

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

PRIMJENA MODIFICIRANE UGLJIKOVE ELEKTRODE ZA
VOLTAMETRIJSKO ODREĐIVANJE TEŠKIH METALA U
ZASLAĐIVAČIMA

ZAVRŠNI RAD

ANA BOBAN

Matični broj: 311

Split, rujan 2018.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE

**PRIMJENA MODIFICIRANE UGLJIKOVE ELEKTRODE ZA
VOLTAMETRIJSKO ODREĐIVANJE TEŠKIH METALA U
ZASLAĐIVAČIMA**

ZAVRŠNI RAD

ANA BOBAN

Matični broj: 311

Split, rujan 2018.

UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
UNDERGRADUATE STUDY IN CHEMISTRY

**APPLICATION OF MODIFIED CARBON ELECTRODE FOR
VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF HEAVY METALS IN
SWEETENERS**

BACHELOR THESIS

ANA BOBAN

Parent number: 311

Split, September 2018

Sveučilište u Splitu

Kemijsko-tehnološki fakultet

Preddiplomski studij kemije

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Kemija

Tema rada je prihvaćena na III. Sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko – tehnološkog fakulteta

Mentor: doc. dr. sc. Ivana Škugor Rončević

Pomoć pri izradi: dr. sc. Nives Vladislavić

**PRIMJENA MODIFICIRANE UGLJIKOVE ELEKTRODE ZA VOLTAMETRIJSKO
ODREĐIVANJE TEŠKIH METALA U ZASLAĐIVAČIMA**

Ana Boban, 311

Sažetak:

Do pojave teških metala u medu najčešće dolazi u rudarskim i industrijskim središtima i u blizini frekventnih prometnica, gdje se teški metali apsorbiraju u tlo, atmosferu i vodu te posljedično u biljke. Također, nedostatak pojedinog elementa u tlu, stijenama ili vodi imaće utjecaj na mineralni sastav biljke. Stoga, med može služiti kao izvrstan bioindikator onečišćenja okoliša teškim metalima te obzirom na sadržaj drugih elemenata biti pokazatelj zemljopisnog podrijetla meda.

U ovom završnom radu određivane su koncentracije teških metala (Cu, Pb) u zaslađivačima (medu i šećeru) pomoću metode standardnog dodatka voltametrijskih mjerenja. U tu svrhu ispitivana je uporaba hidroksiapatita (HAp) kao modifikatora na elektrodi od staklastog ugljika (GC). Uz radnu HAp/GC elektrodu, korištene su referentna (Ag/AgCl) i protuelektroda (platinska pločica). Pomoću mjernih tehnika, cikličke i pravokutnovalne voltametrije, dobiveni su potrebni podaci koji su nam poslužili za određivanje metala. Metodom standardnog dodatka te primjenom pravokutnovalne voltametrije uz optimirane parametre mjerenja određivane su koncentracije bakra i olova u medu i šećeru.

Dobivena koncentracija Pb u šećeru iznosila je $823,7 \mu\text{g kg}^{-1}$, dok koncentracija dobivena za Cu također u šećeru je iznosila $693,7 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Dobivena koncentracija za Pb u medu iznosila je $587,5 \mu\text{g kg}^{-1}$, dok koncentracija dobivena za Cu iznosila je $2775 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Ključne riječi: modificirana elektroda, voltametrija, zaslađivači, metali

Rad sadrži: 38 stranice, 20 slika, 7 tablica, 19 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Doc. dr. sc. Maša Buljac - predsjednik
2. Doc. dr. sc. Ivana Šmoljko - član
3. Doc. dr. sc. Ivana Škugor Rončević - član - mentor

Datum obrane: 24. rujan 2018.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split

Faculty of chemistry and technology

Undergraduate Study in Chemistry

Scientific area: Natural Sciences

Scientific field: Chemistry

Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. III

Mentor: Ivana Škugor Rončević, PhD, assistant prof.

Technical assistance: Nives Vladislavić, PhD

APPLICATION OF MODIFIED CARBON ELECTRODE FOR VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF HEAVY METALS IN SWEETENERS

Ana Boban, 311

Abstract:

The most common occurrence of heavy metals in honey comes in mining and industrial centers and near frequent roads where heavy metals are absorbed into the soil, atmosphere and water and consequently into the plants. Also, the lack of an element in soil, rocks or water will have an impact on the mineral composition of the plant. Therefore, honey can serve as an excellent bioindicator of heavy metals contamination of the environment and considering the content of other elements to be an indication of the geographical origin of honey. In this final work, concentrations of heavy metals (Cu, Pb) in sweeteners (honey and sugar) were determined using the standard addition method and voltammetric measurements. For this purpose, the use of hydroxyapatite (HAp) as a modifier on glassy carbon electrodes (GC) was investigated. Along with the working Hap / GC electrode, we used reference (Ag / AgCl) and (platinum plate) counter electrodes. By using measurement techniques, cyclic and square wave voltammetry, we have come up with the necessary information that serves us to determine the metal. Also, by using standard addition method, and using square wave voltammetry with optimized measurement parameters, copper and lead were determined in honey and sugar.

The obtained Pb concentration in sugar was $823.7 \mu\text{g kg}^{-1}$, while the concentration obtained for Cu also in sugar was $693.7 \mu\text{g kg}^{-1}$.

The obtained concentration for Pb in honey was $587.5 \mu\text{g kg}^{-1}$, while the concentration obtained for Cu was $2775 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Keywords: modified electrode, voltammetry, metals, sweeteners

Thesis contains: 38 pages, 20 figures, 7 tables, 19 references

Original in: Croatian

Defence committee:

- | | |
|--|--------------|
| 1. Maša Buljac, PhD, assistant prof. | chair person |
| 2. Ivana Šmoljko, PhD, assistant prof. | member |
| 3. Ivana Škugor Rončević, PhD, assistant prof. | supervisor |

Defence date: September 24th, 2018.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

Završni rad je izrađen u Zavodu za opću i anorgansku kemiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Ivane Škugor Rončević, u razdoblju od travnja do rujna 2018. godine.

Prije svega zahvaljujem svojim roditeljima i prijateljima koji su mi bili bezuvjetna podrška kroz čitavo moje školovanje i bez kojih ne bih bila ovdje gdje jesam.

Također, zahvaljujem se svim svojim profesorima i ostalim djelatnicima fakulteta te kolegama koji su bili moji suputnici na ovom trogodišnjem putovanju i koji su sa mnom dijelili dobre i loše trenutke.

I za kraj, veliko hvala mojoj mentorici, doc.dr.sc. Ivani Škugor Rončević koja je uvijek imala strpljenja i volje za mene. Posebno hvala i dr.sc. Nives Vladislavić na pomoći pri izvođenju eksperimenta. Zahvaljujem Vam se na prenesenom znanju, trudu i zajedničkom provedenom vremenu. Od srca, hvala za sve!

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

1. Pripremiti realne uzorke za postupak mjerenja
2. Pripremiti otopine standarda
3. Pripremiti GC elektrodu za mjerenje (mehanička obrada)
4. Pripremiti film: elektrodeponirati hidroksiapatit na radnu elektrodu (GC)
5. Odrediti sadržaj teških metala (Cu i Pb) u zaslađivačima
6. Usporediti dobivene koncentracije s vrijednostima koje su propisane pravilnikom
7. Prokomentirati uporabu modificirane elektrode i pouzdanost tehnike

SAŽETAK

Do pojave teških metala u medu dolazi najčešće u rudarskim i industrijskim središtima i u blizini frekventnih prometnica, gdje se teški metali apsorbiraju u tlo, atmosferu i vodu te posljedično u biljke. Također, nedostatak pojedinog elementa u tlu, stijenama ili vodi imaće utjecaj na mineralni sastav biljke. Stoga, med može služiti kao izvrstan bioindikator onečišćenja okoliša teškim metalima te obzirom na sadržaj drugih elemenata biti pokazatelj zemljopisnog podrijetla meda.

U ovom završnom radu određivane su koncentracije teških metala (Cu, Pb) u zaslađivačima (medu i šećeru) pomoću metode standardnog dodatka i voltametrijskih mjerenja. U tu svrhu ispitivana je uporaba hidroksiapatita (HAp) kao modifikatora na elektrodi od staklastog ugljika (GC). Uz radnu HAp/GC elektrodu, korištene su referentna (Ag/AgCl) i protuelektroda (platinska pločica). Pomoću mjernih tehnika, cikličke i pravokutnovalne voltametrije, dobiveni su potrebni podaci koji su nam poslužili za određivanje metala.

Metodom standardnog dodatka te primjenom pravokutnovalne voltametrije uz optimirane parametre mjerenja određivane su koncentracije bakra i olova u medu i šećeru.

Dobivena koncentracija Pb u šećeru iznosila je $823,7 \mu\text{g kg}^{-1}$ dok koncentracija dobivena za Cu također u šećeru iznosila je $693,7 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Dobivena koncentracija za Pb u medu iznosila je $587,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ dok koncentracija dobivena za Cu iznosila je $2775 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Ključne riječi: modificirana elektroda, voltametrija, zaslađivači, metali

SUMMARY

The most common occurrence of heavy metals in honey comes in mining and industrial centers and near frequent roads where heavy metals are absorbed into the soil, atmosphere and water and consequently into the plants. Also, the lack of an element in soil, rocks or water will have an impact on the mineral composition of the plant. Therefore, honey can serve as an excellent bioindicator of heavy metals contamination of the environment and considering the content of other elements to be an indication of the geographical origin of honey. In this final work, concentrations of heavy metals (Cu, Pb) in sweeteners (honey and sugar) were determined using the standard addition method and voltammetric measurements. For this purpose, the use of hydroxyapatite (HAp) as a modifier on glass-carbon electrodes (GC) was investigated. Along with the working HAp/GC electrode, we used reference (Ag/AgCl) and (platinum plate) counter electrodes. By using measurement techniques, cyclic and square wave voltammetry, we have come up with the necessary information that serves us to determine the metal. Also, by using standard addition method and using rectangular voltammetry with optimized measurement parameters, copper and lead were determined in honey and sugar.

The obtained Pb concentration in sugar was $823.7 \mu\text{g kg}^{-1}$, while the concentration obtained for Cu also in sugar was $693.7 \mu\text{g kg}^{-1}$.

The obtained concentration for Pb in honey was $587.5 \mu\text{g kg}^{-1}$, while the concentration obtained for Cu was $2775 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Keywords: modified electrodes, voltammetry, sweeteners, metals,

SADRŽAJ

UVOD.....	1
1. OPĆI DIO.....	2
1.1. Zasladivači.....	4
1.1.1. Med - osnovne karakteristike.....	4
1.1.2. Šećer - osnovne karakteristike.....	5
1.2. Teški metali u okolišu.....	6
1.2.1. Bakar.....	6
1.2.2. Olovo.....	7
1.2.3. Dozvoljene koncentracije olova i bakra u medu i šećer.....	8
1.3. Mjerne tehnike.....	8
1.3.1. Voltometrija.....	8
1.3.1.1. Ciklička voltometrija.....	8
1.3.1.2. Pravokutnovalna voltometrija.....	11
1.3.2. Kronoamperometrija.....	12
1.3.3. Infracrvena spektroskopija.....	12
1.3.3.1. Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom.....	13
1.4. Hidroksiapatit.....	14
1.5. Elektrode.....	15
2. EKSPERIMENTALNI DIO.....	16
2.1. Kemikalije i otopine.....	17
2.2. Priprava otopina standarda.....	17
2.3. Postupak priprave uzorka.....	18
2.4. Priprava radne elektrode.....	18
2.4.1. Elektrodepozicija hidroksiapatita na radnu elektrodu.....	19
2.5. Priprema ćelije za elektrokemijsko mjerenje.....	19
2.6. Metoda određivanja.....	19

2.7. Aparatura.....	20
3. REZULTATI I RASPRAVA	22
3.1. Elektrokemijsko taloženje hidroksiapatita	23
3.2. Ciklička voltometrija.....	24
3.2.1. Ciklički voltamogram GCE i HAp/GCE u elektrolitu.....	24
3.3. FTIR spektar površine radne elektrode	25
3.4. Primjena HAp filma/ GCE u svrhu elektroanalitičkog određivanja bakra i olova	26
3.4.1. Elektroanalitičko određivanje metala u zaslađivačima.....	29
4. ZAKLJUČAK.....	34
5. LITERATURA	36

