UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie
Studijní obor: Analytická chemie

Bc. Vojtěch Hrdlička

ELEKTROCHEMICKÉ STUDIUM ANALYTICKÉHO VYUŽITÍ SAMOUSPOŘÁDANÝCH MONOVRSTEV KALIX[4]ARENU NA POVRCHU POLYKRYSTALICKÉ ZLATÉ ELEKTRODY

Electrochemical Studies of the Analytical Utilization of Self-Assembled Monolayers of Calix[4]arene on the Surface of a Polycrystalline Gold Electrode

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: Doc. Dr. Ing. Tomáš Navrátil
Konzultant práce: Prof. RNDr. Jiří Barek, CSc.
Praha 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

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

V Praze dne 11. května 2015 ……..……

Bc. Vojtěch Hrdlička

Poděkování

Poděkování patří doc. Dr. Ing. Tomáši Navrátilovi, RNDr. Ivaně Šestákové, CSc. a prof. RNDr. Jiří Barkovi, CSc. za cenné připomínky k mé práci.

Tato práce byla finančně podporována Grantovou agenturou České republiky (projektem 13-21704S a projektem P206/12/G151).

Abstrakt

Tato diplomová práce se zabývá elektrochemickým studiem analytického využití samouspořádaných monovrstev thiolovaného kalix[4]arenu (C[4]A) a/nebo undekanthiolu ($C_{11}SH$) na povrchu polykrystalické zlaté elektrody. Pro tyto účely byly testovány modelové látky hydrochinon, nitrobenzen, 2-nitrofenol a 4-nitrofenol.

Skutečná plocha elektrody byla učena pomocí dvou metod: z náboje píku odpovídajícího desorpci α-oxidů (5,72±0,48 mm^2) a pomocí Randlesovy-Ševčíkovy rovnice (6,14±0,59 mm^2). Příprava elektrody leštěním, máčením v peroxosírové směsi a cyklickou voltametrií zajistila dobře reprodukovatelný povrch.

Byla testována stabilita vrstev v oblasti negativních potenciálů. Vrstva $C_{11}SH$ je velmi stabilní, desorpční pík byl zaznamenán pouze v alkalickém prostředí (při −1,3 V vs. 3M Ag/AgCl). Poloha desorpčního píku C[4]A je více závislá na pH; v bazickém prostředí se nachází při −1,08 V při pH 13.

Vlastnosti elektrody pokryté různými modifikátory byly studovány na modelové látce hydrochinonu. Z naměřených dat se předpokládá, že elektrochemický děj neprobíhá uvnitř kavity kalixarenu. Molekuly o velikosti hydrochinonu nemohou projít kavitou k elektrodě.

Vrstva $C_{11}SH$ a C4A+$C_{11}SH$ izoluje elektrodu, a proto na takto modifikované elektrodě nebyl zaznamenán signál nitrolátek ani hydrochinonu, tj. látek, které nemohou vstoupit do kavity C4A.

Při modifikaci elektrody pomocí C4A byl zaznamenán posun půlvlnových potenciálů redukčních píků nitrobenzenu a 4-nitrofenolu.

Klíčová slova

Kalix[4]aren
Thiolátky
Zlaté elektrody
Elektrochemie
Samouspořádaná monovrstva
Voltametrie

Abstract

This MSc. Thesis deals with electrochemical studies of the analytical utilization of self-assembled monolayers of thiolated calix[4]arene (C4A) and/or undecanthiole ($C_{11}SH$) on the surface of a polycrystalline gold electrode. Hydroquinone, nitrobenzene, 2-nitrophenole and 4-nitrophenole have been used as tested model compounds.

The real surface area of the electrode was determined using these two methods: From the charge of desorption peak of α-gold oxides (5.72±0.48 mm^2) and using the Randles-Ševčík equation. (6.14±0.59 mm^2). The preparation of the electrode consisted of polishing on alumina, immersing into piranha solution and cyclic voltammetry. The area of electrode surface was well reproducible.

Stability of thiol monolayer in the area of negative potentials was tested. The $C_{11}SH$ layer is very stable; the desorption peak was recorded in basic solutions only (at −1.3 V vs. 3M Ag/AgCl). The position of the desorption peak of C4A is more pH dependent and it was recorded at −1.08 V at pH 13.

The properties of the electrode modified by $C_{11}SH$ and or C4A were investigated using the model compound hydroquinone. It is assumed that the oxidation of the hydroquinone does not take place inside the C4A cavity; hence the hydroquinone molecule is too big to pass through the cavity.

$C_{11}SH$ and C4 + $C_{11}SH$ act as insulators, no significant response of nitrocompounds or hydroquinone, i,e., compounds which cannot be captured in the C4A cavity, was recorded.

By the modification of the electrode by C4A, the potential shifts of the reduction peaks of nitrobenzene and 4-nitrophenole were recorded.

Key words

Calix[4]arene
Thio-compounds
Gold electrodes
Electrochemistry
Self-assembled monolayer
Voltammetry

Seznam použitých zkratek a symbolů

2-NPh	2-nitrofenol
4-NPh	4-nitrofenol
BR	Brittonův - Robinsonův pufr
c	Molární koncentrace (mol/L)
C[4]A	Thiolovaný kalix[4]aren
$C_{11}SH$	1-undekanthiol
CV	Cyklická voltametrie
DMF	Dimethylformamid
DPV	Diferenční pulzní voltametrie
E	Potenciál
E_p	Potenciál píku
I	Proud
I_p	Proud píku
NB	Nitrobenzen
NF	2-nitrofluoren
NN	1-nitronaftalen
SAM	Samouspořádaná monovrstva
SCE	Nasycená kalomelová referentní elektroda
SWV	Square wave voltammetry
v	Rychlost polarizace

Obsah

Abstrakt **4**

Klíčová slova **4**

The Abstract **5**

Key words **5**

Seznam použitých zkratek a symbolů **6**

1. Úvod **8**

1.1 Cíle práce 8

1.2 Zlaté elektrody 9

1.3 Kalixareny 13

1.4 Samouspořádané monovrstvy thiolů 15

1.5 Thiolované kalixareny v elektroanalýze 18

1.6 Použité modifikátory elektrody 19

1.7 Modelové látky 20

2. Experimentální část **24**

2.1 Reagencie 24

2.2 Aparatura 24

2.3 Pracovní postupy 24

3. Výsledky a diskuze **26**

3.1 Příprava elektrody a charakterizace jejího povrchu 26

3.2 Stabilita SAM undekanthiolu 29

3.3 Stabilita SAM thiolovaného kalix[4]arenu 31

3.4 Využití SAM pro oxidace 34

3.5 Využití SAM pro redukce 35

4. Závěr **37**

5. Použitá literatura **38**

1. Úvod

Rtuť je v současnosti zřejmě stále nejlepším elektrodovým materiálem pro redukční elektrochemické procesy. Rtuťové elektrody vynikají širokým potenciálovým oknem v oblasti negativních potenciálů, snadnou obnovou elektrodového povrchu a nepřeberným množstvím dostupných informací v literatuře [1].

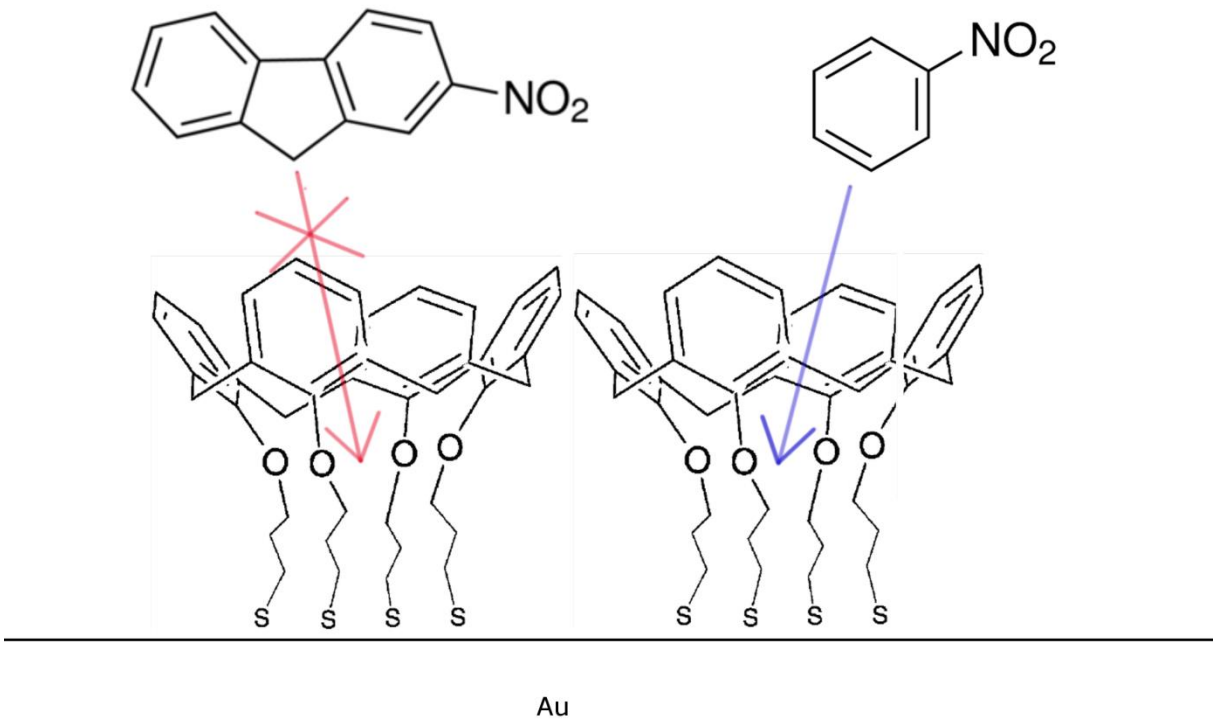
Omezená selektivita voltametrických metod obecně, nižší mechanická stabilita rtuťové kapkové elektrody a obavy z toxicity rtuti spojené s legislativním tlakem na její nahrazení jsou impulzem pro vývoj alternativ [2,3].

Během posledních cca 35 let se značná část pozornosti elektroanalytických chemiků zaměřila na chemické modifikace elektrod za účelem vylepšení jejich vlastností, zejména citlivosti, selektivity a odolnosti vůči pasivaci [4]. Tato práce se zabývá využitím polykrystalické zlaté elektrody modifikované pomocí samouspořádaných monovrstev (SAM) molekulárního kalíšku: thiolovaného kalix[4]arenu (C4A).

1.1 Cíle práce

Příprava polykrystalické zlaté elektrody modifikované pomocí samoskladné monovrstvy (SAM) thiolovaného kalix[4]arenu (C4A) a/nebo 1-undekanthiolu ($C_{11}SH$), její charakterizace a studium možností využití pro voltametrická stanovení modelových elektroaktivních látek, u kterých se předpokládá:

1. Tvorba inkluzních komplexů s C4A a z toho vyplývající možné zvýšení citlivosti stanovení;
2. Zvýšení selektivity stanovení v případě, že se bude SAM tvořená C4A chovat jako molekulární „síto“ propouštějící k elektrodě pouze molekuly do určité velikosti (Obr. č. 1).



Obr. č. 1: *Schéma postulované funkce samouspořádané monovrstvy (SAM) kalixarenu jako „size exclusion“ síto*

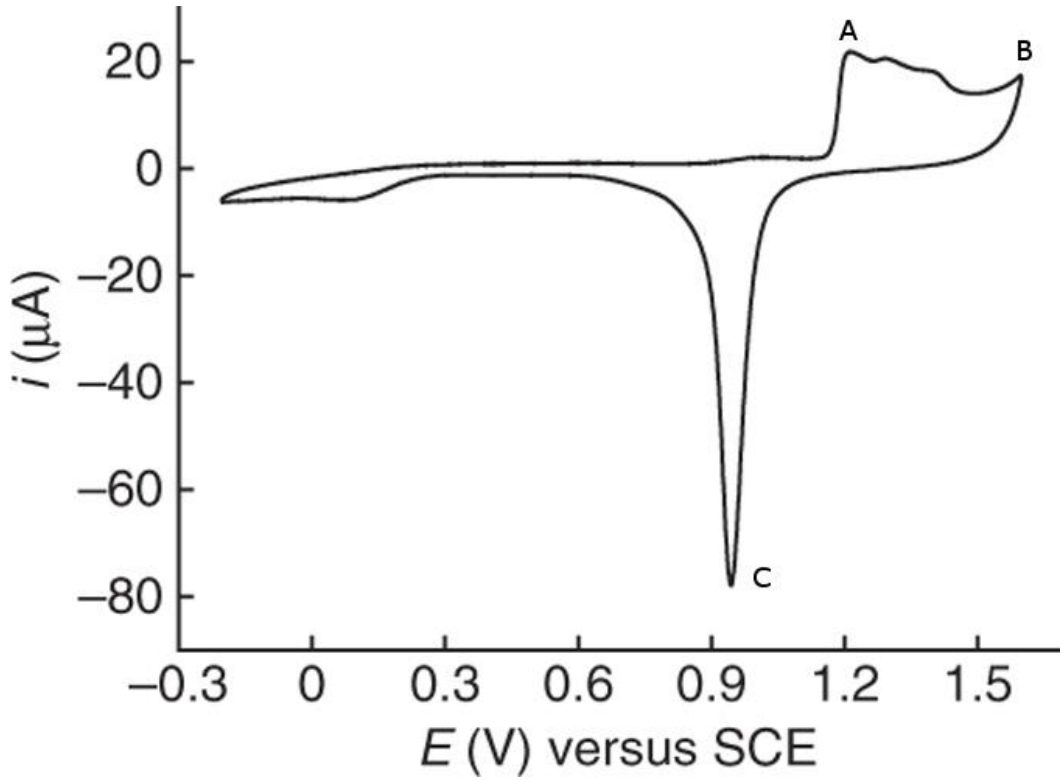
1.2 Zlaté elektrody

Zlato je po platině zřejmě nejčastěji používaným vzácným kovem pro konstrukci tuhých elektrod využívaných ve voltametrii a ampérometrii. Platina je tradičně častěji využívána díky podobné teplotní roztažnosti jako sklo, což představuje značnou výhodou při konstrukci elektrod se skleněným tělem (zlatý drát nelze bez použití speciálních lepidel jednoduše zatavit do skla [2]).

