

# Razvoj i optimizacija novog potenciometrijskog senzora za određivanje prometazina

---

**Budeš, Ana-Marija**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:942449>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2023-10-01**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Diplomski sveučilišni studij Kemija; istraživački smjer

Ana-Marija Budeš

**Razvoj i optimizacija novog potenciometrijskog  
senzora za određivanje prometazina**

Diplomski rad

Osijek, 2022.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Diplomski sveučilišni studij Kemija; istraživački smjer

Ana-Marija Budeš

**Razvoj i optimizacija novog potenciometrijskog  
senzora za određivanje prometazina**

Diplomski rad

Mentorica: Izv. prof. dr. sc. Mirela Samardžić

Neposredna voditeljica: Dr. sc. Mateja Budetić

Osijek, 2022.

---

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Diplomski sveučilišni studij Kemija; istraživački smjer

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Kemija

## RAZVOJ I OPTIMIZACIJA NOVOG POTENCIOMETRIJSKOG SENZORA ZA ODREĐIVANJE PROMETAZINA

Ana-Marija Budeš

**Rad je izrađen na:** Odjelu za kemiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

**Mentor:** Izv. prof. dr. sc. Mirela Samardžić

**Neposredni voditelj:** Dr. sc. Mateja Budetić

### Sažetak

Prometazin hidroklorid (PM) je derivat fenotiazina koji se koristi kao antagonist H<sub>1</sub>-receptora, lokalni anestetik, antiemetik, sedativ, antialergijsko sredstvo, antikoronavirusno sredstvo i geroprotektor. Može uzrokovati štetne učinke kod ljudi, poput endokrinih, srčanih i reproduktivnih promjena, stoga je iznimno važno razviti nove metode za njegovo određivanje u komercijalnim formulacijama i biološkim uzorcima. Cilj ovog rada je razvoj i optimizacija potenciometrijskog senzora za određivanje PM temeljenog na ionskom paru kationa prometazina i tetrafenilboratnog aniona (PM-TPB) kao elektroaktivnom materijalu, koji je ugrađen u tekuću membranu elektrode. Kako bi se dobila optimalna membrana za potenciometrijski senzor, ispitan je utjecaj vrste plastifikatora i udjela elektroaktivnog materijala na karakteristike PM-TPB senzora. Utvrđeno je da optimalna membrana PM-TPB senzora u svom sastavu ima 66% *o*-nitrofenil oktil etera kao plastifikatora, 33% polivinil klorida i 1% elektroaktivnog materijala. Senzor je pokazao nagib od 56,2 mV po dekadi aktiviteta, široko mjerno područje od  $6,17 \cdot 10^{-7}$  do  $5,0 \cdot 10^{-3}$  mol/dm<sup>3</sup> i nisku granicu detekcije od  $1,25 \cdot 10^{-7}$  mol/dm<sup>3</sup>.

**Diplomski rad obuhvaća:** 35 stranice, 10 slika, 3 tablice, 28 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** direktna potenciometrija / prometazin hidroklorid / potenciometrijski senzor

**Rad prihvaćen:**

**Stručno povjerenstvo za ocjenu:**

1. doc. dr. sc. Marija Jozanović, predsjednica povjerenstva
2. izv. prof. dr. sc. Mirela Samardžić, mentorica i članica
3. izv. prof. dr. sc. Elvira Kovač-Andrić, članica
4. doc. dr. sc. Martina Šrajer Gajdošik, zamjena člana

**Rad je pohranjen:** u Knjižnici Odjela za kemiju, Franje Kuhača 20, Osijek

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek  
Department of Chemistry  
Graduate University Study of Chemistry; Research study  
Scientific Area: Natural Sciences  
Field: Chemistry

**DEVELOPMENT AND OPTIMIZATION OF THE NEW POTENTIOMETRIC SENSOR FOR  
DETERMINATION OF PROMETHAZINE**

**Ana-Marija Budeš**

**Thesis completed at:** Department of Chemistry, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek  
**Supervisor:** Mirela Samardžić, PhD, associate prof.  
**Assistant supervisor:** Mateja Budetić, PhD

**Abstract**

Promethazine hydrochloride (PM) is a phenothiazine derivative used as an H<sub>1</sub>-receptor antagonist, local anesthetic, antiemetic, sedative, antiallergic agent, anticoronavirus agent and geroprotector. It can cause adverse effects in humans, such as endocrine, cardiac and reproductive changes, so it is extremely important to develop new methods for its determination in commercial formulations and biological samples. The aim of this work is the development and optimization of a potentiometric sensor for the determination of PM based on the ion pair of promethazine cation and tetraphenylborate anion (PM-TPB) as an electroactive material, which is embedded in the liquid membrane of the electrode. In order to obtain an optimal membrane for the potentiometric sensor, the influence of the type of plasticizer and the percentage of electroactive material on the characteristics of the PM-TPB sensor was examined. It was determined that the optimal PM-TPB sensor membrane has 66% of *o*-nitrophenyl octyl ether as a plasticizer, 33% of polyvinyl chloride and 1% of electroactive material. The sensor showed a slope of 56.2 mV per decade of activity, a wide measurement range from  $6.17 \cdot 10^{-7}$  to  $5.0 \cdot 10^{-3}$  mol/dm<sup>3</sup> and a low detection limit of  $1.25 \cdot 10^{-7}$  mol/dm<sup>3</sup>.

**Thesis includes:** 35 pages, 10 figures, 3 tables, 28 references

**Original in:** Croatian language

**Keywords:** direct potentiometry / promethazine hydrochloride / potentiometric sensor

**Thesis accepted:**

**Reviewers:**

1. Marija Jozanović, PhD, assist. prof., chair

2. Mirela Samardžić, PhD, assoc. prof., supervisor and member
3. Elvira Kovač-Andrić, PhD, assoc. prof., member
4. Martina Šrajer Gajdošik, PhD, assist. prof., alternate member

**Thesis deposited:** at the Library of Department of Chemistry, Franje Kuhača 20, 31 000 Osijek

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. PROMETAZIN HIDROKLORID .....	2
2.2. POTENCIOMETRIJA .....	3
2.2.1. DIREKTNA POTENCIOMETRIJA.....	5
2.2.2. POTENCIOMETRIJSKA TITRACIJA.....	5
2.2.3. REFERENTNE ELEKTRODE.....	7
2.2.4. INDIKATORSKE ELEKTRODE .....	12
2.2.5. ION-SELEKTIVNE ELEKTRODE .....	15
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	23
3.1. REAGENSI I MATERIJALI.....	23
3.2. PRIPREMA IZVORNE OTOPINE PROMETAZIN HIDROKLORIDA.....	24
3.3. PRIPREMA IONSKOG PARA PROMETAZINA I TERA FENILBORATA .....	24
3.4. PRIPREMA TEKUĆE MEMBRANE.....	24
3.5. APARATURA .....	26
3.6. POSTUPAK MJERENJA.....	27
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	28
4.1. OPTIMIZACIJA MEMBRANE .....	28
4.1.1. ODABIR VRSTE PLASTIFIKATORA .....	28
4.1.2. OPTIMIZACIJA UDJELA SENZORSKOG MATERIJALA.....	30
5. ZAKLJUČAK.....	33
6. LITERATURA .....	34



# 1. UVOD

Prometazin hidroklorid (PM) je derivat fenotiazina koji se koristi kao antagonist  $H_1$ -receptora, lokalni anestetik, antiemetik, sedativ, antialergijsko sredstvo, antikoronavirusno sredstvo i geroprotektor [1]. Međutim, PM može uzrokovati štetne učinke kod ljudi, kao što su endokrine, srčane i reproduktivne promjene. Stoga je njegovo određivanje u komercijalnim pripravcima i biološkim uzorcima iznimno važno [2].

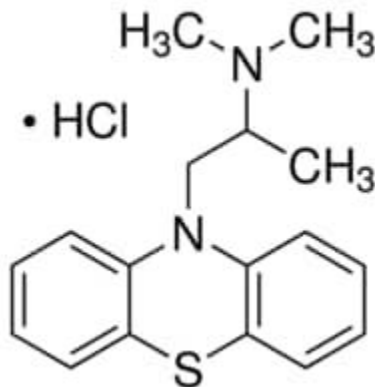
Za kvantitativno određivanje PM, u čistoj otopini i/ili u farmaceutskim pripravcima, najviše se koriste tekućinska kromatografija visoke učinkovitosti (HPLC), spektrofotometrija, kapilarna elektroforeza, kemiluminiscencija i voltamerija. Unatoč dobroj osjetljivosti, većina navedenih metoda, složena je i dugotrajna, te zahtijeva skupu instrumentaciju i određeno vrijeme pripreme uzoraka. Stoga se razvijaju elektroanalitičke metode za određivanje PM, od kojih je najjednostavnija potenciometrijska metoda analize. Premda se potenciometrija koristi dugi niz godina, napredak na polju ion-selektivnih elektroda (ISE) čini je vrlo dragocjenom tehnikom koja se može koristiti u suvremenom laboratoriju.

Cilj ovog rada je razvoj i optimizacija potenciometrijskog senzora za određivanje PM. U svrhu optimizacije membrane senzora, ispitan je utjecaj vrste plastifikatora i udjela elektroaktivnog materijala u sastavu membrane senzora na njegove odzivne karakteristike.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. PROMETAZIN HIDROKLORID

PM (Slika 1.) je bijeli do blijedožućkasti kristalni prah gorkog okusa i bez mirisa. Molekulska masa PM iznosi 320,88 g/mol. Dobro je topljiv u vodi (100 mg/cm<sup>3</sup>). Polako oksidira na zraku i poprima plavu boju tijekom duljeg izlaganja. Budući da je osjetljiv je na svjetlost, potrebno ga je čuvati na tamnom mjestu. Tali se na 228,5 °C. IUPAC naziv PM je N,N-dimetil-1-fenotiazin-10-il propan-2-amin hidroklorid, a molekulska formula mu je C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>ClN<sub>2</sub>S [1].



SLIKA 1. Prikaz strukture PM [3].

PM je derivat fenotiazina koji je antagonist H<sub>1</sub> receptora, odnosno selektivno se veže, ali ne aktivira histaminske H<sub>1</sub> receptore, čime blokira djelovanje endogenog histamina. Uz antihistaminsko djelovanje, pruža klinički korisne sedativne i antiemetičke učinke. PM se dobro apsorbira iz gastrointestinalnog trakta. Klinički učinci vidljivi su unutar 20 minuta nakon oralne primjene i općenito traju četiri do šest sati, iako mogu trajati i do 12 sati. PM se metabolizira u jetri do raznih spojeva; sulfoksidi PM i N-demetilprometazina su dominantni metaboliti koji se pojavljuju u mokraći [4].

