

Elektrokemijsko ponašanje L-cisteina na elektrodama od ugljikove paste modificiranim sa bakrovim(I) oksidom

Krstić, Kata

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:693167>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-22**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

**ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE L-CISTEINA NA
ELEKTRODAMA OD UGLJIKOVE PASTE MODIFICIRANIM SA
BAKROVIM(I)OKSIDOM**

ZAVRŠNI RAD

KATA KRSTIĆ

Matični broj 332

Split, rujan 2018.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

**ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE L-CISTEINA NA
ELEKTRODAMA OD UGLJIKOVE PASTE MODIFICIRANIM SA
BAKROVIM(I)OKSIDOM**

ZAVRŠNI RAD

KATA KRSTIĆ

Matični broj: 332

Split, rujan 2018.

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

**ELECTROCHEMICAL BEHAVIOUR OF L-CYSTEIN ON
CARBON PASTE ELECTRODE MODIFIED WITH CUPROUS
OXIDE**

BACHELOR THESIS

KATA KRSTIĆ

Parent number: 332

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. Marijo Buzuk

Pomoć pri izradi: /

ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE L-CISTEINA NA ELEKTRODAMA OD UGLJIKOVE PASTE MODIFICIRANIM SA BAKROVIM(I)OKSIDOM

Kata Krstić, 332

Sažetak:

U ovom radu ispitivano je elektrokemijsko ponašanje L-cisteina na elektrodi od ugljikove paste te modificiranoj elektrodi od ugljikove paste sa bakrovim(I)oksidom, Cu_2O . Elektrokemijsko ponašanje je praćeno cikličkom voltametrijom kod tri pH vrijednosti (pH 4, pH 7 i pH 9). Uočeno je nekoliko redoks procesa na elektrodi modificiranoj sa 5% bakrovog(I)oksida kada su mjerenja izvršena pri pH 4 bez i u prisutnosti cisteina. Uočene pojave su objašnjene u svjetlu elektrokemijskog i kemijskog mehanizma.

Ključne riječi: aminokiselina L-cistein, elektrokemijsko određivanje, ciklička voltometrija, elektroda od ugljikove paste, modifikacije, bakrov(I)oksid

Rad sadrži: 42 stranice, 15 slika, 3 tablice, 32 litaraturne reference

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

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

Datum obrane: 27. rujna 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: Marijo Buzuk – PhD, assistant prof.

Technical assistance: /

ELECTROCHEMICAL BEHAVIOUR OF L-CYSTEIN ON CARBON PASTE ELECTRODE MODIFIED WITH CUPROUS OXIDE

Kata Krstić, 332

Abstract:

In this paper we discussed the electrochemical behaviour of aminoacid L-cysteine on carbon paste electrode, which was later modified with cuprous oxide. The measurements have been carried out using cyclic voltammetry, CV as a method, at three different pH values (pH 4, pH 7 and pH 9). On electrodes that have been modified with 5% of modificador, cuprous oxide, there have been determined some redox reactions with and without cysteine at pH 4. Observed occurrences have been explained in the light of electrochemical and chemical mechanisms.

Keywords: aminoacid L-cysteine, electrochemical determination, cyclic voltammetry, carbon paste electrodes, modifications, cuprous oxide

Thesis contains: 42 pages, 15 figures, 3 tables, 32 references

Original in: Croatian

Defence committee:

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

Defence date: September, 27th 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. Marija Buzuka, u razdoblju od travnja do rujna 2018. godine.

Iskreno se zahvaljujem mentoru doc. dr. sc. Mariju Buzuku na svojoj stručnoj pomoći te na brojnim uputama i savjetima koji su mi pomogli tijekom izrade ovog završnog rada.

Također, posebno se zahvaljujem svojoj obitelji i prijateljima na podršci i razumijevanju tijekom svih godina obrazovanja.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

1. Ispitati elektrokemijsko ponašanje nemodificirane i modificirane elektrode od ugljikove paste pri različitim pH vrijednostima.
2. Utvrđivanje elektrokemijskog ponašanja cisteina na nemodificiranim i modificiranim elektrodama od ugljikove paste.
3. Objašnjenje pojava koje se mogu uočiti cikličkom voltametrijom.

SAŽETAK

U ovom radu ispitivano je elektrokemijsko ponašanje L–cisteina na elektrodi od ugljikove paste te modificiranoj elektrodi od ugljikove paste sa bakrovim(I)oksidom, Cu_2O .

Elektrokemijsko ponašanje je praćeno cikličkom voltametrijom kod tri pH vrijednosti (pH 4, pH 7 i pH 9). Uočeno je nekoliko redoks procesa na elektrodi modificiranoj sa 5% bakrovog(I)oksida kada su mjerenja izvršena pri pH 4 bez i u prisutnosti cisteina.

Uočene pojave su objašnjene u svjetlu elektrokemijskog i kemijskog mehanizma.

Ključne riječi: aminokiselina L-cistein, elektrokemijsko određivanje, ciklička voltometrija, elektroda od ugljikove paste, modifikacije, bakrov(I)oksid

SUMMARY

In this paper we discussed the electrochemical behaviour of aminoacid L-cysteine on carbon paste electrode, which was later modified with cuprous oxide.

The measurements have been carried out using cyclic voltammetry, CV as a method, at three different pH values (pH 4, pH 7 and pH 9). On electrodes that have been modified with 5% of modifier, cuprous oxide, there have been determined some redox reactions with and without cysteine at pH 4.

Observed occurrences have been explained in the light of electrochemical and chemical mechanisms.

Keywords: aminoacid L-cysteine, electrochemical determination, cyclic voltammetry, carbon paste electrodes, modifications, cuprous oxide

SADRŽAJ

Uvod	1
1. Opći dio	3
1.1. U središtu radnje - cistein	4
1.1.1. Trojaki karakter - nukleofilnost, redoks aktivnost i vezanje metala.....	6
1.2. Tehnike određivanja cisteina	7
1.2.1. Uporaba elektrokemijskih metoda za određivanje cisteina i problemi vezani za elektrokemijske metode.....	9
1.3. Elektrode od ugljikove paste (CPE).....	10
1.4. Cu ₂ O kao modifikator u elektrokemijskom određivanju	13
1.5. Elektrokemija.....	15
1.5.1. Ciklička voltometrija	17
2. Eksperimentalni dio.....	19
2.1. Priprava elektrodnog materijala	20
2.2. Priprava otopina	20
2.2.1. Priprava otopina L–cisteina različitih koncentracija	21
2.2.2. Priprava otopine kalijevog nitrata, KNO ₃	21
2.2.3. Priprava otopine natrijevog acetata, CH ₃ COONa	21
2.2.4. Priprava otopine acetatne kiseline, CH ₃ COOH.....	22
2.2.5. Priprava otopine acetatnog pufera; pH 4	22
2.2.6. Priprava otopine natrijevog hidrogenfosfata, Na ₂ HPO ₄	22
2.2.7. Priprava otopine fosfatnog pufera; pH 7	22
2.2.8. Priprava otopine amonijevog klorida, NH ₄ Cl	22
2.2.9. Priprava otopine amonijačnog pufera; pH 9	22
2.2.10. Priprava otopine boratnog pufera; pH 9.....	23
2.2.11. Priprava elektrolitne otopine.....	23
2.3. Aparatura	23

3. Rezultati i rasprava.....	24
3.1. Elektrokemijsko ponašanje nCPE.....	25
3.1.1. Utjecaj pomaka anodne i katodne granice na nCPE.....	25
3.1.2. Utjecaj dodatka pufera na CV nCPE (pH 4)	27
3.1.3. Utjecaj dodatka cisteina na CV nCPE (pH 4)	28
3.1.4. Utjecaj dodatka pufera na CV nCPE (pH 7)	29
3.1.5. Utjecaj dodatka cisteina na CV nCPE (pH 7)	30
3.1.6. Utjecaj dodatka pufera na CV nCPE (pH 9)	31
3.1.7. Utjecaj dodatka cisteina na CV nCPE (pH 9)	32
3.2. Elektrokemijsko ponašanje mCPE.....	33
3.2.1. Elektrokemijsko ponašanje mCPE bez dodatka cisteina.....	33
3.2.2. Elektrokemijsko ponašanje mCPE uz dodatak cisteina.....	33
3.2.3. Elektrokemijsko ponašanje mCPE pri pH 4.....	34
3.2.4. Elektrokemijsko ponašanje mCPE pri pH 7 i pH 9.....	35
4. Zaključak.....	37
Literatura	39

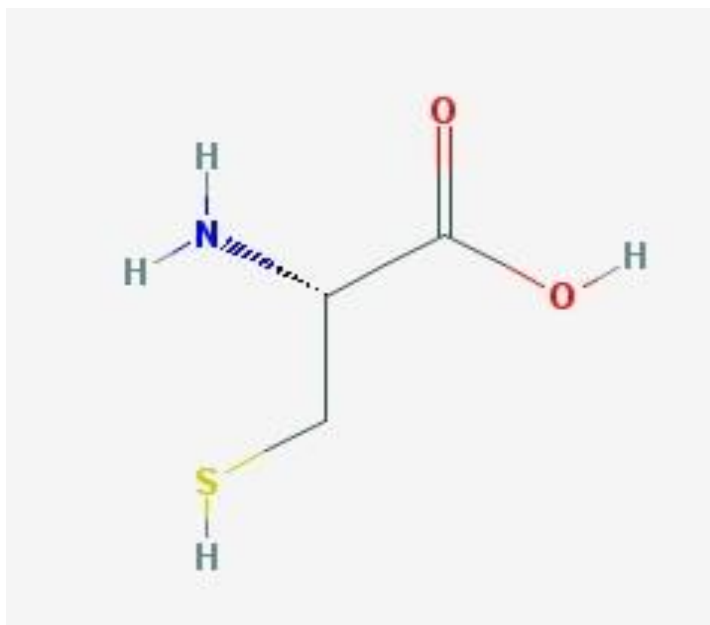
UVOD

Cistein (Cys, C) je jedna od neesencijalnih aminokiselina. Jedna je od 20 aminokiselina koje ulaze u sastav proteina te jedina, uz metionin koja ima sumpor u bočnom ogranku. Metalni kompleksi cisteina su posebno važni zbog svog mogućeg terapijskog učinka na toksične teške metale. Svojstvo kompleksiranja cisteina s metalima se može iskoristiti u svrhu analitičkog određivanja cisteina raznim metodama. Elektrokemijske metode nude veliki izbor mogućnosti za elektroanalitičko određivanje cisteina. Cistein koji je elektroaktivna vrsta podložan je oksidacijskim i redukcijskim procesima na čvrstofaznim elektrodama. Kristalne elektrode srebro - bakrovih sulfida nude velik potencijal za elektroanalitičko određivanje cisteina. Cikličkom voltametrijom mogu se mjeriti elektrokemijski procesi cisteina na površinama elektroda. U ovom radu je predstavljen potencijal čvrstofaznih elektroda temeljenih na bakrovim(I)oksidima za elektrokatalitičko ponašanje prema cisteinu.

1. OPĆI DIO

1.1. U SREDIŠTU RADNJE - CISTEIN

Cistein (Cys, C) je neesencijalna aminokiselina molekulske formule $C_3H_7NO_2S$ i jedna od 20 aminokiselina koje ulaze u sastav proteina. Sadrži sumpor u bočnom ogranku (kao i metionin). Cistein sadrži α -ugljikov atom kao i sve ostale proteinogene aminokiseline, amino ($-NH_2$) i karboksilnu ($-COOH$) skupinu i dvije komponente od kojih je jedna vodik, a druga alkilna skupina ($R-$), koja čini bočni ogranak, a po kojoj se aminokiseline razlikuju. Pri neutralnoj pH vrijednosti, nalazi se u obliku „zwitteriona“, što ukazuje na to da je amino skupina protonirana ($-NH_3^+$), a karboksilna skupina deprotonirana ($-COO^-$), tako da je ukupni naboj 0. Postoji u dva zrcalno simetrična oblika L-izomer i D-izomer zbog četiri različite skupine, koje su vezane za α -C atom, a čine ga kiralnom molekulom. Samo L-cistein (kao i kod ostalih aminokiselina) ulazi u sastav proteina [1].