Výhodou zlatých elektrod je nízký nabíjecí proud, rychlý přenos elektronů a široké potenciálové okno, zejména v oblasti pozitivních potenciálů [5]. Měření v katodické oblasti je ve vodných prostředích omezeno vývojem vodíku u poměrně pozitivních potenciálů, zejména v porovnání s elektrodami rtuťovými.

Obzvláště ve vodném prostředí je voltametrie na zlatých elektrodách ovlivněna řadou dějů probíhajících na jeho povrchu [6]. Měření v anodické oblasti je omezeno pro zlaté elektrody typickým pokrýváním dvěma monovrstvami tzv. α-oxidů se stechiometrií odpovídající Au_2O_3 [7]. K pokrývání dochází v prostředí 1M H_2SO_4 přibližně od +1,1 V proti nasycené kalomelové elektrodě (SCE), kolem +1,5 V dochází k rozkladu vody (Obr. č. 2).

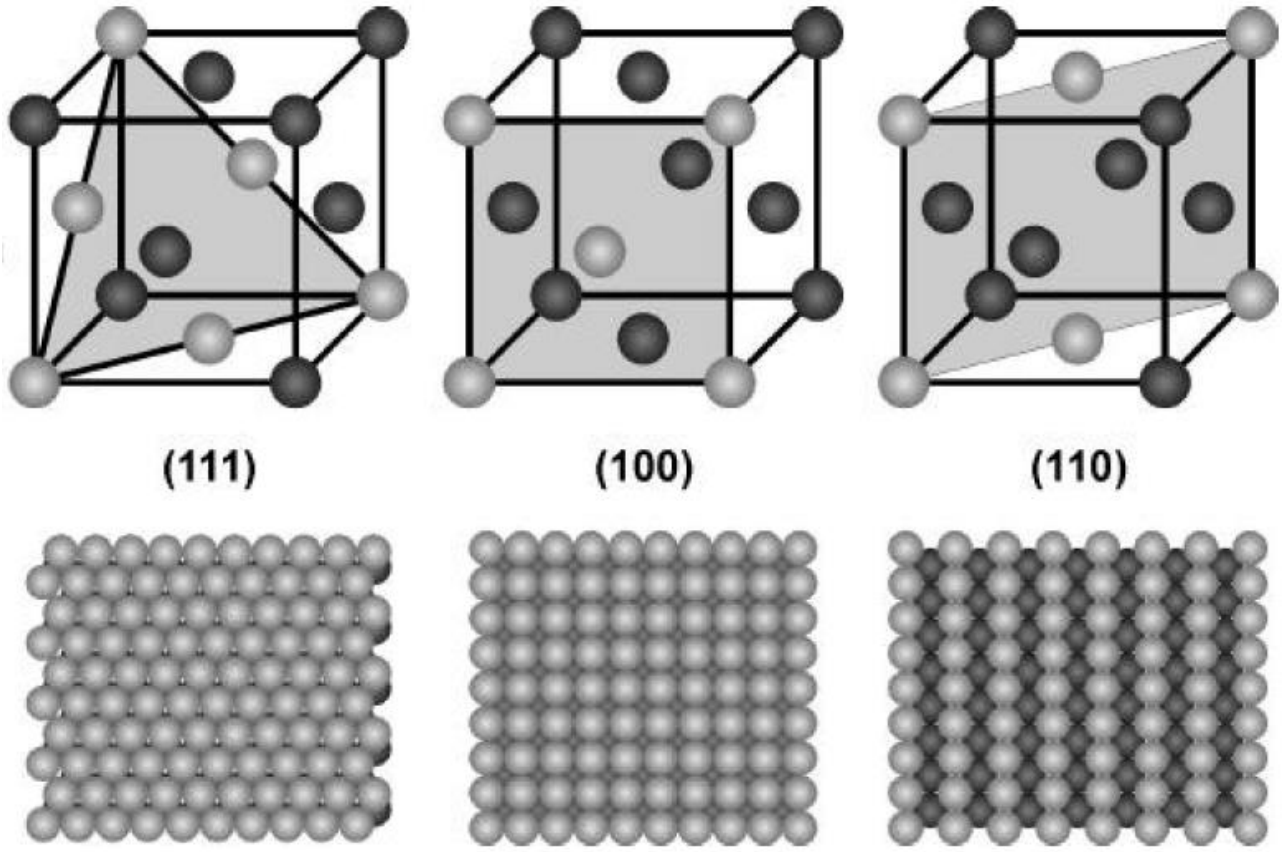
Potenciály při kterých vznikají a při kterých se redukují α-oxidy jsou závislé na hodnotě pH. K redukci α-oxidů dochází v silně kyselém prostředí přibližně při +0,9 V proti SCE, což se projeví ostrým píkem, z jemu odpovídajícího náboje lze vypočítat skutečnou plochu elektrody (390±10 μC cm^{-2}) [8]. Vrstva α-oxidů zlata je nevodivá, může ovlivňovat kinetiku přenosu elektronů, pasivovat elektrodu a tím zhoršovat reprodukovatelnost výsledků [9]. Druhým typem oxidů zlata jsou hydratované β-oxidy, vznikající na jeho povrchu při termální přípravě elektrody nebo při nízkých potenciálech v bazickém prostředí [6,10]. I když β-oxidy vykazují výraznou elektrokatalytickou aktivitu [11], jejich praktické využití je obtížné vzhledem k jejich metastabilním charakteru. Omezit nežádoucí proudy pozadí příslušející α-oxidům, β-oxidům nebo rozkladu vody a výrazně tak zvětšit potenciálové okno je možné využitím bezvodého prostředí, například acetonitrilu. Avšak z ekonomických i praktických důvodů se voltametrie v bezvodém prostředí využívá spíše při studiu reakčních mechanismů, nežli pro analytické účely.



Obr. č. 2: *Cyklický voltamogram zlaté elektrody v prostředí 0,5M kyseliny sírové, rychlost polarizace 100 mV/s. Vyznačeny je oblast tvorby α-oxidů (*A*), oxidace vody (*B*) a pík odpovídající redukci α-oxidů (*C*).* [12]

Elektrochemické vlastnosti zlaté elektrody do značné míry souvisí s uspořádáním jejího povrchu na atomární úrovni. I pro dobře definovatelný monokrystal zlata v kubickém plošném uspořádání lze nalézt rozdíly v koordinaci jednotlivých atomů zlata, zatímco atom

zlata uvnitř krystalu obklopuje 12 sousedních atomů, na povrchu krystalu se počet sousedících atomů zlata pohybuje od 6 do 9 v závislosti na směru řezu krystalem (Obr. č. 3) [13]. To se projeví například na cyklickém voltamogramu zlaté elektrody v oblasti tvorby oxidů. Na táhlém píku jsou ve velmi čistém prostředí při nízkých pH pozorovatelné tři menší píky odpovídající právě oxidaci atomů zlata s různým okolím. Situace je pochopitelně složitější pro polykrystalické zlato a nedokonale hladké povrchy. Ačkoliv je zlato považováno za velmi inertní, místa s povrchovými defekty a tedy nízkou koordinací (hrany, výčnělky…) vykazují výrazně vyšší ochotu k chemisorpci nebo tvorbě elektrokatalyticky aktivních β-oxidů nežli hladký povrch [14].



Obr. č. 3: *Modely třech řezů krystalem s kubickou plošně centrovanou buňkou s nízkými Millerovými indexy.* [15]

Vlastnosti elektrody je možno značně ovlivnit její přípravou. Za žádoucí pro následnou modifikaci pomocí SAM thiolů se považuje hladký povrch prostý oxidů a jiných nečistot [16]. V literatuře lze nalézt mnoho metod čištění a přípravy pro různé účely, včetně jejich srovnání [17,18]. Mezi nejčastěji využívané postupy patří leštění, chemická příprava, elektrochemická příprava a jejich kombinace. K odstranění organických nečistot lze využít

také ultrafialového záření nebo žíhání plamenem [15].

Leštění slouží primárně k odstranění nečistot z povrchu elektrody. K leštění se využívají povrchy z různých materiálů – plátno, polyuretan, případně jejich kombinace se suspenzí částic o různé velikosti a tvrdosti (komerčně dostupné jsou prášky oxidu hlinitého o velikosti částic 3 μm, 1,1 μm a 0,5 μm). Postupným snižováním velikosti částic a následným leštěním na vysoce hladkých površích (*polishing mirrors*) je možné získat velmi hladký povrch.

Chemická příprava elektrody se v závislosti na použitém činidle využívá zejména k odstranění organických nečistot nebo oxidů zlata z jejího povrchu. Nečistoty se typicky odstraňují pomocí silného oxidačního činidla: kyseliny chloristé, směsi koncentrované kyseliny sírové a peroxidu vodíku (*piranha*), chromsírové směsi nebo směsi peroxidu vodíku a koncentrovaného hydroxidu (*basic piranha*). K odstranění oxidů zlata z povrchu elektrody se využívá koncentrovaného ethanolu, který se přitom redukuje na acetaldehyd.

Pro elektrochemickou přípravu se využívá cyklická voltametrie (např. desítky cyklů v širokém rozsahu potenciálů). Kromě desorpce nežádoucích látek z povrchu elektrody a stabilizace pozadí slouží cyklický voltamogram i pro kontrolu čistoty elektrody. Další výhodou přípravy pomocí cyklické voltametrie je možnost na konci přípravy vypočítat skutečnou plochu elektrody z náboje odpovídajícího katodickému píku příslušejícího redukci α-oxidů zlata. Alternativou k cyklické voltametrii je vkládání skoků mezi zvolenými pozitivními a negativními potenciály, přičemž každý ze zvolených potenciálů je udržován po velmi krátkou dobu (desítky milisekund) [18].

Při volbě prostředí a základního elektrolytu je potřeba brát ohled na možnost tvorby rozpustných sloučenin zlata. Přítomnost kyanidů a chloridů se projeví nežádoucím signálem, ve vysokých koncentracích zmenšením potenciálového okna. Zlato je v bazickém prostředí omezeně rozpustné také v sulfidech. Použití kalomelové nebo argentochloridové referentní elektrody ve většině případů zřejmě nepředstavuje výraznější problém. V případech, kdy je potřeba se vlivu chloridů co nejvíce vyhnout [19], lze použít například referentní elektrodu využívající systému olovo/fluorid.

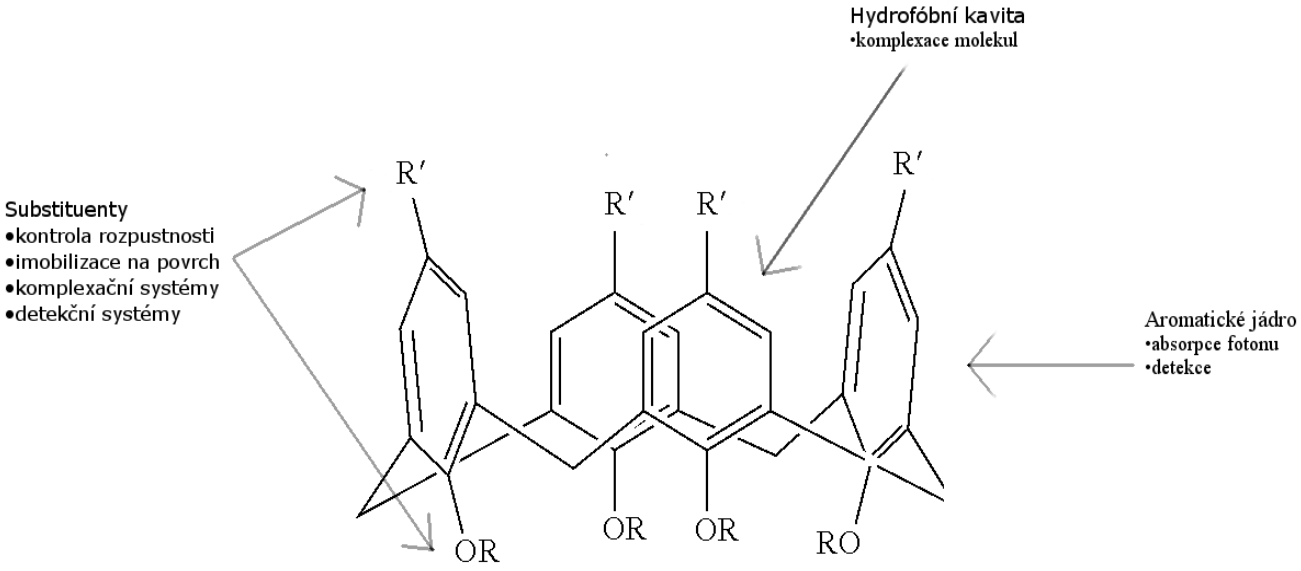
Díky snadné zpracovatelnosti, mechanické stabilitě a chemické odolnosti jsou zlaté elektrody dostupné v celé řadě tvarů a velikostí. V současné době jsou zkoumány i možnosti přípravy zlatých elektrod z netradičních zdrojů: použitých čipů, tonerů nebo CD-ROMů [20].

Zlaté elektrody jsou nejčastěji využívány ke stanovení stopových množství iontů rtuti a arsenu, a stanovení elektrochemicky oxidovatelných látek. Rozsáhlou oblast využití zlatých elektrod představují chemicky modifikované elektrody založené na SAM organosirných

sloučenin.

1.3 Kalixareny

Kalixareny (z řeckého *calix* = kalich) jsou po cyklodextrinech a crownetherech v současnosti pravděpodobně nejčastěji studovaným typem molekulárních kalíšků („nano-baskets“) [21, 22]. Jejich syntéza se provádí oligomerizací fenolu s formaldehydem. V závislosti na reakčních podmínkách a použitém templátu je možno připravit kalixareny o různém počtu fenolických jednotek spojených do cyklu [23]. Počet základních jednotek se uvádí v názvu daného kalixarenu v hranaté závorce (např. kalix[4]aren). Kromě kalixarenů založených na fenolu jsou syntetizovány i kalixy založené na jiných základních jednotkách, například chinonu (kalixchinony), furanu (kalixfurany) nebo pyrrolu (kalixpyrroly).