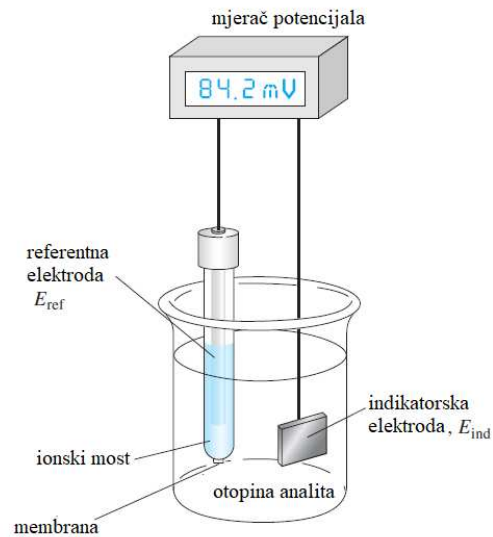
## 2.2. POTENCIOMETRIJA

Potenciometrijske metode jedne su od najčešće korištenih analitičkih metoda u kemijskoj analizi. Princip potenciometrijskih mjerenja zasniva se na mjerenju potencijala ćelije bez izvora električne struje. Unutar elektrokemijske ćelije ne teče nikakva struja, ili ako teče nekakva količina struje, ona je zanemariva i ne utječe na ravnotežno stanje elektroda. Potenciometrijske metode koriste se za određivanje završne točke titracije ili direktno mjerenje potencijala ISE čime se određuju koncentracije iona. ISE omogućavaju kvantitativno određivanje brojnih važnih aniona i kationa na nedestruktivan i brz način. Potenciometrijska mjerenja danas se široko primjenjuju u medicini, industriji i zaštiti okoliša. Određivanje plinova u krvi, mjerenje pH prehrambenih proizvoda, određivanje teških metala u uzorcima iz okoliša samo su neke od primjena potenciometrijskih metoda [5].

Oprema za potenciometrijska mjerenja je jednostavna i cjenovno prihvatljiva. Sustav za potenciometrijska mjerenja (Slika 2.) uključuje referentnu elektrodu, indikatorsku elektrodu i uređaj za mjerenje potencijala. Za mjerenje potencijala na elektrodama ćelije koriste se potenciometri i voltmetri s gotovo nultom ulaznom strujom i velikom impedancijom, tzv. pH-metri i pIon-metri. [1]. Obje elektrode, indikatorska i referentna, predstavljaju polućelije. Uranjanjem obje polućelije, odnosno obje elektrode u otopinu nastaje razlika potencijala. Nastali potencijal zapravo je zbroj nekoliko zasebnih potencijala što ovisi o konstrukciji same polućelije. Određivanje potencijala ćelije, potenciometrijskim metodama, temelji se na dodirnoj granici između faza, npr. između ispitivane otopine i membrane elektrode, pri čemu dolazi do uspostave razlike potencijala [6].

Referentna elektroda je polućelija čiji se potencijal,  $E_{ref}$ , ne mijenja tijekom provedbe mjerenja, što bi značilo da aktivitet bilo koje ionske vrste u otopini neće utjecati na stalan potencijal referentne elektrode. Stoga, referentna elektroda služi kao standard u elektroanalitičkim mjerenjima. Standardna vodikova elektroda (SVE) univerzalna je referentna elektroda, no češće se koriste sekundarne referentne elektrode (npr. srebro/srebrov klorid elektroda) čiji su potencijali određeni u odnosu na univerzalnu referentnu elektrodu [6].

Indikatorska elektroda je polućelija čiji potencijal,  $E_{ind}$ , ovisi o promjenama aktiviteta iona u otopini analita. Idealna indikatorska, u potpunosti selektivna elektroda ne postoji, međutim dostupne su brojne komercijalne elektrode. Indikatorske elektrode dijele se na kovinske i na selektivne elektrode, koje se nazivaju i membranske [6].



SLIKA 2. Sustav za potenciometriju [5].

Potenciometrijska titracija i direktna potenciometrija metode su kojima se izvode potenciometrijska mjerenja.

### 2.2.1. DIREKTNA POTENCIOMETRIJA

Direktna potenciometrijska mjerenja prikladna su metoda za brzo određivanje aktiviteta brojnih ionskih vrsta. Usporedba potencijala razvijenog u elektrokemijskoj ćeliji koja sadrži indikatorsku elektrodu u ispitivanoj otopini i u otopini poznate koncentracije analita, princip je ove direktne metode. Aktivitet ionske vrste, za koju je indikatorska elektroda selektivna, utječe na potencijal indikatorske elektrode. Velika prednost ove metode je nedestruktivnost, tj. analit je očuvan te se može upotrebljavati u daljnjim mjerenjima čime se postiže reproducibilnost mjerenja [5, 6].

Izvedba ove metode zasniva se na pripremi serija otopina različitih koncentracija. Nakon što su izmjereni potencijali pripremljenih otopina poznate koncentracije analita i prikazana ovisnost potencijala o aktivitetu analita kalibracijskim pravcem, u istim uvjetima izmjeri se potencijal otopine analita nepoznate koncentracije. Pomoću jednadžbe kalibracijskog pravca moguće je odrediti aktivitet ili koncentraciju ispitivane otopine [7]. Ova metoda ne nalazi svoju široku primjenu usprkos svojoj brzini, jednostavnosti i prilagodljivosti jer na potencijal elektrode utječu interferirajući ioni što otežava točno određivanje aktiviteta ispitivane vrste [6].

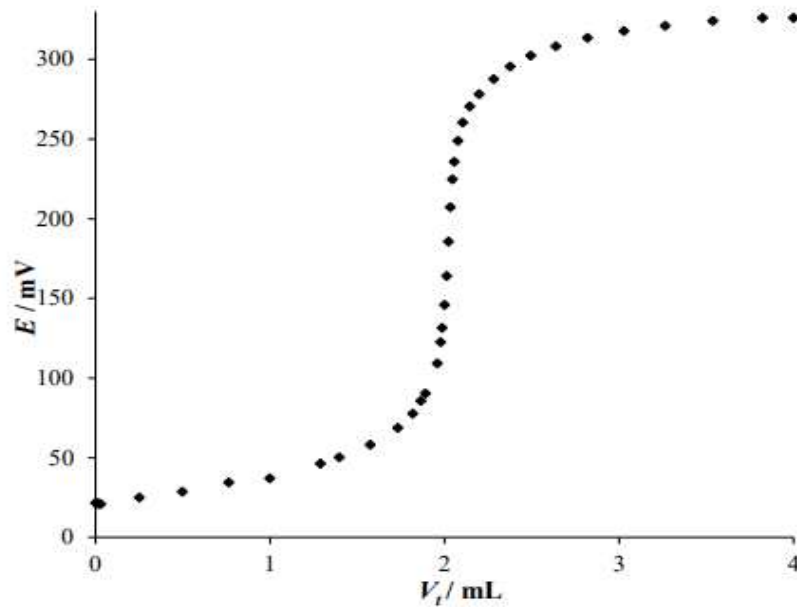
### 2.2.2. POTENCIOMETRIJSKA TITRACIJA

Potenciometrijska titracija temelji se na razlici redukcijskog potencijala između elektroda elektrokemijske ćelije koja nastaje dodatkom određenog volumena reagensa (titransa). Koncentracija ispitivane otopine mjeri se s obzirom na promjenu potencijala u odnosu na volumen dodane standardne otopine, a završna točka titracije definirana je naglom promjenom potencijala [8].

Određivanje završne točke titracije može biti vizualno ili instrumentalno. Vizualno određivanje završne točke titracije temelji se na korištenju kemijskih indikatora i vizualnom osjetilu analitičara, te stoga ovaj način nije precizan, subjektivan je i također nije primjenjiv u obojenim i mutnim otopinama. U odnosu na vizualno, instrumentalno određivanje je pouzdanije

jer je u osnovi elektroda indikator. Određivanje završne točke na ovaj način primjenjivo je u taložnim, redoks i drugim vrstama titracija [9].

Kao što se može vidjeti na slici 3., sigmoidalni oblik karakterističan je za titracijsku krivulju. Ekvivalentna točka potenciometrijske titracije je dio titracijske krivulje na kojem se uočava nagli skok potencijala. Preciznije određivanje ekvivalentne točke moguće je iz diferencijalne krivulje  $\Delta E/\Delta V$ , pri čemu je ekvivalentna točka titracije određena maksimumom diferencijalne krivulje [9].



SLIKA 3. Titracijska krivulja dobivena potenciometrijskom titracijom [10].

### 2.2.3. REFERENTNE ELEKTRODE

Potencijal indikatorske elektrode izmjerjen je na osnovu potencijala referentne elektrode koja je sastavni dio elektrokemijske ćelije. Stabilan potencijal referentne elektrode postignut je korištenjem prikladnih redoks sustava prilikom izrade elektrode, u kojima je lako regulirati aktivite oba redoks oblika. Među glavnim zahtjevima referentnih elektroda je potreba za poznatim i konstantnim potencijalom, što znači da elektroda zadržava stalni potencijal neovisno o otopini u koju je uronjena, temperaturi i drugim faktorima. Osim toga, referentne elektrode trebaju pokazivati stalan potencijal u prisutnosti male struje, te biti robusne i jednostavne za izvođenje. Izuzetna stabilnost sustava preduvjet je za brzu i laku ponovnu uspostavu poremećene redoks ravnoteže [9].

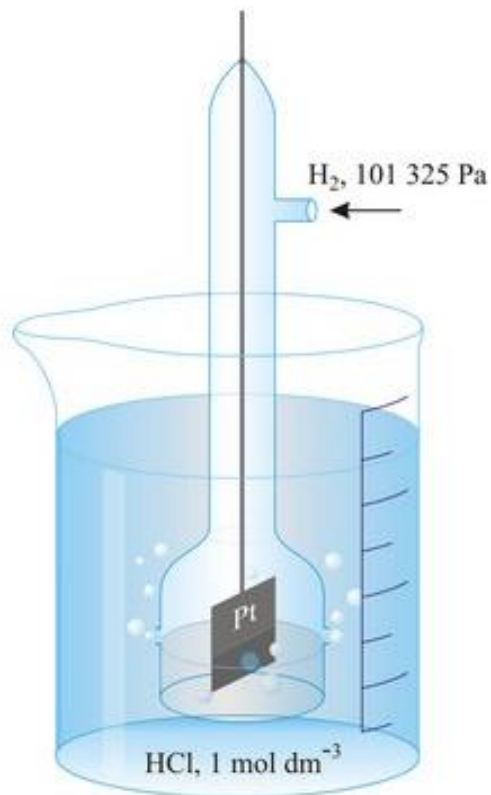
Zbog opasnosti od izazivanja požara prilikom nespretnog rukovanja univerzalnom referentnom elektrodom, često ju se zamjenjuje sekundarnim referentnim elektrodama. Srebro/srebrov klorid elektroda i kalomelova elektroda su sekundarne referentne elektrode, a njihovi se potencijali određuju s obzirom na potencijal univerzalne referentne elektrode [5].

