A. Radoi, S. C. Litescu, G. L. Radu, *RSC Advances*, 5 (2015) 261.
- [67] G. Ibáñez-Redin, D. Wilson, D. Goncalves, O. N. Oliviera Jr., *Journal of Colloid and Interface Science*, 515 (2018) 101.
- [68] M. Moreno, A. S. Arribas, E. Bermejo, M. Chicharro, A. Zapardiel, M. C. Rodruiguez, *Talanta*, 80 (2010) 2149.
- [69] R. T. Kachoosangi, G. G. Wildgoose, R. G. Compton, *Analyst* 133 (2008) 888.
- [70] W. Song, I. Zhang, I. Shi, D. W. Li, Y. Li, Y. T. Long, *Microchimica Acta*, 169 (2010) 321.
- [71] M. Tertis, A. Florea, R. Sandulescu, C. Cristea, *Sensors*, 13 (2013) 4841.
- [72] K. Tyszczyk-Rotko, K. Pietrzak, A. Sasal, *Adsorption*, 25 (2019) 913.
- [73] N. Serrano, O. Castilla, C. Arino, M. S. Diaz-Cruz, J. M. Diaz-Cruz, *Sensors*, 19 (2019) 4039.
- [74] H. Filik, A. A. Avan, *Food Chemistry*, 242 (2018) 301.
- [75] N. Lezi, S. Economopoulos, M. Prodromidis, A. Economou, N. Tagmatarchis, *International Journal of electrochemical science*, 12 (2017) 6054.
- [76] E. Akyilmaz, M. Turemis, *Electrochimica Acta*, 55 (2010) 5195.
- [77] T. R. Saciloto, P. Cervini, E. T. G. Cavaleiro, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 24 (2013) 1461.
- [78] T. R. Saciloto, P. Cervini, E. T. G. Cavaleiro, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 24 (9) (2013) 1461.
- [79] F. Cao, Q. Dong, C. Li, J. Chen, X. Ma, Y. Huang, D. Song, C. Ji, Y. Lei, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 256 (2018) 143.

- [80] N. Karikalan, R. Karthik, S.M. Chen, M. Velmurugan, C. Karuppiah, *Journal of Colloid and Interface Science*, 483 (2016) 109.
- [81] W.Y. Su, S.H. Cheng, *Electroanalysis*, 22 (2010) 707.
- [82] Y. Zhang, X. Jiang, J. Zhang, H. Zhang, Y. Li, *Biosensors and Bioelectronics*, 130 (2019) 315.
- [83] S. A. Atty, A. H. Ibrahim, E. M. Husslen, *Journal of the Electrochemical Society*, 166 (15) (2019) B1483.
- [84] Z. Wang, Z. Li, S. Zhou, *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 32 (2004) 305.
- [85] X. Kan, T. Liu, C. Li, H. Zhou, Z. Xing, A. Zhu, *Journal of Solid State Electrochemistry*, 16 (2012) 3207.
- [86] A. Câmpean, M. Tertis, R. Sandulescu, *Central European Journal of Chemistry*, 9 (2011) 688.
- [87] K. Tyszczuk-Rotko, I. Bęczkowska, *Food Chemistry*, 172 (2015) 24.
- [88] H. Ghadimi, R. M. A. Tehrani, W. J. Basirun, N. J. Ab Aziz, N. Mohamed, S. Ab Ghani, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 65 (2016) 101.
- [89] T. Alizadeh, M. R. Ganjali, M. Zare, P. Norouzi, *Electrochimica Acta*, 55 (2010) 1568.
- [90] R. N. Goyal, S. Bishnoi, B. Agrawal, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 655 (2011) 97.
- [91] I. Sadok, K. Tyszczuk-Rotko, A. Nosal-Wiercińska, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 235 (2016) 263.
- [92] J. Mocak, A. M. Bond, S. Mitchell, G. A. Scollary, *Pure and Applied Chemistry*, 69 (1997) 297.
- [93] K. Węgiel, K. Jedlińska, B. Baś, *Journal of Hazardous Materials*, 310 (2016) 199.
- [94] M. Grabarczyk, A. Koper, *Electroanalysis*, 23 (2011) 1442.
- [95] J. Mocak, A. M. Bond, S. Mitchell, G. Scollary, *Pure and Applied Chemistry*, 69 (1997) 297.

5. Streszczenie w języku polskim

Niniejsza rozprawa doktorska porusza problem obecności substancji czynnych powszechnie stosowanych leków w wodach naturalnych i oczyszczonych ściekach. Opracowane nowe procedury badawcze, opisane w publikacjach naukowych będących podstawą rozprawy doktorskiej (**Publikacje 1-4**), dotyczą przygotowania, charakterystyki i możliwość zastosowania czujników sitodrukowanych w analizie śladowych stężeń kofeiny, paracetamolu i diklofenaku. Obecność wyżej wymienionych związków w wodach powierzchniowych może mieć niekorzystny wpływ na funkcjonowanie ekosystemu, życie i zdrowie ludzi i zwierząt, a także potęguje problem lekooporności.

W celu wyjaśnienia wpływu modyfikacji powierzchni elektrody na sygnał analityczny badanych substancji zastosowano szereg technik instrumentalnych. Morfologię powierzchni czujników sitodrukowanych modyfikowanych błonką bizmutu, stosowanych do oznaczania kofeiny, zobrazowano za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej. Obecność metalicznego bizmutu na powierzchni elektrody pracującej potwierdzono za pomocą spektroskopii dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego. Wykazano, że w wyniku modyfikacji błonką bizmutu, liczba miejsc aktywnych na powierzchni elektrody pracującej uległa zwiększeniu powodując wzrost nagromadzenia analitu. Czujniki sitodrukowane modyfikowane nanowłóknami węglowymi (oznaczanie paracetamolu) i wielościennymi nanorurkami węglowymi funkcjonalizowanymi grupami karboksylowymi (oznaczanie diklofenaku oraz jednoczesne oznaczanie paracetamolu i diklofenaku) obrazowano przy użyciu mikroskopii i profilometrii optycznej, a także skaningowej mikroskopii elektronowej. Wykazano istotne różnice w morfologii czujników sitodrukowanych modyfikowanych nanomateriałami węglowymi w porównaniu do czujników niemodyfikowanych. Ponadto wykonano profile optyczne elektrod niemodyfikowanych i modyfikowanych. Niewielkie różnice w chropowatości powierzchni elektrod pracujących świadczą o tym że powierzchnia elektrody pokryta jest cienką, równomierną warstwą nanomateriałów węglowych. Potwierdzono z wykorzystaniem woltamperometrii cyklicznej, że modyfikacja za pomocą nanomateriałów węglowych w znaczący sposób przyczyniła się do rozwinięcia powierzchni aktywnej elektrod po jej modyfikacji.

Z wykorzystaniem woltamperometrii cyklicznej określono również odwracalność oraz charakter elektrodowy procesów zachodzących na powierzchni stosowanych elektrod. Wykazano, że zarówno kofeina na BiF/SPCE jak i paracetamol na SPCE/CNFs i SPCE/MWCNTs-COOH daje jeden pik utlenienia, przy jednoczesnym braku piku redukcji. Natomiast w przypadku oznaczeń diklofenaku na SPCE/MWCNTs-COOH rejestrowano jeden pik utleniania i jeden/dwa piki w części katodowej. Dodatkowy pik/piki utleniania przy potencjałach mniej dodatnich należy powiązać z powstawianiem elektrochemicznie aktywnych produktów utleniania diklofenaku. Stwierdzono, że proces odpowiedzialny za transport kofeiny do powierzchni BiF/SPCE odbywa się na drodze dyfuzji, natomiast elektrochemiczne utlenianie paracetamolu na SPCE/CNFs ma charakter adsorpcyjny. W przypadku oznaczania diklofenaku oraz jednoczesnego oznaczania paracetamolu i diklofenaku na SPCE/MWCNTs-COOH charakter procesu elektrodowego określono jako mieszany.

W trakcie prowadzonych badań sprawdzano selektywność opracowanych procedur. W większości przypadków nie stwierdzono znaczącego wpływu składników próbek wód na sygnały analityczne. Negatywny wpływ jonów miedzi(II) i żelaza(III) podczas oznaczania paracetamolu zminimalizowano za pomocą dodatku roztworu soli dwusodowej kwasu etylenodiaminotetraoctowego do elektrolitu podstawowego. Natomiast efekt tłumienia sygnału analitycznego przez substancje powierzchniowo czynne, obserwowany podczas jednoczesnego oznaczania paracetamolu i diklofenaku, zminimalizowano poprzez zastosowanie techniki nagromadzania impulsami potencjałowymi. Zaproponowana technika pozwoliła na minimalizację negatywnego wpływu Triton X-100 na sygnał analityczny paracetamolu i diklofenaku oraz zgodnie z moim stanem wiedzy po raz pierwszy została zastosowana do wzmocnienia sygnałów tych związków.

Zoptymalizowane procedury woltamperometryczne charakteryzują się szerokimi zakresami liniowymi krzywych kalibracyjnych oraz najniższymi granicami wykrywalności spośród dostępnych w literaturze prac opisujących oznaczanie kofeiny (LOD: $2,7 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹), paracetamolu (LOD: $5,4 \times 10^{-10}$ mol L⁻¹) i diklofenaku (LOD: $1,2 \times 10^{-11}$ mol L⁻¹) na czujnikach sitodrukowanych. Warto dodać, że są to pierwsze prace pokazujące zastosowanie czujników sitodrukowanych w oznaczeniach diklofenaku i jednoczesnych oznaczeniach paracetamolu i diklofenaku.

W celu potwierdzenia możliwości praktycznego zastosowania czujników sitodrukowanych do analizy wybranych substancji czynnych preparatów farmaceutycznych zbadano próbki wód z rzek: Wisły, Bystrzycy i Mlecznej oraz morza Bałtyckiego i oczyszczalni ścieków. Należy podkreślić, że próbki nie były w żaden sposób przygotowane przed pomiarem, co w dużej mierze czyni analizę bardzo prostą, szybką i łatwą do wykonania. Po raz pierwszy z wykorzystaniem czujników sitodrukowanych oznaczono rzeczywiste stężenie diklofenaku w próbce wody rzecznej ($4,2 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$) oraz jednocześnie diklofenak ($2,4 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$) i paracetamol ($3,7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$) w próbce oczyszczonych ścieków. Zaprezentowane w niniejszej rozprawie doktorskiej badania potwierdzają możliwość praktycznego zastosowania powyższych procedur w warunkach laboratoryjnych, a także stwarzają możliwość przeprowadzenia analizy polowej z wykorzystaniem analizatorów przenośnych.

6. Streszczenie w języku angielskim

This doctoral dissertation addresses the problem of the presence of active substances of commonly used drugs in natural waters and treated sewage. The newly developed research procedures, described in scientific publications constituting the basis of the doctoral dissertation (**Publications 1-4**), concern the preparation, characterization, and the possibility of using screen-printed sensors in the analysis of trace concentrations of caffeine, paracetamol and diclofenac. The presence of the aforementioned compounds in surface waters may have a negative impact on the functioning of ecosystems, the life and health of humans and animals, and exacerbates the problem of drug resistance.

In the course of the research conducted, as part of this doctoral dissertation, voltammetric procedures for the determination of caffeine on screen-printed carbon sensors modified with bismuth film (BiF/SPCE), paracetamol on screen-printed carbon sensors modified with carbon nanofibers (SPCE/CNFs), diclofenac and simultaneous determination of diclofenac and paracetamol on screen-printed carbon sensors modified with multi-walled carbon nanotubes functionalized with carboxyl groups (SPCE/MWCNTs-COOH) were developed. The composition, type and concentration of the base electrolyte were optimized. Additionally, in the caffeine determination procedure, the concentration of bismuth(III) ions was the basis for the modification of the screen-printed sensor's surface; this was further optimized. Then, the electrochemical parameters of the measurement procedure were optimized: the potential and time of deposition of the bismuth film in the determination of caffeine, or the accumulation of analyte in the determination of paracetamol, diclofenac and the simultaneous determination of paracetamol and diclofenac. In the next stages of research, the parameters of the analytical signal recording technique were optimized. Voltammetric determinations under optimized measurement conditions were carried out with the use of differential-pulse voltammetry (caffeine determination), differential-pulse adsorptive stripping voltammetry (determination of paracetamol and diclofenac) or differential-pulse adsorptive stripping voltammetry with pulsed potential accumulation (simultaneous determination of diclofenac and paracetamol).

With the use of cyclic voltammetry, the reversibility and the nature of the processes, taking place on the surface of the electrodes, was also determined. Both caffeine on BiF/SPCE, paracetamol on SPCE/CNFs and on SPCE/MWCNTs-COOH have been shown to yield one oxidation peak, while lacking the reduction peak. However, in the case of diclofenac determinations on SPCE/MWCNTs-COOH, one oxidation peak and 1-2 peaks in the cathode part were recorded. The additional oxidation peaks at less positive potentials, can be associated with the formation of electrochemically active oxidation products of diclofenac. It was found, that the process responsible for the transport of caffeine to the BiF/SPCE surface takes place by diffusion, while the electrochemical oxidation of paracetamol on SPCE/CNFs is adsorptive. In the case of the determination of diclofenac and the simultaneous determination of paracetamol and diclofenac on SPCE/MWCNTs-COOH, the nature of the electrode process was mixed.

In the course of the research, the selectivity of the developed procedures was checked. In most cases, no significant influence of the components of water samples on the analytical signals was found. The negative influence of copper(II), and iron(III) ions during the determination of paracetamol was minimized by adding the ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt to the base electrolyte. On the other hand, the effect of suppression of the analytical signal by surfactants, observed during the simultaneous determination of paracetamol and diclofenac, was minimized by applying the technique of pulsed potential accumulation. The proposed technique allowed to minimize the negative influence of Triton X-100 on the analytical signal of paracetamol and diclofenac, and to the best of my knowledge, it was used for the first time to enhance the signals of these compounds.

Optimized voltammetric procedures are characterized by wide linear ranges of calibration curves and the lowest detection limits among the works on the determination of caffeine (LOD: 2.7×10^{-8} mol L⁻¹), paracetamol (LOD: 5.4×10^{-10} mol L⁻¹) and diclofenac (LOD: 1.2×10^{-11} mol L⁻¹) on screen-printed sensors. It is worth noting that these are the first papers showing the use of screen-printed sensors for the determinations of diclofenac and simultaneous determinations of paracetamol and diclofenac.

In order to test the feasibility of practical application of screen-printed sensors in the analysis of selected active substances of pharmaceutical preparations, water samples from the Vistula, Bystrzyca, and Mleczna rivers, as well as the Baltic Sea and sewage treatment plants were examined. It should be emphasized that the samples were not prepared in any way before the measurements. This made the analysis very simple, quick and easy to perform. For the first time, the actual concentration of diclofenac in a river water sample ($4.2 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$) and simultaneously diclofenac ($2.4 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$) and paracetamol ($3.7 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$) in the sample of treated sewage. The research presented in this doctoral dissertation confirms the feasibility of practical application of the above procedures in laboratory conditions. What is more, it makes field analysis with the use of portable analyzers possible.

7. Pozostałe osiągnięcia naukowe

W Tabeli 10 podsumowano osiągnięcia naukowe uzyskane w trakcie studiów doktoranckich.

Tabela 10. Podsumowanie osiągnięć naukowych

Prace naukowe			
		IF	Punkty MNiSW
Liczba artykułów naukowych:			
a) wchodzących w skład rozprawy doktorskiej	4	12,466	390
b) niewchodzących w skład rozprawy doktorskiej.	5	7,991	245
Łącznie	9	20,457	635
Rozdziały w monografiach	4		
Recenzowane komunikaty w materiałach pokonferencyjnych	6		
Prezentacje wyników			
Liczba prezentacji:			
a) międzynarodowych			
- komunikat	3		
- poster	8		
Łącznie	11		
b) krajowych			
- komunikat	18		
- poster	29		
Łącznie	47		

Spis publikacji niewchodzących w skład rozprawy doktorskiej:

1. K. Tyszczyk-Rotko, K. Surowiec, **A. Szwagierek**, *Application of Eco-friendly Bismuth Film Electrode for the Sensitive Determination of Rutin*, *Current Pharmaceutical Analysis*, 14(6) (2018) 571-577.

(IF₂₀₁₈ = 0,218

MNiSW = 15 pkt.)

2. K. Tyszczyk-Rotko, K. Pietrzak, **A. Sasal**, *Adsorptive stripping voltammetric method for the determination of caffeine at integrated three-electrode screen-printed sensor with carbon/carbon nanofibers working electrode*, *Adsorption* 25 (4) (2019) 913–921.

(IF₂₀₁₉ = 1,949

MNiSW = 70 pkt.)

3. **A. Sasal**, K. Tyszczyk-Rotko, *Screen-printed sensor for determination of sildenafil citrate in pharmaceutical preparations and biological samples*, *Microchemical Journal* 149 (2019) 104065.

(IF₂₀₁₉ = 3,280

MNiSW = 70 pkt.)

4. K. Tyszczyk-Rotko, M. Sztanke, **A. Sasal**, K. Sztanke, *Voltammetry as the First Method for Direct Determination of a Novel Antagonist of A_{2A}Adenosine Receptors*, *Electroanalysis* 31 (2019) 1-9.

(IF₂₀₁₉ = 2,544

MNiSW = 70 pkt.)

5. **A. Sasal**, K. Tyszczyk-Rotko, *Application of screen-printed sensors for the determination of painkillers*, *Annales* 73(1) (2019) 111-124.

(MNiSW = 20 pkt.)

Rozdziały w monografiach:

1. K. Tyszczyk-Rotko, I. Sadok, K. Domańska, **A. Szwagierek**, *Przygotowanie, charakterystyka powierzchni i zastosowanie nowych czujników woltamperometrycznych*, Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości, UMCS, Lublin 2017, str. 318-329, ISBN 978-83-945225-3-7;
2. K. Tyszczyk-Rotko, I. Sadok, K. Domańska, **A. Szwagierek**, *Elektrody modyfikowane metalem – zastosowanie w oznaczeniach woltamperometrycznych*, Nowe trendy w fizykochemicznych badaniach granic faz, Lublin 2018, str. 361-371, ISBN 978-83-60988-25-1;
3. K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, **A. Szwagierek**, *Miniaturowe czujniki woltamperometryczne w monitoringu wód*, Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości, UMCS, Lublin 2018, str. 217-225, ISBN 978-83-945225-4-4;
4. K. Tyszczyk-Rotko, **A. Sasal**, J. Kozak, M. Rotko, *Czujniki sitodrukowane – przygotowanie, charakterystyka i zastosowanie*, Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości, UMCS, Lublin 2020, str. 189-198, ISBN 978-83-227-9369-5.

Recenzowane materiały pokonferencyjne:

1. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Woltamperometryczna procedura oznaczania kofeiny na nanowłóknach węglowych*, Nauka i Przemysł – lubelskie spotkania studenckie, UMCS, Lublin 2018, str. 44-46, ISBN 978-83-945225-5-1;
2. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Zastosowanie sitodrukowanych elektrod zespolonych modyfikowanych metalem w śladowej analizie jonów metali ciężkich*, Nauka i Przemysł – lubelskie spotkania studenckie, UMCS, Lublin 2018, str. 62-64, ISBN 978-83-945225-5-1;
3. **A. Sasal**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Jędruchiewicz, *Zastosowanie miniaturowego, sitodrukowanego układu pomiarowego w oznaczeniach cytrynianu sildenafilu*, Nauka i Przemysł – lubelskie spotkania studenckie, UMCS, Lublin 2019, str. 149-151, ISBN 978-83-227-9220-9;
4. K. Jędruchiewicz, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Sasal**, *Zespolone, sitodrukowane czujniki elektrochemiczne do oznaczania jonów metali w próbkach wód naturalnych*, Nauka i Przemysł – lubelskie spotkania studenckie, UMCS, Lublin 2019, str. 73-76, ISBN 978-83-945225-5-1;
5. **A. Sasal**, K. Tyszczyk-Rotko, J. Kozak, *Woltamperometryczna metoda oznaczania diklofenaku na elektrodzie sitodrukowanej modyfikowanej nanorurkami węglowymi*, Nauka i Przemysł – lubelskie spotkania studenckie, UMCS, Lublin 2020, str. 234-236, ISBN 978-83-227-9370-1;
6. J. Kozak, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Sasal**, *Nowy węglowy czujnik sitodrukowany w analizie śladowej talu(I)*, Nauka i Przemysł – lubelskie spotkania studenckie, UMCS, Lublin 2020, str. 112-114, ISBN 978-83-227-9370-1.

Wykaz posterów i prezentacji wygłoszonych na konferencjach i sympozjach naukowych o zasięgu krajowym i międzynarodowym:

1. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Oznaczanie kwasu askorbinowego na elektrodzie diamentowej domieszkowanej borem (BDDE) w próbkach moczu i suplementach diety*, III Poznańskie Sympozjum Młodych Naukowców, 05.11.2016 r., Poznań (poster);
2. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Zastosowanie sitodrukowanej elektrody węglowej modyfikowanej błonką bizmutu w woltamperometrycznych oznaczeniach Cd(II) i Pb(II)*, III Poznańskie Sympozjum Młodych Naukowców, 05.11.2016 r., Poznań (prezentacja ustna);
3. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Pestycydy – właściwości i zastosowanie*, IV Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Młodzi Naukowcy w Polsce – Badania i Rozwój”, 25.11.2016 r., Lublin (poster);
4. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Zagrożenia wynikające z obecności Cd i Pb w środowisku oraz woltamperometryczna procedura ich oznaczania na sitodrukowanej elektrodzie węglowej modyfikowanej błonką bizmutu*, IV Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Młodzi Naukowcy w Polsce – Badania i Rozwój”, 25.11.2016 r., Lublin (prezentacja ustna);
5. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Wpływ mediatora (Zn) na sygnał analityczny Cd otrzymany na sitodrukowanej elektrodzie węglowej modyfikowanej błonką ołowiu*, IV Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Młodzi Naukowcy w Polsce – Badania i Rozwój”, 25.11.2016 r., Lublin (poster);
6. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Determination of ascorbic acid on the boron-doped diamond (BDDE) in urine samples and dietary supplements*, 3rd Lublin International Medical Congress for Students and Young Doctors, 2-3.12.2016 r., Lublin (poster);
7. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *The dangerous effects of cadmium(II) on human health and simple voltammetric methods for its quantitative determination*, 3rd Lublin International Medical Congress for Students and Young Doctors, 2-3.12.2016 r., Lublin (prezentacja ustna);

8. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Zastosowanie elektrody sitodrukowanej modyfikowanej bizmutem do oznaczania kofeiny*, Zjazd Zimowy Sekcji Studenckiej PTChem, 17.12.2016 r., Lublin (poster);
9. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Zastosowanie metalicznego mediatora – skuteczna metoda wzmocnienia sygnału analitycznego w voltamperometrii*, Zjazd Zimowy Sekcji Studenckiej PTChem, 17.12.2016 r., Lublin (poster);
10. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Oznaczanie kofeiny w próbkach środowiskowych z wykorzystaniem sitodrukowanej elektrody węglowej modyfikowanej błonką bizmutu*, X Edycja Konferencji „Wpływ Młodych Naukowców na Osiągnięcia Polskiej Nauki”, 14.01.2017 r., Kraków (prezentacja ustna);
11. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Nowe zastosowanie elektrody diamentowej domieszkowanej borem w oznaczeniach kwasu askorbinowego*, X Edycja Konferencji „Wpływ Młodych Naukowców na Osiągnięcia Polskiej Nauki”, 14.01.2017 r., Kraków (poster);
12. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Nowa voltamperometryczna procedura jednoczesnego oznaczania Cd(II) i Pb(II) na BiF/SPCE z zastosowaniem mediatora*, X Edycja Konferencji „Wpływ Młodych Naukowców na Osiągnięcia Polskiej Nauki”, 14.01.2017 r., Kraków (prezentacja ustna);
13. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Prosta metoda wzmocnienia sygnału analitycznego Cd(II) na PbF/SPCE – zastosowanie metalicznego mediatora*, X Edycja Konferencji „Wpływ Młodych Naukowców na Osiągnięcia Polskiej Nauki”, 14.01.2017 r., Kraków (poster);
14. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Zastosowanie sitodrukowanej elektrody węglowej modyfikowanej błonką bizmutu w voltamperometrycznych oznaczeniach kofeiny*, IX Interdyscyplinarna Konferencja Naukowa TYGIEL 2017 „Interdyscyplinarność kluczem do rozwoju”, 18-19.03.2017 r., Lublin (prezentacja ustna);

15. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, K. Surowiec, *Oznaczanie rutyny na elektrodzie z węgla szklanego modyfikowanej błoną bizmutu*, IX Interdyscyplinarna Konferencja Naukowa TYGIEL 2017 „Interdyscyplinarność kluczem do rozwoju”, 18-19.03.2017 r., Lublin (poster);
16. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Woltamperometria strippingowa – metoda umożliwiająca oznaczanie śladowych stężeń Cd(II) i Pb(II)*, IX Interdyscyplinarna Konferencja Naukowa TYGIEL 2017 „Interdyscyplinarność kluczem do rozwoju”, 18-19.03.2017 r., Lublin (prezentacja ustna);
17. K. Tyszczyk-Rotko, I. Sadok, K. Domańska, **A. Szwagierek**, *Elektrody modyfikowane metalem – przygotowanie, charakterystyka i zastosowanie w oznaczeniach woltamperometrycznych*, Fizykochemia Granic Faz - Metody Instrumentalne, 23-26.04.2017 r., Lublin (wykład);
18. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Zastosowanie bizmutu do wzmocnienia sygnału kofeiny na sitodrukowanej elektrodzie węglowej*, XVI Konferencja „Elektroanaliza w Teorii i Praktyce”, 01-02.06.2017 r., Kraków (poster);
19. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Zastosowanie sitodrukowanej elektrody zespolonej modyfikowanej bizmutem w woltamperometrycznych oznaczeniach Tl(I)*, XVI Konferencja „Elektroanaliza w Teorii i Praktyce”, 01-02.06.2017 r., Kraków (poster);
20. A. Nosal-Wiercińska, **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, *Nowe zastosowanie elektrody z węgla szklanego modyfikowanej bizmutem w oznaczeniach rutyny*, Chemia dla urody i zdrowia, 08-10.06.2017 r., Toruń (poster);
21. K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, K. Domańska, K. Surowiec, A. Nosal-Wiercińska, *Rutin - properties, application and voltammetric procedure for its determination*, Plant – the source of research material, 22-23.06.2017 r., Lublin (poster);
22. K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska **A. Szwagierek**, I. Sadok, M. Wójciak-Kosior, I. Sowa, *Biological activity of ursolic and oleanolic acids and voltammetric procedure for their determination in plants extracts*, Plant – the source of research material, 22-23.06.2017 r., Lublin (poster);

23. K. Tyszczyk-Rotko, I. Sadok, K. Domańska, **A. Szwagierek**, *Przygotowanie, charakterystyka powierzchni i zastosowanie nowych czujników woltamperometrycznych*, X Ogólnopolskie Sympozjum „Nauka i Przemysł - Metody Spektroskopowe w Praktyce”, 21-23.06.2017 r., Lublin (wykład);
24. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Woltamperometryczne oznaczanie kofeiny przy użyciu sitodrukowanej elektrody węglowej modyfikowanej bizmutem*, 60 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Wrocław, 17-21.09.2017 r. (prezentacja);
25. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Zastosowanie błonkowej elektrody bizmutowej w woltamperometrycznych oznaczeniach rutyny*, 60 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Wrocław, 17-21.09.2017 r. (poster);
26. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Woltamperometryczna procedura oznaczania $Tl(I)$ z zastosowaniem sitodrukowanej elektrody zespolonej*, 60 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Wrocław, 17-21.09.2017 r. (prezentacja);
27. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Procedura jednoczesnego oznaczania $Cd(II)$ i $Pb(II)$ metodą woltamperometrii strippingowej*, 60 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Wrocław, 17-21.09.2017 r. (poster);
28. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Nowe zastosowanie sitodrukowanej elektrody węglowej w oznaczeniach kofeiny*, V Konferencja Innowacje w Praktyce, Lublin, 5-6.04.2018 r. (poster);
29. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Nowa woltamperometryczna metoda oznaczania $U(VI)$ w próbkach wód naturalnych*, V Konferencja Innowacje w Praktyce, Lublin, 5-6.04.2018 r. (poster);
30. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Prosta metoda wzmocnienia sygnału analitycznego kofeiny za pomocą bizmutu na sitodrukowanych elektrodach węglowych*, I Ogólnopolskie Sympozjum Młodych Naukowców „ProDoc”, Lublin, 13-14.04.2018 r. (prezentacja);

31. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Woltamperometria stripingowa – metoda umożliwiająca oznaczanie śladowych ilości rutyny*, I Ogólnopolskie Sympozjum Młodych Naukowców „ProDoc”, Lublin, 13-14.04.2018 r. (poster);
32. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Woltamperometryczne oznaczenia stężenia $U(VI)$ w próbkach wód z wykorzystaniem sitodrukowanej elektrody zespolonej*, I Ogólnopolskie Sympozjum Młodych Naukowców „ProDoc”, Lublin, 13-14.04.2018 r. (prezentacja);
33. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Modyfikacja powierzchni sitodrukowanej elektrody węglowej bizmutem jako sposób na zwiększenie czułości oznaczeń $Tl(I)$ metodą woltamperometrii stripingowej*, I Ogólnopolskie Sympozjum Młodych Naukowców „ProDoc”, Lublin, 13-14.04.2018 r. (poster);
34. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Woltamperometryczna procedura oznaczania kofeiny na nanowłóknach węglowych*, VI Ogólnopolskie Sympozjum Nauka i Przemysł – lubelskie spotkania studenckie, Lublin, 25.06.2018 r. (poster);
35. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Zastosowanie sitodrukowanych elektrod zespolonych modyfikowanych metalem w śladowej analizie jonów metali ciężkich*, VI Ogólnopolskie Sympozjum Nauka i Przemysł – lubelskie spotkania studenckie, Lublin, 25.06.2018 r. (prezentacja);
36. K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, **A. Szwagierek**, *MiniczuJNIKI woltamperometryczne w monitoringu wód*, XI Ogólnopolskie Sympozjum „Nauka i przemysł – metody spektroskopowe w praktyce, nowe wyzwania i możliwości, Lublin, 26-28.2018 (wykład);
37. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Application of new electrochemical sensors coated with carbon nanofibers in the determination of paracetamol*, XII Copernican International Young Scientists Conference, Toruń, 28-29.06.2018 r. (prezentacja);
38. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Determination of caffeine on a composite screen printed electrode covered with carbon nanofibers*, XII Copernican International Young Scientists Conference, Toruń, 28-29.06.2018 r. (poster);

39. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *The application of modified integrated screen-printed sensor for the voltammetric determination of U(VI)*, XII Copernican International Young Scientists Conference, Toruń, 28-29.06.2018 r. (prezentacja);
40. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Preparation and characterization of the screen-printed carbon electrode modified with bismuth for the voltammetric determination of Tl(I)*, XII Copernican International Young Scientists Conference, Toruń, 28-29.06.2018 r. (poster);
41. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Zastosowanie nowych czujników elektrochemicznych pokrytych nanowłóknami węglowymi w oznaczeniach paracetamolu*, X Polska Konferencja Chemii Analitycznej, Lublin, 1-5.07.2018 (prezentacja);
42. **A. Szwagierek**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, *Oznaczanie kofeiny na zespolonej elektrodzie sitodrukowanej pokrytej nanowłóknami węglowymi*, X Polska Konferencja Chemii Analitycznej, Lublin, 1-5.07.2018 (poster);
43. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Nowe zastosowania sitodrukowanych elektrod węglowych modyfikowanych metalem w woltamperometrycznych oznaczeniach jonów metali ciężkich*, X Polska Konferencja Chemii Analitycznej, Lublin, 1-5.07.2018 (prezentacja);
44. K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Modyfikacja metalem (Bi, Pb) sitodrukowanej elektrody węglowej skutecznym sposobem na wzmocnienie woltamperometrycznego sygnału metali ciężkich*, X Polska Konferencja Chemii Analitycznej, Lublin, 1-5.07.2018 (poster);
45. K. Tyszczyk-Rotko, K. Pietrzak, **A. Szwagierek**, K. Domańska, *Adsorptive stripping voltammetric method for the determination of caffeine at integrated three-electrode screen-printed sensor with carbon/carbon nanofibers working electrode*, Tenth International Symposium Effects of Surface Heterogeneity in Adsorption, Catalysis and Related Phenomena, Lublin, 27-31.08.2018 (poster);

46. K. Tyszczyk-Rotko, K. Domańska, **A. Szwagierek**, *The ultra-trace voltammetric determination of Cr(VI) at bismuth film glassy carbon electrode with the catalytic assistance of nitrate ions*, Tenth International Symposium Effects of Surface Heterogeneity in Adsorption, Catalysis and Related Phenomena, Lublin, 27-31.08.2018 (poster);
47. **A. Sasal**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Jędruchiewicz, *Ilościowa analiza paracetamolu na miniaturowym czujniku pokrytym nanowłóknami węglowymi*, II Ogólnopolskie Sympozjum Młodych Naukowców ProDoc, Lublin, 12.04.2019 (prezentacja ustna);
48. K. Jędruchiewicz, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Sasal**, *Analiza śladowa jonów Mo(VI) w próbkach wód z zastosowaniem miniaturowego czujnika PbF/SPCE*, II Ogólnopolskie Sympozjum Młodych Naukowców ProDoc, Lublin, 12.04.2019 (prezentacja ustna);
49. **A. Sasal**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Jędruchiewicz, *Oznaczanie cytrynianu sildenafilu na miniaturowej zespolonej elektrodzie węglowej*, VI Forum Młodych Przyrodników, Rolnictwo – Żywność – Zdrowie, Lublin, 25.05.2019 (poster);
50. **A. Sasal**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Jędruchiewicz, *Zastosowanie miniaturowego, sitodrukowanego układu pomiarowego w oznaczeniach cytrynianu sildenafilu*, VII Ogólnopolskie Sympozjum Nauka i Przemysł – lubelskie spotkania studenckie, Lublin, 23.06.2019 (prezentacja ustna);
51. K. Jędruchiewicz, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Sasal**, *Zespolone, sitodrukowane czujniki elektrochemiczne do oznaczania jonów metali w próbkach wód naturalnych*, VII Ogólnopolskie Sympozjum Nauka i Przemysł – lubelskie spotkania studenckie, Lublin, 23.06.2019 (poster);
52. **A. Sasal**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Jędruchiewicz, *Zespolone, sitodrukowane układy pomiarowe w oznaczeniach preparatów farmaceutycznych*, 62 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Warszawa, 02-06.09.2019 (prezentacja ustna);
53. **A. Sasal**, K. Tyszczyk-Rotko, K. Jędruchiewicz, *Zastosowanie zespolonych układów pomiarowych w oznaczeniach kofeiny w popularnych napojach*, 62 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Warszawa, 02-06.09.2019 (poster);

54. K. Jędruchiewicz, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Sasal**, *Woltamperometria strippingowa – technika umożliwiająca analizę ilościową jonów metali w warunkach polowych*, 62 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Warszawa, 02-06.09.2019 (prezentacja ustna);
55. K. Jędruchiewicz, K. Tyszczyk-Rotko, **A. Sasal**, *Wpływ modyfikacji powierzchni SPCE ołowiem na sygnał analityczny wybranych jonów metali*, 62 Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Chemicznego, Warszawa, 02-06.09.2019 (poster);
56. **A. Sasal**, K. Tyszczyk-Rotko, *Determination of sildenafil citrate on a screen-printed carbon electrode*, Plant – the source of research material, Nałęczów, 10-12.09.2019 (poster).

Wyróżnienia

1. Współautor wyróżnionego komunikatu ustnego pt. *„Zagrożenia wynikające z obecności Cd i Pb w środowisku oraz woltamperometryczna procedura ich oznaczania na sitodrukowanej elektrodzie węglowej modyfikowanej błonką bizmutu”*, IV Ogólnokrajowa Konferencja „Młodzi Naukowcy w Polsce – Badania i Rozwój”, Lublin 2016 r;
2. Współautor nagrodzonego II miejscem komunikatu pt. *„The application of modified integrated screen-printed sensor for the voltammetric determination of U(VI)”*, XII edycja konferencji „Copernican International Young Scientists Conference”, Toruń 2018 r;
3. Współautor nagrodzonego III miejscem posteru pt. *„Analiza śladowa jonów Mo(VI) w próbkach wód z zastosowaniem miniaturowego czujnika PbF/SPCE”*, II Ogólnopolskie Sympozjum Młodych Naukowców „ProDoc”, Lublin 2019 r;
4. Nagroda za zajęcie I miejsca w konkursie na najlepszy poster pt. *„Oznaczanie cytrynianu sildenafilu na miniaturowej zespolonej elektrodzie węglowej”*, VI Forum Młodych Przyrodników, Rolnictwo – Żywność – Zdrowie, Lublin 2019 r;
5. Współautor nagrodzonego II miejscem posteru pt. *„Nowe zastosowanie PbF/SPCE w woltamperometrycznych oznaczeniach molibdenu(VI)”* VI Forum Młodych Przyrodników, Rolnictwo – Żywność – Zdrowie, Lublin 2019 r.

Projekty badawcze

1. Kierownik zadania badawczego pt. „Zastosowanie miniaturowych, sitodrukowanych układów pomiarowych w woltamperometrycznych oznaczeniach wybranych związków biologicznie aktywnych” finansowanego z konkursu wydziałowego dotyczącego podziału dotacji celowej na prowadzenie badań naukowych lub prac rozwojowych oraz zadań z nimi związanych, służących rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich na Wydziale Chemii UMCS, 2018 r., L.dz. 736/WCHD/18;
2. Zakwalifikowanie do projektu „PROM - Międzynarodowa wymiana stypendialna doktorantów i kadry akademickiej” na rok akademicki 2019/2020 i uzyskanie finansowania na międzynarodową konferencję naukową: 9th Meeting of Electrochemistry in Nanoscience 2020 w Paryżu, w dniach 25-27.05.2020.

