

Senzor na bazi ugljika za određivanje maprotilina antidepresiva

Cvitanović, Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2021

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:167:315973>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-10**

Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

SENZOR NA BAZI UGLJIKA ZA ODREĐIVANJE MAPROTILINA
ANTIDEPRESIVA

DIPLOMSKI RAD

MARTINA CVITANOVIĆ

Matični broj: 139

Split, listopad 2021.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
DIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE
SMJER: ORGANSKA KEMIJA I BIOKEMIJA

SENZOR NA BAZI UGLJIKA ZA ODREĐIVANJE ANTIDEPRESIVA
MAPROTILINA

DIPLOMSKI RAD

MARTINA CVITANOVIĆ

Matični broj: 139

Split, listopad 2021.

UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
GRADUATE STUDY OF CHEMISTRY
ORGANIC CHEMISTRY AND BIOCHEMISTRY

**CARBON BASED SENSOR FOR THE DETERMINATION OF THE
ANTIDEPRESSANT MAPROTILINE**

GRADUATE THESIS

MARTINA CVITANOVIĆ

Parent number: 139

Split, october 2021.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu

Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu

Diplomski studij Kemije: Organska kemija i biokemija

Znanstveno područje: prirodne znanosti

Znanstveno polje: kemija

Tema rada je prihvaćena na VI. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko tehnološkog fakulteta

Mentor: prof. dr. sc. Marija Bralić

Pomoć pri izradi: Josip Radić, mag. chem

SENZOR NA BAZI UGLJIKA ZA ODREĐIVANJE MAPROTILINA ANTIDEPRESIVA

Martina Cvitanović, 139

Sažetak: Pripravljena je ionsko selektivna elektroda na bazi ugljika uz dodatak ionsko asocijacijskog kompleksa (IAC). Pripravljena elektroda je primijenjena za određivanje antidepresiva maprotilina (MAP) u koncentracijskom području od $3,16 \times 10^{-5}$ – $3,16 \times 10^{-3}$ M pri pH = 4.

Pripravljeno je i testirano 25 membrana s različitim udjelima IAC-a, grafita i veziva, ili uz dodatak soli, ionofor i grafen. Membrana s udjelom 47,08% grafita, 46,95% veziva i 5,97% IAC-a pokazuje linearnu promjenu potencijala u rasponu koncentracija od $3,16 \times 10^{-6}$ do $3,16 \times 10^{-3}$ s promjenom potencijala po koncentracijskoj dekadi od 51,60 mV. Membrana sastava 45,85% grafita, 45,26% veziva i 8,89% IAC-a pokazuje linearnu promjenu potencijala u rasponu koncentracija od od $3,16 \times 10^{-6}$ do $3,16 \times 10^{-3}$ s promjenom potencijala po koncentracijskoj dekadi od 51,84mV.

Ključne riječi: potenciometrija, ionsko-selektivna elektroda, elektrode na bazi ugljika, IAC, maprotilin

Rad sadrži: 59 stranica, 37 slika, 26 tablica, 23 literaturne reference

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav povjerenstva za obranu:

- | | | |
|----|-------------------------------|--------------|
| 1. | Prof.dr.sc. Josipa Giljanović | -predsjednik |
| 2. | Izv. prof.dr.sc. Ante Prkić | -član |
| 3. | Prof.dr.sc. Marija Bralić | -član-mentor |

Datum obrane: 27.10.2021.g

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University of Split

Faculty of Chemistry and Technology Split

Graduate study of Organic chemistry and biochemistry

Scientific area: natural sciences

Scientific field: chemistry

Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology session no.6

Mentor: PhD. Marija Bralić, full professor

Technical assistance: Josip Radić, MSc

CARBON BASED SENSOR FOR THE DETERMINATION OF THE ANTIDEPRESSANT MAPROTILINE

Martina Cvitanović, 139

Abstract: A carbon-based ion-selective electrode was prepared with the addition of an ion-association complex (IAC) in certain ratios and was used to determine the antidepressant maprotiline (MAP) in the concentration range of $3,16 \times 10^{-6}$ to $3,16 \times 10^{-3}$ M at pH = 4.

Twenty five membranes with different proportions of IAC, graphite and binder were prepared and tested, and salt, ionophore and graphene were added to some of these membranes. Membrane 5 with (47.08% graphite, 46.95% binder and 5.97% IAC) a Nernstian slope of 51.60 mV / decade and membrane 6 (45.85% graphite, 45.26% binder and 8.89% IAC) with a slope of 51.84 mV / decade proved to be the best membranes.

Keywords: potentiometry, ion-selective electrode, carbon paste electrode, IAC, maprotiline

Thesis contains: 59 pages, 37 figures, 26 tables, 23 references

Original in: Croatian

Defence committee:

- | | | |
|----|----------------------------------|--------------|
| 1. | full prof. PhD Josipa Giljanović | chair person |
| 2. | associant prof. PhD Ante Prkić | member |
| 3. | full prof. PhD Marija Bralić | supervisor |

Defence date: October 27th 2021.

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

Diplomski rad je izrađen u Zavodu za kemiju okoliša, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom prof. dr.sc. Marije Bralić , u razdoblju od ožujka do listopada 2021.godine.

ZAHVALA

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Mariji Bralić na strpljenju, pomoći i vodstvu pri izradi diplomskog rada.

Također velika zahvala ide asistentu Josipu Radiću, mag.chem. na velikom doprinosu i pomoći prilikom izrade eksperimentalnog dijela diplomskog rada.

Na kraju neizmjereno hvala mojoj obitelji, dečku i prijateljima na strpljenju, razumijevanju i podršci koje mi nikad nije manjkalo.

ZADATAK DIPLOMSKOG RADA:

1. Pripraviti senzor na bazi ugljika za određivanje antidepresiva maprotilina.
2. Ispitati odzivne karakteristike ispitivane elektrode.

SAŽETAK

Pripravljena je ionsko selektivna elektroda na bazi ugljika uz dodatak ionsko asocijacijskog kompleksa (IAC). Pripravljena elektroda je primijenjena za određivanje antidepresiva maprotilina (MAP) u koncentracijskom području od $3,16 \times 10^{-6}$ – $3,16 \times 10^{-3}$ M pri pH = 4.

Pripravljeno je i testirano 25 membrana s različitim udjelima IAC-a, grafita i veziva, ili uz dodatak soli, ionofor i grafen. Membrana 5 s udjelom 47,08% grafita, 46,95% veziva i 5,97% IAC-a pokazuje linearnu promjenu potencijala u rasponu koncentracija od $3,16 \times 10^{-5.5}$ do $3,16 \times 10^{-2.5}$ s promjenom potencijala po koncentracijskoj dekadi od 51,60 mV. Membrana 6 sastava 45,85% grafita, 45,26% veziva i 8,89% IAC-a pokazuje linearnu promjenu potencijala u rasponu koncentracija od od $3,16 \times 10^{-6}$ M do $3,16 \times 10^{-3}$ M s promjenom potencijala po koncentracijskoj dekadi od 51,84mV.

Ključne riječi: *potenciometrija, ionsko-selektivna elektroda, elektroda na bazi ugljika, IAC, maprotilin*

SUMMARY

A carbon-based ion-selective electrode was prepared with the addition of an ion-association complex (IAC) in certain ratios and was used to determine the antidepressant maprotiline (MAP) in the concentration range of $3,16 \times 10^{-6}$ M to $3,16 \times 10^{-3}$ M at pH = 4.

Twenty five membranes with different proportions of IAC, graphite and binder were prepared and tested, and salt, ionophore and graphene were added to some of these membranes. Membrane 5 with (47.08% graphite, 46.95% binder and 5.97% IAC) a Nernstian slope of 51.60 mV / decade and membrane 6 (45.85% graphite, 45.26% binder and 8.89% IAC) with a slope of 51.84 mV / decade proved to be the best membranes.

Keywords: *potentiometry, ion-selective electrode, carbon paste electrode, IAC, maprotiline*

SADRŽAJ:

UVOD	1
1. OPĆI DIO	2
1.1. Potencimetrija	2
1.2. Ionsko – selektivne elektrode	4
1.3. Podjela ISE-a.....	5
1.3.1. Elektrode s kristalnom membranom.....	5
1.3.2. Elektrode s nekristalnom membranom	6
1.3.3. Specijalne ionsko-selektivne elektrode.....	7
1.4. Mehanizam rada	8
1.5. Elektrode na bazi ugljika.....	9
1.6. Vrste elektroda na bazi ugljika.....	10
1.7. Povijesni razvoj elektroda na bazi ugljika	11
1.8. Priprema ugljikove paste.....	12
1.9. Ugljični prah / grafit.....	12
1.9.1. Spektroskopski grafit	12
1.10. Ostali ugljikovi materijali.....	15
1.11. Novi oblici ugljika.....	15
1.12. Veziva.....	16
1.13. Parafinska (mineralna) ulja.....	18
1.14. Alifatski i aromatski ugljikovodici	18
1.15. Silikonska ulja i masti	18
1.16. Halogenirani ugljikovodici i slični derivati.....	19
1.17. Ostale tekućine za paste i miješana veziva.....	19
1.18. Nove vrste veziva ugljikove paste	19
1.19. Fizikalno – kemijska svojstva elektroda na bazi ugljika	19
1.20. Maprotilin	20
1.21. Pregled literature o određivanju MAP-a.....	21
1.22. Pregled literature općenito o CPE u potencimetriji.....	22
1.23. CPE u ostalim tehnikama – pregled literature	24
2. EKSPERIMENTALNI DIO	26
2.1. Priprava otopina	26
2.1.1. Priprema pufera	26
2.1.2. Priprema ionsko-asocijacijskog kompleksa (IAC)	26

2.1.3. Priprema standarda/radne otopine	28
2.2. Priprema membrana	28
3. REZULTATI	31
4. RASPRAVA.....	54
5. ZAKLJUČAK.....	57
6. LITERATURA.....	58

UVOD

Ionsko-selektivne elektrode (ISE) su idealni senzori kod analize industrijskih uzoraka ili pojedinačnih komponenti u tehnološkom procesu. Prilikom izbora za pojedinačnu primjenu ISE uzimamo u obzir raspoložive tehnike, mogućnost održavanja i servisiranja, stupanj vještine da se ovlada metodom, točnost i preciznost te troškove opreme. Bez obzira radi li se o obojenim, viskoznim uzorcima ili suspenzijama soli ISE su podjednako dobre. Prihvaćene su u analitičkoj kemiji zbog svoje jednostavnosti prilikom mjerenja i jer u odnosu na druge tehnike skraćuju vrijeme analize.

Velika prednost ionsko-selektivne elektrode je njena selektivnost i vrlo brz odziv kod najmanje promjene koncentracije ispitivane otopine. Promjena pH, osim kod nekih iznimki, negativno utječe na točnost ionsko-selektivne elektrode, što se negativno reflektira pri njihovoj praktičnoj primjeni. Brojnim ispitivanjima utvrđeno je da prisutnost uobičajenih ionskih vrsta u otopini negativno utječe na točnost, brzinu odziva, kao i vijek trajanja ionsko-selektivne elektrode.

Ugljik i njegovi derivati, kao materijal visokih performansi, zauzimaju posebno mjesto u elektrokemiji zbog svojih - na mnogo načina ekstremnih svojstava. Posebno se ističu zbog svog širokog raspona potencijala, niske pozadinske struje, stabilnog odziva, obnovljivosti, lakoće kemijskih ili bioloških modifikacija, niske cijene, kemijske inertnosti i prikladnosti za različite kvalitativne i kvantitativne metode.

Elektrode na bazi ugljika (carbon-paste electrode, CPE) izrađene su od mješavine provodljivog grafitnog praha i tekućine za ljepljene tj. veziva. Takve elektrode su jednostavne za izradu i nude lako obnovljivu površinu za izmjenu elektrona. Pripadaju posebnoj skupini heterogenih ugljikovih elektroda.

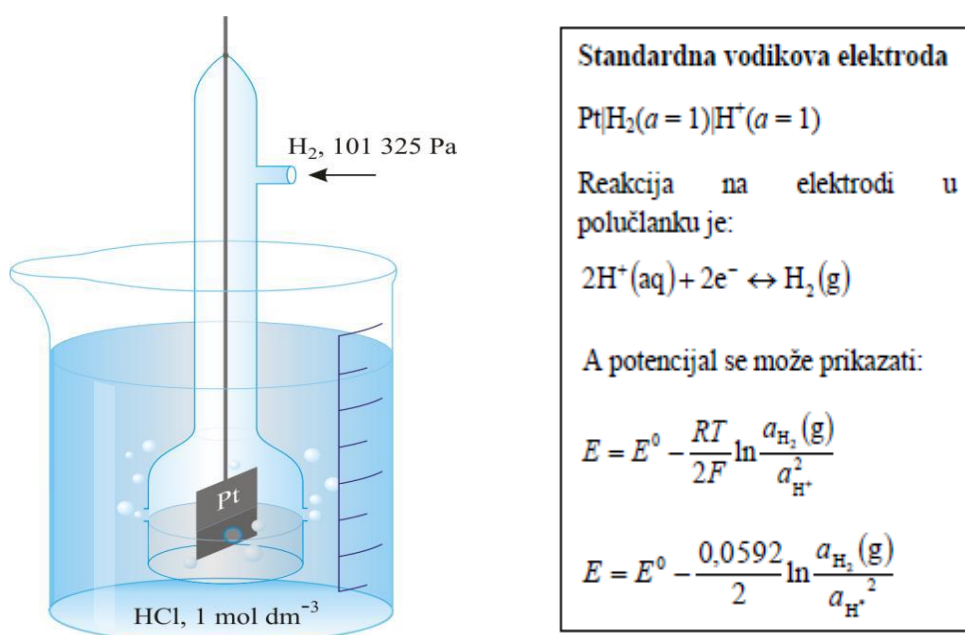
1. OPĆI DIO

1.1. Potencimetrija

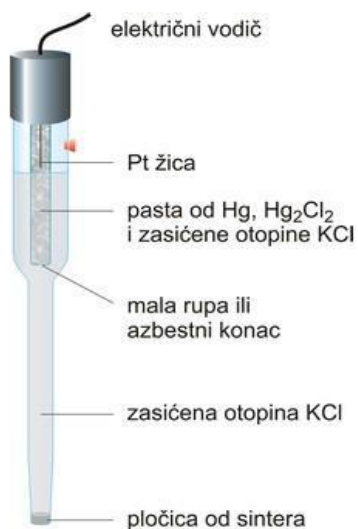
Analitičke metode koje se temelje na mjerenju potencijala nazivaju se potencimetrijske metode. Potencimetrija je metoda u kojoj se mjeri razlika potencijala između elektroda elektrokemijske ćelije uz ravnotežne uvjete. Mjerenje napona ćelije provodi se tako da kroz ćeliju ne teče struja.¹

Razlika potencijala između elektroda ćelije mjeri se pomoću osjetljivih mjernih uređaja potencimetra i voltmetra. Potencimetrijska mjerenja provodimo uz upotrebu dviju elektroda: *referentne i indikatorske*.¹

Referentna elektroda ima točno poznat elektrodni potencijal koji ne ovisi o koncentraciji analita ni o koncentracijama drugih iona prisutnih u ispitivanoj otopini. Dogovorno je uzeto da je u potencimetrijskim mjerenjima referentna elektroda uvijek anoda. Idealna referentna elektroda mora imati poznat i stalan potencijal koji ne ovisi o sastavu otopine, mora biti jednostavne izvedbe i pri prolazu malih struja potencijal se ne smije mijenjati. Mora biti stalnog sastava i reakcija treba biti stabilna tijekom vremena, s uočenim promjenama izmjerenog potencijala samo uslijed promjene koncentracije analita. Najčešće se kao referentne elektrode koriste kalomelova i elektroda od srebra/srebrovog klorida, a rjeđe standardna vodikova elektroda.²



Slika 1. Standardna vodikova elektroda²¹



Kalomel elektroda

$\text{Hg}|\text{Hg}_2\text{Cl}_2(\text{zas.}), \text{KCl}(x)$

Gdje je x koncentracija KCl u otopini.

Elektrodna reakcija u polučlanku je:

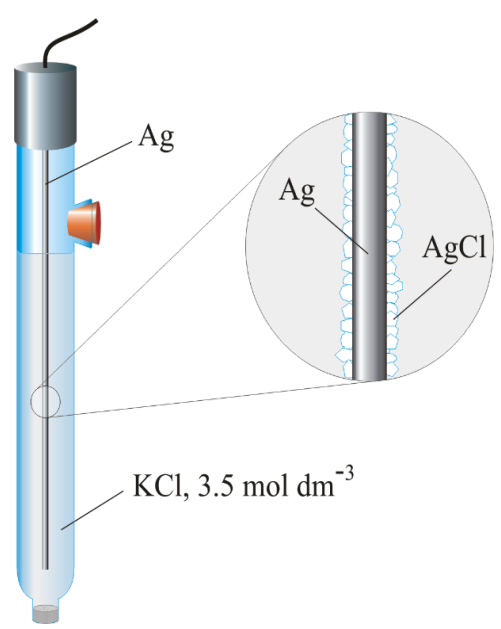
$$\text{Hg}_2\text{Cl}_2(\text{s}) + 2\text{e}^- \leftrightarrow 2\text{Hg}(\text{l}) + 2\text{Cl}^-$$

A potencijal se može prikazati:

$$E = E^\circ - \frac{RT}{2F} \ln \frac{a_{\text{Hg}(\text{l})}^2}{a_{\text{Hg}_2\text{Cl}_2}} \times a_{\text{Cl}^-}^2$$

$$E = E^\circ - \frac{0,0592}{2} \ln a_{\text{Cl}^-}^2$$

Slika 2. Kalomel elektroda²¹



Elektroda srebro/ srebrov klorid

$\text{Ag}|\text{AgCl}(\text{zas.}), \text{KCl}(\text{zas.})$

Elektrodna reakcija u polučlanku je:

$$\text{AgCl}(\text{s}) + \text{e}^- \leftrightarrow \text{Ag}(\text{s}) + \text{Cl}^-$$

A potencijal se može prikazati:

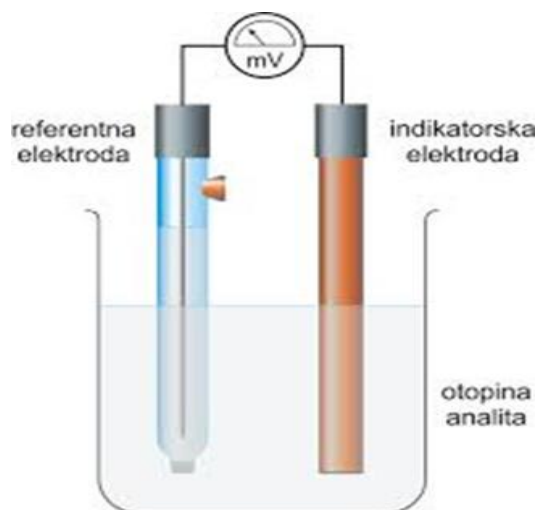
$$E = E^\circ - \frac{RT}{F} \ln \frac{a_{\text{Ag}(\text{s})}}{a_{\text{AgCl}}} \times a_{\text{Cl}^-}$$

$$E = E^\circ - 0,0592 \ln a_{\text{Cl}^-}$$

Slika 3. Ag/AgCl elektroda²²

Dvije su temeljne vrste indikatorskih elektroda: kovinske elektrode i selektivne (membranske) elektrode. Kod kovinskih elektroda razlika potencijala na dodirnoj granici elektroda-otopina posljedica je redoks reakcije na elektrodi. Kod membranskih elektroda potencijal elektrode proizlazi iz promjene slobodne entalpije reakcije prijelaza iona, ionskom izmjenom, adsorpcijom, ekstrakcijom ili drugim načinom, kroz međusloj membrana-ispitivana otopina.²