#### 2.2.3.1. STANDARDNA VODIKOVA ELEKTRODA

Dogovorom postignutim na međunarodnoj konvenciji, Standardna vodikova elektroda (SVE) je izabrana kao univerzalna referentna elektroda (Slika 4). Određeno je, da je potencijal univerzalne elektrode jednak nula volta [1]. Potencijali sekundarnih referentnih elektroda izračunati su prema dogovorenom potencijalu SVE. Ova univerzalna referentna elektroda uključuje platinsku elektrodu koja je uronjena u otopinu konstante koncentracije vodikovih iona u koju se uvodi elementarni vodik, čime se održava zasićenost otopine vodikom. Katalitičko djelovanje platinske elektrode osigurava elektrokemijsku reverzibilnost sustava. SVE prikazana na Slici 4. može se shematski prikazati jednadžbom (1):



Polureakcija odgovorna za potencijal koji se razvija na SVE prikazana je jednačbom (2), iz koje je vidljivo da je potencijal ovisan o točno poznatoj i konstantnoj koncentraciji vodikovih iona. Pri konstantnoj koncentraciji vodikovih iona, koncentracija vodika i potencijal elektrode također su konstantni. Svaki potencijal razvijen u galvanskom članku koji se sastoji od SVE i neke druge elektrode u potpunosti se pripisuje drugoj elektrodi [5].



SLIKA 4. Shematski prikaz standardne vodikove elektrode [11].



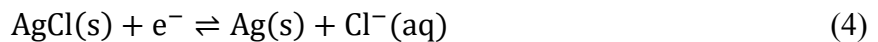
### 2.2.3.2. SREBRO/SREBROV Klorid ELEKTRODA

Najčešće korištena referentna elektroda je srebro/srebrov klorid elektroda (Slika 5.), upravo zbog jednostavne i jeftine izvedbe te što je stabilna i nije otrovna. Izvedba ove elektrode uključuje uranjanje srebrne žice, na čijoj je površini formiran tanki sloj teško topljiva srebrova klorida, u otopinu kalijeva klorida poznate koncentracije zasićenu srebrovim kloridom. Temperaturni koeficijent srebro/srebrov klorid elektrode je manji u odnosu na kalomelovu elektrodu i upravo zbog toga se ona češće koristi u nevodenim otopinama kao referentna elektroda. Shematski prikaz elektrode srebro/srebrov klorid prikazan je jednadžbom (3):

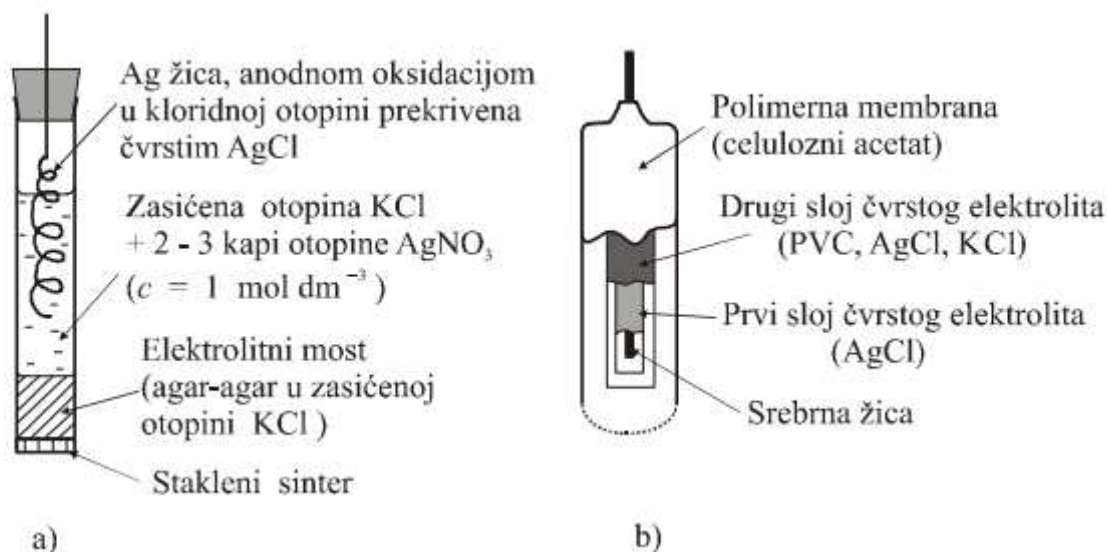


gdje je  $c$  možinska koncentracija kalijeva klorida izražena u mol/dm<sup>3</sup>.

Koncentracija iona srebra, a i potencijal same elektrode, ovisni su o koncentraciji kloridnih iona u otopini (jednadžba (4)). Dakle, kada je koncentracija kloridnih iona u otopini konstantna, konstantni su potencijal referentne elektrode i koncentracija iona srebra. Zasićena ili otopina kalijeva klorida koncentracije 3,5 mol/dm<sup>3</sup> najčešće su korištene kao unutarnja elektrolitna otopina elektrode. Standardni redukcijski potencijal ( $E^\circ$ ) zasićene srebro/srebrov klorid elektrode iznosi 0,199 V u odnosu na SVE [5].



Na slici 5.a prikazana je zasićena srebro/srebrov klorid elektroda, a na slici 5.b prikazana je nešto složenija izvedba elektrode s čvrstim elektrolitom vrlo male veličine. Elektrode s čvrstim elektrolitom koriste se kao sastavni dijelovi kombiniranih mikroelektroda u biomedicinskim analizama. Izrađuju se na način da se na srebrnu žicu nanese sloj čvrstog srebrova klorida, a na taj sloj nanosi se drugi sloj poli(vinil-klorida) s umiješanim čvrstim srebrovim i kalijevim kloridom. Srebrna žica na koju su navučena dva sloja oklopljena je polimernom membranom celuloznog acetata [6].



SLIKA 5. a) zasićena srebro/srebrov klorid elektroda; b) elektroda s čvrstim elektrolitom [6].

### 2.2.3.3. KALOMELOVA ELEKTRODA

Uz srebro/srebrov klorid elektrodu, druga najčešće korištena sekundarna referentna elektroda je kalomelova elektroda (Slika 6.). Elektroda se sastoji od dvije cijevi, unutarnje i vanjske. Kako bi se priredila ova elektroda, potrebno je na tanak sloj žive, u unutarnjoj cijevi elektrode, dodati sloj paste priređene miješanjem otopine živina(I) klorida (trivijalni naziv kalomel) i otopine kalijeva klorida poznate koncentracije. Tako pripremljena pasta ima mali otvor na dnu unutarnje cijevi preko kojeg je u doticaju s otopinom kalijeva klorida koja se nalazi u vanjskoj cijevi. U unutarnju cijev elektrode uronjena je platinska žica. Kontakt između elektrode i otopine analita postiže se putem pločice od sintera, porozne vlaknaste brtve ili poroznog stakla. Shematski prikaz kalomelove elektrode dan je jednadžbom (5) [2]:



gdje  $c$  označava množinsku koncentraciju kalijeva klorida u mol/dm<sup>3</sup>.

Koncentracija  $\text{Hg}_2^{2+}$  iona i potencijal kalomelove elektrode ovise o koncentraciji kloridnih iona u otopini što se može i vidjeti iz jednadžbe (6). Konstantna koncentracija kloridnih iona upućuje na stabilan potencijal elektrode i konstantnu koncentraciju  $\text{Hg}_2^{2+}$  iona.  $E^\circ$  zasićene kalomelove elektrode iznosi 0,244 V u odnosu na SVE [5].



Najčešće korištena je zasićena kalomelova elektroda, pri čemu se pojam zasićena odnosi na zasićenu elektrolitnu otopinu kalijeva klorida. Može se koristiti elektrolitna otopina kalijeva klorida koja nije zasićena, međutim kod takvih nezasićenih kalomelovih elektroda potrebno je naznačiti točnu koncentraciju KCl-a (npr. 1 mol/dm<sup>3</sup> ili 0,1 mol/dm<sup>3</sup>). Relativno velik koeficijent promjene potencijala ovisno o temperaturi glavni je nedostatak ovih elektroda. Uzrok promjene potencijala je promjena topljivosti živina(I) klorida. Kod zasićene kalomelove elektrode uzrok promjene potencijala je promjena topljivosti kalijeva klorida. Temperaturni koeficijent zasićene kalomelove elektrode je najveći, u odnosu na sve vrste kalomelovih elektroda [6].



SLIKA 6. Zasićena kalomelova elektroda [12].

## 2.2.4. INDIKATORSKE ELEKTRODE

U potenciometrijskim mjerenjima osim referentne elektrode koristi se i indikatorska elektroda, čiji potencijal ovisi o aktivitetu iona analita. Klasifikacija indikatorskih elektroda temelji se na načinu nastajanja razlike potencijala na dodirnoj površini između elektrode i otopine, a ta razlika potencijala nastaje kao posljedica elektrokemijske reakcije na površini elektrode. Istovremeno dolazi do razdvajanja naboja na dodirnoj površini, pri čemu nastaje razlika potencijala između elektrode i otopine koja je s njom u kontaktu. Postoje dvije temeljne vrste indikatorskih elektroda: kovinske i selektivne (membranske) elektrode. Potencijal indikatorske elektrode je definiran Nernstovom jednadžbom (7) [5, 6]:

$$E = E^{\circ} + \frac{R \cdot T}{z \cdot F} \ln \frac{a_w}{a_m} \quad (7)$$

gdje je:  $E$  – elektrodni potencijal [V],  $E^{\circ}$  – standardni elektrodni potencijal [V],  $R$  – opća plinska konstanta, 8,314 [J/Kmol],  $T$  – termodinamička temperatura [K],  $z$  – naboj iona,  $F$  – Faradayeva konstanta, 96 500 C/mol,  $a_w$  – aktivitet iona analita u vodenoj otopini (w) [mol/dm<sup>3</sup>],  $a_m$  – aktivitet iona u membranskoj fazi [mol/dm<sup>3</sup>].

### 2.2.4.1. KOVINSKE ELEKTRODE

Razlika potencijala na kontaktnoj granici otopine i kovinske elektrode posljedica je redoks reakcije koja se odvija na elektrodi. Kovinske elektrode dijele se na elektrode prvog, drugog i trećeg reda te na inertne redoks elektrode.