Obr. č. 4: *Kalix[4]Aren*

Kalixareny jsou považovány za snadno modifikovatelné („*easy to modify*“), pomocí substituce aromatického jádra na horním okraji nebo hydroxylové skupiny na dolním okraji lze ovlivňovat (Obr. 4) například jejich rozpustnost, komplexační schopnosti a stabilitu konformačních izomerů – např. kalix[4]aren se v roztoku vyskytuje ve čtyřech mezi sebou přecházejících konformerech [24]. Na kostru kalixarenu lze zavádět také různé detekční systémy nebo skupiny sloužící k imobilizaci kalixarenů na pevný povrch nebo nanočástice [21,22]. Kalixareny jsou vhodné také jako základ složitějších supramolekulárních struktur, pro něž jsou crownethery příliš flexibilní a cyklodextriny příliš obtížně modifikovatelné kvůli

vnitřnímu pnutí v makrocyklu a zranitelným glykosidickým vazbám.

Díky schopnosti tvořit inkluzní komplexy s anionty, kationty i neutrálními molekulami nacházejí kalixareny široké využití jako extrakční a purifikační činidla, aditiva do stacionární fáze v plynové a kapalinové chromatografii, transportéry přes membrány a ionofory v iontově selektivních elektrodách, kolorimetrické a luminiscenční senzory, modifikátory tuhých elektrod pro voltametrii/ampérometrii nebo jako modifikátory krystalu piezoelektrických křemíkových mikrovah [22].

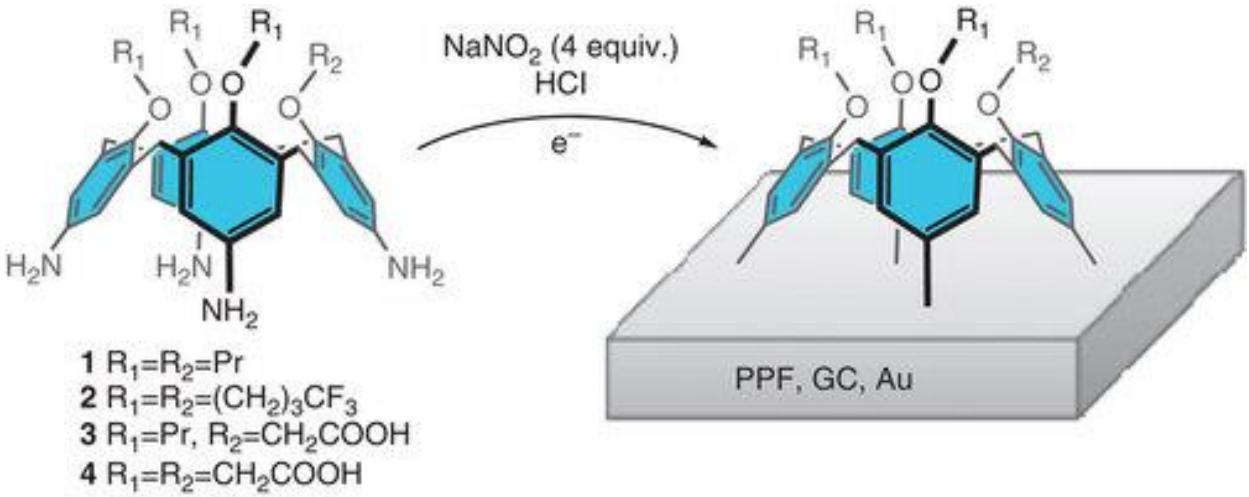
Kostra kalixarenu je elektrochemicky neaktivní. I v případě, že jednotlivé aromatické jednotky jsou substituovány elektrochemicky aktivními skupinami (např. nitro nebo nitroso), tyto skupiny spolu nekomunikují [25].

K přípravě kalixarenem modifikované elektrody je možno v závislosti na požadovaných vlastnostech vrstvy a materiálu elektrody využít množství metod popsaných v literatuře.

Vysoce uspořádaná monovrstva z orientovaného kalix[6]arenu byla vytvořena pomocí potenciálem kontrolované fyzisorpce z roztoku 0,1M kyseliny chloristé na povrch monokrystalického (111) zlata [26]. Obdobně lze vytvořit uspořádanou vrstvu např. z různých derivátů β-cyklodextrinu [27]. Takto připravenou vrstvu je však obtížné charakterizovat bez použití pokročilých mikroskopických technik (STM, AFM). Stabilita vrstvy z hlediska možné desorpce nebo reorientace jednotlivých molekul v případě, že se na elektrodu vloží potenciál, je nejistá.

Další v literatuře popsanou metodou je depozice kalixarenu pomocí filmu *Langmuira-Blodgettové* z povrchu kapaliny na skelný uhlík [28] nebo na kov napařený na skle. Vrstvu filmu je možno na elektrodu nanést také pomocí odstředivých sil metodou *spin coating* nebo nakápnutím na povrch elektrody a následným vysušením [29]. Pro přípravu modifikovaných elektrod z pastového uhlíku se kalixaren smísí s uhlíkovým práškem, pojivem nebo pastou [30].

Perspektivní metodou modifikace popsanou pro uhlíkové[31,32] a zlaté [32] elektrody je tzv. *grafting* (Obr. 5). Diazoniovou solí modifikovaný kalixaren je na povrch zlaté nebo uhlíkové elektrody reduktivně vázán za vzniku kovalentní vazby dusík-kov, respektive dusík-uhlík. Vycházet lze přímo z aminovaných kalixarenů a celou proceduru modifikace provádět *in situ* [32] při vloženém negativním potenciálu v prostředí kyseliny chlorovodíkové a dusitanu sodného.



Obr. č. 5: *Schéma elektrograftingu kalixarenů na povrch zlaté nebo uhlíkové elektrody* [32]

Velmi často využívaná je modifikace zlatých elektrod pomocí thiolových SAM, jejichž problematika je diskutována v následující kapitole.

1.4 Samouspořádané monovrstvy thiolů

Studium thiolových SAM se těší veliké oblibě díky potenciálním aplikacím v materiálovém inženýrství, molekulární elektronice, modelování složitých biologických systémů nebo při přípravě senzorů [14]. V literatuře lze o thiolových SAM nalézt značné množství informací, získaných rozličnými metodami mikroskopickými, spektroskopickými a elektrochemickými a to zejména o vrstvách alkanthiolů na povrchu zlata.

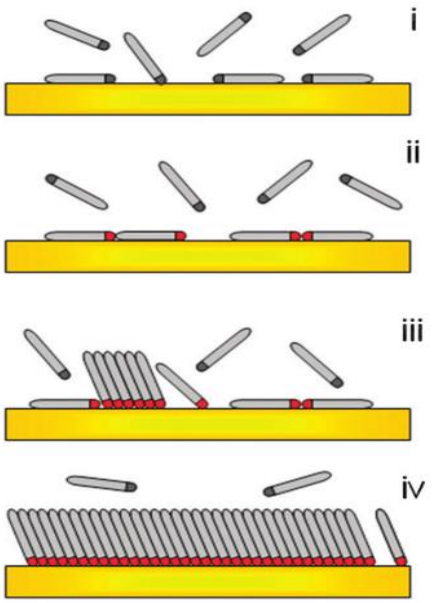
Díky své afinitě ke zlatu jsou thioly vhodnou základní stavební jednotkou pro tvorbu stabilních a vysoce uspořádaných monovrstev na jeho povrchu. Thioly se na povrch zlata ochotně oxidativně chemisorbují za vzniku semikovalentní vazby podle schématu (1) [33]:

$$Au + R\text{-}SH \rightarrow Au\text{-}S\text{-}R + e^- + H^+ \qquad (1)$$

Vložením kladného potenciálu se posune rovnováha směrem doprava, kromě tvorby monovrstev je možno tento proces využít také jako akumulační krok pro stanovení stopového množství thiolů pomocí katodické rozpouštěcí voltametrie.

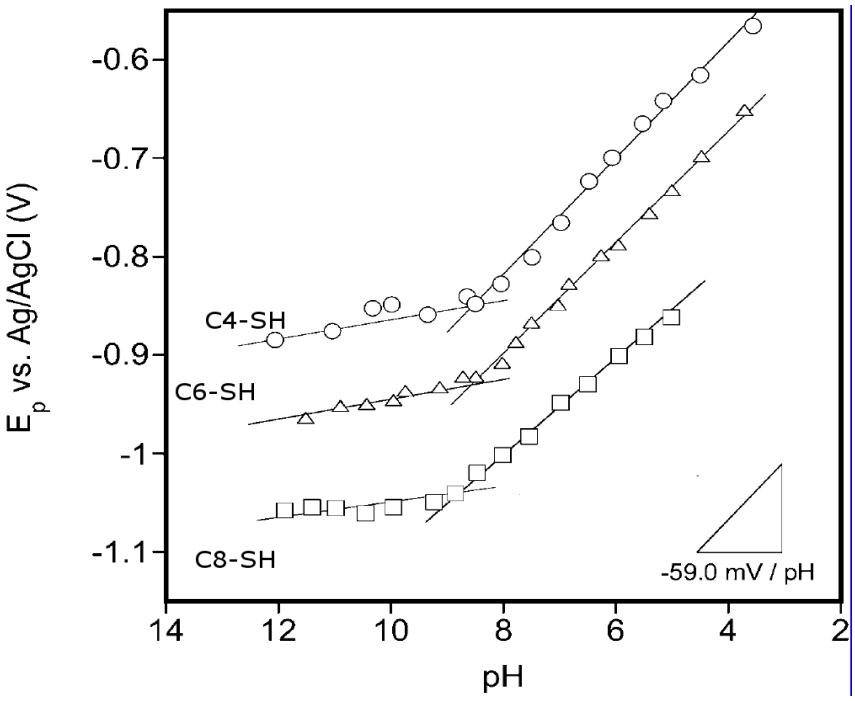
Tvorba samouspořádaných vrstev na povrchu zlata ponořeného v roztoku alkanthiolů probíhá v několika krocích [34]. Nejprve dochází k fyzisorpci, přednostně na defektní místa, např. hrany, následuje chemisorpce – tvorba vazby mezi sírou a zlatem. Tyto procesy jsou rychlé, k pokrytí většiny povrchu elektrody dojde v řádech desítek sekund až minut. Následné

přeskupování ležících alifatických řetězců do těsně uspořádané „stojaté“ polohy je pomalejší, k totálnímu pokrytí povrchu elektrody tak dochází v řádu hodin. Na přeskupování uhlíkatých řetězců již prakticky nemá vliv koncentrace thiolů v matečném roztoku, která se obvykle řádově pohybuje mezi 10^{-5} a 10^{-3} M. Vliv na kinetiku tvorby vrstvy má délka uhlíkatého řetězce a jeho polarita. U dlouhých alifatických řetězců dochází k uspořádání rychleji než u kratších řetězců nebo řetězců obsahujících polární skupiny [14].



Obr. č. 6: *Schéma tvorby SAM thiolů na povrchu zlaté elektrody.* (i) *fyzisorpce,* (ii) *chemisorpce,* (iii) *přeskupování thiolů do „stojaté“ pozice* (iv) *téměř hotová kompaktní vrstva* [14]

Vzniklá vrstva je velmi stabilní. Pro termickou degradaci jsou potřeba teploty vyšší než 100 °C [34]. Elektrochemicky dochází k rozbití vazby mezi sírou a zlatem oxidačně v kyselém prostředí v oblasti pokrývání elektrody α-oxidy (≈ + 1,2V proti nasycené Ag/AgCl elektrodě nebo redukčně. Stabilita v katodické oblasti závisí na pH prostředí a povaze uhlíkatého řetězce [35]. Thioly s dlouhými a nepolárními řetězci se obecně redukují při nižších potenciálech než thioly s krátkými a polárními uhlíkatými řetězci (Obr. č. 7). Rozdíl je připisován vlivu Van der Waalsových sil. Opět se projevuje vliv krystalického uspořádání zlata, z více defektních oblastí se thioly reduktivně desorbují při negativnějších potenciálech [36].



Obr. č. 7: *Závislost potenciálu katodického desorpčního píku na pH pro jednoduché alifatické thioly: 1-butanthiol, 1-hexanthiol a 1-oktanthiol.* [35]

Vlivem ultrafialového záření nebo kyslíku může docházet k oxidaci thiolových skupin na skupiny sulfonové nebo dithioly. Sulfonáty vazbu se zlatem netvoří, a proto je jejich tvorba nežádoucí jak v zásobním roztoku, tak na vrstvě. Dithioly se na zlato chemisorbují, ale jejich tvorba v zásobním roztoku může způsobit nežádoucí polymerizaci molekul obsahujících více thiolových skupin.

Pomocí thiolů lze na povrch nejen zlatých, ale i rtuťových [37] nebo amalgámových [38] elektrod vázat různé modifikátory, od jednoduchých molekul přes makrocyklické molekulární kalíšky až po enzymy nebo DNA a připravovat tak široké spektrum modifikovaných elektrod. Vhodně zvolená vrstva alifatických nebo aromatických thiolů může umožnit současné voltametrické nebo amperometrické stanovení látek, které se na nemodifikované elektrodě oxidují nebo redukují při stejném potenciálu, např. kyselina močová a kyselina askorbová [39]. Vysoce sofistikované DNA [40] nebo imunosenzory [41] schopné vysoce selektivní detekce biomarkerů nebo dokonce mikroorganismů skýtají značný potenciál pro diagnostiku různých onemocnění.

1.5 Thiolované kalixareny v elektroanalýze

Tato kapitola je přehledem SAM thiolovaných kalixarenů na povrchu zlatých elektrod v elektroanalýze (Tabulka I). Nejčastěji jsou využívány jako komplexační činidla umožňující akumulaci analytu z hloubi roztoku do blízkosti elektrody nebo v kombinaci s redoxní sondou navázanou na kalixaren (chinonem nebo ferocenem) a reagující na přítomnost molekuly v kavitě pro stanovení jinak elektrochemicky obtížně stanovitelných látek. Jiné způsoby jejich využití se v literatuře zatím vyskytují spíše ojediněle.

