

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

Studijní program: Analytická chemie



Mgr. Věra Mansfeldová

Časově rozlišená potenciometrie na kapalném mezifázi

Time-resolved potentiometry on liquid-liquid interface

Disertační práce

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: RNDr. Karel Nesměrák, Ph. D.

Školitel-konzultant: Ing. Pavel Janda, CSc

Praha, 2016

Prohlášení:

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

V Praze, 28.06.2016

Podpis

Abstrakt

Cílem této práce bylo prozkoumat využití časového průběhu signálu v potenciometrii jako možné nové elektrochemické analytické metody. Ve spojení s mezifázím dvou nemísitelných roztoků elektrolytů (ITIES) kapalin může mít tato technika, která podle dostupných informací nebyla dosud publikována, využití v analytické chemii. Potenciálová odezva analytu na mezifázi kapalina/kapalina zahrnuje distribuční procesy, jejich časový vývoj a redoxní procesy, jejichž specifčnost může být modifikována změnou složení jednotlivých fází. Na rozdíl od „klasických“ potenciometrických technik, které se omezují pouze na stanovení změny potenciálu, metoda, kterou jsem pracovně nazvala *časově rozlišená potenciometrie na kapalném mezifázi*, využívá časového průběhu potenciálové odezvy, která má specifický průběh pro daný analyt. Časově rozlišená potenciometrie prezentovaná v této práci zahrnuje průběh časové odezvy potenciálu a její obalovou křivku do analytických parametrů specifických pro daný analyt. Poskytuje tak sérii dat charakterizujících analyt v daném prostředí podobným způsobem jako je tomu u spekter a poskytuje tak možnost vytvoření vysoce specifického souboru - tzv. „fingerprintu“. Kombinace s kapalným mezifázím umožňuje, na rozdíl od potenciometrie na pevné elektrodě, snadnou modifikaci kapalně fáze pouhým rozpuštěním mediátoru, kterým může být sloučenina s redox vlastnostmi, katalyticky aktivní látka nebo iontový přenašeč (*ion transfer compound*). Mimo to kapalná fáze umožňuje, ve srovnání s pevnými elektrodami, snadnější regeneraci pouhou výměnou ze zásobního roztoku. Toto uspořádání představuje rovněž biomimetický model ilustrující potenciálovou reakci kapalně membrány, jež je v literatuře zmiňována velmi řídko.

Pro stacionární nevodnou fázi bylo použito roztoků modelových redox mediátorů na bázi ftalocyaninu, nerozpustných v pracovní – vodné fázi, čímž se zamezilo ztrátám mediátoru („bleeding“). Dále obsahuje fázový přenašeč TBA^+X^- zprostředkující transfer mezi vodnou a nevodnou fází. Ostatními experimentálně proměnnými složkami bylo složení elektrolytu a analytu. Jako analyt bylo modelově použito sulfidových sloučenin, jež poskytují široké spektrum reakčních cest.

První část disertace je zaměřena na charakterizaci nově syntetizovaných ftalocyaninů metodami UV/Vis spektroskopii a cyklickou voltametrií na kapalinou modifikované elektrodě. Druhá část této disertace ukazuje na reakci modelového analytu, které parametry ovlivňují odezvu časově rozlišené potenciometrie. Na závěr jsou demonstrovány možnosti využití metody a navržena cela pro praktické aplikace.

Abstract

The aim of this work is to explore the method of temporal resolution in potentiometry as a new prospective electrochemical analytical technique. In connection with interface of two immiscible electrolyte solutions (ITIES) it may find utilization in analytical chemistry. This technique up to my knowledge has not been published yet. Potential response of analyte on liquid/liquid interface includes both distribution processes, their temporal resolution and redox processes, which specificity can be modified by changing the composition of individual phases. Unlike „classic“ potentiometric techniques, limited just to potential determination, this method, which I have given the working name „time resolved potentiometry at liquid-liquid interface“ utilizes time development of potential response, which was found to be an analyte-specific function. The time resolved potentiometry presented in this work includes time course of potential response to analytical parameters specific for particular analyte. It brings series of data characterizing the analyte in given environment in a similar manner as spectra and may allow creating analyte-specific data package – fingerprint. Combination with ITIES allows, unlike potentiometry on solid electrode, easy modification of liquid phase by simple dissolving mediator, which can be either redox compound, catalytically active species or ion transfer compound. Besides, the liquid phase allows, compared to solid electrodes, easy regeneration by the solution replacement. This arrangement represents biomimetic model addressing the issue of potential response on liquid membrane, which is scarce in the literature.

For stationary nonaqueous phase redox mediators based on phthalocyanines, insoluble in water phase, were utilized, to avoid their bleeding to mobile aqueous phase. Further it contains the phase transfer agent TBA^+X^- , which mediate the transfer between aqueous and nonaqueous phase. Other experimentally variable components are composition of electrolyte and analyte. Sulphide compounds served as model analytes with numerous reaction pathways.

The first part of thesis is focused on characterization of newly synthesized phthalocyanines by UV/Vis spectroscopy, cyclic voltammetry at liquid phase modified solid electrode. The second part illustrates on model analyte which parameters affect the response of time resolved potentiometry. Conclusively, applicability of the technique is demonstrated and the construction functional model of sensor is presented.

Předmětová hesla:

Analytická chemie, elektrochemická analýza, potenciometrie

Klíčová slova:

ITIES, elektrochemie, průtokové techniky, časově rozlišená potenciometrie, kvalitativní analýza, ftalocyanin, sulfid sodný, cystein

Subject words:

Analytical chemistry, electrochemical analysis, potentiometry

Key words:

ITIES, electrochemistry, flow techniques, time-resolved potentiometry, qualitative analysis, phthalocyanine, sodium sulphide, cysteine

Tato disertační práce vznikla na základě výsledků získaných v letech 2008 až 2016 během mého doktorského studia na Katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze, Hlavova 2030, 128 43, Praha 2 a za mého působení na Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského, AV ČR, v. v. i..

Tato disertační práce vznikla za finanční podpory Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy (projekt MSMT 0021620857) a projektu SVV 260317 Univerzity Karlovy v Praze.

Školitel: RNDr. Karel Nesměrák, Ph. D.
Katedra analytická chemie
Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze

Školitel-konzultant: Ing. Pavel Janda, CSc.
Oddělení elektrochemických materiálů
Ústav fyzikální chemie Jaroslava Heyrovského AV ČR, v. v. i.

Poděkování:

Jen málo prací vznikne bez pomoci a rady těch, kteří jsou tak laskavi a přispějí k jejich napsání svými znalostmi a jsou inspirací při řešení potíží, kdy je důležitý jejich nadhled.

Ze všech takových pomocníků mi poskytli dlouhodobě neocenitelnou pomoc především Ing. Pavel Janda, CSc. a RNDr. Hana Tarábková, Ph. D. z Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v. v. i. a RNDr. Karel Nesměrák, Ph. D. z Katedry analytické chemie, UK PřF.

Za poskytnutí zázemí děkuji Katedře analytické chemie během mých vysokoškolských let a za všeobecnou podporu, spolupráci a optimismus nejen v těžkých chvílích děkuji kolegům z oddělení elektrochemických materiálů, z oddělení molekulární elektrochemie a Ing. Květoslavě Stejskalové, CSc. z Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v. v. i..

A zvláště pak chci poděkovat Radku Mansfeldovi a dceři Jolaně, ze kterých se k mému překvapení a potěšení vyklubaly jedny z nejtrpělivějších osob, které snášely mou fyzickou i duševní nepřítomnost.

Všechny chyby jsou mé vlastní a nezpochybňují moudrost a znalosti těch, u nichž jsem hledala pomoc.

Věra Mansfeldová, Praha 2016

Obsah

1	TEORETICKÁ ČÁST.....	12
1.1	CÍLE PRÁCE	12
1.2	MEZIFÁZÍ MEZI DVĚMA NEMÍŠITELNÝMI ELEKTROLYTY-INTERFACE BETWEEN TWO IMMISCIBLE ELECTROLYTE SOLUTIONS – ITIES	12
1.3	ITIES V POTENCIOMETRII	16
1.4	POTENCIOMETRIE NA DUÁLNÍM ITIES	17
1.5	PRAKTICKÉ APLIKACE ITIES	21
1.5.1	SEPARAČNÍ METODY	21
1.5.2	ELEKTROANALYTICKÉ METODY	22
1.5.3	FARMAKOLOGICKÉ POUŽITÍ	23
1.6	MODELOVÉ ANALYTY – Na_2S , HYDROCHLORID CYSTEINU	23
1.7	REDOX MEDIÁTORY - FTALOCYANINY – CoTNPC, NíTNPC,.....	24
2	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	26
2.1	CHEMIKÁLIE	26
2.2	PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ	28
3	VÝSLEDKY A DISKUSE.....	29
3.1	CHARAKTERIZACE FTALOCYANINŮ.....	29
3.1.1	SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ STABILITY.....	29
3.1.2	VÝVOJ SPEKTROELEKTROCHEMICKÉ CELY	31
3.1.3	ELEKTROCHEMICKÉ CHOVÁNÍ FTALOCYANINU	34
3.1.4	SPEKTROELEKTROCHEMICKÉ CHOVÁNÍ FTALOCYANINU	36
3.2	POTENCIOMETRIE NA DUÁLNÍ ITIES.....	37
3.2.1	PARAMETRY NEVODNÉ ČÁSTI SENZORU OVLIVŇUJÍCÍ ODEZVU.....	41
3.2.1.1	VOLBA NEVODNÉHO ROZPOUŠTĚDLA.....	41
3.2.1.2	VOLBA NEVODNÉHO ELEKTROLYTU.....	42
3.2.1.3	VOLBA MEDIÁTORU	43
3.2.1.4	VLIV KONCENTRACE MEDIÁTORU	46
3.2.2	PARAMETRY VODNÉ ČÁSTI SENZORU OVLIVŇUJÍCÍ ODEZVU	48
3.2.2.1	VLIV RYCHLOSTI PRŮTOKU MOBILNÍ FÁZE	48
3.2.2.2	VLIV PH	49
3.2.2.3	VLIV IONTOVÉHO SLOŽENÍ ANALYTU	52
3.2.3	APLIKACE ČASOVĚ ROZLIŠENÉ POTENCIOMETRIE.....	54
3.2.3.1	STUDIUM DĚJŮ NA MEZIFÁZÍ	54
3.2.3.2	KVALITATIVNÍ ANALÝZA	56
3.2.3.3	NÁVRH KONSTRUKCE CELY PRO PRAKTICKÉ APLIKACE.....	59
4	ZÁVĚR	62

5	LITERATURA.....	63
6	SEZNAM PUBLIKACÍ, PŘEDNÁŠEK A PLAKÁTOVÝCH SDĚLENÍ.....	69
7	PROHLÁŠENÍ O SPOLUAUTORSTVÍ.....	72
8	PŘÍLOHY.....	73
	PUBLIKACE I.....	73
	PUBLIKACE II.....	81
	PUBLIKACE III.....	91

Seznam zkratek a symbolů

a_{i,C^+,A^-}	aktivita iontu, kationtu, aniontu
A^+	aniont
c	molární koncentrace [mol dm^{-3}]
C^+	kationt
CoTNPc	tetraneopentoxy ftalocyanin kobaltnatý
D	distribuční koeficient
<i>o</i> -DCB	<i>ortho</i> -dichlorbenzen; 1,2-dichlorbenzen
1,2-DCE	1,2-dichlorethan
DMFC	dekamethylferrocen
e	elektronový náboj
$E_{1/2}$	půlvlnový potenciál
$E_{\text{cely, R, L, j}}$	potenciál cely, pravé strany, levé strany, mezifázi
$E_{p,a}$	potenciál píku, anodický potenciál
$E_{\text{ref, vMOB, vSTAT}}$	potenciál referenční elektrody, potenciál měřený v mobilní vodné fázi, potenciál měřený ve stacionární vodné fázi
F	Faradayova konstanta, $96\,485\text{ C}\cdot\text{mol}^{-1}$
FIA	flow injection analysis
G	Galvanický potenciál
GC	z anglického názvu „Glassy Carbon“ - skelný uhlík
$\Delta G_{tr}(1 - 2)$	volná energie transferu iontů z rozpouštědla 1 do rozpouštědla 2
HOPG	z anglického názvu „Highly Orientated Pyrolytic Graphite“ - vysoce orientovaný pyrolytický grafit
$I_{pa, pc}$	anodický proud píku, katodický proud píku
ISE	iontově selektivní elektroda
ITIES	Interface between two immiscible electrolyte solutions
K	disociační konstanta reakce
MePc	ftalocyanin s volitelným centrálním atomem kovu
MSE	merkurosulfátová elektroda
N_A	Avogadrova knstanta
NB	nitrobenzen
NiTNPc	tetraneopentoxy ftalocyanin nikelnatý
O, o	organická fáze, nevodná fáze

O1,2	oxidovaná forma
OPG	z anglického názvu „Ordinary Pyrolytic Graphic“ – běžný pyrolytický grafit
P	rozdělovací koeficient
Pc	Ftalocyanin, z anglického názvu „phthalocyanine“
PVDF	polyvinyliden difluorid
r	poměr objemů jednotlivých fází
r_i	poloměr iontu
R	molární plynová konstanta, $8,314 \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$
R1,2	redukováná forma
RE	referenční elektroda
SCE	saturovaná kalomelová elektroda
SEM	rastrovací elektronový mikroskop
t	čas
T	termodynamická teplota
TBA ⁺	tetrabutylamonný kationt
TBABF ₄	tetrafluoroborát tetrabutylamonný
TBACl	chlorid tetrabutylamonný
TBAClO ₄	chloristan tetrabutylamonný
TBAPF ₆	hexafluorofosfát tetrabutylamonný
THA ⁺	tetrahexylamonný kationt
THpA ⁺	tetraheptylamonný kationt
TOA ⁺	tetraoktylamonný kationt
$V^{n,o}$	objem vodné fáze, objem organické fáze
V, v	voda nebo vodné prostředí
$V_{\text{STAT, MOB}}$	vodná fáze stacionární, mobilní
z_i	náboj iontu
λ	vlnová délka [nm]
ϕ	elektrický potenciál
ϵ_0	permitivita volného prostoru
$\epsilon_{1,2}$	relativní permitivita rozpouštědla 1 a 2

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Cíle práce

Cílem práce bylo prozkoumat časový průběh odezvy potenciometrického senzoru na bázi kapalného mezifázi a možnosti jeho využití v analytické chemii. K zjištění parametrů ovlivňující chování látek na rozhraní dvou kapalin bylo nutné navrhnout celu, která by umožňovala opakované měření a snadnou modifikaci parametrů experimentu tj. složení a objemy nevodné a vodné části senzoru, volbu stacionárního nebo průtokového uspořádání. Ve finální části práce bylo cílem ukázat možnosti praktických aplikací časově rozlišené potenciometrie a prezentovat konstrukci cely umožňující rutinní měření.

1.2 Mezifázi mezi dvěma nemísitelnými elektrolyty-Interface between two immiscible electrolyte solutions - ITIES

Reálné rozhraní je nejčastěji tvořeno vodnou a nevodnou fází - organickým rozpouštědlem s nízkou rozpustností ve vodě. Nejjednodušší systém, který byl využíván již ve starověku k extrakci účinných léčivých látek či jedů a barviv z rostlinných materiálů, je mezifázi voda/olej. Ideální kapalná mezifázi vzniká na rozhraní mezi dvěma zcela nemísitelnými kapalinami a tento přechod je zcela ostrý. Přechod mezi jednotlivými typy fází u reálného mezifázi není ostrý [1] a jeho šířka se liší v závislosti na použitém rozpouštědle a lze ji stanovit rentgenovou a neutronovou difrakcí [2]. Například pro mezifázi nitrobenzen/voda bylo naměřeno 450 pm, pro hexadekan/voda je síla mezifázi 600 pm a pro uspořádání 2-heptanon/voda dosahovala tloušťka mezifázi až 700 pm. Přidání elektrolytu způsobí, že obě fáze jsou vodivé a přenos iontů a náboje generuje na mezifázi potenciálový rozdíl. Z rozhraní dvou nemísitelných kapalin se tak stává rozhraní dvou nemísitelných elektrolytů - ITIES. Samotná struktura tohoto mezifázi je popsána jako dvojvrstva, kdy jedna vrstva je vodná fáze nasycená nevodnou fází, na kterou navazuje nevodná fáze nasycená vodnou fází [3, 4]. Ke studiu kapalného mezifázi jsou neustále vyvíjeny nové metody [5]. Optické metody umožňují studovat strukturu mezifázi.

Struktura mezifází může být rovněž ovlivněna elektrickou polarizací [6], kdy vlivem vloženého potenciálu dochází ke změně plochy kapalného mezifází vyboulením či zanořením nevodné do vodné fáze [7]. V případě vkládání potenciálu na polymerní mezifází kapalina/kapalina dochází ke vzniku pravidelných porézních struktur [8].

Nejčastěji používanými nevodnými rozpouštědly v ITIES jsou 1,2-dichlorethan [9] (1,2-DCE), nitrobenzen [10, 11] (NB), 1,2 – dichlorbenzen (*o*-DCB) a další [12, 13]. Jejich vlastnosti jsou shrnuty v tabulce 1.1. Oproti 1,2-DCE je dvojnásobná viskozita *o*-DCB a významně je nižší rozpustnost *o*-DCB ve vodě i vody v *o*-DCB. Což je výhodné zejména k dlouhodobému užívání *o*-DCB, jehož vlastnosti zaručují minimální únik do vodného prostředí.

Tabulka 1.1: Vlastnosti organických rozpouštědel používaných v ITIES.

Parametr	Zkratka	Rozpouštědlo		
		1,2 –dichlorethan	nitrobenzen	1,2 - dichlorbenzen
	Zkratka	1,2-DCE	NB	<i>o</i> -DCB
Hmotnost	M/g mol ⁻¹	98.96 ^a	123.11 ^a	147.002 ^d
Hustota	ρ/g cm ⁻³	1.2458 ^a	1.1984 ^a	1.3059 ^d
Relativní dielektrická permitivita	ε _r	10.36 ^a	34.82 ^a	9.93 ^e
Rozpustnost org. rozpouštědla ve vodě	c ⁰ _s /mol dm ⁻³	8.5×10 ^{-2a}	1.5×10 ^{-2a}	9.94×10 ^{-4b}
Rozpustnost v org. rozpouštědle	vody c ⁰ _{aq} /mol dm ⁻³	0.11 ^a	0.2 ^c	2.09×10 ^{-2b}
Viskozita	(cP)	0.73 ^c	1.62 ^c	1.324 ^e

^a Samec Z.: Electrochemistry at the interface between two immiscible electrolyte solutions, *Pure Appl. Chem.* **76**, 2147–2180 (2004).

^b Z IUPAC při 25°C http://srdata.nist.gov/solubility/sol_detail.aspx?goBack=Y&sysID=20_68

^c Izutsu K.: (2003) Properties of Solvents and Solvent Classification, in *Electrochemistry in Nonaqueous Solutions*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, FRG. doi: 10.1002/3527600655.ch1, str. 6.

^d Donald Mackay, Wan-Ying Shiu, Kuo-Ching Ma, Sum Chi Lee, *Handbook of Physical-Chemical Properties and Environmental Fate for Organic Chemicals*, Second Edition, CRC Press, 14. 3. 2006, str. 1268

^e Lide D.R.: *CRC Handbook of Chemistry and Physics 86TH Edition 2005-2006*. CRC Press, Taylor & Francis, Boca Raton, FL 2005, str. 6-177.

Změnou rozpouštědla lze ovlivnit povrchový potenciál [14] a přenos látek [15] přes mezifází voda/nevodná fáze. V poslední době jsou organická rozpouštědla často nahrazena moderními iontovými kapalinami, které mají nižší rozpustnost ve vodě a naopak vyšší vodivost. Jejich další nespornou výhodou je možnost jejich přípravy na míru požadavkům konkrétního experimentálního uspořádání [16, 17].

Nejčastěji používanými elektrolyty pro vodnou fázi jsou anorganické soli ve formě chloridů jako LiCl či MgCl₂, ale i organické soli – nejčastěji chlorid tetrabutylamonný (TBACl), zatímco pro organickou fázi se používají převážně právě kvartérní amoniové (např. tetrabutylamonné, tetraetylamonné, bis(trifenylfosforanylid)amonné) nebo kvartérní borátové (např. tetrakis(4-chlorofenyl)borátové či tetrakis[3,5-bis(trifluorometyl)fenyl] borátové) a tetrafenylarsenidové kationty.

Volba elektrolytu rovněž mění vlastnosti mezifází. Povrchové napětí, které ovlivňuje adsorpci elektrolytu na mezifázi kapalina-kapalina může být ovlivněno jak velikostí celého iontového páru, tak i samotným kationtem. V literatuře [18] existují rozdíly v pojetí, jestli se povrchové napětí mezifází snižuje či zvyšuje s délkou alkylového řetězce TBA⁺ < THA⁺ < THpA⁺ < TOA⁺. Povrchový potenciál nepolarizovatelného mezifází nezávisí na koncentraci elektrolytu, jak tomu je v případě difúzního potenciálu.

Na rozhraní dvou nemísitelných roztoků elektrolytů mohou probíhat dva základní typy procesů [19] (obr. 1.1):

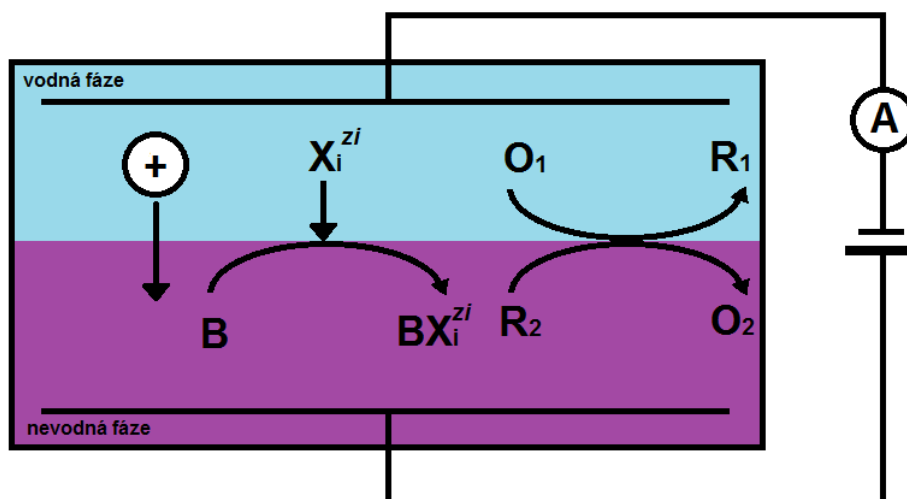
a) Přenos iontů X_i^{zi} s nábojem zi mezi vodnou (v) a organickou fází (o), který může probíhat přímo nebo asistovaně přes iontového přenašeče



b) Přenos elektronů mezi redoxním párem O₁/R₁ ve vodné fázi a redoxním párem O₂/R₂ v organické fázi



Kromě těchto heterogenních (mezifázových) reakcí mohou probíhat rovněž homogenní chemické reakce a komplexotvorné reakce uvnitř vodné nebo organické fáze. Dále může na mezifázi probíhat přenos molekul vodného a organického rozpouštědla.



Obr. 1.1: Typy reakcí na mezifázi dvou nemísitelných kapalin.

Každá složka elektricky nabitě fáze, která podléhá přenosu iontů přes mezifázi, vytváří elektrický potenciál mezifázi, který odpovídá rozdílu potenciálů uvnitř jedné a druhé fáze, tedy v našem případě vodné a nevodné fáze:

$$\Delta_o^v \phi = \phi^v - \phi^o = \Delta_o^v \phi_i^\theta + \frac{RT}{z_i F} \ln \left(\frac{a_i^o}{a_i^v} \right) \quad (1.3)$$

kde $\Delta_o^v \phi_i^\theta$, je standardní Galvanioho potenciál přenosu iontu, který je definován pomocí rovnice

$$\Delta_o^v \phi_i^\theta = \frac{\Delta G_{tr,i}^{\theta,v \rightarrow o}}{z_i F} \quad (1.4)$$

a $\Delta G_{tr,i}^{\theta,v \rightarrow o}$, je standardní molární Gibbsova energie přenosu iontu z vodné do nevodné fáze.

Hodnoty $\Delta G_{tr,i}^{\theta,v \rightarrow o}$ pro hydrofilní ionty jsou pozitivní, pro hydrofobní ionty dosahují negativních hodnot.

Poměr aktivitních koeficientů iontu v jednotlivých fázích odpovídá rozdělovacímu koeficientu

$$P_i = \frac{a_i(o)}{a_i(v)} = \exp \left[\frac{z_i F (\Delta_o^v \phi - \Delta_o^v \phi_i^\theta)}{RT} \right] \quad (1.5)$$

Podobně přenos elektronu přes mezifázi způsobí vytvoření potenciálového rozdílu

$$\Delta_o^v \phi = \Delta_o^v \phi_{el}^o + \frac{RT}{F} \ln \frac{a_{O_2}(o)a_{R_1}(v)}{a_{R_2}(o)a_{O_1}(v)} \quad (1.6)$$

kde galvanický potenciálový rozdíl elektronového přenosu (nebo standardní potenciál elektronového přenosu), $\Delta_o^v \phi_{el}^o$, je vztažen ke standardní Gibsově energii elektronového přenosu z organické fáze (o) do vodné fáze (v), $\Delta_o^v G_{el}^o$

$$\Delta_o^v \phi_{el}^o = \frac{\Delta_o^v G_{el}^o}{F} \quad (1.7)$$

Ke studiu přenosu iontů přes mezifázi dvou nemísitelných kapalin je často používána elektrochemická mikroskopie [20].

ITIES lze dělit na polarizovatelné a nepolarizovatelné. Pokud je rozdělovací rovnováha dána jedním elektrolytem v obou fázích, pak se jedná o nepolarizovatelné ITIES. V případě, že je rozdělovací rovnováha dána více než dvěma ionty, jde o polarizovatelné ITIES [19]. Další podrobnější informace o ITIES lze nalézt v literatuře [1, 19, 21, 22].

1.3 ITIES v potenciometrii

Měření rovnovážného potenciálu na kapalném mezifázi patřilo mezi první experimenty, které se v oblasti elektrochemie na nemísitelném mezifázi prováděly [23].

Vyjdeme-li ze schématu pro měření rozdílu rovnovážných potenciálů na mezifázi organická fáze/voda [19], pak největším problémem je volba referenční elektrody v nevodné fázi. Použití klasické vodné referenční elektrody (nasycené kalomelové, argentschloridové...) s sebou přináší vznik druhého ITIES. Jednoduché schematické znázornění pak může vypadat podobně, jako v následujícím schématu,



kde jednoduché lomítko představuje fázový přechod a dvojitě lomítko představuje kapalnou

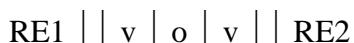
přechod. RE je označení pro běžné referenční elektrody používané ve vodném prostředí. Označení v nebo v' je pro vodnou fázi a označení o nebo o' je pro nevodnou fázi, kterou bývá obvykle organické rozpouštědlo s nízkou rozpustností ve vodě. Jak vodná, tak nevodná fáze obsahují jeden nebo více typů elektrolytů.

Rovnovážený potenciál mezi referenčními elektrodami RE ve schématu (1) lze pak definovat jako

$$E = E_R - E_L = \Delta_o^v \phi - \Delta_o^{v'} \phi + E_j = \Delta_o^v \phi - E_{ref} \quad (1.9)$$

kde E_R a E_L znázorňují potenciál pravé a levé referenční elektrody a E_j představuje potenciál na kapalném mezifázi mezi nevodnou fází o/o'. Potenciálový rozdíl $\Delta_o^{v'} \phi$ může být udržován konstantní pomocí rovnovážné koncentrace solí nebo iontů.

Využitím symetrického uspořádání na obou stranách nevodné fáze, dojdeme ke zjednodušenému schématu



kde $E = E_R - E_L = \Delta_o^v \phi - \Delta_o^v \phi$,

pak při totožnosti složení levé a pravé strany včetně totožnosti referenčních elektrod $RE1 = RE2$ je potenciálový rozdíl $E = 0$.

1.4 Potenciometrie na duálním ITIES

V této práci byl sledován potenciálový rozdíl na rozhraní dvou kapalných mezifází systému voda/organické rozpouštědlo/voda. Jedna vodná fáze byla použita jako stacionární-referenční, druhá jako mobilní, která zároveň sloužila jako fáze dopravující analyt od dávkovací smyčky k mezifázi voda/ nevodné fázi. Rozdělení analytu mezi jednotlivé fáze je zprostředkováno TBAX který disociuje podle následující reakce



a poskytuje tak pomocné ionty pro zachování elektroneutality. $TBA^+ X^-$ napomáhá přenosu analytu do nevodné fáze, jeho rozdělení do jednotlivých fází a ustálení mezifázového (Galvanického) potenciálu [24]. Všechny fáze byly předem saturovány ionty $TBA^+ X^-$, což udržuje konstantní koncentraci a zabraňuje vyplavování těchto iontů z nevodné do vodné fáze. Potenciálový rozdíl byl měřen pomocí dvou referenčních elektrod, kdy jedna byla ponořena ve statické vodné fázi a druhá v mobilní vodné fázi. Toto uspořádání tedy umožňuje použití klasických SCE elektrod. V následujícím schématu je zobrazeno celé uspořádání

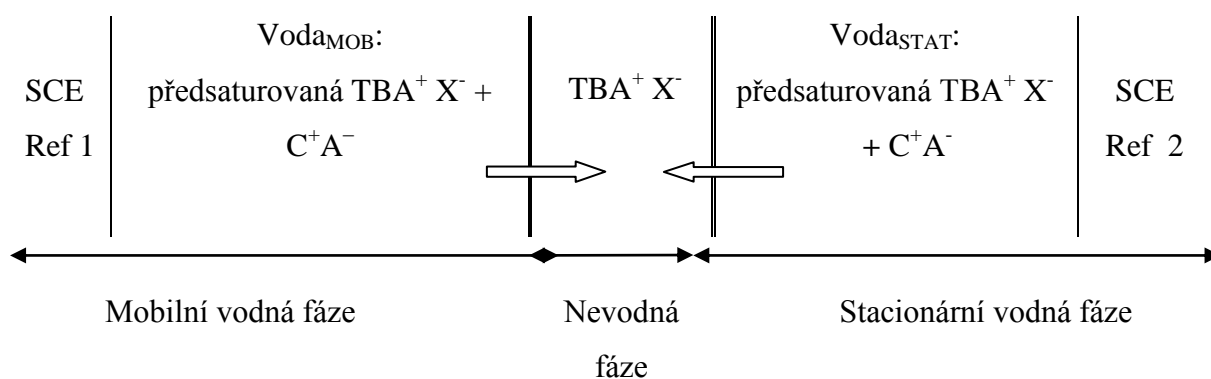


Schéma 1. Uspořádání měřicí cely využívající duální systémy ITIES pro detekci iontů. Vodná fáze byla předsaturovaná $TBA^+ X^-$, aby byl minimální únik $TBA^+ X^-$ z nevodné fáze o -DCB.

V případě, že je složení obou vodných fází identické a za použití stejných referenčních elektrod, se potenciálový rozdíl rovná nule

$$\Delta_o^v \phi - \Delta_v^o \phi = 0, \quad (1.11)$$

kde $\Delta_o^v \phi$, $\Delta_v^o \phi$ jsou distribuční potenciály pro konkrétní ion a mezifází.

Pak platí pro kationty C^+

$$\Delta_o^v \phi = \Delta_o^v \phi_{C^+}^o + \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{a_{C^+}^o}{a_{C^+}^v} \right) \quad (1.12)$$

a podobně pro anionty A^-

$$\Delta_o^v \phi = \Delta_o^v \phi_{A^-}^o - \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{a_{A^-}^o}{a_{A^-}^v} \right) \quad (1.13)$$

$a_{C^+}^v$, $a_{A^-}^v$, $a_{C^+}^o$, $a_{A^-}^o$ vyjadřují iontové aktivity konkrétních iontů v nevodné (o) a vodné (v) fázi a $\Delta_x^x \phi_i^o$ je standardní potenciál mezifází [22].

Potenciálový rozdíl mezi vodnou (v) a nevodnou fází (o) [25] je pak vyjádřen jako

$$\Delta_o^v \phi = \phi^v - \phi^o \quad (1.14)$$

Potenciál cely odpovídající schématu 1 je pak vyjádřen

$$\Delta E_{cela} = E_{vMOB} - E_{vSTAT} + \Delta E_{ref} \quad (1.15)$$

kde E_{vMOB} je potenciál měřený v mobilní vodné fázi a E_{vSTAT} je potenciál měřený ve stacionární vodné fázi. ΔE_{ref} se rovná nule v případě použití stejných referenčních elektrod (např. SCE/SCE). V případě různých typů (např. SCE/MSE) se stává nenulovým.

V nejjednodušším případě se složení obou vodných fází liší pouze jediným iontem, pak je potenciálový rozdíl řízen distribucí tohoto konkrétního iontu. V případě, že obě vodné fáze obsahují elektrolyt $C_1^+A_1^-$ a do mobilní vodné fáze je dávkován vzorek $C_2^+A_1^-$ (nebo $C_1^+A_2^-$) je potenciálový rozdíl (ΔE) mezi oběma vodnými fázemi (V_{STAT} a V_{MOB}) určován přítomností kationtu C_2^+ nebo aniontu A_2^- na mezifázi V_{MOB} /organická fáze. Potenciálový rozdíl je pak definován pomocí rovnice

$$\Delta E = \Delta E_{O}^{vSTAT} - \Delta E_{vMOB}^o \quad (1.16)$$

V případě, že se složení obou vodných fází liší ve dvou a více iontech, pak závislost potenciálu mezifází je komplikovanější a je úměrná rozdělovacím koeficientům jednotlivým iontům [1].

V našem uspořádání není nevodná fáze vystavena analytu nepřetržitě. V průtokovém uspořádání ITIES přichází nevodná fáze do kontaktu s analytem až po nadávkování pomocí dávkovacího kohoutu a v závislosti na nastaveném průtoku dochází ke kontaktu s nevodnou fází jen na velice krátkou dobu. Koncentrace či aktivita detekované látky v obou fázích je tak určena rozdělovacím koeficientem (P), který způsobí galvanický potenciálový rozdíl na mezifázi. Rozdělení ionizovaného analytu do obou fází závisí také na rozdělovacím poměru kompenzujícího iontu.

$$a_+^o a_-^v / a_+^v a_-^o = P_+ / P_- \quad (1.17)$$

pak platí pro potenciálový rozdíl $\Delta_o^v \phi_i \sim (RT/F) \ln(P_+/P_-)$.

Mezifázový potenciálový rozdíl je složen ze dvou částí [26]: (i) lokální statické části určené poměrem rozdělovacích koeficientů jednotlivých iontů a (ii) a dynamické - difúzní složky určené rozdělovacími a difúzními koeficienty iontů analytu. Protože rychlost difúze závisí na konkrétním iontu, dochází k oddělení náboje a vytvoření elektrického pole. Následně toto pole interaguje s ionty a ovlivňuje jejich pohyb opačným způsobem než difúze [27, 28].

V průtokovém režimu je čas pro ustálení rovnováhy analytu na mezifázi ovlivněn časem, po který se analyt nalézá na mezifázi, tedy rychlostí průtoku a objemů jednotlivých fází ($r = V^v/V^o$). Pro počáteční koncentraci analytu c_{CA}^{init} pak platí, že

$$c_{CA}^{init} = [C_2^+ A_1^-]^v + [C_2^+]^v + ([C_2^+ A_1^-]^o + [C_2^+]^o) / r \quad (1.18)$$

jehož hodnota roste s poměrem objemů jednotlivých fází r .

Pro distribuční koeficient D platí

$$D = ([C_2^+ A_1^-]^o + [C_2^+]^o) / ([C_2^+ A_1^-]^v + [C_2^+]^v) \quad (1.19)$$

Pro identické složení analytu v obou fázích je distribuční koeficient totožný s rozdělovacím ($D = P$). Distribuční koeficient analytu může být ovlivněn pH tedy protonovými rovnováhami.

Okamžitá odezva mezifázového potenciálu může být ovlivněna adsorpcí složek analytu na některé straně mezifázi, což vede ke změně struktury elektrické dvojvrstvy [29, 30].

Na charakter a intenzitu potenciometrické odezvy má vliv mnoho faktorů. Lze je rozdělit na dvě hlavní skupiny a to vlivy fyzikální (1) a chemické (2).

Do skupiny vlivů fyzikálních lze zařadit:

1. Solvatace samotné molekuly a velikost jejího solvatačního obalu
2. Vliv struktury u komplikovanějších molekul
3. Elektrostatické interakce [31]
4. Rozdělování/distribuce analytu mezi jednotlivé kapalné fáze

Mezi chemicky založené vlivy můžeme zařadit

1. Chemickou reakci analytu s jednotlivými složkami soustavy. Do této skupiny patří i případné zesílení samotné odezvy volbou vhodného mediátoru, např. ftalocyaninu.
2. Koncentrace analytu a jednotlivých složek systému [32]
3. Disociační rovnováhu stanovované látky (vliv pH) [33]

Při nevhodně nastaveném složení celého systému může dojít dokonce i k inhibici iontového přenosu přes mezifázi [34]. Tuto nevýhodu pro detekci látek lze využít při řízené přípravě tenkých membrán na mezifázi [35] nebo syntéze lipofilních látek na mezifázi [36].

Jednotlivé vlivy ovlivňující mezifázi jsou již v literatuře popsány [37], ale při využití potenciometrie na ITIES v analytické chemii se pozornost soustředí pouze na hodnocení velikosti potenciálové odezvy bez ohledu na její časový průběh. Tvar zaznamenané křivky je hodnocen jen z pohledu hydrodynamiky kapalin [38] v průtokových technikách.

1.5 Praktické aplikace ITIES

ITIES nalézá uplatnění v široké škále oborů, např. v katalýze při přípravě kovových (nano)částic [39, 40, 41], elektropolymerizaci [42, 43] a ve fotokatalýze [44, 45]. V následujícím textu jsou některé další aplikace popsány detailněji.

1.5.1 Separační metody

Mezifází dvou nemísitelných kapalin je využíváno již více jak staletí pro extrakce látek [46, 47], ale ITIES dnes nalézá uplatnění především při řízené extrakci látek na mezifázi [48] či extrakce kovů v kapalné elektroodové dvojvrstvě [49] a v kapilární elektroforéze [50].

1.5.2 Elektroanalytické metody

Jedno z prvních elektroanalytických využití ITIES bylo při acidobazických potenciometrických titracích [51]. K velkému rozvoji elektrochemického využití mezifází kapalina-kapalina přispěly práce prof. Koryty a spol. [52, 53, 54], který ukázal srovnatelné chování tohoto systému se systémem kov-kapalina [55]. Tato disertační práce je zaměřena zejména na využití ITIES v potenciometrii, elektroanalytické aplikace ITIES však zahrnují i polarografii voltametrii [56] a amperometrii. Pomocí diferenční pulsní voltametrie na elektrodě tvořené visící kapkou elektrolytu byly stanovovány kovy alkalických zemin [57]. ITIES je často využíváno v ampérometrických senzorech. Při této technice se vkládá na kapalnou mezifázi potenciál specifický pro studovaný analyt a zaznamená se proudová odezva při tomto vkládaném potenciálu. Tohoto principu je využíváno při detekci biochemicky významných látek např. stanovení močoviny v biologických kapalinách [58] nebo stanovení albuminu [59] v průtokovém uspořádání. Kombinace mikropórové membrány a ITIES umožňuje vytvořit pole μ ITIES ampérometrických sensorů vhodných pro detekci látek v průtokových analytických metodách např. FIA [60].

