

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Elektrochemická analýza vitamínu B<sub>9</sub>  
Bakalářská práce

2022

Aneta Doubravová

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2021/2022

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Aneta Doubravová**  
Osobní číslo: **C18159**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**  
Téma práce: **Elektrochemická analýza vitamínu B<sub>9</sub>**  
Téma práce anglicky: **Electrochemical Analysis Of Vitamin B<sub>9</sub>**  
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

1. Z odborných publikací zpracujte přehled na téma elektrochemické detekce a stanovení kyseliny listové (vitamínu B<sub>9</sub>). Využijte pouze vědecké databáze, jako např. Web of Science nebo Scopus, a na minimum omezte populární články z internetu.
2. V úvodní části bakalářské práce shrňte fyzikálně-chemické vlastnosti kyseliny listové, její výskyt v potravinách, funkci v lidském organismu a možnosti analytického stanovení. Uveďte rovněž, jak se projevuje nedostatek, případně přebytek tohoto vitamínu v těle.
3. Jednotlivá elektrochemická stanovení kyseliny listové vhodně rozdělte do skupin podle použitého materiálu pracovní elektrody a konfigurace elektrochemického senzoru a stručně je v textu bakalářské práce popište. Závěrem zpracujte přehledovou tabulku elektrochemických metod stanovení publikovaných v odborných vědeckých časopisech s uvedením základních analytických parametrů jednotlivých metod.
4. Text zpracujte do formy bakalářské práce podle příslušné směrnice Univerzity Pardubice spolu se správným citováním zdrojové literatury podle normy ČSN ISO 690.

Rozsah pracovní zprávy: 25 s.  
Rozsah grafických prací: dle potřeby  
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Radovan Metelka, Ph.D.  
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: 18. prosince 2021  
Termín odevzdání bakalářské práce: 1. července 2022

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.  
děkan

L.S.

prof. Mgr. Roman Kand'ár, Ph.D. v.r.  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prohlašuji:

Práci s názvem elektrochemická analýza vitamínu B<sub>9</sub> jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 29.6.2022

## Poděkování

Chtěla bych poděkovat svému vedoucímu Ing. Radovanu Metelkovi, Ph.D. za jeho rady a vedení při tvorbě této práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině, příteli a přátelům za jejich podporu, přízeň a pochopení.

## **ANOTACE**

Práce je věnovaná přehledu vědeckých publikací od 90. let 20. století do současnosti, které se věnují elektrochemickému stanovení vitamínu B<sub>9</sub>. Publikace jsou rozdělené podle materiálu použité pracovní elektrody a jeho modifikace. V jednotlivých kapitolách jsou také shrnuty látky, které byly použity na případnou modifikaci elektrod, prostředí, ve kterých byla měření prováděna, elektrochemické techniky použité pro analýzy, lineární rozmezí koncentrace, limity detekce stanovení a reálné vzorky, ve kterých byl vitamin B<sub>9</sub> stanovován.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Vitamin B<sub>9</sub>, kyselina listová, elektrochemické stanovení

## **TITLE**

Electrochemical Analysis of Vitamin B<sub>9</sub>

## **ANNONATION**

The aim of this thesis is to summarize scientific articles that have been published from the 1990s to the present day, dealing with the topic of vitamin B<sub>9</sub> determination. The publications are divided according to the material of the working electrode and its modification. In the individual chapters, the compounds used for potential modification of electrodes, media where the measurements were performed, the electrochemical techniques used for analyses, the linear ranges of concentration, the limits of detection, and real samples where vitamin B<sub>9</sub> was determined, are reviewed.

## **KEYWORDS**

Vitamin B<sub>9</sub>, folic acid, electrochemical analysis

## Obsah

Úvod .....	8
1. Vitamin B <sub>9</sub> (kyselina listová).....	9
1.1. Obecná charakteristika .....	9
1.2. Fyzikálně-chemické vlastnosti.....	9
1.3. Význam kyseliny listové v lidském organismu .....	10
1.4. Mechanismy zpracování kyseliny listové v lidském těle .....	10
1.5. Předávkování a nedostatek vitamínu B <sub>9</sub> .....	10
1.6. Přírodní výskyt .....	11
2. Analytické stanovení kyseliny listové.....	12
2.1. Elektrochemické metody .....	12
2.2. Ostatní metody .....	12
3. Elektrochemická analýza kyseliny listové.....	13
3.1. Elektrochemické vlastnosti kyseliny listové.....	13
3.2. Elektroodové materiály pro stanovení kyseliny listové .....	16
3.2.1. Uhlík.....	16
3.2.2. Zlato .....	32
3.2.3. Rtuť a amalgámy.....	34
Závěr.....	39
Bibliografie .....	40

## SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1 Struktura kyseliny listové (Di Tinno, 2021) .....	9
Obrázek 2: Reakční schéma elektrochemické redukce kyseliny listové v pH prostředí od 5 do 7 (Akbar, 2016). .....	14
Obrázek 3: Reakční schéma redukce kyseliny listové při pH 9 (Akbar, 2016). .....	15
Obrázek 4: SWV pro různé koncentrace kyseliny močové (A), kyseliny listové (B) a reálného vzorku (C) na modifikované elektrodě v přítomnosti kyseliny askorbové v prostředí PBS (Di Tinno, 2021). .....	16
Obrázek 5: Schéma přípravy GCE modifikované hybridními nanočásticemi ZrO <sub>2</sub> a ZnO. (Wang, 2020) .....	17
Obrázek 6: DPV modifikované elektrody v prostředí s různými hodnotami koncentrace kyseliny listové (Kondori, 2018). .....	18
Obrázek 7: TEM snímky grafenu (a), SEM snímky PMO <sub>12</sub> -PPy (b) a PMO <sub>12</sub> -PPy/GR (c) (Wang, 2014). .....	18
Obrázek 8: FE-SEM snímky elektrostaticky zvláknovaných nanovláken z Fe(acetylacetonát) <sub>3</sub> -polyvinylpyrrolidonu (a) a α-Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> nanovláken po kalcinaci při 500 °C po dobu 5 hod (b) (Maiyalagan, 2013). .....	20
Obrázek 9: AFM snímky elektrod: (a) holá elektroda ze skelného uhlíku, (b) modifikovaná elektroda (Yuan, 2020). .....	21
Obrázek 10: SEM snímky (A) MoS <sub>2</sub> , (B) CHN, (C) CHN@MoS <sub>2</sub> , TEM snímky: (D) MoS <sub>2</sub> , (E) CHN a (F) CHN@MoS <sub>2</sub> (YE, 2021). .....	22
Obrázek 11: DPV uhlíkové pastové elektrody v prostředí fosfátového pufru a rozpuštěné farmaceutické tablety (Di Tinno, 2021). .....	23
Obrázek 12: DPAdSV záznam kyseliny listové na modifikované elektrodě v prostředí BR pufru s pH 4,0 (Vaze, 2007). .....	24
Obrázek 13: SWV záznamy modifikované elektrody v prostředí PBS (pH 7,0) a při různých koncentracích kyseliny močové, kyseliny listové a benzerazidu (Baghbamidi, 2013). .....	24
Obrázek 14: (a) SEM snímek ZnO/NP, (b) TEM snímek ZnO/NP (Taherkhani, 2014) .....	25
Obrázek 15: Kalibrační závislost pro oxidaci kyseliny listové a příslušné DPV voltamogramy (Sadeghi, 2020). .....	26
Obrázek 16: TEM snímky GO (a) a Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /rGO/CTAB (b) (Venu, 2018). .....	26
Obrázek 17: UV-Vis spektrum syntetizovaných koloidních zlatých nanočástic (GNPs) (A), TEM snímek koloidních GNPs (B), SEM snímek uhlíkové pastové elektrody před přidáním GNPs (C) a po přidání GNPs (D) (Arvand, 2017). .....	27



Obrázek 18: SWV voltamogramy a kalibrační křivka pro stanovení kyseliny listové v prostředí Brittonova-Robinsonova pufru s pH 4,5 (Kuceki, 2018). .....	28
Obrázek 19: TEM snímek elektrochemicky syntetizovaných uhlíkových nanoteček (Güney, 2019).....	29
Obrázek 20: DPV voltamogramy kyseliny listové s koncentracemi od 1,0 do 100,0 $\mu\text{mol l}^{-1}$ na SPCE modifikované $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ v prostředí PBS (pH 7,0) (Sarhadi, 2015).....	30
Obrázek 21: (A-C) nemodifikovaná uhlíková elektroda a (D-F) 3-karboxypyrrol (0,05 M) v 0,1 M $\text{LiClO}_4$ s 9 $\text{mg ml}^{-1}$ PVP v různém zvětšení (Melinte, 2020).....	30
Obrázek 22: (A) SEM snímky GNS- $\text{MoS}_2$ , (B) GNS- $\text{MoS}_2$ -AuNPs (Mani, 2017). .....	31
Obrázek 23: (a-d) SEM snímky Gr/ $\text{ZnO}$ NWAs/GF, (e) řez $\text{ZnO}$ NWAs, (f) EDX spektrum Gr/ $\text{ZnO}$ NWAs/GF (Gao, 2018) .....	31
Obrázek 25: SEM snímek elektrodepozice zlatých nanočástic před a po zlaté elektrody (Mirmoghtadaie, 2013).....	32
Obrázek 26: (a) Fotografie integrované zlaté elektrody před a po modifikaci, (b) SEM snímek povrchu elektrody po modifikaci (Chekin, 2019) .....	33
Obrázek 27: CV kyseliny listové na modifikované elektrodě (a,b) a na čisté zlaté elektrodě (c): (a,c) roztok obsahuje 5,0 $\mu\text{mol l}^{-1}$ kyseliny listové, (b) bez kyseliny listové (Chekin, 2019)..	34
Obrázek 29: Tenzometrie kyseliny listové v mořské vodě s pH 8,5. (a) bez kyseliny listové, (b) 0,5 $\mu\text{mol l}^{-1}$ kyseliny listové, (c) 1 $\mu\text{mol l}^{-1}$ kyseliny listové (Le Gall, 1993). .....	35
Obrázek 30: Adsorptivní rozpouštěcí voltamogram (A) riboflavinu a (B) kyseliny listové v roztoku pufru octanu sodného (pH 5,0) (Le Gall, 1993).....	36

## Úvod

Vitamin B<sub>9</sub> (kyselina listová) je velice důležitou látkou pro lidský organismus. Funguje jako prekurzor koenzymů, které mají důležitou roli v několika metabolických procesech lidského těla. Proto vědci považují za důležité vytvořit způsob, jak vyvinout metodu, kterou by se tato látka dala stanovit s optimální citlivostí a specifíčností. Zároveň se po této metodě požaduje, aby byla co nejméně časově náročná, dala se provádět opakovaně a nebyla příliš nákladná. V této práci je popsána struktura kyseliny listové a některé její další parametry, jako fyzikálně-chemické vlastnosti, funkce v lidském těle a následky jejího nedostatku nebo nadbytku. Dále je popsán princip její oxidace a redukce, čehož se využívá při jejím elektrochemickém stanovení, což je považováno za jednu z nejslibnějších metod při stanovení tohoto vitamínu. Dále tato práce obsahuje přehled vědeckých článků vydaných od 90. let 20. století do současnosti na téma elektrochemického stanovení vitamínu B<sub>9</sub>. Tyto publikace jsou rozdělené podle typu materiálu elektrod a jejich podtypů a jsou doplněné ilustrativními obrázky. Dále je zpracovaná přehledná tabulka, kde jsou uvedeny typy materiálu elektrod, instrumentální metoda použitá k měření, lineární rozmezí a detekční limit tohoto měření, typ a pH prostředí a také typ vzorku, který se použil pro reálné měření.

# 1. Vitamin B<sub>9</sub> (kyselina listová)

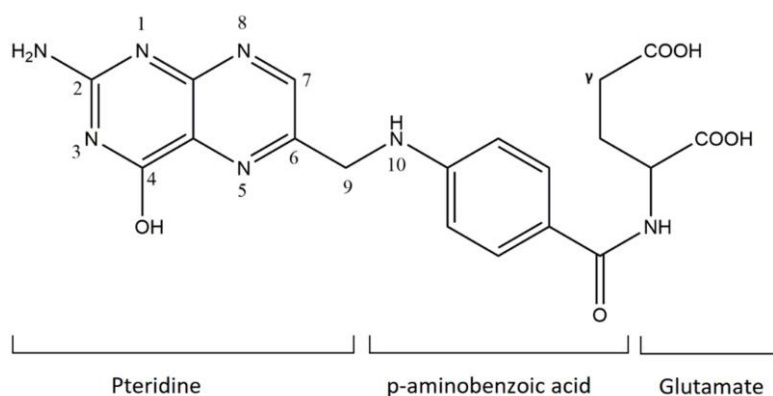
## 1.1. Obecná charakteristika

Vitaminy jsou látky, které jsou nezbytné v malém množství pro správné fungování lidského metabolismu, ale lidské tělo není schopné si je vyrobit. Je tedy nezbytné přijímat tyto látky v potravě, často v jejich neaktivních formách. Vitaminy dělíme podle typu prostředí, ve kterém se rozpouští, tedy na vitaminy rozpustné ve vodě a vitaminy rozpustné v tucích.

Kyselina listová (označována také jako vitamin B<sub>9</sub>) patří do skupiny vitaminů rozpustných ve vodě. Vitaminy rozpustné ve vodě jsou z potravy do těla přijímány bez účasti tuků. Většina látek v této skupině fungují jako prekursorů kofaktorů enzymů, což jsou nízkomolekulární neproteinové části, které zastávají řadu funkcí, například oxidoredukční nebo transferázové. Mají tedy v metabolismu funkci katalyzátorů. Další příklady látek, které do této skupiny patří, jsou další vitaminy skupiny B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>), vitamin H (biotin) nebo vitamin C (kyselina askorbová). (Vodrážka, 1995)

## 1.2. Fyzikálně-chemické vlastnosti

Struktura kyseliny listové se dá rozdělit na tři části. První částí je pterin, který je spojen methylovým můstkem s druhou částí, kyselinou p-aminobenzoovou. Kyselina p-aminobenzoová je následně spojena peptidovou vazbou s třetí částí, kyselinou L-glutamovou. (Batra, Narwal, Kalra, Sharma, & Rana, 2020)



Obrázek 1 Struktura kyseliny listové (Di Tinno, Cancelliere, & Micheli, 2021)

Rozpustnost kyseliny listové ve vodě se udává jako 1,6 mg l<sup>-1</sup>, zatímco v tucích je tato látka nerozpustná. Na vzduchu je stabilní, přičemž při pokojové teplotě má vzhled drobných

žlutooranžových krystalků bez chuti a zápachu. Sumární vzorec kyseliny listové je  $C_{19}H_{19}N_7O_6$  a molekulární hmotnost je  $441,404 \text{ g mol}^{-1}$ . (Lovander, a další, 2018)

### 1.3. Význam kyseliny listové v lidském organismu

Význam kyseliny listové v těle je poměrně široký, protože se účastní několika důležitých metabolických procesů. Podílí se na stimulaci v hematopoetickém systému, jak v orgánech (játra), tak v tkáních zodpovědných za tvorbu krve. Má důležitou úlohu v udržování správného chodu erythropoézy (syntéza červených krvinek), syntéze purinů a pyrimidinů, vzájemné konverzi aminokyselin, syntéze methylátu DNA a opravě DNA. Tato funkce je obzvláště důležitá v těhotenství. Tetrahydrofolát, což je redukováná forma kyseliny listové, zajišťuje především přenos jednohlíkatých fragmentů v metabolických syntézách. (Di Tinno, Cancelliere, & Micheli, 2021)

### 1.4. Mechanismy zpracování kyseliny listové v lidském těle

Kyselinu listovou je možné přijímat jako doplněk stravy. V tomto případě se tato látka vstřebává pasivně ve dvanácterníku, což je počáteční část tenkého střeva napojená na žaludek.