Dodatkowa działalność

1. Członek sekcji studenckiej Polskiego Towarzystwa Chemicznego (11.2016 -);
2. Prowadząca sesję naukową podczas obrad sekcji chemii analitycznej i środowiskowej w ramach udziału w 62 Zjeździe Naukowym Polskiego Towarzystwa Chemicznego w Warszawie (02-06.09.2019);
3. Prowadząca warsztaty pt: „Co z tą twardością wody?” w Zakładzie Chemii Analitycznej i Analizy Instrumentalnej w ramach Drzwi Otwartych Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej (22.03.2019);
4. Członek Wydziałowej Rady Samorządu Doktorantów (05.2019 -).

**ANEKS – TEKSTY PUBLIKACJI BĘDĄCYCH
PRZEDMIOTEM ROZPRAWY DOKTORSKIEJ I OŚWIDCZENIA**

Publikacja 1

K. Tyszczyk-Rotko, **A. Szwagierek**, *Green electrochemical sensor for caffeine determination in environmental water samples: the bismuth film screen-printed carbon electrode*, Journal of The Electrochemical Society, 164 (7) (2017) B342-B348.



Green Electrochemical Sensor for Caffeine Determination in Environmental Water Samples: The Bismuth Film Screen-Printed Carbon Electrode

Katarzyna Tyszczyk-Rotko^z and Agnieszka Szwagierek

Department of Analytical Chemistry and Instrumental Analysis, Faculty of Chemistry,
Maria Curie-Skłodowska University, Lublin, Poland

A novel, simple and sensitive electrochemical procedure using a bismuth film screen-printed carbon electrode (BiF/SPCE) and differential pulse voltammetry (DPV) was developed for the determination of caffeine in non-pretreated environmental water samples. A diffusion-controlled process of the electrochemical oxidation of caffeine at the BiF/SPCE was confirmed by cyclic voltammetric studies. The linear concentration range from 1×10^{-7} to 2×10^{-5} mol L⁻¹ ($r = 0.9927$), as well as detection and quantification limits of 2.7×10^{-8} and 9.0×10^{-8} mol L⁻¹, respectively, were achieved at optimized procedure conditions and parameters. Of note, the influence of possible interfering agents appeared to be minor, which substantiates good selectivity of the procedure. The proposed procedure with the BiF/SPCE was successfully applied for the determination of caffeine in spiked river water samples with satisfactory recoveries (100.2 to 105.0%) and good agreement to the results obtained by reference high performance chromatography with photodiode array detector. Thus, the bismuth film screen printed carbon electrode is an environmentally acceptable (green) sensor for the monitoring of caffeine contamination.

© 2017 The Electrochemical Society. [DOI: 10.1149/2.0571707jes] All rights reserved.

Manuscript submitted March 6, 2017; revised manuscript received April 24, 2017. Published May 10, 2017.

Caffeine (3,7-dihydro-1,3,7-trimethyl-1H-purine-2,6-dione) (Fig. 1) is a purine alkaloid organic compound present in coffee, tea, yerba mate leaves, guarana seeds, cacao beans and cola nuts.^{1,2,3} While caffeine is used by plants as a natural insecticide for paralyzing and killing insects,^{4,5} it induces multiple pharmacological effects in humans. Caffeine affects the central nervous system, accelerates the metabolism and has influence upon gastric acid secretion. In addition, it increases blood pressure, reduces sleepiness and improves mood and concentration.^{6,7} Excessive concentrations of caffeine, however, induce hyperactivity, trembling, heart disease, nausea, vomiting, depression and mutation effects such as inhibition of DNA.^{8,9} A dosage of 10 g (about 170 mg kg⁻¹ of body weight)⁷ is considered fatal. Due to its stimulant properties, caffeine is commonly consumed in the form of traditional coffee, tea, sodas, energy drinks and chocolate.² Moreover, caffeine is found in supplements to facilitate weight-loss¹⁰ or to improve athletic endurance. Addition of the compound enhances the performance of many medicaments, and, therefore, is widely used in nonsteroidal pharmaceuticals. It helps in the treatment of asthma, nasal congestion, headaches, migraines, for relieving tension and increasing the production of dopamine. Excess of caffeine and its metabolic products are excreted from the body in urine.^{2,11,12}

Nowadays, environmental pollution is a serious problem, and many places in the world lack access to clean, fresh water. The main sources of pollution are sewage, municipal waste, land and water transportation and agriculture practices. Pollution transported in this way degrades the environment,¹³ and is the cause of many diseases among humans and animals. While human waste is treated prior to release, only a few treatment plants are tertiary and catch anthropogenic wastes. Therefore, such pollutants go directly into the environment. Caffeine is one such pollutant.¹⁴ It is estimated that the global consumption of caffeine is equivalent to an average of one cup of coffee drunk daily by every human being in the world. Hence, due to its prevalence, caffeine is considered a world-wide indicator of water pollution induced by anthropogenic waste.¹⁵ For example, studies of the Danube have indicated the fouling of the waters by an average concentration of caffeine equal to 137 ng L⁻¹, with the basin of the river containing as much as 406 ng L⁻¹. Indeed, determined maximum concentrations are, respectively, 1467 and 6798 mg L⁻¹.¹⁶ Regarding the Seine River, such caffeine concentration is shown to be at 186.9 mg L⁻¹.¹⁷ In the People's Republic of China, the country with the second highest level of environmental pollution in the world, the highest concentration of caffeine has been noted in the river Qiujiang, with the ascribed figure being as much as 8571 mg L⁻¹.¹⁸ In comparison, studies done on

Poland's Vistula River have recorded a maximum concentration of caffeine equal to 974.2 mg L⁻¹.¹⁴

Many methods have been used for the determination of caffeine. Among these are liquid chromatography,¹⁹ high performance liquid chromatography,^{20,21} spectrophotometry,^{22,23} and voltammetry.^{1,2,4-6,8-12,24-34,37} The advantages of voltammetry are in its high sensitivity, quick response and low apparatus cost.¹⁰ Most frequently, a glassy carbon electrodes modified with Nafion,^{11,24,25} graphene,²⁶ single-walled²⁷ and multiwalled carbon nanotubes are used.^{1,28,29} In addition, the glassy carbon electrode is modified with flavonoids⁸ or other organic compounds.^{6,9,30,31} Other carbon electrodes employed for the determination of caffeine include carbon paste electrodes,³² carbon-ceramic electrodes³³ and carbon-fiber ultramicroelectrodes.³⁴ Both boron-doped diamond electrodes^{2,4,12} and boron-doped diamond electrodes covered with Nafion^{5,10} are also often used.

Caffeine content is commonly determined in pharmaceutical formulations,^{1,6,8,10-12,25,28,31-34,37} human blood serum samples,^{6,29,33} beverage samples^{2,4-6,10,11,24,25,27,30,32,33} and food samples.²⁶ However, to the best of our knowledge, caffeine has not been electrochemically determined in environmental samples. Because of the global consumption of caffeine, there is the need for continuous monitoring of its concentration in surface water and groundwater.

Screen-printed electrodes have numerous advantages such as reproducibility, repeatability, selectivity, ease of surface modification,^{35,36} as well as portability and inexpensive production cost.^{35,38} They are also characterized by their appropriate sensitivity, selectivity, linearity and repeatability.^{39,40} Furthermore, the possibility of placing three electrodes on the same device facilitates the positioning of these electrodes inside a flow cell.³⁷ These electrodes can be exchanged between each analysis, eliminating the need for regeneration of the electrode surface, and, therefore, are often used as disposable electrodes. Due to the quest for increased miniaturization, screen-printed electrodes are becoming an increasingly popular choice.^{37,41,42}

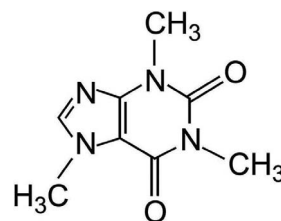


Figure 1. Chemical structure of caffeine.

^zE-mail: ktyszczyk@poczta.umcs.lublin.pl

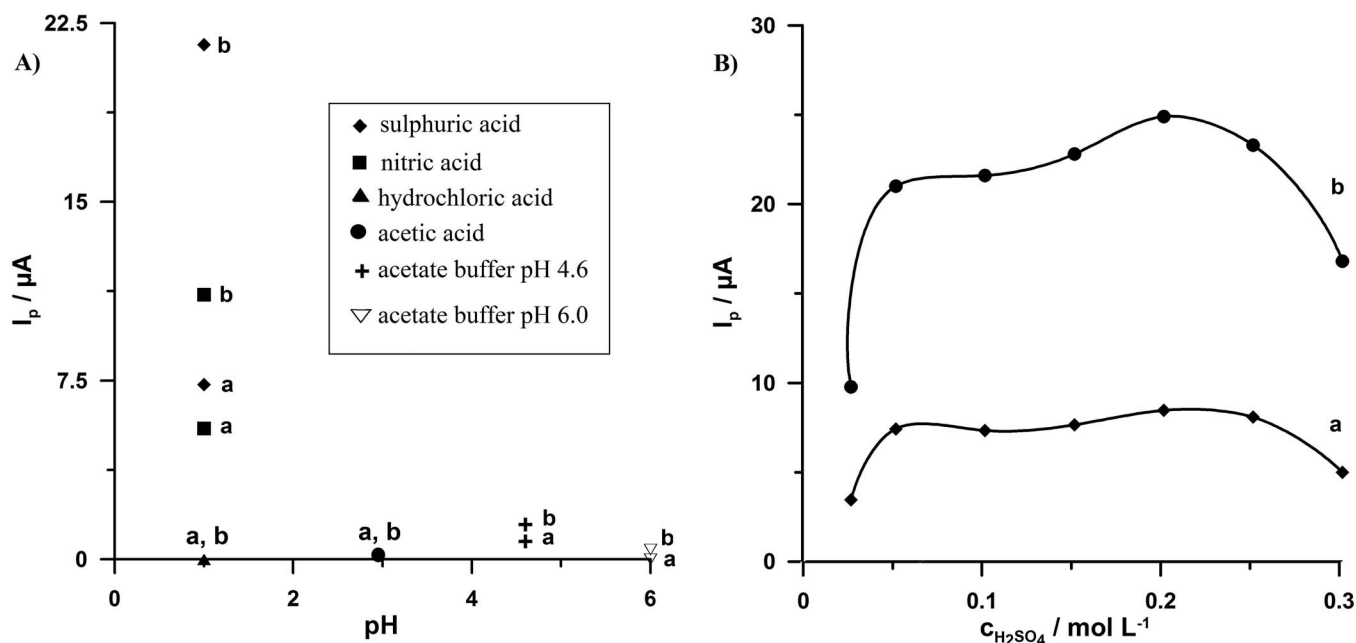


Figure 2. The influence on the peak currents of caffeine of: A) type and pH of supporting electrolyte at a concentration of 0.1 mol L⁻¹ and B) concentration of sulfuric acid. The measurements were carried out in solutions containing 5×10^{-6} mol L⁻¹ Bi(III), and 2×10^{-6} (a) or 1×10^{-5} mol L⁻¹ (b) caffeine. The bismuth coating was deposited for 180 s at -0.95 V.

The main aim of this paper was to develop and optimize a fast and simple voltammetric procedure employing bismuth film screen-printed carbon electrodes for the determination of caffeine in environmental water samples that were not pretreated. In the study, we underline the advantages of using bismuth film screen-printed electrodes for the environmental analysis of caffeine. The use of bismuth particles as the electrode surface modifier has allowed the creation of sensitive and eco-friendly voltammetric sensors.^{43,44}

Experimental

Reagents and water samples.—All chemicals were of analytical grade and were without further purification. Caffeine was obtained from Sigma-Aldrich, while H₂SO₄ 96% was obtained from Merck. The stock standard solution of caffeine (10^{-2} mol L⁻¹) and working solutions were prepared daily by dissolving a reagent or a standard solution in water. The stock standard solution of Bi(III) (1 g L⁻¹) was purchased from Merck. The working solution of Bi(III) (10^{-3} mol L⁻¹) was then prepared by the appropriate dilution of the stock standard solutions in 0.1 mol L⁻¹ HNO₃ (Merck). To study the interference effect, standard solutions of Mo(VI), Ni(II), Fe(III), Cu(II), V(V), Pb(II), Cd(II) and Zn(II) (1 g L⁻¹, Merck) were used. Beyond this, Triton X-100, sodium dodecyl sulfate (SDS) and cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) were purchased from Fluka. All solutions were prepared using ultra-purified water (>18 M Ω cm) supplied by a Milli-Q system (Millipore, UK). The screen-printed carbon electrodes were prepared by way of commercial carbon ink (C10903D14, Gwent Electronic Materials Ltd., Pontypool, UK).

The natural water samples were collected from the Bystrzyca River (Lublin, Poland) and the Mleczna River (Radom, Poland), and then filtered using a 0.45 μ m Millipore filter. Next, all water samples were directly analyzed through voltammetric and chromatographic methods.

Apparatus.—The electrochemical experiments were carried out by way of employing an μ Autolab analyzer equipped with USB electrochemical interface and driven via a GPES 4.9 software package (Eco Chemie, Netherlands), in conjunction with a three-electrode system and a personal computer for data storage and processing. For research

purposes, a conventional three-electrode quartz cell with a volume of 10 mL was used, with an Ag/AgCl/KCl (3 mol L⁻¹) construct as a reference electrode, a platinum wire as a counter electrode, and as a working electrode, a bismuth film modified in-lab fabricated screen-printed carbon electrode. The screen-printed carbon electrodes were prepared through employing a screen-printing device kit (UL 1505 A, Tesla, Czech Republic).

A high-resolution microscope FEI DualBeam Quanta 3D FEG (scanning electron microscope (SEM) with focused ion beam (FIB)) equipped with an energy dispersive X-ray spectrometer (EDS) was used for the electrode surface characterization. The equivalent diameter of Bi particles was determined using NIS-Elements Advanced Research software.

Chromatographic measurements were performed using high performance liquid chromatograph (VWR Hitachi Chromaster 600) with photodiode array detector (PDA) and EZChrom Elite software (Merck, Darmstadt, Germany). The samples were separated on a Kinetex C18 reversed-phase column (25 cm $\times$ 4.0 mm i.d., 5 μ m particle size, Phenomenex, CA, USA).

Preparation of the screen-printed carbon electrodes.—The screen-printed carbon electrodes were prepared by way of the screen-printing of the ink onto the ceramic supports (each 40×10 mm). Regarding the ceramic substrates, thickened carbon ink layers were formed on these through utilizing an etched stencil (thickness 100 μ m, electrode printing area 105 mm²) and a screen-printing device kit. The printed electrodes were dried at 60°C for 30 min and then were covered with a layer of PVC insulation, leaving a defined rectangular shaped field (5×3 mm) as working area and a similar area on the other side for electrical contact.

Procedure of bismuth film coating and caffeine voltammetric determination.—The screen-printed working electrode was modified with the bismuth film by way of an in-situ plating method. The bismuth film coating and the voltammetric determinations of caffeine under optimized conditions were carried out in a solution contained 0.2 mol L⁻¹ sulfuric acid, 5×10^{-6} mol L⁻¹ Bi(III) and variable concentrations of caffeine. At the potential of -0.65 V for 180 s the bismuth film was deposited onto a screen-printed carbon surface. Then, after

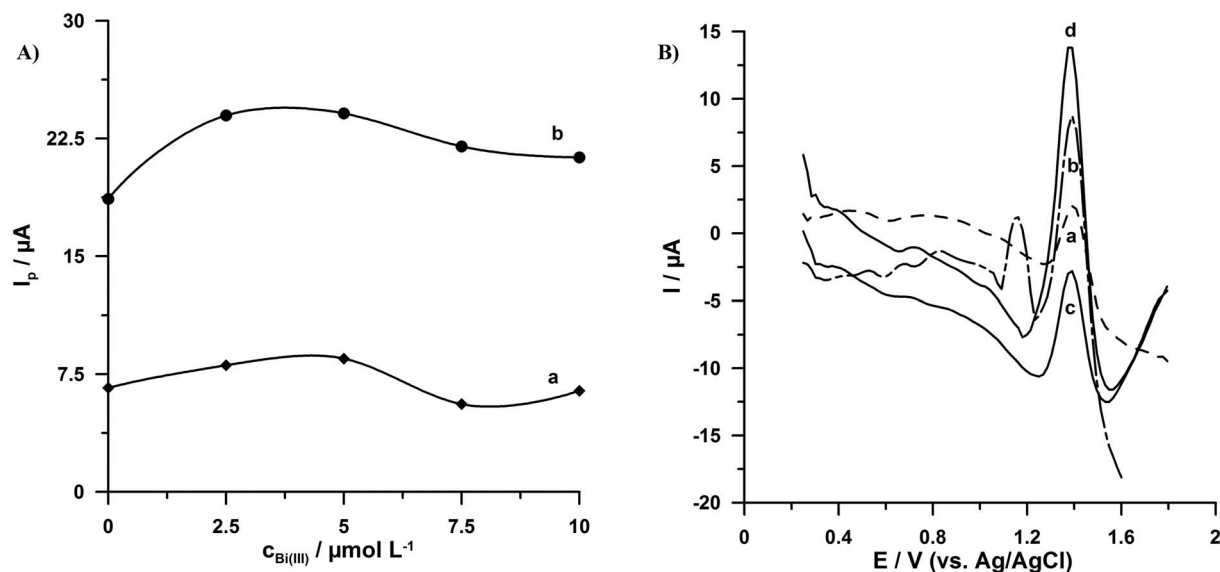


Figure 3. A) The influence of Bi(III) concentration on the peak currents of 2×10^{-6} (a) or 1×10^{-5} $mol L^{-1}$ (b) caffeine. B) Differential pulse stripping voltammograms obtained at a bare SPCE (a and b) and BiF/SPCE (c and d) in a solution containing 0.2 $mol L^{-1}$ sulfuric acid, 0 (dotted line, a and b) or 5×10^{-6} $mol L^{-1}$ (solid line, c and d) Bi(III) and 2×10^{-6} (a and c) or 1×10^{-5} $mol L^{-1}$ (b and d) caffeine. The bismuth film was deposited for 180 s at -0.95 V. Stripping parameters were of an amplitude of 75 mV and a scan rate of 175 $mV s^{-1}$.

5 s of equilibration time, differential pulse anodic voltammograms were recorded between 0.25 and 1.8 V, with an amplitude of 100 mV and a scan rate of 150 $mV s^{-1}$. The background current was subtracted from each caffeine measurement. The measurements were carried out utilizing an non-deaerated solution.

Chromatographic measurements.—The results obtained in the course of the determination of caffeine in environmental water samples by the proposed voltammetric method were compared to those obtained by high performance liquid chromatography coupled with a photodiode array detector (HPLC/PDA). The chromatographic measurements were performed on the basis of a slightly modified procedure drawn from current literature.²¹ The analyte was separated on C18 reversed-phase column at a flow rate of 1.0 $mL min^{-1}$ and temperature of $25^\circ C$. The mobile phase consisted of acetonitrile and water (90:10 v/v). The data were collected in the wavelength range from 200 to 400 nm. Moreover, the quantification was conducted at an analytical wavelength of 206 nm.

Results and Discussion

Composition of measurement solution.—The choice of the supporting electrolyte is an important stage in electro-analytical studies because its composition and pH influence the properties of the analyzed solution and the electrode-solution interface, and modify the thermodynamics and kinetics of the charge transfer process. The effects of supporting electrolytes with different composition and pH values were investigated in order to choose the best medium for the voltammetric determination of caffeine in environmental water samples, via bismuth film screen-printed carbon electrode (BiF/SPCE). The influence of the following supporting electrolytes at concentration of 0.1 $mol L^{-1}$ on the peak current of caffeine was ascertained: sulfuric acid, nitric acid, hydrochloric acid, acetic acid and acetate buffer (pH 4.6 and 6.0 ± 0.1). The measurements were carried out in solutions contained 5×10^{-6} $mol L^{-1}$ Bi(III), and 2×10^{-6} or 1×10^{-5} $mol L^{-1}$ caffeine. The obtained results were presented in Fig. 2A. By way of such work, it was noted that the best peak currents of caffeine were obtained in sulfuric acid. Thus, further measurements were performed in a H_2SO_4 medium, and its concentration was evaluated from 0.025 to 0.30 $mol L^{-1}$. Herein, the highest values of peak currents with good resolution were obtained at 0.2 $mol L^{-1}$ concen-

tration (Fig. 2B), thus, this concentration was adopted for subsequent experiments.

The peak currents of caffeine were investigated at increasing Bi(III) concentrations to evaluate the advantages of the use of bismuth as an electrode modifier, as well as to establish a suitable 'standard' Bi(III)

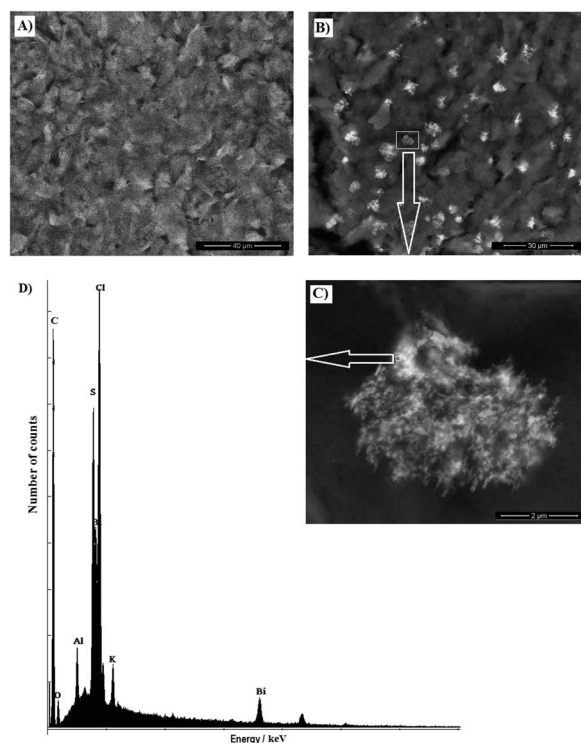


Figure 4. SEM images of screen-printed carbon electrodes, either unmodified (A) or modified (B and C) by the inclusion of bismuth particles. The EDS spectrum of the highlighted fragment of BiF/SPCE (D). The BiF/SPCE's were prepared according to the procedure described in Procedure of bismuth film coating and caffeine voltammetric determination section. The concentration of Bi(III) was equal to 5×10^{-5} $mol L^{-1}$.

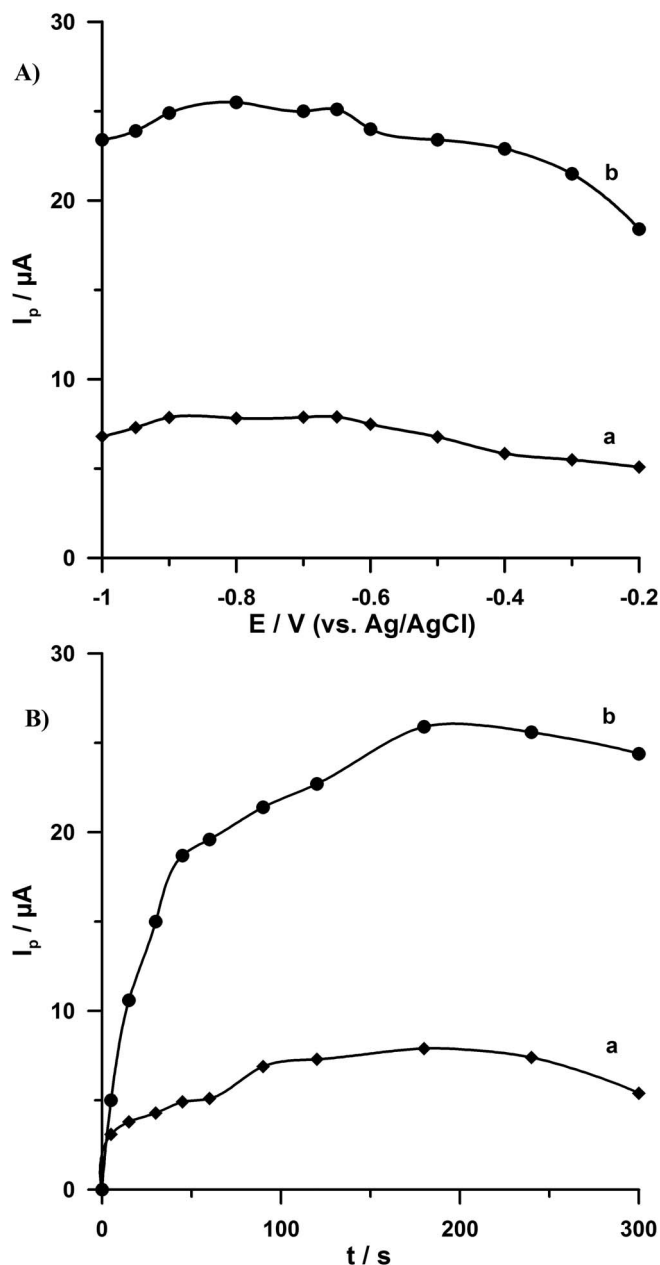


Figure 5. The effect of: A) potential and B) time of bismuth film deposition on the 2×10^{-6} (a) and 1×10^{-5} mol L $^{-1}$ (b) caffeine peak current. The bismuth was deposited for 180 s (A) at -0.65 V (B).

concentration. Hence, 2.5×10^{-6} mol L $^{-1}$ additions of Bi(III) were made to a solution contained 0.2 mol L $^{-1}$ sulfuric acid, and 2×10^{-6} or 1×10^{-5} mol L $^{-1}$ caffeine. The obtained results were presented in Fig. 3A. As can be seen, the use of the bismuth film as a modifier of SPCE provided a substantial increase in the anodic peak currents of caffeine. At Bi(III) concentration of 5.0×10^{-6} mol L $^{-1}$, maximal peaks of caffeine were observed, thus, this concentration was chosen for further study. Fig. 3B shows the voltammograms obtained through utilizing either unmodified or modified with bismuth (5.0×10^{-6} mol L $^{-1}$) screen printed carbon electrodes in solutions containing 0.2 mol L $^{-1}$ sulfuric acid and 2×10^{-6} or 1×10^{-5} mol L $^{-1}$ caffeine. From the obtained results, it is evident that both electrodes provided sufficiently sensitive current response with regard to caffeine content (dotted and solid lines). Still, that which was observed though employing BiF/SPCE (solid lines) showed up as remarkably better

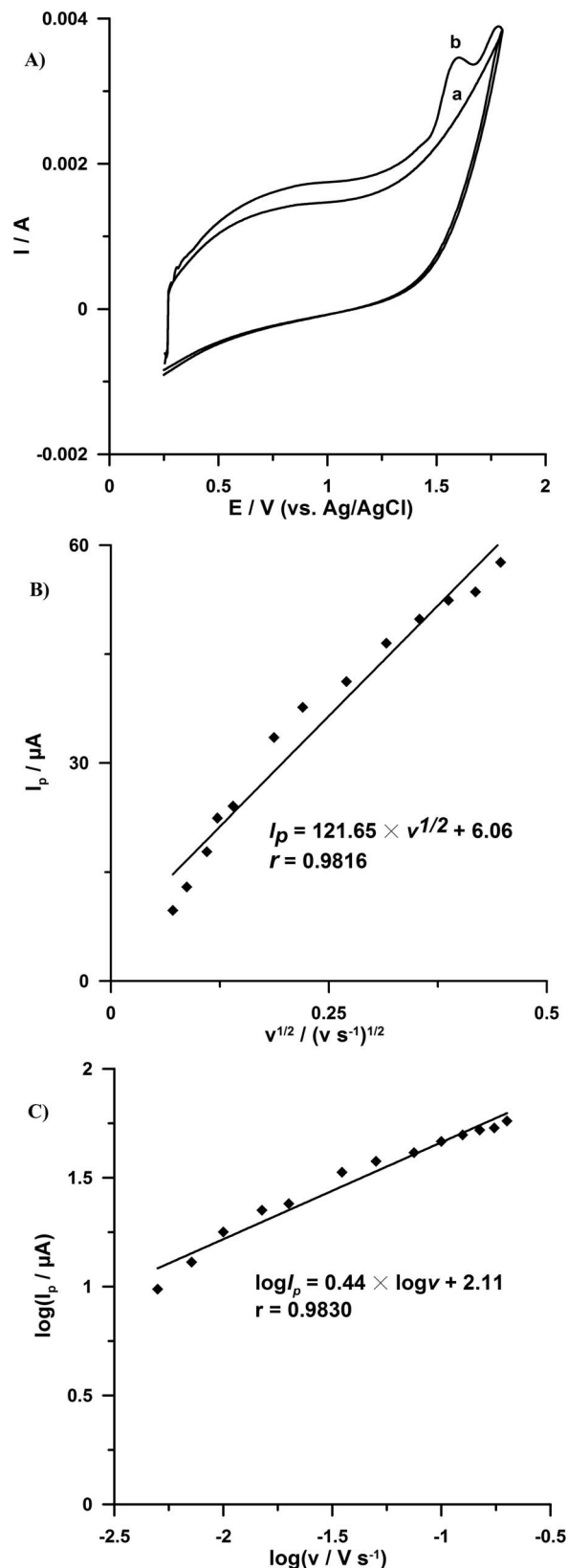


Figure 6. A) CV voltammograms of 0 (a) and 5×10^{-4} mol L $^{-1}$ (b) caffeine in a 0.2 mol L $^{-1}$ sulfuric acid solution containing 5×10^{-6} mol L $^{-1}$ Bi(III) at the BiF/SPCE in the potential range of 0.25 to 1.80 V, with a scan rate of 150 mV s $^{-1}$. The relationship of: B) I_p vs. $v^{1/2}$ and C) $\log I_p$ vs. $\log v$ for the oxidation peak currents of 5×10^{-6} mol L $^{-1}$ caffeine in a 0.2 mol L $^{-1}$ sulfuric acid solution containing 5×10^{-6} mol L $^{-1}$ Bi(III) at the BiF/SPCE. The bismuth film was deposited for 180 s at -0.65 V.

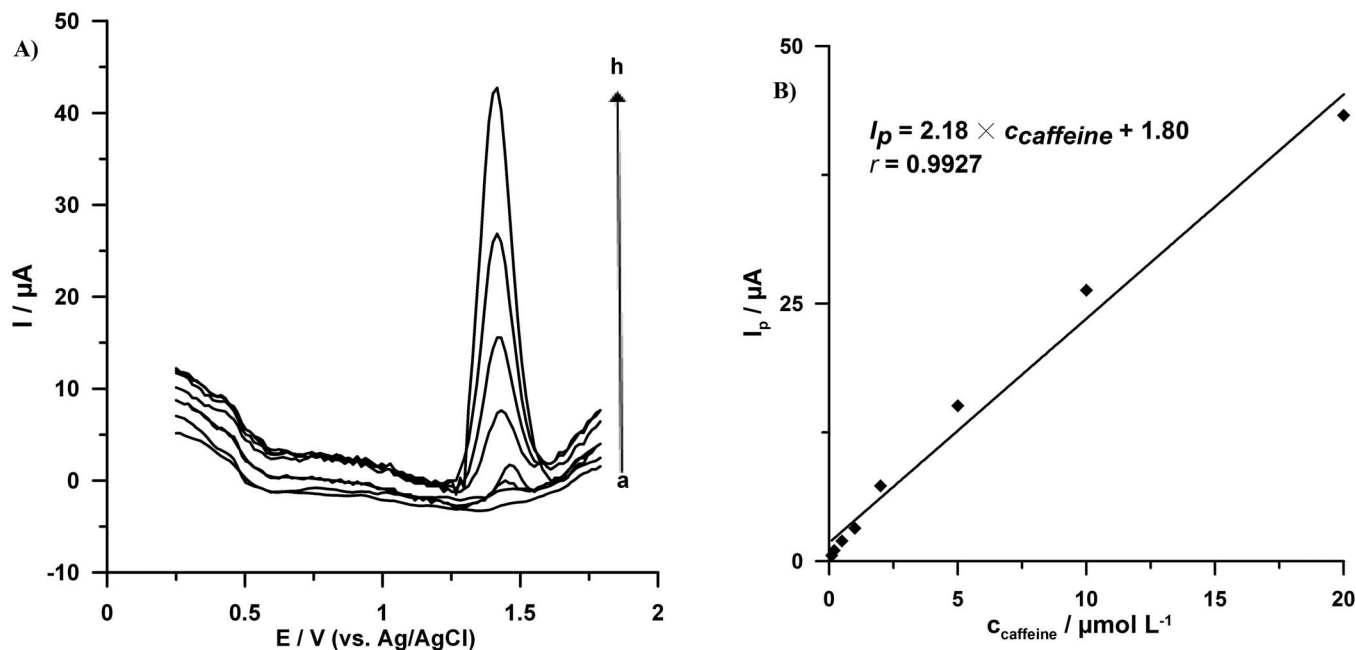


Figure 7. A) Differential pulse voltammograms obtained at the BiF/SPCE in a 0.2 mol L⁻¹ sulfuric acid solution containing 5 × 10⁻⁶ mol L⁻¹ Bi(III) and increasing concentrations of caffeine: (from a to h) 1 × 10⁻⁷, 2 × 10⁻⁷, 5 × 10⁻⁷, 1 × 10⁻⁶, 2 × 10⁻⁶, 5 × 10⁻⁶, 1 × 10⁻⁵, 2 × 10⁻⁵ mol L⁻¹. The bismuth film was deposited for 180 s at -0.65 V. Stripping parameters include an amplitude of 100 mV, and a scan rate of 150 mV s⁻¹. B) The linear range of the calibration graph (1 × 10⁻⁷ - 2 × 10⁻⁵ mol L⁻¹).

shaped peaks at higher peak currents (6.6 vs. 8.5 μA and 18.7 vs. 24.1 μA for 2 × 10⁻⁶ and 1 × 10⁻⁵ mol L⁻¹ caffeine) with respect to bare SPCE. The increase of oxidation peak of caffeine at the bismuth film screen-printed carbon electrode was connected with the increase of active surface area of electrode. This conclusion was confirmed by characterization of the electrode surface using scanning electron microscopy. The SEM images of the electrode surface unmodified and modified with the bismuth are presented in Figs. 4A, 4B and 4C. As can be seen in Fig. 4B, the surface of the SPCE is covered with bright points with the equivalent diameter being in the range of 1.75–7.5 μm. Higher magnification revealed that these bright points are agglomerates of nanoparticles (Fig. 4C). The energy dispersive spectrometry spectrum corresponding to the image on the right is also given in Fig. 4D. As can be seen, the presence of bismuth is manifested by signals on the EDS spectrum.

Parameters of voltammetric procedure.—In this part of the study, the optimization of the procedure parameters of bismuth film plating and caffeine detection was calibrated. First, the deposition potential of bismuth was altered within the range of -0.2 to -1.0 V and its influence on the peak currents of 2 × 10⁻⁶ and 1 × 10⁻⁵ mol L⁻¹ caffeine was assessed. The obtained results are presented in Fig. 5A. As can be seen, the caffeine peak currents attained maximal values as the deposition potential was within the range of -0.65 to -0.90 V. Therefore, for further study, a potential of -0.65 V was chosen.

Next, the deposition time of bismuth was determined. This was modulated within a range from 0 to 300 s and its influence on the oxidation peak of caffeine was studied (Fig. 5B). It was observed that the oxidation peak currents of 2 × 10⁻⁶ and 1 × 10⁻⁵ mol L⁻¹ caffeine attained maximal and stable values for 180 s, so for further measurements, this time was chosen.

The influence of the instrumental differential pulse voltammetric parameters (amplitude and scan rate) on the 2 × 10⁻⁶ and 1 × 10⁻⁵ mol L⁻¹ caffeine voltammetric signals was then investigated. The effect of the amplitude on the caffeine oxidation peak current

was assessed within the range of 25 to 125 mV. It was observed that the caffeine signal increased along with rising amplitude up to 100 mV. Therefore, the amplitude of 100 mV was chosen for further study. Finally, the dependence of the caffeine signal on a scan rate (50–200 mV s⁻¹) was also investigated. The best results were obtained for 150 mV s⁻¹, and, hence, this value was used in further study.

Reversibility studies.—The electrochemical behavior of caffeine at the bismuth film screen printed carbon electrode was studied by way of cyclic voltammetry (CV) in the potential range of 0.25 to 1.8 V. Fig. 6A reveals a comparison of CV voltammograms in the absence and the presence of 5 × 10⁻⁴ mol L⁻¹ caffeine in a 0.2 mol L⁻¹ sulfuric acid solution containing 5 × 10⁻⁶ mol L⁻¹ Bi(III). As can be seen, the registered CV (Fig. 6A) showed a single well-defined peak appertaining to the oxidation of caffeine at the potential of 1.58 V versus the Ag/AgCl electrode. On the reverse scan, an absence of corresponding reduction peak was observed, indicating that the electrode process of caffeine is totally irreversible onto the BiF/SPCE surface. Next, the effect of a potential sweep rate (v) on the caffeine peak current was studied within the range of 0.005 to 0.2 V s⁻¹. For this purpose, CVs from the 2 mol L⁻¹ sulfuric acid solution contained 5 × 10⁻⁶ mol L⁻¹ Bi(III) and 5 × 10⁻⁵ mol L⁻¹ caffeine were reordered. The seen linear relationship between I_p and $v^{1/2}$ (Fig. 6B, the correlation coefficient r of 0.9816) demonstrates that the electrochemical oxidation of caffeine at the BiF/SPCE is a diffusion-controlled process. The obtained results were then confirmed by analyzing the relationship between the logarithm of the peak current of caffeine ($\log I_p$) and the logarithm of the scan rate ($\log v$) (Fig. 6C). Herein, the regression of the relationship between $\log I_p$ and $\log v$ gave a slope equal to 0.44 (correlation coefficient r of 0.9830), indicating that a diffusion-controlled process occurred.

Calibration graph.—In order to definition of the presented procedure its validation was performed.^{45,46} The calibration graph for caffeine at the bismuth film screen printed carbon electrode was

Table I. A comparison of the proposed voltammetric procedure and other analytical methods for the caffeine determination.