Kovinske elektrode prvog reda su građene od čistog metala koji je uronjen u otopinu tog istog metala. Na aktivnoj površini elektrode je uspostavljena dinamička ravnoteža između metala od kojeg je izgrađena elektroda i kationa istog metala u otopini pri čemu se javlja potencijal kao posljedica redoks reakcije na elektrodi iskazane općenitom jednadžbom (8). Aktivitet čistih metala jednak je jedan, stoga potencijal kovinske elektrode ovisi samo o aktivitetu kationa metala u otopini. Kovinske elektrode bakra, cinka, indija, kadmija, zlata i žive pokazuju brzo uspostavljanje ravnoteže između metala i kationa metala u otopini [6].



Kovinske elektrode prvog reda ne pronalaze svoju široku primjenu u potenciometrijskim metodama analize zbog loše selektivnosti, a vrlo često mogu biti selektivne ne samo za vlastiti kation metala, nego i za druge katione metala koji se lakše reduciraju. Na primjer, bakrova elektroda je selektivnija za ion srebra, nego za ion bakra. Osim toga, određene kovinske elektrode, kao što su cink i kadmij, mogu se koristiti samo u neutralnim ili bazičnim otopinama jer su u prisutnosti kiselih otopina nestabilne, odnosno otapaju se. Još jedan nedostatak ovih elektroda je oksidacija metala od kojih su elektrode izgrađene, stoga je potencijal elektrode moguće izmjeriti ako se ukloni kisik iz otopine. Na posljétku, neki tvrđi metali, kao što su krom, kobalt, nikal i željezo, ne daju ponovljive potencijale [5].

Kovinske elektrode drugog reda ne koriste se samo za detekciju vlastitih kationa, nego i za detekciju aniona koji tvore teško topive taloge ili stabilne komplekse s kationima metala od kojih su elektrode izrađene. Ove elektrode svoju primjenu pronalaze u taložnoj potenciometriji ili kao potenciometrijski senzori. Ova vrsta elektroda ne zahtijeva da cijela otopina mora biti zasićena teško topljivom soli, kao što je slučaj kod ostalih elektroda. Zasićena mora biti samo otopina na površini elektrode, a to se postiže tako da se na aktivnu površinu kovinske elektrode nanese sloj teško topljive soli metala. Već spomenute, kalomelova i srebro/srebrov klorid elektroda, primjer su kovinskih elektroda drugog reda [6].

Kovinske elektrode trećeg reda građene su od čistog metala koji je u doticaju s dvije teško topljive soli, pri čemu jedna sadrži kation metala od kojeg je izgrađena elektroda, a druga sol sadrži kation metala kojemu se određuje koncentracija, obje soli imaju isti anion (npr.  $Ag | Ag_2S | CuS$ ). Dinamička ravnoteža, kod ovog tipa kovinskih elektroda, može se uspostaviti i između metala i dva stabilna kompleksa koji imaju zajednički ligand. Potencijal elektrode ovisi o koncentraciji kationa metala u otopini, ali je koncentracija kationa elektrode kontrolirana koncentracijom zajedničkog aniona ili liganda, koja je u ovisnosti o koncentraciji kationa druge teško topljive soli ili drugog stabilnog kompleksa. Ove elektrode sve rjeđe pronalaze svoju primjenu u potenciometrijskim metodama analize jer su vrlo nestabilne i trome, a taj nedostatak se javlja kao posljedica serije ravnoteža koje je potrebno uspostaviti kako bi se dobio stabilan potencijal elektrode [6].

Inertne redoks elektrode su vrsta kovinskih elektroda kod kojih gradivni materijal elektrode služi kao nosač elektrona drugog redoks sustava, dok sam ne sudjeluje u toj redoks reakciji. Materijali od kojih se izrađuju ove elektrode su ugljik ili inertni metali, poput paladija, platine i zlata. Za izvođenje redoks potencimetrijske titracije koriste se ove elektrode [6].

#### 2.2.4.2. SELEKTIVNE (MEMBRANSKE) ELEKTRODE

Potencijal selektivnih (membranskih) elektroda nastaje kao rezultat promjene slobodne entalpije reakcije prijelaza iona kroz međusloj membrana-ispitivana otopina. Prijelaz iona kroz međusloj odvija se adsorpcijom, ekstrakcijom, ionskom izmjenom ili nekim drugim načinom. Potencijal selektivnih elektroda ovisi o aktivitetu samo određene (jedne) ionske vrste prisutne u potencimetrijskoj ćeliji, stoga nije začuđujuće da svoju široku primjenu pronalaze u potencimetrijskim metodama analize. Pod pretpostavkom da se između dvije elektrolitne faze nalazi granična površina kroz koju prolazi samo jedna određena ionska vrsta, ovisno o aktivitetu iona na suprotnim stranama granične površine dolazi do razlike potencijala.

Membrana je tanka pločica, film ili sloj čvrstog, polutekućeg ili tekućeg materijala koja odvaja dvije tekuće faze. Prema veličini pora i djelovanju same membrane tijekom prijelaza ionskih vrsta iz jedne faze u drugu, membrane se mogu podijeliti na:

1. neselektivne membrane velikih pora – sprječavaju miješanje otopina dviju faza, ali ioni mogu slobodno prolaziti iz jedne u drugu fazu. Posljedica razlike u koncentraciji i pokretljivosti iona u različitim fazama je uspostava razlike potencijala, tj. difuzijskog potencijala, na membrani. Ova vrsta membrana se izrađuje od poliakrilamidnog gela koji u porama može sadržavati i otopine soli kojima se stvara elektrolitni most između dviju otopina [6];
2. semipermeabilne membrane – omogućavaju samo ionima manjih dimenzija prijelaz iz jedne u drugu fazu, dok ioni većih dimenzija nemaju mogućnost prolaska kroz membranu, te kao takve, ove membrane su pogodne za dijalizu. Na ovim membranama, osim difuzijskog potencijala, stvara se i razlika potencijala, tzv. Donnanov potencijal [6];

3. permselektivne membrane – vrsta membrana kod kojih razlika potencijala kroz međusloj na površini membrane nastaje kemijskom interakcijom određene molekulske vrste iz otopine s istom molekulskom vrstom unutar materijala membrane, ili s molekulskom vrstom nanesenom na površinu inertne membrane ili otopljenom u nekom otapalu. Ion-selektivne membrane klasificiraju se kao permselektivne membrane [6];
4. membrane veće debljine – vrsta membrana kod kojih razlika potencijala na obje granice nastaje kemijskom interakcijom materijala membrane s određenom kemijskom vrstom u otopini, a istodobno se kroz membranu uspostavlja gradijent difuzijskog potencijala. Staklena membrana, jedna je od membrana ove vrste, a svoju primjenu pronalazi prilikom izrade staklene elektrode [6].

#### 2.2.5. ION-SELEKTIVNE ELEKTRODE

ISE su najčešće korišteni potenciometrijski senzori kod kojih je ulazni signal aktivitet analita, a izlazna veličina napon. Senzor je uređaj koji služi za detekciju i kvantifikaciju određenog, mjerljivog svojstva tvari (masa, aktivitet, koncentracija itd.). Potenciometrijski senzori omogućavaju selektivno određivanje željenog analita u prisutnosti smetajućih tvari (interferenata). Idealna ISE je senzor čiji potencijal ovisi o aktivitetu samo jedne, određene kemijske vrste prisutne u potenciometrijskoj ćeliji. Ion-selektivna membrana zadužena je za selektivno određivanje analita. ISE mogu se podijeliti na ISE s čvrstom membranom, ISE s tekućom membranom te staklene elektrode [5, 6].

### 2.2.5.1. ISE S ČVRSTOM MEMBRANOM

Elektrode s čvrstom kristalnom membranom sadrže kristalnu krutinu kao senzorski materijal, a membrana se izrađuje u obliku monokristalne ili polikristalne prešane pločice. Kristalni materijal može se sastojati od jednog spoja ili smjese kristalnih tvari, od kojih je samo jedna kemijska vrsta elektrokemijski aktivna, a često se dodaje inertni  $\text{Ag}_2\text{S}$ . Kristali se ugrađuju u inertnu polimernu matricu, kao što je silikonska guma, kako bi se formirala heterogena membrana [13, 14]. Osim silikonske gume, rabe se i polimeri na bazi polietilena i dimetilpolisiloksana.

Većina elektroda u čvrstom stanju reagira na ione koji tvore teško topljive soli s metalnim ionom ugrađenim u materijal. Ako je ion analita u otopini isti kao i onaj korišten za stvaranje teško topljive soli, za taj ion se može uočiti Nernstovski odziv. Ista membranska elektroda također može reagirati na protuion kristalne soli. Na primjer, membrana na bazi  $\text{AgCl}$  reagira ili na ione srebra ili ione klorida, s odzivima suprotnog nagiba. Oba iona ne mogu biti prisutna u otopini u isto vrijeme u značajnoj koncentraciji, jer to bi rezultiralo taloženjem soli. Membrana koja sadrži smjesu  $\text{AgCl}$  i  $\text{Ag}_2\text{S}$  nastavlja reagirati na klorid, sve dok je sulfid odsutan u otopini, jer je  $\text{Ag}_2\text{S}$  slabije topljiv od  $\text{AgCl}$  i može se koristiti kao inertni materijal matrice. Primjeri takvih  $\text{AgX}$  membrana uključuju  $\text{S}^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$  i  $\text{I}^-$ . Pomoću membrana koje sadrže  $\text{PbS}$  i  $\text{CuS}$  moguće je odrediti  $\text{Cu}^{2+}$  i  $\text{Pb}^{2+}$  [13].

Čvrste membrane ove vrste mogu imati vrlo dug radni vijek od nekoliko godina i lako ih je održavati. Njihova se površina može povremeno obnavljati poliranjem u slučaju da im je površina korodirala ili ako se zaprljala. Doista, najrobusniji materijali reagiraju na ione koji su najmanje topljivi, prema rastućoj topljivosti:  $\text{Ag}_2\text{S} < \text{AgI} < \text{AgBr} < \text{AgCl}$ . To je zato što materijal vanjske membrane može lako zamijeniti protuion koji je topljiviji za onaj koji je manje topljiv. Membrana  $\text{AgCl}$  u dodiru s otopinom  $\text{Na}_2\text{S}$  postupno će se transformirati u  $\text{Ag}_2\text{S}$ . Kontakt između unutarnje strane membrane i unutarnje otopine elektrolita ostvaruje se uranjanjem referentne elektrode u unutarnju elektrolitnu otopinu [14].



