

# Priprava senzora od ugljikove paste za određivanje acebutolola

---

**Radan, Anđela**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*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:167:579111>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-19**

*Repository / Repozitorij:*

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



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**PRIPRAVA SENZORA OD UGLJIKOVE PASTE ZA**  
**ODREĐIVANJE ACEBUTOLOLA**

**DIPLOMSKI RAD**

**ANĐELA RADAN**

**Matični broj: 148**

**Split, srpanj 2022.**



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**PRIPRAVA SENZORA OD UGLJIKOVE PASTE ZA**  
**ODREĐIVANJE ACEBUTOLOLA**

**DIPLOMSKI RAD**

**ANĐELA RADAN**

**Matični broj: 148**

**Split, srpanj 2022.**

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

**PREPARATION OF CARBON PASTE SENSOR FOR**  
**ACEBUTOLOLO DETERMINATION**

**GRADUATE THESIS**

**ANĐELA RADAN**

**Parent number: 148**

**Split, july 2022.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu

Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu

Diplomski studij Kemije

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Kemija

Tema rada: je prihvaćena na 25. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta

Mentor: prof. dr. sc. Marija Bralić

Neposredni voditelj: dr. sc. Josip Radić, asistent

### PRIPRAVA SENZORA OD UGLJIKOVE PASTE ZA ODREĐIVANJE ACEBUTOLOLA

ANĐELA RADAN 148

**Sažetak:** Pripravljena je i opisana ion-selektivna elektroda na bazi ugljikove paste za acebutolol, kardiovaskularni lijek koji spada u skupinu beta-blokatora.

Modificirana CPE temelji se na ugljikovoj pasti i ionsko-asocijacijskim kompleksima koji sadrže acebutolol i razna veziva.

Ukupan broj pripremljenih i testiranih membrana s različitim udjelima ugljika, veziva i IAC-a je 20. Najbolje odzivne karakteristike pokazala je membrana 17 koja sadrži 52,3% grafita, 44,00% veziva, 2,80% IAC-a i 0,90% NaTPB. Tako modificirana elektroda pokazala je Nernstov nagib od -52,8 mV po koncentracijskog dekadi u području linearnosti od  $3,16 \cdot 10^{-6}$  do  $3,16 \cdot 10^{-3}$  M. Vrijeme potrebno za uspostavu stabilnog odziva je oko 1 minute. Ovako pripremljeni senzor moguće je primijeniti za određivanje acebutolola u biološkim uzorcima.

**Ključne riječi:** elektroda na bazi ugljikove paste, acebutolol, IAC

**Rad sadrži:** 59 stranica, 19 slika, 21 tablica, 10 grafova, 34 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Sastav povjerenstva za obranu:**

1. Prof. dr. sc. Marija Bralić
2. Prof. dr. sc. Josipa Giljanović
3. Izv. prof. dr. sc. Ante Prkić

**Datum obrane:**

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

## BASIC DOCUMENTATION CARD

## GRADUATE THESIS

**University of Split**

**Faculty of Chemistry and Technology Split**

**Graduate study of Chemistry :**

**Scientific area:** Natural sciences

**Scientific field:** Chemistry

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

**Mentor:** Full professor PhD. Marija Bralić,

**Immediate supervisor:** PhD. Josip Radić, assistant

### PREPARATION OF CARBON PASTE SENSOR FOR ACEBUTOLOL DETERMINATION

ANDELA RADAN 148

**Abstract:** : An ion-selective electrode based on carbon paste for acebutolol, a cardiovascular drug from the family of beta blockers, determination was prepared and described.

The modified CPE is based on carbon paste and ion association complexes which contain acebutolol dissolved in various bonding fluids.

The total number of prepared and tested membranes with different proportions of carbon, bonding fluids and IAC is 20. The best response characteristics were shown by membrane 17 containing 52.3% graphite, 44.00% bonding fluid, 2.80% IAC and 0.90% NaTPB. The electrode thus modified showed a Nernst slope of -52.80 meV per concentration decade in the linearity range of  $3.16 \cdot 10^{-6}$  to  $3.16 \cdot 10^{-3}$  M. The time required to establish a stable response is about 1 minute. The sensor prepared in this way can be used to determine acebutolol in biological samples.

**Keywords:** carbon paste electrode (CPE), acebutolol, IAC

**Thesis contains:** 59 pages, 19 figures, 21 table, 10 charts, 34 references

**Original in:** Croatian

**Defence committee:**

1. Ful prof. PhD Marija Bralić
2. Ful prof. PhD Josipa Giljanović
3. PhD, associate prof. Ante Prkić

**Defence date:**

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of Faculty of Chemistry and Technology in 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 i neposrednim voditeljstvom dr.sc. Josipa Radića, u razdoblju od travnja do srpnja 2022.godine.*



*Želim se zahvaliti mentorici prof. dr. sc. Mariji Bralić na pomoći i savjetima prilikom pisanja rada. Također, zahvaljujem dr. sc. Josipu Radiću na savjetima, susretljivosti, razumijevanju, strpljenju i uloženom vremenu prilikom izrade eksperimentalnog dijela diplomskog rada.*

*Hvala kolegicama koje su sa mnom izvodile eksperimentalni dio diplomskog rada i na njihovoj pomoći u izvođenju istoga.*

*Zahvaljujem i svojoj obitelji na podršci, posebice bratu Sandru koji me vodio kroz proces samog pisanja i dotjerivanja rada.*

## **ZADATAK DIPLOMSKOG RADA:**

1. Priprava ion-selektivne elektrode na bazi grafita za određivanje ionsko-asocijacijskih kompleksa na bazi acebutolola.
2. Ispitati odzivne karakteristike pripremljenih membrana.

## Sažetak

Pripravljena je i opisana ion-selektivna elektroda na bazi ugljikove paste za acebutolol, kardiovaskularni lijek koji spada u skupinu beta-blokatora.

Modificirana CPE temelji se na ugljikovoj pasti i ionsko-asocijacijskim kompleksima koji sadrže acebutolol i razna veziva.

Ukupan broj pripremljenih i testiranih membrana s različitim udjelima ugljika, veziva i IAC-a je 20. Najbolje odzivne karakteristike pokazala je membrana 17 koja sadrži 52,3% grafita, 44,00% veziva, 2,80% IAC-a i 0,90% NaTPB. Tako modificirana elektroda pokazala je Nernstov nagib od -52,8 mV po koncentracijskog dekadi u području linearnosti od  $3,16 \cdot 10^{-6}$  do  $3,16 \cdot 10^{-3}$  M . Vrijeme potrebno za uspostavu stabilnog odziva je oko 1 minute. Ovako pripremljeni senzor moguće je primijeniti za određivanje acebutolola u biološkim uzorcima.

**Ključne riječi:** elektroda na bazi ugljikove paste, acebutolol, IAC

## Summary

An ion-selective electrode based on carbon paste for acebutolol, a cardiovascular drug from the family of beta blockers, determination was prepared and described.

The modified CPE is based on carbon paste and ion association complexes which contain acebutolol dissolved in various bonding fluids.

The total number of prepared and tested membranes with different proportions of carbon, bonding fluids and IAC is 20. The best response characteristics were shown by membrane 17 containing 52.3% graphite, 44.00% bonding fluid, 2.80% IAC and 0.90% NaTPB. The electrode thus modified showed a Nernst slope of -52.80 meV per concentration decade in the linearity range of  $3.16 \cdot 10^{-6}$  to  $3.16 \cdot 10^{-3}$  M. The time required to establish a stable response is about 1 minute. The sensor prepared in this way can be used to determine acebutolol in biological samples.

**Keywords:** carbon paste electrode (CPE), acebutolol, IAC

# Sadržaj

1. Uvod .....	1
2. Opći dio .....	2
2.1. Potencimetrija .....	2
2.2. Elektrode.....	4
2.2.1. Indikatorske elektrode.....	4
2.3. Ion-selektivne elektrode (ISE).....	8
2.3.1. Elektrode s kristalnom membranom.....	9
2.3.2. Elektrode s nekristalnom membranom.....	10
2.3.3. Specijalne ion-selektivne elektrode.....	11
2.4. Elektrode na bazi ugljika .....	12
2.4.1. Grafit.....	14
2.4.2. Tekućine za lijepljenje/veziva .....	17
2.4.3. Sol (Na-TPB).....	18
2.4.4. Uporaba na farmaceuticima – pregled literature .....	19
2.5. Acebutolol .....	21
3. Metodika .....	24
3.1. Priprava otopina .....	24
3.1.1. Priprava ionsko-asocijacijskog kompleksa (IAC).....	24
3.1.2. Priprema pufera .....	25
3.1.3. Priprema standarda acebutolola .....	26
3.2. Miješanje i priprema membrana.....	27
4. Rezultati .....	32
5. Rasprava .....	57
6. Zaključak.....	60
7. Literatura.....	61

## 1. Uvod

Ion-selektivne elektrode (ISE) su elektrokemijski senzori koji omogućavaju potenciometrijsko određivanje površinski aktivnih tvari. Osjetni element većine ion-selektivnih elektroda je homogena ion-selektivna membrana, no može biti i heterogena ion-selektivna membrana. Heterogena membrana se sastoji od elektroaktivne vrste i inertnog veziva.

Postoje i univerzalne ion-selektivne elektrode krutog stanja koje, za razliku od membranske ion-selektivne elektrode, sadrže samo površinski sloj aktivne vrste utrljane u zbitvenu pastu grafita i hidrofobnog materijala.<sup>[1]</sup>

Uz to što je jednostavna metoda, potenciometrijsko određivanje osnovano na ion-selektivnim elektrodama (ISE) ima nekoliko prednosti, na primjer metoda je brza, jednostavan je način pripreme, nedestruktivna je metoda, potrebna je jednostavna aparatura, nema kontaminacije... Uz sve to ima i jako široko dinamičko područje ( $1 \cdot 10^{-1}$  do  $1 \cdot 10^{-6}$  mol/dm<sup>3</sup>) i visoku selektivnost.<sup>[2]</sup>

Nijedna ion-selektivna elektroda čvrstog stanja nije bila dovoljno dobra za određivanje sulfata ( $SO_4^{2-}$ ). Utvrđeno je da signale nekih elektroda uvelike ometaju drugi anioni ( $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$ ,  $ClO_4^-$ ,  $SCN^-$ ).<sup>[3]</sup>

## 2. Opći dio

### 2.1. Potenciometrija

Signal elektrokemijskog senzora potječe od odziva prisutnog analita. U elektrokemijske metode određivanja koncentracije analita spadaju potenciometrija, konduktometrija, amperometrija i voltmetrija, kulometrija i mjerenje električnog kapaciteta.

Elektrokemijske metode se mogu podijeliti u dvije glavne skupine: međufazne i nemeđufazne metode.

Nemeđufazne metode se zasnivaju na ćelijama poznate veličine s dvjema elektrodama koje mjere električnu provodljivost cijele otopine. Međufazne metode daju odziv kada dođu u direktan ili indirektan kontakt s analitom.

Potenciometrija je statična međufazna metoda. U potenciometriji se koristi pH-metar koji sadrži staklenu membransku elektrodu kao indikatorsku elektrodu.

Odziv se javlja zbog razlike u potencijalu ( $V$ ) između dva kraja membrane i pretvara se u pH ljestvicu na osnovu Nernstove jednačbe.<sup>[4]</sup>

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[RED]}{[OKS]}$$

(1)

Gdje je:

- $E$  – potencijal članka,
- $E^0$  – standardni potencijal polureakcije,
- $R = 8,314 \text{ J/Kmol}$  – plinska konstanta,
- $T$  – temperatura,
- $n$  – broj elektrona koji sudjeluju u polureakciji,
- $F = 96\,485,3321 \text{ A/mol}$  – Faradayeva konstanta,
- $[RED]$  – aktivitet reduciranog dijela,
- $[OKS]$  – aktivitet oksidiranog dijela.