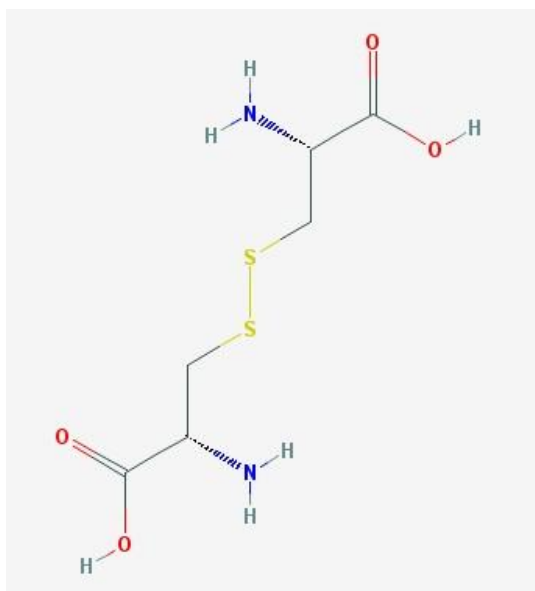
Slika 1 - Strukturna formula L-cisteina [2]

Cistein u svome bočnom lancu ima sulfhidrilnu skupinu ($-SH$), pa se u ovisnosti o pH okoline može javiti u obliku tiola (RSH) ili tiolata (RS^-). Budući da ima tri skupine koje se mogu ionizirati i vrlo su blizu jedna drugoj, on ima mogućnost sudjelovanja u mnogobrojnim biokemijskim reakcijama i procesima. Bočni ogranak cisteina, zbog tiolne skupine izrazito je polaran i neutralan, a ona može funkcionirati kao donator i akceptor vodikove veze, pa cistein tako može s vodom tvoriti vodikove mostove, što ga čini topljivijim u vodi od drugih, nepolarnih pripadnika ove vrste spojeva [3, 4].

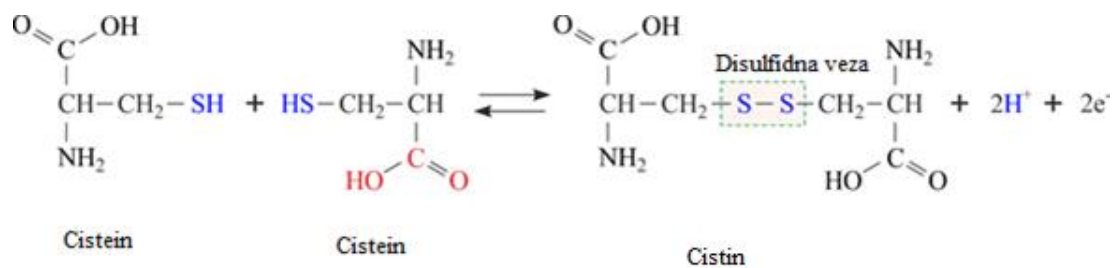
Tablica 1 - Prikaz pK vrijednosti funkcijskih skupina aminokiseline cistein [5]

Aminokiselina cistein	
pK ₁ (α-COOH)	1,92
pK ₂ (α-NH ₃ ⁺)	10,8
pK ₃ (R-skupina)	8,3

Tiolna skupina cisteina ima nukleofilni karakter i može se lako oksidirati. Ona ga čini vrlo reaktivnim, a ima i sposobnost tvorbe intramolekulskih i intermolekulskih disulfidnih veza. To mu daje posebnu ulogu u stabilizaciji strukture izvanstaničnih proteina i oksidacijom lako prelazi u dimer gdje tvori kovalentne disulfidne mostove, a redukcijom proces je moguće obrnuti [6].



Slika 2 – Strukturna formula cistina [7]



Slika 3 - Nastanak cistina formiranjem disulfidne veze između dvije molekule cisteina [8]

1.1.1. Trojaki karakter - nukleofilnost, redoks aktivnost i vezanje metala

Nukleofilni karakter cisteina se iskazuje u njegovoj sposobnosti da katalizira reakcije hidrolize. Za napad i cijepanje esterske i amidne veze hidrolitički enzimi trebaju nukleofil. Ono što cistein čini posebnim je to što, iako je sredstvo za hidrolizu, on je i dalje redoks - osjetljiv, što znači da njegova katalitička aktivnost može biti izgubljena prilikom oksidacije. Nukleofilni karakter cisteina uočavamo u srži reakcija tiol-disulfidne zamjene. To su posebne reakcije supstitucije kod kojih napad tiolata na $-S-S-$ vezu disulfida uzrokuje redoks reakciju.

Ova, uvjetno rečeno skrivena redoks reakcija je jedna od najčešćih procesa koji se događaju *in vivo*.

Biokemijski značaj ove vrste unutarstaničnih redoks procesa još je važniji kod glutathion/glutathion disulfid redoks para, GSH/GSSG koji postoji u većini ljudskih stanica u citosolnim koncentracijama od oko 10 mM, dok se nijedan redoks sustav na bazi metalnih iona ne pojavljuje u tako visokim koncentracijama u ljudskim stanicama. U takvim sustavima ne može se postići učinkovitost redoks djelovanja, a metalni ioni nemaju takva svojstva da daju sumporu aktivnu ulogu u odgovoru na redoks promjene. GSH/GSSG par tvori glavnu sastavnicu staničnog redoks pufirajućeg sustava i na taj način održava redukcijski, negativni unutarstanični potencijal i ujedno reagira s cisteinskim reziduama u proteinima i enzimima [9].

Između ostalog, tiolna skupina cisteina ima sposobnost koordinacije iona metala bakra, željeza, cinka i kadmija. To svojstvo predstavlja osnovu uloge cisteina u strukturi proteina, zajedno s disulfidnim vezama, elektrostatskim interakcijama i vodikovim vezama. Uloga elektrostatskih interakcija i vodikovih veza u strukturi proteina je gotovo zanemariva u odnosu na ulogu koju imaju disulfidni mostovi i kompleksi metala. Metalni kompleksi cisteina su posebno važni upravo zbog svog potencijalnog terapijskog djelovanja na toksične teške metale. Aminokiselina cistein ima tri moguća koordinacijska mjesta za vezanje metala: S, N i O. Sva tri mjesta mogu koordinirati Pb, Cd, Co, Cr i Mo, ali samo S i N mogu koordinirati Cu, Mo, Sn ili Hg.

1.2. TEHNIKE ODREĐIVANJA CISTEINA

Tehnike određivanja cisteina su:

- Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC)
- Fluorescencija
- Kapilarna elektroforeza (CE) - UV/Vis
- Elektrokemijsko određivanje [10]

HPLC je oblik kromatografije na stupcu, a koristi se za razdvajanje komponenti iz smjese na osnovi kemijskih interakcija između tvari koja se analizira i stacionarne faze u stupcu. Princip rada je forsiranje prolaska analizirane tvari ili smjese kroz stupac pumpanjem mobilne faze pod visokim tlakom kroz stupac. Uglavnom se koristi kromatografija na obrnutim fazama, odnosno nepolarna stacionarna faza (silikatna) i polarna mobilna faza. HPLC spojen na UV detektor je jako selektivna i osjetljiva metoda za detekciju cisteina i povezanih aminotiola koji imaju bitnu ulogu u zdravlju i bolesti [11].

FLUORESCENCIJA ili luminiscencija je zračenje svjetlosti iz tvari za vrijeme ozračivanja elektronskim, rendgenskim ili ultraljubičastim zračenjem. Fluorescenciju ne pokazuju svi već samo određeni materijali. Najčešće se kao fluorescentna tvar koristi kalcijev fluorofosfat koji pobuđen ultraljubičastim zračenjem zrači u vidljivome području. Fluorescencija traje u nanosekundama.

Kod fluorescencije benzotiazolni derivat se može koristiti za istovremenu detekciju cisteina i homocisteina u neutralnom mediju, te se identificiraju pomoću razlike u kinetici formiranja prstena [12].

KAPILARNA ELEKTROFOREZA omogućava odvajanje mnogih vrsta analita koji su bazirani na njihovoj pokretljivosti u elektromagnetskom polju. Uzorak koji se promatra može se razdvajati na bazi različite polarnosti i različitog odnosa mase i naboja, a može se razdvajati i zbog razlike u izoelektričnim točkama analita te elektroforeze preko gela gdje molekule prolaze kroz gel i tako se razdvajaju zbog različite veličine.

Ovo je jednostavna tehnika koja se koristi za identifikaciju i kvantifikaciju cisteina nakon kisele hidrolize proteina. Koristi se u kombinaciji sa tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti [13].

UV/Vis spektar (190 nm do 800 nm) daje informaciju o konjugaciji u spoju, prisutnosti kromofora ili pojedinim strukturnim fragmentima. Vidljivu svjetlost čini dio elektromagnetskog zračenja koji je vidljiv ljudskom oku. Da bi ljudskom oku neka tvar izgledala obojano, mora apsorbirati u vidljivom području elektromagnetskog spektra. Ljudsko oko od one boje koja se apsorbira vidi komplementarnu. UV zračenje se dijeli na UVA, B i C. UVC zrake ne prodiru do površine Zemlje dok UVA i B prodiru kroz vanjski sloj kože i izazivaju oštećenja [14].

1.2.1. Uporaba elektrokemijskih metoda za određivanje cisteina i problemi vezani za elektrokemijske metode

Glavni problem vezan za direktnu elektrokemijsku detekciju cisteina je visoki prenapon koji je potreban za oksidaciju tiolne (-SH) skupine na većini elektroda. Velika su ograničenja vezana za elektrode a odnose se na selektivnost, reproducibilnosti i nepotpunost reakcije na površini elektrode, što za posljedicu ima nestabilnost i slabu osjetljivost odziva prema tiolima. Rješenje ovog problema su kemijski modificirane elektrode a kao modifikatori koriste se ciklički ligandi, ftalocijanini, organski medijatori ili enzimi. Modifikatori imaju sposobnost imobilizacije na elektrodnu površinu ili ih je moguće jednostavno dodati ispitivanoj otopini. Za površinsku modifikaciju koriste se različiti spojevi koji ubrzavaju prijenos elektrona između elektroda i elektroaktivnih vrsta u otopini [15].

Elektrode korištene za elektrokemijsko određivanje tiola su uglavnom temeljene na modifikaciji različitih ugljikovih materijala, primjerice elektrode od staklastog ugljika (GCE), ugljikove paste (CPE), s pirolitičkim ugljikovim filmom (PCFE), keramičke ugljikove elektrode i sl. Često se upotrebljavaju i kapajuća živina elektroda (HMDE), kositrov(IV)oksid elektrode, Pt i Au elektrode, bakrena disk elektroda i sl.

Od korištenih modifikatora najzastupljenije su ugljikove nanocijevi, koje mogu biti jednozidne ili višezidne (SWCNT i MWCNT). One, zbog svoje građe, povećavaju reaktivnu površinu elektrode. Često se upotrebljavaju i metalni ftalocijanini (CoPc, FePc, NiPc, CuPc), nanočestice TiO₂, Pt, Ni, nanokompoziti, koenzim PQQ, organometalni spojevi (2,7-bis(ferocenil-etil)fluoren-9-on), salofenski kompleksi (kobaltov(III)perklorat), nitroprusidi (Fe(II) NP) i sl. [16].

1.3. ELEKTRODE OD UGLJIKOVE PASTE (CPE)

Ugljikova pasta je smjesa ugljikova praha (grafita) i prikladnog veziva ("lijepljenje tekućine") koji tvori poseban tip ugljikovih elektroda. U tom spoju uloga čestica grafita jest osigurati električki vodljivu površinu. Prisutnost tekućeg veziva i njegova interakcija s grafitnim česticama, čini ugljikove elektrode specifičnim elektrodnim materijalom s brojnim jedinstvenim svojstvima.