Analytical method	Linear range [mol L ⁻¹]	Detection limit [mol L ⁻¹]	Quantification limit [mol L ⁻¹]	Reference
HPLC/UV-Vis	$5.1 \times 10^{-5} - 4.1 \times 10^{-4}$	8.8×10^{-7}	2.9×10^{-6}	20
HPLC/PAD	$1.0 \times 10^{-6} - 5.1 \times 10^{-4}$	1.6×10^{-7}	2.9×10^{-6}	21
GC/MS	-	-	-	22
HPLC/PAD	-	2.0×10^{-5}	6.7×10^{-5}	
Spectrophotometry UV	$5.1 \times 10^{-6} - 9.3 \times 10^{-5}$	3.5×10^{-6}	-	23
DPV with BiF/SPCE	$1.0 \times 10^{-7} - 2.0 \times 10^{-5}$	2.7×10^{-8}	9.0×10^{-8}	This work

HPLC/UV-Vis: high performance liquid chromatography with UV-Vis detector, HPLC/PAD: high performance liquid chromatography with photodiode array detector, GC/MS: gas chromatography/mass spectrometry, DPV with BiF/SPCE: differential pulse voltammetry with bismuth film screen printed carbon electrode.

linear from 1×10^{-7} to 2×10^{-5} mol L⁻¹ and obeyed the equation $y = 2.18x + 1.80$, where y is the peak current (μ A) and x is the caffeine concentration (μ mol L⁻¹). The correlation coefficient r was 0.9927. The relative standard deviations of three replicate determinations of each concentration of caffeine from the calibration graph were in the range of 1.4 to 6.3%. These results reveal the good repeatability of the proposed procedure. The detection and quantification limits, estimated at 3 and 10 times the standard deviation ($n = 5$) for the lowest determined concentration of caffeine divided by the slope of the linear regression equation, are equal to 2.7×10^{-8} and 9.0×10^{-8} mol L⁻¹, respectively. The registered differential pulse voltammograms and the linear range of calibration graph are presented in Figs. 7A and 7B, respectively. Table I shows a comparison of the proposed voltammetric procedure and other analytical methods for the caffeine determination. As can be seen, the proposed procedure has very good parameters, among these being the lowest detection and quantification limits. It has to be noted, however, that in comparison to other electrochemical sensors, the obtained detection limit at the BiF/SPCE is, some cases, higher (2.7×10^{-8} mol L⁻¹ vs. 1.14×10^{-9} , 1.7×10^{-8} , 2.0×10^{-8} , 8.0×10^{-9} mol L⁻¹).^{10,11,26,27} Still, (*) the electrode preparation procedure is simpler,^{10,11,26,27} and (**) the proposed sensor can be easily miniaturized and used in field analysis.

Interferences.—The selectivity of the proposed voltammetric procedure was estimated using the additions of potentially interfering ions to a solution containing 1.0×10^{-5} mol L⁻¹ caffeine. As can be seen from Table II, the most studied ions have negligible interference. However, the addition of Fe(III) and Cu(II) at a concentration of 1.0×10^{-4} mol L⁻¹ induced a decrease of the caffeine signal to 77.3% and 86.6% (respectively) of its original value. It should be noted that the analytical signal of caffeine was still well-formed and easy to measure.

What is more, the influence of surfactants on the peak current of 1.0×10^{-5} mol L⁻¹ caffeine was investigated by the addition of Triton X-100, CTAB and SDS to the studied solution in the range from 0 to 2.0 mg L⁻¹. As a result, it was observed that the additions of 2.0 mg L⁻¹ Triton X-100 and SDS increased the height of the caffeine stripping signal to 111.9 and 102.6% of its original value, while the addition of 2.0 mg L⁻¹ CTAB decreased the height of the caffeine stripping signal to 73.1% of its original value. In all cases, the caffeine signal was well-defined. The above data indicate that the use of the proposed voltammetric method and BiF/SPCE sensor allowed the determination of caffeine without the need of a pretreatment sample step in environmental water samples containing organic matter.

Analytical applications.—To demonstrate the applicability of the proposed voltammetric procedure using the bismuth film screen printed carbon electrode, caffeine content in natural water samples collected from Bystrzyca and Mleczna Rivers was assessed. As preliminary investigation revealed that the caffeine concentrations in these samples were below the detection limit of the proposed procedure, the analyzed samples were spiked with caffeine at different concentration

levels, and the caffeine content were assessed using the standard additional method. To compare voltammetric results, the samples were also analyzed using the high performance liquid chromatography with photodiode array detector. The results are summarized in Table III. Herein, the recovery values employing the proposed procedure are between 100.2 and 105.0% with the relative standard deviation in the range of 1.8 to 3.1% for the determined caffeine. These results demonstrate its satisfactory degree of accuracy, as well as its precision. Additionally, as can be seen in Table III, no significant difference was observed between the concentrations of caffeine determined by the proposed differential pulse voltammetric procedure (DPV) with the use of BiF/SPCE and the chromatographic method (HPLC/PAD). This was confirmed by calculating the relative error and the values of variable bias to the obtained results. The relative error values are in the range of 0.6 to 4.5%, while the values of variable bias are equal to 5.40% for Bystrzyca River and 5.04% for Mleczna River. Thus, the obtained results reveal the analytical usefulness of the presented

Table II. Influence of various ions on the peak current of 1.0×10^{-5} mol L⁻¹ caffeine.

Interfering ions	Concentration (mol L ⁻¹)	Relative signal ^a (%), $n = 3$
Ni(II)	1.0×10^{-6}	105.3
	1.0×10^{-5}	102.7
	1.0×10^{-4}	92.3
Mo(VI)	1.0×10^{-6}	108.2
	1.0×10^{-5}	101.4
	1.0×10^{-4}	95.0
Fe(III)	1.0×10^{-6}	106.8
	1.0×10^{-5}	104.4
	1.0×10^{-4}	77.3
Cu(II)	1.0×10^{-6}	103.7
	1.0×10^{-5}	99.7
	1.0×10^{-4}	86.6
V(V)	1.0×10^{-6}	105.0
	1.0×10^{-5}	104.1
	1.0×10^{-4}	91.0
Pb(II)	1.0×10^{-6}	102.4
	1.0×10^{-5}	100.3
	1.0×10^{-4}	90.7
Cd(II)	1.0×10^{-6}	104.7
	1.0×10^{-5}	99.4
	1.0×10^{-4}	89.4
Zn(II)	1.0×10^{-6}	107.5
	1.0×10^{-5}	102.5
	1.0×10^{-4}	93.5

^aRelative signal (%) = $100 \times (\text{the caffeine peak current after addition of interfering ion} / \text{the caffeine peak current})$

Table III. Results of caffeine determination in natural water samples using the differential pulse voltammetry (DPV) with BiF/SPCE and chromatographic method (HPLC/PAD).

Sample	Concentration caffeine (mol L ⁻¹)			Recovery ± RSD (% , n = 3)		Relative error ^a (%)	Bias ^{b,45} (%)
	added	found by DPV	found by HPLC/PAD	DPV	HPLC		
Bystrzyca River	0	-	-	-	-	-	-
	5.0 × 10 ⁻⁷	5.01 × 10 ⁻⁷	4.98 × 10 ⁻⁷	100.2 ± 2.3	99.6 ± 1.5	0.60	-
	2.0 × 10 ⁻⁶	2.08 × 10 ⁻⁶	1.99 × 10 ⁻⁶	104.0 ± 1.8	99.5 ± 0.5	4.50	5.40
Mleczna River	0	-	-	-	-	-	-
	5.0 × 10 ⁻⁷	5.17 × 10 ⁻⁷	5.13 × 10 ⁻⁷	103.4 ± 3.1	102.6 ± 3.4	0.78	-
	2.0 × 10 ⁻⁶	2.10 × 10 ⁻⁶	2.02 × 10 ⁻⁶	105.0 ± 2.2	101.0 ± 1.2	3.96	5.04

^aRelative error (%) = 100 × (recovery obtained by DPV – recovery obtained by HPLC method)/recovery obtained by HPLC method

^bVariable bias (%) = 100 × (1 – B)/B^c

^cCorrection multiplier (B) = (x_{2m}(HPLC/PAD) – x_{1m}(HPLC/PAD))/(x_{2m}(DPV) – x_{1m}(DPV)), where x_{2m}(HPLC/PAD), x_{1m}(HPLC/PAD) are the mean values determined for the first and second standard when using the reference method (HPLC/PAD), and x_{2m}(DPV) – x_{1m}(DPV) are the mean values determined for the first and second standard with the using developed method (DPV)

voltammetric procedure with the use of BiF/SPCE for determining caffeine content in natural water samples.

Conclusions

This study was the first use of an eco-friendly electrochemical sensor (an in-situ plated bismuth film screen printed carbon electrode) in combination with differential pulse voltammetric technique for determining caffeine levels in non-pretreated environmental water samples. It demonstrates that the proposed voltammetric procedure is a simple, fast and cheap, and the obtained results reveal that the use of BiF/SPCE allows the determination of caffeine content at low (10⁻⁸ mol L⁻¹) levels. Additionally, the evidently good agreement with the results obtained by the proposed voltammetric procedure and that of the referenced HPLC method (relative errors being in the range of 0.6 to 4.5%) show that the BiF/SPCE can be successfully applied for the determination of caffeine in non-pretreated water samples. The environmental friendliness, simplicity of preparation and low production cost of BiF/SPCE, compared to the use of other electrochemical sensors and sensing techniques, makes the proposed notion attractive for analysis of caffeine. Of note, to the best of our knowledge, the electrochemical sensor was for the first time used in environmental analysis of caffeine. Additionally, due the potential of miniaturizing the sensor, the proposed procedure can be used in rapid ‘field’ analysis.

References

- V. Kumar Gupta, A. K. Jain, and S. K. Shoor, *Electrochim. Acta*, **93**, 248 (2013).
- Y. Yardim, E. Keskin, and Z. Şentürk, *Talanta*, **116**, 1010 (2013).
- W. Y. H. Khoo, M. Pumera, and A. Bonanni, *Anal. Chim. Acta*, **804**, 92 (2013).
- L. Švorc, P. Tomčík, J. Svítková, M. Rievaj, and D. Bustin, *Food Chem.*, **135**, 1198 (2012).
- C. A. Martínez-Huitle, N. S. Fernandes, S. Ferro, A. De Battisti, and M. A. Quiroz, *Diam. Relat. Mater.*, **19**, 1188 (2010).
- A. John Jeevagan and S. Abraham John, *Electrochim. Acta*, **77**, 137 (2012).
- L. Švorc, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **8**, 5755 (2013).
- M. Amiri-Aref, J. Bakhsh Raoof, and Reza Ojani, *Sensors Actuat. B: Chem.*, **192**, 634 (2013).
- D. M. Fernandes, N. Silva, C. Pereira, C. Moura, J. M. C. S. Magalhães, B. Bachiller-Baeza, I. Rodríguez-Ramos, A. Guerrero-Ruiz, C. Delerue-Matos, and C. Freire, *Sensors Actuat. B: Chem.*, **218**, 128 (2015).
- I. Sadok, K. Tyszczyk-Rotko, and A. Nosal-Wiercińska, *Sensors Actuat. B: Chem.*, **235**, 263 (2016).
- K. Tyszczyk-Rotko and I. Bęczkowska, *Food Chem.*, **172**, 24 (2015).
- B. C. Lourenço, R. A. Medeiros, R. C. Rocha-Filho, L. H. Mazo, and O. Fatibello-Filho, *Talanta*, **78**, 748 (2009).
- V. De, J. Gaffney, H. Mota-Filipe, R. A. Pinto, C. Thiemermann, M. Loureiro, V. V. Cardoso, M. J. Benoliel, and C. M. M. Almedia, *Environ. Toxicol. Chem.*, **35**, 2674 (2016).
- A. Jagoda, W. Żukowski, and B. Dąbrowska, *Technical Transactions Environmental Engineering*, **6**, 108 (2011).
- A. Jagoda, B. Dąbrowska, and W. Żukowski, *V Krakowska Konferencja Młodych Uczonych, Kraków*, 255 (2010).
- L. Dsikowitzky, J. Schwarzbauer, and R. Littke, *Chemosphere*, **57**, 1289 (2004).
- A. Togola and H. Budzinski, *Anal. Bioanal. Chem.*, **388**, 627 (2007).
- H. Zhou, T. Ying, X. Wang, and J. Liu, *Sci. Reports*, **6**, 34928 (2016).
- T. Arinobu, H. Hattori, T. Kumazawa, X. P. Lee, Y. Mizutani, T. Katase, S. Kojima, T. Omori, R. Kaneko, A. Ishii, and H. Seno, *Forensic Toxicol.*, **27**, 1 (2009).
- J. T. Franeta, D. Agbaba, S. Eric, S. Pavkov, M. Aleksic, and S. Vladimirov, *IL Farmaco*, **57**, 709 (2002).
- T. Theppakorn, A. Luthfivyyah, and K. Ploysri, *Inter. Food Res. J.*, **21**, 2055 (2014).
- D. B. Jeon, Y. S. Hong, G. H. Lee, Y. M. Park, C. M. Lee, E. Y. Nho, J. Y. Choi, N. Jamila, N. Khan, and K. S. Kim, *Food Chem.*, **219**, 443 (2017).
- M. R. Khoshayand, H. Abdollahi, M. Shariatpanahi, A. Saadatfard, and A. Mohammadia, *Spectrochim. Acta Part A*, **70**, 491 (2008).
- F. Zhao, F. Wang, W. Zhao, J. Zhou, Y. Liu, L. Zou, and B. Ye, *Microchim. Acta*, **174**, 383 (2011).
- A. C. Torres, M. M. Barsan, and C. M. A. Brett, *Food Chem.*, **149**, 215 (2014).
- L. Jiang, Y. Ding, F. Jiang, L. Li, and F. Mo, *Anal. Chim. Acta*, **833**, 22 (2014).
- Y. Wang, X. Wei, F. Wang, and M. Li, *Anal. Methods*, **6**, 7525 (2014).
- H. Ghadimi, R. M. A. Tehrani, W. J. Basirun, N. J. A. Aziz, N. Mohamed, and S. A. Ghani, *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, **65**, 101 (2016).
- Y. Wang, T. Wu, and C. Bi, *Microchim. Acta*, **183**, 731 (2016).
- M. Tefera, A. Geto, M. Tessema, and S. Admassie, *Food Chem.*, **210**, 156 (2016).
- S. Chitravathi and N. Munichandraiah, *J. Electroanal. Chem.*, **764**, 93 (2016).
- G. A. M. Mersal, *Food Anal. Methods*, **5**, 520 (2012).
- B. Habibi, M. Jahanbakhshi, and M. Abazari, *J. Iran Chem. Soc.*, **11**, 511 (2014).
- R. S. Nunes and É. T. G. Cavalheiro, *J. Braz. Chem. Soc.*, **23**, 670 (2012).
- J. M. Petroni, B. G. Lucca, D. K. Fogliato, and V. S. Ferreira, *Electroanal.*, **28**, 1362 (2016).
- H. Ahmar, H. Tabani, M. H. Koruni, S. S. H. Davarani, and A. R. Fakhari, *Biosens. Bioelectron.*, **54**, 189 (2014).
- J. S. Stefano, R. H. O. Montes, E. M. Richter, and R. A. A. Muñoz, *J. Braz. Chem. Soc.*, **25**, 484 (2014).
- M. Tertis, A. Florea, R. Sandulescu, and C. Cristea, *Sensors*, **13**, 4841 (2013).
- T. R. Saciloto, P. Cervini, and É. T. G. Cavalheiro, *J. Braz. Chem. Soc.*, **24**, 1461 (2013).
- T. R. Saciloto, P. Cervini, and É. T. G. Cavalheiro, *Anal. Lett.*, **46**, 312 (2013).
- I. Vasilescu, S. A. V. Eremia, R. Penu, C. Albu, A. Radoi, S. C. Litescu, and G. L. Radu, *RSC Adv.*, **5**, 261 (2015).
- E. Akyilmaz and M. Turemis, *Electrochim. Acta*, **55**, 5195 (2010).
- J. Wang and J. Lu, *Electrochem. Commun.*, **2**, 390 (2000).
- B. Baś, K. Węgiel, and K. Jedlińska, *Anal. Chim. Acta*, **881**, 44 (2015).
- P. Konieczka and J. Namieśnik, *Quality assurance and quality control in the analytical chemical laboratory – a practical approach*, p. 131, Taylor & Francis Group, LLC, New York (2009).
- M. Belter, A. Sajón, and D. Baratkiewicz, *Talanta*, **129**, 606 (2014).

dr hab. Katarzyna Tyszczyk-Rotko, prof. UMCS

Lublin, 24.07.2020 r.

Katedra Chemii Analitycznej

Instytut Nauk Chemicznych

Wydział Chemii UMCS

Plac Marii Curie-Skłodowskiej 3,

20-031 Lublin

Oświadczenie

Oświadczam, że mój wkład w niniejszej pracy:

K. Tyszczyk-Rotko, A. Szwagierek, *Green electrochemical sensor for caffeine determination in environmental water samples: the bismuth film screen-printed carbon electrode*, Journal of The Electrochemical Society, 164 (7) (2017) B342-B348

DOI: 10.1149/2.0571707jes

polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji pracy, merytorycznym nadzorze nad badaniami doświadczalnymi realizowanymi w ramach niniejszej pracy oraz współudziale opracowaniu otrzymanych wyników i przygotowaniu rękopisu.

Udział ten szacuję na **55%**.



dr hab. Katarzyna Tyszczyk-Rotko, prof. UMCS

mgr Agnieszka Sasal (Szwagierek)
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii UMCS
Plac Marii Curie-Skłodowskiej 3,
20-031 Lublin

Lublin, 30.07.2020 r.

Oświadczenie

Oświadczam, że mój wkład w niniejszej pracy:

**K. Tyszczyk-Rotko, A. Szwagierek, *Green Electrochemical Sensor for Caffeine Determination in Environmental Water Samples: The Bismuth Film Screen-Printed Carbon Electrode*, Journal of The Electrochemical Society, 164 (7) (2017) B342-B348
DOI: 10.1149/2.0571707jes**

polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji pracy, optymalizacji procedury oznaczania kofeiny z użyciem sitodrukowanej elektrody węglowej modyfikowanej błonką bizmutu i zastosowaniu opracowanej woltamperometrycznej procedury do ilościowej analizy kofeiny w próbkach wód, współudziale w opracowaniu otrzymanych wyników oraz przygotowaniu rękopisu.

Udział ten szacuję na **45%**.


mgr Agnieszka Sasal (Szwagierek)

Publikacja 2

A. Sasal, K. Tyszczyk-Rotko, M. Chojecki, T. Korona, A. Nosal-Wiercińska, *Direct determination of paracetamol in environmental samples using screen-printed carbon/carbon nanofibers sensor – experimental and theoretical studies*, Electroanalysis, 32 (7) (2020) 1618-1628.

Direct Determination of Paracetamol in Environmental Samples Using Screen-printed Carbon/Carbon Nanofibers Sensor – Experimental and Theoretical Studies

Agnieszka Sasal,^[a] Katarzyna Tyszczyk-Rotko,^{*[a]} Michał Chojecki,^[b] Tatiana Korona,^[b] and Agnieszka Nosal-Wiercińska^[a]

Abstract: The paper describes the first electrochemical method (differential pulse adsorptive stripping voltammetry, DPAdSV) using a screen-printed sensor with a carbon/carbon nanofibers working electrode (SPCE/CNFs) for the direct determination of low (real) concentrations of paracetamol (PA) in environmental water samples. By applying this sensor together with DPAdSV, two linear PA concentration ranges from 2.0×10^{-9} to 5.0×10^{-8} mol L⁻¹ ($r=0.9991$) and 1.0×10^{-7} – 2.0×10^{-6} mol L⁻¹ ($r=0.9994$) were obtained. For the accumulation time of 90 s, the limit of detection was 5.4×10^{-10} mol L⁻¹. Moreover, the SPCE/CNFs sensor and the DPAdSV procedure for PA determination are potentially applicable in

field analysis. The process of PA adsorption at the SPCE/CNFs surface was investigated by cyclic voltammetry (CV), electrochemical impedance spectroscopy (EIS), and theoretical studies. In the theoretical study of the interaction of CNF and PA, the first species was modelled by graphene-like clusters containing up to 37 rings. It was found that the preferable orientation of PA is parallel to the carbon surface with the binding energy of about –68 kJ/mol calculated by symmetry-adapted perturbation theory (SAPT). Both the selectivity and the accuracy of the developed sensor for real sample analysis were also investigated using Polish river and sea samples.

Keywords: screen-printed sensor with carbon/carbon nanofibers working electrode · paracetamol · differential pulse adsorptive stripping voltammetry · theoretical studies · water ecosystems

1 Introduction

Organic substances with the ability to alleviate mild and moderate pain are commonly found in many pharmaceutical formulations (painkillers). This group includes non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and paracetamol (PA). The effect of NSAIDs (for example acetylsalicylic acid, indomethacin, ketoprofen, diclofenac, ibuprofen, naproxen, nabumetone) is based on the inhibition of cyclooxygenase activity by preventing the synthesis of prostaglandins, which leads to reduction of inflammation, pain, and fever. In contrast to NSAIDs, PA does not have anti-inflammatory properties but has analgesic and anti-pyretic properties [1]. Pharmaceuticals with PA are recommended for fever, colds, flu, headache, toothache, menstrual pain, muscle pain, postoperative pain, and osteoarthritis. It can be used alone or in combination with NSAIDs and opioid analgesics in case of severe pain [2]. In addition, PA has a low risk of side effects and does not damage the gastric mucosa [3,4].

Waste from the pharmaceutical industry, farming, veterinary, healthcare centers, and households (incorrect waste management in case of expired drugs) causes the presence of drug residues in the environment, primarily in water [5]. Some residues of pharmaceutical substances, together with sewage, enter sewage treatment plants that unfortunately are not adapted to degrade those highly specific compounds. The active substances of painkillers

and their metabolites are biodegraded and accumulated in the water environment at different rates. It has been observed that their water content is influenced by season, with winter conditions facilitating their accumulation due to flu season and limited photolysis processes. The presence of those substances in surface and ground waters has a toxic effect on fish and other aquatic organisms, and poses a threat to human and animal health. For example, acetylsalicylic acid interferes with fertility in *Daphnia* species, *D. magna*, and Cladocera species, *D. longispina*. Diclofenac exhibits acute hepatotoxicity, causes changes in kidneys and gills in rainbow trout (*O. mykiss*), and exhibits acute toxicity to phytoplankton and zooplankton. It should be mentioned that due to persistent drug residues present in the water environment the human body develops drug resistance, and the permissible doses can be exceeded. Exemplary consequences of PA over-

[a] A. Sasal, K. Tyszczyk-Rotko, A. Nosal-Wiercińska
Faculty of Chemistry, Institute of Chemical Sciences, Maria Curie-Skłodowska University in Lublin, 20-031 Lublin, Poland
+48 81 5375585
+48 81 5333348
E-mail: ktyszczyk@poczta.umcs.lublin.pl

[b] M. Chojecki, T. Korona
Faculty of Chemistry, University of Warsaw, 02-093 Warsaw, Poland

dose include hepatic toxicity and kidney damage [6]. Additionally, the continuous discharging of incompletely treated wastewater to the environment might lead to uncertain ecological effects, as it may interact unpredictably when mixed with other chemicals from the environment [7].

PA is one of the most popular active substances of painkillers in the world, so there is a need for continuous monitoring of its concentration in surface waters and groundwater [8]. There are many methods for determining PA and the most popular ones are as follows: high performance liquid chromatography with spectrophotometric detector [9–12], spectrophotometry [13], and spectrofluorimetry [14,15]. In addition, voltammetric methods characterized by high sensitivity, simplicity of the analytic process, and relatively low cost equipment are also used for PA determination. Commonly used sensors in voltammetric procedures for PA determination are modified glassy carbon [1,16–20] and carbon paste electrodes [4,21–24]. Unmodified and modified boron doped diamond [25–27] and screen-printed electrodes [2,3,6,28–37], nanoclay modified graphite electrode [38] and MWCNTs-ZnO nanoparticles composite sensors [39] are also used for the determination of PA. It should be mentioned that screen-printed electrodes (SPEs) have become objects of numerous research efforts aimed at investigation of their practical application. Their low manufacturing costs, appropriate repeatability levels, and electrochemical properties all make them an attractive analytical tool. Additionally, sensors based on screen printed electrodes are miniature systems enabling water screening and monitoring of contaminants in field conditions [40–42].

Most of the voltammetric methods allow for quantitative determination of PA in pharmaceutical preparations, biological samples, and beverages. According to the best of our knowledge, there are only three publications in existence describing the voltammetric determination of PA in environmental water samples [1,24,36]. However, the achieved detection limits (2.21×10^{-7} , 5.08×10^{-7} , 1.98×10^{-7} mol L⁻¹, respectively) do not allow direct determination of low PA concentrations in natural water samples [1,24,36], while the concentration of PA in water samples is about 10^{-9} – 10^{-8} mol L⁻¹ (e.g. average PA concentration in the river samples of the Madrid region in Spain was equal to 8.18×10^{-9} mol L⁻¹ [43] and 0.95×10^{-9} mol L⁻¹ in seawater samples from the Atlantic Ocean collected in Porto coastal area [8]). In these already described methods, the additional time- and reagent-consuming step of pre-concentration of the analyte is necessary for the determination of low (real) PA concentrations in water samples.

In the present paper the advantages of stripping voltammetric method and a screen-printed sensor with a carbon/carbon nanofibers working electrode (SPCE/CNFs) were used in an analytical procedure for determination of the active substance of painkillers (PA) in environmental water samples. The development of this

procedure using screen-printed sensors will make it possible to conduct direct analyses of water samples in and outside the laboratory. According to our knowledge, in the present work electrochemical and theoretical studies were performed for the first time simultaneously in order to clarify the process of electrochemical determination of PA.

2 Experimental

2.1 Reagents and Solutions

A solution of PA (1×10^{-2} mol L⁻¹) was prepared every week by dissolving a reagent (Sigma-Aldrich) in water, and then stored at 4°C. Sulphuric acid used as a supporting electrolyte (0.1 mol L⁻¹) was prepared from a reagent (2.0 mol L⁻¹) purchased from Merck. A solution of Na₂EDTA (disodium salt of ethylenediaminetetraacetic acid, Sigma-Aldrich) was prepared in distilled water. Acetate buffer solutions were prepared from acetic acid (Sigma-Aldrich) and sodium hydroxide (Sigma-Aldrich). The interference effect was checked using standard solutions of 1 g L⁻¹ Fe(III), Cu(II), V(V), Zn(II), Ni(II), Mo(VI), Cd(II), and Pb(II) (Merck), ibuprofen and caffeine (Sigma-Aldrich) and the following surfactants (Fluka): Triton X-100, sodium dodecyl sulphate (SDS) and cetyltrimethylammonium bromide (CTAB). The solutions were prepared using ultra-purified water (> 18 MΩ cm) supplied by a Milli-Q system (Millipore, UK).

Natural water samples were collected from the Bystrzyca River (Lublin, Poland), the Vistula River (Sandomierz, Poland) and the Baltic Sea (Wladyslawowo, Poland).

2.2 Apparatus

A μ Autolab analyzer (Eco Chemie, Netherlands) was used to conduct all voltammetric experiments. The analyzer and computer were connected with a USB electrochemical interface. Commercially available screen-printed electrodes consisting of a carbon/carbon nanofibers electrode (SPCE/CNFs, diameter of 4 mm, area of 12.56 mm²) as a working electrode, a carbon auxiliary electrode, and a silver pseudo-reference electrode (Drop-Sens, Ref. 110CNF, Spain) were used for the voltammetric measurements. The sensor was immersed in the supporting electrolyte placed in a quartz cell (volume 10 mL).

The water samples were collected into sterile, polypropylene containers (Merck, Germany).

The double layer capacity was measured by the electrochemical impedance spectroscopy method (μ Autolab analyser, GPES software (version 4.9), Eco Chemie, Netherlands).

The geometry optimization was performed using the def2-TZVP basis set [44,45] at the density functional theory (DFT) level with the B97-D3 functional [46], where D3 stands for dispersion correction, which is crucial

for the reliability of the method if at least one of the interacting molecules is nonpolar. The character of the stationary points was verified by analysis of harmonic frequencies. The density-fitting method was used to accelerate the computations [47,48]. This part of computations was performed with the Gaussian package [49]. The optimized structures were then utilized to obtain interaction and stabilization energies. The interaction energies, together with their decomposition into physically interpretable components, were calculated by Symmetry-Adapted Perturbation Theory (SAPT) with monomers described at the DFT level (the so-called SAPT (DFT) model) [50,51]. The asymptotically corrected PBE0 functional [52,53] with asymptotic correction (AC) defined by Grüning [54] was utilized in SAPT(DFT) to correct for the wrong asymptotic behavior of PBE0. Vertical ionization potentials (IPs) and the highest occupied molecular orbital (HOMO) energies, needed for the calculation of AC, were also obtained with the PBE0 functional. The def2-TZVP basis set was used for the IPs, while the PBE0 energies of the HOMOs were obtained on the same basis as those used in SAPT(DFT). The density-fitting technique was applied for the calculation of the electron repulsion integrals [55]. Because of the system size, we had to restrict ourselves to the def2-SVP and def2-TZVP basis sets for SAPT calculations. The dispersion part of the SAPT energy was estimated in the complete-basis set limit (CBS) using the formula for the correlation energy proposed in Helgaker et al. [56] and utilized for the Alhrichs-type basis sets, e.g. in Refs [57,58]. This part of computations was done using the Molpro package [59].

2.3 Voltammetric Method for PA Determination

The solution used for PA determination contained 0.1 mol L^{-1} H_2SO_4 (supporting electrolyte) and $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ EDTA (added to minimize the influence of interfering metal ions). The first step involved the application of a potential of 1.0 V for 10 s in order to obtain electrochemical cleaning of the working electrode surface. After that, at a potential of -0.95 V applied for 90 s, PA was accumulated on the working electrode surface and the analytical signal of PA was received during a potential sweep from -0.95 to 1.8 V using DPAdSV technique. Other parameters of the applied technique were an amplitude of 75 mV and a scan rate of 150 mV s^{-1} . The signal of PA was measured after subtracting the background. The curves were cut to the potential range of 0.2 to 0.75 V.

In order to determine PA in environmental water samples, the baseline was recorded in the 10 mL of supporting electrolyte solution to verify the cleanness of the cell and the purity of the reagents as well as to perform the background correction of the registered voltammogram with the PA signal. Then, 9.49 mL of the water samples or the water samples spiked with an appropriate concentration of PA were diluted with the

supporting electrolyte and EDTA to obtain a final volume of 10 mL. Next, all water samples were directly analyzed using the optimized voltammetric method. The samples that could not be analyzed immediately were stored at 4°C .

2.4 Adsorption Measurements

The differential capacity of the double layer (C_d) at the interface of the working electrode surface (screen-printed carbon nanofibers/carbon electrode)/supporting electrolyte was measured in thermostated cells at 298 K using electrochemical impedance spectroscopy. For the whole polarisation range, the capacity dispersion was tested a frequency range of 200–1000 Hz. In order to obtain the equilibrium values of differential capacity, a linear dependence of capacity on the frequency square was extrapolated to a frequency equal to nil [60].

In cyclic voltammetry (CV), the effect of the scan rate was tested in a solution containing $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ PA in the range from 7.5 to 250 mV s^{-1} in the potential range from 0.1 to 1.0 V.

2.5 Theoretical Methodology

In order to unravel the nature of the interaction between the PA molecule and the graphite-like support, we model the latter as a finite system, i.e. as small-(19 rings), medium- (30 rings), and large-(37 rings) coronene-like graphene monolayers, denoted as G19, G30, G37 clusters. This way of theoretical description of absorption has been frequently used in computational chemistry, see e.g. the study of Lazar et al. where coronene was utilized to model graphene interacting with several small organic molecules [61]. To such molecular clusters, which were capped with hydrogen atoms on their borders in order to saturate the bonds (the procedure utilized frequently in molecular fragmentation methods) [62], the PA molecule was added and allowed to fully relax during geometry optimization. The calculated optimal geometries of the complex of PA and G19, G30, or G37 are displayed in Figure 1.

The main quantity describing the intermolecular interactions is the interaction energy, defined as a difference between the energy of the complex AB and the constituent molecules A and B,

$$E_{\text{int}} = E_{AB} - (E_A + E_B) \quad (1)$$

where the geometries of A and B are the same when calculating all the three energies. The interaction energy is calculated either supermolecularly, or perturbationally with SAPT. Since the former methods require the calculation of three energies of large molecules, the practically available approaches are Møller-Plesset theory to the second order (MP2) and its spin-component-scaled (SCS) variant, which are known to strongly overbind the complexes with π systems. Therefore, in this study we

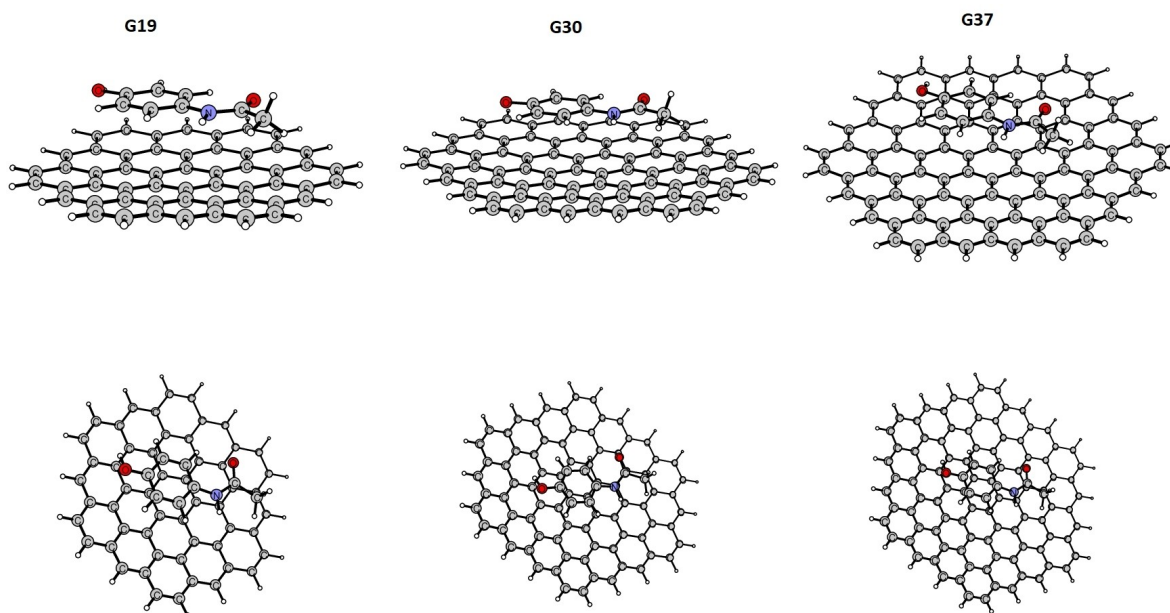


Fig. 1. Calculated geometries of paracetamol- G_n complexes ($n=19, 30, 37$), view from side (upper panel) and above the G_n molecular cluster (bottom panel).

utilize the perturbational model only. Within SAPT, the interaction energy is calculated as

$$E_{int}^{SAPT} = E_{elst}^{(1)} + E_{exch}^{(1)} + E_{ind}^{(2)} + E_{exch-ind}^{(2)} + E_{disp}^{(2)} + E_{exch-disp}^{(2)} \quad (2)$$

The electrostatic, induction, and dispersion contributions have a clear physical meaning: the electrostatic describes the interaction of unperturbed electron clouds of molecules A and B, the induction – the polarization of A through the unperturbed B and *vice versa*, while the dispersion results from the attraction of instantaneous dipoles created on both A and B. The corresponding exchange corrections result from imposing the Pauli exclusion principle on the approximate wave functions, and – finally – the delta Hartree-Fock term includes approximately some higher-than-second order terms. The stabilization energy, which can be calculated as the interaction energy computed at the optimal AB geometry plus the deformation energies of A and B (for A defined as the difference between the energy of the non-optimal geometry of A in AB and the fully relaxed geometry of A) and the zero-point vibrational correction, can serve as an additional descriptor of the stability of the complex.

3 Results and Discussion

3.1 Characteristics of the Sensor

The comparison of the voltammetric signals of $5.0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ PA at the commercially available, screen-printed sensors with carbon, carbon/multi-walled carbon

nanotubes and carbon/carbon nanofibers working electrodes from 0.1 mol L^{-1} solution of H_2SO_4 shows oxidation peaks of PA for all electrodes (see Figure 2). Literature data reveal this PA oxidation mechanism to be associated

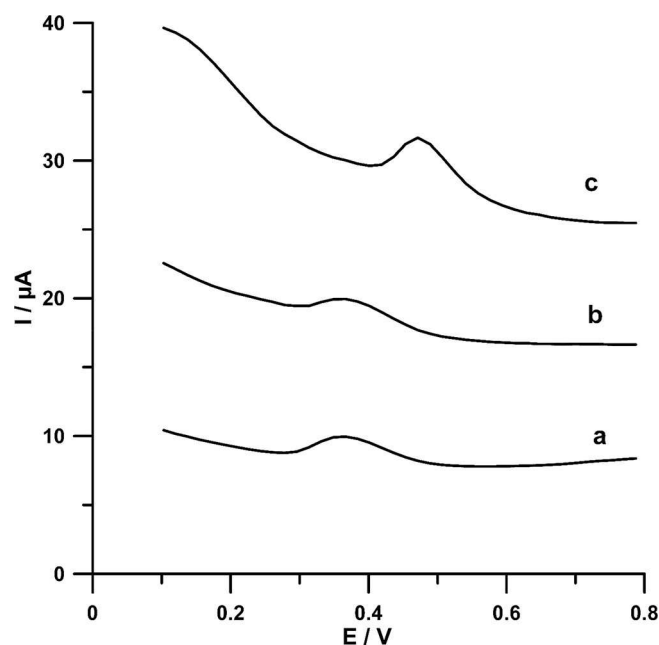


Fig. 2. DPAdSV curves obtained at screen-printed sensors with carbon (a), carbon/multi-walled carbon nanotubes (b) and carbon/carbon nanofibers (c) working electrodes in 0.1 mol L^{-1} H_2SO_4 solution containing $5.0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ PA. PA was accumulated for 45 s at -0.95 V . DPV parameters: amplitude of 75 mV , scan rate of 175 mV s^{-1} .

with the formation of N-acetyl-p-quinoneimine (NAPQI) [36]. It can be seen that the peak current of PA (c curve) is improved through the modification of the carbon working electrode surface with carbon nanofibers as well as the peak potential is shifted to more positive side. It can be attributed to the developed active surface of the electrode modified with carbon nanofibers, which mediates PA adsorption.

