

**Zno, Cuo, Nio, Co₃O₄ Nanomateriālu Sintēze,
Morfoloģiskā Optimizācija Un Biosensoru
Pielietojumi Augu Stresa Monitoringā Un Vides
Dagnostikā**

**Synthesis, Morphological Optimization, and
Biosensing Applications of ZnO, CuO, NiO, Co₃O₄
Nanomaterials in Plant Stress Monitoring and
Environmental Diagnostics**

Promocijas darba **kopsavilkums**

Summary of PhD thesis

Valdis Mizers

Darba vadītājs / Supervisor:

Dr. Phys Vjaceslavs Gerbreders

G. Liberts' Innovative Microscopy Centre

Daugavpils University 2025

Anotācija

Pašreizējā promocijas darbs ir izstrādāts Daugavpils Universitātes G. Liberta Inovatīvās mikroskopijas centrā Valda Mizera vadībā, Dr. phys. Vjačeslava Gerbreda uzraudzībā. Tajā ietverti pētījumu rezultāti, kas veikti laika posmā no 2018. līdz 2024. gadam.

Darbs balstās uz 11 zinātniskajiem rakstiem, kas publicēti recenzējamos zinātniskos žurnālos. Darba struktūra ir šāda: ievads, pētījuma objekts un mērķi, teorētiskais pamatojums, pētījumu jomas pārskats, metožu apraksts, rezultāti un diskusija. Darbs sastāv no 84 lappusēm, 32 attēliem, 4 tabulām un 1 pielikuma (7 lappuses). Literatūras saraksts ietver 101 avotu. Darbs ir uzrakstīts angļu valodā.

Galvenais promocijas darba mērķis ir nanostrukturētu pārklājumu izveide elektrodos elektrokīmiskajām šūnām, kas paredzētas elektrokīmiskai detekcijai. Šādi sensori spēj noteikt dažādus ķīmiskos savienojumus, analizējot elektriskās strāvas dinamiku, kas rodas elektrodu materiāla mijiedarbības rezultātā ar analizējamo šķīdumu.

Šajā pētījumā uzmanība pievērsta elektrokīmisko šūnu izstrādei, kas spēj noteikt herbicīdu (glifosātu) un augu oksidatīvā stresa indikatoru (ūdeņraža peroksīdu). Tika izveidoti vairāki nanostrukturētu oksīdu pārklājumi, tostarp cinka, vara, kobalta un niķeļa oksīdi, izmantojot hidrotermālās un lāzera asistētās metodes. Katram no tiem tika novērtēta morfoloģija, kristāliskā struktūra un piemērotība elektrokīmiskajiem sensoriem, izmantojot skenējošo elektronu mikroskopiju, rentgendifrakciju un enerģijas dispersīvās rentgenstaru spektroskopiju. Šie oksīdi tika izmantoti herbicīdu un oksidatīvā stresa noteikšanai paraugos, kas iegūti no reāliem augiem, pierādot izstrādāto sensoru lietojamību uz vietas.

Izstrādātos sensorus iespējams izmantot lauksaimniecībā ātrai augu stāvokļa analīzei, valsts institūciju uzraudzībai par herbicīdu lietošanu un vispārīgai floras monitorēšanai ekoloģiskajos pētījumos.

Oficiālie recenzenti:

Dr.sc.ing., prof. Andris Šutka (Rīgas Tehniskā Universitāte, Latvija);

Dr.chem., asoc.prof. Anton Popov (Viļņas Universitāte, Lietuva);

Dr.phys., vad.pētnieks Boriss Poļakovs (Latvijas Universitāte, Latvija).

Promocijas darba aizstāvēšana notiks: Daugavpils Universitātes Fizikas un astronomijas promocijas padomes atklātā sēdē 2026. gada 16. janvārī Daugavpilī, Parādes ielā 1a, 130. auditorijā plkst. 13:00.

Ar promocijas darbu un tā kopsavilkumu var iepazīties **Daugavpils Universitātes bibliotēkā**, Parādes ielā 1, Daugavpilī un Daugavpils Universitātes interneta mājas lapā www.du.lv

Atsauksmes sūtīt promocijas padomes sekretāram:

Daugavpilī, Parādes ielā 1a, LV-5401, e-pasts: eriks.sledevskis@du.lv

Promocijas padomes priekšsēdētāja:

Dr.phys. **Irēna Mihailova**

Promocijas padomes sekretārs:

Dr.phys. **Ēriks Šledevskis**

Abstract

The present doctoral thesis has been created by Valdis Mizers at G. Liberts' Innovative Microscopy Centre of Daugavpils University under the supervision of Dr. Phys. Vjaceslavs Gerbreders. It contains research result that were carried out in 2018-2024.

The following thesis is based on a series of 11 scientific papers published in peer-reviewed journals. The structure of the work is as following: introduction, research object and goals, theoretical framework, overview of research field, methods description, results and discussion. The thesis contains 84 pages, 32 figures, 4 tables, 1 appendix (7 pages). The list of references includes 101 titles. The thesis is written in English.

The primary focus of this thesis is creation of nanostructured coatings for electrochemical cell electrodes for the use case of electrochemical sensing. Such sensors can detect various chemical compound by analyzing electrical current dynamics caused by interaction of electrode material with solution under test.

The following study focuses on developing electrochemical cells capable of detection of herbicide (glyphosate) and plant oxidative stress indicator (hydrogen peroxide). Multiple nanostructured oxide coatings were developed, including zinc, copper, cobalt, nickel oxides, using hydrothermal and laser assisted methods. The morphology, crystalline structure, and applicability for electrochemical sensors were evaluated for each of them via scanning electron microscopy, x-ray diffraction, and energy dispersive x-ray spectroscopy. Those oxides were utilized to perform herbicide and oxidative stress detection in samples collected from real plants, proving *in-situ* applicability of created sensors.

The created sensors could be utilized in agriculture for rapid analysis of plant condition, governmental control over the use of herbicides, and general flora monitoring for ecological studies.

Official reviewers:

Dr.sc.ing., Prof. Andris Šutka (Riga Technical University, Latvia);
Dr.chem., Assoc. Prof. Anton Popov (Vilnius University, Lithuania);
Dr.phys., Senior Researcher Boriss Poļakovs (University of Latvia, Latvia).

The defense of the doctoral thesis will take place at the open meeting of the Promotion Council for Physics and Astronomy of Daugavpils University on 16 January 2026, at Daugavpils, Parādes Street 1a, Auditorium 130, at 13:00.

The thesis and its summary can be reviewed at the **Daugavpils University Library**, Parades Street 1, Daugavpils, and on the Daugavpils University website.

Send feedback to the secretary of the Promotion Council:

Daugavpils, Parādes Street 1a, LV-5401, e-mail: eriks.sledevskis@du.lv

Chair of the Promotion Council:

Dr.phys. **Irēna Mihailova**

Secretary of the Promotion Council:

Dr.phys. **Ēriks Sļedevskis**

Zinātniskie raksti, kas iekļauti šajā darbā

Scientific articles included in this work

1. Eriks Sledevskis, Marina Krasovska, Vjaceslavs Gerbreders, Irena Mihailova, Jans Keviss, **Valdis Mizers** and Andrejs Bulanovs “*Impact of ZnO Nanostructure Morphology on Electrochemical Sensing Performance for Lead Ion Detection in Real Water Samples*”, Chemosensors, 2025.
DOI: <https://doi.org/10.3390/chemosensors13020062>
2. Vjaceslavs Gerbreders, Marina Krasovska, Eriks Sledevskis, Irena Mihailova, **Valdis Mizers**, Jans Keviss and Andrejs Bulanovs “*Enhancing Salt Stress Tolerance in Rye with ZnO Nanoparticles: Detecting H₂O₂ as a Stress Biomarker by Nanostructured NiO Electrochemical Sensor*”, Crystals, 2024.
DOI: <https://doi.org/10.3390/cryst14050423>
3. Vjaceslavs Gerbreders, Marina Krasovska, Eriks Sledevskis, Irena Mihailova and **Valdis Mizers** “*Co₃O₄ Nanostructured Sensor for Electrochemical Detection of H₂O₂ as a Stress Biomarker in Barley: Fe₃O₄ Nanoparticles-Mediated Enhancement of Salt Stress Tolerance*” Micromachines, 2024.
DOI: <https://doi.org/10.3390/mi15030311>
4. Vjaceslavs Gerbreders, Marina Krasovska, Irena Mihailova, **Valdis Mizers**, Eriks Sledevskis, Andrejs Bulanovs “*Selective Laser-Assisted Patterning Of ZnO: Effects Of Synthesis Parameters On Nanostructure Morphology*”, Latvian Journal Of Physics And Technical Sciences, 2024.
DOI: <https://doi.org/10.2478/lpts-2024-0042>
5. Irena Mihailova, Marina Krasovska, Eriks Sledevskis, Vjaceslavs Gerbreders, **Valdis Mizers** and Andrejs Ogurcovs “*Assessment of Oxidative Stress by Detection of H₂O₂ in Rye Samples Using a CuO- and Co₃O₄-Nanostructure-Based Electrochemical Sensor*”, Chemosensors, 2023.
DOI: <https://doi.org/10.3390/chemosensors11100532>
6. **Valdis Mizers**, Vjaceslavs Gerbreders, Marina Krasovska, Eriks Sledevskis, Irena Mihailova, Andrejs Ogurcovs, Andrejs Bulanovs,

- Andrejs Gerbreders “*Non-Enzymatic Co₃O₄ Nanostructure-Based Electrochemical Sensor For H₂O₂ Detection*”, Latvian Journal Of Physics And Technical Sciences, 2023.
DOI: <https://doi.org/10.2478/lpts-2023-0037>
7. Irena Mihailova, Marina Krasovska, Eriks Sledevskis, Vjaceslavs Gerbreders, **Valdis Mizers** and Andrejs Ogurcovs “*Selective Patterned Growth Of ZnO Nanoneedle Arrays*”, Latvian Journal Of Physics And Technical Sciences, 2023.
DOI: <https://doi.org/10.2478/lpts-2023-0035>
 8. **Valdis Mizers**, Vjaceslavs Gerbreders, Marina Krasovska, Irena Mihailova, Andrejs Bulanovs and Eriks Sledevskis “*Cheap And Mass-Productible Electrochemical Sensor Of Hydrogen Peroxide*”, Latvian Journal Of Physics And Technical Sciences, 2023.
DOI: <https://doi.org/10.2478/lpts-2023-0013>
 9. Irena Mihailova, Vjaceslavs Gerbreders, Marina Krasovska, Eriks Sledevskis, **Valdis Mizers**, Andrejs Bulanovs and Andrejs Ogurcovs “*A non-enzymatic electrochemical hydrogen peroxide sensor based on copper oxide nanostructures*”, Beistein Journal of Nanotechnology, 2022.
DOI: <https://doi.org/10.3762/bjnano.13.35>
 10. Vjaceslavs Gerbreders, Marina Krasovska, Irena Mihailova, Eriks Sledevskis, Andrejs Ogurcovs, Edmunds Tamanis, Vitalijs Auksmuksts, Andrejs Bulanovs and **Valdis Mizers** “*Morphology Influence On Wettability And Wetting Dynamics Of ZnO Nanostructure Arrays*”, Latvian Journal Of Physics And Technical Sciences, 2022.
DOI: <https://doi.org/10.2478/lpts-2022-0004>
 11. **Valdis Mizers**, Vjaceslavs Gerbreders, Eriks Sledevskis, Inese Kokina, Edmunds Tamanis, Marina Krasovska, Irena Mihailova, Andrejs Ogurcovs and Andrejs Bulanovs “*Electrochemical Detection Of Small Volumes Of Glyphosate With Mass-Produced Non-Modified Gold Chips*”, Latvian Journal Of Physics And Technical Sciences, 2020.
DOI: <https://doi.org/10.2478/lpts-2020-0013>

Saturs

Anotācija	2
Abstract	4
Zinātniskie raksti, kas iekļauti šajā darbā	6
1. Ievads	12
2. Metālu oksīdu nanostruktūru sintēze un morfoloģiskā raksturošana	17
2.1. Lāzera asistētā un hidrotermiskā ZnO noadatu sintēze ar pielāgotu morfoloģiju	17
2.2. Vara oksīda nanostruktūru sintēze un morfoloģiskā raksturošana ...	21
2.3. Kobalta oksīda (Co_3O_4) nanostruktūru sintēze un morfoloģiskā raksturošana	22
Hlorīda anjona asistēta sintēze	23
Acetāta anjona asistēta sintēze	23
2.4. Niķeļa oksīda nanostruktūru sintēze un morfoloģiskā raksturošana	25
3. Elektrohīmisko mērījumu šūnu konstrukcijas	27
3.1. Pielāgota elektrohīmiskā šūna ar nanostrukturētiem elektrodiem	27
3.2. Masveidā ražota PCB mikroshēmas elektrohīmiskā šūna	28
3.3. Miniaturizēta piliena tipa elektrohīmiskā šūna virsmas morfoloģijas pētījumiem	29
4. Glifosāta noteikšana, izmantojot elektrohīmiskos sensorus	31
4.1. Eksperimentālās procedūras	31
4.2. Datu analīze un automatizācijas potenciāls	32
5. Elektroķīmiskie sensori ūdeņraža peroksīda (H_2O_2) noteikšanai, izmantojot metālu oksīdus	33
5.1. Cikliskā voltametrija elektroķīmiskai ūdeņraža peroksīda noteikšanai	33
Kobalta oksīda (Co_3O_4) elektrodi	33
Vara oksīda (CuO) elektrodi	34
Niķeļa oksīda (NiO) elektrodi	35

5.2. Metālu oksīdu elektrodu jutīguma analīze ūdeņraža peroksīda noteikšanai	36
Vara oksīda (CuO) elektrods	37
Kobalta oksīda (Co ₃ O ₄) elektrods	38
Niķeļa oksīda (NiO) elektrods	38
6. Augu stresa noteikšana, izmantojot H ₂ O ₂ elektrokīmiskos sensorus	40
6.1. Eksperimentālās procedūras	41
6.2. Augu stresa noteikšana ar nanostrukturētiem elektrokīmiskajiem sensoriem	42
6.3. Nanodaļiņu izmantošana stresa mazināšanai un sensoru pielietojuma paplašināšana	43
6.4. Nodaļas kopsavilkums	43
Secinājumi	46

Table of Contents

1. Introduction	48
2. Synthesis and Morphological Characterization of Metal Oxide Nanostructures.....	53
2.1. Laser-assisted and Hydrothermal Synthesis of ZnO Nanoneedles with Tailored Morphology	53
2.2. Synthesis and Morphological Characterization of Copper Oxide Nanostructures	57
2.3. Synthesis and Morphological Characterization of Cobalt Oxide (Co ₃ O ₄) Nanostructures.....	59
Chloride Anion-Assisted Synthesis	59
Acetate Anion-Assisted Synthesis.....	59
The comparison of Chloride and Acetate anion-assisted synthesized nanostructures.....	60
2.4. Synthesis and Morphological Characterization of Nickel Oxide Nanostructures	62
3. Cell Designs Utilized in Electrochemical Sensing Studies	63
3.1. Custom-Built Electrochemical Cell with Nanostructured Electrodes	63
3.2. Mass-Produced PCB Chip Electrochemical Cell	65
3.3. Miniaturized Droplet-Based Electrochemical Cell for Surface Morphology Studies.....	66
4. Glyphosate Detection Using Electrochemical Sensors.....	67
4.1. Experimental Procedures	67
4.2. Data Analysis and Automation Potential	68
5. Electrochemical Sensors for Hydrogen Peroxide Detection Using Metal Oxides	69
5.1. Cyclic Voltammetry for Electrochemical Hydrogen Peroxide Detection.....	70
Cobalt Oxide (Co ₃ O ₄) Electrodes	70
Copper Oxide (CuO) Electrodes.....	71

Nickel Oxide (NiO) Electrodes	72
5.2. Sensitivity Analysis of Metal Oxide Electrodes for H ₂ O ₂ Detection	73
Copper Oxide (CuO) Electrode	73
Cobalt Oxide (Co ₃ O ₄) Electrode.....	74
Nickel Oxide (NiO) Electrode.....	75
6. Plant Stress Detection Using H ₂ O ₂ Electrochemical Sensors.....	77
6.1. Experimental Procedures	78
6.2. Plant stress detection using nanostructured electrochemical sensors	78
6.3. Utilization of Nanoparticles for Stress Mitigation and Sensor Application Field Expansion	80
6.4. Chapter Summary	81
Conclusions.....	83

1. Ievads

Attīstītās elektroķīmiskās sensoru platformas, kuru pamatā ir nanostrukturēti materiāli, pēdējos gados kļuvušas par nozīmīgu pētniecības prioritāti, pateicoties nanomateriālu unikālajām un viegli regulējamajām īpašībām. Starp tiem metālu oksīdu nanostrukturās — piemēram, ZnO, CuO, Co₃O₄ un NiO — ir ieguvušas arvien lielāku uzmanību, pateicoties to izcilajai katalītiskajai aktivitātei, augstajai virsmas un tilpuma attiecībai, kā arī strukturālajai daudzveidībai. Šīs īpašības padara tās īpaši piemērotas elektroķīmisko sensoru izgatavošanai ar uzlabotu jutību, selektivitāti un reakcijas laiku. Iespēja kontrolēt šo nanostrukturēto morfoloģiju, sastāvu un virsmas ķīmiju, izmantojot dažādas sintēzes metodes, ļauj pētniekiem pielāgot sensoru darbību specifiskām vajadzībām, piemēram, reaģējošo skābekļa formu, tostarp ūdeņraža peroksīda (H₂O₂), noteikšanai.

Neraugoties uz šiem sasniegumiem, metālu oksīdu elektrožu izstrāde un optimizācija joprojām ir sarežģīts uzdevums vairāku neatrisinātu problēmu dēļ. Pirmkārt, sensora darbība ir cieši saistīta ar elektroda virsmas mikro- un nanoarhitektūru. Lai gan nanostrukturētu plēvju izgatavošanai ir izmantotas dažādas sintēzes tehnikas — piemēram, hidrotermiskā audzēšana, elektroķīmiskā nogulsnešana un lāzera asistēta struktūru veidošana — parametru, piemēram, prekursoru koncentrācijas, augšanas temperatūras, sēklas slāņa viendabīguma un ārējo stimulu (piemēram, lāzera jaudas) ietekme uz gala morfoloģiju un elektroķīmisko veiktspēju nav pilnībā izpētīta. Sistēmiskāka šo faktoru izpratne ir būtiska reproducējamai un mērogojamai augstas veiktspējas elektrožu izgatavošanai.

Otrkārt, lai arī metālu oksīdiem piemīt augsta iekšējā elektroķīmiskā aktivitāte, kas padara tos par daudzsolītiem kandidātiem neenzimatiskajiem sensoriem, to tieša integrācija praktiskās sensoru arhitektūrās joprojām ir ierobežota. Daudzi pētījumi aprobežojas ar tradicionālām trīs elektrodu sistēmām, izmantojot stikla oglekļa vai platīna darba elektrodus, kas nav piemēroti masveida ražošanai vai miniaturizācijai. Alternatīvu, mērogojamu izgatavošanas metožu — piemēram, uz PCB balstītu mikroshēmu, uz pilniem balstītu mikroshēmu un ekrāndrukāto elektrodu — izpēti tikai nesen sāka padziļināti. Šādas pieejas ļauj izgatavot kompaktas un robustas sensoru sistēmas, kā arī nodrošina iespēju vienlaicīgi uzraudzīt vairākus analītus sarežģītos vai zema tilpuma paraugos.

Turklāt, lai gan ir panākts būtisks progress metālu oksīdu bāzētu elektroķīmisko sensoru izstrādē, laboratorijas mēroga ierīču pārvešana uz

reāliem pielietojumiem joprojām ir izaicinājums. Nepieciešamība pēc stabiliem, ilgtermiņā lietojamiem un ļoti jutīgiem sensoriem sarežģītos apstākļos — piemēram, interferējošu vielu, mainīga pH vai temperatūras svārstību klātbūtnē — vēl nav pilnībā apmierināta. Elektroda virsmas modifikācija, lai samazinātu traucējumus no bieži sastopamiem līdzpastāvošiem savienojumiem (piem., askorbīnskābes, glikozes vai citronskābes), joprojām ir aktīvs pētījumu virziens, īpaši sensoriem, kas paredzēti lietošanai sarežģītās ķīmiskās vai bioloģiskās matricēs.

Elektroķīmisko sensoru izmantošana oksidatīvā stresa biomarkieru noteikšanai augos līdz šim ir bijusi salīdzinoši maz pētīta, neraugoties uz pieaugošo nozīmi augu veselības uzraudzībā reaģējot uz vides un ķīmiskajiem stresa faktoriem. Tradicionālās analītiskās metodes — piemēram, spektrofotometrija un fluorescences testi — bieži prasa darbietilpīgu paraugu sagatavošanu, dārgu aparāturu un parasti ir ierobežotas ar laboratorijas apstākļiem. Pretēji tam elektroķīmiskie sensori piedāvā daudzsoļu alternatīvu, nodrošinot ātru, uz vietas un reālā laikā balstītu stresa marķieru, piemēram, ūdeņraža peroksīda (H_2O_2), noteikšanu, kas ir gan signālmolekula, gan oksidatīvā stresa indikators. Tomēr sensoru izstrāde, kas īpaši pielāgoti augu matricēm — kur sastopami traucējoši savienojumi un zemās analīta koncentrācijas rada nozīmīgus izaicinājumus — ir atpalikusi no to izmantošanas kontrolētās vidēs, piemēram, klīniskos vai industriālos apstākļos.

Īpaši nepietiekami pētīta ir metālu oksīdu nanostruktūru izmantošana augu stresa biomarkieru noteikšanai. Lielākā daļa esošo pētījumu koncentrējas uz šo materiālu vispārēju elektroķīmisko uzvedību ūdens šķīdumos vai vienkāršās buferu sistēmās, bet tikai nedaudzi analizē to darbību sarežģītos, reālās vides paraugos, piemēram, augu ekstraktos, kas satur plašu organisko un neorganisko savienojumu spektru. Turklāt trūkst sistemātiskas izpētes par to, kā metālu oksīdu nanostruktūru morfoloģija un sastāvs ietekmē to selektivitāti un jutību augu matricēs. Rezultātā sensoru izstrāde, kas spēj uzticami noteikt stresa indikatorus in vivo bez plašas paraugu priekšapstrādes, joprojām ir būtiska tehnoloģiska nepilnība. Šīs nepilnības novēršana ir svarīga precīzās lauksaimniecības, vides monitoringa un augu stresa mazināšanas stratēģiju attīstībā, īpaši klimata pārmaiņu un pieaugošas agroķīmijas izmantošanas kontekstā.

Mērķi:

1. Izstrādāt un optimizēt lāzera asistētās un hidrotermiskās sintēzes metodes augstas kvalitātes ZnO nanoadatu kontrolētai izgatavošanai ar pielāgotu morfoloģiju un strukturētu izvietojumu, piemērotu elektroķīmiskajai detektēšanai.
2. Izstrādāt un optimizēt mērogojamas sintēzes metodes CuO, Co₃O₄ un NiO nanostrukturām, nodrošinot precīzu morfoloģijas, sastāva un virsmas īpašību kontroli, lai uzlabotu to darbību elektroķīmiskajos pielietojumos.
3. Izstrādāt un optimizēt dažādas elektroķīmisko šūnu platformas, piemērotas lietojumspecifisku nanostrukturū bāzētu elektroķīmisko sensoru izveidei.
4. Izstrādāt un novērtēt neenzimatiskos elektroķīmiskos sensorus, kuru pamatā ir Co₃O₄, CuO un NiO nanostrukturās, ūdeņraža peroksīda jutīgai un selektīvai noteikšanai sarežģītās augu matricēs abiogēnā un herbicīdu inducētā stresa apstākļos.
5. Validēt sensoru piemērotību augu stresa noteikšanai, korelējot elektroķīmiskos H₂O₂ noteikšanas rezultātus ar augu fizioloģiskajiem un molekulārajiem stresa indikatoriem.