Ugljikov prah čini odgovarajući materijal za elektrodu, a izolacijsko vezivo se smatra pomoćnim medijem koji fiksira pojedinačne grafitne čestice u veću ili manju kompaktnu smjesu. Grafitne čestice ne bi trebale imati adsorptivna svojstva (većina grafitnih prahova koji su proizvedeni suvremenom tehnologijom imaju zadovoljavajuće nisku razinu adsorpcijske sposobnosti). Veliki problem pri primjeni CPE čini prisutnost kisika u porama grafita koji se dodatno apsorbira za vrijeme miješanja paste.

Osnovni zahtjevi koje moraju ispunjavati vezivne tekućine su:

- netopljivost u mjernoj otopini (koja je najčešće vodena) u svrhu sprječavanja raspadanja elektrodnog materijala
- niski tlak pare koji osigurava mehaničku stabilnost elektrodnog sustava tijekom duljeg vremenskog razdoblja
- elektrokemijska neaktivnost radi sprječavanja visokih pozadinskih struja i mijenjanja sastava materijala

Uobičajene tekućine koje se upotrebljavaju pri izradi CPE:

- parafinsko ulje
- silikonsko ulje
- brom
- naftalen

Omjer između ugljika i veziva najvažniji je za optimalna svojstva CPE. Čestice ugljika su odgovorne za električnu vodljivost, izravno su izložene otopini te u nekim slučajevima predstavljaju centre na kojima se odvija elektrokemijska aktivnost.

Ugljikove elektrode se mogu podijeliti prema:

- fizikalno - kemijskom svojstvu veziva:
 - a) *klasična CPE* - napravljena od grafitnog praha i inertnih tekućih veziva. Ova vrsta CPE najčešće se koristi i predstavlja 70 - 80% svih elektroda koje se temelje na ugljikovim pastama.
 - b) *vezivna CPE s elektroaktivnim vezivom* - smjese u kojima je anorganski elektrolit vezujuća tekućina kao npr. koncentrirana otopina mineralnih kiselina ili alkalijskih hidroksida.

- s obzirom na prirodu (viskoznost) veziva, mogu se razlikovati:
 - a) *"Dry" ili "Wet" CPE* - takve vezivne mješavine ugljikovih pasta se značajno razlikuju po količini veziva i odnosu omjera lijepljenja tekućine.
 - b) *čvrste CPE* - sastoje se od ugljika, te vezujuće smjese u kojoj je vezivo tvar koja se lako može otopiti kao npr. fenantren ili parafinsko ulje. Miješanjem na određenoj temperaturi vezivo se rastopi i smjesa zadržava svoj oblik. Nakon hlađenja, dobije se gusta masa koja se može upotrijebiti slično kao klasična pasta veće konzistencije. Pasta može biti napravljena i kombinacijom ugljika sa silikonskom gumom viskoznih silikonskih masti ili propilena.

- klasifikacija elektroda i senzora koja se oslanja na činjenicu da su modificirane ili ne:
 - a) *neizmjenjeni CPE* - ove elektrode se sastoje od binarne paste ugljika tj. od mješavine grafitnog praha i veziva.
 - b) *modificirani CPE* - binarni ugljik – vezujuća mješavina u kojima je dodano jedan ili više modifikatora.

Ugljikove paste pripremljene od hlapljivih vezivnih tekućina imaju prilično ograničen vijek trajanja. Odgovarajuće mješavine ugljikovih pasta se zbog sporog isparavanja veziva brzo suše, što je popraćeno vidnim promjenama u konzistenciji, i nepovratnim fizikalno - kemijskim i elektrokemijskim svojstvima. CPE na bazi organskih fosfata, mineralnih i silikonskih ulja mogu ispariti iz paste, unatoč njihovoj relativno visokoj viskoznosti, tijekom jednog ili dva tjedna a to je moguće spriječiti pohranom i skladištenjem na hladno i mračno mjesto. Dugoročno skladištenje ugljikovih pasta nije praktično je im je životni vijek ograničen, čak i ako su pakirane u čvrsto zatvorene posude.

Često dolazi do starenja s nepredvidivim promjenama ponašanja. Iz toga razloga potrebno je pripremiti odgovarajuću količinu paste koja je potrebna za eksperiment. Ako je smjesa ispravno napravljena može se koristiti za tjedan dana mjerenja.

Optimalan omjer za pripravu smjese varira u intervalima od 1 g praha do 0,4 - 1 cm³ tekućine. Neke mješavine mogu sadržavati čak veću količinu vezivne tekućine jer omjer dviju glavnih komponenti ovisi i o njihovom međusobnom prijanjanju. Pripremljena smjesa ne smije biti ni previše tvrda, ni previše mekana, a ni ljepljiva. Pasta se priprema ručnim miješanjem grafitnog praha i tekućeg veziva uz upotrebu tarionika i tučka.

Cijevi i štapići sa šupljinama vrlo jednostavne konstrukcije mogu se napraviti u svakom laboratoriju i često oni predstavljaju najjednostavnije rješenje za dobivanje elektroda za povremena mjerenja [18].



Slika 4 - Osnovna konstrukcija elektrode od ugljikove paste, električna žica za kontakt, pasta i cijev [19]

Na Slici 4 vidimo da elektrodu čini staklena cijev određenog promjera koja je djelomično ispunjena ugljikovom pastom u koju je uronjen kontakt. Umjesto stakla mogu se koristiti plastični materijali kao što su male šprice, pipete ili mikropipete.

1.4. Cu_2O KAO MODIFIKATOR U ELEKTROKEMIJSKOM ODREĐIVANJU

Bakrov(I)oksid, Cu_2O se kao modifikator u staklenim ugljikovim elektrodama koristio za određivanje dopamina. Elektrokemijsko ponašanje modificirane elektrode se ispitalo primjenom cikličke voltometrije u fosfatnoj puferiranoj otopini, pri pH od 3,5 [20].

Nanočestice Cu_2O su se koristile za modifikaciju staklene ugljikove elektrode te za određivanje 4-nitrofenola cikličkom voltametrijom, kronoamperometrijom, kronokulometrijom te diferencijalnom pulsnom voltametrijom. Elektroda pokazuje dobru ponovljivost te stabilnost. Konačno, predložena metoda je primjenjena za određivanje 4-nitrofenola u vodenim otopinama. Ponovljivost za ove uzorke je velika [21].

Elektroda od ugljikove paste je modificirana sa višeslojnim ugljičnim nanocijevima i bakrovim(I)oksidom te su promatrana elektrokemijska ponašanja 19 aminokiselina. Neke aminokiseline su savršeno odvojene unutar samo 20 minuta i granice detekcije su niske. Ovako modificirana elektroda se pokazala kao dobar elektrokemijski senzor za aminokiseline sa nekim prednostima kao što su priprema, visoka osjetljivost te dobra ponovljivost [22].

Elektroda od ugljikove paste koja je modificirana sa duplim modifikatorima, odnosno bakrovim(I)oksidom i polietilen glikolom, se koristila u elektroforezi uz amperometriju za određivanje triju šećera, glukoze, saharoze i fruktoze te askorbinske kiseline. Sva četiri analita su odvojena u relativno kratkom vremenu te ta metoda ima prednosti radi praktične primjene, visoke osjetljivosti i visoke ponovljivosti [23].

Proučavalo se elektrokemijsko ponašanje elektrode od ugljikove paste modificirane sa bakrovim(I)oksidom u različitim puferkim otopinama te u prisutnosti askorbinske kiseline i cisteina. Radni uvjeti kao što su pH, mineralno ulje i omjer modifikatora su se optimizirali. Voltometrijski rezultati za cistein su pokazali da on tvori relativno stabilan kompleks sa bakrom(I) u boratnom puferu, pri pH od 9,2. U slučaju askorbinske kiseline dolazi do stvaranja kompleksa sa bakrom(II) [24].

Elektroda napravljena od praha bakrovog(I)oksida kao modifikatora se koristila za amperometrijska mjerenja u simultanim kapilarnim zonama elektroforetske analize klorogenih kiselina, rutina, saharoze, glukoze, manoze i fruktoze u uzorcima duhana. U optimalnim uvjetima ovih šest analita se može razdvojiti unutar 30 minuta u puferu [25].

Staklena ugljikova elektroda je modificirana sa difenilalaninom te je korištena za detekciju 4-nitrofenola. Difenilalanin je uspješno elektropolimeriziran na modificiranu elektrodu korištenjem voltametrije u monomernoj otopini sa H_2SO_4 . Modificirana elektroda je pokazala dobru osjetljivost i selektivnost. Ovaj senzor se koristio za određivanje 4-nitrofenola u vodenim uzorcima [26].

Jednostavan način sintetskog postupka za uključivanje nanočestica bakrovog(I)sulfida, Cu_2S unutar mezopora. Nanokompozitni materijal je okarakteriziran transmisijskim elektronskim mikroskopom, rendgenskom difrakcijom te adsorpcijom i desorpcijom dušika. Rezultati ukazuju da inkorporacija nanočestica Cu_2S među pore mezoporoznog ugljika ne dovodi do promjena u dvodimenzijskoj heksagonalnoj mezostrukture matriksa. Razvijen je neenzimski amperometrijski senzor sa vodikovim peroksidom, na principu modificirane staklene elektrode. Modificirana elektroda pokazuje visoku osjetljivost prema vodikovom peroksidu. Kombinacija jedinstvenih svojstava nanočestica Cu_2S i mezostrukture matriksa garantira izvrsnu elektrokatalizu za vodikov peroksid. Dobra analitička izvodivost i niski trošak čine ovaj kompozit obećavajućim za razvoj senzora za vodikov peroksid [27].

1.5. ELEKTROKEMIJA

Elektrokemija je grana fizikalne kemije koja proučava stanja i procese u kojima istodobno nastaju međusobno uvjetovane kemijske i električne pojave. Prema jednoj od vodećih ličnosti u elektrokemiji druge polovine XX st., J. O'M. Bockrisa, elektrokemija je područje znanosti koja opisuje stvaranje tvari pomoću elektriciteta i stvaranje elektriciteta trošenjem tvari.

J. O'M. Bockrisa je sve elektrokemijske sustave podijelio u tri grupe [19]:

- ćelije koje se pokreću izvana – proizvođače tvari,
- gorive ćelije – proizvođače električne struje i
- elektrokemijske neuređaje – elektrode koje se spontano troše rasipajući energiju.

U prvoj grupi procesi zahtijevaju unosenje energije izvana; u drugoj grupi električna energija se dobiva na račun energije kemijskog procesa, a treća grupa obuhvaća spontanu razgradnju tvari uz gubitak energije u čijem mehanizmu postoji i izmjena elektrona, a odnose se na procese elektrokemijske korozije. Posebnu ulogu elektrokemija ima u kemijskoj analizi. Elektroanalitička kemija danas dominira u ovom području a njene metode se mogu automatizirati i izgraditi elektronski instrument pomoću kojih se lako dobivaju kompjuterski zapisi rezultata. Ovo je danas široko zastupljeno naročito u kliničkoj medicinskoj praksi, i u ekološkim istraživanjima onečišćenosti zraka, vode i tla pomoću elektrokemijskih senzora [28].

Elektrokemijska ćelija je ključni instrument i u njoj se provode elektroanalitička mjerenja, a čine je posuda koja sadrži otopinu (najčešće je to otopina elektrolita - ionski vodič) u koju su uronjene elektrode - elektronski vodiči. Elektrode imaju dvojaki karakter, jer na njima može nastati dana električna veličina, a mogu služiti i za dovođenje iste iz vanjskog izvora.

Elektroda ima ulogu senzora (osjetila) u trenutku kad se uroni u otopinu, jer tada dolazi do elektrokemijske reakcije prilikom koje se promjena koncentracije kemijske vrste manifestira kao promjena razlike potencijala uspostavljene na dodirnoj površini elektroda - otopina. Pored toga, elektroda može biti sredstvo za dovođenje električne veličine koja uzrokuje promjene na dodirnoj površini elektroda - otopina. Kao produkt navedene promjene nastaje neka druga veličina koju mjerimo [29].