#### 2.2.5.2. STAKLENE ELEKTRODE

Staklene elektrode su membranske elektrode koje sadrže staklastu (nekristalnu) čvrstu membranu kao element za prepoznavanje. Ovaj je materijal u pothlađenom tekućem stanju i obično se temelji na mreži silicijevog oksida koja je dopirana relativno visokom koncentracijom litijeva i/ili natrijeva oksida i drugih metalnih oksida [15]. Ioni alkalijskih metala učinkovito otvaraju inače krutu mrežu  $\text{SiO}_2$ , stvarajući kanale nanorazmjera sa značajnom pokretljivošću iona. Razlika potencijala staklene elektrode ovisi o razlici aktiviteta  $\text{H}^+$  iona u vanjskoj i unutarnjoj elektrolitnoj otopini koje su odvojene tankom staklenom membranom. U dodiru s vodom, vanjska površina (oko desetak nm) stakla hidratizira, stvarajući tako relativno labavu mrežu gdje se ioni alkalijskih metala kvantitativno mijenjaju za ione vodika. Upravo taj hidratizirani sloj uzrokuje pH odziv. Staklena elektroda se stoga može shvatiti kao hidratizirano staklo na ionski vodljivoj staklenoj membranskoj podlozi. Iz tog razloga, pH staklene elektrode moraju se održavati u hidratiziranom stanju i čuvati u otopini KCl-a kako bi se spriječilo taloženje srebrova klorida. Na starost elektrode upućuju pretjerano debeli hidratizirani slojevi koji rezultiraju duljim vremenom odziva. Mogu se obnoviti jetkanjem staklene površine razrijeđenom fluorovodičnom kiselinom [16].

Kontrola procesa jedna je od primjena pH staklenih elektroda vrlo visoke robusnosti. Uobičajeni raspon debljine staklene elektrode je od stotinu mikrometara do jednog milimetra. Visoka robusnost uzrokuje značajan električni otpor, koji obično iznosi stotine  $\text{M}\Omega$ . Za provedbu mjerenja potrebni su odgovarajuće oklopljeni konektori, zajedno s voltmetrom visoke ulazne impedancije. Moderne pH sonde su kombinirane elektrode koje integriraju i referentnu elektrodu u isto tijelo staklene elektrode. Unutarnji elektrolit iza staklene membrane sadrži blago kiseli pH pufer koji sadrži kloridnu sol za stabilizaciju potencijala na unutarnjoj srebro/srebrov klorid referentnoj elektrodi, koja je uronjena u tu istu otopinu. Ista vrsta elektrolita, KCl ( $c = 3 \text{ mol/dm}^3$ ), također se koristi kao unutarnji elektrolit srebro/srebrov klorid referentne elektrode [16].

Danas je selektivnost nekih pH staklenih elektroda toliko izvrsna da je naglašeno da ne dolazi do interferencija u rasponu pH vrijednosti 0-14. Smanjeni raspon može se namjerno odabrati kako bi se povećala robusnost. Širok raspon mjerenja obično zahtijeva vrlo visok sadržaj litija u staklu, što ograničava vijek trajanja i stabilnost temperature. Stabilnija stakla s rasponom pH

vrijednosti od 2-12 prikladna su za većinu primjena i vrlo su robusna. Neka od ovih stakala mogu se autoklavirati (toplinska obrada na 130 °C) nakon kalibracije bez štetnih učinaka za upotrebu u mikrobiologiji. Staklene elektrode su razvijene u različitim veličinama i oblicima koji su optimizirani za širok raspon primjena. To uključuje mini i mikroelektrode, ravne elektrode za papir i druge površine, šiljaste elektrode, protočne elektrode, zajedno s polukružnim oblicima koji se tradicionalno koriste [16].

Za određivanje drugih iona mogu se koristiti različiti sastavi stakla. Jedan primjer je takozvana natrijeva staklena elektroda, koja preferira vodikove ione u odnosu na natrijeve. Druga klasa staklenih membrana, takozvane halkogenidne elektrode, sastavljene su od oksida sumpora, selena i telura u doticaju s kombinacijom elemenata kao što su bor, aluminijski, galij, germanij, fosfor, arsen i antimon i mogu sadržavati dodatak prijelaznih metala. Elektrode od halkogenidnog stakla mogu biti selektivne za  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  i  $\text{Fe}^{3+}$  [17]. Halkogenidi se također mogu taložiti kao tanki slojevi na metalnoj površini elektrolizom ili vakuum tehnikom taloženja [18]. Uobičajeni sastav stakla *Corning 015* upotrebljava se za izvedbu staklene elektrode, a uključuje 6% kalcijeva oksida, 22% natrijeva oksida i 72% silicijeva(IV) oksida [6].

#### 2.2.5.3. ISE S TEKUĆOM MEMBRANOM

Tekuće i polimerne membranske elektrode reagiraju na temelju principa raspodjele tekućina-tekućina i principa kompleksiranja [19, 20]. Ion-selektivni materijal se povijesno sastojao od jednostavne organske tekućine umetnute u poroznu membranu, ali to je zamijenjeno plastificiranim polimerima ili polimerima bez plastifikatora s niskom temperaturom staklastog prijelaza budući da su mnogo otporniji i imaju dulji radni vijek. Ion-selektivna membrana dopirana je aktivnim sastojcima koji se mogu slobodno otopiti u membrani ili kovalentno usidriti na polimer. To uključuje lipofilni ionski izmjenjivač, koji membrani daje permselektivna svojstva i poboljšava selektivnost same membrane, i ionofor, kojim se određuje selektivnost membrane, selektivnim i reverzibilnim vezanjem određene ionske vrste [20]. Razvijene su elektrode za polioničke analite kao što su heparin, protamin i DNA [21].

Takve ISE izrađene su za izravnu detekciju elektrolita u krvi i koriste se u gotovo svim bolnicama u svijetu. Njihova se primjena proteže na farmaceutske studije, procjenu tvrdoće vode, bioanalizu, unutarstanične i izvanstanične studije ionskih fluktuacija i praćenje okoliša. Tekuće membranske elektrode s iznimno niskim granicama detekcije sve do subnanomolarnog raspona koncentracije također su postale dostupne [22].

Polimerne ion-selektivne membrane obično su izliveno organske otopine na inertnu podlogu i naknadno postavljene na tijelo elektrode ili zalijepljene na polimernu cijev. Sve čvrste ion-selektivne membrane danas su dobro izvedene zbog uvođenja robusnog iona u slojeve koji transduciraju elektrone [23]. Time se izbjegava tradicionalna unutarnja elektrolitna otopina i rezultira znatno poboljšanom izdržljivošću membrane. Postoje dvije skupine ISE s tekućom membranom. Membrane prve skupine sadrže ionski izmjenjivač, ali ne i stvarni element za molekularno prepoznavanje. Druga skupina temelji se na selektivnim ionoforima koji daju jedinstvenu selektivnost membranama [24].

#### 2.2.5.3.1. ISE TEMELJENE NA IONSKOM IZMJENJIVAČU

Tekuće ili polimerne tekuće membrane moraju pokazivati svojstva ionskog izmjenjivača, odnosno koncentracija analita u membranskoj fazi ostaje približno konstantna s promjenom koncentracije analita. To je osnova za promatranje Nernstovskog odziva i može se postići dopiranjem tekuće membrane lipofilnim ionskim izmjenjivačem. Primjeri uključuju dodecyl-trimetil amonijev klorid za anion-selektivne elektrode ili kalijev tetrakis (4-klorofenil) borat za kation-selektivne elektrode. Prije praktične uporabe, tekuća membrana nastoji se kondicionirati u otopini koja sadrži relativno povišenu koncentraciju (reda veličine od 10 mmol/dm<sup>3</sup>) kationa ili aniona koji se određuje. Tijekom tog razdoblja izvorni hidrofilni protuion ionskog izmjenjivača u membrani kvantitativno se zamjenjuje ionom koji se određuje [19].

Selektivnost takvih ISE, koje se temelje na ionskom izmjenjivaču, funkcija je kompetitivnih energija solvatacije iona [19]. ISE selektivne prema anionima sadrže sol anionskog izmjenjivača i pokazuju uzorak selektivnosti koji slijedi Hofmeisterov niz, gdje su lipofilni anioni poželjniji od hidrofilnih. Slijed je obično  $R^- > ClO_4^- > I^- > NO_3^- > Br^- > Cl^- > AcO^-$ , s R organskim

anionom. Slijed selektivnosti za ion-selektivne membrane koje uključuju kationski izmjenjivač konceptualno je sličan,  $R^+ > Cs^+ > Rb^+ > K^+ > Na^+ > Li^+$ , s R organskim kationom. ISE na bazi ionskog izmjenjivača obično se upotrebljavaju za određivanje lipofilnih iona, npr. perklorat i nitrat, električki nabijenih molekula lijekova i niza kvaternih amonijevih iona. U mnogim slučajevima struktura ionskog izmjenjivača može utjecati na promatrani uzorak selektivnosti, posebno za razlikovanje iona različitih naboja. S prikladno izrađenim membranama za ionsku izmjenu, čak i naizgled hidrofilni ioni vrlo visoke gustoće naboja, kao što su polikationi, mogu se preferirano određivati u relativno visokoj pozadini elektrolita [25].

Relativna prednost jednog iona u odnosu na drugi, kod membrana koje pokazuju Hofmeisterov uzorak selektivnosti, također se može podešavati matricom membrane. Membransko okruženje koje je vrlo slabo otapalo za ekstrahirane ione nastoji proširiti ovaj niz, što rezultira boljim razlikovanjem pozadine. To se, na primjer, može postići s fluoriranim membranskim otapalima, iako je sparivanje iona vrlo snažno u takvim slučajevima [26].

Hofmeisterov slijed selektivnosti predviđa termodinamičku preferenciju iona, ali kinetička diskriminacija iona, koja se naziva i Hulanicki efekt, često je još uvijek moguća. Preferirani, ali ion prisutan u maloj koncentraciji ( $<10^{-4}$  mol/dm<sup>3</sup>) ne mijenja značajno potencijal ćelije ako membrana nije kondicionirana za ovaj ion i ako je koncentracija ionskog izmjenjivača relativno velika. U ovom slučaju, ti se ioni brzo troše na površini membrane dok se ekstrahiraju, ali istovremeno samo beznačajno mijenjaju sastav membrane za kratko vrijeme izlaganja. To se može koristiti za primjene senzora u uzorcima za koje nije dostupna termodinamička selektivnost. Moguće je kupiti ISE na bazi ionskog izmjenjivača za različite ione, iako je osnovni sastav membrane sličan. Naravno, poželjno je koristiti ISE s boljom termodinamičkom selektivnošću, što se ponekad može postići s membranama koje sadrže odgovarajuće ionofore [27].