Lai sasniegtu noteiktos mērķus, tika izvirzīti šādi uzdevumi:

1. Izpētīt prekursoru koncentrācijas, augšanas temperatūras un lāzera parametru ietekmi uz ZnO nanoadatu morfoloģiju un viendabīgumu, izmantojot hidrotermiskās un lāzera asistētās metodes.
2. Izstrādāt hidrotermiskās sintēzes metodes CuO, Co₃O₄ un NiO kontrolētai veidošanai ar reproducējamām morfoloģijām un sistemātiski raksturot iegūtās nanostrukturās, izmantojot SEM, XRD un elementanalīzi.
3. Izstrādāt un izgatavot dažādas elektroķīmisko sensoru platformas ar nanostrukturētiem elektrodiem, piemērotas mērījumiem uz vietas. Platformas optimizēt dažādiem paraugu tipiem un darba apstākļiem.
4. Validēt izstrādāto elektroķīmisko platformu darbību dažādos pielietojumos, tostarp augu stresa uzraudzībā un glifosāta noteikšanā lauksaimniecības paraugos, tostarp pārbaudot jutību, selektivitāti un reproducējamību.
5. Izgatavot un testēt elektroķīmiskos sensorus ar Co₃O₄, CuO un NiO nanostrukturām trīs elektrodu konfigurācijās, optimizētās H₂O₂ noteikšanai ūdens un augu matricēs.

6. Novērtēt sensoru selektivitāti un prettraucējumu spējas askorbīnskābes, glikozes, citronskābes klātbūtnē un validēt to darbību, izmantojot kalibrāciju un reālu augu ekstraktu analīzi.
7. Veikt elektroķīmiskos H_2O_2 mērījumus augu paraugos sāls un glifosāta stresa apstākļos un korelēt rezultātus ar optiskajiem (hlorofila saturs) un molekulārajiem (RAPD) stresa indikatoriem.
8. Demonstrēt sensoru lietderību stresa mazināšanas stratēģiju efektivitātes uzraudzībā, piemēram, izmantojot ZnO un Fe_3O_4 nanopārklājumu pielietojumu, nosakot H_2O_2 līmeņus.

Pētījumā izmantotās metodes:

- Hidrotermiskā sintēze
- Lāzera asistētā hidrotermiskā sintēze
- Skenējošā elektronu mikroskopija (SEM)
- Rentgenstaru difraktometrija (XRD)
- Enerģijas dispersīvā rentgenstaru spektroskopija (EDX)
- Cikliskā voltampērija
- Hronampērija
- Diferenciālā impulsu voltampērija
- Elektriskā impedances spektroskopija
- Optiskā spektroskopija
- Nejauši pastiprinātās polimorfās DNS analīze (RAPD)

Galvenie secinājumi:

1. Lāzerapstrādes un hidrotermālās sintēzes metodes nodrošina kontrolētu, ļoti viendabīgu un strukturētu ZnO nanoadau izgatavošanu, būtiski uzlabojot to strukturālo precizitāti un piemērotību specifiskiem elektroķīmisko sistēmu pielietojumiem.
2. Sintēzes parametri tika optimizēti, lai pielāgotu metālu oksīdu nanostrukturū morfoloģiju — tostarp CuO nanolapiņas, Co_3O_4 nanšķiedras un NiO nanasītes — tādējādi uzlabojot to elektroķīmisko aktivitāti, virsmas laukumu un stabilitāti sensoros, kas paredzēti augu oksidatīvā stresa noteikšanai.
3. Izstrādātās elektroķīmiskās platformas demonstrē uzticamu un mērogojamu veiktspēju analizējamo vielu noteikšanā gan in vitro, gan in situ apstākļos. Tās pielāgotas tādiem pielietojumiem kā augu stresa monitorings, herbicīdu noteikšana un virsmas slapināšanas

pētījumi, parādot metālu oksīdu nanostrukturēto sensoru pielāgojamību dažādām noteikšanas vajadzībām.

4. Nanostrukturētie NiO, Co₃O₄ un CuO elektrodi uzrāda izcilu jutību un selektivitāti ūdeņraža peroksīda noteikšanā augu ekstraktos, nodrošinot oksidatīvā stresa reāllaika monitoringu abiotisko un ar herbicīdiem inducēto apstākļu gadījumā.
5. Šajā pētījumā izstrādātā noteikšanas platforma uzrāda ciešu korelāciju ar fizioloģiskajiem stresa indikatoriem, apstiprinot H₂O₂ izmantošanu kā uzticamu biomarkieri augu stresa novērtēšanai.

Pētījuma novitāte:

- Pētījumā ieviesta oriģināla, speciāli izstrādāta elektrokīmiskā platforma, kuras pamatā ir metālu oksīdu nanostrukturās, nodrošinot jutīgu un selektīvu ūdeņraža peroksīda noteikšanu gan kontrolētos, gan reālos ar augiem saistītos apstākļos.
- Izstrādāta bezenzīmu elektrokīmiskā sistēma augu oksidatīvā stresa novērtēšanai in situ, piedāvājot praktisku un mērogojamu alternatīvu tradicionālajām analītiskajām metodēm.
- Pētījumā demonstrēta izstrādātās elektrokīmiskās sensoru platformas lietderība, izvērtējot Fe₃O₄ un ZnO nanodaļiņu stresa mazinošo ietekmi, parādot to potenciālu uzlabot augu noturību abiotiska un ar herbicīdiem inducēta stresa apstākļos.

Praktiskā un pielietojamā nozīme:

Izstrādātie elektrokīmiskie sensori nodrošina ātru, in situ augu oksidatīvā stresa noteikšanu, piedāvājot vērtīgu rīku precīzajai lauksaimniecībai un vides monitoringam. Pētījums arī izceļ metālu oksīdu nanodaļiņu potenciālu kā efektīviem stresa mazinošiem līdzekļiem, atbalstot ilgtspējīgu augu aizsardzības stratēģiju izstrādi.

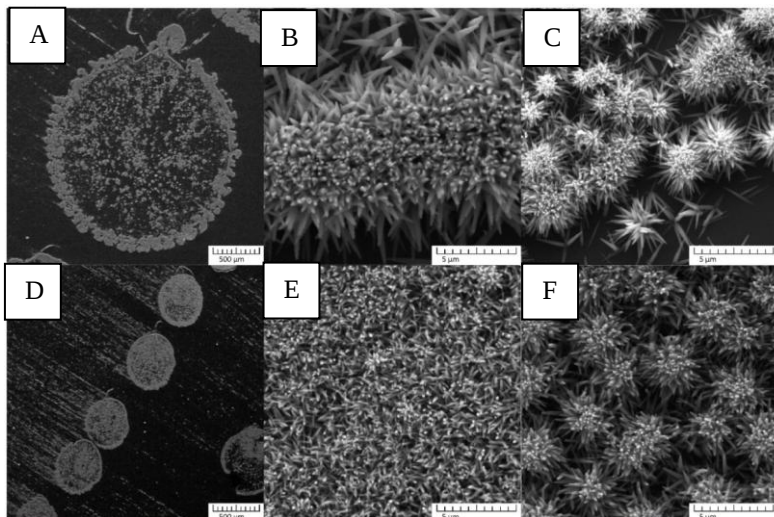
2. Metālu oksīdu nanostruktūru sintēze un morfoloģiskā raksturošana

2.1. Lāzera asistētā un hidrotermiskā ZnO nanoadatu sintēze ar pielāgotu morfoloģiju

Cinka oksīds (ZnO) ir daudzpusīgs pusvadītāju materiāls, ko plaši izmanto optoelektroniskās ierīcēs, sensoros un katalītiskajos pielietojumos. Kontrolēta ZnO nanoadatu sintēze ar pielāgotu morfoloģiju ir būtiska, lai optimizētu to darbību konkrētiem pielietojumiem. Divas nozīmīgākās ZnO nanoadatu sintēzes metodes ir hidrotermiskā metode un lāzera asistētā sintēze.

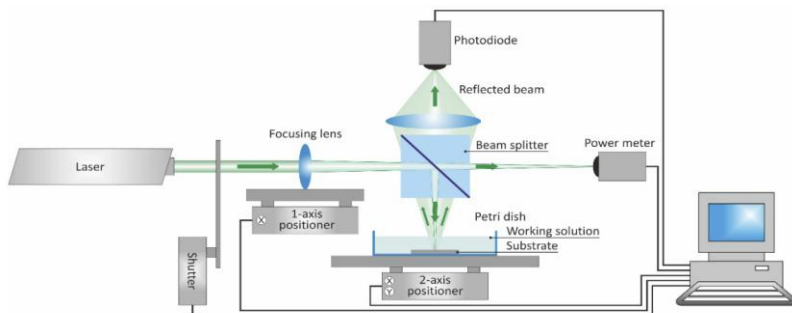
Šajā pētījumā hidrotermiskā sintēze tika izmantota ZnO nanostruktūru izgatavošanai no ekvimolāra $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ un heksametilēntetramīna (HMTA) šķīduma (attiecīgi 0,025 M un 0,05 M). Sintēze tika veikta programmējamā krāsnī 90 °C temperatūrā 1,5 stundas, rezultātā iegūstot labi orientētas ZnO nanoadatas uz iepriekš uzklātiem ZnO sēklas slāņiem. Sēklas slāņi tika veidoti, pilinot 25 mM cinka acetāta šķīdumu etanolā, kam sekoja termiska atlaidināšana 350 °C temperatūrā 30 minūtes. Šī metode ne tikai nodrošina augstas kvalitātes ZnO nanostruktūras, bet arī ir zemas temperatūras un mērogojama tehnika, piemērota sensoriem un elektrodu izgatavošanai.

Lai pētītu sēklas slāņa viendabīguma ietekmi uz nanostruktūru augšanu, uzklāšana tika veikta divos termiskos apstākļos: (1) uz istabas temperatūras pamatnes un (2) uz iepriekš uzsildītas pamatnes (100 °C). Skenējošās elektronu mikroskopijas (SEM) analīze parādīja ievērojamu morfoloģijas atšķirību (1. att.). Istabas temperatūras pamatnē sēklas slānis veidoja gredzenveida rakstu “kafijas traipa” efekta dēļ, kas noveda pie nevienmērīgas ZnO augšanas — blīvas, vertikāli orientētas nanoadatas malās un retas, trīsdimensiju ežu formas struktūras centrā. Savukārt pamatnes uzsildīšana efektīvi nomāca termokapilāro konvekciju, veicinot vienmērīgu šķīdinātāja iztvaikošanu un homogēnu sēklu daļiņu sadalījumu. Rezultātā nanoadatu augšana kļuva vienmērīga visā virsmā, ko apliecina SEM attēli.

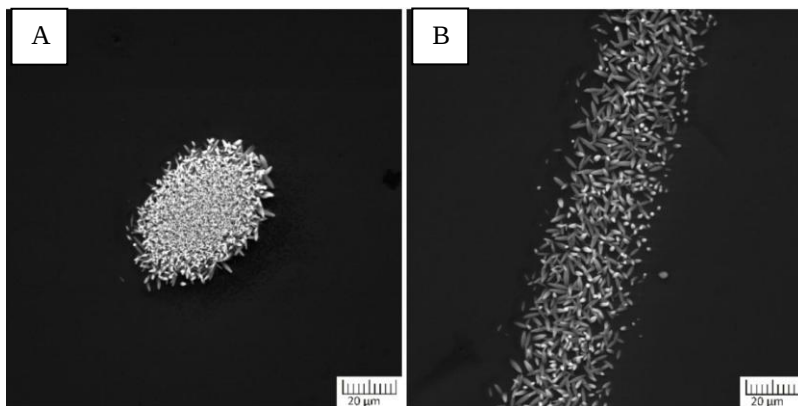


1. attēls. “Kafijas traipa” efekta analīze: (a), (b) un (c) nanostrukturās iegūtas, ZnO prekursoru uzklājot uz istabas temperatūras pamatnes; (d), (e) un (f) — uz iepriekš uzsildītas pamatnes. Hidrotermiskā sintēze veikta 0,025 M $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ un 0,05 M HMTA šķīdumos 90 °C temperatūrā 1,5 h.

Lāzera asistētās selektīvās cinka acetāta termiskās sadalīšanās ietekme tika pētīta kā alternatīva metode strukturētu sēklas slāņu veidošanai. Tika izmantots 532 nm lāzers ar jaudu 60 mW un skenēšanas ātrumu 55 mm/min, lai apstarotu uz Cr pārklātas pamatnes uzgriezto cinka acetāta kārtu (2. att.). Lāzera inducētā termiskā sadalīšanās selektīvi pārvērtā cinka acetātu ZnO sēklās apstarotajā trajektorijā, ļaujot pēc hidrotermiskās augšanas veidoties strukturētiem nanoadatu laukiem. SEM analīze parādīja, ka šī metode rada labi definētas, mikromēroga ZnO nanoadatu struktūras ar precīzām robežām un augstu atbilstību lāzera ceļam. XRD un EDS analīzes apstiprināja, ka nanostrukturū morfoloģija ir identiska tām, kas iegūtas ar krāsnī atlaidinātiem sēklas slāņiem, ar augstu kristāliskumu un bez sekundārajām fāzēm.



2. attēls. Lāzera inducētās hidrotermiskās sintēzes iekārtas shēma.

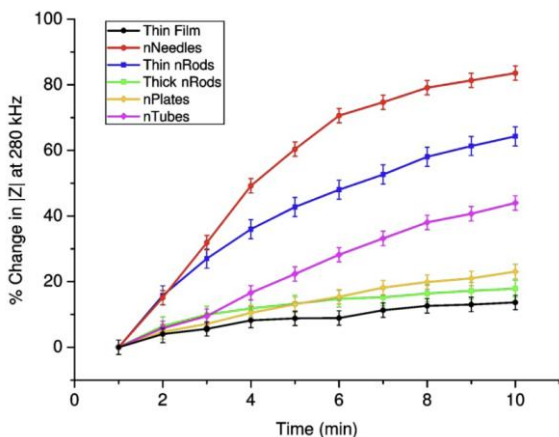


3. attēls. Lāzera inducētās hidrotermiski sintezētās ZnO mikrostruktūras: A) atsevišķs punkts; B) nepārtraukta līnija.

Rezultāti rāda, ka hidrotermisko sintēzi iespējams efektīvi modificēt ar aizsargmaskām, lāzera asistētu struktūru veidošanu un elektroķīmisko nogulsnešanu, lai iegūtu augstas kvalitātes, laukuma selektīvas ZnO pārklājuma nanostruktūras. Šīs metodes sniedz iespējas pielāgot morfoloģiju un augšanas selektivitāti, kas ir nozīmīgi sensoru, optoelektronisko ierīču un biosensoru izgatavošanā.

ZnO nanostrukturēto virsmu slapināmības dinamika ir cieši saistīta ar to morfoloģiju, izmēru un virsmas pārklājumu. Pētījumā konstatēts, ka ZnO plānās plēves var būt gan hidrofobas, gan hidrofilas. Piemēram, nanoadatas

ar zemu virsmas pārklājumu (~23 %) parādīja augstu sākotnējo ūdens kontakta leņķi (WCA) 127°, kas 10 min laikā samazinājās līdz 70°. Šī uzvedība atbilst Cassie–Baxter režīmam (“Fakīra” vai “lotosa” virsma), kur gaisa slānis starp adatām ierobežo ūdens iekļūšanu. Savukārt biezi nanostiepi ar augstu pārklājumu (87 %) uzrādīja izteikti hidrofilu uzvedību — sākotnējo WCA 19°, kas 10 min laikā samazinājās līdz 7,5°, kas atbilst Wenzel režīmam, kur šķidrums pilnībā aizpilda nanostruktūru spraugas.



4. attēls. Ūdens iesūkšanās raksturojums pēc relatīvās impedances moduļa $|Z|$ izmaiņām laikā dažādām ZnO morfoloģijām pie 280 kHz.

Elektroķīmiskās impedances spektroskopija (EIS) tika izmantota slapināmības dinamikas reāllaika uzraudzībai. Pilnas piesātināšanas laiks, kad visas nanostruktūru spraugas ir aizpildītas ar ūdeni, būtiski atšķīrās starp morfoloģijām: hidroforām virsmām (nanoadatām un plāniem stiepiem) tas bija 7–9 min, hidrofilām (bieziem stiepiem un nanoplāksnēm) — tikai 2–4 min. EIS dati atspoguļoja pāreju no Cassie–Baxter uz Wenzel režīmu, pierādot, ka morfoloģija ir būtisks faktors sensoru konstrukcijā, kur pilnīga slapināmība ir svarīga optimālai darbībai.

2.2. Vara oksīda nanostruktūru sintēze un morfoloģiskā raksturošana

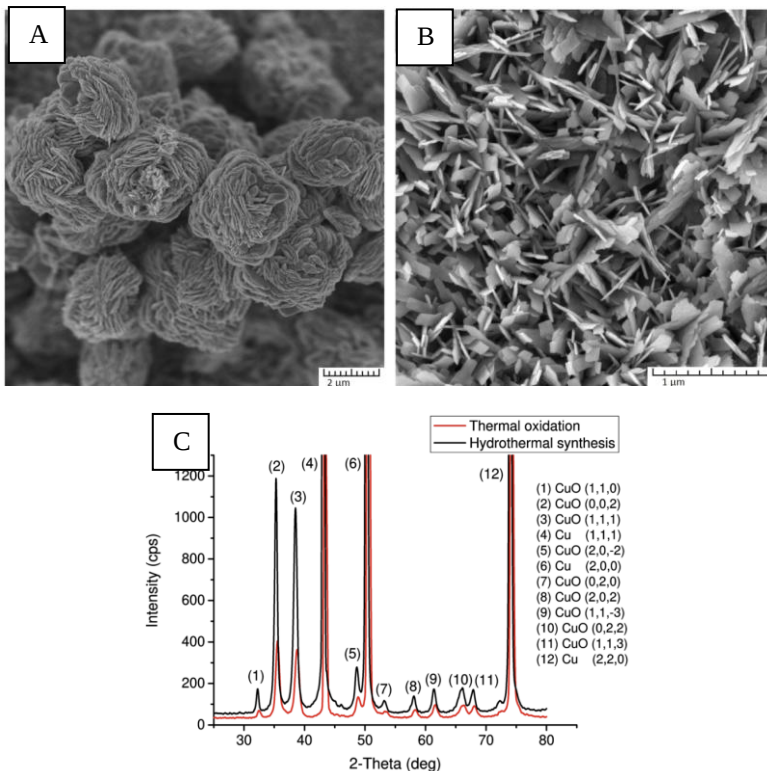
Vara oksīda (CuO) nanostruktūras tika sintezētas ar divām metodēm: vienpakāpes hidrotermiskās oksidēšanas metodi un termisko oksidāciju. Abas metodes rada nanostrukturētus CuO pārklājumus uz vara vadu pamatnēm ar augstu viendabīgumu, labu saķeri un elektroķīmisko jutību. Morfoloģija, sastāvs un kristāliskums tika analizēti, izmantojot lauka emisijas SEM (FESEM), EDS un rentgendifrakciju (XRD).

Hidrotermiskajā metodē vara vadi tika ievietoti šķīdumā, kas sastāvēja no 10 mL 10 M NaOH, 5 mL 1 M $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ un 26 mL destilēta ūdens. Tie tika turēti karstumizturīgā stikla traukā krāsnī 90 °C temperatūrā 3 stundas, pēc tam rūpīgi noskaloti ar destilētu ūdeni un žāvēti 90 °C temperatūrā 3 stundas. Rezultātā uz vara virsmas izveidojās blīvs, vienmērīgs CuO nanolapiņu slānis ar trīsdimensiju “ziedveida” struktūrām.

Hidrotermiski iegūtās CuO nanostruktūras uzrādīja lielisku saķeri ar pamatni un mehānisko stabilitāti. Virsmas morfoloģija bija ļoti viendabīga, ar lielu specifisko virsmas laukumu porainās, hierarhiskās struktūras dēļ.

Salīdzinājumam, termiskās oksidācijas metode tika veikta, atlaidinot vara vadus skābekļa atmosfērā 500 °C temperatūrā 30 minūtes. Tā rezultātā ieguva polikristālisku, viendabīgu CuO plēvi ar neregulāras formas graudiem, taču ar sliktāku saķeri un zemāku mehānisko stabilitāti nekā hidrotermiski sintezētajām struktūrām.

XRD analīze apstiprināja augstu hidrotermiski sintezēto CuO kristāliskumu, kas bija ievērojami lielāks nekā termiskās oksidācijas gadījumā iegūtajām plēvēm.



5. attēls. Sintezētās CuO nanostruktūras: A) nanolapiņas “ziedveida” formācijās; B) vienmērīgs nanolapiņu slānis starp ziedveida formācijām; C) CuO plēves XRD raksts.

2.3. Kobalta oksīda (Co_3O_4) nanostruktūru sintēze un morfoloģiskā raksturošana

Kobalta oksīda (Co_3O_4) nanostruktūras tika sintetizētas, izmantojot hidrotermālo metodi uz dzelzs stieples pamatnēm. Tika izmantoti divu veidu anjoni – hlorīds un acetāts –, lai pētītu to ietekmi uz iegūto nanostruktūru morfoloģiju.

Hlorīda anjona asistēta sintēze

Sintēze tika sākota, izmantojot dzelzs stiepli (99,9 % tīrība, 2 mm diametrs) kā pamatni. Stieple tika apstrādāta ar smalku smilšpapīru un iegremdēta 0,1 M HCl šķīdumā, lai palielinātu virsmas raupjumu un uzlabotu nanostruktūru saķeri. 80 mL destilēta ūdens tika sagatavots vienmolisks ūdens šķīdums no 0,1 M $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ un 0,1 M heksametilentetramīna ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$). Šķīdums bija sarkanviolets, un to maisīja, līdz cietās vielas pilnībā izšķīda.

Iepriekš apstrādāto dzelzs stiepli ievietoja augšanas šķīdumā un novietoja iepriekš uzsildītā krāsnī. Hidrotermālā augšana notika 5 h 95 °C temperatūrā, rezultātā uz stieples izveidojās blāvi rozā $\text{Co}(\text{OH})_2$ pārklājums. Pēc tam tika veikta termiskā sadalīšanās 450 °C temperatūrā 1 h garumā, lai $\text{Co}(\text{OH})_2$ pārvērstu melnās, viendabīgās Co_3O_4 nanostruktūrās.