Elektroanalitičke metode su skupina analitičkih postupaka i tehnika kojima informaciju, odnosno podatak o koncentraciji, aktivitetu ili nekom drugom podatku određivane kemijske vrste (atoma, iona ili molekula) dobivamo posredstvom međusobno razmjernih odnosno analognih električnih veličina, tj. s pomoću električnog napona, električne struje ili električnog naboja [29].

Elektroanalitičke metode dijelimo u dvije osnovne kategorije:

1. metode kod kojih, kroz elektrokemijsku ćeliju, ne teče električna struja,
2. metode kod kojih, kroz elektrokemijsku ćeliju, teče električna struja kao posljedica djelovanja vanjskog izvora električne struje.

Kod metoda kod kojih nema protoka električne struje električni napon, što nastaje između elektroda, uspostavlja se spontano, odvijanjem elektrokemijskih reakcija na elektrodama. Kako vanjskim električnim krugom, ne teče električna struja, elektrokemijske reakcije na elektrodama mogu postići stanje dinamičke ravnoteže. Tako se na elektrodama uspostavlja određeni, ravnotežni, elektrodni potencijal. Razlika potencijala, odnosno napona, između elektroda pokazuje samo nakanu tijekom reakcije koja bi se odvijala u elektrokemijskoj ćeliji kada bi vanjskim električnim krugom omogućili tok (zatvorili strujni krug) električne struje s jedne elektrode na drugu. Ova metoda se naziva potenciometrija. Zbog tendencije odvijanja reakcije na elektrodama, u graničnom sloju otopine uz elektrode, mijenja se koncentracija tzv. elektroaktivnih čestica koje sudjeluju u elektrodnim reakcijama.

Druga, mnogobrojnija skupina elektroanalitičkih metoda, je ona kod kojih kroz elektrokemijski članak teče električna struja kao posljedica djelovanja vanjskog izvora struje. Elektrokemijsku ćeliju u kojoj se odvijaju ovi procesi nazivamo elektrolitička ćelija, a sam proces elektrolizom. Tok električne struje kroz elektrolitičku ćeliju, a time i kroz vanjski električni krug koji povezuje elektrode, uzrokuju elektrokemijske reakcije na elektrodama, tj. odvijanje reakcija redukcije i oksidacije. Mjerena fizikalna veličina jest odziv sustava u ćeliji na vanjski signal pobude. Ako je signal pobude električni napon, kroz radnu će elektrodu teći električna struja a jakost električne struje ovisiti će o obliku naponskog signala pobude, vrsti primijenjene elektrode kao i o koncentraciji elektroaktivnih čestica, a rezultirajuća fizikalna veličina će biti električna struja. Ona se može mjeriti kao funkcija narinutog napona i u tom slučaju govorimo o voltametrijskim metodama.

Kod kronoamperometrije, rezultirajuću električnu struju mjerimo kao funkciju vremena elektrolize, a kod elektrogravimetrije mjerimo masu izlučene tvari na radnoj elektrodi. Kad mjerimo količinu električnog naboja potrebnog za provođenje elektrolize, govorimo o kulometriji. Kod kulometrije signal pobude može biti električna struja ili električni napon.

U većini elektroanalitičkih metoda mjereni podatak o svojstvima elektrolitne otopine dobivamo s pomoću jedne od elektroda elektrolitičke ćelije. Tu elektrodu nazivamo radnom kada kroz ćeliju teče električna struja, a indikatorskom pri potenciometrijskim mjerenjima. Stoga, temelj elektroanalitičkih mjerenja čini elektrokemijska reakcija na radnoj ili indikatorskoj elektrodi [29].

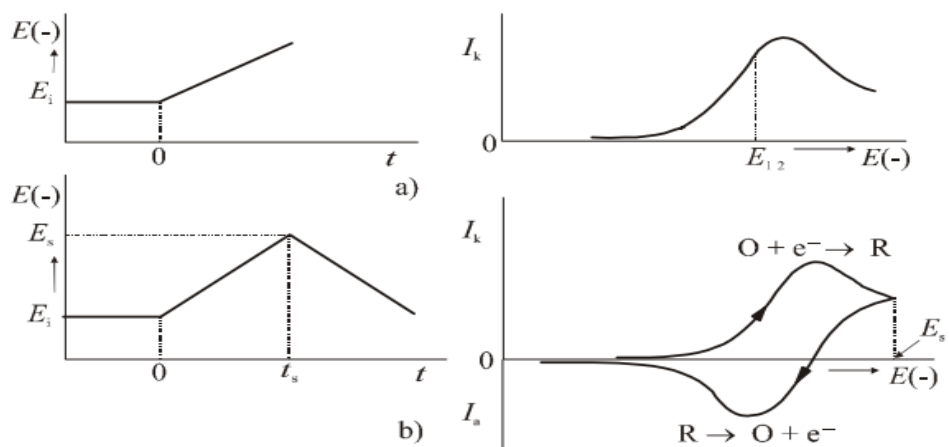
1.5.1. Ciklička voltametrij

Voltametrij je zajednički naziv za niz elektrokemijskih metoda koje se zasnivaju na mjerenjima odnosa struje i potencijala kod elektrokemijskog procesa na radnoj elektrodi. Signal pobude u ovom slučaju je električni napon, a signal odziva je struja ćelije, a mjeri se kao funkcija narinutog napona.

Kod cikličke voltametrije signal pobude (narinuti potencijal) određeno vrijeme linearno raste, te nakon što dosegne krajnju vrijednost promijeni se smjer potencijala. U oba smjera promjena potencijala je linearna. U ovim ciklusima moguće je elektrokemijski oksidirati ili reducirati produkte zbog čega je ciklička voltametrij naročito pogodna za istraživanja mehanizama elektrokemijskih reakcija [30, 31].

Elektrokemijska ćelija se sastoji od posude u kojoj se nalazi smjesa analita i neutralnog elektrolita u koju su uronjene tri elektrode. Mjerimo potencijal radne elektrode koji se mijenja linearno s vremenom dok je druga elektroda referentna, najčešće ZKE, zasićena kalomelova elektroda sa stalnim potencijalom koji iznosi 0,241 V. Treća elektroda u sustavu je protuelektroda, najčešće od platinske žice koja služi za provođenje struje od izvora signala do radne elektrode koja je male površine kako bi se poboljšala njena težnja ka polarizaciji [32].

Grafički prikaz odziva cikličke voltametrije nazivamo cikličkim voltamogramom [29].



Slika 5 - Grafički prikaz signala pobude i odziva voltametrije (a) i cikličke voltametrije (b)

[29]

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. PRIPRAVA ELEKTRODNOG MATERIJALA

Tijekom mjerenja je korištena nemodificirana elektroda od ugljikove paste (nCPE) i elektroda modificirana sa 5% Cu₂O (mCPE). Za pripremu nemodificirane elektrode, odnosno za nCPE je korišten 1 g grafita i 400 µL parafinskog ulja, dok je za pripremu modificirane elektrode, mCPE korišteno 0,95 g grafita i 0,05 g Cu₂O uz 400 µL parafinskog ulja. U prethodno homogeniziranu smjesu prahova je dodano parafinsko ulje dok se nije postigla zadovoljavajuća konzistencija. Zatim je pasta homogenizirana u tarioniku. Smjesa ne smije biti ni previše tvrda, ni tekuća, a ni ljepljiva. Pripremljena pasta je prenešena u odgovarajuće tijelo od šprice te je na vrh umetnuta bakrena žica koja će poslužiti kao vodič.

Površina radne elektrode iznosila je 0,2 cm², a prije svakog mjerenja se iznova skidao površinski sloj radi reproducibilnosti.

2.2. PRIPRAVA OTOPINA

Za pripremu otopina koje su bile potrebne za izvedbu eksperimenta su korištene sljedeće kemikalije:

Tablica 2 - Kemikalije korištene za pripremu eksperimentalnih otopina

<i>kemikalija</i>	<i>molekulska formula</i>	<i>dobavljač</i>
natrijev hidrogenfosfat	Na ₂ HPO ₄	p.a. "Kemika", Zagreb
kalijev nitrat	KNO ₃	p.a. "Kemika", Zagreb
natrijev acetat	CH ₃ COONa	p.a. "Kemika", Zagreb
amonijev klorid	NH ₄ Cl	p.a. "Kemika", Zagreb
boraks	Na ₂ B ₄ O ₇ x 10H ₂ O	p.a. "Kemika", Zagreb
amonijak	NH ₃	p.a. "Kemika", Zagreb
fosforna kiselina	H ₃ PO ₄	p.a. "Kemika", Zagreb
octena kiselina	CH ₃ COOH	p.a. "Kemika", Zagreb
cistein	C ₃ H ₇ NO ₂ S	p.a. "Merck", SAD

2.2.1. Priprava otopina L–cisteina različitih koncentracija

Otopina L–cisteina, koncentracije $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$, pripravljena je otapanjem $0,121 \text{ g}$ cisteina ($\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}$), u destiliranoj vodi te razrjeđenjem na konačni volumen od $0,01 \text{ dm}^3$. Za pripremu $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ uzeto je $0,001 \text{ dm}^3$ prethodno napravljene ($0,1 \text{ mol dm}^{-3}$) otopine cisteina te je razrijeđena na volumen od $0,01 \text{ dm}^3$. Zatim je ponovno uzeto $0,001 \text{ dm}^3$ $0,01 \text{ mol dm}^{-3}$ otopine cisteina te iskorišteno za pripremu $0,001 \text{ mol dm}^{-3}$.

Ovako priređene otopine korištene su u elektrokemijskim mjerenjima na način da se od svake dodavao određeni volumen u ćeliju koja je već sadržavala $0,1 \text{ dm}^3$ osnovnog elektrolita do postizanja konačne koncentracije.

Prilikom mjerenja je uvijek iznova pripremljena nova otopina cisteina.

Tablica 3 - Koncentracije cisteina koje su korištene pri mjerenju

<i>c (Cys) pripravljena</i>	<i>V (Cys) dodanog cisteina iz kolone 1</i>	<i>c (Cys) u ćeliji</i>
<i>0,001</i>	<i>50 μL</i>	<i>5×10^{-7}</i>
<i>0,01</i>	<i>50 μL</i>	<i>5×10^{-6}</i>
<i>0,1</i>	<i>50 μL</i>	<i>5×10^{-5}</i>
<i>0,1</i>	<i>500 μL</i>	<i>5×10^{-4}</i>
<i>0,1</i>	<i>5000 μL</i>	<i>5×10^{-3}</i>

2.2.2. Priprava otopine kalijevog nitrata, KNO_3

U destiliranoj vodi je otopljeno $101,075 \text{ g}$ kalijevog nitrata te zatim razrjeđeno na konačni volumen od 2 dm^3 . Koncentracija ove otopine je bila $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$. Zatim je iz ove otopine pripravljena $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ otopina kalijevog nitrata, korištenjem $0,018 \text{ dm}^3$ otopine KNO_3 koncentracije $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ koja je razrijeđena do konačnog volumena od $0,09 \text{ dm}^3$.

2.2.3. Priprava otopine natrijevog acetata, CH_3COONa

U destiliranoj vodi je otopljeno $2,05 \text{ g}$ CH_3COONa te zatim razrjeđeno na konačni volumen od $0,25 \text{ dm}^3$. Koncentracija ove otopine je $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$.

2.2.4. Priprava otopine acetatne kiseline, CH₃COOH

U destiliranoj vodi je otopljeno 1,5 g CH₃COOH te zatim razrijeđeno na konačni volumen od 0,25 dm³. Koncentracija ove otopine je 0,1 mol dm⁻³.

2.2.5. Priprava otopine acetatnog pufera; pH 4

Dodavanjem 0,1 mol dm⁻³ otopine CH₃COOH u otopinu CH₃COONa, koncentracije 0,1 mol dm⁻³, prilagođava se pH do željene vrijednosti (pH = 4). Ovo dodavanje se vrši uz stalno praćenje pH vrijednosti pH - metrom.