Razlikujemo direktno i indirektno potenciometrijsko mjerenje. Direktna potenciometrija iz podataka o potencijalu indikatorske elektrode određuje koncentraciju iona u ispitivanoj otopini. Indirektna potenciometrija određuje koncentraciju i predstavlja samo procjenu aktivnosti ili slobodne molarne koncentracije.²



Slika 4. Elektrolitska ćelija sa parom elektroda²¹

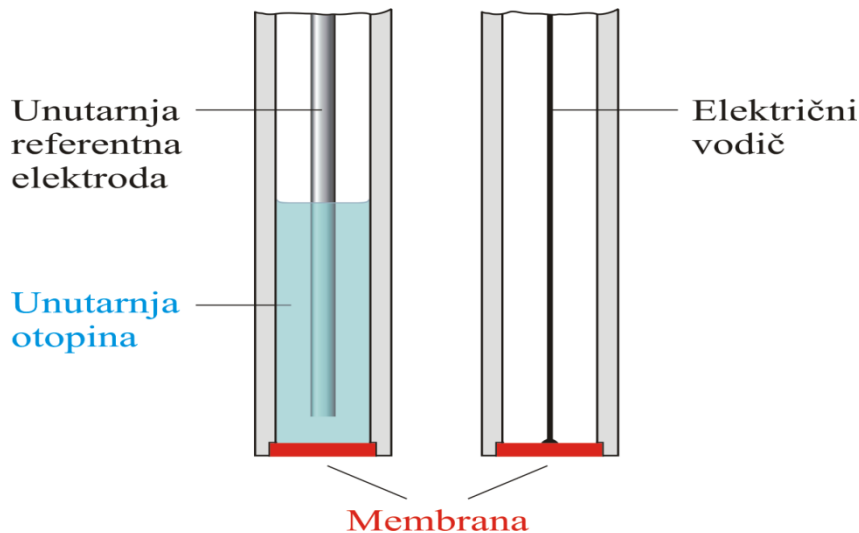
1.2. Ionsko – selektivne elektrode

Ionsko-selektivne elektrode su vrsta kemijskih potenciometrijskih senzora koje služe za selektivno odođivanje samo jedne molekulske ili ionske vrste prisutne u otopini. Kao element za prepoznavanje određivane vrste služi ionsko selektivna membrana, koja je najčešće izrađena od stakla ili polimernog materijala i uz referentnu elektrodu omogućuje pretvaranje kemijske reakcije u električni potencijal. Ove elektrode su dokazano vrlo dobre za mjerenje koncentracije hranjivih soli u tlu kao što su: NO_3^- , K, Na, Mg i Cl^- .³

Od kraja 1960-ih ionsko-selektivne elektrode spadaju u jedne od najznačajnijih senzora u analitičkoj kemiji. Najbolji dokaz za to su brojne istraživačke studije napisane na tu temu. Razvoj novih materijala i konstrukcija elektroda doveo je do intenzivnog istraživanja mehanizma ionsko-selektivni elektroda kao i do njihove opsežne praktične primjene u kliničkoj kemiji i kemiji okoliša.

Danas spadaju u jedne od najšire upotrebljivanih kemijskih senzora u medicinskim, ekološkim i industrijskim analizama. Razlog tome su njihove brojne prednosti u odnosu na druge analitičke senzore, a to su: brzi odziv, jednostavna upotreba u analitičkom postupku, niska nabavna cijena, rad bez utjecaja boje i mutnoće, vrlo široko koncentracijsko područje.⁴

ISE su najpraktičnije za analizu onih kemijskih vrsta za koje je potrebna točnost veća od $\pm 2\%$ u odnosu na koncentraciju. U industrijskim sustavima gdje su temperaturne razlike vrlo izražene postiže se točnost od $\pm 5\%$ do $\pm 10\%$.⁵



Slika 5. Ionsko – selektivna elektroda²³

1.3. Podjela ISE-a

Ionsko-selektivne elektrode spadaju u skupinu membranskih elektroda i mogu se podijeliti na: *elektrode s kristalnom membranom i elektrode s nekristalnom membranom.*

1.3.1. Elektrode s kristalnom membranom

Elektrode s kristalnom membranom imaju membranu koja sadrži teško topljivu sol metala kao aktivnu komponentu. Selektivnost ovih membrana ovisi o konstanti produkta topljivosti teško topljive soli od koje je pripravljena membrana. Potencijal kristalnih membranskih elektroda posljedica je stanja ravnoteže reakcije zamjene iona u otopini i u čvrstoj fazi membrane. Ove elektrode su selektivne na ione sadržane u membrani.⁵

Ove elektrode mogu imati homogene i heterogene membrane.

1.3.1.1. Homogene membrane

Homogene membrane sadrže kristalnu supstancu jednog spoja i homogene smjese spojeva ili mogu biti monokristalne pločice (npr. LaF_3). Često se izrađuju membrane od smjese dviju kristalnih tvari od kojih je, redovito, samo jedna elektrokemijski aktivna tvar membrane.

Površina elektrode je selektivna i na druge molekulske vrste koji s ionima membrane tvore teško topljive soli ili stabilne topljive komplekse. Tako je membrana izrađena od Ag_2S selektivna za ione Ag^+ , Cl^- , I^- , Hg_2^{2+} i druge ione koji tvore teško topljive soli s Ag.

U vodljivim membranama (onima s Ag solima) električni se kontakt može ostvariti izravno preko metalnog vodiča s unutarnjom stranom membrane.⁶

1.3.1.2. Heterogene membrane

Kod heterogenih membrana aktivna tvar je dispergirana u čvrstom, elektrokemijski inaktivnom nosivom materijalu. Kao nosivi materijala najčešće se koristi silikonska guma ili polimerni materijali na bazi poli(vinil-klorida), polietilena i poli(dimetil-silokana)

Heterogene membrane se pripremaju prešanjem aktivnog materijala pomiješanog sa silikonskom gumom. Nakon stvrdnjavanja membrane se lijepe na otvor staklenog ili plastičnog nosača. Električni kontakt se ostvaruje preko unutrašnje elektrolitne otopine i unutrašnje referentne elektrode.⁶

Ove elektrode se moraju prije upotrebe kondicionirati u otopini iona za koje su selektivne. Membrana je mehanički osjetljivija od homogenih čvrstih membrana i zahtjeva pažljiviji rad.

1.3.2. Elektrode s nekristalnom membranom

Elektrode s nekristalnom membranom sadrže ionske ili nenabijene tvari kao aktivne komponente membrana u inaktivnom nosaču. Inaktivni nosač membrane može biti porozan (npr. mikroporozni filtar) ili neporozan (npr. staklo, PVC).⁶

1.3.2.1. Elektrode s mobilnim prenosiocem

Ove elektrode se još nazivaju i elektrode s tekućom membranom, a mogu se svrstati u tri skupine:

- membrane koje sadrže pozitivno nabijeni mobilni prenosilac otopljen u prikladnom organskom otapalu, osjetljive su na promjenu aktiviteta aniona.
- membrane koje sadrže negativno nabijeni mobilni prenosilac otopljen u prikladnom organskom otapalu, osjetljive su na promjenu aktiviteta kationa.
- membrane koje sadrže nenabijeni mobilni prenosilac otopljen u prikladnom otapalu kao aktivnu komponentu membrane. Ovakve membrane osjetljive su na promjenu aktiviteta kationa.⁷

1.3.3. Specijalne ionsko-selektivne elektrode

Ove elektrode obično sadrže dvije membrane odvojene tankim slojem elektrolitne otopine. To su elektrode za plinove i enzimске elektrode.⁷

1.3.3.1. Elektrode za plinove

Ove elektrode sadrže dvije membrane. Između hidrofobne, za plin propusne membrane i membrane selektivne za ione (najčešće staklena membrana pH elektrode) nalazi se tanki sloj elektrolitne otopine, u kojoj interakcijom s određenim plinom nastaju ioni koji utječu na potencijal elektrode.⁷

1.3.3.2. Enzimске elektrode (biosenzori)

Princip rada ovih elektroda temeljen je na specifičnom katalitičkom djelovanju enzima za selektivno određivanje koncentracije određene molekulske vrste. Prostor između osjetljive površine selektivne elektrode i dijafragme ispunjen je materijalom u kojem je imobiliziran enzim. Katalitičkim djelovanjem enzima na određenu molekulsku vrstu, koja difundira u taj

prostor iz ispitivanog uzorka, nastaje produkt na koji je indikatorska elektroda selektivno osjetljiva.⁷

1.4. Mehanizam rada

Potencijal ionsko-selektivnih elektroda ovisi o aktivitetu samo jedne molekulske ili ionske vrste prisutne u potenciometrijskoj ćeliji. Razlika potencijala kod ISE-a najčešće nastaje na dodirnoj površini elektroda-otopina i posljedica je zamjene iona iz otopine i iona u površinskom dijelu membrane.

Potencijal selektivnih elektroda može se uspostaviti i na druge načine. Tako na dodirnoj površini između dviju elektrolitnih faza različitih sastava može nastati difuzijski potencijal, koji je posljedica razlike u brzini difuzije iona elektrolita kroz graničnu površinu između dviju faza.

Membrane nisu dvodimenzionalna sita koja propuštaju samo jednu vrstu iona. To su tijela koja imaju određenu debljinu, i zbog toga dolazi do izmjene iona na obje strane membrane između dva elektrolita što za posljedicu ima nastanak razlike potencijala. Nastala razlika potencijala ovisi o broju prelaza iz faze u kojoj im je aktivitet veći u fazu u kojoj im je aktivitet manji. Kada je razlika potencijala tolika da uzrokuje jednake brzine prijelaza iona uspostavlja se dinamička ravnoteža.⁸

Ako pretpostavimo da je selektivno ponašanje granične površine ostavareno pomoću idealne membrane, razlika potencijala na membrani pri kojoj se uspostavlja dinamička ravnoteža iskazuje se sljedećom relacijom:

$$E_m = \frac{RT}{z_j F} \ln \frac{a_j}{a_{j,r}}$$

Gdje je a_j – aktivitet aktivnih iona na jednoj strani membrane,

$a_{j,r}$ – aktivitet istih iona na drugoj strani membrane,

z_j – naboj aktivnih iona

F – Faradayeva konstanta

R – opća plinska konstanta

T – temperatura

Dakle prikazujemo ga istom relacijom kao i za redoks-sustav iako je način uspostavljanja potencijala različit (na membrani izmjena iona, na kovini redoks-reakcija). Za membranske elektrode kojima se potencijala mijenja u skladu s gornjom relacijom kaže se da imaju Nernstov odziv.⁸

U idelnom slučaju ISE su selektivne samo za jednu određenu ionsku vrstu. Međutim u praksi ne postoje idealne ISE, tako da na njihov potencijal utječu i druge ionske vrste prisutne u otopini. U slučaju kad je omjer interferirajućih iona relativno nizak u odnosu na ione koji se određuju, utjecaj drugih ionskih vrsta se može zanemariti. Mogući su također ekstermni slučajevi kod kojih je ISE više osjetljivija na interferirajuće ione, nego na ione koji se određuju. Takve elektrode se mogu upotrijebiti samo ako su interferirajući ioni prisutni u tragovima ili ako uopće nisu prisutni. Ioni iz otopine se mogu ukloniti kompleksiranjem ili taloženjem. Sposobnost ISE-a da razlikuju različite vrste iona u istoj otopini koje određuju izražava se koeficijentom selektivnosti. On opisuje selektivnost elektrode za ion (i) u odnosu na ion (j) i izražava se Nickolsky-Eisenman jednadžbom:

$$E = \text{konst.} \pm 2.303 \frac{RT}{z_j F} \log(a_j + \sum K_{ij}^{\text{Pot}} a_j^{z_i/z_j})$$

Ionsko-selektivne elektrode imaju svoju granicu detekcije. To je koncentracija određivanih iona kod koje elektroda više ne može pratiti promjenu potencijala. Granica detekcije definirana je sjecištem ekstrapoliranih linearnih pravaca kalibracijske krivulje. U praksi za većinu ISE-a ona iznosi $10^{-5} - 10^{-6}$ M.⁸

1.5. Elektrode na bazi ugljika

Ugljik i njegovi derivati, kao materijal visokih performansi, zauzimaju posebno mjesto u elektrokemiji zbog svojih - na mnogo načina ekstremnih svojstava. Posebno se ističu zbog svog širokog raspona potencijala, niske pozadinske struje, stabilnog odziva, obnovljivosti, lakoće kemijskih ili bioloških modifikacija, niske cijene, kemijske inertnosti i prikladnosti za različite kvalitativne i kvantitativne metode. Svi ugljikovi materijali u elektrodama imaju zajedničku strukturu šesteročlanog aromatskog prstena i sp² hibridizaciju koja podržava električnu vodljivost, sposobnost formiranja kompleksa za prijenos naboja, jedinstvena optička svojstva, kemijsku reaktivnost i mogućnost interakcije s različitim elementima. Ono po čemu se razlikuju je relativna gustoća na svojim površinama te u kinetici prijenosa

elektrona. Najpopularniji ugljikovi materijali u primjeni uključuju staklasti ugljik, ugljikovu pastu, ugljikova vlakna, film, trake, grafit impregniran voskom i druge.

Ugljikova pasta priprema se ručnim miješanjem (obično grafita) s bilo kojom tekućinom koja se ne može miješati s vodom da se matrica elektrode ne otopi kada je uronjena u otopinu.

Smjesa ugljika (grafita) s pogodnim vezivom (tekućina koja omogućava kompaktnost) posebna je vrsta čvrste ugljične elektrode. Ovisno u udjelu grafita u ugljičnim pastama mogu se dobiti elektrode koje su po ponašanju slične kompaktnim ugljičnim materijalima, poput pirolitičke grafit elektrode (PyGE) ili staklene ugljikove elektrode (GCE) koja se najčešće koristi u elektrokemijskim i elektroanalitičkim mjerenjima. Zbog prisutnosti tekućeg veziva i njegove interakcije s grafitnim česticama ugljikove paste se obično navode kao specifični materijal elektrode s brojnim jedinstvenim svojstvima.

Novije definicije kategoriziraju odgovarajuće elektrode, elektrode na bazi ugljika (CPE) među heterogene ugljikove elektrode.

Kada se razmatraju klasične ugljikove paste, dvije glavne komponente predstavljaju dijelove s oprečnim karakterom. Činjenica je da provodljivi ugljik (grafit) obično služi kao pravi materijal elektrode dok je tekuće vezivo izolacijskog karaktera i djeluje kao inertni medij, vezujući pojedine čestice grafita u kompaktnu smjesu. Međutim takvu funkciju veziva prate brojni učinci i nuspojave, čineći ulogu lijepljenja tekućina jednako važnom kao i sam grafitni materijal. Stoga se mora obratiti pažnja na izbor oba glavna sastojka ugljičnih pasta.⁹

1.6. Vrste elektroda na bazi ugljika

S obzirom na fizikalno-kemijska svojstva veziva, mogućim modifikacijama same paste i konzistenciji, CPE se mogu podijeliti na nekoliko različitih vrsta.⁹

Ovisno o fizikalno-kemijskim svojstvima postoje razne vrste CPE, ali najkorištenije su klasične elektrode od ugljikove paste. One čine 80-90% današnjih elektroda od ugljikove paste, a sastoje se od ugljikovog praha i tekućeg veziva koje čine uglavnom kemijske i elektroinaktivne tvari kao što je parafin i sumporovi oksidi.⁹

Ovisno o konzistenciji, CPE se dijele na suhe i mokre elektrode. Sama konzistencija ovisi o omjeru ugljika i veziva. Navedena podjela nije široko korištena te se uglavnom koristila u ranije objavljenim radovima.⁹

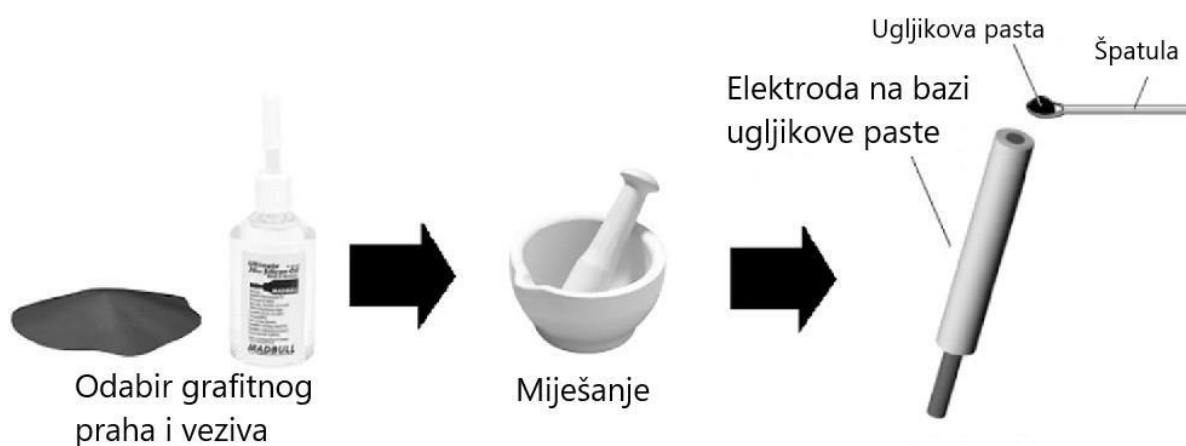
Najčešća podjela je na nemodificirane i modificirane CPE. Nemodificirane elektrode se još nazivaju i nativnim ili djevičanskim elektrodama jer se sastoje od samo dva sastojka: grafitnog praha i veziva. Modificirane elektrode imaju dodatnu komponentu (tzv. modifikator). S obziroma na vrstu modifikatora dijelimo ih na kemijski modificirane elektrode od ugljikove paste (CMCPE) i biološki modificirane elektrode koje nazivamo i biosenzorima od ugljikove paste. Biološki modificirane elektrode imaju modifikator podrijetlom iz prirode primjerice alge, bakterije, makromolekule iz biljaka kao što je keratin, hitin itd. Kemijski modificirane elektrode na bazi ugljikove paste u svom sastavu imaju modifikator kemijskog podrijetla.⁹

1.7. Povijesni razvoj elektroda na bazi ugljika

Krajem 50-ih godina prošlog stoljeća objavljeno je prvo istraživanje o elektrodama na bazi ugljika u kojem stoji da je ugljikova pasta smjesa 1g ugljikovog praha i 7mL bromoforma. Par godina poslije počinju prve izrade "holdera" te se uvode manje štetna mineralna ulja kao veziva. Sredinom 60-ih godina dolazi do uvođenja treće komponente i do promjena u elektrokemijskim istraživanjima. Kroz idućih 10-ak godina slijedi ekspanzija ugljikove paste u istraživanjima i projektiraju se novi holderi koji daju mogućnost obnavljanja površine same ugljikove paste. Nakon stoga slijedi stagnacija u istraživanjima ali se javljaju kemijski modificirane ugljikove paste (biološki modificirana elektroda na bazi ugljika tzv. biosenzor). Kao prekretnicu u modifikaciji možemo uzeti razdoblje 80-ih godina kada dolazi do cijele jedne ere kemijski modificiranih ugljikovih pasti. Sve do skoro kraja 90-ih godina provode se istraživanja ugljikovih pasti s enzimima te to dovodi do stvaranja nove vrste biosenzora. Dolaskom novog tisućljeća razvija se svijest o važnosti ekologije. S pojavom tzv. zelene kemije ističe se prednost ugljikovih pasti koje su skoro netoksične. Do 2010.godine nastaju potpuno nove ugljikove paste koje se koriste u raznim analizama. Kao glavna značajka ovog razdoblja ističe se upotreba novosintetiziranih oblika ugljika.⁹