Pokud je kyselina listová přijímána v potravě, její zpracování v lidském těle se liší. Z potravy se kyselina listová dostává do lidského trávicího systému ve formě folátů. Tyto formy tohoto vitamínu jsou převážně hydrolyzované ve střevech, kde jsou převedeny na monoglutamátovou formu, která je aktivně vstřebávána sliznicí tenkého střeva. Tato forma je poté transportována do jater, kde je dále redukována na tetrahydrofolát (THF), který je poté převeden na formylovou nebo methylovou formu. Po takovémto zpracování přechází do krve. V krvi je možno nalézt tuto látku ve formě 5-methyl-tetrahydrofolátu. Další příjem folátu se děje prostřednictvím bakterií střevní flóry (Di Tinno, 2021; Batra 2020)

### 1.5. Předávkování a nedostatek vitamínu B<sub>9</sub>

Kyselina listová se objevuje hned v několika tkáních. Celkem je to asi 10 – 30 mg v lidském těle. V krevním séru se udává hodnota 5 – 15  $\text{ng ml}^{-1}$ , v mozkomíšním moku je to asi 16 – 21  $\text{ng ml}^{-1}$ , v červených krvinkách je to asi 175 – 316  $\text{ng ml}^{-1}$ . Dále se kyselina listová vyskytuje uložena v játrech nebo volně. Jakožto vitamin rozpustný ve vodě se jeho metabolity vylučují močí. Klinicky se zkoumá hodnota folátu v séru. (Batra, Narwal, Kalra, Sharma, & Rana, 2020)

Doporučená denní dávka pro dospělého člověka se udává 400 µg. Zvyšuje se pro ženy v době těhotenství až na 600 µg denně. (Umschau/Braus, 2000, s. 216)

Nedostatek kyseliny listové je spojen s mnoha zdravotními problémy, hlavně v době těhotenství. Při nedostatku kyseliny listové je zvýšené riziko pro kongenitální malformace jako rozštěpy neurální trubice při tvorbě nervové soustavy embrya. Dále je nedostatek spojen se zvýšeným rizikem vzniku megaloblastické anémie (nemoc, kdy kostní dřeň vytváří velké nedospělé červené krevní buňky s nesprávnou strukturou), kardiovaskulárních obtíží nebo rakoviny kvůli nesprávnému fungování při syntéze DNA. Nadbytek kyseliny listové není moc běžný, vzhledem k tomu, že je to vitamin rozpustný ve vodě. Lidské tělo je díky tomu schopné přebytek kyseliny listové vyloučit močí. (Umschau/Braus, 2000; Batra, 2020; Di Tinno 2020; Lovander, 2018)

## 1.6. Přirozený výskyt

Kyselina listová se přirozeně vyskytuje v potravě člověka. Přijímáme ji i z živočišných produktů jako játra, maso nebo vaječný žloutek, ale hlavně z rostlinných složek naší potravy. Rostlinná strava bohatá na kyselinu listovou je listová zelenina, luštěniny i některé ovoce. (Di Tinno, Cancelliere, & Micheli, 2021)

## 2. Analytické stanovení kyseliny listové

Jak již bylo řečeno v předchozí kapitole, kyselina listová má velice rozsáhlý a důležitý význam v lidském těle. Právě tato skutečnost vedla k tomu, že se výzkumníci snaží navrhnout různé analytické metody pro detekci a stanovení tohoto vitamínu. Těchto analytických metod je několik. (Batra, Narwal, Kalra, Sharma, & Rana, 2020)

### 2.1. Elektrochemické metody

Oproti ostatním metodám, elektrochemické stanovení je velice cenná varianta. V porovnání s ostatními metodami, tyto metody vynikají tím, že jsou jednoduché, spolehlivé, reprodukovatelné, jejich provedení je nákladově efektivní, mají vysokou citlivost a dají se provádět v malém měřítku. Díky tomu jsou metody s elektrochemickými biosenzory užívány v různých oborech jako farmacie, potravinářství nebo klinická analýza. (Huang, Tian, Zhao, Liu, & Guo, 2021)

### 2.2. Ostatní metody

Několik jiných metod bylo také experimentálně použito ke stanovení kyseliny listové. Instrumentální metodou kapalinové chromatografie HPLC-UV-Vis bylo zkoumáno množství kyseliny listové v zelenině, kdy lineární rozmezí bylo od 0,3 do 100 ng ml<sup>-1</sup> s detekčním limitem 0,1 ng ml<sup>-1</sup>. Dále spektrofotometrickými metodami, kdy se měřilo množství kyseliny listové ve farmaceutických přípravcích. Z těchto spektrofotometrických měření byly výsledky lineárního rozmezí od 0,1 do 8,0 µg ml<sup>-1</sup> s detekčním limitem 0,0469 µg ml<sup>-1</sup>. Metodou hmotnostní spektrometrie se měřilo množství kyseliny listové v pivu. Výsledky tohoto experimentu byly takové, že detekční limit byl 0,3 µg l<sup>-1</sup>. Hmotnostní spektrometrie se také použila k měření množství kyseliny listové ve vaječném žloutku, kdy výsledky lineárního rozmezí byly od 0,1 do 100 ng ml<sup>-1</sup> s detekčním limitem 18,3 ng ml<sup>-1</sup>. Při použití fluorescenčních metod při měření množství kyseliny listové ve farmaceutických přípravcích bylo lineární rozmezí od 6,0 do 114 µg ml<sup>-1</sup> a detekční limit 2,0 µg ml<sup>-1</sup>. Metoda kapilární elektroforézy byla také vyzkoušena, tentokrát při měření množství kyseliny listové v lidské moči. Lineární rozmezí při tomto měření bylo v hodnotách od 0,5 do 6,0 mg l<sup>-1</sup> a detekční limit byl 0,30 mg l<sup>-1</sup>. Tato metoda byla použita i při stanovování množství kyseliny listové ve farmaceutických přípravcích, kdy lineární rozmezí bylo od 5,0·10<sup>-8</sup> do 5,0·10<sup>-5</sup> M s detekčním limitem 2,0·10<sup>-8</sup> M. Dále se provádí pokusy s použitím i jiných instrumentálních metod, jako termogravimetrie nebo kolorimetrické metody. (Di Tinno, Cancelliere, & Micheli, 2021)

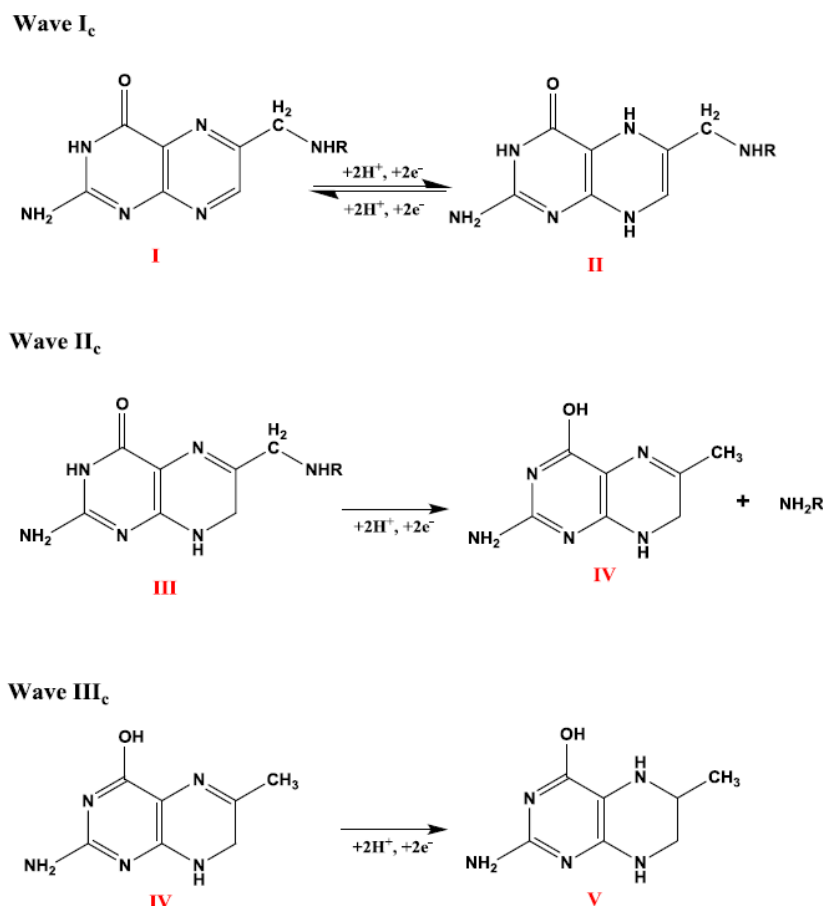
### 3. Elektrochemická analýza kyseliny listové

Při elektrochemických analytických metodách elektrochemické senzory ve valné většině případů změří a zaznamenají proud na pracovní elektrodě. Hodnota tohoto proudu je potom úměrná koncentraci stanovovaného analytu. Obvykle se jedná o takovou situaci, že změřený proud je lineárně úměrný koncentraci analyzované látky. V poslední době se nejčastěji používá amperometrie, kdy se zjišťuje proudová odezva za konstantního potenciálu pracovní elektrody, a voltametrie, při které se měří proud při různém časovém průběhu potenciálu vkládaném na pracovní elektrodu. Do voltametrických technik patří čtyři techniky, které se uvádí nejběžněji. Jsou to cyklická voltametrie (CV) a voltametrie s lineárním skenem (LSV). Tyto dvě metody jsou jednoduché na provedení. Další dvě metody, které využívají aplikaci potenciálových pulzů, jsou square wave voltametrie (SWV) a diferenční pulzní voltametrie (DPV). (Huang, Tian, Zhao, Liu, & Guo, 2021, str. 1)

#### 3.1. Elektrochemické vlastnosti kyseliny listové

Kyselina listová je elektrochemicky aktivní látka. Její elektrochemické chování bylo zkoumáno cyklickou voltametrií. Chování kyseliny listové při této metodě bylo prováděno v kyselém a v neutrálním prostředí při hodnotách pH od 5 do 7.

V kyselém prostředí byly zaznamenány tři vlny, které se připisují třem krokům elektrochemické redukce kyseliny listové na rtuťové elektrodě. První vlna je připisována reverzibilní redukci kyseliny listové. V tomto prvním kroku kyselina listová přijme dva elektrony a dva protony a podléhá redukci se na 5,8-dihydrolistovou kyselinu. Tato látka poté podléhá tautomerizaci a převede se na 7,8-dihydrolistovou kyselinu. Druhá vlna je připisována redukčnímu rozštěpu látky 7,8-dihydrolistová kyselina, kdy se rozštěpí vazba mezi C a N. Třetí vlna je připisována irreverzibilní redukci 7,8-dihydro-6-methylpterinu na 5,6,7,8-tetrahydro-6-methylpterinu.

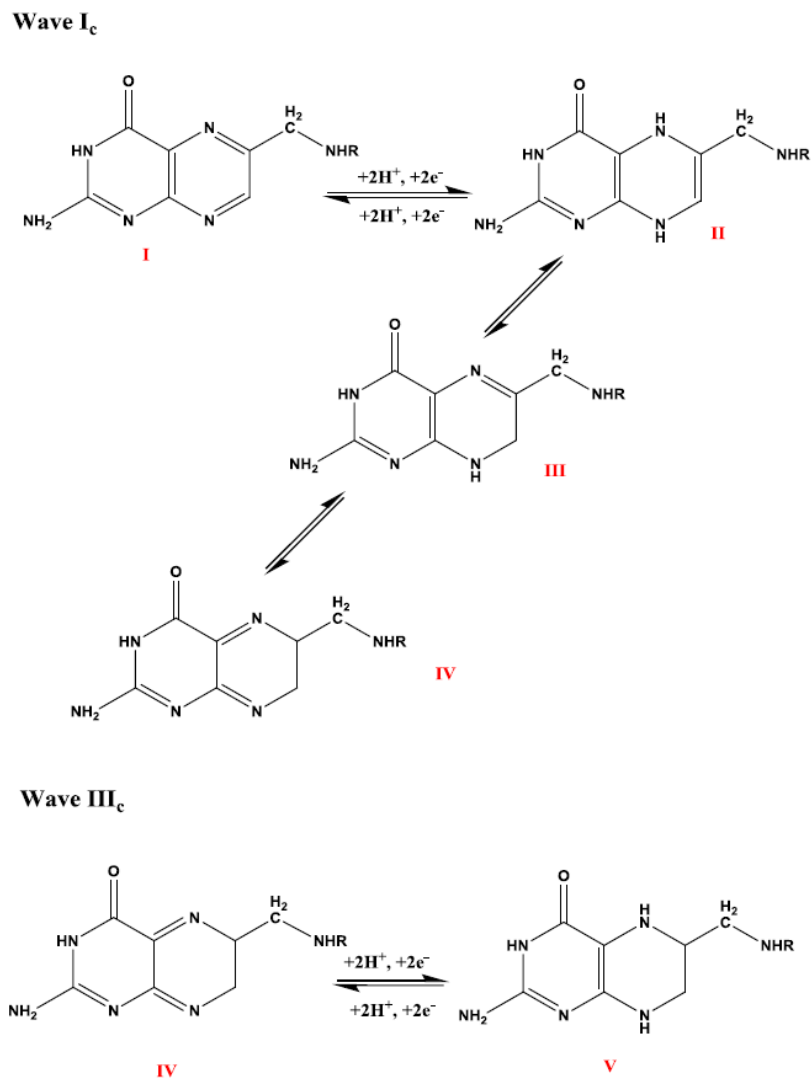


Obrázek 2: Reakční schéma elektrochemické redukce kyseliny listové v pH prostředí od 5 do 7 (Akbar, Anwar, & Kanwal, 2016).

Dále Akbar a kol. provedli měření v přirozeném prostředí, kdy byly zaznamenány dvě vlny. Tomuto se připisuje jiné reakční schéma. V prvním kroku se schéma shoduje s navrženým schématem pro kyselé prostředí, kdy kyselina listová podléhá reverzibilní redukci a přechází na 5,8-dihydrolistovou kyselinu díky tomu, že přijme dva elektrony a dva protony. 5,8-dihydrolistová kyselina poté zase podléhá tautomerizaci. Experimentálně byly zjištěny látky 7,8-dihydro derivát a 6,7-dihydro derivát kyseliny listové. Druhá vlna je připisována reverzibilní redukci těchto derivátů na 5,6,7,8-tetrahydro derivát kyseliny listové. Vzhledem k tomu, že tautomerizace je proces, který je katalyzován protony, při vyšší hodnotě pH v prostředí se předpokládá, že nebude tato reakce probíhat příliš dobře.