Dvije elektrode su uronjene u različite otopine da bi se spriječilo njihovo miješanje, no povezane su elektrolitnim mostom, koji provodi elektricitet iz jedne otopine u drugu. Općeniti članak se može prikazati kao:

*referentna elektroda | elektrolitni most | otopina analita | indikatorska elektroda*

Potencijal elektrokemijske ćelije je:

$$E_{\text{ćelije}} = E_{\text{ind}} - E_{\text{ref}} + E_{\text{pren}}$$

(2)

Gdje je:

- $E_{\text{ćelije}}$  – potencijal elektrokemijske ćelije,
- $E_{\text{ind}}$  – potencijal indikatorske elektrode,
- $E_{\text{ref}}$  – potencijal referentne elektrode,
- $E_{\text{pren}}$  – prenapon.

Potenciometrijski senzor je u usporedbi s ostalim tehnikama jako selektivan, visoke osjetljivosti, točan i dostupan analitički instrument. Potenciometrijski senzori su primjenjivi za točno određivanje farmaceutika i bioloških uzoraka. Stoga je potenciometrija jako dobra alternativna tehnika za određivanje lijekova.<sup>[5]</sup>

Potenciometrija je tehnika korištena u analitičkoj kemiji, uglavnom za određivanje koncentracije analita u otopini. U toj tehnici mjeri se potencijal između dvije elektrode koristeći voltmetar visoke otpornosti. Koristeći takav voltmetar se osigurava da je tok električne struje neznan, stoga je takav sustav u ravnoteži.<sup>[6]</sup>

Elektrokemijskim metodama se mogu precizno odrediti organske molekule, kao što su to lijekovi i ostale slične molekule i neke biološke tekućine te njihovo oksidacijsko stanje.<sup>[7]</sup>

Inovativne paste s grafitom su obnovljive, imaju stabilan odziv, mal ohmski otpor i ne zahtijevaju unutarnju otopinu. Senzori s grafitnim pastama se mogu jako lako modificirati te su jako svestrane, manjim modifikacijama se može uvelike poboljšati odziv samog senzora.<sup>[8]</sup> Takve elektrode su uglavnom napravljene od grafitnog praha i veziva koje je većinom mineralno ulje, te modificirajuće jedinice koja je specifična za svaki tip analita. Ta modificirajuća jedinica povećava selektivnost samog senzora te mu smanjuje vrijeme odziva. Također su netoksični i sigurni za okoliš. Uz potenciometriju mogu se koristiti i u amperometriji i voltmetriji.<sup>[9]</sup> Ugljikove paste se mogu modificirati i raznim



nanomaterijalima koji povećavaju osjetljivost elektrode povećanjem kontaktne površine i brzim prijenosom signala što je posljedica poboljšane kinetike prijenosa elektrona.<sup>[10]</sup>

## **2.2. Elektrode**

Elektrode su materijali koji provode elektrone i prenosu ih na drugo tijelo. S obzirom da se prijenos elektrona može događati ili s elektrode na otopinu ili obrnuto, one se mogu podijeliti u dvije glavne podskupine, a to su: katode i anode. Katode prenose negativni naboj (elektrone) u otopinu (elektron donor), a anoda prenosi pozitivan naboj (elektron akceptor). One se koriste u mnogim područjima kao što su biologija, kemija, medicina itd.

Elektrokemijske ćelije su zasnovane na redoks reakcijama. Kemijska energija se pretvara u električnu energiju. Na anodnoj strani, gdje se događa oksidacija, elektroni se ispuštaju iz aktivnog materijala povećavajući mu oksidacijsko stanje. Na katodnoj strani, gdje se događa redukcija, aktivni materijal prihvaća elektrone smanjujući mu oksidacijsko stanje.<sup>[11]</sup>

### **2.2.1. Indikatorske elektrode**

Idealna indikatorska elektroda daje jako brzi i reproducibilni signal na promjenu koncentracije analita iona. Iako nijedna indikatorska elektroda nije potpuno specifična u svom odzivu. Dijele se u tri podskupine:

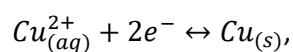
- metalne (kovinske),
- membranske,
- ion-osjetljivi tranzistori efekta polja.

#### **2.2.1.1. Metalne elektrode**

Metalne elektrode se dalje mogu podijeliti u elektrode prvog (I) reda, elektrode drugog (II) reda, elektrode trećeg (III) reda i inertne redoks elektrode.

##### **2.2.1.1.1. Elektrode (I) reda**

Elektroda prvog reda je čista metalna elektroda koja je u ravnoteži s svojim kationom u otopini. Prisutna je samo jedna reakcija, npr.:



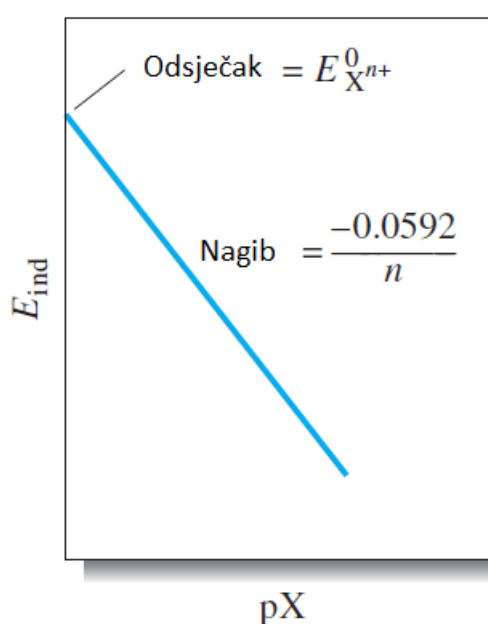
(3)

za koji je Nernstova jednažba:

$$E_{ind} = E_{Cu}^0 + \frac{0,0592}{2} \log a_{\text{Cu}^{2+}} = E_{Cu}^0 - \frac{0,0592}{2} p\text{Cu},$$

(4)

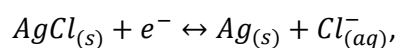
a općeniti prikaz Nernstove jednažbe je na grafu 1.



Graf 1. Grafički prikaz općenite Nernstove jednažbe za elektrodu (I) reda<sup>[11]</sup>

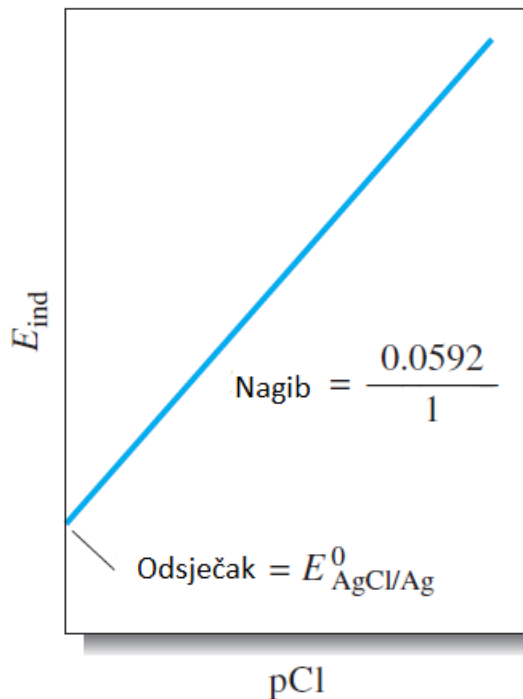
### 2.2.1.1.2. Elektrode (II) reda

Metali se mogu koristiti kao indikatorske elektrode koje daju odziv na lako topljive taloge i komplekse tog metala, npr.



(5)

za koju je Nernstova jednažba prikazana na grafu 2.



Graf 2. Grafički prikaz Nernstove jednadžbe za elektrodu (II) reda<sup>[11]</sup>

### 2.2.1.1.3. Elektrode (III) reda

Elektrode trećeg reda jesu metalne elektrode kojima je elektrodni potencijal funkcija koncentracije nekog drugog kationa, ali ne kationa metala od kojeg je elektroda načinjena. U ovom slučaju metal je u kontaktu s dvije teško topljive soli (jedna ima kation metala elektrode, a druga ima kation kojemu trebamo odrediti koncentraciju, a obje soli imaju isti anion) uronjene u otopinu soli drugog metala.



### 2.2.1.1.4. Inertne redoks elektrode

Nekoliko relativno inertnih vodiča imaju odziv na redoks reakcije. Tako se paladij, platina, zlato i ugljik mogu koristiti za praćenje redoks sustava.

### **2.2.1.2. Membranske elektrode**

Najčešća metoda za određivanje pH je mjerenje potencijala koji se javlja duž tanke staklene membrane koja razdvaja dvije otopine s različitim koncentracijama  $H^+$  iona. Po uzoru na to razvijene su i druge vrste membrana koje pružaju selektivan odziv na mnoge druge ione.

Membranske elektrode se ponekad nazivaju *p-ion elektrode* jer se dobiveni rezultati prikazuju kao p-funkcije, npr. pH, pCa, pNO<sub>3</sub>.

Membranske elektrode se dijele na:

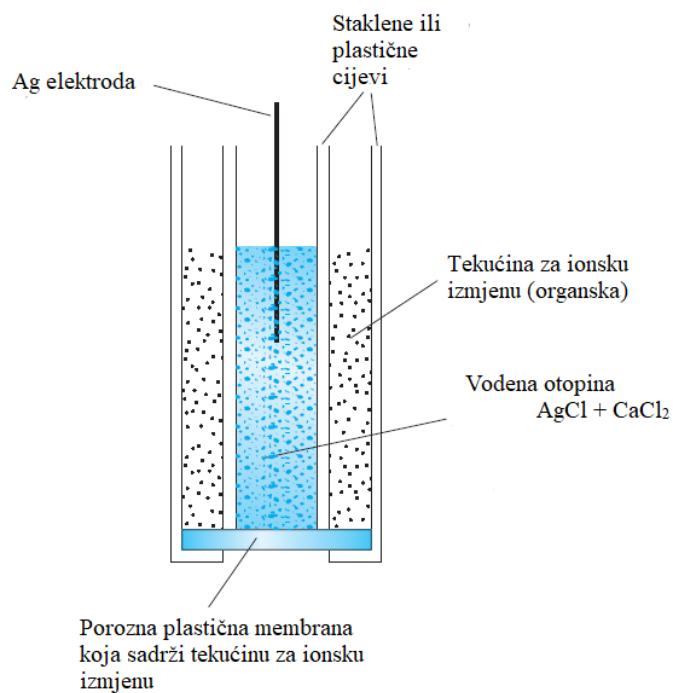
- staklene elektrode,
- taložne elektrode,
- tekućinske membranske elektrode,
- enzimske i plin osjetljive elektrode.

#### **2.2.1.2.1. Staklene elektrode**

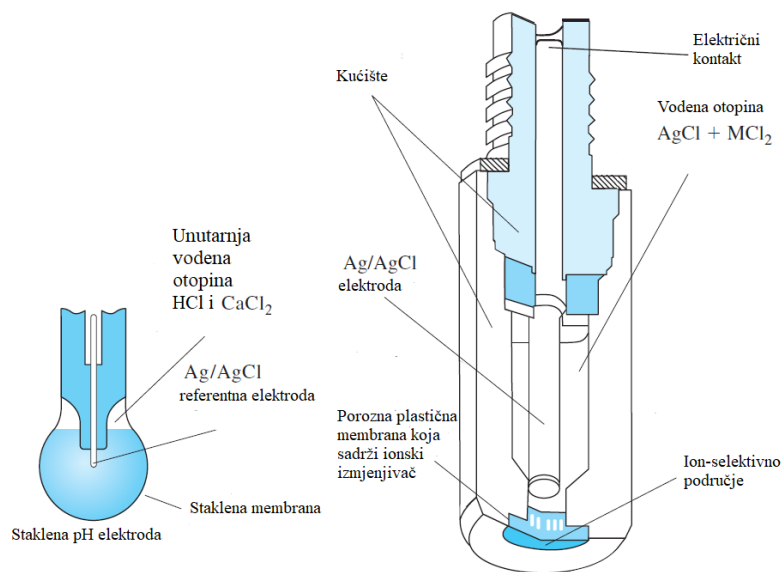
Staklene elektrode su se uglavnom koristile za određivanje pH. U daljnim istraživanjima se došlo do otkrivanja različitih kompozicija stakla koje mogu služiti za određivanje raznih kationa. Uklapanjem Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ili B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> u staklo ima poželjan efekt. Takvim staklenim elektrodama se mogu određivati kationske vrste kao što su: Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Rb<sup>+</sup>, Cs<sup>+</sup>, Li<sup>+</sup> i Ag<sup>+</sup>.