ITIES nachází uplatnění rovněž v oblasti iontově selektivních elektrod (ISE). Citlivost a selektivita pevných ISE elektrod je při dlouhodobém používání ovlivněna adsorpcí povrchově aktivních látek [61, 62] naproti tomu kapalnou membránovou elektrodou [63] přinášejí několik výhod - jednodušší přípravu nevyžadující časově náročné operace jako sušení, deponování atd. a snadnou automatickou regeneraci detekčního kapalného systému ze zásobního rezervoáru. Použití elektrod s kapalnou membránou může usnadnit a urychlit analýzu velkého množství vzorků, které se vyskytují zejména v biochemických laboratořích. Limit potenciometrických detekcí je ovlivněn lipofilitou analytu a schopností proniknout do organické (nevodné) fáze [64] (permselektivita).

Při studiu elektrochemického chování vodou nerozpustných látek je využívána tenkovrstvá ITIES, která umožňuje snížit množství zkoumaného analytu. Nepochybně analyt je rozpuštěn v nevodném rozpouštědle. Pevná elektroda modifikovaná mikrolitrovým množstvím tohoto roztoku je pak zkoumána ve vodném elektrolytu. Tohoto postupu bylo využito např. při studiu vlivu iontů elektrolytu na redoxní chování fullerenu C_{60} [65].

1.5.3 Farmakologické použití

Mezifází kapalina-kapalina se ukázalo být vhodným modelovým systémem kapalných membrán pro studium membránových procesů [54, 66, 67], a tím i vhodným biomimetickým modelem pro farmakologické studium potenciálních léčiv [68] a detekci farmak a jejich derivátů, např. heparinu [69], dopaminu [70], tetracyklinu [71] či takrinu, léku na alzheimerovu chorobu [72] nebo barbitalu [73]. ITIES je vhodný modelový systém pro studium chování látek amfifilního charakteru např. aminokyselin na mezifází, což umožňuje porozumět dějům probíhajícím v buněčných membránách [74].

Mezifází kapalina-kapalina je rovněž využíváno pro detekci a separaci chirálních forem léčiv [75, 76]. V biologických systémech je rozpoznání látek založeno na jejich interakci s membránami. Iniclace a podráždění membrán hraje důležitou roli při rozpoznání látek v biologických systémech. Kontakt těchto látek s buněčnou membránou vyvolává elektrické pulsy, umožňující identifikovat jednotlivé látky. Podobného principu – sledování potenciálových oscilací na mezifází dvou kapalin – bylo využito při stanoveních aminokyselin [13] a při kontrolách potravin [77].

1.6 Modelové analyty – Na₂S, hydrochlorid cysteinu

Vzhledem k tomu, že časově rozlišená potenciometrie na ITIES je nová technika, je spíše než rutinnímu analytickému postupu stanovení analytu věnována pozornost prozkoumání mechanismu vzniku odezvy v závislosti na podmínkách experimentu. Proto byly zvoleny analyty, jejichž reakční schémata jsou přes svou variabilitu dostatečně známa.

Tuto podmínku splňuje např. sirovodík, který patří mezi přirozeně se vyskytující látky a je podstatnou složkou bio a geochemických procesů. Vysoké koncentrace sirovodíku v geologických materiálech umožňují získávání síry ze surovin používaných v petrochemickém průmyslu. Navzdory tomu, že je jeho pach výrazný a lidský čich je schopen rozeznat již dávky od 5 ppm, při vyšších dávkách dochází k znecitlivění čichového aparátu a tím se zvyšuje riziko otravy a úmrtí. Letální dávka se může pohybovat již od 300 ppm. Vzhledem k této nebezpečnosti jsou u detekce H₂S zvýšené nároky

na rychlost a citlivost. Proto je vyvinuto již velké množství zejména spektrometrických a elektrochemických technik ke stanovení sirovodíku [78, 79]. Elektrochemické metody umožňují odlišení sirovodíku a thiolů vedle sebe v jednom vzorku [80]. Problémem zůstává rychlá kontaminace, znečistlivění a regenerace použitých detekčních zařízení při vysokých dávkách síry. Při stanovení hraje také velkou roli vliv prostředí, kdy může z kyselých roztoků sulfidů samovolně unikat sirovodík a ovlivnit jak detekční schopnost zvolené techniky, tak extrahované množství síry [79].

Vzhledem k obtížné manipulaci byl sirovodík v této práci nahrazen roztokem Na_2S , který reprezentuje modelový analyt s jednoduchou strukturou molekuly, jejíž disociační schéma je ovlivněné acidobazickou rovnováhou. Druhou modelovou látkou byl zvolen cystein hydrochlorid, který je představitel strukturně složitější biologicky aktivní molekuly. Molekula cysteinu obsahuje thiolovou skupinu $-\text{SH}$, která je součástí asi 200 různých enzymů v lidském těle [81]. V problematice detekce je sulfidu sodnému i cysteinu dlouhodobě věnována pozornost a byly již dříve podrobeny testování na různých typech pevných elektrod např. tištěných uhlíkatých elektrodách pro ampérometrické využití [82] nebo uhlíkatých pastových elektrodách pro potenciometrické analýzy [83]. Cystein byl detekován i na borem dopovaných elektrodách v průtokových systémech, kde bylo dosaženo limitu detekce $0.021 \mu\text{M}$ [84].

1.7 Redox mediátory - Ftalocyaniny – CoTNPC, NiTNPC,

Aby bylo možné zkoumat jak přenos iontů a molekul přes mezifázi, tak případné redox reakce modelového analytu, bylo nutno zvolit vhodné redox mediátory, kterými jsou v této disertační práci ftalocyaniny.

Přestože jsou strukturně podobné přírodně se vyskytujícím látkám jako je chlorofyl nebo hemoglobin, jedná se o uměle připravené látky prvně syntetizované již na počátku 20. století [85]. V prvopočátcích byly ftalocyaniny používány jako levná barviva pro oděvní průmysl, jejich cílená syntéza začala až ve 30. letech 20. století po popisu jejich struktury skupinou prof. Linsteadova [86, 87]. První ftalocyaniny dosahovaly modrých až zelených odstínů, syntézou molekul s odlišnými centrálními atomy kovů se barevná škála ftalocyaninů rozšířila až do žlutých a červených odstínů. Elektrochemické a fotochemické chování ftalocyaninů ovlivňuje nejen typ centrálního kovu,

ale i substituenty na postranním řetězci, což umožňuje připravit deriváty ftalocyaninu s vlastnostmi vyhovujícími konkrétní aplikaci. Půlvolný elektrochemický potenciál ftalocyaninů lze ovlivnit také volbou rozpouštědla či elektrolytu, které mohou podporovat iontové párování či vznik komplexů mezi ftalocyaninem, elektrolytem a rozpouštědlem [88]. Interakce oxidované formy porfyriu s rozpouštědlem posouvá $E_{1/2}$ k více negativním hodnotám potenciálu a interakce redukované formy posouvá $E_{1/2}$ k více pozitivnímu potenciálu. Neutrální forma kovového porfyriu s rozpouštědlem neinteraguje. Velké kationty

např. TBA^+ minimalizují iontové párování porfyriu [89]. Proto je při studiu elektrochemického chování ftalocyaninů často používán elektrolyt $TBAClO_4$, jehož rozpustnost je vyšší než $TBABF_4$ nebo $TBAPF_6$ [90].

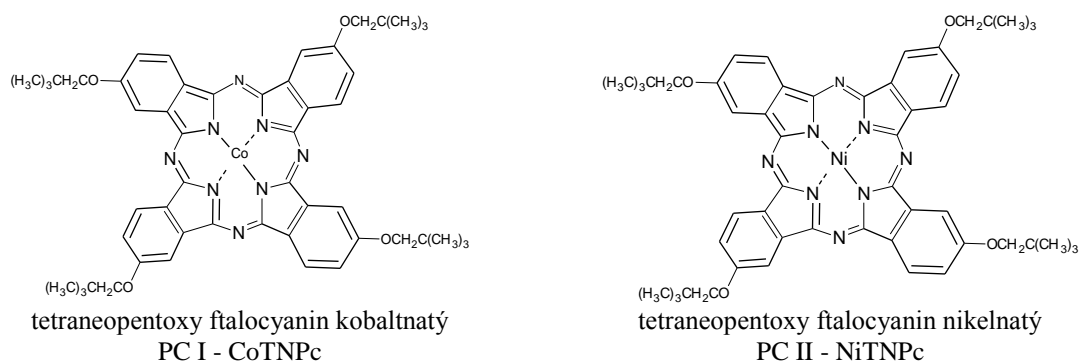
V analytické chemii ftalocyaniny nalézají uplatnění zejména v oblasti senzorů. Staly se konstrukční jednotkou pro stavbu a vývoj „chemických nosů“ [91]. Vzhledem ke známé citlivosti ftalocyaninů na světlo nacházejí využití ve fotoelektrochemii [92] či ve fotodynamické terapii při léčbě rakoviny [93]. Ftalocyaniny jsou rovněž využívány pro modifikaci nejrůznějších elektrodoých materiálů [94]. Vlastnosti ftalocyaninem modifikovaných elektrod lze ovlivnit nejen změnou centrálního kovu ftalocyaninu a modifikací postranních řetězců, které ovlivňují uspořádání ftalocyaninů v monovrstvě [95, 96, 97], ale rovněž podmínkami přípravy senzoru, např. teplotou [98] či volbou substrátu [99].

V této disertační práci předkládající novou metodu časově rozlišené potenciometrie na ITIES byl vybrán jako modelový mediátor nevodné detekční fáze ftalocyanin s centrálním atomem kobaltu, který je známý svými katalytickými vlastnostmi při oxidaci sirovodíku [100, 101, 102], cysteinu [103, 104, 105] a dalších látek [106]. Iontově selektivní elektrody obsahující ftalocyanin kobaltu vykazují Nernstovskou odezvu při stanovení sulfidických látek v prostředí s širokou škálou pH od 2 do 12 [101].

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Chemikálie

V práci byl použit ftalocyanin CoTNPc, který byl připraven skupinou prof. Kobayashiho [107] a NiTNPc, syntetizovaný Dr. J. Kaletou (ÚOCHB, AVČR) dle práce A. B. P. Levera [108]. Strukturální vzorce jsou uvedeny na obr. 3.1



Obr. 3.1: Struktury studovaných ftalocyaninů.

Pro nevodnou fázi byl použit 1,2-dichlorbenzen (*o*-DCB, 99%, Aldrich) a nitrobenzen (NB, čistý, Lachema, CZ).

Jako základní elektrolyty v nevodném i vodném prostředí byly použity tetrabutylamonné soli; chloristan tetrabutylamonný (TBAClO₄, electrochem. grade, Fluka) a hexafluorofosfát tetrabutylamonný (TBAPF₆, electrochem. grade, Fluka), jejichž strukturální vzorce jsou uvedeny v tabulce 2.1.

Tab. 2.1: Strukturální vzorce použitých elektrolytů

Název	Struktura
chloristan tetrabutylamonný	
hexafluorofosfát tetrabutylamonný	

Ve vodné fázi byly kromě TBA⁺ solí používány následující anorganické látky: Dusičnan draselný (p.a., Lachema, CZ), dusičnan sodný (p.a., Lachema, CZ), hydroxid draselný (for analysis (max. 0.05% Na), Merck, CZ), chlorid draselný (p.a., Lachema, CZ), chlorid sodný (p.a., Penta, CZ) a kys. chlorovodíková (35 %, p.a., Lachema, CZ).

Dihydrogenfosforečnan draselný (purum, Lachema) a hydrogen fosforečnan sodný monohydrát (p.a., Merck) byly používány pro přípravu Sørensenova fosfátového pufru poměrovým smícháním vodných roztoků 0.06 M Na₂HPO₄·H₂O a 0.06 M KH₂PO₄. Kys. fosforečná (85 %, p.a., Lachner, CZ), kys. octová (98 %, p.a., Lachner, CZ), kys.boritá (99.5 %, p. a., Lachner, CZ) a hydroxid sodný (p. a., Lachner, CZ) byly používány pro přípravu Britton-Robinsonova pufru poměrovým smícháním k dosažení konkrétního pH. Pro přípravu roztoků byla použita v destilovaná voda předsaturovaná stejnou TBA⁺ solí, jaká byla použita jako elektrolyt v nevodné fázi.

Jako modelové analyty byly použity dekametylferrocen (DMFc, 98%, Sigma-Aldrich), sulfid sodný (solid, Sigma Aldrich), hydrochlorid L-cysteinu (p.a., Lachema, CZ), L-cystein (≥98%, Roth, DE). Sulfid železnatý (Penta, CZ) sloužil pro přípravu plynného H₂S



který byl zachycován do destilované vody.

Všechny látky byly použity bez dalších úprav.

Nevodné roztoky ftalocyaninů a elektrolytů TBA⁺ solí byly skladovány v chladničce a v den měření byly stáním temperovány na laboratorní teplotu. Saturované vodné roztoky TBA⁺ solí byly připravovány den předem a v den měření byly filtrovány a použity přímo k měření nebo k přípravě vodných roztoků obohacených o další anorganické soli a následně k měření.

Pro všechny vodné fáze byla použita destilovaná voda (Milli-Q system Gradient, Millipore, vodivost 18.2 MΩcm).

Všechna měření probíhala za laboratorních podmínek. Testování každého vzorku bylo provedeno minimálně pětkrát.

2.2 Přístrojové vybavení

UV/Vis spektrofotometrická měření byla prováděna na spektrofotometru Hewlett Packard HP 8453. Optická délka kyvety byla 10 mm.

K měření VIS reflexních spekter při spektroelektrochemii, byl použit spektrofotometr Ocean Optic SD 1000 (Ocean Optics, Nový Zéland) s optickým vláknem (Ocean Optics, No.: FCR-74V400-2-ME910103, USA). Jako zdroj světla byla použita halogenová lampa Fiber-Lite PL-800 (Dolan-Jenner, USA).

Elektrochemické vlastnosti ftalocyaninu byly studovány pomocí cyklické voltametrie v tříelektrodovém zapojení s použitím potenciostatu/galvanostatu Wenking POS 2 (Bank Elektronik, Německo), který byl ovládaný pomocí programu CPC-DA (Bank Elektronik, Německo). Pro spektroelektrochemickou celu byla použito HOPG (12 × 12 × 2 mm, HOPG ZYB Grade, Structure Probe Inc., USA) jako pracovní elektrody a odrazové plochy pro reflexní spektroskopii. Plocha pracovní elektrody 28 mm² byla vymezena otvorem v plochém těsnění Viton (DuPont Performance Elastomers, USA).

K měření mezifázového potenciálového rozdílu bylo použito dvou identických referenčních saturovaných kalomelových elektrod (SCE) a voltmetru PPM98 (Bank Elektronik, Německo) s vysoce odporovým vstupem (10¹² Ω). Signál byl zpracováván pomocí programu Picoscope ADC-212 (Pico Technology, UK).

Při průtokových experimentech bylo k zajištění průtoku mobilní fáze použito peristaltické pumpy (PCD 21M, Kouřil, Kyjov, Czech Republic). Rychlost průtoku byla 3 mL min⁻¹, pokud není uvedeno jinak. Analyt byl dávkován pomocí dávkovacího kohoutu V-451 (IDEX, USA). Objem dávkovací smyčky byl 100 μL.

K měření pH byl použit pH-metr Jenway 3510 (Jenway, UK).

Fotografie SEM byly pořízeny na mikroskopu Hitachi FE SEM S-4800.

Všechna měření byla prováděna při laboratorní teplotě. Naměřená data byla zpracovávána programem Origin 8 (OriginLab, USA).

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

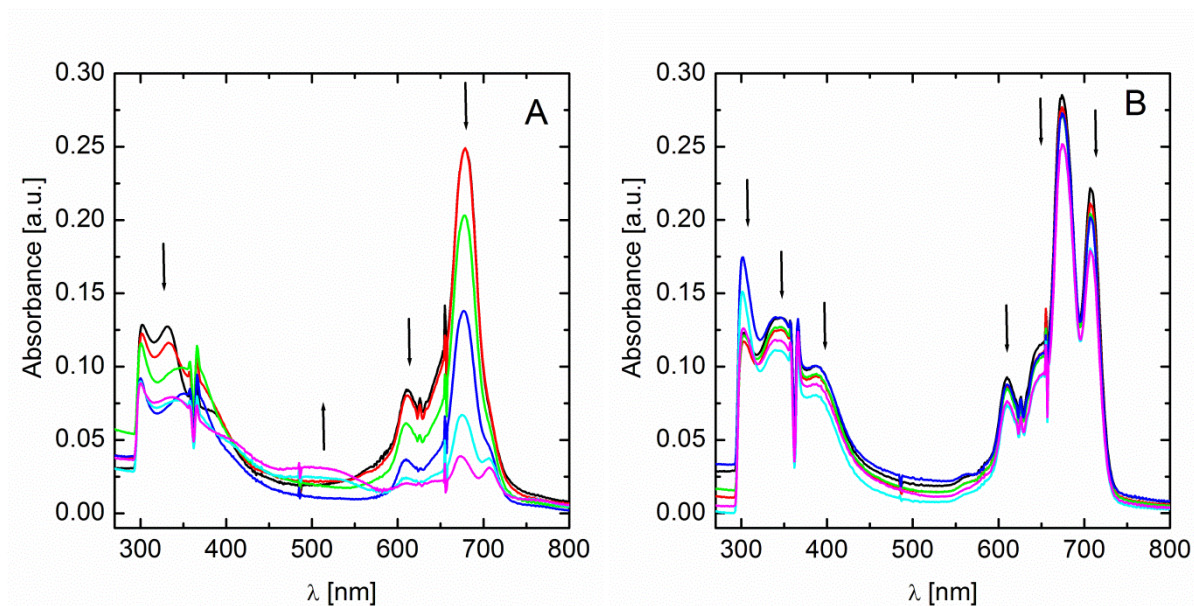
3.1 Charakterizace ftalocyaninů

3.1.1 Spektrofotometrické stanovení stability

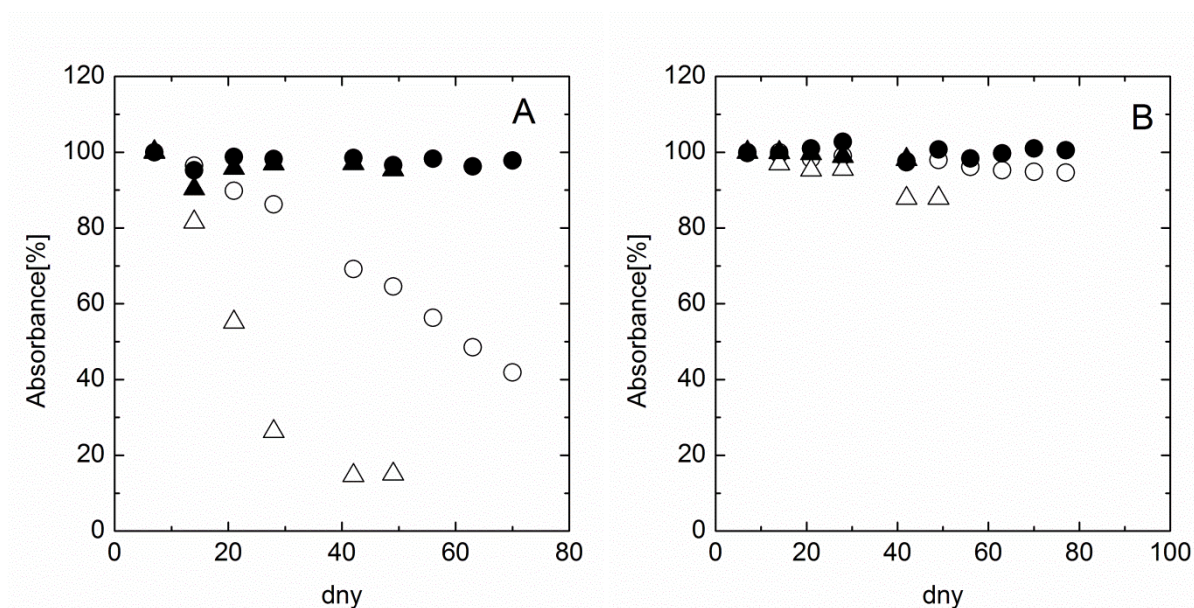
Vzhledem k zamýšlenému dlouhodobému používání ftalocyaninového mediátoru v detekční fázi byla zjišťována stabilita jeho roztoku v použitém nevodném rozpouštědle (*o*-DCB) za tmy a v průběhu expozice denním světlem. Stabilita roztoků ftalocyaninů byla sledována spektrofotometricky. Spektra roztoků CoTNPc a NiTNPc s 0.05 M TBAClO₄ v *o*-DCB snímána v časových intervalech v průběhu vystavení dennímu světlu jsou uvedena na obr. 3.2. Pro spektrofotometrická měření se ukázala být optimální koncentrace roztoků ftalocyaninů 5×10^{-6} M, při vyšších koncentracích docházelo k saturaci spektrofotometrického signálu. Spektra CoTNPc obsahují píky s maximem vlnové délky 301, 331, 613, 680 a 706 nm ve shodě s literaturou [109, 110]. Časový průběh spekter ukazuje pokles absorbance píků a vznik nového širokého pásu mezi 475-525 nm, který odpovídá Co(I)TNPc(-2). U ftalocyaninu NiTNPc se vyskytují píky u vlnových délek 301, 345, 389, 610, 651, 673 a 708 nm. Spektra NiTNPc vykazují malý pokles absorbance. NiTNPc se tak ukazuje jako dlouhodobě stabilnější oproti CoTNPc.

Mimo fotochemické stability byl zkoumán i vliv základního elektrolytu na dlouhodobou stabilitu ftalocyaninů v prostředí *o*-DCB. Byla porovnávána fotochemická stabilita 1×10^{-5} M roztoků ftalocyaninů v *o*-DCB v nepřítomnosti základního elektrolytu a v 0.05 M TBAClO₄. Pro tento účel byly připraveny dvojice roztoků, kdy jeden z nich byl vystaven světlu a druhý pro srovnání ponechán ve tmě. Bylo zaznamenáno absorpční maximum a vyhodnocen jeho procentuální pokles mezi jednotlivými měřeními. Absorbance byla odečítána pro CoTNPc u vlnové délky 680 nm a pro NiTNPc u 673 nm, což v obou případech odpovídalo absorpčním maximům (obr. 3.2). Z obr. 3.3 vyplývá, že NiTNPc je dlouhodobě stabilní za tmy i při vystavení dennímu světlu a významnou roli zde nehraje ani přítomnost základního elektrolytu TBAClO₄, zatímco CoTNPc je za tmy stabilní, ale denní světlo v kombinaci s přítomností základního elektrolytu TBAClO₄

způsobuje přibližně po 20 dnech jeho degradaci. Pro dlouhodobou stabilitu senzoru je tedy nutné detekční část s roztokem CoTNPc chránit před světlem, což je zohledněno v realizované verzi senzoru v teflonovém provedení (obr. 3.30).



Obr. 3.2: Srovnání stability roztoků ftalocyaninů CoTNPc (a) a NiTNPc (b) v průběhu 50 dnů v *o*-DCB. Použité roztoky ftalocyaninů o konc. 5×10^{-6} M s 0.05 M TBAClO₄. (—) čerstvý roztok, (—) po 14 dnech, (—) po 21 dnech, (—) po 28 dnech, (—) po 35 dnech, (—) po 42 dnech. Optická délka kyvety = 10 mm.



Obr. 3.3: Srovnání stability roztoků ftalocyaninů CoTNPc (A) a NiTNPc (B) v *o*-DCB.

Použité roztoky:

○ – 5×10^{-6} M Pc v *o*-DCB ponecháno na světle

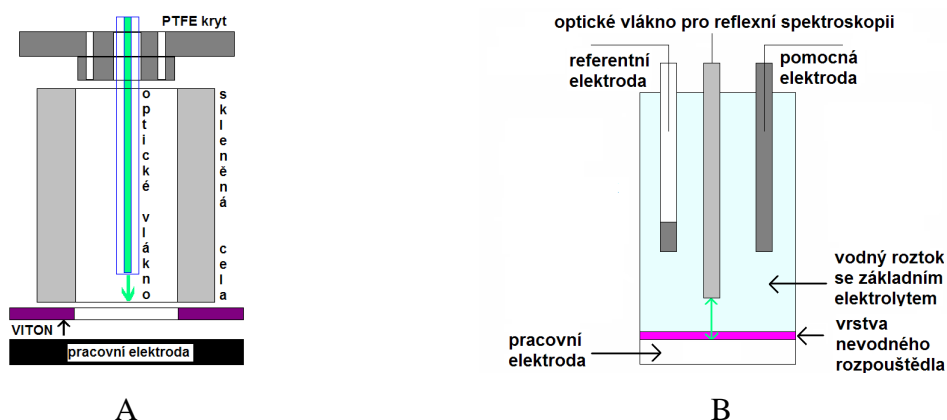
● – 5×10^{-6} M Pc v *o*-DCB uchovávan bez přístupu světla

△ – 5×10^{-6} M s 0.05 M TBAClO₄ v *o*-DCB ponecháno na světle

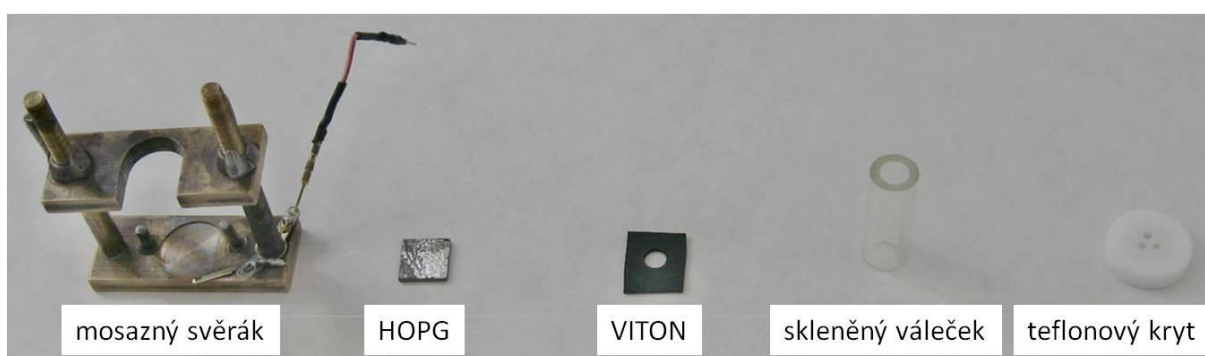
▲ – 5×10^{-6} M s 0.05 M TBAClO₄ v *o*-DCB uchovávan bez přístupu světla

3.1.2 Vývoj spektroelektrochemické cely

Elektrochemické chování ve vodě nerozpustných ftalocyaninů bylo studováno pomocí cyklické voltametrie. Vzhledem k tomu, že se jednalo o nekomerčně dostupné ftalocyaniny, jejichž množství bylo omezené, byla vyvinuta nová spektroelektrochemická měřící cela [111]. V jejím základním uspořádání bylo použito HOPG jako pracovní elektrody, platinové pomocné elektrody a saturované kalomelové elektrody (SCE) jako referenční elektrody. Přestože je HOPG cenově nákladnější elektrodový materiál a pro přípravu ftalocyaninových senzorů lze použít i další uhlíkaté materiály (např. OPG, GC), výhodou HOPG je, na rozdíl od jiných materiálů [112, 113], snadná a reprodukovatelná příprava čistého definovaného monokrystalického atomárně plochého povrchu tvořeného grafénovými listy, který umožňuje přípravu monovrstvy. Schéma cely je uvedeno na obr. 3.4, jednotlivé díly jsou na fotografii obr. 3.5



Obr. 3.4: Konstrukce [A] a detail použití [B] spektroelektrochemické cely.



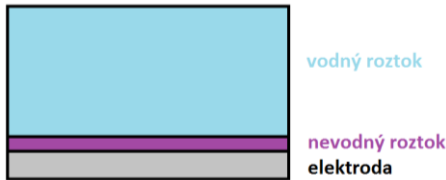

Obr 3.5: Detailní pohled na jednotlivé části spektroelektrochemické cely.

Ačkoliv tato cela byla vyvinuta pro studium ve vodě nerozpustných látek, lze ji stejně výhodně použít i pro klasickou elektrochemii ve vodném prostředí pro látky, které jsou dostupné jen ve velmi omezeném množství jako je tomu například u nově syntetizovaných

léčivých látek. Výhodou nově navržené cely je její univerzálnost, lze měnit plochu elektrody (změnou velikosti otvoru v těsnění), objem měřící cely (změnou šířky či výšky skleněného tubusu). Snadná rozebíratelnost cely a zvolený materiál pracovní elektrody (HOPG) umožňuje charakterizovat povrch pracovní elektrody dalšími metodami např. elektronovou mikroskopií, Ramanovskou spektroskopií či mikroskopií skenující sondou.

Ačkoliv tato cela sama o sobě umožnila použít minimální množství studované látky pro zjištění základních elektrochemických vlastností, k dalšímu snížení spotřeby studované látky došlo kombinací cely a elektrochemie využívající rozhraní kapalina-kapalina (ITIES). Toto uspořádání popsane rovněž Ansonem [114, 115] je uvedeno na obr. 3.4B. Bazální rovina pracovní HOPG elektrody je překryta tenkou vrstvou nevodného rozpouštědla s rozpuštěnou studovanou látkou a elektrolytem, která je převrstvena vodným roztokem elektrolytu. Toto uspořádání umožňuje přes lokalizaci elektrochemické reakce v tenké vrstvě použití klasického (objemového) uspořádání nádoby s referenční elektrodou umístěnou ve vodné fázi.

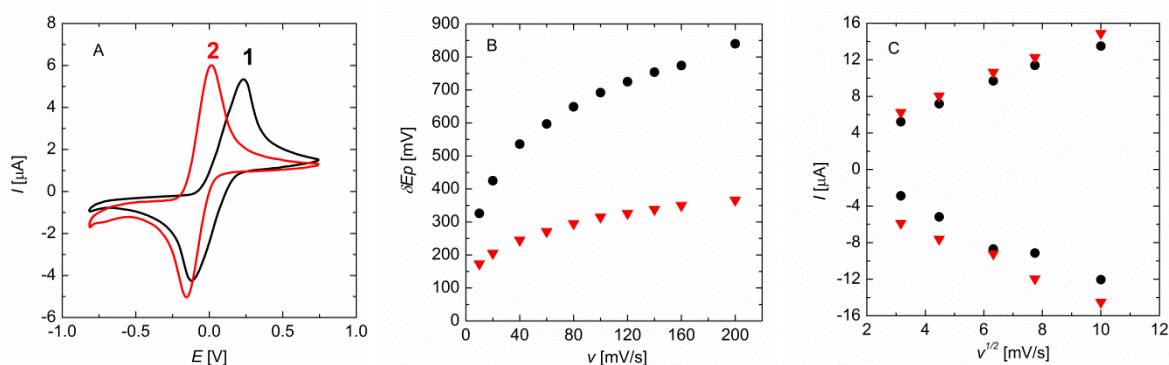
Tabulka 3.2: Srovnání parametrů spektroelektrochemické cely a běžně používaných (klasických) metod.

Parametry	Tenkovrstvé uspořádání ITIES	Klasické
Pracovní elektroda:	Kapalinou Modifikovaná Elektroda HOPG (LFE HOPG z angličtiny)	HOPG
Referenční elektroda:	SCE	Ag drát
Pomocná elektroda:	Pt drát	Pt drát
Vodný roztok elektrolytu:	0.1 M chloristan lithný (LiClO_4)	-----
Nevodný roztok:	<i>o</i> -dichlorbenzen (<i>o</i> -DCB) / 0.1 M chloristan tetrabutylamonný (TBAClO_4) /mediátor	<i>o</i> -dichlorbenzen (<i>o</i> -DCB) / 0.1 M chloristan tetrabutylamonný (TBAClO_4) /mediátor
Uspořádání:		
Spektroskopie:	400-800 nm reflexní od povrchu elektrody	200-1100 nm transmisní, reflexní HP 8453 (Hewlett Packard)

Srovnání klasického nevodného a tenkovrstvého uspořádání ITIES je uvedeno v tab. 3.2 a demonstrováno na cyklickém voltamogramu reversibilního redox standardu DMFc v *o*-DCB/0.1M TBAClO₄ (obr. 3.6A), který odpovídá reakci



Křivka 1 ukazuje voltamogram v klasickém uspořádání, křivka 2 v tenkovrstvém ITIES. Rozdíl potenciálu píku ΔE_p (obr. 3.6B) je menší v případě tenkovrstvé ITIES v celém rozsahu používaných rychlostí, což ukazuje na nižší potenciálový (iR) úbytek. Lineární závislost proudu na rychlosti vkládání potenciálu (obr. 3.6C) dokazuje povrchový děj. Rovněž ukazuje i vyšší proudovou reverzibilitu pro systém s ITIES, kde hodnota I_{pa}/I_{pc} je 1.06, zatímco hodnota pro objemové uspořádání je zvýšena na 1.39. Uvedené výsledky ukazují na vhodnost použití tenkovrstvé ITIES pro studium vodou nerozpustných látek.



Obr. 3.6: Cyklické voltamogramy 1 mM DMFc s 0.1 M TBAClO₄ v *o*-DCB měřené v objemovém uspořádání (A, křivka 1) a v systému s tenkou vrstvou ITIES z 1 mM DMFc s 0.1 M TBAClO₄ v *o*-DCB převrstvené vodným roztokem 0.1 M LiClO₄ (A, křivka 2) (rychlost polarizace 10 mVs⁻¹). Separace píků $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$ vs. v (B) a její snížení pro tenkovrstvé uspořádání (▼) v porovnání s objemovým systémem (●). I_p vs. $v^{1/2}$ (C) pro tenkovrstvé uspořádání (▼) v porovnání s objemovým uspořádáním (●). (E vs. SCE umístěné ve vodné fázi v případě ITIES, E vs. pseudoreferenční Ag elektroda v případě bulk systému. Plocha elektrody 28 mm² HOPG byla vymezena plochým těsněním).

3.1.3 Elektrochemické chování ftalocyaninu

Pro charakterizaci ftalocyaninu používaného jako mediátoru v nevodné fázi v časově rozlišené potenciometrii byl připraven 1mM roztok studovaného ftalocyaninu v *o*-DCB obsahující 0.1 M chloristanu tetrabutylamonného (TBAClO₄), který sloužil jako elektrolyt v nevodném prostředí. Pro vodnou fázi byl používán 0.1 M chloristan lithný.

V obr. 3.7 jsou prezentovány příslušné cyklické voltamogramy studovaných ftalocyaninů. Cyklický voltamogram HOPG elektrody modifikované tenkou vrstvou roztoku CoTNPc v *o*-DCB převrstvenou vodným elektrolytem obsahující chloristanové ionty je uveden na obr. 3.7A. Porovnáním s literaturou [116] byly jednotlivým píkům přiřazeny následující reakce:

- $E_{a(p1)} = 1152 \text{ mV}$, přechod $\text{Co}^{\text{III}}(\text{TNPc}^{-1}) \rightarrow \text{Co}^{\text{II}}(\text{TNPc}^{-1})$,
- $E_{a(p2)} = 490 \text{ mV}$, přechod $\text{Co}^{\text{II}}(\text{TNPc}^{-1}) \rightarrow \text{Co}^{\text{II}}(\text{TNPc}^{-2})$,
- $E_{a(p3)} = -481 \text{ mV}$, přechod $\text{Co}^{\text{II}}(\text{TNPc}^{-2}) \rightarrow \text{Co}^{\text{I}}(\text{TNPc}^{-2})$,
- $E_{a(p4)} = -1590 \text{ mV}$, přechod $\text{Co}^{\text{I}}(\text{TNPc}^{-2}) \rightarrow \text{Co}^{\text{I}}(\text{TNPc}^{-3})$

V případě NiTNPc (obr. 3.7B) byly zjištěny následující píky

$$E_a = 1392 \text{ mV}$$

$$E_a = 1024 \text{ mV}$$

$$E_a = 212 \text{ mV}$$

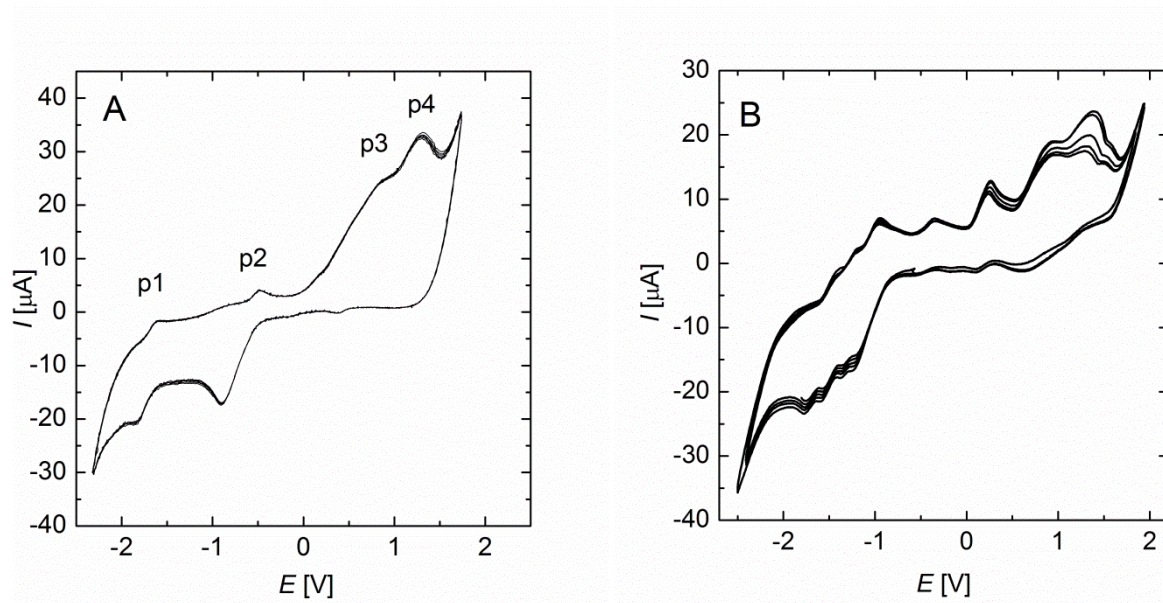
$$E_a = -326 \text{ mV}$$

$$E_a = -910 \text{ mV}$$

$$E_a = -1183 \text{ mV}$$

$$E_a = -1380 \text{ mV}$$

V literatuře nebyly dosud jednotlivé píky identifikovány, lze předpokládat, že obdobně, jako v případě CoTNPc, odpovídají přechodu Ni^{III} a $\text{TNPc}(-1)/\text{TNPc}(-2)/\text{TNPc}(-3)$.



Obr. 3.7: Cyklické voltamogramy CoTNPc (A) a NiTNPc (B) ve dvoufázovém systému *o*-DCB/voda obsahující v organické fázi: 5×10^{-4} M CoTNPc nebo NiTNPc a 0,05 M TBAClO₄ a ve vodné fázi: 0,1 mol dm⁻³ LiClO₄; HOPG vs. SCE; A = 28 mm², ν = 100 mV s⁻¹.