Z obou měření a z literatury vychází, že první vlna odpovídá reverzibilní redukci kyseliny listové na 5,8-dihydrolistovou kyselinu. Z toho je usouzeno, že tato reakce se nemění se změnou pH prostředí.





Obrázek 3: Reakční schéma redukce kyseliny listové při pH 9 (Akbar, Anwar, & Kanwal, 2016).

Byla také prozkoumána elektrochemická oxidace kyseliny tetrahydrolistové. Pro anodickou oxidaci tetrahydrolistové kyseliny byla zaznamenána jedna vlna spojená s přijetím jednoho elektronu a jednoho protonu. Bylo sestaveno reakční schéma, které ukazuje, že tetrahydrolistová kyselina se oxiduje, poskytuje radikál, který může přejít na dimer nebo se tento radikál oxiduje na 6,7-dihydrolistovou kyselinu.

Elektrochemická analýza kyseliny listové je tedy založena na oxidačním nebo redukčním štěpení vazby mezi C a N, což potvrzuje elektrochemickou aktivitu této látky. V kyselém prostředí je tato část dihydrolistové kyseliny elektrochemicky redukována na dihydropterin derivát kyseliny listové a *p*-aminobenzoylglutamátovou kyselinu. Při oxidačním štěpení tato vazba poskytuje derivát pterinu. (Akbar, Anwar, & Kanwal, 2016)

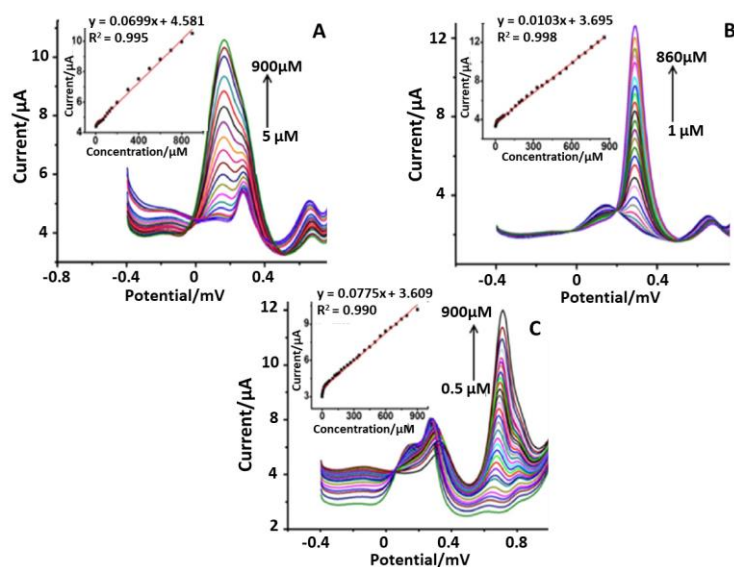
## 3.2. Elektrodové materiály pro stanovení kyseliny listové

### 3.2.1. Uhlík

Při experimentálním stanovení kyseliny listové se nejběžněji používá několik druhů modifikovaných uhlíkových elektrod. Nejčastěji byly uplatněny elektrody ze skelného uhlíku, pastové elektrody nebo tužkové grafitové elektrody. Dály byly použity další typy uhlíkových elektrod, jako jsou uhlíkové tištěné elektrody nebo elektrody z redukovaného oxidu grafenu.

#### 3.2.1.1. Skelný uhlík

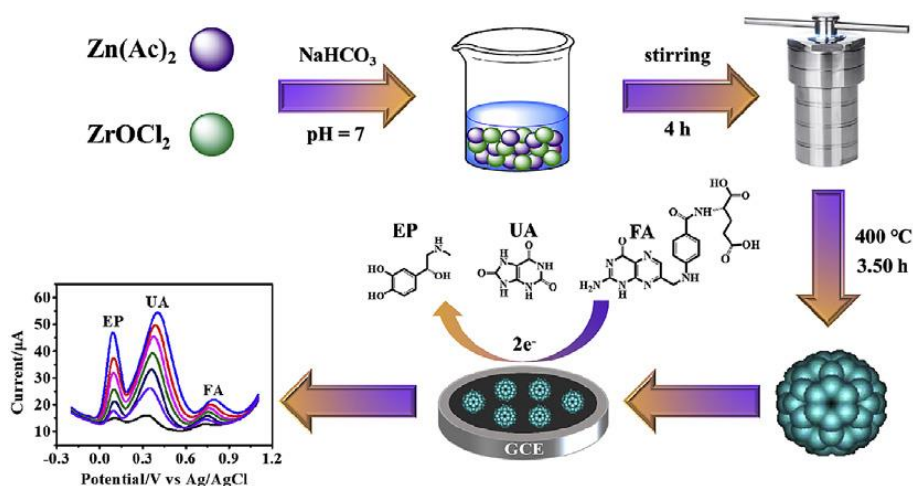
V roce 2016 Lavanya a kol. vytvořili selektivní elektrochemický sensor na stanovení kyseliny listové. Tento elektrochemický sensor byl založený na elektrodě ze skelného uhlíku, která byla modifikována manganem a nanočásticemi oxidu cíničitého ( $\text{Mn-SnO}_2/\text{GCE}$ ). V prostředí, ve kterém se kyselina listová stanovovala, se nacházelo vysoké množství kyseliny askorbové (vitamin C), který se běžně nachází v tekutinách lidského těla spolu s kyselinou listovou a ruší stanovení. Analyzované prostředí obsahovalo  $200 \mu\text{M}$  kyseliny askorbové v  $0,1 \text{ M}$  PBS (pufrovaný fyziologický roztok). PBS mělo pH rovno  $6,0$ . Lineární rozmezí stanovení kyseliny listové bylo od  $1$  do  $500 \mu\text{M}$ . Detekční limit byl  $0,038 \mu\text{M}$ . Elektrochemická technika použitá pro měření byla square wave voltametrie (SWV). Množství kyseliny listové bylo měřeno ve farmaceutických produktech. Pro tabletu, kde bylo udáno od výrobce množství  $5 \text{ mg}$  na jednu tabletu, bylo změřeno a kvantifikováno množství  $4,88 \text{ mg}$  na tabletu, což odpovídá výtěžnosti  $99,4 \%$ . (Di Tinno, Cancelliere, & Micheli, 2021)



Obrázek 4: SWV pro různé koncentrace kyseliny močové (A), kyseliny listové (B) a reálného vzorku (C) na modifikované elektrodě v přítomnosti kyseliny askorbové v prostředí PBS (Di Tinno, Cancelliere, & Micheli, 2021).

Chekin a kol. stanovovali kyselinu listovou pomocí elektrody ze skelného uhlíku ve vzorcích lidského séra. Tato elektroda byla modifikována sulfidem molybdeničitým a redukováným oxidem grafenu. Analýza probíhala v prostředí 0,1 M PBS s hodnotou pH 7,4. Lineární rozsah stanovení kyseliny listové byl od 0,01  $\mu\text{M}$  do 100  $\mu\text{M}$ , přičemž limit detekce byl 10 nM. Jako detekční technika byla použita diferenční pulzní voltametrie. Reprodukovatelnost stanovení byla vyjádřena pomocí relativní směrodatné odchylky (RSD) s hodnotou 6,3 %. (Chekin, a další, 2016)

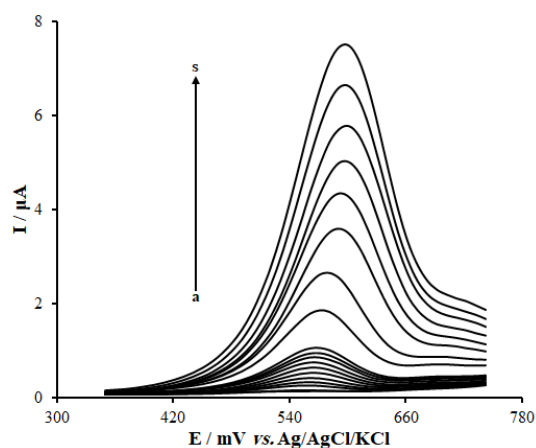
Qiwen Wang a kol. použili k modifikaci elektrody ze skelného uhlíku hybridní nanočástice oxidu zirkoničitého a oxidu zinečnatého. Tuto elektrodu poté použili k současnému stanovení epinefrinu, kyseliny močové a kyseliny listové, protože tyto látky často koexistují v reálných vzorcích. Měření bylo provedeno v prostředí fosfátového pufru při hodnotě pH 7,0. Z výsledků bylo zjištěno, že tato elektroda je schopna dobře detekovat všechny tři látky i při simultánním stanovení. Lineární rozsah stanovení pro kyselinu listovou byl určen s hodnotami od 2  $\mu\text{M}$  do 480  $\mu\text{M}$  a limit detekce s hodnotou 0,037  $\mu\text{M}$ . RSD byla menší než 5 %. Elektrochemická technika použitá k měření byla diferenční pulzní voltametrie. Jako reálný vzorek bylo použito lidské sérum. (Wang, a další, 2020)



Obrázek 5: Schéma přípravy GCE modifikované hybridními nanočásticemi ZrO<sub>2</sub> a ZnO. (Wang, a další, 2020)

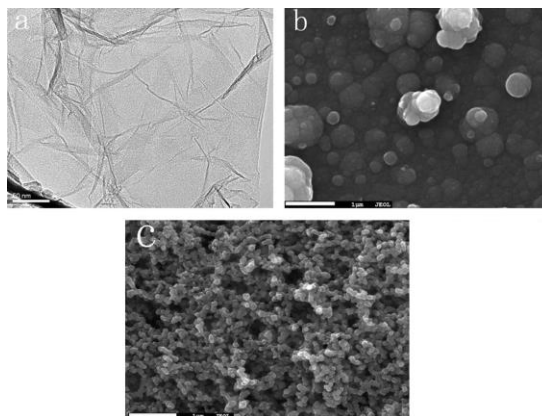
Hong Xia Guo a kol. modifikovali elektrodu ze skelného uhlíku fosfomolybdenanem dopovaným polypyrolem. Jako prostředí, ve kterém bylo měřeno, byl zvolen pufr z kyseliny sírové a síranu draselného o koncentraci 0,01 M. Instrumentální metody, které byly použité pro měření, byly cyklická voltametrie a diferenční voltametrie. Lineární rozmezí stanovení bylo od  $1 \cdot 10^{-8}$  do  $1 \cdot 10^{-7}$  mol l<sup>-1</sup> a detekčním limitem  $1 \cdot 10^{-10}$  mol l<sup>-1</sup>. (Guo, Li, Fan, Wu, & Guo, 2006)

Kondori a kol. měřili množství kyseliny listové ve vzorku s použitím elektrody ze skelného uhlíku, která byla modifikována nanočásticemi oxidu kobaltnato-kobaltitého. Pufr, který byl použit jako prostředí, byl PBS s hodnotou pH 7. Lineární rozsah stanovení byl od  $1,0 \mu\text{mol l}^{-1}$  do  $900 \mu\text{mol l}^{-1}$  s detekčním limitem  $0,8 \mu\text{mol l}^{-1}$ . Jako metoda pro měření byla zvolena diferenční pulzní voltametrie. Vzorky, které byly analyzovány, byly tablety s obsahem kyseliny listové a vzorky moči. (Kondori, 2018)



Obrázek 6: DPV modifikované elektrody v prostředí s různými hodnotami koncentrace kyseliny listové (Kondori, 2018).

Zonghua Wang a kol. modifikovali elektrodu k citlivému měření kyseliny listové ve vzorku lidského séra. Elektroda byla vyrobena ze skelného uhlíku a modifikována grafenem, polyoxometalátovými anionty, přesněji fosfomolybdenanem ( $\text{PMo}_{12}$ ), a polypyrrolem. Vzorky byly poté měřeny v prostředí 0,01 M kyseliny sírové. Lineární rozsah měření byl zjištěn v rozmezí hodnoty  $1,0 \cdot 10^{-9}$  do  $2,0 \cdot 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$ . Detekční limit byl vypočítán  $3,3 \cdot 10^{-11} \text{ mol l}^{-1}$ . Použité metody měření byly cyklická voltametrie a diferenční pulzní voltametrie. (Wang, a další, 2014)

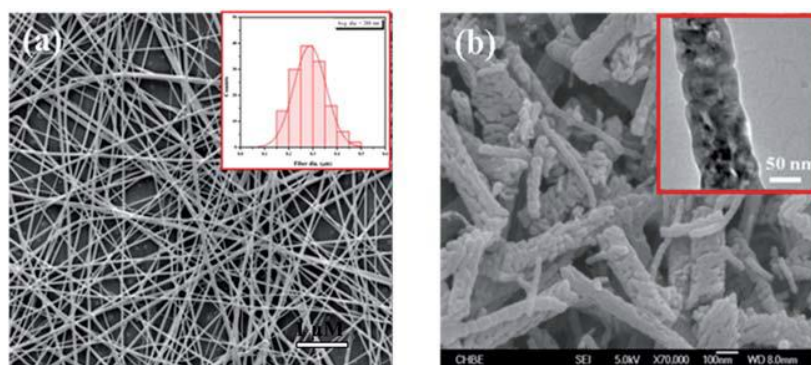


Obrázek 7: TEM snímky grafenu (a), SEM snímky  $\text{PMo}_{12}\text{-PPy}$  (b) a  $\text{PMo}_{12}\text{-PPy/GR}$  (c) (Wang, a další, 2014).