2.2.6. Priprava otopine natrijevog hidrogenfosfata, Na₂HPO₄

U destiliranoj vodi je otopljeno 3,548 g natrijevog hidrogenfosfata te zatim razrijeđeno na konačni volumen od 0,25 dm³. Koncentracija ove otopine je 0,1 mol dm⁻³.

2.2.7. Priprava otopine fosfatnog pufera; pH 7

Dodavanjem koncentrirane otopine H₃PO₄ u otopinu Na₂HPO₄, koncentracije 0,1 mol dm⁻³ prilagođava se pH do željene vrijednosti (pH = 7). Ovo dodavanje se vrši uz stalno praćenje pH vrijednosti pH - metrom.

2.2.8. Priprava otopine amonijevog klorida, NH₄Cl

U destiliranoj vodi je otopljeno 1,56 g amonijevog klorida te zatim razrijeđeno na konačni volumen od 0,25 dm³. Koncentracija ove otopine je 0,1 mol dm⁻³.

2.2.9. Priprava otopine amonijačnog pufera; pH 9

Dodavanjem koncentrirane otopine NH₃ u otopinu NH₄Cl, koncentracije 0,1 mol dm⁻³ prilagođava se pH do željene vrijednosti (pH = 9). Ovo dodavanje se vrši uz stalno praćenje pH vrijednosti pH - metrom.

2.2.10. Priprava otopine boratnog pufera; pH 9

Boratni pufer je pripremljen otapanjem 9,5 g boraksa $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot x \text{H}_2\text{O}$ u $0,25 \text{ dm}^{-3}$ destiliranoj vodi. Pripremljeni pufer je jakosti $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ s $\text{pH} = 9$.

2.2.11. Priprava elektrolitne otopine

Osnovna elektrolitna otopina se sastojala od $0,09 \text{ dm}^3$ KNO_3 , koncentracije $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ i $0,1 \text{ dm}^3$ odgovarajućeg pufera.

2.3. APARATURA

Korištena je elektrokemijska ćelija sa srebro/srebrov klorid, Radiometer XR300 odnosno Ag/AgCl kao referentnom elektrodom, platinskom pločicom kao protuelektrodom te elektrodom od ugljikove paste kao radnom elektrodom radne površine $0,2 \text{ cm}^2$.

Sva elektrokemijska mjerenja su izvršena s potencijostatom (Autolab PGSTAT 302N) spojenim na osobno računalo (PC), a kojim se upravlja pomoću GPES 4,9 Softwarea (Eco Chemie).

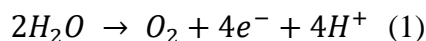
3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE nCPE

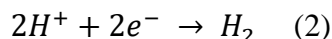
3.1.1. Utjecaj pomaka anodne i katodne granice na nCPE

Preliminarna elektrokemijska istraživanja su bila usmjerena na određivanje ponašanja nemodificirane radne elektrode od ugljikove paste. Korištena je ciklička voltometrija kao tehnika, odnosno snimani su ciklički voltamogrami (CV) od otvorenog strujnog kruga prema anodnim i katodnim potencijalima.

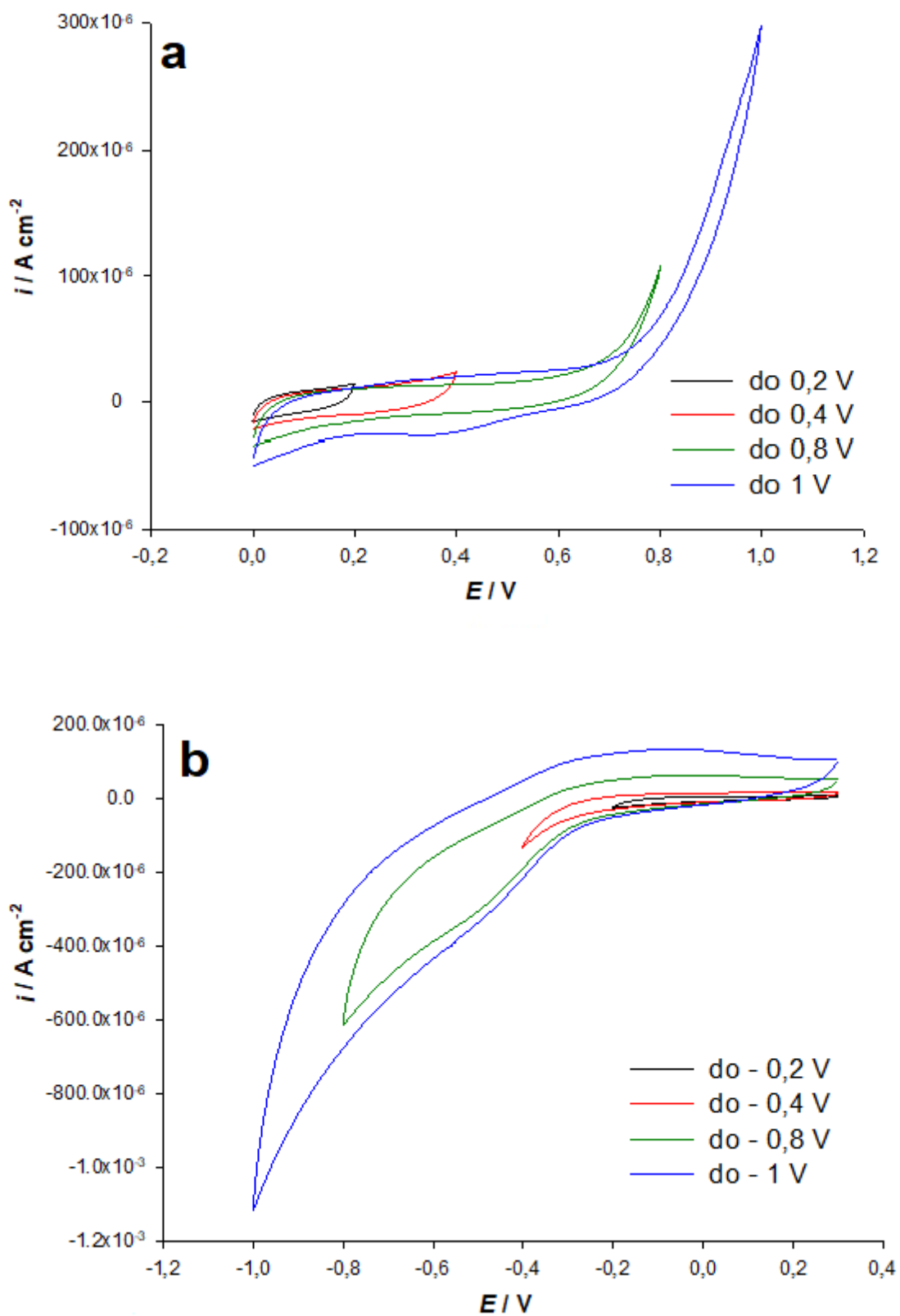
Na Slici 6. su prikazani CV snimljeni pri različitim anodnim i katodnim granicama. Iz slike 6a je vidljivo da pri potencijalima većim od +0,8 V dolazi do anodnog izlučivanja kisika, prema jednadžbi (1).



Dok pri potencijalima od -0,4 V dolazi do katodnog izlučivanja vodika, prema jednadžbi (2), vidljivo na slici 6b.

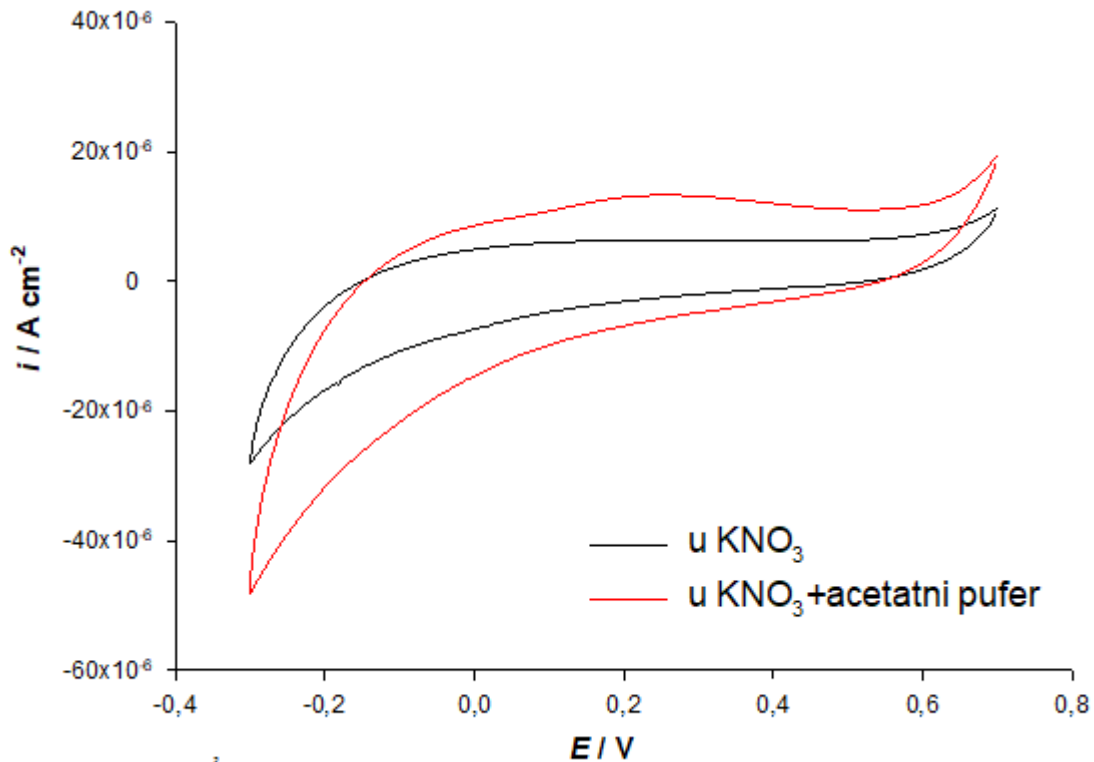


Na osnovu dobivenih podataka, za ispitivanje elektrokemijskog ponašanja cisteina na elektrodama od ugljikove paste je uzeto područje u rasponu od -0,3 V do +0,7 V. Sva mjerenja koja su izvršena u ovome radu su rađena u ovim granicama potencijala i pri sobnoj temperaturi.