UVOD

Čovjek u početku nije značajno utjecao na okoliš. Porast stanovništva, intenzivna industrijalizacija i urbanizacija uvjetovali su pozitivne, ali i negativne učinke na sredinu u kojoj živimo. Prije svega se ističe zagađenje površina i vodotoka. Razvoj industrije, uporaba ugljena, kasnije i uporaba nafte i naftnih derivata povećava udio onečišćenja. Nagomilavanje onečišćivača (teški metali, radionuklidi, organski onečišćivači, itd.) opterećuje ekosustav. Prodiranje zagađivača u tlo ima negativan učinak na različita područja ljudskih djelatnosti.^[1]

Među tvarima koje negativno utječu na okoliš spadaju i teški metali. U tu grupu se ubrajaju oni metali i metaloidi koji mogu svojim djelovanjem biti otrovni za čovjeka i okoliš. Neki od njih su neophodni, ali u malim količinama za normalan rast i razvoj biljaka (Co, Cu, Fe, Mn, Mo i Zn) dok fiziološka funkcija nekih nije poznata (Hg, Pb, Cd, As).^[1]

Cilj ovog rada bio je odrediti koncentraciju odabranih teških metala, bakra (Cu) i olova (Pb), u zaslađivačima (šećeru i medu) voltometrijskim tehnikama pomoću elektrodeponiranim hidroksiapatitom (HAp, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) modificirane elektrode. Modifikacija hidroksiapatitom se pokazala vrlo osjetljivom i pouzdanom za detekciju odabranih analita. Hidroksiapatit je postao vrlo zanimljiv radi svojih kiselobaznih svojstava, sposobnosti izmjene iona, sposobnosti adsorpcije i svoje otvorene strukture. Šećer je jedan od najzastupljenijih ugljikohidrata današnjice koji se dobiva iz šećerne repe (*Beta vulgaris var. saccharifera*) i trske (*Saccharum officinarum*). Ima veliku ulogu u prehambrenoj industriji, dodaje se namirnicama za sladak okus, boju i miris. Med, jedan od glavnih pčelinjih proizvoda, poznat je od davnina. Koristio se u prehrambene i ljekovite svrhe. Danas je vrlo cijenjen i zastupljen proizvod. Za med možemo reći da je hrana bogova i jedan od najsavršenijih proizvoda prirode.^[2]

1. OPĆI DIO

1.1. Zasladivači

1.1.1. Med – osnovne karakteristike

Med je zoološkog podrijetla. Sladak, gust, viskoznan, tekući ili kristaliziran proizvod što ga medonosne pčele (*Apis mellifera*) proizvode od nektara cvjetova medonosnih biljaka ili sekreta živih dijelova biljaka ili izlučevina kukaca koji sišu na živim dijelovima biljaka (medna rosa).

Pčele skupljaju nektar, dodaju mu vlastite specifične tvari, pohranjuju, izdvajaju vodu i odlažu u stanice saća do sazrijevanja. Pčele skupljeni nektar prerađuju u svom mednom mješuru. Pomoću enzima pretvaraju saharozu iz nektara u glukozu i fruktozu, a višak vode uklanja se prozračivanjem košnice i prerađivanjem izlučevinama žlijezda pčela (hidrolitički enzimi).^[2]

Postoje brojne podjele, ali jedna o važnijih je podjela prema podrijetlu. Med se dijeli na:

- Nektarni ili cvjetni med i
- Medljikovac, medun ili šumski med.

Na Slici 1 prikazan je med dobiven od nektra cvijeća. Cvjetove oprašuju kukci koji izlučuju nektar. Nektar sadrži od 28 do 97 % vode, od 3 do 72 % šećera, isparljive spojeve, organske kiseline, dušikove spojeve, vitamin, tvari boje i zrnca peludi.^[1]

Medljikovac je med dobiven uglavnom od izlučevina kukaca koji žive na živim dijelovima biljaka ili od sekreta živih dijelova biljaka. Sadrži od 5 do 18 % suhe tvari, tj. od 90 do 95 % šećera, aminokiseline, organske kiseline, proteine, kloride, fosfate, kalij, magnezij, sterole, vitamine i enzime.^[3]

Med je bioindikator onečišćenja okoliša, jer se toksični elementi nalaze u nektru biljaka koji su tu dospjeli zrakom, vodom i kroz tlo, a preko nektra u med. Zagađeni okoliš s jednim ili više toksičnih elemenata može imati i toksikološki utjecaj na potrošača meda.



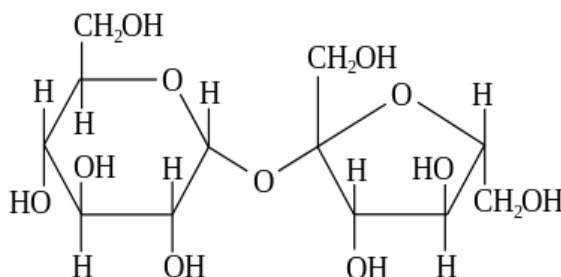
Slika 1. Razne vrste cvjetnog meda.

(Izvor: S. Tanković i suradnici, 2017)^[3]

1.1.2. Šećer - osnovne karakteristike

Šećer ili saharoza je disaharid, $C_{12}H_{22}O_{11}$, u kojem je molekula glukoze povezana s molekulom fruktoze (Slika 2). Najvažniji je od svih šećera ili saharida, poznat i kao konzumni šećer. Tvori velike, bezbojne, monoklinske kristale. Slatkog je okusa, lako se otapa u vodi i velike je hranjive vrijednosti. Pri temperaturi od 160 °C tali se bez promjene u boji u bistru tekućinu, a pri 200 °C prelazi u smeđe obojen karamel. Djelovanjem kiselina ili enzima invertaze molekula saharoze hidrolitički se cijepa na sastavne dijelove: glukozu i fruktozu, a dobivena se smjesa naziva invertni šećer. Med je prirodni invertni šećer.

Šećer je prirodni kemijski spoj koji je, kao i drugi disaharidi, raširen u slatkim sokovima biljaka. Proizvodnja šećera sastoji se od ekstrakcije iz biljnih šećernih sirovina i njihovog pročišćavanja. Dok se voćni i groždani šećer, zbog svoje slabe sposobnosti kristalizacije, proizvode u skromnim količinama. ^[2]



Slika 2. Kemijska struktura saharoze.

(Izvor: <https://hr.wikipedia.org/wiki/%C5%A0e%C4%87eri>)

1.2. Teški metali u okolišu

Pojam teški metali obuhvaća metale čija je gustoća veća od 5 g cm^{-3} . U esencijalne teške metale spadaju oni koji su neophodni za mnogobrojne funkcije u ljudskom organizmu kao što su bakar (Cu), cink (Zn), mangan (Mn), željezo (Fe), nikal (Ni), krom (Cr) i kobalt (Co). Teški metali poput arsena (As), kadmija (Cd), olova (Pb) ili žive (Hg) su neesencijalni, jer nemaju nikakvu poznatu fiziološku funkciju u organizmu, ali je dokazano da u većim količinama pokazuju otrovno djelovanje. U Tablici 1 prikazane su grane industrije koje emitiraju teške metale i time postaju najčešći izvor kontaminacije tla i vode.^[1]

Tablica 1. Prikaz grana industrija koje emitiraju teške metale^[1]

Industrijska grana	Cd	Cr	Cu	Hg	Pb	Ni	Sn	Zn
Papirna industrija	-	+	+	+	+	+	-	-
Petrokemija	+	+	-	+	+	-	+	+
Proizvodnja klora	+	+	-	+	+	-	+	+
Industrija gnojiva	+	+	+	+	+	+	-	+
Željezare i čeličane	+	+	+	+	+	+	+	+

1.2.1. Bakar

Bakar (*lat. Cuprum, Cu*) je prijelazni metal i kemijski element 11. skupine periodnog sustava. Metal svijetle crvenosmeđe boje, kubično plošno centrirane kristalne rešetke. Nije polimorfan. U čistom stanju relativno je mekan, ali vrlo žilav i rastezljiv. Lako se kuje, valja i izvlači u vrlo tanke žice. Može se meko i tvrdo lemiti i zavarivati. Odlično provodi električnu struju i toplinu. Relativno postojan na zraku, a izlaganjem utjecaju atmosferilija dobiva zeleno – bijelu patinu koja ga štiti od daljne oksidacije.^[4]

U Zemljinoj kori je zastupljen samo s 1 ppm, ali zato postoje velika nalazišta iz kojih se relativno lako eksploatira. Bakra ima u sastavu granita, bazalta, metamorfnih stijena i u

morskoj vodi.^[4] Najčešće se dobiva iz ruda u kojima mu je koncentracija mala (2-5 %), stoga se mora prethodno koncentrirati uklanjanjem jalovine.

Bakar kod čovjeka može uzrokovati iritaciju sluznice, oštećenje kapilara, jetre i bubrega.

1.2.2. Olovo

Olovo (*lat. Plumbum, Pb*) je kemijski element ugljikove, 14. skupine periodnog sustava elemenata. Jedan je od najranije poznatih elemenata. Plavkasto-sivi metal bez posebnog okusa i mirisa koji se ubraja u skupinu teških metala. Sjajan metal koji na zraku brzo posivi stvaranjem zaštitnog oksidno-karbonatnog sloja. Vrlo je mekan pa se može deformirati rukama i rezati nožem. Zbog male tvrdoće i velike rastezljivosti lako se savija. U odnosu na druge metale relativno je loš vodič električne struje i topline.

U prirodi se pojavljuje samorodno i u mnogobrojnim spojevima. Nalazi se u granitima, bazaltima, pijescima i otopljen u morskoj vodi. Najrasprostraniji mineral je olovni sjajnik, PbS, galenit.^[4]

Za dobivanje olova upotrebljavaju se primarne i sekundarne rude. Kao primarne sirovine u glavnini se koriste sulfidne rude koje sadrže galenit. U sekundarne rude ubrajamo istrošene olovne akumulatore i različite industrijske otpatke kao što su otpaci valjanog olova od kojeg su bile građene kemijske aparature te otpaci olovnih legura.

Olovo uneseno u ljudsko tijelo akumulira se prvenstveno u koštanom tkivu. Kompleksno se veže na okso-skupine enzima i tako ometa korake sinteze hemoglobina i metabolizam porfirina. Također ometa i sintezu bjelančevina i vrlo štetno djeluje na središnji i periferni živčani sustav. Trovanja olovom poznata su već od starog vijeka, a u novijoj povijesti moguće je naći veliki broj slučajeva trovanja ovim metalom i njegovim spojevima.^[4]

Prekoračenje koncentracije može dovesti do ozbiljnih zdravstvenih problema čak i sa smrtnim posljedicama. Olovo kod čovjeka uzrokuje poremećaje kao što su umor, nesanica, gubitak sluha, gubitak težine, gastroenteritis i degeneraciju perifernih živaca.