Zuoyi Zhu a kol. použili k současnému měření methotrexátu a kyseliny listové elektrodu ze skleného uhlíku, kterou modifikovali vícečetnými uhlíkovými nanotrubicemi funkcionalizovanými kvartérními amino skupinami. Měření vzorku bylo prováděno v prostředí fosfátového pufru (PBS) s hodnotami pH od 0,3 do 8,0. Jako ideální pH pro měření těchto analytů byla vybrána hodnota 5,0. Metoda použitá k analýze byla cyklická voltametrie. Lineární rozmezí měření bylo od  $0,01 \text{ mg l}^{-1}$  do  $20 \text{ mg l}^{-1}$ . Detekční limit pro měření množství kyseliny listové byl  $0,04 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ . Jako vzorky pro toto měření byly zvoleny farmaceutické výrobky, lidská plazma a moč od pacienta s revmatoidní artritidou. (Zhu, a další, 2013)

P. Kanchana a C. Sekar modifikovali elektrodu ze skelného uhlíku nanočásticemi hydroxyapatitu za účelem zvýšení plochy efektivního povrchu, a tím zvýšení citlivosti stanovení kyseliny listové při její oxidaci. Stanovení bylo prováděno v prostředí fosfátového pufru s hodnotou pH 7,0. Při porovnání modifikované a nemodifikované elektrody ze skelného uhlíku se ukázalo, že s modifikovanou elektrodou kyselina listová lépe elektrochemicky interaguje. Poté bylo provedeno amperometrické stanovení kyseliny listové, kdy lineární rozmezí měření bylo od  $1,0 \cdot 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$  do  $3,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ . Detekční limit byl vypočítán jako  $75 \text{ nmol l}^{-1}$ . Zároveň bylo uskutečněno experimentální stanovení vitamínu B<sub>9</sub> ve vzorku, kde byla zároveň přítomna kyselina askorbová (vitamin C). Koncentrace vitamínu C, který také podléhá oxidaci, byla mnohem vyšší v porovnání s množstvím kyseliny listové. Výsledky ukázaly, že modifikovaná elektroda je více selektivní vůči kyselině listové. Jako reálný vzorek pro tento experiment byly vybrány farmaceutické tablety. (Kanchana & Sekar, 2015)

Maiyalagan a kol. modifikovali elektrodu ze skelného uhlíku přidáním nanovláken  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$  (hematitu). Tato látka byla zvolena pro svou nízkou pořizovací cenu, stabilitě a reverzibilitě. Elektrochemickou aktivitu kyseliny listové na takto modifikované elektrodě autoři porovnávali s elektrodou ze skelného uhlíku s oxidem železitým a klasickou elektrodou ze skelného uhlíku. Výsledky ukázaly, že elektroda s  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$  má vyšší aktivitu při simultánním měření kyseliny listové a kyseliny askorbové než zbývající dvě elektrody a zároveň má vyšší citlivost vůči kyselině listové. Autoři poté použili tuto elektrodu ke stanovení kyseliny listové ve vzorcích s velkým obsahem kyseliny askorbové. Měření probíhalo v prostředí fosfátového pufru s fyziologickou hodnotou pH 7,2. Metoda měření byla diferenciální pulsní voltametrie a amperometrie. Lineární rozmezí hodnot bylo od  $6,0 \cdot 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$  do  $6,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$  s korelačním koeficientem 0,9991. Hodnota experimentálního detekčního limitu byla  $6,0 \cdot 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$ . Jako reálný vzorek bylo použito lidské krevní sérum. (Maiyalagan, a další, 2013)



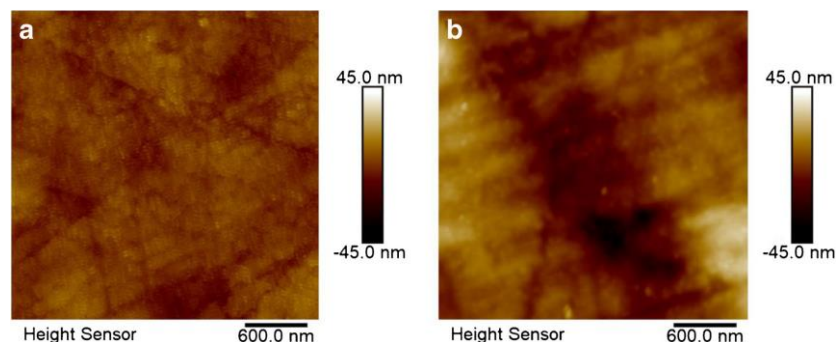
Obrázek 8: FE-SEM snímky elektrostaticky zvláknovaných nanovláken z  $Fe(acetylacetonát)_3$ -polyvinylpyrrolidonu (a) a  $\alpha-Fe_2O_3$  nanovláken po kalcinaci při 500 °C po dobu 5 hod (b) (Maiyalagan, a další, 2013).

Xiao-li Jiang a kol. použili elektrodu ze skelného uhlíku, kterou modifikovali vícečetnými uhlíkovými nanotrubičkami. Nejprve zjišťovali roli pH v tomto měření, kdy cyklickou voltametrií zkoumali elektrochemické chování kyseliny listové v rozmezí pH od 6,0 do 8,0 v několika rozdílných pufrch. Tyto pufry byly kyselina octová-NaOH, fosforečnan draselný, Brittonův-Robinsonův pufr, hydrogenftalát draselný-NaOH a fosforečnan draselný-citronová kyselina. Podle výsledků bylo určeno ideální pH prostředí 6,4, kterou měl pufr z fosforečnanu draselného. Modifikovaná elektroda vykazovala lepší odezvy a reverzibilitu při měření než nedomodifikovaná elektroda ze skelného uhlíku, která byla použita pro srovnání. Metoda, kterou autoři použili ke stanovení kyseliny listové, byla square wave rozpouštěcí voltametrie. Lineární rozmezí stanovovaných koncentrací bylo od  $3,0 \cdot 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$  do  $8,0 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ . Jako detekční limit byla vypočítána hodnota  $1,34 \cdot 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$ . Jako reálný vzorek byly použity farmaceutické tablety. (Jiang, Li, Li, & He, 2009)

Yuan a kol. modifikovali elektrodu ze skelného uhlíku látkou, která se skládala z několika komponent. Tento modifikátor byl vytvořen kombinací platinových nanočástic, grafenových nanodestiček, vícečetných uhlíkových nanotrubiček a  $\beta$ -cyklodextrinu. Autoři tuto elektrodu použili pro citlivé stanovení kyseliny listové. Nejdříve bylo zjišťováno elektrochemické chování kyseliny listové při různých hodnotách pH a to od 4,0 do 9,0. Nejlepší odezva byla pozorována při pH 7,0 v prostředí 0,1 M PBS. K měření byla použita metoda cyklické voltametrie. Lineární rozmezí stanovení bylo od 0,02 do 0,50  $\text{mmol l}^{-1}$  s detekčním limitem 0,48  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . V porovnání s klasickou nedomodifikovanou elektrodou ze skelného uhlíku byly výsledky více přesné. Jako důvod autoři uvádějí větší plochu elektrody pro specifickou detekci kyseliny listové a zároveň i lepší vodivost po modifikaci. Reálné vzorky

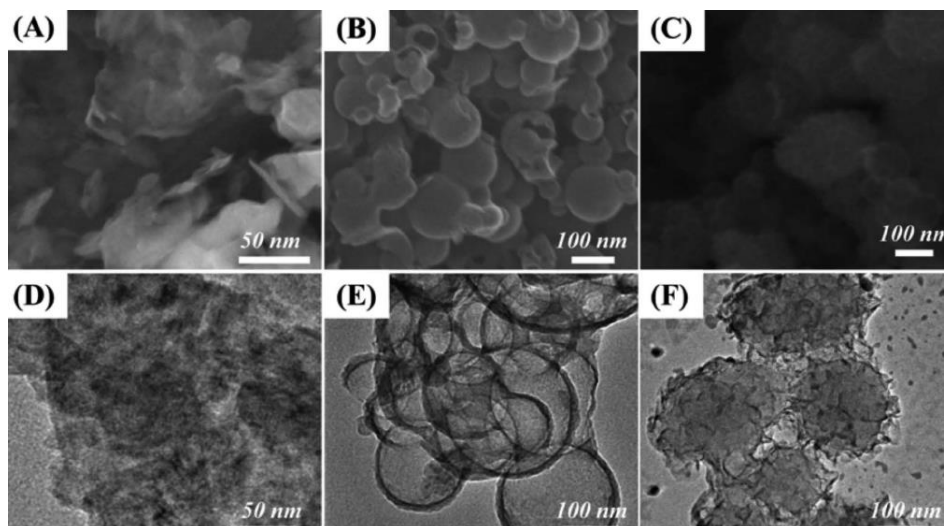


farmaceutických tablet s kyselinou listovou byly kvantifikovány metodou standardního přídatku. (Yuan, Zou, Huang, Peng, & Yu, 2020)



Obrázek 9: AFM snímky elektrod: (a) holá elektroda ze skelného uhlíku, (b) modifikovaná elektroda (Yuan, Zou, Huang, Peng, & Yu, 2020).

Huiming Ye a kol. publikovali článek, kde popisují, že použili k měření modifikovanou elektrodu ze skelného uhlíku. Tato elektroda byla modifikována uhlíkovými dutými nanosférami (CHN) obohacenými nanovrstvami sulfidu molybdeničitého. Experiment byl prováděn v prostředí 0,1 M fosfátového pufru. Nejdříve se měření provedlo v rozmezí pH od 4,0 do 9,0. Do pH 7 se proud oxidace kyseliny listové zvyšoval, ale při vyšším pH (přesněji při pH 9,0) se proud oxidace začal snižovat vzhledem k tomu, že protony jsou také součástí elektrochemické oxidace kyseliny listové. Proto byla jako ideální pro nejcitlivější stanovení zvolena hodnota pH 7,0. Lineární rozmezí měření bylo poměrně široké s hodnotami od 0,08 do 10,0  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . Detekční limit byl poměrně nízký a jeho hodnota byla 0,02  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . Stanovení bylo provedeno pomocí diferenční pulzní voltametrie ve vzorcích lidské moči. (YE, a další, 2021)

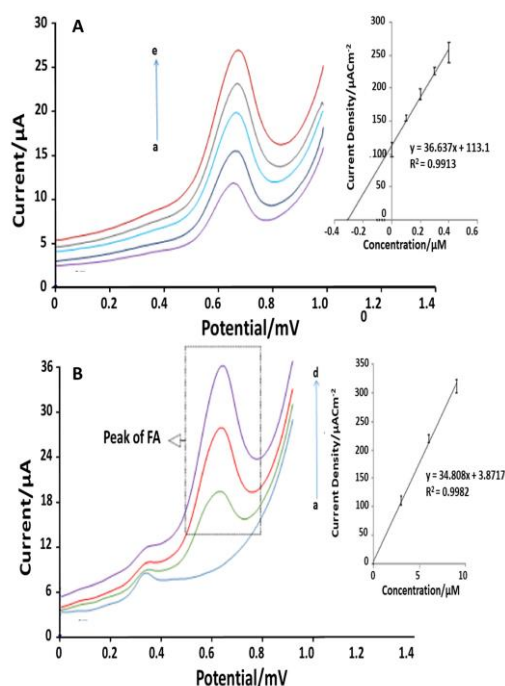


Obrázek 10: SEM snímky (A)  $MoS_2$ , (B) CHN, (C) CHN@ $MoS_2$ , TEM snímky: (D)  $MoS_2$ , (E) CHN a (F) CHN@ $MoS_2$  (YE, a další, 2021).

### 3.2.1.2. Uhlíková pastová elektroda

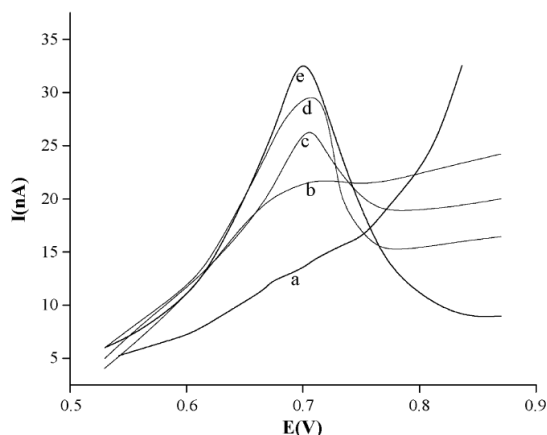
V roce 2019 Mollaei a kol. pracovali s elektrochemickými senzory pro kyselinu listovou na uhlíkové pastové elektrodě (CPE). Tato elektroda byla modifikována dodecylpyridinium chloridem (DPC). Prostředí, ve kterém se látka stanovovala, bylo 0,1 M PBS s pH 8. Lineární rozsah koncentrací byl mezi 0,01 a 10,69  $mmol\ l^{-1}$  a limit detekce roven 2,9  $nmol\ l^{-1}$ . Elektrochemická technika použitá pro měření byla DPV. Byly analyzovány dva reálné vzorky: vzorek lidské moči a farmaceutická tableta. (Di Tinno, Cancelliere, & Micheli, 2021)





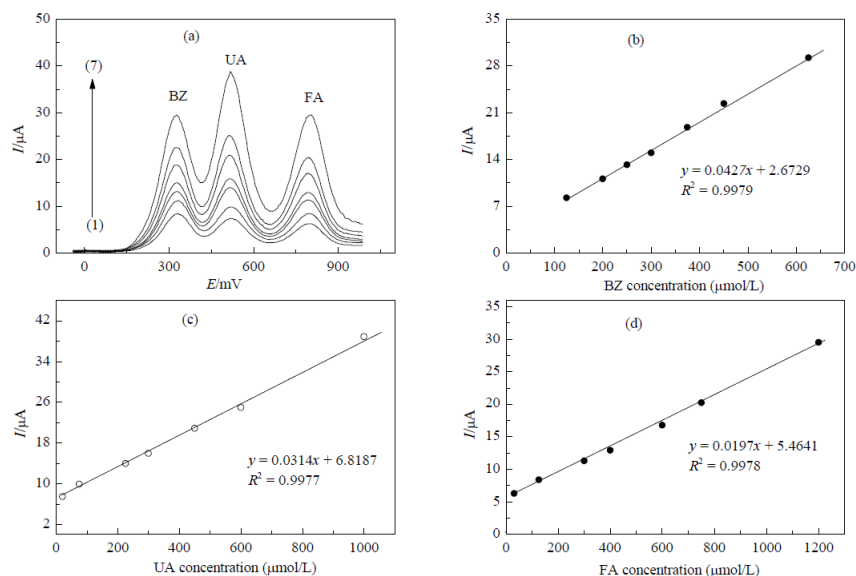
Obrázek 11: DPV uhlíkové pastové elektrody v prostředí fosfátového pufru a rozpuštěné farmaceutické tablety (Di Tinno, Cancelliere, & Micheli, 2021).

Vishwanath D. Vaze a Aswini K. Srivastava porovnávali klasickou uhlíkovou pastovou elektrodu a její modifikaci kalixaremem. Vědci použili tři typy kalixarenu, přičemž nejvyšší citlivost při detekci kyseliny listové měl *p-terc*-butyl-kalix[6]aren. Modifikovaná elektroda měla lepší citlivost. Pro měření byl využit Brittonův-Robinsonův pufr s hodnotou pH 4,0. Metodou diferenční pulzní adsorptivní rozpouštěcí voltametrie (DPAdSV) bylo možné analyzovat kyselinu listovou v lineárním rozsahu od  $8,79 \cdot 10^{-12}$  do  $1,93 \cdot 10^{-9}$  mol  $\text{l}^{-1}$ . Detekční limit byl vypočítán jako  $1,24 \cdot 10^{-12}$  mol  $\text{l}^{-1}$ . Jako reálné vzorky byly vybrány farmaceutické výrobky. Výsledky byly porovnány s hodnotami danými výrobcem a s hodnotami, které vědci získali srovnávací spektrofotometrickou metodou. Bylo analyzováno několik reálných vzorků, a to lidské krevní sérum, chřest, špenát, pomeranč a multivitaminové přípravky. (Vaze & Srivastava, 2007)



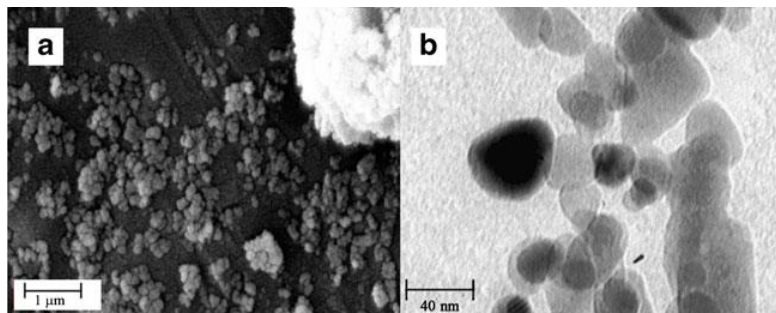
Obrázek 12: DPAdSV záznam kyseliny listové na modifikované elektrodě v prostředí BR pufru s pH 4,0 (Vaze & Srivastava, 2007).