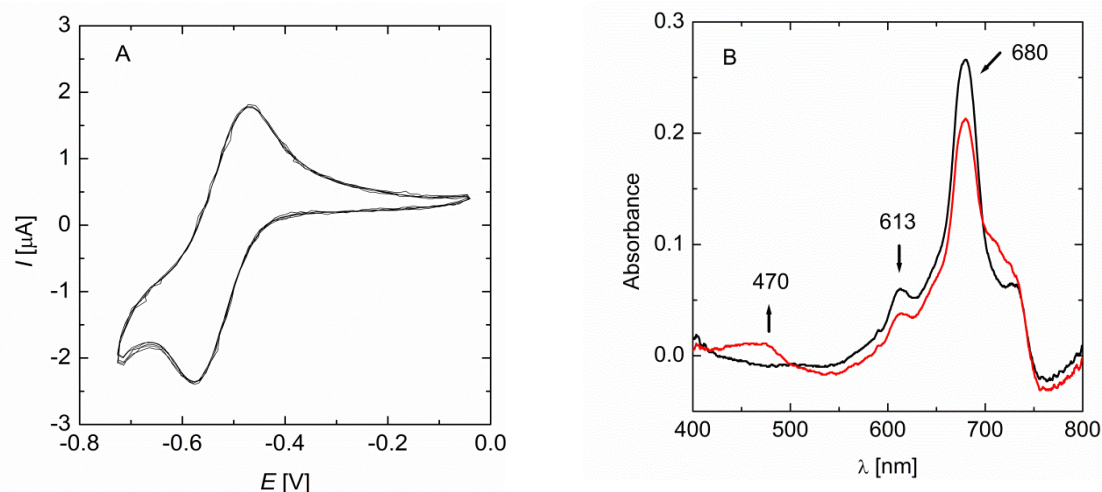
3.1.4 Spektroelektrochemické chování ftalocyaninu

Konstrukce navržené cely umožňuje rovněž spektroelektrochemickou charakterizaci použitého ftalocyaninu. Spektroelektrochemie byla prováděna v potenciostatickém režimu v tenkovrstvé ITIES používající mezifázi voda/*o*-DCB. Schéma uspořádání je na obr. 3.4. CoTNPc byl rozpuštěn v *o*-DCB s 0.1 M TBAPF₆ sloužícím jako elektrolyt nevodné fáze zprostředkovávající přechod přes mezifázi a 0.1 M LiClO₄, který byl použit jako elektrolyt ve vodné fázi. Použití atomárně hladkého elektrodového materiálu – bazální roviny HOPG – umožňovalo měření VIS spekter v reflexním módu.

Jak bylo popsáno výše (kap. 3.1.3), při potenciálu -0,6 V probíhá reakce (obr. 3.8A)



Změny ve spektru (obr. 3.8B) charakterizují redukci kovového centra ftalocyaninu. Dochází k poklesu píku s maximem 613 nm a 680 nm, který odpovídá Co(II)TNPC(-2) a ve spektru se objevuje široký pík v rozsahu vlnových délek 475–525 nm, který odpovídá formě Co(I)TNPC(-2). Ve spektru se objevují tři isosbestické body při vlnové délce 500, 698 a 740 nm. Nalezené výsledky jsou ve shodě s literaturou [110].



Obr. 3.8: Spektroelektrochemie CoTNPc na kapalinou modifikované HOPG elektrodě. (A) Cyklický voltamogram 5×10^{-4} M CoTNPc v *o*-DCB s 0.1 M TBAP, vodná fáze obsahuje 0.1 M LiClO₄. Rychlost vkládání potenciálu byla 10 mVs^{-1} . (B) Časový vývoj reflexních spekter CoTNPc při potenciálu -586 mV (vs. SCE). Optické vlákno bylo umístěné v nevodné fázi. Jako referenční elektrody Bylo použito SCE referenční elektrody a Pt drátu jako pomocné elektrody ve vodné fázi.

3.2 Potenciometrie na duální ITIES

Potenciometrická odezva senzoru založeného na duálním mezifázi voda/*o*-DCB, kde *o*-DCB obsahuje rozpuštěný redox mediátor – ftalocyanin, byla testována pomocí reakce modelového redox systému S^{2-} (Schéma 1).

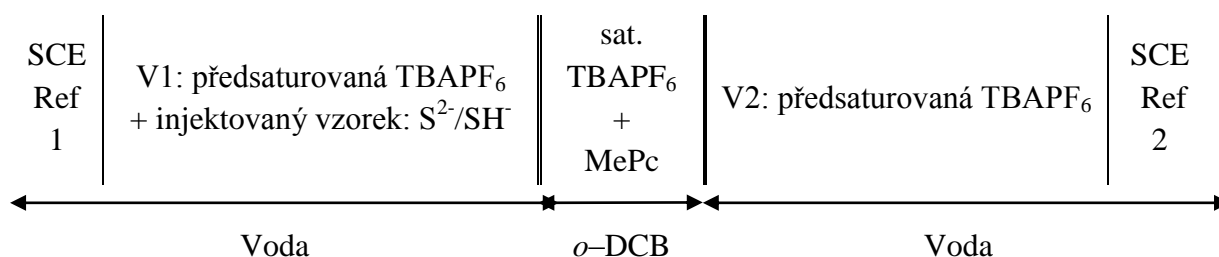
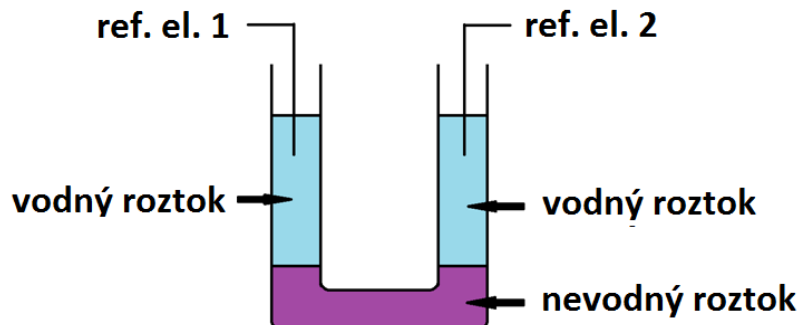


Schéma 1. Schematické uspořádání měřicí cely využívající duální systému ITIES pro detekci sulfidových iontů. Vodná fáze byla předsaturovaná $TBAPF_6$, aby byl minimalizován únik $TBAPF_6$ z nevodné fáze *o*-DCB. Redox mediátor $MeTNPc = 5 \times 10^{-4} M$ $CoTNPc$ je rozpuštěn rovněž v nevodné fázi *o*-DCB.

Nejjednodušší nádobka, která umožňuje měření potenciometrie s použitím duálního ITIES v oboustranně statickém režimu je uvedena na obr. 3.9.



Obr. 3.9: Schéma potenciometrické U nádobky využívající duální ITIES

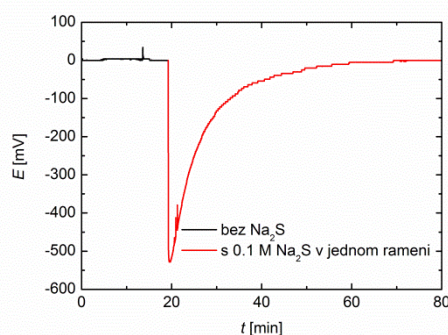
Přechod sulfidových iontů mezi *o*-DCB a vodnou fází je zprostředkován pomocí fázových přenašečů (z angl. *phase transfer*) iontů TBA^+ . Distribuční reakce lze vyjádřit rovnicemi



Sulfid na mezifázi podléhá redukci ftalocyaninem (rov. 2.8), jehož oxidovaná forma je regenerována kyslíkem (rov. 2.9)



Obr. 3.10 zachycuje časový průběh potenciometrické odezvy na přidávek Na_2S do jedné vodné fáze. Na počátku dochází k velké potenciálové změně, postupně potenciálový rozdíl, klesá, neboť dochází k difúzi S^{2-} iontů nevodnou fází do druhé vodné fáze, poměr koncentrací na obou mezifázích se neustále mění. Jakmile dojde k vyrovnání koncentrace S^{2-} v obou vodných fázích, je potenciálový rozdíl opět nulový. Doba k dosažení rovnovážného stavu je závislá na rychlosti difúze a tloušťce nevodné fáze. Systém v tomto uspořádání tedy vykazuje diferenční odezvu.

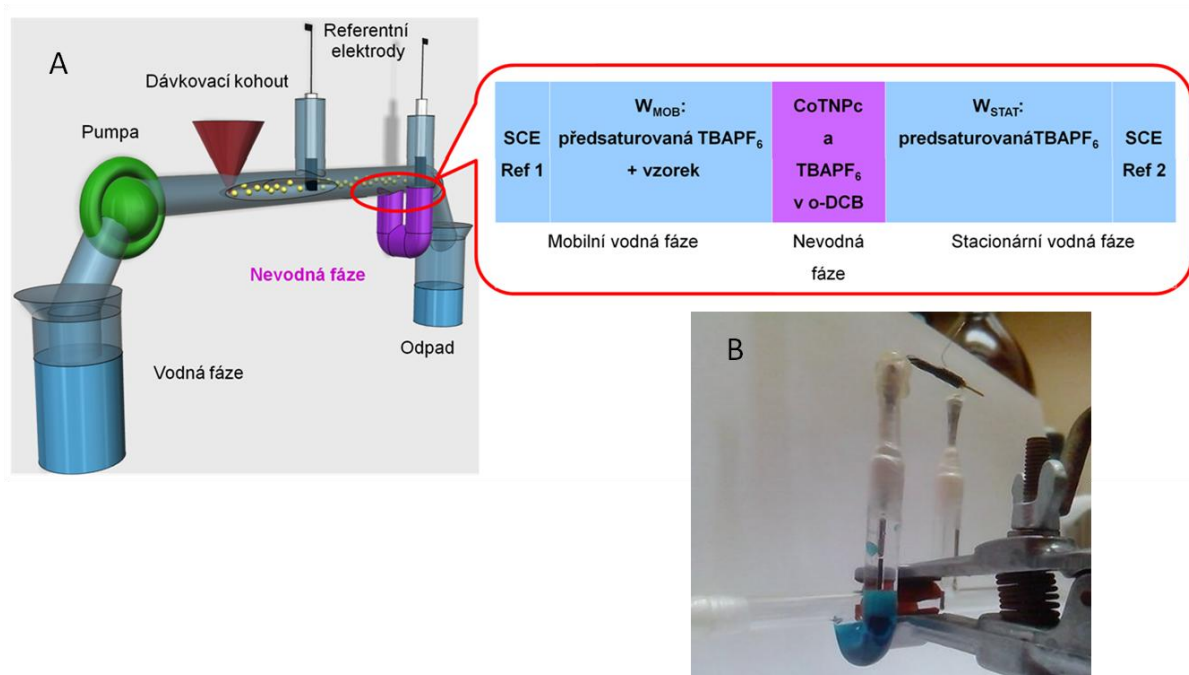


Obr. 3.10: Potenciometrie na duálním ITIES, statická, v U trubici. V nevodné fázi je 0.5 mL 1 mM CoTNPc a 0.5 mL 0.2 mL TBAClO_4 v *o*-DCB. Vodná fáze je sat. TBAClO_4 . Byly použity SCE ref elektrody. Přidáno 0.1 M Na_2S do jednoho ramene U nádoby.

Pro praktické využití potenciometrie s duálním ITIES je vhodnější průtokové uspořádání, kdy jedna vodná fáze se stane mobilní - průtoková. Toto uspořádání umožňuje opakované měření na jednom systému, proudící mobilní vodní fáze neustále regeneruje detekční systém a eliminuje akumulaci vedlejších produktů reakce např. polysulfidů, které by inhibovaly odezvu senzoru.

Schéma cely pro průtokovou potenciometrii je uvedeno na obr. 3.11. Nevodná fáze tvořená 500 μL of *o*-DCB s 0.5M TBAPF_6 je naplněna v "U" trubici a funguje jako vodivé spojení mezi stacionární a mobilní vodnou fází, která umožňuje pohyb analytu od dávkovací smyčky přes detekční segment až do odpadu. Obě vodné fáze jsou před naplněním do cely saturovány elektrolytem (TBAPF_6), což udržuje konstantní koncentraci

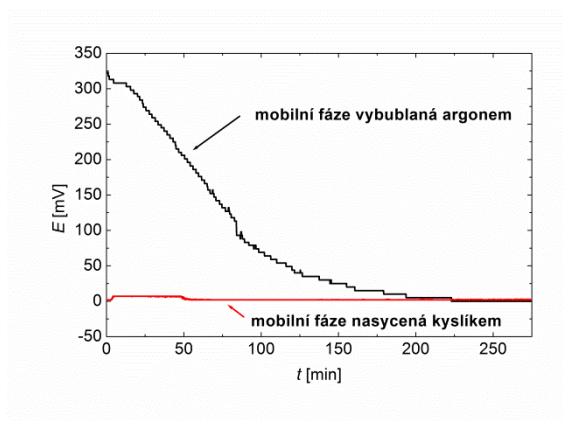
iontů v obou vodných fázích a zabraňuje vyplavování elektrolytu z nevodné fáze, která rovněž obsahuje redoxní mediátor – ftalocyanin (MePc).



Obr. 3.11: Schéma U nádoby modifikované pro průtokovou časově rozlišenou potenciometrii využívající duální ITIES modifikovanou redox mediátorem (A) a jeho realizovaná verze (B).

Na odezvě senzoru v průtokovém uspořádání je zřetelně vidět funkce kyslíku pro regeneraci ftalocyaninu. Na obr. 3.12 je srovnání potenciometrické odezvy v případě, že vodná fáze byla předem zbavena kyslíku vybubláním argonem nebo byla nasycena kyslíkem. V případě argonem vybublánoho roztoku ustálení stabilního potenciálu trvalo více než 3 hod. Důvodem je měnící se koncentrace kyslíku, pronikající do cely netěsnostmi, póry v hadičkách a difusí. Rozdíl v koncentraci kyslíku na obou mezifázích způsobuje potenciálový rozdíl mezi oběma vodnými fázemi. Systém, ve kterém byly obě vodné fáze předem satureované kyslíkem, poskytoval stabilní potenciálovou odezvu. Kyslík působí v systému jako velmi rychlé a vysoce účinné regenerační činidlo (viz. reakce 3.8) [117, 118].

Odezvu navrženého systému pro časově rozlišenou potenciometrii ovlivňuje řada faktorů- nevodné rozpouštědlo, přenosový ion umožňující přenos přes mezifázi, redox mediátor, složení vodné mobilní fáze – její pH, iontová síla, rychlost průtoku a další. Jednotlivé vlivy jsou detailněji popsány v následujících kapitolách.



Obr. 3.12: Potenciometrická stabilita duálního ITIES (v objemovém uspořádání) s mobilní fází saturovanou kyslíkem (červená křivka) a vybublanou argonem (černá křivka). Obsah nevodné fáze: 0.5 mM CoTNPC a 0.5 M TBAClO₄ v *o*-DCB. Vodná fáze: 0.1 M LiCO₄. Průtok: 0.3 mL/min. Ve stacionární i mobilní fázi byly použity referenční SCE elektrody.

3.2.1 Parametry nevodné části senzoru ovlivňující odezvu

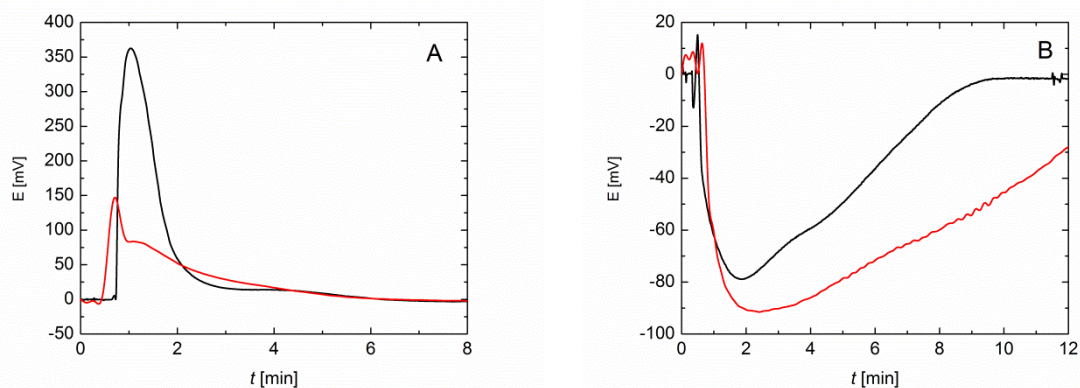
3.2.1.1 Volba nevodného rozpouštědla

Volbou typu nevodného rozpouštědla lze ovlivnit zejména fyzikální vlastnosti mezifází. Jak bylo psáno v úvodu (kap. 1.2) lze tak ovlivnit nejen šířku mezifází, ale zejména mechanismus přenosu látek přes mezifází. Rovněž charakter potenciálové odezvy různých analytů je ovlivněn interakcí analytu s nevodnou fází.

Hlavními požadavky na nevodnou fázi ITIES jsou dostatečná vodivost – tj. co nejvyšší dielektrická konstanta rozpouštědla k zajištění dostatečné rozpustnosti a disociaci elektrolytu při minimální mísitelnosti s vodnou fází, vysokém bodu varu a nízké toxicitě. Tyto podmínky je velmi obtížné splnit všechny současně v plné míře. Uvedené parametry ovlivňují především rozpustnost a disociaci elektrolytu v použitém nevodném rozpouštědle, ostrost mezifází, solvataci elektrolytu molekulami rozpouštědel [119] nebo tvorbu komplexů v systému rozpouštědlo-elektrolyt-mediátor. V této práci byly testovány dva typy rozpouštědel používaných v ITIES, *o*-dichlorbenzen (*o*-DCB) a nitrobenzen (NB), z nichž *o*-DCB představuje dobrý kompromis (na rozdíl od NB: jehož rozpustnost ve vodě je výrazně vyšší, viz. tab. 1.1.

Pro sulfid sodný se ukázalo výhodnější použití *o*-DCB, který vykazoval více než dvojnásobně vysokou potenciálovou odezvu (obr. 3.13) oproti systému s NB. Pro detekci hydrochloridu cysteinu se rozdíl ve velikosti potenciálové odezvy v závislosti na použité nevodné fázi neukázal být tak významný, ale u senzoru obsahujícího NB se prodloužila doba zadržování hydrochloridu cysteinu na mezifází a doba nutná k regeneraci detekčního systému. S prodlouženou dobou regenerace se významně zvýší i doba do nadávkování dalšího vzorku. Navíc vlastnosti *o*-DCB jako je nízká rozpustnost ve vodě a relativně vysoká viskozita [120] způsobují, že při použití v průtokových metodách v důsledku nižší mísitelnosti nedochází v takové míře k odplavování organické fáze a tedy i změny v povrchovém napětí [121] v průběhu experimentu jsou jen minimální. Tím je zvýšena stabilita, umožněno dlouhodobé používání senzoru a snížena ekologická zátěž kontaminací vody. Protože navíc použité modelové redoxní mediátory na bázi ftalocyaninů jsou velmi dobře rozpustné v *o*-DCB, bylo toto rozpouštědlo zvoleno jako vhodné nevodné rozpouštědlo stacionární (detekční) fáze.

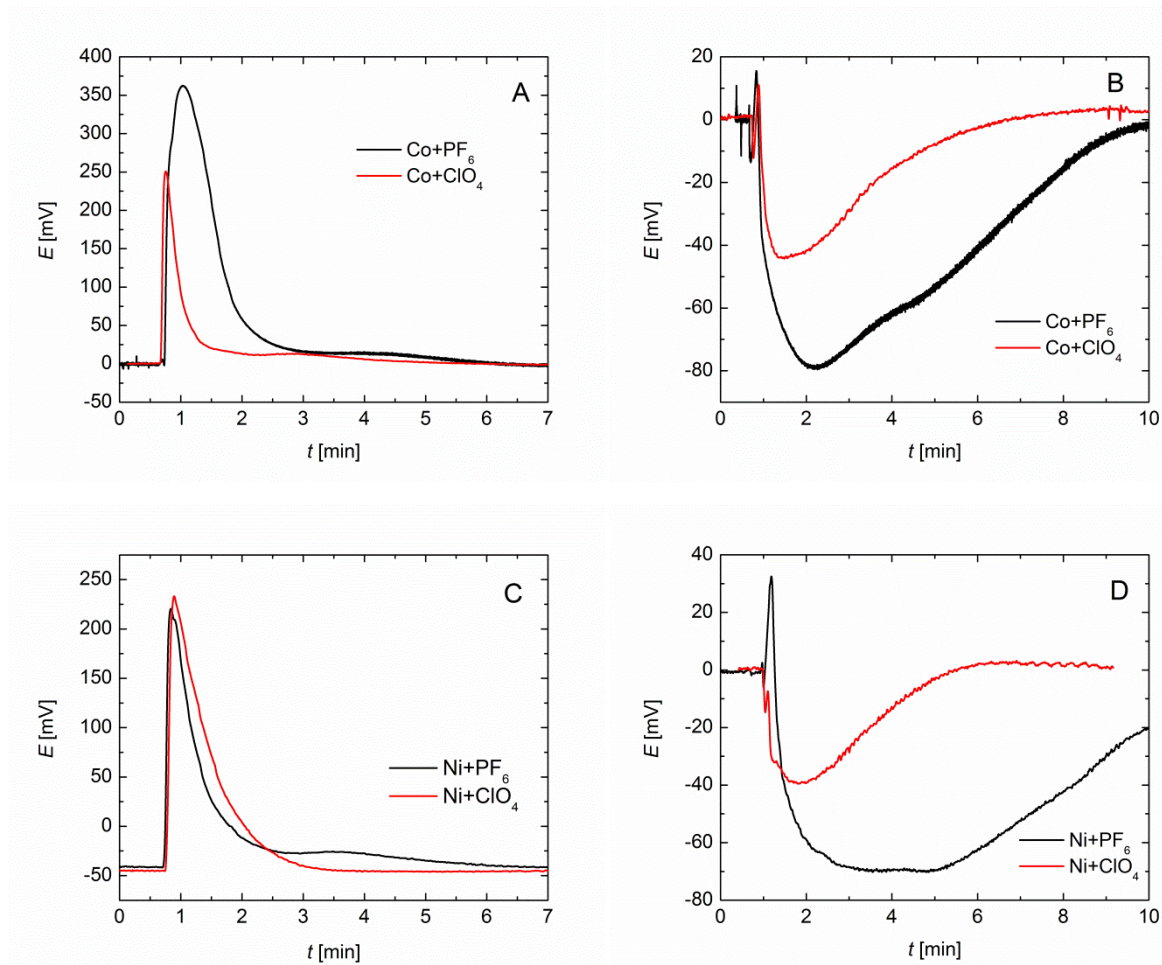
Efekt odlišné sorpce různých látek na mezifázi a rozdílné tloušťky mezifází při použití různých nevodných rozpouštědel může být využit v multisenzorové analýze. Průtokový multisenzor může být tvořen řadou detekčních segmentů, každý s jinou nevodnou fází. Platí, že čím více rozpouštědel použijeme, tím specifitější sérii odezvy lze získat a tak snadněji identifikovat jednotlivé látky v multikomponentním analytu.



Obr. 3.13: Srovnání potenciálové odezvy analytu v závislosti na volbě nevodného rozpouštědla. Nevodná fáze obsahovala 1 mM CoTNPC s 1 M TBAPF₆ v *o*-DCB (–) nebo v NB (–). Mobilní fáze byla destilovaná voda saturovaná TBAPF₆. Průtok byl 3 mL min⁻¹. Referenční elektrody SCE byly umístěny v mobilní a statické vodné fázi cely. Pro srovnání jsou ukázány odezvy na nástřik 0.1 M Na₂S (A) a 0.1 M cystein HCl (B).

3.2.1.2 Volba nevodného elektrolytu

Byly odzkoušeny tři varianty nevodného elektrolytu; TBAClO₄, TBAPF₆ a TBABF₄. Rozpustnost těchto elektrolytů v *o*-DCB klesá ve směru TBAClO₄ > TBAPF₆ > TBABF₄. Kromě nízké rozpustnosti TBABF₄ systém sestavený s TBABF₄ vykazoval i nejnižší odezvu na sulfidy a proto bylo od jeho dalšího použití upuštěno. V detekčním systému obsahující jako mediátor CoTNPC, s elektrolytem TBAPF₆ senzor vykazoval vyšší odezvu na stejnou koncentraci obou modelových analytů oproti systému obsahující TBAClO₄ (obr. 3.14AB), ale doba potřebná k regeneraci senzoru se výrazně prodloužila. Stejný efekt byl pozorován u senzoru s mediátorem NiTNPC v případě detekce hydrochloridu cysteinu (obr. 3.14D), zatímco při detekci Na₂S vliv změny nevodného elektrolytu na charakter odezvy nebyl významný (obr. 3.14C).

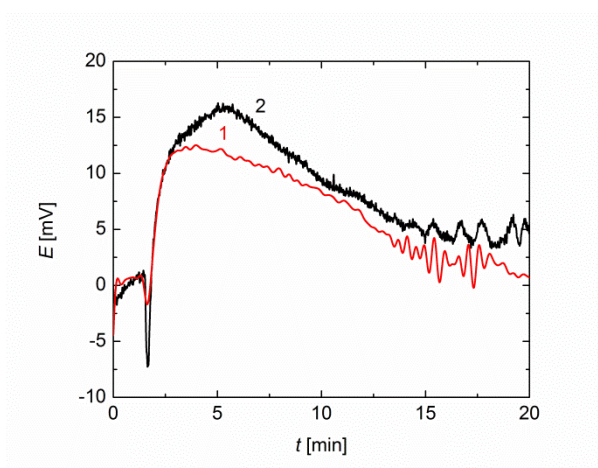


Obr. 3.14: Srovnání potenciálové odezvy analytu v závislosti na volbě nevodného elektrolytu. Systém byl složen z 0.5 mM CoTNPc nebo 0.5 mM NiTNPc s 0.5 M TBAPF₆ nebo 0.5 M TBAClO₄ v *o*-DCB. Mobilní fáze byla destilovaná voda saturovaná TBAClO₄ nebo TBAPF₆. Průtok byl 3 mL min⁻¹. Byly použity referenční elektrody SCE umístěné ve vodné mobilní a statické fázi cely. Nástřik analytu byl proveden vždy v čase $t = 10$ s. Pro srovnání jsou ukázány odezvy na nástřik 0.1 M Na₂S (A, C) a 0.1 M cystein HCl (B, D).

3.2.1.3 Volba mediátoru

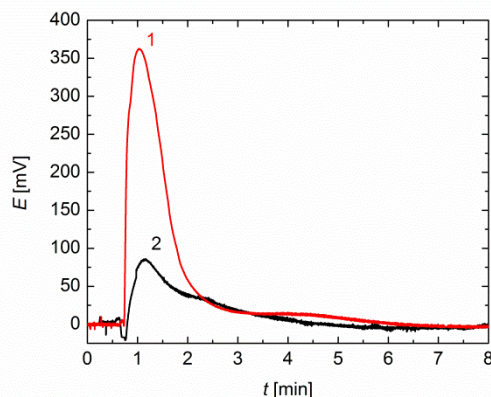
Metoda časově rozlišené potenciometrie založená na ITIES poskytuje potenciometrickou odezvu i bez použití redox mediátoru rozpuštěného v nevodné fázi, v našem případě ftalocyaninu. V takovém případě budou odezvy založeny hlavně na fyzikálních změnách na mezifázi způsobených interakcí resp. přenosem analytu. Obr. 3.15 ukazuje odezvu senzoru na analyt, který chemicky nereaguje s redox mediátorem. V tomto případě je potenciálová odezva prakticky nezávislá na přítomnosti redox mediátoru a odráží měnící se poměr koncentrace iontů Na⁺ na mezifázi voda/

o-DCB. Přenos iontů do nevodné fáze je zprostředkován pomocí párování s ionty přenašeče – TBAPF₆. Doba do opětovného ustavení rovnováhy a tím dosažení nulového potenciálového rozdílu je přibližně 20 min a ukazuje, že odezva je ovlivněna difúzí (solvatovaného) Na⁺ a iontu nevodnou fází. Malý rozdíl mezi potenciálovou odezvou s a bez mediátoru je způsoben adsorpcí ftalocyaninu na mezifázi voda/*o*-DCB, která může ovlivnit rozdělovací koeficient Na⁺ iontu .



Obr. 3.15: Srovnání potenciálové odpovědi na duálním systému ITIES na vodný vzorek 1 M NaCl v přítomnosti chemického mediátoru 5×10^{-4} M CoTNPC v *o*-DCB (křivka 1) a při absenci chemického redox mediátoru (křivka 2). Nevodná fáze obsahuje: 5×10^{-4} M CoTNPC a 0.5 M TBAPF₆ v *o*-DCB. Obě vodné fáze jsou nasycené TBAPF₆ a obsahují 0.01 M KCl. Průtok mobilní vodné fáze byl 3 mL min^{-1} . Byly použity referenční elektrody SCE umístěné v mobilní a statické části nádoby.

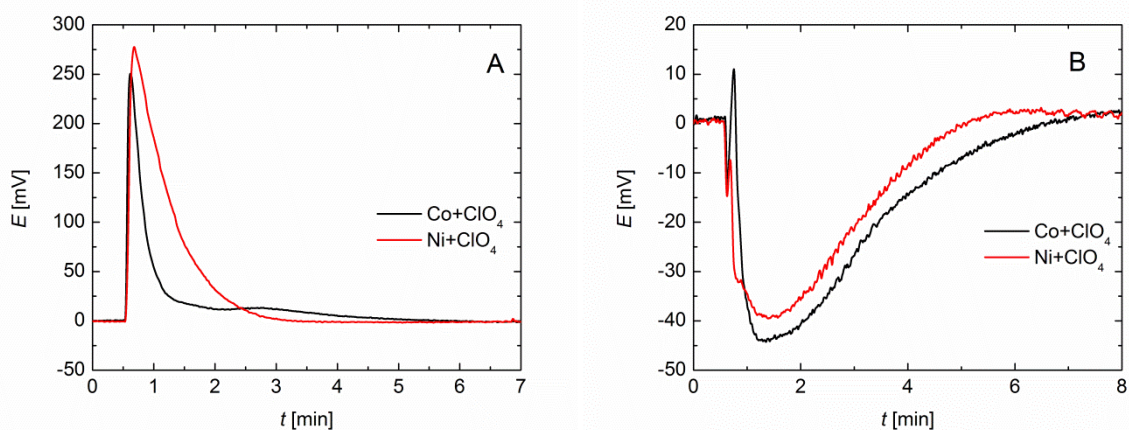
V případě analytu chemicky reagujícího s mediátorem, přítomnost mediátoru způsobuje významné zvýšení potenciálové odezvy (obr. 3.16). Tento případ je demonstrován stanovením modelového analytu Na₂S senzorem obsahujícím redox mediátor ftalocyanin, který reaguje podle reakce 3.8 uvedené v kapitole 3.2. Odezva časově rozlišené potenciometrie je v tomto případě konvolucí redoxní rovnováhy a rozdělovacího poměru látky mezi vodnou a nevodnou fází. Přítomnost ftalocyaninu v nevodné fázi navíc zabraňuje její kontaminaci Na₂S a polysulfidy. Regenerace mediátoru je zajištěna oxidací kyslíkem, jak je podrobněji rozebráno v kapitole 3.2.



Obr. 3.16: Srovnání potenciálové odezvy analytu na cele typu XY. Systém byl složen z 0.5 mM CoTNPC a 0.5 M TBAPF₆ v *o*-DCB (1) nebo jen z 0.5 M TBAPF₆ v *o*-DCB (2). Mobilní fáze byla destilovaná voda saturovaná TBAPF₆. Průtok mobilní vodné fáze byl 3 mL min⁻¹. Byly použity referenční elektrody SCE umístěné v mobilní a statické části cely. Pro srovnání jsou ukázány odezvy na nástřik 0.1 M Na₂S.

Volba vhodného redox mediátoru ovlivňuje nejen velikost odezvy senzoru, ale i selektivitu. Pro náš modelový senzor jsme porovnávali dva mediátory reagující s S²⁻ ionty. Jedná se o deriváty ftalocyaninu lišící se pouze centrálním kovem- CoTNPC a NiTNPC.

Při detekci sulfidu sodného, systém s NiTNPC vykazoval zvýšení potenciálové odezvy oproti systému s CoTNPC (obr. 3.17A), zároveň však došlo k dvojnásobnému prodloužení doby regenerace. Charakter odezvy senzoru na hydrochlorid cysteinu byl prakticky nezávislý na použitém mediátoru (obr. 3.17B).

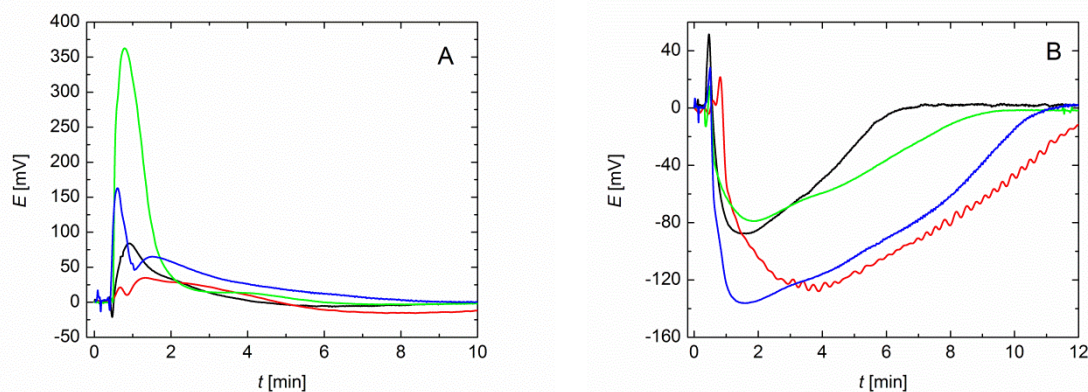


Obr. 3.17: Srovnání potenciálové odezvy analytu v závislosti na použitém redox mediátoru 0.5 mM CoTNPC nebo 0.5 mM NiTNPC s 0.5 M TBAClO₄ v *o*-DCB. Mobilní fáze byla destilovaná voda saturovaná TBAPF₆. Průtok byl 3 mL min⁻¹. Byly použity referenční elektrody SCE umístěné v mobilní a statické části nádoby. Pro srovnání jsou ukázány odezvy na nástřik 0.1 M Na₂S (A) a 0.1 M cystein HCl (B).

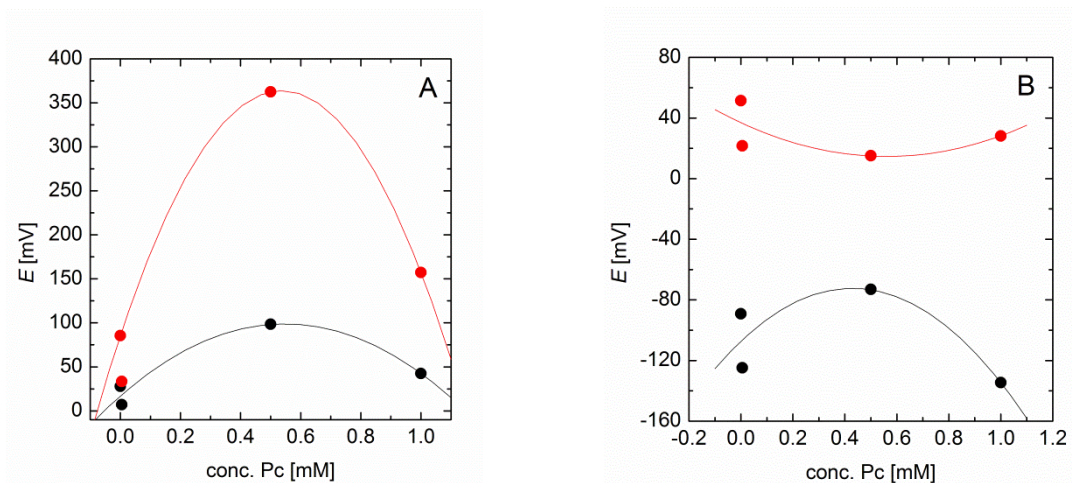
Křížové použití vybraných ftalocyaninů, CoTNPc a NiTNPc, a nevodných elektrolytů, TBAClO₄ a TBAPF₆, ukázalo nejvyšší odezvy pro 0.1 M Na₂S u kombinace CoTNPc s TBAPF₆ a pro 0.1 M hydrochlorid cysteinu u kombinace NiTNPc s TBAPF₆.

3.2.1.4 Vliv koncentrace mediátoru

Charakter odezvy senzoru rovněž ovlivňuje koncentrace mediátoru. Na obrázku 3.18A lze vidět, že závislost odezvy senzoru na koncentraci ftalocyaninu není lineární. Při detekci analytu Na₂S byly nejvyšší odezvy pro koncentraci 5×10^{-4} M CoTNPc (obr. 3.19) přitom jejich průběh je nezávislý na koncentraci analytu - stejná optimální koncentrace ftalocyaninu byla nalezena pro 0.1 M i 0.01 M Na₂S (obr. 3.19A). Pro analyt hydrochloridu cysteinu byla koncentrační závislost ftalocyaninu mnohem méně jasná vzhledem k více píkům či vlnám. V případě negativního píku (~vlny) se jeví optimální koncentrace 1×10^{-3} M ftalocyaninu-CoTNPc v nevodné fázi (obr. 3.19B) a v případě pozitivního píku je velikost odezvy nejvyšší bez mediátoru (obr. 3.18B). Jak bude podrobněji vysvětleno v dalších kapitolách, charakter potenciometrické odezvy je odrazem řady dějů odehrávající se na mezifázi. V případě hydrochloridu cysteinu změna potenciálu do negativních hodnot souvisí se změnou pH na mezifázi po nastříku analytu. Tento negativní pík (~vlna) pak zároveň ovlivňuje i velikost pozitivního píku odpovídající reakci cysteinu s ftalocyaninem.



Obr. 3.18: Srovnání potenciálové odezvy 0.1 M Na₂S (A) a 0.1 M hydrochloridu cysteinu (B). Nevodná fáze obsahovala 0 M CoTNPc (–), 5×10^{-6} M CoTNPc (–), 5×10^{-4} M CoTNPc (–) a 1×10^{-3} M CoTNPc (–) s 0.5 M TBAPF₆ v *o*-DCB. Mobilní fázi byla destilovaná voda saturovaná TBAPF₆ s průtokem 3 mL min⁻¹. Byly použity referenční elektrody SCE umístěné v mobilní a statické části cely.



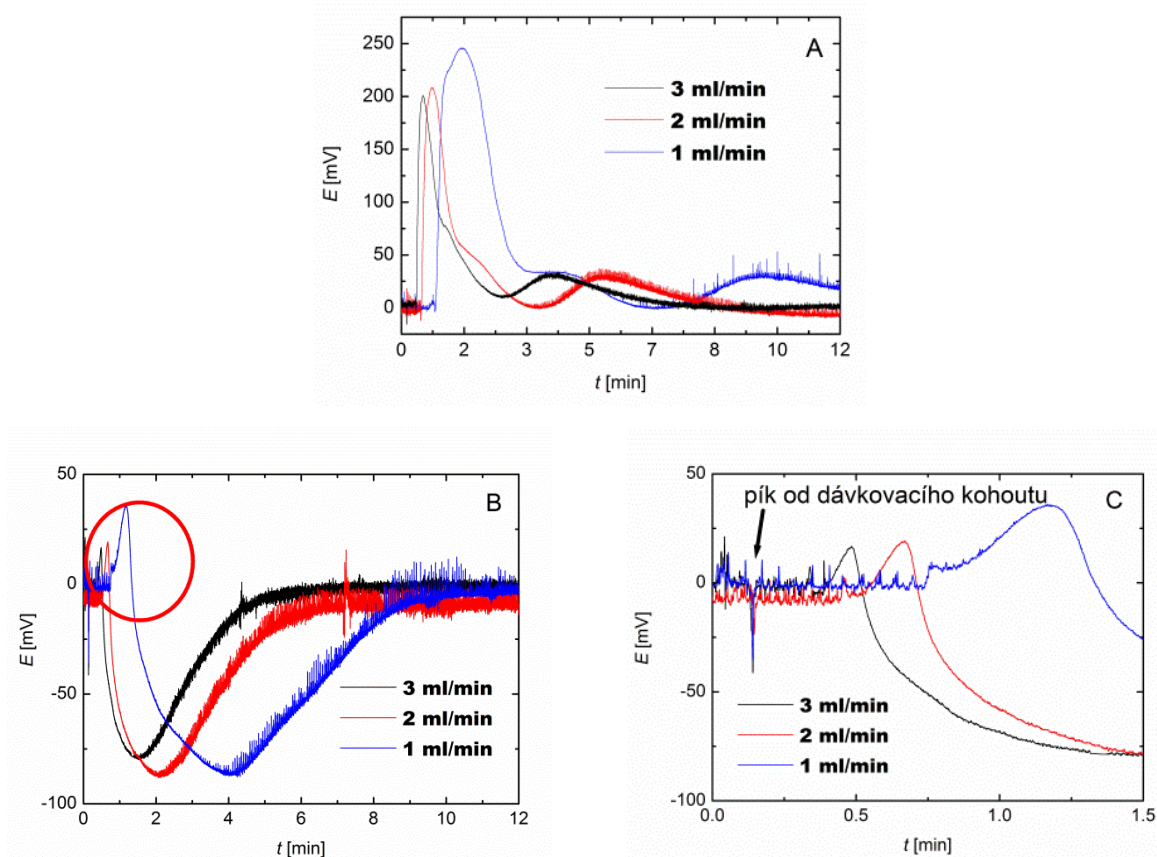
Obr. 3.19: Závislost maximální potenciálové odezvy senzoru na koncentraci CoTNPc v *o*-DCB. Systém byl složen z 0 M CoTNPc, 5×10^{-6} M CoTNPc, 5×10^{-4} M CoTNPc nebo 1×10^{-3} M CoTNPc s 0.5 M TBAPF₆ v *o*-DCB. Mobilní fáze byla destilovaná voda saturovaná jen TBAPF₆. Průtok byl 3 mL min⁻¹. Byly použity referenční elektrody SCE umístěné v mobilní a statické části cely. Pro porovnání jsou ukázány odezvy na nástřik koncentrace 0.1 M (●) a 0.01 M Na₂S (●) (A) a 0.1 M hydrochloridu cysteinu pro max. pozitivního píku (●) a pro max. negativní vlny (●) (B).