Using electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and cyclic voltammetry (CV), tests were carried out to determine the type of process occurring on the surface of the SPCE/CNFs, due to which PA is deposited on its surface. Figure 3A presents the differential capacity

curves of the double layer interface electrode/supporting electrolyte and electrode/supporting electrolyte in the presence of increasing PA concentrations. Increasing PA concentration causes the differential capacity to rise (from about -0.4 to 1.2 V). This confirmed that PA was adsorbed at the carbon/carbon nanofibers working electrode [63,64].

To confirm the adsorption of PA at the SPCE/CNFs, CV curves were recorded in 0.1 mol L^{-1} sulphuric acid containing $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ PA in the potential window from 0.1 to 1.0 V. During subsequent measurements, the scan rate was varied in the range from 5 to 400 mV s^{-1} . As can be seen in Figure 3B, only the PA oxidation peak is

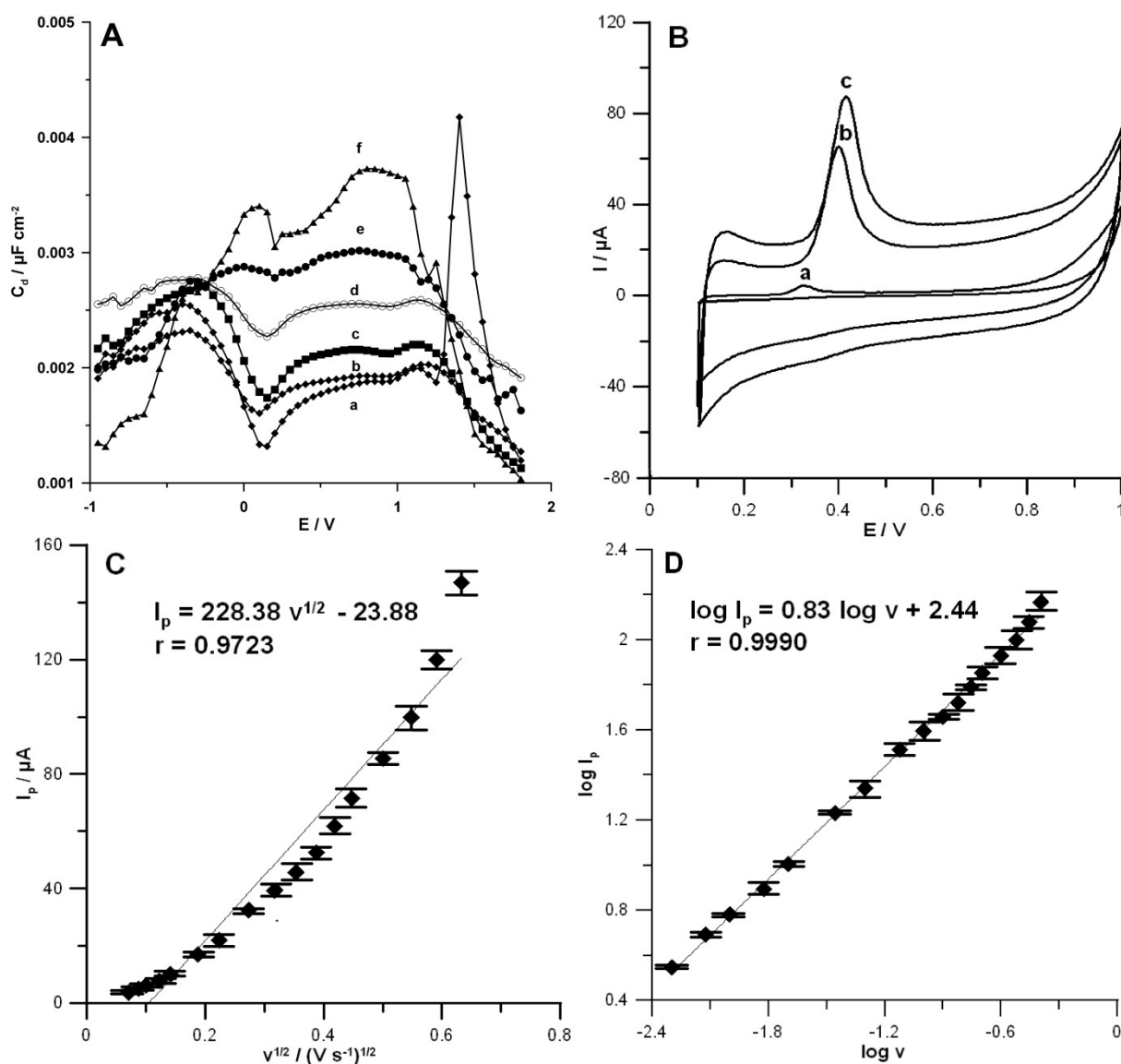


Fig. 3. **A**) Differential capacity – potential curves of double layer interface SPCE/CNFs / 0.1 mol L^{-1} sulphuric acid solution containing increasing concentrations of PA: (a) 0, (b) 5.0×10^{-9} , (c) 1.0×10^{-8} , (d) 5.0×10^{-8} , (e) 2.0×10^{-7} , (f) $1.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. **B**) CV curves obtained in 0.1 mol L^{-1} sulphuric acid solution containing $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ PA at SPCE/CNFs for the scan rate of: a) 50, b) 100 and c) 150 mV s^{-1} . Relationship between: **C**) peak currents of PA (I_p) and the square root of the scan rates ($v^{1/2}$); **D**) logarithm of the peak current ($\log I_p$) and the logarithm of the scan rate ($\log v$) for the scan rate from 5 to 400 mV s^{-1} . The obtained, average values are shown with standard deviation for $n = 3$.

visible. The obtained results suggest charge transfer during PA oxidation to be electrochemically irreversible [65]. Furthermore, when the scan rate was increased, the oxidation peak potential shifted toward more positive values; such behaviour confirms that the electrode process is irreversible. The relationship between the PA peak current (I_p) and the square root of the scan rate ($v^{1/2}$) was plotted based on the CV measurements obtained. As shown in Figure 3C, a non-linear correlation ($r=0.9723$) suggests this process to be adsorption-controlled. In order to confirm this assumption, the relationship between the logarithm of the PA peak current ($\log I_p$) and the logarithm of the scan rate ($\log v$) was plotted (Figure 3D). The value of 0.83 for the coefficient slope indicates that electrochemical oxidation of PA at the SPCE/CNFs surface is an adsorption-controlled process.

3.2 Theoretical Studies

The optimal position of PA on the coronene-like molecular cluster was found to be parallel to the carbon plane and placed approximately in the middle of the cluster. This position was preserved for all sizes of the cluster, which ensures us that the assumed model is correct. The phenyl ring of PA is placed above the carbon-hexagon rings, apparently starting the AB-type conformation of the second layer, i.e. half of its carbon atoms reside over the carbon atoms of the cluster (the smallest distances between these interlayer carbons are: 3.25, 3.32, 3.35 Å for the G37 case), while the second half is placed over the hexagon holes. The PA molecule has only one such ring, but nonetheless the remaining atoms tend to order themselves to form another ring-like structure H–C–C–N–C–O also forming a non-perfect AB-type conformation (with the closest C–N interlayer distance equal to 3.37 Å). The placement of PA over two smaller molecular clusters G19 and G30 follows the same rules.

The interaction and stabilization energies, together with the SAPT partition and the stabilization energy components, are presented in Table 1. Clearly, the dispersion stabilization was dominant as it contributed virtually to all the attractive interaction for all the complexes. The second important attractive contribution is the second-order induction interaction, but it is almost completely cancelled with its exchange counterpart. The attractive electrostatic contribution is totally cancelled by the first-order exchange term, so the total first-order contribution to the interaction energy is strongly repulsive. Such a behavior is typical for the interaction in the van der Waals minimum region for nonpolar molecules.

It should be noted that all the terms in the same column are very similar to each other, so one could safely assume that the interaction of stabilization energy is practically converged with respect to the cluster dimension and the addition of more carbon hexagon rings will not change our results significantly. Therefore, one can estimate the stabilization energy of PA absorbed on a carbon hexagonal layer as about -68 kJ/mol.

Summarizing, the theoretical study predicts that the PA molecule is strongly attracted by CNFs, which supports the conclusions from the experiment about the importance of CNFs in PA detection.

3.3 Optimization of PA Determination Method

The study investigated the effect of the following supporting electrolytes on the PA signals (5×10^{-8} and 2×10^{-7} mol L $^{-1}$): acetic acid, sulphuric acid, acetate buffer (pH 4.6 and 5.9 ± 0.1), phosphate buffer (pH 7.0 ± 0.1), ammonium buffer (pH 8.5 ± 0.1), and sodium hydroxide at 0.1 mol L $^{-1}$. The most well-defined and highest voltammetric signals for both PA concentrations were achieved in H $_2$ SO $_4$ solutions. These results formed the basis for further measurements that were carried out in H $_2$ SO $_4$ medium, and PA concentration was evaluated in the range of 0.05 - 0.3 mol L $^{-1}$. The highest values of PA peak currents were obtained at 0.1 mol L $^{-1}$ concentration, and hence this concentration was used in subsequent experiments.

Accumulation potential and time are parameters that tend to strongly affect the sensitivity and detection limit of stripping techniques. To evaluate their effect on peak currents of PA (5×10^{-8} and 2×10^{-7} mol L $^{-1}$), the accumulation potential was varied in the range from -1.2 to -0.7 V. The stripping peak currents of PA increase when the accumulation potential is increased from -1.2 V, reaching the maximum value at -0.95 V, and then they decrease at stronger positive potentials (see Figure 4A). The accumulation potential of -0.95 V was selected for further investigations. The effect of accumulation time on peak current response was studied for the 0.1 mol L $^{-1}$ solution of H $_2$ SO $_4$ spiked with various concentrations of PA (5×10^{-8} and 2×10^{-7} mol L $^{-1}$). The accumulation time was investigated in the range of 0–300 s. Figure 4B shows that the PA signals reached maximum and stable values for the accumulation time of 90 s. Subsequent studies were therefore carried out using the accumulation time of 90 s.

The effect of different levels of the DPV instrumental parameters on PA peak current was investigated. The

Table 1. Components of the SAPT interaction energy and the stabilization energies (in kJ/mol) for the complexes under study in the CBS limit.

Structure	$E_{\text{elst}}^{(1)}$	$E_{\text{exch}}^{(1)}$	$E_{\text{ind}}^{(2)}$	$E_{\text{exch-ind}}^{(2)}$	$E_{\text{disp}}^{(2)}$	$E_{\text{exch-disp}}^{(2)}$	δE_{HF}	$E_{\text{int}}^{\text{SAPT}}$	E_{def}	ΔZPE	E_{stab}
G19	−43.4	109.3	−44.8	40.1	−140.1	17.9	−7.3	−68.3	0.0	4.2	−64.1
G30	−43.2	109.6	−45.1	40.5	−143.8	18.1	−7.2	−71.0	0.0	4.1	−66.9
G37	−43.1	109.7	−45.4	40.7	−144.7	18.2	−7.2	−71.7	0.0	3.8	−67.9

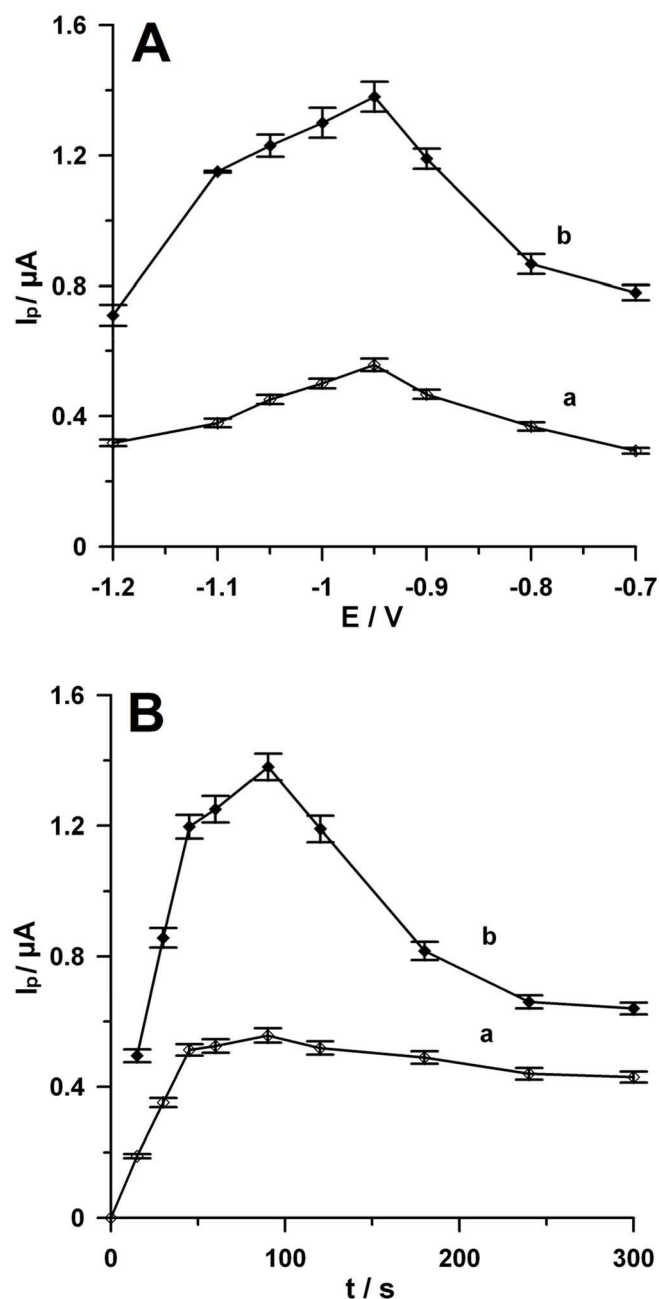


Fig. 4. Effect of accumulation potential (A) and time (B) on the (a) 5×10^{-8} mol L $^{-1}$ and (b) 2×10^{-7} mol L $^{-1}$ PA peak currents. The obtained, average values are shown with standard deviation for $n=5$. PA was accumulated for 90 s (A) at -0.95 V (B). DPV parameters: amplitude of 75 mV, scan rate of 175 mV s $^{-1}$.

modulation amplitude of 75 mV and the scan rate of 150 mV s $^{-1}$ were found to be the optimum values of DPV parameters (for both selected values, the highest voltammetric signals of 5×10^{-8} and 2×10^{-7} mol L $^{-1}$ PA were obtained).

Moreover, the need of electrochemical cleaning the working electrode surface after each measurement was tested. 10 successive measurements of analytical signals of 2×10^{-7} and 1×10^{-6} mol L $^{-1}$ PA were performed using

purification at 0.5 V for 10 s, 1.0 V for 10 and 30 s as well as without purification. Table 2 contains the calculated relative standard deviations for each of the investigated cases. Due to the low RSD values (3.13 % for 2×10^{-7} mol L $^{-1}$ PA and 3.28 % for 1×10^{-6} mol L $^{-1}$ PA) obtained for measurements performed at 1.0 V for 10 s, this way of electrochemical cleaning was selected. The RSD values confirm the repeatability of measurements carried out using the SPCE/CNFs to be satisfactory.

3.4 Analytical Performance

The dependence of stripping peak currents on PA concentration and the obtained DPAdSV curves are shown in Figures 5A and B. The calibration curve for the accumulation time of 90 s was linear in two ranges from 2.0×10^{-9} to 5.0×10^{-8} mol L $^{-1}$ (I [μ A] = $9.68 c$ [μ mol L $^{-1}$] + 0.086, $r=0.9991$) and from 1.0×10^{-7} to 2.0×10^{-6} mol L $^{-1}$ (I [μ A] = $4.14 c$ [μ mol L $^{-1}$] + 0.58, $r=0.9994$). The relative standard deviation for all measured concentrations of PA from the linear range of the calibration graph ranged 3.5–5.2 % ($n=5$). The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) of PA were calculated from the calibration curve using the following formulas: $\text{LOD}=3 \text{ SD}/b$ and $\text{LOQ}=10 \text{ SD}/b$, respectively, where standard deviation (SD) was calculated for an intercept ($n=3$), while b stands for the slope of the linear regression equation [66]. The LOD and LOQ are equal to 5.4×10^{-10} and 1.8×10^{-9} mol L $^{-1}$, respectively. The estimated LOD is lower than the PA concentration level (10^{-9} – 10^{-8} mol L $^{-1}$) in natural waters, which proves that the commercially available, integrated SPCE/CNFs can be used for analysis of real samples.

Table 3 presents the comparison of the PA analytical parameters obtained with the use of screen-printed electrodes. The comparison demonstrates that the commercially available SPCE/CNFs provides a lower detection limit. The LOD and LOQ values are also lower than those obtained using other electrochemical sensors [1, 4, 16–27, 38, 39].

Table 2. Values of relative standard deviation (RSD) obtained for measurements performed without electrochemical cleaning of electrode surface step or for variable potentials and time of cleaning.

Cleaning potential [V]	Time [s]	RSD ¹ (n = 10) [%]	RSD ² (n = 10) [%]
-	0	7.60	8.02
0.5	10	5.18	4.16
1.0	10	3.13	3.28
	30	3.48	3.06

¹concentration of PA = 2×10^{-7} mol L $^{-1}$; ² concentration of PA = 1×10^{-6} mol L $^{-1}$.

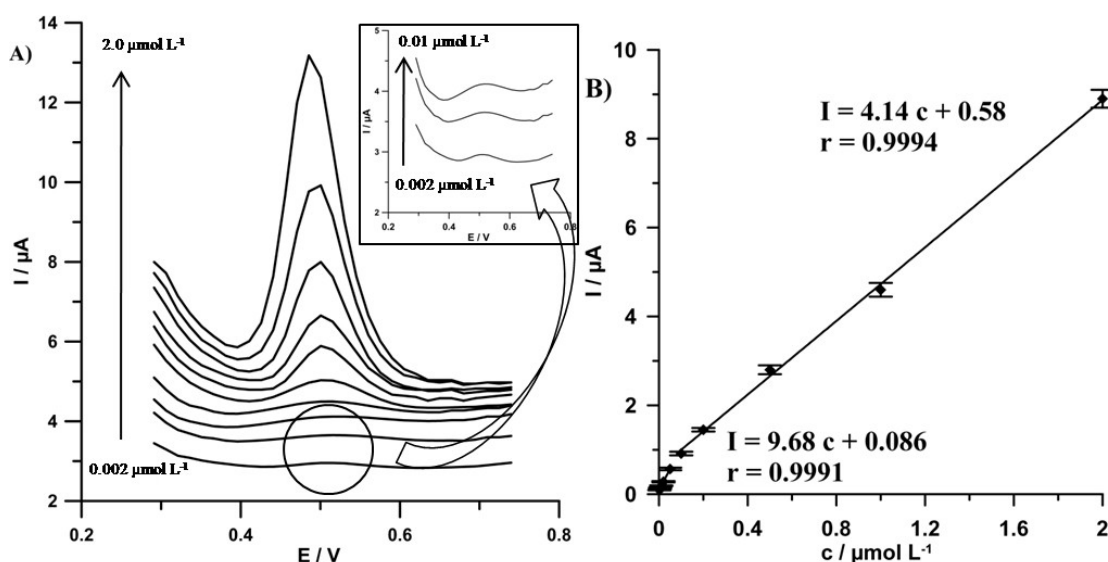


Fig. 5. **A)** DPAdSV curves obtained the SPCE/CNFs after background correction in $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4$ solution containing increasing concentrations of PA. Concentrations of PA from the bottom to the top are: 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$. **B)** Corresponding calibration plots. The obtained, average values are shown with standard deviation for $n = 5$. PA was accumulated for 90 s at -0.95 V . DPV parameters: amplitude of 75 mV, scan rate of 150 mV s^{-1} .

Table 3. Comparison of voltammetric methods at different screen-printed electrodes for the determination of PA.

Electrode	Method	Linear range [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Detection limits [$\mu\text{mol L}^{-1}$]	Application	Reference
SPGrE	CV	0.1–50	0.02	human oral fluid	[2]
SPCE	DPV	33–198.5	0.66	tablets	[3]
SPCE	DPV	0.05–190	0.013	tablets, syrup	[6]
CeBiO _x NFs/SPE	DPV	2.5–130	0.2	tablets, serum	[28]
BiO-SPE	DPV	0.5–97	0.03	tablets, blood, urine, saliva	[29]
SPCE modified with carbon nanotubes	DPV	1–1000	–	tablets	[30]
	CV	2.5–1000	–		
SPE modified with protein G-based MBs	DPV	0–750	1.76	tablets	[31]
EIGPU	DPV	1–40	0.84	tablets	[32]
EIGPU	CV	1–100	0.8	tablets	[33]
SPE/PEDOT	DPV	4–400	1.39	tablets	[34]
	CV	10–1000	3.7		
Activated graphene oxide SPE	SWV	0–10	0.17	tablets, serum	[35]
SPCNFE	DPV	0.60–5.30	0.20	tap water, hospital wastewater samples	[36]
SPE					
CNF/SPE	DPV	–	–	–	[37]
CNF-G/SPE					
SPCE/CNFs	DP AdSV	0.002–0.05 0.1–2.0	0.00054	river and sea water samples	This work

SPGrE: screen-printed graphene electrode; CeBiO_xNFs/SPE: CeBiO_x nanofibres modified screen-printed electrode; BiO-SPE: bismuth oxide nanorod modified screen-printed electrode; EIGPU: disposable screen-printed electrode based on a graphite and polyurethane resin composite; MBs: magnetic beads; PEDOT: poly(3,4-ethylenedioxythiophene); SPCNFE: carbon nanofibers modified screen-printed electrode; CNF-G/SPE: graphene reinforced carbon nanofiber screen-printed carbon electrode; DPV: differential pulse voltammetry; CV: cyclic voltammetry; SWV: square wave voltammetry.

3.5 Effect of Interferences

The influence of various metal ions and organic compounds found in water samples was checked for a constant PA concentration of $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$. In order to minimize the effect of foreign metal ions on the analytical

signal of PA, $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ EDTA was added to the electrochemical cell. The addition of EDTA to the solution creates permanent complexes with interfering ions and in consequence their influence is minimized [67,68]. The most commonly studied ions (Cu(II), V(V), Zn(II), Ni(II), Mo(VI), Cd(II) and Pb(II)) at a concen-

tration of $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ exhibit negligible interference (the relative signals were found to range 92.4–105.1 % with a relative standard deviation of 4.5–5.3 % ($n=3$)). However, adding Fe(III) at a concentration of $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ induced a decrease of the PA signal to 79.5 ± 3.4 % ($n=3$) of its original value. It should be noted that the analytical signal of PA was still well-defined and easy to measure.

Furthermore, the effect of the commonly consumed active substances of painkillers, ibuprofen and caffeine, and other anthropogenic waste on PA ($1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) signal was studied. Ibuprofen added at $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ was not observed to affect the PA peak. This means that the presence of $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ibuprofen in the electrochemical cell does trigger a PA peak current error within the range of ± 5 %.

Moreover, the study investigated the effect of surfactants on the peak current of $1.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ PA by adding Triton X-100, CTAB and SDS to the tested solution ranging from 0 to 20.0 mg L^{-1} . As a result, the addition of 20.0 mg L^{-1} Triton X-100, SDS and CTAB was observed to decrease the height of the PA stripping signal to 62.3, 72.8, and 62.5 %, respectively, of its original value. In all cases, the PA signal was well-defined. The results derived demonstrate that PA determination by the proposed method in ecosystem water samples can be performed without sample preparation.

3.6 Application in Environmental Analysis

The newly developed method was applied for the determination of PA in natural water samples collected from the Bystrzyca River, the Vistula River, and the Baltic Sea. The preliminary investigation revealed that the PA concentrations in these samples were below the LOD of the proposed method; therefore, the analysed samples were spiked with PA at different concentration

levels. The PA content was measured using the standard addition method (see Table 4). When the proposed procedure was employed, the recovery values were between 96.2 and 104.6 %, with the relative standard deviation (RSD) ranging between 1.8 and 5.1 % for PA determined. These results demonstrate a satisfactory degree of accuracy and precision. It should be noted that it was the first application of the commercially available SPCE/CNFs, which can be used in stationary and portable devices, for PA determination in environmental water samples. Furthermore, screen-printed sensors were first used for determination of PA ($5\text{--}200 \text{ nmol L}^{-1}$) in ecosystem water in concentrations that are actually found in samples [43].

Moreover, the determination of PA in water samples was performed using the voltammetric method at boron-doped diamond electrode modified with Nafion and bismuth particles described in literature (BDDE/Nafion/Bi) [25]. The obtained results are summarized in Table 4. As can be seen, only the PA concentration of $2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ in water samples can be determined at the BDDE/Nafion/Bi, as described in the earlier paper. According to the t-Student test, there are no significant differences between the recoveries obtained by both methods, suggesting a 95 % confidence level. The calculated t values (t_{exp}) range from 0.14 to 1.36, which is below the critical value equal to 1.81 (for degrees of freedom (f) equal to 4, $f = n_1 + n_2 - 2$).

4 Conclusion

In this paper the electrochemical (cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy) but also theoretical studies predict physisorption of PA on the carbon surface. This is a favorable energetic process with a stabilization energy of about -68 kJ/mol per one drug molecule, and can therefore serve as a possible first step

Table 4. Results of PA determination in the environmental water samples using proposed voltammetric method ¹ and method described in literature at the BDDE/Nafion/Bi ².

Sample	Added [nmol L ⁻¹]	Found ¹ [nmol L ⁻¹]	Found ² [nmol L ⁻¹]	Recovery ¹ ± RSD [% , n=3]	Recovery ² ± RSD [% , n=3]	t_{exp}
Bystrzyca river	0	–	–	–	–	–
	5	5.03	–	100.6 ± 4.1	–	–
	20	20.38	–	101.9 ± 3.8	–	–
	80	77.41	–	96.8 ± 4.1	–	–
	200	199.67	202.60	99.8 ± 1.8	101.3 ± 4.0	0.48
Vistula river	0	–	–	–	–	–
	5	4.99	–	99.8 ± 2.7	–	–
	20	19.24	–	96.2 ± 2.0	–	–
	80	79.92	–	99.9 ± 4.1	–	–
	200	209.20	195.20	104.6 ± 5.1	97.6 ± 5.1	1.36
Baltic sea	0	–	–	–	–	–
	5	4.82	–	96.4 ± 1.8	–	–
	20	19.98	–	99.9 ± 4.5	–	–
	80	80.08	–	100.1 ± 3.9	–	–
	200	207.00	205.60	103.5 ± 4.5	102.8 ± 5.2	0.14

in a sequence of reactions leading to its detection. Simplicity and short analysis time without complicated sample pretreatment enable fast, sensitive (the limit of detection is $5.4 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ for the accumulation time of 90 s), and selective determination of PA in environmental water samples. It should be clearly mentioned that the paper describes the first electrochemical method for the direct determination of low (real) concentration of PA in environmental water samples. Furthermore, the proposed sensor and the simple procedure for PA determination are potentially applicable not only in laboratory measurements but also in field analysis. This allow us to:

- evaluate water quality quickly in case of emergency measurements;
- detect emergency water contamination conditions;
- perform field water quality tests in case of a large distance from the laboratory and a large number of samples.

Acknowledgements

The theoretical part of this research was supported by PL-Grid Infrastructure.

References

- [1] O. K. Okoth, K. Yan, L. Liu, J. Zhang, *Electroanalysis* **2016**, 28, 76–82.
- [2] C. Fernandez, Z. Heger, R. Kizek, T. Ramakrishnappa, A. Borun, N. H. Faisal, *Int. J. Electrochem. Sci.* **2015**, 10, 7440–7452.
- [3] S. Sharma, S. K. Khanna, J. Singh, S. P. Satsangee, *Orient. J. Chem.* **2015**, 31, 201–206.
- [4] S. B. Tanuja, B. E. Kumara Swamy, K. Vasantakumar Pai, *J. Electroanal. Chem.* **2017**, 798, 17–23.
- [5] Y. Li, G. Zhu, W. J. Ng, S. K. Tan, *Sci. Total Environ.* **2014**, 468, 908–932.
- [6] N. Karikalan, R. Karthik, S. M. Chen, M. Velmurugan, C. Karupiah, *J. Colloid Interface Sci.* **2016**, 483, 109–117.
- [7] W. C. Li, *Environ. Pollut.* **2014**, 187, 193–201.
- [8] P. Paíga, L. H. M. L. M. Santos, C. Delerue-Matos, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2017**, 135, 75–86.
- [9] R. R. Cunha, S. C. Chaves, M. M. A. C. Ribeiro, L. M. F. C. Torres, R. A. A. Munoz, W. T. P. Dos Santos, E. M. Richter, *J. Sep. Sci.* **2015**, 38, 1657–1662.
- [10] J. T. Franeta, D. Agbaba, S. Eric, S. Pavkov, M. Aleksic, S. Vladimirov II., *Farmaco* **2002**, 57, 709–713.
- [11] M. L. Qi, P. Wang, Y. X. Leng, J. L. Gu, R. N. Fu, *Chromatographia* **2002**, 56, 295–298.
- [12] A. U. Kulikov, A. G. Verushkin, *Chromatographia* **2008**, 67, 347–355.
- [13] G. Murtaza, S. A. Khan, A. Shabbir, A. Mahmood, M. H. H. B. Asad, K. Farzana, N. S. Malik, I. Hussain, *Sci. Res. Essays* **2011**, 6, 417–421.
- [14] A. B. Moreira, I. L. T. Dias, G. O. Neto, E. A. G. Zagatto, L. T. Kubota, *Anal. Lett.* **2006**, 39, 349–360.
- [15] M. M. Sena, R. J. Poppi, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2004**, 34, 27–34.
- [16] S. Chitravathi, N. Munichandraiah, *J. Electroanal. Chem.* **2016**, 764, 93–103.
- [17] A. Kannan, R. Sevel, *J. Electroanal. Chem.* **2017**, 791, 8–16.
- [18] S. Kesavan, S. A. John, *J. Electroanal. Chem.* **2016**, 760, 6–14.
- [19] S. Praveen Kumar, K. Giribabu, R. Manigandan, S. Munusamy, S. Muthamizh, A. Padmanaban, T. Dhanasekaran, R. Suresh, V. Narayanan, *Electrochim. Acta* **2016**, 194, 116–126.
- [20] M. Tefera, A. Geto, M. Tessema, S. Admassie, *Food Chem.* **2016**, 210, 156–162.
- [21] P. K. Kalambate, A. K. Srivastava, *Sens. Actuators B* **2016**, 233, 237–248.
- [22] A. Naeemy, A. Mohammadi N Assi, *J. Anal. Chem.* **2017**, 72, 783–792.
- [23] S. Sharifian, A. Nezamzadeh-Ejhieh, *Mater. Sci. Eng. C* **2016**, 58, 510–520.
- [24] Y. El Bouabi, A. Farahi, N. Labjar, S. El Hajjaji, M. Bakasse, M. A. El Mhammedi, *Mater. Sci. Eng. C* **2016**, 58, 70–77.
- [25] I. Sadok, K. Tyszczyk-Rotko, A. Nosal-Wiercińska, *Sens. Actuators B* **2016**, 235, 263–272.
- [26] W. P. Silva, L. A. J. Silva, C. H. Franca, R. M. F. Sousa, R. A. A. Munoz, E. M. Richter, *Electroanalysis* **2017**, 29, 1860–1866.
- [27] K. Tyszczyk-Rotko, I. Sadok, *Electroanalysis* **2016**, 28, 2178–2187.
- [28] F. Cao, Q. Dong, C. Li, J. Chen, X. Ma, Y. Huang, D. Song, C. Ji, Y. Lei, *Sens. Actuators B* **2018**, 256, 143–150.
- [29] B. G. Mahmoud, M. Khairy, F. A. Rashwan, C. E. Banks, *Anal. Chem.* **2017**, 89, 2170–2178.
- [30] P. Fanjul-Bolado, P. J. Lamas-Ardisana, D. Hernandez-Santos, A. Costa-Garcia, *Anal. Chim. Acta* **2009**, 638, 133–138.
- [31] O. Hosu, M. Tertiş, R. Săndulescu, C. Cristea, *Farmacia* **2015**, 63, 140–145.
- [32] T. R. Saciloto, P. Cervini, E. T. G. Cavalliero, *J. Braz. Chem. Soc.* **2013**, 24, 1461–1468.
- [33] T. R. Saciloto, P. Cervini, E. T. G. Cavalliero, *Anal. Lett.* **2016**, 46, 312–322.
- [34] W. Y. Su, S. H. Cheng, *Electroanalysis* **2010**, 22, 707–714.
- [35] M. Tertiş, O. Hosu, L. Fritea, C. Farcau, A. Cernat, R. Săndulescu, C. Cristea, *Electroanalysis* **2015**, 27, 638–647.
- [36] N. Serrano, Ö. Castilla, C. Arino, M. S. Diaz-Cruz, J. M. Diaz-Cruz, *Sensors* **2019**, 19, 4039.
- [37] S. D. Mustafafov, A. K. Mohanty, M. Misra, M. Ö. Seydi-beyoğlu, *Carbon* **2019**, 147, 262–275.
- [38] M. M. Patil, N. P. Shetti, S. J. Malode, D. S. Nayak, T. R. Chakklabbi, *Mater. Today.: Proc.* **2019**, 18, 986–993.
- [39] D. S. Patil, N. P. Shetti, D. S. Nayak, R. S. Revankar, *Mater. Today.: Proc.* **2019**, 18, 1124–1131.
- [40] R. A. S. Couto, J. L. F. C. Lima, M. B. Quinaz, *Talanta* **2016**, 146, 801–814.
- [41] H. M. Mohamed, *TrAC Trends Anal. Chem.* **2016**, 82, 1–11.
- [42] M. Tudorache, C. Bala, *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, 388, 565–578.
- [43] Y. Valcarcel, A. S. Gonzalez, J. L. Rodriguez-Gil, *Chemosphere* **2011**, 82, 1062–1071.
- [44] A. Schäfer, H. Horn, R. Ahlrichs, *J. Chem. Phys.* **1992**, 97, 2571–2577.
- [45] F. Weigend, R. Ahlrichs, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2005**, 7, 3297–3305.
- [46] S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, H. J. Krieg, *Chem. Phys.* **2010**, 132, 154104.
- [47] K. Eichkorn, O. Treutler, H. Öhm, M. Häser, R. Ahlrichs, *Chem. Phys. Lett.* **1995**, 240, 283–290.
- [48] K. Eichkorn, F. Weigend, O. Treutler, R. Ahlrichs, *Theor. Chem. Acc.* **1997**, 97, 119–124.

- [49] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. V. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. J. Bearpark, J. J. Heyd, E. N. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. P. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, D. J. Fox, Gaussian 16 Revision B.01., Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2016**.
- [50] A. J. Misquitta, K. Szalewicz, *Chem. Phys. Lett.* **2002**, *357*, 301–306.
- [51] A. Heßelmann, G. Jansen, *Chem. Phys. Lett.* **2002**, *357*, 464–470.
- [52] J. P. Perdew, K. Burke, M. Ernzerhof, *Rev. Lett.* **1996**, *77*, 3865–3868.
- [53] C. Adamo, V. Barone, *J. Chem. Phys.* **1999**, *110*, 6158–6170.
- [54] M. Grüning, M. O. V. Gritsenko, S. J. A. van Gisbergen, E. J. Baerends, *J. Chem. Phys.* **2001**, *114*, 652–660.
- [55] A. Heßelmann, G. Jansen, M. Schütz, *J. Chem. Phys.* **2005**, *122*, 014103.
- [56] T. Helgaker, W. Klopper, H. Koch J Noga, *J. Chem. Phys.* **1997**, *106*, 9639–9649.
- [57] A. Anoop, W. Thiel, F. Neese, *J. Chem. Theory Comput.* **2010**, *6*, 3137–3144.
- [58] D. Rutkowska-Zbik, T. Korona, *J. Chem. Theory Comput.* **2012**, *8*, 2972–2982.
- [59] H. J. Werner, P. J. Knowles, G. Knizia, F. R. Manby, M. Schütz, P. Celani, W. Györfy, D. Kats, T. Korona, R. Lindh, A. Mitrushenkov, G. Rauhut, K. R. Shamasundar, T. B. Adler, R. D. Amos, A. Bernhardsson, A. Berning, D. L. Cooper, M. J. O. Deegan, A. J. Dobbyn, F. Eckert, E. Goll, C. Hampel, A. Hesselmann, G. Hetzer, T. Hrenar, G. Jansen, C. Köppl, Y. Liu, A. W. Lloyd, R. A. Mata, A. J. May, S. J. McNicholas, W. Meyer, M. E. Mura, A. Nicklass, D. P. O'Neill, P. Palmieri, D. Peng, K. Pflüger, R. Pitzer, M. Reiher, T. Shiozaki, H. Stoll, A. J. Stone, R. Tarroni, T. Thorsteinsson, M. Wang, MOLPRO, version 2015.1, a package of ab initio programs, see <http://www.molpro.net>, Cardiff, UK, **2015**.
- [60] Z. Galus, Electroanalytical methods of determination of physicochemical constants, PWN, Warsaw (in Polish), **1979**.
- [61] P. Lazar, F. Karlický, P. Jurečka, M. Kocman, E. Otyepková, K. Šafářová, M. Otyepka, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 6372–6377.
- [62] O. R. Meitei, A. Heßelmann, *J. Chem. Phys.* **2016**, *144*, 084109.
- [63] A. Nosal-Wiercińska, Z. Fekner, G. Dalmata, *J. Electroanal. Chem.* **2005**, *584*, 192–200.
- [64] A. Nosal-Wiercińska, *Cent. Eur. J. Chem.* **2010**, *10*, 1290–1300.
- [65] K. Tyszczyk-Rotko, A. Szwagierek, *J. Electrochem. Soc.* **2017**, *164*, B342–B348.
- [66] K. Tyszczyk-Rotko, K. Pietrzak, A. Sasal, *Adsorption* **2019**, *25*, 913–921.
- [67] K. Domańska, K. Tyszczyk-Rotko, *Anal. Chim. Acta* **2018**, *1036*, 16–25.
- [68] K. Węgiel, K. Jedlińska, B. Baś, *J. Hazard. Mater.* **2016**, *310*, 199–206.