1.2.3. Dozvoljene koncentracije olova i bakra u medu i šećer

U Tablici 2 prikazane se maksimalno dopuštene koncentracije teških metala u medu i šećeru.^[5]

Tablica 2. Dopusštene maksimalne količine metala u proizvodu

Proizvod	Cu	Pb
Med	2 000 $\mu\text{g kg}^{-1}$	300 $\mu\text{g kg}^{-1}$
Bijeli šećer	1 000 $\mu\text{g kg}^{-1}$	500 $\mu\text{g kg}^{-1}$

1.3. Mjerne tehnike

1.3.1. Voltometrija

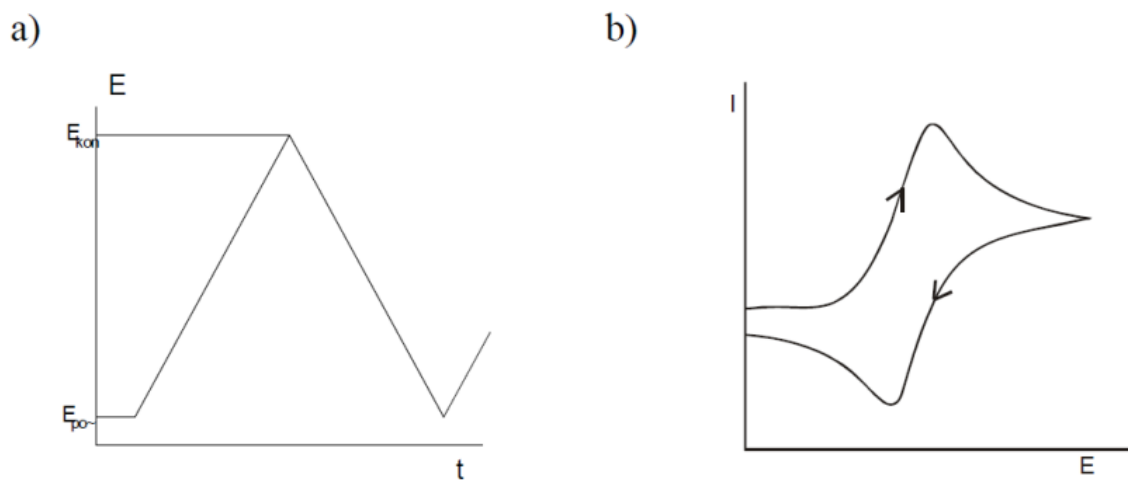
Voltometrija spada u skupinu elektroanalitičkih postupaka u kojima je signal pobude električni napon. Signal odziva je struja ćelije, koja se mjeri kao funkcija narinutog napona. Otuda i naziv voltometrija kao skraćenica za volt- amper- metrija. Oblik i vremenska ovisnost amplitude signala pobude može biti različit.^[6]

Koristi se za kvantitativnu analizu tvari u vodenom i ne vodenom mediju, za istraživanje redoks potencijala ili kinetike. Razvijeno je više vrsta elektroanalitičkih metoda.

1.3.1.1. Ciklička voltometrija

Ciklička voltometrija (eng. Cyclic voltammetry, CV) je elektroanalitička metoda mjerenja. Signal pobude je vremenski linearno promjenjiv potencijal radne elektrode, a signal odziva struja (Slika 3). Jakost struje mjeri se u ovisnosti o narinutom naponu. Potencijal se prvo mijenja u jednom smjeru od početnog potencijala do postavljenog maksimalnog potencijala, a zatim u suprotnom do početne vrijednosti i tako u krug, u

jednom ili više ciklusa. Promjena potencijala odvija se određenim brzinama i to najčešće u rasponu od 2 mV s^{-1} do 500 mV s^{-1} . Zato se ovom metodom mogu ispitivati spore, ali i vrlo brze elektrodne reakcije. Mjerenjem se dobije ciklički voltamogram, graf na kojem je prikazana ovisnost dobivene struje o potencijalu radne elektrode. CV se provodi u troelektrodnom sustavu u otopini elektrolita. Referentna elektroda tijekom mjerenja ima stalan potencijal i pomoću nje se kontrolira potencijal radne elektrode. Protuelektroda omogućuje tok struje od izvora kroz otopinu do radne elektrode čiji se potencijal mijenja linearno s vremenom. Može se koristiti za određivanje koncentracije analizirane tvari, difuzijskog koeficijenta i formalnog (standardnog) redukcijskog potencijala analita, elektronske stehiometrije sustava, proučavanje oksidacijsko-redukcijskih procesa u različitim sredstvima, proučavanje adsorpcijskih procesa na površinama elektroda i kinetike prijenosa elektrona.^[7]



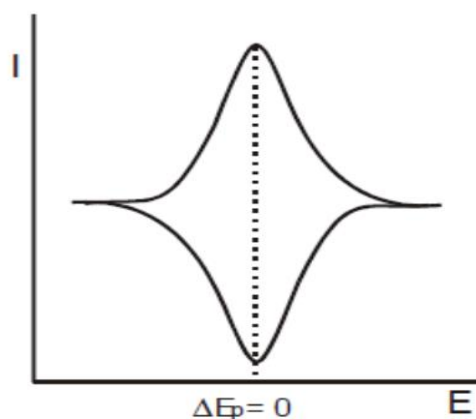
Slika 3. Signal pobude (a) i odziva (b) u CV.

(Izvor: I. Škugor Rončević, 2013)^[7]

Cikličkom voltametrijom može se odrediti i reverzibilnost procesa. Prema brzini prijenosa naboja procesi koji se za vrijeme mjerenja cikličkom voltametrijom odvijaju na elektrodi mogu se svrstati u tri skupine:

- Reverzibilni procesi – prijenos naboja je puno brži od difuzije pa se na površini elektrode u svakom trenutku uspostavlja ravnoteža dana Nernstovom jednažbom. Struja ovisi o dopremi reaktanata do površine elektrode.
- Ireverzibilni procesi – prijenos naboja je jako spor u usporedbi s procesom difuzije. Izmjena naboja je spora pa struja slijedi Butler-Volmerovu kinetiku.
- Kvazireverzibilni procesi – kod malih brzina promjena potencijala ponašaju se reverzibilno, a porastom brzine pokazuju odstupanje od reverzibilnog ponašanja.

CV se koristi i za proučavanje adsorbiranih tvari na površinama elektrode kao i za karakterizaciju mono- i višemolekularnih slojeva. Dobiveni ciklički voltamogram predstavlja “površinski val” i prikazan je na Slici 4. Kod površinskih reakcija visina strujnog vrha linearno je ovisna o brzini promjene potencijala. Potencijali strujnih vrhova, kao i oblici anodnog i katodnog dijela voltamograma identični su u idealnom slučaju, pri brzom prijenosu elektrona, a $\Delta E_p = 0$. Ako je prijenos naboja spor u jednoj od reakcija (anodnoj ili katodnoj) doći će do pomaka potencijala strujnih vrhova što rezultira s $\Delta E_p > 0$.^[7]

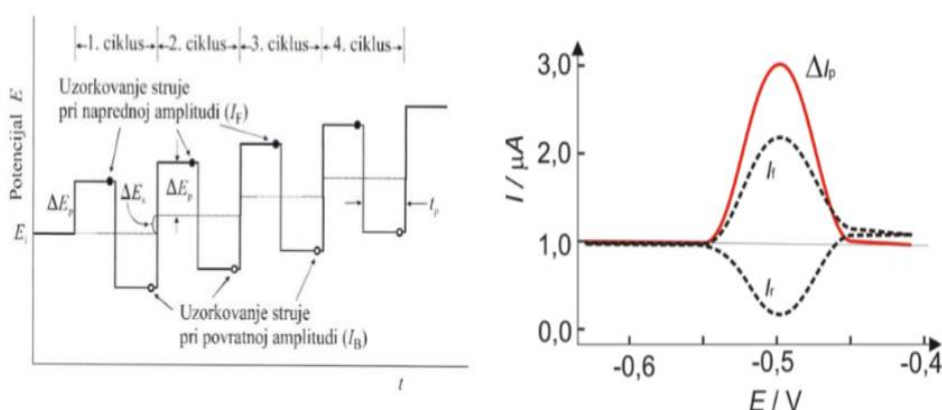


Slika 4. Prikaz cikličkog voltamograma za reverzibilni val elektroaktivnog sloja na elektrodi.

(Izvor: I. Škugor Rončević, 2013)^[7]

1.3.1.2. Pravokutnovalna voltametrija

Pravokutnovalna voltametrija (eng. Square wave, SW) dobila je naziv upravo na osnovu signala voltametrije, s pravokutnim izmjeničnim signalom pobude koji je stubasto rastući odnosno padajući. Prednost ove metode je njezina brzina i to što voltamogram može biti snimljen za nekoliko sekundi. U novije vrijeme se koristi u kvantifikaciji i detekciji ionskih i molekulskih vrsta. Razlog tome je da frekvencije od 1 do 100 ciklusa u sekundi dopuštaju upotrebu iznimno brzih promjena potencijala, čime je skraćeno vrijeme analize. Za vrijeme svakog ciklusa, struju je potrebno mjeriti dva puta i to na početku polaznog pulsa i na kraju pulsa suprotnog smjera. Ovu tehniku je moguće koristiti za istraživanje mehanizma prijenosa elektrona, iz razloga što je veličina pulsa za reverzibilnu reakciju redukcije dovoljna da se oksidacija produkta, koji se stvorio na polaznom pulsu, dogodi za vrijeme pulsa suprotnog smjera. Anodnu struju proizvodi povratni puls, dok katodnu proizvodi polazni puls i razlika ovih dviju struja razmjerna je koncentraciji analita u otopini. Upravo razlika ovih dviju struja predstavlja ukupnu struju, $\Delta I_p = I_F - I_B$, koja se očitava u amperima "A" (Slika 5). Signal je određen amplitudom pravokutnog naponskog impulsa (ΔE_p) u odnosu na trajanje naponskog impulsa (širinu stube, t_p) i potencijalom pomaka (ΔE_s). Trajanje naponskog impulsa se definira frekvencijom impulsa: $f = 1/2 t_p^{-1}$. Ova metoda je poprilično precizna i točna i moguće ju je koristiti za analizu niza realnih uzoraka.^[8,9]

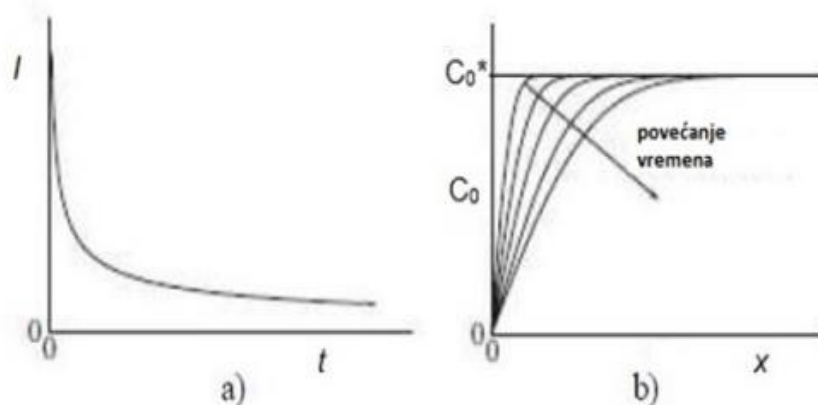


Slika 5. Oblik naponskog signala pravokutnovalnoj voltametriji: prikaz pobude (lijevo) i odziva (desno) elektrokemijskog sustav.

(Izvor: A. Lebo, 2013)^[9]

1.3.2. Kronoamperometrija

Kronoamperometrija (eng. Chronoamperometry, CA) je elektrokemijska tehnika u kojoj se potencijal radne elektrode drži stalnim, a rezultirajuća struja iz faradejskih procesa (koji se odvijaju na elektrodi) se nadzire kao funkcija vremena. Kao i kod ostalih mjernih metoda kod kojih se koristi impulsni signal pobude, kronoamperometrija stvara velike struje koje eksponencijalnom zakonitošću padaju tijekom vremena. U slučaju kad je potencijal E_2 dovoljno velik, tj. kad se nalazi u području graničnih struja difuzije, koncentracija reaktanta na elektrodi pada na nulu. Dobiven strujni tranzijent i koncentracijski profil prikazani su na Slici 6.^[7]



Slika 6. a) Strujni tranzijent, b) Koncentracijski profil u ovisnosti o vremenu.

(Izvor: I. Škugor Rončević, 2013)^[7]

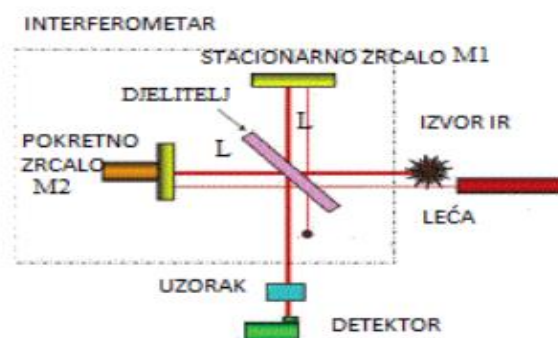
1.3.3. Infracrvena spektroskopija

U infracrvenoj (IR) spektroskopiji zračenje prolazi kroz uzorak. Dio infracrvenog zračenja uzorak absorbira, a dio zračenja kroz uzorak prolazi (transmitancija). Rezultirajući infracrveni spektar predstavlja “*fingerprint*“ uzorka s absorpcijskim vrhovima koji odgovaraju frekvenciji vibracija veza između atoma koje materijal sadrži.