1.8. Priprema ugljikove paste

Prema izvješću koje su objavili Vytras i sur. (2009.g) elektrode s ugljičnom pastom općenito se pripremaju kombiniranjem ugljičnog materijala i veziva. Smjesa ugljika i veziva se ručno miješa u omjeru 1 g ugljika : 0.4-1.0 mL tekućeg veziva kako bi se dobila pasta odgovarajuće konzistencije, ni pretvrde ni premeke ni preljepljive. Navedeni omjeri nisu fiksni već ovise o sastojcima paste te njihovoj međusobnom prijanjanju pa tako neke mješavine mogu sadržavati i veći udio veziva. Pasta se obično puni u držač tzv. hoder koji može biti polietilenska štrcaljka, staklena cijev ili teflonska šipka električno spojena vodljivom žicom.⁹



Slika 6. Prikaz pripreme elektrode na bazi ugljika⁹

1.9. Ugljični prah / grafit

Postoji puno vrsta ugljikovog praha: spektroskopski grafit, ugljični materijali i novi oblici ugljika kao što su grafen, fuleren, ugljikove nanočestice, nanovlakna itd.⁹

1.9.1. Spektroskopski grafit

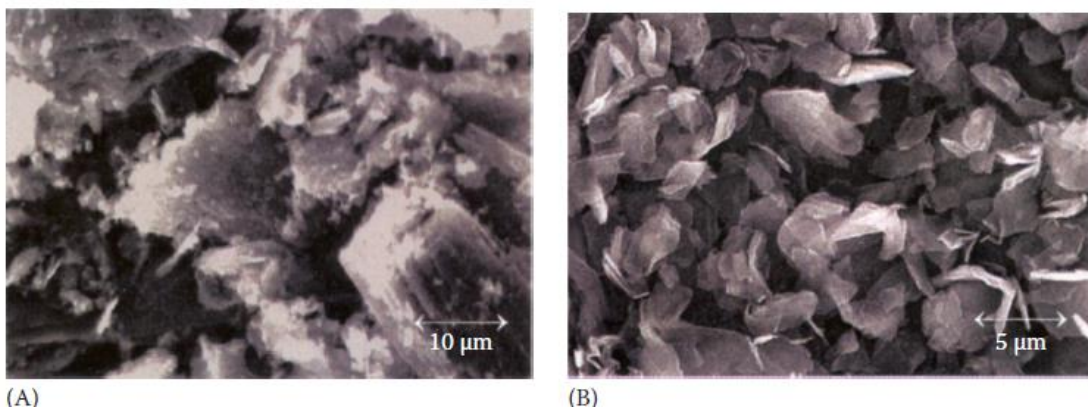
Spektroskopski grafiti ne pokazuju nikakvu karakterističnu strukturu ili uzorak koji je tipičan za njihovu morfologiju, može se aproksimirati kao zaplet geometrijskih nepravilnih predmeta s oštrim rubovima. Osim ugljika čije su čestice veličine u mikrometrima objavljeni su članci i o smjesama ugljikovih pasta koje sadrže grafit s veličinom čestica oko 100 nm ili čak 300 nm.

Ovako fin materijal može se kupiti ili dobiti u laboratorijima mljevenjem pogodnih ugljičnih prahova.

Velika većina binarnih (nemodificiranih) ugljikovih pasti priprema se od komercijalno dostupnog grafitnog praha.

Grafitni prah obično nudi značajke koje se moraju uzeti u obzir kod odabira pravog ugljikovog materijala za izradu ugljikovih pasti. Trebaju se istaknuti slijedeći kriteriji:

- Veličina i distribucija čestica (zrna) – veličine čestica uobičajenih spektroskopskih raspona za grafit su u mikrometrima ili desetinama mikrometara, odnosno većina proizvođača je u mogućnosti pružiti službenu potvrdu sa specifikacijom ukupne raspodjele veličine čestica. Na temelju empirijskoga iskustva bolje je ako raspodijela nije vrlo raznolika, a veličina čestica raspršenog grafita je ujednačena što je više moguće. Što se tiče standardnih spektralnih prahova njihova je raspodijela čestica zadovoljavajuće jednolika obično u rasponu od 5-20 μm . Grafitni prah koji je korišten za pripremu paste je zanimljiv s obzirom na njegovu mikrostrukturu.
- Niska mogućnost adsorpcije – u nekim slučajevima samo odgovarajući eksperimenti otkrivaju da grafitni prah koji je namjenjen za pripremu paste na bazi ugljika pokazuje veliku adsorpcijsku aktivnost. Ova neželjna značajka može se prepoznati putem sadržaja kisika koji se ubacuje u pore grafita ili se dodatno apsorbira tijekom mehaničke homogenizacije paste. Kada se koriste CPE-ovi izgrađeni od takvih grafitnih prahova u strujnim mjerenjima, veće koncentracije kisika tada se registriraju kao vidljivi pikovi reakcije.⁹



Slika 7. Mikrostruktura dva tipična spektroskopska grafitna praha, skeniranje elektronskim mikroskopom⁹

Neki od autora pokušali su riješiti probleme s prisutnošću kisika u grafitnome prahu, njegovom obradom posebnim postupcima. U postupku pročišćavanja korištena je metoda toplinske desorpcije kisika pri 400 ° C u atmosferi inertnoga plina koji prolazi preko grafita. Time je omogućeno uklanjanje značajnoga dijela adsorbiranoga kisika. Sličan postupak ali poboljšan impregniranjem rafiniranog grafita sa cerezin voskom pokazao se također učinkovitim. Konačno s današnjeg gledišta čini se da takva naknadna oksidacija i impregnacija nije neizbježna budući da spektroskopski grafiti proizvedeni suvremenim tehnologijama pokazuju zadovoljavajuću nisku sposobnost adsorpcije. Paste na bazi ugljika se pripremaju ručnim miješanjem i tijekom ove operacije prah može pokupiti prethodno uklonjeni kisik upijajući ambijentalni zrak.⁹

- Visoka čistoća – očito je da ugljični prah ne bi trebao sadržavati nečistoće koje bi ometale mjerenja. To je posebno kod eksperimenta koji su povezani s detekcijom vrlo male struje gdje čak i zanemarivi tragovi elektroaktivnih nečistoća mogu otpustiti neželjeni i preklapajući signal. No proizvođači obično nude profil čistoće svojih proizvoda uključujući i specifikaciju preostalih tragova iz procesa proizvodnje.⁹



Slika 8. *Grafitni prah*⁹

1.10. Ostali ugljikovi materijali

Povremeno se ugljikove paste prave i od manje uobičajenih grafitnih prahova. Prvi primjer je acetilen crno koji se može dobiti kontroliranim sagorijevanjem acetilena u inertnoj atmosferi ili još bolje kemijskim raspadom. Struktura je poput kristala što doprinosi predvidljivom ponašanju odgovarajuće paste na bazi ugljika koja pokazuje izrazite adsorpcijske sposobnosti. Atipične forme ugljika korištene od strane Kauffmanna bila je čađa (to je amorfni materijal koji se može dobiti nepotpunim izgaranje teških naftnih frakcija) i koloidni grafit (šesterokutni ugljik s izuzetno finim česticama i povećanom provodljivošću).

Sličan ugljični materijal je i aktivni ugljen koji se koristi u medicinske svrhe zbog njegove sposobnosti apsorpcije ili kao filter u gas maskama.⁹



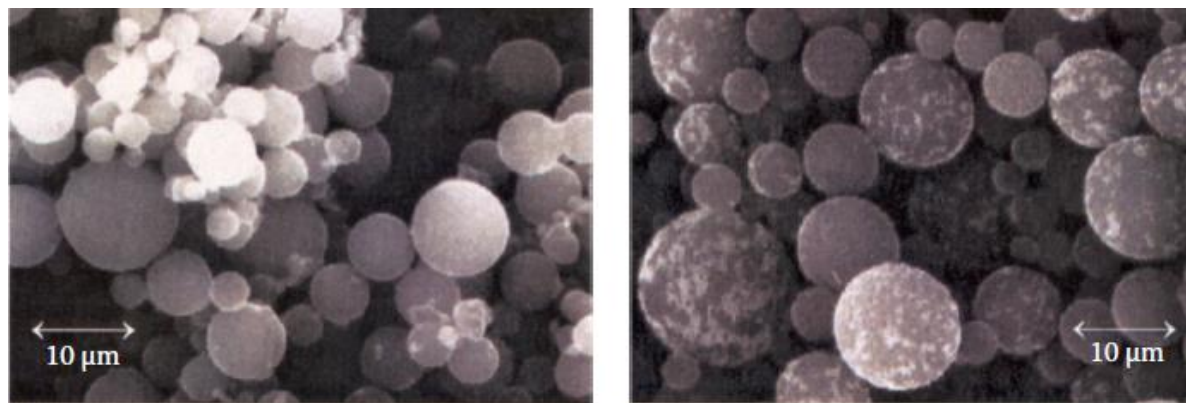
Slika 9. Čađa⁹

U ovom slučaju ne možemo očekivati izvrsna svojstva dotičnih ugljikovih pasta zbog ekstremne adsorptivnosti i nedovoljne čistoće što je slučaj ranije spomenute čađe. Unatoč tome komercijalno je dostupan aktivni drveni ugljen, materijal za CPE koji bi mogao biti uspješno upotrebljen za kvantitativno određivanje u kliničkoj analizi. Crni ugljen je najčešći oblik prirodnoga ugljena koji se koristi kao modifikator obične ugljikove paste. Često se još javlja i lignit (smeđi ugljen) koji se koristi u konfiguraciji CPE.⁹

1.11. Novi oblici ugljika

Većina ima fizikalno-kemijska svojstva različite katalitičke sposobnosti. Takvi materijali nastaju zbog specifične mikrostrukture koja je karakteristična za svaki od tih ugljika. Prvi predstavnik materijala koji se može nazvati novim oblikom ugljika je stakleni ugljik u prahu

(GC). Koristi se u različitim konfiguracijama staklene elektrode od ugljikove paste uključujući kemijski i biološki modificirane varijante. To je posebno obrađeni grafit sa sfernim česticama koje nastaju pirolitičkom razgradnjom visoko molekularnih smola. Odgovarajući obrazci se mogu međusobno razlikovati u završnoj obradi površine što je slučaj kod dva tipa praha „SIGRADUR K“ i „SIGRADUR G“⁹



Slika 10. Dva tipa praha staklenog ugljena⁹

Posebno uočena značajka staklenoga ugljena je otpor prema agresivnim organskim otapalima koja se koriste sama ili u mješavinama s vodenim otopinama u potpornom mediju ili mobilnoj fazi u analizi LC-EC.

Sljedeći materijal je fuleren C60. U ugljikovim pastama fuleren C60 prvi puta je korišten u Kini, a kasnije i u drugim državama. U svim slučajevima fuleren C60 je bio korišten kao dodatni modifikator sa različitim elektrokatalitičkim svojstvima.

Zatim slijede 3 ugljikova materijala – templatni ugljik, porozna ugljična pjena i mikrosfera poroznog ugljika.⁹

1.12. Veziva

Mehnička povezanost pojedinih čestica ugljika u masu nije jedina uloga veziva ugljikove paste. Svaka tekućina za ljepljenje uključujući i kremijski vrlo inertne tvari određuju glavna fizikalno-kemijska i elektrokemijska svojstva svake CPE, uključujući i novo opisane vrste. Tipični parametri prikladne tekućine za ljepljenje mogu se sumirati na sličan način kao za ugljikove materijale te se ističu sljedeće značajke:

- Kemijska inertnost i elektroinaktivnost – tekuća veziva koja se koriste za pripremu paste vrlo su stabilne tvari i njihove interakcije na elektrodi ili u elektrodi uglavnom su fizičke prirode. No neka tekuća veziva mogu djelovati i kemijski npr. aktivnim sudjelovanjem u kiselobaznoj ravnoteži. To je slučaj nekih organofosfatnih estera kao što je pokazano u studijama s elektroinaktivnim i netopljivim u vodi tekućim vezivima tvoreći protonirane katione visokog afiniteta prema ionskom uparivanju. U nekim eksperimentima koji primijenjuju kulometriju, voltometriju, amperometriju i kronopotencimetriju ključna je elektrokemijska inertnost veziva. U potencimetrijskoj analizi je manje važna elektrokemijska aktivnost kada ugljikova pasta može sadržavati vrlo reaktivne spojeve poput organskog nitro estera kao što je nitrofenil oktil ester.
- Niska isparljivost – osim povezanosti s izravnim fizičkim kontaktom sa potencijalno štetnim parama stabilnost i vijek trajanja CPE-a pripremljeni iz hlapljivih veziva su prilično ograničene. Zbog sporog isparavanja veziva ugljikova pasta se isušuje što je popraćeno osim vidljivih konzistentnih promjena i nepovratnim promjenama u fizikalno-kemijskim i elektrokemijskim svojstvima.
- Minimalna topljivost u vodi – osim posebnih mjerenja CPE i CMCPE stvoreni su kao senzori za vodene otopine te kao heterogene ugljikove paste moraju biti dovoljno stabilne u vodi zbog nepoželjnog raspada. Postoje naznake da neki modificirajući agensi usprkos minimalnoj topljivosti u vodi mogu iscuriti iz paste. Tako da u osnovi čak i netopljivi modifikatori moraju biti ugrađeni mehanički ili još bolje kemijski u pastu.
- Kontrolirano miješanje s organskim otapalima – ako vezivo mora biti dovoljno hidrofobno da bi se molekule odbile od vode u vodenim otopinama, takvo vezivo se može pomiješati sa svim otapalima istoga karaktera. To znači da se ugljikove paste ne mogu primjeniti u nepolarnim otapalima. Nažalost utvrđeno je kako se CPE-ovi mogu ozbiljno oštetiti u nekim polarnim otapalima kao što su: MeOH, EtOH, DMSO itd. Stoga elektrode zahtijevaju posebnu pažnju i posebne mjere opreza kod održavanja. Prvi uspješni pokušaj da se ugljikova pasta održi stabilna u organskim otapalima zasnovan je na dodatku visoko lipofilne tvari u smjesu paste. Druga mogućnost stabilizacije paste u polarnim otapalima je izbor visoko viskozne tekućine za ljepljenje. U konačnici postoji još jedan način stabilizacije paste tijekom trajnog

kontakta sa organskim otapalom, a to je izbor specijalnoga ugljikovog materijala kao što je stakleni ugljik koji podnosi do 90% MeOH.⁹

1.13. Parafinska (mineralna) ulja

Ove tekućine su nesumnjivo najčešće birana veziva za ugljikove paste. Tipično parafinsko ulje nastaje mješavinom tekućih alifatskih ugljikovodika. Najprodavaniji proizvod ove vrste je marke Nujol (izvorno otapalo za IR spektroskopiju) . Unatoč klasifikacijama kao teška mineralna ulja i Nujol i otapalo za UV spektrofotometriju su izrazito tekuće koenzistencije, potpuno prozirne bez mirisa te u kontaktu s kožom u osnovi bezopasna. Ta svojstva zasigurno spadaju u dobre razloge za njihovu stalnu uporabu. Njihov nedostatak može biti što su potencijalno zapaljiva i djeluju kao otapalo nekih manje otpornih materijala.⁹

1.14. Alifatski i aromatski ugljikovodici

Dominacija komercijalnih proizvođača a anonimnim sastavom riješila je problem oko toga koji bi ugljikovodik bio najbolje vezivo za ugljikove paste. Niz istraživanja alifatskih i aromatskih ugljikovodika nije dalo konačan odgovor.⁹

1.15. Silikonska ulja i masti

Veziva ove vrste spadaju u polimerizirane siloksane s organskim bočnim lancima. Ako je supstanca i dalje tekuća naziva se silikonsko ulje, a ako je gusta i želatinasta zove se silikonska mast. I silikonsko ulje i silikonska mast su kemijski inertni, imaju izolacijski karakter te su bezopasni za zdravlje. Za razliku od ugljikovih analoga silikoni su nezapaljivi i prihvatljivi za neke plastične materijale. Tipična silikonska ulja su viskozija te tvore gušće i kompaktnije ugljikove paste. Silikonska ulja i masti predstavljaju drugu glavnu skupinu veziva koja se koriste za tradicionalne ugljikove paste. Općenito silikonske tekućine tvore ugljikove paste čija su svojstva vrlo bliska onima u smjesama s mineralnim uljima, no postoje i razlike u ponašanju kod ove dvije temeljne vrste. Osim konzistencije najočitija različitost

vidi se u otpornosti obje vrste u mediju s organskim otapalima gdje su smjese na bazi silikona pokazale bolju stabilnost u usporedbi s pastama napravljenim od mineralnih ulja.⁹

1.16. Halogenirani ugljikovodici i slični derivati

Ove tvari predstavljaju treću važnu skupinu veziva npr. bromoform, ugljik tetraklorid i α -bromonaftalen. To su veziva koja su formirala prve vrste ugljikovih pasta. Sada se koriste samo povremeno s time da su p-diklorobenzen i trans-1,2-dibromocikloheksan elektroaktivne tj. reaktivne ugljikove paste.⁹

1.17. Ostale tekućine za paste i miješana veziva

Povremena uporaba atipčnih tekućina za ljepljenje dokumentirana je na mješavinama izrađenim od TCP-a, dioktil-ftalata ili di-izo-nonil-ftalata. Zbog kemijske aktivnosti ova veziva pokazuju značajne sposobnosti izmjene iona. Slični primjeri su i konfiguracije ugljikove paste temeljene na 1- (2-nitrofenoksi) oktanu zbog prisutnosti nitro skupine ovo vezivo je elektrokemijski aktivno i njegova primjenjivost je ograničena na potenciometriju bez struje.⁹

1.18. Nove vrste veziva ugljikove paste

U istraživačkom radu 1990-ih predstavljena je „vezivna pasta“ koja se temeljila na polikationskom elektrolitu umjesto na tradicionalnom ulju. Navodno je novi kompozitni materijal ponudio značajna poboljšanja u odnosu na uobičajene smjese ugljikovih pasta osobito u izgradnji biosenzora.⁹

1.19. Fizikalno – kemijska svojstva elektroda na bazi ugljika

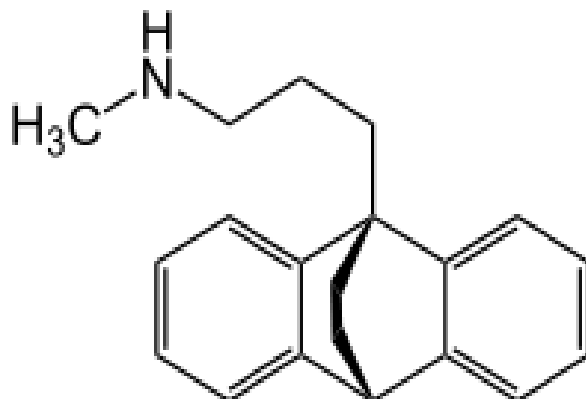
- Mikrostruktura se određuje mikroskopijom. Što je više tekućeg veziva, to je manje praznih prostora između ugljikovih čestica i obrnuto.