Baghbamidi a kol. použili k měření kyseliny listové modifikovanou uhlíkovou pastovou elektrodu. Elektroda byla vytvořena z grafitového prášku a parafinového oleje a modifikována uhlíkovými nanotrubičkami a ferrocenem. Fosfátový pufr, který byl použitý jako detekční prostředí, měl rozmezí hodnot pH od 2,0 do 11,0. Pro měření se ukázalo jako ideální hodnota pH 7,0. Lineární rozsah pro kyselinu listovou byl v případě tohoto měření od 20,0 do 1200  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . Detekční limit byl určený jako 15,0  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . Metoda použitá pro kvantifikaci byla SWV. Vzorek, ve kterém bylo množství kyseliny listové stanovované, byl vzorek moči. (Baghbamidi, a další, 2013)



Obrázek 13: SWV záznamy modifikované elektrody v prostředí PBS (pH 7,0) a při různých koncentracích kyseliny močové, kyseliny listové a benzerazidu (Baghbamidi, a další, 2013).

Taherkhani a kol. použili pro stanovení kyseliny listové uhlíkovou pastovou elektrodu s iontovou kapalinou. Tu modifikovali nanočásticemi oxidu zinečnatého. Měření prováděli v prostředí 0,1 M fosfátového pufru s rozmezím pH od 6,0 do 10,0. Jako ideální hodnota pH byla určena hodnota 9,0. Při těchto podmínkách použitím metody square wave voltametrie autoři získali lineární rozsah měření od 0,05 do 550  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . Zároveň detekční limit byl vypočítán jako 0,01  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . Pro experimentální měření reálných vzorků byly použity tablety s kyselinou listovou, vzorky lidské moči a jablečný džus. (Taherkhani, a další, 2014)

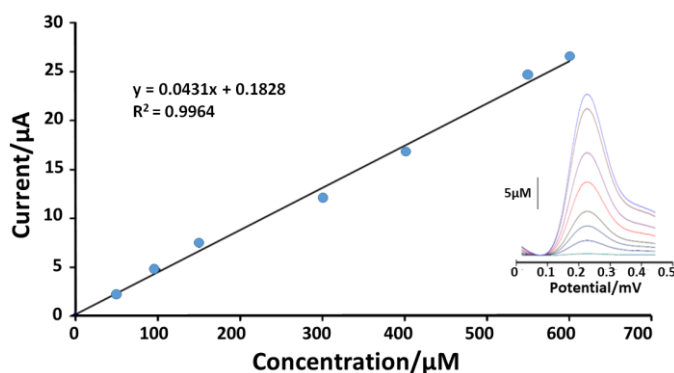


Obrázek 14: (a) SEM snímek ZnO/NP, (b) TEM snímek ZnO/NP (Taherkhani, a další, 2014)

Tahernejad-Javazmi a kol. publikovali použití uhlíkové pastové elektrody s iontovou kapalinou n-hexyl-3-methylimidazolium hexafluorofosfát. Tato elektroda byla dále modifikována redukováným oxidem grafenu a  $\text{FeNi}_3$ . Účel tohoto experimentu bylo analyzovat antioxidant a potravinářské aditivum *terc*-butylhydrochinon v prostředí kyseliny listové a zároveň i stanovit množství této kyseliny. Měření bylo prováděno v prostředí, které mělo pH 7,0. Při použití metody square wave voltametrie byl pro kyselinu listovou zjištěn lineární rozsah měření od 0,6 do 1100  $\mu\text{mol l}^{-1}$  a detekční limit 0,1  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . Jako reálné vzorky byly poté analyzovány potravinářské výrobky, a to sezamový olej, olej ze sójových bobů a jablečný džus. (Tahernejad-Javazmi, Shabani-Nooshabadi, & Karimi-Maleh, 2019)

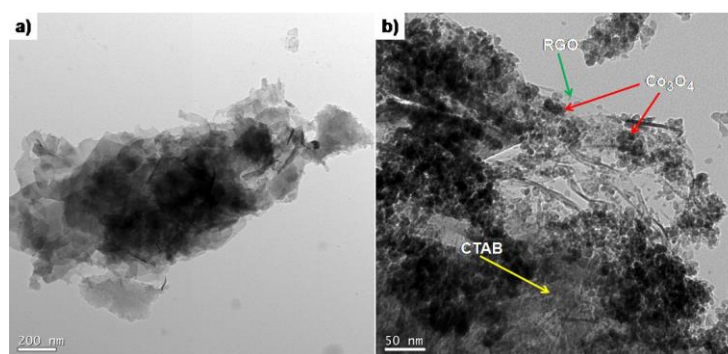
Shirin Movaghgharnezhad a Ali Mirabi použili ke stanovení kyseliny listové elektrodu z uhlíkové pasty, která ke zvýšení citlivosti byla modifikována nanočásticemi oxidu hořečnatého. Oxidace kyseliny listové je závislá na hodnotě pH. Proto byl nejdříve měřen proud v rozmezí pH od 6,0 do 10,0. Nejvyšší odezva byla při hodnotě pH 9,0, proto byla tato hodnota určena jako ideální pro další stanovení kyseliny listové. Jako prostředí byl použitý 0,1 M fosfátový pufr. Lineární rozmezí měření bylo poměrně široké s hodnotami od 0,09 do 1000  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . Jako instrumentální metoda byla použita square wave voltametrie. Detekční limit byl určen jako 0,04  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . Byly analyzovány reálné vzorky farmaceutických tablet a ovocných džusů. (Movaghgharnezhad, 2019)

Sadeghi a kol. modifikovali uhlíkovou pastovou elektrodu oxidem měďnatým, uhlíkovými nanotrubičkami a 1-butyl-2,3-dimethylimidazolium hexafluorofosfátem. Tím se zvýšil povrch elektrody i citlivost. Prostředí, které bylo použito pro měření, byl fosfátový pufr. Nejdříve byly proměřeny odezvy při hodnotách pH od 6,0 do 11,0. Poté bylo určeno jako ideální pH 9,0. Při tomto pH kyselina listová podstupovala oxidaci nejlépe. Diferenční pulzní voltametrií byly změřeny hodnoty v rozmezí od 30 nmol l<sup>-1</sup> do 250 μmol l<sup>-1</sup> a detekční limit byl určen jako 0,8 nmol l<sup>-1</sup>. Jako reálné vzorky byly analyzovány jablečné a pomerančové džusy. (Sadeghi, 2020)



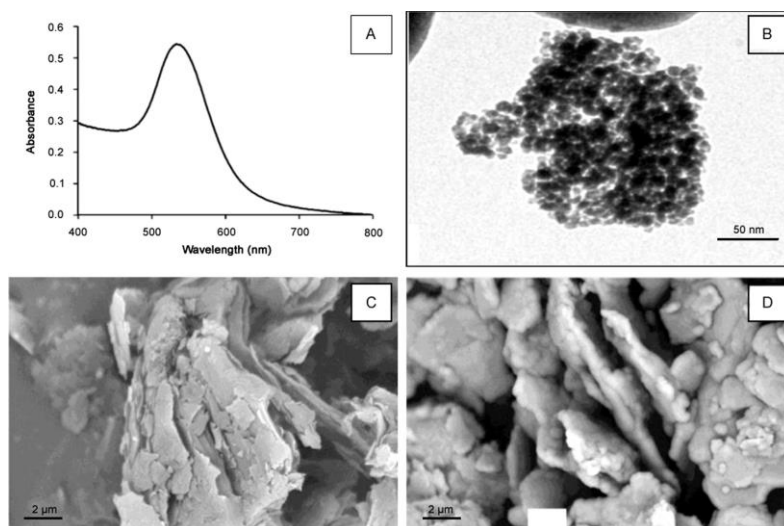
Obrázek 15: Kalibrační závislost pro oxidaci kyseliny listové a příslušné DPV voltamogramy (Sadeghi, 2020).

Venu a kol. použili pro stanovení kyseliny listové uhlíkovou pastovou elektrodu, kterou modifikovali oxidem kobaltnato-kobaltitým a redukováným oxidem grafenu. Zároveň přitom stanovovali také dopamin a kyselinou močovou. Prostředí, ve kterém bylo prováděno měření, byl 0,1 M fosfátový pufr při fyziologickém pH 7,0. Jako instrumentální metoda pro měření byla zvolena diferenční pulzní voltametrie. Lineární rozsah stanovení kyseliny listové byl od 30 μmol l<sup>-1</sup> do 320 μmol l<sup>-1</sup>, korelační koeficient 0,9990 a detekční limit byl vypočítán jako 19 μmol l<sup>-1</sup>. Zkoumané vzorky byly farmaceutický výrobek a lidské sérum. (Venu, 2018)



Obrázek 16: TEM snímky GO (a) a Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/rGO/CTAB (b) (Venu, 2018).

Majid Arvand a kol. modifikovali uhlíkovou pastovou elektrodu zlatými nanočásticemi. Tato modifikace byla provedena za účelem zvětšení plochy a pórovitosti elektrody, což mělo za následek zlepšení přenosu elektronu mezi roztokem a elektrodou. Autoři experimentálně stanovili množství kyseliny listové zároveň s kyselinou askorbovou a kyselinou močovou. Tyto látky totiž běžně doprovází kyselinu listovou v biologických tekutinách. Byla testována elektrochemická odezva všech látek v prostředí fosfátového pufru v různých intervalech pH: od 5,5 do 7,5 pro kyselinu listovou, od 4 do 7,5 pro kyselinu močovou a od 5 do 7,5 pro kyselinu askorbovou. Z těchto experimentálních měření bylo potom určeno ideální pH pro každou látku. Ke stanovení kyseliny listové při pH 6 byly zvoleny techniky cyklická voltametrie a square wave voltametrie. Lineární rozsah stanovení pro kyselinu listovou byl od  $5,2 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$  do  $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  s limitem detekce  $2,7 \cdot 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$ . Jako reálný vzorek byla analyzována lidská moč. (Arvand, Pourhabib, & Giahi, 2017)

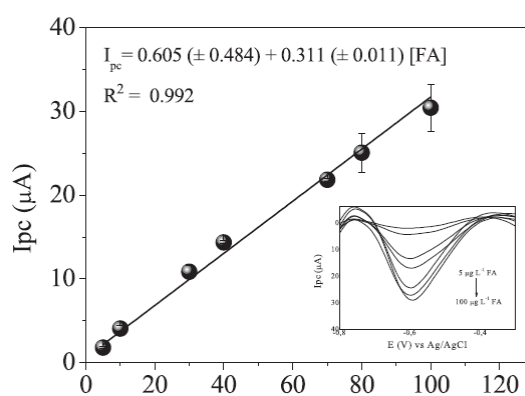


Obrázek 17: UV-Vis spektrum syntetizovaných koloidních zlatých nanočástic (GNPs) (A), TEM snímek koloidních GNPs (B), SEM snímek uhlíkové pastové elektrody před přidáním GNPs (C) a po přidání GNPs (D) (Arvand, Pourhabib, & Giahi, 2017).

V roce 2009 Reza Ojani a kol. modifikovali uhlíkovou pastovou elektrodu nikelnatými ionty a poly(*o*-anisidinem) (POA). Poté použili cyklickou voltametrii ke zkoumání jejího elektrochemického chování za účelem použití této elektrody k elektrokatalytické oxidaci kyseliny listové. Autoři porovnávali chování elektrody v přítomnosti dodecylsíranu sodného a při jeho absenci a zjistili, že při přidání surfaktantu je stanovení citlivější. Redoxní chování bylo také závislé na hodnotě pH. Jako základní elektrolyt byl zvolen 0,1 M roztok NaOH. Lineární rozmezí stanovení kyseliny listové mělo hodnoty od  $0,1 \text{ mmol l}^{-1}$  do  $5 \text{ mmol l}^{-1}$  s korelačním koeficientem 0,9994 a detekčním limitem  $0,091 \text{ mmol l}^{-1}$ . Jako reálný vzorek byly analyzovány farmaceutické tablety. (Ojani, Raoof, & Zamani, 2009)

Raof a kol. experimentovali s uhlíkovou pastovou elektrodou, kterou modifikovali oxidem zinečnatým, uhlíkovými nanotrubičkami a poté ještě 4,5-bis(4-chloroanilino)-1,2-benzendiolem (BCD). BCD má výhodu v tom, že není rozpustný ve vodném prostředí. Citlivost takto upravené elektrody měřili s využitím square wave voltametrie v přítomnosti glutathionu, NADH a kyseliny listové. Experiment byl proveden v prostředí fosfátového pufru při pH 7,0. Autoři uvádí lineární rozsah stanovení pro kyselinu listovou od  $3,0 \mu\text{mol l}^{-1}$  do  $700 \mu\text{mol l}^{-1}$  s limitem detekce  $1,0 \mu\text{mol l}^{-1}$ . Analyzovány byly reálné vzorky farmaceutických tablet a lidské moči. (Raof, Teymoori, Khalilzadeh, & Ojani, 2015)

Michele Kuceki a kol. experimentovali ohledně stanovení kyseliny listové ve vzorku s uhlíkovou pastovou elektrodou, kterou modifikovali poly(methakrylovou) kyselinou a oxidem křemičitým. Jako základní elektrolyt byl zvolen Brittonův-Robinsonův pufr s hodnotami pH od 2,0 do 6,5 a detekční technika square wave voltametrie. Po tomto měření bylo jako optimální pH zvoleno 4,5. Pro stanovení kyseliny listové byl zjištěn lineární rozsah od  $5 \mu\text{mol l}^{-1}$  do  $100 \mu\text{mol l}^{-1}$  s detekčním limitem  $0,72 \mu\text{mol l}^{-1}$ . Jako reálné vzorky byly testovány farmaceutické doplňky stravy. (Kuceki, a další, 2018)

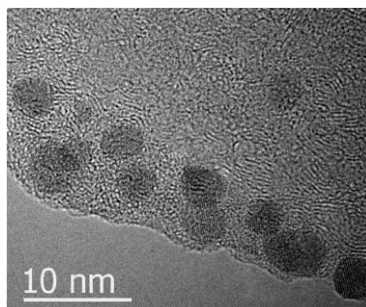


Obrázek 18: SWV voltamogramy a kalibrační křivka pro stanovení kyseliny listové v prostředí Brittonova-Robinsonova pufru s pH 4,5 (Kuceki, a další, 2018).

### 3.2.1.3. Tužková grafitová elektroda

Güney popisuje stanovení kyseliny listové ve vzorku, kdy byla použita tužková grafitová elektroda. Tato elektroda byla modifikována uhlíkovými nanotečkami a *p*-aminobenzensulfonovou kyselinou. Měření bylo prováděno ve fosfátovém pufru s hodnotou pH v rozmezí hodnot od 3,0 do 8,0 upraveného přidávkem kyseliny fosforečné nebo NaOH. Jako ideální pH prostředí byla určena hodnota 6,2. Lineární rozsah měření byl od  $2,2 \text{ ng ml}^{-1}$  do  $30,8 \text{ ng ml}^{-1}$ . Limit detekce byl  $2,02 \text{ ng ml}^{-1}$ . Stanovení probíhalo s využitím cyklické voltametrie a diferenční pulzní voltametrie. Byly analyzovány reálné vzorky farmaceutické

tablety a vzorek lidské moči. Obsah kyseliny listové byl kvantifikován metodami standardního přídatku a kalibrační křivky. Správnější výsledky poskytovala metoda standardního přídatku. (Güney, 2019)



Obrázek 19: TEM snímek elektrochemicky syntetizovaných uhlíkových nanoteček (Güney, 2019).