Řádově větší množství studií lze nalézt pro uhlíkové elektrody modifikované *Langmuir-Blodgettové filmem* kalixarenů [21,22].

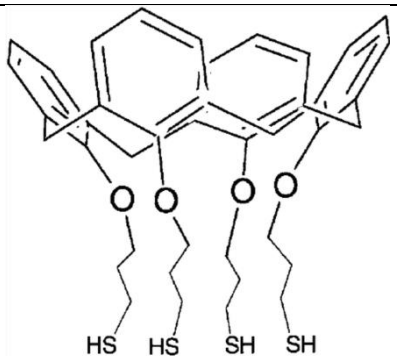
Tabulka I

Přehled modifikovaných elektrod na bázi SAM z thiolovaných kalixarenů

Analyt	**Modifikátor**	**Technika**	**Lineární rozsah, M**	**Mez detekce, M**	**Reference**
Dopamin	kalix[8]aren	DPV	$10^{-3} – 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-7}$	[41]
Dopamin	kalix[4]aren	TSM	$5 \cdot 10^{-9} – 5 \cdot 10^{-11}$	$2 \cdot 10^{-11}$	[42]
N-nitroso-N-butyl-N-propylamin	kalix[4]resorciaren	AdSV	$10^{-6} – 10^{-9}$	10^{-10}	[43]
Arginin	Modifikovaný kalix[4]aren	EIS	-	10^{-3}	[44]
UO_2^{2-}	sulfonovaný kalix[6]aren	SWV	-	$5 \cdot 10^{-6}$	[45]
Glukóza	kalix[4]aren modifikovaný glukózooxidázou	ampérometrie	$10^{-3} – 10^{-4}$	$1{,}5 \cdot 10^{-5}$	[46]
Ba^{2+}	kalix[4] modifikovaný chinonem	SWV	$10^{-4} – 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-6}$	[47]
Tryptofan	sulfonovaný kalix[4]aren	voltametrie	$10^{-5} – 10^{-7}$	$3 \cdot 10^{-8}$	[48]
ALT protilátka	kalix[4]crown-5-ether	ampérometrie	1000 – 10 μg/mL	1 μg/mL	[49]

1.6 Použité modifikátory elektrody

Hlavním zkoumaným modifikátorem elektrody je kalix[4]aren substituovaný thiolovými skupinami na dolním okraji (C[4]A). C4A je bílá krystalická látka nerozpustná ve vodě. Rozpustnost C4A v DMF je dostačující pro přípravu 10^{-4}M zásobního roztoku [50, 51]. Pro modifikaci zlaté elektrody pomocí C4A byla již vypracována studie využívající undekanthiolu k vyplnění mezer mezi kalixareny, aby mohla studovaná látka komunikovat s elektrodou pouze pomocí C4A. Kromě tvorby SAM ponořením elektrody do roztoku C4A byla také zkoumána možnost depozice C4A na povrch zlaté elektrody za pomocí potenciálu vloženého na elektrodu, tento způsob, ale vede k tvorbě vrstev s menším pokrytím, nežli bez použití potenciálu [51].

Název: Zkratka:	25,26,27,28-tetrakis(3-sulfanylpropoxy)kalix[4]aren C4A
CAS číslo:	1301253-93-9
Sumární vzorec:	C_{40} H_{48} O_4 S_4
Molekulová hmotnost:	721.07
Strukturní vzorec:	

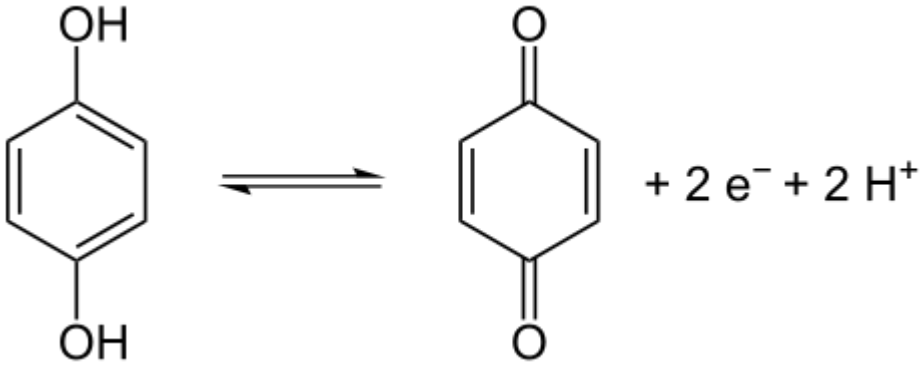
1-undekanthiol je v čistém stavu kapalná, zapáchající látka, špatně rozpustná ve vodě. Thioly s delšími alifatickými řetězci (C ≈ 8+) se díky své nevodivosti využívají jako sekundární elektrodový modifikátor k vyplnění mezer mezi molekulárními kalíšky. Oktanthiol byl ale studován i jako primární modifikátor rtuťové kapkové elektrody pro stanovení nitrovaných aromatických látek [52].

Název: Zkratka:	1-undekanthiol $C_{11}SH$
CAS číslo:	5332-52-5
Sumární vzorec:	$C_{11}H_{24}S$
Molekulová hmotnost:	188,37
Hustota:	0,8432 g/cm3
Strukturní vzorec:	

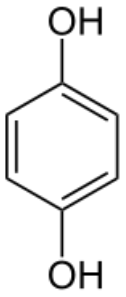
1.7 Modelové látky

Jako modelové látky byly zvoleny elektrochemicky oxidovatelné nebo redukovatelné organické látky s velikostí umožňující případnou komplexaci s kalixarenem: hydrochinon a nitrované aromatické uhlovodíky: nitrobenzen, 2-nitrofenol a 4-nitrofenol.

Hydrochinon je v kyselém prostředí elektrochemicky reverzibilně oxidovatelný ve dvou vlnách. V čisté podobě se jedná o bílou krystalickou látku, dobře rozpustnou ve vodě (5,9 g/100 mL při 15 °C). Hydrochinon je zdraví škodlivý a nebezpečný pro životní prostředí.



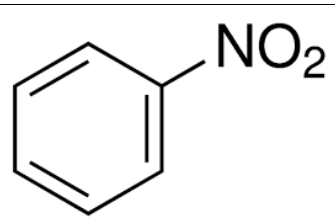
Obr. č. 8: *Schéma oxidace hydrochinonu na chinon*

Název:	Hydrochinon, 1,4-dihydroxybenzen
CAS číslo:	123-31-9
Sumární vzorec:	$C_6H_6O_2$
Molekulová hmotnost:	110,11 $g \cdot mol^{-1}$
Strukturní vzorec:	

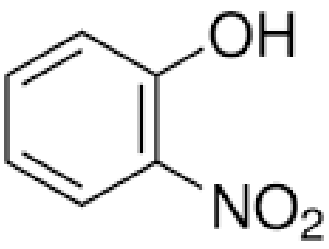
Nitrované aromáty jsou ve velkém měřítku využívány jako pesticidy, výbušniny nebo léčiva. Často se jedná o látky vykazující biologickou aktivitu, mnoho z nich je prokázanými karcinogeny nebo mutageny. Obzvláště nebezpečnou skupinou environmentálních polutantů jsou nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky, které vznikají nedokonalým spalováním paliva v dieselových motorech [52]. Motivace pro vývoj citlivých analytických metod pro jejich stanovení je tedy značná.

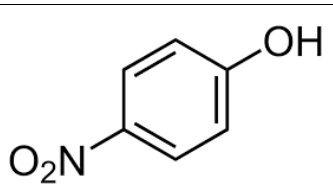
Nitroskupina je elektrochemicky aktivní. Ve vodném prostředí se nitroskupina na aromatickém jádře redukuje na rtuťových elektrodách na hydroxylaminovou, případně až na aminovou [53]. Mechanismus redukce je silně ovlivněn pH. Existuje řada studií zabývajících se stanovením nitrolátek zejména na rtuťových nebo amalgámových elektrodách. Typicky dosahované limity detekce při použití diferenční pulzní voltametrie nabývají hodnot řádově 10^{-6} až 10^{-7} mol/L [54].

Nitrobenzen je za laboratorní teploty světle žlutá olejovitá kapalina s vůní připomínající mandle. Je špatně rozpustný ve vodě (5,9 g/100 mL). Nitrobenzen je toxický a nebezpečný pro životní prostředí.

Název:	Nitrobenzen
CAS číslo:	98-95-3
Sumární vzorec:	$C_6H_5NO_2$
Molekulová hmotnost:	123,06 g/mol
Hustota:	1,199 g/cm^3
Strukturní vzorec:	

4-nitrofenol a 2-nitrofenol jsou toxické žluté krystalické látky, dobře rozpustné ve vodě. Jedná se o potenciálně karcinogenní environmentální polutanty [55] vznikající rozpadem pesticidů, z výfukových plynů a průmyslových odpadů. Nitrofenoly lze díky přítomnosti hydroxylové skupiny na aromatickém jádře také elektrochemicky oxidovat [56].

Název:	2-nitrofenol, o-nitrofenol, 1-hydroxy-2-nitrobenzen
CAS číslo:	88-75-5
Sumární vzorec:	$C_6H_5NO_3$
Molekulová hmotnost:	139,11 g/mol
Strukturní vzorec:	

Název:	4-nitrofenol, p-nitrofenol, 1-hydroxy-4-nitrobenzen
CAS číslo:	100-02-7
Sumární vzorec:	$C_6H_5NO_3$
Molekulová hmotnost:	139,11 g/mol
Strukturní vzorec:	

2. Experimentální část

2.1 Reagencie

Byly použity následující chemikálie: kyselina sírová (96%, Lach-ner, Neratovice, ČR), kyselina octová (99%, Lach-ner, Neratovice, ČR), kyselina boritá (p. a. Penta Chrudim, ČR), kyselina fosforečná (85%, Penta Chrudim, ČR), hydroxid sodný (p. a., Penta Chrudim, ČR), dimethylformamid (bezvodý, 99%, Sigma-Aldrich, ČR), hexakyanoželeznatan draselný (99%, Sigma Aldrich, ČR) destilovaná voda z přístroje Milli-Q-Gradient (Milli-Q, ČR).

Zásobní roztoky 10^{-3}M nitroaromátů v methanolu: methanol (p.a. Penta Švec, ČR), nitrobenzen (99,5%), 4-nitrofenol (99,5 (Vše Sigma Aldrich, Praha, ČR), 2-nitrofenol (99%; Riedel-de-Haën, SRN).

Univerzální Brittonův-Robinsonův (BR) pufr: kyselá složka složená z 0,04M H_3BO_3, 0,04M H_3PO_4 a 0,04M CH_3COOH, bazická složka 0,2M NaOH.

2.2 Aparatura

Pro voltametrická měření byl použit přístroj Eco-Tribo Polarograf (Polaro Sensors, Česká Republika) se softwarem MultiElChem verze 3.1 (Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i., Česká Republika) pro operační systém Windows 7 (Microsoft CZ, Česká Republika). Přístroj pracoval v tříelektrodovém zapojení, s nasycenou argentochloridovou referentní elektrodou (Elektrochemické detektory s.r.o., Česká Republika) a pomocnou platinovou elektrodou (Monokrystaly, Česká Republika). Jako pracovní elektroda byla použita polykrystalická zlatá disková elektroda, typ SESV 21 (Elektrochemické detektory s.r.o., Česká Republika) o průměru 1,0 mm.

Měření pH byla prováděna na pH-metru Jenway 3505 s kombinovanou skleněnou elektrodou (Jenway, Velká Británie). Kalibrace pH metru byla realizována pomocí kalibračních roztoků o pH 7,00 a 9,18 (oba Elektrochemické detektory s.r.o., Turnov).

2.3 Pracovní postupy

Před měřením na nemodifikované elektrodě nebo před modifikací byla elektroda připravována následujícím způsobem:

1. 200 potenciálových cyklů v rozsahu −500 mV až −1500 mV v prostředí 0,1M NaOH při rychlosti polarizace 1000 $mV \cdot s^{-1}$;
2. Leštění na polyuretanové podložce se suspenzí aluminy o velikosti částic 0,5 μm

a následnou sonikací v ultrazvukové lázni;

3. Ponoření do peroxosírové směsi (98% H_2SO_4 a 30% H_2O_2 v poměru 3:1) po dobu deseti minut a následnou dvouminutovou sonikací;
4. 25 potenciálových cyklů v rozmezí −500 až +1500 mV a 10 potenciálových cyklů v rozmezí +750 mV až +200 mV, obojí v prostředí 0,1M H_2SO_4 a rychlosti polarizace 100 mV/s.

Modifikace byla prováděna ponořením elektrody na dvě minuty do nádobky s 100 µl 10^{-4}M roztoku příslušného undekanthiolu v DMF nebo nakápnutím 10 µl 10^{-4}M C4A v EtOH/0,2M NaOH (11:1) po dobu 20 minut.

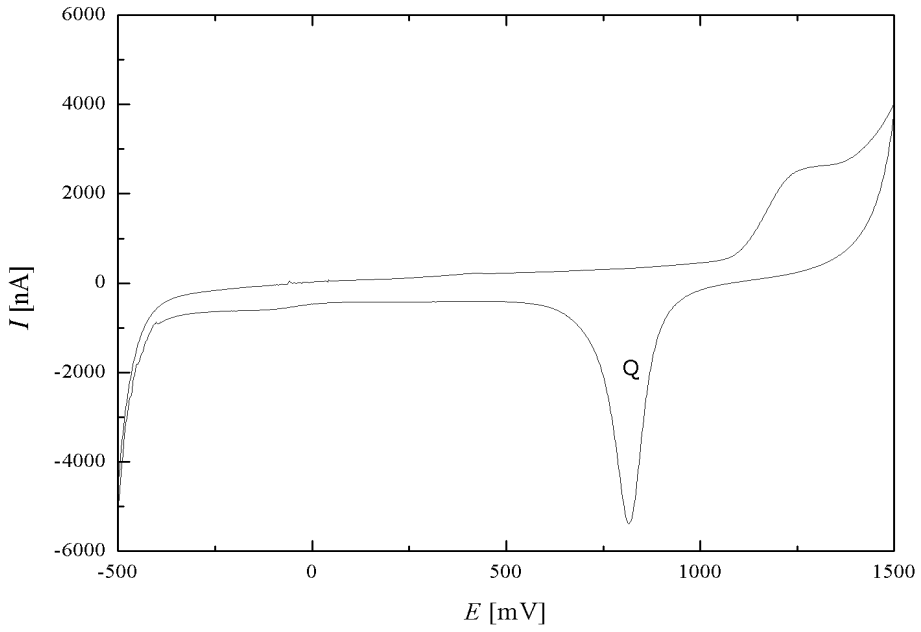
Před voltametrickými měřeními byl roztok ve voltametrické nádobce probublán 5 minut dusíkem.