- Otpor u omima je izrazito malen pa ugljikove paste karakterizira visoka vodljivost. Standardne ugljikove paste s parafinskim ili silikonskim uljima imaju otpor od 10 Ω i manje.
- Nestabilnost u organskim otapalima.
- Dugovječnost paste ovisi o kvaliteti sastojaka i stabilnosti tekućeg veziva. 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. 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 jer im je životni vijek ograničen, čak i ako su stokirane u čvrsto zatvorene posude.
- Hidrofobnost odnosno lipofilnost ugljikove paste je najbitnija karakteristika koja određuje ostala fizikalno-kemijska svojstva pasti.⁹

1.20. Maprotilin

Maprotilin (MAP) je tetraciklički antidepresiv koji se koristi za liječenje depresije, teškog depresivnog poremećaja, bipolarnog poremećaja i anksioznosti povezane s depresijom. Po farmakološkim svojstvima sličan je tricikličkim antidepresivima (TCA). Slično TCA-ima, maprotilin inhibira ponovnu apsorpciju neuronalnog norepinefrina, posjeduje određenu antikolinergičku aktivnost i ne utječe na aktivnost monoaminoooksidaze. Razlikuje se od TCA po tome što se čini da ne blokira ponovnu apsorpciju serotonina. Maprotilin se može koristiti za liječenje depresivnih afektivnih poremećaja, uključujući distimični poremećaj (depresivna neuroza) i veliki depresivni poremećaj. Maprotilin je učinkovit u smanjenju simptoma anksioznosti povezanih s depresijom. Iako se njegova glavna terapijska uporaba koristi u liječenju depresije, pokazalo se i da ima sedativni učinak na komponentu anksioznosti koja često prati depresiju. U jednoj studiji spavanja pokazalo se da maprotilin povećava trajanje REM faze spavanja kod depresivnih pacijenata, u usporedbi s imipraminom koji je smanjio

REM fazu sna. Maprotilin je snažan inhibitor ponovnog preuzimanja noradrenalina u mozgu i perifernim tkivima, međutim vrijedno je napomenuti da je slab inhibitor preuzimanja serotonergika. Osim toga, pokazuje snažno antihistaminsko djelovanje (što može objasniti njegove sedativne učinke), kao i slabo antikolinergičko djelovanje. Maprotilin također ima nižu aktivnost alfa -adrenergičke blokade od amitriptilina.¹⁰



Slika 11. *Struktura maprotilina*¹⁰

1.21. Pregled literature o određivanju MAP-a

Cilj jedne od studija¹¹ iz 2019.godine bio je razviti jednostavnu, brzu i ponovljivu ultrabrznu tekućinsku kromatografsku (RP-UFLC) metodu reverzne faze za otkrivanje i kvantificiranje maprotilin hidroklorida (MAP) u glavnim formulacijama lijekova. Kromatografsko razdvajanje provedeno je na stupcu C18 (100 x 4 mm) upotrebom binarne otopine acetonitrila i fosfatnog pufera pri pH 7 i protoku od 0,4 mL u minuti pri 215 nm. Linearnost je bila izvrsna u rasponu koncentracija MAP od 0,1 do 1,5 µg / mL s koeficijentom regresije 0,9996. Predložena metoda potvrđena je odgovarajućim smjernicama ICH (Međunarodna konferencija o harmonizaciji tehničkih zahtjeva za registraciju humanih lijekova). Lijek je bio podvrgnut uvjetima hidrolitičkog, kiselog, baznog, termičkog, fotolitičkog i oksidativnog stresa, kao što zahtijeva ICH regulacija. Utvrđeno je da je metoda prikladna za upotrebu u rutinskoj praksi za analizu MAP-a u farmaceutskom obliku doziranja.¹¹

Skupina autora razvila je potenciometrijsko ionsko selektivnu elektrodu (ISE) za određivanje maprotilina. Sintetiziran je ionski par maprotilin-tetrafenilborata. Rezultati elementarne analize pokazali su da je brzina kombiniranja ionskog para maprotilin-tetrafenilborata 1: 1. Sintetizirani ionski par upotrijebljen je kao osjetni materijal u strukturi membrane elektrode.

Za optimizaciju membrane izrađene su polivinilkloridne (PVC) membranske ionske elektrode u različitim sastavima koristeći sintetizirani ionski par te su istražena potenciometrijska svojstva tih elektroda. Otkriveno je da je elektroda u sastavu od 3,0% iona maprotilin-tetrafenilborata, 65,0% dibutilftalata i 32,0% polivinilklorida pokazivala najbolja potenciometrijska svojstva. Linearni radni opseg ove elektrode bio je $1,0 \times 10^{-5}$ - $1,0 \times 10^{-2}$ M, a Nernstov nagib po koncentracijskoj dekadi bio je 55,4 mV uz granicu detekcije od $5,0 \times 10^{-6}$ M i pH 3-5; a vrijeme odziva je bilo 5 s. Elektroda je pokazala vrlo ponovljiv potenciometrijski odgovor. Sadržaj maprotilina u dvije različite farmaceutske tablete koje se koriste za liječenje depresije određen je pomoću ove elektrode. Dobiveni rezultati uspoređivani su s rezultatima dobivenim GC metodom, koja je bila metoda usporedbe. Otkriveno je da se rezultati dobiveni potenciometrijom podudaraju u 95 % s rezultatima dobivenim GC metodom.¹²

1.22. Pregled literature općenito o CPE u potenciometriji

Literaturno je opisan razvoj elektrode na bazi ugljika za analizu triheksifenidil hidroklorida (THP), acetilkolin receptora i antikolinergičnog lijeka u realnim uzorcima. Pasta je pripravljena od 10,2% ionskog para triheksifenidi-tetrafenilborata kao elektroaktivnog materijala, uz dodatak 3,9% reduciranog grafenovog oksida i 0,3% anionskog dodatka, 45,0% dibutilftalata kao posrednika otapala i 40,6% grafita. U optimiziranim eksperimentalnim uvjetima, elektroda je pokazala Nernstov nagib od $58,9 \pm 0,2$ mV / dekadi uz faktor korelacije od 0,9992. Karakterizira je visoka selektivnost i ponovljivost, kao i brzi i linearni raspon dinamičkog odziva od $4,0 \times 10^{-7}$ do $1,0 \times 10^{-2}$ M, te je vrijeme života elektrode bio do 19 dana. Elektroda je uspješno korištena za analizu THP u farmaceutskim i biološkim uzorcima.¹³

Metodom potenciometrije određivan je i levofloksacin (LF), medicinski važan antibiotik koji se koristi za liječenje različitih bakterijskih infekcija. Pripravljene su tri visoko osjetljive i selektivne elektrode od ugljikove paste (CPE) za potenciometrijsko određivanje LF lijeka: (i) CPE ispunjena ugljičnom pastom, CPE presvučena s ion-selektivnom PVC membranom (CCPE) i CPE ispunjena ugljičnom pastom modificiranom plastifikatorom (P-CPE). CPE je pripravljena od grafita (Gr, 44,0%) i reduciranog grafenovog oksida (rGO, 3,0%) kao izvora ugljika, trikrezil fosfata (TCP, 47,0%) kao plastifikatora; natrij tetrakis [3,5-bis

(trifluorometil) fenil] borat (St-TFPMB, 1,0%) kao izmjenjivač iona; i levofloksacin-tetrafenilborata (LF-TPB, 5,0%) kao lipofilni ionski par. Elektroda je pokazala nagib od 49,3 mV/dekadi u rasponu koncentracije LF-a $1,0 \times 10^{-2}$ do $1,0 \times 10^{-5}$ M, s granicom detekcije $1,0 \times 10^{-5}$ M. Elektroda presvučena PVC-om (C-CPE) pokazala je poboljšanu osjetljivost (u smislu nagiba, od 50,2 mV/dekadi) u usporedbi s CPE.. Nakon ugradnje PVC paste na modificirani CPE (P-CPE), promjena potencijala po koncentracijskoj dekadi se povećala na 53,5 mV. Modifikacija s PVC membranskom oblogom značajno je poboljšala vrijeme odziva i topljivost LF-TPB unutar matrice elektroda i povećala životni vijek elektrode. Izgrađeni senzori uspješno su primijenjeni za određivanje LF u farmaceutskom pripravku (Levoxin® 500 mg), uzorcima urina i seruma.¹⁴

Pripremljena je nova elektroda od ugljikove paste za potenciometrijsko određivanje lijeka rifampicina (RIF) koja je u potpunosti okarakterizirana u smislu sastava, korisnog raspona pH i temperature. Sensor se temelji na 2-hidroksipropil beta-ciklodekstrinu kao dobrom jonoforu u matrici ugljične paste. Modificirana elektroda pokazala je nagib od 59,2 mV/dekadi u rasponu koncentracija od $3,2 \times 10^{-8}$ do $2,2 \times 10^{-4}$ M s granicom detekcije od $2,3 \times 10^{-8}$ M. Elektroda ima kratko i stabilno vrijeme odziva od 4s. Sensor je pokazao prednosti poput jednostavnog dizajna, niske cijene, širokog raspona koncentracija, izvrsne selektivnosti prema rifampicinu i obnovljivosti. Uspješno je korišten za određivanje rifampicina u uzorcima tableta i krvnog seruma. Ispitivana je temperaturna ovisnost potencijalnog odziva senzora u temperaturnom rasponu od 15-55 °C. Sensor je pokazao vrlo nizak toplinski koeficijent unutar ispitivanog temperaturnog područja.¹⁵

Doksiciklin, antibiotik širokog spektra iz skupine tetraciklina, široko se koristi za liječenje bakterijskih infekcija poput upale pluća i drugih infekcija respiratornog trakta poput teških akni, lajmske bolesti i rozaceje. Iako postoji niz metoda za određivanje doksiciklina, brza i isplativa metoda i dalje je vrlo zahtjevna. U radu iz 2016.godine autori (Hussein M. Abdel-Fattah, Nahla B. Abdel-Moniem) su predložili potenciometrijsku metodu za određivanje doksiciklina u čistim i farmaceutskim otopinama. Ova se metoda temelji na kemijski modificiranim elektrodama od ugljične paste pomoću ionskih asocijacija doksiciklina s fosfotungstičnom kiselinom (Dc-PT), fosfomolibdenskom kiselinom (Dc-PM) i silikotungstičnom kiselinom (Dc-ST). Tri elektrode pokazale su nagibe od 59,49, 63,98 i 59,52 mV / dekadi pri 25 °C u rasponima koncentracija 7,94-1250; 6,30-2450 i 6,30-1650 $\mu\text{mol} / \text{L}$. Granice detekcije bile su 6,30, 5,0 i 3,98 $\mu\text{mol} / \text{L}$ za Dc-PT, Dc-PM i Dc-ST.

Senzori su pokazali kratko vrijeme odziva ≤ 12 s i mogu se koristiti najmanje 2 mjeseca bez značajnih odstupanja u performansama.¹⁶

Salbutamol je selektivni agonist beta2-adrenergičkih receptora kratkotrajnog djelovanja koji se koristi u liječenju astme i kronične opstruktivne plućne bolesti (KOPB). A.Tamaddon i A.Asghari¹⁷ opisali su selektivni nanokompozitni senzor salbutamola na bazi ionskog para kao osjetnog elementa, višeslojnih ugljičnih nanocijevi (MWCNT), grafitnog praha i parafinskog ulja. Optimizirani sastav od 7% MWCNT, 20% jonofora, 20% parafinskog ulja i 53% grafita u prahu pokazuje nagib od 29,1 +/- 0,4 u rasponu koncentracija od 5×10^{-6} do 1×10^{-2} mol/L. Predložena elektroda se može koristiti u rasponu pH od 3,5 do 10 i ima granicu detekcije $3,0 \times 10^{-6}$ mol/L. Na ovaj način može se vršiti analiza salbutamola u čistim otopinama i farmaceutskim pripravcima s velikom točnošću i preciznošću.¹⁷

1.23. CPE u ostalim tehnikama – pregled literature

Elektrokemijsko ponašanje paracetamola ispitano je cikličkom voltametrijom u otopini amonijevog pufera pri pH 8,5 uz pomoć elektrode na bazi ugljika koja je modificirana grafenom. Modificirana elektroda pokazala je izvrsnu elektrokatalitičku aktivnost prema oksidaciji i redukciji paracetamola što je rezultiralo značajnim smanjenjem vršnih potencijala i znatnim poboljšanjem vršnih struja u usporedbi s golom elektrodom. Unatoč nepovratnom ponašanju na površini elektrode na bazi ugljika, primijećen je kvazi-reverzibilan redoks proces na modificiranoj elektrodi za paracetamol s odvajanjem vrha od 66 mV pri brzini skeniranja od 50 mV/s. Prednosti su povezane s jedinstvenim svojstvima grafena, poput velike površine i povećane sposobnosti prijenosa elektrona u usporedbi s grafitom. Voltometrija kvadratnog vala primijenjena je za kvantitativno određivanje paracetamola pomoću modificirane elektrode nakon vremena akumulacije od 2 min. Kalibracijski graf bio je linearan u rasponu koncentracija paracetamola od 2,5 do 143 μ M s osjetljivošću od 0,282 μ A/ μ M, a granica detekcije bila je oko 0,6 μ M. Metoda je uspješno korištena za određivanje paracetamola u farmaceutskim pripravcima i uzorcima urina.¹⁸

U jednom od radova opisan je senzor pripremljen na bazi ugljika za elektrokemijsko određivanje buserelina, lijeka protiv raka prostate. Istraživanje predstavlja brzi, jednostavni, osjetljivi i selektivni senzor. Diferencijalna pulsna (DPV) i ciklička voltometrija (CV) su bile korištene tehnike za analiziranje nekih uobičajenih parametara kao što su pH, skeniranje

brzine i osjetljivosti spomenutog lijeka. DPV tehnika pokazala je izuzetnu linearnost u rasponu koncentracija od $1,0 \times 10^{-4}$ do $6,0 \times 10^{-6}$ mM s granicom detekcije od 0,73 mM. Ova se elektroda mogla uspješno primijeniti za određivanje buserelina u uzorcima ljudskog seruma.¹⁹

Dizajnirana je ugljikova nanokompozitna elektroda ugradnjom nano -gline montmorilonita u ionsku tekućinsku elektrodu ugljika za elektrokemijsko određivanje amitriptilina. Površina elektrode okarakterizirana je skenirajućom elektronskom mikroskopijom. Prisutnost ionske tekućine kao veziva smatra se odgovornom za elektrokatalitičku aktivnost korištene elektrode za oksidaciju amitriptilina. Postignuta je niska granica detekcije od 24 nM za amitriptilin. Visoka stabilnost i ponovljivost kao i jednostavnost pripreme, niski troškovi i obnova površine učinili su ovu elektrodu idealnom za određivanje amitriptilina u tekućinama ljudskog tijela.²⁰

2. EKSPERIMENTALNI DIO

U eksperimentalnom radu korištene su slijedeće kemikalije:

- Octena kiselina (CH_3COOH , $M=60,05$ g/mol), p.a., Kemika, Zagreb
- Bezvodni natrijev acetat ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$, $M=82,035$ g/mol), p.a., Gram-mol, Zagreb
- Maprotilin hidroklorid, (MAP), ($\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_x\text{HCl}$, $M=313,86$ g/mol), p.a., Sigma, USA
- Natrijev tetrafenilborat (NaTPB), ($\text{Na}[\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4]$, $M=342,23$ g/mol), Merck, Germany
- Srebrov nitrat (AgNO_3), p.a, Kemika, Zagreb
- Tris(2-etilheksil) fosfat, T(2EH)Ph, ($\text{C}_{24}\text{H}_{51}\text{O}_4\text{P}$, $M=434,63$ g/mol)
- Bis(2-etilheksil) adipat, DEHA, ($\text{C}_{22}\text{H}_{42}\text{O}_4$, $M=370,57$ g/mol), Acros Organics, Germany
- Timrex KS 44 Graphite, p.a., Imerys Graphite & Carbon, Switzerland
- Grafen, rGO
- (2-hidroksipropil)- β -ciklodekstrin, ($\text{C}_{63}\text{H}_{112}\text{O}_{42}$, $M=1541,5$ g/mol), Sigma, USA
- Fosfatotungstatska kiselina, PTA, ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$, $M=2880,2$ g/mol), Sigma, USA
- Reinekeova sol, ($M=336,43$ g/mol), Acros Organics, Germany
- Hidrat molibdatofosforne kiseline, ($\text{H}_3[\text{P}(\text{Mo}_3\text{O}_{10})_4]_x \text{H}_2\text{O}$, $M=1825,25$ g/mol),

2.1. Priprava otopina

2.1.1. Priprema pufera

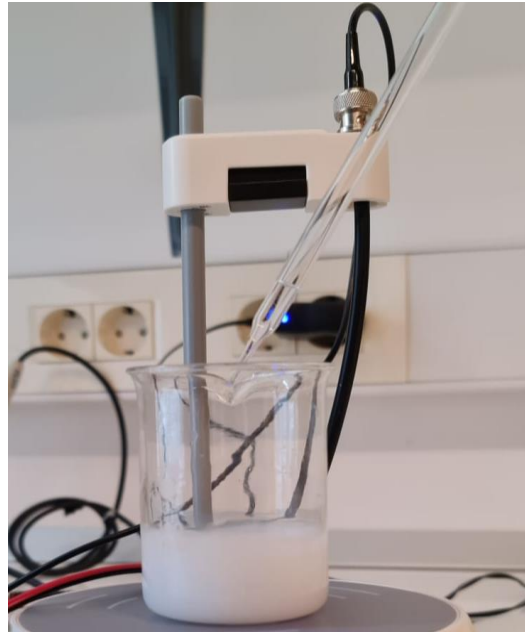
U tikvicu od 1000 mL dodano je malo destilirane vode, 570 μL ledene octene kiseline $\{w(\text{CH}_3\text{COOH}) = 99,5\%$, $\rho=1,05$ kg L^{-1} }, te 452 mg NaAc ($M_r = 82,035$ g mol^{-1}) te je do oznake nadopunjeno destiliranom vodom. $\text{pH} = 4$.

2.1.2. Priprema ionsko-asocijacijskog kompleksa (IAC)

U jednoj čašici (25mL) u zagrijanoj destiliranoj vodi (30°C) otopljeno je 86,9 mg natrijevog tetrafenil borata (NaTPB, $M=342,23$ g/mol, $c=0,01\text{M}$), a u drugoj 78,4 mg maprotilina hidroklorida (MAP, $M=313,86$ g/mol, $c=0,01\text{M}$) također u 25mL.