3.2.2 Parametry vodné části senzoru ovlivňující odezvu

3.2.2.1 Vliv rychlosti průtoku mobilní fáze

Obr. 3.20 zachycuje potenciálovou odezvu časově rozlišené potenciometrie zaznamenanou při různých rychlostech průtoku mobilní fáze.

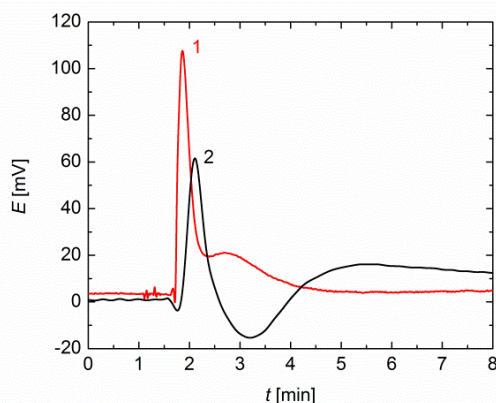
Charakter odezvy byl v rozsahu měřených rychlostí podobný (obr. 3.20, 3.21). Se snižující se rychlostí docházelo ke zvyšování potenciálové odezvy (při trojnásobném zpomalení průtoku došlo ke zvýšení odezvy o 50 mV), ale zároveň se však prodlužovala doba regenerace senzoru. Rychlost průtoku 3 mL/min byla proto zvolena jako optimální kompromis mezi rychlostí průtoku, citlivostí a dobou regenerace senzoru.



Obr. 3.20: Potenciometrické odezvy 0,1 M Na₂S (A) a hydrochloridu cysteinu (B) v závislosti na rychlosti průtoku vodné fáze. Detail potenciometrické odezvy (C) viz zakroužkovaná oblast v obrázku (B). Detekční nevodná fáze byla složena z 5×10^{-4} M CoTNPc s 0.5 M TBAPF₆ v *o*-DCB. Mobilní fázi byla destilovaná voda saturovaná TBAPF₆. Průtok byl (→) 1 mL min⁻¹, (→) 2 mL min⁻¹ a (→) 3 mL min⁻¹. Byly použity referenční elektrody SCE umístěné v mobilní a statické vodné fázi.

3.2.2.2 Vliv pH

Jak již bylo ukázáno dříve, časově rozlišená potenciometrie vykazuje selektivitu projevující se rozdílnou odezvou i v případě látek obsahující podobnou funkční skupinu jako je tomu v případě Na_2S a cysteinu. Potenciometrická odezva totiž odráží rozdílné iontové produkty stanovované látky, jak je dále ilustrováno na modelovém iontu S^{2-} , dávkovaném ve formě roztoku Na_2S a H_2S . (obr. 3.22). Odlišné iontové složení analytu v prostředí o daném pH ovlivněné acidobazickou rovnováhou se zde projevuje výrazně odlišnou obálkou potenciálového průběhu.



Obr. 3.22: Srovnání potenciometrické odezvy 10^{-2} M Na_2S (křivka 1) a H_2S (saturovaný roztok při $20\text{ }^\circ\text{C}$, ~ 0.1 mol/L) (křivka 2). Nevodná fáze byla složena z 0.5 mM CoTNPC s 0.5 M TBAPF_6 v *o*-DCB. Vodná fáze byla saturovaná TBAPF_6 . Průtok byl 3 mL min^{-1} . Byly použity referenční elektrody SCE umístěné v mobilní a statické části cely.

Na_2S a H_2S podléhají hydrolyze za vzniku rozdílných produktů:



Reakce Na_2S s vodou vede k silně alkalickému roztoku, reakce H_2S s vodou vede ke kyselému roztoku podle následujících reakcí:



s disociačními konstantami reakce (3.10) a reakce (3.11) $K_1 = 9.1 \times 10^{-8}$ a $K_2 = 1.3 \times 10^{-13}$.

Charakter potenciálové odezvy sensoru na přítomnost Na_2S a H_2S se výrazně liší (obr. 3.22). Zatímco potenciálová odezva na Na_2S je tvořena dvěma pozitivními maximy (křivka 1), v případě H_2S (křivka 2) je pozitivní maximum následováno poklesem potenciálu do negativních hodnot. Vzhledem k tomu, že potenciometrická odezva na mezifázi je v případě Na_2S a H_2S ovlivněna řadou faktorů, z nichž majoritní jsou redoxní reakce s mediátorem a tvorba meziproductů (polysulfidy a kyslíkaté sloučeniny síry a jejich adsorpce na mezifázi [117, 122, 123]), pH a s ním související disociační a distribuční rovnováhy, bylo úpravou experimentálních podmínek dosaženo zúžení této skupiny faktorů: Použitím identického iontového složení roztoků na obou stranách nevodné fáze byl potlačen vliv distribučních a disociačních rovnováh a volbou analytu eliminována redox reakce s mediátorem, což umožnilo nastavit podmínky experimentu tak, aby bylo možné studovat selektivně potenciálovou odezvu mezifází na pH mobilní fáze. Pro zjištění pouze samotného vlivu pH jsme použili jednodušší analyty KOH a HCl (viz obr. 3.23). K potlačení vlivu iontů K^+ a Cl^- na potenciometrickou odezvu byl do stacionární i mobilní vodné fáze přidán KCl (viz. schéma 2) Složení obou mezifází se tedy po nástřiku analytu KOH resp. HCl liší pouze přítomností $\text{H}^+(\text{H}_3\text{O}^+)$ respektive OH^- iontů. V takto nastaveném systému nedochází k redoxní reakci mediátoru CoTNPC a potenciometrická odezva je způsobena převážně acidobazickou reakcí na mezifázi.

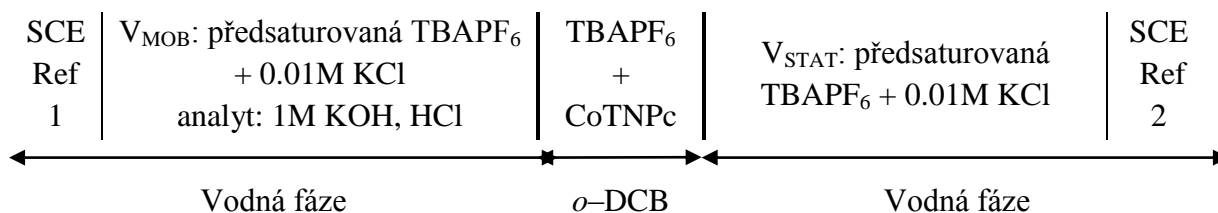


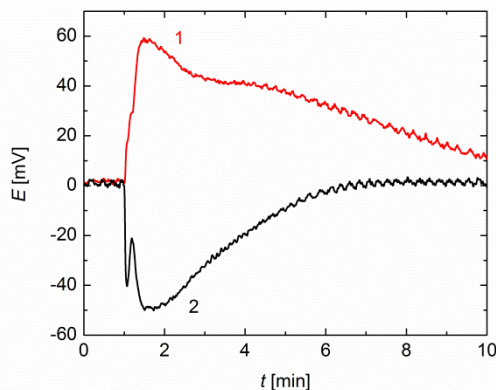
Schéma 2. Schéma uspořádání pro identifikaci vlivu pH. Nevodná fáze *o*-DCB obsahuje 0.5 mM CoTNPC jako redox mediátor a elektrolyt 0.5 M TBAPF₆. Obě vodné fáze byly předsaturovány TBAPF₆, pro minimalizaci úniku TBAPF₆ z nevodné fáze.

Ukázalo se, že negativní změna potenciálu je charakteristická pro kyselé sloučeniny HCl a H_2S . Negativní změnu potenciálu nevykazují alkalické (KOH, Na_2S) a neutrální sloučeniny.

Změna směru potenciálové odezvy na ITIES, tzv. přepólování, byla již dříve pozorována při stanovení roztoků aminokyselin o různém pH. Tento efekt byl vysvětlen změnou orientace molekul na mezifázi vlivem změny lipofility funkčních skupin

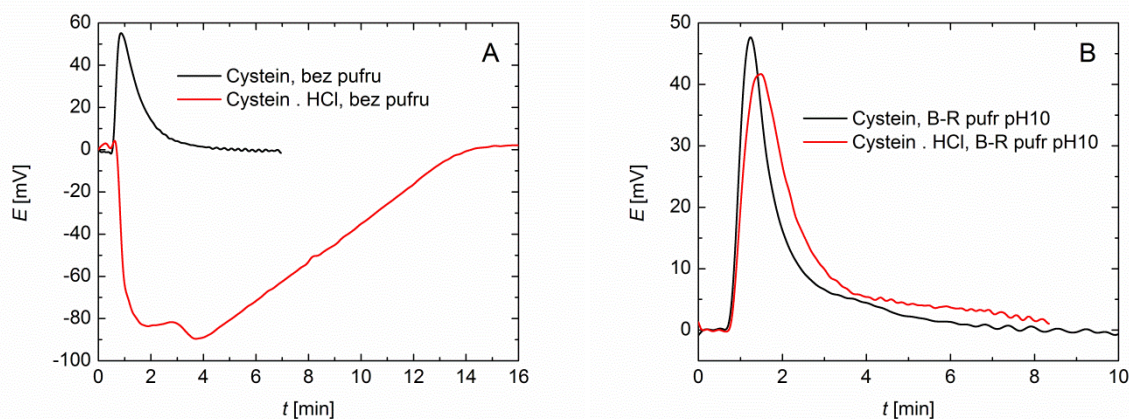
aminokyselin při různých pH [13].

Obdobně se dá předpokládat, že alkalické kationty mohou ovlivňovat vlastnosti mezifáze [124] a tím i kinetiku chemické reakce H_2S a Na_2S [101, 125], což vede k odlišnostem v průběhu potenciometrické odezvy.



Obr. 3.23: Srovnání potenciometrické odezvy na 1 M KOH (křivka 1) a 1 M HCl (křivka 2). Nevodná fáze obsahovala 0.5 mM CoTNPC s 0.5 M TBAPF₆ v *o*-DCB. Vodná fáze byla destilovaná voda předsaturovaná TBAPF₆ s přidavkem 0.01 M KCl pro potlačení vlivu K⁺ a Cl⁻ iontů. Průtok byl 3 mL min⁻¹. Byly použity referenční elektrody SCE umístěné v mobilní a statické části vodné fáze.

Změna pH způsobuje relativně rychlou změnu membránového potenciálu, ale kompenzace tohoto stavu pomocným transferovým iontem je výrazně pomalejší proces [126]. To se ukázalo i v případě hydrochloridu cysteinu a cysteinu v prostředí (obr. 3.24A), ve kterém není kompenzováno pH vodné fáze. V případě stabilizace pH pomocí pufru jsou potenciálové průběhy obou látek shodné a jen minimálně ovlivněné přítomností HCl (obr. 3.24B).



Obr. 3.24: Srovnání potenciálové odezvy 0.1 M hydrochloridu cysteinu a 0.1 M cysteinu. Nevodná fáze obsahovala roztok 5×10^{-4} M CoTNPC s 0.5 M TBAPF₆ v *o*-DCB. Mobilní vodná fáze byla saturovaná TBAPF₆ nepufrovaná (A) nebo pufrovaná B.-R. pufrům pH 10 (B). Průtok mobilní vodné fáze byl 3 mL min⁻¹, referenční elektrody SCE umístěné v obou vodných fázích.

3.2.2.3 Vliv iontového složení analytu

Vliv iontového složení analytu chemicky nereagujícího s redox mediátorem je ilustrován na modelových analytech NaCl a KCl.

Schéma uspořádání a složení jednotlivých fází je uvedeno ve schématu 3.

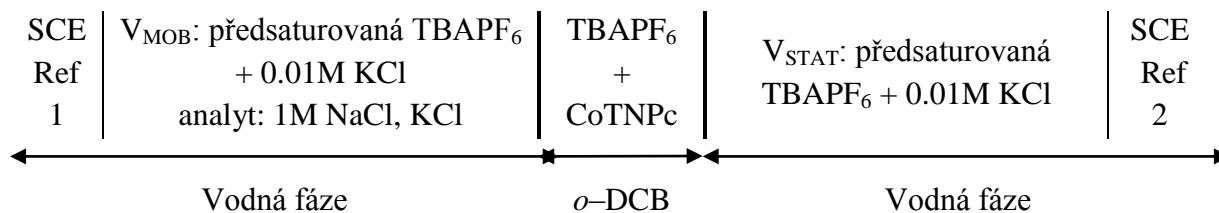
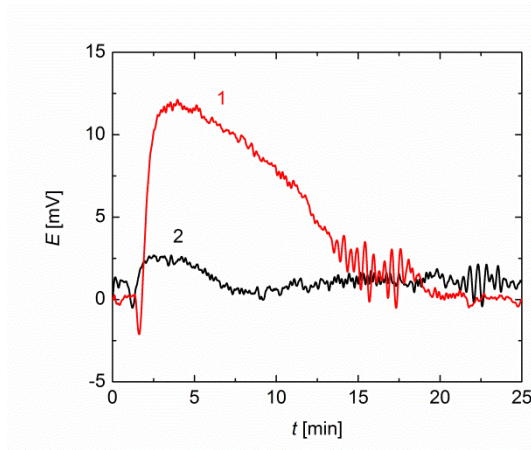


Schéma 3. Uspořádání pro identifikaci iontů indiferentního elektrolytu (který nereaguje s redox mediátorem). Vodné fáze byly předsaturovány TBAPF₆ pro minimalizaci úniku TBAPF₆ z nevodné fáze (*o*-DCB), která obsahovala 0.5 mM CoTNPc s 0.5 M TBAPF₆, referenční elektrody SCE v obou vodných fázích.

Mobilní i stacionární vodná fáze obsahují KCl. Obr. 3.25 křivka 2 ukazuje, že potenciálová odezva na nástřik 1M KCl do mobilní vodné fáze je minimální, je-li tento analyt přítomen v obou vodných fázích, byť v řádově nižší koncentraci. Ačkoliv dočasné zvýšení koncentrace KCl na jednom mezifázi může ovlivnit potenciál na mezifázi (*junction potential*), vzájemné zrcadlové uspořádání duálního ITIES, potlačuje relativně malý potenciál interakcí rozpouštědlo-rozpouštědlo [127] na hodnotu blízkou rozlišovacímu limitu.

Této selektivity na duálním ITIES by bylo možné využít k potenciometrickému stanovení jedné složky multikomponentního analytu v přítomnosti ostatních, aniž by bylo nutné předem použít separačních metod. Pokud složení stacionární vodné fáze bude obsahovat všechny složky mobilní fáze až na jedinou, pak potenciometrická odezva bude vyvolána pouze touto složkou.



Obr. 3.25: Srovnání potenciometrické odezvy na 1 M NaCl (křivka 1) a 1 M KCl (křivka 2) nastříknuté do mobilní vodné fáze. Nevodná fáze obsahovala z 0.5 mM CoTNPC s 0.5 M TBAPF₆ v *o*-DCB. Obě vodné fáze byly předsaturovány TBAPF₆, stacionární fáze obsahovala navíc 0.01 M KCl k potlačení vlivu Cl⁻ a K⁺ na rozhraní detekční mobilní fáze. Průtok mobilní fáze byl 3 mL min⁻¹, referenční elektrody SCE byly umístěné v mobilní a statické části vodné fáze.

Obrázek 3.25 (křivka 1) ukazuje pozitivní potenciálovou odezvu na analyt NaCl nastříknutý do mobilní fáze. Z průběhu potenciálové křivky, kde návrat na původní hodnotu potenciálu trvá déle než 20 minut, lze usuzovat na ovlivnění mezifázovou difúzí iontu do stacionární fáze oproti křivce 2, která odpovídá pouze vyrovnání koncentračního gradientu na rozhraní mobilní fáze. Metodu časově rozlišené potenciometrie lze tedy použít k odlišení těchto iontů. V případě stanovení anorganických solí NaCl a KCl nehraje přítomnost redoxního mediátoru CoTNPC žádnou roli - potenciálová odezva je v tomto případě prakticky totožná s odezvou bez mediátoru, jak bylo uvedeno výše - viz. kapitola 3.2.1.3.

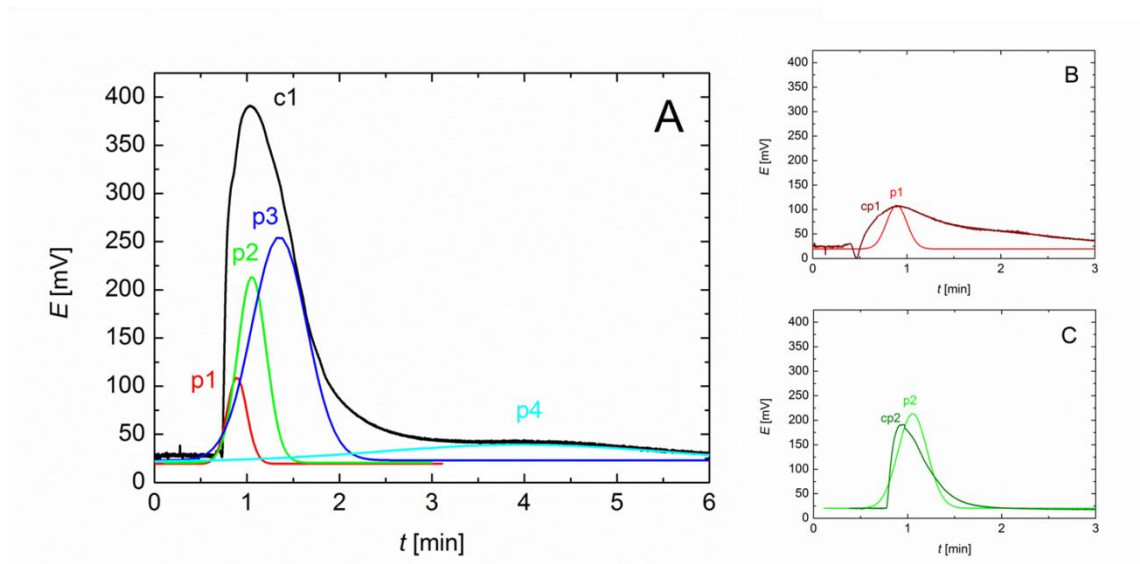
3.2.3 Aplikace časově rozlišené potenciometrie

Jak bylo ukázáno výše, průtoková časově rozlišená potenciometrie poskytuje pro každý zkoumaný analyt charakteristickou odezvu v podobě obalové křivky časového průběhu potenciálu a odráží vlastnosti stanovované látky z hlediska jejího chování a interakcí na mezifázi vodná/nevodná fáze. Z toho vychází dvě základní možnosti uplatnění této metody

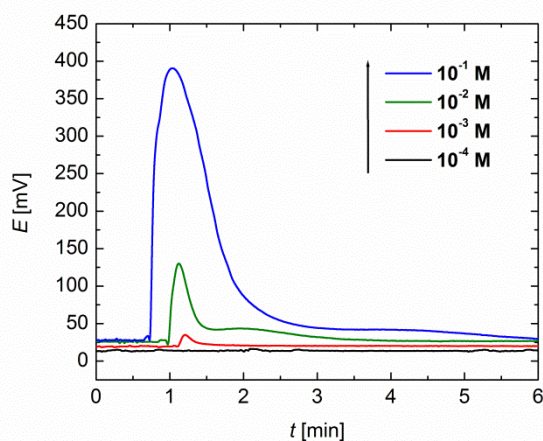
- studium fyzikálně-chemického chování látek na duálním rozhraní voda/nevodné rozpouštědlo/voda, které může být přínosem biomimetického modelu průchodu různých látek přes biologické membrány
- kvalitativní stanovení složek i multikomponentního analytu bez nutnosti zařazení separačního kroku.

3.2.3.1 Studium dějů na mezifázi

Odezva průtokové časově rozlišené potenciometrie je konvolucí řady dějů odehrávajících se na obou mezifázi duálního systému. Na obalové $E - t$ křivce se objevují vlny a maxima, která nesouvisí s dávkováním, jak je patrné z detailu na obr. 3.20 C, kde se píky od dávkovacího kohoutu překrývají. Obrázek 3.26 ilustruje, matematickou dekonvoluci obalové potenciometrické křivky na jednotlivé složky, které jsou důsledkem interakcí analytu na rozhraní voda/o-DCB. Z obrázku 3.26 je patrné, že obalová křivka odezvy na nástřik Na_2S je složena ze 4 samostatných píků. Pík označený p1 (obr. 3.26A) odpovídá experimentálně ověřenému píku cp1 (obr. 3.26B) korespondujícímu s rozdělovací rovnováhou na mezifázi V/o-DCB. Pík p2 odpovídá experimentálně získanému píku cp2 (obr. 3.26C) při eliminaci vlivu pH a Na^+ pomocí fosfátového pufru. Dále můžeme předpokládat, že třetí získaný pík p3 odpovídá acidobazické rovnováze analytu na mezifázi (viz. reakce 3.10). Pík p4 nebo spíše vlna se objevuje až při vysokých koncentracích sulfidů (obr. 3.27) a odpovídá pravděpodobně tvorbě produktů oxidace sulfidu např. polysulfidům, jak naznačuje i pozdní nástup potenciálové odezvy a dlouhá doba nutná k regeneraci díky adsorpci na mezifázi.



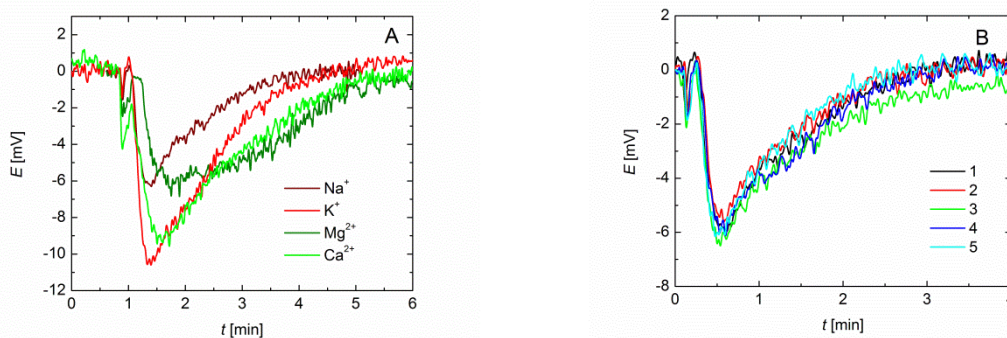
Obr. 3.26: Dekonvoluce potenciálové odezvy vodného roztoku analytu 10^{-1} M Na_2S nastříknutého do mobilní vodné fáze duálního ITIES. (A, křivka c1) Celková potenciálová odezva pro 10^{-1} M Na_2S za podmínek, kdy nevodná fáze *o*-DCB obsahovala 0.5 mM CoTNPC s 0.5 M TBAPF_6 . Obě vodné fáze byly předsaturovány TBAPF_6 . (B, křivka cp1) Celková potenciálová odezva 10^{-1} M Na_2S za podmínek, kdy nevodná fáze obsahovala jen 0.5 M TBAPF_6 v *o*-DCB. Obě vodné fáze byly předsaturované TBAPF_6 . (C, křivka cp2) Celková potenciálová odezva pro 10^{-1} M Na_2S za podmínek, kdy nevodná fáze (*o*-DCB) obsahovala 0.5 mM CoTNPC s 0.5 M TBAPF_6 . Obě vodné fáze byly předsaturované TBAPF_6 s fosfátovým pufrém 1/15 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ and 1/15 M KH_2PO_4 upraveným na pH 7. Píky p1, p2, p3 a p4 byly získané dekonvolucí programem Origin. Průtok byl 3 mL min^{-1} . Referenční elektrody SCE byly umístěné v mobilní a statické vodné fázi.



Obr. 3.27: Potenciálová odezva na dávkování vodného roztoku analytu 10^{-4} M, 10^{-3} M, 10^{-2} M a 10^{-1} M Na_2S do mobilní vodné fáze duálního systému ITIES. Nevodná fáze *o*-DCB obsahovala 0.5 mM CoTNPC s 0.5 M TBAPF_6 . Obě vodné fáze byly předsaturovány TBAPF_6 . Průtok mobilní fáze byl 3 mL min^{-1} . Referenční elektrody SCE byly umístěné ve vodné mobilní a statické fázi.

3.2.3.2 Kvalitativní analýza

Druhou výše zmiňovanou oblastí využití časově rozlišené potenciometrie je kvalitativní analýza komponent analytu. Tato metoda využívá separačně distribučních vlastností duálního mezifází. Metoda je tedy založena na podobném principu jako chromatografické stanovení, kdy pro stanovení látky je nutné nejprve vytvořit databázi odezvy a neznámou složku pak identifikovat srovnáním s databází. Časový průběh potenciálové odezvy je na daném měřicím systému charakteristický pro určitou látku. Obrázek 3.28A ukazuje odezvy kationtů alkalických kovů a alkalických zemin. Schéma složení duálního ITIES je zachyceno ve schématu 4. Obrázek 3.28B ukazuje dobrou reprodukovatelnost odezvy při opakovaném dávkování stejného analytu.



Obr. 3.28: (A) Potenciometrické odezva na dávkování 100 μL analytu 0.01 M NaClO_4 , KClO_4 , $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$, $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$ do mobilní vodné fáze duálního ITIES. (B) Opakovatelnost potenciometrické odezvy pro pět po sobě jdoucích dávek 0.01 M NaClO_4 . Nevodná *o*-DCB fáze obsahovala z 0.5 mM CoTNPC s 0.5 M TBAClO_4 . Obě vodné fáze byly předsaturovány TBAClO_4 . Průtok mobilní fáze byl 3 mL min^{-1} , referenční elektrody SCE byly umístěné v mobilní a statické vodné fázi.

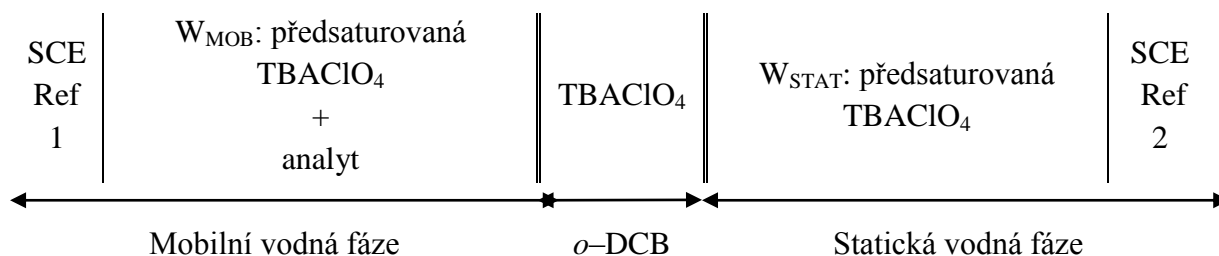


Schéma 4.: Uspořádání využívající duálního ITIES pro detekci iontů bez redoxního mediátoru. Analyt: 0.01 M NaClO_4 , KClO_4 , $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$, $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$. Průtok mobilní fáze byl 3 mL min^{-1} . Referenční elektrody SCE byly umístěny v mobilní a statické vodné fázi.

Stanovované kationty byly dávkovány ve formě chloristanů. Obě vodné i nevodná fáze byly předem nasyceny ionty ClO_4^- (viz. schéma 4), takže nástřik analytu nezpůsobil změnu poměru koncentrace ClO_4^- na mezifázi. Potenciometrická odezva pak odrážela pouze změny způsobené kationty analytu. Stejněho postupu lze opět využít i při stanovení směsného analytu. Pokud složení stacionární vodné fáze bude až na jediný ion identické s analytem, pak odezva časově rozlišené potenciometrie odráží pouze změny vyvolané tímto iontem. Není tedy nutné použití separačních metod pro stanovení jedné složky směsného analytu.

Transfer iontů z vodné do nevodné fáze se řídí Bornovým modelem pro volnou energii transferu iontů mezi dvě rozpouštědla [128] a je ovlivněn poloměrem iontů a velikostí náboje.

$$\Delta G_{tr}(1-2) = \frac{N_A z_i^2 e^2}{8\pi\epsilon_0 r_i} \left(\frac{1}{\epsilon_2} - \frac{1}{\epsilon_1} \right) \quad (3.12)$$

$\Delta G_{tr}(1-2)$: volná energie transferu iontů z rozpouštědla 1 do rozpouštědla 2

N_A : Avogadrova konstanta

z_i : náboj iontu

r_i : poloměr iontu

e : elektronový náboj (electronic charge)

ϵ_0 : permitivita volného prostoru

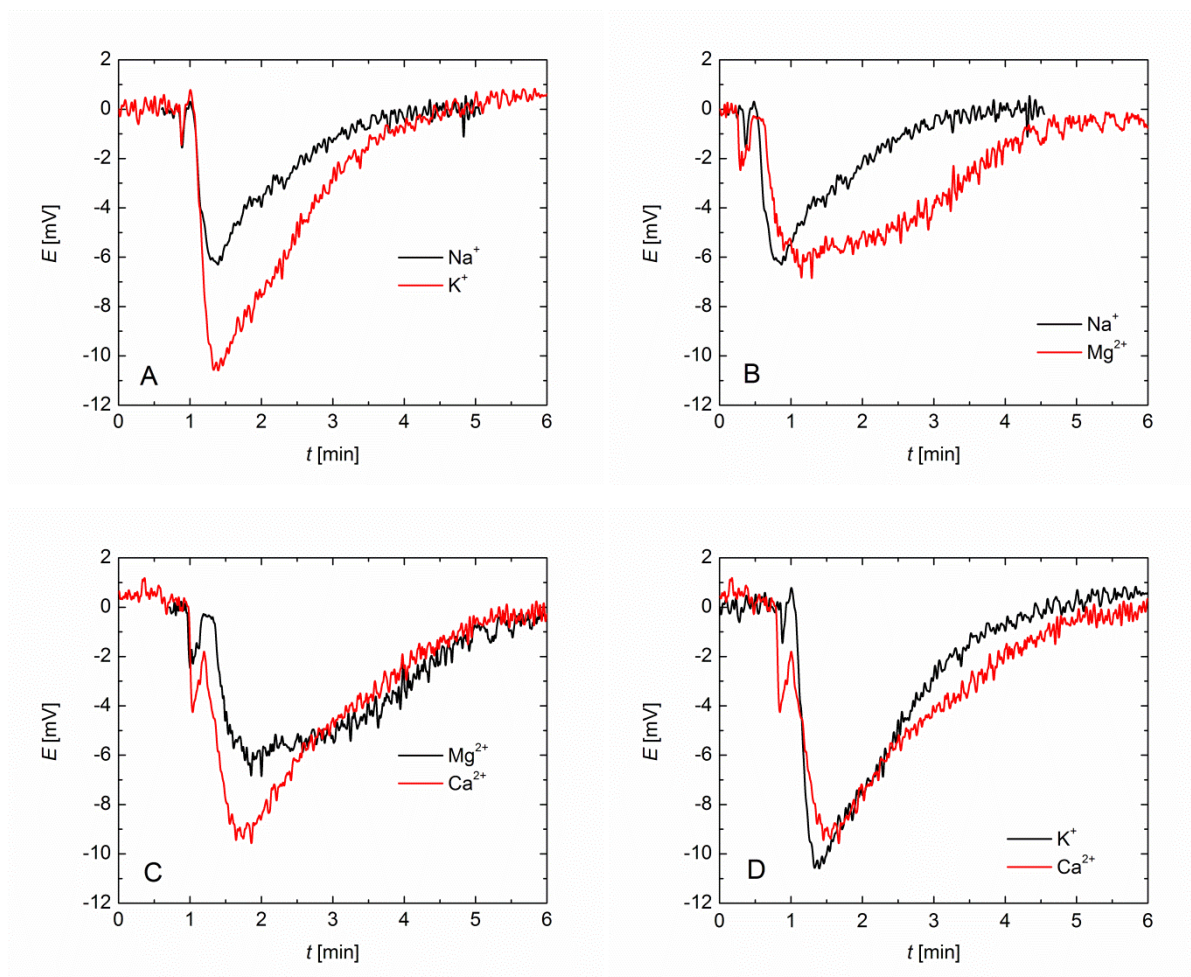
ϵ_1 : relativní permitivita rozpouštědla 1

ϵ_2 : relativní permitivita rozpouštědla 2

Rozdělovací konstantu lze upravit podle tohoto modelu:

$$\log K = -\Delta G_{tr} / RT \ln 10 \quad (3.13)$$

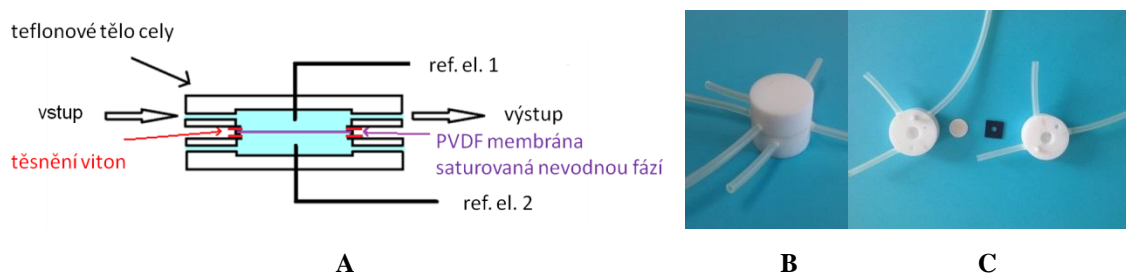
Z uvedených vztahů při zanedbání dalších vlivů lze předpovědět, že pro ionty se stejným nábojem jako je tomu v případě Na^+ a K^+ respektive Mg^{2+} a Ca^{2+} bude pro stejnou koncentraci iontu větší potenciálová odezva pro ionty s větším poloměrem (obr. 3.29A, C). Časový průběh a doba do ustavení rovnováhy tj. do vyrovnání koncentrací na obou mezifázích bude rovněž závislá na rychlosti pronikání iontu přes nevodnou fázi, kterou ovlivňuje především hydrofobicita iontu, hydratační vrstva mezifází a velikost hydratačního obalu iontu [129] (obr. 3.29BD).



Obr. 3.29: Srovnání odlišností potenciálové odezvy na dávkování 100 μL analytu 0.01 M NaClO_4 , KClO_4 , $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$, $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$ do mobilní vodné fáze duálního ITIES. Nevodná fáze *o*-DCB obsahovala 0.5 mM CoTNPC s 0.5 M TBAClO₄ v. Obě vodné fáze byly přesaturované TBAClO₄. Průtok mobilní fáze byl 3 mL min⁻¹. Byly použity Referenční elektrody SCE byly umístěné ve vodné mobilní a stacionární fázi.

3.2.3.3 Návrh konstrukce cely pro praktické aplikace

Pro budoucí praktické využití metody časově rozlišené potenciometrie byl navržen a zkonstruován funkční model senzoru. Skleněné tělo laboratorní nádoby bylo nahrazeno teflonem. Funkční model je rozebíratelný, tvořen ze dvou částí, mezi kterými je uzavřena polyvinyliden difluoridová (PVDF) membrána s nevodnou fází obsahující mediátor a elektrolyt. Membránu tvoří disk s velikostí pórů $0.22 \mu\text{m}$, který je utěsněn plochým těsněním Viton. Schéma a fotografie funkčního modelu senzoru je na obr. 3.30.



Obr. 3.30: Schéma funkčního modelu senzoru pro průtokovou časově rozlišenou potenciometrii využívající duální ITIES s PVDF membránou se zakotvenou nevodnou fází modifikovanou redox mediátorem (A) a jeho realizovaná verze (B), pohled na rozložený senzor s membránou a plochým těsněním Viton (C). Obě poloviny senzoru jsou zaměnitelné, proto obsahují mimo vstupů pro referenční elektrody i vstupy a výstupy mobilní fáze, které v případě segmentu stacionární fáze slouží pouze k jeho jednorázovému naplnění.

Toto uspořádání umožňuje cca 10-ti násobné snížení objemu nevodné fáze oproti skleněné nádobce uvedené na obr. 3.11. Jednoduchá rozebíratelnost a snadná manipulace s membránou umožňuje snadnou výměnu a optimalizaci složení nevodné fáze pro daný analyt. Cella byla vyzkoušena na modelovém analytu Na_2S . Složení jednotlivých fází je uvedeno na schématu 5.

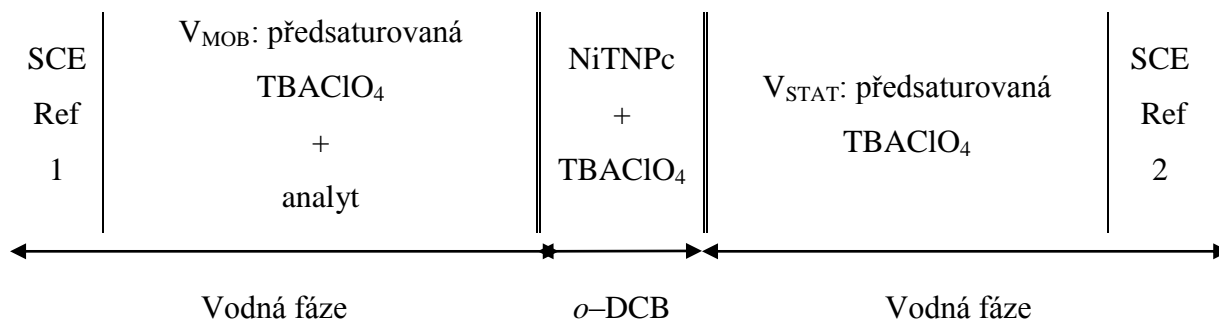
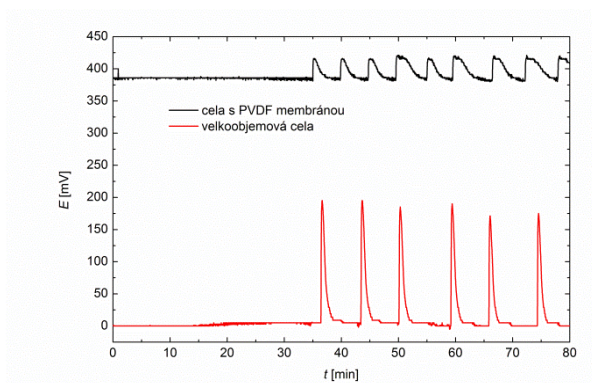
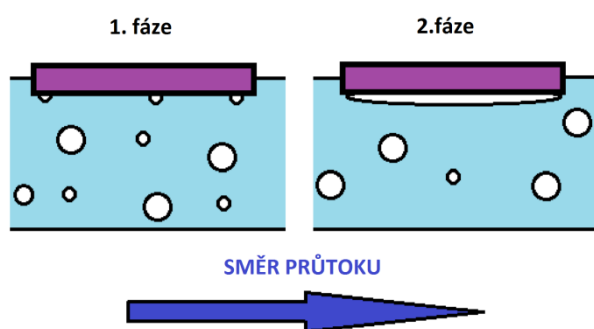


Schéma 5. Uspořádání měřicí cely pro detekci sulfidových iontů. Vodná fáze byla předsaturovaná TBAPF_6 , pro minimalizaci úniku TBAPF_6 z nevodné fáze (*o*-DCB). Redox mediátor $5 \times 10^{-4} \text{ M NiTNPC}$ je rozpuštěn rovněž v nevodné fázi *o*-DCB.