Mirmoghtadaie a kol. použili ke stanovení kyseliny listové ve vzorku tužkovou grafitovou elektrodu, kterou modifikovali dvouřetězcovou DNA z lososího spermatu. Jako prostředí pro měření byl použitý Tris-HCl pufr, který měl hodnotu pH 8,5. Lineární rozmezí měření pomocí diferenční pulzní voltametrie bylo od 0,1 do 10  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . Autoři uvádí detekční limit stanovení  $1,06 \cdot 10^{-8} \mu\text{mol l}^{-1}$ ; tato hodnota je ale nereálná, liší se od nižší hodnoty lineárního rozsahu o 7 řádů a zřejmě jde o překlep. Vzorky, které byly analyzovány, byly tableta s kyselinou listovou, bílá mouka obohacená kyselinou listovou a špenátové listy. (Mirmoghtadaie, Ensafi, Kadivar, & Norouzi, 2013)

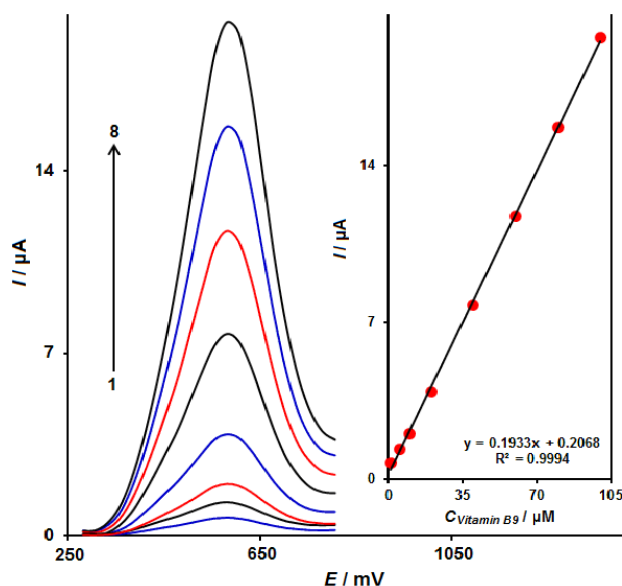
#### 3.2.1.4. Uhlíkové tištěné elektrody

Mohadesh Safaei a kol. využili k selektivnímu určení kyseliny listové uhlíkovou tištěnou elektrodu, na které byly syntetizovány oxid železnato-železitý a oxid křemičitý. Kyselina listová byla stanovována diferenční pulzní voltametrií v prostředí 0,1 M PBS s pH v rozmezí od 2,0 do 9,0. Ukázalo se, že elektrochemická oxidace kyseliny listové na této elektrodě probíhá nejlépe v neutrálním prostředí, zatímco v kyselém a bazickém prostředí neprobíhá tak dobře. Proto byla jako ideální zvolena hodnota pH 7,0. Lineární rozsah stanovení byl od 0,1 do 600  $\mu\text{mol l}^{-1}$  s detekčním limitem 0,05  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . Metoda byla ověřena na dvou reálných vzorcích. Jeden ze vzorků byla tableta, která obsahovala kyselinu listovou, a druhý vzorek byly vzorky moči. (Mohadeseh Safaei, Beitollahi, & Shishehbore, 2020)

Maryam Zare a Hamid Sarhadi modifikovali uhlíkovou tištěnou elektrodu nanočásticemi  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ . Touto elektrodou poté prováděli měření v prostředí fosfátového pufru PBS v rozmezí hodnot pH od 2,0 do 9,0. Jako ideální pH prostředí ale bylo určeno 7,0. Pro

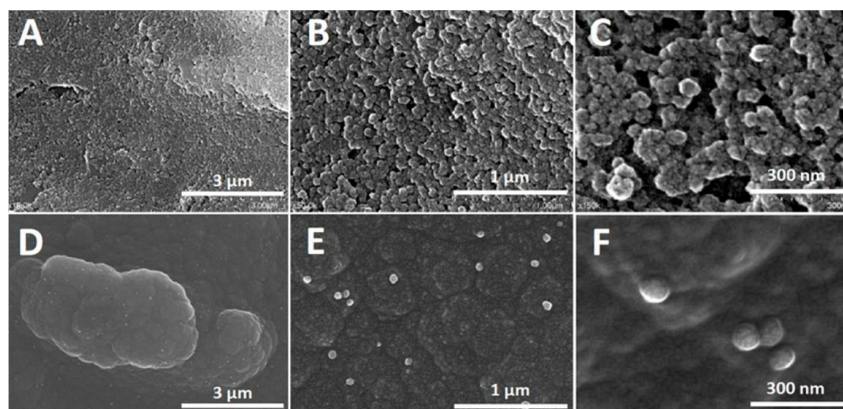


stanovení byla použita diferenční pulzní voltametrie a byl zjištěn lineární rozsah od 1 do 100  $\mu\text{mol l}^{-1}$  a detekční limit 0,3  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . Byly analyzovány vzorky farmaceutických tablet kyseliny listové a lidská moč. (Sarhadi & Maryam, 2015)



Obrázek 20: DPV voltamogramy kyseliny listové s koncentracemi od 1,0 do 100,0  $\mu\text{mol l}^{-1}$  na SPCE modifikované  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  v prostředí PBS (pH 7,0) (Sarhadi & Maryam, 2015).

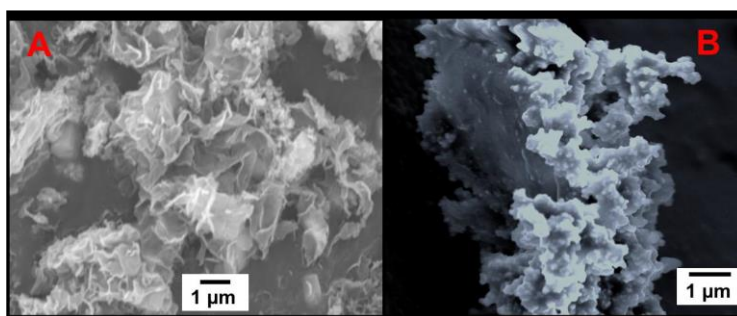
Gheorghe Melinte a kol. použili ke stanovení kyseliny listové uhlíkovou tištěnou elektrodu, na kterém byl polymerický surfaktant. Tuto elektrodu dále modifikovali polypyrrolem s karboxylovými funkčními skupinami. Měření prováděli v prostředí fosfátového pufru s hodnotou pH 7,4 technikami cyklické voltametrie a diferenční pulzní voltametrie. Lineární rozsah měření byl od 2,5  $\mu\text{mol l}^{-1}$  do 200  $\mu\text{mol l}^{-1}$  a byl vypočten detekční limit 0,8  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . Jako reálný experimentální vzorky byly analyzovány vzorky lidského séra a farmaceutické tablety. (Melinte, a další, 2020)



Obrázek 21: (A-C) nemodifikovaná uhlíková elektroda a (D-F) 3-karboxypyrrol (0,05 M) v 0,1 M  $\text{LiClO}_4$  s 9  $\text{mg ml}^{-1}$  PVP v různém zvětšení (Melinte, a další, 2020).



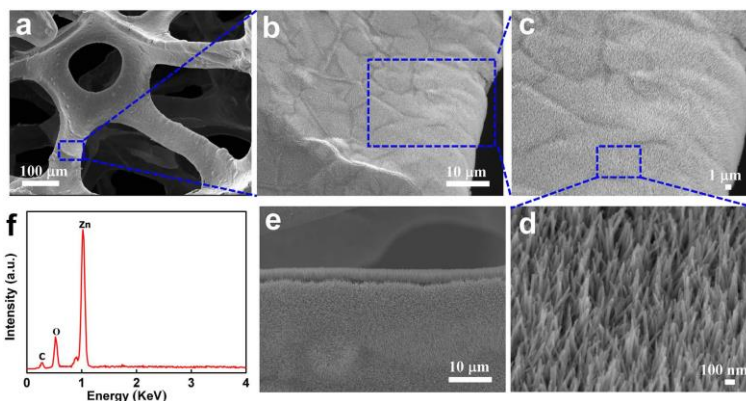
Veerappan Mani a kol. vytvořili uhlíkovou tištěnou elektrodu, na kterou aplikovali hybridní 2D modifikátor, která se skládá z grafenových nanodestiček, sulfidu molybdeničitého a zlatých nanočástic. Poté experimentálně změřili oxidaci kyseliny listové metodou cyklické voltametrie v prostředí fosfátového pufru, který byl neustále míchán a měl hodnotu pH 7,4. Výsledky ukázaly, že tato modifikovaná elektroda měla větší katalytickou plochu pro oxidaci stanovované látky než elektroda nemodifikovaná. Autoři poté prováděli amperometrické stanovení vitamínu B<sub>9</sub> ve stejném prostředí. Lineární rozsah měření byl od 50 nmol l<sup>-1</sup> do 1150 μmol l<sup>-1</sup> s detekčním limitem 38,5 nmol l<sup>-1</sup>. Analyzovány byly reálné vzorky lidské moči. (Mani, 2017)



Obrázek 22: (A) SEM snímky GNS-MoS<sub>2</sub>, (B) GNS-MoS<sub>2</sub>-AuNPs (Mani, 2017).

### 3.2.1.5. Ostatní uhlíkové elektrody

Xin Gao a kol. připravili uhlíkovou elektrodu, která byla z grafenové pěny. Dále na ploše této elektrody vytvořili pole nanodrátů (NWA) ZnO, které následně obohatili o grafen. Tím zvýšili efektivní plochu a vodivost elektrody. Měření provedli v prostředí fosfátového pufru s hodnotou pH 7,4 technikou diferenční pulzní voltametrie. Lineární rozsah stanovení byl od 1 μmol l<sup>-1</sup> do 60 μmol l<sup>-1</sup> a detekčního limitu 1,0 μmol l<sup>-1</sup>. Ke kvantifikaci reálných vzorků lidské moči byla použita metoda standardního přídatku. (Gao, a další, 2018)



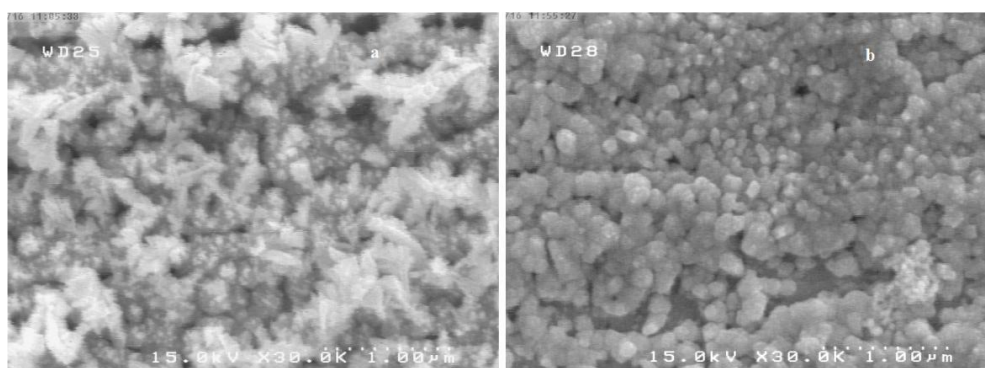
Obrázek 23: (a-d) SEM snímky Gr/ZnO NWAs/GF, (e) řez ZnO NWAs, (f) EDX spektrum Gr/ZnO NWAs/GF (Gao, a další, 2018)

### 3.2.2. Zlato

Experimentální stanovení vitamínu B<sub>9</sub> na zlatých elektrodách je méně časté než na elektrodách z uhlíkových materiálů. Jeden z důvodů může být to, že zlato je finančně nákladnější než uhlík a materiály z něho vytvořené nebo že nemá tak ideální elektrochemické vlastnosti ke stanovení této látky.

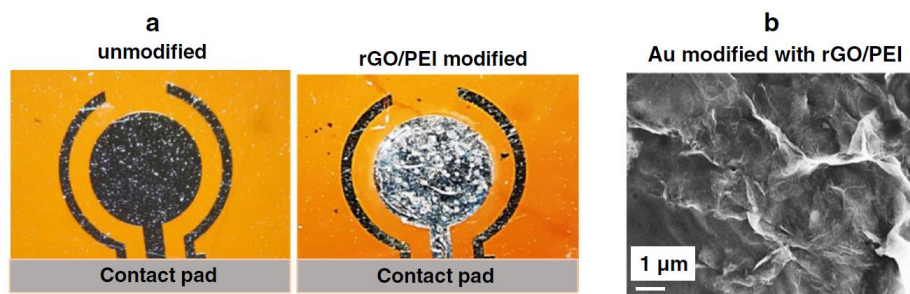
Qijin Wan a Nianjun Yang popisují použití zlaté elektrody modifikované 2-merkaptobenzothiazolem, který aplikovali ve formě monovrstvy na povrch elektrody metodou samouspořádání ke stanovení a zkoumání elektrochemického chování kyseliny listové. Snažili se tím zvýšit selektivitu a citlivost elektrody ke stanovované látce a zlepšit dobu odezvy při měření. Jako prostředí byl použit fosfátový pufr s hodnotou pH 7,4. Instrumentální metoda pro stanovení kyseliny listové byla cyklická voltametrie. Byl určen lineární rozsah stanovení od  $8,0 \cdot 10^{-9} \text{ mol l}^{-1}$  do  $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$  a detekční limit  $4,0 \cdot 10^{-9} \text{ mol l}^{-1}$ . Jako reálné vzorky byly analyzovány farmaceutické tablety. (Wan & Yang, 2002)

Mirmoghtadaie a kol. modifikovali polykrystalickou zlatou elektrodu zlatými nanočásticemi. Tím zvýšili její elektrochemickou aktivitu, jelikož pevná zlatá elektroda může být málo elektrochemicky aktivní. Modifikace měla za cíl zlepšit její elektrochemické vlastnosti a citlivost a selektivitu vůči kyselině listové. Dále byla ještě provedena aktivace této modifikované elektrody. Porovnání s klasickou zlatou elektrodou se ukázalo, že modifikovaná elektroda vykazuje intenzivnější elektrooxidaci v prostředí 0,1 M NaOH. Pro měření byla použita diferenční pulzní voltametrie a zjištěn lineární rozsah koncentrací od  $1,0 \cdot 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$  do  $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ . Hodnota detekčního limitu byla  $7,5 \cdot 10^{-9} \text{ mol l}^{-1}$ , RSD pak 3,2 %. Byly analyzovány reálné vzorky farmaceutických tablet, bílé mouky, obohacené bílé mouky a špenát. (Mirmoghtadaie, 2013)



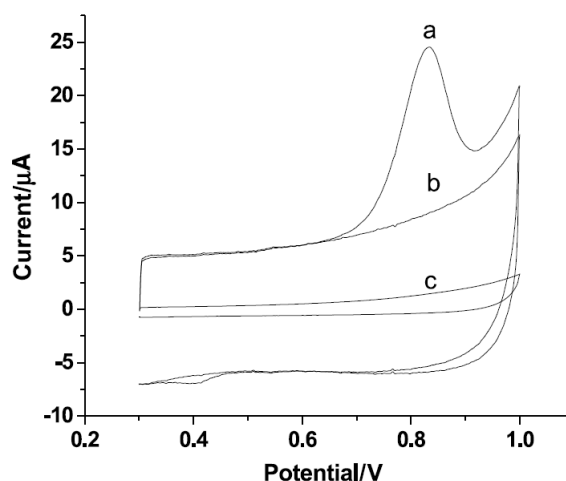
Obrázek 24: SEM snímek elektrodepozice zlatých nanočástic před a po zlaté elektrody (Mirmoghtadaie, 2013).