Infracrvena spektroskopija se koristi za identifikaciju (kvalitativna analiza) različitih materijala.

1.3.3.1. Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom

Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR) je metoda u kojoj se sve infracrvene frekvencije mjere istovremeno što omogućuje interferometar. Interferometar pomoću djelitelja ulaznu infracrvenu zraku cijepa na dvije zrake (Slika 7). Prva se zraka reflektira od fiksnog ravnog zrcala, a druga se zraka daleko od djelitelja reflektira od ravnog zrcala kojem mehanizam omogućava pomake unutar vrlo kratkih udaljenosti (nekoliko milimetara). Te dvije zrake se prilikom ponovnog susreta na djelitelju sjedinjuju. Budući da je put prve zrake fiksirana udaljenost i budući da se smjer druge zrake konstantno mijenja kao posljedica pomicanja zrcala, signal koji izlazi iz interferometra je rezultat interferencije ovih dviju zraka međusobno i zove se interferogram. U interferogramu svaki izmjereni podatak (funkcija mijenjanja položaja zrcala) čini signal i sadrži informacije sa svih infracrvenih frekvencija koje dolaze iz izvora. Zraka zatim dolazi do uzorka koji zraku ili propušta (transmitira) ili reflektira ovisno o tipu analize. Zraka na kraju dolazi do detektora koji mjeri točno određeni signal interferograma. Izmjereni digitalizirani signal dolazi do kompjutera gdje se pomoću Fourierove transformacije dekodira.^[7]



Slika 7. Konstrukcija FTIR spektrometra.

(Izvor: https://en.wikipedia.org/wiki/Fourier-transform_infrared_spectroscopy)

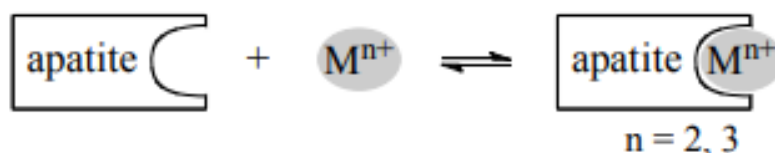
1.4. Hidroksiapatit

Kalcijev fosfat je naziv za porodicu mineralnih spojeva koji sadrže ione kalcija (Ca^{2+}) zajedno s ionima ortofosfata (PO_4^{3-}), metafosfata ili pirofosfata ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$), te ponekad iona vodika ili hidroksida.

Sintetički hidroksiapatit (HAp, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) je posebno atraktivan materijal koji je tijekom protekla dva desetljeća dobio značajnu pažnju kao materijal za izradu implantata kostiju i zuba zbog svoje kemijske sličnosti s prirodnom kosti. Također je od velike važnosti u mnogim industrijskim primjenama, kao što su kataliza, ionska izmjena i uklanjanje metala.^[10]

Kosti sadrže oko 70 % hidroksiapatita, minerala kalcijevog fosfata. Zubna caklina je sastavljena od gotovo 90 % hidroksiapatita. Hidroksiapatitni premazi upotrebljavaju se između ostaloga i kako bi se smanjila brzina korozije te povećala biokompatibilnost raznih legura (modifikacija površine legura). Također, hidroksiapatit se može elektrodeponirati na elektrodu, u ovom slučaju na elektrodu od staklastog ugljika (eng. Glassy carbon, GC). GC modificirana hidroksiapatitom pokazala se vrlo osjetljivom i pouzdanom za detekciju odabranih analita. Hidroksiapatit ima svojstvo upijanja (“spužva“, Slika 8), privlači određeni analit (npr. teške metale, kao što su Cu i Pb) u svrhu povećavanja detekcijske moći elektrode kako bi se omogućilo određivanje vrlo niskih koncentracija analita.^[8,11]

Radno područja GC elektrode modificirane hidroksiapatitom, HAp proučavano je pomoću cikličke voltametrije. FTIR je korišten kako bi se dobila potvrda uspješnog formiranja filma HAp.^[12]



Slika 8. Prikaz reakcije metala s HAp-om (“svojstvo spužve”).

(Izvor: <https://en.wikipedia.org/wiki/Hydroxyapatite>)^[18]

1.5. Elektrode

- **Radna elektroda**

Radna elektroda je napravljena od staklastog ugljika. Staklasti ugljik je prvi put laboratorijski dobiven iz celuloze. Naime, radi se o materijalu koji kombinira osobine stakla i keramike s osobinama grafita i upravo zbog takvih osobina je pronašao svoje mjesto u mnogim granama industrije. Često se upotrebljava u elektrokemiji, iz razloga što je otporan na visoke temperature, kemikalije i nepropusan za plinove i tekućine.^[13]

- **Referentna elektroda (Ag/AgCl)**

Potencijal ove elektrode ne mijenja se tijekom provođenja elektroanalitičkog postupka. Referentna elektroda služi kao standard prema kojem mjerimo potencijal druge elektrode ili prema kojem reguliramo vanjski napon koji dovodimo na radnu elektrodu. Ima poznati potencijal koji je u potpunosti neovisan o koncentraciji elektroaktivne vrste. Elektroda da bi bila idealna, treba imati stalan i poznat potencijal koji je neovisan o sastavu otopine. Ne smije doći do promjene potencijala pri prolazu malih struja i izvedbe trebaju biti jednostavne.^[13]

- **Protuelektroda (Pt)**

U elektrokemijskom članku, ova elektroda je smještena nasuprot radnoj elektrodi kako bi se dobilo simetrično električno polje. Služi za zatvaranje strujnog kruga s radnom elektrodom i tako omogućuje protok struje tijekom elektrokemijskog ispitivanja.^[13]

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. Kemikalije i otopine

Pri izradi ovoga rada korištene su sljedeće kemikalije i otopine:

- Pripravljena otopina standarda Cu^{2+} , $\gamma = 0,001 \text{ g L}^{-1}$,
- Pripravljena otopina standarda Pb^{2+} , $\gamma = 0,01 \text{ g L}^{-1}$,
- Originalna otopina standarda Pb^{2+} , $\gamma = 0,1 \text{ g L}^{-1}$, "Merck", Darmstadt,
- Ultračista voda,
- Vodikov peroksid (H_2O_2), $M = 34,01 \text{ g mol}^{-1}$, "Kemika", Zagreb,
- Dušična kiselina (HNO_3), $c = 0,5 \text{ mol dm}^{-3}$, $M = 63,01 \text{ g mol}^{-1}$, "Kemika", Zagreb,
- Otopina kalijeva nitrata (KNO_3), $c = 0,2 \text{ mol dm}^{-3}$, $M = 101,103 \text{ g mol}^{-1}$, "Kemika", Zagreb,
- Otopina natrijeva hidroksida (NaOH), $c = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}$, $M = 39,99 \text{ g mol}^{-1}$, "Kemika", Zagreb,
- Otopina kalijevog hidroksida (KOH , 25%), $M = 56,11 \text{ g mol}^{-1}$, "Kemika", Zagreb,
- Bakrov nitrat dihidrata ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \times 3 \text{ H}_2\text{O}$), $M = 160,57 \text{ g mol}^{-1}$, "Kemika", Zagreb,
- Otopina kalcijevog nitrata tetrahidrata ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$), $c = 0,5 \text{ mol dm}^{-3}$, $M = 236,15 \text{ g mol}^{-1}$, "Kemika", Zagreb,
- Otopina amonijevog dihidrogenfosfata ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), $c = 0,04 \text{ mol dm}^{-3}$, $M = 132,06 \text{ g mol}^{-1}$, "Kemika", Zagreb.

Sve korištene kemikalije bile su visoke analitičke (p.a.) čistoće 99,99 %.

2.2. Priprava otopina standarda

- **Otopina standarda Cu^{2+}**

Pri pripravi standardne otopine, otopljeno je 0,038 g krutine bakrovog nitrata dihidrata ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \times 3 \text{ H}_2\text{O}$) u 100 mL ultračiste vode. Dobivena je otopina koncentracije 0,1 g L^{-1} . Zatim je napravljeno razrjeđenje na sljedeći način: uzeto je 250 μL otopine Cu^{2+} ($\gamma = 0,1 \text{ g L}^{-1}$), preneseno u tikvicu od 25 mL i nadopunjeno do oznake. Razrijeđeno je kako bi koncentracija bila u nižem koncentracijskom području, $\gamma = 0,001 \text{ g L}^{-1}$.

- **Otopina standarda Pb²⁺**

Korištena je originalna otopina standarda Pb²⁺ ($\gamma = 0,1 \text{ g L}^{-1}$) dobavljača "Merck" (Darmstadt, Njemačka). Originalnu otopinu smo razrijedili na sljedeći način: uzet je alikvot od 10 mL i prenesen je u tikvicu od 100 mL koja je nadopunjena do oznake sa ultračistom vodom. Novonastala otopina ima masnenu koncentraciju 0,01 g L⁻¹.

2.3. Postupak pripreve uzorka

U ovom radu su ispitivani sljedeći realni uzorci:

- konzumni bijeli šećer u papirnoj ambalaži (1 kg), tvornica šećera "Viro" i
- med sa područja Splitsko - Dalmatinske županije (Cista Provo).

Za pripravu uzorka odvagano je 2 g realnog uzorka. U odvagu je dodano 5 mL koncentrirane dušične kiseline i smjesa je ostavljena 24 h u digestoru. Nakon toga su uzorci zagrijavani na 160 °C u vremenskom razdoblju od 30 minuta. Porculanski lončići zajedno sa smjesom stavljeni su natrag u digestor uz dodatak 8 mL H₂O₂ i 2 mL HNO₃. Nakon ponovnog zagrijavanja otopine se razbistre. Uzet je alikvot od 10 mL pripremljenog uzorka, namješten je pH otopine na 4 uz pomoć KOH. Novonastala otopina se prenijela u okruglu tikvicu sa ravnim dnom od 100 mL koja se nadopunila do oznake sa otopinom KNO₃ ($c = 0,2 \text{ mol dm}^{-3}$). Zatim se pristupilo mjerenju.

2.4. Priprava radne elektrode

Radna elektroda je elektroda od staklastog ugljika (GC) promjera 2 mm. Baza valjka ($A = 0,0314 \text{ cm}^2$) je u direktnom kontaktu s elektrolitom, dok je ostatak izoliran teflonom.

Mehanička obrada površine elektrode uključuje brušenje metalografskim brusnim papirima različite finoće te poliranje pomoću brusnih pasti, finoće 1 i 0,05 mikrona (Buhler Micropolish Alpha Alumina). Nakon pravilnog brušenja i poliranja, elektroda je isprana destiliranom vodom i odmašćena u ultrazvučnoj kupelji u etilnom alkoholu te se na kraju osušila.

2.4.1. Elektrodepozicija hidroksiapatita na radnu elektrodu

Na površinu GC elektrode je poslije uobičajne mehaničke obrade i odmašćivanja elektrodeponiran hidroksiapatit. Elektrodepozicija hidroksiapatitata provedena je u otopini za elektrodepoziciju sastava:

- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$, $V = 50,0 \text{ cm}^3$, $c = 0,5 \text{ mol dm}^{-3}$,
- $\text{NH}_4 \text{H}_2\text{PO}_4$, $V = 50,0 \text{ cm}^3$, $c = 0,04 \text{ mol dm}^{-3}$

pri pH 5 (namješten pomoću $0,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ HNO}_3$) na potencijalu od $-0,85 \text{ V}$ pri sobnoj temperaturi. Poslije elektrodepozicije površina elektrode je isprana redestiliranom vodom i stavljena u NaOH ($c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$) na $80 \text{ }^\circ\text{C}$ u vremenu od 1 h. Ispirana je po završetku sa redestiliranom vodom, ostavljena na zraku kako bi se sloj hidroksiapatita osušio. Nakon toga se pristupilo mjerenju.