#### 2.2.5.3.2. ISE TEMELJENE NA IONOFORU

Lipofilni ionofori su lipofilne molekule koje omogućavaju postizanje uzorka selektivnosti koji se razlikuje od Hofmeisterovog slijeda koji se obično opaža kod nespecifičnih ionskih izmjenjivača [19, 20]. Ionofori mogu tvoriti termodinamički jake, ali kinetički labilne komplekse s ionom analita u membrani. Na selektivnost ISE koja se temelji na ionoforu, još uvijek djelomično utječe slobodna energija prijenosa iona iz vodene u membransku fazu, ali sada uključuje i konstante stvaranja kompleksa između ekstrahiranih iona i ionofora. Selektivnost se također može podešavati različitim koncentracijama aktivnih komponenti membrane. To je osobito slučaj za ione različitog naboja ili ione koji s ionoforom tvore komplekse različite stehiometrije. Energija solvatacije važna je komponenta koja utječe na ukupnu selektivnost, zbog čega je izvedba ISE za vrlo hidrofilne ione izazovnija. Također je teže dizajnirati molekularne receptore za velike ione, posebno anione. ISE na bazi ionofora s izvrsnom selektivnošću za određivanje kalija, amonija, natrija i kalcija, dostupne su već mnogo godina. Magnezij, litij, klorid i fosfat bilo je teže odrediti, a selektivnost u nekim slučajevima još nije odgovarajuća za sve predviđene primjene. ISE na bazi ionofora za velike anione, kao što su nitrat i perklorat, su nepoznate, ali ISE na bazi ionskog izmjenjivača posjeduju dobru selektivnost za te anione [20].

Uspješni ionofori obično su vrlo lipofilni, a samim time su kompatibilni s hidrofobnom membranskom fazom koja ih snažno zadržava. To rezultira radnim vijekom senzora koji se obično kreće od nekoliko tjedana do godina. Istodobno posjeduju odgovarajuće polarne funkcionalne skupine koje su odgovorne za prepoznavanje iona. Molekularna predorganizacija oko veznog mjesta često je korisna za bolju selektivnost, ali nije uvjet, budući da najuspješniji ionofori selektivni za kalcij uključuju stvaranje kompleksa 1:2 i 1:3. Molekule ionofora trebale bi pokazivati određenu minimalnu mobilnost da bi funkcionirale u ion-selektivnim membranama, ali poznato je da mjesta prepoznavanja kovalentno usidrena na polimernu okosnicu rade prilično dobro, čak i ako se ovim pristupom opaža određeni gubitak selektivnosti [20].

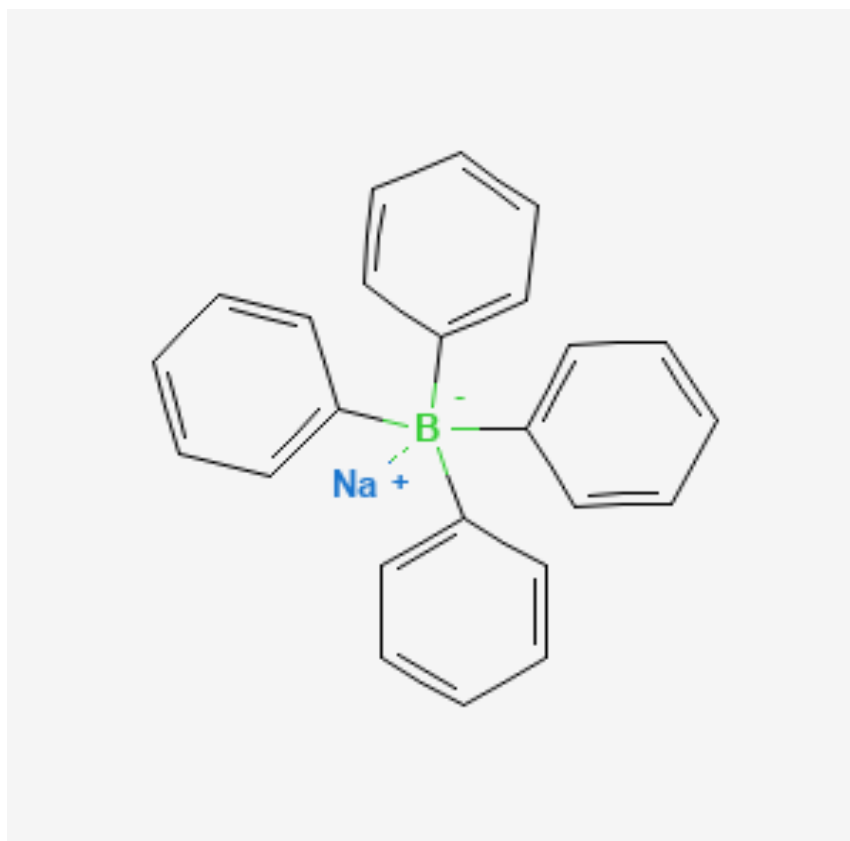
Selektivnost membrane ovisi o ionoforu, ali ne isključivo. Plastifikatori visoke polarnosti, kao što je *o*-nitrofeniloktiletar, utvrđeni su membranski aditivi za izradu membranskih elektroda za dvovalentne ione, budući da je rezultirajuća selektivnost izvrsna. Napolarni plastifikatori, kao što je bis(2-etilheksil) sebakat, često su najprikladniji za određivanje jednovalentnih kationa. Ako

je stehiometrija kompleksa za kompleks ion-ionofor poznata, očekuje se da će, neki omjeri koncentracije ionskog izmjenjivača i ionofora dati bolju selektivnost, a samim time i rezultirati senzorom boljih analitičkih svojstava, što uključuje šire mjerno područje, kraće vrijeme odziva, veću točnost i nižu granicu detekcije [19].

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. REAGENSI I MATERIJALI

U radu su korišteni sljedeći reagensi: prometazin hidroklorid (Sigma-Aldrich, USA), natrijev tetrafenilborat (NaTPB, Acros Organics, Belgija) (Slika 7), tetrahidrofuran (THF, Fischer Scientific, Velika Britanija), polivinil klorid (PVC), dibutil sebakat (DS), bis(2-etil-heksil) ftalat (DOP) i *o*-nitrofenil oktil eter (*o*-NPOE). Polivinil klorid i svi korišteni plastifikatori su proizvodnje Fluka, Švicarska. Sve otopine su pripremljene korištenjem ultračiste vode (vodljivosti 0,055  $\mu\text{S/cm}$ ).



SLIKA 7. Prikaz strukturne formule NaTPB-a [28].

### 3.2. PRIPREMA IZVORNE OTOPINE PROMETAZIN HIDROKLORIDA

Izvorna otopina PM koncentracije  $1,0 \cdot 10^{-2}$  mol/dm<sup>3</sup>, pripravljena je otapanjem 0,64176 g PM, molarne mase 320,88 g/mol u 200 cm<sup>3</sup> ultračiste vode, koja je postupno dodavana kako bi se PM što bolje otopio u vodi. Prije nego što je u odmjenu tikvicu dodan ukupan volumen vode, kako bi se pospješilo otapanje PM, tikvica je stavljena u ultrazvučnu kupelj. Nakon nekoliko minuta sav PM se otopio, a tikvica je nadopunjena preostalim volumenom ultračiste vode. Otopine PM niže koncentracije pripremane su razrjeđivanjem izvorne otopine PM. Kako bi se spriječio doticaj sa svjetlošću, odmjerna tikvica je omotana aluminijskom folijom, a pripravljene otopine skladištene su u hladnjaku.

### 3.3. PRIPREMA IONSKOG PARA PROMETAZINA I TERAFENILBORATA

Ionski par, PM i tetrafenilborata (PM-TPB), pripremljen je na način da je PM (160,45 mg, 0,5 mmol) otopljen u 50 cm<sup>3</sup> ultračiste vode. Potom je pripremljenoj otopini PM dodana ekvimolarna otopina TPB-a (171 mg, 0,5 mmol). Miješanjem ekvimolarnih otopina dolazi do taloženja, a nastali bijeli talog odfiltriran je preko Buchnerovog lijevka i osušen na sobnoj temperaturi.

### 3.4. PRIPREMA TEKUĆE MEMBRANE

Prilikom ovog istraživanja pripravljeno je pet membrana senzora. Detaljna priprema membrana dana je u Tablici 1. Kao što se može vidjeti iz Tablice 1., prve tri membrane pripravljene su s istom količinom elektroaktivnog materijala i istom količinom PVC-a, a ono što ih je razlikovalo je vrsta plastifikatora koja se koristila za pripremu membrane senzora. Potom su pripravljene još dvije membrane s istom vrstom plastifikatora, ali različitim udjelima ionofora PM-TPB-a koji je senzorski materijal u membrani, a omjer plastifikatora i PVC-a je bio 2:1. Svaka membrana sadržavala je elektroaktivni materijal, plastifikator i PVC, a nakon što su pripravljene određene količine svakog pojedinog reagensa, za određenu membranu, stavljene su u staklenu



posudicu za vaganje i potom im je dodano 2 cm<sup>3</sup> otapala, u ovom slučaju je to THF, uz ultrazvučno miješanje.

Na staklenoj podlozi postavljen je stakleni prsten kojeg pridržavaju gumice. U tako postavljen prsten izlivena su pripremljene membranske smjese, prekrivene su papirom i ostavljene na zraku približno 24 sata (vrijeme potrebno kako bi otapalo isparilo). Membrane su nakon „sušenja“ odvojene od stakla, potom su pomoću „modlice“ izrezane membrane i ugrađene u tijelo komercijalne elektrode (Philips elektroda IS-561) proizvodnje Glasblaeserei Moeller, Zürich, Švicarska.

TABLICA 1. Priprema membrana senzora s različitim udjelima elektroaktivnog materijala i vrstom plastifikatora.

Redni broj membrane	Elektroaktivni materijal (PM-TPB)		Plastifikator		PVC	
	[%; w/w]	Masa/g	[%; w/w]	Volumen/ $\mu$ L	[%; w/w]	Masa/g
1	1	0,0018	66; DOP	122	33	0,0600
2	1	0,0018	66; DS	128	33	0,0600
3	1	0,0018	66; <i>o</i> -NPOE	115	33	0,0600
4	3	0,005442	64,6; <i>o</i> -NPOE	112,68	32,3	0,05859
5	5	0,00907	63,3; <i>o</i> -NPOE	110,41	31,7	0,05750

### 3.5. APARATURA

Ultrazvučna kupelj (BADELIN RK-100, Berlin, Njemačka) korištena je za pripremu membrane senzora i otopine PM. Za provedbu potenciometrijskih mjerenja korišteni su automatski univerzalni titrator (794 Basic Titrino) s pripadajućom izmjenjivom jedinicom za doziranje (806 Exchange unit) i magnetska miješalica (728 Titration Stirrer), pri čemu je sustav kontroliran programom Tiamo i programom vlastite izrade. Navedena korištena aparatura je proizvodnje Metrohm, Švicarska, osim programa vlastite izrade. Obrada rezultata mjerenja provedena je u programu Microsoft Office Excel. Aparatura koja je korištena za direktna potenciometrijska mjerenja prikazana je na Slici 8.



SLIKA 8. Aparatura za direktna potenciometrijska mjerenja.