Acetāta anjona asistēta sintēze

Sintēze tika atkārtota tādos pašos apstākļos kā ar hlorīda prekursoru, bet $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ vietā tika izmantots 0,1 M $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Co} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

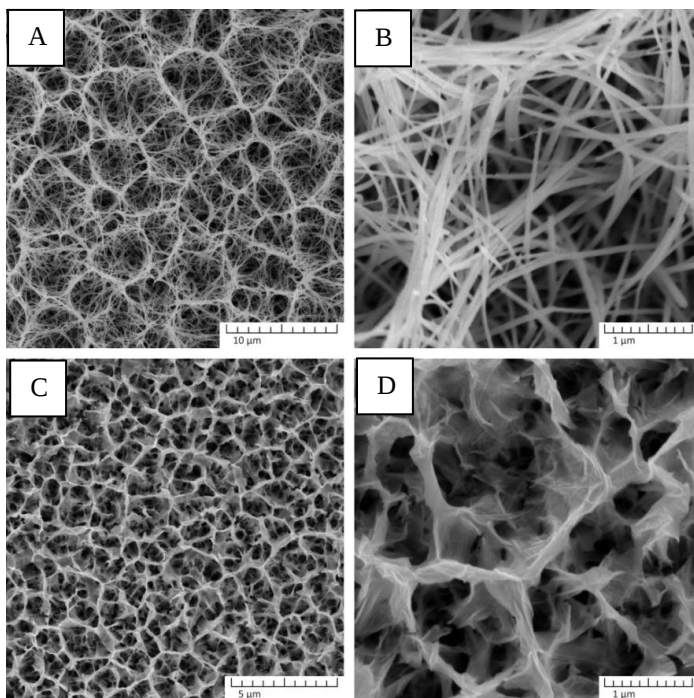
Acetāta anjonu klātbūtne būtiski mainīja Co_3O_4 nanostruktūru morfoloģiju. Hlorīda asistētās sintēzes garo nanšķiedru vietā acetāta prekursors radīja plānas, ziedlapām līdzīgas nanostruktūras, kas bija sakārtotas bišu šūnām līdzīgos aglomerātos. Ar acetāta anjonu veidotās “bišu šūnas” bija mazākas un neviendabīgākas nekā ar hlorīda prekursoru iegūtās.

Iegūtās Co_3O_4 nanostruktūras tika raksturotas ar skenējošo elektronu mikroskopiju (SEM) un rentgenstaru difrakciju (XRD), lai pētītu to virsmas morfoloģiju un kristālisko struktūru.

Hlorīda un acetāta asistētu nanostruktūru salīdzinājums

SEM attēli parādīja, ka hlorīda asistētā Co_3O_4 veido garas, viendabīgas nanšķiedras, kas sakārtotas bišu šūnām līdzīgās struktūrās. Šķiedras bija cieši sakārtotas un ar labu saķeri ar dzelzs pamatni. Tās bija vairākus mikrometrus garas un ar augstu izmēru un formas vienveidību.

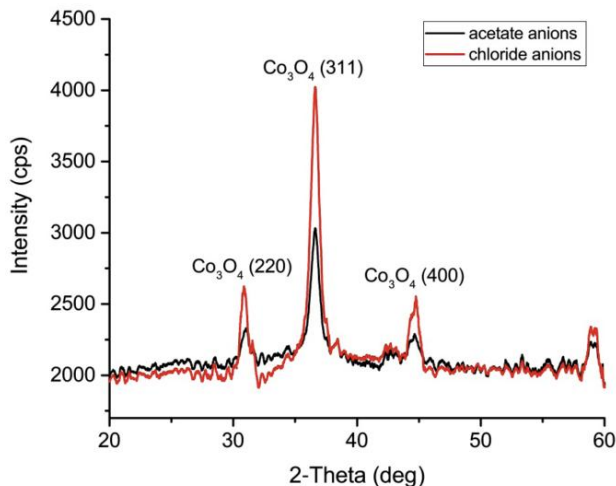
SEM attēlos ar acetāta asistēto Co_3O_4 bija redzamas ziedlapām līdzīgas nanostruktūras bišu šūnām līdzīgos aglomerātos (6. attēls). Šīs struktūras bija ievērojami mazākas un neviendabīgākas nekā nanšķiedru morfoloģija.



6. attēls. Anjona ietekmes pētījums uz Co_3O_4 nanostruktūru morfoloģiju. A, B) Co_3O_4 nanostruktūras, iegūtas no kobalta hlorīda un urīnvielas prekursora; C, D) Co_3O_4 nanostruktūras, iegūtas no kobalta acetāta un urīnvielas prekursora.

XRD spektri apstiprināja tīra Co_3O_4 veidošanos bez svešu fāžu ieslēgumiem. Difrakcijas pīķu intensitāte bija augstāka hlorīda prekursorsintēzētajos paraugos, kas norādīja uz augstāku kristāliskuma pakāpi salīdzinājumā ar acetāta asistētajiem paraugiem (7. attēls).

Bišu šūnām līdzīgā nanšķiedru morfoloģija, kas iegūta ar hlorīda prekursoru, bija īpaši piemērota elektrohīmisko sensoru vajadzībām. Šķiedru struktūra nodrošināja lielu aktīvo virsmas laukumu, labu saķeri un uzlabotu elektronu pārnēsi, kas ir būtiski efektīvai H_2O_2 noteikšanai.



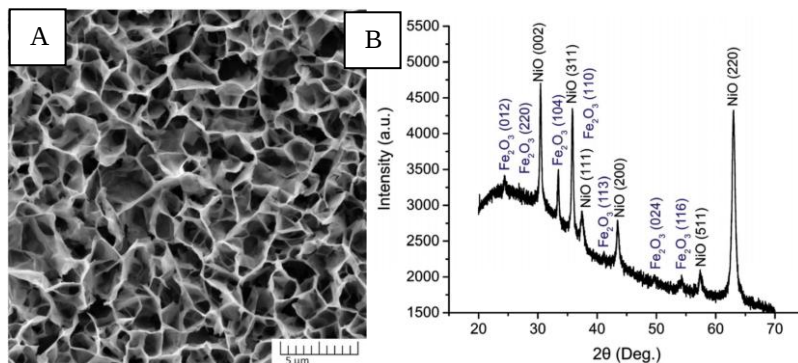
7. attēls. Sintetizēto Co_3O_4 nanostruktūru XRD spektrs.

Secinājums: Co_3O_4 nanostruktūru sintēze un morfoloģiskā raksturošana parāda būtisku prekursora anjona ietekmi uz iegūto morfoloģiju. Hlorīda prekursors deva ļoti jutīgas un stabilas nanšķiedru struktūras, kas ideāli piemērotas elektroķīmisko sensoru vajadzībām, savukārt acetāta prekursors radīja nanostruktūras ar samazinātu veiktspēju.

2.4. Niķeļa oksīda nanostruktūru sintēze un morfoloģiskā raksturošana

Šajā pētījumā niķeļa oksīda (NiO) nanostruktūras tika sintezētas, izmantojot hidrotermālo metodi, kas nodrošina izmaksu ziņā efektīvu un kontrolējamu pieeju nanostruktūru iegūšanai ar labi definētām morfoloģijām. Sintēze tika veikta, izmantojot 0,1 M vienmolisku maisījumu no niķeļa nitrāta heksahidrāta ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) un heksametilentetramīna ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_4$), izšķīdinātu 75 mL destilēta ūdens. Iegūtais zaļgani duļķainais šķīdums tika ievietots borosilikāta stikla traukā, un tajā tika iegremdētas dzelzs stieples. Sistēmu ievietoja iepriekš uzsildītā krāsnī (95°C) uz 5 stundām. Šajā laikā, Ni^{2+} un OH^- jonu reakcijas rezultātā, izveidojās gaiši zaļš $\text{Ni}(\text{OH})_2$ nogulsnešums.

Pēc hidrotermālās apstrādes stieples vairākkārt skaloja ar destilētu ūdeni un tad karsēja 450 °C temperatūrā 3 stundas. Šī termiskā apstrāde sadalīja $\text{Ni}(\text{OH})_2$, veidojot NiO . Šis vairāku soļu process nodrošināja vienmērīga un stabila NiO nanostrukturēta pārklājuma veidošanos uz dzelzs stieplēm.



8. attēls. A) Sintetizētās NiO nanostrukturās; B) Sintetizētā NiO pārklājuma uz Fe pamatnes XRD spektrs.

Sintetizēto NiO nanostrukturū morfoloģiskās īpašības tika analizētas, izmantojot skenējošo elektronu mikroskopiju (SEM). SEM attēlos redzams nanostrukturēts pārklājums ar vienmērīgu un blīvu nanossienu kārtu, kas veido porainu, labirintveida struktūru. Pie lielāka palielinājuma virsma bija klāta ar nanossienām, kas stiepās dažādos virzienos, veidojot sarežģītu trīsdimensiju arhitektūru. Turklāt virs nanossienu kārtas tika novērotas sfēriskas, ziedam līdzīgas struktūras. Šo sfērisko aglomerātu klātbūtne norādīja uz otrās paaudzes nanostrukturū veidošanos, kad nukleācija un augšana notiek darba šķīduma tilpumā.

Kristāliskās struktūras pētīšanai tika izmantota rentgenstaru difrakcija (XRD). Iegūtais XRD spektrs apstiprināja NiO kristālisko fāzi. Tomēr tika novērots arī izteikts amorfs fons, kas, visticamāk, bija saistīts ar nanostrukturū plānumu. Spektrā identificēja vairākus labi definētus pīķus ar salīdzinoši augstu intensitāti, apstiprinot NiO kristālisko raksturu.

XRD dati sniedza vērtīgu informāciju par sintetizēto NiO nanostrukturū kristāliskumu un struktūras īpašībām. NiOOH sugu klātbūtne un oksihidroksīda savienojumu (NiOOH) veidošanās pie salīdzinoši augstiem

piemērotajiem potenciāliem bija kritiski svarīga NiO nanostruktūru elektrokatalītiskajai efektivitātei ūdeņraža peroksīda (H_2O_2) noteikšanā.

3. Elektrohīmisko mērījumu šūnu konstrukcijas

Izstrādājot un testējot dažādus elektrohīmiskos sensorus ūdeņraža peroksīda, kas izdalās augu paraugu stresa apstākļos, un glifosāta noteikšanai, tika izmantotas vairākas atšķirīgas elektrohīmisko šūnu konstrukcijas. Tās tika pielāgotas konkrētām sensora vajadzībām, ņemot vērā elektroda materiālu, analizējamo vielu īpašības, kā arī reproducējamības un paraugu apstrādes ērtuma prasības.

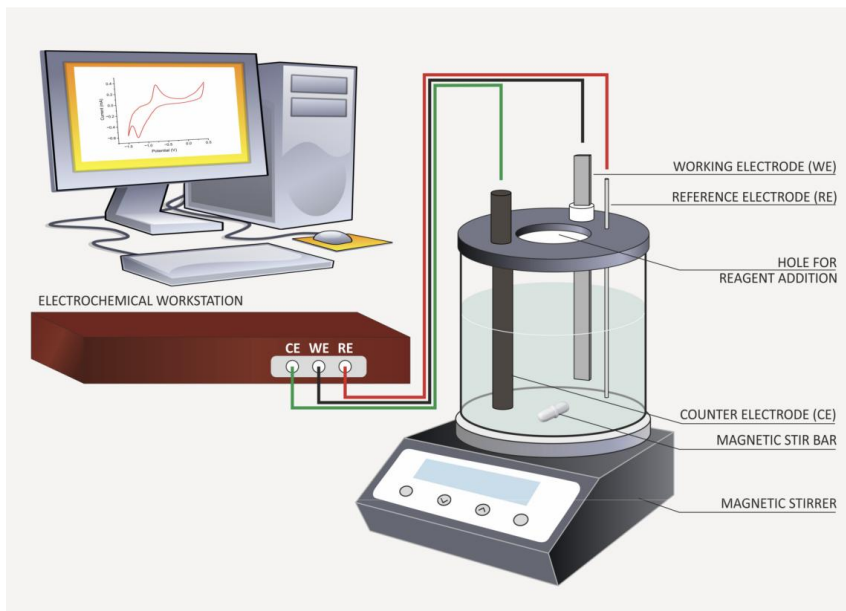
3.1. Pielāgota elektrohīmiskā šūna ar nanostrukturētiem elektrodiem

Pielāgota konstrukcija tika izmantota vairākos pētījumos, kuros analizēja ūdeņraža peroksīdu un citus analītus ar nanostrukturētiem elektrodiem. Šūna sastāvēja no stikla blādes, kas ievietota temperatūras regulējamā ūdens vannā, ar integrētu magnētisko maisītāju vienmērīgai sajaukšanai un temperatūras (parasti 25 °C) uzturēšanai.

Darba elektrods (WE) bija ar nanostruktūru pārklāta stieple, kas tika iegūta divpakāpju procesā – hidrotermālā sintēze un termiskā sadalīšanās, kā aprakstīts sintēzes sadaļā. Pret-elektrods (CE) bija oglekļa stienis, bet references elektrods (RE) – Ag/AgCl elektrods.

Lai nodrošinātu mērījumu reproducējamību, tika izgatavots pielāgots 3D printēts ABS vāks ar fiksētu augstumu, kurš nostiprināja darba elektrodu. Elektrods tika noslēgts ar saraušanās caurulīti, atstājot atklātu tikai sensoro daļu (parasti 1–2 cm) šķīdumam.

Vākā bija arī centrālais atvērums, caur kuru ar mikropipeti ievadīja analizējamo vielu vai ievietoja papildu mēriekārtas, piemēram, termometru vai pH metru. Visi elektrohīmiskie mērījumi tika veikti ar *Zahner Zennium* elektrohīmisko staciju, nodrošinot precīzu sprieguma, skenēšanas ātruma un mērījuma ilguma kontroli.



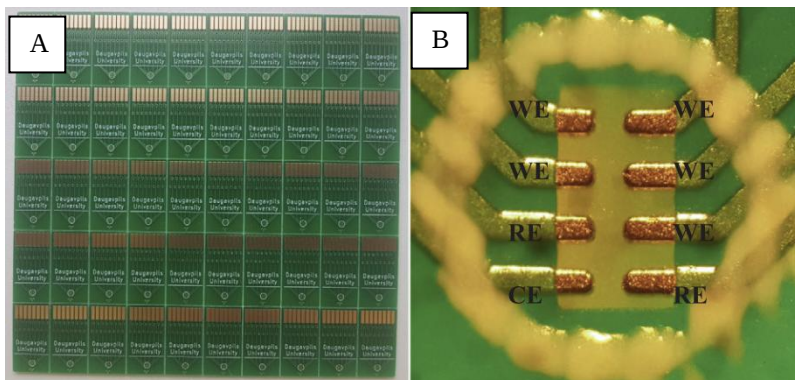
9. attēls. Izmantotās elektroķīmiskās mērījumu šūnas shēma.

Šī konstrukcija bija īpaši piemērota pētījumiem ar augu paraugiem (piemēram, miežiem un rudziem) stresa apstākļos, kur varēja ar augstu jutību un selektivitāti sekot H_2O_2 elektroķīmiskajai atbildei. Tā atbalstīja hronopotenciometriskos, cikliskās voltmetrijas (CV) un hronoamperometriskos mērījumus. Konstrukcija ļāva veikt gan kalibrāciju, gan traucējumu testus, un 70 mL analizējamās vielas tilpums bija pietiekams statistiskai analīzei.

3.2. Masveidā ražota PCB mikroshēmas elektroķīmiskā šūna

Citās studijās tika izmantota masveidā ražota PCB (iespiestās shēmas plates) mikroshēma kā elektroķīmiskā šūna, aizstājot tradicionālo blādes tipa uzstādījumu. PCB mikroshēmai bija astoņi ar zeltu pārklāti vara elektrodi kompaktā izkārtojumā, kas tika izgatavoti ar ENIG (Electroless Nickel Immersion Gold) procesu uz FR-4 stikla šķiedras epoksīda pamatnes.

Mikroshēma tika konstruēta tā, lai to varētu ievietot ātrās nomaīņas savienotajā šūnā, nodrošinot vienkāršu un precīzu elektrodu novietojumu. Katram elektrodu bija atsevišķa vara trase un $150 \times 125 \mu\text{m}$ atklāta zelta virsma. Mikroshēma atbalstīja trīs-elektrodu konfigurācijas, kur jebkurš elektrods varēja pildīt darba, pret- vai references elektroda funkciju. Vara trases bija pārklātas ar aizsargājošu dielektrisku polimēru.

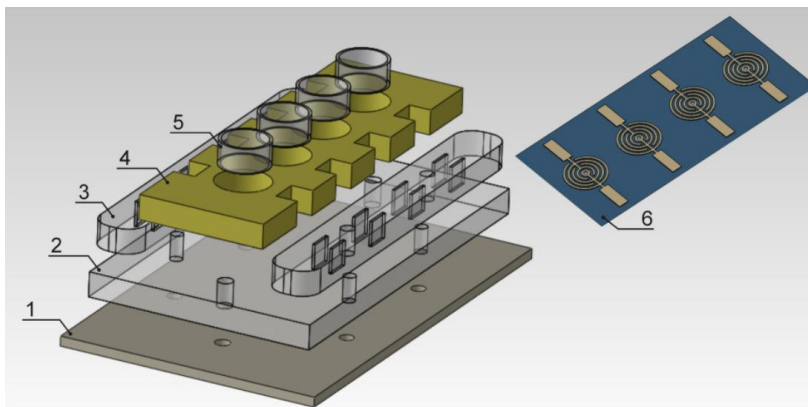


10. attēls. a) Masveidā ražotas PCB mikroshēmas ar Au pārklātiem elektrodziem; b) Elektrodu konfigurācija (WE – darba elektrods, CE – pret-elektrods, RE – references elektrods). Baltā apla diametrs ir 1 mm.

Šī sistēma tika izmantota elektroķīmiskai noteikšanai dažādās matricās un ļāva pirms katra mērījuma mainīt elektrodus, nodrošinot kalibrāciju konkrētam paraugam un izvairoties no savstarpējas piesārņošanās. Atkarībā no mērījumu protokola prasībām tika izmantota arī temperatūras kontrolēta ūdens vanna un magnētiskais maisītājs.

3.3. Miniaturizēta piliena tipa elektroķīmiskā šūna virsmas morfoloģijas pētījumiem

Pētījumā, kurā analizēja virsmas morfoloģijas ietekmi uz samitrināšanās dinamiku, tika izmantota miniaturizēta piliena tipa elektroķīmiskā šūna. Šī konstrukcija bija īpaši inovatīva *in situ* elektroķīmiskās impedances spektroskopijas (EIS) mērījumiem, kur nanostrukturētie Cr elektrodi darbojās gan kā pret-, gan darba elektrodi.



11. attēls. Elektromērījumu šūnas (pa kreisi) un elektrodu (pa labi) uzbūve. Šūna sastāv no: korpusa (1), starpslāņa (2) ar spiedkontaktiem (3), blīvējošas gumijas maskas (4) ar maināmiem plastmasas cilindriem (5). Paraugs (6) sastāv no četriem elektrodiem, kas ļauj veikt četrus neatkarīgus mērījumus ar vienādu atkārtojamību.

Uz šūnas tika uzpilināts 250 μL mērķšķidrums, un fāzes nobīdes atkarība no frekvences tika mērīta nekavējoties, atkārtojot ik pēc minūtes 10 minūšu garumā. Šī konstrukcija ļāva pētīt dinamiski mainīgo samitrināšanos atkarībā no virsmas struktūras, veicot vidēji astoņus mērījumus dažādās parauga vietās. Tā bija īpaši piemērota virsmas zinātnei un materiālu pētījumiem, kur nanostrukturētas virsmas morfoloģija tieši ietekmē elektrohīmiskās un starpfāžu īpašības.

Šīs dažādās elektrohīmisko šūnu konstrukcijas atspoguļo pielāgošanās spēju un daudzpusību, kas nepieciešama dažādu analītu un paraugu tipu elektrohīmisko sensoru izstrādē un validācijā. Katra konstrukcija tika izvēlēta atbilstoši konkrētajam analītiskajam mērķim, tostarp selektivitātei, jutīgumam, reproducējamībai un saderībai ar sarežģītām matricām, piemēram, augu ekstraktiem.

4. Glifosāta noteikšana, izmantojot elektrokhlīmiskos sensorus

Glifosāts, visplašāk lietotais herbicīds pasaulē, ir radījis būtiskas bažas tā iespējamās ietekmes uz veselību dēļ, tostarp elpošanas traucējumiem, apziņas izmaiņām, neirotoksiskām sekām, paaugstinātu vēža risku un pat nāvi. Neskatoties uz plašu pielietojumu lauksaimniecībā, glifosāta noteikšana augu paraugos un vides matricās joprojām ir sarežģīta. Tradicionālās noteikšanas metodes bieži vien ir dārgas, laikietilpīgas un prasa sarežģītu instrumentāciju un plašu paraugu sagatavošanu.

Šajā pētījumā tiek piedāvāta jauna pieeja glifosāta noteikšanai, izmantojot elektrokhlīmiskos sensorus, kas balstīti uz masveidā ražotām iespiesto shēmu plates (PCB) elektrodu tehnoloģijām. Sensori darbojas pēc netiešas glifosāta noteikšanas principa, izmantojot tā spēju veidot ūdenī šķīstošus kompleksus ar vara joniem (Cu^{2+}). Šī mijiedarbība samazina Cu^{2+} elektrokhlīmisko aktivitāti, ko var uzraudzīt ar diferenciālās pulsa voltmetrijas (DPV) metodi.

4.1. Eksperimentālās procedūras

Eksperimentālās procedūras glifosāta noteikšanai tika izstrādātas, lai novērtētu gan elektrokhlīmiskā sensora veiktspēju, gan tā praktisko piemērojamību reālos apstākļos. Pētījums tika veikts vairākos posmos:

Sintētiskie paraugi un kalibrācija

Lai novērtētu sensora jutību un reproducējamību, tika sagatavoti sintētiski glifosāta šķīdumi, izšķīdinot herbicīdu 15 mmol/L $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ šķīdumos. Tika sagatavota kalibrācijas standartu sērija koncentrācijas diapazonā no 0 līdz 1,5 mmol/L. Šie šķīdumi tika izmantoti, lai noteiktu sensora atbildes reakciju kontrolētos apstākļos.

Augu paraugu sagatavošana

Lai pārbaudītu sensora piemērojamību reālās situācijās, 7 dienas veci rudzu augu dīgļi tika apstrādāti ar 1:10 atšķaidījumu no komerciāla glifosāta bāzes herbicīda (360 g/L izopropilamīna sāls) un turpināja augt vēl piecas dienas. Augu sulas ekstrakcija tika veikta, sasmalcinot augu audus un filtrējot suspensiju caur rupju sietu. Filtrētā sula tika sajaukta ar augsti koncentrētu $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, lai gala

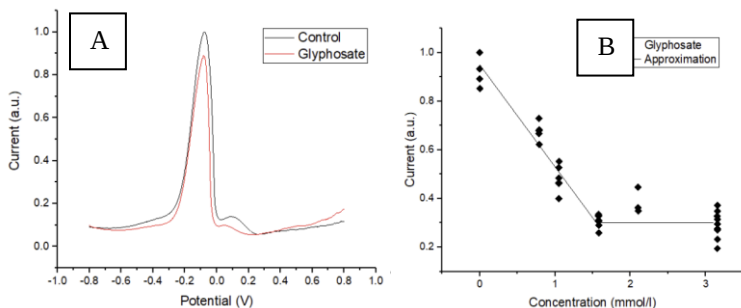
šķīdumā panāktu 15 mmol/L $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ koncentrāciju. Kontroles paraugi (neapstrādāti ar glifosātu) tika apstrādāti paralēli salīdzināšanai.