2.5. Priprema ćelije za elektrokemijsko mjerenje

Za elektrokemijska mjerenja korištena je ćelija volumena 100 mL, koju je bilo potrebno najprije dobro isprati vodovodnom vodom, potom destiliranom vodom i na kraju $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ dušičnom kiselinom i redestiliranom vodom. Nakon pripremljene elektrokemijske ćelije, bilo je potrebno pravilno je postaviti. U ćeliju se dodalo 100 mL određenog elektrolita ($0,2 \text{ mol dm}^{-3}$ otopina KNO_3), zatim su se elektrode pravilno postavile (radna, referentna Ag/AgCl i protuelektroda Pt), ubacilo se magnetno miješalo, elektrode su se spojile na strujni krug i upalilo se računalo i ćelija.

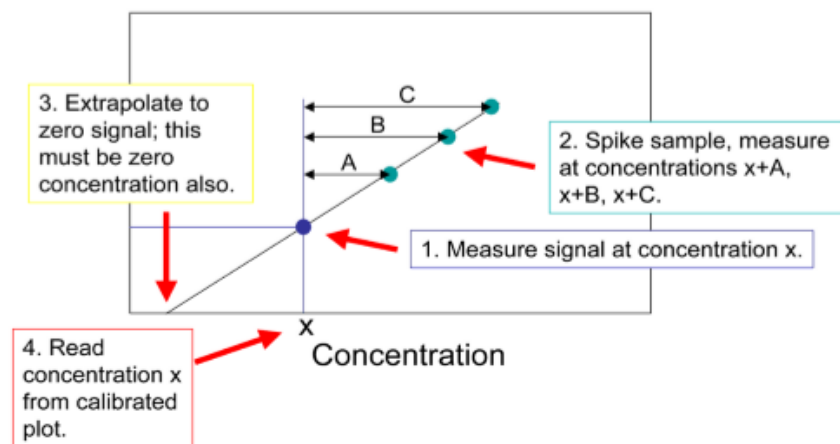
2.6. Metoda određivanja

U ovom radu se određivanje koncentracija metala radilo pomoću metode standardnog dodatka.

METODA STANDARDNOG DODATKA

Metoda standardnog dodatka sastoji se od najmanje tri koraka. Prvi je mjerenje signala analita iz uzorka, drugi je dodavanje poznate koncentracije analita, a treći je ponovljeno

mjerenje signala analita. Sa samo jednim dodatkom poznate koncentracije analita (drugi i treći korak) nužna je pretpostavka da smo u linearnom dijelu odnosa signala i koncentracije analita. Slijedeći dodaci standardne otopine analita omogućuju veću preciznost i dokazuju ili opovrgavaju našu pretpostavku o linearnosti odziva prema koncentraciji. Najprecizniji rezultati se dobiju ako je koncentracija prvog dodatka jednaka najmanje dvostrukoj koncentraciji analita u uzorku. Metoda standardnog dodatka je posebno korisna kada je utjecaj matrice na određivanje analita znatan ili kada su koncentracije analita u uzorku vrlo blizu granice određivanja (Slika 9).^[9,14]



Slika 9. Grafički prikaz za metodu standardnog dodatka.

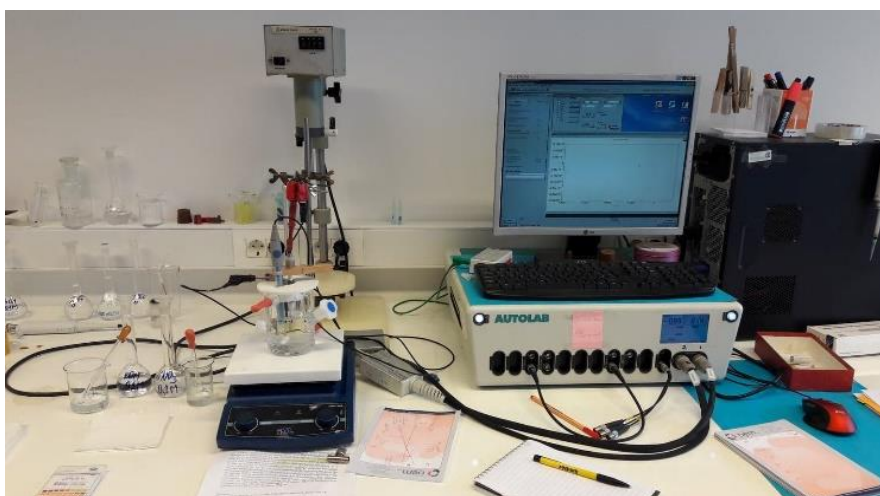
(Izvor: A. Lebo, 2013)^[9]

2.7. Aparatura

Korištena je elektrokemijska ćelija s 3 elektrode:

- Ag / AgCl elektroda kao referentna,
- platinska pločica kao protuelektroda,
- radna elektroda od staklastog ugljika.

Sva mjerenja su mjerena potencijostatom (Autolab PGSTAT 302N) koji je spojen na osobno računalo (PC), a kojim se upravlja pomoću GPES 4.9 Softwarea (Eco Chemie) (Slika 10). U izradi rada koristili smo i pH- metar, analitičku vagu (Mettler, AT261) i magnetsku miješalicu (MSH-20A).



Slika 10. Elektrokemijska ćelija sa postavljenim elektrodama (lijevo) i potenciostat sa računalom (desno).

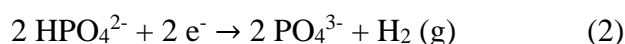
(Izvor: autor rada)

3. REZULTATI I RASPRAVA

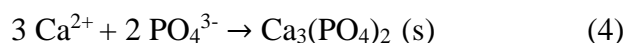
3.1. Elektrokemijsko taloženje hidroksiapatita

Početni stupanj nanošenje hidroksiapatita na elektrodu provodio se u otopini za elektrodepoziciju pri pH 5 i potencijalu od -0,85 V korištenjem potenciostatske pulsne tehnike - kronoamperometrijska metoda. Reakcije koje se događaju na površini radne GC elektrode su sljedeće: ^[15]

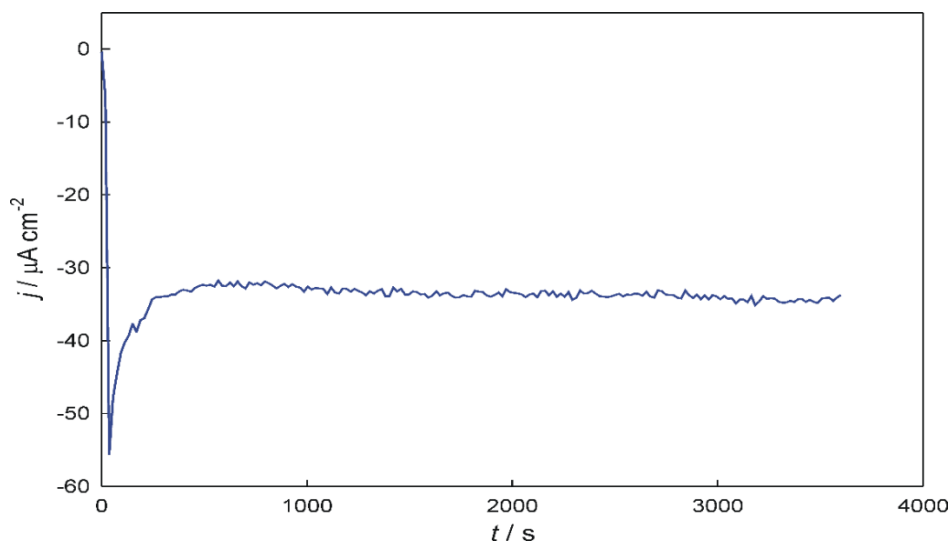
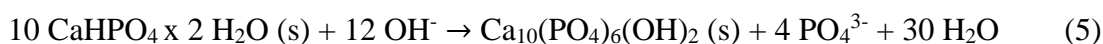
Korak 1: redukcija vodika iz H_2PO_4^- i HPO_4^{2-} :



Korak 2: Ca^{2+} ion reagira sa HPO_4^{2-} i PO_4^{3-} i dolazi do formiranja $\text{CaHPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (kalcijev hidrogenfosfat dihidrat) i $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (kalcijev fosfat):



Kalcijev hidrogenfosfat dihidrat i kalcijev fosfat su stabilnije faze hidroksiapatita, HAp. Djelovanjem lužine, NaOH, nastali film na elektrodi prelazi u HAp;

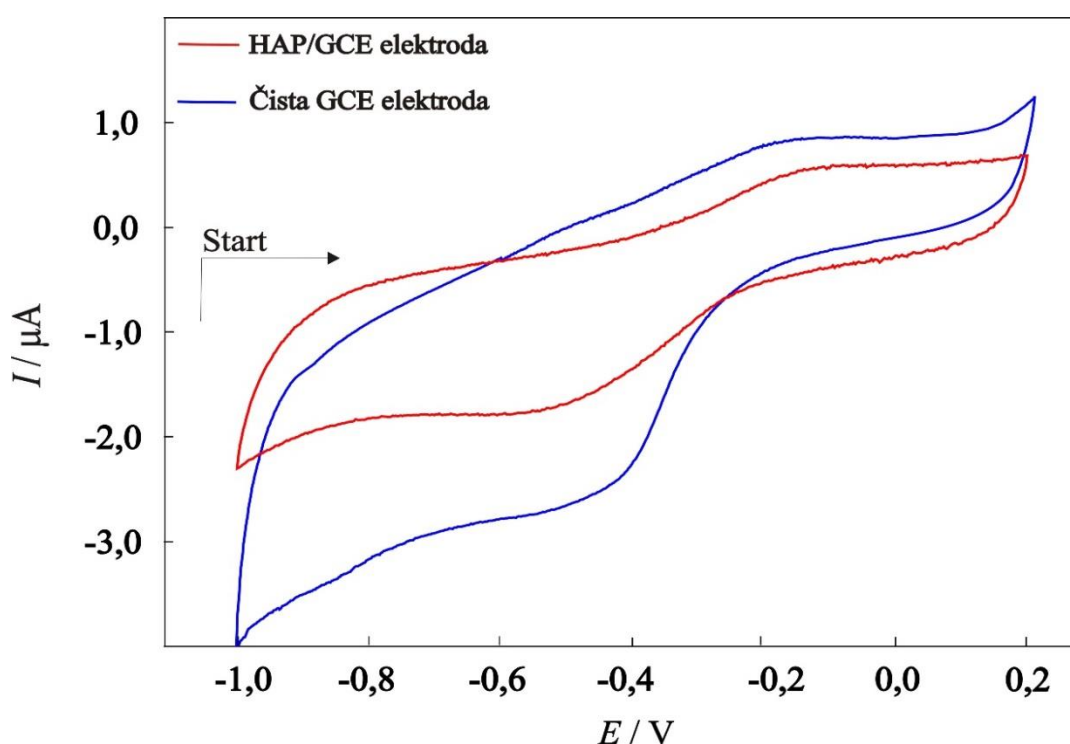


Slika 11. Potenciostatski tranzijent snimljen na GC elektrodi u otopini za elektrodepoziciju, pH 5. Potencijal tranzijenta $E_t = -0,85 \text{ V}$.

3.2. Ciklička voltametrijia

3.2.1. Ciklički voltamogram GCE i HAp/GCE u elektrolitu

Za dobivanje osnovnih informacija, o elektrokemijskom ponašanju odabrane elektrode snimljeni su ciklički voltamogrami na elektrodi od staklastog ugljika I na GC elektrodi modificiranoj HAp-om u elektrolitu KNO_3 ($0,2 \text{ mol dm}^{-3}$). Ciklički voltamogrami prikazani na Slici 12 snimani su od startnog potencijala $-1,0 \text{ V}$ do $0,2 \text{ V}$, te natrag do $-1,0 \text{ V}$.