Pro diferenční pulzní voltametrii byly použity pulzy o výšce 50 nebo −50 mV a době trvání pulzu 100 ms se vzorkováním v posledních 20 ms a rychlostí scanu 5 mV/s.

3. Výsledky a diskuze

3.1 Příprava elektrody a charakterizace jejího povrchu

Příprava elektrody je kompromisem mezi obtížně slučitelnými požadavky: hladkým a reprodukovatelným povrchem, úplným odstraněním nečistot z povrchu a zároveň pokud možno co nejmenší časovou náročností celého procesu. V této práci byl zvolen časově relativně náročný postup, který však spolehlivě zbaví povrch nečistot. Thioly a případné produkty elektrochemické přeměny nitrolátek jsou odstraněny leštěním na alumině a následným desetiminutovým ponořením do peroxosírové směsi. Tuto proceduru završuje cyklická voltametrie, nejdříve v rozsahu celého potenciálového okna a poté ve zmenšeném rozsahu, kdy dochází k redukci zbytků oxidů zlata na jeho povrchu. Cyklická voltametrie sloužila také pro kontrolu čistoty elektrody a zároveň umožnila výpočet skutečné plochy elektrody z náboje katodického píku odpovídající redukci α-oxidů zlata (390±10 $\mu C \cdot cm^{-2}$) [8] (Obr. č. 8). Pro ověření vlivu přípravy byla plocha elektrody opakovaně určena z píku redukce oxidů, a to v posledním scanu přípravy v plném potenciálovém rozsahu. Plocha elektrody určená touto metodou ze šesti měření na konci kompletních příprav elektrody činila A_{ox} = 5,72±0,48 mm^2.



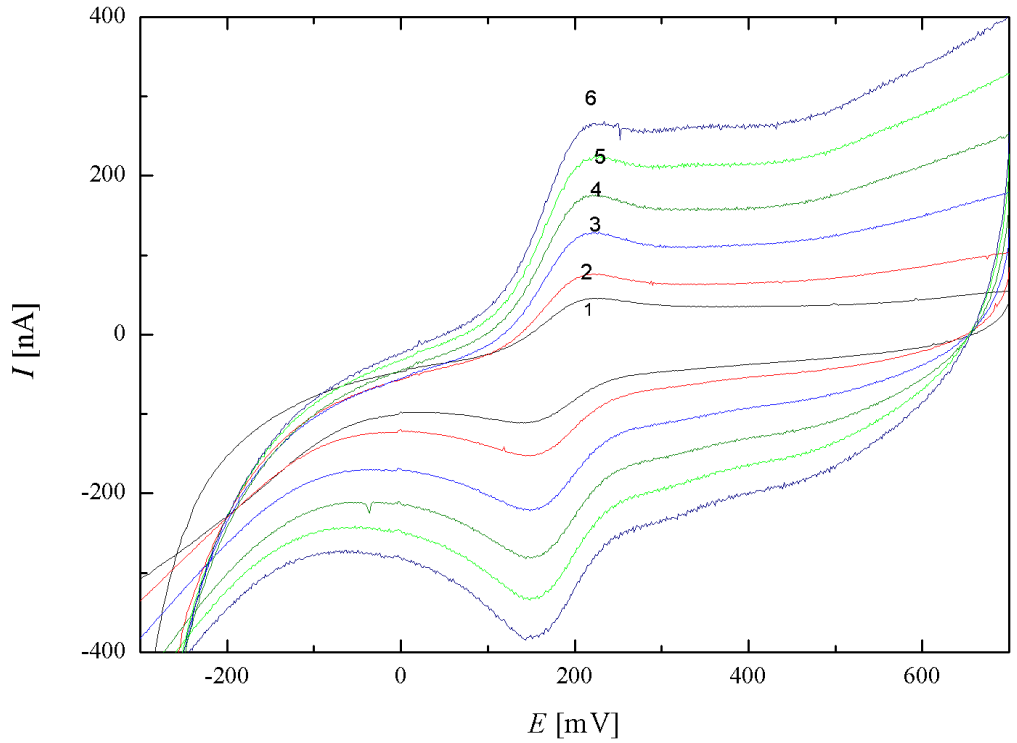
Obr. č. 8: *Polarizační křivka zlaté polykrystalické elektrody v prostředí 0,1M H_2SO_4 získaná při přípravě elektrody cyklickou voltametrií. Rychlost polarizace 100 mV/s. Náboj odpovídající píku (Q) je přímo úměrný skutečné ploše elektrody.*

Z Randlesovy-Ševčíkovy rovnice (2) lze určit skutečnou plochu elektrody ze směrnice závislosti proudu píku reverzibilního systému (Obr. č. 9) na odmocnině z rychlosti polarizace (Obr. č. 10). I_p značí plochu píku v ampérech, A plochu elektrody v cm^2, n počet vyměňovaných elektronů, D difúzní koeficient $cm^2 \cdot s^{-1}$, c_c koncentraci v $mol \cdot cm^3$ a v rychlost polarizace ve $V \cdot s^{-1}$.

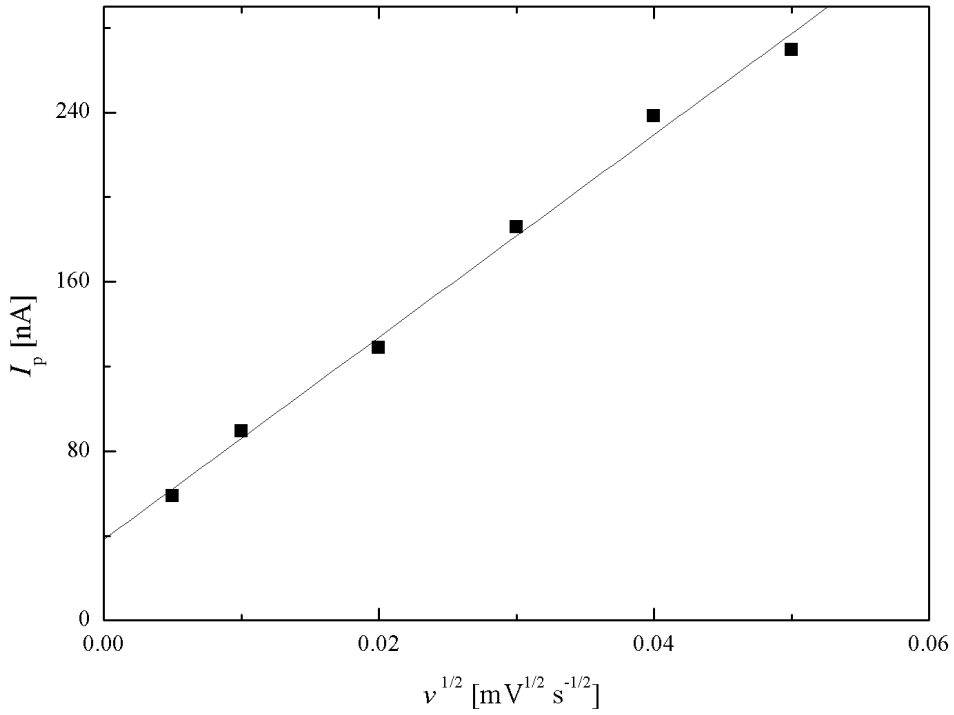
$$I_p = 2{,}69 \cdot 10^5 . A . n^{3/2} . D . c_c . v^{1/2} \qquad (2)$$

Závislost je přímo úměrná, jedná se tedy o proces řízený difúzí.

Jako elektrochemická sonda pro stanovení skutečného povrchu elektrody byl použit 10^{-3}M hexakyanoželeznatan draselný v roztoku 0,1M dusičnanu draselného. Difúzní koeficient hexakyanoželeznatanu draselného v prostředí dusičnanu draselného nabývá hodnoty $D = 7{,}09 \cdot 10^{-6}$ $cm^2 \cdot s^{-1}$ [57]. Ze šesti měření, která následovala ihned po kompletní přípravě elektrody, byla vypočtena její plocha $A_{RS} = 6{,}14 \pm 0{,}59$ mm^2.



Obr. č. 9: *Cyklické voltamogramy 10^{-3}M $K_4[Fe(CN)_6]$ v 0,1M KNO_3 na nemodifikované polykrystalické zlaté elektrodě při různých rychlostech polarizace v: 10 (1), 20 (2), 40 (3), 60 (4), 80 (5) a 100 (6) mV/s.*



Obr. č. 10: *Závislost proudu píku 10^{-3}M $K_4[Fe(CN)_6]$ v 0,1M KNO_3 na odmocnině z rychlosti polarizace v na zlaté polykrystalické elektrodě.*

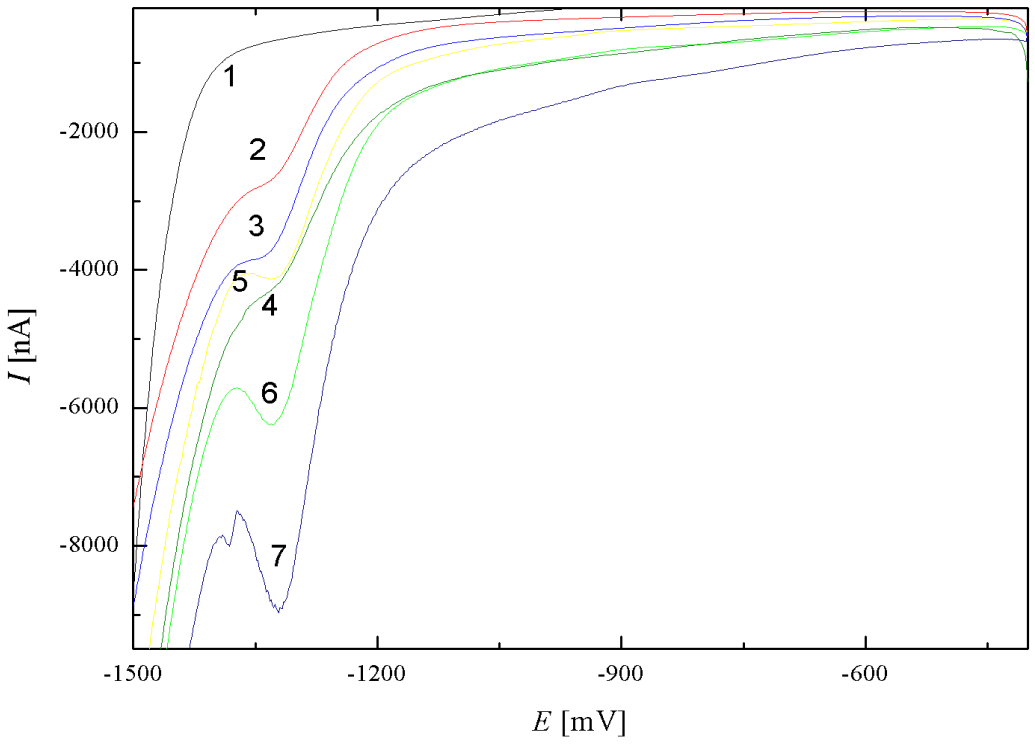
Závislost proudu píku $K_4[Fe(CN)_6]$ na rychlosti scanu (Obr. č. 10) lze popsat rovnicí (3):

$$I_p\,[\mathrm{nA}] = 4780 v^{1/2}\,[\mathrm{V}^{1/2}\cdot\mathrm{s}^{-1/2}] + 38{,}12 \qquad R = 0{,}9963 \qquad (3)$$

Překvapivým zjištěním je, že plocha elektrody vypočtená z Randlesovy-Ševčíkovy rovnice (6,14±0,59 mm^2) je vyšší, než plocha elektrody vypočtená z píku redukce α-oxidů (5,72±0,48 mm^2). Díky velmi rychlému působení difúze na krátké vzdálenosti bylo předpokládáno, že drobné povrchové nerovnosti budou mít na difúzní proud menší vliv než na množství oxidů vyloučených na povrchu elektrody. Lze konstatovat, že plocha elektrody byla nicméně poměrně dobře reprodukovaná, avšak náročnost přípravy (leštění na alumině, peroxosírová směs) povrchu elektrody byla větší.

3.2 Stabilita SAM undekanthiolu

Vrstva $C_{11}SH$ na povrchu zlaté elektrody je vysoce stabilní v širokém rozsahu potenciálů. Ačkoliv je potenciál katodického desorpčního píku alifatických thiolů obecně závislý na pH [35], desorpční pík $C_{11}SH$ (Obr. č. 11) je zaznamenatelný pouze v bazickém prostředí, a to při −1,3 V proti 3M Ag/AgCl elektrodě. V bazickém prostředí je potenciál desorpčního píku téměř nezávislý na pH, v souladu s [35]. V neutrálním nebo kyselém prostředí je katodický desorpční pík zcela překryt vývojem vodíku. Stabilita vrstvy $C_{11}SH$ prakticky neomezuje využitelný potenciálový rozsah zlaté elektrody pro redukce v kyselém nebo neutrálním prostředí a v prostředí bazickém jen velmi málo.