#### **2.2.1.2.2. Tekućinske membranske elektrode**

Potencijal tekućinske membranske elektrode se razvija duž dodirne površine između otopine koja sadrži analit i tekućine za ionsku izmjenu koja se selektivno veže za ion analita. Takve elektrode su razvijene za izravno potenciometrijsko mjerenje brojnih polivalentnih kationa kao i nekih aniona.<sup>[11]</sup>



Slika 1. Tekućinska membranska elektroda za određivanje kalcijevog ( $\text{II}$ ) kationa<sup>[11]</sup>



Slika 2. Usporedba staklene pH elektrode i tekućinske membranske elektrode<sup>[11]</sup>

### 2.3. Ion-selektivne elektrode (ISE)

Ion-selektivna elektroda se definira kao elektroanalitički senzor s membranom čiji potencijal prikazuje aktivnost iona koji se određuje. Membrane ISE su sačinjene od tekućih

elektrolitnih otopina ili od čvrstih ili staklenih elektrolita koje imaju dovoljnu provodnost elektrona u uvjetima na kojima se izvodi mjerenje. ISE imaju brojne prednosti kao što su:

- ne utječu na ispitivane otopine,
- prenosive su,
- pogodne su za izravno određivanje i kao senzor titracije,
- isplative su.

U potenciometriji se linijski dijagram ISE elektrode može prikazati kao:

*referentna elektroda 1 | otopina 1 | membrana | otopina 2 | referentna elektroda 2*<sup>[12]</sup>

### **2.3.1. Elektrode s kristalnom membranom**

Mnoga istraživanja su se posvetila razvijanju krute membrane koja je selektivna za anione u istoj mjeri kao i staklena membrana za katione.

Ove elektrode posjeduju membranu koja sadrži teško topljivu sol metala kao aktivnu komponentu. Selektivnost ovih membrana ovisi o konstanti produkta topljivosti teško topljivih soli. Selektivne su za one ione koji su sadržani u membrani kao i za one s kojima ioni iz membrane grade teško topljive soli ili komplekse.

Membrane pripravljene od lijevanih peleta srebrovih halogenida se mogu uspješno koristiti u selektivnom određivanju klorida, bromida i jodida. Uz te elektrode postoji i jedna koja je selektivna za određivanje sulfidnih iona zasnovana na polikristalu  $\text{Ag}_2\text{S}$ . Kod oba tipa membrana srebrovi ioni srebra su dovoljno mobilni da bi provodili električnu struju kroz kruti medij. Mješavine  $\text{PbS}$ ,  $\text{CdS}$  i  $\text{CuS}$  s  $\text{Ag}_2\text{S}$  stvaraju membrane koje su selektivne za određivanje  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  i  $\text{Cu}^{2+}$ .

Elektrode s kristalnom membranom se mogu podijeliti u elektrode s homogenom membranom i elektrode s heterogenom membranom.<sup>[11]</sup>

#### **2.3.1.1. Homogene membrane**

Homogene membrane su sačinjene od jedne vrste kristala, ali njihova osjetljivost na svjetlost uzrokuje promjene u  $E_{\text{ISE}}$ . Naprekađ u svojstvima, kao što je smanjena osjetljivost na svjetlost i povećanje područja osjetljivosti, se postiže upotrebljavajući prešanih mješavina srebrovih halogenida i  $\text{Ag}_2\text{S}$ , taj postupak ih čini mnogo manje topljivima.<sup>[12]</sup>

Zbog velike pokretljivosti  $\text{Ag}^+$  iona u membranama od Ag-soli električni kontakt s unutarnjom stranom membrane može se ostvariti preko metalnog vodiča. Površina elektrode je selektivna i na druge molekulske vrste koji s ionima membrane tvore teško topljive soli ili stabilne topljive komplekse.<sup>[11]</sup>

### **2.3.1.2. Heterogene membrane**

Kod heterogene membrane se koristi inertno vezivo da bi se oblikovala membrana koja pruža određena mehanička svojstva. Iako je glavna uloga veziva pružanje inertnog kalupa za ugrađivanje aktivnog materijala, njegova svojstva su također jako važna. Prvenstveno moraju biti kemijski inertna i pružati određena adhezivna svojstva s česticama. Neka od veziva mogu biti parafinsko ulje, vosak, PVC, polietilen, silikonska guma itd. Silikonska guma ima idealna hidrofobna svojstva te ima odličnu fleksibilnost i otpornost na pucanje i bubrenje u vodenim otopinama.

Električni kontakt se ostvaruje kao i kod homogenih čvrstih membrana, preko unutrašnje elektrolitne otopine i unutrašnje referentne elektrode.<sup>[13]</sup>

### **2.3.2. Elektrode s nekristalnom membranom**

Elektrode s nekristalnom membranom se još nazivaju i elektrode s polimernom membranom. Napravljene su od posebnih organskih polimernih membrana koje mogu sadržavati razne ionofore za izmjenu iona.

Inaktivni nosač membrane može biti neporozan (npr. PVC, staklo) ili porozan (npr. mikroporozni filter).

Najčešće se koriste kod elektrode za određivanje kalija, kalcija i nitrata.<sup>[11], [14]</sup>

#### **2.3.2.1. Elektrode sa staklenom membranom**

Ove elektrode su najpoznatije i najkorištenije membranske elektrode.

Elektrode sa staklenom membranom su napravljene od specijalnog stakla koje provodi ione. Mjenjajući mu sastav dolazi do povećanja selektivnosti, kemijske otpornosti itd. Najučestalija elektroda sa staklenom membranom je pH elektroda.

Rad se zasniva na promjeni potencijala između dviju otopina koje su razdvojene tankom staklenom membranom. Ta razlika potencijala proizlazi zbog razlike aktiviteta (koncentracije)  $H^+$  iona u otopinama.

Unutrašnjost membrane je ispunjena otopinom elektrolita u kojoj se nalazi referentna elektroda (najčešće Ag/AgCl).

Aktivitet  $H^+$  iona u unutrašnjosti otopine je stalan. Staklo se protonira ili deprotonira kada dođe do promjene aktiviteta vodikovih iona na vanjskoj strani staklene membrane.

Imaju široko područje korištenja. Mogu se koristiti u analizi okoliša (gdje se koriste za određivanje koncentracije fluorida i ostalih halogenih elemenata, nitrata, cijanide i sulfida), u metalurgiji, geologiji, analizi hrane i medicini.<sup>[11]</sup>

### **2.3.2.2. Elektrode s mobilnim prenosiocem**

Elektrode s mobilnim prenosiocem se nazivaju još i elektrode s tekućom membranom. Dije se u tri podskupine

- membrane koje sadrže otopljene pozitivno nabijene mobilne prenosiocce kao aktivnu tvar membrane, te reagiraju na promjenu aktiviteta aniona. Mobilni prenosioc može biti npr. kvarterna amonijeva sol
- membrane koje sadrže otopljene (organsko otapalo) negativno nabijene mobilne prenosiocce kao aktivnu tvar membrane, te su osjetljive na promjene aktiviteta kationa. Mobilni prenosioc može biti npr. tetra-p-klorfenilborat
- membrane koje sadrže otopljen nenabijene mobilne prenosiocce kao aktivnu tvar membrane, te su osjetljive na promjenu aktiviteta kationa. Mobilni prenosioc može biti npr. antibiotik valinomicin otopljen u difenil eteru koji gradi kompleks s  $K^+$  ionima ili može biti visoko selektivni ligand za  $Ca^{2+}$  ione.

### **2.3.3. Specijalne ion-selektivne elektrode**

Specijalne ion-selektivne elektrode najčešće sadrže dvije membrane odvojene tankim slojem elektrolitne otopine.<sup>[11]</sup>



### **2.3.3.1. Elektrode za plinove**

Elektrode za plinove imaju dvije membrane i unutarnju elektrolitnu otopinu. Jedna membrana je hidrofobna i propusna za plin, a druga je selektivna za ione. Molekule plina difundiraju duž membrane i reagiraju s otopinom. Promjena pH se detektira pH elektrodom.

Koriste se za mjerenje koncentracije ili parcijalnog tlaka  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ , HF,  $\text{H}_2\text{S}$  i HCN. Rad im se temelji na reakciji ionizacije molekula plina s vodom. Promjena pH je uzrokovana nastajanjem iona.

Elektrode za plinove najčešće sadrže amonijak i ugljikov dioksid.<sup>[11], [14]</sup>

### **2.3.3.2. Enzimske elektrode (biosenzori)**

Rad enzimskih elektroda se temelji na katalitičkoj reakciji enzima s specifičnim supstratom, a produkt te reakcije (najčešće  $\text{H}^+$  ili  $\text{OH}^-$ ) se detektira pH elektrodom.

Mogu se koristiti za razne biokemijske reakcije bilo to izravno ili preko intermedijera. Elektrokemijski biosenzori su ili amperometrijski ili potenciometrijski.

Prostor između osjetljive površine selektivne elektrode i dijafragme je ispunjen materijalom u kojem se nalazi imobilizirani enzim, suspenzija bakterija ili dijelovi tkiva.

Ove reakcije se događaju na specijalnim membranama kao što je to glukozna elektroda.<sup>[11], [12], [14]</sup>

## **2.4. Elektrode na bazi ugljika**

Tokom istraživanja svojstava dripping elektrode na bazi ugljika, razvijena je nova vrsta elektrode u obliku paste, koja posjeduje jedinstvene prednosti.<sup>[15]</sup>

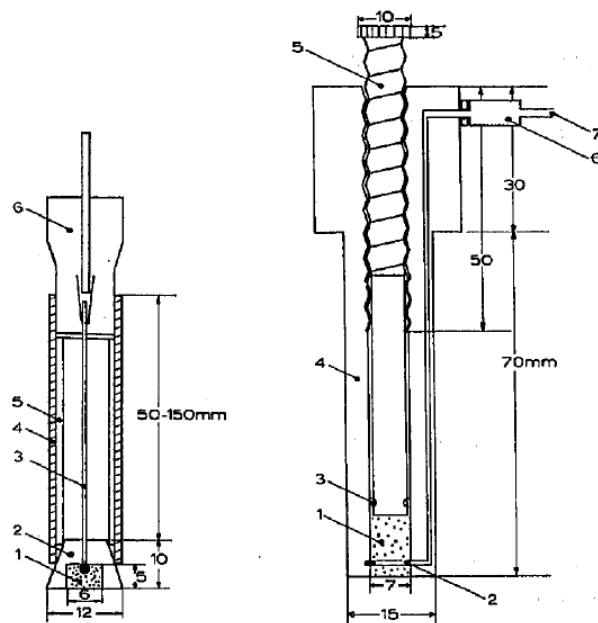
Kemijski modificirane elektrode na bazi ugljika imaju široko područje primjene u poljima elektrokemije. U usporedbi s ISE zasnovanih na polimernim membranama, elektrode na bazi ugljika imaju mnogobrojne prednosti kao što je lakoća pripreme i obnavljanja, stabilan odziv i jako nizak otpor<sup>[16]</sup>

Svi ugljikovi materijali u elektrodama imaju zajedničku strukturu šesteročlanog aromatskog prstena  $\text{sp}^2$  hibridizaciju koja podržava električnu vodljivost, sposobnost formiranja kompleksa za prijenos naboja, jedinstvena optička svojstva, mogućnost

interakcije s različitim elementima i kemijsku reaktivnost. Najpopularniji ugljikovi materijali u primjeni su staklasti ugljik, ugljikova pasta, ugljikova vlakna, film, trake, grafit impregniran voskom itd.<sup>[17]</sup>

Pasta se priprema mješanjem ugljika (u obliku grafita) i organskog veziva dok ne nastane jednolična masa. Nastala pasta je umjereno gusta, a moguće su pripreve različitih konzistencija.