Received: January 17, 2020

Accepted: March 21, 2020

Published online on April 8, 2020

mgr Agnieszka Sasal

Lublin, 30.07.2020 r.

Katedra Chemii Analitycznej

Instytut Nauk Chemicznych

Wydział Chemii UMCS

Plac Marii Curie-Skłodowskiej 3,

20-031 Lublin

Oświadczenie

Oświadczam, że mój wkład w niniejszej pracy:

A. Sasal, K. Tyszczyk-Rotko, M. Chojecki, T. Korona, A. Nosal-Wiercińska, *Direct determination of paracetamol in environmental samples using screen-printed carbon/carbon nanofibers sensor – experimental and theoretical studies*, *Electroanalysis*, 32(7) (2020) 1618-1628, DOI: 10.1002/elan.202000039

polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji pracy, optymalizacji procedury pomiarowej oznaczania paracetamolu na czujnikach sitodrukowanych modyfikowanych nanomateriałami węglowymi oraz jej zastosowaniu do oznaczeń paracetamolu w próbkach wód, współudziale w opracowaniu otrzymanych wyników i przygotowaniu rękopisu.

Udział ten szacuję na **50%**.


mgr Agnieszka Sasal

dr hab. Katarzyna Tyszczyk-Rotko, prof. UMCS

Lublin, 24.07.2020 r.

Katedra Chemii Analitycznej

Instytut Nauk Chemicznych

Wydział Chemii UMCS

Plac Marii Curie-Skłodowskiej 3,

20-031 Lublin

Oświadczenie

Oświadczam, że mój wkład w niniejszej pracy:

A. Sasal, K. Tyszczyk-Rotko, M. Chojecki, T. Korona, A. Nosal-Wiercińska, *Direct determination of paracetamol in environmental samples using screen-printed carbon/carbon nanofibers sensor – experimental and theoretical studies*, *Electroanalysis*, 32(7) (2020) 1618-1628

DOI: 10.1002/elan.202000039

polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji pracy, merytorycznym nadzorze nad badaniami doświadczalnymi realizowanymi w ramach niniejszej pracy oraz współudziale opracowaniu otrzymanych wyników i przygotowaniu rękopisu.

Udział ten szacuję na **30%**.

dr hab. Katarzyna Tyszczyk-Rotko, prof. UMCS

mgr Michał Chojecki

Warszawa, 03.07.2020

Zakład Chemii Teoretycznej i Strukturalnej

Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

ul. Pasteura 1,

02-093 Warszawa

Oświadczenie

Oświadczam, że mój wkład w niniejszej pracy:

A. Sasal, K. Tyszczyk-Rotko, M. Chojecki, T. Korona, A. Nosal-Wiercińska, *Direct determination of paracetamol in environmental samples using screen-printed carbon/carbon nanofibers sensor – experimental and theoretical studies*, Electroanalysis, DOI: 10.1002/elan.202000039

polegał na współudziale w wykonaniu badań teoretycznych i otrzymanych wyników oraz współudziale w przygotowaniu rękopisu.

Udział ten szacuję na **10%**.


mgr Michał Chojecki

dr hab. Tatiana Korona, prof. ucz.

Warszawa, 03.07.2020

Zakład Chemii Teoretycznej i Strukturalnej
Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego
ul. Pasteura 1,
02-093 Warszawa

Oświadczenie

Oświadczam, że mój wkład w niniejszej pracy:

A. Sasal, K. Tyszczuk-Rotko, M. Chojecki, T. Korona, A. Nosal-Wiercińska, *Direct determination of paracetamol in environmental samples using screen-printed carbon/carbon nanofibers sensor – experimental and theoretical studies*, Electroanalysis, DOI: 10.1002/elan.202000039

polegał na merytorycznym nadzorze nad badaniami teoretycznymi realizowanymi w ramach niniejszej pracy, współudziale w wykonaniu badań teoretycznych i opracowaniu otrzymanych wyników oraz współudziale w przygotowaniu rękopisu.

Udział ten szacuję na 5%.



dr hab. Tatiana Korona, prof. ucz.

dr hab. Agnieszka Nosal-Wiercińska, prof. UMCS

Lublin, 30.07.2020 r.

Katedra Chemii Analitycznej

Instytut Nauk Chemicznych

Wydział Chemii UMCS

Plac Marii Curie-Skłodowskiej 3,

20-031 Lublin

Oświadczenie

Oświadczam, że mój wkład w niniejszej pracy:

A. Sasal, K. Tyszczyk-Rotko, M. Chojecki, T. Korona, A. Nosal-Wiercińska, *Direct determination of paracetamol in environmental samples using screen-printed carbon/carbon nanofibers sensor – experimental and theoretical studies*, Electroanalysis, 32 (2020) 1618-1628, DOI: 10.1002/elan.202000039

polegał na współudziale w wykonaniu pomiarów z wykorzystaniem elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej i opracowaniu otrzymanych wyników oraz współudziale w przygotowaniu opisu tej części badań.

Udział ten szacuję na 5%.

dr hab. Agnieszka Nosal-Wiercińska, prof. UMCS



Publikacja 3

A. Sasal, K. Tyszczuk-Rotko, M. Wójciak, I. Sowa, *First electrochemical sensor (screen-printed carbon electrode modified with carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes) for ultratrace determination of diclofenac*,
Materials, 13 (2020) 781.

Article

First Electrochemical Sensor (Screen-Printed Carbon Electrode Modified with Carboxyl Functionalized Multiwalled Carbon Nanotubes) for Ultratrace Determination of Diclofenac

Agnieszka Sasal ¹, Katarzyna Tyszczyk-Rotko ^{1,*} , Magdalena Wójciak ^{2,*}  and Ireneusz Sowa ² 

¹ Faculty of Chemistry, Institute of Chemical Sciences, Maria Curie-Skłodowska University, 20-031 Lublin, Poland; agnieszkaszczagierek@gmail.com

² Department of Analytical Chemistry, Medical University of Lublin, 20-093 Lublin, Poland; ireneusz.sowa@umlub.pl

* Correspondence: ktyszczyk@poczta.umcs.lublin.pl (K.T.-R.); kosiorma@wp.pl (M.W.)

Received: 14 January 2020; Accepted: 5 February 2020; Published: 8 February 2020



Abstract: A simple, sensitive and time-saving differential-pulse adsorptive stripping voltammetric (DPAdSV) procedure using a screen-printed carbon electrode modified with carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes (SPCE/MWCNTs-COOH) for the determination of diclofenac (DF) is presented. The sensor was characterized using optical profilometry, SEM, and cyclic voltammetry (CV). The use of carboxyl functionalized MWCNTs as a SPCE modifier improved the electron transfer process and the active surface area of sensor. Under optimum conditions, very sensitive results were obtained with a linear range of 0.1–10.0 nmol L⁻¹ and a limit of detection value of 0.028 nmol L⁻¹. The SPCE/MWCNTs-COOH also exhibited satisfactory repeatability, reproducibility, and selectivity towards potential interferences. Moreover, for the first time, the electrochemical sensor allows determining the real concentrations of DF in environmental water samples without sample pretreatment steps.

Keywords: screen-printed carbon electrode modified with carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes; diclofenac; differential-pulse adsorptive stripping voltammetry; environmental water samples; HPLC with photo-diode array detection

1. Introduction

Diclofenac (DF) is a nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID), a derivative of aminophenylacetic acid with a strong anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effect. The action of the drug causes the inhibition of inductive (COX-2) cyclooxygenases, responsible for the synthesis of proinflammatory prostaglandins in the site of inflammation and constitutive (COX-1) and the synthesis of prostaglandins fulfilling a physiological function in the gastrointestinal tract and kidneys. DF is absorbed quickly and completely from the gastrointestinal tract and then eliminated completely within 12 h, approximately 60% in the urine and 33% in the faeces. DF is used as an analgesic and anti-inflammatory drug in rheumatoid arthritis, other connective tissue systemic diseases, gout attack, osteoarthritis, and the prevention and treatment of postoperative pain and neuralgia. DF is not recommended for children under 12 years of age and for people suffering from gastric and duodenal ulcer, aspirin-induced asthma, impaired hepatic function, renal insufficiency, and porphyria [1].

In autumn and winter seasons, an increased number of colds and flu is observed, which results in a significant increase in the number of sales and the consumption of pharmaceutical preparations, in particular NSAIDs. Residues of drugs and dietary supplements get into the environment primarily

to ground and surface water, causing their pollution. Low water temperatures and short days hinder the process of photolysis and the biodegradation of pharmaceutical preparations, which can cause adverse and unpredictable effects in the ecosystem. The main sources of pollution are factories and production plants, as well as hospitals, health centers, and practically every household. DF is one of the most commonly found ingredients in water, and its concentration is from 3.7×10^{-11} to $1.4 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ [2,3].

Although the likelihood of any form of short-term human health risk after DF release into the environment is low, a study links the catastrophic decline of *Gyps* vulture populations across the Indian subcontinent to DF [4,5]. Generally, NSAIDs such as DF and ibuprofen, for example, have Log Kow values greater than three and may have the capacity to bioaccumulate in the tissues of organisms [6]. DF exhibits acute hepatotoxicity, causes changes in kidneys and gills in rainbow trout (*O. mykiss*) and exhibits acute toxicity to phytoplankton and zooplankton. Moreover, the possibility of synergetic effects with other pharmaceuticals or chemicals in the aquatic environment increases the environmental risk as well [7].

There are many methods in the literature that allow for the determination of DF at various concentration levels. The most popular methods are spectrophotometry (determined DF concentrations: 6.8×10^{-7} – $8.4 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$), spectrofluorimetry (determined DF concentrations: 4.2×10^{-7} – $1.7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), calorimetry (determined DF concentrations: 4.6×10^{-6} – $2.7 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$), high-performance thin-layer chromatography (determined DF concentrations: 6.8×10^{-7} – $2.7 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), and HPLC (determined DF concentrations: 1.7×10^{-8} – $1.4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) [8,9]. Unfortunately, these methods require frequently a time-consuming initial sample preparation stage due to very low concentrations of DF in water samples.

An alternative to the methods described above are electrochemical methods that allow for quick and cheap analysis of real samples. In the research, various types of working electrodes are used, the most popular electrodes are glassy carbon electrodes modified with metal [10], graphene and carbon nanomaterials [1,11–14] or organic compounds [15–18]. In addition, paste electrodes [19] modified with carbon nanomaterials [20–24], silica [25] or organic compounds [26], graphite electrodes [27,28], composite electrodes [27,29], carbon ceramic electrodes [30], boron-doped diamond electrodes [31], and platinum disk electrodes [32,33] are used. The methods presented in most cases are applicable in the determination of DF in pharmaceutical preparations and human urine samples and blood samples. According to our knowledge, currently, there are only four papers on the development of electrochemical sensors for the determination of DF in water samples [15,16,19,31]. However, the authors of those papers determined DF in spiked water samples at concentrations (around 10^{-7} – $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) higher than those actually present in environmental samples. This was related to the received limit of detection (LOD) values in a range of 3.0×10^{-8} – $2.0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

Furthermore, all of the above works describe research methods that are applicable in laboratory analyses. However, no methods have been developed for field analysis. For this purpose, screen-printed sensors can be used. Screen-printing technology allows obtaining a small size of screen-printed sensors, which are characterized by low production cost and high repeatability and allow for the analysis of organic and inorganic compounds at low concentration levels. Screen-printed electrodes have been used in quality control in environmental, clinical, food, and agricultural areas [34]. However, according to the best of our knowledge, there are no papers in the literature that report on the application of screen-printed sensors for the determination of DF.

Due to the huge scale of consumption of pharmaceutical preparations, including DF and their negative impact on the environment and consequently on human health, it is necessary to develop new comprehensive methods for their analytical determination in environmental samples directly in the laboratory field. The aim of this work was to present a new voltammetric procedure for the determination of ultratrace concentrations of DF with a screen-printed sensor.

2. Materials and Methods

2.1. Apparatus

Voltammetric measurements were performed using a μ AUTOLAB analyzer (Eco Chemie, Utrecht, The Netherlands) controlled by GPES 4.9 software in a 10 mL electrochemical cell with a commercially available screen-printed sensor (screen-printed carbon electrode modified with carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes (SPCE/MWCNTs-COOH); DropSens, Llanera, Spain; Ref. 110CNT). This three-electrode system consisted of a working electrode (screen-printed carbon electrode covered by carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes with a diameter of 4 mm), an auxiliary electrode (SPCE), and a reference electrode (screen-printed silver electrode). In order to characterize the SPCE/MWCNTs-COOH, a commercially available screen-printed carbon electrode (SPCE, DropSens; reference number: C110) was used. The optical profiles and the microscopic images of sensors were recorded using the Contour GT-K1 optical profilometer (Veeco, New York, USA) and a high-resolution scanning electron microscope Quanta 3D FEG (FEI, Hillsboro, USA). Chromatographic analyses were performed on a VWR Hitachi Elite LaChrom HPLC system equipped with a spectrophotometric detector (PDA) and EZChrom Elite software (version 3.3.2 SP2, Merck, Darmstadt, Germany).

2.2. Reagents

2-[(2,6-dichlorophenyl)amino]benzeneacetic acid sodium salt (DF, Sigma-Aldrich, Saint Louis, USA) was dissolved in deionized water to prepare a 0.01 mol L^{-1} stock solution of DF. This solution was diluted as required in individual experiments using deionized water. The effects of the type and the pH of the supporting electrolyte on the DF signal were examined using 0.1 mol L^{-1} solutions of H_2SO_4 , CH_3COOH , $\text{CH}_3\text{COONa} + \text{CH}_3\text{COOH}$ (NaAc–HAc) with pH values of 3.5 ± 0.1 , 4.0 ± 0.1 , 4.2 ± 0.1 , 4.5 ± 0.1 , 5.0 ± 0.1 and 5.6 ± 0.1 , $\text{K}_2\text{HPO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$ with a pH value of 7.0 ± 0.1 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 + \text{NH}_4\text{OH}$ with a pH value of 8.3 ± 0.1 , $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{NH}_4\text{OH}$ with a pH value of 10.0 ± 0.1 , and NaOH with a pH value of 13.0 ± 0.1 prepared from Sigma-Aldrich reagents. Interferences were tested with the use of standard solutions of Ni^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Sb^{3+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , V^{5+} , and Mo^{6+} (Merck). The influences of organic substances were investigated based on a reagent obtained from Sigma-Aldrich (ibuprofen, caffeine, paracetamol, and humic acid) and Fluka (Triton X-100, sodium dodecyl sulphate (SDS), and cetyltrimethylammonium bromide (CTAB)). HPLC-grade acetonitrile and trifluoroacetic acids (TFA) were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). The solutions were prepared using ultrapurified water ($>18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$, Milli-Q system, Millipore, UK).

2.3. DF Voltammetric Analysis

Differential-pulse adsorptive stripping voltammetric (DPAdSV) measurements of DF under optimized conditions were carried out in a 0.1 mol L^{-1} NaAc–HAc buffer solution with a pH value of 4.0 ± 0.1 . An accumulation potential (E_{acc}) of -0.25 V was applied when stirring the solution for a period of 60 s (accumulation time was represented by t_{acc}). After an equilibrium time of 5 s, DPAdSV curves were recorded from -0.25 to 1.5 V with an amplitude (A) of 125 mV , a modulation time (t_m) of 10 ms , and a scan rate (ν) of 175 mV s^{-1} . Then, the background curve was subtracted, and the DPAdSV curves were cut in the potential range of 0.4 – 0.8 V . The DPAdSV curves for each concentration of DF were recorded 3 times, and the average values of peak currents are shown with an SD for $n = 3$.

2.4. DF Chromatographic Analysis

Chromatographic conditions were based on the literature [35] with a slight modification of the eluent composition. The chromatographic system was as follows: an XB-C18 reversed-phase core-shell column (Kinetex, Phenomenex, Aschaffenburg, Germany) (25 cm of length $\times$ 4.6 mm of column diameter, particle size: $5 \mu\text{m}$) and a mixture of acetonitrile and water with 0.025% of trifluoroacetic acid (v/v : $6:4$). The flow rate of mobile phase was 1.0 mL min^{-1} , and the temperature of thermostat

was set at 25 °C. Injection volumes were 20 and 80 μL . All samples were analyzed in triplicate at a wavelength of 276 nm.

2.5. Real Sample Application

The voltammetric and chromatographic methods were applied for the determination of DF in Vistula river (Poland) samples stored in sterile, polypropylene containers (Merck), which were collected from two places: at the sewage outlet (sample #1) and about 5 kilometres from the outflow of sewage (sample #2). The water samples were filtered using a 0.45 μm Millipore membrane and then directly analyzed without performing any special sample pretreatment procedure.

3. Results and Discussion

3.1. Characteristics of SPCE/MWCNTs-COOH Sensors

In order to understand the use of SPCE/MWCNTs-COOH for the assay of DF, the DPAdSV curves in the DF concentration range of 0.5–200.0 nmol L^{-1} were recorded in a 0.1 mol L^{-1} NaAc–HAc solution with a pH value of 5.0 ± 0.1 at the surface of a bare SPCE and the surface of an SPCE/MWCNTs-COOH. DF showed an oxidation peak at 412 mV with the bare SPCE. At the SPCE/MWCNTs-COOH, the oxidation peak appeared at 377 mV with considerable enhancement in peak current (Figure 1). The oxidation current responses were found to be proportional to the DF concentrations over the ranges of 1.0–200.0 nmol L^{-1} (correlation coefficient $r = 0.9997$) and 0.5–200.0 nmol L^{-1} ($r = 0.9971$) at the surfaces of the bare SPCE and the SPCE/MWCNTs-COOH, respectively. The sensitivity values of DF determination at the surfaces of the bare SPCE and the SPCE/MWCNTs-COOH are equal to 0.019 and 0.040 $\mu\text{A/nmol L}^{-1}$, respectively. Compared with the SPCE, the commercially available SPCE/MWCNTs-COOH provided a higher sensitivity and a wider linear range, which was connected with the developed active surface of the sensor modified with carboxyl functionalized carbon nanotubes.

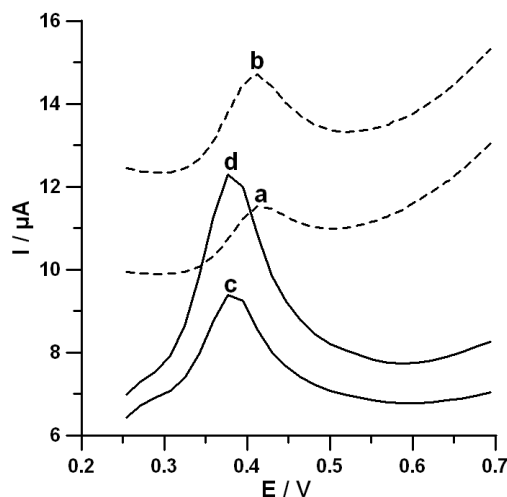


Figure 1. Differential-pulse adsorptive stripping voltammetric (DPAdSV) curves of diclofenac (DF) with different concentrations in a 0.1 mol L^{-1} NaAc–HAc solution with a pH value of 5.0 ± 0.1 at the surface of a bare screen-printed carbon electrode (SPCE) (a,b) and the surface of a screen-printed carbon electrode modified with multiwalled carbon nanotubes (SPCE/MWCNTs-COOH) (c,d). (a) and (c) are for the DF concentration of 0.05 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (b) and (d) are for the DF concentration of 0.1 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The DPAdSV parameters: accumulation potential (E_{acc}) of -0.5 V, accumulation time (t_{acc}) of 30 s, amplitude (A) of 100 mV, modulation time (t_m) of 40 ms, and scan rate (v) of 175 mV s^{-1} .

The morphological studies of SPCE and SPCE/MWCNTs-COOH surfaces were performed using an optical profilometer and a scanning electron microscope. As illustrated in Figure 2A, the modification of the SPCE surface with carboxyl functionalized MWCNTs had a slight impact on the increase of

surface roughness (R_a : 1.12 and 1.30 μm for the SPCE and the SPCE/MWCNTs-COOH, respectively). This confirmed that the whole SPCE surface was covered with a thin layer of carboxyl functionalized MWCNTs, which is also visible in the SEM images (Figure 2B). The carboxyl functionalized MWCNTs were dispersed onto the SPCE without aggregation with special three-dimensional structures and smooth surface [11].

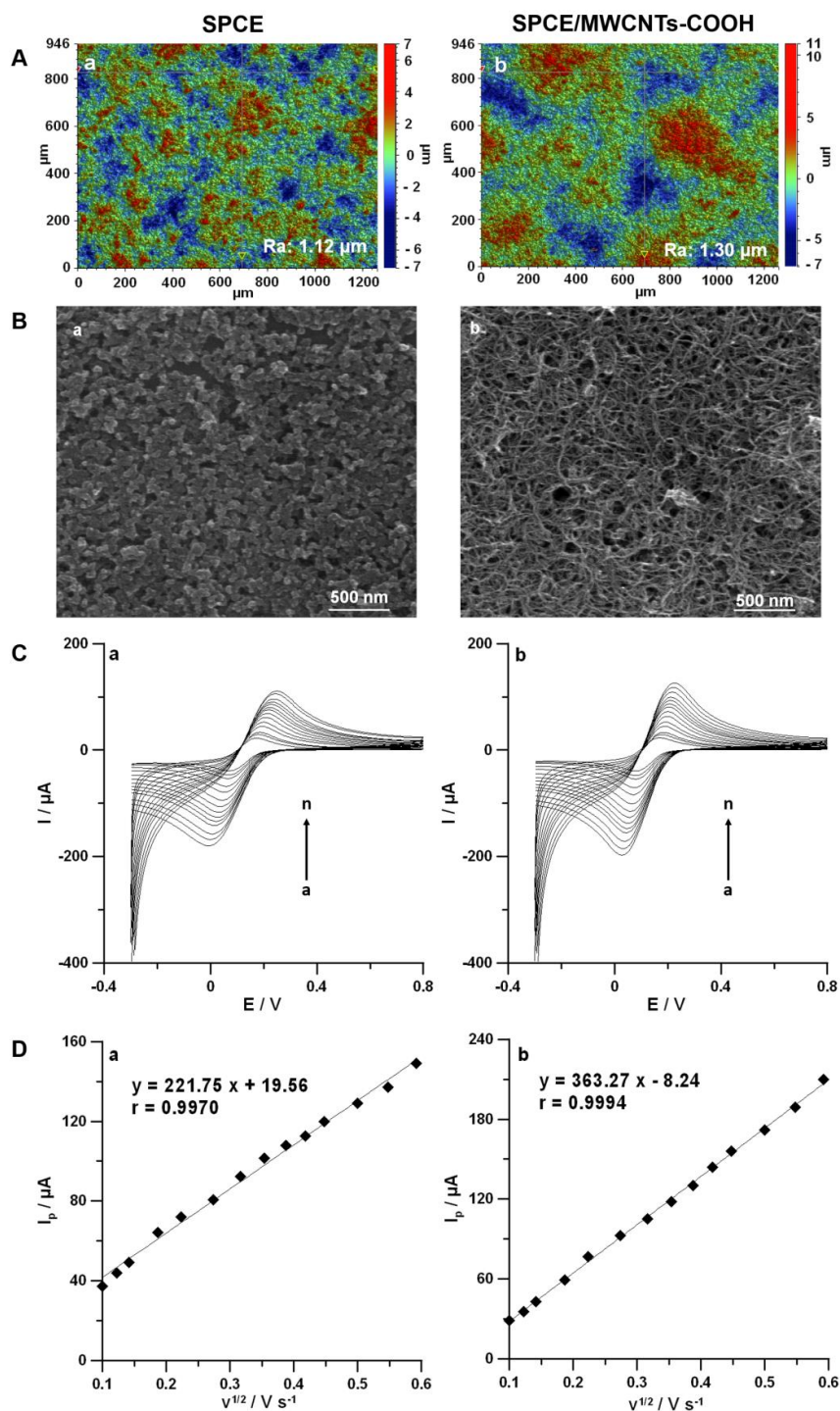


Figure 2. (A) Optical profiles. (B) SEM images of the SPCE (a) and the SPCE/MWCNTs-COOH (b). (C) CV curves recorded at the surfaces of the SPCE (a) and the SPCE/MWCNTs-COOH (b) in a solution of 0.1 mol L^{-1} KCl containing 5.0 mmol L^{-1} $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ at a v range of 5–500 mV s^{-1} . (D) Dependences between I_p and $v^{1/2}$ for the SPCE (a) and the SPCE/MWCNTs (b).

The electrochemical properties of the SPCE and the SPCE/MWCNTs-COOH were also tested using cyclic voltammetry (CV) in a solution of 0.1 mol L⁻¹ KCl and 5.0 mmol L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆]. Figure 2C illustrates the CV curves recorded with both electrodes at scan rates of 5–500 mV s⁻¹, and Figure 2D shows the dependences between the anodic peak current (I_p) and the square root of scan rate ($v^{1/2}$). Based on these results, peak-to-peak separations (ΔE) and relative peak separations (χ^0) for a scan rate of 175 mV s⁻¹ and active surface areas (A_s) based on the entire range of scan rates were calculated [36]. The results were summarized in Table 1 and indicated the improvement of the reversibility process and electron transfer kinetics by the modification of the SPCE surface with carboxyl functionalized MWCNTs. Moreover, the covering surface with carboxyl functionalized MWCNTs increased the number of active centers, which translated to the enhancement in DF peak current.

Table 1. Electrochemical characteristics of the SPCE and the SPCE/MWCNTs-COOH using cyclic voltammetry (CV) in a solution of 0.1 mol L⁻¹ KCl and 5.0 mmol L⁻¹ K₃[Fe(CN)₆].

Calculated parameter	SPCE	SPCE/MWCNTs-COOH
ΔE for v of 175 mV s ⁻¹	189.0 ± 1.9 mV (n = 3)	149.0 ± 1.5 mV (n = 3)
χ^0 for v of 175 mV s ⁻¹	3.26 ± 0.031 (n = 3)	2.57 ± 0.025 (n = 3)
A_s for v of 5–500 mV s ⁻¹	0.061 ± 0.00058 cm ² (n = 3)	0.10 ± 0.00097 cm ² (n = 3)

The above described results confirmed the benefits of using the SPCE/MWCNTs-COOH. Therefore, in further experiments, this kind of modified sensor was used for the analysis of DF.

3.2. Optimization of Measurements Solution Composition

The effects of the type and the pH of the supporting electrolyte on the voltammetric responses of 0.05 and 0.1 µmol L⁻¹ DF were examined using a 0.1 mol L⁻¹ solution of H₂SO₄, CH₃COOH and CH₃COONa + CH₃COOH (NaAc–HAc) with pH values of 3.5 ± 0.1, 4.0 ± 0.1, 4.2 ± 0.1, 4.5 ± 0.1, 5.0 ± 0.1, and 5.6 ± 0.1, K₂HPO₄ + KH₂PO₄ with a pH value of 7.0 ± 0.1, (NH₄)₂SO₄ + NH₄OH with a pH value 8.3 ± 0.1, NH₄Cl + NH₄OH with a pH value of 10.0 ± 0.1, and NaOH with a pH value of 13.0 ± 0.1; the corresponding data are listed in Figure 3A. The value of the oxidation peak current of DF increased with the increase of pH value of the solution up to 4.0 ± 0.1 for both studied concentrations of DF. There was no electrochemical response of DF in alkaline media at pH ≥ 10.0 ± 0.1 lacking the presence of enough protons. It was connected with two species of DF (neutral and anionic species), of which the existence depended on pH values. The literature reports that DF presents a pK_a of 4.15, so for pH smaller than 4.15 the neutral species predominates, whereas at a greater pH the anionic species predominates [37]. Considering the obtained data, the NaAc–HAc buffer solution with a pH value of 4.0 ± 0.1 is most suitable for the DF determination.

Furthermore, its concentration was evaluated from 0.05 to 0.5 mol L⁻¹ (Figure 3B). The highest values of DF (0.05 and 0.1 µmol L⁻¹) signals were attained at a 0.1 mol L⁻¹ concentration of the NaAc–HAc buffer solution with a pH value of 4.0 ± 0.1; hence, it was adopted for subsequent experiments.

3.3. CV Behaviors of DF with the SPCE/MWCNTs-COOH

CV curves (first and second cycles) were recorded in the 0.1 mol L⁻¹ NaAc–HAc buffer solution with a pH value of 4.0 ± 0.1 containing 1.0 µmol L⁻¹ DF using v equal to 175 mV s⁻¹ (Figure 4A). DF was irreversibly oxidized, giving rise to an oxidation peak at a potential of 555 mV, when the sweep was initiated in the positive direction. In the reverse sweep, two cathodic peaks at potential values of −10 and 275 mV were visible, which formed reversible couples with anodic peaks (102 and 307 mV) observed in the second cycle towards positive potentials. The reversible couples can be created at less positive potentials due to the formation of electrochemically active oxidation products of DF [11,28]. In contrast to the work of Yang et al. [17], the reduction of effective reaction sites at the surface of the SPCE/MWCNTs-COOH by the adsorption of the reaction products of DF was not observed. The oxidation peak currents of DF in the first and second cycles were similar (curves b and c in Figure 4A).

Therefore, the regeneration of electrode surface in an additional solution was not required [11]. Further research focused on the DF oxidation peak at a potential of 555 mV with the highest current, which was characterized by the linear increase in the peak current as the concentration increased.

Valuable information with regard to the nature and the oxidation mechanism of DF at the SPCE/MWCNTs-COOH surface could be obtained by recording CV curves at different values of scan rates. Therefore, the electrochemical behaviors of $1.0 \mu\text{mol L}^{-1}$ DF in the 0.1 mol L^{-1} NaAc-HAc buffer solution with a pH value of 4.0 ± 0.1 for v equal to $5\text{--}250 \text{ mV s}^{-1}$ were observed. Figure 4B shows the CV curves for the selected v of 50, 100, and 175 mV s^{-1} . The oxidation peak potential shifted toward more positive values with the increase of scan rate, which confirmed that DF was irreversibly oxidized. The linear relationship between the DF peak current (I_p) and the square root of scan rate ($v^{1/2}$) (Figure 4C, $r = 0.9934$) indicated that the oxidation process of DF was controlled by diffusion at the surface of the SPCE/MWCNTs-COOH. However, the slope of 0.69 observed in the plot of $\log I_p$ vs. $\log v$ (Figure 4D) indicated that this process was not purely diffusion- or adsorption-controlled [38]. Moreover, with the slope of the peak potential (E_p) vs. $\log(v)$ plot (Figure 4E) using the Laviron's equation [39], the number of electrons involved in the DF oxidation process was calculated. The value determined was equal to 1.51, which proved that two electrons were involved in this process. These results are consistent with the literature data [28,40]. Madsen et al. [40] and Gayal et al. [28] proposed that DF is oxidized to 5-hydroxydiclofenac by losses of $2e^-$ and $2H^+$ according to the overall scheme (Figure 4F).

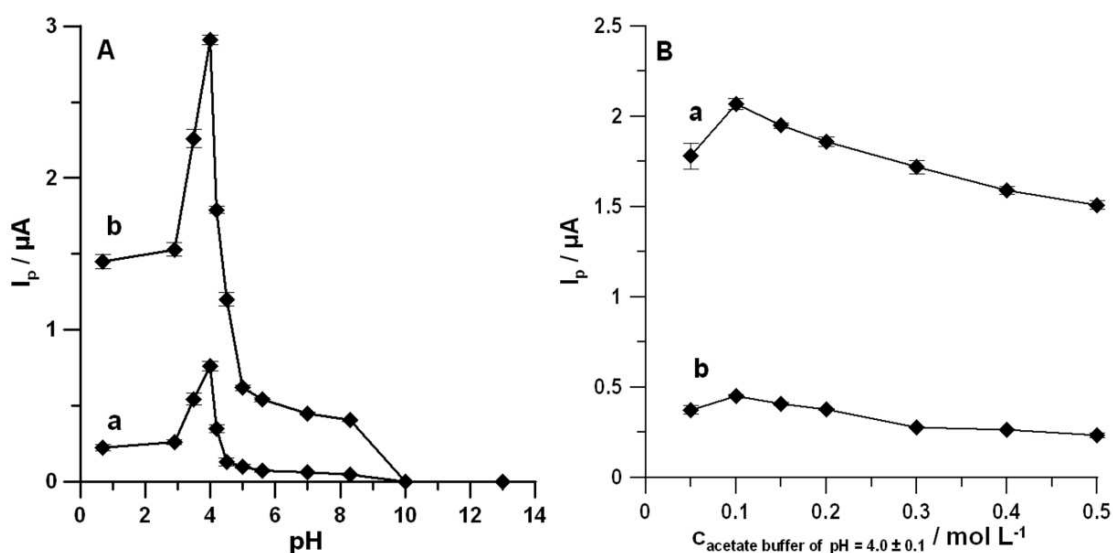


Figure 3. Effects of pH value (A) and concentration of the NaAc-HAc buffer solution with a pH value of 4.0 ± 0.1 (B) on DF current response. (a) and (b) in (A) are for the DF concentration of 0.05 and $0.1 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. (a) and (b) in (B) are for the DF concentration of 0.05 and $0.1 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. Other parameters are the same as in Figure 1.

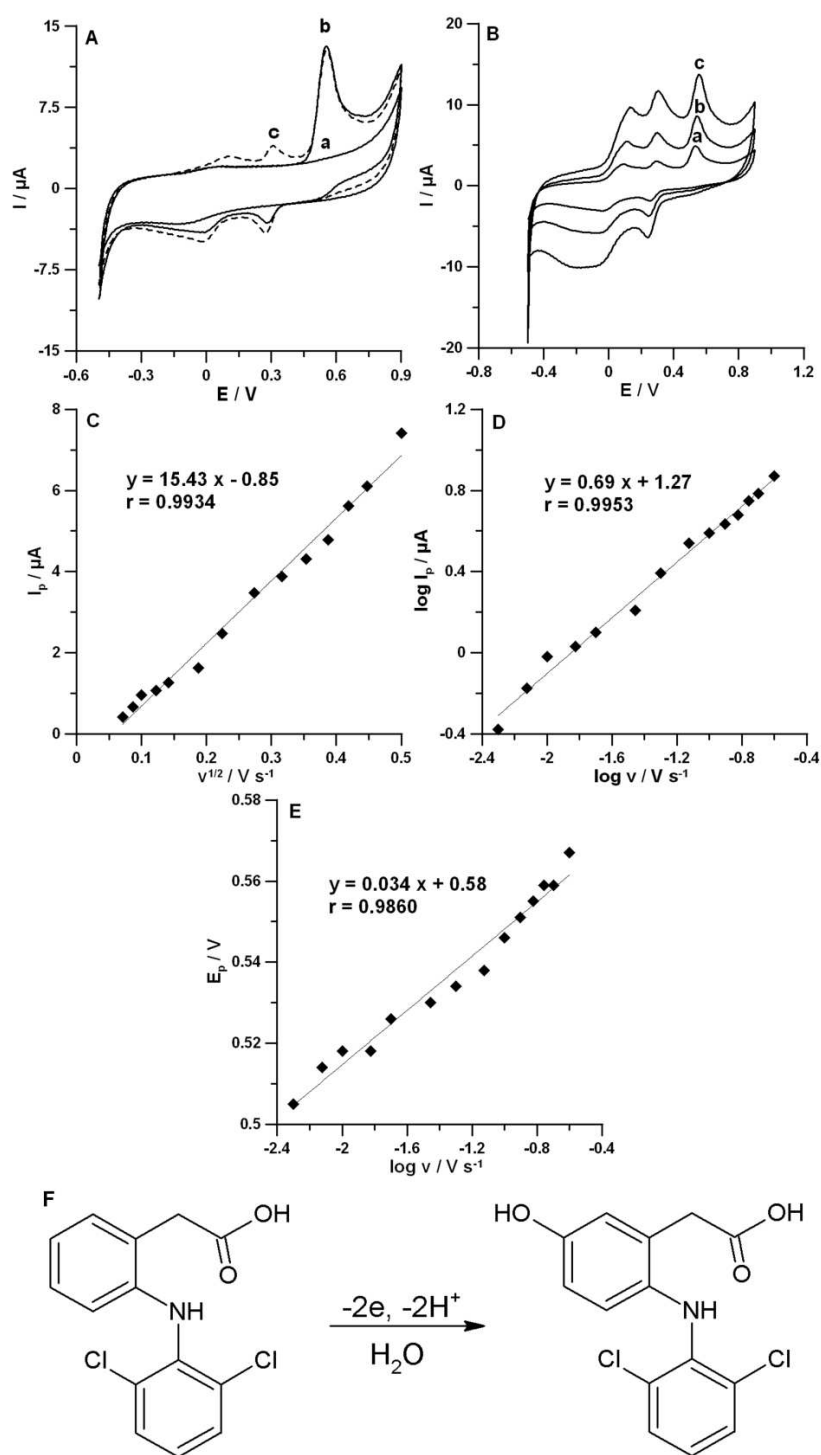


Figure 4. (A) CV curves recorded in the 0.1 mol L⁻¹ NaAc-HAc buffer solution with a pH value of 4.0 ± 0.1 at v equal to 175 mV s^{-1} . Curves (a–c) represent CV curves in the solution without DF and with 1.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ DF for the first cycle and the second cycle, respectively. (B) CV curves recorded in the 0.1 mol L⁻¹ NaAc-HAc buffer solution with a pH value of 4.0 ± 0.1 containing 1.0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ DF at different v values. Curves (a–c) represent CV curves at v equal to 50, 100, and 175 mV s^{-1} , respectively. The dependences between I_p and $v^{1/2}$ (C), $\log I_p$ and $\log v$ (D), and E_p and $\log v$ (E) for v from 5 to 250 mV s^{-1} . (F) Oxidation mechanism of DF

3.4. Optimization of DPAdSV Parameters

In order to find the optimum conditions for the DF determination at the surface of the SPCE/MWCNTs-COOH, the influences of various DPAdSV parameters including accumulation potential (E_{acc}), accumulation time (t_{acc}), amplitude (A), modulation time (t_m), and scan rate (ν) on the DF oxidation peak current (0.01 and $0.05 \mu\text{mol L}^{-1}$) were studied.