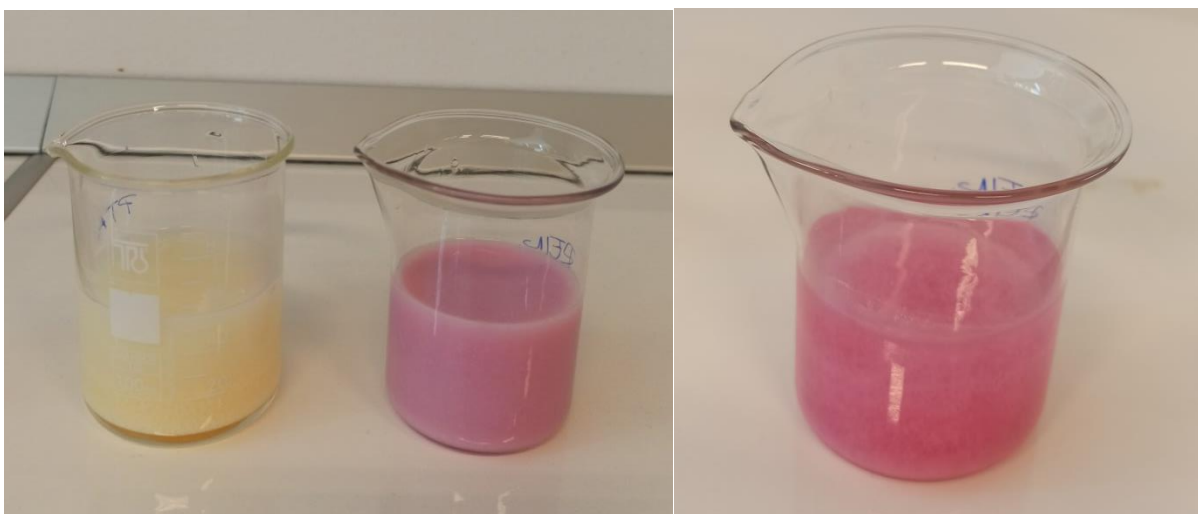
Otopina NaTPB je dokapavana u otopinu MAP uz miješanje štapićem da bi se istaložio pahuljičasti bijeli talog tj. slabo topljivi kompleks. Nastali talog je ostavljen preko noći na

tamnom mjestu. Drugi dan je filtriran preko bijelog filter papira i isprano je do negativne reakcije na kloride uz dodatak AgNO_3 . Kada je postignuta negativna reakcija na kloride talog je ostavljen na tamnom mjestu da se osuši.



Slika 12. *Taloženje MAP TPB*

Na naprijed opisan način pripremljeni su i ostali talozi koji su korišteni u eksperimentalnom radu. Otopljeno je 240 mg PTA u 25mL vode , 90,4 mg Reinekeove soli u 25 mL vode i 152,1 mg hidrata molibdatofosforne kiseline u 25 mL vode. Dobivene otopine su dokopavane u otopinu MAP-a.



Slika 13. *Taloženje MAP-a sa PTA, Reinekeovom soli i molibdatom*

2.1.3. Priprema standarda/radne otopine

Standard je pripremljen na način da je izvagano 24,95 mg čiste aktivne tvari maprotilina hidroklorida i otopljeno u zagrijanom puferu. Nakon toga otopina je prebačena u odmjernu tikvicu od 25 mL i do oznake je nadopunjeno puferom. Na taj način je dobivena otopina koncentracije $3,16 \times 10^{-3}$ M.

$$V_{\text{pufer}} = 25 \text{ mL}$$

$$c(\text{MAP}) = 3,16 \times 10^{-3} \text{ M}$$

$$c = \frac{n}{V} = \frac{m}{M \times V} \rightarrow m_{\text{MAP}} = 24,95 \text{ mg}$$

Iz pripremljenog standarda preneseno je 6,3 mL u novu tikvicu od 25 mL i nadopunjeno do oznake puferom. Takav postupak razrijeđenja ponovljen je 5 puta i na kraju su dobivene otopine koncentracije od $3,16 \times 10^{-6}$ do $3,16 \times 10^{-3}$ M.

$$c_1 = 10^{-2,5} \text{ M}$$

$$c_2 = 10^{-3,1} \text{ M} \quad V_2 = 25 \text{ mL}$$

$$c_1 \times V_1 = c_2 \times V_2 \rightarrow V_1 = 6,28 \text{ mL}$$

2.2. Priprema membrana

U tarioniku na analitičkoj vagi izvagana je određena količina grafita, veziva i IAC-a, a u nekim slučajevima i određena količina soli, jonofora i grafena (sastavi su prikazani u Tablica 1.). Nakon toga kružnim pokretima tučkom se miješa i homogenizira da bi se dobila smjesa u obliku paste. Tako pripravljena pasta se uz pomoć špatule stavlja na vrh holdera i utisne unutra. Višak se ukloni a površina se ispolira. Zatim slijedi mjerenje potencijala.



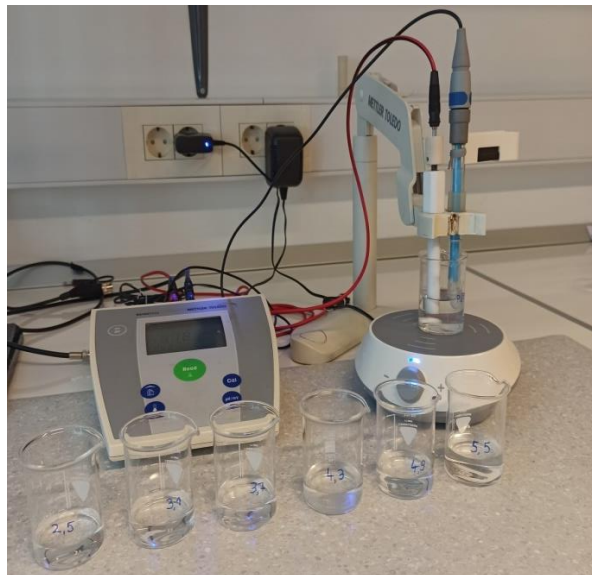
Slika 14. *Homogeniziranje paste*



Slika 15. *Punjenje holdera*



Slika 16. *Poliranje*



Slika 17. *Mjerenje potencijala*

Tablica 1. Sastavi membrana

	GRAFIT(%)	VEZIVO		IAC (%)		SOL (%)		GRAFEN
1.	50,23	49,77	T(2EH)Ph	0,00	MAP TPB	0,00		0,00
2.	49,53	50,00	T(2EH)Ph	0,47	MAP TPB	0,00		0,00
3.	49,54	49,54	T(2EH)Ph	0,93	MAP TPB	0,00		0,00
4.	48,55	48,42	T(2EH)Ph	3,03	MAPTPB	0,00		0,00
5.	47,08	46,95	T(2EH)Ph	5,97	MAP TPB	0,00		0,00
6.	45,85	45,26	T(2EH)Ph	8,89	MAP TPB	0,00		0,00
7.	43,85	44,69	T(2EH)Ph	11,46	MAP TPB	0,00		0,00
8.	47,08	47,02	T(2EH)Ph	5,84	MAP TPB	0,06	NaTPB	0,00
9.	49,57	49,44	T(2EH)Ph	0,93	MAP TPB	0,07	NaTPB	0,00
10.	45,44	45,51	T(2EH)Ph	8,98	MAP TPB	0,07	NaTPB	0,00
11.	47,17	46,91	T(2EH)Ph	5,86	MAP TPB	0,07	TBATPB	0,00
12.	46,51	46,51	T(2EH)Ph	5,95	MAP TPB	0,00		1,02
13.	42,79	43,48	T(2EH)Ph	5,93	MAP TPB	0,00		7,81
14.	46,85	46,65	T(2EH)Ph	6,01	MAP TPB	0,50	ionofor	0,00
15.	49,77	49,77	DEHA	0,47	MAP TPB	0,00		0,00
16.	48,47	48,54	DEHA	3,00	MAP TPB	0,07	NaTPB	0,00
17.	48,50	48,43	DEHA	3,00	MAP TPB	0,00		0,00
18.	45,42	45,56	DEHA	9,02	MAPTPB	0,00		0,00
19.	45,49	45,56	T(2EH)Ph	8,95	MAPREIN.	0,00		0,00
20.	45,57	45,44	T(2EH)Ph	8,99	MAP PTA	0,00		0,00
21.	45,53	45,53	T(2EH)Ph	8,93	MAP MOL.	0,00		0,00
22.	45,46	45,53	T(2EH)Ph	8,95	MAP PTA	0,07	NaTPB	0,00
23.	45,59	45,32	T(2EH)Ph	9,02	MAP MOL.	0,07	NaTPB	0,00
24.	45,47	45,40	T(2EH)Ph	8,93	MAPMOLI.	0,20	NaTPB	0,00
25.	45,39	45,46	T(2EH)Ph	9,08	MAP PTA	0,07	NaTPB	0,00

3. REZULTATI

Ukupno je pripremljeno i testirano 25 membrana određenog sastava (Tablica 1.). Svaka od tih membrana je testirana 5 puta s poliranjem i 3 puta bez poliranja kroz dva dana. (Tablica 2. do 26.) Mjerenja su vršena nakon 1 a ponekad i nakon 3 minute ako nije došlo do stabilizacije potencijala, u koncentracijskom području od $3,16 \times 10^{-6}$ do $3,16 \times 10^{-3}$ M, a svaki put uz prethodno kondicioniranje u puferu u trajanju od 16 minuta.

Tablica 2. Rezultati mjerenja za elektrodu 1 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

		E (mV)													
		1. DAN MJERENJA						2. DAN MJERENJA							
		1. mjerenje s poliranjem		2. mjerenje s poliranjem		1. mjerenje bez poliranja		1. mjerenje s poliranjem		2. mjerenje s poliranjem		3. mjerenje s poliranjem		1. mjerenje bez poliranja	
pMAP		nakon 60 s	nakon 180s	nakon 60 s	nakon 180 s	nakon 60 s	nakon 180 s	nakon 60 s	nakon 180 s	nakon 60s	nakon 180 s	nakon 60 s	nakon 180 s	nakon 60s	nakon 180 s
	5,5		371	378	353	361	328	329	358	362	343	345	340	343	334
4,9		401	403	384	385	349	350	385	387	366	367	369	371	360	362
4,3		417	416	399	399	368	368	409	404	385	385	389	388	383	383
3,7		428	425	402	398	383	382	421	419	401	399	403	401	400	400
3,1		432	432	409	408	395	393	433	431	412	411	415	413	415	414
2,5		436	432	416	406	402	398	440	435	417	414	420	417	422	420
nagib		-20,4	-17,4	-18,7	-13,9	-24,9	-23,2	-26,9	-24,4	-24,9	-23,4	-26,3	-24,2	-29,6	-28,2
faktor regresije		0,8675	0,8741	0,8555	0,7949	0,9713	0,9605	0,9441	0,9516	0,9564	0,9522	0,9395	0,9382	0,9660	0,9622

Tablica 3. Rezultati mjerenja za elektrodu 2 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

		E (mV)															
		1.DAN MJERENJA								2. DAN MJERENJA							
		1.mjerenje s poliranjem		2.mjerenje s poliranjem		1.mjerenje bez poliranja		1.mjerenje s poliranjem		2.mjerenje s poliranjem		3.mjerenje s poliranjem		1.mjerenje bez poliranja		2.mjerenje bez poliranja	
pMAP		nakon 60 s	nakon 180s	nakon 60 s	nakon 180 s	nakon 60 s	nakon 180 s	nakon 60 s	nakon 180 s	nakon 60s	nakon 180 s	nakon 60 s	nakon 180 s	nakon 60s	nakon 180 s	nakon 60s	nakon 180s
	5,5		285	288	270	272	269	269	227	228	222	223	221	222	220	221	220
4,9		321	321	302	302	300	300	258	258	252	253	251	251	249	250	248	249
4,3		334	343	335	335	331	331	288	288	283	283	281	281	280	280	279	279
3,7		376	376	364	363	361	361	316	316	311	311	310	310	309	309	308	308
3,1		402	401	389	390	388	288	342	341	338	337	337	336	335	335	335	335
2,5		422	421	413	412	411	409	362	360	359	358	359	357	358	356	357	356
nagib		-46,2	-44,7	-47,9	-47,2	-47,8	-47,3	-45,5	-44,6	-46,2	-45,5	-46,5	-45,7	-46,5	-45,7	-46,4	-46,0
faktor regresije		0,9869	0,9948	0,9955	0,9961	0,9972	0,9958	0,9951	0,9942	0,9963	0,9963	0,9973	0,9966	0,9975	0,9966	0,9975	0,9970

Tablica 4. Rezultati mjerenja za elektrodu 3 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

		E (mV)							
		1.DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA				
		1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	3.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	2.mjerenje bez poliranja
pMAP		nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
	5,5		289	274	268	233	224	223	224
4,9		320	304	296	264	254	256	253	253
4,3		353	336	327	297	285	285	285	284
3,7		384	365	358	327	314	316	314	315
3,1		409	393	385	354	340	343	341	342
2,5		433	416	408	376	362	365	365	365
nagib		-48,5	-47,9	-47,5	-48,3	-46,5	-48,0	-47,5	-47,8
faktor regresije		0,9959	0,9975	0,9977	0,9956	0,9965	0,9964	0,9979	0,9976

Tablica 5. Rezultati mjerenja za elektrodu 4 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

		E (mV)						
		1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA			
		1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	3.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja
pMAP	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
5,5	269	258	253	179	174	168	166	166
4,9	300	285	278	206	203	196	196	195
4,3	334	319	311	239	236	230	230	230
3,7	366	352	345	270	268	262	263	263
3,1	394	380	374	297	296	292	292	292
2,5	418	406	402	321	321	317	318	318
nagib	-50,4	-50,4	-50,8	-48,3	-49,8	-50,7	-51,5	-51,6
faktor regresije	0,9968	0,9980	0,9984	0,9976	0,9980	0,9982	0,9981	0,9979

Tablica 6. Rezultati mjerenja za elektrodu 5 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

		E (mV)						
		1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA			
		1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	3.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja
pMAP	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
5,5	244	239	235	195	192	192	190	191
4,9	274	268	264	224	220	220	219	218
4,3	308	302	298	258	255	254	254	253
3,7	341	335	332	291	288	288	286	286
3,1	370	365	361	319	317	317	316	316
2,5	395	392	388	344	343	344	343	342
nagib	-51,2	-51,9	-51,9	-50,6	-51,4	-51,7	-51,8	-51,5
faktor regresije	0,9977	0,9988	0,9984	0,9975	0,9979	0,9984	0,9986	0,9980

Tablica 7. Rezultati mjerenja za elektrodu 6 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

E (mV)								
1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA					
	1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	3. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	2. mjerenje bez poliranja
pMAP	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
5,5	222	218	216	172	172	169	169	169
4,9	250	244	239	199	200	197	198	197
4,3	285	278	274	235	233	233	233	233
3,7	318	311	307	268	268	266	267	267
3,1	348	341	336	297	298	296	297	297
2,5	374	368	364	322	325	323	324	324
nagib	-51,8	-51,1	-50,7	-51,3	-52,0	-52,4	-52,7	-52,8
faktor regresije	0,9981	0,9985	0,9976	0,9971	0,9985	0,9981	0,9983	0,9980

Tablica 8. Rezultati mjerenja za elektrodu 7 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

E (mV)								
1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA					
	1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	3. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	2. mjerenje bez poliranja
pMAP	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
5,5	219	210	204	166	163	163	163	165
4,9	244	237	231	189	188	186	186	187
4,3	279	271	266	221	220	217	217	219
3,7	312	305	299	254	252	249	249	251
3,1	342	334	330	284	253	279	280	282
2,5	368	362	356	309	310	306	307	308
nagib	-51,0	-51,7	-51,9	-49,2	-50,1	-48,9	-49,2	-49,1
faktor regresije	0,9977	0,9986	0,9982	0,9975	0,9987	0,9982	0,9981	0,9975

Tablica 9. Rezultati mjerenja za elektrodu 8 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

E (mV)								
1.DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA					
pMAP	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	3.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	2.mjerenje bez poliranja
	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
	5,5	182	189	191	146	138	136	144
4,9	189	200	203	162	152	144	165	178
4,3	251	305	256	270	261	235	258	260
3,7	347	351	342	308	304	305	301	299
3,1	378	382	373	337	334	336	331	330
2,5	404	409	400	362	359	361	358	356
nagib	-84,4	-80,6	-78,1	-78,2	-80,7	-84,3	-76,7	-72,1
faktor regresije	0,9483	0,9437	0,9590	0,9353	0,9373	0,9503	0,9553	0,9647

Tablica 10. Rezultati mjerenja za elektrodu 9 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

E (mV)								
1.DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA					
pMAP	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	3.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	2.mjerenje bez poliranja
	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
	5,5	187	182	187	151	161	174	177
4,9	191	187	196	162	166	180	187	191
4,3	216	213	232	296	292	222	300	300
3,7	380	374	366	341	352	359	348	344
3,1	412	408	397	369	381	389	378	374
2,5	437	433	422	391	404	411	401	397
nagib	-98,9	-99,0	-91,0	-88,9	-91,4	-92,8	-82,9	-81,3
faktor regresije	0,8888	0,8937	0,9185	0,9104	0,9223	0,9139	0,9317	0,9363

Tablica 11. Rezultati mjerenja za elektrodu 10 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

		E (mV)							
		1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA				
		1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	3. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	2. mjerenje bez poliranja
pMAP	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	
5,5	135	142	145	112	118	127	134	137	
4,9	142	146	151	119	126	131	142	147	
4,3	168	169	226	147	135	134	236	254	
3,7	324	327	318	300	293	313	308	305	
3,1	360	361	351	333	335	347	340	338	
2,5	386	387	377	357	363	373	366	365	
nagib	-98,3	-96,6	-88,2	-96,2	-96,1	-97,9	-86,9	-84,0	
faktor regresije	0,9005	0,8917	0,9499	0,9003	0,8867	0,8596	0,9503	0,9451	

Tablica 12. Rezultati mjerenja za elektrodu 11 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

		E (mV)							
		1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA				
		1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	3. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	2. mjerenje bez poliranja
pMAP	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	
5,5	251	250	242	194	195	198	198	194	
4,9	279	274	267	222	221	221	222	221	
4,3	314	307	301	255	256	255	255	255	
3,7	348	340	334	290	290	288	289	289	
3,1	378	371	365	319	320	319	319	319	
2,5	405	397	391	345	345	344	344	345	
nagib	-52,4	-50,4	-51,0	-51,5	-51,5	-50,3	-50,2	-51,6	
faktor regresije	0,9983	0,9979	0,9980	0,9980	0,9973	0,9971	0,9973	0,9981	

Tablica 13. Rezultati mjerenja za elektrodu 12 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

		E (mV)						
		1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA			
		1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	3. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja
pMAP	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
5,5	279	269	264	221	222	224	225	223
4,9	304	297	290	247	248	250	251	250
4,3	338	331	324	281	281	283	284	283
3,7	370	364	357	313	314	315	317	317
3,1	400	393	387	342	343	344	346	346
2,5	425	420	414	368	368	370	372	372
nagib	-50,0	-51,2	-51,1	-50,1	-49,9	-49,7	-50,1	-50,8
faktor regresije	0,9979	0,9986	0,9985	0,9983	0,9979	0,9985	0,9983	0,9982

Tablica 14. Rezultati mjerenja za elektrodu 13 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

		E (mV)						
		1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA			
		1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	3. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja
pMAP	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
5,5	302	289	283	224	227	226	236	225
4,9	320	312	305	244	247	246	246	244
4,3	353	346	339	275	279	277	276	276
3,7	385	379	370	307	310	309	309	309
3,1	413	409	400	335	339	338	338	337
2,5	436	433	425	359	363	363	362	362
nagib	-46,7	-49,7	-48,9	-46,7	-47,0	-47,3	-44,7	-47,5
faktor regresije	0,9946	0,9967	0,9973	0,9964	0,9965	0,9966	0,9860	0,9956

Tablica 15. Rezultati mjerenja za elektrodu 14 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

E (mV)								
1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA					
	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	3.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	2.mjerenje bez poliranja
pMAP	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
5,5	227	224	222	186	179	184	182	181
4,9	253	251	248	212	210	210	210	210
4,3	288	285	282	246	245	245	245	245
3,7	321	319	315	279	279	278	269	279
3,1	351	348	344	308	308	308	307	308
2,5	377	375	372	333	334	334	334	335
nagib	-51,3	-51,4	-51,0	-50,3	-52,5	-51,3	-51,2	-52,3
faktor regresije	0,9979	0,9983	0,9986	0,9977	0,9975	0,9979	0,9977	0,9981

Tablica 16. Rezultati mjerenja za elektrodu 15 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