Platinska žica se proteže kroz šipku da bi stvorila električni kontakt. Pasta se nanosi u udubinu sve dok se ne postigne ravna i glatka površina poravnata s površinom šipke. Višak paste se ukloni malom špahtlom (slika 3).



Slika 3. Konstrukcija elektrode<sup>[1]</sup>

Iako su pokazale veliku učinkovitost u anodnoj polarografiji, zahtjevaju impregnaciju voskom da bi se postigli ponovljivi rezultati. Nasuprot tome grafitne paste se mogu pripremiti za oko 5 minuta. Mogu se koristiti više puta i davati precizne rezultate.<sup>[15]</sup>

Elektrode na bazi ugljika se koriste za potenciometrijsko određivanje raznih kationa, aniona, organskih i farmaceutskih vrsta. Jedna od najvažnijih grupa elektroda na bazi ugljika je zeolitno modificirana elektroda.<sup>[16]</sup>

Elektrode na bazi ugljika su još privlačnije zbog mogućih naknadnih modifikacija s različitim modifikatorima, npr. elektrokatalizatori i/ili enzimi koji se mogu umješati u grafitnu pastu. Moguće su površinske modifikacije paste dodatkom metalnih filmova,

(bio)prepoznavajućih elemenata i/ili zaštitnih membrana. Iako učestalije korištenje njihovih koncentriranih otopina, grafitne paste se većinski koriste kao obične elektrode u kombinaciji s različitim nosačima što omogućava manipulaciju i obnavljanje same paste. Postoje istraživanja o smanjivanju elektroda na bazi ugljika postavljajući ih u teflonske kapilare promjera 75 - 100  $\mu\text{m}$ . Jedan od mogućih problema kod smanjivanja elektroda je veličina čestica grafita te otežana manipulacija paste mikroelektrode. Mikro i ultra-mikro elektrode su postale jako važne u elektroanalitici, biomedicini i analizi okoliša, ne samo zbog mogućnosti korištenja kod malih volumena uzoraka i mikrolokacija već i zbog svoje dominantne radialne difuzije, tankog dvostrukog sloja, niskog otpora itd.<sup>[18]</sup>

Po načinu djelovanja modifikatori se mogu podijeliti u četiri skupine:

- ciljano hvatanje određenih vrsta (npr. predkoncentracija u analizi ispiranjem);
- posredovanje u elektrodnim reakcijama imobilizacijom molekula ili njihovih fragmenata;
- djelovanjem katalitičkih pojava (npr. katalitičko elektrokemijski odaziv);
- mijenjanje karakteristika površine paste.

Modifikatori se mogu podijeliti u nekoliko skupina:

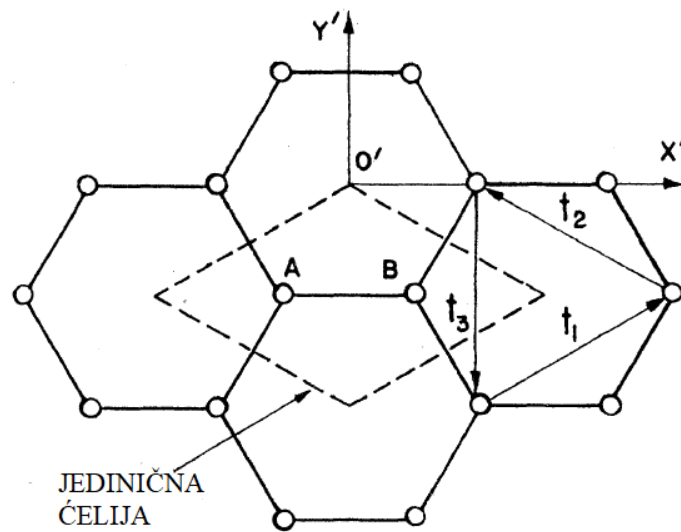
- kemijski spojevi i analitički reagensi;
- ionski izmjenivači;
- minerali gline (zeoliti i slični materijali);
- huminske supstance;
- silicij i jedinice koje sadrže silicij;
- supstrati živih organizama.<sup>[17]</sup>

### **2.4.1. Grafit**

Grafit je polumetal sa jednoosno posloženim kristalnim strukturama te ga karakteriziraju dvije različite dielektrične funkcije.

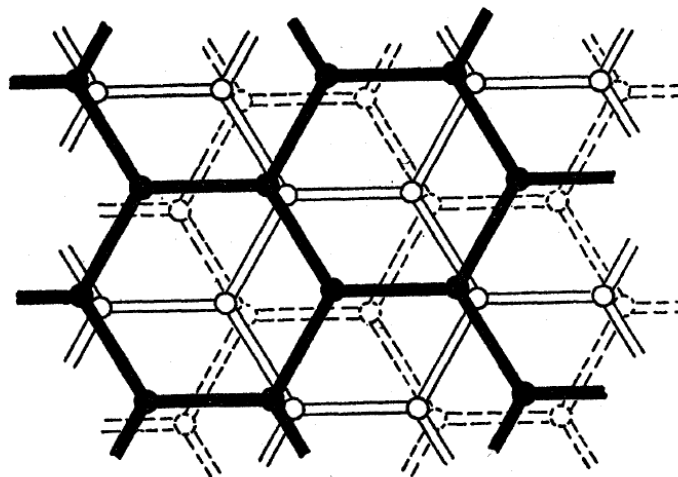
Male, meke ljuskice prirodnog grafita se mogu naći u raznim kamenim formacijama, ali se na njima nije vršilo toliko istraživanja jer su relativno nečiste. Velika količina ugljika se može proizvesti pirolizom ugljičnih para na temperaturi od 2000°C. Nastali materijal se naziva pirolitički grafit, sačinjen je od mnogo malih kristala s nasumičnim orijentacijama oko *C* osi, no s promjenjivim razinama otklona *C* osi.<sup>[19]</sup>

Blizina valentne i vodljive vrpce čini grafit poluvodičem, da bi se povećala vodljivost i magnetska svojstva potrebno je unjeti nečistoće ili dovesti elektrone do površine.<sup>[20]</sup>



Slika 4. Struktura grafita<sup>[20]</sup>

Struktura običnog grafita se sastoji od slojeva ugljikovih atoma koji tvore heksagone s podijeljenim rubovima, svakom sloju je polovica atoma ravno iznad atoma donjeg sloja, a druga polovica iznad centra heksagona. Ukupna struktura je sačinjena od tih ponavljajućih jedinica, a treći sloj (prikazan isprekidanim crtama) je simetričan s drugima dva (slika 5).<sup>[21]</sup>

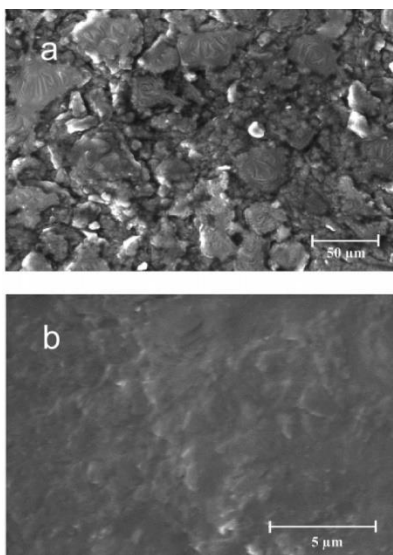


Slika 5. Slojevita struktura grafita<sup>[21]</sup>

Obično se grafitni prah ne tretira prije uporabe. Prije se pokušavala smanjiti nepoželjna razina apsorpcije komercijalnog grafita, no to se kasnije pokazalo neisplativim.<sup>[17]</sup>

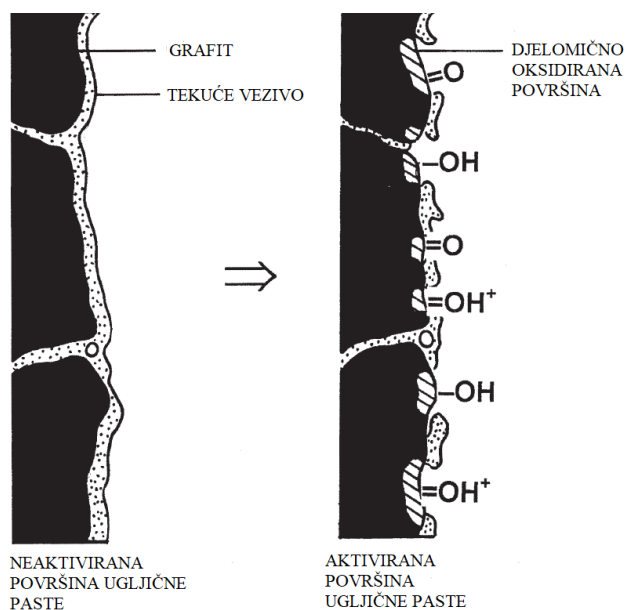
U elektrodama na bazi ugljika se najčešće koriste dvije vrste grafitnih pasti, jedna je CPE (obična pasta na bazi ugljika) i CILE (50:50 omjer grafita i OPFP, n-oktilpiridin heksafluorofosfat) (slika 6). Elektroda spravljena s OPFP je imala konstantnu kompoziciju s poželjnijim elektrokemijskim karakteristikama.

CPE je karakterizirala neravnomjerna površina uzrokovana mikrometarskim ljuskicama grafita. Dok je CILE pasta imala jednoličniju i glađu površinu. Može se primjetiti velika razlika u površini između CPE i CILE paste, no različiti omjeri OPFP veziva u pasti nisu radili značajnu razliku u konzistenciji paste. Sve paste različitih omjera grafita i veziva su imale poboljšana elektrokemijska svojstva nakon grijanja do točke taljenja veziva. Nakon poliranja paste na površini imaju metalni sjaj. Površine svih omjera grafita i veziva su jednolične i pokazuju visoku razinu adhezije OPFP-a i grafita. Čak i pri najmanjim količinama veziva (cca. 5%), grafit zadobiva zaglađenu površinu.<sup>[22]</sup>



Slika 6. Usporedba površine CPE (a) i CILE (b)<sup>[22]</sup>

Kod pripreve pasti na bazi ugljika može doći do djelomične oksidacije površine čestica grafita koje su u kontaktu s otopinom. Tokom aktivacije se mogu stvoriti razne funkcijske skupine koje sadrže kisik, na površini paste. Stoga fragmenti koji su u dodiru s otopinom postaju jako hidrofilni te odbijaju hidrofobne molekule veziva (slika 7). Anodizacijom dolazi do uklanjanja lipofilnog sloja veziva što rezultira promjenama na površini paste, površina im postaje hidrofilna i stoga se počinje ponašati kao čvrsti grafit.<sup>[17]</sup>



Slika 7. Oksidacija površine čestica paste<sup>[17], [22]</sup>

## 2.4.2. Tekućine za lijepljenje/veziva

Povezivanje grafitnog praha s vezivom u gušću smjesu pruža bolja elektrokemijska svojstva same paste.