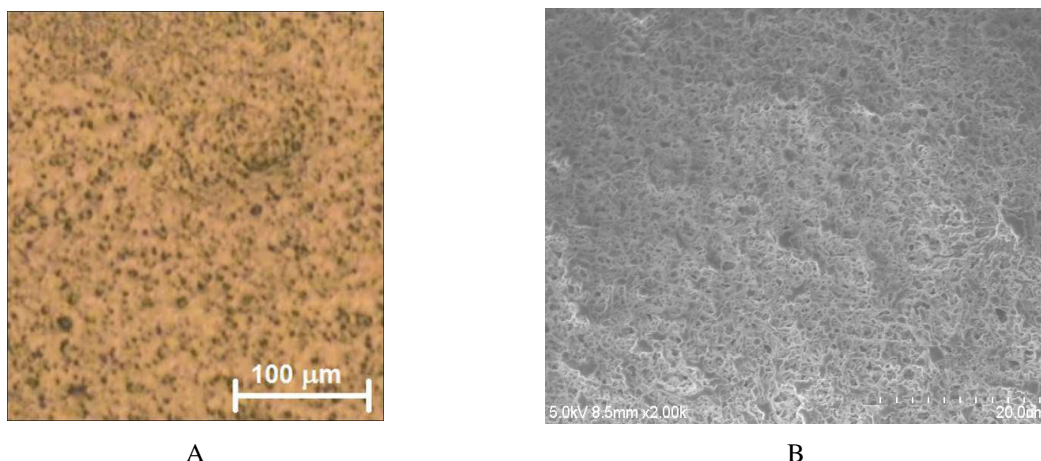
Jak je vidět z obrázku 3.31, systém vykazuje reprodukovatelnou odezvu, která je nižší ve srovnání se skleněnou laboratorní celou. Jedním z důvodů je pravděpodobně tvorba plynových domén na hydrofobním povrchu membrány (obr. 3.32). Přítomnost mikrobublin na pevném hydrofobním povrchu byla již dříve popsána [130] a stejně tak jejich vliv na průtok kapaliny a změnu tlaku [131]. Optická fotografie (viz obr. 3.33) ukazuje mikropóry PVDF membrány vyplněné nevodnou fází (světlá místa) a obsazená plynovými doménami (tmavá místa). Postupné zaplnění mikropórů PVDF membrány nevodnou fází lze vidět na videu, které je na přiloženém CD.



Obr. 3.31: Potenciálová odezva na dávkování vodného roztoku 10^{-1} M Na_2S do mobilní vodné fáze funkčního modelu s PVDF membránou (černá horní křivka) a skleněné nádoby (červená spodní křivka) využívající duální systém ITIES. Nevodná fáze obsahovala 0.5 mM NiTNPc s 0.5 M TBAClO_4 v *o*-DCB. Obě vodné fáze obsahovaly destilovanou vodu předsaturovanou jen TBAClO_4 . Průtok byl 3 mL min^{-1} . Byly použity referenční elektrody SCE umístěné v mobilní a statické části cely.



Obr. 3.32: Schéma vysvětlující vznik šumu při měření na kapalném rozhraní s použitím PVDF membrány. Na straně, kde dochází k průtoku vodné fáze, jsou postupem času na povrchu hydrofobní nevodné fáze zachycovány vzduchové bubliny (levá část schématu), které způsobují odizolování mezifázi tenkou vrstvou vzduchu (pravá část schématu).



Obr. 3.33: (A) Fotografie polyvinyliden difluoridové (PVDF) membrány saturevané nevodnou fází obsahující 0.5 mM NiTNPc a 0.5 M TBAClO₄ v *o*-DCB. Tmavá místa na fotografii jsou vzduchové bubliny, světlá místa jsou části membrány zaplněné nevodnou fází. (B) SEM fotografie čisté PVDF membrány.

Dalším důvodem snížení potenciometrické odezvy může být přítomnost tenkého vodného filmu na stěnách cely, resp. v některých pórech membrány, který způsobí „zkratování“ detekční plochy senzoru tvořené nevodnou fází zakotvenou v hydrofobní membráně. U robustnějšího uspořádání skleněné cely, která pracuje bez PVDF membrány a s větším objemem nevodné fáze není tento jev znatelný. Řešení hydrodynamiky a nežádoucích efektů na membráně ve spojitosti s optimalizací senzoru, zvýšení jeho citlivosti, zejména pro použití v multikomponentní analýze, bude věnována pozornost v dalším pokračování této práce.

4 ZÁVĚR

V předkládané disertační práci je představena nová analytická metoda - časově rozlišená potenciometrie. Tato metoda je založena na sledování časového průběhu potenciálových změn na mezifázi dvou nemísitelných kapalin po nadávkování analytu. Navržený systém je tvořen duálním mezifázím se stacionární vodnou fází, organickou (nevodnou) detekční fází a mobilní vodnou fází, která slouží rovněž k transportu analytu od dávkovací smyčky na detekční mezifázi. Ukazuje se, že časový průběh potenciálové odezvy $E(t)$ je při zachování ostatních parametrů (způsob nástřiku, hydrodynamika průtoku) pro daný analyt charakteristický a odráží jeho fyzikálně chemické vlastnosti zahrnující rozdělovací a disociační rovnováhy na mezifázi a redox reakci s mediátorem v nevodné fázi.

Časově rozlišenou potenciometrii na ITIES lze tedy využít ke studiu chování analytu na mezifázi voda/organická fáze, které může sloužit jako modelový biomimetický systém. Dekonvolucí $E(t)$ signálu lze identifikovat jednotlivé vlivy na rychlost přechodu látky z vodného do lipofilního prostředí, tedy informace důležité při studiu biochemicky významných látek.

Druhou oblastí použitelnosti nové metody je kvalitativní stanovení složek multikomponentního analytu. Toto stanovení je založeno na podobném principu jako chromatografické stanovení. Nejprve je nutné na daném měřicím systému získat databázi odezev a neznámý vzorek pak identifikovat srovnáním jeho potenciometrické odezvy s databází. Výhodou této metody je možnost nastavení systému tak, že složení obou vodných fází je až na jedinou složku identické, potenciálová odezva je pak způsobena pouze touto složkou. Není tedy nutné v případě multikomponentního analytu pro stanovení jedné složky předem používat separační metody pro odstranění ostatních složek neboť mj. k tomuto dělení dochází na mezifázi a projeví se změnou obalové křivky $E(t)$. Průtokové uspořádání sensoru umožňuje snadné spojení časově rozlišené potenciometrie s dalšími průtokovými analytickými metodami např. FIA či chromatografií, takže tato metoda může doplnit získané informace o daném vzorku. Výhodou tohoto uspořádání je skutečnost, že selektivitu a citlivost časově rozlišené potenciometrie lze také snadno ovlivnit změnou složení kapalně nevodné (detekční) a stacionární vodné (referenční) fáze. V této disertační práci je na reakci modelových analytů, sulfidu sodného a cysteinu, ukázáno, jak složení fází ovlivňuje časový průběh potenciálové odezvy na daný analyt. V poslední části disertační práce je navržena zcela vhodná pro praktické využití časově rozlišené potenciometrie, představen funkční model senzoru a diskutovány možnosti využití a rozvoje této nové metody.

5 LITERATURA

- [1] Vanýsek P., Ramírez L. B.: Interface between two immiscible liquid electrolytes: A review, *J. Chil. Chem. Soc.*, **2**, 1455–1463(2008).
- [2] Strutwolf J., Barker A. L., Gonsalves M., Caruana D. J., Unwin P. R., Williams D. E., Webster J. R. P.: Probing liquid | liquid interfaces using neutron reflection measurements and scanning electrochemical microscopy, *J. Electroanal. Chem.*, **483**, 163–173 (2000).
- [3] Samec Z., Mareček V., Homolka D.: Double layers at liquid/liquid interfaces, *Faraday Discuss. Chem. Soc.* **77** (1984) 197–208.
- [4] Wandlowski T., Holub K., Mareček V., Samec Z.: The double layer at the interface between two immiscible electrolyte solutions-IV. Solvent effect, *Electrochim. Acta*, **40**, 2887–2895 (1995).
- [5] Tsukahara S.: Recent analytical methodologies on equilibrium, kinetics, and dynamics at liquid/liquid interface, *Anal. Chim. Acta* **556**, 16–25 (2006).
- [6] Markin V. S., Volkov A. G., Volkova-Gugenshashvili M. I.: Structure of nonpolarizable water/nitrobenzene interface: Potential distribution, ion adsorption and interfacial tension, *J. Phys. Chem. B*, **109**, 16444–16454 (2005).
- [7] Dale S. E. C., Unwin P. R.: Polarised liquid/liquid micro-interfaces move during charge transfer, *Electrochem. Commun.*, **10**, 723–726 (2008).
- [8] Lin Z., Kerle T., Russell T. P., Schäffer E., Steiner U.: Structure formation at the interface of liquid/liquid bilayer in electric field, *Macromolecules* **35**, 3971–3976 (2002).
- [9] Durmaz M., Zor E., Kocabas E.: Voltammetric characterization of selective potassium ion transfer across micro-water /1,2-dichloroethane interface facilitated by a novel calix[4]arene derivative, *Electrochim. Acta*, **56**, 571–579 (2011).
- [10] Heli H., Mahjani M. G., Jafarian M.: Investigation of the pyridinium ion transfer across the water/nitrobenzene interface by means of cyclic voltammetry, and acimpedance techniques, *Electrochim. Acta*, **47**, 2209–2214 (2002).
- [11] Silvester D. S., Grygolicz-Pawlak E., Bakker E.: Potentiometric determination of coextraction constants of potassium salts in ion selective electrodes utilizing a nitrobenzene liquid membrane phase, *Anal. Chim. Acta*, **683**, 92–95 (2010).
- [12] Ribeiro J. A., Miranda I. M., Silva F., Pereira C. M.: Electrochemical study of dopamine and noradrenaline at the water/1,6-dichlorohexane interface, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **12**, 15190–15194 (2010).
- [13] Spataru T., Spataru N., Bonciocat N., Luca C.: Potentiometric investigation of the effect of the pH on the ionic transfer of some amino acids at the interface between two immiscible electrolyte solutions, *Bioelectrochemistry* **62**, 67–71(2004).
- [14] Koczorowski Z., Zagórska I., Kalinska A.: Differences between surface potentials of water and some organic solvents, *Electrochim. Acta*, **34**, 1857–1862 (1989).
- [15] Samec Z., Mareček V., Colombini M. P.: Standard Gibbs energies of transfer of alkali metal cations from water to 1,2-dichloroethane, *J. Electroanal. Chem.*, **257**, 147–154 (1988).
- [16] Ciappe C., Pieraccini D.: Ionic liquids: solvent properties and organic reactivity, *J. Phys. Org. Chem.*, **18**, 275–297 (2005).
- [17] Domanska U.: Solubilities and thermophysical properties of ionic liquids, *Pure Appl. Chem.*, **3**, 543–557 (2005).
- [18] Markin V. S., Volkov A. G., Volkova-Gugenshashvili M. I.: Structure of nonpolarizable water/nitrobenzene interface: Potential distribution, ion adsorption and interfacial tension, *J. Phys. Chem. B*, **109**, 16444–16454 (2005).
- [19] Samec Z.: Electrochemistry at the interface between two immiscible electrolyte solutions, *Pure Appl. Chem.* **76**, 2147–2180 (2004).
- [20] Barker A. L., Unwin P. R.: Measurement of solute partitioning across liquid/liquid interfaces using scanning electrochemical microscopy–double potential step chronoamperometry (SECM–DPSC): Principles, theory and application to ferrocenium ion transfer across the 1,2-dichloroethane/aqueous interface, *J. Phys. Chem. B*, **105**, 12019–12031 (2001).
- [21] Reymond F., Fermín D., Lee H. J., Girault H. H.: Electrochemistry at liquid/liquid interfaces: Methodology and potential applications, *Electrochim. Acta* **45**, 2647–2662 (2000).
- [22] Peljo P., Girault H. H.: Liquid/liquid interfaces, *Electrochemistry at electroanalytical methods, Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons (2012).
- [23] Koczorowski Z.: In the interface structure and electrochemical processes at the boundary between two immiscible liquids, V. E. Kazarinov (Ed.), p. 77, Springer, Berlin (1987).

- [24] Reymond F., Steyaert G., Carrupt P. A., Testa B., Girault H.: Ionic partition diagrams: A potential–pH representation, *J. Am. Chem. Soc.* **118**, 11951–11957 (1996).
- [25] T. Kakiuchi: Limiting behavior in equilibrium partitioning of ionic components in liquid–liquid two-phase systems, *Anal. Chem.*, **68**, 3658–3664 (1996).
- [26] Ward K. R., Dickinson E. J. F., Compton R. G.: Dynamic theory of membrane potentials, *J. Phys. Chem. B* **114**, 10763–10773 (2010).
- [27] Zhurov K., Dickinson E. J. F., Compton R. G.: Dynamics of ion transfer potentials at liquid-liquid interfaces: The case of multiple species, *J. Phys. Chem. B*, **115**, 12429–12440 (2011).
- [28] K. Zhurov K., Dickinson E. J. F., Compton R. G.: Dynamics of ion transfer potentials at liquid-liquid interfaces, *J. Phys. Chem. B*, **115**, 6909–6921 (2011).
- [29] Mareček V., Lhotský A., Jänchenová H.: Specific ion adsorption at liquid | liquid interfaces: effect of the ionic charge, *J. Electroanal. Chem.*, **483**, 174–179 (2000).
- [30] Kumar M. K., Mitra T., Ghosh P.: Adsorption of ionic surfactants at liquid–liquid interfaces in the presence of salt: Application in binary coalescence of drops, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **45**, 7135–7143 (2006).
- [31] Bockris J. O. M., Reddy A. K. N.: Modern electrochemistry 1. Ionics. Plenum press, New York (1998)
- [32] Janz G. J., Oliver B. G., Lakshminarayanan G. R., Mayer G. E.: Electrical conductance, diffusion, viscosity and density of sodium nitrate, sodium perchlorate and sodium thiocyanate in concentrated aqueous solutions, *J. Phys. Chem.*, **74**, 1285–1289 (1970).
- [33] Schunk A., Maurer G.: On the influence of some inorganic salts on the partitioning of citric acid between water and organic solutions of Tri-*n*-octylamine. Part II: Toluene as organic solvent, *Ind. Eng. Chem Res.*, **44**, 8837–8851 (2005).
- [34] Maeda K., Jänchenová H., Lhotský A., Stibor I., Budka J., Mareček V.: Inhibition of ion transfer reactions by compact layers at a liquid/liquid interface, *Anal. Sci.*, **17**, i325–i327 (2001).
- [35] Maeda K., Jänchenová H., Lhotský A., Stibor I., Budka J., Mareček V.: Formation of a polymer layer from monomers adsorbed at a liquid vertical bar liquid interface, *J. Electroanal. Chem.*, **516**, 103–109 (2001).
- [36] Silvester D. S., Grygolowicz-Pawlak E., Bakker E.: Assessing ion-exchange properties and purity of lipophilic electrolytes by potentiometry and spectrophotometry, *Electrochem. Commun.*, **12**, 110–113 (2010).
- [37] De Backer B. L., Nagels L. J., Alderweireldt F. C., Van Bogaert P. P.: Liquid chromatographic determination of acids and anions using liquid membrane ion selective electrodes in a potentiometric flow-through detector, *Anal. Chim. Acta*, **273**, 449–456 (1993).
- [38] Strutwolf J., Herzog G., Homsy A., Berduque A., Collins C. J., Arrigan D. W. M.: Potentiometric characterisation of a dual-stream electrochemical microfluidic device, *Microfluid Nanofluid*, **6**, 231–240 (2009).
- [39] Cheng Y., Schiffrin D. J.: Electrodeposition of metallic gold clusters at the water/1,2-dichloroethane interface, *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, **92**, 3865–3871 (1996).
- [40] Li F., Edwards M., Guo J. D., Unwin P. R.: Silver particle nucleation and growth at liquid/liquid interfaces: A scanning electrochemical microscopy approach, *J. Phys. Chem. C*, **113**, 3553–3565 (2009)
- [41] Aslan E., Hatay Patir I., Ersoz M.: Cu nanoparticles electrodeposited at liquid–liquid interfaces: A highly efficient catalyst for the hydrogen evolution reaction, *Chem. Eur. J.*, **21**, 4585–4589 (2015).
- [42] Cunnane V. J., Evans U.: Formation of oligomers of methyl- and phenyl-pyrrole at an electrified liquid/liquid interface, *Chem. Commun.*, **19**, 2163–2164 (1998).
- [43] Toth P.S., Rabiú A. K., Dryfe R. A. W.: Controlled preparation of carbon nanotube-conducting polymer composites at the polarisable organic/water interface, *Electrochem. Commun.*, **60**, 153–157 (2015).
- [44] Fermín D. J., Duong H. D., Ding Z., Brevet P. F., Girault H. H.: Photoinduced electron transfer at liquid/liquid interfaces. Part III. Photoelectrochemical responses involving porphyrin ion pairs, *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 10203–10210 (1998).
- [45] Li F., Unwin P. R.: Scanning electrochemical microscopy (SECM) of photoinduced electron transfer kinetics at liquid/liquid interfaces, *J. Phys. Chem. C*, **119**, 4031–4043 (2015).
- [46] Berthelot M., Jungfleisch E.: On the laws that operate for the partition of the substance between two solvents, *Ann. Chim. Phys.*, **26**, 396–407(1872)
- [47] Nernst W.: Verteilung eines Stoffes zwischen zwei Lösungsmitteln und zwischen Lösungsmittel und Dampfraum. Der wesentliche Inhalt wurde bereits mitgeteilt in den “Göttinger Nachrichten” vom 2. August 1890 und 7. Februar 1891. *Z. Phys. Chem.*, **8**, 110–139 (1891).

- [48] Hung L. Q.: Electrochemistry of liquid-liquid extraction, *Anal. Sci.*, **17**, i349–i350 (2001).
- [49] Guainazzi M., Silvestri G., Serravalle G.: Electrochemical metallization at the liquid-liquid interfaces of non-immiscible electrolytic solutions, *J. Chem. Soc., Chem. Comm.*, **6**, 200–201(1975).
- [50] Sisk G. D., Herzog G., Glennon J. D., Arrigan D. W. M.: Assessment of ion transfer amperometry at liquid-liquid interfaces for detection in CE, *Electrophoresis*, **30**, 3366–3371 (2009).
- [51] Liteanu C., Mioscu M.: Liquid-liquid interfaces as potentiometric ion sensors-I. The n-butanol-water interface as indicating sensor for the potentiometric titration of some acids and bases, *Talanta*, **19**, 889–894 (1972).
- [52] Koryta J.: Electrochemical polarization phenomena at the interface of two immiscible electrolyte solutions, *Electrochim. Acta*, **24**, 293–300 (1979).
- [53] Koryta J.: Electrochemical polarization phenomena at the interface of two immiscible electrolyte solutions –II. Progress since 1978*, *Electrochim. Acta*, **29**, 445–452 (1984).
- [54] Koryta J., Březina M., Hofmanová A., Homolka D., Hung L. Q., Khalil W., Mareček V., Samec Z., Sen S. K., Vanýsek P., Weber J.: A new model of membrane transport: Electrolysis at the interface of two immiscible solutions, *J. Electroanal. Chem.*, **116**, 61–68 (1980).
- [55] Koryta J., Vanýsek P.: Electrochemical phenomena at the interface of two immiscible electrolyte solutions, in advances in electrochemistry and electrochemical engineering, Vol 12, H. Gerischer and C. W. Tobias (Editors), Wiley, New York
- [56] Vanýsek P.: Analytical applications of electrified interfaces between two immiscible solutions, *Trends in Anal. Chem.*, **12**, 363–373 (1993).
- [57] Mareček V., Samec Z.: Determination of calcium, barium and strontium ions by differential pulse stripping voltammetry at a hanging electrolyte drop electrode, *Anal. Chim. Acta* **151**, 265–269 (1983)
- [58] Osborne M. D., Girault H. H.: The liquid-liquid micro-interface for the amperometric detection of urea, *Electroanalysis*, **7**, 714–721(1995).
- [59] Matsui R., Sakaki T., Osakai T.: Label-free amperometric detection of albumin with an oil-water-type flow cell for urine protein analysis, *Electroanalysis*, **24**, 1164–1169 (2012).
- [60] Scanlon M. D., Berduque A., Strutwolf J., Arrigan D. W. M.: Flow-injection amperometry at microfabricated silicon-based μ -liquid-liquid interface arrays, *Electrochim. Acta*, **55**, 4234–4239 (2010).
- [61] Dimeski G., Badrick T., St John A.: Ion selective electrodes (ISEs) and interferences: A review. *Clin. Chim. Acta*, **411**, 309–317 (2010).
- [62] Kallay N., Preočanin T., Kovačević D., Lützenkirchen J., Chibowski E.: Electrostatic potentials at solid/liquid interfaces, *Croat. Chem. Acta*, **83**, 357–370 (2010).
- [63] Myland J.C., Oldham K.B.: A model of cyclic voltammetry for a thin organic layer sandwiched between an electrode and an aqueous solution. Convolutive modelling in the absence of supporting electrolyte, *J. Electroanal. Chem.*, **530**, 1–9 (2002).
- [64] Bakker, E.; Xu, A.; Pretsch, E.: Optimum composition of neutral carrier based pH electrodes, *Anal. Chim. Acta*, **295**, 253–262 (1994).
- [65] Adamiak W., Shul G., Opallo M.: Anion sensitive voltammetry of fullerene C₆₀ dissolved in 1,2-dichlorobenzene deposit in contact with aqueous electrolyte, *Electrochem. Commun.*, **11**, 149–152 (2009).
- [66] Koryta J.: Electrochemistry of liquid membranes: Interfacial aspects, *Electrochim. Acta*, **32**, 419–424 (1987).
- [67] Solomon T.: Bioenergetics and charge transfer across liquid-liquid interfaces, *Bull. Chem. Soc. Ethiop.*, **11**, 79–87 (1997).
- [68] Lu X., Hu L., Wang X.: Thin-layer cyclic voltammetric and scanning electrochemical microscopic study of antioxidant activity of ascorbic acid at liquid-liquid interface, *Electroanalysis*, **17**, 953–958 (2005).
- [69] Amemiya S., Kim Y., Ishimatsu R., Kabagambe B.: Electrochemical heparin sensing at liquid/liquid interfaces and polymeric membranes, *Anal. Bioanal. Chem.*, **399**, 571–579 (2011).
- [70] Berduque A., Zazpe R., Arrigan D. W.M.: Electrochemical detection of dopamine using arrays of liquid-liquid micro-interfaces created within micromachined silicon membranes, *Anal. Chim. Acta*, **611**, 156–162 (2008).
- [71] Fernández R. A., Dassi S. A.: Transfer of tetracyclines across the H₂O/1,2-dichloroethane interface: Analysis of degraded products in strong acid and alkaline solutions, *J. Electroanal. Chem.*, **585**, 240–249 (2005).

- [72] Murtomäki L., Barker M. H., Manzanares J. A., Kontturi K.: Study of the effect of the membrane composition on ion transfer across a supported liquid membrane, *J. Electroanal. Chem.*, **560**, 95–103 (2003).
- [73] Arai K., Kusu F.: Excitable liquid membrane of a water/octanol/water system, *Proceedings of IUPAC International Congress on Analytical Sciences ICAS*, i313–i315 (2001).
- [74] Barevný atlas farmakologie, Lüllman, Mohr, Hein, p. 212 (2012), ISBN 978-80-247-3908-3
- [75] Lopes P., Kataký R.: Chiral interactions of the drug propranolol and α -acid-glycoprotein at a micro liquid-liquid interface, *Anal. Chem.*, **84**, 2299–2304 (2012).
- [76] Kataký R., Lopes P.: Chiral detection at a liquid-liquid interface, *Chem. Commun.*, **12**, 1490–1492 (2009).
- [77] Arai K., Kusu F., Takamura K.: Electrical oscillation across a water/octanol/water liquid membrane in the presence of two taste substances, *Anal. Chim. Acta*, **365**, 279–284 (1998).
- [78] Lawrence N. S., Davis J., Compton R. G.: Analytical strategies for the detection of sulfide: A review, *Talanta*, **52**, 771–784 (2000).
- [79] Zlámalová M., Nesměrák K.: Recent advances in electrochemical detection of important sulfhydryl-containing compounds. *Monatsh. Chem. – Chemical Monthly*, (2016) accepted for publication. DOI: 10.1007/s00706-016-1757-z
- [80] Polák J.: Stanovení obsahu sirovodíku a thiolů v plynných uhlovodících, *Chem. Listy*, **94**, 453–455 (2000).
- [81] Klusoň P.: Jedová stopa, *Academia* (2015) ISBN: 978-80-200-2438-1, str. 136
- [82] Napier A., Hart J. P.: Voltammetric and amperometric studies of selected thiols and dimethyldisulfide using a screen-printed carbon electrode modified with cobalt phthalocyanine: Studies towards a gas sensor, *Electroanalysis*, **8**, 1006–1013 (1996).
- [83] Khaloo S. S., Amini M. K., Tangestaninejad S., Shahrokhian S., Kia R.: Voltammetric and potentiometric study of cysteine at cobalt(II) phthalocyanine modified carbon-paste electrode, *J. Iranian Chem. Soc.*, **1**, 128–135 (2004).
- [84] Spataru N., Sarada B. V., Popa E., Tryk D. A., Fujishima A.: Voltammetric determination of L-cysteine at conductive diamond electrodes, *Anal. Chem.*, **73**, 514–519 (2001).
- [85] Braun A., Tcherniac J.: "Über die Produkte der Einwirkung von Acetanhydrid auf Phthalamid" [On the products of the reaction of acetic anhydride with phthalamide]. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft (Deutsche Chemische Gesellschaft)*, **40**, 2709–2014 (1907).
- [86] Linstead R. P.: Phthalocyanines. Part I. A new type of synthetic colouring matters, *J. Chem. Soc.*, 1016–1017 (1934).
- [87] Dent C. E., Linstead R. P., Lowe A. R.: Phthalocyanines. Part VI. The structure of the phthalocyanine., *J. Chem. Soc.*, 1033–1039 (1934).
- [88] Yu B., Lever A. B. P., Swaddle T. W.: Electrochemistry of metal phthalocyanines in organic solvents at variable pressure, *Inorg. Chem.*, **43**, 4496–4504 (2004).
- [89] Kadish K. M., Cornillon J.-L., Yao C.-L., Malinski T., Gritzner G.: Solvent effects on electrode potentials of metalloporphyrins. Reduction of 5,10,15,20-tetraphenylporphinato complexes in non-aqueous media, *J. Electroanal. Chem.*, **235**, 189–207 (1987).
- [90] Kadish K., Van Caemelbeeke E., Royal M. in Kadish K.M., Smith K.M., Guillard R. (Eds.), "The Porphyrins Handbook", "Electrochemistry of Metallo-porphyrins in Nonaqueous Media. Vol 8. Chapter 2. Academic Press, New York, (2000). p. 9
- [91] Kerdcharoen T., Kladsomboon S.: Optical Chemical Sensor and electronic nose based on porphyrin and phthalocyanine, Applications of nanomaterials in sensors and diagnostics, Springer series on chemical sensors and biosensors, **14**, 237–255 (2013). ISBN: 978-3-642-36024-4
- [92] Brown R. J. C., Kucernak A. R.: The photoelectrochemistry of platinum phthalocyanine films in aqueous media, *J. Solid. State Electrochem.*, **9**, 459–468 (2005).
- [93] Mfouo-Tynga I., Abrahamse H.: Cell death pathways and phthalocyanine as an efficient agent for photodynamic cancer therapy, *Int. J. Mol. Sci.*, **16**, 10228–10241 (2015).
- [94] Sbaï M., Essis-Tome H., Gombert U., Breton T. Pontié M.: Electrochemical stripping analysis of methyl-parathion (MPT) using carbon fiber microelectrodes (CFME) modified with combinations of poly-NiTSPc and Nafion films, *Sens. Actuators B Chem.*, **124**, 368–375 (2007).
- [95] Lei S. B., Wang C., Yin S. X., Wang H. N., Xi F., Liu H. W., Xu B., Wan L. J., Bai C. L.: Surface stabilized porphyrin and phthalocyanine two-dimensional network connected by hydrogen bonds, *J. Phys. Chem. B*, **105**, 10838–10841 (2001).
- [96] Yin S., Wang C., Xu B., Bai C.: Study of CuPc adsorption on graphite surface and alkane adlayer, *J. Phys. Chem. B*, **106**, 9044–9047 (2002).

- [97] Yoshimoto S., Honda Y., Ito O., Itaya K.: Supramolecular pattern of fullerene on 2D bimolecular „Chessboard“ consisting of bottom-up assembly of porphyrin and phthalocyanine molecules, *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 1085–1092 (2008).
- [98] Kataoka T., Fukagawa H., Hosoumi S., Nebashi K., Sakamoto K., Ueno N.: Observation of a temperature-dependent transition of a copper-phthalocyanine thin film adsorbed on HOPG, *Chem. Phys. Lett.*, **451**, 43–47 (2008).
- [99] Lei S. B., Wang J., Dong Y. H., Wang C., Wan L. J., Bai C. L.: STM and XRD studies of the adsorption and assembling structures of phthalocyanine and porphyrin, *Surf. Interface Anal.*, **34**, 767–771 (2002).
- [100] Tse Y. H., Janda P., Lever A. B. P.: Electrode with electrochemically deposited N, N', N'', N'''-tetramethyltetra-3,4-pyridinoporphyrazinocobalt(I) for detection of sulfide ion, *Anal. Chem.*, **66**, 384–390 (1994).
- [101] Tse Y. H., Janda P., Lam H., Lever A. B. P.: Electrode with electropolymerized tetraaminophthalocyanatocobalt(II) for detection of sulfide ion, *Anal. Chem.*, **67**, 981–985 (1995).
- [102] Komorsky-Lovric Š., Lovric M., Scholz F.: Sulfide ion electrooxidation catalysed by cobalt phthalocyanine, *Mikrochim. Acta*, **127**, 95–99 (1997).
- [103] Zagal J., Fierro C., Rozas R.: Electrocatalytic effects of adsorbed cobalt phthalocyanine tetrasulfonate in the anodic oxidation of cysteine, *J. Electroanal. Chem.*, **119**, 403–408 (1981).
- [104] Halbert M. H., Baldwin R. P.: Electrocatalytic and analytical response of cobalt phthalocyanine containing carbon paste electrodes toward sulfhydryl compounds, *Anal. Chem.*, **57**, 591–595 (1985).
- [105] Qi X., Baldwin R. P., Li H., Guarr T. F.: Electrocatalytic amperometric detection at polymeric cobalt phthalocyanine electrodes, *Electroanalysis*, **3**, 119–124 (1991).
- [106] Pereira-Rodrigues N., Cofré R., Yagal J. H., Bedioui F.: Electrocatalytic activity of cobalt phthalocyanine CoPc adsorbed on a graphite electrode for the oxidation of reduced L-glutathione (GSH) and the reduction of its disulfide (GSSG) at physiological pH, *Bioelectrochemistry*, **70**, 147–154 (2007).
- [107] Fukuda T., Masuda S., Kobayashi N.: Tetraazochlorin-fullerene conjugates: On-off control of electronic communication enabled by push-pull substituents, *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 5472–5479 (2007).
- [108] Leznoff C. C., Marcuccio S. M., Greenberg S., Lever A. B. P., Tomer K. B.: Metallophthalocyanine dimers incorporating five-atom covalent bridges, *Can. J. Chem.*, **63**, 623–631 (1985).
- [109] Nevin W. A., Hempstead M. R., Liu W., Leznoff C. C., Lever A. B. P.: Electrochemistry and spectroelectrochemistry of mononuclear and binuclear cobalt phthalocyanines, *Inorg. Chem.*, **26**, 570–577 (1987).
- [110] Bernstein P. A., Lever A. B. P.: Protonation of cobalt tetraeneopentoxypthalocyanine as a function of oxidation state, *Inorg. Chim. Acta*, **198–200**, 543–555 (1992).
- [111] Mansfeldová V., Klusáčková M., Tarábková H., Janda P., Nesměrác K.: Versatile cell for in-situ spectroelectrochemical and ex-situ nanomorphological characterization of both water soluble and insoluble phthalocyanine compounds, *Monatsh. Chem.* (2016) accepted for publication, DOI 10.1007/s00706-016-1743-5
- [112] Kamau G. N.: Surface preparation of glassy carbon electrodes. *Anal. Chim. Acta*, **207**, 1–16 (1988).
- [113] Janda P., Kobayashi N., Auburn P. R., Lam H., Leznoff C. C., Lever A. B. P.: Dioxygen reduction at a graphite electrode modified by mononuclear tetraeneopentoxypthalocyaninatocobalt (II) and related polynuclear species. *Can. J. Chem.*, **67**, 1109–1119 (1989).
- [114] Chung T. D., Anson F. C.: Electrochemical monitoring of proton transfer across liquid/liquid interfaces on the surface of graphite electrodes, *Anal. Chem.*, **73**, 337–342 (2001).
- [115] Shi C., F. C. Anson: A simple method for examining the electrochemistry of metalloporphyrins and other hydrophobic reactants in thin layers of organic solvents interposed between graphite electrodes and aqueous solutions, *Anal. Chem.*, **70**, 3114–3118 (1998).
- [116] Yu B., Lever A. B. P., Swaddle T. W.: Electrochemistry of metal phthalocyanines in organic solvents at variable pressure, *Inorg. Chem.*, **43**, 4496–4504 (2004).
- [117] Hoffmann M. R., Lim B. C.: Kinetics and mechanism of the oxidation of sulfide by oxygen: Catalysis by homogeneous metal-phthalocyanine complexes, *Environ. Sci. Technol.*, **13**, 1406–1414 (1979).
- [118] Hartle M. D., Sommer S. K., Dietrich S. R., Pluth M. D.: Chemically reversible reactions of hydrogen sulfide with metal phthalocyanines, *Inorg. Chem.*, **53**, 7800–7802 (2014).

-
- [119] Samec Z., Kharkats Y., Gurevich Y. Y.: Stochastic approach to the ion transfer kinetics across the interface between two immiscible electrolyte solutions. Comparison with the experimental data. *J. Electroanal. Chem.*, **204**, 257–266 (1986).
- [120] Krumgalz B. S.: Separation of limiting equivalent conductances into ionic contributions in non-aqueous solutions by indirect methods, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1*, **79**, 571–587 (1983).
- [121] Meares P.: Mass transfer and reactions at interfaces, *Faraday Discuss. Chem. Soc.*, **77**, 7–16 (1984).
- [122] Fischer H., Schulz-Ekloff Günter, Wöhrle D.: Oxidation of aqueous sulfide solutions by dioxygen. Part II: Catalysis by soluble and immobilized cobalt(II) phthalocyanines. *Chem. Eng. Technol.*, **20**, 624–632 (1997).
- [123] Makhseed S., Al-Kharafi F., Samuel J., Ateya B.: Catalytic oxidation of sulfide ions using a novel microporous cobalt phthalocyanine network polymer in aqueous solution, *Catal. Commun.*, **10**, 1284–1287 (2009).
- [124] McFearin C.L., Richmond G.L.: The role of interfacial molecular structure in the adsorption of ions at the liquid–liquid interface, *J. Phys. Chem. C*, **113**, 21162–21168 (2009).
- [125] Janda P., Kobayashi N., Auburn P. R., Lam H., Leznoff C. C., Lever A. B. P.: Dioxygen reduction at a graphite electrode modified by mononuclear tetraeneopentoxypthalocyaninatocobalt (II) and related polynuclear species, *Can. J. Chem.*, **67**, 1109–1119 (1989).
- [126] Nomura K., Ma S.-M., Kamata H., Ueda I., Lin S. H.: Transient peak membrane potential in a liquid membrane system generated by pH jump: Non-linear response to perturbation, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **17**, 193–203 (1987).
- [127] Izutsu K.: Liquid junction potentials between electrolyte solutions in different solvents, *Anal. Sci.*, **27**, 685–694 (2011).
- [128] Westall J. C., Johnson A., Zhang W.: Distribution of LiCl, NaCl, KCl, HCl, MgCl₂ and CaCl₂ between octanol and water, *Environ Sci. Technol.*, **24**, 1803–1810 (1990).
- [129] Aveyard R., Saleem S. M., Heselden R.: Desorption of electrolytes at liquid-vapour and liquid-liquid interfaces, *J. Chem. Soc., Faraday Trans 1*, **73**, 84–94 (1977).
- [130] Attard P., Moody M. P., Tyrrell J. W. G.: Nanobubbles: The big picture", *Physica A*, **314**, 696–705 (2002).
- [131] Wang Y., Bhushan B., Zhao X.: Improved nanobubble imobility induced by surface structures on hydrophobic surfaces, *Langmuir*, **25**, 9328–9336 (2009).

6 SEZNAM PUBLIKACÍ, PŘEDNÁŠEK A PLAKÁTOVÝCH SDĚLENÍ

Seznam publikací, které souvisí s tématem disertace:

1. Mansfeldová V., Janda P., Tarábková H.: Time-resolved potentiometry on dual interface of two immiscible electrolyte solutions (ITIES): Step towards qualitative potentiometric analysis, *Electrochim. Acta*, **182**, 1053–1059 (2015). DOI: 10.1016/j.electacta.2015.10.013
2. Mansfeldová V., Janda P., Tarábková H., Kaleta J.: Dual interface of two immiscible electrolytes potentiometric sensor for flow analysis, *Anal. Lett.*, **49**, 169–177 (2016). DOI: 10.1080/00032719.2015.1010651
3. Mansfeldová V., Klusáčková M., Tarábková H., Janda P., Nesměrák K.: Versatile cell for in-situ spectroelectrochemical and ex-situ nanomorphological characterization of both water soluble and insoluble phthalocyanine compounds, *Monatsh. Chem.*, (2016). Přijato. DOI: 10.1007/s00706-016-1743-5

Seznam publikací, které nesouvisí s tématem disertace:

1. Nesměrák K., Doležal R., Hudská V., Bártil J., Štícha M., Waissner K.: Quantitative structure-electrochemistry relationship of 1-phenyl-5-benzyl-sulfanyl-tetrazoles and their electrooxidation as a metabolic model, *Electroanalysis*, **22**, 2117–2122 (2010). DOI: 10.1002/elan.201000092
2. Danhel A., Mansfeldová V., Janda P., Vyskocil V., Barek J.: Crystalline silver amalgam – A novel electrode material, *Analyst*, **136**, 3656–3662 (2011). DOI: 10.1039/c1an15342k
3. Zemanová E., Klouda K., Buřičová H., Chvojka J., Košťáková E., Mansfeldová V., Mikeš P., Weisheitelová M.: Composite nanofibers: Polymer-wood dust (green composites), *J. Materials and Engineering A*, **3(10)**, 659–666 (2013).
4. Mansfeldová V., Lasková B., Krysová H., Zúkalová M., Kavan L.: Synthesis of nanostructured TiO₂(anatase) and TiO₂(B) in ionic liquids, *Catalysis Today*, **230**, 85–90 (2014). DOI: 10.1016/j.cattod.2014.01.007
5. Setvín M., Daniel B., Mansfeldová V., Scheiber P., Fidler M., Schmid M., Diebold U.: Surface preparation of TiO₂ anatase (101): Pitfalls and how to avoid them, *Surface Science*, **626**, 61–67 (2014). DOI: 10.1016/j.susc.2014.04.001
6. Deylova D., Vyskocil V., Economou A., Mansfeldová V., Barek J.: A new type of large surface bismuth film electrode on a silver solid amalgam substrate and its application for the voltammetric determination of 5-nitrobenzimidazole, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **9**, 4653–4664. (2014).