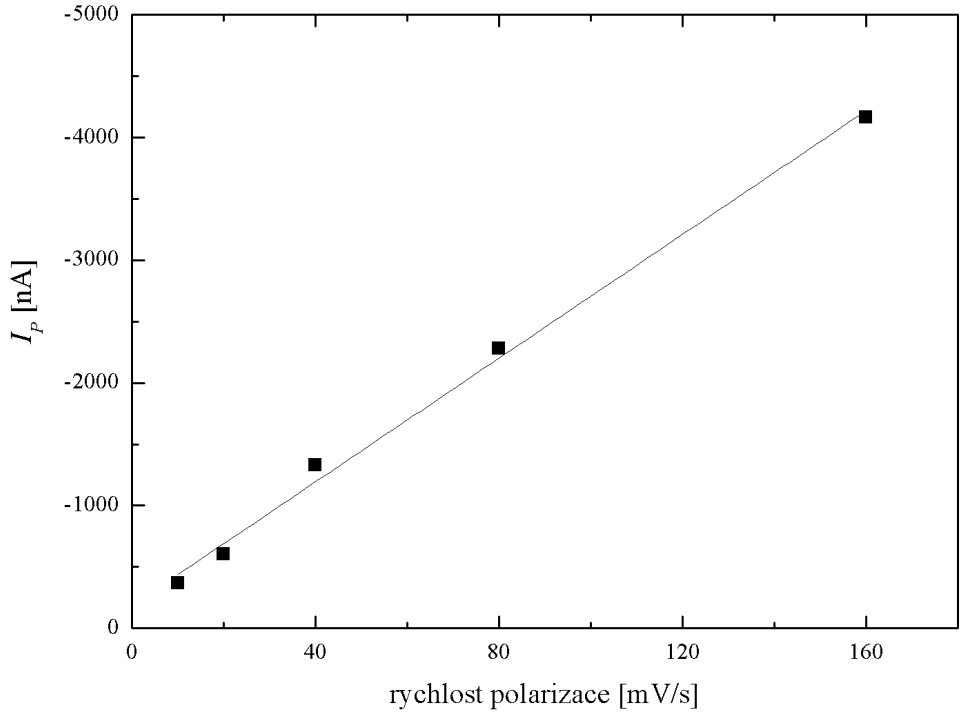
Obr. č. 11: *DC voltamogramy katodické desorpce $C_{11}SH$ v prostředí 0,1M NaOH při různých rychlostech polarizace v: 10 (2), 20 (3), 40 (4), 80 (5), 160 (6) a 320 mV/s (7). Povrch polykrystalické zlaté elektrody byl regenerován mechanicky a modifikován SAM $C_{11}SH$ před každým jednotlivým měřením. Slepý pokus bez modifikace při rychlosti polarizace 10 mV/s (1).*

Závislost proudu desorpčního píku na rychlosti polarizace (Obr. č. 12) lze popsat rovnicí (4):

$$I_p\,[\mathrm{nA}] = -187{,}4v\,[\mathrm{mV/s}] - 25{,}19 \qquad R^2 = 0{,}9972 \qquad (4)$$

Závislost odpovídá přímé úměrnosti, a lze tedy dovodit, že děj je tedy řízen adsorpcí/desorpcí.

Termín „desorpční pík“ je v případě SAM $C_{11}SH$ na zlaté elektrodě zavádějící. I když je na elektrodu vložen dostatečně negativní potenciál a zanikne vazba mezi zlatem a sírou, $C_{11}SH$ se z povrchu elektrody fyzicky odpoutává jen velmi neochotně. Bez vloženého negativního potenciálu dochází rychle k opětovnému vytvoření vazby. Z toho plyne i obtížnost čištění elektrody pouze elektrochemicky a nutnost použít mechanický a/nebo chemický krok v přípravě. Vysokou stabilitu $C_{11}SH$ lze vysvětlit stabilizací Van der Waalsovými silami mezi alifatickými řetězci adsorbovanými na povrchu elektrody. Vliv má zřejmě i velmi nízká rozpustnost $C_{11}SH$ ve vodě.

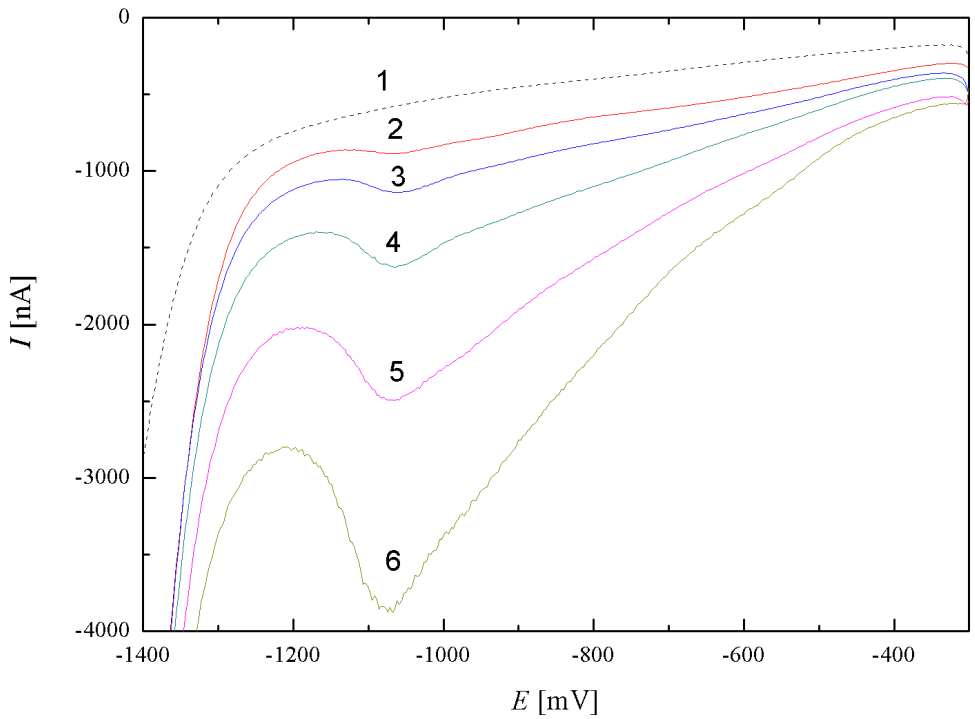


Obr. č. 12: *Závislost proudu desorpčního píku $C_{11}SH$ v prostředí 0,1M NaOH na rychlosti polarizace v na zlaté polykrystalické elektrodě.*

3.3 Stabilita SAM thiolovaného kalix[4]arenu

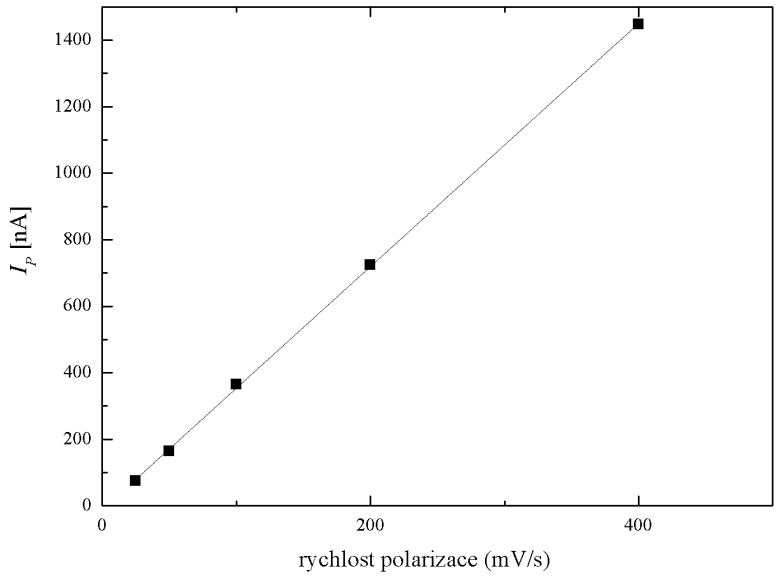
Vrstva C4A na povrchu polykrystalické zlaté elektrody je v porovnání s $C_{11}SH$ méně stabilní, redukční pík se objevuje při pozitivnějších potenciálech. Předchází mu táhlá vlna (Obr. č. 14) nejasné povahy. Závislost proudu redukčního píku na rychlosti polarizace je lineární (Obr. č. 15). To odpovídá ději řízenému adsorpcí/desorpcí, kapacitní proud je ale také přímo úměrný rychlosti polarizace. Z tohoto důvodu prakticky nelze rozhodnout o tom, do jakého potenciálu se dá považovat vrstva za stabilní. Rozbití vazby je nutnou podmínkou pro desorpci C4A. Pokusy o alespoň částečné potlačení kapacitního proudu pomocí diferenční pulzní voltametrie selhaly kvůli výraznému šumu.

Přítomnost více redukčních vln nebo píků je v literatuře obvykle vysvětlována rozdílnou vazebnou energií thiolů v závislosti na uspořádání povrchu elektrody na mikroskopické úrovni [36, 58]. Zajímavé informace v tomto ohledu přináší spojení voltametrie s křemíkovými mikrováhami [59].

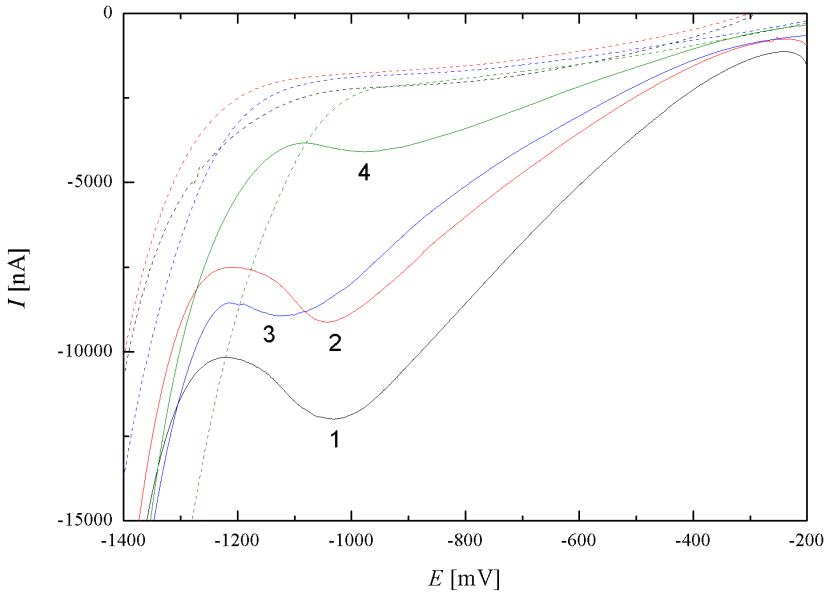


Obr. č. 14: *DC voltamogramy zlaté polykrystalické elektrody modifikované SAM C4A v prostředí 0,1M NaOH při různých rychlostech scanu v: 25 (2) 50 mV (3) 100 mV (4) 200 (5) 400 mV/s (6). Slepý vzorek při 25 mV/s, nemodifikovaná zlatá polykrystalická elektroda (1).*

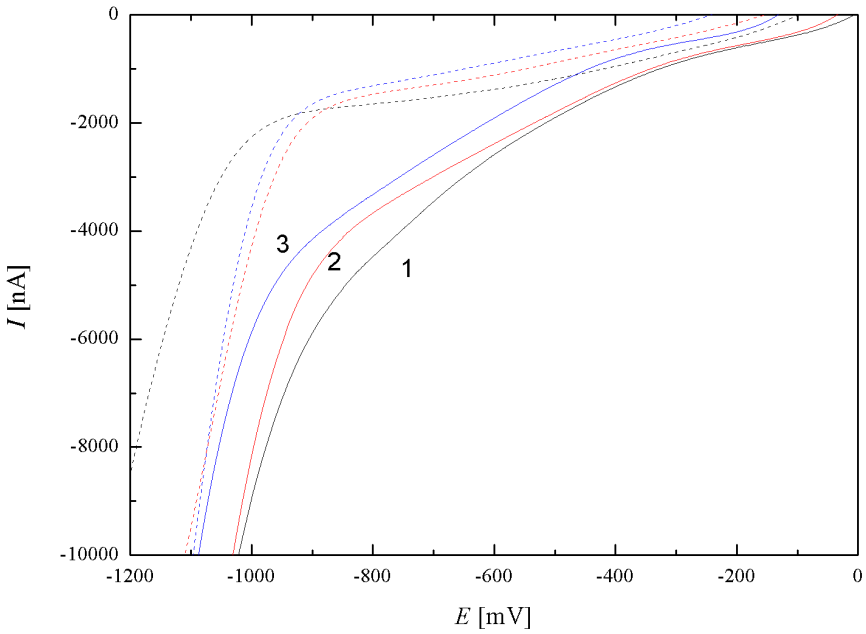
Redukční pík C4A je dobře vyvinutý pouze v bazickém prostředí (Obr. č. 16). v neutrálním (Obr. č. 17) a kyselém prostředí (Obr. č. 18) jej již nelze rozlišit od předvlny. Ani zde nelze původ předvlny spolehlivě zjistit pouze pomocí voltametrie.