Nepolarna veziva ispunjavaju sve važne kriterije, kao što su kemijska inertnost, neisparljivost, ne miješaju se u vodi i tvore paste finih konzistencija. Uz to postoje i neke nepoželjne karakteristike pasta kao što je to topivost u organskim otapalima. U tom području su se boljima pokazale paste napravljene mješanjem s vezivima na bazi ulja, što su također jako učestala veziva. Još neka od grupa veziva su organofosfati, iako su se te polarne supstance prije koristile kao modifikatori pasti na bazi ugljika, njihova uporaba kao veziva je relativno nova pojava. Njihovo poželjno svojstvo je visoko svojstvo ionskog sparivanja. Nasuprot tome, organofosfati kao veziva mogu biti jako nestabilna i mogu davati čudan odnos signala i šuma što zahtjeva posebnu obradu.

Priroda ponašanja pasti na bazi ugljika se može prikazati sljedećim fizikalno-kemijskim karakteristikama:

- heterogenost (kompozicija paste),
- lipofilnost (hidrofobnost),
- niski omski otpor (visoka provodljivost),
- nestabilnost u ne-vodenim otopinama (disintegracija),

- niska isparljivost,
- ograničeno vrijeme života.

Ove karakteristike su usko povezane s mikrostrukturom paste na bazi ugljika. Istraživanja su pokazala da su paste na bazi ugljika loše homogenizirane i prekrivene samo tankim slojem veziva, no individualne čestice grafita su ipak u nekakvom fizičkom kontaktu ispod sloja veziva što objašnjava niski omski otpor velike većine pasta na bazi ugljika. Drugo objašnjenje njihove visoke provodnosti može biti *efekt tunela* sličan kao kod poluvodiča.

Paste na bazi ugljika mogu se uvelike promijeniti s vremenom (*starenje* paste). Ta karakteristika se rijetko spominje, no ustanovilo se da je uzrok povezivanja grafita s isparljivijim vezivima kao što su to organofosfati. Takve nepoželjne karakteristike se smatraju povezanima isključivo uz karakteristike veziva.

Istraživanja usporedbe pasti s identičnim grafitom, a različitim vezivom su pokazala da se polarizacijska granica može efektivno kontrolirati izborom veziva. Primjerice, pasta na bazi ugljika povezana s trikrezil-fosfatom ima ekstremne polarizacijske granice, od -2 do +2 V i amonijakalnom puferu.

Objašnjenje elektrokemijskih reakcija za paste na bazi ugljika i njihove elektrolitičke aktivacije se može objasniti mehanizmom rupica. *Mehanizam rupica* govori da kroz male otvore prolazu samo usmjerene kretnje. Taj model prikazuje sloj veziva koji sadrži mnogo malih rupica koje imaju ulogu u prijenosu mase i naboja. Njihov radijus je neovisan o kompoziciji paste na bazi ugljika, već o aktivaciji površine paste.

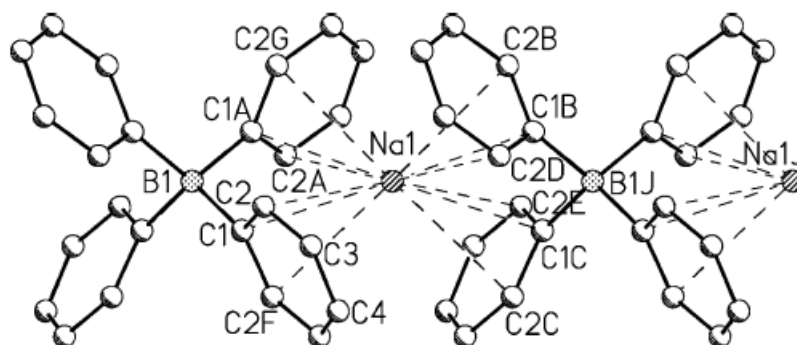
Uloga veziva kao neelektrolitički fenomen je od izuzetne važnosti za adsorpcijske interakcije. Na površini pasta, adsorpcija se događa uglavnom preko modifikatora, a ne preko samih čestica grafita.<sup>[17]</sup>

Neka učestalija veziva koja se koriste mogu biti dioktilftalat (DOP), dibutilftala (DBP), tris(2-etilheksil) fosfat (DOPh), trikresil fosfat (TCP), fosfovolframna kiselina (PTA), fosfomolibdinska kiselina (PMA), parafinsko ulje itd.<sup>[23]</sup>

### **2.4.3. Sol (Na-TPB)**

Tetrafenilboratne soli alkalijskih metala (Li-Cs) su jako jednostavne i poznate organske soli. Natrijev tetrafenilborat, koji je vodotopljiv, se uvelike koristio u kvantitativnom određivanju mnogih metalnih iona i organskih kationa. Natrijeve i cezijeve soli su jako

stabilne na zraku i vlazi. Njihova struktura je istraživana u više navrata raznim metodama pri sobnoj temperaturi i niskim temperaturama.  $M^+$  ioni ( $M=K-Cs$ ) su u krutom stanju povezani s četiri fenilna prstena tvoreći nepravilno tetraedarsko okruženje, što rezultira polimernim jednodimenzionalnim stupcima. Strukture lakših inačica, kao što su soli natrija i litija, nisu još u potpunosti poznate.<sup>[24]</sup>



Slika 8. Struktura NaTPB<sup>[24]</sup>

#### 2.4.4. Uporaba na farmaceuticima – pregled literature

U zadnje vrijeme se povećala uporaba potenciometrijskih senzora jer mogu precizno odrediti farmaceutsku vrstu u složenim biološkim i farmaceutskim uzorcima. Jedna od najkorištenijih elektroda je bila elektroda na bazi ugljika (CPE) zbog svojih mnogih prednosti u odnosu na ostale potenciometrijske senzore.

Cikličkom voltametrijom se određivao paracetamol uz pomoć elektrode na bazi ugljika. Koristila se grafem-modificirana pasta na bazi ugljika u amonijakalnom puferu (pH 8,5). Modificirana elektroda je pokazala izvrsnu elektroanalitičku aktivnost prema oksidaciji i redukciji paracetamola što je rezultiralo znatnim snižavanjem pika potencijala, a povišenjem pika struje u usporedbi s nemodificiranom elektrodom. Naspram ireverzibilnom ponašanju površine elektrode na bazi ugljika, promatrala se kvazi-reverzibilna redoks reakcija na elektrodi modificiranoj grafemom. Uočeno je razdvajanje pikova od 66 mV na stopi od 50 mV/s. Jedinstvena svojstva grafema su zaslužna za te rezultate jer grafem ima jako veliku kontaktnu površinu i povećanu sposobnost prijenosa elektrona. Takva elektroda se koristila u voltametrijii kvadratnog vala za kvantitativno određivanje paracetamola te se može smatrati uspješnom metodom za određivanje paracetamola u farmaceutskim pripravcima i uzorcima urina. Uz grafem, za izradu paste



se koristilo i parafinsko ulje. Ustanovljeno je da je linearno dinamičko područje (LDP) za određivanje paracetamola ovom metodom između  $2,5 \cdot 10^{-6}$  i  $1,43 \cdot 10^{-4}$  M, a granica detekcije (GD) je  $6,0 \cdot 10^{-7}$  M.<sup>[25]</sup>

Razvijena je jednostavna, brza i visokoselektivna metoda za izravno elektrokemijsko određivanje acebutolol hidroklorida (AC). Razvoj metode se zasnivao na izradi triju vrsta senzora. Senzori su bili konvencionalni polimerni senzor, pasta na bazi ugljika i modificirana pasta na bazi ugljikovih nanocijevi. Napravljeni senzori su se bazirali na uklapanju acebutolol hidroklorida u PTA stvarajući jedinicu za ionski izmjenu. Senzori su, pri temperaturi od 25°C, postigli nagib od  $55,6 \pm 0,5$ ,  $57,14 \pm 0,2$  i  $58,6 \pm 0,4$  mV mol/L, za otopine koncentracija od  $1 \cdot 10^{-6}$  do  $1 \cdot 10^{-2}$ ,  $1 \cdot 10^{-7}$  do  $1 \cdot 10^{-2}$  i  $5 \cdot 10^{-8}$  do  $1 \cdot 10^{-2}$  M s granicama detekcije od  $5 \cdot 10^{-7}$ ,  $5 \cdot 10^{-8}$  i  $2,5 \cdot 10^{-8}$  M. Nisu pronađene nikakve interferirajuće vrste.<sup>[26]</sup>

Predstavljeni su rezultati određivanja iona neostigmina (Ns) četirima modificiranim elektrodama na bazi ugljika. Senzor 1 je napravljen od ionsko-asocijacijskog spoja Ns-TPB, senzor 2 je koristio Ns-PT, senzor 3 mješavinu Ns-PT i Ns-TPB te senzor 4 Ns-PT+ $\beta$ -CD. Dobiven je Nernstov nagib u rasponu od  $61,5 \pm 0,5$  do  $64,5 \pm 0,5$  mV u pH području od 3,8-10, za otopine koncentracija  $1 \cdot 10^{-7}$  do  $1 \cdot 10^{-2}$  M. Granica detekcije je bila  $6,3 \cdot 10^{-8}$  M.<sup>[27]</sup>

U jednom od radova uspoređena je analiza sertralina senzorom s polimernom membrano i senzorom s kemijski modificiranom pastom na bazi ugljika. Kao elektro-aktivna jedinica se koristio sertralin tetrafenilborat (Ser-TPB). Pokazali su brzi odziv na ione sertralina u koncentracijskom području od 0,01 do 10,00 mmol/L. Granice detekcije su bile 2,80 i 9,55  $\mu$ mol/L s Nernstovim nagibom od 56,6 i 59,6 mV. Dodatkom različitih anionskih dodataka, u glavnom natrijevog tetrafenilborata (NaTPB) i kalijevog tetrafenilborata (KTPB), su se poboljšale odzivne karakteristike senzora. Senzor se uspješno mogao primjeniti u titraciji otopine iona sertralina s NaTPB. Količina iona se može precizno odrediti u rasponu od 0,34 do 34,27 mg.<sup>[28]</sup>

Potenciometrijom se određivao haloperidol-fosfomolibdat, aktivna tvar lijeka haloperidol, uz pomoć modificirane paste na bazi ugljika. Elektroda je pružila dobar Nernstov nagib od  $56,9 \pm 0,3$  mV s linearnim rasponom koncentracija od  $3,2 \cdot 10^{-6}$  do  $1 \cdot 10^{-2}$  M. Granica detekcije je iznosila  $1,5 \cdot 10^{-6}$  M. Odzivno vrijeme je bilo između 5 i 8 sekunda (s). Elektroda je jasno razlikovala ione haloperidola od anorganskih iona, iona šećera i nekih

iona drugih lijekova na pH 6,2-8,6 i temperaturi od 20-60 °C. Senzor se koristio za određivanje haloperidola u urinu i farmaceutskim smjesama.<sup>[29]</sup>

U sljedećem istraživanju je pripravljena elektroda na bazi ugljika za određivanje triheksifenidil hidroklorid (THPCI). Elektroda se koristila u potenciometrijskom određivanju THP iona u farmaceutskom pripravku i urinu. Senzor je spravljen na bazi ionskog para THP-TPB otopljenog u dibutilftalatu. Dobiven je Nernstov nagib od  $57,8 \pm 0,4$  mV u rasponu koncentracija od  $1,2 \cdot 10^{-6}$  do  $1 \cdot 10^{-2}$  M s granicom detekcije od  $7,1 \cdot 10^{-7}$  M. Može se koristiti u pH području od 2,5-4,8.<sup>[30]</sup>

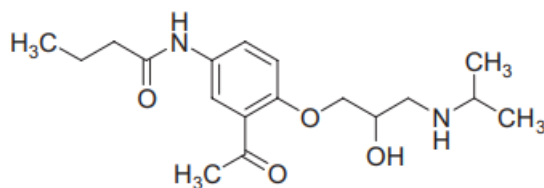
Doksiciklin je antibiotik iz grupe tetraciklina, široke uporabe. Postoje mnoge metode za određivanje doksiciklina, no nijedna nije dovoljno brza i isplativa. Stoga je predložena izrada potenciometrijskog senzora na bazi ugljika. Za izradu paste koristio se ionsko-asocijacijski spoj doksiciklina s fosfovolframovom kiselinom (Dc-PT), s fosfomolibdenskom kiselinom (Dc-PM) i silikovolframnon kiselinom (Dc-ST). Tim trima elektrodama su se dobili nagibi od 59,49, 63,98, 59,52 mV pri 25°C. Granica detekcije je 6,30, 5,0 i 3,98 µmol/L. Navedeni senzori pružaju kratko vrijeme odziva ( $\leq 12$  s) i može se koristiti barem 2 mjeseca bez ikakvih znatnih odstupanja.<sup>[31]</sup>