### 3.6. POSTUPAK MJERENJA

Indikatorska elektroda za izvođenje direktnih potenciometrijskih mjerenja je komercijalna elektroda (Philips IS-561) s tekućom membranom čiji je senzorski materijal PM-TPB, a unutarnji elektrolit elektrode je otopina natrijeva klorida koncentracije  $3 \text{ mol/dm}^3$ . Uz indikatorsku, korištena je i referentna srebro/srebrov klorid elektroda (Metrohm, Švicarska) s otopinom kalijeva klorida koncentracije  $3 \text{ mol/dm}^3$ , koja je unutarnji elektrolit referentne elektrode. Destilirana voda koristila se za ispiranje elektroda, a također i po završetku mjerenja, elektrode su čuvane u njoj. Mjerenja su izvedena na sobnoj temperaturi uz magnetsko miješanje i bez podešavanja ionske jakosti. Svakodnevno prije mjerenja, senzor je kondicioniran u otopini PM koncentracije  $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol/dm}^3$  tijekom 15 minuta te je njegova ispravnost provjerena kratkom kalibracijom u rasponu koncentracija između  $5 \cdot 10^{-6}$  i  $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$ . Za mjerenje odzivnih karakteristika, otopina PM ( $c = 1 \cdot 10^{-2}$  i  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$ ) inkrementalno je dodavana u čašu s destiliranom vodom ( $V = 20 \text{ cm}^3$ ) pomoću programa vlastite izrade.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. OPTIMIZACIJA MEMBRANE

Elektroaktivni membranski materijal PM-TPB pripremljen je prema stehiometriji jednadžbe (9):



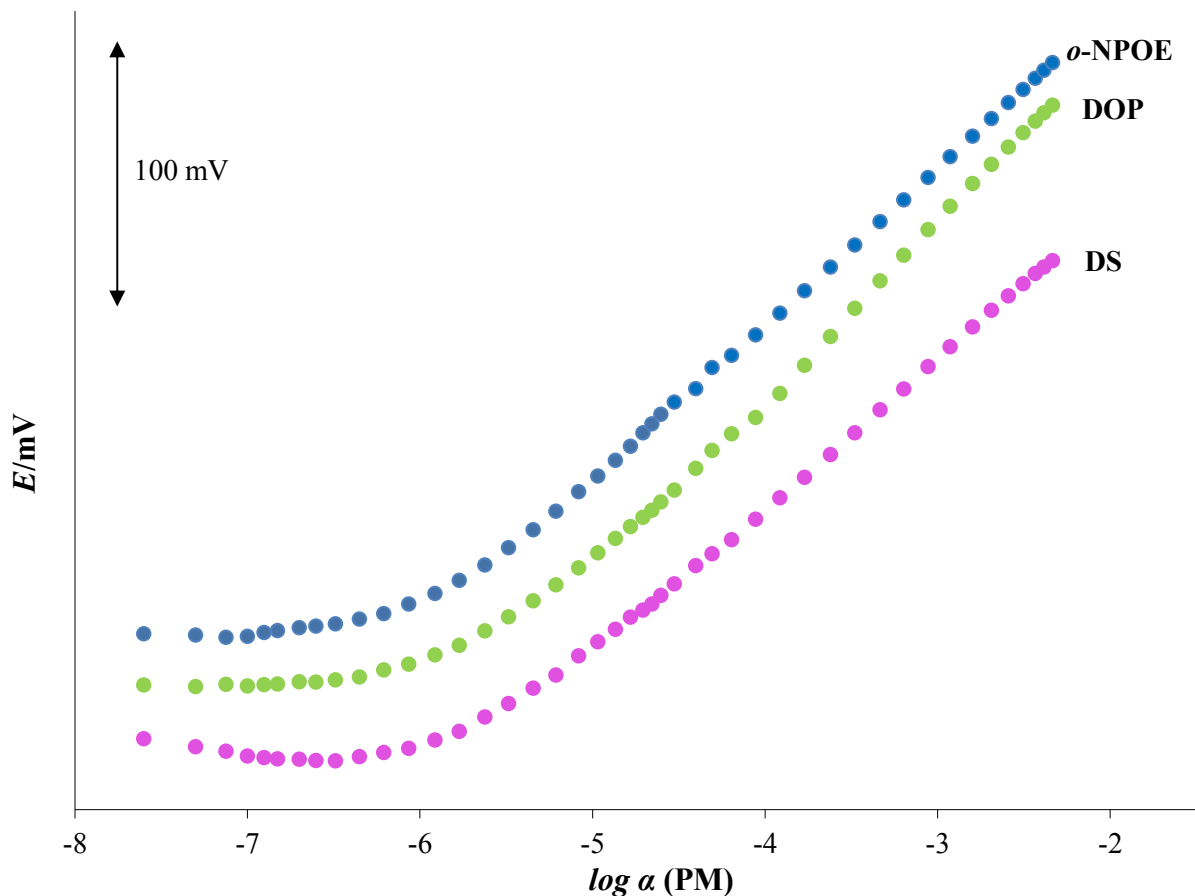
Razvijeni PM-TPB senzor pokazuje potenciometrijski odziv na PM prema Nernstovoj jednadžbi (10):

$$E = E^0 + S \cdot \log a_{\text{PM}^+} \quad (10)$$

gdje je:  $a_{\text{PM}^+}$  aktivitet kationa PM,  $E^0$  – standardni elektrodni potencijal [V],  $S$  – nagib kalibracijskog pravca ( $S(\text{PM}^+) = 59,2$  mV/dekada aktiviteta),  $E$  – elektrodni potencijal [V]. Direktno potenciometrijsko određivanje PM moguće je izvesti ovim senzorom.

#### 4.1.1. ODABIR VRSTE PLASTIFIKATORA

Kako bi se odabrala najbolja vrsta plastifikatora za membranu senzora, pripravljene su tri membrane koje su u svom sastavu imale 1% senzorskog materijala, odnosno ionofora PM-TPB-a, zatim istu količinu polivinil klorida i jedan od tri plastifikatora (DOP, DS i *o*-NPOE), pri čemu su plastifikator i polivinil klorid dodani u masenom omjeru 2:1. Utjecaj vrste plastifikatora na odzivne karakteristike PM-TPB senzora ispitan je u vodi u koncentracijskom rasponu od  $2,5 \cdot 10^{-8}$  mol/dm<sup>3</sup> do  $5,0 \cdot 10^{-3}$  mol/dm<sup>3</sup>. Na slici 9. prikazan je utjecaj vrste plastifikatora na odzivne karakteristike PM-TPB senzora.



SLIKA 9. Utjecaj vrste plastifikatora na odzivne karakteristike PM-TPB senzora.

Linearnom regresijskom analizom izvršena je statistička obrada podataka, a rezultati analize dani su u tablici 2. Utvrđeno je da korištenje DOP plastifikatora u sastavu membrane PM-TPB senzora daje nagib kalibracijske krivulje od 62,0 mV po dekadi aktiviteta, korištenje *o*-NPOE u sastavu membrane senzora daje nešto manji nagib kalibracijske krivulje od 56,2 mV po dekadi aktiviteta, a najmanji nagib ima membrana u kojoj se DS koristi kao plastifikator. Najšire mjerno područje linearnog raspona koncentracija od  $6,17 \cdot 10^{-7}$  do  $5,0 \cdot 10^{-3}$  mol/dm<sup>3</sup> ima membrana u kojoj se *o*-NPOE koristi kao plastifikator, dok senzori koji u sastavu membrane imaju DS ili DOP imaju nešto uže mjerno područje u linearnom rasponu od  $8,6 \cdot 10^{-7}$  do  $5,0 \cdot 10^{-3}$  mol/dm<sup>3</sup>. Također, kada se pogledaju granice detekcije PM-TPB senzora, najniža granica detekcije od  $1,25 \cdot 10^{-7}$  mol/dm<sup>3</sup> primijećena je kada se u sastavu membrane PM-TPB senzora koristi *o*-nitrofenil oktil eter. Uzimajući u obzir nekoliko parametara senzora, kao što su nagib kalibracijske krivulje,

korelacijski koeficijent, mjerno područje senzora i granicu detekcije, predložena optimalna membrana senzora je ona koja u svom sastavu ima plastifikator *o*-nitrofenil oktil eter. Membrana koja u svom sastavu ima DOP pokazuje bolji nagib kalibracijske krivulje, odnosno nagib bliži Nernstovskom nagibu koji za kation PM iznosi 59,2 mV po dekadi aktiviteta, ali ostali parametri su lošiji, u odnosu na membranu s *o*-NPOE. Na posljétku, utvrđeno je da uporaba *o*-NPOE-a u sastavu membrane PM-TPB senzora rezultira optimalnim analitičkim karakteristikama kao što su šire mjerno područje i niža granica detekcije.

TABLICA 2. Statistika utjecaja vrste plastifikatora na odzivne karakteristike PM-TPB senzora<sup>a)</sup>.