Slika 6 - Utjecaj pomaka anodne (a) i katodne (b) granice na cikličke voltamogramе nCPE u osnovnom elektrolitu, $0,1 \text{ mol dm}^{-3} \text{ KNO}_3$

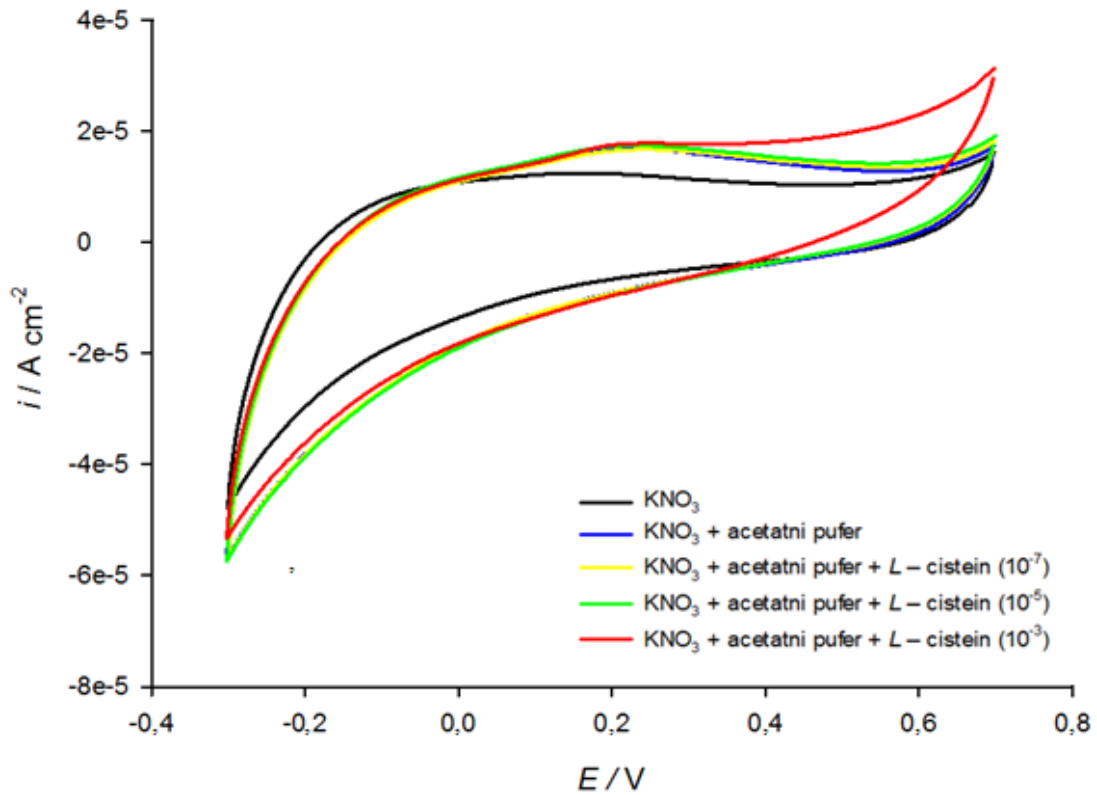
3.1.2. Utjecaj dodatka pufera na CV nCPE (pH 4)



Slika 7 - Utjecaj dodatka acetatnog pufera (pH 4) na CV nCPE

Slika 7 prikazuje utjecaj acetatnog pufera na ciklički voltamogram nemodificirane elektrode od ugljikove paste u odabranom području potencijala, u prethodno određenim granicama. CV otkriva povećanje osnovne struje u odnosu na CV koji je snimljen bez dodatka pufera u čistom kalijevom nitratu, što odgovara promijeni ionske jakosti. Olakšana je katodna reakcija izlučivanja vodika što odgovara i sniženoj pH vrijednosti otopine.

3.1.3. Utjecaj dodatka cisteina na CV nCPE (pH 4)

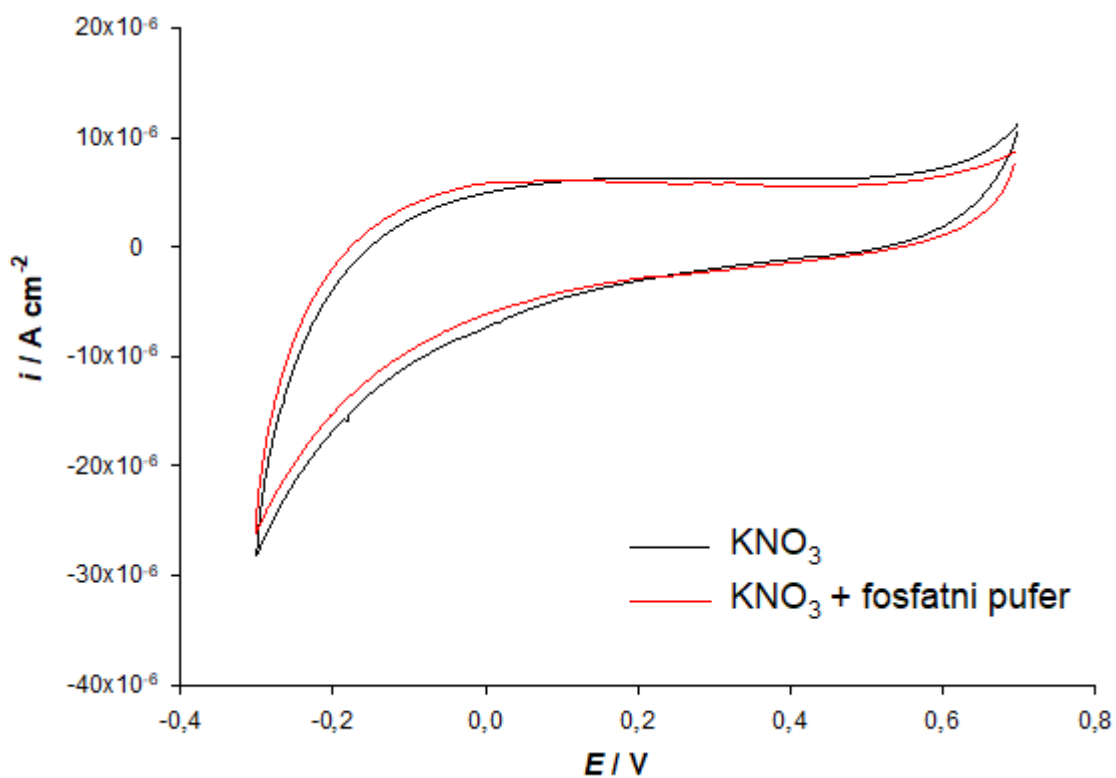


Slika 8 - Utjecaj dodatka cisteina (mol dm^{-3}) na CV nCPE pri pH 4

Na slici 8 prikazan je utjecaj dodatka različite koncentracije cisteina na ciklički voltamogram nemođificirane elektrode, snimljen pri pH 4.

Iz Slike 8 je vidljivo da u ispitivanim granicama i pri datom pH CV s dodatkom cisteina ne pokazuje značajnije elektrokemijske promjene.

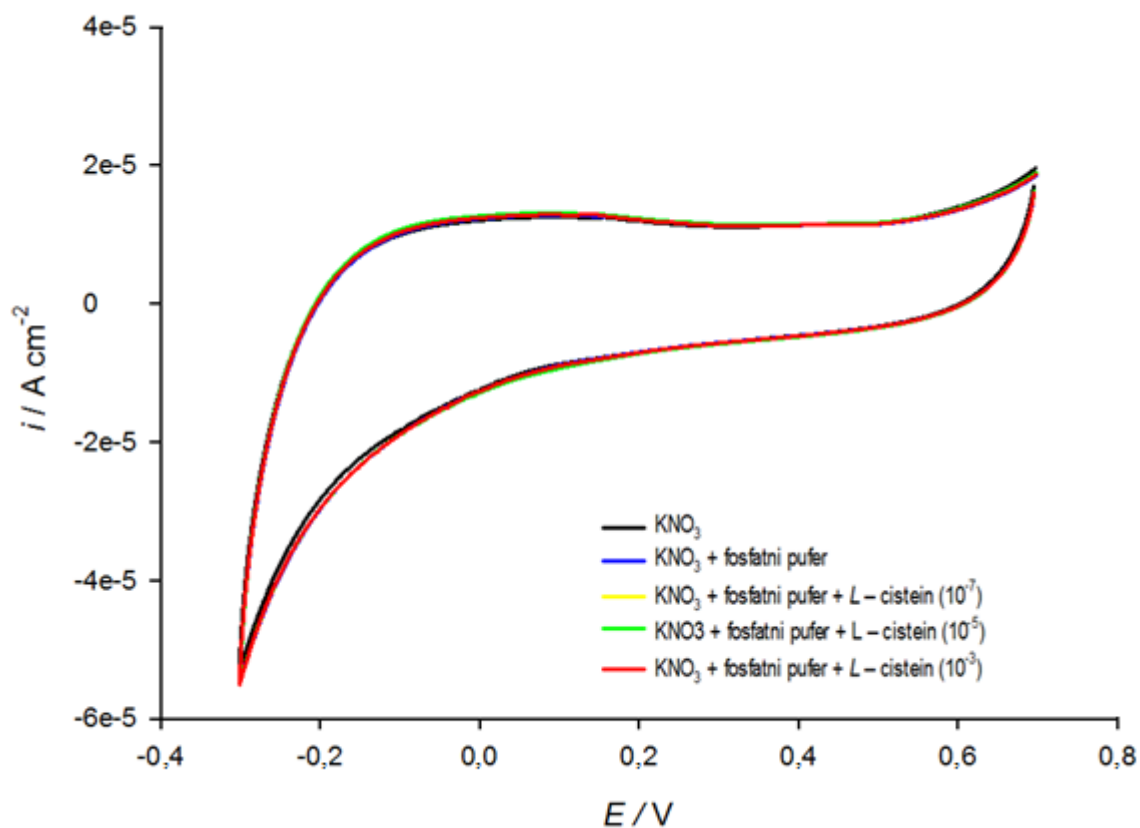
3.1.4. Utjecaj dodatka pufera na CV nCPE (pH 7)



Slika 9 - Utjecaj dodatka fosfatnog pufera (pH 7) na CV nCPE

Slika 9 prikazuje utjecaj fosfatnog pufera na ciklički voltamogram nemođificirane elektrode od ugljikove paste u odabranom području potencijala, u prethodno određenim granicama. Iz CV se može zaključiti da dodatak fosfatnog pufera nema značajniji utjecaj.

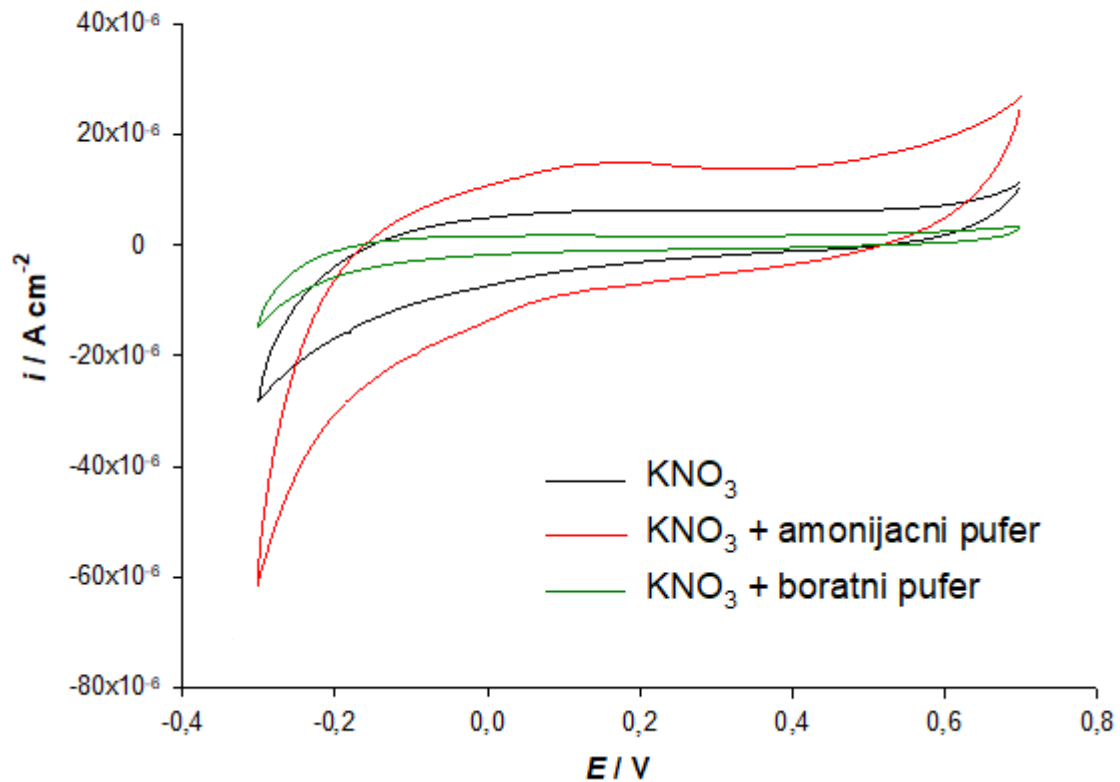
3.1.5. Utjecaj dodatka cisteina na CV nCPE (pH 7)



Slika 10 – Utjecaj dodatka cisteina (mol dm^{-3}) na CV nCPE pri pH 7

Ispitivana su moguća katalitička svojstva nCPE snimanjem CV u neutralnom mediju uz uzastopno dodavanje cisteina različitih koncentracija. Iz Slike 10 je vidljivo da u ispitivanim granicama i pri datom pH, na CV, s dodatkom cisteina, se ne mogu uočiti značajnije promjene.