The effects of E_{acc} and t_{acc} were tested, because the oxidation process of DF at the SPCE/MWCNTs-COOH surface was not purely diffusion- or adsorption-controlled. The E_{acc} was varied in the range of -1.25 – 0.25 V, and t_{acc} was equal to 30 s. Figure 5A shows that for both studied concentrations of DF, the maximum values of peak current were achieved at E_{acc} of -0.25 V. Then, at this potential value, t_{acc} was changed from 0 to 300 s. As can be seen in Figure 5B, taking into account the highest peak currents of DF, t_{acc} of 60 s can be considered as an optimum condition.

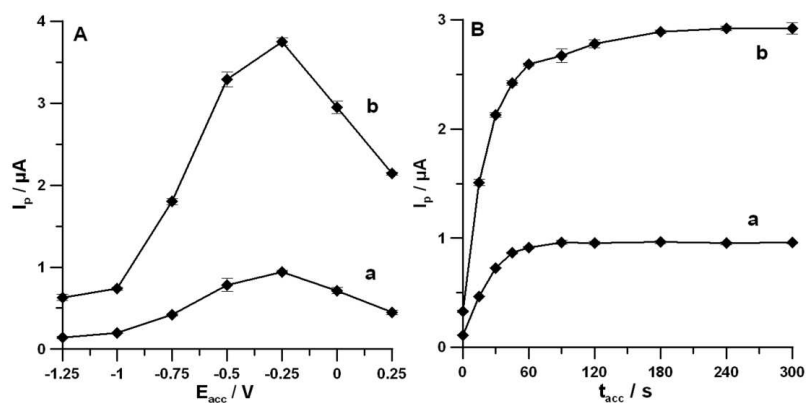


Figure 5. Effects of E_{acc} (A) and t_{acc} (B) on DF current response. (a,b) in (A) represent the responses for DF concentrations of 0.01 and $0.05 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. (a,b) in (B) represent the responses for DF concentrations of 0.01 and $0.05 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. The DPAdSV parameters in (A) are t_{acc} of 30 s, A of 100 mV, t_m of 40 ms, and ν of 175 mV s^{-1} ; the DPAdSV parameters in (B) are E_{acc} of -0.25 V, A of 100 mV, t_m of 40 ms, and ν of 175 mV s^{-1} .

Moreover, A was investigated from 25 to 150 mV (for ν of 175 mV s^{-1} and t_m of 40 ms). The highest signals of DF for both studied concentrations were recorded at A equal to 125 mV (Figure 6A). Then, the effect of ν (50 – 200 mV s^{-1}) on DF peak current at the constant values of A (125 mV) and t_m (40 ms) was tested. Figure 6B shows the maximum values of DF peak current at ν of 175 mV s^{-1} . Furthermore, t_m was varied from 2 to 60 ms (for A of 125 mV and ν of 175 mV s^{-1}). It was found that, for t_m of 10 ms, the highest signals of DF were obtained (Figure 6C).

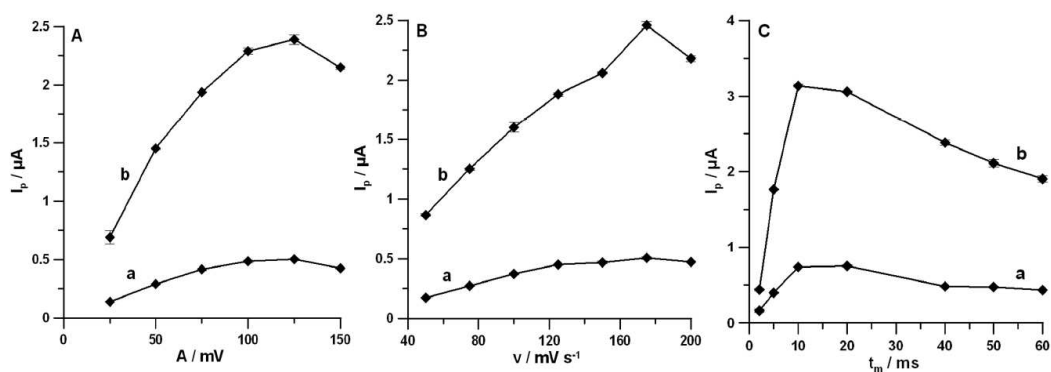


Figure 6. Effects of A (A), ν (B), and t_m (C) on DF current response. Curves (a,b) are for 0.01 and $0.05 \mu\text{mol L}^{-1}$ DF, respectively. The DPAdSV parameters: (A) E_{acc} of -0.25 V, t_{acc} of 60 s, ν of 175 mV s^{-1} and t_m of 40 ms; (B) A of 125 mV and t_m of 40 ms; and (C) A of 125 mV and ν of 175 mV s^{-1} .

3.5. Analytical Characteristics

Under optimized conditions (see the DF voltammetric analysis section), the oxidation current responses were found to be proportional to the DF concentrations over the range of 0.1–10.0 nmol L^{−1}. The corresponding results are shown in Figure 7 and Table 2. The sensitivity of DF determination at the SPCE/MWCNTs-COOH was equal to $0.18 \pm 0.0070 \mu\text{A}/\text{nmol L}^{-1}$. The LOD and the limit of quantification (LOQ) were 0.028 and 0.094 nmol L^{−1}, respectively. The LOD and LOQ values demonstrated that the SPCE/MWCNTs-COOH can be used for analysis of environmental water samples, in which the DF concentration is in the range of 0.037–14.0 nmol L^{−1} [2,3]. It should be clearly emphasized that the SPCE/MWCNTs-COOH allowed obtaining the lowest LOD value compared to all other electrochemical sensors (see Table 3). Moreover, the obtained LOD was significantly lower than those obtained by other techniques applied for DF determination without sample pretreatment steps [8,9].

Moreover, the intra-day and inter-day precisions were verified for the determination of 10.0 nmol L^{−1} DF with 10 replicates and replicated on five different days, respectively. The results of the intra-day and inter-day precisions were 0.7% and 2.1%, respectively, indicating the satisfactory precious repeatability of the signal at the SPCE/MWCNTs-COOH surface. The reproducibility of the SPCE/MWCNTs-COOH was estimated by recording DPAdSV curves in the solution containing 10.0 nmol L^{−1} DF using three commercially available electrodes. The relative standard deviation (RSD) was calculated as 2.9% ($n = 9$), confirming the acceptable reproducibility of the proposed sensor.

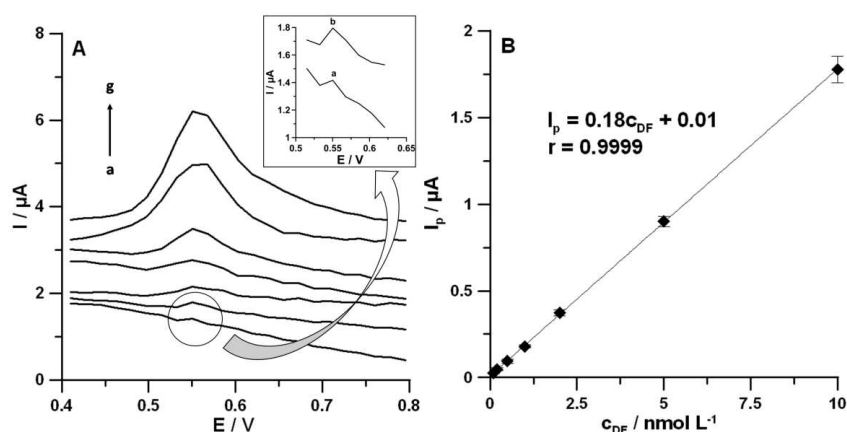


Figure 7. (A) DPAdSV curves recorded at the surface of the SPCE/MWCNTs-COOH in the NaAc–HAc buffer solution with a pH value of 4.0 ± 0.1 containing increasing concentrations of DF: (a) 0.1, (b) 0.2, (c) 0.5, (d) 1.0, (e) 2.0, (f) 5.0, and (g) 10.0 nmol L^{−1}. (B) Calibration graph of DF. The DPAdSV parameters: E_{acc} of -0.25 V, t_{acc} of 60 s, A of 125 mV, t_m of 10 ms, and ν of 175 mV s^{-1} .

Table 2. Characteristics of the calibration plot of DF obtained at the SPCE/MWCNTs-COOH surface.

Parameter	DPAdSV
Linear range (nmol L ^{−1})	0.1–10.0
Accumulation time (s)	60
Slope (b) $\pm$ SD _b ($n = 3$) ($\mu\text{A}/\text{nmol L}^{-1}$)	0.18 ± 0.0070
Intercept (a) $\pm$ SD _a ($n = 3$) (μA)	0.010 ± 0.0017
Correlation coefficient (r)	0.9999
Limit of detection (LOD; nmol L ^{−1})	0.028
Limit of quantification (LOQ; nmol L ^{−1})	0.094
Intra-day precision (RSD, $n = 10$) (%)	0.7
Inter-day precision (RSD, $n = 15$) (%)	2.1
Reproducibility (RSD, $n = 9$) (%)	2.9

LOD = $3\text{SD}_a/b$ and LOQ = $3\text{SD}_a/b$ [41]; RSD: relative standard deviation for a DF concentration of 10.0 nmol L^{−1}.

Table 3. Comparison of electrochemical methods for the determination of DF.

Electrode	Method	Linear Range (mol L ⁻¹)	Detection Limit (mol L ⁻¹)	Application	Ref.
n-GCE	CV	2.0×10^{-4} – 1.5×10^{-3}	2.8×10^{-5}	pharmaceutical formulations	[10]
NiNPs/ERGO/GCE	SWV	2.5×10^{-7} – 1.3×10^{-4}	9.0×10^{-8}	pharmaceutical formulations, urine samples	[1]
AuNP/MWCNT/GCE	SWV	3.0×10^{-8} – 2.0×10^{-4}	2.0×10^{-8}	pharmaceutical formulations, urine samples	[11]
MWCNTs/Cu(OH) ₂ /IL/GCE	DPV	1.8×10^{-7} – 1.2×10^{-4}	4.0×10^{-8}	pharmaceutical formulations	[12]
MWCNT-IL/CCE	DPV	5.0×10^{-8} – 2.0×10^{-5}	2.7×10^{-8}	blood plasma samples	[13]
GO-COOH/GCE	LSV	1.2×10^{-6} – 4.0×10^{-4}	9.0×10^{-8}	urine samples, blood serum samples	[14]
GCE/Amino-AT	SWV	3.0×10^{-7} – 2.0×10^{-5}	2.0×10^{-7}	pharmaceutical formulations, spiked water samples	[15]
GCE/APTES-Amino-AT-Silica	SWV	3.0×10^{-7} – 2.0×10^{-5}	5.3×10^{-8}	pharmaceutical formulations, spiked lake water samples	[16]
PDDA-GR/GCE	DPV	1.0×10^{-5} – 1.0×10^{-4}	6.1×10^{-7}	pharmaceutical formulations, spiked lake water samples	[16]
MWNTs-DHP/GCE	CV	1.7×10^{-7} – 2.5×10^{-6}	8.0×10^{-8}	pharmaceutical formulations	[17]
DBA/GCE	CV	2.5×10^{-6} – 7.5×10^{-5}	8.0×10^{-8}	pharmaceutical formulations	[17]
CPE	SWV	1.0×10^{-5} – 1.0×10^{-3}	2.7×10^{-7}	blood serum samples	[18]
MWCNTs/CoHCF/IL/PE	DPV	1.0×10^{-6} – 1.0×10^{-5}	2.0×10^{-7}	spiked model water samples	[19]
Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ /MWCNTs-CPE	DPV	1.0×10^{-3} – 1.0×10^{-1}	3.0×10^{-4}	pharmaceutical formulations, urine samples	[20]
Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ /MWCNTs-CPE	SWV	5.0×10^{-7} – 1.0×10^{-4}	4.0×10^{-8}	pharmaceutical formulations, blood serum samples	[21]
VFMCNTPE	SWV	2.5×10^{-6} – 6.0×10^{-4}	2.0×10^{-6}	pharmaceutical formulations, urine samples	[22]
IL/CNTPE	DPV	5.0×10^{-7} – 3.0×10^{-4}	2.0×10^{-7}	pharmaceutical formulations, urine samples	[23]
IL/CNTPE	SWV	3.0×10^{-7} – 7.5×10^{-4}	9.0×10^{-8}	pharmaceutical formulations, urine samples	[24]
Silica NPs-CPE	DPV	1.0×10^{-7} – 5.0×10^{-4}	4.6×10^{-8}	pharmaceutical formulations	[25]
TCPE	DPV	1.0×10^{-5} – 1.4×10^{-4}	3.3×10^{-6}	pharmaceutical formulations, urine samples	[26]
PTFE-G; EG; E-CB	DPV	6.0×10^{-8} – 1.0×10^{-6}	5.0×10^{-8}	pharmaceutical formulations	[27]
EPPG	SWV	1.0×10^{-8} – 1.0×10^{-6}	6.2×10^{-9}	pharmaceutical formulations, urine samples	[28]
CuZECE	CV, DPV	2.0×10^{-5} – 3.0×10^{-7}	5.0×10^{-8}	-	[29]
MWCNT-IL/CCE	DPV	5.0×10^{-8} – 5.0×10^{-5}	1.8×10^{-8}	pharmaceutical formulations, blood plasma samples	[30]
BDDE	DPV	3.1×10^{-7} – 3.1×10^{-5}	3.0×10^{-8}	spiked tap water samples	[31]
PtDE	DPV	5.0×10^{-6} – 5.9×10^{-5}	1.0×10^{-6}	pharmaceutical formulations, blood serum samples	[32]
PtDE	SWV	5.1×10^{-6} – 5.9×10^{-5}	1.7×10^{-6}	pharmaceutical preparations, blood serum samples	[33]
SPCE/MWCNTs-COOH	DPAAdSV	1.0×10^{-10} – 1.0×10^{-8}	2.8×10^{-11}	river water samples	This work

3.6. Selectivity of the SPCE/MWCNTs-COOH

In order to confirm the selectivity of the SPCE/MWCNTs-COOH, the DPAdSV responses of DF in the presence of different interferences found in environmental water samples were recorded. The tolerance limit was defined as the concentration, which gave an error of $\leq 10\%$ in the determination of 10.0 nmol L^{-1} DF. It was noticed that ibuprofen (up to 2000-fold excess), caffeine (up to 2000-fold excess), paracetamol (up to 1000-fold excess), Ni²⁺ ions (up to 1000-fold excess), Fe³⁺ ions (up to 1000-fold excess), Zn²⁺ ions (up to 500-fold excess), Pb²⁺ ions (up to 500-fold excess), Sb³⁺ ions (up to 500-fold excess), Cu²⁺ ions (up to 100-fold excess), Cd²⁺ ions (up to 500-fold excess), V⁵⁺ ions (up to 100-fold excess), and Mo⁶⁺ ions (up to 100-fold excess) had negligible effects (the relative signals were in the range of 93.7–100.1%) on the assay of DF. Furthermore, the tolerance limits for the studied surfactants and humic acid were 5.0 mg L^{-1} for Triton X-100, 1.0 mg L^{-1} for CTAB, 2.0 mg L^{-1} for SDS, and 10.0 mg L^{-1} for humic acid (the relative signals were in the range of 90.4–92.0%). The results confirmed that the proposed procedure offers good selectivity for the determination of DF and the analysis of environmental water samples can be performed without sample preparation.

3.7. Application in Environmental Analysis

In order to evaluate the applicability of the voltammetric procedure with the use of SPCE/MWCNTs-COOH for DF determination in environmental water samples, Vistula river water samples collected from two places, at the sewage outlet (sample #1) and about 5 kilometres from the outflow of sewage (sample #2), were analyzed. Table 4 summarizes all results. It should be clearly emphasized that the voltammetric procedure with the use of SPCE/MWCNTs-COOH allowed

determining DF at a concentration of $0.42 \pm 0.08 \text{ nmol L}^{-1}$ in Vistula river water sample #1 without sample pretreatment steps (Figure 8). In sample #2, the DF signal was not visible. The obtained results confirmed the presence of DF in the Vistula river and the dependence of DF concentration on the place of sample collection.

Table 4. Results of DF determination in Vistula river water samples.

Sample	DF concentration $\pm$ SD (nmol L^{-1}) ($n = 3$)			Recovery (%)	
	Added	Found with the DPAdSV procedure	Found with the HPLC/PAD method	DPAdSV	t_{exp}
#1	0	0.42 ± 0.08	-	-	-
#1	5.0	5.40 ± 0.20	-	99.6	-
#1	50.0	50.80 ± 1.40	52.30 ± 4.08	100.5	0.60
#2	0	-	-	-	-
#2	0.4	0.40 ± 0.01	-	100.0	-
#2	5.0	5.38 ± 0.33	-	99.6	-
#2	50.0	51.0 ± 0.90	49.80 ± 4.25	100.9	0.48

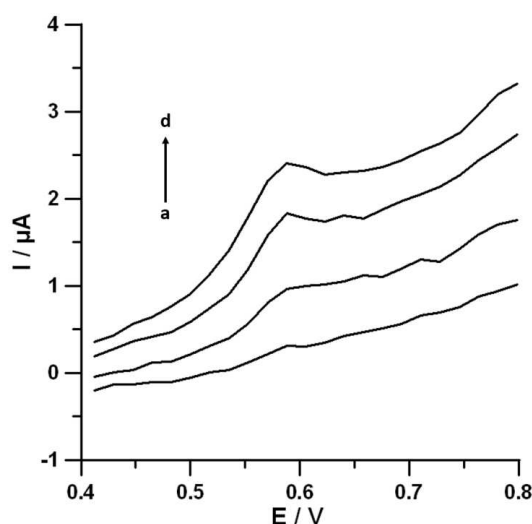


Figure 8. DPAdSV curves recorded at the SPCE/MWCNTs-COOH surface in the course of DF determination in 5 ml Vistula river water sample #1 without DF (a) and with 0.5 nmol L^{-1} (b), 1.0 nmol L^{-1} (c) and 1.5 nmol L^{-1} (d) of DF. Other conditions are the same as in Figure 7.

In order to test the accuracy of the DPAdSV method, samples were spiked with a standard solution of DF. The recovery values attained by the DPAdSV method were between 99.6% and 100.9%, which corresponded to the satisfactory degree of accuracy.

The results with the DPAdSV method were compared with those obtained by the chromatographic method, HPLC/PAD. As can be seen in Table 4, the HPLC/PAD method allowed determining DF in river water samples at a concentration of 10.0 nmol L^{-1} , which was significantly above the real DF concentration in water samples. In order to determine lower concentrations of DF by the chromatographic method, an additional sample preparation step was required. According to the Student's *t*-test, there were no significant differences between DF concentrations obtained by both methods. The calculated *t* values (t_{exp}) were 0.48 and 0.60, which were below the critical value equal to 1.81 (for degrees of freedom *f* equal to 4 ($f = n_1 + n_2 - 2$) and 95% confidence level). All these results indicated that the DPAdSV procedure using an SPCE/MWCNTs-COOH is highly selective and excellent for the determination of DF in real applications.

4. Conclusions

In summary, a simple, sensitive and time-saving DPAdSV procedure using an SPCE/MWCNTs-COOH was presented and successfully applied for the determination of DF. The modified sensor showed an improved sensing activity towards DF compared to a bare SPCE due to the effect of the modifier. The use of carboxyl functionalized MWCNTs improved the electron transfer process and the active surface area of the sensor. The SPCE/MWCNTs-COOH exhibited excellent current responses towards DF determination in the linear range of 0.1–10.0 nmol L^{−1} and an LOD value of 0.028 nmol L^{−1}. Furthermore, the SPCE/MWCNTs-COOH also showed satisfactory repeatability, reproducibility, and selectivity towards potential interferences. It should be clearly stressed that, for the first time, the electrochemical sensor was used for the determination of a real concentration of DF (0.42 ± 0.08 nmol L^{−1}) in environmental water samples (Vistula river samples) without sample pretreatment steps. All these discussion indicated that the DPAdSV procedure using an SPCE/MWCNTs-COOH has great potential towards the determination of DF in real water samples to maintain environmental protection. Moreover, the DPAdSV procedure using an SPCE/MWCNTs-COOH can be applied in the DF field analysis.

Author Contributions: Conceptualization, A.S. and K.T.-R.; methodology, A.S. and K.T.-R.; investigation, A.S., K.T.-R., M.W., and I.S.; writing of the original draft preparation, A.S. and K.T.-R.; writing of review and editing, A.S., K.T.-R., M.W., and I.S.; supervision, K.T.-R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research no external funding.

Acknowledgments: The research was carried out with the equipment purchased, thanks to the financial support of the European Regional Development Fund in the framework of the Polish Innovation Economy Operational Programme (contract no. POIG.02.01.00-06-024/09 Centre for Functional Nanomaterials).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Mekassa, B.; Baker, P.G.L.; Chandravanshi, B.S.; Tessema, M. Synthesis, characterization, and preparation of nickel nanoparticles decorated electrochemically reduced graphene oxide modified electrode for electrochemical sensing of diclofenac. *J. Solid State Electrochem.* **2018**, *22*, 3607–3619. [[CrossRef](#)]
2. Valcarcel, Y.; Gonzales Alonso, S.; Rodriguez-Gil, J.L.; Romo Maroto, R.; Gil, A.; Catala, M. Analysis of the presence of cardiovascular and analgesic/anti-inflammatory/antipyretic pharmaceutical in river- and drinking- water of the Madrid Region in Spain. *Chemosphere* **2011**, *82*, 1062–1071. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Kosjek, T.; Heath, E.; Krbavcic, A. Determination of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAIDs) residues in water samples. *Environ. Int.* **2005**, *31*, 679–685. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Rizzo, L.; Meric, S.; Kassinos, D.; Guida, M.; Russo, F.; Belgiorno, V. Degradation of diclofenac by TiO₂ photocatalysis: UV absorbance kinetics and process evaluation through a set of toxicity bioassays. *Water Res.* **2009**, *43*, 979–988. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Taggart, M.A.; Senacha, K.R.; Green, R.E.; Jhala, Y.V.; Raghavan, B.; Rahmani, A.R.; Cuthbert, R.; Pain, D.J.; Meharg, A.E. Diclofenac residues in carcasses of domestic ungulates available to vultures in India. *Environ. Int.* **2007**, *33*, 759–765. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Sanderson, H.; Johnson, D.; Wilson, C.; Brain, R.; Solomon, K. Probabilistic hazard assessment of environmentally occurring pharmaceuticals toxicity to fish, daphnids and algae by ECOSAR screening. *Toxicol. Lett.* **2003**, *144*, 383–395. [[CrossRef](#)]
7. Cleuvers, M. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2004**, *59*, 309–315. [[CrossRef](#)]
8. Pandey, G. Spectrophotometric, chromatographic and spectrofluorometric methods for the determination of diclofenac: A review. *Pharm. Lett.* **2011**, *3*, 257–265.
9. Gouda, A.A.; Kotb El-Sayed, M.I.; Amin, A.S.; Sheikh, R.E.L. Spectrophotometric and spectrofluorometric methods for the determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs: A review. *Arab. J. Chem.* **2013**, *6*, 145–163. [[CrossRef](#)]

10. Heli, H.; Jabbari, A.; Majdi, S.; Mahjoub, M.; Moosavi-Movahedi, A.A.; Sheibani, S.H. Electrooxidation and determination of some non-steroidal anti-inflammatory drugs on nanoparticles of Ni–curcumin-complex-modified electrode. *J. Solid State Electrochem.* **2009**, *13*, 1951–1958. [[CrossRef](#)]
11. Afkhami, A.; Bahiraei, A.; Madrakian, T. Gold nanoparticle/multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode as a sensitive voltammetric sensor for the determination of diclofenac sodium. *Mater. Sci. Eng. C* **2016**, *59*, 168–176. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Arvand, M.; Gholizadeh, T.M.; Zanjanchi, M.A. MWCNTs/Cu(OH)₂ nanoparticles/IL nanocomposite modified glassy carbon electrode as a voltammetric sensor for determination of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. *Mater. Sci. Eng. C* **2012**, *32*, 1682–1689. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Razmi, H.; Sarhang-Zadeh, K.; Mohammad-Rezaei, R. Electrochemical behavior and voltammetric determination of diclofenac at a multi-walled carbon nanotube-ionic liquid composite modified carbon Cceramic electrode. *Anal. Lett.* **2013**, *46*, 1885–1896. [[CrossRef](#)]
14. Karuppiyah, C.; Cheemalapati, S.; Chen, S.M.; Palanisamy, S. Carboxyl-functionalized graphene oxide-modified electrode for the electrochemical determination of nonsteroidal anti-inflammatory drug diclofenac. *Ionics* **2015**, *21*, 231–238. [[CrossRef](#)]
15. Jiokenga, S.L.Z.; Tonlea, I.K.; Walcariusb, A. Amino-attapulgit/mesoporous silica composite films generated by electroassisted self-assembly for the voltammetric determination of diclofenac. *Sens. Actuators B Chem.* **2019**, *287*, 296–305. [[CrossRef](#)]
16. Okoth, O.K.; Yan, K.; Liu, L.; Zhang, J. Simultaneous electrochemical determination of paracetamol and diclofenac based on poly(diallyldimethylammonium chloride) functionalized graphene. *Electroanalysis* **2016**, *28*, 76–82. [[CrossRef](#)]
17. Yang, X.; Wang, F.; Hu, S. Enhanced oxidation of diclofenac sodium at a nano-structured electrochemical sensing film constructed by multi-wall carbon nanotubes–surfactant composite. *Mater. Sci. Eng. C* **2008**, *28*, 188–194. [[CrossRef](#)]
18. Kashefi-Kheyrabadi, L.; Mehrgardi, M.A. Design and construction of a label free aptasensor for electrochemical detection of sodium diclofenac. *Biosens. Bioelectron.* **2012**, *33*, 184–189. [[CrossRef](#)]
19. Kamenická, B.; Bartášková, A.; Švancara, I.; Weidlich, T. Applicability of voltammetric determination of diclofenac at carbon paste electrodes to the analysis of aqueous solutions purified by adsorption and/or ionic liquid based ion exchange. *Mon. Chem.* **2019**, *150*, 429–437. [[CrossRef](#)]
20. Damiri, S.; Oskoei, Y.M.; Fouladgar, M. Highly sensitive voltammetric and impedimetric sensor based on an ionic liquid/cobalt hexacyanoferrate nanoparticle modified multiwalled carbon nanotubes electrode for diclofenac analysis. *J. Exp. Nanosci.* **2016**, *11*, 1384–1401. [[CrossRef](#)]
21. Arvand, M.; Hassannezhad, M. Square wave voltammetric determination of uric acid and diclofenac on multi-walled carbon nanotubes decorated with magnetic core-shell Fe₃O₄@SiO₂ nanoparticles as an enhanced sensing interface. *Ionics* **2015**, *21*, 3245–3256. [[CrossRef](#)]
22. Mokhtaria, A.; Karimi-Malehb, H.; Ensafic, A.A.; Beitollahi, H. Application of modified multiwall carbon nanotubes paste electrode for simultaneous voltammetric determination of morphine and diclofenac in biological and pharmaceutical samples. *Sens. Actuators B Chem.* **2012**, *169*, 96–105. [[CrossRef](#)]
23. Ensafi, A.A.; Izadi, M.; Karimi-Maleh, H. Sensitive voltammetric determination of diclofenac using room-temperature ionic liquid-modified carbon nanotubes paste electrode. *Ionics* **2013**, *19*, 137–144. [[CrossRef](#)]
24. Goodarzian, M.; Khalilzade, M.A.; Karimi, F.; Gupta, V.K.; Keyvanfard, M.; Bagheri, H.; Fouladgar, M. Square wave voltammetric determination of diclofenac in liquid phase using a novel ionic liquid multiwall carbon nanotubes paste electrode. *J. Mol. Liq.* **2014**, *197*, 114–119. [[CrossRef](#)]
25. Pourghobadi, R.; Baezzat, M.R. Silica nanoparticles modified carbon paste electrode as a voltammetric sensor for determination of diclofenac. *Anal. Bioanal. Chem. Res.* **2017**, *4*, 261–268.
26. Chethana, B.K.; Basavanna, S.; Naik, Y.A. Voltammetric determination of diclofenac sodium using tyrosine-modified carbon paste electrode. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2012**, *51*, 10287–10295. [[CrossRef](#)]
27. Blanco-Lopez, M.C.; Fernandez-Llano, L.; Lobo-Castanon, M.J.; Miranda-Ordieres, A.J.; Tunon-Blanco, P. Voltammetry of diclofenac at graphite, carbon Composites, and molecularly imprinted polymer-composite electrodes. *Anal. Lett.* **2004**, *37*, 915–927. [[CrossRef](#)]
28. Goyal, R.N.; Chatterjee, S.; Agrawal, B. Electrochemical investigations of diclofenac at edge plane pyrolytic graphite electrode and its determination in human urine. *Sens. Actuators B Chem.* **2010**, *145*, 743–748. [[CrossRef](#)]

29. Manea, F.; Ihos, M.; Remes, A.; Burtica, G.; Schoonmanc, J. Electrochemical determination of diclofenac sodium in aqueous solution on Cu-doped zeolite-expanded graphite-epoxy electrode. *Electroanalysis* **2010**, *22*, 2058–2063. [[CrossRef](#)]
30. Sarhang-Zadeh, K.; Khatami, A.A.; Jabbari, M.; Bahari, S. Simultaneous determination of diclofenac and indomethacin using a sensitive electrochemical sensor based on multiwalled carbon nanotube and ionic liquid nanocomposite. *J. Appl. Electrochem.* **2013**, *43*, 1217–1224. [[CrossRef](#)]
31. Ihosa, M.; Remesb, A.; Maneab, F. Electrochemical determination of diclofenac using boron-doped diamond Electrode. *J. Environ. Prot. Ecol.* **2012**, *13*, 2096–2103.
32. Yilmaz, B.; Kaban, S.; Akcay, B.K.; Ciltas, U. Differential pulse voltammetric determination of diclofenac in pharmaceutical preparations and human serum. *Braz. J. Pharm. Sci.* **2015**, *51*, 285–294. [[CrossRef](#)]
33. Ciltas, U.; Yilmaz, B.; Kaban, S.; Akcay, B.K.; Nazik, G. Square wave voltammetric determination of diclofenac in pharmaceutical preparations and human serum. *Iran. J. Pharm. Res.* **2015**, *14*, 715–722. [[PubMed](#)]
34. Renedo, O.D.; Alonso-Lomillo, M.A.; Arcos Martinez, M.J. Recent development in the field of screen-printed electrodes and their related applications. *Talanta* **2007**, *73*, 202–219. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Golzari Aqda, T.; Behkami, S.; Bagheri, H. Porous eco-friendly fibers for on-line micro solid-phase extraction of nonsteroidal anti-inflammatory drugs from urine and plasma samples. *J. Chromatogr. A* **2018**, *1574*, 18–26. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Sipa, K.; Brycht, M.; Leniart, A.; Nosal-Wiercińska, A.; Skrzypek, S. Improved electroanalytical characteristics for the determination of pesticide metobromuron in the presence of nanomaterials. *Anal. Chim. Acta* **2018**, *1030*, 61–69. [[CrossRef](#)]
37. Cid-Cerón, M.M.; Guzmán-Hernández, D.S.; Ramírez-Silva, M.T.; Galano, A.; Romero-Romo, M.; Palomar-Pardavé, M. New insights on the kinetics and mechanism of the electrochemical oxidation of diclofenac in neutral aqueous medium. *Electrochim. Acta* **2016**, *199*, 92–98. [[CrossRef](#)]
38. Tyszczyk-Rotko, K.; Pietrzak, K.; Sasal, A. Adsorptive stripping voltammetric method for the determination of caffeine at integrated three-electrode screen-printed sensor with carbon/carbon nanofibers working electrode. *Adsorption* **2019**, *25*, 913–921. [[CrossRef](#)]
39. Laviron, E. General expression of the linear potential sweep voltammogram in the case of diffusionless electrochemical systems. *J. Electroanal. Chem.* **1979**, *101*, 19–28. [[CrossRef](#)]
40. Medsen, K.G.; Skonberg, C.; Jurva, U.; Cornett, C.; Hansen, S.H.; Johansen, T.N.; Olsen, J. Bioactivation of diclofenac in vitro and In Vivo: Correlation to electrochemical studies. *Chem. Res. Toxicol.* **2008**, *21*, 1107–1119. [[CrossRef](#)]
41. Mocak, J.; Bond, A.M.; Mitchell, S.; Scollary, G. A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: Application to voltammetric and stripping techniques. *Pure Appl. Chem.* **1997**, *69*, 297–328. [[CrossRef](#)]



mgr Agnieszka Sasal
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii UMCS
Plac Marii Curie-Skłodowskiej 3,
20-031 Lublin

Lublin, 30.07.2020 r.

Oświadczenie

Oświadczam, że mój wkład w niniejszej pracy:

Agnieszka Sasal, Katarzyna Tyszczyk-Rotko, Magdalena Wójciak, Ireneusz Sowa,
First electrochemical sensor (screen-printed carbon electrode modified with carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes) for ultratrace determination of diclofenac, Materials 13 (2020) 781
DOI: 10.3390/ma13030781

polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji pracy, optymalizacji procedury oznaczania diklofenaku z użyciem sitodrukowanej elektrody węglowej, sprawdzeniu wpływu potencjalnych interferentów na sygnał analityczny oraz zastosowaniu opracowanej procedury do ilościowej analizy diklofenaku w próbkach wód naturalnych oraz opracowaniu uzyskanych wyników.

Udział ten szacuję na **45%**.


mgr Agnieszka Sasal

dr hab. Katarzyna Tyszczyk-Rotko, prof. UMCS

Lublin, 24.07.2020 r.

Katedra Chemii Analitycznej

Instytut Nauk Chemicznych

Wydział Chemii UMCS

Plac Marii Curie-Skłodowskiej 3,

20-031 Lublin

Oświadczenie

Oświadczam, że mój wkład w niniejszej pracy:

**A. Sasal, K. Tyszczyk-Rotko, M. Wójciak, I. Sowa, *First electrochemical sensor (screen-printed carbon electrode modified with carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes) for ultratrace determination of diclofenac*, Materials 13 (2020) 781
DOI: 10.3390/ma13030781**

polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji pracy, merytorycznym nadzorze nad badaniami doświadczalnymi realizowanymi w ramach niniejszej pracy oraz współudziale opracowaniu otrzymanych wyników i przygotowaniu rękopisu.

Udział ten szacuję na **40%**.

dr hab. Katarzyna Tyszczyk-Rotko, prof. UMCS

prof. dr hab. n. med. Magdalena Wójciak
Zakład Chemii Analitycznej
Katedra Chemii
Uniwersytet Medyczny
ul. Chodźki 4a
20-093 Lublin

Lublin, 31.07.2020 r.

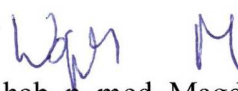
Oświadczenie

Oświadczam, że mój wkład w niniejszej pracy:

Agnieszka Sasal, Katarzyna Tyszczyk-Rotko, Magdalena Wójciak, Ireneusz Sowa,
First electrochemical sensor (screen-printed carbon electrode modified with carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes) for ultratrace determination of diclofenac, Materials 13 (2020) 781-795, DOI: 10.3390/ma13030781

polegał na optymalizacji chromatograficznej procedury oznaczania diklofenaku w próbkach wód, współudziale w oznaczeniach diklofenaku w próbkach wód z wykorzystaniem HPLC/PAD oraz współudziale w opracowaniu i opisie otrzymanych wyników.

Udział ten szacuję na **10%**.


prof. dr hab. n. med. Magdalena Wójciak

prof. dr hab. n. farm. Ireneusz Sowa
Zakład Chemii Analitycznej
Katedra Chemii
Uniwersytet Medyczny
ul. Chodźki 4a
20-093 Lublin

Lublin, 31.07.2020 r.

Oświadczenie

Oświadczam, że mój wkład w niniejszej pracy:

Agnieszka Sasal, Katarzyna Tyszczuk-Rotko, Magdalena Wójciak, Ireneusz Sowa,
First electrochemical sensor (screen-printed carbon electrode modified with carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes) for ultratrace determination of diclofenac, Materials 13 (2020) 781-795, DOI: 10.3390/ma13030781

polegał na współudziale w oznaczeniach diklofenaku w próbkach wód z wykorzystaniem HPLC/PAD oraz współudziale w opracowaniu i opisie otrzymanych wyników.

Udział ten szacuję na **5%**.



prof. dr hab. n. farm. Ireneusz Sowa

Publikacja 4

A. Sasal, K. Tyszczuk-Rotko, M. Wójciak, I. Sowa, M. Kuryło, *Simultaneous analysis of paracetamol and diclofenac using MWCNTs-COOH modified screen-printed carbon electrode and pulsed potential accumulation*, Materials, 13 (14) (2020) 3091.