E (mV)								
1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA					
	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	3.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	2.mjerenje bez poliranja
pMAP	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
5,5	227	216	212	210	209	206	211	211
4,9	245	234	228	226	224	222	225	226
4,3	263	252	246	241	238	238	239	241
3,7	276	264	259	253	248	247	249	250
3,1	286	274	270	263	257	256	259	260
2,5	291	280	277	268	262	261	264	265
nagib	-21,7	-21,5	-22,1	-19,7	-17,8	-18,4	-17,9	-18,1
faktor regresije	0,9628	0,9660	0,9785	0,9725	0,9713	0,9617	0,9776	0,9714

Tablica 17. Rezultati mjerenja za elektrodu 16 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

		E (mV)							
		1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA				
		1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	3. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	2. mjerenje bez poliranja
pMAP		nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
5,5		231	223	220	210	208	205	205	205
4,9		243	237	233	225	223	219	219	219
4,3		261	253	249	240	239	234	234	232
3,7		273	264	260	250	249	344	243	242
3,1		285	276	270	261	260	355	254	253
2,5		290	283	279	267	267	261	261	260
nagib		-20,6	-20,4	-19,9	-19,2	-19,8	-18,9	-18,8	-18,4
faktor regresije		0,9786	0,9867	0,9894	0,9803	0,9818	0,9825	0,9848	0,9892

Tablica 18. Rezultati mjerenja za elektrodu 17 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

		E (mV)							
		1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA				
		1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	3. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	2. mjerenje bez poliranja
pMAP		nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
5,5		157	149	153	181	144	175	179	184
4,9		186	171	183	202	159	198	201	205
4,3		232	208	215	229	180	228	227	229
3,7		259	227	232	248	197	247	245	245
3,1		281	245	248	259	206	257	257	256
2,5		297	258	258	263	211	263	261	261
nagib		-48,2	-37,4	-35,1	-28,6	-23,5	-30,3	-28,4	-26,4
faktor regresije		0,9735	0,9738	0,9586	0,9454	0,9605	0,9417	0,9486	0,9523

Tablica 19. Rezultati mjerenja za elektrodu 18 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

E (mV)								
1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA					
	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	3.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	2.mjerenje bez poliranja
pMAP	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
5,5	244	244	239	253	250	253	248	249
4,9	258	258	253	266	263	262	261	261
4,3	276	275	270	278	274	273	272	271
3,7	291	288	283	288	283	282	280	280
3,1	302	298	294	293	289	287	287	286
2,5	308	304	301	297	293	290	291	290
nagib	-22,2	-20,6	-21,2	-14,8	-14,4	-12,8	-14,3	-13,8
faktor regresije	0,9782	0,9772	0,9835	0,9550	0,9627	0,9629	0,9667	0,9694

Tablica 20. Rezultati mjerenja za elektrodu 19 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

E (mV)								
1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA					
	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	3.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	2.mjerenje bez poliranja
pMAP	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
5,5	448	440	437	409	389	363	374	379
4,9	451	443	440	412	393	368	378	382
4,3	457	451	448	420	402	377	386	390
3,7	479	472	469	441	424	399	408	413
3,1	506	500	497	468	452	428	436	440
2,5	531	525	521	490	476	453	460	465
nagib	-28,7	-29,4	-29,1	-28,3	-30,2	-31,0	-29,8	-29,9
faktor regresije	0,9144	0,9219	0,9236	0,9283	0,9341	0,9354	0,9296	0,9259

Tablica 21. Rezultati mjerenja za elektrodu 20 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

	E (mV)							
	1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA				
	1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	3. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	2. mjerenje bez poliranja
	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
pMAP								
5,5	362	357	349	339	341	336	334	331
4,9	388	383	377	371	370	364	363	363
4,3	412	405	403	397	395	389	388	388
3,7	441	436	432	426	425	417	418	418
3,1	468	463	460	453	452	445	444	445
2,5	491	486	482	474	473	466	464	468
nagib	-43,5	-43,6	-44,9	-45,2	-44,6	-43,9	-43,9	-45,8
faktor regresije	0,9992	0,9983	0,9988	0,9970	0,9979	0,9986	0,9972	0,9981

Tablica 22. Rezultati mjerenja za elektrodu 21 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

	E (mV)							
	1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA				
	1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	3. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	2. mjerenje bez poliranja
	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
pMAP								
5,5	348	355	352	350	348	345	346	340
4,9	351	359	356	354	350	350	350	345
4,3	363	373	371	367	363	363	363	362
3,7	393	403	401	393	391	392	392	392
3,1	423	431	430	422	420	422	422	421
2,5	450	458	457	447	446	448	448	447
nagib	-36,0	-36,2	-37,0	-34,0	-34,7	-36,2	-35,9	-37,8
faktor regresije	0,9398	0,9514	0,9530	0,9486	0,9406	0,9507	0,9472	0,9617

Tablica 23. Rezultati mjerenja za elektrodu 22 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

		E (mV)						
		1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA			
		1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	3.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja
pMAP	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
5,5	161	163	167	138	146	150	154	157
4,9	164	166	174	143	151	155	165	177
4,3	170	176	284	172	173	191	276	297
3,7	367	372	366	352	358	356	350	345
3,1	410	409	399	386	392	388	381	375
2,5	435	434	424	410	415	410	403	398
nagib	-109,7	-108,6	-97,2	-108,1	-107,3	-103,1	-93,7	-87,9
faktor regresije	0,8616	0,8629	0,9407	0,8874	0,8783	0,8963	0,9377	0,9299

Tablica 24. Rezultati mjerenja za elektrodu 23 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

		E (mV)						
		1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA			
		1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja	1.mjerenje s poliranjem	2.mjerenje s poliranjem	3.mjerenje s poliranjem	1.mjerenje bez poliranja
pMAP	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
5,5	358	342	343	330	329	324	321	319
4,9	358	345	345	333	334	329	327	324
4,3	373	359	359	349	348	346	344	342
3,7	405	393	393	380	379	378	376	376
3,1	435	424	421	410	409	409	407	407
2,5	460	451	448	436	436	435	433	433
nagib	-36,8	-38,9	-37,5	-37,7	-37,7	-39,4	-39,6	-40,6
faktor regresije	0,9394	0,9452	0,9444	0,9520	0,9528	0,9595	0,9623	0,9611

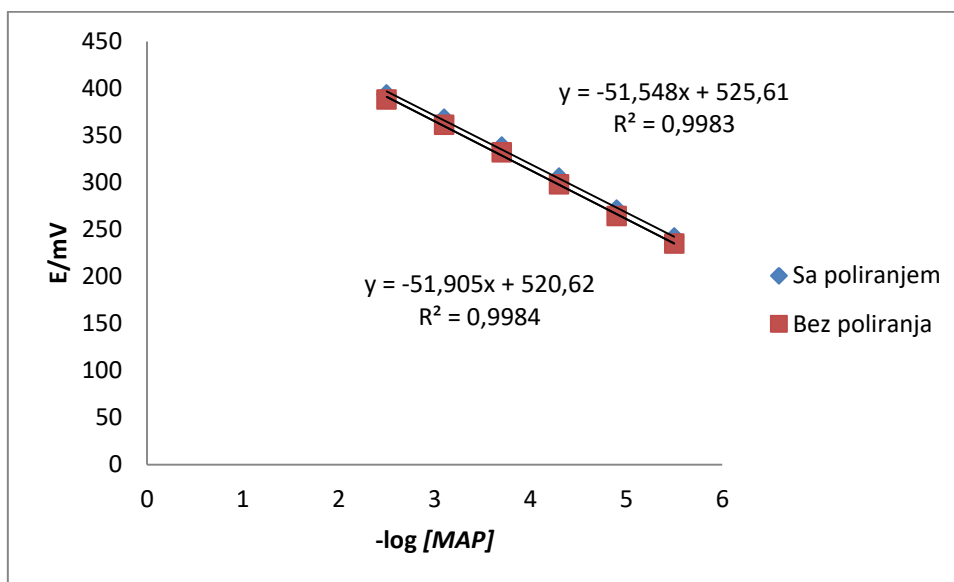
Tablica 25. Rezultati mjerenja za elektrodu 24 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

		E (mV)							
		1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA				
		1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	3. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	2. mjerenje bez poliranja
pMAP		nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
5,5		346	349	343	329	330	325	322	318
4,9		350	349	346	332	332	327	326	322
4,3		363	362	359	345	345	341	341	339
3,7		397	391	390	375	373	372	371	370
3,1		429	423	421	405	403	402	401	400
2,5		455	450	448	431	429	428	428	427
nagib		-38,9	-36,0	-37,2	-36,1	-35,0	-36,7	-37,4	-38,6
faktor regresije		0,9455	0,9285	0,9420	0,9438	0,9394	0,9433	0,9520	0,9569

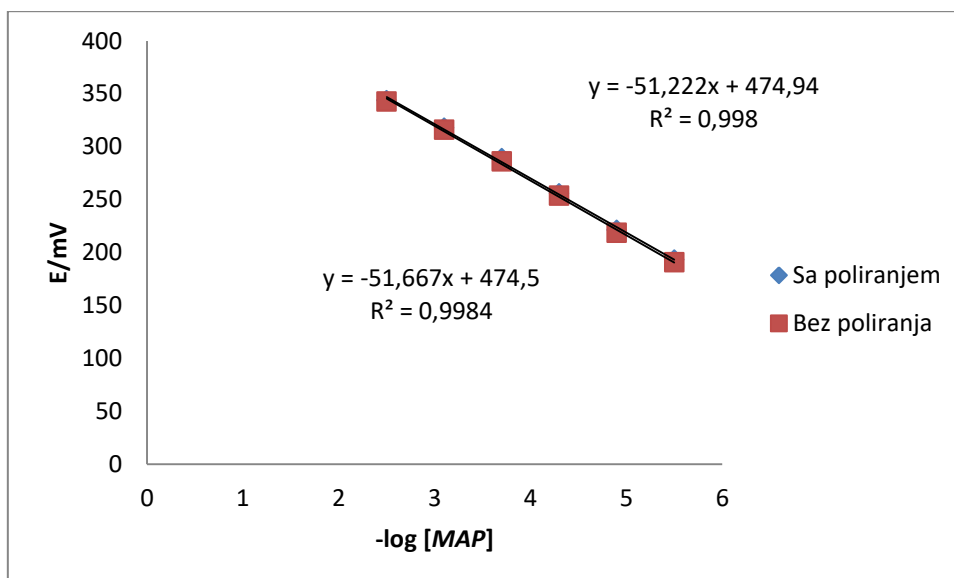
Tablica 26. Rezultati mjerenja za elektrodu 25 sa izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

		E (mV)							
		1. DAN MJERENJA			2. DAN MJERENJA				
		1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	1. mjerenje s poliranjem	2. mjerenje s poliranjem	3. mjerenje s poliranjem	1. mjerenje bez poliranja	2. mjerenje bez poliranja
pMAP		nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s	nakon 60s	nakon 60 s
5,5		205	229	233	246	228	222	224	225
4,9		237	253	257	276	249	235	237	237
4,3		274	283	287	310	277	253	255	255
3,7		307	310	316	339	305	273	274	274
3,1		335	334	342	364	329	291	291	290
2,5		356	355	364	386	348	304	305	304
nagib		-51,5	-42,9	-44,7	-47,3	-41,3	-28,5	-27,9	-27,3
faktor regresije		0,9927	0,9972	0,9979	0,9944	0,9965	0,9958	0,9972	0,9965

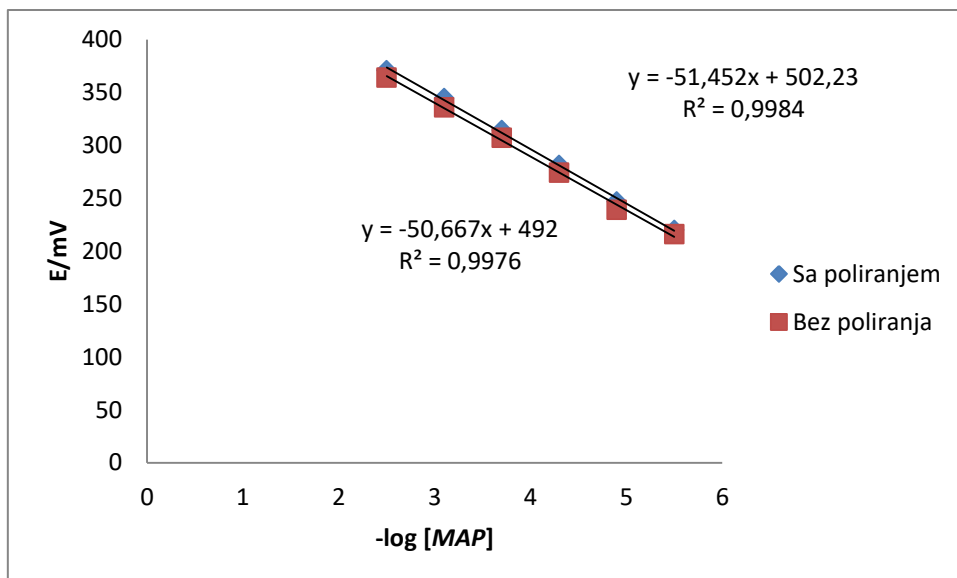
U nastavku su prikazani neki od rezultata za pripremljene membrane, za koje se smatra da su od svih najbolji. Kao najbolja membrana pokazala se membrana 5 (47,08% grafita, 46,95% veziva i 5,97% IAC-a) i membrana 6 (45,85% grafita, 45,26% veziva i 8,89% IAC-a) pa se za daljnje testiranje u te sastave dodavalo soli, grafena i ionofora da bi se vidjelo kako koja tvar utječe na odziv.



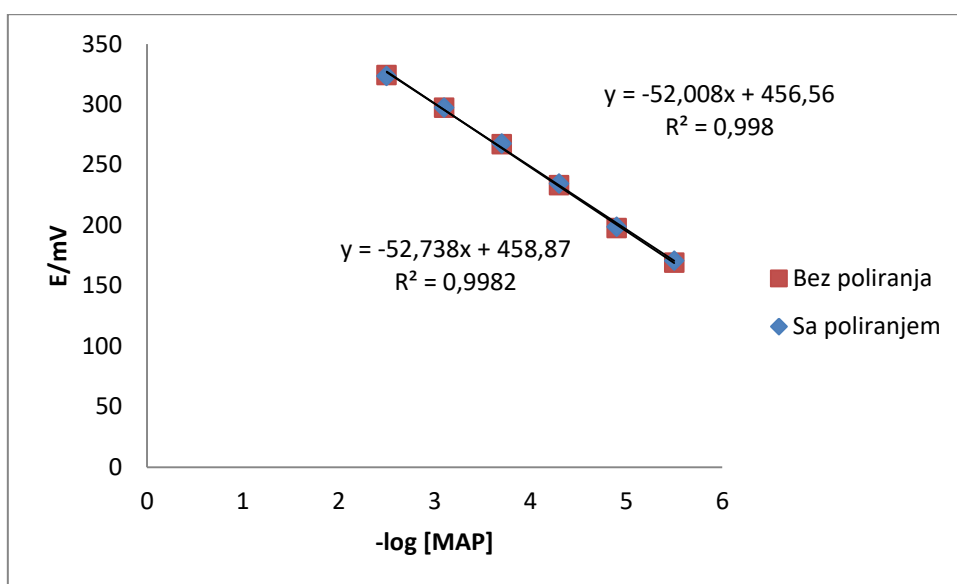
Slika 18. Ovisnost promjene potencijala elektrode 5 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprotilina u prvom danu mjerenja



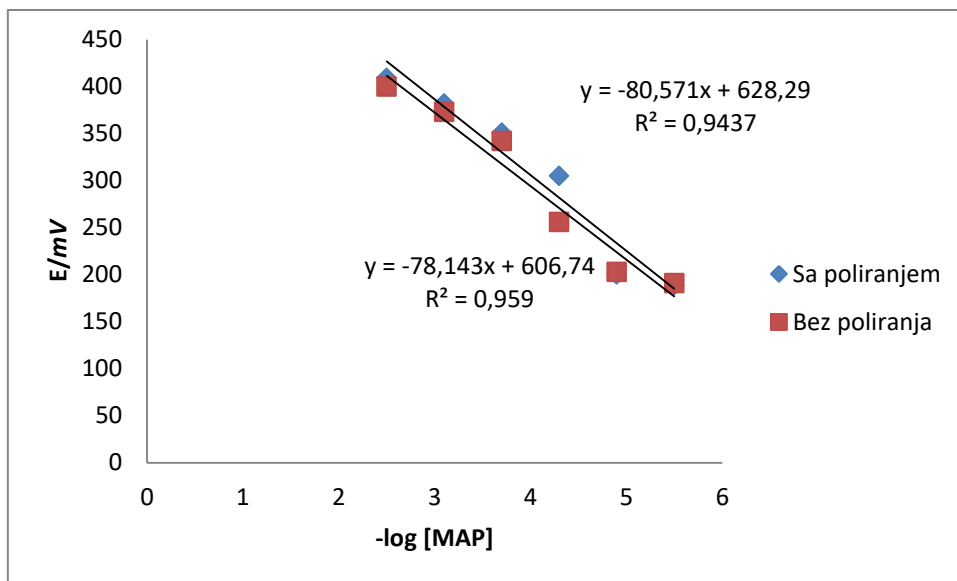
Slika 19. Ovisnost promjene potencijala elektrode 5 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprotilina u drugom danu mjerenja



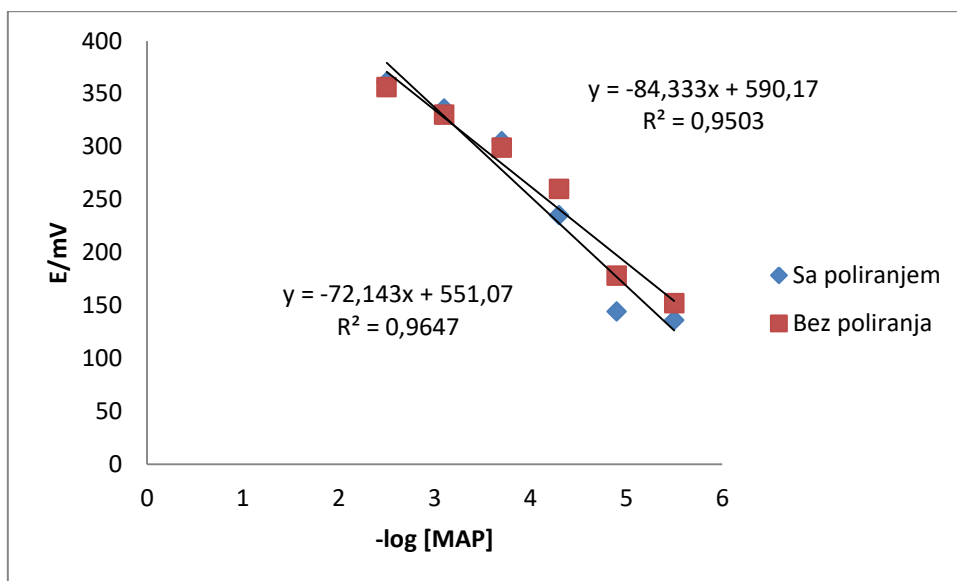
Slika 20. Ovisnost promjene potencijala elektrode 6 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprotilina u prvom danu mjerenja