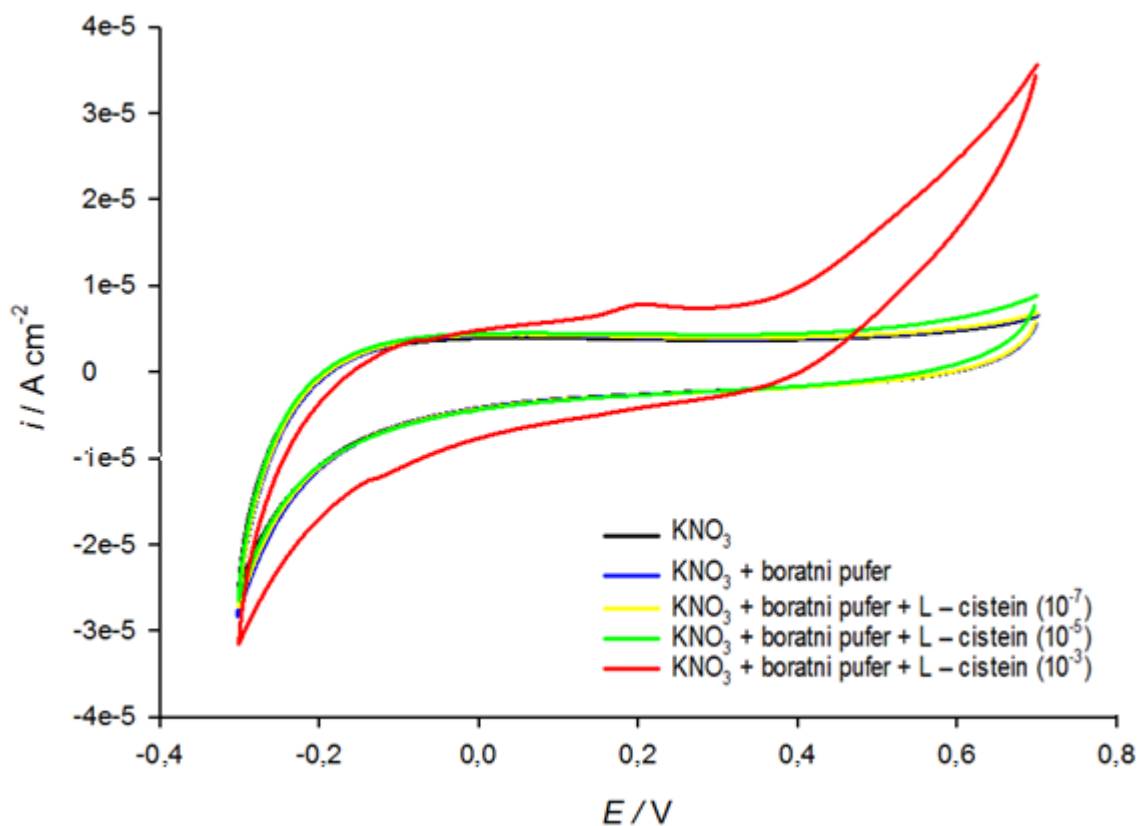
3.1.6. Utjecaj dodatka pufera na CV nCPE (pH 9)



Slika 11 - Utjecaj dodatka amonijačnog (pH 9) i boratnog (pH 9) pufera na CV nCPE

Slika 11 prikazuje utjecaj dvaju lužnatih pufera (jakosti $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ i pH 9) na ciklički voltamogram nemodificirane elektrode od ugljikove paste u odabranom području potencijala, u prethodno određenim granicama. Kako se može i primijetiti, veće osnovne struje su dobivene za amonijačni pufer pa se za sva mjerenja pri ovom pH koristio boratni pufer.

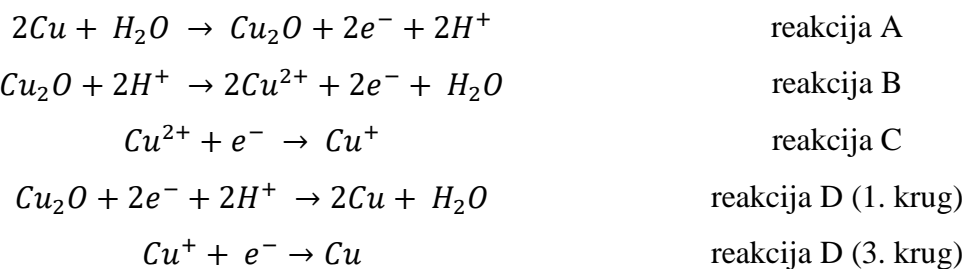
3.1.7. Utjecaj dodatka cisteina na CV nCPE (pH 9)



Slika 12 – Utjecaj dodatka cisteina (mol dm^{-3}) na CV nCPE pri pH 9

Ispitivana su moguća katalitička svojstva nCPE snimanjem CV u lužnatom mediju uz sukcesivno dodavanje cisteina za postizanje njegovih različitih koncentracija. Iz Slike 12 je vidljivo da u ispitivanim granicama i pri datom pH, ne postoji značajniji utjecaj cisteina na CV, sugerirajući izostanak bilo kakvih redoks reakcija vezanih za cistein na ovakvoj elektrodi i pri ovom pH.

3.2. ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE mCPE



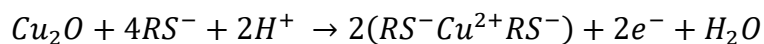
3.2.1. Elektrokemijsko ponašanje mCPE bez dodatka cisteina

CV su snimani na način da se prvo išlo u katodnu stranu od otvorenog strujnog kruga gdje dolazi do redukcije bakrovog(I)oksida u elementarni bakar, prema reakciji D. U prvom krugu u anodnoj grani dolazi do oksidacije nastalog bakra u bakrov(I)oksid prema reakciji A. Nadalje bakrov(I)oksid se oksidira u bakrov(II) kation prema reakciji B, te ciklus završava slijednom redukcijom stvorenog bakrovog(II) kationa u bakrov(I) kation, prema reakciji C.

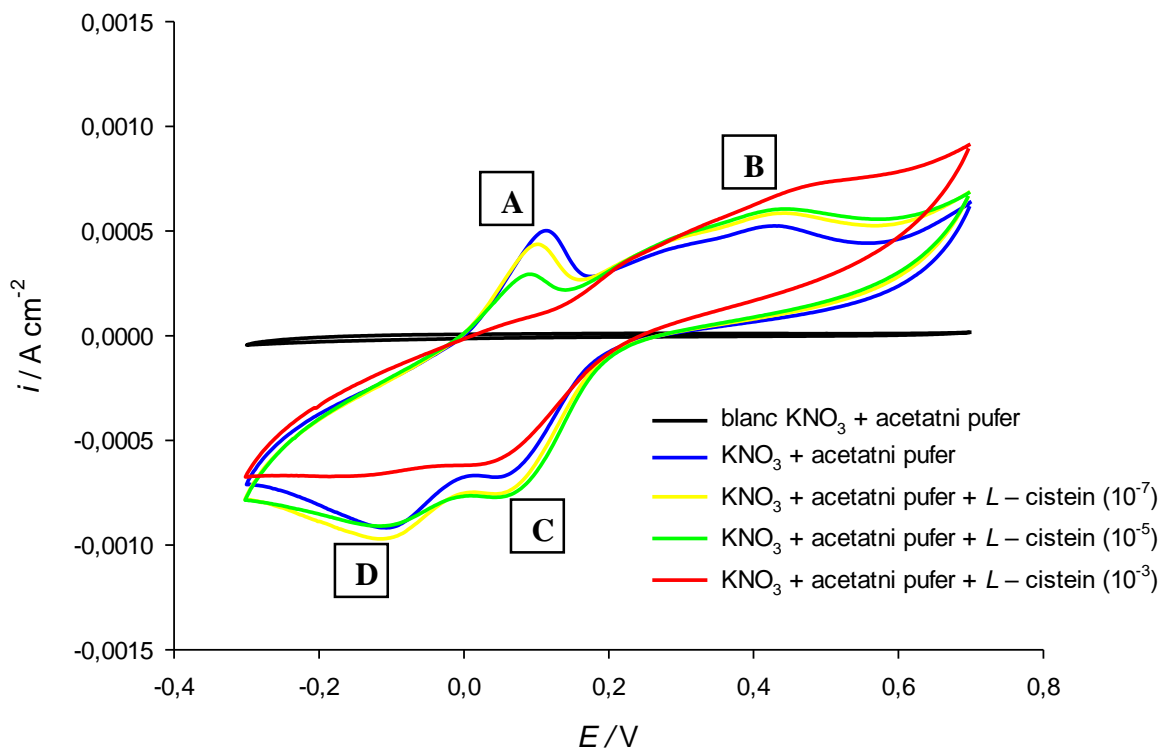
3.2.2. Elektrokemijsko ponašanje mCPE uz dodatak cisteina

Dodatak L–cisteina uzrokuje smanjenje oksidacijskog pika prema jednadžbi A. Prema toj jednadžbi također je moguća pasivacija površine modifikatora stvaranjem kompleksa između L–cisteina i bakra ili L–cisteina sa preostalim bakrovim(I)oksidom. Smanjenje pika je karakteristično za cijelo istraživano područje koncentracija cisteina od 10^{-7} mol dm⁻³ do 10^{-3} mol dm⁻³. Slijedno ovom smanjenju dodatak cisteina uzrokuje porast pika B te je ovo i očekivano ukoliko imamo na umu pozitivniji oksidacijski potencijal pri kojem dolazi do oksidacije bakrovog(I)oksida.

Povećana oksidacija Cu₂O/Cu²⁺ je većeg dosega u prisutnosti cisteina zbog pomaka ravnoteže u reakciji B.



3.2.3. Elektrokemijsko ponašanje mCPE pri pH 4



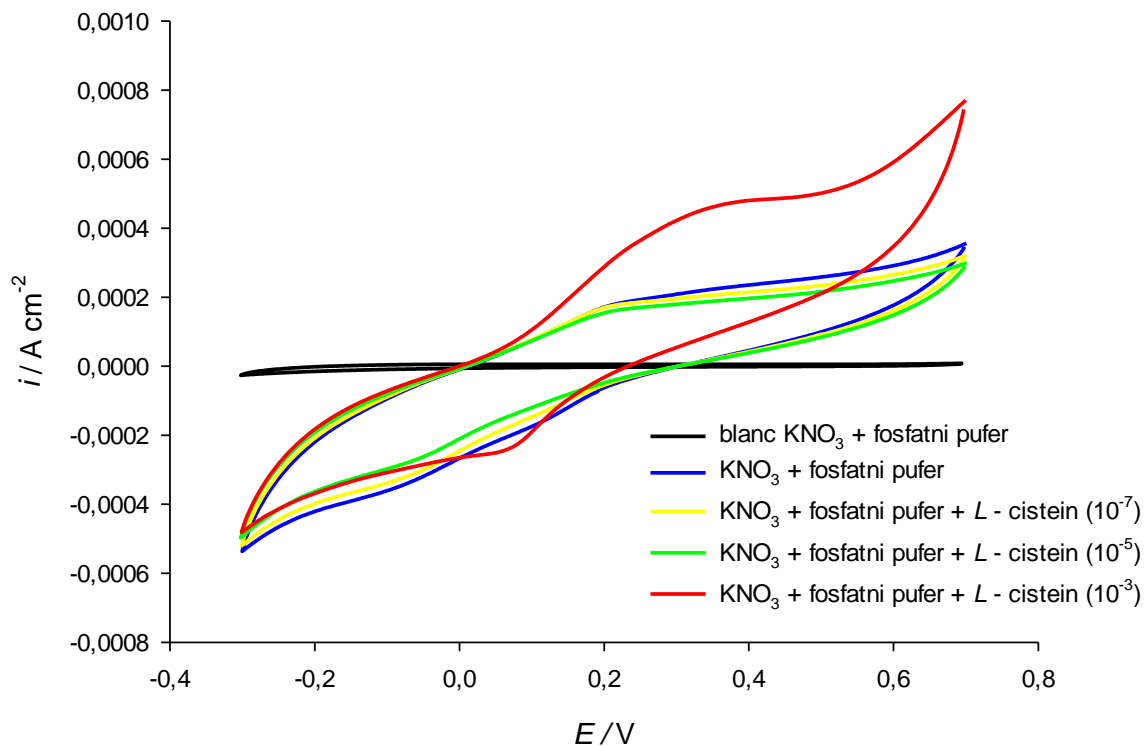
Slika 13 - Utjecaj dodatka cisteina (mol dm^{-3}) na CV mCPE pri pH 4