Elektrokīmiskajiem mērījumiem 10 μL šķīduma (sintētiskā vai augu sulas virskārta) tika uzklāti uz darba zonas mikroshēmā. Augu sulas paraugiem pirms centrifugēšanas 30 minūšu inkubācija tika veikta, lai noņemtu cietās atliekas. Pēc tam 10 μL no supernatanta tika izmantoti kvadrātbāzes vilņu voltametrijas (SWV) analīzei.

4.2. Datu analīze un automatizācijas potenciāls

No darba stacijas iegūtie voltametriskie dati tika izmantoti kvadrātbāzes vilņu voltametrijas (SWV) līkņu ģenerēšanai, ļaujot kvantificēt sensora reakciju uz dažādām glifosāta koncentrācijām. Galvenā maksimuma amplitūda, kas parasti novērojama diapazonā no 50 līdz 300 mV, atbilda Cu^{2+} jonu reducēšanai un samazinājās lineāri ar glifosāta koncentrācijas pieaugumu līdz 1,5 mmol/L, pēc kā sensora atbilde kļuva piesātināta.

SWV maksimuma amplitūda tika normalizēta pēc maksimālā strāvas lieluma kontrolšķīdumā (0 mmol/L glifosāta). Šī normalizācija nodrošināja skaidru atšķirību starp glifosāta piesārņotajiem un tīrajiem paraugiem, kur glifosātu saturošā augu sula samazināja galvenā maksimuma amplitūdu par 10 % salīdzinājumā ar kontroli.



12. attēls. A) Rudzu paraugu vidējā SWV līkne. B) Galvenā maksimuma amplitūda no SWV pret glifosāta koncentrāciju.

Lai tālāk pārbaudītu glifosāta klātbūtni apstrādātajos augos un tā potenciālo genotoksisko ietekmi, tika ekstrahēta genomiskā DNS no 60 augu paraugiem: 30 no glifosāta apstrādātiem rudzu dīgliem un 30 no kontroles paraugiem. Rezultāti parādīja būtiskas atšķirības DNS lentu raksturojumā starp kontroles un glifosāta grupām. Šīs izmaiņas norāda uz genotoksiskām pārmaiņām, tostarp punktmutācijām, delecijām un DNS ķēdes pārtraukumiem. RAPD rezultāti apstiprina elektroķīmiskos datus, nostiprinot sensora spēju identificēt glifosātu piesārņotu augu materiālu.

5. Elektroķīmiskie sensori ūdeņraža peroksīda (H_2O_2) noteikšanai, izmantojot metālu oksīdus

Ūdeņraža peroksīds (H_2O_2) ir būtiska molekula bioloģiskajās, vides un rūpnieciskajās sistēmās, bieži kalpojot kā oksidatīvā stresa indikators, slimību noteikšanas marķieris un reaģents dažādām pielietojumu jomām. Šajā nodaļā apskatīta elektroķīmiskā H_2O_2 noteikšana, izmantojot dažādus metālu oksīdus, tostarp kobalta oksīdu (Co_3O_4), vara oksīdu (CuO) un cinka oksīdu (ZnO). Piemērotā metodoloģija ietver sistemātisku eksperimentālo pieeju: vispirms ciklisko voltametriju (CV) raksturo redoks peakus, kas liecina par sensora elektroķīmisko aktivitāti; otrkārt, amperometrija kvantificē sensora jutīgumu pret H_2O_2 ; un treškārt, traucējumu analīze novērtē sensora selektivitāti klāt esošu interferentu klātbūtnē.

5.1. Cikliskā voltametrija elektroķīmiskai ūdeņraža peroksīda noteikšanai

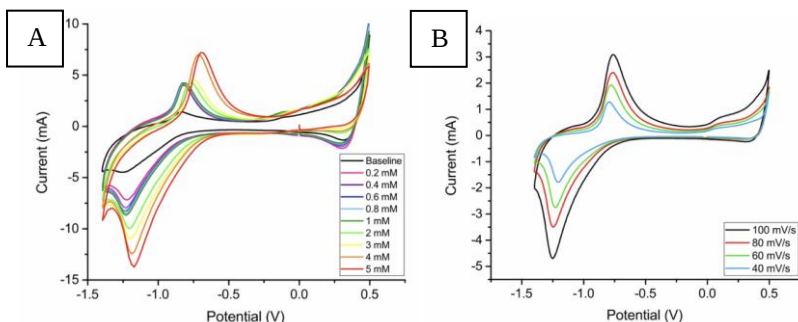
Cikliskā voltametrija ir pirmais solis, lai izvērtētu metālu oksīdu modificēto elektrodu elektroķīmisko uzvedību. Šī tehnika palīdz identificēt raksturīgos oksidācijas un reducēšanas peakus, kas rodas H_2O_2 mijiedarbībā ar metālu oksīdu virsmu. Mainot skenēšanas ātrumus un H_2O_2 koncentrācijas, tiek pilnībā izprastas sensora redoks īpašības, kas ir būtiski turpmākām amperometriskām un interferenču pētījumiem.

Kobalta oksīda (Co_3O_4) elektrodi

Co_3O_4 elektrodi, sagatavoti hidroterminālas sintēzes ceļā, demonstrēja izcilu elektroķīmisko aktivitāti pret H_2O_2 . CV mērījumi veikti 0,1 M NaOH šķīdumā ar H_2O_2 koncentrācijām no 0,2 mM līdz 2 mM. CV rezultāti atklāja divus

atšķirīgus redoks peakus pārus: anoda peakus aptuveni pie -0,8 V (piķis I) un -0,15 V (piķis II), kā arī katoda peakus ap -1,23 V (piķis III) un 0,35 V (piķis IV).

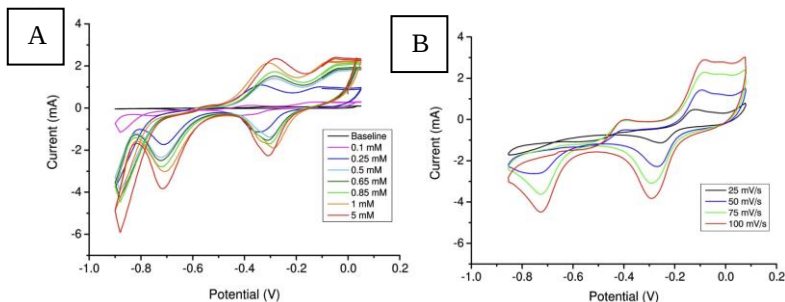
Pievienojot H_2O_2 , CV līknes forma būtiski mainījās — īpaši anoda piķis (I) un katoda piķis (III) strauji palielināja strāvas maksimumu. Piķa (III) strāvas vērtība lineāri korelēja ar pievienotā H_2O_2 koncentrāciju, kamēr piķis (I) palielinājās mazāk izteikti un tā pozīcija pārvietojās pa x-asi līdz -0,7 V pie augstākām koncentrācijām. Piķi (II) un (IV) praktiski nemainījās visā koncentrāciju diapazonā.



13. attēls. CV voltammogrammas no nanostrukturētas Co_3O_4 plēves, kas iegūta no hlorīda anjoniem. A) Voltammogrammas atkarība no H_2O_2 koncentrācijas (skanēšanas ātrums = 100 mV/s), B) Voltammogrammas atkarība no skanēšanas ātruma. Mērījumi veikti 0,1 M NaOH bufera šķīdumā (pH = 13).

Vara oksīda (CuO) elektrodi

CuO elektrodi, sintezēti ar vienpakāpju ķīmisko hidroterminālo oksidāciju, demonstrēja ievērojamu elektroķīmisko aktivitāti pret H_2O_2 . CV mērījumi veikti 0,1 M NaOH šķīdumā ar H_2O_2 koncentrācijām no 0,1 mM līdz 5 mM. CV līknes atklāja divus redoks peakus pārus: anoda piķi ap -0,2 V (piķis I) un 0,1 V (piķis II), un katoda piķi ap -0,7 V (piķis III) un -0,8 V (piķis IV).



14. attēls. CV voltammogrammas no nanostrukturētas CuO plēves. A) Voltammogrammas atkarība no H_2O_2 koncentrācijas, B) Voltammogrammas atkarība no skanēšanas ātruma. Mērījumi veikti 0,1 M NaOH bufera šķīdumā.

Bez H_2O_2 klātbūtnes šos redoksa pīkus galvenokārt saistīja ar atgriezeniskām redoksa pārejām, kas ietver vara sugas, piemēram, Cu^0/Cu^+ un $\text{Cu}^+/ \text{Cu}^{2+}$. Pievienojot H_2O_2 šķīdumam, CV pīķu forma un amplitūda ievērojami mainījās. Īpaši oksidācijas pīķis (pīķis I) un reducēšanās pīķis (pīķis III) uzrādīja ievērojamu pīķa strāvas pieaugumu, palielinoties H_2O_2 koncentrācijai. Strāva pīķī III parādīja lineāru korelāciju ar H_2O_2 koncentrāciju pētītajā diapazonā, norādot uz spēcīgu elektrokīmisko atbildi uz analītu.

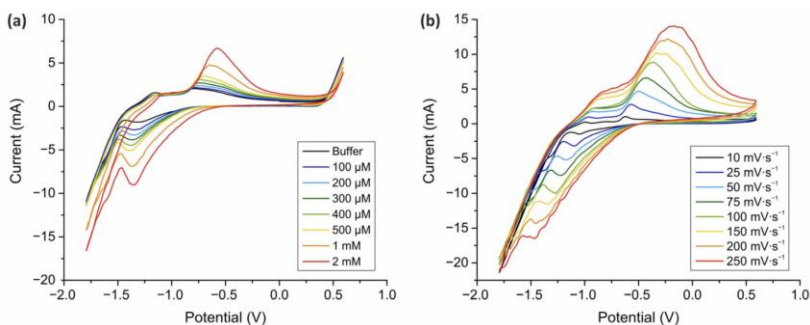
CV rezultāti uzsvēr augsto CuO elektrodu elektrokīmisko aktivitāti attiecībā uz H_2O_2 , ko pierāda ievērojamais pīķa strāvas pieaugums un strāvas lineārā atkarība no H_2O_2 koncentrācijas.

Niķeļa oksīda (NiO) elektrodi

NiO elektrodi, izgatavoti hidroterminālas sintēzes ceļā kā sienveida nanostrukturās uz dzelzs stieples, demonstrēja spēcīgu elektrokīmisko aktivitāti pret H_2O_2 . CV mērījumi veikti 0,1 M NaOH šķīdumā ar H_2O_2 koncentrācijām no 100 μM līdz 2 mM. CV līknes parādīja divus skaidrus redoks peakus: anoda pīķis ap $-0,4$ V (pīķis I) un katoda pīķis ap $-1,4$ V (pīķis II).

Bez H_2O_2 CV reakcijas galvenokārt bija saistītas ar Ni bāzes redoks procesiem. Ievadot H_2O_2 , novērota spēcīga elektrokīmiskā reakcija, īpaši katoda peakā ($-1,4$ V), kas lineāri korelēja ar H_2O_2 koncentrāciju, atspoguļojot NiOOH reducēšanu līdz $\text{Ni}(\text{OH})_2$ H_2O_2 klātbūtnē. Anoda pīķis

(-0,4 V) arī palielināja strāvu, bet bija mazāk jutīgs pret H_2O_2 nekā katoda pīķis.



15. attēls. A) CV grafiks no nanostrukturēta NiO nanosiņu elektroda, iegūts 0,1 M NaOH atbalsta elektrolītā un šķīdumos ar H_2O_2 koncentrācijas diapazonu no 100 μM līdz 2 mM. B) NiO elektroda elektrokīmiskās atbildes atkarība no skanēšanas ātruma. Skanēšana veikta 0,1 M NaOH šķīdumā, kas satur 2 mM H_2O_2 .

CV rezultāti uzsvē NiO elektrodu izcilās elektrokīmiskās īpašības attiecībā uz H_2O_2 . Katodiskā pīķa strāva pie -1,4 V parādīja spēcīgu lineāru korelāciju ar H_2O_2 koncentrāciju visā testētajā diapazonā, apliecinot sensora jutību un uzticamību.

Sensors parādīja arī izcilu ilgtermiņa stabilitāti, saglabājot vairāk nekā 95% no sākotnējās veiktspējas pēc 30 dienu uzglabāšanas. Apkopojot, NiO elektrodu ar sienvēda nanostrukturām piedāvā daudzsoļu platformu H_2O_2 elektrokīmiskai noteikšanai. To augstā jutība, plašais lineārais diapazons, zemā noteikšanas robeža un izcilā stabilitāte padara tos par ideāliem kandidātiem oksidatīvā stresa reāllaika uzraudzībai bioloģiskajās sistēmās, īpaši augu fizioloģijā un vides sensoru lietojumos.

5.2. Metālu oksīdu elektrodu jutīguma analīze ūdeņraža peroksīda noteikšanai

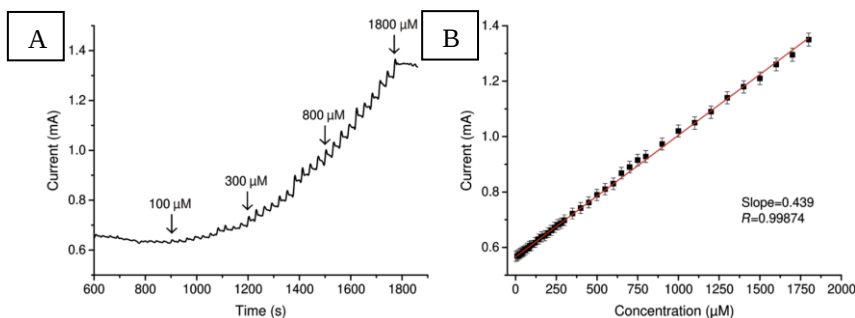
Pēc metāla oksīda elektrodu elektrokīmiskās uzvedības raksturošanas ar ciklisko voltampēometriju par galveno metodi katra elektroda jutības, linearitātes un noteikšanas robežas (LOD) attiecībā pret ūdeņraža pārskābi (H_2O_2) novērtēšanai tika izmantota amperometrija.

Amperometrija ir īpaši piemērota šim pētījumam, jo tā nodrošina reāllaika kvantitatīvus strāvas mērījumus atbildē uz analīta koncentrāciju pie konstantiem potenciāla apstākļiem. Tā ir īpaši izdevīga sensoru izstrādē, jo ļauj tieši izmērīt elektrokīmisko signālu (strāvu), ko rada oksidācijas vai reducēšanās reakcija uz darba elektroda, neietekmējoties no skāņšanas ātruma vai viļņformas.

Vara oksīda (CuO) elektrods

Amperimetriskie mērījumi ziedlapveida CuO elektrodā tika veikti 0,1 M NaOH pie -0,2 V (pret Ag/AgCl). Strāvas atbilde lineāri palielinājās līdz ar H₂O₂ koncentrācijas pieaugumu plašā diapazonā (no 20 μM līdz 1300 μM).

- **Kalibrācijas līkne:** parādīja izcilu lineāru sakarību starp strāvu un H₂O₂ koncentrāciju, ar determinācijas koeficientu (R^2) 0,9997.
- **Jutība:** 505,11 μA/mM (0,5051 A/mM), kas ir viena no augstākajām vērtībām, kas ziņotas H₂O₂ noteikšanai ar CuO sensoriem.
- **Noteikšanas robeža (LOD):** 1,05 μM, kas norāda uz spēju detektēt ļoti zemas H₂O₂ koncentrācijas.



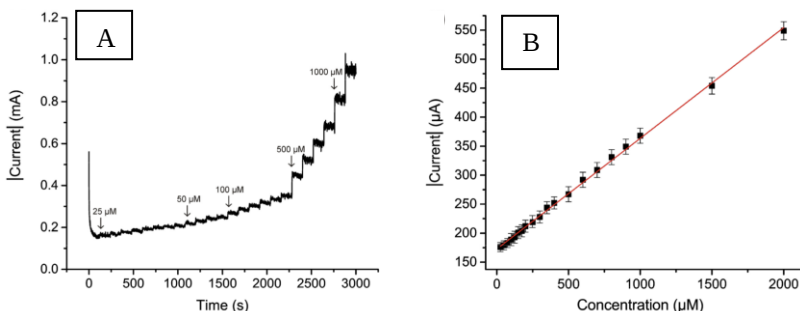
16. attēls. A) Nanostrukturēta CuO elektroda amperometriskā atbilde 0,1 M NaOH ar pakāpenisku H₂O₂ pievienošanu. B) Atbilstošā kalibrācijas līkne.

CuO elektrods parādīja augstu selektivitāti pret H₂O₂, pat ja šķīdumā bija klāt tipiski traucētāji, piemēram, askorbīnskābe, urīnskābe, dopamīns un NaCl — šo vielu signāli būtiski neietekmēja pamatlīnijas strāvu vai H₂O₂ detekcijas signālu.

Kobalta oksīda (Co_3O_4) elektrods

Hidrotermiski sintezētais Co_3O_4 elektrods tika testēts pie fiksēta potenciāla $-1,23\text{ V}$ (pret Ag/AgCl), kas izvēlēts pēc CV rezultātiem, lai optimizētu jutību pret H_2O_2 . Amperometriskie eksperimenti parādīja vienmērīgu un izmērāmu strāvas pieaugumu, palielinoties H_2O_2 koncentrācijai.

- **Kalibrācijas līkne:** lineāra sakarība starp strāvu un H_2O_2 koncentrāciju diapazonā no $0,2\text{ mM}$ līdz 2 mM , $R^2 = 0,9976$.
- **Jutība:** $22\text{ }\mu\text{A}/\text{mM}$, zemāka nekā CuO elektrodā, bet pietiekama praktiskai izmantošanai, īpaši medicīnā un vides monitoringā.
- **LOD:** $7,14\text{ }\mu\text{M}$ — salīdzināma ar CuO noteiktos apstākļos un piemērota bioloģiski nozīmīgiem H_2O_2 līmeņiem ķermeņa šķidrumos.



17. attēls. A) Hronamperogrammas $0,1\text{ M NaOH}$ elektrolītā Co_3O_4 elektrodā pie $-1,2\text{ V}$ ar pakāpenisku H_2O_2 pievienošanu. B) Kalibrācijas līkne strāvas–koncentrācijas atkarībai.

Co_3O_4 elektrods parādīja labu atbildi reālos paraugos, piemēram, pienā un kontaktlēcu uzglabāšanas šķīdumā, ar atgūšanas koeficientu virs 95% , apliecinot tā piemērotību kvantitatīvai analīzei sarežģītās matricās. Selektivitātes pārbaude uzrādīja minimālu traucējumu no biežāk sastopamām bioloģiskām un ķīmiskām vielām.

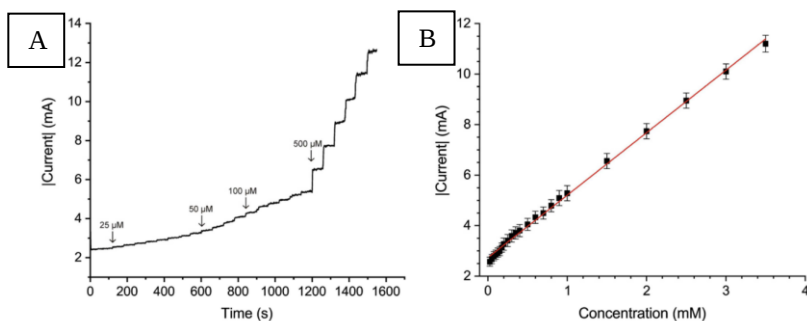
Niķeļa oksīda (NiO) elektrods

Amperometrija sienveida NiO nanostrukturā elektrodā tika veikta $0,1\text{ M NaOH}$ pie $-1,4\text{ V}$ (pret Ag/AgCl). Šis potenciāls izvēlēts, lai optimizētu jutību pret H_2O_2 , minimizējot traucējumu ietekmi no citām elektroaktīvām

sugām. Elektrods uzrādīja skaidru un atkārtojamu strāvas reakciju uz H_2O_2 pievienošanu, ar izteiktu atkarību no H_2O_2 koncentrācijas.

Mērījumi veikti diapazonā no $25\ \mu\text{M}$ līdz $4\ \text{mM}$, un visā diapazonā novērota stabila un lineāra atbilde, piemērota kvantitatīvai H_2O_2 noteikšanai, arī sarežģītos paraugos, piemēram, augu ekstraktos. Kalibrācijas līkne, iegūta pie $-1,4\ \text{V}$ ar pakāpenisku H_2O_2 pievienošanu, uzrādīja pilnīgi lineāru sakarību ($R^2 = 1,00$) visā pētītajā koncentrāciju diapazonā, kas apliecina sensora uzticamību un precizitāti.

Kalibrācijas līkne NiO elektrodā tika iegūta, mērot strāvas atbildi pie $-1,4\ \text{V}$ ar pakāpenisku H_2O_2 pievienošanu. Iegūtie dati uzrādīja izteikti lineāru sakarību starp strāvu un H_2O_2 koncentrāciju ar determinācijas koeficientu (R^2) $1,00$ (ko apliecina arī pakāpeniska strāvas pieauguma forma atbildē uz H_2O_2). Šī lineārā sakarība saglabājās visā testētajā H_2O_2 koncentrāciju diapazonā, uzsverot elektroda uzticamību un precizitāti.



18. attēls. A) Hronamperogramma, kas iegūta $0,1\ \text{M}$ NaOH atbalsta elektrolītā NiO nanostrukturētam elektrodām pie pīķa potenciāla $-1,4\ \text{V}$, ar pakāpenisku H_2O_2 pievienošanu. B) Kalibrācijas līkne, kas ilustrē koncentrācijas–strāvas atkarību.

NiO elektroda jutība, aprēķināta no kalibrācijas līknes slīpuma, bija $2474\ \mu\text{A}\cdot\text{mM}^{-1}$ (vai $15,46\ \text{mA}\cdot\text{mM}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$). Šī vērtība ir izcili augsta salīdzinājumā ar iepriekš ziņotajiem NiO bāzētajiem elektrokimiskajiem sensoriem, norādot uz sienveida NiO nanostrukturās konfigurācijas pārāko detekcijas spēju. Noteikšanas robeža (LOD) tika noteikta, izmantojot 3:1 signāla-trokšņa (S/T) attiecības kritēriju. Balstoties uz trokšņa līmeni pamatlīnijas strāvas mērījumos, LOD tika aprēķināta kā $1,59\ \mu\text{M}$.

NiO elektrods uzrādīja izcilu selektivitāti pret H_2O_2 , pat klātbūtnē biežiem traucētājiem, kas sastopami augu ekstraktos, piemēram, askorbīnskābei, glikozei, citronskābei un nātrija hlorīdam. Pievienojot šīs vielas darba šķīdumam, netika novērotas būtiskas izmaiņas pamatlīnijas strāvā vai atbildē uz H_2O_2 . Elektroda traucējumu izturība, visticamāk, ir saistīta ar NiO virsmas katalītisko specifiskumu, kas selektīvi oksidē H_2O_2 , būtiski neietekmējoties no traucētājielu redoksa īpašībām.

Elektroda stabilitāte tika novērtēta, atkārtoti mērot strāvas atbildi pie $-1,4\text{ V}$ $0,1\text{ M NaOH}$ šķīdumā, kas saturēja $2\text{ mM H}_2\text{O}_2$. Pīķa strāvas vērtība samazinājās mazāk nekā par 4% 30 dienu periodā, norādot, ka elektrods saglabā funkcionalitāti un jutību ar minimālu degradāciju. Turklāt elektrods parādīja stabilu veikspēju arī pēc vairākiem atkārtotas lietošanas cikliem — jutība samazinājās tikai par 7% pēc desmitās mērījumu reizes.