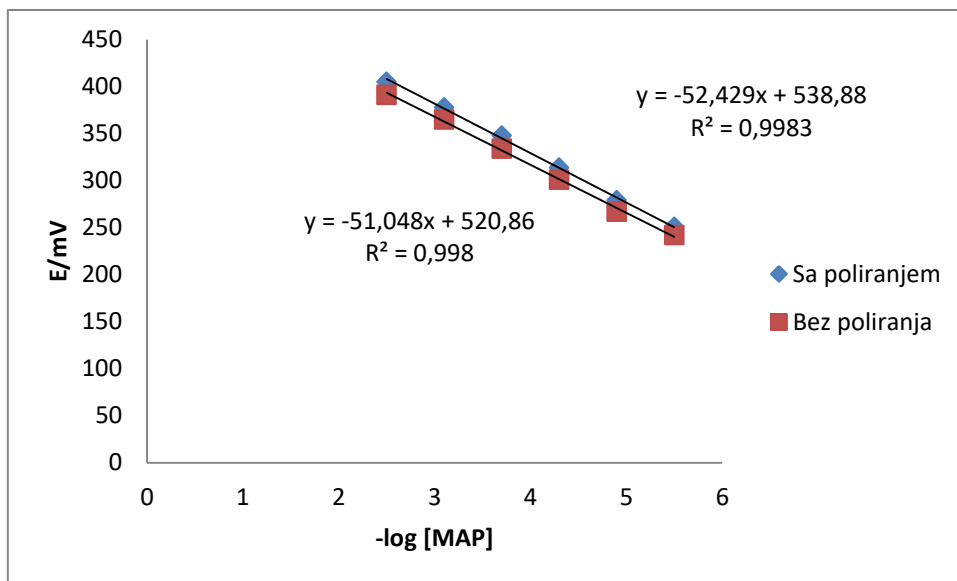
Slika 21. Ovisnost promjene potencijala elektrode 6 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprotilina u drugom danu mjerenja



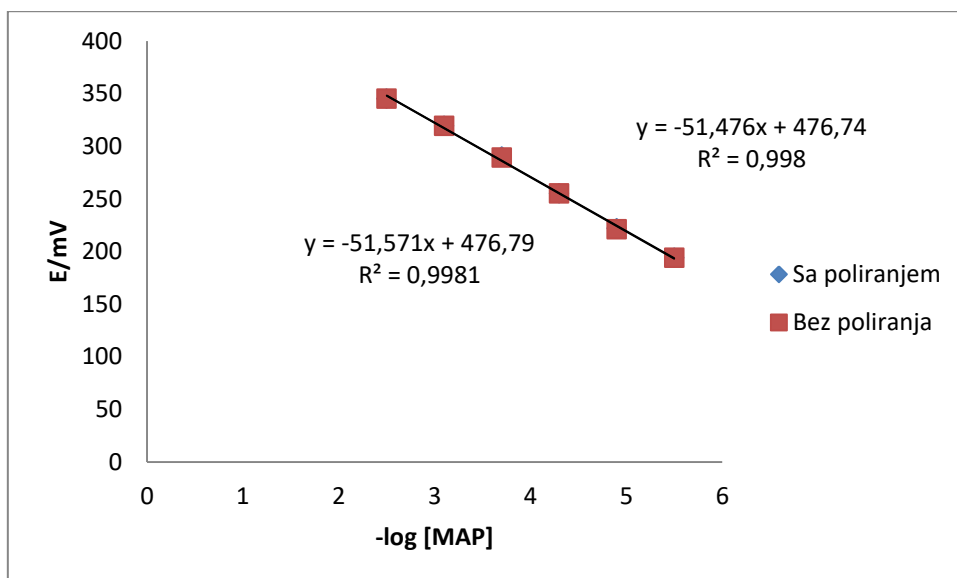
Slika 22. Ovisnost promjene potencijala elektrode 8 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprotilina u prvom danu mjerenja



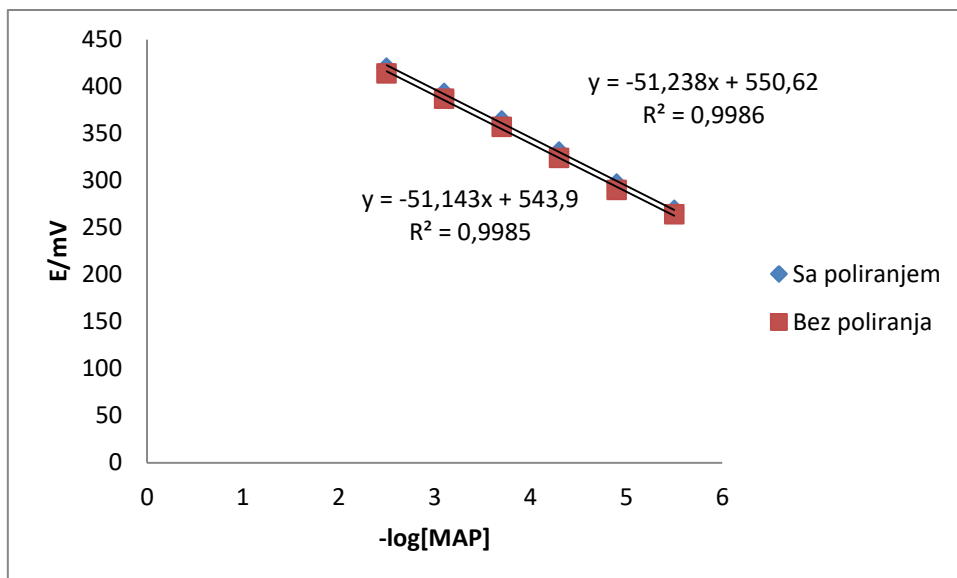
Slika 23. Ovisnost promjene potencijala elektrode 8 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprtilina u drugom danu mjerenja



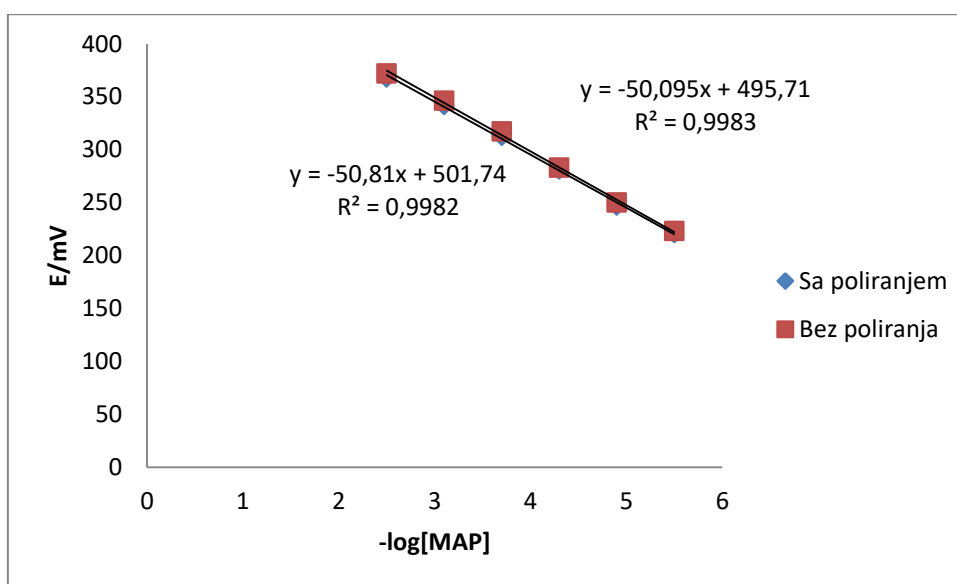
Slika 24. Ovisnost promjene potencijala elektrode 11 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprotilina u prvom danu mjerenja



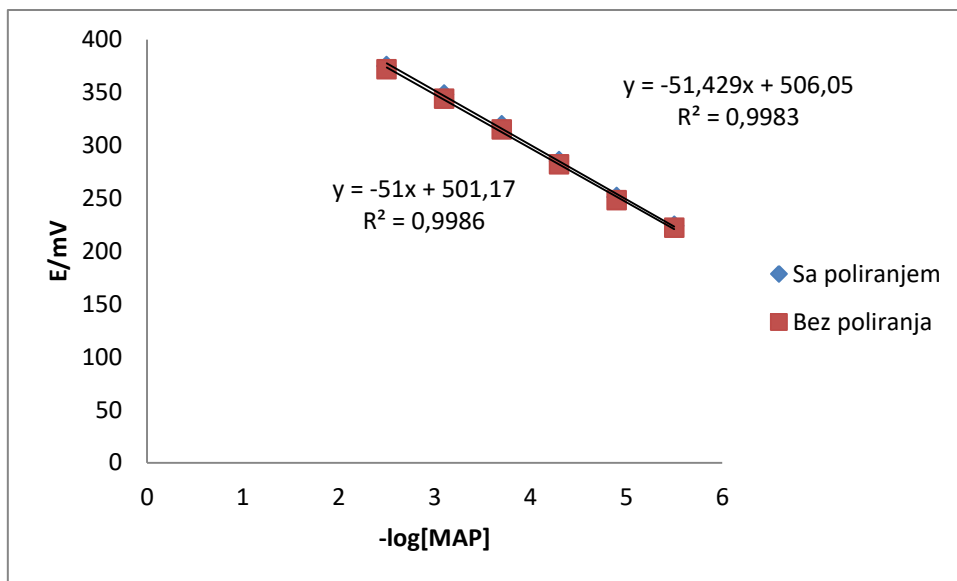
Slika 25. Ovisnost promjene potencijala elektrode 11 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprotilina u drugom danu mjerenja



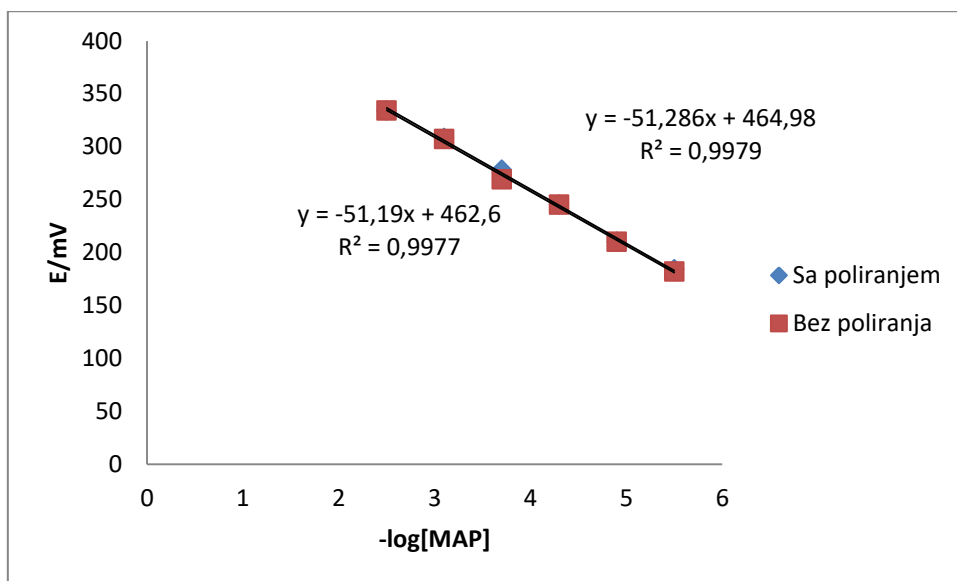
Slika 26. Ovisnost promjene potencijala elektrode 12 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprotlina u prvom danu mjerenja



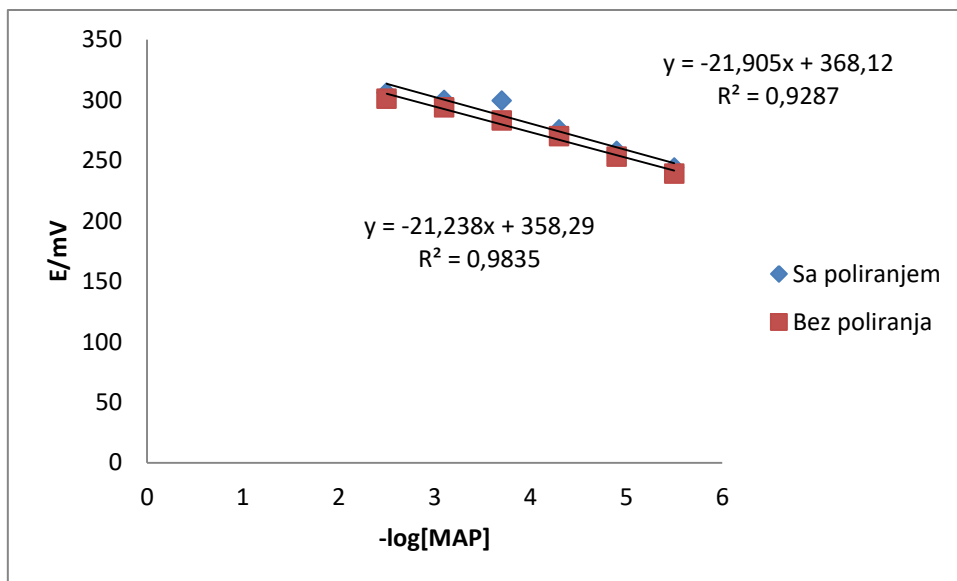
Slika 27. Ovisnost promjene potencijala elektrode 12 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprotlina u drugom danu mjerenja



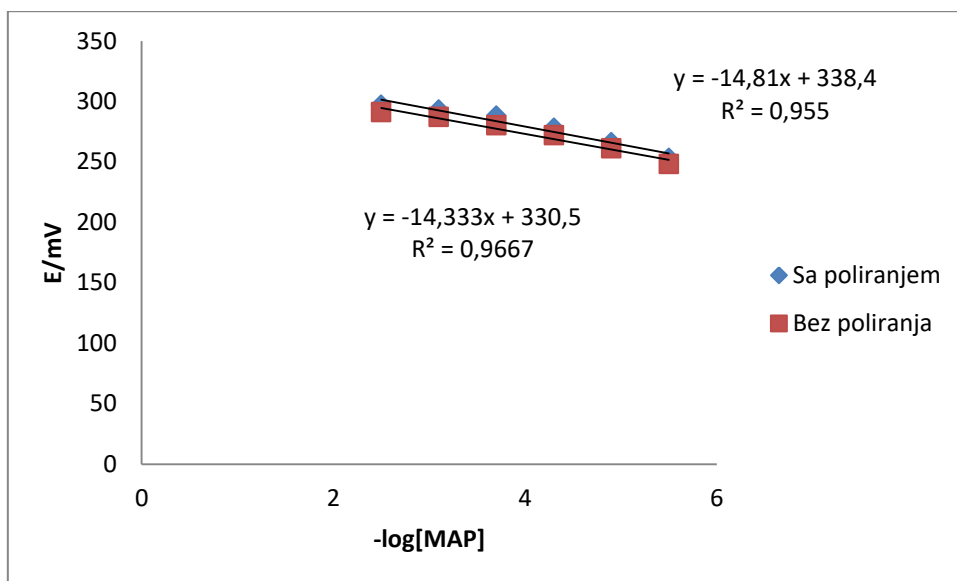
Slika 28. Ovisnost promjene potencijala elektrode 14 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprotilina u prvom danu mjerenja



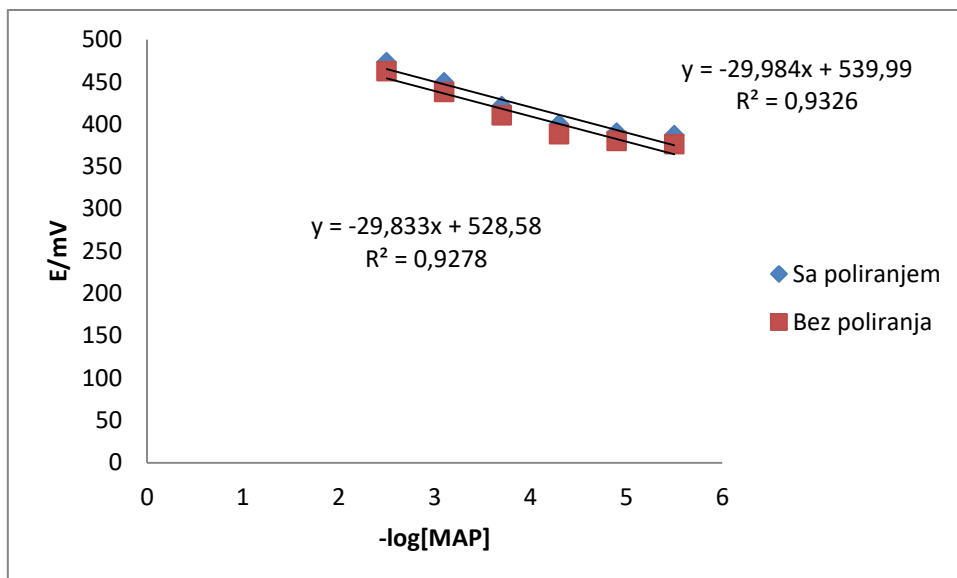
Slika 29. Ovisnost promjene potencijala elektrode 14 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprotilina u drugom danu mjerenja



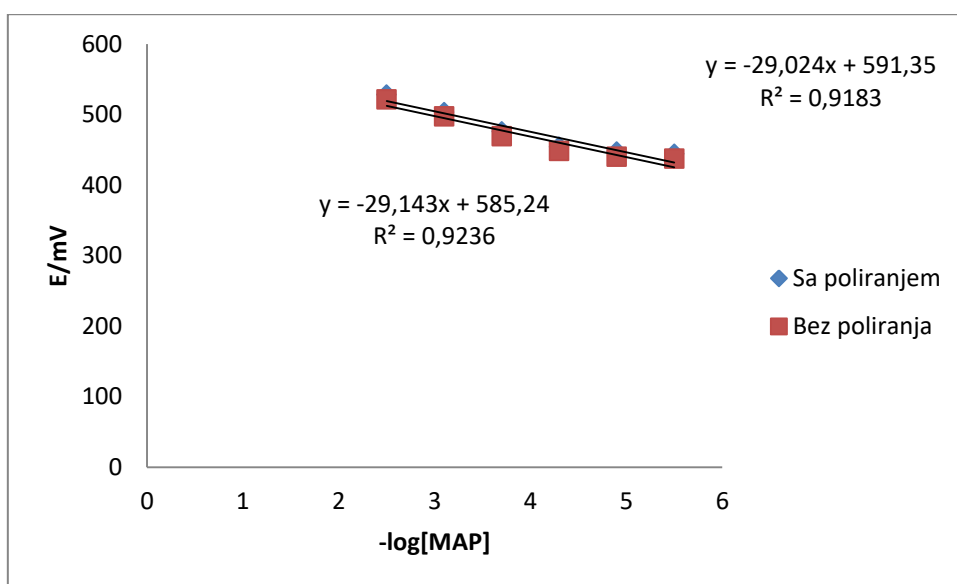
Slika 30. Ovisnost promjene potencijala elektrode 18 o negativnom logaritmu koncentracije maprotilina u prvom danu mjerenja