Article

Simultaneous Analysis of Paracetamol and Diclofenac Using MWCNTs-COOH Modified Screen-Printed Carbon Electrode and Pulsed Potential Accumulation

Agnieszka Sasal ¹, Katarzyna Tyszczyk-Rotko ^{1,*} , Magdalena Wójciak ², Ireneusz Sowa ^{2,*}  and Michał Kuryło ³

¹ Faculty of Chemistry, Institute of Chemical Sciences, Maria Curie-Skłodowska University in Lublin, 20-031 Lublin, Poland; agnieszkaszlagierek@gmail.com

² Department of Analytical Chemistry, Medical University of Lublin, 20-093 Lublin, Poland; kosiorma@wp.pl

³ Municipal Water Supply & Waste Water Treatment Company Ltd., Central Laboratory, 20-245 Lublin, Poland; michal.kurylo@wp.pl

* Correspondence: ktyszczyk@poczta.umcs.lublin.pl (K.T.-R.); i.sowa@umlub.pl (I.S.)

Received: 29 May 2020; Accepted: 6 July 2020; Published: 10 July 2020



Abstract: A differential-pulse adsorptive stripping voltammetric (DPAdSV) procedure with the use of pulsed potential accumulation and carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes modified screen-printed carbon electrode (SPCE/MWCNTs-COOH) was delineated for simultaneous analysis of paracetamol (PA) and diclofenac (DF). The use of carboxyl functionalized MWCNTs and pulsed potential accumulation improves the analytical signals of PA and DF, and minimizes interferences from surfactants. After optimization of analytical conditions for this sensor, the peak currents of the two compounds were found to increase linearly with the increase in their concentration (5.0×10^{-9} – 5.0×10^{-6} mol L⁻¹ with a detection limit of 1.4×10^{-9} mol L⁻¹ for PA, and 1.0×10^{-10} – 2.0×10^{-8} mol L⁻¹ with a detection limit of 3.0×10^{-11} mol L⁻¹ for DF). For the first time, the electrochemical sensor allows simultaneous determination of PA and DF at concentrations of 24.3 ± 0.5 nmol L⁻¹ and 3.7 ± 0.7 nmol L⁻¹, respectively, in wastewater samples purified in a sewage treatment plant.

Keywords: carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes modified screen-printed carbon electrode; paracetamol and diclofenac; pulsed potential accumulation, voltammetry; environmental water and sewage samples; direct analysis; liquid chromatography

1. Introduction

Paracetamol (PA) is a very popular drug with an antipyretic effect, caused by inhibition of prostaglandin synthesis in the central nervous system. PA has potent antipyretic and analgesic effects, but no anti-inflammatory effect. Indications for administration of the drug include fever and acute and chronic pain. PA is recommended by the World Health Organization as one of the basic drugs in the treatment of pain during cancer. In addition, it is used for headaches, including migraine, earaches, toothaches, menstruation, and neuralgia, as well as rheumatic, myofascial, bone, postoperative, and other pains [1,2].

Diclofenac (DF) belongs to the group of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Thanks to its chemical structure, it is classified as a phenylacetic acid derivative. DF exhibits activities characteristic of the NSAID group, that is, anti-inflammatory, analgesic, antipyretic, and inhibiting platelet aggregation. The basis of the mechanism of action is inhibition of cyclooxygenase, an enzyme involved in the synthesis of prostaglandins from cell membrane lipids. DF is used to treat inflammation

and rheumatic (including rheumatoid arthritis) and non-rheumatic pain (including postoperative and traumatic pains, gout attacks, renal and hepatic colic, and dysmenorrhea) [3,4].

The constantly growing production of medicines adversely affects the natural environment, primarily polluting water reservoirs. As studies show [5,6], after leaving a sewage treatment plant, the water still contains numerous active substances of pharmaceutical preparations, which then end up in the natural environment. The presence of commonly used pharmaceuticals in water ecosystems poses a threat to fish and other water organisms, as well as for human and animal health. DF and PA are some of the most commonly found drugs in environmental water samples and their concentrations are about 10^{-11} – 10^{-8} and 10^{-9} – 10^{-8} mol L⁻¹, respectively [7,8].

There are many methods in the literature describing the simultaneous analysis of PA and DF. These are chromatographic methods based on high performance liquid chromatography [9–12] and gas chromatography with mass spectroscopy [13], as well as spectrophotometry [14] and electrophoresis [15,16]. However, these methods usually require a time- and reagent-consuming step of sample preparation process for determination of low concentration of PA and DF in samples.

Electrochemical methods, which are cheap, simple, fast, and environmentally friendly because they consume very small amounts of chemical reagents, are an alternative to these methods. According to the best of our knowledge, in the literature, there are only three works about the application of voltammetric sensors for the simultaneous determination of PA and DF, which are based on the use of glassy-carbon electrodes modified with 4-phosphatephenyl [17] or polymer functionalized graphene [18,19]. Only one of them [18] shows the use of an electrochemical sensor for the simultaneous determination of PA and DF in water samples. Unfortunately, PA and DF were determined in spiked lake water samples at concentrations (around 10^{-5} mol L⁻¹) much higher than those actually present in environmental samples given that the obtained values for the limit of detection of PA and DF were 2.2×10^{-7} and 6.1×10^{-7} mol L⁻¹, respectively.

Electrochemical sensors based on screen-printing technology are a good solution for quick and routine tests both in the laboratory and directly in the environment. Screen-printed electrodes are cheap and ready-made systems with various modifications, and they are easily available commercially. Purchased electrochemical sensors do not require additional modifications; are immediately ready for use; and are characterized by high selectivity, sensitivity, and reproducibility [2,4].

The sales dynamics of pharmaceuticals confirm the growing problem of contamination of the water environment. This makes monitoring the water environment for the presence and content of residues of pharmaceuticals a significant issue for contemporary analytical chemistry. The goal of this work was to show the voltammetric procedure for the simultaneous analysis of a low concentration of DF and PA in environmental water and sewage samples using a screen-printed sensor without the sample pre-treatment step. Additionally, for the first time, in order to improve PA and DF analytical signals as well as to minimize interferences from surfactants, pulsed potential accumulation was applied.

2. Materials and Methods

2.1. Instrumentations

Cyclic voltammetric (CV) and differential-pulse adsorptive stripping voltammetric (DPAdSV) studies were carried using an electrochemical analyzer (μ Autolab, Eco Chemie, Utrecht, Netherland) managed by GPES 4.9 software. All electrochemical experiments were performed in a 10 mL classic cell with commercially available carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes modified screen-printed carbon electrodes (SPCE/MWCNTs-COOH, DropSens, Llanera, Spain, Ref. 110CNT). This three-electrode system contained of a screen-printed carbon electrode covered by carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes (working electrode with a diameter of 4 mm), SPCE (auxiliary electrode), and a screen-printed silver electrode (pseudo-reference electrode). The results at the SPCE/MWCNTs-COOH were compared to those obtained using a commercially available screen-printed carbon electrode (SPCE, DropSens, Llanera, Spain, Ref. C110) and a commercially

available screen-printed carbon/carbon nanofibers electrode (SPCE/CNFs, DropSens, Llanera, Spain, Ref. 110CNF).

The microscopic images of the SPCE/MWCNTs-COOH sensor surface were recorded using an optical microscope and a high-resolution scanning electron microscope Quanta 3D FEG (FEI, Hillsboro, OR, USA).

VWR Hitachi Elite LaChrom HPLC system equipped with a spectrophotometric detector (PAD) and EZChrom Elite software (version 3.3.2 SP2, Merck, Darmstadt, Germany) was used for chromatographic analysis. The XB-C18 reversed phase core-shell column (Kinetex, Phenomenex, Aschaffenburg, Germany) (25 cm $\times$ 4.6 mm i.d., 5 μ m particle size) was used in HPLC-PAD measurements.

2.2. Chemicals

The reagents purchased from the company Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA), paracetamol sulfate potassium salt (PA) and 2-[(2,6-dichlorophenyl)amino]benzeneacetic acid sodium salt (DF), were dissolved in distilled water to prepare 0.01 mol L⁻¹ solutions of PA and DF, respectively. According to needs, these solutions were diluted using distilled water. During the tests, the following supporting electrolyte solutions were used: acetic acid, acetate buffer (CH₃COONa + CH₃COOH) with pH values of 3.4 $\pm$ 0.1, 3.8 $\pm$ 0.1, 4.0 $\pm$ 0.1, 4.4 $\pm$ 0.1, 5.0 $\pm$ 0.1, 5.4 $\pm$ 0.1, and 6.0 $\pm$ 0.1, prepared from Sigma-Aldrich reagents. The standard solutions of uric acid, urea, ascorbic acid, glucose, and dopamine (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA), as well as Cu²⁺, Fe³⁺, Cd²⁺, Mo⁶⁺, Ni²⁺, Pb²⁺, Zn²⁺, Sb³⁺, V⁵⁺, K⁺, Na⁺, Cl⁻, SO₄²⁻, PO₄³⁻, and NO₃⁻ (Merck, Darmstadt, Germany), were used in interference studies. The influence of Triton X-100 was investigated based on a reagent obtained from Fluka (Charlotte, NC, USA). HPLC-grade acetonitrile and trifluoroacetic acids (TFAs) were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Ultrapurified water (>18 M Ω cm, Milli-Q system, Millipore, UK) was used for the preparation of solutions.

2.3. DPAdSV Procedure

Under optimized conditions, differential-pulse adsorptive stripping voltammetric determinations of PA and DF were performed in 0.15 mol L⁻¹ acetate buffer (pH of 4.0 $\pm$ 0.1) using pulsed potential accumulation (Figure 1). The procedure consisting of a 1 s accumulation period at a potential of 0.1 V (the anodic pulse) and a 1 s accumulation period at a potential of -0.25 V (the cathodic pulse) was repeated 30 times. The differential-pulse scans from -0.25 to -0.254 V with an amplitude (*A*) of 150 mV, a modulation time (*t_m*) of 20 ms, and a scan rate (*v*) of 150 mV s⁻¹ were recorded after 29 accumulation cycles. In the last cycle, the differential-pulse scan from -0.25 to 1.5 V was recorded with the parameters described above.

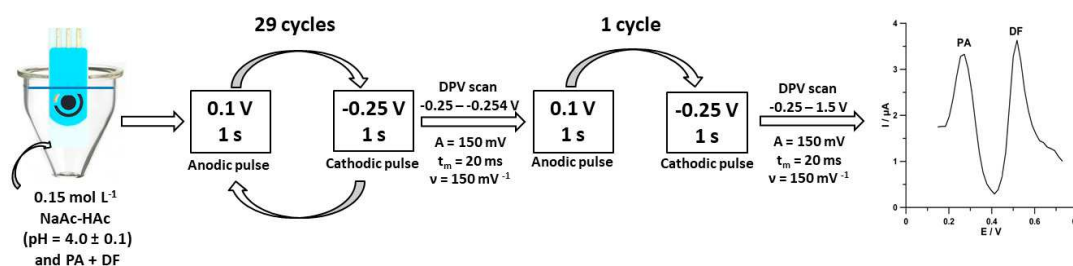


Figure 1. Scheme of voltammetric measurements of paracetamol (PA) and diclofenac (DF) at the SPCE/MWCNTs-COOH.

2.4. HPLC/PAD Procedure

The chromatographic analysis was based on literature data [20] with a slight modification of the eluent composition. A mixture of acetonitrile and water with 0.025% of trifluoroacetic acid in proportion of 60:40 v/v for DF and 15:85 v/v for PA was used in analysis. The flow rate of the mobile

phase was 1.0 mL min^{-1} and the temperature of the thermostat was set to 25°C . Injection volumes were $80 \text{ }\mu\text{L}$. All samples were analysed at a wavelength of 276 nm for DF and 248 nm for PA ($n = 3$).

2.5. Direct Analysis of Water Samples

The Bystrzyca river water samples (Lublin, Poland) and waste effluents purified in a sewage treatment plant (Lublin, Poland) were analyzed using the voltammetric and chromatographic methods. The samples were directly analyzed without sample pretreatment procedure.

3. Results and Discussion

3.1. Screen-Printed Electrode Selection and Surface Studies

In order to compare the PA ($2.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) and DF ($2.0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$) signals at commercially available screen-printed carbon sensors (screen-printed carbon electrode, SPCE; carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes modified SPCE, SPCE/MWCNTs-COOH; carbon nanofibers modified SPCE, SPCE/CNFs), the differential-pulse adsorptive stripping voltammetric curves were registered (Figure 2). PA and DF were accumulated at a constant value of potential of -0.25 V ($E_{acc.}$) for 60 s ($t_{acc.}$). The results demonstrated the small peaks of PA ($2.1 \text{ }\mu\text{A}$) and DF ($1.0 \text{ }\mu\text{A}$) at the SPCE (curve a). When the surface of the working electrode was coated with carbon nanofibers (curve b), the PA peak current was grown to $5.8 \text{ }\mu\text{A}$, but the DF signal was ill-defined ($0.12 \text{ }\mu\text{A}$). The CNTs blocked the active surface of electrode for the DF molecules. In the case of the SPCE modified with MWCNTs-COOH, two well-defined peaks of PA ($5.0 \text{ }\mu\text{A}$) and DF ($2.3 \text{ }\mu\text{A}$) are visible (curve c). Moreover, the lowest background current was obtained at the SPCE/MWCNTs-COOH. It is obvious that, in the case of simultaneous determination of PA and DF, the SPCE/MWCNTs-COOH should be chosen. However, for the individual PA determination, the SPCE/CNFs should be used. These results perfectly confirm our previous research already described in the literature [2,4]. In the next step of the experiments, attempts were made to explain these differences between the size of PA and DF signals at the electrodes.

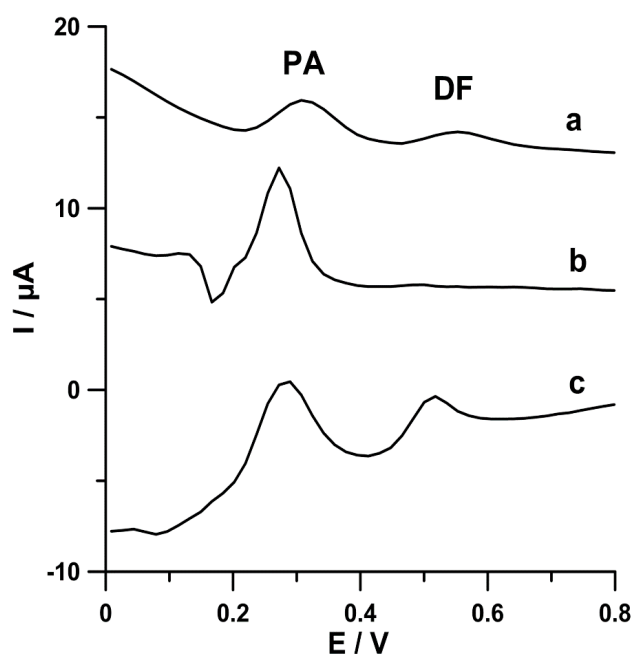


Figure 2. Differential-pulse adsorptive stripping voltammetric (DPAdSV) curves of PA ($2.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) and DF ($2.0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$) in 0.1 mol L^{-1} acetate buffer solution of $\text{pH } 4.0 \pm 0.1$ at SPCE (a), carbon nanofibers modified SPCE (SPCE/CNFs) (b), and SPCE/MWCNTs-COOH (c). The DPAdSV parameters are as follows: $E_{acc.}$ -0.25 V , $t_{acc.}$ 60 s , A 125 mV , t_m 10 ms , and ν 175 mV s^{-1} .

In the previously published papers [4], the electrochemical properties of SPCE and SPCE/MWCNTs-COOH were tested using CV studies in a solution of 0.1 mol L^{-1} KCl and $5.0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. However, the electrochemical properties SPCE/CNFs were not studied. Therefore, the active surface of SPCE/CNFs was examined using CV in a solution of 0.1 mol L^{-1} KCl and $5.0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. The cyclic voltammograms were recorded at different scan rates in the range from 5 to 500 mV s^{-1} (Figure 3A). The peak-to-peak separation (ΔE) for the SPCE/CNFs was estimated for the selected scan rate (175 mV s^{-1}) as $169.0 \pm 1.7 \text{ mV}$ ($n = 3$). The results indicate the improvement of the reversibility process using CNFs-modified and especially MWCNT-COOH ($\Delta E = 149.0 \pm 1.5 \text{ mV}$) electrodes in comparison with the unmodified SPCE ($189.0 \pm 1.9 \text{ mV}$) [4]. The dependence between anodic peak currents (I_p) and square root of the scan rates ($v^{1/2}$) was plotted (Figure 3B). On the basis of the Randles–Sevcik equation [21], the active surface area (A_s) of the SPCE/CNFs was calculated. It should be mentioned that the geometric surfaces of all electrodes are the same. For the unmodified SPCE and SPCE/MWCNTs-COOH, the A_s equals $0.061 \pm 0.00058 \text{ cm}^2$ ($n = 3$) and $0.10 \pm 0.00097 \text{ cm}^2$ ($n = 3$) [4], respectively, while the area of SPCE/CNFs was calculated to be $0.08090 \pm 0.0014 \text{ cm}^2$ ($n = 3$). The results show that the SPCE/MWCNTs-COOH has a greater number of active centers than the unmodified SPCE and the SPCE/CNFs. These results explain the enhancement of PA and DF signals in relation to the SPCE, and the DF signal in relation to the SPCE/CNFs. Moreover, DF may have a higher affinity to the SPCE/MWCNTs-COOH surface than SPCE/CNTs and SPCE owing to the surface functionalization with carboxyl (hydrophilic) groups. A slight difference in the peak current of PA at the SPCE/CNFs and SPCE/MWCNTs-COOH ($5.8 \mu\text{A}$ vs. $5.0 \mu\text{A}$, respectively) is owing to the fact that the SPCE/CNTs surface better facilitates the adsorption of PA. The electrochemical oxidation process of PA at the SPCE/CNFs surface is purely adsorption-controlled [2]. However, the goal of this work was to show the voltammetric procedure for the simultaneous analysis of DF and PA, and thus the SPCE/MWCNTs-COOH was chosen for further electrochemical study.

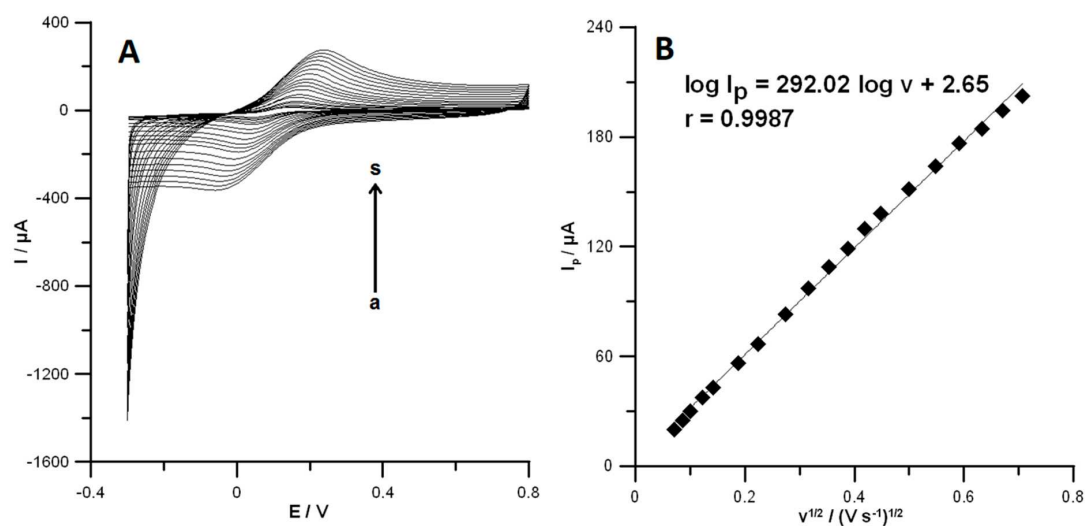


Figure 3. (A) Cyclic voltammetric (CV) curves obtained in solution containing 0.1 mol L^{-1} KCl and $5.0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ at the SPCE/CNFs for the scan rate range from 5 to 500 mV s^{-1} (a–s). (B) The dependence between anodic peak current and scan rate square roots for SPCE/CNFs.

The selected three-electrode system surface consisting of an SPCE/MWCNTs-COOH (working electrode, a), an SPCE (auxiliary electrode, b), and an SPAgE (pseudo-reference electrode, c) was visualized by optical and scanning electron microscopes (Figure 4). It is apparent that the MWCNTs-COOH adheres to the carbon and is distributed homogeneously on the surface [4].

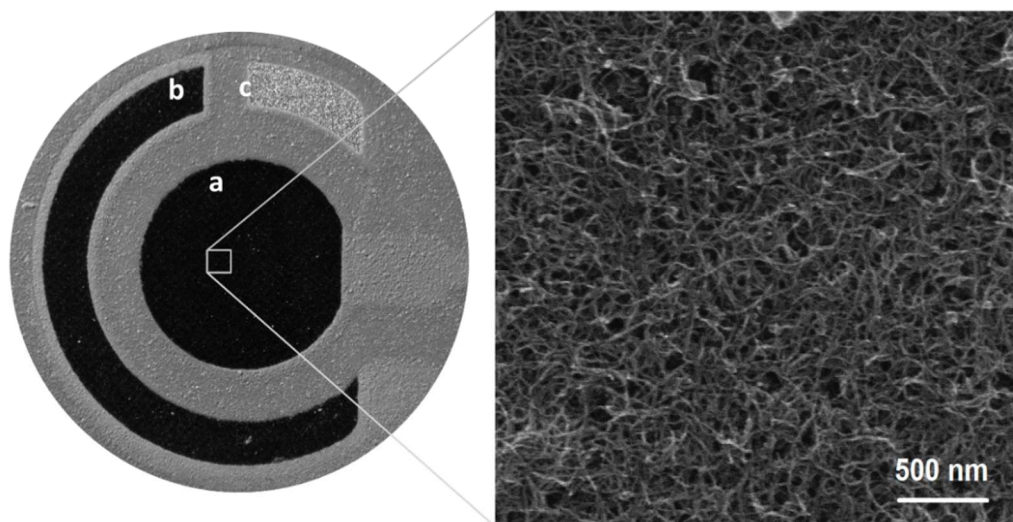


Figure 4. Optical (left side) and scanning electron microscopic (right side) images of SPCE/MWCNTs-COOH surface.

3.2. Effect of pH

The supporting electrolyte pH influences the peak potential and current as well as the shapes of the signals of biologically active compounds. Therefore, choosing an appropriate pH value is an important step during the optimization procedure. Here, 0.1 mol L⁻¹ solutions of acetic acid and acetate buffer solutions with pH values of 3.4 ± 0.1 , 3.8 ± 0.1 , 4.0 ± 0.1 , 4.4 ± 0.1 , 5.0 ± 0.1 , 5.4 ± 0.1 , and 6.0 ± 0.1 containing PA (1.0×10^{-6} mol L⁻¹) and DF (1.0×10^{-9} and 1.0×10^{-8} mol L⁻¹) were examined. The results indicate that the potential peaks of PA and DF shifted to less positive values as pH increased (Figure 5A), indicating that protons were directly involved in the electrode reaction. Additionally, in Figure 5B, the relationships between potential peaks of PA and DF and pH are shown. As can be seen, the slopes of -45.0 mV pH⁻¹ (for PA) and -52.0 mV pH⁻¹ (for DF) were close to the theoretical value of -59.0 mV pH⁻¹. These results indicate that the number of protons and transferred electrons involved in the oxidation mechanism of PA and DF is equal [21]. As PA and DF oxidation is a two-electron process the number of protons was also predicted to be 2, indicating the $2e^-/2H^+$ process. DF is oxidized to 5-hydroxydiclofenac (Figure 5C) and PA to N-acetyl-p-quinoneimine (Figure 5D) [22,23].

Furthermore, it was observed that the peak current of PA and DF increased with increasing pH value to 4.0, and then the anodic peaks decreased (Figure 5E). Therefore, the acetate buffer solution of pH 4.0 was chosen as the supporting electrolyte in the simultaneous PA and DF determination. Moreover, it was found that the highest values of PA and DF signals were attained at 0.15 mol L⁻¹ concentration of acetate buffer solution of pH 4.0, and hence it was further used (Figure 5F).

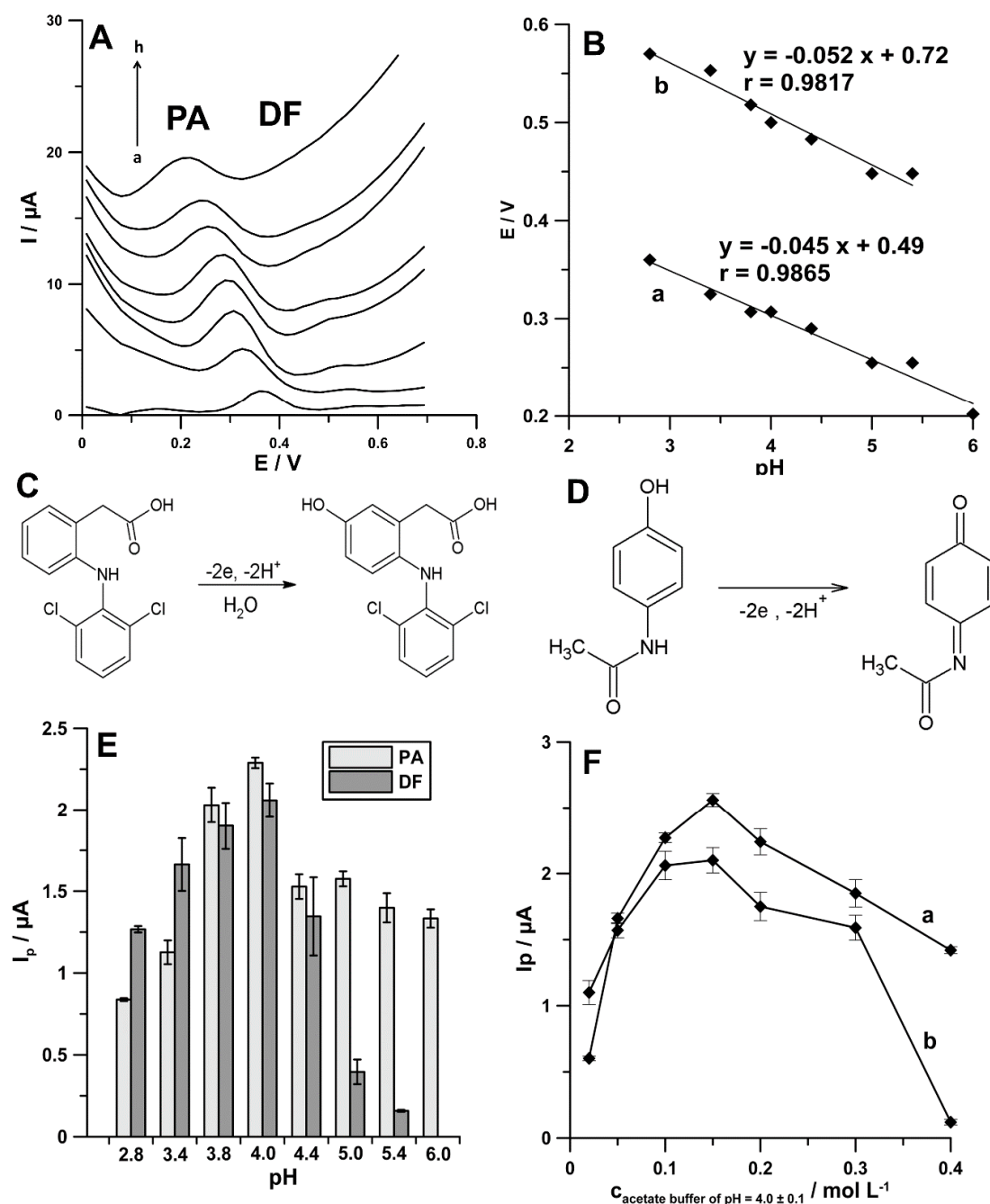


Figure 5. (A) DPAdSV curves recorded in 0.1 mol L^{-1} solutions of acetic acid (a), acetate buffer solution with pH values of 3.4 ± 0.1 (b), 3.8 ± 0.1 (c), 4.0 ± 0.1 (d), 4.4 ± 0.1 (e), 5.0 ± 0.1 (f), 5.4 ± 0.1 (g), and 6.0 ± 0.1 (h) containing PA ($1.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) and DF ($1.0 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$). (B) The relationships between potential peaks of PA (a) and DF (b) and pH. Oxidation mechanisms of DF (C) and PA (D). Effect of different pH values (E) and the concentration of acetate buffer solution of pH 4.0 (F) on the $1.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ PA (a) and $1.0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ DF (b) current responses.

3.3. Accumulation of PA and DF at SPCE/MWCNTs-COOH and Sensor Selectivity

The electrochemical responses of PA ($1.0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$) and DF ($1.0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) at the SPCE/MWCNTs-COOH in the 0.15 mol L^{-1} acetate buffer solution of pH 4.0 were characterized by the CV technique. The scan rate was changed in the range of $5\text{--}350 \text{ mV s}^{-1}$. On the basis of the obtained results (Figure 6A), it can be said that both PA and DF are irreversibly oxidized, giving rise to oxidation

peaks at potentials around 330 and 550 mV, respectively, when the sweep was initiated in the positive direction. As can be seen, the oxidation peak potential of PA and DF shifted toward more positive values with the increasing scan rate. This confirms that PA and DF are irreversibly oxidized. Other peaks at less positive potentials are related to the formation of electrochemically active oxidation products of DF [4].

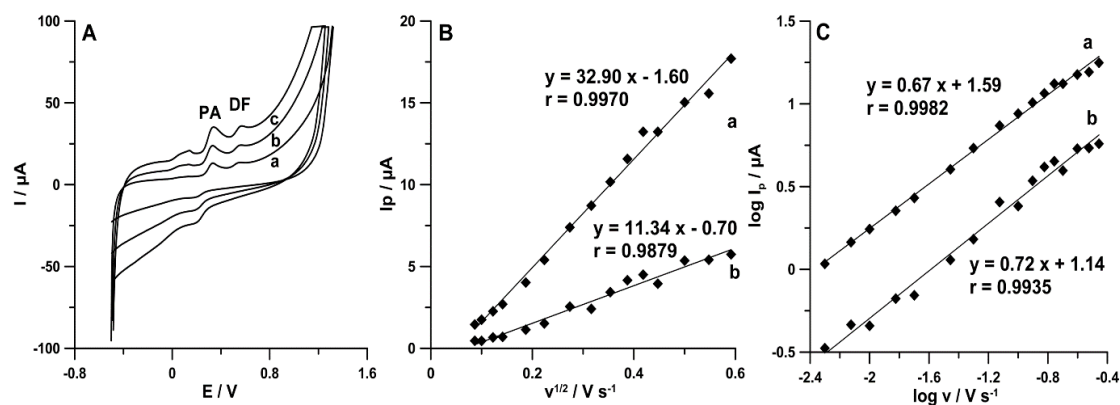


Figure 6. (A) CV curves recorded in the 0.15 mol L⁻¹ acetate buffer solution of pH 4.0 containing 1.0×10^{-4} mol L⁻¹ PA and 1.0×10^{-6} mol L⁻¹ DF at *v* equal to (a) 50, (b) 100, and (c) 175 mV s⁻¹. The dependence between (B) *I*_p and *v*^{1/2} and (C) log *I*_p and log *v* for PA (a) and DF (b).

As can be seen in Figure 6B, the linear relationships between the PA and DF peak current (*I*_p) and the square root of scan rate (*v*^{1/2}) indicated that the oxidation processes of PA ($r = 0.9970$) and DF ($r = 0.9879$) are controlled by diffusion at the SPCE/MWCNTs-COOH. However, the curve slopes of 0.67 (for PA) and 0.72 (for DF) observed in the plot of log *I*_p versus log *v* (Figure 6C) indicate that these processes are not purely diffusion- or adsorption-controlled [24]. Therefore, in the next step of the experiments, the effect of accumulation potential (*E*_{acc.}) was tested.

The effects of *E*_{acc.} at the SPCE/MWCNTs-COOH surface were studied in the mixed solution of PA (1.0×10^{-6} mol L⁻¹) and DF (1.0×10^{-8} mol L⁻¹). Keeping the accumulation time (*t*_{acc.}) as 60 s, the dependence of stripping peak current on *E*_{acc.} was evaluated over the potential range of 0.25 to −1.25 V. The peak current of PA and DF reached maximum at *E*_{acc.} of −0.25 V. This value of potential was chosen for further experiments. However, the constant value of potential was changed to pulsed potential accumulation.

In voltammetric procedures, even a low concentration of surface active substances can foul and passify the electrode, causing a decrease or total decay of the analytical signal. UV irradiation or microwave heating before determination are recommended for elimination of this type of interference. However, such a process makes the procedures lengthy, complicated, and more expensive; requires additional apparatus; and cannot be used in field analysis. The literature also lists different simple and cheap ways for solving the problem with the organic matrix of natural water samples, namely application of potential pulses for accumulation. In addition, this way for the minimization of interferences can be applied outside laboratories. The potential of cathode pulses was chosen in a way that made it represent the maximum adsorption of the determined element and the potential of anode pulses to desorb the interfering surfactants [25,26]. Therefore, the procedure consisting of a 1 s accumulation period at a potential of 0.1 V (the anodic pulse) and a 1 s accumulation period at a potential of −0.25 V (the cathodic pulse) was proposed for simultaneous determination of PA (1.0×10^{-6} mol L⁻¹) and DF (1.0×10^{-8} mol L⁻¹). The differential-pulse scans from −0.25 to −0.254 V with an amplitude (*A*) of 150 mV, a modulation time (*t*_m) of 20 ms, and a scan rate (*v*) of 150 mV s⁻¹ were recorded after 59 accumulation cycles. In the last cycle, the differential-pulse scan from −0.25 to 1.5 V was recorded with the parameters described above. Additionally, the procedure with a constant value of accumulation potential of −0.25 V for 60 s as well as the procedure consisting of a

1 s accumulation period at a potential of -0.25 V (the cathodic pulse) and the anodic pulse with the differential-pulse scan from -0.25 to 0.1 V ($n_{cycles} = 60$) were applied. As can be seen in Figure 7A, the application procedure with pulsed potential accumulation (60-times pulses of 0.1 V for 1 s and -0.25 V for 1 s) improves both PA and DF analytical signals. To reduce the analysis time, the effect of number of cycles (n_{cycles}) on the peak current of PA (1.0×10^{-6} mol L $^{-1}$) and DF (1.0×10^{-8} mol L $^{-1}$) was studied. Figure 7B shows the obtained results. For further experiments, the number of cycles was reduced to 30, as a compromise between the decrease in PA peak current and the increase in DF peak current.

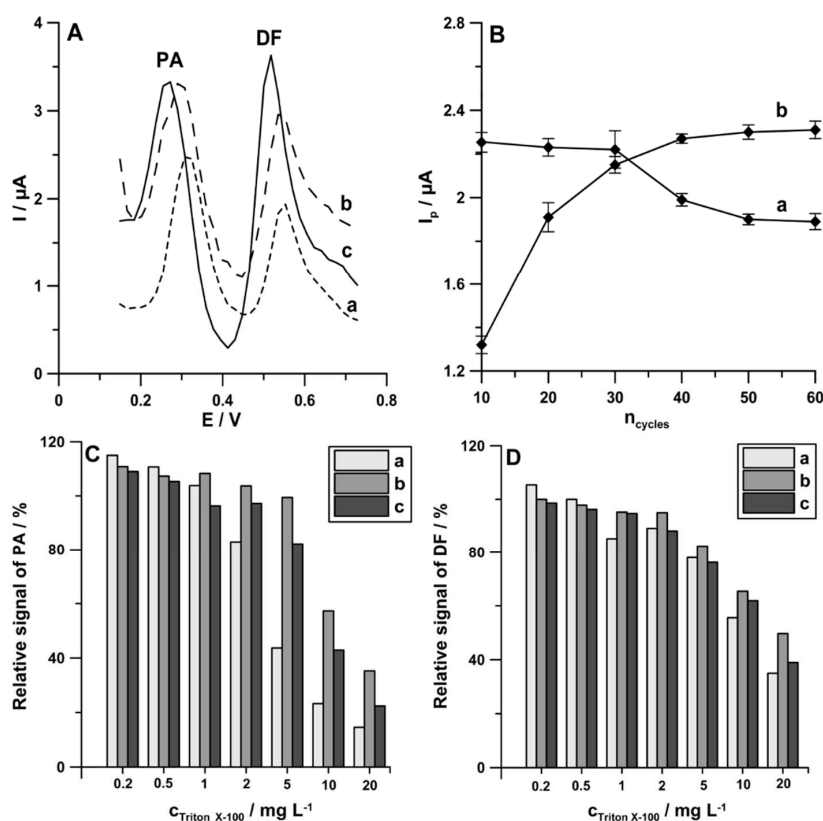


Figure 7. (A) DPAdSV curves registered in the solution containing PA (1.0×10^{-6} mol L $^{-1}$) and DF (1.0×10^{-8} mol L $^{-1}$) using the following: (a) accumulation potential of -0.25 V for 60 s; (b) a 1 s accumulation period at a potential of potential of -0.25 V and the anodic pulse with the differential-pulse scan from -0.25 to 0.1 V ($n_{cycles} = 60$); (c) a 1 s accumulation period at a potential of 0.1 V and a 1 s accumulation period at a potential of -0.25 V ($n_{cycles} = 60$). (B) Effect of n_{cycles} on 1.0×10^{-6} mol L $^{-1}$ PA (a) and 1.0×10^{-8} mol L $^{-1}$ DF (b) current responses. Relative signals of 1.0×10^{-6} mol L $^{-1}$ PA (C) and 1.0×10^{-8} mol L $^{-1}$ DF (D) in the presence of increasing concentration of Triton X-100 with the parameters described in Figure 6A (curve c).

According to the literature data, natural waters contain surfactants with the surface active effect similar to the effect induced by 0.2 to 2 ppm Triton X-100 [26]. Therefore, the effect of the use of pulsed potential accumulation of PA (1.0×10^{-6} mol L $^{-1}$) and DF (1.0×10^{-8} mol L $^{-1}$) on the minimization of interferences from surfactants was studied on the example of Triton X-100. As can be seen in Figure 7C,D, the application procedures with pulsed potential accumulation (b and c bars), compared with the application of a constant value of accumulation potential (a bars), contribute to the minimization of interferences from Triton X-100, particularly with regard to PA at a concentration of 2 ppm and upwards.