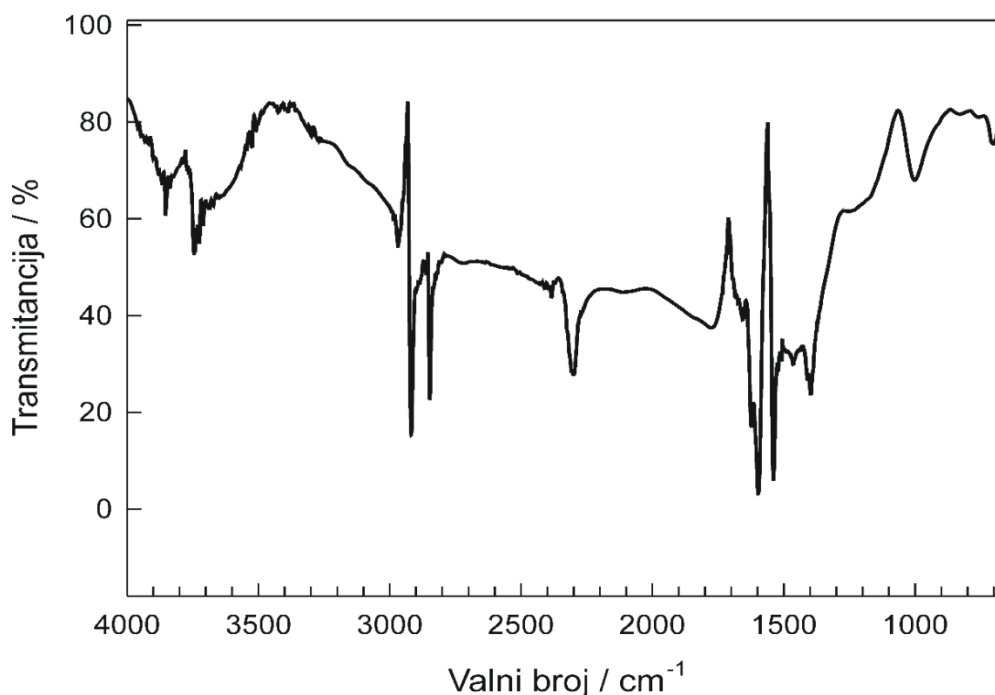


Slika 12. Ciklički voltamogrami dobiveni na nemodificiranoj i HApom modificiranoj GCE u $0,2 \text{ mol dm}^{-3}$ otopini KNO_3 ($\text{pH} = 4$).

Na slici uočavamo kako s povećavanjem katodnog potencijala do približno $-1,0 \text{ V}$ dolazi do porasta struje redukcije koja se može prepisati reakciji razvijanja vodika. Taj porast struje je manje uočljiv na modificiranoj elektrodi, te HAp/GC elektrodu čini manje osjetljivom na vodik i proširuje područje primjene obzirom na potencijal. Ista pojava primjećena je i za anodno područje, odnosno reakciju razvijanja kisika. Smanjenje struje indikator je i prekrivenosti površine, uz pretpostavku kako se H_2/O_2 razvijaju samo s čiste površine.

3.3. FTIR spektar površine radne elektrode

FTIR spektar površine hidroksiapatitom modificirane elektrode od staklastog ugljika (GC) snimljen je kako bi se dobila potvrda uspješnog formiranja filma hidroksiapatita, HAp na površini GC elektrode. Dobiveni spektar prikazan je na Slici 14. Modificiranje površine hidroksiapatitom provedeno je elektrodepozicijom.



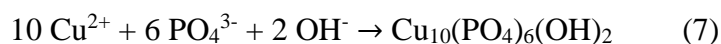
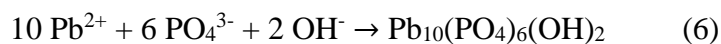
Slika 14. FTIR spektar elektrode od staklastog ugljika na koju je elektrodeponiran hidroksiapatit (HAp, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$).

Spektar sadrži pikove, na 2919 cm^{-1} i na 2848 cm^{-1} , koji se mogu pripisati frekvenciji asimetričnog (2919 cm^{-1}) i simetričnog (2848 cm^{-1}) istezanja C–H veze metilne skupine ($-\text{CH}_2$) koja potječe od nečistoće organskog porijekla. FTIR spektar sadrži pik na 1015 cm^{-1} koji se može pripisati frekvenciji asimetričnog istezanja P–O veze fosfatnog iona. Pik u FTIR spektru na valnom broju oko 2310 cm^{-1} se može pripisati O–H istezanju. U FTIR spektru površine elektrode od staklastog ugljika na koju je elektrodeponiran HAp, pikovi u području valnih brojeva od $3400 - 3900\text{ cm}^{-1}$ pripisuju se OH^- ionu. U FTIR spektru GC elektrode na kojoj je elektrodeponiran HAp pikove u području valnih brojeva od $1570\text{ cm}^{-1} - 1350\text{ cm}^{-1}$ na valnim brojevima 1540 cm^{-1} , 1472 cm^{-1} i

1400 cm⁻¹ možemo pripisati vibraciji organskih ostataka ili vibraciji karbonatne skupine. Pik na oko 863 cm⁻¹ pripisujemo frekvenciji istezanja P–OH veze hidrogenfosfatnog iona ili karbonatnom ionu ugrađenom u strukturu apatita. Karbonatna skupina potječe od CO₂ iz atmosfere. Karbonatni ioni tijekom procesa elektrodepozicije zamjenjuju PO₄³⁻ ione u hidroksiapatitnom filmu, što potvrđuju FTIR rezultati. Taj bi pik također mogao ukazivati na to da se kiselo-baznom reakcijom nije sav elektrodeponirani kalcijev hidrogenfosfat dihidrat, CaHPO₄ × 2H₂O, DCPD transformirao u hidroksiapatit. FTIR rezultati potvrđuju prisutnost filma HAp na površini GC elektrode.

3.4. Primjena HAp filma/ GCE u svrhu elektroanalitičkog određivanja bakra i olova

Olovo i bakar su elementi koji pripadaju skupini teških metala. Njihova koncentracija u različitim proizvodima je propisana i ograničena. Za određivanja ova dva metala primjenjena je pravokutnovalna voltametrijna na prethodno formiranom HAp filmu na GC elektrodi. To se može učiniti u skladu s reakcijama redukcije:



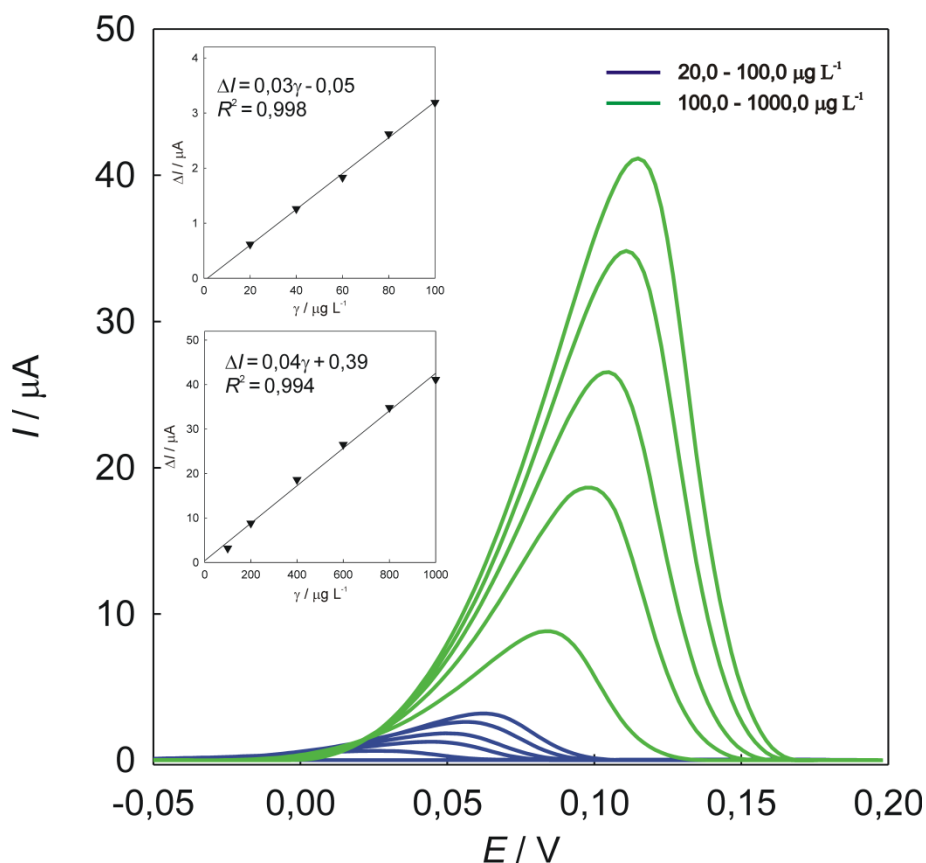
- **Određivanje bakra**

Određivanje je izvršeno pri pH = 4 koji osigurava prisutnost dvovalentnog oblika iona i čuva kemijsku stabilnost HAp-a. Izabran je akumulacijski potencijal, $E_{\text{akumulacije}}$ od -0,5 V jer ovaj potencijal osigurava akumulaciju bakrove vrste na površini elektrode. Vrijeme akumulacije, $t_{\text{akumulacije}}$ je 240 s, a vrijeme uravnoteženja je 60 s. Frekvencija, f je 50 Hz.

Rezultati SWV u prisutnosti različitih koncentracija bakra (II) prikazani su na Slici 15, s pripadajućim krivuljama umjeravanja prikazanim u isječku slike.

Voltamogrami su dobiveni metodom standardnog dodatka. Krivulje umjeravanja dobivene su oduzimanjem pozadinske struje iz odgovarajućih voltamograma za 2 koncentracijska područja: od 20 µg L⁻¹ do 100 µg L⁻¹ i od 100 µg L⁻¹ do 1000 µg L⁻¹. Kao što se može vidjeti dobivena su dva različita linearna raspona, s dobrom linearnosti

($R^2 = 0,998$ i $0,994$) i osjetljivosti $0,03 \mu\text{A } \mu\text{g L}^{-1}$ i $0,04 \mu\text{A } \mu\text{g L}^{-1}$ za navedena koncentracijska područja. Iz dobivenih rezultata možemo zaključiti kako unutar promatranog koncentracijskog područja, u kojem očekujemo i rezultate analitičke primjene, struja redukcije Cu^{2+} raste linearno s promjenom koncentracije. [16-18]

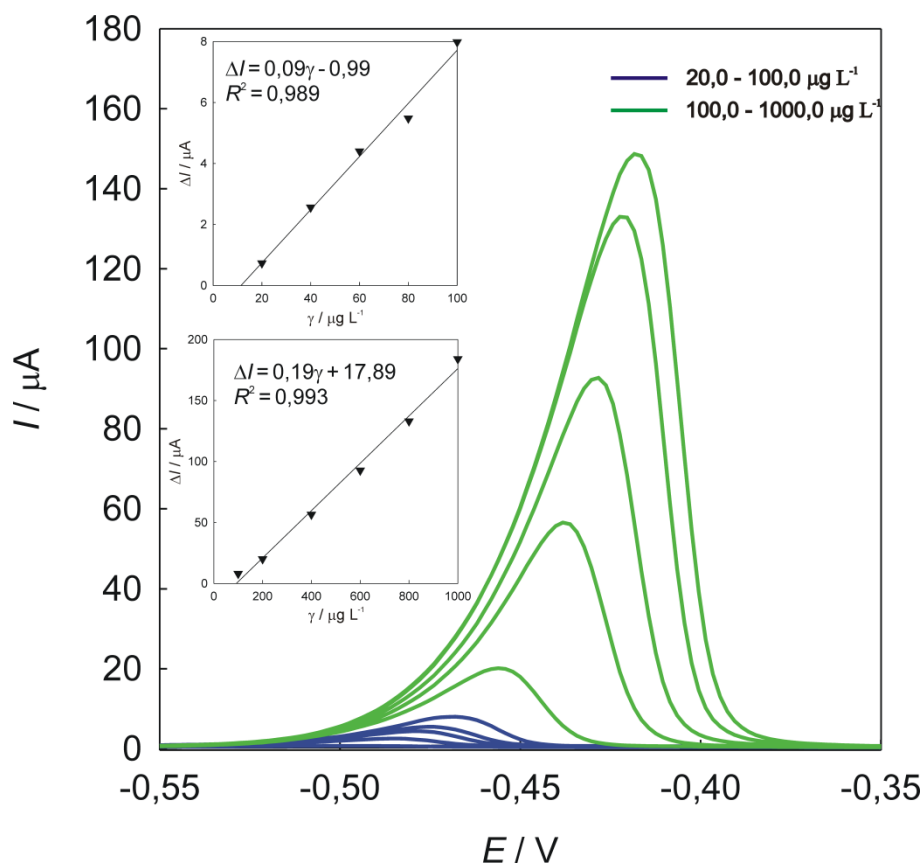


Slika 15. SW voltamogram s osnovnom korekcijom, zabilježen na HAp-filmu / GCE u $0,2 \text{ mol dm}^{-3}$ elektrolitu KNO_3 ($\text{pH} = 4$) s pripadajućim krivuljama umjeravanja.