Chekin a kol. modifikovali k měření množství kyseliny listové zlatou elektrodu. Látka použitá k modifikování byl redukovaný oxid grafenu a ligandy dopaminu modifikovaný  $\beta$ -cyklodextrin. Prostředí, ve kterém se provádělo měření, byl 0,1 M fosfátový pufr s hodnotou pH 7,4. Metoda použitá k analyzování vzorku byla diferenční pulzní voltametrie. Detekční limit měření byl  $1 \text{ nmol l}^{-1}$  a lineární rozmezí až do hodnoty  $10 \text{ } \mu\text{mol l}^{-1}$ . Kyselina listová byla analyzována ve vzorcích lidského séra. (Chekin, a další, 2019)



Obrázek 25: (a) Fotografie integrované zlaté elektrody před a po modifikaci, (b) SEM snímek povrchu elektrody po modifikaci (Chekin, a další, 2019)

Shuhong Wei a kol. modifikovali zlatou elektrodu víceštěnými uhlíkovými nanotrubičkami. Vícestěnné uhlíkové nanotrubičky jsou známé tím, že mají velkou plochu, mechanickou stabilitu, jsou dobře vodivé a chemicky stabilní. Přidáním těchto trubiček tedy zvýšili elektrochemickou aktivitu elektrody. Měření bylo prováděno v prostředí fosfátového pufru. Nejdříve byl zkoumán vliv pH na elektrochemické chování kyseliny listové. Autoři měřili nejprve při hodnotách pH od 1,3 do 4,2 a z výsledků bylo patrné, že ideální podmínky pro měření jsou při pH 2,5. Pro elektrochemickou analýzu bylo použito více instrumentálních metod: cyklická voltametrie, diferenční pulzní voltametrie, chronoamperometrie a chronocoulometrie. Při porovnání cyklických voltametrických měření modifikované a klasické zlaté elektrody lze vyčíst, že modifikovaná elektroda má silný katalytický efekt na oxidaci kyseliny listové, což je důležité pro její stanovení. Byl zjištěn lineární rozsah stanovení od  $2,0 \cdot 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$  do  $1,0 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$  a detekční limit  $1,0 \cdot 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$ . Jako reálné vzorky byly analyzovány farmaceutické tablety. (Wei, Zhao, Xu, & Zeng, 2006)



Obrázek 26: CV kyseliny listové na modifikované elektrodě (a,b) a na čisté zlaté elektrodě (c): (a,c) roztok obsahuje  $5,0 \mu\text{mol l}^{-1}$  kyseliny listové, (b) bez kyseliny listové (Chekin, a další, 2019).

### 3.2.3. Rtuť a amalgámy

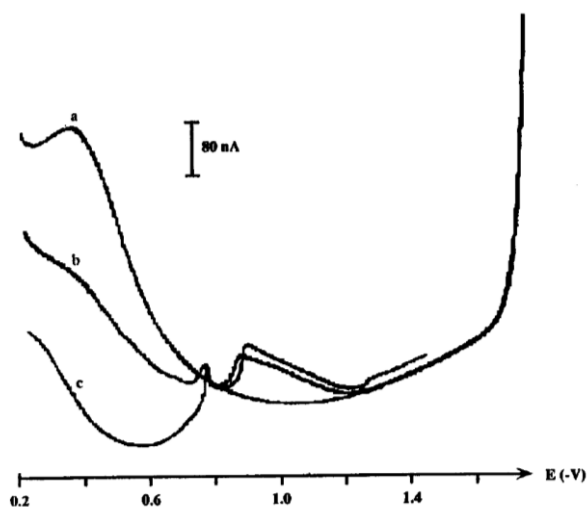
Rtuť a amalgámy jako elektrody se používali k experimentálním stanovením kyseliny listové spíše v minulých letech. V poslední době se používají méně kvůli toxicitě rtuti na životní prostředí. V člancích, které jsou níže shrnuté, se rtuťové elektrody nemodifikovali, pouze amalgámové. Bandžuchova a kol., kteří experimentovali s modifikovanou amalgámovou elektrodou, uvádí, že na této elektrodě probíhá redukce kyseliny listové v kyselém prostředí třemi kroky a pouze jedním redukčním krokem v zásaditém prostředí. (Bandžuchová, Šelešovská, Navrátil, & Chýlková, Electrochemical behavior of folic acid on mercury meniscus modified silver solid amalgam electrode, 2011)

#### 3.2.3.1. Rtuťové elektrody

V roce 1991 Jilin Han a kol. použili rtuťovou elektrodu ke zkoumání adsorbčního chování kyseliny listové ve vzorku. Prostředí, ve kterém autoři prováděli stanovení pomocí adsorptivní rozpouštěcí voltametrie, byl Brittonův-Robinsonův pufr s hodnotou pH 5,0. Byl určen lineární rozsah stanovení od  $1 \cdot 10^{-8} \text{ mol l}^{-1}$  do  $1 \cdot 10^{-11} \text{ mol l}^{-1}$  s korelační koeficient 0,998 a vypočítán detekční limit  $2 \cdot 10^{-12} \text{ mol l}^{-1}$ . (Han, Chen, & Gao, 1991)

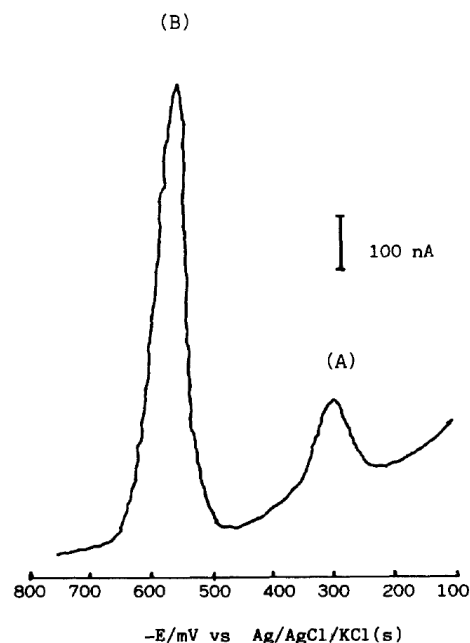
V roce 1993 Gall a Berg vydali práci, kde popisují, jak využili kapající rtuťovou elektrodu ke stanovení kyseliny listové s použitím katodické adsorptivní voltametrie. Nejdříve pomocí cyklické voltametrie zjistili, že redukce kyseliny listové se sestává ze tří kroků a toho využili při jejím stanovení. Podle výsledků z předběžných měření určili, že k dosažení maximální citlivosti stanovení v borátovém pufru je ideální hodnota pH 8,5. Poté použitím

katodické adsorptivní voltametrie s akumulací 60 sekund byl dosažen lineární rozsah stanovení do  $500 \text{ nmol l}^{-1}$  a detekční limit  $0,09 \text{ nmol l}^{-1}$ . Měření bylo provedeno ve vzorku mořské vody. (Le Gall & van den Berg, 1993)



Obrázek 27: Tenzametrie kyseliny listové v mořské vodě s pH 8,5. (a) bez kyseliny listové, (b)  $0,5 \mu\text{mol l}^{-1}$  kyseliny listové, (c)  $1 \mu\text{mol l}^{-1}$  kyseliny listové (Le Gall & van den Berg, 1993).

Villamil a kol. popsali využití rtuťové kapající elektrody k simultánnímu stanovení kyseliny listové a riboflavinu ve vzorku. Experiment probíhal v prostředí pufru octanu sodného s hodnotou pH 5,0. Při měření kyseliny listové v přítomnosti riboflavinu byly zjištěny hodnoty lineárního rozmezí koncentrací od  $1 \cdot 10^{-9}$  do  $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$  a detekčního limitu  $1 \cdot 10^{-9} \text{ mol l}^{-1}$ . Jako metoda pro toto stanovení byla použita adsorptivní rozpouštěcí voltametrie. Jako reálný vzorek byly potom analyzované multivitaminové přípravky. (Villamil, Miranda Ordieres, Costa García, & Tuñón Blanco, 1993)



Obrázek 28: Adsorptivní rozpouštěcí voltamogram (A) riboflavinu a (B) kyseliny listové v roztoku pufru octanu sodného (pH 5,0) (Le Gall & van den Berg, 1993).

### 3.2.3.2. Amalgámy

Bandžuchová a kol. použili metody lineární voltametrie, diferenční pulzní voltametrie a adsorptivní rozpouštěcí diferenční pulzní voltametrie ke zkoumání elektrochemického chování kyseliny listové na elektrodě ze stříbrné amalgámy. Tato elektroda byla navíc modifikována rtuťovým meniskem. Po určení ideálního prostředí, což byla směs methanolu a vodného roztoku acetátového pufru v poměru 1:9, provedli měření a zjistili detekční limit  $0,5 \text{ nmol l}^{-1}$  a RSD 4 %. Jako reálné vzorky poté testovali tři různé vitaminové přípravky a dva multivitaminové džusy. (Bandžuchová, Šelešovská, Navrátil, & Chýlková, Electrochemical behavior of folic acid on mercury meniscus modified silver solid amalgam electrode, 2011)

Typ materiálu elektrody	Měřicí metoda	Limit detekce	Lineární rozsah	roztok (pH)	pH	vzorek	odkaz
Uhlík (GCE)	SWV	0,038 $\mu\text{M}$	1 - 500 $\mu\text{M}$	PBS	6,0	farmaceutické produkty	Di Ti
Uhlík (GCE)	DPV	10 nM	0,01 - 100 $\mu\text{M}$	PBS	7,4	lidské sérum	Chek
Uhlík (GCE)	DPV	0,037 $\mu\text{M}$	2 - 480 $\mu\text{M}$	fosfátový pufr	7,0	lidské sérum	Wang
Uhlík (GCE)	CV, ODV	$1 \cdot 10^{-10}$ M	$1,0 \cdot 10^{-8}$ - $1 \cdot 10^{-7}$ M	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>			Guo,
Uhlík (GCE)	DPV	0,8 $\mu\text{M}$	1,0 - 900 $\mu\text{M}$	PBS	7,0	lidská moč	Kond
Uhlík (GCE)	CV, DPV	$3,3 \cdot 10^{-11}$ M	$1,0 \cdot 10^{-9}$ - $2,0 \cdot 10^{-7}$ M	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		lidské sérum	Wang
Uhlík (GCE)	CV	0,04 $\mu\text{g/l}$ .	0,01 - 20 mg/l	PBS	5,0	lidská plasma, moč a farmaceutické výrobky	Zhu,
Uhlík (GCE)	amperometrie	75 nM	$1,0 \cdot 10^{-7}$ - $3,5 \cdot 10^{-4}$ M	fosfátový pufr	7,0	farmaceutické tablety	Kanc
Uhlík (GCE)	DPV, amperometrie	60 nM	60 - 60 000 nM	fosfátový pufr	7,2	lidské sérum	Maiy
Uhlík (GCE)	SWSV	$1,34 \cdot 10^{-7}$ M	$3,0 \cdot 10^{-7}$ - $8,0 \cdot 10^{-5}$ M	potassium phosphate	6,4	farmaceutické tablety	Jiang
Uhlík (GCE)	CV	0,48 $\mu\text{M}$	0,02 - 0,50 mmol/l	PBS	7,0	farmaceutické tablety	Yuan
Uhlík (GCE)	CV	0,02 $\mu\text{M}$	0,08 - 10,0 $\mu\text{M}$	fosfátový pufr	7,0	lidská moč	Ye, 2
Uhlík (CPE)	DPV	2,9 nM	0,01 - 10,69 mM	PBS	8,0	farmaceutická tableta a lidská moč	Di Ti
Uhlík (CPE)	DPASV	$1,24 \cdot 10^{-12}$ M	$8,79 \cdot 10^{-12}$ - $1,93 \cdot 10^{-9}$ M	BR pufr	4,0	potraviny, lidské sérum a multivitaminové přípravky	Vaze
Uhlík (CPE)	SWV	15,0 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$	20,0 - 1200,0 $\mu\text{M}$	PBS	7,0	lidská moč	Bagh
Uhlík (CPE)	SWV	0,01 $\mu\text{M}$	0,05 - 550 $\mu\text{M}$	fosfátový pufr	9,0	farmaceutické tablety, lidská moč a jablečný džus	Take
Uhlík (CPE)	SWV	0,1 $\mu\text{M}$	0,5 - 1100 $\mu\text{M}$		7,0	potravinářské výrobky	Tahe 2019
Uhlík (CPE)	SWV	0,04 $\mu\text{M}$	0,09 - 1000 $\mu\text{M}$	PBS	9,0	farmaceutické tablety a ovocné džusy	Mova 2019
Uhlík (CPE)	DPV	0,8 nM	30 nM - 250 $\mu\text{M}$	fosfátový pufr	9,0	jablečné a pomerančové džusy	Sade,
Uhlík (CPE)	DPV	19 $\mu\text{M}$	30 - 320 $\mu\text{M}$	PBS	7,0	farmaceutické výrobky a lidské sérum	Venu