Za određivanje lijeka atrovastatina u farmaceutskim pripravcima su pripravljene dvije elektrode na bazi ugljika. Senzor A je sačinjen od ionsko-asocijacijskog spoja atrovastatina i 5,6-diaminouracil hidroklorida (AST-DAUH), a drugi senzor (B) od smjese lijeka s pikrinskom kiselinom (AST-PC). Od tri različita otapala DOPH je imao najbolje rezultate, te je davao Nernstove nagibe od  $58,76 \pm 0,8$  i  $57,48 \pm 1$  mV. Vrijeme odziva je 10 i 12 s, a granica detekcije  $1,3 \cdot 10^{-6}$  i  $2,2 \cdot 10^{-6}$  M na koncentracijskom rasponu od  $2,5 \cdot 10^{-6}$  do  $7,9 \cdot 10^{-2}$  M i  $3,0 \cdot 10^{-6}$  do  $7,9 \cdot 10^{-2}$  M.<sup>[32]</sup>

## **2.5. Acebutolol**

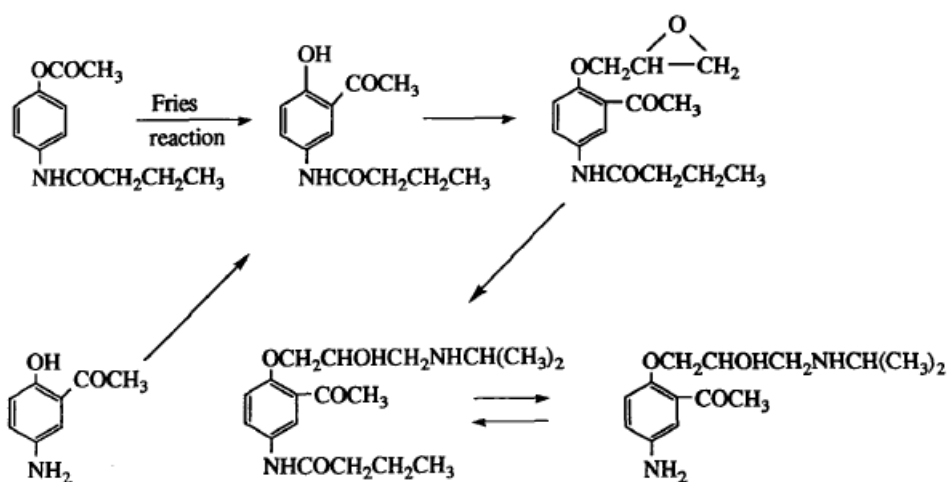
Acebutolol je beta-blokator koji služi za liječenje hipertenzije i aritmije te se često koristi u liječenju angine pectoris. Strukturno gledano je eter, točnije 2-acetil-4-(butanoilamino)fenil eter.

### Acebutolol



Slika 9. Struktura acebutolola<sup>[33]</sup>

Izgledom su fini bijeli kristalići, nehigroskopan je i praktički bez mirisa. Njegova sinteza nije previše složena i schematski se može prikazati kao:



Slika 10. Sinteza acebutolola<sup>[34]</sup>

Acebutolol ima relativno nisku topljivost u lipidima. Topljivost acebutolol hidroklorida, pri sobnoj temperaturi, u vodi je 200 mg/mL, a u etanolu 70 mg/mL.

Acebutolol se brzo apsorbira, što rezultira maksimalnom koncentracijom u plazmi u roku od 2-4 sata. Prisustvo hrane ili alkohola ne utječe značajno na razinu apsorpcije acebutolola. Iako se oralnim uzimanjem apsorbira oko 90% lijeka, njegova dostupnost je između 35% i 45%, što je posljedica *efekta prvog prolaza* čime se drastično smanjuje koncentracija lijeka do ulaska u krvotok.

Acebutolol se labavo veže za proteine plazme, njegova volumna raspodjela nakon intravenoznog uzimanja je od 1,0 do 1,2 L/kg, dok je nakon oralnog uzimanja  $11,3 \pm 3,5$  i  $9,2 \pm 2,6$  L/kg za oba enantiomera.

Oralnim uzimanjem se velika većina lijeka metabolizira u jetri kroz *proces prvog prolaza*. Glavni metabolit koji nastaje tokom tog procesa je diacetolol koji je stereoselektivan za R-(+)-enantiomer. Kod starijih ispitanika je koncentracija acebutolola i diacetolola u krvnoj plazmi znatno veća nego u mlađih ispitanika, što može biti posljedica smanjenog utjecaja *prvog prolaza* ili smanjena razina distribucije volumena.

Vrijeme poluživota acebutolola je otprilike od 3 do 8 sati. Razina izlučivanja acebutolola i diacetolola kroz bubrege je 25% do 45% oralno uzete doze lijeka. Za intravenozno uzeti lijek je ta razina nešto veća, pa iznosi između 40% i 60% uzete doze lijeka. Kod ispitanika sa smanjenom bubrežnom funkcijom je ta razina ekstrakcije bila manja, no vrijeme polueliminacije acebutolola se nije promijenilo. Nasuprot tome vrijeme polueliminacije diacetolola se produžilo kod ispitanika sa smanjenom bubrežnom funkcijom. Acebutolol se također izlučuje preko majčinog mlijeka, sline i cerebrospinalne tekućine.<sup>[34]</sup>

### 3. Metodika

Tijekom eksperimentalnog rada korištene su sljedeće kemikalije za pripravu otopina:

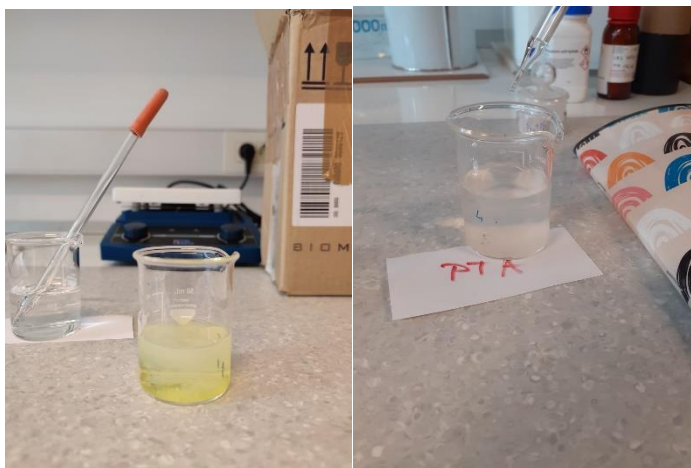
- Octena kiselina ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $M = 60,05 \text{ g/mol}$ ), p.a., Kemika, Zagreb
- Bezvodni natrijev acetat ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ ,  $M = 82,035 \text{ g/mol}$ ), p.a., Gram-mol, Zagreb
- Natrijev tetrafenilborat ( $\text{NaTPB}$ ,  $\text{Na}[\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4]$ ,  $M = 337,93 \text{ g/mol}$ ), Mercek, Germany
- (TBATPB)
- Srebrov nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ), p.a., Kemika, Zagreb
- Timrex KS 44 Graphite, p.a., Imerys Graphite & Carbon, Švicarska
- Dibutilftalat (DBP,  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4$ ,  $M = 278,34 \text{ g/mol}$ )
- Dioktilftalat (DOP,  $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_4$ ,  $M = 390,564 \text{ g/mol}$ )

#### 3.1. Priprava otopina

##### 3.1.1. Priprava ionsko-asocijacijskog kompleksa (IAC)

U destiliranu vodu se doda 0,0932 g acebutolola te se u tikvici razrijedi destilinarom vodom do 25 mL ( $c_{\text{acebutolol}} = 0,01 \text{ M}$ ).

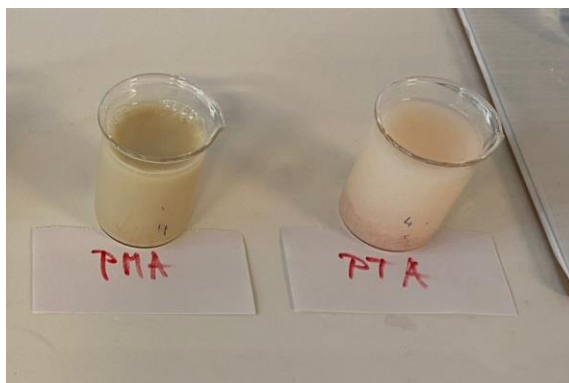
U druge tikvice od 25 mL se otopi 0,2400 g PTA ( $c_{\text{PTA}} = 0,0100 \text{ M}$ ) i 0,1521 g PMA ( $c_{\text{PMA}} = 0,0100 \text{ M}$ ). Nakon što se spojevi otopu razrijedu se destiliranom vodom do oznake.



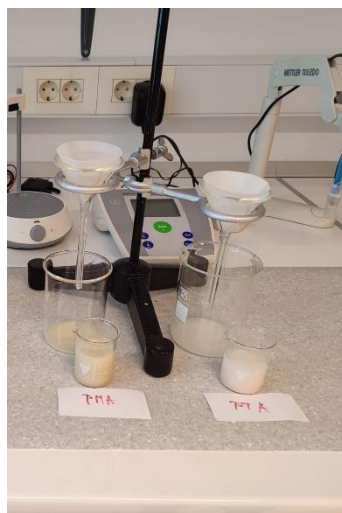
Slika 11. Priprava otopina PMA (a) i PTA (b)

U otopine PTA i PMA se dokapava otopina acebutolola, kap po kap, a zatim se miješa na magnetskoj miješalici 1 sat.

Nastaju blijedozeleni talog kod PMA i blijedonarančasti talog kod PTA koji se ostavljaju preko noći, a sutradan se vrši filtracija preko odgovarajućeg filter papira za nastale taloge. Talog se ispire destiliranom vodom do negativne reakcije na kloride pomoću  $\text{AgNO}_3$ , 0,10 M. Tako pripremljeni talozi se suše 3 dana na sobnoj temperaturi.



Slika 12. Nastali talozi PMA i PTA



Slika 13. Filtracija nastalih taloga PMA i PTA

### 3.1.2. Priprema pufera

U tikvicu od 1000 ml se doda malo destilirane vode, dovoljno da se otopi 452 mg NaAc ( $M = 82,035 \text{ g/mol}$ ), i 570  $\mu\text{L}$  koncentrirane octene kiseline ( $\omega(\text{CH}_3\text{COOH}) = 99,5\%$ ,  $\rho = 1,05 \text{ kg/L}$ ). Time nastaje acetatni pufer čija je pH vrijednost 4,5.

### 3.1.3. Priprema standarda acebutolola

Za pipremu standarda izvagano je 0,0295 g čistog acebutolola u čašicu i otopljeno u maloj količini destilirane vode. To se prenese u tikvicu od 25 mL te se napuni do oznake prethodno spravljenim acetatnim puferom.