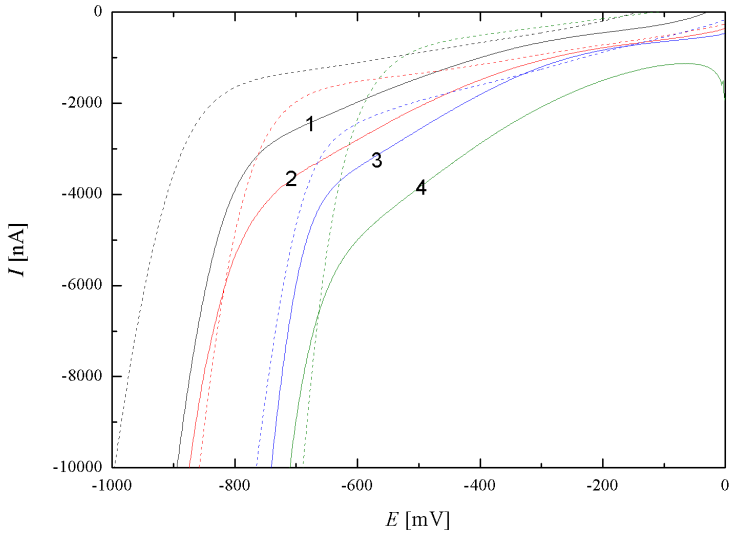
Obr. č. 15: *Závislost proudu katodického redukčního píku C4A v prostředí 0,1M NaOH na rychlosti polarizace. R = 0,9999.*



Obr. č. 16: *DC voltamogramy zlaté polykrystalické elektrody modifikované SAM C4A. Rychlost polarizace 100 mV/s, prostředí BR pufr o pH 12 (1) 11(2) 10 (3) a 9 (4). Slepé vzorky naměřené na nemodifikované elektrodě jsou vyznačeny přerušovanou čarou.*



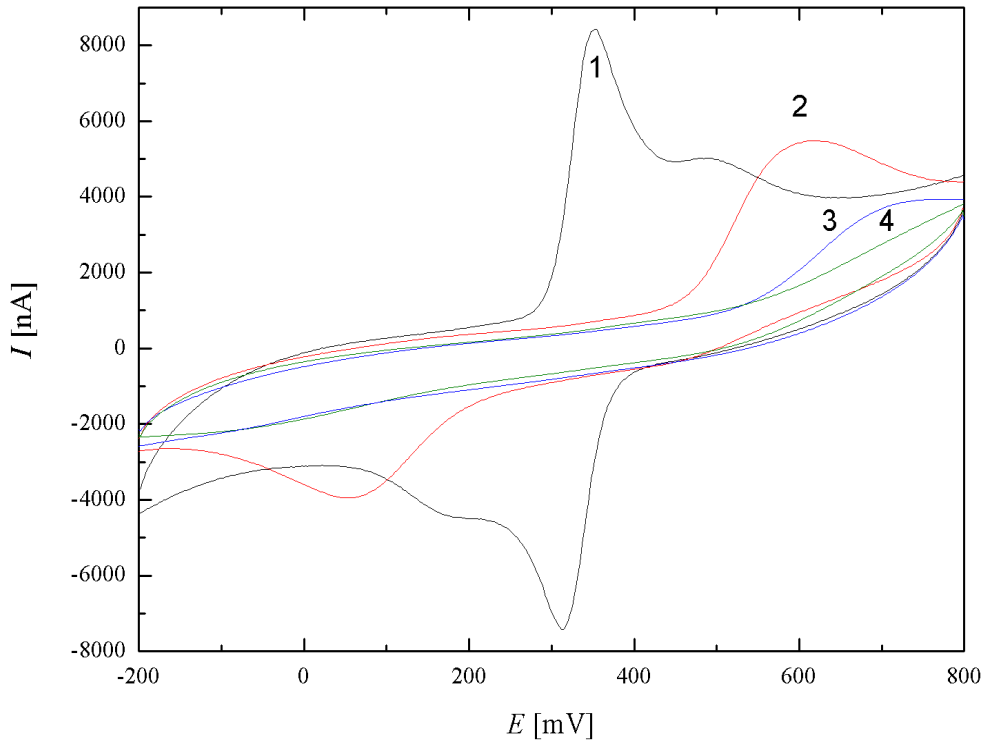
Obr. č. 17: *DC voltamogramy zlaté polykrystalické elektrody modifikované SAM C4A. Rychlost polarizace 100 mV/s, prostředí BR pufru o pH 9 (1), 8 (2) a 7 (3). Slepé vzorky naměřené na nemodifikované zlaté polykrystalické elektrodě jsou vyznačeny přerušovanou čarou.*



Obr. č. 18: *DC voltamogramy zlaté polykrystalické elektrody modifikované SAM C4A. Rychlost polarizace 100 mV/s, prostředí BR pufru o pH 5 (1), 4 (2), 3 (3) a 2 (4). Slepé vzorky naměřené na nemodifikované elektrodě jsou vyznačeny přerušovanou čarou.*

3.4 Využití SAM pro oxidace

Vlastnosti elektrody modifikované C4A, $C_{11}SH$ a C4A + $C_{11}SH$ byly testovány pomocí modelové látky hydrochinonu (Obr. č. 19) a porovnány s elektrodou nemodifikovanou. Hydrochinon se na zlaté elektrodě v prostředí 0,1M kyseliny sírové reverzibilně oxiduje ve dvou vlnách. Na zlaté polykrystalické elektrodě modifikované SAM C4A dochází k posunu oxidačního píku do oblasti pozitivnějších potenciálů a poklesu reverzibility. K dalším posunu oxidačního píku dochází při modifikaci elektrody pomocí $C_{11}SH$, reakce se již zdá být ireverzibilní. V případě dvoustupňové modifikace pomoci C4A a $C_{11}SH$ pík hydrochinonu není patrný vůbec. Z toho se dá usuzovat, že oxidace hydrochinonu neprobíhá v kavitě C4A a hydrochinon zřejmě kavitou ani nedokáže projít k elektrodě. Při modifikaci pomocí C4A může molekula hydrochinonu pravděpodobně přistupovat k elektrodě pomocí mezer mezi naadsorbovanými molekulami C4A. Při vyplnění mezer pomocí $C_{11}SH$ je signál hydrochinonu ještě nižší nežli na elektrodě pokryté pouze $C_{11}SH$.



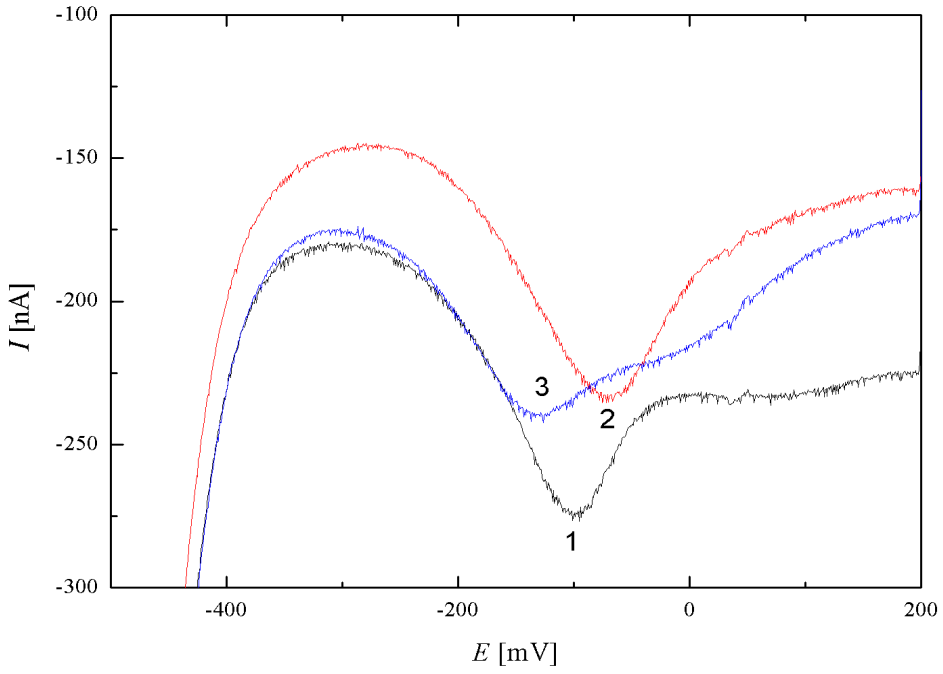
Obr. č. 19: *Cyklické voltamogramy 10^{-3}M hydrochinonu v prostředí 0,1M H_2SO_4 s použitím různých modifikátorů: zlatá polykrystalická elektroda nemodifikovaná (1), modifikovaná C4A (2), modifikovaná $C_{11}SH$ (3) a modifikovaná C4A+$C_{11}SH$ (4). Rychlost polarizace 100 mV/s.*

3.5 Využití SAM pro redukce

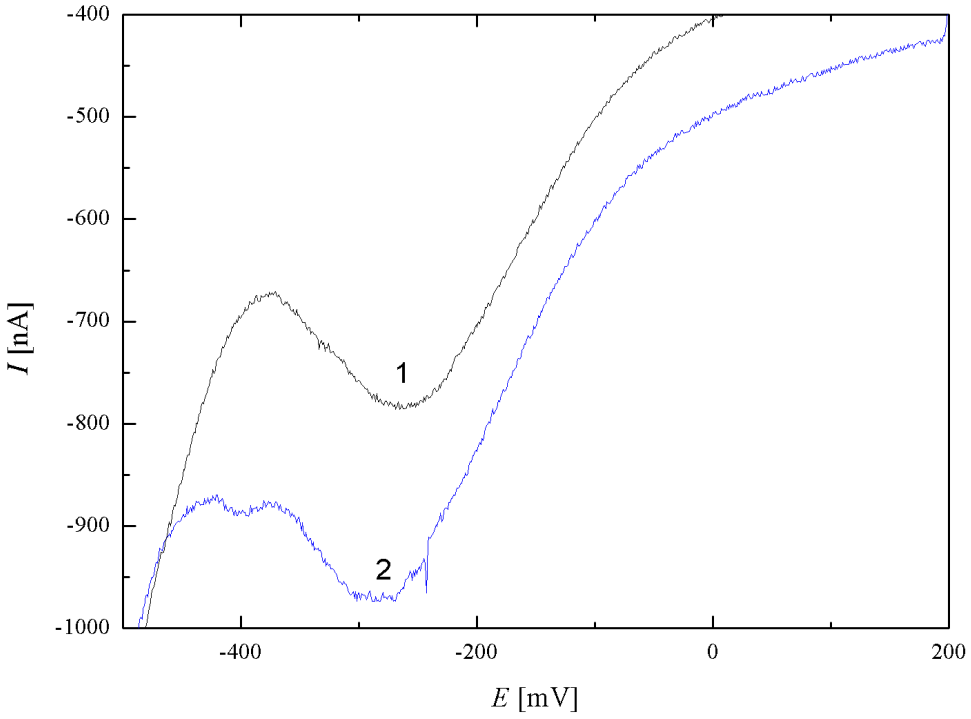
Vlastnosti různě modifikované elektrody byly testovány také pomocí nitroaromatických látek: nitrobenzenu, 2-nitrofenolu a 4- nitrofenolu. Elektroda modifikovaná $C_{11}SH$ nebo C4A+$C_{11}SH$ se chová v oblasti negativních potenciálů pro všechny výše zmíněné nitrolátky jako izolant. Nitrolátky na elektrodě pokryté $C_{11}SH$ neposkytují signál rozlišitelný od pozadí ani v poměrně vysoké koncentrací $5 \cdot 10^{-4}$ M.

Na nemodifikované zlaté elektrodě (Obr. č. 20) poskytují nitrobenzen, 2-nitrofenol i 4-nitrofenol proudový signál. Z křivek je patrné výrazné pozadí, nejméně o řád vyšší, než na elektrodách amalgámových [60]. Totéž lze říci i o křivkách nitrolátek na C4A modifikované zlaté polykrystalické elektrodě (Obr. č. 21). Signál 2-nitrofenolu na C4A modifikované zlaté elektrodě nelze vyhodnotit. U nitrobenzenu dochází k posunu potenciálu píku o −163 mV, u 4-nitrofenolu o −209 mV oproti nemodifikovanému povrchu.

Obecným problémem při redukci nitrolátek na tuhých elektrodách je jejich pasivace. To se děje i zde. Signál klesá s každým opakováním scanu, na holé i modifikované zlaté polykrystalické elektrodě. Pasivaci by šlo pravděpodobně omezit střídavým vkládáním dvojice krátkých potenciálových pulzů (tzv. regeneračních potenciálů) před každým měřením.



Obr. č. 20: *DP voltamogramy 10^{-4}M nitrobenzenu (1), 2-nitrofenolu (2) a 4-nitrofenolu (3) v prostředí 0,1M H_2SO_4:10% MeOH. Rychlost polarizace 5 mV/s. Nemodifikovaná zlatá polykrystalická elektroda.*



Obr. č. 21: *DP voltamogramy 10^{-4}M nitrobenzenu (1) a 4-nitrofenolu (2) v prostředí 0,1M H_2SO_4:10% MeOH. Rychlost polarizace 5 mV/s. Zlatá polykrystalická elektroda modifikovaná C4A.*

4. Závěr

Polykrystalická zlatá elektroda modifikovaná thiolovými SAM je složitým systémem s mnoha proměnnými a omezeními. Přesto je potenciál jejího využití pro měření v anodické oblasti značný, tedy v případě zvolení vhodného modifikátoru elektrody. V oblasti záporných potenciálů má testovaná zlatá polykrystalická elektroda méně stabilní pozadí a horší poměr signál/šum. Nabízí se tak spíše použití stříbrné amalgámové elektrody, protože thioly se velmi pevně váží i na stříbro a rtuť.

Rozsah potenciálů, při kterém je SAM C4A stabilní v katodické oblasti nelze pomocí voltametrických experimentů jednoznačně určit. Vrstva $C_{11}SH$ je velmi stabilní, avšak izoluje elektrodu. Jako atraktivní alternativa thiolových SAM se jeví možnost navázání modifikátoru na elektrodu kovalentně, např. diazoniovými solemi (tzv. *grafting*).

Zdá se, že oxidace hydrochinonu ani redukce nitroaromátů neprobíhají v kavitě C4A. Spojení kavity kalixarenu s elektrodou pomocí propylsulfanylu je nevodivé. Zároveň prostor ve spodním otvoru kavity C4A zřejmě není dostačující, aby se jím dostaly látky o velikosti nitrobenzenu nebo hydrochinonu do dostatečné blízkosti k elektrodě. Ani případné komplexační schopnosti C4A vůči modelovým látkám by tak pravděpodobně výrazně neovlivnily výsledky experimentů.

Na zlaté polykrystalické elektrodě modifikované C4A byl zaznamenán posun půlvlnových potenciálů pro nitrobenzen a 4-nitrofenol, zatímco 2-nitrofenol, na rozdíl od nemodifikované elektrody, neposkytoval vyhodnotitelný signál.

5. Použitá literatura

1. VYSKOCIL, V. AND J. BAREK Mercury Electrodes-Possibilities and Limitations in Environmental Electroanalysis. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 2009, 39(3), 173-188.