Uhlík (CPE)	CV, SWV	$2,7 \cdot 10^{-8}$ M	$5,2 \cdot 10^{-6}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ M	fosfátový pufr	6,0	lidská moč	Arva
Uhlík (CPE)	CV	0,091 mM	0,1 - 5 mM	NaOH (0,1 M)		farmaceutické tablety	Ojan
Uhlík (CPE)	SWV	1,0 $\mu$ M.	3,0 - 700 $\mu$ M	fosfátový pufr	7,0	farmaceutické tablety a lidská moč	Raou
Uhlík (CPE)	SWV	0,72 $\mu$ M	5,0 - 100,0 $\mu$ M	BR pufr	4,5	farmaceutické tablety	Kuce
Uhlík (tužková)	CV, DPV	2,02 ng/ml	2,2 - 30,8 ng/ml	PBS	6,2	farmaceutická tableta a lidská moč	Gune
Uhlík (tužková)	DPV	$1,06 \cdot 10^{-8}$ $\mu$ M	0,1 - 10,0 $\mu$ M	Tris-HCl	8,5	farmaceutická tableta a potraviny	Mirm 2013
Uhlík (ostatní)	DPV	0,05 $\mu$ M	0,1 - 600,0 $\mu$ M	PBS	7,0	farmaceutická tableta a lidská moč	Safei
Uhlík (ostatní)	DPV	0,3 $\mu$ M	1,0 - 100,0 $\mu$ M	PBS	7,0	farmaceutická tableta a lidská moč	Sarha
Uhlík (ostatní)	DPV	0,8 $\mu$ M	2,5 $\mu$ M - 200 $\mu$ M	fosfátový pufr	7,4	farmaceutické výrobky a lidské sérum	Melin
Uhlík (ostatní)	amperometrie	38,5 nM	50 nM - 1150 $\mu$ M	fosfátový pufr	7,4	lidská moč	Mani
Uhlík (ostatní)	DPV	1,0 $\mu$ M	1 - 60 $\mu$ M	fosfátový pufr	7,4	lidská moč	Gao,
Zlato	CV	$4,0 \cdot 10^{-9}$ M	$8,0 \cdot 10^{-9}$ - $1,0 \cdot 10^{-6}$ M	fosfátový pufr	7,4	farmaceutické tablety	Wan,
Zlato	DVP	$7,5 \cdot 10^{-9}$ M	$1,0 \cdot 10^{-8}$ - $1,0 \cdot 10^{-6}$ M	NaOH (1,0 M)		farmaceutické tablety a potraviny	Mirm 2013
Zlato	DPV	1 nM	do 10 $\mu$ M	fosfátový pufr	7,4	lidské sérum	Chek
Zlato	CV, DVP	$1,0 \cdot 10^{-8}$ M	$2, \cdot 10^{-8}$ M - $1,0 \cdot 10^{-6}$ M	fosfátový pufr	2,5	farmaceutické tablety	Wei,
Rtuť (čistá)	ASV	$2 \cdot 10^{-12}$ M	$1 \cdot 10^{-8}$ - $1 \cdot 10^{-11}$ M	BR pufr	5,0		Han,
Rtuť (čistá)	CAV	0,09 nM	do 500 nM	boritanový pufr	8,5	mořská voda	Le G
Rtuť (čistá)	ASV	$1 \cdot 10^{-9}$ M	$1 \cdot 10^{-9}$ - $1 \cdot 10^{-7}$ M	octan sodný pufr	5,0	multivitaminové přípravky	Villa
Rtuť (amalgám)	DCV, DPV, ASDPV	0,5 nM		methanol a acetátový pufr		vitaminové přípravky a ovocné džusy	Band

Tabulka 1: Shrnutí jednotlivých článků



## Závěr

Tato práce shrnovala množství vědeckých článků o elektrochemickém stanovení kyseliny listové zároveň doplněné o ilustrace. Z tohoto shrnutí lze vidět, že nejběžněji používanými materiály elektrod při experimentální stanovení vitamínu B<sub>9</sub> jsou nejčastěji z uhlíku kvůli jeho dobrým elektrochemickým vlastnostem a malé finanční nákladnosti. Tyto uhlíkové materiály mají několik podtypů a to elektrody ze skelného uhlíku, pastové uhlíkové elektrody, tužkové elektrody a potom méně běžné jako uhlíkové elektrody vytvořené metodou screen-printed nebo elektroda z grafenové pěny. Jejich vlastnosti jako citlivost a selektivita ke stanovované látce, schopnost replikovatelnosti měření a stabilita se ještě zvyšovali různými druhy modifikací. Dalšími materiály, ze kterých byly vyrobeny elektrody použité ke stanovení vitamínu B<sub>9</sub>, které jsou zahrnuty v této práci, jsou zlato a rtuť. Vědeckých článků, které popisují experimentální modifikaci a použití těchto elektrod ze zlata, rtuti a amalgámu, je ale méně.

## Bibliografie

- Akbar, S., Anwar, A., & Kanwal, Q. (2016). Electrochemical determination of folic acid: A short review. *Analytical Biochemistry*, vol. 510, 98-105. doi:10.1016/j.ab.2016.07.002
- Arvand, M., Pourhabib, A., & Giahi, M. (2017). Square wave voltammetric quantification of folic acid, uric acid and ascorbic acid in biological matrix. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, vol. 7(issue 2), 110-117. doi:10.1016/j.jpha.2017.01.002
- Baghbmamidi, S., Beitollahi, H., Mohammadi, S., Tajik, S., Soltani-Nejad, S., & Soltani-Nejad, V. (2013). Nanostructure-based electrochemical sensor for the voltammetric determination of benzerazide, uric acid, and folic acid. *Chinese Journal of Catalysis*, vol. 34(issue 10), 1869-1875. doi:10.1016/S1872-2067(12)60655-X
- Bandžuchová, L., Šelešovská, R., Navrátil, T., & Chýlková, J. (2011). Electrochemical behavior of folic acid on mercury meniscus modified silver solid amalgam electrode. *Electrochimica Acta*, vol. 56(issue 5), 2411-2419. doi:10.1016/j.electacta.2010.10.090
- Bandžuchová, L., Šelešovská, R., Navrátil, T., & Chýlková, J. (2011). Electrochemical behavior of folic acid on mercury meniscus modified silver solid amalgam electrode. *Electrochimica Acta*, vol. 56(issue 5), 2411-2419. doi:10.1016/j.electacta.2010.10.090
- Batra, B., Narwal, V., Kalra, V., Sharma, M., & Rana, J. (2020). Folic acid biosensors: A review. *Process Biochemistry*, vol. 92(92), 343-354. doi:10.1016/j.procbio.2020.01.025
- Di Tinno, A., Cancelliere, R., & Micheli, L. (2021). Determination of Folic Acid Using Biosensors—A Short Review of Recent Progress. *Sensors*, vol. 21(issue 10), 1-15. doi:10.3390/s21103360
- Gao, X., Yue, H., Huang, S., Lin, X., Gao, X., Wang, B., . . . Guo, E. (2018). Synthesis of graphene/ZnO nanowire arrays/graphene foam and its application for determination of folic acid. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 808, 189-194. doi:10.1016/j.jelechem.2017.12.017
- Güney, S. (2019). Electrochemical synthesis of molecularly imprinted poly(p-aminobenzene sulphonic acid) on carbon nanodots coated pencil graphite electrode for selective determination of folic acid. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 854. doi:10.1016/j.jelechem.2019.113518
- Guo, H., Li, Y., Fan, L., Wu, X., & Guo, M. (2006). Voltammetric behavior study of folic acid at phosphomolybdic-polypyrrole film modified electrode. *Electrochimica Acta*, vol. 51(issue 28), 6230-6237. doi:10.1016/j.electacta.2006.04.013
- Han, J., Chen, H., & Gao, H. (1991). Alternating current adsorptive stripping voltammetry in a flow system for the determination of ultratrace amounts of folic acid. *Analytica Chimica Acta*, vol. 252(1-2), 47-52. doi:10.1016/0003-2670(91)87195-D
- Huang, L., Tian, S., Zhao, W., Liu, K., & Guo, J. (2021). Electrochemical vitamin sensors: A critical review. *Talanta*, vol. 222. doi:10.1016/j.talanta.2020.121645
- Chekin, F., Mishyn, V., Barras, A., Lyskawa, J., Ye, R., Melinte, S., . . . Szunerits, S. (2019). Dopamine-functionalized cyclodextrins: modification of reduced graphene oxide based electrodes and sensing of folic acid in human serum. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 411(issue 20), 5149-5157. doi:10.1007/s00216-019-01892-1

- Chekin, F., Teodorescu, F., Coffinier, Y., Pan, G.-H., Barras, A., Boukherroub, R., & Szunerits, S. (2016). MoS<sub>2</sub>/reduced graphene oxide as active hybrid material for the electrochemical detection of folic acid in human serum. *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 85, 807-813. doi:10.1016/j.bios.2016.05.095
- Jiang, X.-l., Li, R., Li, J., & He, X. (2009). Electrochemical behavior and analytical determination of folic acid on carbon nanotube modified electrode. *Russian Journal of Electrochemistry*, vol. 45(issue 7), 772-777. doi:10.1134/S1023193509070106
- Kanchana, P., & Sekar, C. (2015). Development of electrochemical folic acid sensor based on hydroxyapatite nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 137, 58-65. doi:10.1016/j.saa.2014.07.087
- Kuceki, M., de Oliveira, F., Segatelli, M., Coelho, M., Pereira, A., da Rocha, L., . . . Tarley, C. (2018). Selective and sensitive voltammetric determination of folic acid using graphite/restricted access molecularly imprinted poly(methacrylic acid)/SiO<sub>2</sub> composite. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 818, 223-230. doi:10.1016/j.jelechem.2018.04.043
- Le Gall, A.-C., & van den Berg, C. (1993). Determination of folic acid in sea water using adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, vol. 282(issue 3), 459-470. doi:10.1016/0003-2670(93)80109-X
- Lovander, M., Lyon, J., Parr, D., Wang, J., Parke, B., & Leddy, J. (2018). Critical Review— Electrochemical Properties of 13 Vitamins: A Critical Review and Assessment. *Journal of The Electrochemical Society*, vol. 165(issue 2), G18-G49. doi:10.1149/2.1471714jes
- Maiyalagan, T., Sundaramurthy, J., Kumar, P., Kannan, P., Opallo, M., & Ramakrishna, S. (2013). Nanostructured  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> platform for the electrochemical sensing of folic acid. *The Analyst*, vol. 138(issue 6). doi:10.1039/c3an00070b
- Mani, V. (2017). Determination of Folic Acid Using Graphene/Molybdenum Disulfide Nanosheets/Gold Nanoparticles Ternary Composite. *International Journal of Electrochemical Science*, 258-267. doi:10.20964/2017.01.35
- Melinte, G., Cernat, A., Irimes, M.-B., Györfi, S., Tertiş, M., Suci, M., . . . Cristea, C. (2020). Selective Detection of Folic Acid Using 3D Polymeric Structures of 3-Carboxylic Polypyrrole. *Sensors*, vol. 20(issue 8). doi:10.3390/s20082315
- Mirmoghtadaie, L., Ensafi, A., Kadivar, M., & Norouzi, P. (2013). Highly selective electrochemical biosensor for the determination of folic acid based on DNA modified-pencil graphite electrode using response surface methodology. *Materials Science and Engineering: C*, vol. 33(issue 3), 1753-1758. doi:10.1016/j.msec.2012.12.090
- Mohadeseh Safaei, Beitollahi, H., & Shishehbore, M. (2020). Amplified Electrochemical Sensor Employing Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@SiO<sub>2</sub>/graphene Nanocomposite for Selective Determination of Folic Acid. *Journal of Analytical Chemistry*, vol. 75(issue 1), 95-100. doi:10.1134/S1061934820010141
- Movaghgharnezhad, S. (2019). Advanced Nanostructure Amplified Strategy for Voltammetric Determination of Folic Acid. *International Journal of Electrochemical Science*, 10956-10965. doi:10.20964/2019.12.79

- Ojani, R., Raoof, J.-B., & Zamani, S. (2009). Electrocatalytic Oxidation of Folic Acid on Carbon Paste Electrode Modified by Nickel Ions Dispersed into Poly(o-anisidine) Film. *Electroanalysis*, vol. 21(issue 24), 2634-2639. doi:10.1002/elan.200904673
- Raoof, J., Teymoori, N., Khalilzadeh, M., & Ojani, R. (2015). A high sensitive electrochemical nanosensor for simultaneous determination of glutathione, NADH and folic acid. *Materials Science and Engineering: C*, vol. 47, 77-84. doi:10.1016/j.msec.2014.11.012
- Sarhadi, H., & Maryam, Z. (2015). A novel vitamin B9 sensor based on modified screen-printed electrode. *Journal of Electrochemical Science and Engineering*. doi:10.5599/jese.878
- Taherkhani, A., Jamali, T., Hadadzadeh, H., Karimi-Maleh, H., Beitollahi, H., Taghavi, M., & Karimi, F. (2014). ZnO nanoparticle-modified ionic liquid-carbon paste electrode for voltammetric determination of folic acid in food and pharmaceutical samples. *Ionics*, vol. 20(issue 3), 421-429. doi:10.1007/s11581-013-0992-0
- Tahernejad-Javazmi, F., Shabani-Nooshabadi, M., & Karimi-Maleh, H. (2019). 3D reduced graphene oxide/FeNi<sub>3</sub>-ionic liquid nanocomposite modified sensor; an electrical synergic effect for development of tert-butylhydroquinone and folic acid sensor. *Composites Part B: Engineering*, vol. 172, 666-670. doi:10.1016/j.compositesb.2019.05.065
- Vaze, V., & Srivastava, A. (2007). Electrochemical behavior of folic acid at calixarene based chemically modified electrodes and its determination by adsorptive stripping voltammetry. *Electrochimica Acta*, vol. 53(issue 4), 1713-1721. doi:10.1016/j.electacta.2007.08.017
- Venu, M. (2018). Simultaneous determination of Dopamine, Uric acid and Folic acid with Electrochemical Techniques based on Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/rGO/CTAB Modified Carbon Paste Electrode. *International Journal of Electrochemical Science*, 11702-11719. doi:10.20964/2018.12.41
- Villamil, M., Miranda Ordieres, A., Costa García, A., & Tuñón Blanco, P. (1993). Simultaneous adsorptive stripping voltammetric determination of riboflavin and folic acid in multivitamin preparations. *Analytica Chimica Acta*, vol. 273(1-2), 377-382. doi:10.1016/0003-2670(93)80180-S
- Wan, Q., & Yang, N. (2002). The direct electrochemistry of folic acid at a 2-mercaptobenzothiazole self-assembled gold electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 527(1-2), 131-136. doi:10.1016/S0022-0728(02)00836-7
- Wang, Q., Si, H., Zhang, L., Li, L., Wang, X., & Wang, S. (2020). A fast and facile electrochemical method for the simultaneous detection of epinephrine, uric acid and folic acid based on ZrO<sub>2</sub>/ZnO nanocomposites as sensing material. *Analytica Chimica Acta*, vol. 1104, 69-77. doi:10.1016/j.aca.2020.01.012
- Wang, Z., Han, Q., Xia, J., Xia, L., Bi, S., Shi, G., . . . Xia, L. (2014). A novel phosphomolybdic acid-polypyrrole/graphene composite modified electrode for sensitive determination of folic acid. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 726, 107-111. doi:10.1016/j.jelechem.2014.05.013
- Wei, S., Zhao, F., Xu, Z., & Zeng, B. (2006). Voltammetric Determination of Folic Acid with a Multi-Walled Carbon Nanotube-Modified Gold Electrode. *Microchimica Acta*, vol. 152(3-4), 285-290. doi:10.1007/s00604-005-0437-1
- YE, H., SONG, L., ZHANG, F., LI, J., SU, Z., & ZHANG, Y. (2021). Highly Sensitive Electrochemical Detection of Folic Acid by Using a Hollow Carbon Nanospheres@molybdenum Disulfide

Modified Electrode. *Analytical Sciences*, vol. 37(issue 4), 575-580.  
doi:10.2116/analsci.20P297

Yuan, M.-M., Zou, J., Huang, Z.-N., Peng, D.-M., & Yu, J.-G. (2020). PtNPs-GNPs-MWCNTs- $\beta$ -CD nanocomposite modified glassy carbon electrode for sensitive electrochemical detection of folic acid. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 412(issue 11), 2551-2564.  
doi:10.1007/s00216-020-02488-w

Zhu, Z., Wu, H., Wu, S., Huang, Z., Zhu, Y., & Xi, L. (2013). Determination of methotrexate and folic acid by ion chromatography with electrochemical detection on a functionalized multi-wall carbon nanotube modified electrode. *Journal of Chromatography A*, vol. 1283, 62-67.  
doi:10.1016/j.chroma.2013.01.085