Přednášky:

1. **V. Hudská:** New thin layer cell for electrochemical study of phthalocyanines, Seminar of Students of J. Heyrovský Institute of Physical chemistry, Liblice, Česká republika, 2009
Abstrakt k prezentaci: Collection of abstracts of seminar of students of ÚFCH JHI, ISBN: 978-80-87351-01-7
2. **V. Hudská:** New electrochemical cell for studies of phthalocyanines, Proceedings of 5th ISC Modern Analytical Chemistry, Praha, Česká republika, 2009
Abstrakt k prezentaci: Proceedings of 5th ISC Modern Analytical Chemistry, ISBN: 978-80-86561-41-7
3. **V. Hudská:** Liquid film embedded electrode for (spectro)electrochemical investigation of redox systems soluble in nonaqueous solvents; Electrochemical Seminar Prague- Dresden, Jirkov, Česká republika, 2009
Abstrakt k prezentaci: Book of abstracts of Prague-Dresden Electrochemical Seminar, ISBN: 978-80-87351-03-1,
4. **V. Hudská:** Electrode coating by chemical mediator: The AFM study of surface nanomorphology, Seminar of Students of J. Heyrovský Institute of Physical chemistry, Liblice, Česká republika, 18.5.2010
Abstrakt k prezentaci: Collection of abstracts of seminar of students of ÚFCH JHI, ISBN: 978-80-87351-05-5
V. Hudská: Electrode coating by chemical mediator: The Atomic Force Microscopy study of surface nanomorphology; 30th Modern Electrochemical Methods, Jetřichovice, Česká republika, 2010
Abstrakt k prezentaci: Book of abstracts of 30th Modern Electrochemical Methods, ISBN: 978-80-254-6710-7
5. **V. Mansfeldová:** Electrochemical sensor: Mediator deposition by drop evaporation; Abstrakt k prezentaci: Proceedings of 6th ISC Modern Analytical Chemistry: 978-80-7444-005-2
6th International Students Conference: Modern Analytical Chemistry
6. **V. Mansfeldová:** Phthalocyanine modified HOPG electrodes for Electrochemical Sensors; Abstrakt k prezentaci: Collection of abstracts of seminar of students of ÚFCH JHI 2011, ISBN: 978-80-87351-11-6
Seminar of Students ÚFCH JH AV ČR, v. v. i., 2011
7. **V. Mansfeldová:** Electroanalysis with phthalocyanine modified HOPG electrodes, 31th Modern Electrochemical Methods, Jetřichovice, Česká republika, 2011
Abstrakt k prezentaci: Book of abstracts of 31th Modern Electrochemical Methods, ISBN: 978-80-254-9634-3
8. **V. Mansfeldová:** Liquid film Embedded electrode for electrochemical sensors v Německu v Oybiner, Prague-Dresden Electrochemical seminář, 2011
9. **V. Mansfeldová:** Fast potentiometric sensor utilizing interface of two immiscible electrolytes for application in flow analysis; Abstrakt k prezentaci O-10: Book of abstracts, 12th Flow Analysis, 2012
10. **V. Mansfeldová:** Fast potentiometric detection system utilizing interface of two immiscible electrolytes for application in flow analysis, Datum: 23.-24.09.2013, 9th ISC Modern Analytical Chemistry, 2013
11. **V. Mansfeldová:** Biomimetic Electroanalytical Potentiometric Sensing System Utilizing Interface of Two Immiscible Electrolytes, 47th Heyrovský Discussion, 2014
12. **V. Mansfeldová:** „The Time-Resolved Potentiometry Based on ITIES,, 48th Heyrovský Discussion, 2015

Popularizační přednášky:

1. **V. Mansfeldová:** Mikroskopie, která umožnila vidět Feynmannův svět, Gymnázium V. B. Třebízského, Slaný, česká republika, 2012
2. **V. Mansfeldová:** Základy ochrany duševního vlastnictví, Seminář katedry analytické chemie na PřF UK, Praha, Česká republika, 2012
3. **V. Mansfeldová:** Základy ochrany duševního vlastnictví, Seminář ÚFCH JH AV ČR v. v. i., Praha, Česká republika, 2012
4. **V. Mansfeldová:** Mikroskopie, která umožnila vidět Feynmannův svět, Projekt 100 vědců do škol, Ostrava, Česká republika, 19.10.2012
5. **V. Mansfeldová:** Mikroskopie, která umožnila vidět Feynmannův svět, Týden vědy a techniky, Praha, Česká republika, 5.11.2012
6. **V. Mansfeldová:** Mikroskopie, která umožnila vidět Feynmannův svět, Týden vědy a techniky, Praha, Česká republika, 13.11.2015

Plakátová sdělení:

1. **V. Hudská:** Liquid film embedded electrode for electrochemical investigation of redox systems soluble in nonaqueous solvents; Abstrakt k posteru: Book of abstracts of 43rd Heyrovský Discussion, ISBN: 978-80-87351-06-2 43rd Heyrovský Discussion, 2010
2. **V. Mansfeldová:** Characterization and stability of nanoparticle electrodes; Abstrakt k posteru: Book of abstracts of 44th Heyrovský Discussion, ISBN: 978-80-87351-17-8, 44th Heyrovský Discussion, 2011
3. **V. Mansfeldová:** (PO37) Experimental cell arrangement for multicomponent analysis on solid electrodes, 14th Austrian Chemistry Days, 2011
4. **V. Mansfeldová:** (P-27) Potentiometric sensor for potential application in flow analysis; Abstrakt k posteru: Book of abstracts of 45th Heyrovský Discussion, ISBN: 978-80-87541-03-6, 45th Heyrovský Discussion-Electrochemistry of biopolymers and bioactive compounds, 2012
5. **V. Mansfeldová:** Ionic-Liquid Synthesis of Isotopic Labeled Titania, SPASEC-17 The 17th International Conference on Semiconductor Photocatalysis and Solar Energy Conversion, 2012
6. **V. Mansfeldová:** Synthesis of nanocrystalline titania powder by the aid of ionic liquid. ORION Summer School 2013 - International Summer School "Nanostructured Hybrid Materials for Energy Devices: Modeling, Parameter Extraction and Evaluation Tools", 2013
7. **V. Mansfeldová:** (P6-8) Preparation and properties of nanostructured titania by the aid of ionic liquids, SP4th International Conference on Semiconductor Photochemistry, 2013
8. **V. Mansfeldová:** Hydrothermal synthesis of nanocrystalline titania powder by the aid of ionic liquid, PASEC-2 The 2nd International Conference on Photocatalysis and Solar Energy Conversion: Development of Materials and Nanomaterials, 2013
9. **V. Mansfeldová:** (P02) „Liquid membrane potentiometry for ion recognition in flow analysis,“, Abstrakt k posteru: Book of abstracts of 13th Flow analysis, ISBN: 978-80-260-8238-5, 13th Flow analysis, 2015

7 PROHLÁŠENÍ O SPOLUAUTORSTVÍ

Jako zástupce spoluautorů prohlašuji, že se Mgr. Věra Mansfeldová podílela na níže uvedených publikovaných pracích měrou uvedenou v závorkách:

- I. Mansfeldová V., Janda P., Tarábková H.: Time-resolved potentiometry on dual interface of two immiscible electrolyte solutions (ITIES): Step towards qualitative potentiometric analysis, *Electrochimica Acta* **182** (2015) 1053–1059, DOI: 10.1016/j.electacta.2015.10.013
(podíl 80 %)
- II. Mansfeldová V., Janda P., Tarábková H., Kaleta J.: Dual interface of two immiscible electrolytes potentiometric sensor for flow analysis, *Anal. Lett.* **49** (2016) 169–177, DOI: 10.1080/00032719.2015.1010651
(podíl 75 %)
- III. Mansfeldová V., Klusáčková M., Tarábková H., Janda P., Nesměrák K.: Versatile cell for in-situ spectroelectrochemical and ex-situ nanomorphological characterization of both water soluble and insoluble phthalocyanine compounds, *Monatsh. Chem.* (2016) přijato, DOI 10.1007/s00706-016-1743-5
(podíl 40 %)

.....
Ing. Pavel Janda, CSc

8 PŘÍLOHY

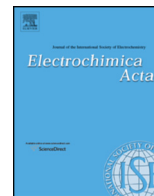
Publikace I

Time-resolved potentiometry on dual interface of two
immiscible electrolyte solutions (ITIES):
Step towards qualitative potentiometric analysis

Mansfeldová V., Janda P., Tarábková H.

Electrochim. Acta, **182**, 1053–1059 (2015)

DOI: 10.1016/j.electacta.2015.10.013



Time-resolved potentiometry on dual interface of two immiscible electrolyte solutions (ITIES): Step towards qualitative potentiometric analysis



Vera Mansfeldova^{a,b,*}, Pavel Janda^b, Hana Tarabkova^b

^a Charles University in Prague, Faculty of Science, Department of Analytical Chemistry, Hlavova 8, 128 40 Prague 2, Czech Republic

^b J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry of ASCR, v. v. i., Dolejškova 3, 182 23 Prague 8, Czech Republic

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 June 2015

Received in revised form 15 September 2015

Accepted 3 October 2015

Available online xxx

Keyword:

biomimetic liquid membrane

liquid junction potential

ion resolution potentiometry

ITIES

ABSTRACT

The time-resolved potentiometry on dual interface of two immiscible electrolyte solutions (dual ITIES) combines redox- and phase transfer-driven potential response into a single protocol, which gains a compound-specific 'finger-print' character: The potential transient envelope was found to show pattern specific to molecules/ions appearing at the interface. The model system is represented by water/ *o*-dichlorobenzene/water dual interface with aqueous stationary (reference) and mobile (sample-carrying) phase with ternary amine salt as a phase transfer agent and alternatively, phthalocyanine-based redox mediator is added to *o*-dichlorobenzene phase. This potentiometric system shows biomimetic features with the selectivity simply modifiable just by varying composition of liquid phase. The transient potential response was found to correlate specifically with particular composition of sample brought by mobile phase and allows recognizing redox compounds, pH and different ions without a need of specific ion selective electrode.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Potentiometry represents the electrochemical technique where the currentless electrode potential driven mostly by thermodynamic properties of the system is acquired for analytical purposes. It brings the information on analyte concentration and its redox forms respectively. In its fundamental form the potentiometry was utilized in potentiometric titrations to detect appearance of different analyte forms in redox and acid-base processes. The main advantage of potentiometry was always found in simplicity of both measurement and instrumentation counterbalanced by low selectivity. Further expansion of potentiometric methods was triggered by appearance of ion selective electrodes (ISE) which upgraded potentiometry as selective analytical technique. Thanks to high selectivity ISEs are capable to recognize particular ionic species, having relatively fast and reproducible response; hence they can be used both in environmental data acquisition and high-end sensor of liquid separating techniques. Solid-membrane ISEs are however susceptible to alteration of potential response by

surface active species and aging changes leading to both potential, sensitivity and selectivity shifts, which devalue the analytical information [1]. Compared to solid electrodes [2], liquid membrane electrodes [3] have an advantage of versatility by simple renewing sensing liquid by refilling (even automatized) from storage reservoir. The liquid junction potential at liquid/liquid interface was studied also by the streaming technique [4,5,6], while biomimetic systems simulating behavior of biological membrane were investigated using interface of two immiscible electrolyte solutions (ITIES), where mostly dual water/nitrobenzene/water [7] or water/octanol/water [8] was utilized. A relationship between potential oscillation and pharmacological activity was explored in an attempt to provide clarification of quantitative structure-activity relationship (QSAR) in screening compounds for pharmaceutical activity [9], biochemical processes on the membrane [10] and even food quality control [11].

While peak envelope variations can be observed in former potentiometric measurements performed on ITIES (e.g. De Backer et al. [12]), no mention on this phenomenon has been presented and attention has been paid just to maxima of peak potentials. In this work we report on ion specificity of potential transient envelope acquired on dual ITIES arrangement in response to different ions including pH and redox reaction of analyte examined in model experiments, pointing to its significance for novel

* Corresponding author at: J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry of the ASCR, v. v. i., Dolejškova 3, 182 23 Prague 8, Czech Republic. Tel.: +420 26605 3845; fax: +420 28658 2307.

E-mail address: vera.mansfeldova@jh-inst.cas.cz (V. Mansfeldova).

qualitative potentiometric analysis. Inorganic compounds with relatively straightforward dissociation and adsorption behavior (KCl, NaCl, HCl, KOH) are employed to elucidate the potentiometric transient response of liquid-liquid interface to phase transfer processes. Sulphides (Na_2S , H_2S) with more complicated acid-base equilibria are utilized as models for combined charge- (redox) and phase-transfer processes where phthalocyanine and oxygen act as redox mediators.

2. Experimental Section

2.1. Reagents

The cobalt (II) 2,9,16,23-tetraneopentoxo phthalocyanine (CoTNPC) was synthesized [13] by Nagao Kobayashi (Tohoku University, Japan). Nonaqueous solvent 1,2-dichlorobenzene (*o*-DCB, 99%, Aldrich), tetrabutylammonium hexafluorophosphate (TBAPF₆, Fluka, electrochem. grade), potassium hydroxide (KOH, for analysis (max. 0.05% Na), Merck, CZ), hydrochloric acid (HCl, p. a., Lachema, CZ), potassium chloride (KCl, p.a., Lachema, CZ), sodium chloride (NaCl, p.a., Penta, CZ), sodium sulphide (Na_2S , Sigma Aldrich), potassium phosphate monobasic (KH_2PO_4 , purum, Lachema) and sodium phosphate dibasic monohydrate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$, p.a., Merck) were used as received. Sørensen's phosphate buffer was prepared from 0.06 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ and 0.06 M KH_2PO_4 by water saturated by TBAPF₆. Gaseous H_2S was absorbed in the distilled water ($c = 0.1$ M). Purified water (Milli-Q system Gradient, Millipore, resistivity 18.2 MΩcm) was used for preparation of aqueous electrolytes.

2.2. Potential measurements

The flow cell for potentiometry on dual interface of two immiscible electrolyte solutions (dual ITIES) was constructed as described elsewhere [14]. Amount of 500 μL of *o*-DCB with 0.5 M TBAPF₆ serving both as an electrolyte and phase transfer agent, was utilized as a nonaqueous phase filled into "U" shaped tube connecting mobile (sample carrying) and stationary (reference) aqueous phase compartment. Prior to interfacing with *o*-DCB phase, both stationary and mobile aqueous phases were pre-saturated by TBAPF₆. The saturation allows keeping TBAPF₆ concentration in both aqueous phases equal and constant preventing its bleeding-out from *o*-DCB to aqueous (mobile) phase. Solution in nonaqueous phase was alternatively completed with 5×10^{-4} mol/L CoTNPC as a redox mediator. Two identical reference electrodes (SCE) were immersed in stationary and mobile aqueous phase respectively for measuring interphase potential difference by high impedance (10^{12} Ω) potentiometer PPM98 (Bank Elektronik, Germany) and recorded using a Picoscope ADC-212 (Pico Technology, UK). Mobile aqueous phase was pushed through the cell by peristaltic pump (PCD 21 M, Kouřil,

Kyjov, Czech Republic) with flow rate adjusted to 3 mL min⁻¹. Analyte dosing was accomplished by injection valve V-451 (IDEX, USA). For data statistics, measurement of each sample was repeated five times. All measurements were performed at room temperature (20 °C).

The pH meter (Jenway 3510 pH meter) was used to adjust of phosphate buffer. The Origin 8 (OriginLab, USA) was used for data processing.

3. Results and Discussion

3.1. Dual ITIES arrangement

Potential at dual junction of two immiscible electrolyte solutions was studied in relation to both aqueous and nonaqueous phase composition by time-resolved potentiometry. The 1,2-dichlorobenzene was chosen as a model nonaqueous electrolyte fulfilling requirements of both low miscibility with water and relatively high dielectric constant ($\epsilon_r = 9.93$) to enable dissolution of the supporting electrolyte - tetrabutylammonium hexafluorophosphate salt (TBAPF₆), which shows low, but nonzero partitioning between two phases and can acts also as a phase transfer agent. The 'layered' water/*o*-DCB/water arrangement where *o*-DCB phase is sandwiched between two aqueous phases combines attributes of (dual) ITIES with a liquid (dichlorobenzene) membrane, serving also as reliable biomembrane model.

The potential of dual interface $W_{\text{MOB}}/o\text{-DCB}/W_{\text{STAT}}$, where W_{MOB} and W_{STAT} stand for mobile and stationary water phase, respectively, is monitored by the pair of the reference electrodes (SCE) immersed in both aqueous phases. Scheme 1 shows the dual ITIES arrangement according to above description.

In case of identical composition of aqueous phases $W_{\text{MOB}} \equiv W_{\text{STAT}} = W$ and with identical reference electrodes (SCE), the resulting Galvani potential difference between both interfaces is

$$\Delta_o^w \phi - \Delta_o^w \phi = 0, \quad (1)$$

Here $\Delta_o^w \phi$, $\Delta_o^w \phi$ are distribution potentials for particular ion and interface, respectively

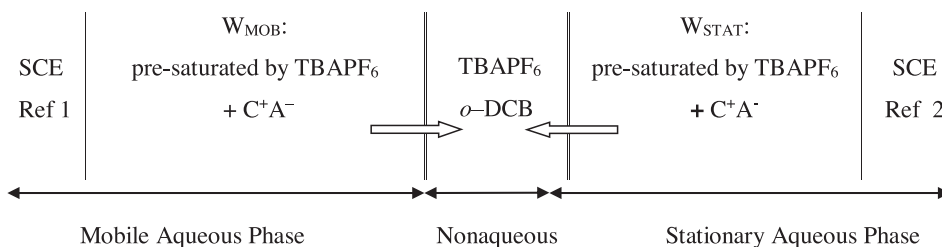
$$\Delta_o^w \phi = \Delta_o^w \phi_{\text{C}^+}^o + \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{a_{\text{C}^+}^o}{a_{\text{C}^+}^w} \right) \text{ for cation } \text{C}^+ \quad (2)$$

and

$$\Delta_o^w \phi = \Delta_o^w \phi_{\text{A}^-}^o - \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{a_{\text{A}^-}^o}{a_{\text{A}^-}^w} \right) \text{ for anion } \text{A}^- \quad (3)$$

where $a_{\text{C}^+}^w$, $a_{\text{A}^-}^w$, $a_{\text{C}^+}^o$, $a_{\text{A}^-}^o$ represent ion activities in nonaqueous (o) and water (w) phases and $\Delta_o^w \phi_i$ is the standard phase-to-phase transfer potential (e.g. ref [15]) and

$\Delta_o^w \phi = \phi^w - \phi^o$ represents in fact inner potential difference between phase **w** and **o** (phase-boundary potential) [16].



Scheme 1. General scheme of dual ITIES. The cell potential is measured at Ref 1, Ref 2 points represented by saturated calomel reference electrodes (SCE). Nonaqueous phase (*o*-DCB) contains dissolved TBAPF₆ as an electrolyte and phase transfer agent respectively. Both stationary and mobile aqueous phase is pre-saturated by TBAPF₆ to minimize its bleeding from *o*-DCB phase. Arrows on *o*-DCB/water interface indicate inverse orientation of potentials, which cancel each other in case of identical compositions of adjacent phases due to mirror arrangement of interfaces.

In general case the cell potential becomes

$$\Delta E_{\text{cell}} = E_{W_{\text{MOB}}} - E_{W_{\text{STAT}}} + \Delta E_{\text{ref}} \quad (4)$$

where $E_{W_{\text{MOB}}}$ and $E_{W_{\text{STAT}}}$ are potentials measured within bulk of mobile and stationary aqueous phase respectively, located on opposite sides of non-aqueous phase (i.e. with opposite directions of potential difference readings) and ΔE_{ref} becomes nonzero if different reference electrodes are used.

For potentiometric experiments the aqueous mobile phase serves as transport medium carrying analyte sample from dosing valve to ITIES, while the composition of stationary aqueous phase is kept constant during experiment serving as a reference phase. In a simplified approach, we can assume that once both aqueous phases differ just in one particular ion, the overall cell potential difference is driven by appearance and distribution of that particular ion. Thus, if both aqueous phases contain electrolyte $C_1^+A_1^-$ (where C stands for cation and A for anion) and $C_2^+A_1^-$ is injected into mobile phase, the potential difference (ΔE) between both aqueous phases (W_{STAT} and W_{MOB}) is formed upon appearance of C_2^+ on $W_{\text{MOB}}/o\text{-DCB}$ interface. The overall cell potential difference is then

$$\Delta E = \Delta E_{\text{DCB}}^{\text{WSTAT}} - \Delta E_{\text{WMOB}}^{\text{DCB}} \quad (5)$$

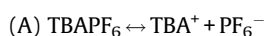
where each interface potential difference obeys equations (2) and (3). Note that interfacial potential differences cancel each other in case of identical compositions of adjacent phases due to mirror-like phase arrangement (arrows drawn on $o\text{-DCB}/\text{water}$ interface indicate orientation of interfacial potential difference). When compositions of both interfaces differ just in single ion (e.g. in cation C_2^+), the overall cell potential difference is determined just by equilibria of this particular ion, i.e. by component $\frac{RT}{F} \ln \left(\frac{a_{C_2^+}^{\text{stat}}}{a_{C_2^+}^{\text{mob}}} \right)$, where $W_{\text{STAT}}/o\text{-DCB}$ and $o\text{-DCB}/W_{\text{MOB}}$ correspond to interfaces adjacent to opposite sides of nonaqueous phase. For more than two species however, the system does not have such explicit solution and requires iteration for known partition coefficients [17].

In presented cell arrangement the nonaqueous phase does not contain the analyte regularly; it is brought to $o\text{-DCB}$ interface by mobile aqueous phase just after injection by dosing valve. The concentration (activity) of common ion present in both phases, i.e. its partitioning (P) determines the Galvani interfacial potential difference across the interface. The partitioning of ionized analyte, however, depends also on partitioning of the counter ion, i.e.

$$a_+^{\circ} a_-^{\text{w}} / a_+^{\text{w}} a_-^{\circ} = P_+ / P_- \quad (6)$$

thus the value $\Delta^{\text{w}} \phi_i \sim (RT/F) \ln(P_+/P_-)$.

In this work the analyte partition is assisted by phase transfer agent TBAPF₆, which dissociation



provides counter-ions for analyte ions assuring the electroneutrality condition. $\text{TBA}^+\text{PF}_6^-$ facilitates analyte transfer to nonaqueous phase, its partitioning and establishing the interfacial (Galvani) potential respectively [18]. Interfacial potential difference is composed from two separable parts [19]: a localized static

component driven by the ratio of single ion partition coefficients and a dynamic (spatially expanding) diffuse component driven by the apparent partition coefficients and diffusion coefficients of composing ions. For an ITIES in equilibrium, diffusion rate differs for particular ion, causing charge separation, which creates an electric field. In turn, the field interaction with ion is manifested by migration acting in opposite manner to ion diffuse movement [20,21].

In flow, the time for establishing the analyte equilibrium on the interface is determined by the time needed for analyte sample to pass by $o\text{-DCB}$ interface. This process is related to the phase volume ratio (r) expressed by relation $r = V^{\text{w}}/V^{\circ}$, where $c_{\text{CA}}^{\text{init}}$ is the initial concentration of analyte

$$c_{\text{CA}}^{\text{init}} = [C_2^+A_1^-]^{\text{w}} + [C_2^+]^{\text{w}} + ([C_2^+A_1^-]^{\circ} + [C_2^+]^{\circ})/r \quad (7)$$

affecting the distribution coefficient D

$$D = ([C_2^+A_1^-]^{\circ} + [C_2^+]^{\circ}) / ([C_2^+A_1^-]^{\text{w}} + [C_2^+]^{\text{w}}) \quad (8)$$

which value rises with r .

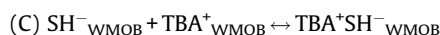
The distribution coefficient of analyte can be affected by pH via its protonation equilibria, if applicable, while proton partition is expected to be negligible.

The immediate response of interfacial potential can be related to change of electric double layer (EDL) structure on either side of an interface, due to ions partitioning between phases and preferentially adsorbed at the interface, respectively [22,23].

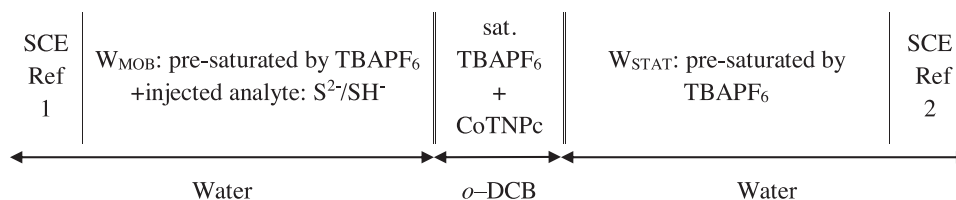
3.2. Potential transient: Chemical reaction and acid-base equilibrium

Potentiometric detection of compounds with redox properties was examined on Na₂S and H₂S as model redox analytes. The Scheme 2 shows arrangement of dual ITIES for detection of sulfides injected into aqueous mobile phase. Both aqueous phases are pre-saturated by TBAPF₆. The $o\text{-DCB}$ phase contained besides TBAPF₆ as electrolyte and phase transfer agent also 5×10^{-4} M CoTNPC as redox mediator, which solubility in water and thus losses into aqueous mobile phase can be regarded as negligible.

The partition of sulphide ions between $o\text{-DCB}$ and aqueous phase is assisted by $\text{TBA}^+\text{PF}_6^-$ as phase transfer agent and counter ion provider, respectively. It can be expressed by simplified sequence of partition and distribution equilibria



The nonaqueous phase contains CoTNPC mediator facilitating sulphide oxidation (F)



Scheme 2. Cell configuration for sulphide ion detection. The aqueous phases are pre-saturated by TBAPF₆ to minimize its bleeding from $o\text{-DCB}$. Redox mediator 5×10^{-4} M CoTNPC is dissolved in $o\text{-DCB}$ phase.

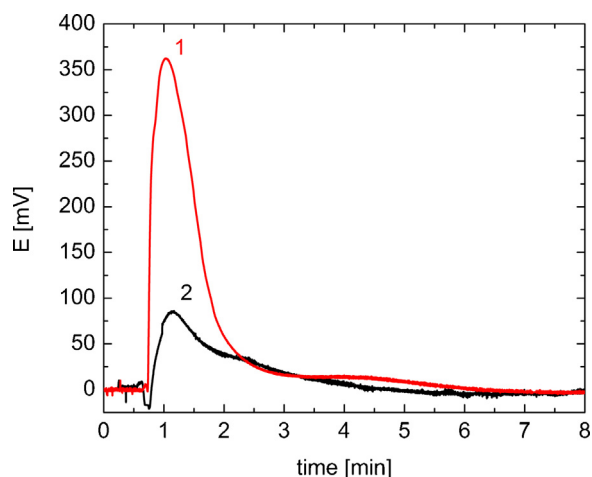
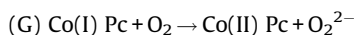
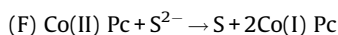


Fig. 1. Potential transient response to injection of aqueous solution of Na_2S into mobile phase of dual ITIES in presence (curve 1) and in absence (curve 2) of 5×10^{-4} M CoTNPC in *o*-DCB phase. Both aqueous phases were saturated by TBAPF₆. *o*-DCB phase contained 0.5 M TBAPF₆. Mobile phase flow rate 3 mL min^{-1} , potential was measured on SCE reference electrodes placed in both aqueous phases.



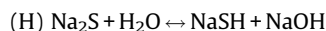
in reactions which mechanism was described by Hartle et al. [24] and Janda et al. [25] respectively, where oxygen is present in the reaction mixture. Advantageously, oxygen from ambient atmosphere (air) is utilized to regenerate original (oxidized) Co(II) Pc form (G) similarly as in the work of Tse et al. [26]. Appearance of polysulphides as intermediates of Na_2S oxidation on ITIES and their further subsequent (oxidative) reaction with phthalocyanine may further affect the interfacial potential, especially the time spread of the transient envelope. In all cases however, phthalocyanine prevents from sulfide accumulation in *o*-DCB phase by its perpetual oxidation and fading potential transients makes interface ready for next sulfide sample detection. Alternatively, sulfate can be formed by reaction with O_2^{2-} byproduct of (G) and washed

out by mobile phase due to its preferable partition and distribution in water.

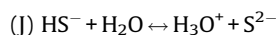
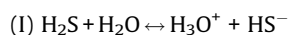
Potential transient corresponds to phthalocyanine redox couple Co(II)TNPC/Co(I)TNPC, which equilibrium is driven by coupled reaction with $\text{S}^{2-}/\text{SH}^-$ and O_2 , respectively (see reaction (F), (G)). Interfacial potential represents thus convolution of both redox equilibria and partition. Phthalocyanine engagement in sulphide oxidation and its influence on cell potential is clearly seen in Fig. 1 showing transient potential response to sulphide injection in presence (curve 1) and absence (curve 2) of CoTNPC in *o*-DCB phase. Different ionic products of the same compound cause changes in potential transient envelope as shown in Fig. 2A, where sulphide ions are injected in a form of aqueous Na_2S (curve 1) and H_2S (curve 2) solution, respectively.

Ion composition of the sample is determined by its acid-base equilibrium at particular pH. Accordingly, comparison of potential transient responses to injection of aqueous Na_2S and H_2S solution respectively, brings distinct differences. The most remarkable pattern on potential curve is the drop on peak shoulder (Fig. 2A, curve 2) upon injection of aqueous H_2S solution; it appears to be characteristic for protonated compounds/acid (Fig. 2 A, B curve 2). This pattern is missing for alkaline and neutral compounds in absence of proton release, as illustrated by Fig. 2A, B curve 1, obtained after injected aqueous Na_2S and KOH solution, respectively.

Both Na_2S and H_2S solutions have different hydrolysis pathways: While hydrolysis



leads to strongly alkaline solution, equilibria of aqueous H_2S solution are acidic



with dissociation constants of the 1st (reaction I) and 2nd (reaction J) step $K_1 = 9.1 \times 10^{-8}$ and $K_2 = \times 10^{-13} \text{ mol L}^{-1}$, respectively. Assuming that alkaline cations may reside within the interfacial region where they affect the water hydrogen bonding [27], further differentiation between H_2S and Na_2S response reflects also

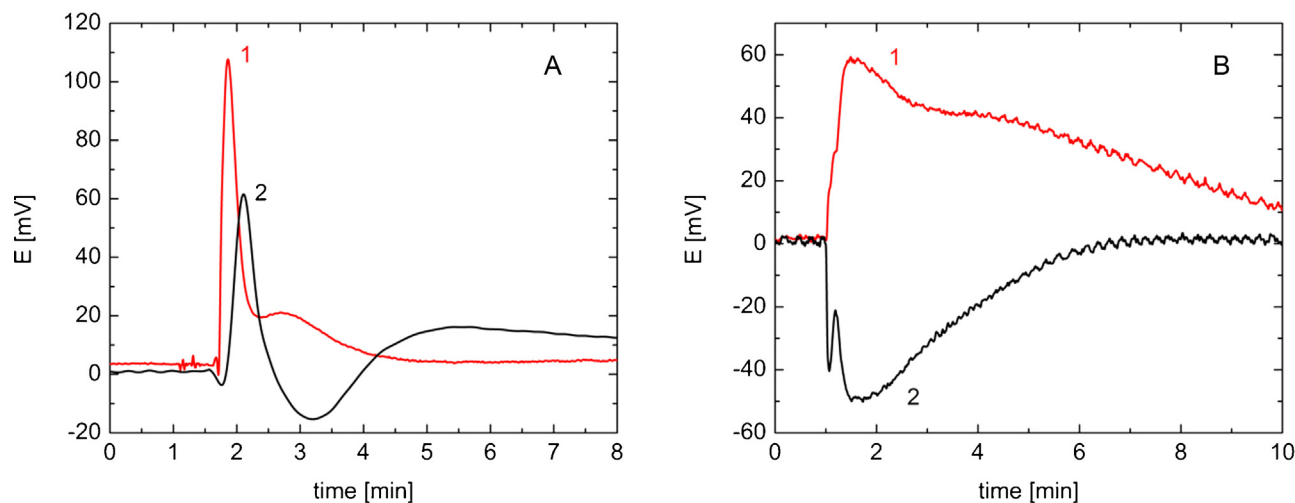


Fig. 2. Comparison of potential transients on dual ITIES as a response to injection of aqueous 10^{-2} M Na_2S (curve 1) and H_2S (saturated at 20°C , $\sim 0.1 \text{ mol/L}$) (curve 2) (A); injection aqueous 1 M KOH (curve 1) and 1 M HCl (curve 2) (B). Nonaqueous *o*-DCB phase composition: 5×10^{-4} M CoTNPC + 0.5 M TBAPF₆. Aqueous phase composition: In case of (A) both aqueous stationary and mobile phase are saturated by TBAPF₆. In case of (B) both the stationary and mobile phase are saturated by TBAPF₆ and contains additional 0.01 M KCl to suppress Cl^- and K^+ influence, respectively. Mobile phase flow rate is 3 mL min^{-1} . Potential difference was measured between SCE reference electrodes placed in both aqueous phases.

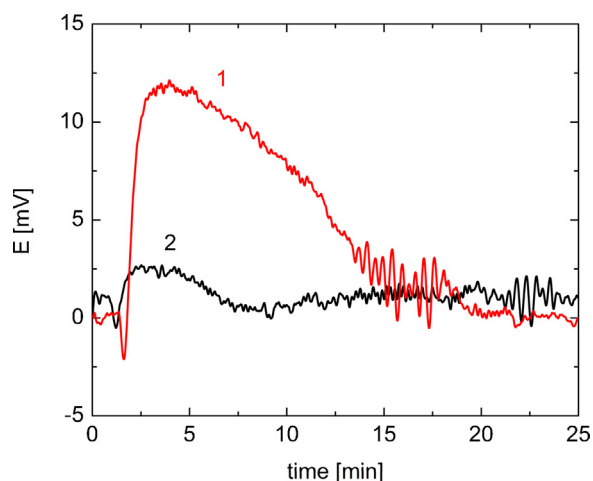


Fig. 3. Comparison of potential transient response at dual ITIES to injection of aqueous solutions of different neutral ion. 1 M NaCl (curve 1) and 1 M KCl (curve 2), into mobile phase. Nonaqueous *o*-DCB phase composition: 5×10^{-4} M CoTNPC + 0.5 M TBAPF₆. Both the stationary and mobile aqueous phase are saturated by TBAPF₆ and contain 0.01 M KCl to suppress Cl⁻ and K⁺ influence, respectively. Mobile phase flow rate was 3 mL min⁻¹. SCE/SCE reference electrodes were utilized.

interfacial chemical reaction kinetics [28,29]. Free “dangling” OH groups protruding from aqueous phase are capable to mediate the interfacial reaction via hydrogen bond formation. Accordingly, maximum of peak potential response to injection of H₂S solution is suppressed compared to Na₂S (Fig. 2A), due to counter-action of simultaneous redox and acid-base equilibria. The above scenario is confirmed by potential transient response to injection of aqueous HCl and KOH solution respectively, while both stationary and mobile phase contained equal concentration of KCl to suppress response of K⁺ and Cl⁻ ions (Fig. 2B). Thus, composition of both interfaces differed in single ion H⁺(H₃O⁺) and OH⁻ respectively, which determined the overall cell potential difference. Accordingly, injections of aqueous KOH and HCl yielded potential response similar to injection of Na₂S and H₂S solution, respectively, except for (non-existing) CoTNPC redox reaction, of course (Fig. 2B). It should be noted that even two orders of magnitude lower KCl concentration was sufficient to evoke the compensation effect on potential response to injected K⁺ and Cl⁻ ions due to already established partition and distribution equilibria (Fig. 3).

3.3. Potential transient: Ionic composition

Potential transient response to different ionic composition of analyte was already discussed in the paragraph 3.1 in relation to acid-base behavior and chemical reaction. The influence of neutral ion composition of sample in absence of chemical reaction is illustrated on NaCl and KCl model analytes (Fig. 3). The corresponding dual ITIES arrangement is shown in Scheme 3. The 5×10^{-4} M CoTNPC solution is again a part of *o*-DCB phase together with 0.5 M TBAPF₆, both aqueous phases are saturated by TBAPF₆ and contain 0.01 M KCl.

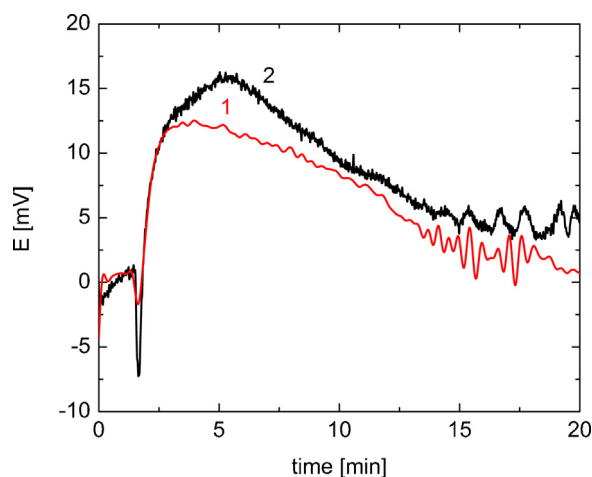
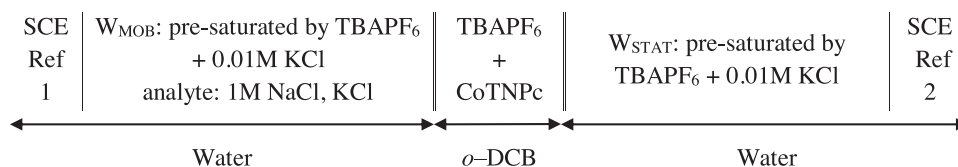


Fig. 4. Comparison of potential transient response at dual ITIES to injection of aqueous 1 M NaCl solution in absence of chemical reaction into mobile phase in presence (curve 1) and in absence (curve 2) of 5×10^{-4} M CoTNPC in *o*-DCB phase. Nonaqueous phase composition: 5×10^{-4} M CoTNPC and 0.5 M TBAPF₆ in *o*-DCB. Both aqueous phases are saturated by TBAPF₆ and contain 0.01 M KCl. Mobile phase flow rate was 3 mL min⁻¹. SCE/SCE reference electrodes were utilized.

As both stationary and mobile aqueous phase already contain K⁺Cl⁻, further adding KCl solution does not affect the ion partition and distribution on the *o*-DCB/water interface leaving the cell potential difference virtually unchanged (Fig. 3, curve 2). Though temporary increase of KCl concentration may influence the junction potential, mutual compensation by mirror arrangement of dual ITIES suppresses relatively small junction potential of solvent-solvent interaction [30] to value close to resolution limit.

Injection of Na⁺Cl⁻ solution establishes Na⁺ partition, assisted by pairing with PF₆⁻, at W_{MOB}/*o*-DCB interface, shifting its interfacial potential and rising the cell potential difference as shown in both Fig. 3 and Fig. 4. The peak with shoulder decay extending over twenty minutes indicates interphase diffusion as a rate determining step. Though CoTNPC is not involved in chemical reaction with NaCl and KCl respectively and its presence or absence in *o*-DCB phase creates equal conditions on both interfaces (Scheme 3), phthalocyanine adsorption at the interface may influence distribution and partition of particular ion with certain effect on cell potential difference (Fig. 4).

The above behavior raises question on distinguishing between different analyte components and their proportions influencing the envelope of transient potential. Fig. 5 illustrates deconvolution of individual components, where peak 1 can be assigned in agreement with curve 2 in Fig. 1 to partition/distribution equilibria at the interface W/*o*-DCB (Fig. 5B). Deconvoluted peak 2 fits well to potential response obtained in if aqueous phases buffered with sodium phosphate (Fig. 5C), which eliminates influence of pH and Na⁺. Therefore we can assume that peak 3 reflects acid-base equilibria (see reaction (H)), while peak 4 appearing at the highest sulphide concentration can be considered as response to sulphide oxidation products (Fig. 6).