2. BAREK, J. Možnosti inovací v elektroanalytické chemii *2006.* Praha. Dostupné z: http://old.vscht.cz/anl/paci/PAC/prezentace/elektroanalytika.pdf.

3. NAVRATIL, T.; ŠVANCARA, I.; MRAZKOVA, K.; NOVAKOVA, K.; ŠESTAKOVA, I.; HEYROVSKY, M. AND D. PELCOVA Mercury and mercury electrodes: The Ultimate Battle for the Naked Existence (A Consideration). Sensing in Electroanalysis 2011, Univerzita Pardubice, Pardubice, 6, 23–53.

4. EDWARDS, G. A., A. J. BERGREN AND M. D. PORTER Chemically Modified Electrodes. Handbook of Electrochemistry, 2007, Elsevier, Amsterdam 295-327.

5. WANG, J. Analytical Electrochemistry 3rd ed., 2006, Wiley-VCH, Hoboken, NJ

6. LERTANANTAWONG, B., A. P. O'MULLANE, W. SURAREUNGCHAI, M. SOMASUNDRUM, et al. Study of the underlying electrochemistry of polycrystalline gold electrodes in aqueous solution and electrocatalysis by large amplitude Fourier transformed alternating current voltammetry. Langmuir, 2008, 24, 2856-2868.

7. OESCH, U. AND J. JANATA Electrochemical Study of Gold Electrodes with Anodic Oxide-Films .1. Formation and Reduction Behavior of Anodic Oxides on Gold. Electrochimica Acta, 1983, 28, 1237-1246.

8. TRASATTI, S. AND O. A. PETRII Real Surface-Area Measurements in Electrochemistry. Pure and Applied Chemistry, 1991, 63, 711-734.

9. OESCH, U. AND J. JANATA Electrochemical Study of Gold Electrodes with Anodic Oxide-Films .2. Inhibition of Electrochemical Redox Reactions by Monolayers of Surface Oxides. Electrochimica Acta, 1983, 28, 1247-1253.

10. LERTANANTAWONG, B., A. P. O'MULLANE, W. SURAREUNGCHAI, M. SOMASUNDRUM, et al. Study of the underlying electrochemistry of polycrystalline gold electrodes in aqueous solution and electrocatalysis by large amplitude Fourier transformed alternating current voltammetry. Langmuir, 2008, 24, 2856-2868.

11. BURKE, L. D., S. GARBARINO, L. M. KINSELLA AND P. F. NUGENT Active surface state behaviour of metals and oxides. Surface Oxide Films, 2004, 2003, 160-170.

12. MA, W., Y. L. YING, L. X. QIN, Z. GU, et al. Investigating electron-transfer processes using a biomimetic hybrid bilayer membrane system. Nature Protocols, 2013, 8, 439-450.

13. CHRISTENSEN, P. A. and A. HAMMET, Techniques and Mechanism in Electrochemistry, 1994 Blackie, New York.

14. VERICAT, C., M. E. VELA, G. BENITEZ, P. CARRO, et al. Self-assembled monolayers of thiols and dithiols on gold: new challenges for a well-known system. Chemical Society Reviews, 2010, 39, 1805-1834.

15. KIBLER, L. A. Preparation and Characterization of Noble Metal Single Crystal Electrode Surfaces. 51st and 53rd annual meeting of the International Society of Electrochemistry. Dostupné z: https://www.uni-ulm.de/fileadmin/website_uni_ulm/nawi.inst.080/mitarbeiter/Kibler/KiblerSingleCrystals2003.pdf

16. TKAC, J. AND J. J. DAVIS An optimised electrode pre-treatment for SAM formation on polycrystalline gold. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2008, 621, 117-120.

17. CARVALHAL, R. T., R. S. FREIRE AND L. T. KUBOTA Polycrystalline gold electrodes: A comparative study of pretreatment procedures used for cleaning and thiol self-assembly monolayer formation. Electroanalysis, 2005, 17, 1251-1259.

18. HOOGVLIET, J. C., M. DIJKSMA, B. KAMP AND W. P. VAN BENNEKOM Electrochemical pretreatment of polycrystalline gold electrodes to produce a reproducible surface roughness for self assembly: A study in phosphate buffer pH 7.4. Analytical Chemistry, 2000, 72, 2016-2021.

19. PASTA, M., A. BATTISTEL AND F. LA MANTIA Lead-lead fluoride reference electrode. Electrochemistry Communications, 2012, 20, 145-148.

20. LOWINSOHN, D., E. M. RICHTER, L. ANGNES AND M. BERTOTTI Disposable gold electrodes with reproducible area using recordable CDs and toner masks. Electroanalysis, 2006, 18, 89-94.

21. MOKHTARI, B., K. POURABDOLLAH AND N. DALALI Molecule and ion recognition of nano-baskets of calixarenes since 2005. Journal of Coordination Chemistry, 2011, 64, 743-794.

22. MOKHTARI, B., K. POURABDOLLAH AND N. DALALI Analytical applications of calixarenes from 2005 up-to-date. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, Feb 2011, 69, 1-55.

23. GUTSCHE, D. C. Calixarenes: An Introduction. 2nd ed, 2008, Royal Society of Chemistry

24. LISKA, A., M. ROSENKRANZ, J. KLIMA, L. DUNSCH, et al. Formation and proof of stable bi-, tri- and tetraradical polyanions during the electrochemical reduction of cone-polynitrocalix[4]arenes. An ESR-UV-vis spectroelectrochemical study. Electrochimica Acta, Sep 2014, 140, 572-578.

25. LISKA, A., P. VOJTISEK, A. J. FRY AND J. LUDVIK Electrochemical and Quantum Chemical Investigation of Tetranitrocalix[4]arenes: Molecules with Multiple Redox Centers. Journal of Organic Chemistry, 2013, 78, 10651-10656.

26. PAN, G. B., J. H. BU, D. WANG, J. M. LIU, et al. Adlayer structures of calixarenes on Au(111) surface studied with STM. Journal of Physical Chemistry B, 2003, 107, 13111-13116.

27. NELLES, G., M. WEISSER, R. BACK, P. WOHLFART, et al. Controlled orientation of cyclodextrin derivatives immobilized on gold surfaces. Journal of the American Chemical Society, 1996, 118, 5039-5046.

28. ZHENG, H., H. M. DONG, Z. N. YAN, L. J. WEN, et al. Determination of copper at a glassy carbon electrode modified with Langmuir-Blodgett film of p-tert-butylthiacalix[4]arene. Electroanalysis, 2006, 18, 2115-2120.

29. AOUNI, F., A. ROUIS, H. BEN OUADA, R. MLIKA, et al. Electrical characterisation of calixarene-sensitive spin-coated layers. Materials Science & Engineering C-Biomimetic and Supramolecular Systems, 2004, 24, 491-495.

30. ARRIGAN, D. W. M., G. SVEHLA, S. J. HARRIS AND M. A. MCKERVEY Use of Calixarenes as Modifiers of Carbon-Paste Electrodes for Voltammetric Analysis. Electroanalysis, Feb 1994, 6, 97-106.

31. CANNIZZO, C., M. WAGNER, J. P. JASMIN, C. VAUTRIN-UL, et al. Calix[6]arene mono-diazonium salt synthesis and covalent immobilization onto glassy carbon electrodes. Tetrahedron Letters, 2014, 55, 4315-4318.

32. MATTIUZZI, A., I. JABIN, C. MANGENEY, C. ROUX, et al. Electrografting of calix[4]arenediazonium salts to form versatile robust platforms for spatially controlled surface functionalization. Nature Communications, 2012, 3, 1130.

33. ULMAN, A. Formation and structure of self-assembled monolayers. Chemical Reviews, 1996, 96, 1533-1554.

34. TORRELLES, X., C. VERICAT, M. E. VELA, M. H. FONTICELLI, et al. Two-site adsorption model for the (root 3 x root 3)-R30 degrees dodecanethiolate lattice on Au(111) surfaces. Journal of Physical Chemistry B, 23 2006, 110, 5586-5594.

35. MUNAKATA, H., D. OYAMATSU AND S. KUWABATA Effects of omega-functional groups on pH-dependent reductive desorption of alkanethiol self-assembled monolayers. Langmuir, 2004, 20, 10123-10128.

36. DONEUX, T., M. STEICHEN, A. DE RACHE AND C. BUESS-HERMAN Influence of the crystallographic orientation on the reductive desorption of self-assembled monolayers on gold electrodes. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2010, 649, 164-170.

37. PRCHAL, V., V. VYSKOCIL, A. DANHEL, J. BAREK, et al. The Use of a Hanging Mercury Drop Electrode Modified with Octane-1-thiol in Voltammetric Analysis of Genotoxic Environmental Pollutants. Chemicke Listy, 2011, 105, 217-224.

38. JOSYPCUK, B., M. FOJTA AND O. YOSYPCHUK Thiolate monolayers formed on different amalgam electrodes. Part II: Properties and application. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2013, 694, 84-93.

39. RAJ, C. R. AND T. OHSAKA Voltammetric detection of uric acid in the presence of ascorbic acid at a gold electrode modified with a self-assembled monolayer of heteroaromatic thiol. Journal of Electroanalytical Chemistry,2003, 540, 69-77.

40. GEBALA, M., G. HARTWICH AND W. SCHUHMANN Amplified detection of DNA hybridization using post-labelling with a biotin-modified intercalator. Faraday Discussions, 2011, 149, 11-22.

41. ZHENG, G., M. CHEN, X. Y. LIU, J. ZHOU, et al. Self-assembled Thiolated Calix[n]arene (n=4, 6, 8) Films on Gold Electrodes and Application for Electrochemical Determination Dopamine. Electrochimica Acta, 2014, 136, 301-309.

42. SNEJDARKOVA, M., A. POTURNAYOVA, P. RYBAR, P. LHOTAK, et al. High sensitive calixarene-based sensor for detection of dopamine by electrochemical and acoustic method. Bioelectrochemistry, 2010, 80, 55-61.

43. COLLYER, S. D., S. BRADBURY, F. DAVIS, J. V. HATFIELD, et al. Calix[4]resorcinarenetetrathiol modified gold electrodes: Applications to the adsorption and electrochemical determination of N-nitrosamines. Electroanalysis, 2004, 16, 324-327.

44. HASSEN, W. M., C. MARTELET, F. DAVIS, S. P. J. HIGSON, et al. Calix[4]arene based molecules for amino-acid detection. Sensors and Actuators B-Chemical, 2007, 124, 38-45.

45. BECKER, A., H. TOBIAS, Z. PORAT AND D. MANDLER Detection of uranium(VI) in aqueous solution by a calix[6]arene modified electrode. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2008, 621, 214-221.

46. DEMIRKOL, D. O., H. B. YILDIZ, S. SAYIN AND M. YILMAZ Enzyme immobilization in biosensor constructions: self-assembled monolayers of calixarenes containing thiols. RSC Advances, 2014, 4, 19900-19907.

47. CAVALLERI, O., M. VIGNOLO, G. STRANO, C. NATALE, et al. Self-assembled monolayers of organosulphur molecules bearing calix[4]arene moieties. Bioelectrochemistry, 2004, 63, 3-7.

48. PANG, T. T., Z. F. CAI, H. L. LIU, L. M. DU, et al. Determination Of Tryptophan Using A P-Sulfonated Calix [4,6,8]Arene Modified Gold Electrode. Analytical Letters, 2014, 47, 1808-1820

49. AMIRI, A., E. Y. CHOI AND H. J. KIM Development and molecular recognition of Calixcrownchip as an electrochemical ALT immunosensor. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry,2010, 66, 185-194.

50. SUSTROVA, B., K. STULIK, V. MARECEK AND P. JANDA A Study of the Modification of the Gold Electrode Surface with a Calix[4]arene Self-Assembled Monolayer. Electroanalysis, 2010, 22, 2051-2057.

51. SUSTROVA, B., K. STULIK AND V. MARECEK Modification of a Polycrystalline Gold Electrode by Thiolated Calix[4]arene and Undecanethiol: Self-assembly Process versus Electrochemical Deposition. International Journal of Electrochemical Science, 2013, 8, 4367-4383.

52. KOVACIC, P. AND R. SOMANATHAN Nitroaromatic compounds: Environmental toxicity, carcinogenicity, mutagenicity, therapy and mechanism. Journal of Applied Toxicology, 2014, 34, 810-824.

53. LUND, H AND HAMMERICH, O Organic electrochemistry. 4th ed. 2001 M. Dekker: New York,

54. VYSKOCIL, V. AND J. BAREK Electroanalysis of Nitro and Amino Derivatives of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Current Organic Chemistry, 2011, 15, 3059-3076.

55. UBEROI, V. AND S. K. BHATTACHARYA Toxicity and degradability of nitrophenols in anaerobic systems. Water Environment Research, Mar-Apr 1997, 692, 146-156.

56. NDLOVU, T., O. A. AROTIBA, R. W. KRAUSE AND B. B. MAMBA Electrochemical Detection of o-Nitrophenol on a Poly(propyleneimine)-gold Nanocomposite Modified Glassy Carbon Electrode. International Journal of Electrochemical Science, 2010, 5, 1179-1186.

57. KONOPKA, S. J. AND B. MCDUFFIE Diffusion Coefficients of Ferricyanide and Ferrocyanide Ions in Aqueous Media, Using Twin-Electrode Thin-Layer Electrochemistry. Analytical Chemistry, 1970, 42, 1741.

58. WALCZAK, M. M., D. D. POPENOE, R. S. DEINHAMMER, B. D. LAMP, et al. Reductive Desorption of Alkanethiolate Monolayers at Gold - a Measure of Surface Coverage. Langmuir, 1991, 7, 2687-2693.

59. COELHO, D. AND S. A. S. MACHADO New contribution in the study of phase formation in mixed alkanethiol self-assembled monolayers: a powerful tool for transducers design. Electrochimica Acta, 2014, 142, 191-201.

60. NOVAKOVA, K., V. HRDLICKA, T. NAVRATIL, V. VYSKOCIL, et al. Determination of 5-nitroindazole using silver solid amalgam electrode. Monatshefte Fur Chemie, 2015, 146, 761-769.