- **Određivanje olova**

Nakon optimizacije sustava, uvjeti su sljedeći: pH elektrolita je 4, izabrani potencijal akumulacije, $E_{\text{akumulacije}}$ je $-1,0 \text{ V}$, a vrijeme akumulacije, $t_{\text{akumulacije}}$ je 180 s uz vrijeme uravnoteženja koje iznosi 60 s. Frekvencija, f je 50 Hz. Uz ove uvjete osigurali smo da nam olovo ne kompleksira, a s odabranim potencijalom redukciju olova na elektrodi uz minimalnu redukciju vodika.

Rezultati SWV u prisutnosti različitih koncentracija, odnosno različitih dodataka standarda Pb^{2+} , prikazani su na Slici 16, s pripadajućim krivuljama umjeravanja prikazanim u isječku slike. Voltamogrami su dobiveni metodom standardnog dodatka. Krivulje umjeravanja dobivene su oduzimanjem pozadinske struje iz odgovarajućih voltamograma za 2 koncentracijska područja: od $20 \mu\text{g L}^{-1}$ do $100 \mu\text{g L}^{-1}$ i od $100 \mu\text{g L}^{-1}$ do $1000 \mu\text{g L}^{-1}$. Kao što se može vidjeti dobivena su dva različita linearna raspona, s dobrom linearnosti ($R^2 = 0,989$ i $0,993$) i osjetljivosti $0,09 \mu\text{A} \mu\text{g L}^{-1}$ i $0,19 \mu\text{A} \mu\text{g L}^{-1}$ za navedena koncentracijska područja.^[16,17] Iz dobivenih rezultata možemo zaključiti kako unutar promatranog koncentracijskog područja, u kojem očekujemo i rezultate analitičke primjene, struja redukcije Pb^{2+} raste linearno s promjenom koncentracije.^[19]



Slika 16. SW voltamogram s osnovnom korekcijom, zabilježen na HAp-filmu / GCE u $0,2 \text{ mol dm}^{-3}$ elektrolitu KNO_3 ($\text{pH} = 4,0$) s pripadajućim krivuljama umjeravanja.

Pripravljena elektroda i optimizirana metoda primijenjene su za detekciju bakra i olova u realnom uzorku meda i šećera, a rezultati su prikazani na Slikama 17-20 i u Tablici 7.

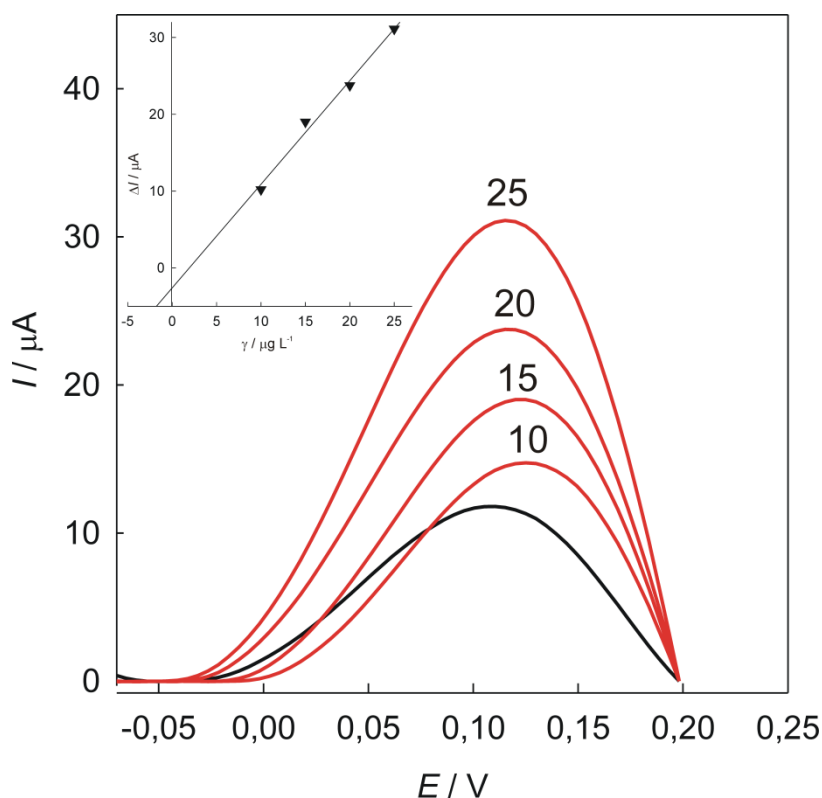
3.4.1. Elektroanalitičko određivanje metala u zaslađivačima

Na svim grafovima prikazana je ovisnost strujnog vrha o konačnoj koncentraciji Pb^{2+} ili Cu^{2+} gdje odsječak na ordinati odgovara vrijednosti struje redukcije teškog metala, na osnovu koje je izračunata nepoznata koncentracija.

Na Slici 17 prikazan je voltamogram za realni uzorak meda (10 mL) s 4 dodatka otopine standarda Cu^{2+} . Vrijednosti struje i koncentracije za svaki dodatak prikazani su u Tablici 3 pomoću kojih je izračunana koncentracija metala u zaslađivaču.

Tablica 3. Prikaz vrijednosti struje i koncentracije za svaki dodatak

Dodatak	Masena koncentracija ($\gamma / \mu\text{g L}^{-1}$)	Vršna struja ($I / \mu\text{A}$)
1	10	10,20
2	15	19,01
3	20	23,75
4	25	31,11

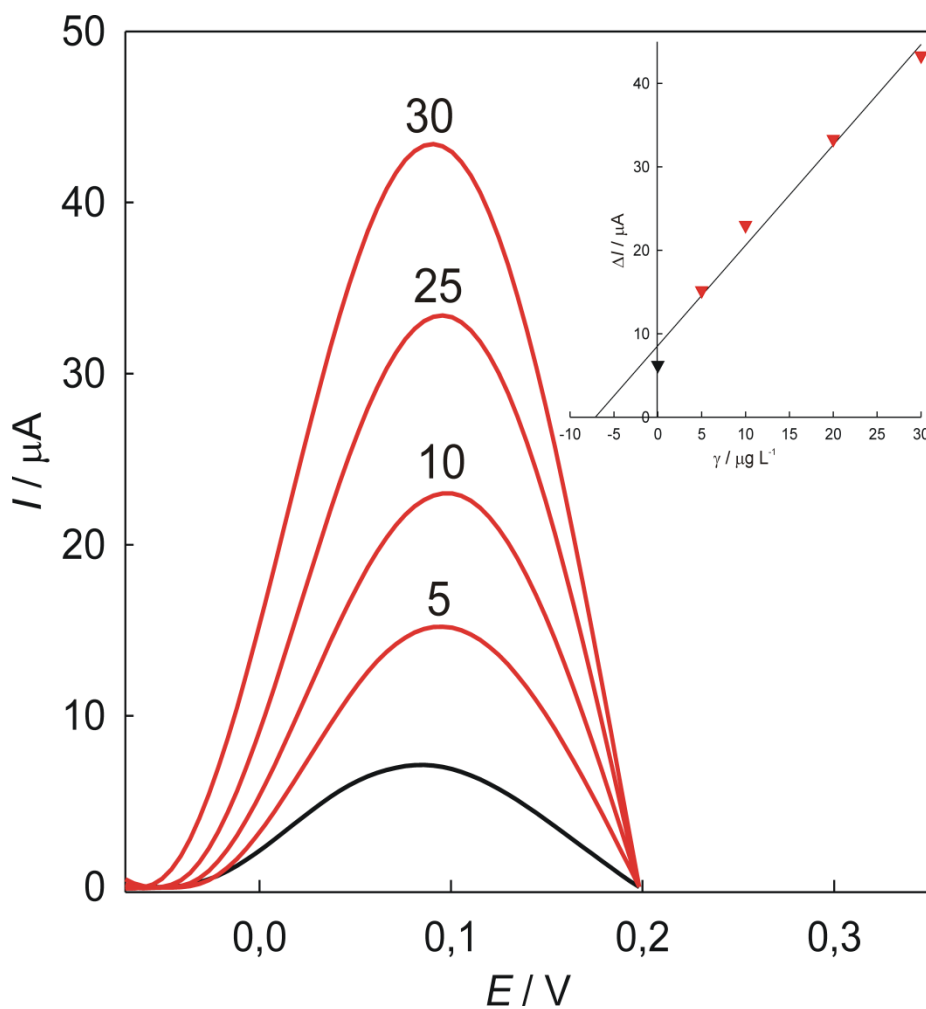


Slika 17. SW voltamogram (korigirani za vrijednost bazne linije) s pripadajućom krivuljom umjeravanja u svrhu određivanja nepoznate koncentracije bakra u realnom uzorku meda metodom standardnog dodatka.

Na Slici 18 prikazan je voltamogram za realni uzorak šećera (10 mL) s 4 dodatka otopine standarda Cu^{2+} . Vrijednosti struje i koncentracije za svaki dodatak prikazane su u Tablici 4.

Tablica 4. Prikaz vrijednosti struje i koncentracije za svaki dodatak

Dodatak	Masena koncentracija ($\gamma / \mu\text{g L}^{-1}$)	Vršna struja ($I / \mu\text{A}$)
1	5	15,19
2	10	23,00
3	25	33,32
4	30	43,32

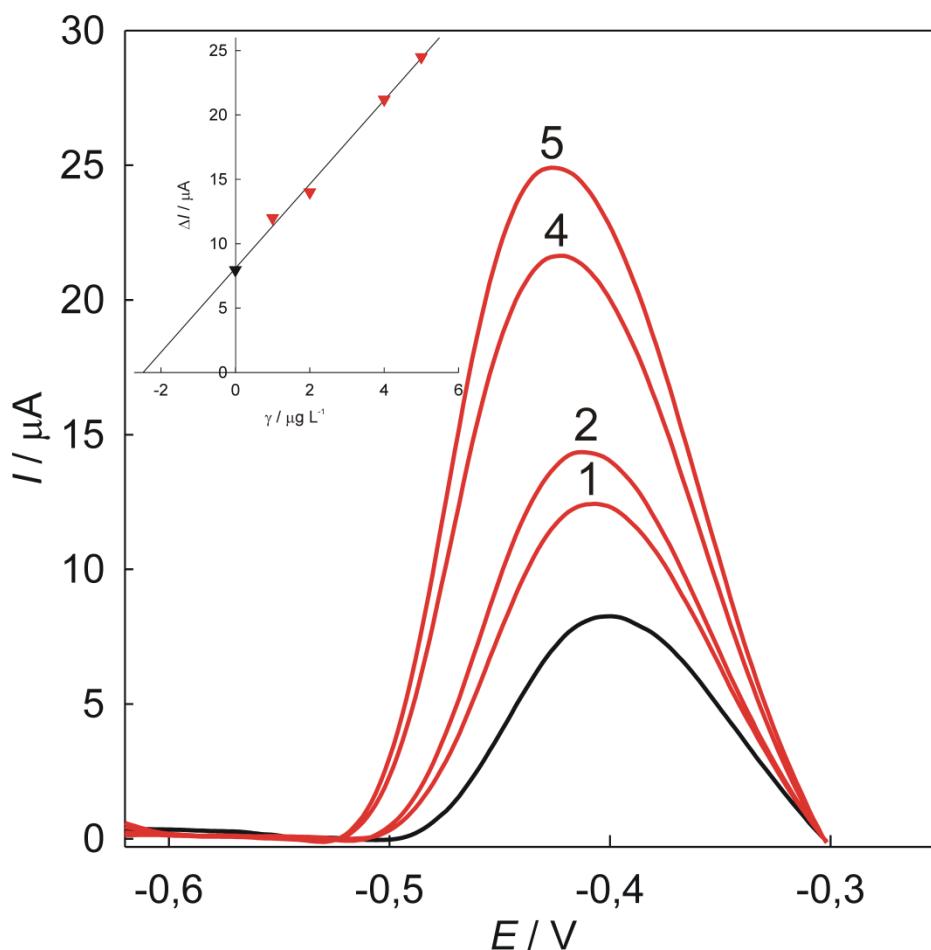


Slika 18. SW voltamogram (korigirani za vrijednost bazne linije) s pripadajućom krivuljom umjeravanja u svrhu određivanja nepoznate koncentracije bakra u realnom uzorku šećera metodom standardnog dodatka.