- $m_{\text{acebutolol}} = 0,0295 \text{ g}$
- $V_{\text{pufera}} = 25 \text{ mL}$
- $M_{\text{acebutolola}} = 372,89 \text{ g/mol}$

$$c = \frac{n}{V} = \frac{m}{M \cdot V}$$

Za eksperimentalni dio su potrebne otopine različitih koncentracija pa se od standarda uzima 6,3 mL i prenosi u tikvicu od 25 mL te puferom nadopuni do oznake. Od nove otopine opet se uzima 6,3 mL za pripravu novog, trećeg razrjeđenja, i tako još 3 puta dok ne dobijemo 6 otopina različitih koncentracija ( $3,16 \times 10^{-3} \text{ M}$ ,  $7,94 \times 10^{-4} \text{ M}$ ,  $2,00 \times 10^{-4} \text{ M}$ ,  $5,01 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $1,26 \times 10^{-5} \text{ M}$  i  $3,16 \times 10^{-6} \text{ M}$ ).

$$c_1 V_1 = c_2 V_2$$

- $V_1 = 6,3 \text{ mL}$



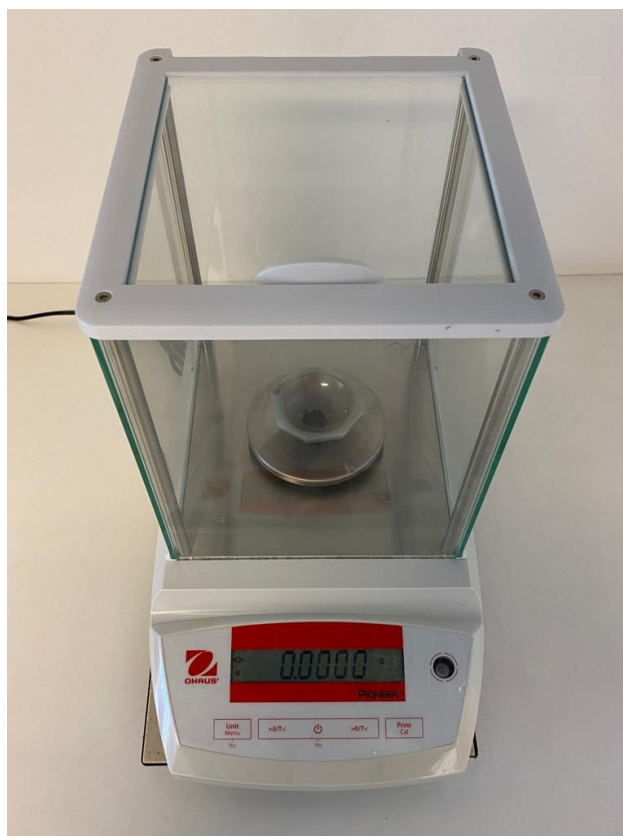
Slika 14. Razrjeđenja

### 3.2. Miješanje i priprema membrana

Odabir omjera veziva i grafita se određuje prema empirijskom iskustvu. Većina mješavina su imale slične ili iste omjere veziva i grafita, no pokazale su različita svojstva. Nastale paste su nekad bile rahle, nekad kompaktne i ljepljive jer sama tekstura paste ovisi o međusobnom prijanjanju veziva i grafita. Za pripravu kompaktne membrane je najidealnije doći do konzistencije čvrste ljepljivosti jer je tada prijanjanje veziva za grafit najveće. Najbolje je do tih omjera doći eksperimentalni putem, isprobavajući različite omjere, da bi se došlo do optimalne konzistencije paste. Takva procjena se postiže ispitivanjem s nizom CPE gdje je jedina razlika u spravljanju količina dodanog grafita odnosno veziva. Za vjerodostojne rezultate potrebno je upotrebljavati identične materijale. U našem slučaju taj omjer je bio 5:6 (0,045 g veziva i 0,055 g grafita). Odabrane mješavine grafita i veziva se mogu izrađivati običnom laboratorijskom opremom. Za homogenizaciju smjese koristi se tarionik s tučkom, te je ručno miješamo sve dok ne dobijemo ujednačenu smjesu.

Postupak spravljanja smjese se svodi na samo četiri koraka. U tarioniku se na analitičkoj vagi izvaže određena količina grafita, veziva (DOP ili DBP) i ionsko-asocijacijskog kompleksa (AC-PMA ili AC-PTA), potom se tučkom, kružnim pokretima, komponente dobro izmješaju dok se ne postigne jednolična masa. Tako pripravljena pasta se špahtlom nanosi u rupu nosača i oprezno utiskuje, taj proces se ponavlja sve dok se šupljina nosača ne ispuni pastom do vrha. Višak paste se ukloni i tada se pasta može ispolirati na listiću parafilma uz kapljicu destilirane vode. Nosač je potrebno prebrisati i očistiti mu rubove bez da se dotakne pasta koja se nalazi u šupljini. Nakon toga elektroda je spremna za mjerenje.





*Slika 15. Vaganje sastojaka paste*



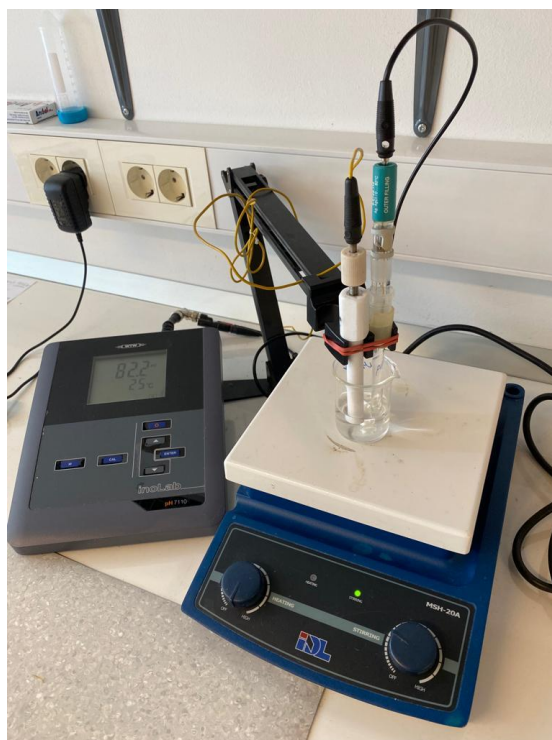
*Slika 16. Homogeniziranje sastojaka paste*



*Slika 17. (a i b) Punjenje nosača elektrode spravljenom pastom*



*Slika 18. (a i b) Poliranje paste*



Slika 19. Elektroda spremna za mjerenje

Tablica 1. Sastav pasti

	$\omega$ (grafit) %	$\omega$ (vezivo) %	$\omega$ (IAC) %	$\omega$ (sol) %
Membrana 1	53,0	43,8	3,2	/
Membrana 2	53,9	45,2	0,9	/
Membrana 3	55,4	44,3	0,3	/
Membrana 4	53,6	44,9	1,5	/
Membrana 5	48,8	45,8	5,4	/
Membrana 6	56,1	43,6	0,3	/
Membrana 7	54,4	44,7	0,9	/
Membrana 8	52,4	42,9	4,7	/
Membrana 9	53,6	46,0	0,4	/
Membrana 10	53,8	45,3	0,9	/
Membrana 11	54,4	44,2	1,4	/
Membrana 12	53,0	43,5	3,4	/
Membrana 13	49,6	45,6	4,8	/
Membrana 14	55,2	41,9	2,8	0,1
Membrana 15	53,1	43,0	3,6	0,3
Membrana 16	53,2	43,5	3,3	0,1
Membrana 17	52,3	44,0	2,8	0,9
Membrana 18	53,0	43,7	3,1	0,3
Membrana 19	55,1	44,3	0,4	0,2
Membrana 20	53,9	45,1	0,9	0,1

## 4. Rezultati

Pripremljeno je 20 pasti na bazi ugljika od kojih sve sadrže ionsko-asocijacijski kompleks (IAC). Svaka pasta je sadržavala oko 0,045 g veziva (DOP ili DBP) i 0,055 g grafita u prahu. Neke paste su sadržavale i sol u masama od 0,0001 do 0,0003 g. Njihov sastav je prikazan u Tablici 1. Sve paste su prvo kondicionirane u puferu 10 minuta, a potencijal je zapisivan nakon 1. i 3. (ako je razlika u potencijalu najrazrjeđenije otopine veća od 2 meV) minute.

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

		E (meV)																						
		1. dan									2. dan													
		1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			3. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja	
1.	3.	1. minuta	1.	3.	1. minuta	1.	3.	1. minuta	1.	3.	1. minuta	1.	3.	1. minuta	1.	3.	1. minuta	1.	3.	1. minuta	1.	3.	1. minuta	
pLAC		197	193	197	192	192	188	102	103	204	199	189	186	187	184	189	185							
5,5		201	200	200	201	200	194	194	197	206	206	200	200	194	134	196	194							
4,3		215	214	218	219	219	225	226	223	223	223	199	203	207	207	210	210							
3,7		241	240	237	245	246	257	259	244	247	214	221	230	230	233	240	241							
3,1		268	268	264	273	274	292	293	276	275	249	255	260	260	261	267	267							
2,5		293	293	292	302	301	314	316	303	303	280	281	283	283	286	291	291							
Nagib		39,50	40,00	32,67	34,48	38,76	51,17	50,83	41,17	41,00	46,33	44,67	38,50	59,83	41,17	41,83								
Faktor regresije		0,9897	0,9890	0,9534	0,9720	0,9825	0,9957	0,9965	0,9863	0,9913	0,9765	0,9877	0,9847	0,9368	0,9900	0,9742								

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

		E (meV)																						
		1. dan						2. dan																
		1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			3. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja	
1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	
minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta
pIAC	297	302	311	292	292	303	301	308	292	217	215	231	206	205	223	223	231	223	218	232	253	253	231	238
5,5	311	318	331	303	292	306	301	308	306	232	231	243	245	245	245	245	253	253	231	232	253	253	231	238
4,9	328	331	331	303	292	306	301	308	306	232	231	243	245	245	245	253	253	253	231	232	253	253	231	238
4,3	354	358	358	323	330	330	323	330	305	277	279	279	272	272	272	272	272	272	230	303	303	303	277	277
3,7	371	380	380	339	347	347	339	347	305	305	306	306	299	299	299	299	299	299	263	320	320	320	295	295
3,1	397	398	398	355	363	363	355	363	327	327	327	327	323	323	323	323	323	315	343	343	343	333	333	333
2,5	33,62	33,00	33,00	29,67	30,33	30,33	29,67	30,33	38,14	38,14	39,10	39,10	42,33	42,33	42,33	42,33	42,33	48,50	36,95	36,95	36,95	32,14	31,90	31,90
Nagib	0,9909	0,9902	0,9902	0,9932	0,9941	0,9941	0,9932	0,9941	0,9800	0,9800	0,9785	0,9785	0,9988	0,9988	0,9988	0,9988	0,9988	0,8653	0,9941	0,9941	0,9937	0,9963	0,9959	0,9959
Faktor regresije																								

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

		E (meV)																			
		1. dan									2. dan										
		1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja	
	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	
pIAC	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta
5,5	246	252	257	242	237	255	270	256	242	237	299	299	307	299	317	393	388	366	359	346	342
4,9	257	254	270	259	256	270	286	275	259	256	283	283	288	283	299	370	365	355	348	341	336
4,3	279	277	286	273	275	286	286	275	273	275	301	301	302	302	302	363	358	355	350	348	345
3,7	304	305	304	294	296	304	304	296	294	296	317	317	317	323	323	358	358	318	330	341	340
3,1	326	327	326	318	318	326	326	318	318	318	336	336	336	332	332	374	370	353	351	352	350
2,5	346	346	342	332	333	342	342	333	332	333	347	346	347	349	349	374	371	373	372	366	363
Nagib	34,86	39,00	29,10	30,86	32,71	29,57	29,10	30,86	30,86	32,71	25,33	26,83	25,67	21,67	13,33	10,83	45,83	35,00	20,83	19,17	
Faktor regresije	0,9915	0,9958	0,9964	0,9936	0,9982	0,9964	0,9943	0,9936	0,9950	0,9901	0,9199	0,9635	0,8073	0,9758	1,0000	0,9952	0,9944				