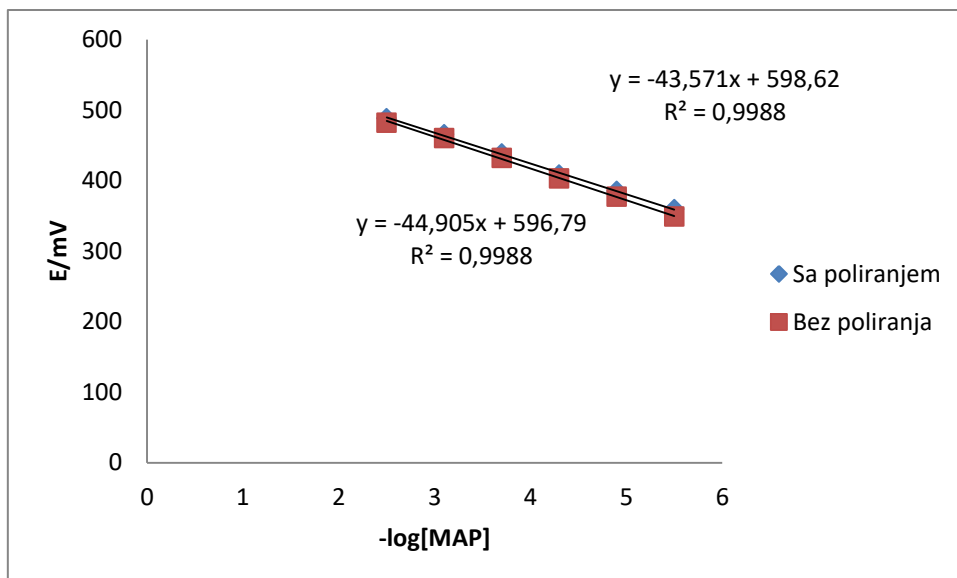
Slika 31. Ovisnost promjene potencijala elektrode 18 o negativnom logaritmu koncentracije maprotilina u drugom danu mjerenja



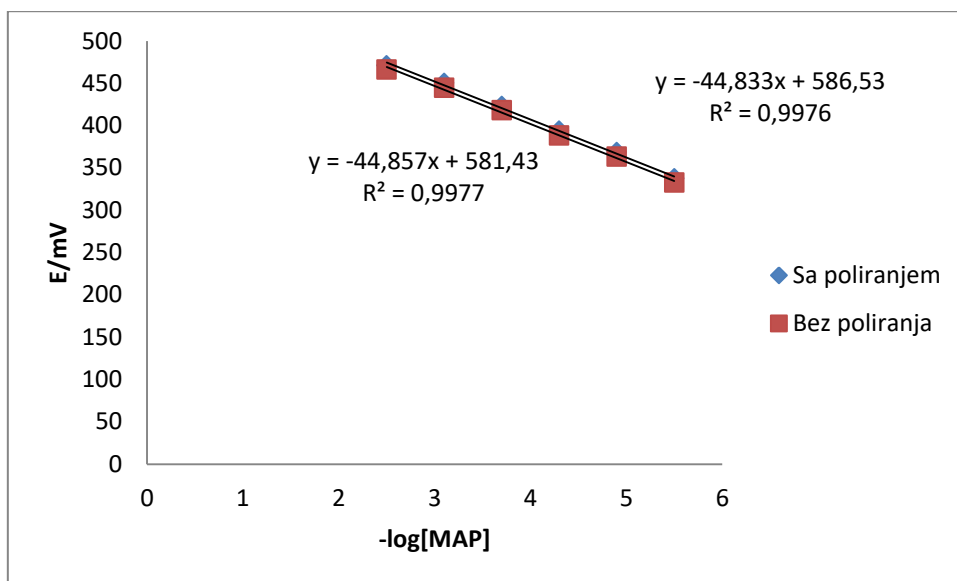
Slika 32. Ovisnost promjene potencijala elektrode 19 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprotilina u prvom danu mjerenja



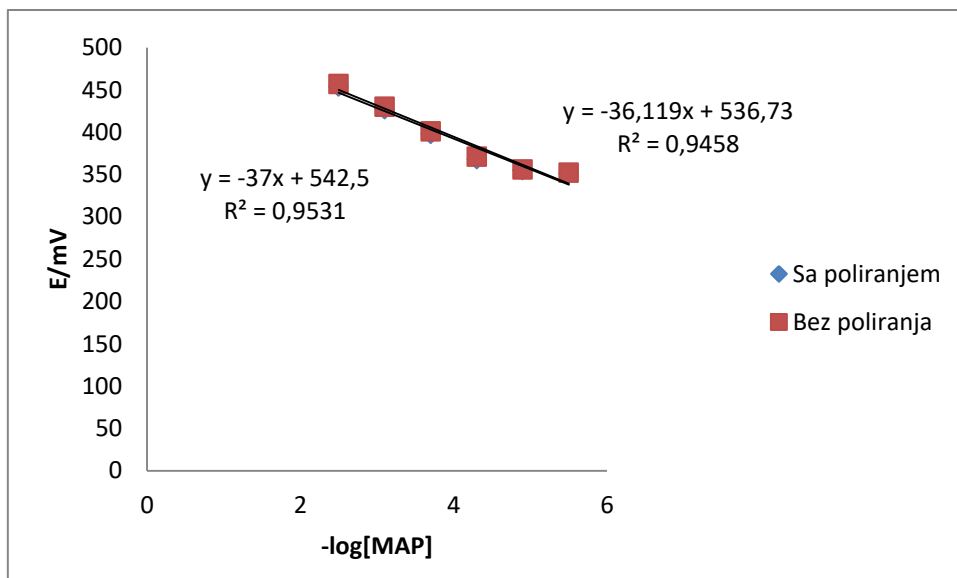
Slika 33. Ovisnost promjene potencijala elektrode 19 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprotilina u drugom danu mjerenja



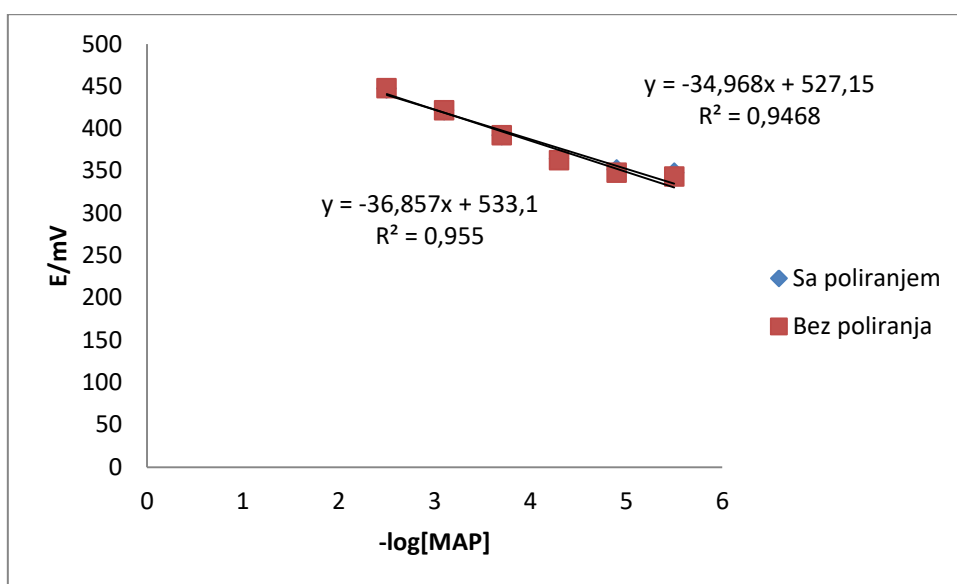
Slika 34. Ovisnost promjene potencijala elektrode 20 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprotilina u prvom danu mjerenja



Slika 35. Ovisnost promjene potencijala elektrode 20 o negativnom logaritmu koncentracije maprotilina u drugom danu mjerenja



Slika 36. Ovisnost promjene potencijala elektrode 21 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprotilina u prvom danu mjerenja



Slika 37. Ovisnost promjene potencijala elektrode 21 o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina maprotilina u drugom danu mjerenja

4. RASPRAVA

Potenciometrija s elektrodama na bazi ugljika se pokazala kao jedna od boljih metoda određivanja, a njena jednostavnost i niska cijena kao i niska granica detekcije te brzina dobivanja rezultata mjerenja omogućuju njenu široku primjenu u određivanju biološki aktivnih spojeva u raznim uzorcima. Jedan od nedostataka ovakvih elektroda bi mogla biti činjenica da se svaka elektroda mora zasebno kalibrirati zbog različitih svojstava ugljika od jedne do druge pripreve.

U eksperimentalnom radu je pripremljeno i testirano ukupno 25 membrana, korištena su 4 različita IAC-a, 2 veziva, te dodaci kao što su soli, ionofor i grafen. Samo je prva membrana pripremljena bez IAC-a da bi se vidjelo kakav odziv pokazuje (27-29 mV/dekadi). Sve membrane su testirane u području koncentracije od $3,16 \times 10^{-6}$ do $3,16 \times 10^{-3}$ pri pH=4. Na samom početku testiranja kao vezivo je uzet tris (2-etilheksil) fosfat.

Od druge do sedme paste sve su pripravljene od različitih omjera grafita, veziva i ionsko asocijacijskog kompleksa, u ovom slučaju to je MAP TPB. Kao najbolje membrane pokazale su se membrana 5 (slika 19. i 20.) s promjenom potencijala od 51,3 mV po koncentracijskoj dekadi kada je polirana i 51,8 mV/dekadi kada nije polirana kroz dva dana mjerenja uz faktor regresije od 0,998 i membrana 6 (slika 21. i 22.) sa sličnim vrijednostima nagiba i faktorom regresije. Može se primijetiti da su vrijednosti kada je elektroda polirana jako slične vrijednosima nepolirane elektrode.

Nakon membrane 6 pripravljena je nova pasta s većim udjelom IAC-a no to nije pokazalo neki veći pomak u vrijednosti nagiba, pa je za daljnu analizu uzet sastav tih dviju najboljih membrana i modificiran je dodacima.

Kao prvi dodatak uzeta je sol NaTPB (membrana 8) koja u teoriji povećava vrijednost nagiba što se i vidi na slici 23. i 24. Za tu membranu nagib je bio 80,57-84,33 mV kada je polirana i 72,14-78,14 mV/dekadi kada elektroda nije polirana, faktor regresije je 0,955-0,964. S obzirom na dobivene rezultate membrana takvog sastava smatra se najbolja od svih ostalih modificiranih membrana. Slijedeće je pripravljena membrana sličnih omjera membrani 8 ali je u novom sastavu umjesto soli NaTPB dodana sol TBATPB. Takva membrana nije pokazala zadovoljavajući potencijalni odziv (slika 25. i 26.) ako se usporedi s istom takvom membranom u kojoj nema soli.

Kao idući dodatak za modificiranje elektrode na bazi ugljika uzet je grafen koji također nije pokazao poboljšanje u vidu vrijednosti odziva s promjenom koncentracije. Pokušalo se poboljšati odziv i s većim udjelom grafena (membrana 13) no tu je uočeno smanjenje potencijala po koncentracijskoj dekadi.

Idući korak u pripravi senzora na bazi ugljika za određivanje maprotilina je dodatak ionofora 2-hidroksipropil- β -ciklodekstrin (membrana 14). S obzirom na rezultate koji su vidljivi na slici 29. i 30., dodatak ionofora nije poboljšao odzivne karakteristike elektrode. Od 15. do 18. membrane uzeti su isti sastavi kao kod prvih nekoliko membrana ali je kao vezivo korišten bis(2-etilheksil) adipat. Uočeno je da se nagib smanjio na vrijednosti oko 20 mV/dekadi.

Za usporedbu je napravljena membrana 18 istog sastava kao i membrana 6, ali je korišteno novo vezivo. Elektroda je pokazala odziv od 14-81- 21,90 mV/dekadi kada je polirana i 14,33-21,24 mV kada nije polirana, uz faktor regresije od 0,9287-0,966.

S obzirom da je uočeno da novo vezivo ne daje poboljšanje u vrijednosti odziva, nego ga štoviše smanjuje ako to uspoređujemo sa prvim vezivom, u daljnjem radu je kao vezivo uzet tris(2-etilheksil) fosfat.

Napravljeno je novo taloženje IAC-a i kao prvi talog je korišten MAP u kombinaciji sa Reinekeovom soli. Nova membrana (19) pripravljena je u istom omjeru kao i membrana 6 ali sa novim IAC-om. Takva membrana je pokazala odziv od 43,57-44,83 mV/dekadi kada je polirana i 29,14-29,83 mV/dekadi kada nije polirana, faktor regresije je bio 0,92-0,93. Kako rezultati nisu bili zadovoljavajući nastavljeno je daljnje istraživanje uz drugi IAC-a.

Pripremljena je membrana 20 istog sastava i omjera kao i prethodna, jedina je razlika u vrsti IAC-a. Sada je kao IAC korišten MAP PTA i promjena potencijala po koncentracijskoj dekadi imala je vrijednosti od 43,57-44,83mV kada je membrana polirana i 44,90mV kada je mjereno bez prethodnog poliranja membrane.

Kao slijedeći IAC testiran je talog nastao kombinacijom čistog maprotilina i hidrata molibdatofosforne kiseline. U tom slučaju nagib je izmjeren u vrijednosti od 34,97-36,12mV/dekadi odnosno 37-36,86mV/dekadi uz faktor regresije 0,955 (slika 37. i 38.).

Kao zadnje četiri membrane u eksperimentalnom radu testirane su one u istom sastavu kao membrane s novim vrstama ionsko-asocijacijskog kompleksa ali modificirane dodatkom soli.

Takve membrane nisu pokazale zadovoljavajuće odzivne karakteristike koje bi bile zanimljive za ovo istraživanje i sam rad.

Uspoređujući dobivene rezultate s podacima iz dostupne literature¹² može se zaključiti da su elektrode 5 i 6 kao najbolje u ovom eksperimentalnom radu pokazale manju promjenu potencijala po koncentracijskoj dekadi (51,3 mV odnosno 51,8 mV). Također literaturno je nađeno da je maprotilin određivan u području koncentracije od 1×10^{-2} M do 1×10^{-5} M dok je mogućnost određivanja maprotilina sa elektrodom u ovom radu u koncentracijskom području od $3,16 \times 10^{-6}$ M do $3,16 \times 10^{-3}$ M.

5. ZAKLJUČAK

Potencijometrija na bazi ugljikove paste je jeftinija, brža, selektivnija i jednostavnija od konvencionalnih metoda koje se koriste za određivanje biološki aktivnih spojeva. Iz tog razloga smatramo da će se u budućnosti sve više koristiti u elektrokemiji.

Membrana pripravljena bez dodatka IAC-a nije pokazala zaovoljavajuće odzivne karakteristike i nije pogodna za daljnje analitičko određivanje.

Stabilan potencijala svih membrana se uspostavlja nakon 1 minute.

Najbolje odzivne karakteristike su pokazale membrane s $\approx 6\%$ i $\approx 9\%$ ionsko asocijacijskog kompleksa s promjenom potencijala po koncentracijskoj dekadi od $\approx 52\text{mV}$ u području koncentracije od $3,16 \times 10^{-6}$ do $3,16 \times 10^{-3}$ pri $\text{pH}=4$.

Po dobivenim rezultatima u daljnjim istraživanjima ne bi trebalo raditi mjerenja i s i bez poliranja jer su vrijednosti nagiba jako slične. Isto tako dovoljno je odraditi tri mjerenja i uzeti srednju vrijednost od ta tri jer kao što se uočilo, rezultati unutar provedenih mjerenja su gotovo isti.

6. LITERATURA

1. URL: <https://urn.nsk.hr/wn:nbn:hr:139:911411> (pristupljeno 01.10.2021.)
2. *N.Đonlagić*, Elektroanalitičke metode, Tuzla
3. *S.V.Mapare, Pak-LamYu, A.Sarkar, S.C.Mukhopadhyay*, IEEE, (2014) str. 415
4. *S. Yu, F. Li, W.Qin*, Sensor.Actuat.B-Chem. 155 (2011) str.919
5. *R.Graovac*, Priprava i analitička primjena fosfat ionsko-selektivne elektrode, Diplomski rad, KTF, Split (2002)
6. *D.Carević*, PMF, Zagreb, Diplomski rad (1997.)
7. *A. Konjevoda*, Fosfat-ionske selektivne elektrode-pregledni rad, završni rad, KTF Split (2016.), str 5-6
8. *E.M.Enemchukwu*, Fabrication and use of new solid state phosphate ion selective lectrode for monitoring phoshorylation and dephosphorylation reactions, Doktorski rad, Sveučilište Južna Afrika (2012) str 64.
9. *I. Švancara, K. Kalcher, A.Walcarius, K. Vytras*, Electroanalysis with Crabon Paste Electrodes, CRC Press; 1st Edition (2012.) , str. 11-71
10. URL: <https://go-drugbank-com.translate.goog/drugs/DB00934? x tr sl=en& x tr tl=hr& x tr hl=hr& x tr pto=nui,sc> (pristupljeno 5.10.2021.)
11. *C.Onal, S.E.K.Tekkeli*, Stability-indicating ultra-fast liquid chromatographic analysis of maprotiline in pharmaceutical formulations, J. Chem. Metrology **1349** (2019), doi: 10.25135/jcm.27.19.07.1349
12. *I.Cavus , G.S.Kanberoglu*, Development of a potentiometric maprotiline-selective electrode and its application in pharmaceutical samples, Microchemical J. **148**, (2019), pages 57-65, doi: 10.1016/j.microc.2019.04.050
13. *J.Radić, M.Buljac, G.Bostjan, E.Gričar, M.Kolar*, A Novel Reduced Graphene Oxide Modified Carbon Paste Electrode for Potentiometric Determination of Trihexyphenidyl Hydrochloride in Pharmaceutical and Biological Matrices, Sensors, **21** (2021), doi: 10.3390/s21092955.

14. *F.M. Abdel-Haleem, S.Mahmoud, N.E.T. Abdel-Ghani, R.M.El Nashar, M.Bechelany, A.Barhoum*, Polyvinyl Chloride Modified Carbon Paste Electrodes for Sensitive Determination of Levofloxacin Drug in Serum, Urine, and Pharmaceutical Formulations, *Sensors* **21(9)**, (2021), doi: 10.3390/s21093150
15. *A.Dehnavi, A.Soleymanpour*, New chemically modified carbon paste sensor for nanomolar concentration measurement of rifampicin in biological and pharmaceutical media, *Mater. Sci and Eng.*, **94** (2018), doi: 10.1016/j.msec.2018.09.052
16. *Hussein M. Abdel-Fattah, Nahla B. Abdel-Moniem*, Chemically Modified Carbon Paste Sensors for Micro-Determination of Doxycycline Based on Heteropolyacids, : *Lit. J. Pharmaceutical Drug Delivery Technologies*, **02 (01)**, (2016), 13-21
17. *A.Tamaddon, A.Asghari*, Potentiometric Determination of Salbutamol using Carbon Paste Electrode Assisted with Multi-Walled Carbon Nanotubes, *Anal. Bioanal. Electrochem.*, **10(2)**, (2018), 230-238
18. *B.Hossein, J.Fahimeh*, Sensitive determination of paracetamol using a graphene-modified carbon- paste electrode, *Afr. J. Pharm. Pharmacol*, **6(17)**, 2012., 1298-1305, doi: 10.5897/AJPP12.212
19. *M.Fallah, M.Rahimnejad, M.Asgharyb, M.Mashkour*, An electrochemical sensor based on a carbon paste electrode for the determination of buserelin, *Anal. Meth*, **12(33)**, (2020), doi: 10.1039/c9ay01760g
20. *E. Eslami, F.Farjami*, Electrochemical Determination of Amitriptyline using a Nanocomposite Carbon Paste Electrode in Human Body Fluids, *J. Phy. Chem. Electrochem.*, **2(3)**, (2014), 111-117
21. URL: <https://glossary.periodni.com/rjecnik.php?hr=elektroda+prvog+reda> (pristupljeno 16.10.2021.)
22. URL: <https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=srebro%2Fsrebrov+klorid+elektroda> (pristupljeno 16.10.2021.)
23. <https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=ion+selektivne+elektrode> (pristupljeno 16.10.2021.)