Na Slici 19 prikazan je voltamogram za realni uzorak meda (5 mL) s 4 dodatka otopine standarda Pb^{2+} . Vrijednosti struje i koncentracije za svaki dodatak prikazane su u Tablici 5.

Tablica 5. Prikaz vrijednosti struje i koncentracije za svaki dodatak

Dodatak	Masena koncentracija ($\gamma / \mu\text{g L}^{-1}$)	Vršna struja ($I / \mu\text{A}$)
1	1	12,0
2	2	14,0
3	4	21,2
4	5	24,5

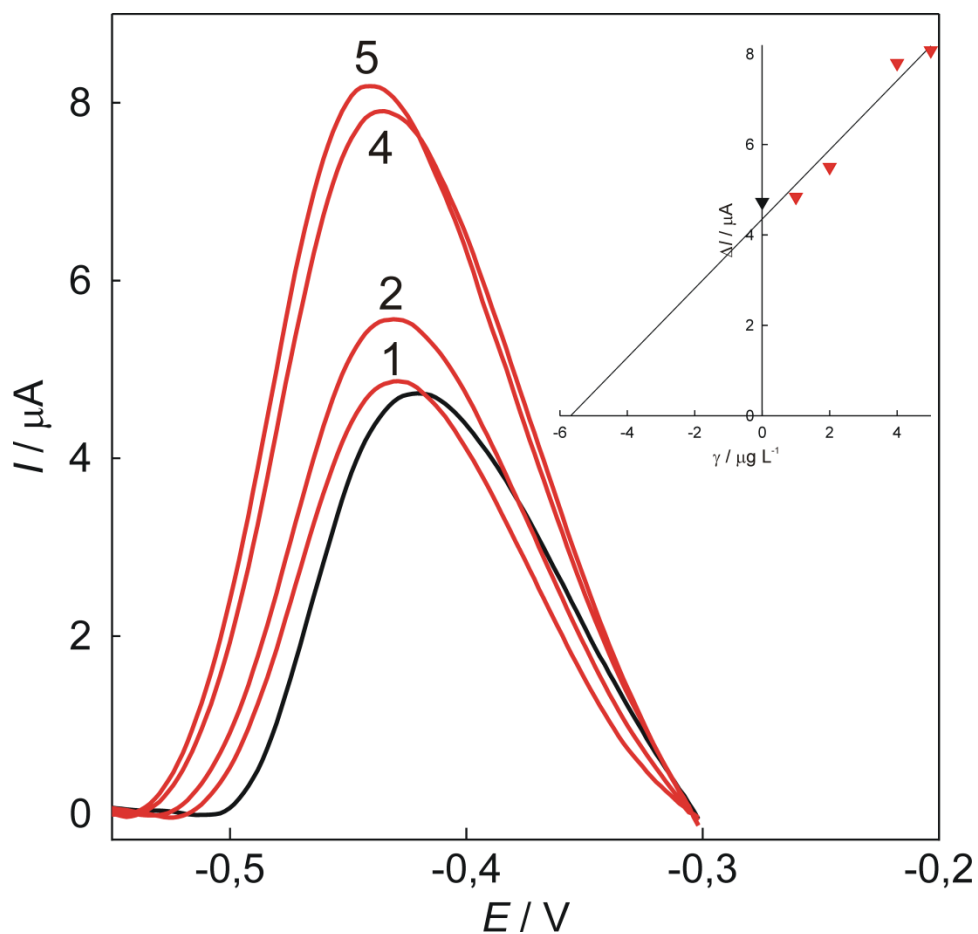


Slika 19. SW voltamogram (korigirani za vrijednost bazne linije) s pripadajućim krivuljama umjeravanja u svrhu određivanja nepoznate koncentracije olova u realnom uzorku meda metodom standardnog dodatka.

Na Slici 20 prikazan je voltamogram za realni uzorak šećera (10 mL) s 4 dodatka otopine standarda Pb^{2+} . Vrijednosti struje i koncentracije za svaki dodatak prikazane su u Tablici 6.

Tablica 6. Prikaz vrijednosti struje i koncentracije za svaki dodatak

Dodatak	Masena koncentracija ($\gamma / \mu\text{g L}^{-1}$)	Vršna struja ($I / \mu\text{A}$)
1	1	4,84
2	2	5,5
3	4	7,8
4	5	8,08



Slika 20. SW voltamogram (korigirani za vrijednost bazne linije) s pripadajućim krivuljama umjeravanja u svrhu određivanja nepoznate koncentracije olova u realnom uzorku šećera metodom standardnog dodatka.

Metodom standardnog dodatka izrađene su krivulje umjeravanja za sve ispitivane uzorke te su dobivene koncentracije teških metala u uzorcima na osnovu redukcije analita prikazane u Tablici 7.

Tablica 7. Dobivene koncentracije Cu i Pb u zaslađivačima (med i šećer)

<i>Količina</i>	Realni uzorak meda		Realni uzorak šećera	
	Cu²⁺	Pb²⁺	Cu²⁺	Pb²⁺
<i>25 mL</i>	5,5 µg kg ⁻¹	1,175 µg kg ⁻¹	1,3875 µg kg ⁻¹	1,6475 µg kg ⁻¹
<i>1 kg</i>	2775 µg kg ⁻¹	587,5 µg kg ⁻¹	693,7 µg kg ⁻¹	823,7 µg kg ⁻¹

Za med je vrlo specifično iz kojeg geografskog područja Republike Hrvatske potječe i kakva je razina zagađenja okoliša. Na udio sastojaka, tako i metala utječe i koja je vrsta, odnosno podvrsta meda. Pronađene koncentracije Pb u šećeru, a Cu i Pb u medu su poviše dopuštenih koncentracija. Možemo pretpostaviti da se odstupanje od propisanih koncentracija dogodilo jer se u blizini nalazi frekventna prometnica.

4. ZAKLJUČAK

1. Predložena metoda pokazuje potencijal upotrebe modificirane GC elektrode hidroksiapatitom za voltametrijsko određivanje teških metala u zaslađivačima.
2. Postupak pripreme filma kao i elektroanalitičke primjene je brza i jednostavna za razliku od sofisticiranih analitičkih metoda.
3. Kronoamperometrijski formiran HAP film se pokazao kao kvalitetan i otporan film, koji zbog svoje poroznosti i sposobnosti izmjene iona omogućuje određivanje niskih koncentracija teških metala u analitu.
4. FTIR studija potvrđuje postojanje funkcionalnih skupina karakterističnih za HAP film na površini elektrode.
5. Usporedba voltametrijskog odaziva metala na modificiranoj i nemodificiranoj elektrodi, ukazuje na isti mehanizam elektrodne reakcije, ali različitu kinetiku prijenosa elektrona. Modifikacija elektrode značajno povećava osjetljivost, u usporedbi s nemodificiranom elektrodom. Metoda dodatka standarda pokazala je mogućnost određivanja spomenutih teških metala na tako modificiranoj elektrodi.
6. U medu sa područja Splitsko - Dalmatinske županije (Cista Provo) otkrivene su povišene koncentracije Cu ($2775 \mu\text{g kg}^{-1}$) i Pb ($587,5 \mu\text{g kg}^{-1}$), a dopuštene koncentracije za Cu i Pb su $1000 \mu\text{g kg}^{-1}$ i $300 \mu\text{g kg}^{-1}$.
7. Pronađena koncentracija Cu u šećeru je $693,7 \mu\text{g kg}^{-1}$ te je u skladu s zakonskom regulativom za šećere koja iznosi do $2000 \mu\text{g kg}^{-1}$. Međutim koncentracija olova od $823,7 \mu\text{g kg}^{-1}$ prelazi dopuštenu granicu koja iznosi do $500 \mu\text{g kg}^{-1}$.
8. Metodologija razvijena u ovom radu pokazala je izvrsne reproducibilnosti, visoke osjetljivosti, niske granice detekcije i široka linearna područja primjene u elektroanalizi navedenih metala.
9. Predložena metodologija pokazala se jednostavnom i brzom od klasičnih analitičkih metoda kao što su tekućinska kromatografija visoke djelotvornost (HPLC) ili analiza injektiranja u protoku (FIA) te se u nastavku istraživanja pouzdanost mora potvrditi propisanom metodom.

5. LITERATURA

- [1] I. Gostović, *Određivanje teških metala u poriluku*, Završni rad, Kemijsko- tehnološki fakultet Split, **2017**, pp. 6-8.
- [2] <https://hr.wikipedia.org/wiki/Zasla%C4%91iva%C4%8Di> (10.02.2017.).
- [3] S. Tanković, V. Jelušić, N. Bilandžić, B. Čalopek, M. Sedak, J. Ferizbegović, *Koncentracije teških metala i elemenata u različitim vrstama meda iz Bosne i Hercegovine*, **2017**, pp. 1-5.
- [4] T. Gray, *Elementi: slikovno istraživanje svih poznatih atoma u svemiru*, Školska knjiga, Zagreb, **2010**, pp. 50-65.
- [5] Pravilnik o kakvoći meda i drugih pčelinjih proizvoda, Ministarstvo poljoprivrede i šumarstva, »Narodne novine« br. 70/97. i 36/98.
- [6] I. Piljac, *Senzori fizičkih veličina i elektroanalitičke metode*, Media Print, Zagreb, **2010**, pp. 391-423.
- [7] I. Škugor Rončević, *Razvoj biorazgradivih metalnih implantata: utjecaj modifikacije površine na brzinu dekompozicije i biokompatibilnost*, Doktorska disertacija, Zagreb, **2013**, pp. 3-20.
- [8] M. A. El Mhammedi, M. Achak, M. Bakasse, *Arabian Journal of Chemistry*, **2010**, 6, 299.
- [9] A. Lebo, *Određivanje umjetnog bojila (Sunset Yellow) u prehrambenim proizvodima*, Diplomski rad, Kemijsko – tehnološki fakultet Split, **2016**, pp. 13-18.
- [10] L. Bakhtiari, J. Javadpour, H. Reza Rezaie, M. Erfan, B. Mazinani, A. Aminian, *Ceramics International*, **2016**, 9, 42.
- [11] Y. W. Song, D. Y. Shan and E. H. Han, *Mater.Lett*, **2008**, 62, 3276.
- [12] <https://en.wikipedia.org/wiki/Hydroxyapatite> (17.08.2018.).
- [13] http://www.periodni.com/enig/potenciometrijski_senzori.html/ (17.09.2016.).
- [14] S. Anandhakumar, J. Mathiyarasu, K. L. N. Phani, *Anal. Methods*, **2012**, 4, 2486.
- [15] I. Škugor Rončević, Z. Grubač, M. Metikos – Huković, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2014**, 9, 5907.

- [16] S. Brinić, N. Vladislavić, M. Buzuk, M. Bralić, M. Šolić, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **2013**, 705, 86.
- [17] N. Vladislavić, *Razvoj bizmutovih film-elektroda za određivanje organskih tvari u vodenom mediju*, Zagreb, **2013**, pp. 20-43.
- [18] N. Vladislavić, S. Brinić, Z. Grubač, M. Buzuk, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2014**, 9, 6020.
- [19] N. Vladislavić, M. Buzuk, M. Buljac, S. Kožuh, M. Bralić, S. Brinić, *Croat. Chem. Act*, **2017**, 2, 231.