6. Augu stresa noteikšana, izmantojot H_2O_2 elektrokīmiskos sensorus

Ūdeņraža pārskābe (H_2O_2) ir centrāla reaktīvās skābekļa suga (ROS), kas darbojas gan kā signālmolekula, gan kā oksidatīvā stresa indikators augos, kuri atrodas abiotisku vai biotisku stresa faktoru ietekmē. Paaugstināts H_2O_2 līmenis norāda uz šūnu redoksa homeostāzes traucējumiem, ko izraisa sāļi, herbicīdi vai citi vides stresa faktori. H_2O_2 elektrokīmiskā noteikšana nodrošina uzticamu pieeju augu stresa reakciju reāllaika monitoringam.

Šajā pētījumā tika izmantoti neenzimātiski elektrokīmiskie sensori, izgatavoti no nanostrukturētiem metālu oksīdiem — Co_3O_4 , CuO un NiO . Šie sensori izmanto pārejas metālu oksīdu raksturīgo elektrokatalītisko aktivitāti H_2O_2 oksidācijā, ko vēl vairāk pastiprina nanostrukturēšana. Sensora slāņa morfoloģiskā inženierija, īpaši to veidošana ziedlapveida, sienveida un šķiedrveida struktūrās, būtiski palielināja elektroaktīvo virsmas laukumu, uzlabojot jutību un selektivitāti.

Katrs sensora tips tika pielāgots konkrētām lietojuma jomām:

- **Co_3O_4 nanolapiņas** tika optimizētas miežu ekstraktiem un parādīja izcilu katalītisko reakciju sarežģītās matricās.
- **NiO nanosiņas** nodrošināja efektīvu H_2O_2 noteikšanu rudzu paraugos sāls stresa apstākļos, piedāvājot lielu virsmas laukumu un

zemu noteikšanas robežu ($\text{LOD} = 1,59 \text{ } \mu\text{M}$, jutība = $2474 \text{ } \mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1}$).

- **CuO nanostrukturās**, lietotas kopā ar Co_3O_4 multisensora konfigurācijā, nodrošināja papildinošu selektivitāti, uzlabojot signāla uzticamību rudzu ekstraktos, kas pakļauti sāls un herbicīdu stresam.

6.1. Eksperimentālās procedūras

Elektrokīmiskie mērījumi tika veikti trīs elektrodu sistēmā ar Ag/AgCl kā salīdzinošo elektrodu un oglekļa elektrodu kā palīgelektrodu. Darba elektrodu bija nanostrukturēti Co_3O_4 , CuO vai NiO uz metāla vadiem (dzelzs vai vara pamatnes), sintezēti ar hidrotermālām un ķīmiskās oksidācijas metodēm.

Augu materiāls un apstrāde:

- **Sugas:** mieži (*Hordeum vulgare L.*) un rudzi (*Secale cereale L.*).
- **Stresa inducēšana:** augi tika pakļauti 0,2 M NaCl, lai simulētu sāļuma stresu; papildus grupām tika pievienotas Fe_3O_4 vai ZnO nanoparticulas, lai mazinātu stresa ietekmi.
- **Ilgums:** kopējais audzēšanas periods bija 4 nedēļas, stresa un nanopartikulu apstrādes tika pielietotas pēdējās 3 nedēļās.

Paraugu sagatavošana:

- Zaļie augu audi (parasti 10 g uz 250 mL) tika ekstrahēti 0,1 M NaOH un uzglabāti aukstumā un tumsā, lai stabilizētu H_2O_2 .
- Optiskiem mērījumiem hlorofils tika ekstrahēts etanolā, lai validētu stresa pakāpi pēc fotosintētisko pigmentu zuduma.

Elektrokīmiskā kalibrēšana un traucējumu testi:

- Sensori tika kalibrēti ar H_2O_2 standartiem $25 \text{ } \mu\text{M}$ –7 mM diapazonā.
- Traucējumu izturība tika vērtēta pret NaCl, glikozi, citronskābi un askorbīnskābi; ziedlapveida Co_3O_4 struktūras uzrādīja vislabāko izturību pret augu matricas komponentu ietekmi.

Dati tika iegūti, izmantojot CV, SWV un amperometriju. CV skenējumi parasti bija diapazonā no $-1,3 \text{ V}$ līdz $+0,5 \text{ V}$ (pret Ag/AgCl), ar skenēšanas

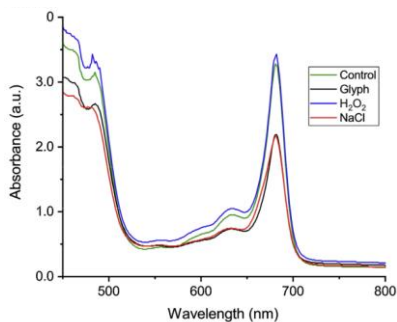
ātrumu $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$. Amperometriskā detekcija tika veikta pie fiksēta potenciāla (piem., $-1,2 \text{ V}$), kas atbilda H_2O_2 oksidācijas pīķim.

6.2. Augu stresa noteikšana ar nanostrukturētiem elektrokīmiskajiem sensoriem

NaCl un glifosāta izraisītam stresam pakļautajos augu paraugos tika konstatēts būtiski paaugstināts H_2O_2 līmenis salīdzinājumā ar kontroles grupu — attiecīgi līdz $163,02 \text{ } \mu\text{M}$ un $223,03 \text{ } \mu\text{M}$. Optiskās absorbcijas mērījumi parādīja arī ievērojamu hlorofila satura samazināšanos — līdz pat 35 % smagāk skartajos paraugos (1. tabula).

Iepriekš izstrādātie neenzimātiskie sensori, izmantojot nanostrukturētus CuO un Co_3O_4 elektrodus, tika pielietoti augu stresa noteikšanai. Šie materiāli tika izvēlēti to augstās katalītiskās aktivitātes, stabilitātes un elektrokīmiskajām īpašībām piemērotības dēļ.

Salīdzinot H_2O_2 līmeni ar optiskajiem hlorofila mērījumiem, tika konstatēta skaidra inversa korelācija: pieaugot H_2O_2 koncentrācijai, hlorofila saturs samazinājās, īpaši NaCl un glifosāta ietekmētajos paraugos. Kontroles paraugi, kuros H_2O_2 akumulācija bija minimāla, uzrādīja augstāko hlorofila saturu un garākos dzinumus, savukārt stresotie paraugi bija ar samazinātu hlorofila saturu un augšanas kavēšanos.



Stress Factor	As Prepared Samples	
	Chl(a), (mg/g)	Chl(b), (mg/g)
H_2O_2	47.80	19.27
Control	45.88	17.82
Glyphosate	31.39	14.40
NaCl	30.10	19.21

1. tabula. Hlorofila satura samazinājums dažādu stresa induktoru ietekmē rudziem.

19. attēls. Gaismas absorbcijas spektrs rudzu paraugiem.

H_2O_2 ir skaidri apstiprināts kā uzticams augu stresa biomarķieris, kura koncentrācija tieši korelē ar stresa smagumu (piem., sāls vai herbicīdi).

Izstrādātie neenzimātiskie CuO un Co₃O₄ nanostrukturētie sensori nodrošina jutīgu un selektīvu H₂O₂ noteikšanu augu audos, saglabājot augstu veiktspēju pat sarežģītās matricās, piemēram, rudzu sulā.

6.3. Nanodaļiņu izmantošana stresa mazināšanai un sensoru pielietojuma paplašināšana

Nanodaļiņu integrācija lauksaimniecībā paver jaunas iespējas stresa mazināšanai, jo šie nanomateriāli spēj mazināt oksidatīvo stresu augos. Šajā pētījumā izstrādātie NiO, CuO un Co₃O₄ nanostrukturētie sensori demonstrē augstu potenciālu kā monitoringa rīki stresa līmeņa noteikšanai pirms, laikā un pēc nanodaļiņu pielietošanas.

Kvantificējot H₂O₂ daudzumu augu audos, sensori var efektīvi novērtēt nanodaļiņu efektivitāti oksidatīvā bojājuma mazināšanā. Piemēram, ZnO vai Fe₃O₄ nanopartikulu pievienošana apūdeņošanas ūdenim ievērojami samazināja H₂O₂ koncentrāciju rudzu paraugos sāls stresa apstākļos, kā pierādīts iepriekšējos pētījumos. Šīs nanoparticulas ne tikai palīdz neitralizēt reaktīvās skābekļa sugas (ROS), bet arī stimulē augu dabiskās antioksidantu sistēmas.

NiO, CuO un Co₃O₄ sensoru daudzpusība ļauj tos izmantot arī lauksaimniecībā atgriezeniskās saites režīmā, monitorējot augu fizioloģisko reakciju uz mēslojumu un ķīmisko vielu pielietojumu. Piemēram, nepārtraukti mērot H₂O₂ līmeni apstrādātos augos, lauksaimnieki un pētnieki var pielāgot mēslojuma devas un pielietošanas metodes, balstoties uz reāllaika datiem.

6.4. Nodaļas kopsavilkums

Pēc detalizētas katra metāla oksīda elektroda — CuO, Co₃O₄ un NiO — elektrokīmiskās veiktspējas analīzes H₂O₂ noteikšanā ir būtiski apkopot un salīdzināt to galvenos analītiskos parametrus, lai novērtētu to relatīvās priekšrocības un piemērotību dažādām pielietojuma jomām. Katrs elektrods uzrādīja atšķirīgas īpašības jutības, lineārā diapazona, noteikšanas robežas, selektivitātes un ilgtermiņa stabilitātes ziņā.

Lai nodrošinātu tiešu un strukturētu salīdzinājumu, zemāk ir sniegta kopsavilkuma tabula, kurā apkopoti nozīmīgākie katra materiāla veiktspējas rādītāji. Šis salīdzinošais pārskats uzsver katras sistēmas stiprās puses un

palīdz noteikt optimālāko elektrodu konkrētai sensora pielietošanas videi, piemēram, biomedicīnā, vides monitoringā vai augu fizioloģisko procesu uzraudzībā.

Augu suga	Stresa veids	Stresa mazinātājs	H ₂ O ₂ Koncentrācija (μM)
Rudzi (<i>Secale cereale</i> L.)	Sāls stress (NaCl)	— (kontrolē, no mazinātāja)	500
		ZnO nanodaliņas (50 mg·L ⁻¹)	190
		ZnO nanodaliņas (100 mg·L ⁻¹)	130
Mieži (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	Sāls stress (NaCl)	— (kontrolē, no mazinātāja)	500
		Fe ₃ O ₄ nanodaliņas (72 mg·L ⁻¹)	150

2. tabula. Salīdzinājums starp noteiktajiem H₂O₂ līmeņiem augos ar un bez stresa mazināšanas, izmantojot nanopartikulu pievienošanu apūdeņošanas ūdenim.

Parametrs	Vara oksīds (CuO)	Kobalta oksīds (Co ₃ O ₄)	Niķeļa oksīds (NiO)
Elektrolīts	0.1 M NaOH	0.1 M NaOH	0.1 M NaOH
Pielietotais potenciāls	-0.2 V (vs. Ag/AgCl)	-1.23 V (vs. Ag/AgCl)	-1.4 V (vs. Ag/AgCl)
Lineārās noteikšanas diapazons	20 μM to 1300 μM	0.2 mM to 2 mM	25 μM to 4 mM
Korelācijas koeficients (R ²)	0.9997	0.9976	1.00
Jutība	505.11 μA/mM (0.5051 A/mM)	22 μA/mM	2474 μA/mM (15.46 mA/mM·cm ²)
Noteikšanas robeža (LOD)	1.05 μM (3σ/sensitivity)	7.14 μM	1.59 μM
Selektivitāte	Augsta; nav būtisku traucējumu no askorbīnskābes, urīnskābes, dopamīna, NaCl	Laba; minimāli traucējumi no NaCl, KNO ₃ , glikozes, citronskābes, askorbīnskābes	Izcila; nav traucējumu no askorbīnskābes, glikozes, citronskābes, NaCl
Pielietojuma piemērotība	Īpaši piemērots zemu H ₂ O ₂ koncentrāciju noteikšanai (bioloģija, vide)	Piemērots medicīnas un vides monitoringam	Īpaši piemērots augu stresa biomarkieru noteikšanai (piem., sāls stress)

3. tabula. CuO, Co₃O₄ un NiO elektrodu salīdzinošā veiktspēja H₂O₂ noteikšanā.

Secinājumi

1. Lāzera un hidrotermālās sintēzes metodes ļauj kontrolēt ļoti viendabīgu un strukturāli precīzu ZnO nanoadatu izgatavošanu, būtiski uzlabojot to struktūras stabilitāti un piemērotību specifiskiem elektrokīmisko sistēmu pielietojumiem.

- a. ZnO nanoadatas tika veiksmīgi sintezētas, izmantojot gan hidrotermālo, gan lāzerapstrādes metodi. Hidrotermālā metode uz iepriekš uzsildītām pamatnēm nodrošināja viendabīgas struktūras. Lāzerapstrādes metode, izmantojot 532 nm lāzeri ar jaudas blīvumu 15,5 MW/m² un skenēšanas ātrumu 55 mm/min, nodrošināja selektīvu un precīzu ZnO nanostruktūru formēšanu ar minimālu parazītaugšanu.

2. Metālu oksīdu nanostruktūru morfoloģiju (CuO nanolapiņas, Co₃O₄ nanšķiedras, NiO nanosiņas) var sistemātiski regulēt ar sintēzes parametriem, optimizējot elektrokīmisko aktivitāti, virsmas laukumu un stabilitāti, tādējādi pielāgojot sensoru īpašības dažādām lietojuma jomām.

- a. CuO hidrotermālās oksidācijas procesā tika iegūtas ziedlapveida nanostruktūras ar augstu elektrokīmisko aktivitāti. Optimālā sintēzes ilguma vērtība: 3 h pie 90 °C šķīdumā no 10 mL 10 M NaOH, 5 mL 1 M (NH₄)₂S₂O₈ un 26 mL destilēta ūdens.
- b. Co₃O₄ hlorīdu klātbūtnē veidojās garas, viendabīgas nanšķiedras, kas sakārtojās šūnveida struktūrās ar augstu adhēziju, lielu virsmas laukumu un izcilu elektrokīmisko reakciju. Optimālā sintēze: 5 h pie 95 °C ekvimolārā 0,1 M CoCl₂·6H₂O un 0,1 M heksametilēntetramīna ūdens šķīdumā.
- c. NiO hidrotermālā sintēze uz dzelzs vadiem deva sienveida nanosiņas ar trīsdimensionālu arhitektūru un lodveida ziedlapiņu veidojumiem. Optimālā sintēze: 5 h pie 95 °C ekvimolārā 0,1 M Ni(NO₃)₂·6H₂O un C₆H₁₂N₄ maisījumā.

3. Elektrokīmisko platformu izstrāde ļāva mērķtiecīgi noteikt analītus dažādos pielietojumos:

- a. Pielāgotā elektrokīmiskā šūna ar nanostrukturētiem elektrodiem — augsta piemērotība augu ekstraktu stresa monitoringam.
- b. Masveidā ražota PCB mikroskāmes tipa elektrokīmiskā šūna — spēja analizēt paraugus ar tilpumu līdz 10 µL herbicīdu pielietojuma uzraudzībai.
- c. Miniatūra uz pilieniem balstīta elektrokīmiskā šūna — piemērota dažādu nanostruktūru mitrināmības dinamiskai analīzei.

4. Nanostrukturētie NiO, Co₃O₄ un CuO elektrodi uzrādīja izcilu jutību un selektivitāti H₂O₂ noteikšanai augu ekstraktos, nodrošinot oksidatīvā stresa reāllaika uzraudzību abiotisko un herbicīdu izraisīto stresa apstākļos.

- a. Elektroķīmiskie sensori, kas balstīti uz nanostrukturētiem NiO, Co₃O₄ un CuO, tika testēti H₂O₂ noteikšanai rudzos un miežos.
 - i. NiO bāzētais sensors uzrādīja noteikšanas robežu (LOD) 1,59 μM un jutību 2474 $\mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1}$.
 - ii. Co₃O₄ elektrodi uzrādīja LOD 7,14 μM un jutību 22 $\mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1}$.
 - iii. CuO sensori uzrādīja LOD 1,05 μM un jutību 505 $\mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1}$.
 - iv. Šie sensori tika veiksmīgi pārbaudīti pret biežāk sastopamiem augu interferentiem.

5. Izstrādātie elektroķīmiskie sensori, validēti ar papildinošām optiskām un molekulārām metodēm, uzrāda augstu korelāciju ar fizioloģiskajiem stresa indikatoriem, apstiprinot H₂O₂ kā uzticamu augu stresa biomarķieri.

- a. H₂O₂ elektroķīmiskā noteikšana tika validēta, izmantojot optiskos mērījumus (hlorofila saturs) un molekulārās analīzes (RAPD). Šī pētījuma laikā tika konstatēts, ka stresa skartos rudzu paraugos:
 - i. Hlorofila saturs samazinājās līdz 35 % salīdzinājumā ar kontroli;
 - ii. Izstrādātie sensori noteica H₂O₂ koncentrāciju līdz 223,03 μM ;
 - iii. Kontroles paraugos H₂O₂ līmenis bija zem LOD.
- b. Papildus tam glifosāta stresa skartie augu paraugi uzrādīja būtisku genotoksisku iedarbību, ko pierādīja RAPD analīze, norādot uz DNS līmeņa izmaiņām. Elektroķīmisko datu integrācija ar optisko un molekulāro validāciju stiprina H₂O₂ kā būtiska fizioloģiskā marķiera ticamību un pamato izstrādāto sensoru izmantošanu lauksaimniecības monitoringa sistēmās.

1. Introduction

The development of advanced electrochemical sensing platforms based on nanostructured materials has become a key research priority due to the unique and highly tunable properties that nanomaterials offer. Among these, metal oxide nanostructures—such as ZnO, CuO, Co₃O₄, and NiO—have gained increasing attention for their excellent catalytic activity, high surface-to-volume ratio, and structural versatility. These properties make them highly suitable for the fabrication of electrochemical sensors with enhanced sensitivity, selectivity, and response time. The ability to control the morphology, composition, and surface chemistry of these nanostructures through various synthetic methods allows researchers to tailor sensor performance for specific applications, such as the detection of reactive oxygen species like hydrogen peroxide (H₂O₂).

Despite these advancements, the development and optimization of metal oxide-based electrodes remain highly challenging due to a number of unresolved issues. First, the performance of a sensor is heavily dependent on the micro- and nano-scale architecture of the electrode surface. While various synthesis techniques—such as hydrothermal growth, electrochemical deposition, and laser-assisted patterning—have been employed to fabricate nanostructured films, the influence of parameters such as precursor concentration, growth temperature, seed layer uniformity, and external stimuli (e.g., laser power) on final morphology and electrochemical performance has not been fully explored. A more systematic understanding of these factors is essential for reproducible and scalable fabrication of high-performance electrodes.

Second, while the intrinsic electrochemical activity of metal oxides makes them promising candidates for non-enzymatic sensors, their direct integration into practical sensor architectures remains limited. Many studies are still confined to conventional three-electrode setups with glassy carbon or platinum working electrodes, which are not suitable for mass production or miniaturization. The development of alternative, scalable fabrication techniques—such as the use of PCB-based chips, droplet-based microcells, and screen-printed electrodes—has only recently begun to be explored in depth. These approaches not only enable the production of compact and robust sensor systems but also allow for the simultaneous monitoring of multiple analytes in complex or low-volume samples.

Moreover, while significant progress has been made in the design of metal oxide-based electrochemical sensors, the translation of laboratory-scale devices into real-world applications remains a challenge. The need for stable, long-term, and highly sensitive sensors in harsh environments—such as those involving interfering species, varying pH, or fluctuating temperatures—has not yet been fully met. The ability to modify electrode surfaces to resist interference from common coexisting species (e.g., ascorbic acid, glucose, or citric acid) is still an area of active research, particularly for sensors intended for use in complex chemical or biological matrices.

Furthermore, the application of electrochemical sensors for the detection of oxidative stress biomarkers in plants has received relatively limited attention, despite the growing importance of monitoring plant health in response to environmental and chemical stressors. While traditional analytical methods—such as spectrophotometry and fluorescence-based assays—have been widely used to assess stress-induced changes in plants, they often require laborious sample preparation, expensive instrumentation, and are typically limited to laboratory settings. In contrast, electrochemical sensors offer a promising alternative by enabling rapid, *in situ*, and real-time detection of stress markers such as hydrogen peroxide (H_2O_2), a central reactive oxygen species (ROS) that is both a signaling molecule and an indicator of oxidative stress. However, the development of sensors specifically tailored for plant-based matrices—where the presence of interfering compounds and low analyte concentrations pose significant challenges—has lagged behind their use in more controlled environments such as clinical or industrial settings.

In particular, the use of metal oxide nanostructures for the detection of plant stress biomarkers remains an underexplored area. Most existing studies focus on the general electrochemical behavior of these materials in aqueous solutions or in simple buffer systems, but few address their performance in complex, real-world samples such as plant extracts, which contain a diverse array of organic and inorganic species. Moreover, there is a lack of systematic investigation into how the morphology and composition of metal oxide nanostructures influence their selectivity and sensitivity in plant-derived matrices. As a result, the design of sensors that can reliably detect stress indicators *in vivo*—without requiring extensive sample pretreatment—remains a critical technological gap. Addressing this gap is essential for the advancement of precision agriculture, environmental monitoring, and the development of plant stress-mitigating strategies, particularly in the context of climate change and increasing use of agrochemicals.

Goals:

1. To develop and optimize laser-assisted and hydrothermal synthesis methods for the controlled fabrication of high-quality ZnO nanoneedles with tailored morphologies and patterned arrangements, suitable for application in electrochemical sensing.
2. To develop and optimize scalable synthesis techniques for CuO, Co₃O₄, and NiO nanostructures, enabling precise control over morphology, composition, and surface properties to enhance their performance in electrochemical sensing applications.
3. To develop and optimize a range of electrochemical cell platforms suitable for creation of application-specific nanostructure based electrochemical sensors.
4. To develop and evaluate non-enzymatic electrochemical sensors based on Co₃O₄, CuO and NiO nanostructures for the sensitive and selective detection of hydrogen peroxide in complex plant matrices under abiotic and herbicide-induced stress conditions.
5. To validate sensor applicability for plants stress detection by correlating electrochemical H₂O₂ detection results with physiological and molecular stress indicators in plants.

In order to achieve the defined goals, the following tasks were identified:

1. Investigate the effect of precursor concentration, growth temperature, and laser parameters on the morphology and uniformity of ZnO nanoneedles using hydrothermal and laser-assisted methods.
2. Develop hydrothermal synthesis methods that enable the controlled formation of CuO, Co₃O₄, and NiO with repeatable morphologies and systematically characterize the synthesized nanostructures using SEM, XRD and element analysis.
3. Design and fabricate a variety of electrochemical sensor platforms with nanostructured electrodes suitable for in situ analysis. These platforms should be optimized for compatibility with different sample types and operational conditions.
4. Validate the performance of the developed electrochemical platforms across a range of applications, including in situ plant stress monitoring and glyphosate detection in agricultural samples. This includes testing for sensitivity, selectivity, reproducibility.