Scheme 3. Dual ITIES arrangement for non-redox ion detection. Aqueous solutions of 1 M NaCl and KCl are alternative analytes injected into mobile aqueous phase. Nonaqueous *o*-DCB phase contains 5×10^{-4} M CoTNPC with 0.5 M TBAPF₆.

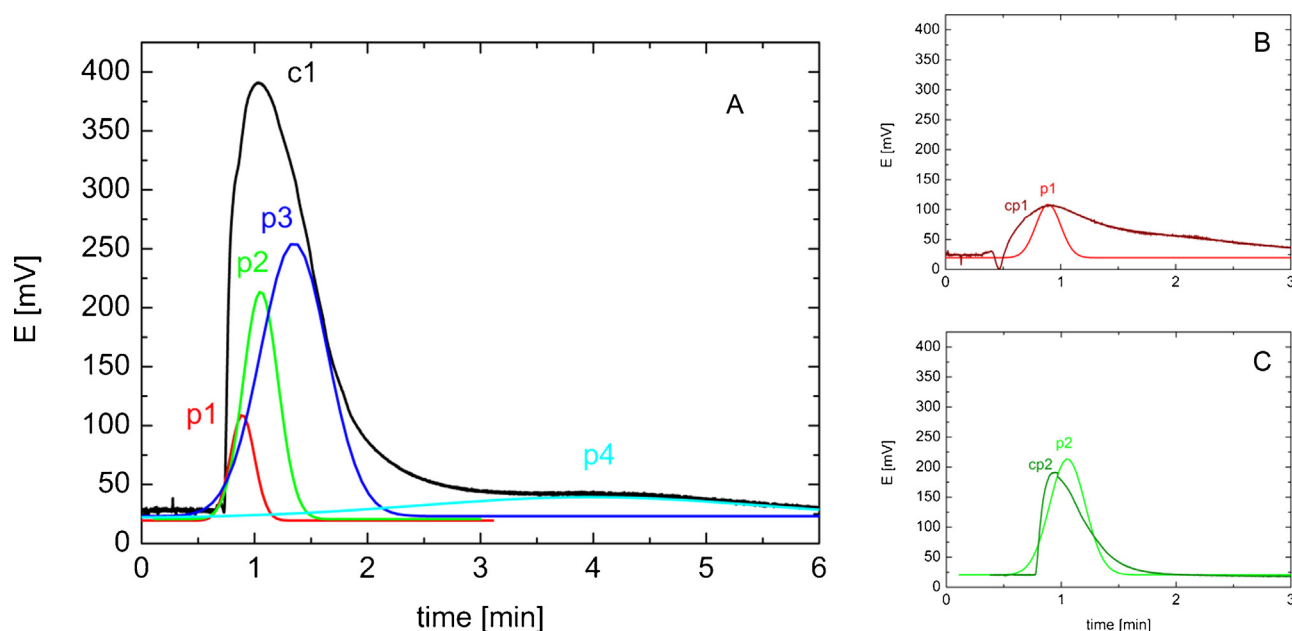


Fig. 5. Deconvolution of envelope of potential transient response to aqueous 10^{-1} M Na_2S injection. Complete transient potential response (A, curve c1), in absence of CoTNPC in *o*-DCB phase (B, curve cp1), in phosphate buffer (pH 7) (C, curve cp2) and deconvoluted peaks (p1, p2, p3, p4). Nonaqueous phase composition: 5×10^{-4} M CoTNPC and 0.5 M TBAPF₆ in *o*-DCB. Aqueous stationary and mobile phase are saturated by TBAPF₆ (A). Nonaqueous phase composition: 0.5 M TBAPF₆ in *o*-DCB. Aqueous stationary and mobile phase are saturated by TBAPF₆ (B). Nonaqueous phase composition: 5×10^{-4} M CoTNPC and 0.5 M TBAPF₆ in *o*-DCB. Aqueous stationary and mobile phase contain Sorensen's phosphate buffer prepared from 0.06 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ and 0.06 M KH_2PO_4 and saturated by TBAPF₆ (C). Mobile phase flow rate was 3 mL min^{-1} . Potential was measured on SCE-SCE reference electrodes placed in both aqueous phases.

4. Conclusion

The method of time resolved potentiometry utilizing dual ITIES arrangement was examined as a prospective tool for potentiometric analysis. The cell potential difference acquired between aqueous stationary (reference) and mobile (indicator) phase separated by nonaqueous *o*-DCB phase is driven by equilibria developed on both *o*-DCB/aqueous phase interfaces, based on phase transfer, ion distribution/partition and mediator chemical reaction. Compensation effect of mirror arrangement of both stationary and mobile aqueous phase allows selection of particular ion and evaluating specific pattern of its potential transient, which increases specificity and selectivity compared to "classic" retrieval

of potentiometric data. Duration and distribution of transient pattern can be assigned to interfacial processes differing by kinetics and control mechanism, which include ion couple partition/distribution combined with solvation and charge transfer reaction. Processes driven by adsorption and direct interaction on the interface respectively, proceed in substantially narrower time scale and manifest themselves by sharp potential transients compared to phase transfer and diffusion-driven processes, which exhibit often postponed and shallow transient pattern with broader spread in time scale. Comparison of potential response to analytes differing in single ion and pH respectively was used to elucidate their involvement in phase and charge transfer processes. The results obtained in this work allow us to extend our future study of transient potentials towards more complicated molecules with pharmaceutical and environmental significance and their behavior on liquid membrane.

Conflict of interest

The authors declare no competing financial interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the grant projects SVV and UNCE of Charles University of Prague.

References

- [1] G. Dimeski, T. Badrick, A. St John, *Clin. Chim. Acta* 411 (2010) 309–317.
- [2] N. Kallay, T. Preočanin, D. Kovačević, J. Lützenkirchen, E. Chibowski, *Croat. Chem. Acta* 83 (3) (2010) 357–370.
- [3] J.C. Myland, K.B. Oldham, *J. Electroanal. Chem.* 530 (2002) 1–9.
- [4] H. Jensen, V. Devaud, J. Jossierand, H.H. Girault, *J. Electroanal. Chem.* 537 (2002) 77–84.
- [5] T. Kakiuchi, M. Senda, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 60 (1987) 3099–3107.
- [6] L.Q. Hung, *J. Electroanal. Chem.* 115 (1980) 159–174.
- [7] K. Yoshikawa, Y. Matsubara, *Biophys. Chem.* 17 (1983) 183–185.
- [8] K. Arai, F. Kusu, *Anal. Sci., Proceedings of IUPAC International Congress on Analytical Sciences ICAS 17* (2001) i131.

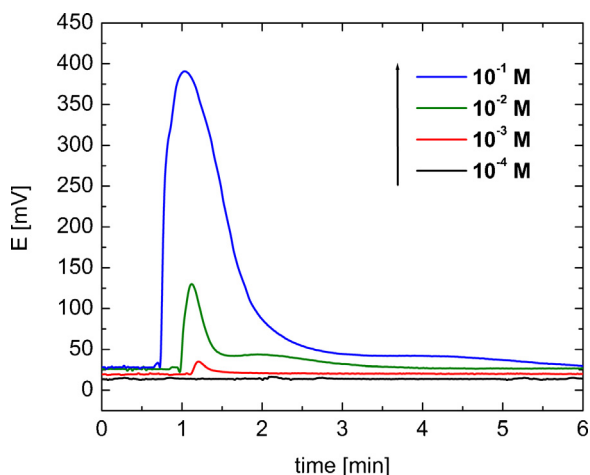


Fig. 6. Potential transient response to rising concentration of Na_2S : 10^{-4} M, 10^{-3} M, 10^{-2} M and 10^{-1} M. Nonaqueous phase composition: 5×10^{-4} M CoTNPC and 0.5 M TBAPF₆ in *o*-DCB. Aqueous stationary and mobile phase are saturated by TBAPF₆. Mobile phase flow rate was 3 mL min^{-1} . Potential was measured on SCE-SCE reference electrodes placed in both aqueous phases.

- [9] K. Arai, S. Fukuyama, F. Kusu, K. Takamura, *Bioelectroch. and Bioener.* 33 (1994) 159–163.
- [10] T. Spataru, N. Spataru, N. Bonciocat, C. Luca, *Bioelectrochemistry* 62 (2004) 67–71.
- [11] K. Arai, F. Kusu, K. Takamura, *Anal. Chim. Acta* 365 (1998) 279–284.
- [12] B.L. De Backer, L.J. Nagels, F.C. Alderweireldt, *Anal. Chim. Acta* 273 (1993) 449–456.
- [13] (a) C.C. Leznoff, S.M. Marcuccio, S. Greenberg, A.B.P. Lever, K.B. Tomer, *Can. J. Chem.* 63 (1985) 623–631;
(b) T. Fukuda, S. Masuda, N. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.* 129 (2007) 5472–5479.
- [14] V. Mansfeldova, P. Janda, H. Tarabkova, J. Kaleta, *Anal. Lett.* (2015), doi:<http://dx.doi.org/10.1080/00032719.2015.1010651> (in press).
- [15] P. Peljo, H.H. Girault, *Liquid/Liquid Interfaces, Electrochemistry at Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Ltd., 2012, doi:<http://dx.doi.org/10.1002/9780470027318.a5306.pub2>.
- [16] T. Kakiuchi, *Anal. Chem.* 68 (1996) 3658–3664.
- [17] P. Vanýsek, L.B. Ramírez, *J. Chil. Chem. Soc.* 53 (2008) 1455–1463.
- [18] F. Reymond, G. Steyaert, P.-A. Carrupt, B. Testa, H. Girault, *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996) 11951–11957.
- [19] K.R. Ward, E.J.F. Dickinson, R.G. Compton, *J. Phys. Chem. B* 114 (2010) 10763–10773.
- [20] K. Zhurov, E.J.F. Dickinson, R.G. Compton, *J. Phys. Chem. B* 115 (2011) 12429–12440.
- [21] K. Zhurov, E.J.F. Dickinson, R.G. Compton, *J. Phys. Chem. B* 115 (2011) 6909–6921.
- [22] V. Mareček, A. Lhotský, H. Jänchenová, *J. Electroanal. Chem.* 483 (2000) 174–179.
- [23] M.K. Kumar, T. Mitra, P. Ghosh, *Ind. Eng. Chem. Res.* 45 (2006) 7135–7143.
- [24] M.D. Hartle, S.K. Sommer, S.R. Dietrich, M.D. Pluth, *Inorg. Chem.* 53 (2014) 7800–7802.
- [25] P. Janda, P.N. Kobayashi, P.R. Auburn, H. Lam, C.C. Leznoff, A.B.P. Lever, *Can. J. Chem.* 67 (1989) 1109–1119.
- [26] Y.-H. Tse, P. Janda, H. Lam, A.B.P. Lever, *Anal. Chem.* 67 (1995) 981–985.
- [27] C.L. McFearin, G.L. Richmond, *J. Phys. Chem. C* 113 (2009) 21162–21168.
- [28] S. Narayan, J. Muldoon, M.G. Finn, V.V. Fokin, H.C. Kolb, K.B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* 44 (2005) 3275–3279.
- [29] Y. Jung, R.A. Marcus, *J. Am. Chem. Soc.* 129 (2007) 5492–5502.
- [30] K. Izutsu, *Anal. Sci.* 27 (2011) 685–694.

Publikace II

Dual interface of two immiscible electrolytes
potentiometric sensor for flow analysis

Mansfeldová V., Janda P., Tarábková H., Kaleta J.

Anal. Lett., **49**, 169–177 (2016)

DOI: 10.1080/00032719.2015.1010651

ELECTROCHEMISTRY

Interface of Two Immiscible Electrolytes as a Potentiometric Sensor for Flow Analysis

Věra Mansfeldová^{a,b}, Pavel Janda^a, Hana Tarábková^a and Jiří Kaleta^c

^aDepartment of Electrochemical Materials, J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, v.v.i., Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic; ^bDepartment of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague, Prague, Czech Republic; ^cInstitute of Organic Chemistry and Biochemistry ASCR, v.v.i., Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic

ABSTRACT

An interface of two immiscible electrolyte solutions (dual ITIES) was investigated for application as a biomimetic sensor for potentiometric flow analysis. The dual ITIES was formed by a water/*ortho*-dichlorobenzene/water interface in free-standing and nanoporous membrane-supported arrangements. One aqueous phase served as the mobile and second aqueous phase as the stationary phase. The nonaqueous (*ortho*-dichlorobenzene) phase contained dissolved phthalocyanine as a redox mediator, whereas tetrabutylammonium perchlorate acted as a phase transfer agent. The sensing mechanism utilized ambient oxygen for regeneration of the redox mediator; the sensor thus operates under air conditions where oxygen serves to partially establish the equilibrium interface potential. The free-standing and nanoporous membrane-supported arrangements provided fast and reproducible response for flow analysis with sulfide serving as a model analyte. Good stability, fast recovery, and high resistance to saturation were found. The signal-to-noise ratio was discussed with respect to electrolyte concentration and gaseous bubbles trapped on the membrane.

ARTICLE HISTORY

Received 25 November 2014
Accepted 18 January 2015

KEYWORDS

Flow analysis;
phthalocyanine;
potentiometry

Introduction

The interface of two immiscible electrolyte solutions (ITIES) has been studied by Koryta, Samec, and Mareček (Samec, Mareček, and Homolka 1984; Koryta 1986; 1988) and Girault and Schiffrin (Girault and Schiffrin 1984; Taylor and Girault 1986; Girault and Schiffrin 1988). ITIES has more recently been employed for a wide range of applications including amperometry (Osborne and Girault 1995), potentiometry (Silvester, Grygolicz-Pawlak, and Bakker 2010), and solar cells (Reymond et al. 2000). Moreover, ITIES can be used for study of charge transfer processes on cell membrane (Reymond et al. 2007) and mimic ion transfer and electron transport in live cell (Lu, Hu, and Wang 2005; Solomon 1997). Membrane electrochemistry plays an important role in taste and odor sensing in food quality control (Arai, Kusu, and Takamura 1998). The application of electrochemistry at

CONTACT Věra Mansfeldová ✉ vera.mansfeldova@jh-inst.cas.cz Department of Electrochemical Materials, J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, v.v.i., Academy of Sciences of the Czech Republic, Dolejškova 3, 182 23 Prague 8, Czech Republic.

This paper is part of a special issue of papers presented at the Modern Electrochemical Methods XXXIV (in Jetřichovice, Czech Republic)/47th Heyrovský Discussion (in Třest', Czech Republic) Conferences.

Color versions of one or more of the figures in the article can be found online at www.tandfonline.com/lanl.

ITIES was employed for the determination of heparin (Ma, Yang, and Meyerhoff 1992; Amemiya et al. 2011), dopamine (Berduque, Zazpe, and Arrigan 2008), tetracyclines (Kozlov and Koryta 1983; Fernández and Dassie 2005), amino acids (Spataru et al. 2004), and biomacromolecules (Arrigan 2008).

Potentiometry employing liquid electrodes with dual ITIES simplifies the manufacture of redox and ion-specific potentiometric sensors. Unlike solid-state sensors, a broad variety of liquid sensing electrodes can be produced by changing the composition of the non-aqueous phase with dissolving specific redox and ion-transfer mediators, overcoming the requirement of anchoring them to the solid surface. Potentiometry based on dual ITIES therefore offers variability, easy miniaturization, and portability, allowing broad applications. Here is reported a sensor for flow analysis based on dual ITIES potentiometry.

Experimental

Reagents

Nickel (II) 2,9,16,23-tetraneopentoxo phthalocyanine was synthesized according to published method (Leznoff et al. 1985). Nonaqueous solvent *ortho*-dichlorobenzene (Aldrich, 99%), tetrabutylammonium perchlorate (Fluka, electrochem. grade), lithium perchlorate (Fluka, p.a.), and sodium sulfide (Sigma-Aldrich, anhydrous) were used as received. Purified water (Milli-Q system Gradient, Millipore, resistivity 18.2 megaohms centimeter) was used for the preparation of aqueous electrolytes.

Electrochemical cells

Two types of electrochemical cells were utilized. The first cell was made from glass and SCE reference electrodes were sealed securely in body of the cell as shown in Figure 1A. This type of cell requires 500 microliters of nonaqueous phase. The second cell was composed of two Teflon parts comprising membrane saturated by nonaqueous phase sealed by the sheet of Viton (DuPont Performance Elastomers, USA) with circular opening. A schematic view of the cell is shown in Figure 1B. This type of cell needs a maximum of 50 microliters of nonaqueous phase.

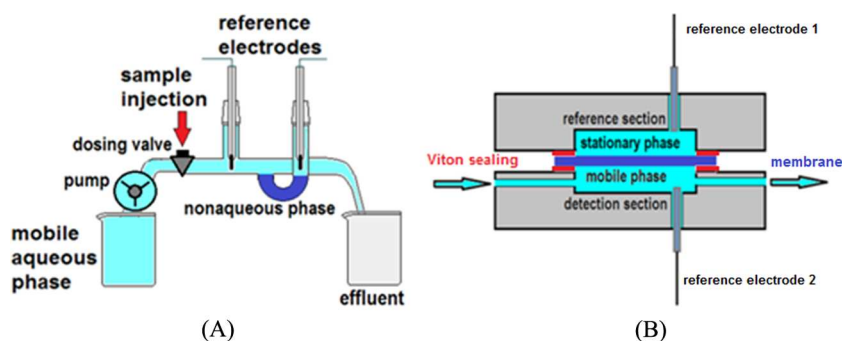


Figure 1. Schematics of dual ITIES potentiometry: (A) bulk nonaqueous phase sensor and (B) polyvinylidene fluoride membrane-supported sensor.

Instrumentation

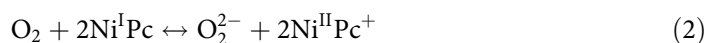
Measurements were performed using a Wenking potentiometer (model PPM 98, Bank Elektronik, Germany), Picoscope ADC-212 (Pico Technology, UK), and PicoLOG software. A two-electrode system was used for all measurements. In the bulk cell, two saturated calomel electrodes (SCE) were applied. For membrane-supported ITIES, saturated calomel (SCE) and mercury sulfate electrodes (MSE) were employed to simplify detection. In this case, the rest potential was always nonzero: $^{\wedge}E = E_{\text{SCE}} - E_{\text{MSE}} \neq 0$. A polyvinylidene fluoride (PVDF) supporting membrane with 0.22 micrometer pores (Millipore, USA) was used. Aqueous mobile phase was saturated with tetrabutylammonium perchlorate or 0.1 molar LiClO_4 . The mobile phase and analyte were transported by a peristaltic pump (PCD 21 molar, Kouřil, Kyjov, Czech Republic) using silicon tubes into the electrochemical cell (Figure 1A and B). The flow rate was 0.3 or 3 milliliter per minute. All experiments were performed at room temperature.

Results and discussion

A glass cell with bulk ITIES was designed as a laboratory model (Figure 1A). Subsequently, for practical application, the Teflon cell with ITIES supported by polyvinylidene fluoride membrane was designed (Figure 1B). Here, the nonaqueous phase was soaked in the membrane, which supported the dual interface between aqueous phases on both sides of the membrane. A solution of sodium sulfide was injected into mobile phase as a model analyte. The reaction of sulfide with the central metal of phthalocyanine is described by (Komorsky-Lowrič, Lowrič, and Scholz 1997):



Oxygen then regenerates the original oxidized state of Ni^{II}



The role of oxygen for stability of the potential difference measured on the nickel (II) 2,9,16,23-tetraneopentoxo phthalocyanine-modified dual ITIES under blank conditions (i.e., in absence of sulfide) is illustrated in Figure 2. While sensor with the mobile phase saturated by oxygen showed long-term stable potential (red line in Figure 2), the potential of sensor with mobile phase deoxygenated by argon was barely stabilized after three hours (black line in Figure 2).

The response to injection of equal concentrations of sodium sulfide into the mobile phase was examined for the bulk and membrane-supported dual ITIES cells (Figure 3). While the bulk cell yielded 182 ± 6.27 millivolts ($s_r = 3.86\%$) as shown by red line, the cell utilizing membrane-supported dual ITIES yielded 33 ± 2.31 millivolts ($s_r = 7.85\%$), shown by the black line in Figure 3A.

Dual ITIES may be bypassed by aqueous conductive film paths on the sidewalls of the cell or through the membrane pores, which may further decrease the response by interface discharging reflected in particular by lower potential response of membrane compared to bulk arrangement (Figure 3A). The magnitude of the potential difference was also affected by analyte appearance on the reference (stationary) interface due to diffusion via the non-aqueous phase. It may be alleviated by changing the stationary reference phase to flowing, which is continuously refreshed.

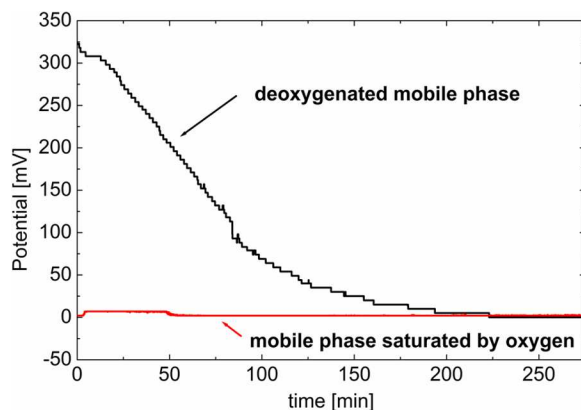


Figure 2. Stability of dual ITIES (bulk arrangement) with mobile phase saturated with oxygen (red curve) and argon (black curve). Nonaqueous phase: 0.5 millimolar nickel (II) 2, 9, 16, 23-tetraneopentoxo phthalocyanine, and 0.5 molar tetrabutylammonium perchlorate in *o*-dichlorobenzene. Mobile phase: aqueous 0.1 molar LiClO_4 . Flow rate: 0.3 milliliter per minute. SCE was the reference in the stationary and mobile phases.

Initially it was proposed that the relatively noisy response (Figure 3B, C) was caused by the low conductivity of mobile phase due to the low concentrations of ions in the aqueous phase. However, the addition of 0.1 molar LiClO_4 into the aqueous phase eliminated noise only in the bulk arrangement (Figure 4), while a noise increase was observed for thin-layer membrane-supported dual ITIES approximately one minute from the mobile phase flow start. This phenomenon was observed even when measurements were made in a shielded Faraday cage. This noise is believed to be produced by ambient microbubbles from the

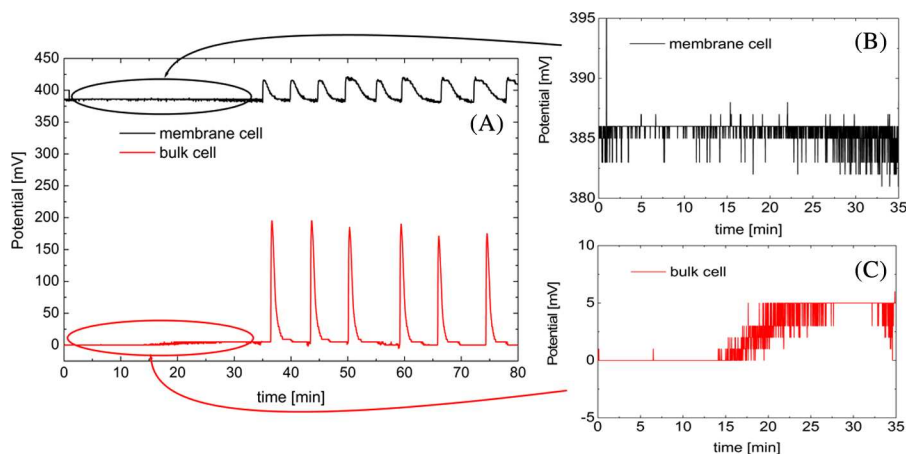


Figure 3. (A) Response of dual ITIES to analyte injection on the membrane-supported (top) and bulk (bottom) arrangement. Noise of resting potential was measured on the (B) membrane-supported and (C) bulk arrangements from the initiation of mobile phase flow. Nonaqueous phase composition: 0.5 millimolar nickel (II) 2, 9, 16, 23-tetraneopentoxo phthalocyanine and 0.5 molar tetrabutylammonium perchlorate in *o*-dichlorobenzene. Mobile phase: saturated aqueous tetrabutylammonium perchlorate. Flow rate: 3 milliliters per minute. SCE/MSE and SCE/SCE were used as the references in membrane-supported and bulk arrangement, respectively. Analyte: 0.1 molar aqueous Na_2S .

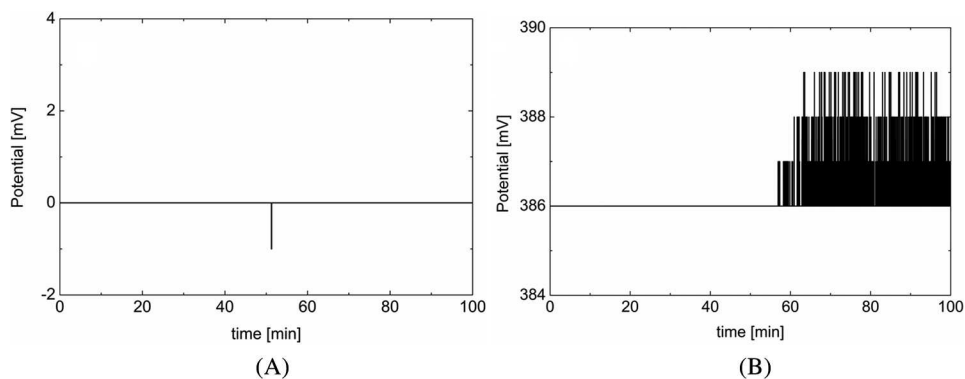


Figure 4. Potential difference measured by dual ITIES in (A) bulk and (B) membrane-supported arrangements. Nonaqueous phase: 0.5 millimolar nickel(II) 2, 9, 16, 23-tetraneopentoxy phthalocyanine, and 0.5 molar tetrabutylammonium perchlorate in ortho-dichlorobenzene. Mobile phase: aqueous 0.1 molar LiClO_4 . SCE/MSE and SCE/SCE for reference in membrane-supported and bulk arrangements, respectively.

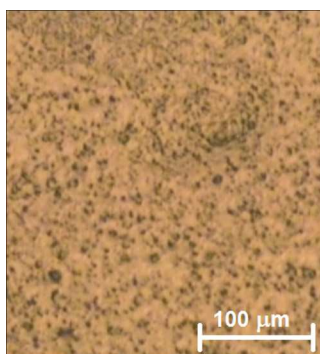


Figure 5. Optical micrograph of polyvinylidene fluoride membrane saturated by nonaqueous phase: 0.5 millimolar nickel (II) 2, 9, 16, 23-tetraneopentoxy phthalocyanine, and 0.5 molar tetrabutylammonium perchlorate in ortho-dichlorobenzene. Dark regions are bubbles; light areas are covered by nonaqueous phase.

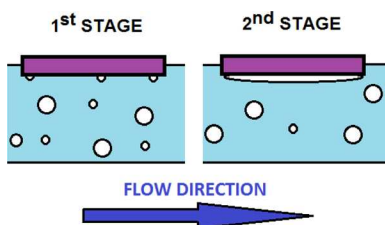


Figure 6. Explanation of the noise in measurements. Bubbles in the aqueous mobile phase are trapped on the surface of the hydrophobic nonaqueous phase leading to interface insulation by the gaseous layer (right diagram).

mobile phase that accumulated on the interface in micropockets in the hydrophobic membrane structure. The presence of bubbles has been previously reported (e.g., Attard, Moody, and Tyrrell 2002) as well as their response to liquid flow and pressure change

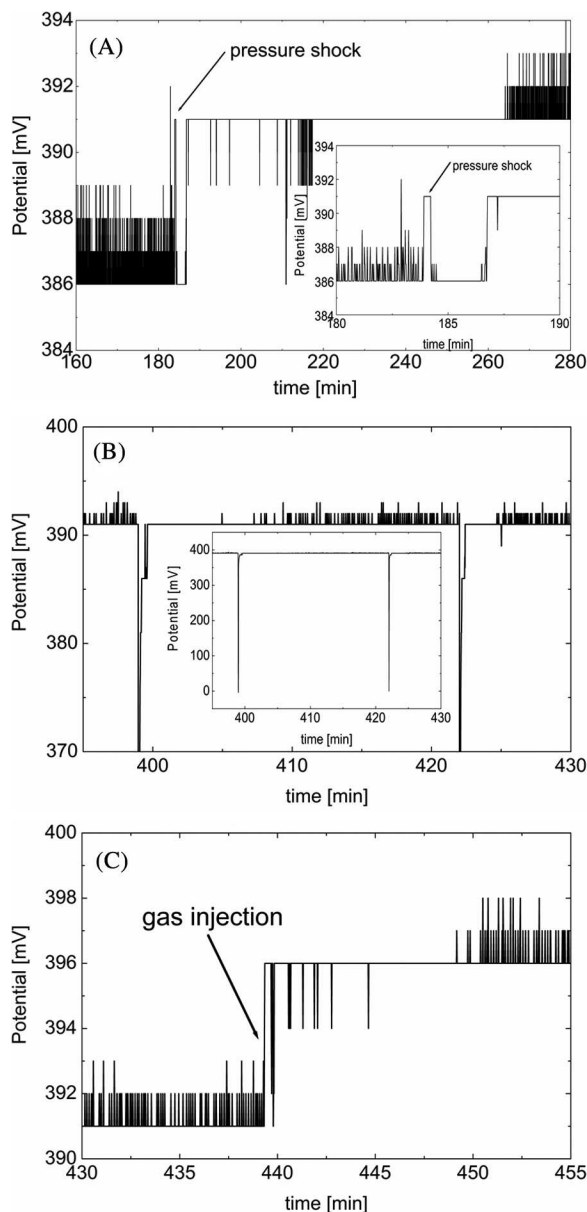


Figure 7. Decreased noise of membrane-supported dual ITIES cell by (A) application of pressure shock on output, (B) discharging dual ITIES by electrode short connection or (C) gas injection causes noise reduction continued by an increase due to enhanced bubble production. Membrane was 0.5 millimolar nickel(II) 2, 9, 16, 23-tetraneopentoxy phthalocyanine, and 0.5 molar tetrabutylammonium perchlorate solution in ortho-dichlorobenzene as the nonaqueous phase. Aqueous mobile phase: 0.1 molar LiClO_4 . Flow rate: 0.3 milliliter per minute. SCE reference was placed in the aqueous stationary phase and MSE reference in the mobile phase.

(Wang, Bhushan, and Zhao 2009). Microbubbles increased the noise of potential response (Figure 4B), while no effect was found on the bulk arrangement (Figure 4A).

An optical micrograph (Figure 5) shows the polyvinylidene fluoride membrane with micropores filled by nonaqueous phase (light areas) and occupied by gaseous microbubbles (dark areas).

Due to the hydrophobic character of bubbles and the *ortho*-dichlorobenzene phase, there is a low probability that bubbles are removed by the mobile aqueous phase. Instead, the bubbles are trapped on the membrane and fuse with bubbles carried by the aqueous phase (Figure 6). Accordingly, a continuous flow of aqueous phase increased the noise (Figure 4B). This explanation was further supported by treating the mobile phase with ultrasound for ten minutes. The noise increased more slowly, apparently because the ultrasound disintegrated gaseous layers (Takahashi, Chiba, and Li 2007) on the interface, but their coalescence slowly restored the original state.

Two techniques were applied to reduce noise and eliminate microbubbles from the interface. First, pressure shock based on short-time blockage of the mobile phase increased the signal (Figure 7A) and consequently eliminated bubbles from membrane surface for more than one hour. The pressure step increased the gas solubility in either phase, thus diminishing bubble population on the interface, which in turn decreased the noise.

Second, discharging dual ITIES by short connection between both aqueous phases imposed a short-term change of surface tension on the interface. The short connection between both reference electrodes caused change of potential of approximately 400 millivolts (see Figure 7B), which is the potential difference between the SCE and MSE. The effect of this method is short-term compared to pressure shock method.

To verify the influence of bubbles present in the mobile phase stream on the noise, 100 microliters of gas was injected (Figure 7C). The short-term noise decrease was caused by the short pressure rise during injection. Subsequently, the number of bubbles on the interface increased as well as the noise, which is in accordance with this presumption.

Conclusions

The potentiometric cell for flow analysis was developed using a dual ITIES arrangement. The main advantage is the simplicity to modify the selectivity by changing the detection phase composition. Unlike with solid sensors, it allows simple modification and construction of a variety of detection electrodes. The same principle can be utilized for sensor renewal by simple refilling to compensate the aging and sensor "bleeding." The performance may be improved by removing bubble from mobile phase flow, and consequently, preventing the membrane blockage by adhering gaseous layers. Alternatively, however, this system may indicate the appearance of microbubbles in the mobile phase. The problem can be removed by using a bubble trap.

The dual interface of the nonaqueous phase may be bypassed by aqueous conductive film paths on sidewalls of the cell or through the membrane pores, further decreasing its response by interface discharging. The interface bypass appears to be more significant on the thin layer membrane-supported ITIES than on the column (bulk) arrangement, with substantially larger interfacial distances. Further studies will be dedicated to achieving a higher potential response and to addressing the multisensor array concept.

Funding

This work was supported by the grant projects SVV and UNCE of Charles University of Prague and Grant Agency of Czech republic P208/12/2429. J. Kaleta acknowledges support from the Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic (RVO: 61388963).

References

- Amemiya, S., Y. Kim, R. Ishimatsu, and B. Kabagambe. 2011. Electrochemical heparin sensing at liquid/liquid interfaces and polymeric membranes. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 399: 571–79. doi:10.1007/s00216-010-4056-2
- Arai, K., F. Kusu, and K. Takamura. 1998. Electrical potential oscillation across a water/octanol/water liquid membrane in the presence of two taste substances. *Analytica Chimica Acta* 365: 279–84. doi:10.1016/S0003-2670(97)00628-4
- Arrigan, D. W. M. 2008. Bioanalytical detection based on electrochemistry at interfaces between immiscible liquids. *Analytical Letters* 41: 3233–52. doi:10.1080/00032710802518197
- Attard, P., M. P. Moody, and J. W. G. Tyrrell. 2002. Nanobubbles: the big picture. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications* 314: 696–705. doi:10.1016/S0378-4371(02)01191-3
- Berduque, A., R. Zazpe, and D. W. M. Arrigan. 2008. Electrochemical detection of dopamine using arrays of liquid-liquid micro-interfaces created within micromachined silicon membranes. *Analytica Chimica Acta* 611: 156–62. doi:10.1016/j.aca.2008.01.077
- Fernández, R. A., and S. A. Dassie. 2005. Transfer of tetracyclines across the H₂O vertical bar 1,2-dichloroethane interface: analysis of degraded products in strong acid and alkaline solutions. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 585: 240–49. doi:10.1016/j.jelechem.2005.08.015
- Girault, H. H. J., and D. J. Schiffrin. 1984. Thermodynamics of a polarised interface between two immiscible electrolyte solutions. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* 170: 127–41. doi:10.1016/0022-0728(84)80041-8
- Girault, H. H. J., and D. J. Schiffrin. 1988. Electron transfer reactions at the interface between two immiscible electrolyte solutions. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* 244: 15–26. doi:10.1016/0022-0728(88)80090-1
- Komorsky-Lowrič, Š., M. Lowrič, and F. Scholz. 1997. Sulfide ion electrooxidation catalysed by cobalt phthalocyanine microcrystals. *Microchimica Acta* 127: 95–99. doi:10.1007/bf01243171
- Koryta, J. 1986. Electrochemical sensors based on biological principles. *Electrochimica Acta* 31: 515–20. doi:10.1016/0013-4686(86)85026-5
- Koryta, J. 1988. Electrochemical polarization phenomena at the interface of two immiscible electrolyte solutions—III. Progress since 1983. *Electrochimica Acta* 33: 189–97. doi:10.1016/0013-4686(88)80002-1
- Kozlov, Y. N., and J. Koryta. 1983. Determination of tetracycline antibiotics by voltammetry at the interface of two immiscible electrolyte solutions. *Analytical Letters* 16: 255–63. doi:10.1080/00032718308065166
- Leznoff, C. C., S. M. Marcuccio, S. Greenberg, A. B. P. Lever, and K. B. Tomer. 1985. Metallophthalocyanine dimers incorporating five-atom covalent bridges. *Canadian Journal of Chemistry* 63: 623–31. doi:10.1139/v85-102
- Lu, X., L. Hu, and X. Wang. 2005. Thin-layer cyclic voltammetric and scanning electrochemical microscopic study of antioxidant activity of ascorbic acid at liquid/liquid interface. *Electroanalysis* 17: 953–58. doi:10.1002/elan.200403201
- Ma, S. C., V. C. Yang, and M. E. Meyerhoff. 1992. Heparin-responsive electrochemical sensor: a preliminary study. *Analytical Chemistry* 64: 694–97. doi:10.1021/ac00030a023
- Osborne, M. D., and H. H. Girault. 1995. The liquid-liquid micro-interface for the amperometric detection of urea. *Electroanalysis* 8: 714–21. doi:10.1002/elan.1140070804
- Reymond, F., D. Fermin, H. J. Lee, and H. H. Girault. 2000. Electrochemistry at liquid/liquid interfaces: methodology and potential applications. *Electrochimica Acta* 45: 2647–62. doi:10.1016/S0013-4686(00)00343-1

- Reymond, F., V. Gobry, G. Bouchard, and H. H. Girault. 2007. *Electrochemical aspects of drug partitioning in pharmacokinetic optimization in drug research: biological, physicochemical, and computational strategies*. Zürich, Switzerland: Verlag Helvetica Chimica Acta.
- Samec, Z., V. Mareček, and D. Homolka. 1984. Double layers at liquid-liquid interfaces. *Faraday Discussions of the Chemical Society* 77: 197–208. doi:10.1039/DC9847700197
- Silvester, S. D., E. Grygolicz-Pawlak, and E. Bakker. 2010. Assessing ion-exchange properties and purity of lipophilic electrolytes by potentiometry and spectrophotometry. *Electrochemistry Communications* 12: 110–13. doi:10.1016/j.elecom.2009.10.048
- Solomon, T. 1997. Bioenergetics and charge transfer across liquid-liquid interfaces. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia* 11: 79–87. doi:10.4314/bcse.v11i1.21016
- Spătaru, T., N. Spătaru, N. Bonciocat, and C. Luca. 2004. Potentiometric investigation of the effect of the pH on the ionic transfer of some amino acids at the interface between two immiscible electrolyte solutions. *Bioelectrochemistry* 62: 67–71. doi:10.1016/j.bioelechem.2003.10.010
- Takahashi, M., K. Chiba, and P. Li. 2007. Free-radical generation from collapsing microbubbles in the absence of a dynamic stimulus. *The Journal of Physical Chemistry B* 111: 1343–47.
- Taylor, G., and H. H. Girault. 1986. Ion transfer reactions across a liquid—liquid interface supported on a micropipette tip. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* 208: 179–83. doi:10.1016/0022-0728(86)90307-4
- Wang, Y., B. Bhushan, and X. Zhao. 2009. Improved nanobubble immobility induced by surface structures on hydrophobic surfaces. *Langmuir* 25: 9328–36. doi:10.1021/la901186a

Publikace III

Versatile cell for in-situ spectroelectrochemical
and ex-situ nanomorphological characterization of both water
soluble and insoluble phthalocyanine compounds,

Mansfeldová V., Klusáčková M., Tarábková H.,
Janda P., Nesměrák K.

Monatsh. Chem., (2016). Přijato.