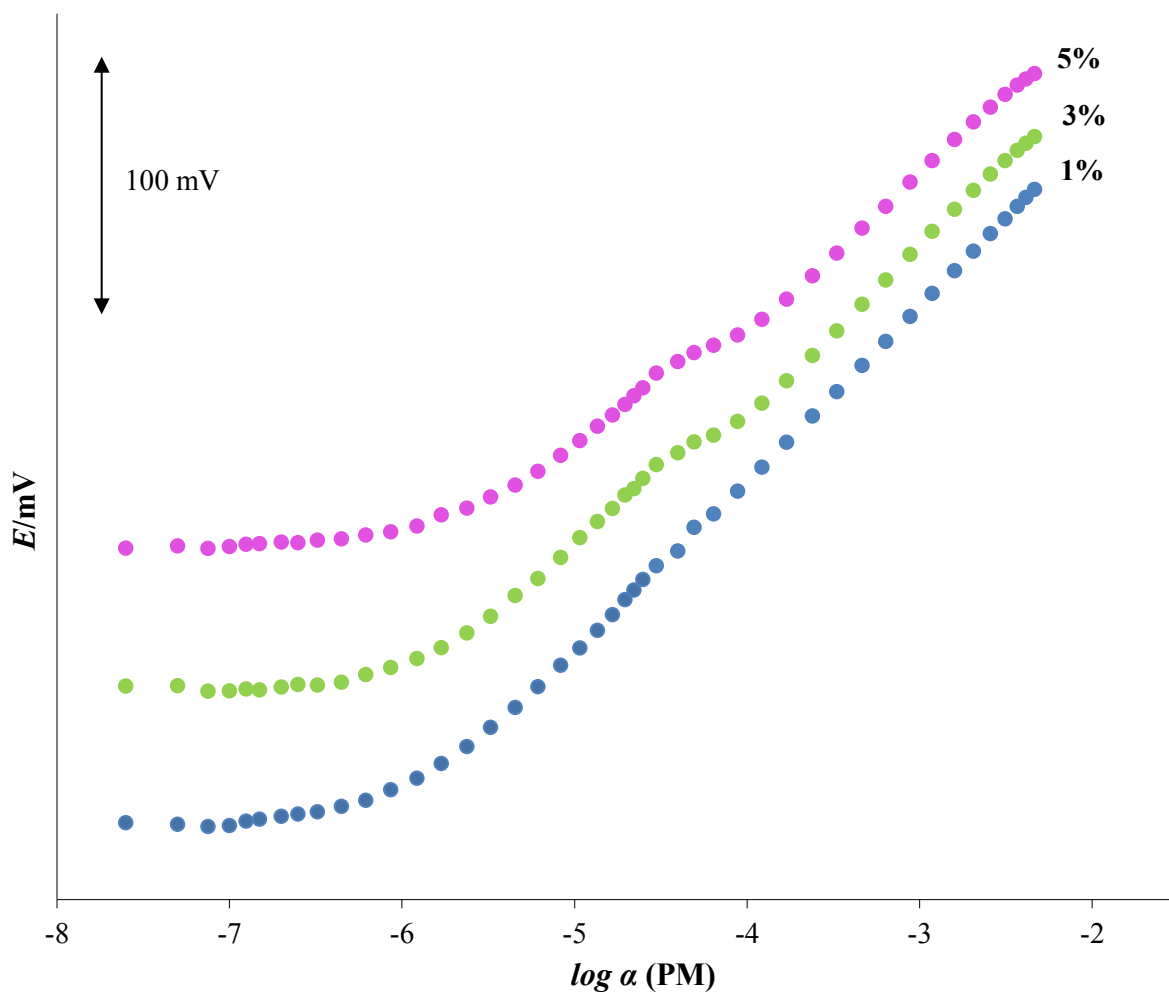
Plastifikator	Nagib [mV / dekada aktiviteta]	Korelacijski koeficijent [R <sup>2</sup> ]	Granica detekcije [mol/dm <sup>3</sup> ]	Mjerno područje [mol/dm <sup>3</sup> ]
<i>o</i> -NPOE	56,2 ± 1,3	0,9967	1,3·10 <sup>-7</sup>	6,2·10 <sup>-7</sup> – 5,0·10 <sup>-3</sup>
DS	53,4 ± 1,0	0,9974	4,5·10 <sup>-7</sup>	8,6·10 <sup>-7</sup> – 5,0·10 <sup>-3</sup>
DOP	62,0 ± 1,7	0,9945	4,5·10 <sup>-7</sup>	8,6·10 <sup>-7</sup> – 5,0·10 <sup>-3</sup>

a) prosjek 5 mjerenja ± interval pouzdanosti ( $p = 0.95$ )

#### 4.1.2. OPTIMIZACIJA UDJELA SENZORSKOG MATERIJALA

Nakon što je odabran optimalan plastifikator za membranu PM-TPB senzora, nastojala se utvrditi optimalna količina elektroaktivnog materijala, odnosno ionofora u membrani senzora. Prema tome, pripravljene su tri membrane, a njihov sastav može se vidjeti u tablici 1 (membrane pod rednim brojem 3, 4, 5). Svaka membrana je u svom sastavu sadržavala određeni udio elektroaktivnog materijala, koji je proizvoljno odabran (1%, 3% i 5%), potom prethodno odabrani plastifikator *o*-NPOE i polivinil klorid koji su dodani u sve tri membrane u istom masenom omjeru 2:1. Utjecaj udjela elektroaktivnog materijala u sastavu membrane na odzivne karakteristike PM-TPB senzora ispitan je u vodi u koncentracijskom rasponu od 2,5·10<sup>-8</sup> mol/dm<sup>3</sup> do 5,0·10<sup>-3</sup>

mol/dm<sup>3</sup>. Na slici 10. prikazan je utjecaj udjela elektroaktivnog materijala na odzivne karakteristike PM-TPB senzora.



SLIKA 10. Utjecaj udjela elektroaktivnog materijala na odzivne karakteristike PM-TPB senzora.

Rezultatima linearne regresijske analize, prikazanim u tablici 3. utvrđeno je da priprava membrana koje u svom sastavu sadrže manji postotak udjela elektroaktivnog materijala, odnosno ionofora PM-TPB-a, zajedno s *o*-nitrofenil oktil eterom kao plastifikatorom rezultira optimalnim karakteristikama PM-TPB senzora. Uočeno je da povećanje udjela ionofora PM-TPB u sastavu membrane ne poboljšava nagib kalibracijske krivulje, sužava mjerno područje senzora i povećava granicu detekcije. Stoga, kao optimalna membrana senzora predložena je membrana koja u svom sastavu sadrži 1% PM-TPB ionofora, 66% *o*-NPOE kao plastifikatora i 33% polivinil klorida. Ovako optimirana membrana PM-TPB senzora ima široko mjerno područje u linearnom rasponu koncentracija od  $6,17 \cdot 10^{-7}$  do  $5,0 \cdot 10^{-3}$  mol/dm<sup>3</sup> i nisku granicu detekcije od  $1,25 \cdot 10^{-7}$  mol/dm<sup>3</sup>.

TABLICA 3. Statistika utjecaja udjela elektroaktivnog materijala na odzivne karakteristike PM-TPB senzora<sup>a)</sup>.

<b>Ionofor PM-TPB [w/w]</b>	<b>Nagib [mV / dekada aktiviteta]</b>	<b>Korelacijski koeficijent [R<sup>2</sup>]</b>	<b>Granica detekcije [mol/dm<sup>3</sup>]</b>	<b>Mjerno područje [mol/dm<sup>3</sup>]</b>
<b>1%</b>	56,2 ± 1,2	0,9967	$1,3 \cdot 10^{-7}$	$6,2 \cdot 10^{-7} - 5,0 \cdot 10^{-3}$
<b>3%</b>	49,9 ± 1,2	0,9953	$2,5 \cdot 10^{-7}$	$8,6 \cdot 10^{-7} - 5,0 \cdot 10^{-3}$
<b>5%</b>	46,0 ± 1,4	0,9940	$3,2 \cdot 10^{-7}$	$6,2 \cdot 10^{-7} - 5,0 \cdot 10^{-3}$

a) prosjek 5 mjerenja ± interval pouzdanosti ( $p = 0.95$ )



## 5. ZAKLJUČAK

Pripravljeno je tri PM-TPB senzora s tri različita plastifikatora (*o*-NPOE, DS i DOP), a nakon usporedbe odzivnih karakteristika PM-TPB senzora na PM, ustanovljeno je da je *o*-NPOE najpogodniji plastifikator za ionofor PM-TPB, odnosno da su kompatibilni te senzor s tim plastifikatorom pokazuje bolje odzivne karakteristike u odnosu na preostala dva plastifikatora. Potom, nakon što je odabran plastifikator, pripremljene su tri membrane PM-TPB senzora u kojima je ispitivan utjecaj udjela senzorskog materijala (1%, 3% i 5%), ionofora PM-TPB. Nakon toga ustanovljeno je, da optimalna membrana u svom sastavu ima 1% elektroaktivnog materijala, odnosno ionofora PM-TPB, 33% PVC-a i 66% *o*-NPOE kao plastifikatora. Predloženi senzor s tekućom membranom ima nisku granicu detekcije od  $1,25 \cdot 10^{-7}$  mol/dm<sup>3</sup> u mjernom području linearnog raspona koncentracija od  $6,17 \cdot 10^{-7}$  do  $5,0 \cdot 10^{-3}$  mol/dm<sup>3</sup>. Nakon provedene optimizacije PM-TPB senzora, u daljnjim ispitivanjima potrebno je provesti karakterizaciju senzora.

## 6. LITERATURA

- [1] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Promethazine-hydrochloride> (28.09.2022.)
- [2] D. Daniel, I. G. R. Gutz, *Anal. Chim. Acta* 494 (2003) 215.
- [3] <https://www.sigmaaldrich.com/HR/en/product/aldrich/284114> (10.10.2022.)
- [4] <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=9aca56ec-28f8-4679-9f90-ec3e82deb9ac> (01.10.2022.)
- [5] D. A. Skoog, F. J. Holler, *Fundamentals of analytical chemistry*, 9th Edition, Brooks/Cole, Belmont, 2014.
- [6] I. Piljac, *Senzori fizikalnih veličina i elektroanalitičke metode*, Zagreb, 2010.
- [7] W. Vonau, *Encyclopedia of Applied Electrochemistry*, 48 (2014) 1692-1697.
- [8] W. E. Morf, *The principles of ion-selective electrodes and of membrane transport*, Elsevier, New York, 1981.
- [9] M. Hajduković, *Određivanje anionskih tenzida u realnim sustavima metodom injektiranja u protok*, Specijalistički rad, Osijek 2016.
- [10] M. Metikoš-Huković, *Elektrokemija*, interni udžbenik, Zagreb, 2000.
- [11] <https://glossary.periodni.com/glossary.php?en=standard+hydrogen+electrode> (29.09.2022.)
- [12] <https://glossary.periodni.com/dictionary.php?en=calomel+electrode> (01.10.2022.)
- [13] E. G. Harsanyi, K. Toth, E. Pungor, *Anal. Chim. Acta* 161 (1984) 333.
- [14] M. S. Frant, J. W. Ross, *Science* 154 (1966) 1553.
- [15] G. A. Perley, *Anal. Chem.* 21 (1949) 391.
- [16] R. Degner, *pH-Messung: Der Leitfaden für Praktiker*, Wiley, 2012 (in German).
- [17] M. Maric, M. Sohail, J. P. Veder, R. De Marco, *Sensors Actuat. B.* 207 (2015) 907.
- [18] R. De Marco, J. Martizano, *Electroanalysis* 19 (2007) 2513.

- [19] E. Bakker, P. Buhlmann, E. Pretsch, *Chem. Rev.* 97 (1997) 3083.
- [20] P. Buhlmann, E. Pretsch, E. Bakker, *Chem. Rev.* 98 (1998) 1593.
- [21] S. A. Ferguson, M. E. Meyerhoff, *ACS Sens.* 2 (2017) 1505.
- [22] A. Radu, S. Peper, E. Bakker, D. Diamond, *Electroanalysis* 19 (2007) 144.
- [23] C. Bieg, K. Fuchsberger, M. Stelzle, *Anal. Bioanal. Chem.* 409 (2017) 45.
- [24] M. A. Messerli, L. P. Collis, P. J. S. Smith, *Electroanalysis* 21 (2009) 1906.
- [25] K. L. Gemene, M. E. Meyerhoff, *Anal. Chem.* 82 (2010) 1612.
- [26] P. G. Boswell, P. J. Buhlmann, *Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 8958.
- [27] E. Bakker, *Anal. Chem.* 69 (1997) 1061.
- [28] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sodium-tetraphenylborate> (08.10.2022.)