5. Fabricate and test electrochemical sensors using Co_3O_4 , CuO , and NiO nanostructures in three-electrode configurations optimized for H_2O_2 detection in aqueous and plant-derived samples.
6. Assess the selectivity and anti-interference capabilities of the sensors in the presence of common plant matrix interferents (e.g., ascorbic acid, glucose, citric acid) and validate their performance using calibration and real plant extract analysis.
7. Conduct electrochemical H_2O_2 measurements in plant samples under salt and glyphosate stress, and correlate the results with optical (chlorophyll content) and molecular (RAPD) stress indicators.
8. Demonstrate the utility of the sensors in monitoring the effectiveness of stress-mitigation strategies, such as the application of ZnO and Fe_3O_4 nanoparticles, by quantifying H_2O_2 levels.

During the conducted research the following methods were used:

- Hydrothermal synthesis
- Laser-assisted hydrothermal synthesis
- Scanning Electron Microscopy
- X-ray Diffractometry
- Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy
- Cyclic Voltammetry
- Chronoamperometry
- Differential Pulse Voltammetry
- Electric Impedance Spectrometry
- Optical Spectrometry
- Random Amplified Polymorphic DNA analysis

The results of the following work are summarized in the following thesis points:

1. Laser-assisted and hydrothermal synthesis techniques enable the controlled fabrication of highly uniform and patterned ZnO nanoneedles, significantly enhancing their structural fidelity and suitability for application-specific design in electrochemical systems.
2. Synthesis parameters were optimized to tailor the morphology of metal oxide nanostructures—including CuO nanopetals, Co_3O_4 nanofibers, and NiO nanowalls—thereby improving their

electrochemical activity, surface area, and stability for use in sensors targeting plant oxidative stress detection.

3. The developed electrochemical platforms demonstrate reliable and scalable performance in detecting analytes both in vitro and in situ. Tailored for applications including plant stress monitoring, herbicide detection, and surface wetting studies, each platform showcases metal oxide based nanostructured sensor's adaptability to different sensing needs.
4. Nanostructured NiO, Co₃O₄, and CuO electrodes exhibit exceptional sensitivity and selectivity for hydrogen peroxide detection in plant extracts, enabling the real-time monitoring of oxidative stress under abiotic and herbicide-induced conditions.
5. The sensing platform developed in this study demonstrates a strong correlation with physiological stress indicators, supporting the use of H₂O₂ as a reliable biomarker for assessing plant stress.

Novel Aspects of the Research

- The study introduces a custom made original electrochemical platform based on metal oxide nanostructures, enabling the sensitive and selective detection of hydrogen peroxide in both controlled and real-world plant-based environments.
- A non-enzymatic electrochemical system was developed for the in situ assessment of oxidative stress in plants, offering a practical and scalable alternative to conventional analytical methods.
- The study demonstrates the utility of the developed electrochemical sensor platform in evaluating the stress-mitigating effects of Fe₃O₄ and ZnO nanoparticles, showing their potential to enhance plant resilience under abiotic and herbicide-induced stress conditions.

Practical and Applied Impact

The developed electrochemical sensors enable rapid, in situ detection of oxidative stress in plants, offering a valuable tool for precision agriculture and environmental monitoring. The study also highlights the potential of metal oxide nanoparticles as effective stress-mitigating agents, supporting the development of sustainable plant protection strategies.

2. Synthesis and Morphological Characterization of Metal Oxide Nanostructures

2.1. Laser-assisted and Hydrothermal Synthesis of ZnO Nanoneedles with Tailored Morphology

Zinc oxide (ZnO) is a versatile semiconductor material that is widely used in optoelectronic devices, sensors, and catalytic applications. The controlled synthesis of ZnO nanoneedles with tailored morphology is essential for optimizing their performance in specific applications. Two prominent methods for synthesizing ZnO nanoneedles are the hydrothermal method and laser-assisted synthesis.

Hydrothermal synthesis was employed in this study to fabricate ZnO nanostructures from an equimolar solution of $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ and Hexamethylenetetramine (HMTA) (0.025 M and 0.05 M, respectively). The synthesis was carried out in a programmable oven at 90 °C for 1.5 hours, resulting in the formation of well-aligned ZnO nanoneedles on pre-deposited ZnO seed layers. The seed layers were applied via drop-casting of a 25 mM zinc acetate solution in ethanol, followed by thermal annealing at 350 °C for 30 minutes. This method not only ensures high-quality ZnO nanostructures but also offers the advantage of being a low-temperature and scalable technique suitable for various applications such as sensors and electrode fabrication.

To investigate the effect of seed layer uniformity on nanostructure growth, the application was conducted under two different thermal conditions: (1) on a room-temperature substrate, and (2) on a preheated substrate at 100 °C. Scanning electron microscopy (SEM) analysis revealed a significant difference in the resulting nanostructural morphology (Figure 1). On room-temperature substrates, the seed layer exhibited a ring-like pattern due to the “coffee stain” effect, which led to heterogeneous ZnO nanostructure growth—dense, vertically aligned nanoneedles along the periphery and sparse, 3D nano-urchin-like formations in the center. In contrast, preheating the substrate effectively suppressed thermocapillary convection, promoting a more uniform evaporation of the solvent and, consequently, a homogeneous distribution of seed particles. This, in turn, resulted in a more even and uniform growth of nanoneedles across the surface, as evidenced by the SEM images.

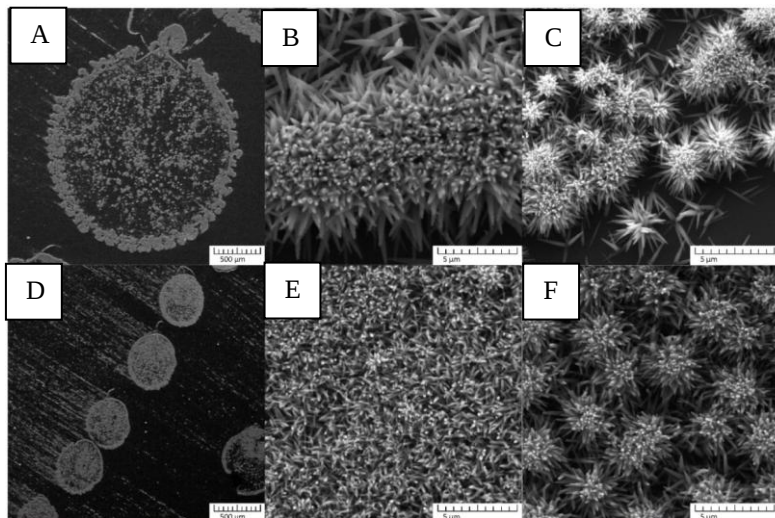


Figure 1. Analysis of the “coffee stain” effect, where (a), (b), and (c) nanostructures were obtained by applying ZnO precursors on a room-temperature substrate, and (d), (e), and (f) on a pre-heated substrate. Hydrothermal synthesis was carried out in 0.025 M $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ and 0.05 M HMTA aqueous solutions at 90 °C for 1.5 h.

The influence of laser-assisted selective thermal decomposition of zinc acetate was explored as an alternative method to create patterned seed layers. A 532 nm laser with a power of 60 mW and a scan speed of 55 mm/min was used to irradiate a spin-coated zinc acetate layer deposited on a Cr-coated substrate (Figure 2). The laser-induced thermal decomposition selectively converted zinc acetate into ZnO seeds along the irradiated trajectory, enabling the formation of patterned nanostructures after subsequent hydrothermal growth. SEM analysis confirmed that the laser method produced well-defined, micron-scale ZnO nanoneedle patterns with sharp boundaries and high fidelity to the laser path. Notably, the morphology of the nanostructures obtained via laser-assisted seeding was indistinguishable from those obtained using furnace-annealed seed layers, as confirmed by XRD and EDS analysis. Both techniques yielded ZnO nanostructures with high crystallinity and no secondary phases.

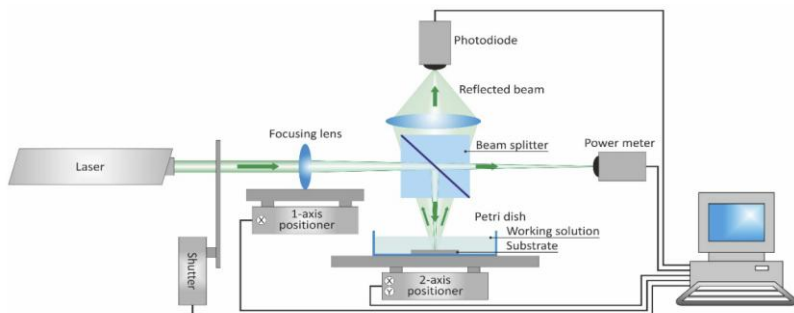


Figure 2. Schematic representation of the setup for laser-induced hydrothermal synthesis.

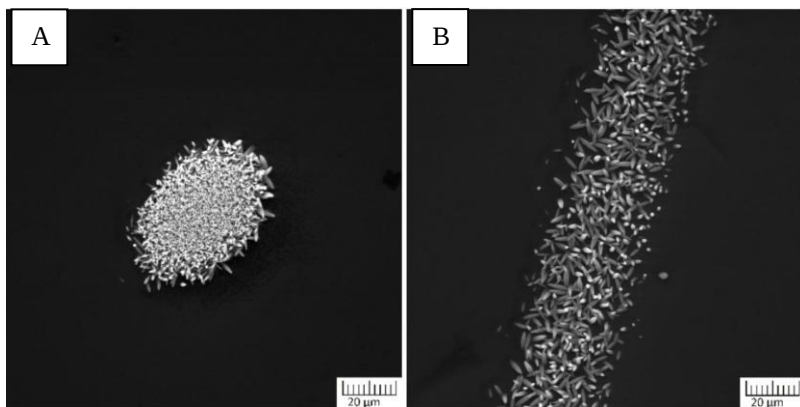


Figure 3. Samples of laser-induced hydrothermally synthesized ZnO oxide microstructures. A) single dot, B) continuous line.

In summary, the experimental results demonstrate that hydrothermal synthesis can be effectively modified through the use of protective screens, laser-assisted patterning, and electrochemical deposition to achieve high-quality, area-selective ZnO nanostructured coatings. These techniques offer valuable strategies for tailoring nanostructure morphology and growth selectivity, with direct applicability in sensor fabrication, optoelectronics, and biosensing technologies.

The wettability dynamics of ZnO nanostructured surfaces are closely tied to their morphology, size, and surface coverage. According to the study,

nanostructured ZnO thin films exhibit a wide range of wetting behaviors, from highly hydrophobic to distinctly hydrophilic. For instance, ZnO nanoneedles, characterized by a low surface coverage of approximately 23%, displayed a very high initial water contact angle (WCA) of 127° , which decreased to 70° after 10 minutes. This behavior is attributed to the needle-like shape and low surface coverage that promote the formation of an air-trapping "Fakir" or "lotus" surface, consistent with the Cassie–Baxter wetting regime. In contrast, thick nanorods with a high surface coverage (87%) showed a marked hydrophilic behavior, with a WCA of only 19° at the onset of the experiment, dropping further to 7.5° after 10 minutes, indicating a transition to the Wenzel regime where the liquid fully penetrates the nanostructure gaps.

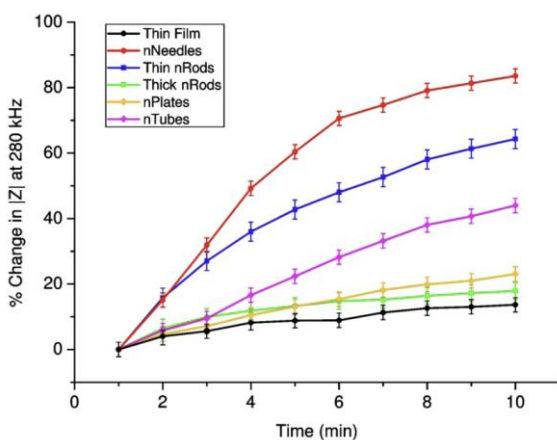


Figure 4. Characterization of water permeation progress by relative change of the impedance module $|Z|$ versus time for different ZnO nanostructure morphologies at 280 kHz.

The study further utilized electrochemical impedance spectroscopy (EIS) to track wetting dynamics in real time. The saturation time, defined as the moment when all nanostructure voids are fully wetted, varied significantly between morphologies. Hydrophobic surfaces, such as nanoneedles and thin rods, required 7–9 minutes to reach saturation, while hydrophilic surfaces, such as thick rods and nanoplates, achieved full wetting in just 2–4 minutes. EIS provided detailed insights into the transition from the Cassie–Baxter to the Wenzel wetting model, with the impedance measurements reflecting the progressive filling of nanostructure voids by water. These findings underscore

the importance of considering nanostructure morphology in the design of electrochemical and optical sensors, where complete surface wetting is essential for optimal performance.

2.2. Synthesis and Morphological Characterization of Copper Oxide Nanostructures

Copper oxide (CuO) nanostructures have been synthesized using two different methods: a one-step chemical hydrothermal oxidation route and thermal oxidation. These methods produce nanostructured CuO films on copper wire substrates, which exhibit high homogeneity, adhesion, and electrochemical sensitivity. The resulting nanostructures were characterized using field-emission scanning electron microscopy (FESEM), energy-dispersive spectroscopy (EDS), and X-ray diffraction (XRD) to analyze their morphology, composition, and crystallinity.

The hydrothermal synthesis method was employed to create nanostructured CuO coatings on copper wire substrates. This method involved the immersion of copper wire in a solution composed of 10 mL of 10 M NaOH, 5 mL of 1 M $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, and 26 mL of distilled water. The wires were immersed in the solution and placed in a heat-resistant glass beaker inside an oven preheated to 90 °C for 3 hours. The process was followed by thorough rinsing with distilled water and drying at 90 °C for 3 hours.

The resulting nanostructures on the copper wire exhibited a dense, uniform layer of CuO nanopetals, with 3D flower-like formations.

The CuO nanostructures formed via hydrothermal oxidation demonstrated excellent adhesion to the copper surface and mechanical stability during post-processing. The surface morphology showed a high degree of uniformity and a large surface area due to the porous and hierarchical arrangement of the nanostructures.

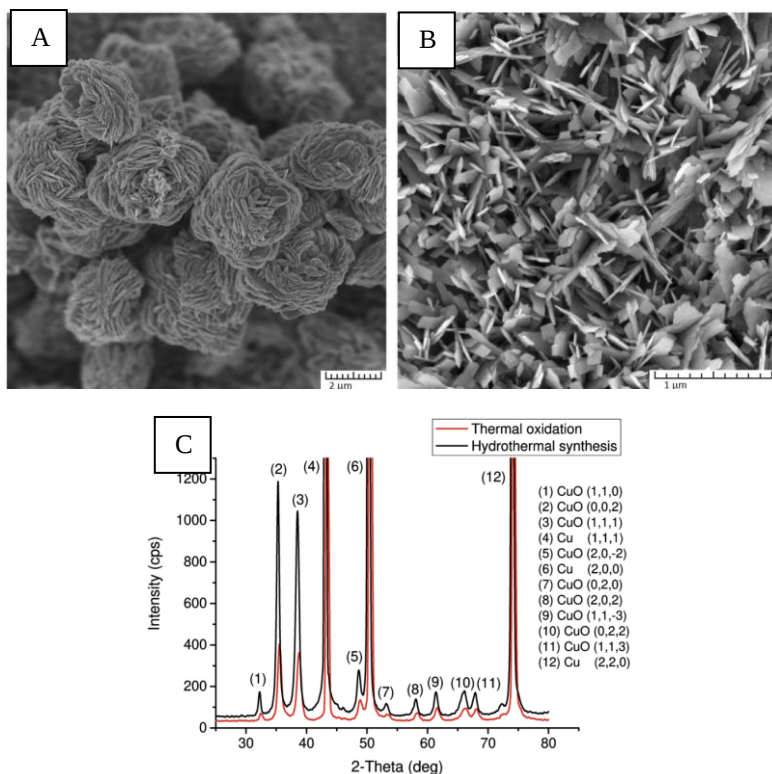


Figure 5. The synthesized CuO nanostructures. A) Nanopetals arranged in flower-like formations; B) Uniform nanopetals between flower-like formations; C) XRD pattern of synthesized CuO film.

In comparison, the CuO film obtained via thermal oxidation was prepared by annealing copper wire in an oxygen atmosphere at 500 °C for 30 minutes. The process resulted in a polycrystalline, homogeneous CuO film composed of irregularly shaped grains. However, this film exhibited poor adhesion to the substrate and was mechanically less stable than the hydrothermally synthesized nanostructures.

X-ray diffraction (XRD) analysis confirmed the high crystallinity of the CuO nanostructures. The XRD pattern for the hydrothermally synthesized CuO film displayed a higher degree of crystallinity compared to the thermally oxidized CuO film.

2.3. Synthesis and Morphological Characterization of Cobalt Oxide (Co₃O₄) Nanostructures

Cobalt oxide (Co₃O₄) nanostructures were synthesized using the hydrothermal method on iron wire substrates. Two types of anions—chloride and acetate—were used as precursors to study their influence on the morphology of the resulting nanostructures.

Chloride Anion-Assisted Synthesis

The synthesis began with iron wire (99.9% purity, 2 mm thickness) as the base substrate. The wire was first treated with fine sandpaper and immersed in 0.1 M HCl to increase the surface roughness and improve the adhesion of the nanostructures. An equimolar aqueous solution of 0.1 M CoCl₂·6H₂O and 0.1 M hexamethylenetetramine (CH₄N₂O) was prepared in 80 mL of distilled water. The solution had a reddish-violet color and was stirred until the solid reagents dissolved completely.

The pretreated iron wire was immersed in the growth solution and placed in a preheated oven. The hydrothermal growth occurred for 5 hours at 95°C, resulting in the formation of a dull pink Co(OH)₂ coating on the wire. The growth process was followed by thermal decomposition at 450°C for 1 hour to convert Co(OH)₂ into black, homogeneous Co₃O₄ nanostructures.

Acetate Anion-Assisted Synthesis

The synthesis was repeated under the same conditions as the chloride precursor, but 0.1 M (CH₃COO)₂Co·4H₂O was used instead of CoCl₂·6H₂O.

The presence of acetate anions significantly altered the morphology of the Co₃O₄ nanostructures. Instead of forming long nanofibers as in the chloride-assisted case, the acetate precursor led to the formation of thin, petal-like nanostructures assembled into honeycomb-like agglomerates. The honeycombs formed using the acetate anion were smaller and less uniform compared to those formed with the chloride precursor.

The synthesized Co₃O₄ nanostructures were characterized using Scanning Electron Microscopy (SEM) and X-ray Diffraction (XRD) to study their surface morphology and crystalline structure.

The comparison of Chloride and Acetate anion-assisted synthesized nanostructures

SEM images of Chloride Anion-Assisted Co_3O_4 revealed the formation of long, uniform nanofibers assembled into honeycomb-like structures. The nanofibers were densely packed and exhibited excellent adhesion to the iron substrate. The nanofibers were observed to be several micrometers in length and exhibited a high degree of uniformity in size and shape.

SEM images of Acetate Anion-Assisted Co_3O_4 showed petal-like nanostructures assembled into honeycomb-like agglomerates (Figure 6). These structures were significantly smaller and less uniform compared to the nanofiber-based morphology.

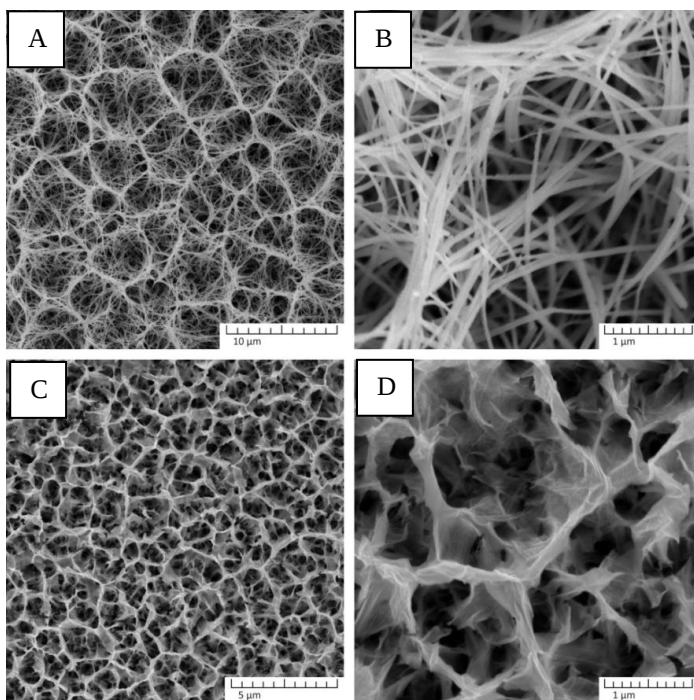


Figure 6. The study of the anion effect on the morphology of the Co_3O_4 nanostructures. A, B) Co_3O_4 nanostructures obtained from the precursor of cobalt chloride and urea, C, D) Co_3O_4 nanostructures obtained from the precursor of cobalt acetate and urea.

XRD patterns confirmed the formation of pure Co_3O_4 without any extraneous phase inclusions. The intensity of the diffraction peaks was higher for the chloride precursor samples, suggesting a higher degree of crystallinity compared to the acetate-assisted samples (Figure 7).

The honeycomb-like nanofiber morphology obtained with the chloride precursor was found to be highly suitable for electrochemical sensing applications. The fibrous structure provided a large active surface area, good adhesion, and enhanced electron charge transfer, which are critical for efficient H_2O_2 detection.

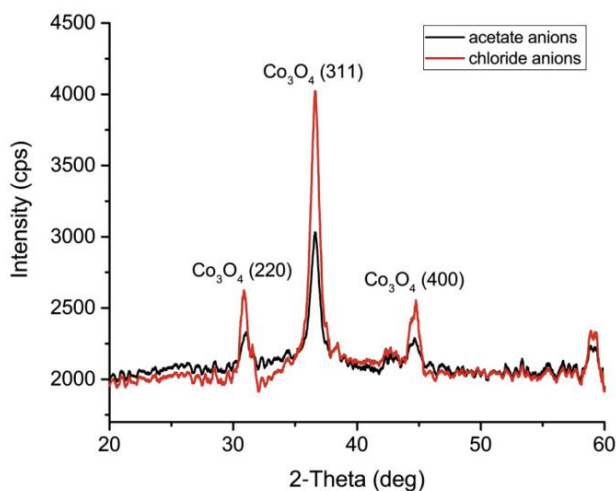


Figure 7. XRD pattern of synthesized Co_3O_4 nanostructures.

In conclusion, the synthesis and morphological characterization of Co_3O_4 nanostructures reveal the significant influence of the precursor anion on the resulting morphology. The chloride precursor yielded highly sensitive and stable nanofiber structures ideal for electrochemical sensor applications, whereas the acetate precursor produced nanostructures with reduced performance.

2.4. Synthesis and Morphological Characterization of Nickel Oxide Nanostructures

In this study, nickel oxide (NiO) nanostructures were synthesized using a hydrothermal method, offering a cost-effective and controllable approach for producing nanostructures with well-defined morphologies. The synthesis was carried out using a 0.1 M equimolar mixture of nickel nitrate hexahydrate ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) and hexamethylenetetramine ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_4$) dissolved in 75 mL of distilled water. The resulting greenish colloidal solution was transferred into a borosilicate glass container, and the iron wires were immersed. The setup was then placed in an oven preheated to 95 °C for 5 hours. During this time, a light green $\text{Ni}(\text{OH})_2$ precipitate formed due to the reaction between Ni^{2+} and OH^- ions. After hydrothermal treatment, the wires were washed several times with distilled water and subsequently annealed at 450 °C for 3 hours. This thermal treatment decomposed $\text{Ni}(\text{OH})_2$ into NiO. This multi-step process ensured the formation of a uniform and stable NiO nanostructured coating on the iron wires.