DOI: 10.1007/s00706-016-1743-5

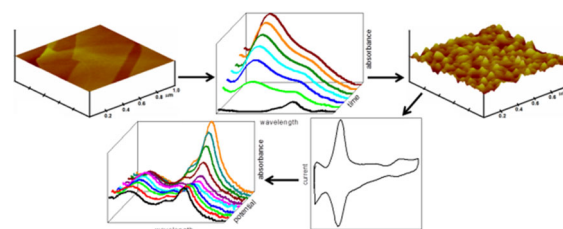
Versatile cell for in-situ spectroelectrochemical and ex-situ nanomorphological characterization of both water soluble and insoluble phthalocyanine compounds

Věra Mansfeldová^{1,2} · Monika Klusáčková^{1,2} · Hana Tarábková² · Pavel Janda² · Karel Nesměrák¹

Received: 28 January 2016 / Accepted: 15 March 2016
© Springer-Verlag Wien 2016

Abstract A novel cell for complex spectroelectrochemical and nanomorphological characterization of phthalocyanine has been developed. The applicability and universality of the cell allows performing both in-situ and ex-situ characterization of the same sample, in solid and solution state, respectively, which was demonstrated on tetramethyltetra-3,4-pyridine-porphyrzino cobalt as water soluble and tetraneopentoxyphtalocyanine cobalt as water insoluble phthalocyanine based compound. The cell is composed of a planar freely replaceable bottom formed by a basal plane of highly ordered pyrolytic graphite. It allows complete characterization of modified electrode on same electrode, from spectral observation of modification process via atomic force microscopy to spectroelectrochemical characterization of redox and catalytic behavior. The relatively inert HOPG electrode serves as a substrate for phthalocyanine compounds and also as a backscattering mirror for in-situ reflection spectroscopy. This makes the cell suitable for spectroelectrochemical studies of phthalocyanine both as HOPG-supported thin film and in the solution. Moreover, the cell can take the advantage of optional utilization of supported thin layer interface of two immiscible electrolyte solutions allowing spectroelectrochemical analysis of sub-microgram quantities of water insoluble compounds.

Graphical abstract



Keywords Organometallic compounds · Electrochemistry · Cyclic voltammetry · VIS spectroscopy · Atomic force microscopy · ITIES

Introduction

Phthalocyanines are intensively studied because of their diverse properties allowing variety of applications including non-linear optics [1, 2], photodynamic therapy of cancer [3], chemical sensors [4, 5], catalysis [6], liquid crystals [7], optical data storage [8], solar energy conversion [9, 10], and as dyes or pigments [11]. Altering substituents of macrocycles and ability to form complexes with more than seventy different metal ions [12] create a wide range of phthalocyanine based compounds with modified redox and photochemical behavior, which are soluble in different solvents. Spectroelectrochemical studies of phthalocyanine facilitate understanding of the redox processes that may take place at either the central metal atom or the phthalocyanine ring. Such processes cannot usually be distinguished by electrochemistry only. The application in electrochemical sensors and electrocatalysis [13, 14] is connected to requirement of

✉ Monika Klusáčková
monika.klusackova@jh-inst.cas.cz

¹ Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Charles University in Prague, Hlavova 8, 128 43 Prague 2, Czech Republic

² J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry of the CAS, v.v.i., Dolejškova 3, 182 23 Prague 8, Czech Republic

homogenous, uniform, adhesive film on conductive substrate; thus, the study of morphology of deposited films attracts attention. Although a large number of spectroelectrochemical studies [15–21] have been published so far, only a few studies [22–24] also involved characterization of the nanomorphology of phthalocyanine films. Spectroelectrochemical measurements were usually made with an optically transparent thin layer cell, utilizing a gold or platinum minigrad [25, 26] as a working electrode, which is inconvenient for atomic force microscopy (AFM) measurement. Besides, metal electrode, transparent semiconductive electrode (mostly indium tin oxide) [27] was utilized. Its application is limited by electrolyte composition and potential window restricted towards negative potentials, to avoid interference with electrochemistry of studied compound. The electrode requires special care to assure ohmic contact with metallic collector and to avoid Schottky barrier deforming volt–ampere characteristic. Moreover, thin layer cell geometry delimited by a narrow gap between solid walls imposes significant shielding effect on the working electrode and short optical path length must be compensated by high sample concentration. The low optical gain of single–pass transmission spectroscopy can be increased using of double and multi–pass reflection (backscattering) spectroscopy.

In common reflection spectroscopy of phthalocyanines [28, 29] the limitations usually represent: large sample volumes, adhesive and resin materials in cell construction or electrode sealing, incompatibility with organic solvents, and impossibility to disassemble the cell for ex-situ analyses.

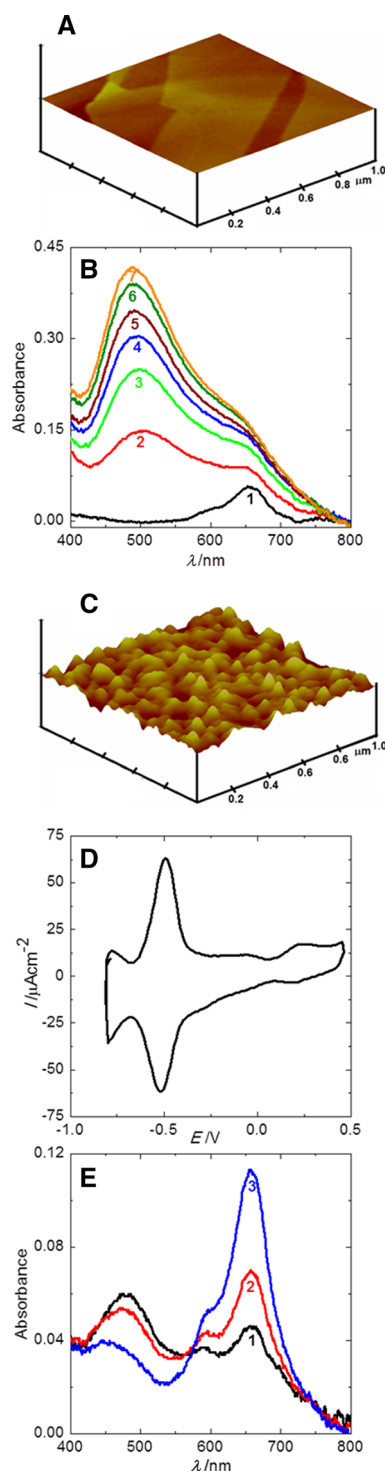
Here, we report a universal spectroelectrochemical cell, which allows performing fully-fledged spectroelectrochemistry without sacrificing either quality of electrochemical data or spectroscopic efficiency even at low phthalocyanine quantities. The cell can be effortlessly dismantled and reassembled for the replacement of the working electrode, allowing successive application of combined in-situ and ex-situ examination techniques.

Results and discussion

The presented cell advantages are demonstrated by combination of in-situ spectroelectrochemical and ex-situ nanomorphological AFM study of model water soluble and insoluble compounds. Two types of arrangements, bulk and thin layer interface of two immiscible electrolyte solutions (ITIES), are compared.

Application of the cell for study of water soluble compounds

Figure 1 shows preparation and characterization of the highly ordered pyrolytic graphite (HOPG) electrode



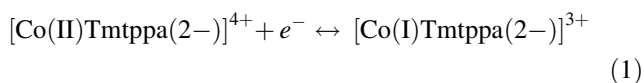
modified by CoTmtpa (HOPG/CoTmtpa) electrodeposited at constant potential -0.3 V/SCE for 60 min. The reduction of the central metal Co(II)/Co(I) occurs [30] at potential negatively from 0.25 V and the formation of Co(I)Tmtpa film on HOPG working electrode is indicated by the appearance of new absorption band at 480 nm as

Fig. 1 The spectroelectrochemical and nanomorphological characterization of HOPG/CoTmtppa modified electrode prepared by electrochemical deposition at -0.3 V vs. SCE from CoTmtppa ($c = 1 \times 10^{-5}$ mol/dm³) in aqueous 0.1 mol/dm³ phosphate buffer (pH = 4.3) for 60 min utilizing versatile of spectroelectrochemical cell. **(a)** Ex-situ tapping mode AFM image of basal plane of HOPG. Scan area 1×1 μ m, height scale 100 nm. **(b)** Time-resolved in-situ backscattering VIS spectra of HOPG/CoTmtppa modified electrode. **(c)** Ex-situ tapping AFM image of HOPG/CoTmtppa modified electrode. Scan area 1×1 μ m, height scale 100 nm. **(d)** The cyclic voltammetry of HOPG/CoTmtppa modified electrode in aqueous 0.1 mol/dm³ NaH₂PO₄ (pH = 4.3), scan rate 0.1 V/s¹, potential E is referred to SCE. **(e)** In-situ backscattering VIS spectra of the HOPG/CoTmtppa modified electrode recorded at potential 0 V (curve 1), 0.3 V (curve 2), 0.5 V (curve 3) vs. SCE

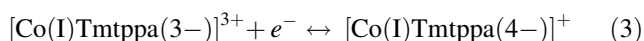
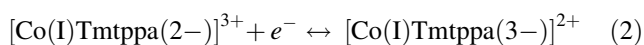
shown by time resolved in-situ VIS spectra (Fig. 1b). The decrease of Q-band at 656 nm corresponding to Co(II)Tmtppa monomer form related to its depletion near the HOPG electrode was not detectable due to sufficient concentration of Co(II)Tmtppa in deposition solution. The shoulder at 598 nm originates from porphyrazine dimeric form [31].

Electrodeposited film was subsequently characterized by ex-situ AFM (Fig. 1c). The root mean square (RMS) roughness of the CoTmtppa film deposited on HOPG was 6.1 ± 0.9 nm, while for HOPG substrate before deposition was 1.6 ± 0.2 nm due to steps and imperfections (Fig. 1a) [32]. The AFM image (Fig. 1c) shows practically homogeneous coverage of HOPG by nanograin CoTmtppa layer.

Figure 1d shows the cyclic voltammetry of HOPG/CoTmtppa modified electrode in 0.1 mol dm⁻³ phosphate buffer (pH = 4.3). Two redox processes were observed. While peak at 0.25 V is assigned [33–35] to reduction of cobalt center described by Eq. (1).



the more negative peak at -0.47 V involved two redox processes on the porphyrazine ring corresponding to Eqs. (2) and (3).



The electrochemical behavior of HOPG/Co(I)Tmtppa modified electrode was described in more detail in previous publications [34, 35]. Generally, voltammetric peak corresponding to redox reaction of metallic center is relatively narrow and difficult to observe. The combination of voltammetry with VIS spectrometry is a powerful method for identification of redox and other processes such as aggregation not detectable by voltammetry.

Figure 1e shows VIS absorption spectra of the Co(I)Tmtppa deposited on HOPG, measured in backscattering mode in 0.1 mol dm⁻³ phosphate buffer (pH = 4.3). Changing ratio of Co(II)/Co(I) due redox reaction described in Eq. (1) is manifested by alternation of peak height at 656 nm and at 480 nm, respectively. The isosbestic point at 577 nm was observed.

Figure 2 shows in more detail spectral changes associated with redox processes of modified HOPG/Co(I)Tmtppa electrode. At potentials positive from 0.25 V oxidation of Co(I)Tmtppa takes place, as indicated by increase of peak at 656 nm corresponding to Co(II)Tmtppa coupled with simultaneous decrease of peak at 480 nm, which belongs to Co(I)Tmtppa form. Opposite trend was found for potential negative from 0.25 V, where reverse reaction proceeds.

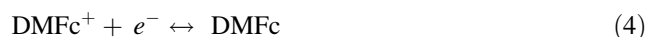
Application of cell for study of water insoluble compounds

Bulk versus thin layer ITIES arrangement

The cell utilization for water insoluble compounds (shown in Fig. 3a) was demonstrated both by conventional bulk and supported thin layer ITIES arrangement using reversible redox standard decamethylferrocene (DMFc) 1 mM solution in *o*-dichlorobenzene (*o*-DCB) with 0.1 mol dm⁻³ tetrabutylammonium perchlorate (TBAP) as a nonaqueous electrolyte and phase transfer agent, respectively.

The difference between thin layer ITIES utilized in this work and bulk ITIES arrangement [36, 37], is illustrated in Fig. 3. Unlike common spectroelectrochemical cells, the arrangement shown in Fig. 3a allows dual pass reflection spectroscopy, auxiliary/reference electrode geometry optimization and utilization of genuine (SCE) single reference electrode keeping advantage of low volume of sample solution and thus, requirement of low (nanogram) reactant quantities.

Figure 4a shows voltammetric curves corresponding to reversible redox reaction of DMFc described in Eq. (4) obtained in “classical” single phase (bulk) (curve 1) and thin layer ITIES arrangement (curve 2).



Peak separation ΔE_p decrease for thin layer ITIES compared to single phase bulk arrangement, while the dependence on potential sweep rate (v) weakened (Fig. 4b) indicating lower potential (iR) drop [38, 39]. Further decrease of ΔE_p can be expected with decreasing thickness of nonaqueous phase. Prevalingly asymmetric (anodic) peak potential shift towards negative potential may indicate faster reaction kinetics and lower

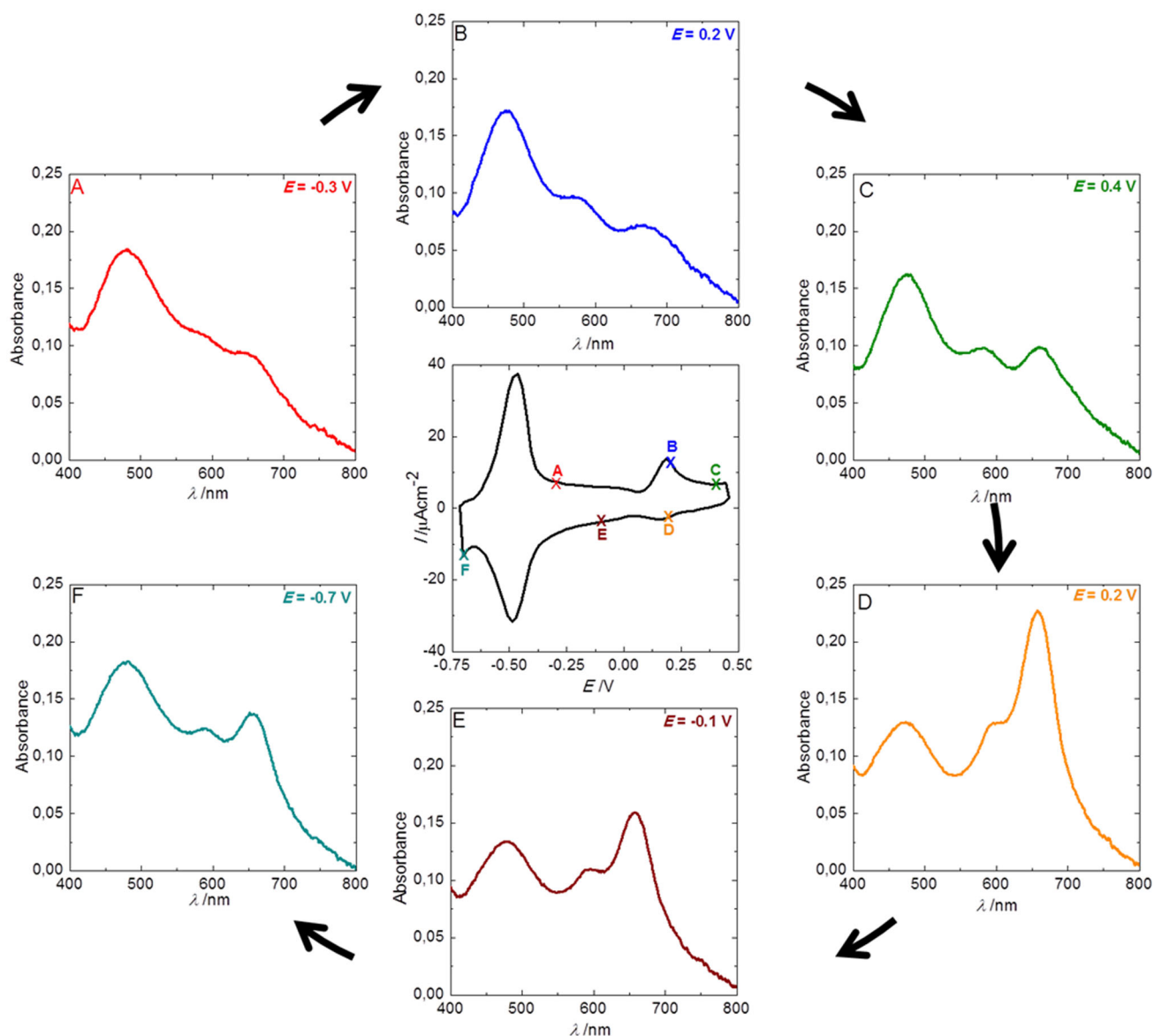


Fig. 2 Spectroelectrochemical measurement performed on HOPG/CoTmtppa electrode prepared by electrochemical deposition at -0.3 V vs. SCE from solution of CoTmtppa ($c = 4.8 \times 10^{-5}$ mol dm $^{-3}$) in 0.1 mol dm $^{-3}$ aqueous phosphate buffer (pH = 4.3) lasting 60 min. Figure in the middle illustrates voltammetric curve of

HOPG/CoTmtppa electrode with marked potentials -0.3 V (a); 0.2 V (b); 0.4 V (c); 0.2 V (d); -0.1 V (e); -0.7 V (f) where backscattering in-situ VIS spectra were recorded. Supporting electrolyte was aqueous solution 0.1 mol dm $^{-3}$ NaH $_2$ PO $_4$ (pH = 4.3), scan rate $\nu = 0.1$ V s $^{-1}$, potential E is referred to SCE

overpotential, respectively, presumably due to higher charge transfer efficiency in thin layer arrangement, which is confirmed also by higher current reversibility indicated by $I_{pa}/I_{pc} \sim 1.06$ while for bulk this value I_{pa}/I_{pc} increases to 1.39. The I_p vs. $\nu^{1/2}$ plot for DMFc/DMFc $^+$ reaction yielded linear course pointing to diffusion driven reactions in both cases (Fig. 4c).

Improvement of electrochemical parameters in thin layer ITIES arrangement (Fig. 4a, curve 2) compared to bulk electrochemistry (Fig. 4a, curve 1), namely the decreasing of ΔE_p , and improvement of voltammetric peaks symmetry in thin layer ITIES compared to single phase (bulk) as well as an agreement of DMFc redox potentials justify the correctness of simplified three

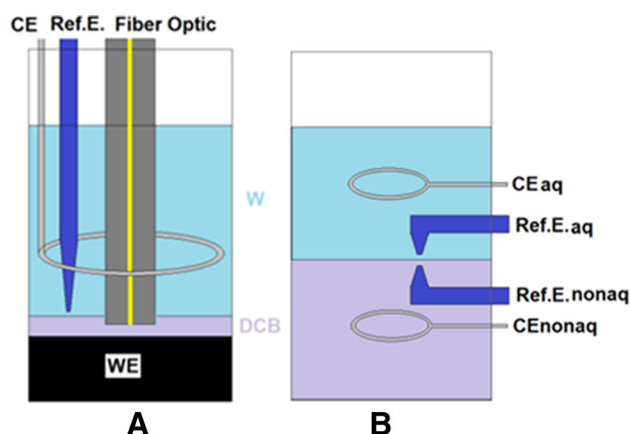


Fig. 3 Thin layer ITIES with 3–electrode system for spectroelectrochemistry of water insoluble compounds utilized in this work (a) and conventional (bulk) ITIES with 4–electrode system (b). Ref, CE and WE represent reference, counter and working electrode, while *aq* and *nonaq* are abbreviations for aqueous and nonaqueous phase, respectively. Note voluminous aqueous phase layered over a thin layer ITIES (a) allowing low-volume spectroelectrochemistry and convenient nonrestrictive arrangement of all electrodes fulfilling requirements of correct cell geometry with counter electrode separated from reaction phase

electrode arrangement with single reference electrode placed in aqueous phase [40, 41].

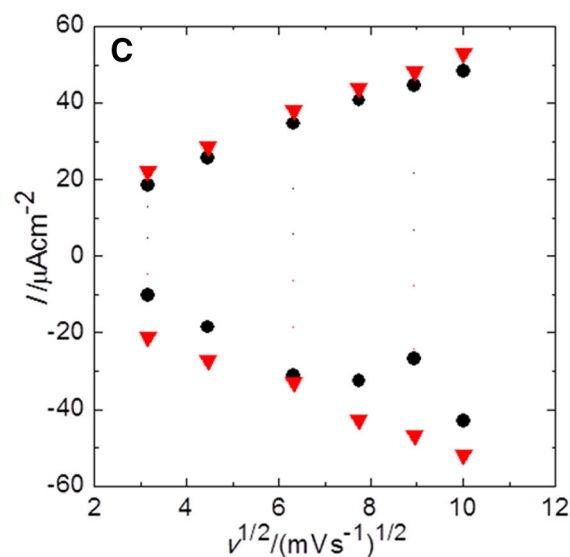
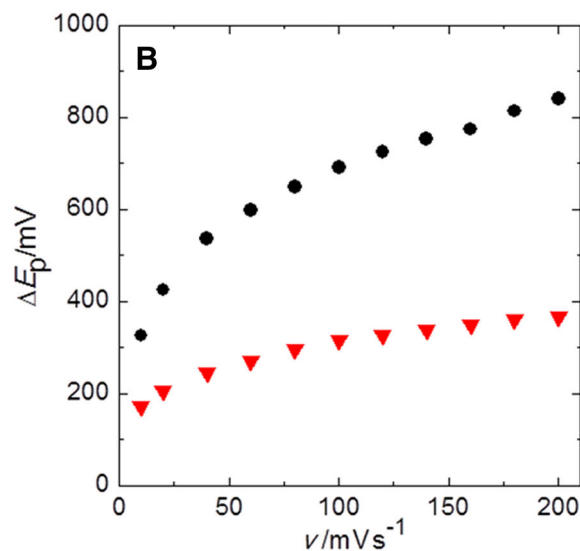
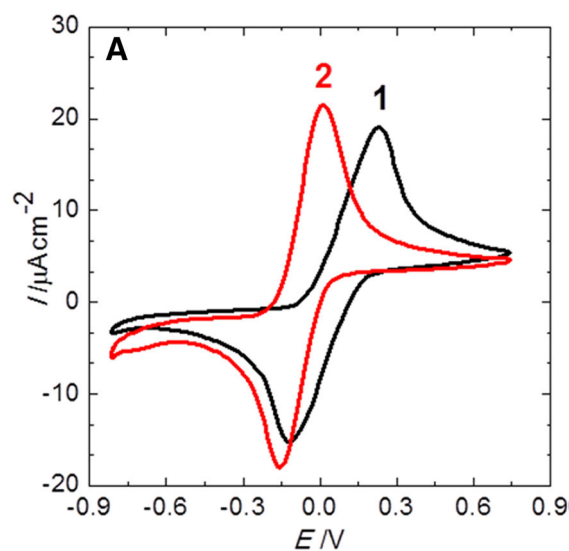
Spectroelectrochemistry in thin layer ITIES arrangement

The thin layer ITIES arrangement for spectroelectrochemical measurement of water insoluble compounds is demonstrated on tetraneopentoxypthalocyanine cobalt (CoTNPC) in *o*-DCB phase served as active redox system. The spectroelectrochemistry was performed in HOPG-supported thin layer ITIES utilizing water/*o*-DCB interface with 0.1 mol dm⁻³ TBAP as electrolyte/phase transfer agent in nonaqueous phase and 0.1 mol dm⁻³ LiClO₄ in aqueous phase. Reflection spectra were measured by a fiber-optic probe after reflection from working electrode (here basal plane of HOPG).

Figure 5a shows voltammetric curve corresponding to metal center Co(II)/Co(I) [42] redox reaction described by Eq. (5).



Fig. 4 Cyclic voltammetry of 1 mmol dm⁻³ DMFc in *o*-DCB with 0.1 mol dm⁻³ TBAP performed in single bulk phase (a, curve 1) and thin layer ITIES interfaced with aqueous 0.1 mol dm⁻³ LiClO₄ (A, curve 2) (scan rate 10 mV s⁻¹). Peak separation $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$ vs. ν (b) decrease for thin-layer arrangement (inverted triangle) compared to bulk (circle). The peak currents are linear functions of square root of scan rate as indicated by plot (c) for bulk (circle) and thin-layer arrangement (inverted triangle) (E vs. SCE in aqueous phase in case of ITIES, E vs. pseudoreference Ag electrode in case of bulk)



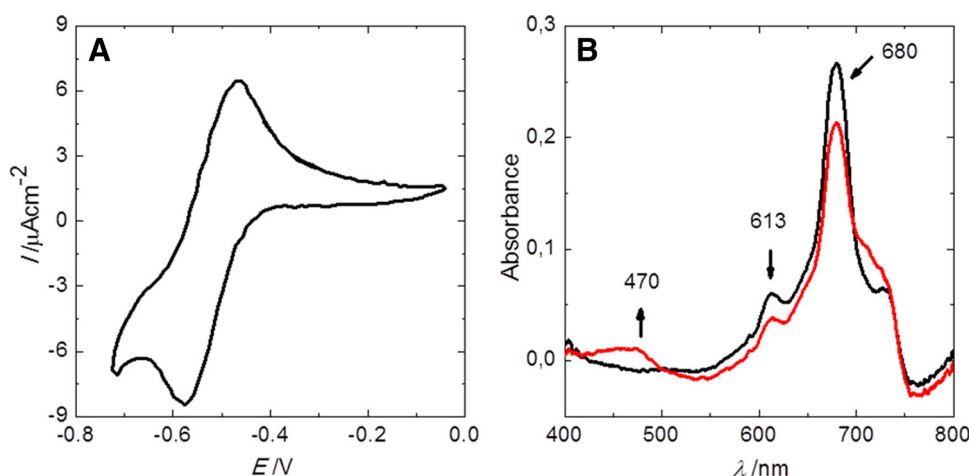


Fig. 5 Spectroelectrochemistry of CoTNPc solution in nonaqueous phase of HOPG-supported thin layer ITIES. **a** Cyclic voltammogram of $5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ CoTNPc in *o*-DCB/ 0.1 mol dm^{-3} TBAP, aqueous phase with 0.1 mol dm^{-3} LiClO₄. Scan rate 10 mV s^{-1} . **a** Time

Figure 5b shows the reflection spectra of CoTNPc in HOPG-supported thin layer ITIES before (black curve) and after (red curve) the potential -585 mV corresponding to Eq. (5) reaction was applied. The Co(II)TNPc(-2) exhibits characteristic peaks at 613 and 680 nm, while the band between 475 and 525 nm [42, 43] corresponds to Co(I)TNPc(-2) formed by electrochemical reduction. The spectrum confirming that reduction of the metal center Co(II)/Co(I) took place [42] has three isosbestic points at 500, 698, and 740 nm.

Conclusion

A novel low volume cell was developed for complex spectroelectrochemical and nanomorphological characterization of wide range of analytes. The cell design allows examination of both (aqueous and nonaqueous) solution and solid-state (in a form of deposited film) compounds. The planar working electrode is serving as a free replaceable cell bottom, which allows simple assembly/disassembly for performing various consecutive in-situ and ex-situ experiments, correlation of nanomorphology with its electrochemical and catalytic properties etc. Simultaneously, the basal plane of HOPG working electrode is serving as a mirror for fiber optic reflection spectroscopy, enabling in-situ spectroelectrochemical measurements.

As the thin layer ITIES arrangement utilizes mm^3 -volumes of nonaqueous electrolyte solution, it is particularly suitable for spectroelectrochemical examination of scarce water insoluble compounds, where just sub-microgram quantities are required. In combination with of interfaced voluminous (ca. 1.5 cm^3) auxiliary aqueous phase allows to utilize convenient three electrode arrangement with

development of reflection spectra of CoTNPc while potential -586 mV (vs. SCE) was applied. **b** Fiber-optic probe was positioned at ITIES, working electrode potential E vs. SCE, reference electrode in aqueous phase

optimal geometry and common reference electrode (SCE). The approach thus combines advantages of both thin layer and bulk arrangement.

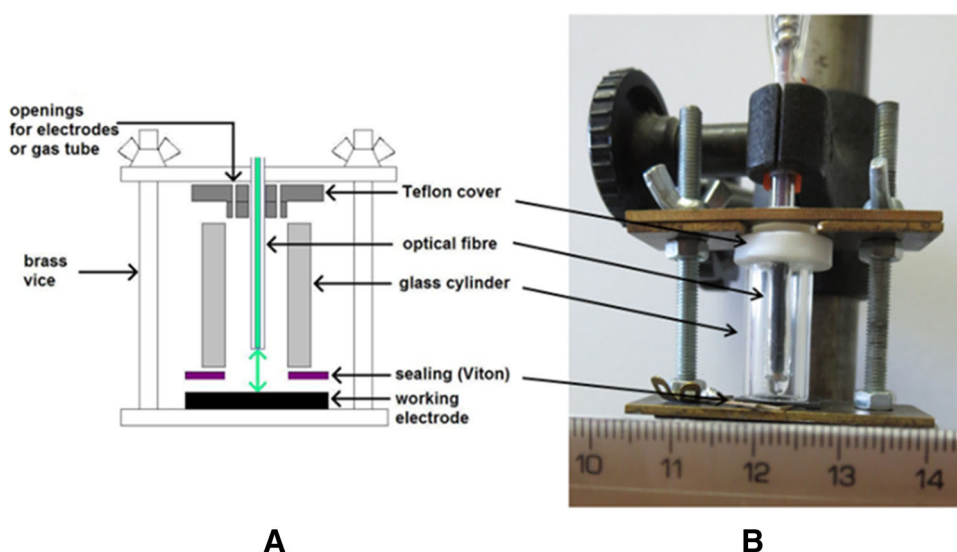
Experimental

The water soluble *N,N',N'',N'''*-tetramethyltetra-3,4-pyridinoporphyrazino cobalt (Co(II)Tmtppa) and the water insoluble 2,9,16,23-tetraneopentoxypthalocyanine cobalt (Co(II)TNPc) were synthesized and purified by the group of Prof. A. B. P. Lever from York University (Toronto, Canada) [34, 44]. Stock solutions of the Co(II)Tmtppa with a concentration of $1 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ were prepared in 0.1 mol dm^{-3} phosphate buffer (pH = 4.3) and stored in cold and dark conditions. The $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (p.a., Merck), H_3PO_4 , NaOH (all p.a., Lachema, Czech Republic) and LiClO₄ (p.a., Fluka) as electrolyte in aqueous phase were used as received. Purified water (Milli-Q system Gradient, Millipore, resistivity $18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$) was used for preparation of aqueous electrolytes. Nonaqueous solvent *o*-dichlorobenzene (*o*-DCB, 99 %, Aldrich) with tetrabutylammonium perchlorate (TBAP, electrochem. grade, Fluka) as an electrolyte and phase transfer agent [45] was used. Decamethylferrocene (DMFc, 98 %, Sigma-Aldrich) as a redox standard in nonaqueous phase were used as received.

Cell setup

The basal plane of HOPG ($12 \times 12 \times 2 \text{ mm}$, HOPG ZYB Grade, Structure Probe Inc., USA) forming cell bottom was utilized as a dual-function working electrode and support for phthalocyanine film (CoTmtppa), thin layer ITIES and

Fig. 6 The schematic diagram of the versatile spectroelectrochemical cell (a) and its image (b)



as a mirror for fiber optic reflection spectroelectrochemistry, respectively. The contact to working electrode is accomplished by the metallic clamp, which also holds the whole cell assembly. The working electrode is sealed by the elastic fluoropolymeric sheet (Viton, DuPont Performance Elastomers, USA) with the opening, which delimits the electrode active surface area. The large area flat (Viton) sealing of working electrode prevents the cell from leaking ambient atmosphere and electrolyte in a more efficient way than classical o-ring, which may damage the electrode surface of working electrode by imposing local excessive pressure. The thick-walled glass cylinder forming the cell body is capped on the top by Teflon cover with openings for gas tubing, counter and reference electrode and optical fiber for backscattering reflection spectroscopy. The schematic diagram and the cell image are shown in Fig. 6. The cell volume (ca. 1.5 cm^3) can be changed by changing dimensions of glass cylinder. This arrangement allows both the shape and material versatility of working electrode.

As no epoxy or any other adhesive resin is used, variety of organic solvents can be used for electrolyte solutions. The cell can be effortlessly dismantled and reassembled for the replacement of the working electrode, allowing successive application of combined in-situ and ex-situ examination techniques including AFM, SEM, XPS, IR etc. This arrangement, where the working electrode area is delimited by elastic sealing, excludes formation of three-phase junction [46] known to complicate processing of electrochemical parameters [39]. The cell can be used for solution electrochemistry of investigated compound in bulk and thin layer ITIES [47, 48] respectively, as well as in a form of solid-state thin layer film deposited on HOPG surface. The ITIES arrangement utilizes thin layer of nonaqueous phase spread on basal plane of HOPG

electrode with aqueous bulk phase floating on the top. This arrangement utilizes regular (SCE) reference electrode placed in bulk aqueous phase, while in mm^3 volume of nonaqueous phase ng quantities of compound can be investigated.

Instrumentation

Voltammetric measurements were performed using three-electrode potentiostat/galvanostat Wenking POS 2 (Bank Elektronik, Germany) controlled by the CPC-DA software (Bank Elektronik, Germany).

Saturated calomel electrode (SCE) was used as a reference electrode in aqueous phase and silver wire was used as a quasi-reference electrode in nonaqueous phase system. Platinum wire and basal plane of HOPG served as an auxiliary and the working electrode, respectively. The HOPG electrode was cleaned using adhesive tape Scotch by removing layers of the surface. The supporting electrolyte was 0.1 mol dm^{-3} phosphate buffer ($\text{pH} = 4.3$) for aqueous, 0.1 mol dm^{-3} TBAP in nonaqueous phase, and 0.1 mol dm^{-3} LiClO_4 in aqueous phase for water insoluble phthalocyanine. The reflection spectra were measured by fiber optic spectrometer SD 1000 (Ocean Optics, New Zealand) equipped with optical fiber (Ocean Optics, No.: FCR-74V400-2-ME910103, USA). The halogen lamp Fiber-Lite PL-800 (Dolan-Jenner, USA) was used as the light source. All experiments were performed at room temperature in the solution 10 min deoxygenated by argon 6.0 (99.999 % purity, Messer, Germany).

The nanomorphology of working electrode was examined by atomic force microscopy (AFM) Multimode Nanoscope IIIa (Bruker, USA) in tapping mode (silicon tip OTESPA, 42 N m^{-1} , 300 kHz, Bruker, USA). The

thickness of the deposited film on HOPG was determined by AFM nanoshaving [49] and subsequent profile measurement on the shaved edge. The AFM topography was analyzed by commercial Nanoscope III Software version 5.12r5 (Bruker, USA) and surface roughness parameters were determined by Gwyddion software version 2.41 (Czech Metrology Institute, Brno, Czech Republic).

Acknowledgments This work was supported by the Specific University Research (SVV260317) of Charles University in Prague.

References

- Rao DVGLN, Aranda FJ, Roach JF, Remy DE (1991) *Appl Phys Lett* 58:1241
- Norwood RA, Sounik JR (1992) *Appl Phys Lett* 60:295
- Josefsen LB, Boyle RW (2012) *Theranostics* 2:916
- Zhou R, Josse F, Göpel W, Öztürk ZZ, Bekaroğlu Ö (1996) *Appl Organomet Chem* 10:557
- Kumar A, Brunet J, Varenne C, Ndiaye A, Pauly A, Penza M, Alvisi M (2015) *Sens Actuators B Chem* 210:398
- Costas M (2011) *Coord Chem Rev* 255:2912
- Duro JA, De la Torre G, Barberá J, Serrano JL, Torres T (1996) *Chem Mater* 8:1061
- Mustroph H, Stollenwerk M, Bressau V (2006) *Angew Chem Int Edit* 45:2016
- Burtone L, Fischer J, Leo K, Riede M (2013) *Phys Rev B* 87:045432
- Walter MG, Rudine AB, Wamser CC (2010) *J Porphyrins Phthalocyanines* 14:759
- Gregory P (2000) *J Porphyrins Phthalocyanines* 4:432
- Sorokin AB (2013) *Chem Rev* 113:8152
- Obirai J, Nyokong T (2005) *Electrochim Acta* 50:5427
- Zagal JH, Griveau S, Silva JF, Nyokong T, Bedioui F (2010) *Coord Chem Rev* 254:2755
- Matemadombo F, Maree MD, Ozoemena KI, Westbroek P, Nyokong T (2005) *J Porphyrins Phthalocyanines* 9:484
- Quinton D, Antunes E, Griveau S, Nyokong T, Bedioui F (2011) *Inorg Chem Commun* 14:330
- Kobayashi N, Lam H, Nevin WA, Janda P, Leznoff CC, Koyama T, Monden A, Shirai H (1994) *J Am Chem Soc* 116:879
- Akinbulu A, Nyokong T (2010) *Polyhedron* 29:1257
- Osmanbaş ÖA, Koca A, Özçeşmeci İ, Okur Aİ, Gül A (2008) *Electrochim Acta* 53:4969
- Shao J, Commodore J, Han B, Prunte C, Hansen CA (2009) *J Porphyrins Phthalocyanines* 13:876
- Koca A, Kalkan A, Bayır ZA (2011) *Electrochim Acta* 56:5513
- Smolenyak PE, Peterson RA, Dunphy DR, Mendes S, Nebesny KW, Ó'Brien DF, Saavedra SS, Armstrong NR (1999) *J Porphyrins Phthalocyanines* 3:620
- Torrent-Burgués J, Cea P, Giner I, Guaus E (2014) *Thin Solid Films* 556:485
- Coates M, Antunes E, Nyokong T (2010) *J Porphyrins Phthalocyanines* 14:568
- Kurt Ö, Koca A, Gül A, Koçak MB (2015) *Synth Met* 206:72
- Koç İ, Çamur M, Bulut M, Özkaya AR (2010) *Can J Chem* 88:375
- Orman EB, Koca A, Özkaya AR, Gürol İ, Durmuş M, Ahsen V (2014) *J Electrochem Soc* 161:H422
- Kim S, Xu X, Bae IT, Wang Z, Scherson DA (1990) *Anal Chem* 62:2647
- Lezna RO, Juanto S, Zagal JH (1998) *J Electroanal Chem* 452:221
- Thamae M, Nyokong T (1999) *J Electroanal Chem* 470:126
- Peeters K, De Wael K, Vincze L, Adriaens A (2005) *Anal Chem* 77:5512
- McCreery RL (1999) Electrochemical properties of carbon surfaces. In: Wieckowski A (ed), *Interfacial electrochemistry. Theory, experiment, and applications*. Marcel Dekker, New York, p 631
- Thamae MA, Nyokong T (2001) *J Porphyrins Phthalocyanines* 5:839
- Tse YH, Janda P, Lever ABP (1994) *Anal Chem* 66:384
- Chen J, Zhang J, Tse YH, Janda P, Christendat D, Lever ABP (2006) *J Porphyrins Phthalocyanines* 10:1238
- Zhang C, Park SM (1988) *Anal Chem* 60:1639
- Domingos SR, Luyten H, van Anrooij F, Sanders HJ, Bakker BH, Buma WJ, Hartl F, Woutersen S (2013) *Rev Sci Instrum* 84:033103
- Tsierkezos NG (2007) *J Solution Chem* 36:289
- Myland JC, Oldham KB (2002) *J Electroanal Chem* 530:1
- Shi C, Anson FC (1998) *Anal Chem* 70:3114
- Shi C, Anson FC (1999) *J Phys Chem B* 103:6283
- Nevin WA, Hempstead MR, Liu W, Leznoff CC, Lever ABP (1987) *Inorg Chem* 26:570
- Bernstein PA, Lever ABP (1992) *Inorg Chim Acta* 198–200:543
- Leznoff CC, Marcuccio SM, Greenberg S, Lever ABP, Tomer KB (1985) *Can J Chem* 63:623
- Naik SD, Doraiswamy LK (1998) *AIChE J* 44:612
- Scholz F, Komorsky-Lovrić Š, Lovrić M (2000) *Electrochim Commun* 2:112
- Samec Z, Mareček V, Homolka D (1984) *Faraday Discuss Chem Soc* 77:197
- Reymond F, Fermín D, Lee HJ, Girault HH (2000) *Electrochim Acta* 45:2647
- Kolivoška V, Gál M, Hromadová M, Lachmanová Š, Tarábková H, Janda P, Pospíšil L, Turoňová AM (2012) *Colloids Surf B Biointerfaces* 94:213