Katodna redukcija bakrovog(II) kationa koja se odvija na E^0 od 0,007 V je prikazana reakcijom B. Tako je za očekivati da većem dosegu reakcije B odgovara i veći doseg reakcije C. Ovo je i zapaženo do koncentracije cisteina od $10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$. Za koncentraciju cisteina $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ dolazi do drastičnog smanjenja pika C što se može objasniti na sljedeći način:

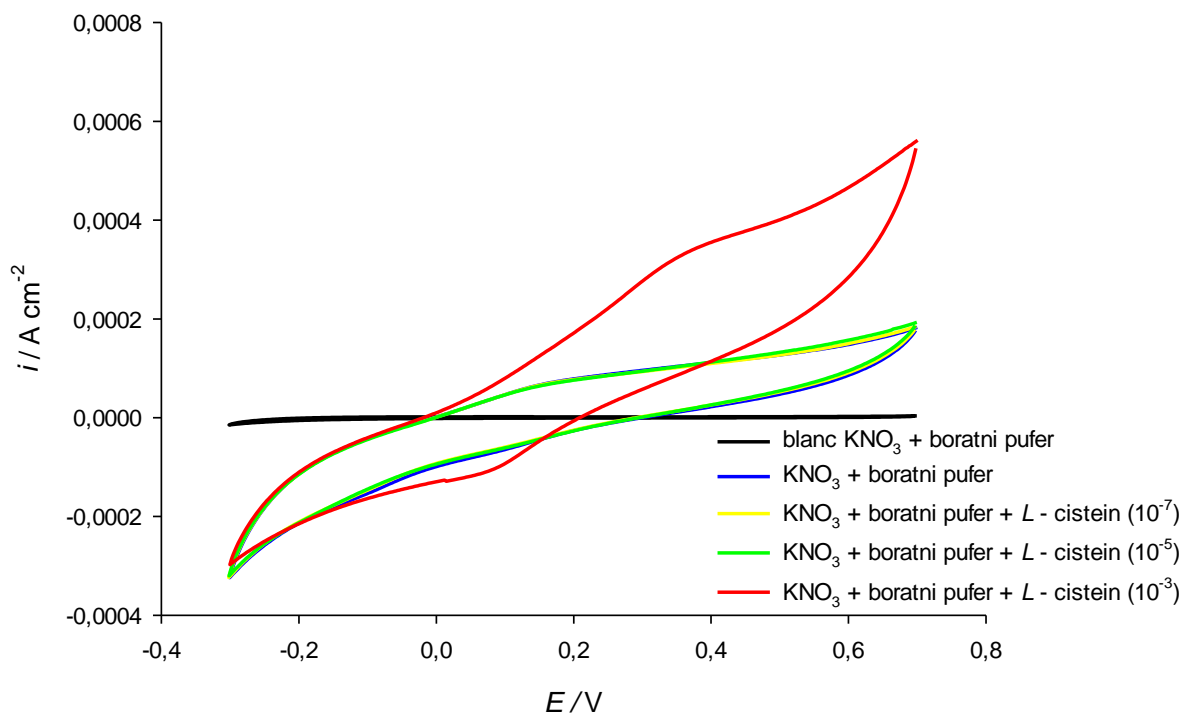
Pri koncentracijama cisteina do $10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ može se pretpostaviti da dolazi do redukcije nekomplesiranog bakrovog(II) kationa u bakrov(I) kation, stoga u ovom području koncentracije cisteina dolazi do porasta katodnog pika, pika C.

Daljnijim povećavanjem koncentracije cisteina u otopini se preferira kompleks $[\text{RS}^- \text{Cu}^{2+} \text{RS}^-]$, što dovodi do smanjenja pika C time indicirajući otežanu redukciju iz ovog tipa kompleksa. Dokaz ovoj pojavi je i nestanak pika D pri koncentracijama cisteina $10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, upravo zbog smanjenog dosega reakcije C. Katodna redukcija koja je karakterizirana pikom D se može pripisati redukciji bakrovih(I) kationa iz kompleksa sa cisteinom prema reakciji D (3. krug).

3.2.4. Elektrokemijsko ponašanje mCPE pri pH 7 i pH 9



Slika 14 - Utjecaj dodatka cisteina (mol dm^{-3}) na CV mCPE pri pH 7



Slika 15 - Utjecaj dodatka cisteina (mol dm^{-3}) na CV mCPE pri pH 9

Bez dodatka cisteina elektrokemijska mjerenja izvršena pri višim pH vrijednostima (pH 7 i pH 9) indiciraju na smanjen opseg svih redoks procesa uočenih pri pH 4 što je i očekivano ukoliko se osvrnemo na jednadžbu za pik A. Mora se imati na umu da su snimljeni voltamogrami trećeg ciklusa i da se do tada površina elektrode modificirala s hidrokso kompleksima bakrovog(I) ili bakrovog(II) iona što dovodi do pasivacije površine elektrode te time blokiranja redoks reakcije.

Dodatak cisteina je samo dodatno pasivirao elektrodnu površinu jer je poznato da će u lužnatom mediju te u prisutnosti kisika doći do spontane oksidacije cisteina u cistin koji se tada veže za površinu i tako je blokira.

Razlike između voltamograma snimljenih bez prisutnosti cisteina i sa cisteinom pri različitim pH vrijednostima su uočljive iz Slike 14 i Slike 15 te je vidljiv utjecaj lužnatog medija na elektrokemijska svojstva bakrovog(I)oksida.

4. ZAKLJUČAK

1. Cikličkom voltametrijom su određene elektrokemijske granice nCPE te je određeno područje za ispitivanje elektrokemijskog ponašanja cisteina u granicama potencijala od -0,3 V do +0,7 V.
2. Dodatkom različitih pufera, snimanjem CV pri pH vrijednostima 4, 7 i 9 nisu uočene neke značajnije elektrokemijske reakcije na nCPE.
3. Dodatkom L–cisteina, pri različitim pH vrijednostima, pH 4, pH 7 i pH 9, nisu uočene neke značajnije elektrokemijske reakcije na nCPE.
4. Nekoliko redoks procesa se može uočiti u slučaju modificirane elektrode pri pH 4. Procesu su vezani za elektrokemijske reakcije modifikatora (Cu_2O) i za kemijski utjecaj cisteina na te reakcije.
5. Direktna oksidacija cisteina, pri pH 4, na modificiranoj elektrodi nije uočena.
6. Pri višim pH vrijednostima (pH 7 i pH 9) nisu uočeni značajniji elektrokemijski procesi niti modifikatora, niti cisteina.

LITERATURA

- [1] V. W. Rodwell, D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kennelly, P. A. Weil, *Harper's Illustrated Biochemistry*, US: The McGraw-Hill Education, **2015**
- [2] PubChem, open chemistry database, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/L-cysteine#section=Top> (preuzeto 25.08.2018.)
- [3] G. C. Barrett, *Chemistry and Biochemistry of the Amino Acid*, London: Chapman and Hall, **1985**
- [4] G. Wu, *Amino Acids - Biochemistry and Nutrition*, Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC, **2013**
- [5] J. T. Moore, R. H. Langley, *Biochemistry for Dummies*, Indianapolis, Indiana: Wiley Publishing, Inc., **2011**
- [6] R. J. Flanagan, D. Perrett, R. Whelpton, Cambridge: *Electrochemical Detection in HPLC - Analysis of Drugs and Poisons*, The Royal Society of Chemistry, **2015**
- [7] PubChem, open chemistry database, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/L-cystine#section=Top> (preuzeto 25.08.2018.)
- [8] Kemijski rječnik, <https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=cistin> (preuzeto 25.08.2018.)
- [9] A. B. Hughes, *Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry - Analysis and Function of Amino Acids and Peptides*, Weinheim: Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA., **2012**
- [10] O. Nekrassova, N. S. Lawrence, R. G. Compton, *Talanta*, **2003**, 60, 10
- [11] A. Kapil, A. Venkatamaran, A. Kalyani, L. V. Holly, M. V. William, *Talanta*, **2003**, 1229, 38
- [12] Y. Xiaofeng, G. Yixing, M. S. Robert, *Angewandte Chemie*, **2011**, 123, 10647
- [13] J. X. Yan, W. C. Kett, B. R. Herbert, A. A. Gooley, N. H. Packer, K. L. Williams, *Journal of Chromatography*, **1998**, 813, 200
- [14] M. Vuko, *Elektrokemijsko ponašanje L-cisteina na elektrodama od ugljikove paste modificiranim srebro-bakrovim sulfidima*, Diplomski rad, Kemijsko-tehnološki fakultet, Split, **2017**

- [15] B. Ballarin, M. Gazzano, J. L. H. Cisneros, D. Tonelli, R. Seeber, *Analytical Bioanalytical Chemistry*, **2002**, 374, 891
- [16] J. Barbarić, *Određivanje tiola u vodenim otopinama elektrokemijskim metodama*, Završni rad, Kemijsko-tehnološki fakultet, Split, **2012**
- [17] K. Kalcher, I. Svancara, M. Buzuk, K. Vytras, A. Walcarius, *Monatsh Chem I*, **2009**, 140, 861
- [18] D. Lowinsohn, P. T. Lee, R. G. Compton, *J. Braz. Chem. Soc.*, **2014**, 25, 9
- [19] J. O. M. Bockris, A. K. N. Reddy, M. Gamboa-Aldeco, *Modern Electrochemistry 2A, Fundamentals of Electrode Processes*, New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, **2000**
- [20] QG. He, J. Liu, XP. Liu, PH. Deng, J. Liang, *Sensors*, **2018**, 18, 199
- [21] HS. Yin, YL. Zhou, SY. Ai, Q. Ma, LS. Zhu, LA. Lu, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, **2012**, 92, 742
- [22] SQ. Dong, S. Zhang, LZ. Chi, PA. He, QJ. Wang, YZ. Fang, *Analytical Biochemistry*, **2008**, 381, 199
- [23] SQ. Dong, S. Zhang, X. Cheng, PG. He, QJ. Wang, YZ. Fang, *Journal of Chromatography*, **2007**, 1161, 327
- [24] Z. Dursun, G. Nisli, *Talanta*, **2004**, 63, 873
- [25] ZY. Yang, LL. Zhang, G. Li, QJ. Wang, PG. He, YZ. Fang, *Chromatographia*, **2010**, 71, 439
- [26] K. Zarei, E. Teymori, K. Kor, *Intern. Environ. Anal. Chem.*, **2014**, 94, 14
- [27] B. Xiangjie, B. Jing, W. Lixia, G. Liping, *Talanta*, **2009**, 81, 339
- [28] H. H. Girault, *Analytical and Physical Electrochemistry*, Lausanne: EPFL, Press., **2004**
- [29] I. Piljac, *Elektroanalitičke metode – Teorijske osnove, mjerne naprave i primjena*, RMC Zagreb, **1995**
- [30] J. W. Robinson, E. M. Skelly Frame, G. M. Frame II, *Undergraduate Instrumental Analysis*, Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC, **2014**
- [31] F. Scholz, *Electroanalytical Methods*, Berlin: Springer-Verlag, **2010**

[32] D. Krivić, *Elektrokemijsko ponašanje L-cisteina na miješanim srebro – bakrovim sulfidima u svrhu analitičke primjene*, Završni rad, Kemijsko-tehnološki fakultet, Split, **2016**