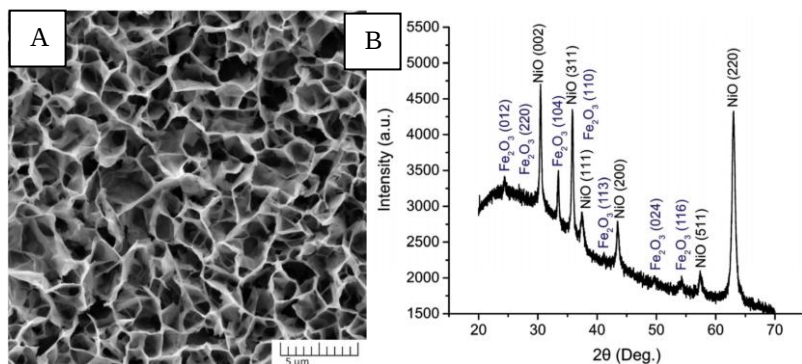


Figure 8. A) The synthesized NiO nanostructures; B) XRD spectrum of synthesized NiO coating on Fe substrate.

The morphological features of the synthesized NiO nanostructures were analyzed using Scanning Electron Microscopy (SEM). The SEM images revealed a nanostructured coating consisting of a uniform and dense layer of nanowalls, forming a porous labyrinthine structure. At higher magnifications, the surface was observed to be covered with nanowalls that extended in multiple directions, creating a complex three-dimensional architecture. Additionally, spherical flower-like formations were observed atop the

nanowall layer. The presence of these spherical agglomerates suggests the formation of second-generation nanostructures, where nucleation and growth occur within the working solution volume.

To investigate the crystal structure of the synthesized NiO nanostructures, X-ray diffraction (XRD) was employed. The resulting XRD pattern revealed the crystalline phase of NiO. However, a prominent amorphous background was also observed, likely attributed to the thinness of the nanostructures. Several well-defined peaks with relatively high intensity were identified, confirming the crystalline nature of NiO.

The XRD data provided valuable insights into the crystallinity and structural characteristics of the synthesized NiO nanostructures. The presence of NiOOH species and the formation of oxyhydroxide species (NiOOH) at relatively high applied potentials were critical for the electrocatalytic efficiency of the NiO nanostructures in hydrogen peroxide (H_2O_2) detection.

3. Cell Designs Utilized in Electrochemical Sensing Studies

In the development and testing of various electrochemical sensors for the detection of analytes such as hydrogen peroxide released due to stress in plant samples and glyphosate, several distinct electrochemical cell designs were employed. These designs were tailored to accommodate the specific requirements of the sensing application, including the type of electrode material, the nature of the analyte, and the need for reproducibility and ease of sample handling.

3.1. Custom-Built Electrochemical Cell with Nanostructured Electrodes

A custom-built electrochemical cell was utilized in multiple studies involving nanostructured electrodes for the detection of hydrogen peroxide and other analytes. The cell was constructed using a glass beaker housed within a temperature-regulated water bath and integrated with a magnetic stirrer to ensure uniform mixing and consistent temperature (typically 25 °C).

The working electrode (WE) was a nanostructure coated wire electrode, fabricated through a two-step process involving hydrothermal synthesis and

thermal decomposition, as detailed in the synthesis section. The counter electrode (CE) was made of carbon, and the reference electrode (RE) was a Ag/AgCl electrode.

To ensure consistent positioning and reproducibility across measurements, the cell featured a custom 3D-printed ABS (acrylonitrile butadiene styrene) lid with a fixed height, designed to hold the working electrode in place. A heat-shrink polymer was used to seal the wire electrode, exposing only the sensing area (typically 1–2 cm) to the analyte solution.

The lid also included a central hole for the addition of the analyte via micropipette and the integration of additional equipment, such as a thermometer or pH meter during measurements. All electrochemical measurements were conducted using the Zahner Zennium electrochemical workstation, allowing precise control over parameters such as voltage, scan rate, and measurement duration.

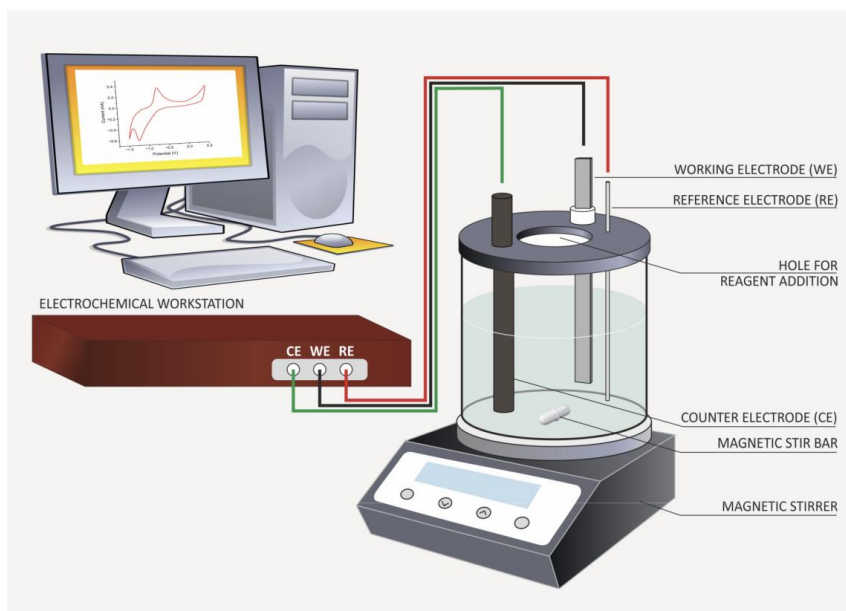


Figure 9. Schematic representation of utilized electrochemical measurement cell.

This design was particularly suitable for studying plant-based analytes such as barley and rye under stress conditions, where the electrochemical response to H_2O_2 could be monitored with high sensitivity and selectivity. Additionally, the design supported chronopotentiometric, cyclic voltammetry (CV), and chronoamperometric measurements. The cell design facilitated both calibration and interference testing, and the use of 70 mL of analyte per measurement allowed for sufficient statistical analysis.

3.2. Mass-Produced PCB Chip Electrochemical Cell

In other studies, a mass-produced PCB (printed circuit board) chip was used as the electrochemical cell, eliminating the need for a traditional beaker-based setup. The PCB chip featured eight gold-coated copper electrodes arranged in a compact configuration, fabricated using the ENIG (Electroless Nickel Immersion Gold) process on an FR-4 glass-reinforced epoxy laminate.

The PCB chip was designed to fit into a quick-change connector within the electrochemical cell, ensuring easy and consistent electrode alignment. Each electrode had an individual copper track and a $150 \times 125 \mu\text{m}$ exposed gold surface. The chip supported three-electrode configurations, with each electrode potentially serving as a working, counter, or reference electrode. The tracks were covered with a protective dielectric polymer, and the chip was designed to allow flexible electrode configurations.

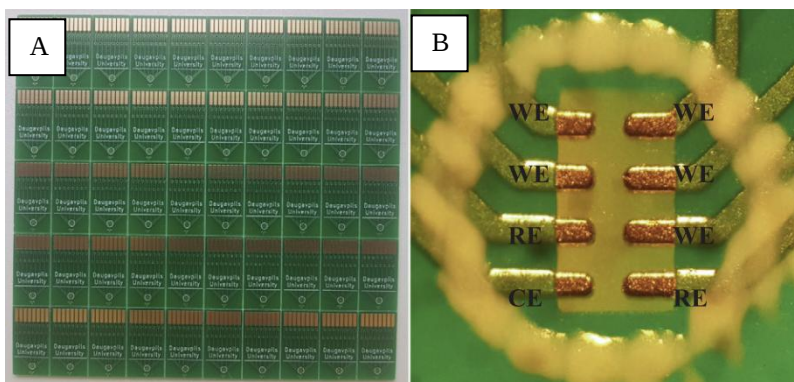


Figure 10. a) Mass-produced PCB chips with Au-coated electrodes. b) Chip electrode configuration. WE=working electrode, CE=counter electrode, and RE=reference electrode. The diameter of the white ring is 1 mm.

This setup was used for electrochemical detection in various sample matrices and allowed for the replacement of electrodes before each measurement, ensuring sample-specific calibration and cross-contamination-free operation. The integration of a temperature-regulated water bath and magnetic stirrer was also maintained, depending on the specific requirements of the measurement protocol.

3.3. Miniaturized Droplet-Based Electrochemical Cell for Surface Morphology Studies

In a study focused on the impact of surface morphology on wetting dynamics, a miniaturized droplet-based electrochemical cell was used. This design was particularly innovative for in situ electrochemical impedance spectroscopy (EIS) measurements, where nanostructure-coated Cr electrodes served as both the counter and working electrodes.

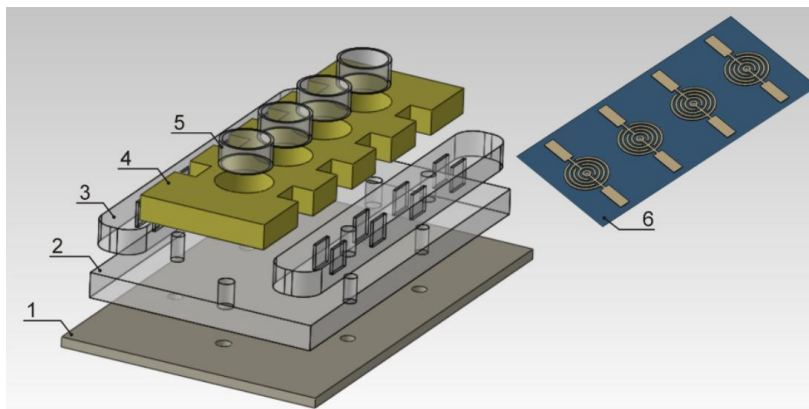


Figure 11. Structure of the electrical measurement cell (left) and electrodes (right). The measurement cell consists of the following parts: a corps (1), an interlayer (2) with push-in contacts (3), a sealing rubber mask (4) with replaceable plastic cylinders (5). Sample (6) consists of four electrodes, which allow four independent analyte measurements to be performed consistently.

A 250 μL droplet of the target liquid was placed on the cell, and phase shift dependence on frequency was measured immediately and repeated every minute for 10 minutes. The setup allowed for the investigation of dynamic

wetting behavior in response to surface structure, and an average of eight measurements was taken at different spots on the sample. This design was particularly suited for surface science and material studies, where the morphology of nanostructured surfaces directly influenced electrochemical and interfacial properties.

These diverse electrochemical cell designs reflect the adaptability and versatility required in the development and validation of electrochemical sensors for different analytes and sample types. Each design was selected based on the specific analytical goals, including selectivity, sensitivity, reproducibility, and compatibility with complex matrices such as plant extracts.

4. Glyphosate Detection Using Electrochemical Sensors

Glyphosate, the most widely used herbicide globally, has raised significant concerns due to its potential health risks, including respiratory malfunction, altered consciousness, neurotoxic effects, increased cancer risk, and even death. Despite its widespread application in agriculture, detecting glyphosate in plant samples and environmental matrices remains a challenge. Conventional detection techniques are often expensive, time-consuming, and require complex instrumentation and extensive sample preparation.

This study presents a novel approach to glyphosate detection using electrochemical sensors based on mass-produced printed circuit board (PCB) electrodes. The sensors rely on the principle of indirect glyphosate detection, exploiting its ability to form water-soluble complexes with copper ions (Cu^{2+}). This interaction reduces the electrochemical activity of Cu^{2+} , which can be monitored using differential pulse voltammetry (DPV).

4.1. Experimental Procedures

The experimental procedures for glyphosate detection were designed to assess both the performance of the electrochemical sensor and its practical applicability in real-world conditions. The study was conducted in multiple phases:

Synthetic Samples and Calibration

To evaluate the sensor's sensitivity and reproducibility, synthetic solutions of glyphosate were prepared by dissolving the herbicide in 15 mmol/L $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ solutions. A series of calibration standards were prepared, covering a concentration range of 0 to 1.5 mmol/L. These solutions were used to determine the sensor response under controlled conditions.

Plant Sample Preparation

To test the applicability of the sensor in real-world scenarios, 7-day-old rye plant seedlings were treated with a 1:10 dilution of a commercial glyphosate-based herbicide (360 g/L as isopropylamine salt) and allowed to grow for five additional days. Plant juice was extracted by crushing the plant tissue and filtering the suspension through a coarse mesh. The filtered juice was then mixed with highly concentrated $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ to achieve a final concentration of 15 mmol/L $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ in the solution. Control plant samples (untreated with glyphosate) were processed in parallel for comparison.

For electrochemical measurements, 10 μL of solution (either synthetic or plant juice supernatant) was placed on the working area of the chip. In the case of plant juice samples, a 30-minute incubation period was allowed before centrifugation to remove solid residues. 10 μL of the resulting supernatant was then applied for SWV analysis.

4.2. Data Analysis and Automation Potential

The voltammetric data collected from the workstation was used to generate square wave voltammetry (SWV) curves, allowing the quantification of the sensor response to varying glyphosate concentrations. The main peak amplitude, typically observed between 50–300 mV, corresponded to the reduction of Cu^{2+} ions and showed a linear decrease in amplitude with increasing glyphosate concentrations up to 1.5 mmol/L, after which the sensor became saturated.

The SWV peak amplitude was normalized to the maximum current observed in the control (0 mmol/L glyphosate) solution. This normalization enabled clear differentiation between glyphosate-contaminated and uncontaminated

samples, with glyphosate-treated plant juice showing 10% decrease in main peak amplitude when compared to control samples.

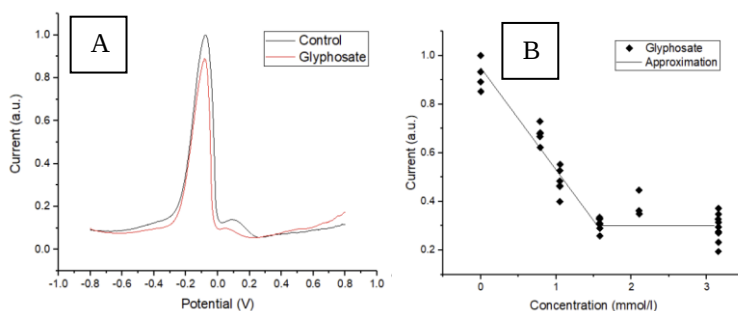


Figure 12. A) Averaged SWV curve for rye samples. B) The main-peak maximum from SWV versus glyphosate concentration.

To further validate the presence of glyphosate in treated plants and its potential genotoxic effects, genomic DNA was extracted from 60 plant samples: 30 from glyphosate-treated rye seedlings and 30 from control samples. The results showed significant differences in the DNA banding patterns between the control and glyphosate-treated groups. These changes are indicative of genotoxic alterations, including point mutations, deletions, and strand breaks. The RAPD findings corroborate the electrochemical, reinforcing the validity of the sensor in identifying glyphosate-contaminated plant material.

5. Electrochemical Sensors for Hydrogen Peroxide Detection Using Metal Oxides

Hydrogen peroxide (H_2O_2) is a vital molecule in biological, environmental, and industrial systems, often serving as an indicator of oxidative stress, a marker for disease detection, and a reagent for various applications. This chapter explores the electrochemical detection of H_2O_2 using various metal oxides, including cobalt oxide (Co_3O_4), copper oxide (CuO), and zinc oxide (ZnO). The approach adopted involves a systematic experimental workflow: first, cyclic voltammetry (CV) is used to identify characteristic redox peaks that are indicative of the electrochemical activity of the sensor; second, amperometric measurements quantify the sensitivity of the sensor to H_2O_2 ;

and third, interference analysis assesses the selectivity of the sensor in the presence of common interferents.

5.1. Cyclic Voltammetry for Electrochemical Hydrogen Peroxide Detection

Cyclic voltammetry is the first step in evaluating the electrochemical behavior of the metal oxide-modified electrodes. This technique helps identify the characteristic oxidation and reduction peaks that arise from the interaction of H_2O_2 with the metal oxide surface. By varying the scan rates and concentrations of H_2O_2 , the redox properties of the sensor can be comprehensively understood, which is crucial for subsequent amperometric and interference studies.

Cobalt Oxide (Co_3O_4) Electrodes

The Co_3O_4 electrodes, prepared via hydrothermal synthesis, demonstrated excellent electrochemical activity toward H_2O_2 . The CV measurements were conducted in a 0.1 M NaOH solution containing H_2O_2 concentrations ranging from 0.2 mM to 2 mM. The CV results revealed two distinct pairs of redox peaks: anodic peaks at approximately -0.8 V (peak I) and -0.15 V (peak II), and cathodic peaks at around -1.23 V (peak III) and 0.35 V (peak IV).

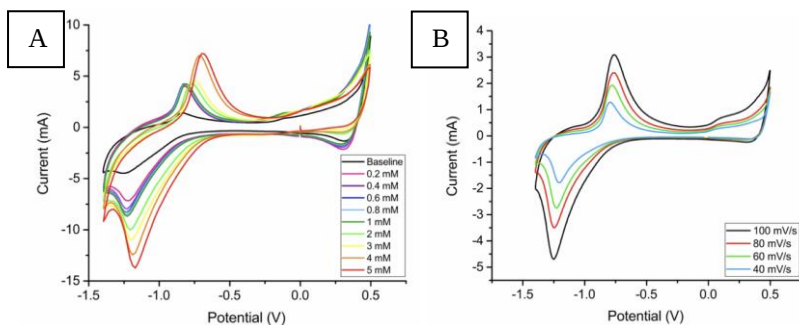


Figure 13. CV voltammograms of a nanostructured Co_3O_4 film derived from chloride anions. A) The dependence of voltammogram on H_2O_2 concentration (scan rate = 100 mV/s), b) The dependence of voltammogram on scan rate. Measurements were performed in 0.1 M NaOH buffer solution (pH = 13).

Upon the addition of H_2O_2 , the shape of the CV curve significantly changed. Notably, the oxidation peak (I) and reduction peak (III) exhibited a marked increase in peak current. The peak (III) current value showed a linear relationship with the concentration of H_2O_2 added. Additionally, peak (I) demonstrated a less pronounced increase, and its position along the x-axis shifted with increasing H_2O_2 concentration, reaching -0.7 V at higher concentrations. Peaks (II) and (IV) showed minimal changes over the entire concentration range.

Copper Oxide (CuO) Electrodes

The CuO electrodes, synthesized via a one-step chemical hydrothermal oxidation method, exhibited remarkable electrochemical activity toward hydrogen peroxide (H_2O_2). The cyclic voltammetry (CV) measurements were carried out in a 0.1 M NaOH solution, with H_2O_2 concentrations ranging from 0.1 mM to 5 mM . The CV curves revealed two distinct pairs of redox peaks: anodic peaks at approximately -0.2 V (peak I) and 0.1 V (peak II), and cathodic peaks at around -0.7 V (peak III) and -0.8 V (peak IV).

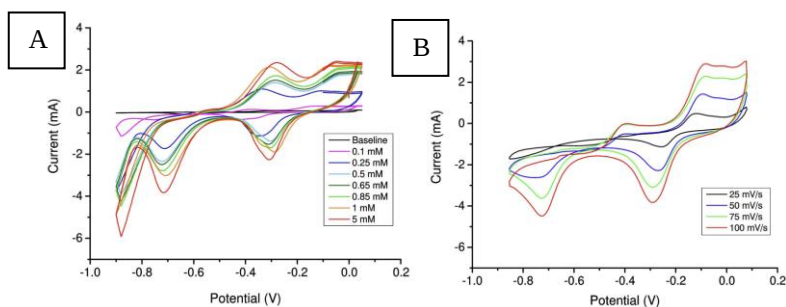


Figure 14. CV voltammograms of a nanostructured CuO film. A) The dependence of voltammogram on H_2O_2 concentration, b) The dependence of voltammogram on scan rate. Measurements were performed in 0.1 M NaOH buffer solution.

In the absence of H_2O_2 , these redox peaks were primarily attributed to the reversible redox transitions involving copper species, such as Cu^0/Cu^+ and $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$. Upon the introduction of H_2O_2 into the solution, the shape and magnitude of the CV peaks underwent significant changes. Notably, the oxidation peak (peak I) and the reduction peak (peak III) showed a marked increase in peak current as the concentration of H_2O_2 increased. The current at peak III demonstrated a linear correlation with the H_2O_2 concentration over the studied range, indicating a strong electrochemical response to the analyte.

The CV results highlight the high electrochemical activity of CuO electrodes toward H_2O_2 , as evidenced by the significant increase in peak current values and the linear dependence of current on H_2O_2 concentration.

Nickel Oxide (NiO) Electrodes

The NiO electrodes, fabricated via hydrothermal synthesis of wall-shaped nanostructures on iron wire substrates, exhibited robust electrochemical activity toward hydrogen peroxide (H_2O_2). Cyclic voltammetry (CV) measurements were performed in a 0.1 M NaOH solution, with H_2O_2 concentrations varying between 100 μM and 2 mM. The CV curves revealed two well-defined redox peaks: an anodic peak at approximately -0.4 V (peak I) and a cathodic peak at around -1.4 V (peak II).

In the absence of H_2O_2 , the CV responses were primarily governed by these Ni-based redox processes. However, upon the introduction of H_2O_2 into the solution, a significant electrochemical response was observed, particularly at the cathodic peak (-1.4 V), which demonstrated a linear dependence on H_2O_2 concentration. This peak, corresponding to the reduction of NiOOH to $\text{Ni}(\text{OH})_2$ in the presence of H_2O_2 , became the dominant feature in the catalytic oxidation process. The anodic peak at -0.4 V also showed a noticeable increase in current, although it remained less responsive to H_2O_2 compared to the cathodic peak.

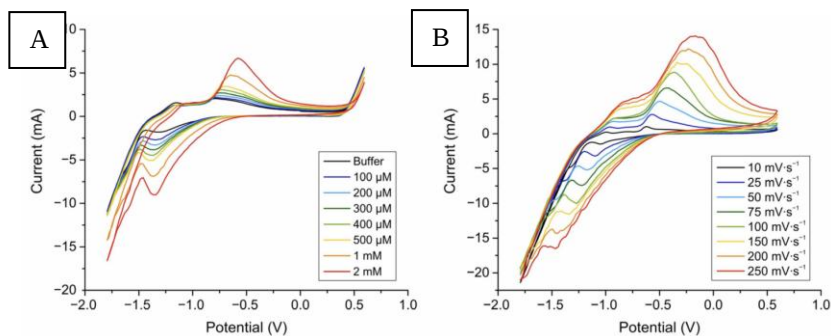


Figure 15. A) CV graph of a nanostructured NiO nanowall-based electrode obtained in a 0.1 M NaOH supporting electrolyte and in solutions containing H_2O_2 in a concentration range of 100 μM to 2 mM. B) Dependence of the electrochemical response of the NiO electrode on the scanning speed. Scanning was performed in a 0.1 M NaOH solution containing 2 mM H_2O_2 .