In summary, it can be stated that, in order to improve PA and DF analytical signals, as well as to minimize interferences from surfactants, pulsed potential accumulation can be applied. To our

knowledge, this is the first time these two goals were achieved using pulsed potential accumulation. For further experiments, as a compromise between peak current and minimizing interference, the procedure consisting of a 1 s accumulation period at a potential of 0.1 V and a 1 s accumulation period at a potential of -0.25 V ($n_{cycles} = 30$) was applied for the simultaneous determination of PA and DF.

It should be mentioned that the signals of PA and DF in the presence of other than Triton X-100 interferences found in environmental water samples were also studied. The tolerance limit was defined as the concentration that gives an error of $\leq 10\%$ in the determination of 1.0×10^{-6} mol L $^{-1}$ PA and 1.0×10^{-8} mol L $^{-1}$ DF. It was noticed that uric acid (50-fold excess), urea (50-fold excess), ascorbic acid (100-fold excess), glucose (100-fold excess), dopamine (2-fold excess), Cu $^{2+}$ (10-fold excess), Fe $^{3+}$ (50-fold excess), Cd $^{2+}$ (10-fold excess), Mo $^{6+}$ (100-fold excess), Ni $^{2+}$ (500-fold excess), Pb $^{2+}$ (100-fold excess), Zn $^{2+}$ (500-fold excess), Sb $^{3+}$ (100-fold excess), V $^{5+}$ (50-fold excess), K $^{+}$ (100-fold excess), Na $^{+}$ (100-fold excess), Cl $^{-}$ (100-fold excess), SO $_4^{2-}$ (50-fold excess), PO $_4^{3-}$ (500-fold excess), and NO $_3^{-}$ (5000-fold excess) have a negligible effect on the assay of PA. Moreover, uric acid (5000-fold excess), urea (5000-fold excess), ascorbic acid (1000-fold excess), glucose (1000-fold excess), dopamine (1000-fold excess), Cu $^{2+}$ (1000-fold excess), Fe $^{3+}$ (5000-fold excess), Cd $^{2+}$ (1000-fold excess), Mo $^{6+}$ (5000-fold excess), Ni $^{2+}$ (1000-fold excess), Pb $^{2+}$ (5000-fold excess), Zn $^{2+}$ (5000-fold excess), Sb $^{3+}$ (10000-fold excess), V $^{5+}$ (1000-fold excess), K $^{+}$ (5000-fold excess), Na $^{+}$ (5000-fold excess), Cl $^{-}$ (5000-fold excess), SO $_4^{2-}$ (1000-fold excess), PO $_4^{3-}$ (50000-fold excess), and NO $_3^{-}$ (5000-fold excess) have a negligible effect on the assay of DF.

Furthermore, the influence of A on the analytical signals of PA (1.0×10^{-6} mol L $^{-1}$) and DF (1.0×10^{-8} mol L $^{-1}$) was examined from 25 to 175 mV (ν of 175 mV s $^{-1}$ and t_m of 10 ms). The highest peaks of both analytes were registered at A of 150 mV (Figure 8A). Next, the influence of ν (50–175 mV s $^{-1}$) on the PA and DF peak current (A of 150 mV and t_m of 10 ms) was tested. As can be seen in Figure 8B, the maximum values of PA and DF peak current were achieved at ν of 150 mV s $^{-1}$. Additionally, t_m was tested in the range of 2–60 ms (A of 150 mV and ν of 150 mV s $^{-1}$). The highest signals of PA and DF were obtained for t_m of 20 ms (Figure 8C).

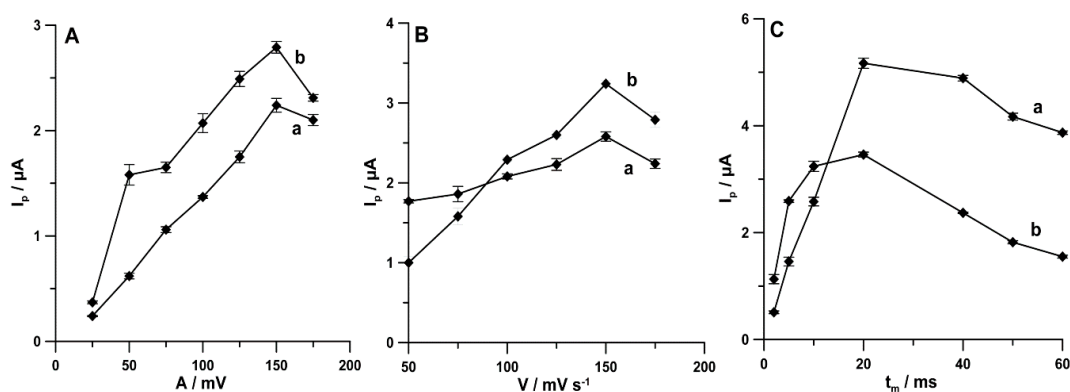


Figure 8. Effect of (A) A (25–170 mV), (B) ν (50–175 mV s $^{-1}$), and (C) t_m (2–60 ms) on PA (1.0×10^{-6} mol L $^{-1}$) and DF (1.0×10^{-8} mol L $^{-1}$). The DPAdSV parameters are as follows: E_{acc} of 0.1 for 1 s and -0.25 V for 1 s, $n_{cycles} = 30$, ν of 175 mV s $^{-1}$, and t_m of 10 ms (A); A of 150 mV and t_m of 10 ms (B); and A of 150 mV and ν of 150 mV s $^{-1}$ (C).

3.4. The Linear Ranges, Limit of Detection (LOD), and Limit of Quantification (LOQ)

Figure 9 shows the DPAdSV curves and linear ranges of calibration plots obtained under optimized conditions during individual determination of PA and DF as well as during simultaneous determination of these compounds. The results are summarized in Table 1. The limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) obtained during simultaneous determination of PA and DF are 1.44 and 4.80 nmol L $^{-1}$ and 0.030 and 0.1 nmol L $^{-1}$, respectively. These results demonstrate that the SPCE/MWCNTs-COOH can be applied to environmental water samples analysis in which PA and

DF concentrations are in the range of 10^{-9} – 10^{-8} and 10^{-11} – 10^{-8} mol L $^{-1}$, respectively [7,8]. Table 2 shows the comparison techniques used for the simultaneous determination of PA and DF. It can be summarized that the DPAdSV with SPCE/MWCNTs-COOH allows the lowest LOD value to be obtained compared with all other electrochemical sensors and techniques [9–19].

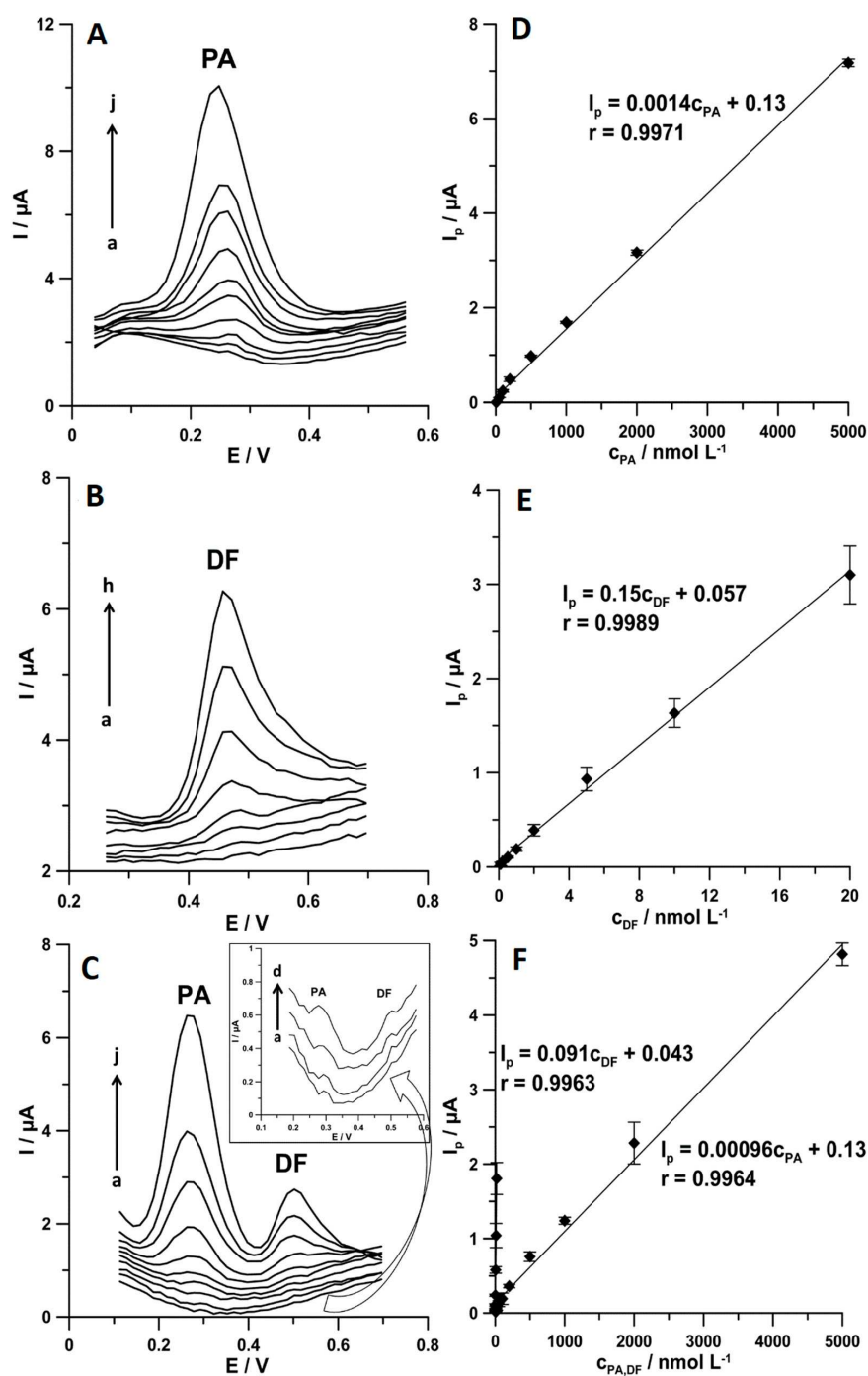


Figure 9. DPAdSV curves registered at the SPCE/MWCNTs-COOH in 0.15 mol L $^{-1}$ the acetate buffer solution of pH 4.0 ± 0.1 containing increasing concentrations of the following: (A) PA (a–j, 5.0–5000.0 nmol L $^{-1}$), (B) DF (a–h, 0.1–20.0 nmol L $^{-1}$), and (C) PA (a–j, 5.0–5000.0 nmol L $^{-1}$ and DF (a–h, 0.1–20.0 nmol L $^{-1}$). Calibration graph of (D) PA, (E) DF, and (F) PA and DF. The DPAdSV parameters are as follows: E_{acc} . of 0.1 for 1 s and -0.25 V for 1 s, $n_{cycles} = 30$, A of 150 mV, v of 150 mV s $^{-1}$, and t_m of 20 ms.

Table 1. Characteristics of calibration plots of paracetamol (PA) and diclofenac (DF) attained at the commercially available carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes modified screen-printed carbon electrodes (SPCE/MWCNTs-COOH). LOD, limit of detection; LOQ, limit of quantification.

Parameter	PA	DF	PA and DF
Linear range [nmol L ⁻¹]	5.0–5000.0	0.1–20.0	5.0–5000.0 (PA) 0.1–20.0 (DF)
Slope (b) ± SD _b (n = 3) [μA/nmol L ⁻¹]	0.0014 ± 0.000010	0.15 ± 0.025	0.00096 ± 0.000044 (PA) 0.091 ± 0.012 (DF)
Intercept (a) ± SD _a (n = 3) [μA]	0.13 ± 0.00062	0.057 ± 0.00079	0.13 ± 0.00046 (PA) 0.043 ± 0.00092 (DF)
Correlation coefficient (r)	0.9971	0.9989	0.9964 (PA) 0.9963 (DF)
LOD [nmol L ⁻¹]	1.34	0.015	1.44 (PA) 0.030 (DF)
LOQ [nmol L ⁻¹]	4.47	0.051	4.80 (PA) 0.10 (DF)

$$LOD = 3SD_{a/b} \text{ and } LOQ = 3SD_{a/b} [27].$$

Table 2. Comparison of techniques for simultaneous analysis of PA and DF.

Technique	Analyte	Linear Range [mol L ⁻¹]	Detection Limit [mol L ⁻¹]	Application	Ref.
RP-HPLC	PA	1.1×10^{-6} – 6.6×10^{-5}	-	Pharmaceutical, Human serum	[9]
	DF	6.3×10^{-8} – 3.1×10^{-5}			
RP-HPLC	PA	3.3×10^{-4} – 9.9×10^{-4}	1.3×10^{-8}	Pharmaceutical	[10]
	DF	1.6×10^{-5} – 4.7×10^{-5}	7.9×10^{-8}		
HPLC	PA	6.6×10^{-9} – 6.6×10^{-7}	4.4×10^{-8}	Wastewater samples	[11]
	DF	3.1×10^{-9} – 3.1×10^{-7}	9.7×10^{-10}		
RP-HPLC	PA	6.6×10^{-6} – 2.0×10^{-4}	2.2×10^{-5}	Pharmaceutical	[12]
	DF	3.1×10^{-6} – 1.0×10^{-4}	1.1×10^{-6}		
GC-MS	PA	1.1×10^{-7} – 6.6×10^{-5}	-	Sea water, Wastewater	[13]
	DF	2.8×10^{-8} – 3.1×10^{-5}			
Spectrophotometric	PA	6.6×10^{-6} – 2.0×10^{-4}	1.2×10^{-6}	Pharmaceutical	[14]
	DF	1.6×10^{-6} – 1.0×10^{-4}	1.6×10^{-7}		
Electrophoresis	PA	3.3×10^{-5} – 8.3×10^{-4}	6.6×10^{-6}	Pharmaceutical, Human serum	[15]
	DF	3.1×10^{-6} – 3.9×10^{-4}	1.6×10^{-6}		
Electrophoresis	PA	3.3×10^{-5} – 1.7×10^{-3}	6.6×10^{-6}	Pharmaceutical, Urine sample	[16]
	DF	3.1×10^{-6} – 3.9×10^{-4}	1.6×10^{-6}		
4-PP/GCE	PA	1.9×10^{-6} – 1.7×10^{-4}	-	Drug delivery system	[17]
	DF	3.7×10^{-7} – 5.2×10^{-5}			
PDDA/GR/GCE	PA	3.0×10^{-6} – 2.0×10^{-4}	2.2×10^{-7}	Pharmaceutical, Lake water	[18]
	DF	1.0×10^{-5} – 1.0×10^{-4}	6.1×10^{-7}		
AuNPs-GR/PAG/GCE	PA	5.0×10^{-7} – 5.0×10^{-5}	4.0×10^{-8}	Human serum	[19]
	DF	5.0×10^{-7} – 4.0×10^{-5}	8.0×10^{-8}		
SPCE/MWCNTs-COOH	PA	5.0×10^{-9} – 5.0×10^{-6}	1.4×10^{-9}	River water, Wastewater	This work
	DF	1.0×10^{-10} – 2.0×10^{-8}	3.0×10^{-11}		

4-PP/GCE—4-phosphatephenyl modified glassy carbon electrode; PDDA/GR/GCE—poly(diallyldimethylammonium chloride) functionalized graphene modified glassy carbon electrode; AuNPs/GR/PAG/GCE—poly(L-Arginine)/Au-graphene nanocomposite film deposited on a glassy carbon electrode.

3.5. Precision and Reproducibility

The intra-day and inter-day precision were examined by measuring the stopping responses of 1.0×10^{-6} mol L⁻¹ PA and 1.0×10^{-8} mol L⁻¹ DF with 10 replicates on 1 day and 3 replicates on 5 days, respectively. The relative standard deviations (RSDs) are 3.7% (n = 10) and 5.1% (n = 15) for PA, and 5.3% (n = 10) and 6.2% (n = 15) for DF, indicating satisfactory precision of the signals at the SPCE/MWCNTs-COOH. The reproducibility was evaluated by recording DPAdSV curves in the solution of 1.0×10^{-6} mol L⁻¹ PA and 1.0×10^{-8} mol L⁻¹ DF using three electrodes. The RSD was

calculated as 4.9% (n = 9, for PA) and 5.2% (n = 9, for DF), approving the acceptable reproducibility of the sensor.

3.6. Analytical Applications

Finally, the practical application of the proposed voltammetric procedure using SPCE/MWCNTs-COOH was illustrated by simultaneous determination of PA and DF in Bystrzyca river samples and wastewater samples purified in a sewage treatment plant. The voltammetric results were compared to those obtained by chromatographic method (HPLC/PAD) and summarised in Table 3. Figure 10 shows the DPAdSV curves obtained during simultaneous determination of PA and DF in the analysed samples. The results achieved by the voltammetric method show satisfactory agreement with those obtained by HPLC/PAD (the relative errors are in the range of 1.1–6.7%). In order to test the accuracy of the voltammetric procedure, the samples were spiked with standard solutions of PA and DF. The recovery values are between 96.5% and 104.8%, which corresponds to the satisfactory degree of accuracy.

Table 3. Results of simultaneous determination of PA and DF in environmental water samples. DPAdSV, differential-pulse adsorptive stripping voltammetric.

Sample	PA Concentration [nmol L ⁻¹] ± SD (n = 3)			Recovery * [%]	Relative Error ** [%]
	Added	Found DPAdSV	Found HPLC/PAD		
Bystrzyca river	0	<LOD	<LOD	-	-
	5.0	5.09 ± 0.044	<LOD	101.8	-
	500.0	505.0 ± 4.0	514.0 ± 6.5	101.0	1.8
Waste-water	0	24.3 ± 0.5	25.4 ± 6.0	-	4.3
	5.0	29.2 ± 5.5	31.3 ± 2.7	99.7	6.7
	500.0	523.0 ± 9.0	529.0 ± 8.6	99.8	1.1
	DF Concentration [nmol L ⁻¹] ± SD (n = 3)			Recovery * [%]	Relative Error ** [%]
	Added	Found DPAdSV	Found HPLC/PAD		
Bystrzyca river	0	<LOD	<LOD	-	-
	0.5	0.51 ± 0.0066	<LOD	102.0	-
	50.0	50.5 ± 0.4	49.6 ± 0.8	101.0	1.8
Waste-water	0	3.7 ± 0.7	<LOD	-	-
	0.5	4.4 ± 0.6	<LOD	104.8	-
	50.0	51.8 ± 0.7	49.7 ± 1.1	96.5	4.2

* Recovery [%] = (Found DPAdSV × 100)/Added; ** Relative error [%] = ((|Found HPLC/PAD–Found DPAdSV|)/Found HPLC/PAD) × 100.

It needs to be highlighted that only the voltammetric procedure using the SPCE/MWCNTs-COOH allows simultaneous determination of PA and DF at concentrations of 24.3 ± 0.5 nmol L⁻¹ and 3.7 ± 0.7 nmol L⁻¹, respectively, in wastewater samples purified in a sewage treatment plant. These results show that, after leaving the sewage treatment plant, the wastewater still contains PA and DF, which then end up in the natural environment. The concentrations of PA and DF in Bystrzyca river samples below the limit of detection of the DPAdSV technique confirm the dilution of analytes.

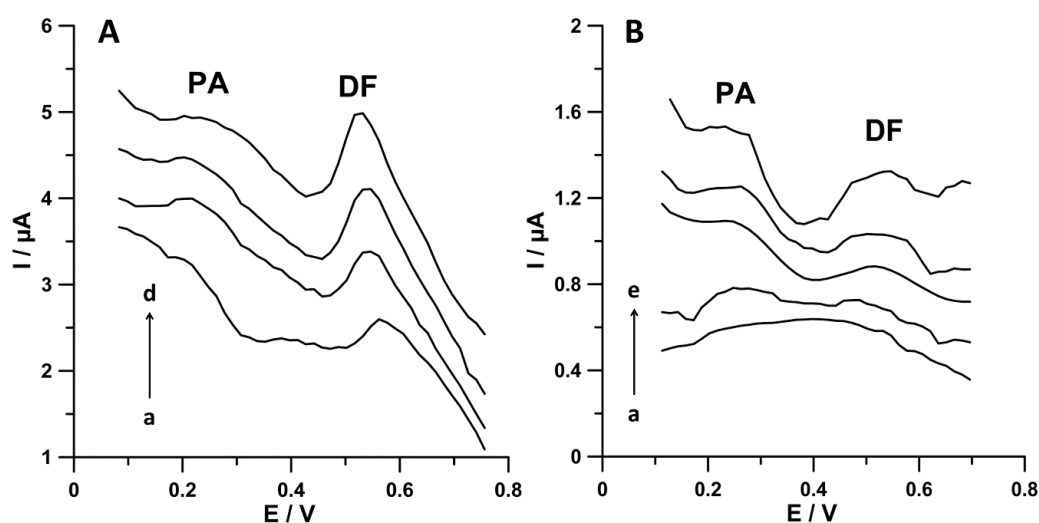


Figure 10. DPAdSV curves registered at the SPCE/MWCNTs-COOH during PA and DF simultaneous analysis in (A) wastewater samples purified in a sewage treatment plant (a) 5 mL of sample, (b) as (a) + 5.0 nmol L⁻¹ PA and 0.5 nmol L⁻¹ DF, (c) as (a) + 10.0 nmol L⁻¹ PA and 1.0 nmol L⁻¹ DF, and (d) as (a) + 15.0 nmol L⁻¹ PA and 1.5 nmol L⁻¹ DF; (B) Bystrzyca river water sample: (a) 5.0 mL of sample, (b) as (a) + 5.0 nmol L⁻¹ PA and 0.5 nmol L⁻¹ DF, (c) as (a) + 10.0 nmol L⁻¹ PA and 1.0 nmol L⁻¹ DF, (d) as (a) + 15.0 nmol L⁻¹ PA and 1.5 nmol L⁻¹ DF, and (e) as (a) + 20.0 nmol L⁻¹ PA and 2.0 nmol L⁻¹ DF. The DPAdSV parameters are as follows: $E_{acc.}$ of 0.1 for 1 s and -0.25 V for 1 s, $n_{cycles} = 30$, A of 150 mV, ν of 150 mV s⁻¹, and t_m of 20 ms.

4. Conclusions

For the first time, in this study, carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes modified screen-printed carbon electrode (SPCE/MWCNTs-COOH) was introduced for the simultaneous, direct analysis of low concentrations of paracetamol (PA) and diclofenac (DF). Moreover, for the first time, pulsed potential accumulation was used in order to improve PA and DF analytical signals and to minimize interferences from surfactants.

In this work, already published results regarding the electrochemical properties of SPCE and SPCE/MWCNTs-COOH [4] were compared with these obtained for SPCE/CNFs. The results show that the SPCE/MWCNTs-COOH has a greater number of active centers than the unmodified SPCE and the SPCE/CNFs, which explain the enhancement of PA and DF signals in relation to the SPCE, and the DF signal in relation to the SPCE/CNFs. The SPCE/MWCNTs-COOH was recommended for simultaneous analysis of PA and DF, but the SPCE/CNFs for the individual analysis of PA. Moreover, the electrochemical responses of PA and DF at the SPCE/MWCNTs-COOH in the 0.15 mol L⁻¹ acetate buffer solution (pH 4.0) were characterized by the CV technique. The obtained results indicated that the oxidation processes of PA and DF at the SPCE/MWCNTs-COOH are not purely diffusion- or adsorption-controlled.

Moreover, only the proposed voltammetric procedure using the SPCE/MWCNTs-COOH allows simultaneous determination of PA and DF at concentrations of 24.3 ± 0.5 nmol L⁻¹ and 3.7 ± 0.7 nmol L⁻¹, respectively, in wastewater samples purified in a sewage treatment plant. These results show that, after leaving the sewage treatment plant, the wastewater still contains PA and DF, which then end up in the natural environment. It should be clearly emphasized that the samples were directly analysed without performing any special sample pretreatment procedure.

The proposed voltammetric procedure has the advantages of being much more sensitive, less time-consuming, and less expensive than HPLC. Moreover, the analysis of water samples can be carried out in the laboratory and at the place of sampling.

Author Contributions: Conceptualization, A.S. and K.T.-R.; methodology, A.S. and K.T.-R.; investigation, A.S., K.T.-R., M.W., I.S., and M.K.; writing—original draft preparation, A.S. and K.T.-R.; writing—review and editing, A.S., K.T.-R., M.W., I.S., and M.K.; supervision, K.T.-R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Acknowledgments: The authors are thankful to the Central Laboratory of Municipal Water Supply & Waste Water Treatment Company Ltd. in Lublin for providing samples for analysis.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Tanuja, S.B.; Kumara Swamy, B.E.; Pai, K.V. Electrochemical determination of paracetamol in presence of folic acid at nevirapine modified carbon paste electrode: A cyclic voltammetric study. *J. Electroanal. Chem.* **2017**, *798*, 17–23. [\[CrossRef\]](#)
2. Sasal, A.; Tyszczyk-Rotko, K.; Chojecki, M.; Korona, T.; Rotko, M. Direct determination of paracetamol in environmental samples using screen-printed carbon/carbon nanofibers sensor—Experimental and theoretical studies. *Electroanalysis* **2020**. [\[CrossRef\]](#)
3. Mekassa, B.; Baker, P.G.L.; Chandravanshi, B.S.; Tessema, M. Synthesis, characterization, and preparation of nickel nanoparticles decorated electrochemically reduced graphene oxide modified electrode for electrochemical sensing of diclofenac. *J. Solid State Electr.* **2018**, *22*, 3607–3619. [\[CrossRef\]](#)
4. Sasal, A.; Tyszczyk-Rotko, K.; Wójciak, M.; Sowa, I. First electrochemical sensor (screen-printed carbon electrode modified with carboxyl functionalized multiwalled carbon nanotubes) for ultratrace determination of diclofenac. *Materials* **2020**, *13*, 781. [\[CrossRef\]](#)
5. Pugajeva, I.; Rusko, J.; Perkons, I.; Lundanes, E.; Bartkevics, V. Determination of pharmaceutical residues in wastewater using high performance liquid chromatography coupled to quadrupole-Orbitrap mass spectrometry. *J. Pharmaceut. Biomed.* **2017**, *133*, 64–74. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Sadkowska, J.; Caban, M.; Chmielewski, M.; Stepnowski, P.; Kumirska, J. Environmental aspects of using gas chromatography for determination of pharmaceutical residues in samples characterized by different composition of the matrix. *Arch. Environ. Prot.* **2017**, *43*, 3–9. [\[CrossRef\]](#)
7. Valcarcel, Y.; Gonzales Alonso, S.; Rodriguez-Gil, J.L.; Romo Maroto, R.; Gil, A.; Catala, M. Analysis of the presence of cardiovascular and analgesic/anti-inflammatory/antipyretic pharmaceutical in river- and drinking- water of the Madrid Region in Spain. *Chemosphere* **2011**, *82*, 1062–1071. [\[CrossRef\]](#)
8. Kosjek, T.; Heath, E.; Krbavcic, A. Determination of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAIDs) residues in water samples. *Environ. Int.* **2005**, *31*, 679–685. [\[CrossRef\]](#)
9. Siddiqui, F.A.; Arayne, M.S. Development and validation of stability-indicating HPLC method for the simultaneous determination of paracetamol, tizanidine, and diclofenac in pharmaceuticals and human serum. *J. AOAC Int.* **2011**, *94*, 150–158. [\[CrossRef\]](#)
10. Badgujar, M.A.; Pingale, S.G.; Mangaonkar, K.V. Simultaneous determination of paracetamol, chlorzoxazone and diclofenac sodium in tablet dosage form by high performance liquid chromatography. *E. J. Chem.* **2011**, *8*, 1206–1211. [\[CrossRef\]](#)
11. Diuzheva, A.; Balogh, J.; Jekš, J.; Cziáky, Z. Application of liquid–liquid microextraction for the effective separation and simultaneous determination of 11 pharmaceuticals in wastewater samples using high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *J. Sep. Sci.* **2018**, *41*, 2871–2877. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. El-Kommos, M.E.; Mohamed, N.A.; Hakiem, A.F.A. Selective reversed phase high performance liquid chromatography for the simultaneous determination of some pharmaceutical binary mixtures containing NSAIDs. *J. Liq. Chromatogr. R. T.* **2012**, *35*, 2188–2202. [\[CrossRef\]](#)
13. Caban, M.; Mioduszevska, K.; Łukaszewicz, P.; Migowska, N.; Stepnowski, P.; Kwiatkowski, M.; Kumirska, J. A newsilylating reagent -dimethyl(3,3,3-trifluoropropyl)silyldiethylamine—For the derivatisation of non-steroidal anti-inflammatory drugs prior to gas chromatography-mass spectrometry analysis. *J. Chromatogr. A* **2014**, *1346*, 107–116. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Antakli, S.; Nejem, L.; Soufan, K. An analytical spectrophotometric study of determine paracetamol and diclofenac sodium in pharmaceutical formulations. *Res. J. Pharm. Technol.* **2018**, *11*, 2952–2960. [\[CrossRef\]](#)

15. Solangi, A.; Memon, S.; Mallah, A.; Memon, N.; Khuhawar, M.Y.; Bhanger, M.I. Determination of ceftriaxone, ceftizoxime, paracetamol, and diclofenac sodium by capillary zone electrophoresis in pharmaceutical formulations and in human blood serum. *Turk. J. Chem.* **2010**, *34*, 921–933.
16. Solangi, A.R.; Memon, S.Q.; Mallah, A.; Memon, N.; Khuhawar, M.Y.; Bhanger, M.I. Development and implication of a capillary electrophoresis methodology for ciprofloxacin, paracetamol and diclofenac sodium in pharmaceutical formulations and simultaneously in human urine samples. *Pak. J. Pharm. Sci.* **2011**, *24*, 539–544.
17. Zhou, T.; Li, L.; Wang, J.; Chen, X.; Yang, G.; Shan, Y. 4-Phosphatephenyl-modified glassy carbon electrode for real-time and simultaneous electrochemical monitoring of paracetamol and diclofenac release from electrospun nanofibers. *Anal. Methods* **2015**, *7*, 9289–9294. [[CrossRef](#)]
18. Okoth, O.K.; Yan, K.; Liu, L.; Zhang, J. Simultaneous electrochemical determination of paracetamol and diclofenac based on poly(diallyldimethylammonium chloride) functionalized graphene. *Electroanalysis* **2016**, *28*, 76–82. [[CrossRef](#)]
19. Afshar, E.; Jalali, F. Sensitive simultaneous determination of paracetamol and diclofenac based on au nanoparticles—Functionalized graphene/poly (L-arginine) glassy carbon electrode. *J. Chil. Chem. Soc.* **2016**, *61*, 2846–2851. [[CrossRef](#)]
20. Golzari Aqda, T.; Behkami, S.; Bagheri, H. Porous eco-friendly fibers for on-line micro solid-phase extraction of nonsteroidal anti-inflammatory drugs from urine and plasma samples. *J. Chromatogr. A* **2018**, *1574*, 18–26. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Sipa, K.; Brycht, M.; Leniart, A.; Nosal-Wiercińska, A.; Skrzypek, S. Improved electroanalytical characteristics for the determination of pesticide metobromuron in the presence of nanomaterials. *Anal. Chim. Acta* **2018**, *1030*, 61–69. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Keskin, E.; Ertürk, A.S. Electrochemical determination of paracetamol in pharmaceutical tablet by a novel oxidative pretreated pencil graphite electrode. *Ionics* **2018**, *24*, 4043–4054. [[CrossRef](#)]
23. Goyal, R.N.; Chatterjee, S.; Agrawal, B. Electrochemical investigations of diclofenac at edge plane pyrolytic graphite electrode and its determination in human urine. *Sens. Actuators B Chem.* **2010**, *145*, 743–748. [[CrossRef](#)]
24. Gosser, D.K. *Cyclic Voltammetry: Simulation and Analysis of Reaction Mechanism*; VCH: New York, NY, USA, 1993.
25. Korolczuk, M. Application of pulsed potential accumulation for minimization of interferences from surfactants in voltammetric determination of traces of Cr(VI). *Electroanalysis* **2000**, *12*, 837–840. [[CrossRef](#)]
26. Grabarczyk, M.; Koper, A. How to determine uranium faster and cheaper by adsorptive stripping voltammetry in water samples containing surface active compounds. *Electroanalysis* **2011**, *23*, 1442–1446. [[CrossRef](#)]
27. Mocak, J.; Bond, A.M.; Mitchell, S.; Scollary, G. A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: Application to voltammetric and stripping techniques. *Pure Appl. Chem.* **1997**, *69*, 297–328. [[CrossRef](#)]



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

mgr Agnieszka Sasal
Katedra Chemii Analitycznej
Instytut Nauk Chemicznych
Wydział Chemii UMCS
Plac Marii Curie-Skłodowskiej 3,
20-031 Lublin

Lublin, 30.07.2020 r.

Oświadczenie

Oświadczam, że mój wkład w niniejszej pracy:

A. Sasal, K. Tyszczyk-Rotko, M. Wójciak, I. Sowa, M. Kuryło, *Simultaneous analysis of paracetamol and diclofenac using MWCNTs-COOH modified screen-printed carbon electrode and pulsed potential accumulation*, Materials, 13 (14) (2020) 3091

DOI: 10.3390/ma13143091

polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji pracy, optymalizacji procedury jednoczesnego oznaczania diklofenaku i paracetamolu z użyciem sitodrukowanej elektrody węglowej modyfikowanej wielościennymi nanorurkami węglowymi funkcjonalizowanymi grupami karboksylowymi, sprawdzeniu wpływu potencjalnych interferentów na sygnał analityczny oraz opracowaniu sposobu minimalizacji interferencji i zastosowaniu opracowanej procedury do ilościowej analizy ww. składników leków w próbkach wód naturalnych a także opracowaniu uzyskanych wyników.

Udział ten szacuję na **50%**.

Agnieszka Sasal
mgr Agnieszka Sasal

dr hab. Katarzyna Tyszczyk-Rotko, prof. UMCS

Lublin, 24.07.2020 r.

Katedra Chemii Analitycznej

Instytut Nauk Chemicznych

Wydział Chemii UMCS

Plac Marii Curie-Skłodowskiej 3,

20-031 Lublin

Oświadczenie

Oświadczam, że mój wkład w niniejszej pracy:

A. Sasal, K. Tyszczyk-Rotko, M. Wójciak, I. Sowa, M. Kuryło, *Simultaneous analysis of paracetamol and diclofenac using MWCNTs-COOH modified screen-printed carbon electrode and pulsed potential accumulation*, Materials, 13 (14) (2020) 3091

DOI: 10.3390/ma13143091

polegał na współudziale w tworzeniu koncepcji pracy, merytorycznym nadzorze nad badaniami doświadczalnymi realizowanymi w ramach niniejszej pracy oraz współudziale opracowaniu otrzymanych wyników i przygotowaniu rękopisu.

Udział ten szacuję na **30%**.

dr hab. Katarzyna Tyszczyk-Rotko, prof. UMCS

prof. dr hab. n. med. Magdalena Wójciak
Zakład Chemii Analitycznej
Katedra Chemii
Uniwersytet Medyczny
ul. Chodźki 4a
20-093 Lublin

Lublin, 31.07.2020 r.

Oświadczenie

Oświadczam, że mój wkład w niniejszej pracy:

Agnieszka Sasal, Katarzyna Tyszczuk-Rotko, Magdalena Wójciak, Ireneusz Sowa, Michał Kuryło, *Simultaneous analysis of paracetamol and diclofenac using MWCNTs-COOH modified screen-printed carbon electrode and pulsed potential accumulation, Materials 13 (2020) 3091-3106, DOI: 10.3390/ma13143091*

polegał na współudziale w oznaczeniach diklofenaku i paracetamolu w próbkach wód i ścieków z wykorzystaniem HPLC/PAD oraz współudziale w opracowaniu i opisie otrzymanych wyników.

Udział ten szacuję na 5%.


prof. dr hab. n. med. Magdalena Wójciak

prof. dr hab. n. farm. Ireneusz Sowa
Zakład Chemii Analitycznej
Katedra Chemii
Uniwersytet Medyczny
ul. Chodźki 4a
20-093 Lublin

Lublin, 31.07.2020 r.

Oświadczenie

Oświadczam, że mój wkład w niniejszej pracy:

Agnieszka Sasal, Katarzyna Tyszczuk-Rotko, Magdalena Wójciak, Ireneusz Sowa, Michał Kuryło, *Simultaneous analysis of paracetamol and diclofenac using MWCNTs-COOH modified screen-printed carbon electrode and pulsed potential accumulation*, Materials 13 (2020) 3091-3106, DOI: 10.3390/ma13143091

polegał na optymalizacji chromatograficznej procedury oznaczania diklofenaku i paracetamolu w próbkach wód, współudziale w oznaczeniach diklofenaku i paracetamolu w próbkach wód z wykorzystaniem HPLC/PAD oraz współudziale w opracowaniu i opisie otrzymanych wyników.

Udział ten szacuję na **10%**.



prof. dr hab. n. farm. Ireneusz Sowa

dr Michał Kuryło

Lublin, 31.07.2020 r.

Miejskie Przedsiębiorstwo Wodociągów
i Kanalizacji Sp. z o.o. w Lublinie
Centralne Laboratorium
ul. Zawilcowa 10
20-245 Lublin

Oświadczenie

Oświadczam, że mój wkład w niniejszej pracy:

**Agnieszka Sasal, Katarzyna Tyszczuk-Rotko, Magdalena Wójciak, Ireneusz Sowa,
Michał Kuryło, *Simultaneous analysis of paracetamol and diclofenac using MWCNTs-
COOH modified screen-printed carbon electrode and pulsed potential accumulation,*
Materials 13 (2020) 3091-3106**

polegał na dostarczeniu próbek ścieków, współudziale w analizie otrzymanych wyników
i przygotowaniu rękopisu.

Udział ten szacuję na **5%**.

dr Michał Kuryło