The CV results underscore the excellent electrochemical response of NiO electrodes to H_2O_2 . The cathodic peak current at -1.4 V showed a strong linear correlation with the concentration of H_2O_2 across the tested range, demonstrating the sensor's sensitivity and reliability.

The sensor also demonstrated excellent long-term stability, retaining over 95% of its initial performance after 30 days of storage. In summary, the NiO electrodes, with their wall-shaped nanostructures, offer a promising platform for the electrochemical detection of H_2O_2 . Their high sensitivity, broad linear range, low detection limit, and excellent stability make them ideal candidates for real-time monitoring of oxidative stress in biological systems, particularly in plant physiology and environmental sensing applications.

5.2. Sensitivity Analysis of Metal Oxide Electrodes for H_2O_2 Detection

After characterizing the electrochemical behavior of the metal oxide electrodes using cyclic voltammetry, amperometry was employed as the primary method to assess the sensitivity, linearity, and limit of detection (LOD) of each electrode toward hydrogen peroxide (H_2O_2). Amperometry is a well-suited technique for this study due to its ability to provide real-time, quantitative current measurements in response to the analyte concentration under constant potential conditions. It is particularly advantageous for sensor development as it allows for the direct measurement of the electrochemical signal (current) produced by the oxidation or reduction reaction at the working electrode, without the influence of scan rate or waveform.

Copper Oxide (CuO) Electrode

Amperometric measurements for the petal-like CuO electrode were carried out in 0.1 M NaOH at -0.2 V (vs. Ag/AgCl). The current response increased linearly with the concentration of H_2O_2 across a wide range (from 20 μM to 1300 μM).

- **Calibration Curve:** The calibration curve showed an excellent linear relationship between the current and H_2O_2 concentration, with a regression coefficient (R^2) of 0.9997.
- **Sensitivity:** The sensitivity of the CuO electrode was measured as 505.11 $\mu\text{A}/\text{mM}$ (or 0.5051 A/mM), which is among the highest reported values for H_2O_2 detection using CuO-based sensors.

- Limit of Detection (LOD): The LOD was calculated as $1.05\ \mu\text{M}$, indicating the electrode's ability to detect very low concentrations of H_2O_2 .

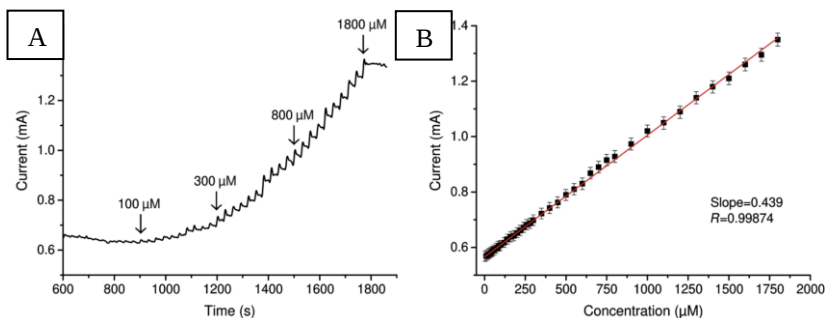


Figure 16. A) Amperometric response of the nanostructured CuO electrode in 0.1 M NaOH with stepwise addition of H_2O_2 .
B) The corresponding calibration curve.

In addition to these performance parameters, the CuO electrode demonstrated high selectivity toward H_2O_2 in the presence of common interferences such as ascorbic acid, uric acid, dopamine, and NaCl. The signal from these substances did not significantly alter the baseline current or interfere with the H_2O_2 detection signal.

Cobalt Oxide (Co_3O_4) Electrode

The Co_3O_4 electrode, fabricated by hydrothermal synthesis, was tested at a fixed potential of $-1.23\ \text{V}$ (vs. Ag/AgCl), chosen based on the CV results to optimize sensitivity toward H_2O_2 . Amperometric experiments showed a steady and measurable increase in current with increasing H_2O_2 concentration.

- Calibration Curve: The calibration curve showed a linear correlation between the current and H_2O_2 concentration in the range from 0.2 mM to 2 mM, with $R^2 = 0.9976$.
- Sensitivity: The sensitivity of the Co_3O_4 electrode was determined to be $22\ \mu\text{A}/\text{mM}$, which is lower than that of the CuO electrode but still suitable for practical applications, particularly in healthcare and environmental monitoring.
- Limit of Detection (LOD): The LOD for the Co_3O_4 electrode was $7.14\ \mu\text{M}$, which is comparable to that of CuO in certain conditions,

and well within the biologically relevant range of H_2O_2 in body fluids.

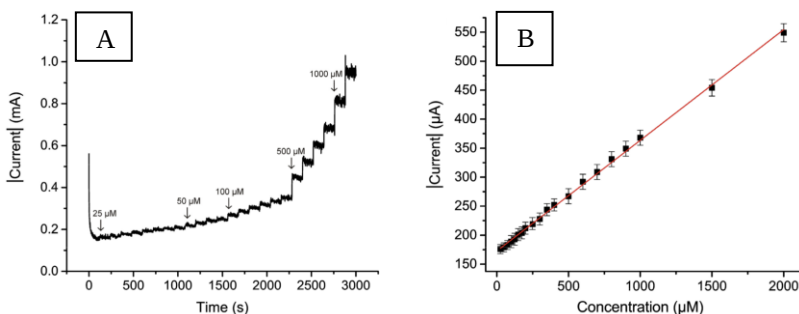


Figure 17. A) Chronoamperograms obtained in a 0.1 M NaOH supporting electrolyte for Co_3O_4 nanostructured electrode for -1.2 V peak potential obtained by gradually adding H_2O_2 . B) Calibration curve for concentration-current dependence.

Notably, the Co_3O_4 electrode exhibited a good response in real samples such as milk and contact lens storage solution, with a recovery rate exceeding 95%. This confirms the suitability of the electrode for quantitative analysis in complex matrices. The selectivity was also evaluated, showing minimal interference from common biological and chemical species.

Nickel Oxide (NiO) Electrode

Amperometric measurements for the wall-shaped NiO nanostructure electrode were conducted in a 0.1 M NaOH solution at a working potential of -1.4 V (vs. Ag/AgCl). This potential was chosen to optimize the sensitivity of the NiO-based electrode toward hydrogen peroxide while minimizing interference from other electroactive species. The electrode exhibited a clear and reproducible current response to the addition of H_2O_2 , with a strong dependence of the current on the H_2O_2 concentration.

The electrochemical behavior of the NiO electrode was characterized over a broad range of H_2O_2 concentrations, from 25 μM to 4 mM. A stable and linear current response was observed, indicating the electrode's suitability for quantitative H_2O_2 detection in complex matrices such as plant extracts.

The calibration curve for the NiO electrode was obtained by measuring the current response at -1.4 V with incremental additions of H_2O_2 . The resulting data showed a highly linear relationship between the current and the H_2O_2

concentration, with a correlation coefficient (R^2) of 1.00 (as implied by the stepwise increase in current in response to H_2O_2). This linear relationship was consistent across the entire range of H_2O_2 concentrations tested, highlighting the electrode's reliability and accuracy.

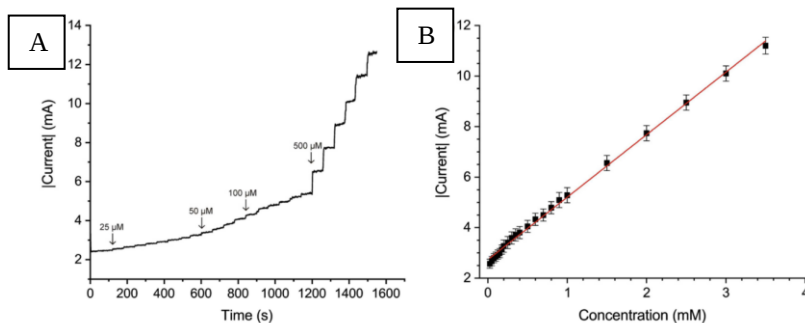


Figure 18. A) The chronoamperogram captured in a 0.1 M NaOH supporting electrolyte for the NiO nanostructured electrode at a peak potential of -1.4 V, obtained with gradual addition of H_2O_2 . B) A calibration curve illustrating the concentration–current relationship.

The sensitivity of the NiO electrode was calculated as $2474 \mu A \cdot mM^{-1}$ (or $15.46 mA \cdot mM^{-1} \cdot cm^{-2}$) based on the slope of the calibration curve. This value is exceptionally high when compared to previously reported NiO-based electrochemical sensors, indicating the superior detection capability of the wall-shaped NiO nanostructure configuration. The limit of detection (LOD) for the NiO electrode was determined using the 3:1 signal-to-noise (S/N) ratio criterion. Based on the noise observed in the baseline current measurements, the LOD was calculated to be 1.59 μM .

The NiO electrode exhibited excellent selectivity toward H_2O_2 in the presence of common interferents typically found in plant extracts, such as ascorbic acid, glucose, citric acid, and sodium chloride. No significant changes in the baseline current or in the response to H_2O_2 were observed when these substances were introduced to the working solution. The electrode's resistance to interference was likely due to the catalytic specificity of the NiO surface, which preferentially oxidized H_2O_2 while remaining largely unaffected by the redox properties of the interfering species.

The stability of the NiO electrode over time was assessed by performing repeated measurements of the current response at -1.4 V in a 0.1 M NaOH

solution containing 2 mM H_2O_2 . The peak current value decreased by less than 4% over a 30-day period, indicating that the electrode retained its functionality and sensitivity with minimal degradation. Additionally, the electrode demonstrated stable performance even after multiple reuse cycles, with only a 7% reduction in sensitivity after the tenth measurement.

6. Plant Stress Detection Using H_2O_2 Electrochemical Sensors

Hydrogen peroxide (H_2O_2) is a central reactive oxygen species (ROS) that functions both as a signaling molecule and an indicator of oxidative stress in plants under abiotic and biotic stress conditions. Elevated levels of H_2O_2 reflect disruptions in cellular redox homeostasis induced by salinity, herbicides, or other environmental stressors. Electrochemical detection of H_2O_2 provides a robust approach for real-time monitoring of plant stress responses. This study employed non-enzymatic electrochemical sensors fabricated using nanostructured metal oxides— Co_3O_4 , CuO , and NiO . These sensors exploit the intrinsic electrocatalytic activity of transition metal oxides toward H_2O_2 oxidation, further amplified by nanostructuring. The morphological engineering of the sensing layer, particularly into petal-like, nanowall, and fiber-like architectures, resulted in significantly enhanced electroactive surface areas, promoting higher sensitivity and selectivity.

Each sensor type was tailored to specific applications:

- Co_3O_4 nanopetals were optimized for barley extracts and demonstrated excellent catalytic response in complex matrices.
- NiO nanowalls enabled effective H_2O_2 sensing in rye under salt stress, offering a high surface area and low detection limit (LOD = $1.59\ \mu\text{M}$, sensitivity = $2474\ \mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1}$).
- CuO nanostructures, used in a multisensor configuration with Co_3O_4 , provided complementary selectivity, enhancing overall signal fidelity in rye extracts subjected to salt and herbicide stress.

6.1. Experimental Procedures

Electrochemical measurements were conducted in three-electrode cells with Ag/AgCl as the reference and carbon as the counter electrode. The working electrodes were nanostructured Co_3O_4 , CuO , or NiO on metal wires (iron or copper substrates), synthesized by hydrothermal and chemical oxidation methods.

Plant Material and Treatments:

- Species: Barley (*Hordeum vulgare* L.) and Rye (*Secale cereale* L.).
- Stress Induction: Plants were exposed to 0.2 M NaCl to simulate salinity stress. Additional groups received Fe_3O_4 or ZnO nanoparticles to mitigate induced stress tolerance.
- Duration: Total cultivation lasted 4 weeks, with stress/nanoparticle treatments applied during the final 3 weeks.

Sample Preparation:

- Green plant tissues (typically 10 g per 250 mL) were extracted in 0.1 M NaOH and stored under cold, dark conditions to stabilize H_2O_2 .
- For optical measurements, chlorophyll was extracted in ethanol for stress validation via photosynthetic pigment loss.

Electrochemical Calibration and Interference Tests:

- Sensors were calibrated using H_2O_2 standards from 25 μM to 7 mM.
- Interference resistance was evaluated against NaCl, glucose, citric acid, and ascorbic acid. Petal-like Co_3O_4 structures exhibited the best resilience to interferences from plant matrix components

Data were acquired using CV, SWV, and amperometry. CV scans typically ranged from -1.3 V to $+0.5$ V (vs. Ag/AgCl), with scan rates of $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. Amperometric detection was carried out at a fixed potential (e.g., -1.2 V) corresponding to the H_2O_2 oxidation peak.

6.2. Plant stress detection using nanostructured electrochemical sensors

In this studies, plant samples subjected to NaCl- and glyphosate-induced stress exhibited significantly elevated H_2O_2 concentrations compared to the

control group, with increases of up to 163.02 μM and 223.03 μM , respectively. These findings were further supported by optical absorption measurements, which revealed a substantial decrease in chlorophyll content—up to 35% in the most severely stressed samples (Table 1).

Previously developed non-enzymatic electrochemical sensors using nanostructured CuO and Co₃O₄ electrodes were utilized for plant stress detection. These materials were chosen based on their high catalytic activity, stability, and compatibility with electrochemical detection methods.

The relationship between H₂O₂ levels and plant physiological functions was further validated by comparing the results of electrochemical H₂O₂ detection with optical chlorophyll measurements. A clear inverse correlation was observed: as H₂O₂ concentrations increased, chlorophyll levels decreased, particularly in samples exposed to NaCl and glyphosate. The control samples, which showed minimal H₂O₂ accumulation, exhibited the highest chlorophyll content and longest shoot lengths. In contrast, stressed samples showed reduced chlorophyll levels and stunted growth, indicating impaired photosynthetic activity and overall plant vigor.

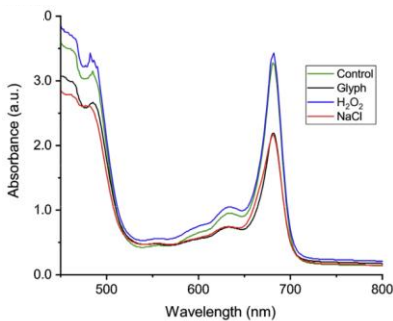


Figure 19. Light absorbance spectrum for rye samples.

Stress Factor	As Prepared Samples	
	Chl(a), (mg/g)	Chl(b), (mg/g)
H ₂ O ₂	47.80	19.27
Control	45.88	17.82
Glyphosate	31.39	14.40
NaCl	30.10	19.21

Table 1. The decrease in chlorophyll contents for various stress inducers in rye. The stress inducers were applied during irrigation.

Hydrogen peroxide (H₂O₂) has been unequivocally established as a reliable biomarker of plant stress, with its concentration directly linked to the severity of stressors such as salt and herbicides. The development of non-enzymatic electrochemical sensors based on nanostructured CuO and Co₃O₄ electrodes

has provided a robust and sensitive method for detecting H_2O_2 in plant tissues. These sensors demonstrated excellent performance in terms of sensitivity, selectivity, and stability, even in the complex matrix of rye juice. The correlation between elevated H_2O_2 levels and reduced chlorophyll content further validates the use of H_2O_2 as an indicator of oxidative stress in plants.

6.3. Utilization of Nanoparticles for Stress Mitigation and Sensor Application Field Expansion

The integration of nanoparticles into agricultural practices has opened new avenues for stress mitigation, with these nanomaterials playing a pivotal role in alleviating oxidative stress in plants. In this context, the sensors developed in this study, based on NiO, CuO and Co_3O_4 nanostructures, demonstrate significant potential as monitoring tools to detect varying stress levels before, during, and after nanoparticle application. By quantifying hydrogen peroxide (H_2O_2) in plant tissues, the sensors can effectively assess the efficacy of nanoparticles in reducing oxidative damage. For instance, the addition of ZnO or Fe_3O_4 nanoparticles to irrigation water has been shown to significantly reduce H_2O_2 concentrations in rye under salt stress, as demonstrated in earlier studies. These nanoparticles not only help in scavenging reactive oxygen species (ROS) but also enhance the plant's natural antioxidant systems.

The versatility of the NiO, CuO and Co_3O_4 -based sensors extends further into agriculture: they can be employed in a feedback-driven system to monitor the physiological response to fertilizers and chemical interventions. For example, by continuously measuring H_2O_2 levels in treated plants, farmers and researchers can adjust fertilizer dosages and application methods based on real-time data.

Plant Species	Type of Stress	Stress Mitigator	H ₂ O ₂ Concentration (μM)
Rye (<i>Secale cereale</i> L.)	Salt stress (NaCl)	— (Control, no mitigation)	500
		ZnO nanoparticles (50 mg·L ⁻¹)	190
		ZnO nanoparticles (100 mg·L ⁻¹)	130
Barley (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	Salt stress (NaCl)	— (Control, no mitigation)	500
		Fe ₃ O ₄ nanoparticles (72 mg·L ⁻¹)	150

Table 2. Comparison of detected H₂O₂ levels in plants with and without stress mitigation via nanoparticle irrigation.

6.4. Chapter Summary

After presenting the detailed electrochemical performance of each metal oxide electrode—namely CuO, Co₃O₄, and NiO—in detecting hydrogen peroxide, it is important to summarize and compare their key analytical parameters in order to assess their relative merits and suitability for different applications. Each electrode demonstrated distinct characteristics in terms of sensitivity, linear range, limit of detection, selectivity, and long-term stability. To facilitate a direct and structured comparison, a summary table is provided below, which consolidates the most relevant performance metrics for each material. This comparative overview highlights the strengths of each system and aids in determining the optimal electrode for specific sensing environments, such as biomedical, environmental, or plant physiological monitoring.

Parameter	Copper Oxide (CuO)	Cobalt Oxide (Co ₃ O ₄)	Nickel Oxide (NiO)
Electrolyte	0.1 M NaOH	0.1 M NaOH	0.1 M NaOH
Applied Potential	-0.2 V (vs. Ag/AgCl)	-1.23 V (vs. Ag/AgCl)	-1.4 V (vs. Ag/AgCl)
Linear Detection Range	20 μ M to 1300 μ M	0.2 mM to 2 mM	25 μ M to 4 mM
Correlation Coefficient (R ²)	0.9997	0.9976	1.00
Sensitivity	505.11 μ A/mM (0.5051 A/mM)	22 μ A/mM	2474 μ A/mM (15.46 mA/mM·cm ²)
Limit of Detection (LOD)	1.05 μ M (3 σ /sensitivity)	7.14 μ M	1.59 μ M
Selectivity	High; no significant interference from ascorbic acid, uric acid, dopamine, NaCl	Good; minimal interference from NaCl, KNO ₃ , glucose, citric acid, ascorbic acid	Excellent; no interference from ascorbic acid, glucose, citric acid, NaCl
Application Suitability	High for low-concentration H ₂ O ₂ detection (biological, environmental)	Suitable for healthcare and environmental monitoring	Excellent for plant stress biomarker detection (e.g., salt stress)

Table 3. Comparative Performance of CuO, Co₃O₄, and NiO Electrodes for H₂O₂ Detection

Conclusions

6. Laser-assisted and hydrothermal synthesis techniques enable the controlled fabrication of highly uniform and patterned ZnO nanoneedles, significantly enhancing their structural fidelity and suitability for application-specific design in electrochemical systems.

- a. The synthesis of ZnO nanoneedles was successfully controlled through both hydrothermal and laser-assisted methods. ZnO nanoneedles synthesized using hydrothermal techniques on preheated substrates yielded highly uniform structures. The laser-assisted method, using a 532 nm laser at 15.5 MW/m² with a scan speed of 55 mm/min, enabled selective and precise patterning of ZnO nanostructures with minimal parasitic growth.

7. The morphology of metal oxide nanostructures—such as CuO nanopetals, Co₃O₄ nanofibers, and NiO nanowalls—can be systematically tuned via synthesis parameters to optimize electrochemical activity, surface area, and stability, offering tailored sensor performance for diverse applications.

- a. The synthesis of CuO nanostructures via hydrothermal oxidation yielded nanopetals with a flower-like morphology that exhibited superior electrochemical activity. The optimal synthesis duration for CuO was 3 hours at 90°C in a solution composed of 10 mL of 10 M NaOH, 5 mL of 1 M (NH₄)₂S₂O₈, and 26 mL of distilled water.
- b. Co₃O₄ chloride-assisted synthesis led to the formation of long, uniform nanofibers assembled into honeycomb-like structures, which demonstrated high adhesion, large surface area, and excellent electrochemical response. The optimal synthesis duration for Co₃O₄ was 5 hours at 95°C in equimolar aqueous solution of 0.1 M CoCl₂·6H₂O and 0.1 M hexamethylenetetramine (CH₄N₂O).
- c. For NiO, hydrothermal synthesis on iron wires produced wall-shaped nanowalls with a complex three-dimensional architecture and spherical flower-like formations. The optimal synthesis duration for NiO was 5 hours at 95°C 0.1 M equimolar mixture of nickel nitrate hexahydrate (Ni(NO₃)₂·6H₂O) and hexamethylenetetramine (C₆H₁₂N₄).

8. The development of electrochemical platform designs enabled targeted detection of analyte in diverse applications:

- a. Custom-Built Electrochemical Cell with Nanostructured Electrodes demonstrated high suitability for plant extract analysis for stress monitoring.
- b. Mass-Produced PCB Chip Electrochemical Cell demonstrated the capability of analyzing small volume samples (down to 10 μL) for herbicide application monitoring.
- c. Miniaturized Droplet-Based Electrochemical Cell capabilities to perform wettability dynamics studies for various nanostructure morphologies.

9. Nanostructured NiO , Co_3O_4 , and CuO electrodes exhibit exceptional sensitivity and selectivity for hydrogen peroxide detection in plant extracts, enabling the real-time monitoring of oxidative stress under abiotic and herbicide-induced conditions.

- a. Electrochemical sensors based on nanostructured NiO , Co_3O_4 , and CuO were tested for H_2O_2 detection in rye and barley.
 - i. The NiO -based sensor demonstrated detection limit (LOD) of $1.59 \mu\text{M}$ and a sensitivity of $2474 \mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1}$.
 - ii. Co_3O_4 electrodes demonstrated LOD of $7.14 \mu\text{M}$ and sensitivity of $22 \mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1}$.
 - iii. CuO sensors exhibited LOD of $1.05 \mu\text{M}$ and sensitivity of $505 \mu\text{A} \cdot \text{mM}^{-1}$.
 - iv. These sensors were successfully tested against common plant interferents.

10. The developed electrochemical sensors, validated through complementary optical and molecular methods, demonstrate high correlation with physiological stress indicators, establishing H_2O_2 as a reliable biomarker for plant stress assessment.

- a. The electrochemical detection of H_2O_2 was validated using optical measurements (chlorophyll content) and molecular analyses (RAPD). During this study, it was established that for stressed rye samples:
 - i. The chlorophyll content were reduced by up to 35% when compared to control;
 - ii. The created sensors detected H_2O_2 levels up to $223.03 \mu\text{M}$ with stressed rye samples;
 - iii. The control samples had H_2O_2 levels less than LOD.

- b. Additionally, glyphosate-stressed plant samples exhibited significant genotoxic effects as evidenced by RAPD analysis, indicating DNA-level changes. The integration of electrochemical data with optical and molecular validation methods strengthens the credibility of H_2O_2 as a key physiological marker and supports the use of developed sensors in agricultural monitoring systems.