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

		E (meV)																						
		1. dan									2. dan													
		1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			3. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja	
1.	3.	1. minuta	1.	3.	1. minuta	1.	3.	1. minuta	1.	3.	1. minuta	1.	3.	1. minuta	1.	3.	1. minuta	1.	3.	1. minuta	1.	3.	1. minuta	
pIAC		249	246	274	248	245	266	262	269	233	241	241	242	236	291	292	292	312	292	282	358	358	380	380
5,5		238	241	248	248	245	266	262	269	241	241	248	246	246	291	282	282	312	292	282	358	358	380	380
4,3		257	255	257	257	257	278	277	277	253	253	253	253	254	297	292	292	297	297	292	351	351	370	363
3,7		277	278	276	276	276	294	294	294	260	260	277	278	278	306	302	302	324	320	302	355	355	374	367
3,1		296	297	265	265	295	306	307	307	307	307	291	28	28	324	320	320	324	320	320	360	360	382	374
2,5		314	316	319	319	318	326	324	324	330	330	299	289	289	343	336	336	343	336	336	368	368	388	380
Nagib		31,833	32,00	25,00	25,00	30,67	24,67	25,67	25,67	32,86	33,33	23,33	18,76	18,76	21,83	22,67	22,67	21,83	22,67	22,67	9,33	9,33	10,33	8,50
Faktor regresije		0,9997	0,9960	0,7329	0,7329	0,9891	0,9920	0,9987	0,9987	0,8990	0,9068	0,9612	0,9567	0,9567	0,9498	0,9822	0,9822	0,9498	0,9822	0,9822	0,9739	0,9739	0,9856	0,9749

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

		E (meV)																						
		1. dan									2. dan													
		1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			3. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja	
1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	
pIAC	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta
5,5	304	287	327	314	297	290	225	219	244	299	236	230	228	226	228	226	228	226	228	226	228	226	226	226
4,9	268	266	303	297	283	280	228	227	236	236	233	233	222	222	222	222	222	222	222	222	222	222	222	222
4,3	266	265	293	292	282	282	244	243	248	247	246	247	237	237	237	237	237	237	237	237	237	237	237	237
3,7	281	284	300	299	293	294	272	270	272	273	272	272	259	259	259	259	259	259	259	259	259	259	259	259
3,1	291	297	314	315	311	313	297	297	301	302	297	295	286	286	286	286	286	286	286	286	286	286	286	286
2,5	326	326	332	331	327	327	322	322	327	326	325	324	304	304	304	304	304	304	304	304	304	304	304	304
Nagib	31,67	32,67	21,83	22,17	25,50	20,83	40,17	40,67	39,17	39,17	39,17	32,43	35,50	35,50	35,50	35,50	35,50	35,50	35,50	35,50	35,50	35,50	35,50	35,50
Faktor regresije	0,9256	0,9750	0,9654	0,9732	0,9913	0,9442	0,9940	0,9931	0,9821	0,9822	0,9867	0,9488	0,9921	0,9921	0,9921	0,9921	0,9921	0,9921	0,9921	0,9921	0,9921	0,9921	0,9921	0,9921

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

		E (meV)																							
		1. dan									2. dan														
		1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			3. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja		
1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.		
minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	
pIAC																									
5,5	294	301	312	319	326	304	304	304	304	334	345	343	347	323	333	315	316	315	316	319	319	320	320	320	
4,9	305	313	319	320	320	316	316	316	316	329	338	337	341	321	326	314	314	314	315	315	315	315	315	315	315
4,3	320	323	336	337	337	336	336	336	336	341	350	337	347	330	339	304	304	304	304	313	313	313	313	313	313
3,7	330	328	335	335	335	320	320	320	320	362	367	340	351	342	350	315	315	315	316	316	316	316	316	316	316
3,1	349	350	353	357	357	341	341	341	341	360	362	323	331	354	357	324	324	324	331	331	331	331	331	331	331
2,5	362	365	362	363	363	351	351	351	351	377	378	337	347	362	368	341	341	341	345	345	345	345	345	345	345
Nagib	22,95	20,76	16,71	14,00	14,00	14,00	14,00	14,00	14,00	19,17	15,33	-2,83	-0,67	14,57	13,29	20,00	20,00	20,00	18,50	18,50	18,50	18,50	18,50	18,50	18,50
Faktor regresije	0,9939	0,9671	0,9613	0,8531	0,8531	0,7987	0,7987	0,7987	0,7987	0,9295	0,8854	0,083	0,0066	0,9398	0,8986	0,9809	0,9809	0,9809	0,9410	0,9410	0,9410	0,9410	0,9410	0,9410	0,9410

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

		E (meV)																														
		1. dan												2. dan																		
		1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			3. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja									
	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.								
pIAC	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta							
5,5	337	336	374	367	348	339	413	400	394	389	355	347	354	351	338	337	336	374	367	348	339	413	400	394	389	355	347	354	351	338	337	
4,9	356	356	369	366	335	335	383	376	377	374	347	343	350	348	344	344	356	369	366	335	335	383	376	377	374	347	343	350	348	344	344	
4,3	327	327	340	346	318	326	360	373	362	363	335	336	343	343	344	344	327	340	346	318	326	360	373	362	363	335	336	343	343	344	344	
3,7	324	324	342	333	327	321	354	346	365	355	330	328	33	331	337	337	324	342	333	327	321	354	346	365	355	330	328	33	331	337	337	
3,1	328	328	332	329	328	324	355	350	365	358	337	336	341	339	347	347	328	332	329	328	324	355	350	365	358	337	336	341	339	347	347	
2,5	345	345	342	340	340	338	365	360	369	365	356	353	354	352	362	362	345	342	340	340	338	365	360	369	365	356	353	354	352	362	362	
Nagib	17,50	17,50	-12,81	-12,33	11,17	14,17	-15,71	-14,52	-7,52	-8,38	-1,43	0,048	-1,76	-1,43	5,81	6,05	17,50	17,50	-12,81	-12,33	11,17	14,17	-15,71	-14,52	-7,52	-8,38	-1,43	-1,43	5,81	6,05		
Faktor regresije	0,8867	0,8867	0,6943	0,7200	0,9171	0,8775	0,5967	0,6700	0,4981	0,5693	0,0215	0,00003	0,0564	0,037	0,5220	0,5449	0,8867	0,8867	0,6943	0,7200	0,9171	0,8775	0,5967	0,6700	0,4981	0,5693	0,0215	0,00003	0,0564	0,037	0,5220	0,5449

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

		E (meV)																	
		1. dan						2. dan						3. dan					
		1. poliranje		2. poliranje		1. bez poliranja		1. poliranje		2. poliranje		3. poliranje		1. bez poliranja		1. bez poliranja		2. bez poliranja	
1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.		
		minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	
pIAC		416	395	421	428	429	410	443	436	426	423	422	430	409	404	412	403	416	
5,5		424	421	428	423	408	398	426	428	416	414	430	409	409	392	413	416	416	
4,9		391	401	206	411	399	416	416	419	409	406	409	409	388	408	410	410	410	
3,7		366	361	361	360	393	379	415	368	414	404	374	385	385	377	407	396	400	
3,1		357	357	373	372	389	381	405	396	419	413	388	392	392	385	408	400	400	
2,5		373	370	394	385	385	380	414	407	432	426	399	400	400	412	409	409	409	
Nagib		-21,00	-17,00	-16,42	-10,19	-13,48	-11,33	-9,95	-13,90	2,10	0,48	-13,15	-13,15	-3,00	-3,52	-0,76	-1,52	-1,52	
Faktor regresije		0,7391	0,5632	0,4860	0,2347	0,8804	0,6012	0,7199	0,4002	0,0787	0,0037	0,4935	0,4935	0,1481	0,1765	0,1076	0,0543	0,0543	

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

		E (meV)																					
		1. dan									2. dan												
		1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			3. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja
	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	
pIAC	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta
5,5	266	269	276	250	251	255	257	298	298	298	358	261	273	276	273	268	273	273	272	274	272	273	274
4,9	274	276	283	260	260	265	265	295	295	249	255	272	277	275	275	275	279	273	273	273	273	273	273
4,3	285	283	283	275	275	280	280	293	293	264	264	287	286	282	282	282	282	284	284	284	284	284	284
3,7	303	301	301	297	297	298	298	311	311	278	272	306	302	301	299	301	299	301	301	301	301	301	301
3,1	320	320	320	318	318	320	320	331	331	297	297	297	322	322	324	324	322	320	320	320	320	320	320
2,5	340	340	340	338	338	325	325	350	350	322	323	342	342	348	348	348	346	335	335	335	335	335	335
Nagib	25,05	24,05	24,05	30,29	30,05	25,38	24,90	31,83	31,83	29,83	28,17	29,33	22,90	26,95	26,95	24,33	22,52	22,05	22,05	22,05	22,05	22,05	22,05
Faktor regresije	0,9779	0,9570	0,9570	0,9859	0,9836	0,9809	0,9772	0,9996	0,9996	0,9847	0,9337	0,9986	0,9313	0,9430	0,9430	0,9110	0,9519	0,9397	0,9397	0,9397	0,9397	0,9397	0,9397

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

		E (meV)																							
		1. dan												2. dan											
		1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			3. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja		
	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.			
pIAC	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta		
5,5	289	290	273	275	268	267	275	277	275	277	274	274	264	266	273	275	274	274	273	274	274	274	276		
4,9	289	289	278	278	273	273	275	275	275	277	277	277	269	269	274	274	274	274	274	274	275	275	275		
4,3	296	296	284	284	284	284	284	284	284	284	284	284	276	276	277	277	277	277	277	277	282	282	282		
3,7	303	303	293	293	303	303	291	291	291	303	303	303	289	289	289	289	289	289	289	289	288	288	288		
3,1	326	326	314	314	325	325	315	315	315	326	326	326	308	308	309	309	309	309	309	309	313	313	313		
2,5	349	349	341	341	347	347	336	336	336	347	347	347	328	328	333	333	333	333	333	334	334	334	334		
Nagib	25,00	25,00	21,76	21,29	27,14	27,38	25,50	25,50	25,50	25,29	25,29	25,29	21,43	20,95	19,86	19,86	19,86	19,38	20,00	20,00	19,52	19,52	19,52		
Faktor regresije	0,9262	0,9262	0,8915	0,8773	0,9566	0,9606	0,9428	0,9428	0,9428	0,9292	0,9292	0,9290	0,9405	0,9283	0,8603	0,8603	0,8603	0,8413	0,8686	0,8686	0,8506	0,8506	0,8506		

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

		E (meV)																						
		1. dan									2. dan													
		1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			3. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja	
1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	
minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta
pIAC	282	283	275	277	276	278	297	299	299	299	280	281	280	283	283	262	265	265	268	268	264	265	272	273
5,5	282	283	275	277	276	278	297	299	299	280	281	280	283	283	262	265	265	268	268	264	265	272	273	
4,9	284	284	282	282	279	279	299	299	283	283	261	261	283	283	261	265	265	268	268	272	272	276	276	
4,3	288	288	290	290	289	289	300	300	282	282	264	264	282	282	264	266	266	272	272	272	272	278	278	
3,7	301	301	304	304	303	303	316	316	297	297	273	273	297	297	273	271	271	283	283	298	298	288	288	
3,1	324	324	314	314	327	327	331	331	320	320	291	291	320	320	291	290	290	298	298	298	298	312	312	
2,5	346	346	336	336	337	337	312	312	335	335	315	315	335	335	315	314	314	323	323	323	323	334	334	
Nagib	27,57	21,33	19,76	19,29	22,05	21,57	14,17	13,50	19,10	18,86	22,50	20,33	18,86	18,86	20,33	18,62	18,62	18,86	18,86	18,86	18,86	20,38	20,14	
Faktor regresije	0,8849	0,8770	0,9623	0,9527	0,9496	0,9381	0,8429	0,8060	0,8683	0,8592	0,9073	0,8501	0,8906	0,8825	0,8661	0,8579	0,8579	0,8579	0,8579	0,8579	0,8579	0,8579	0,8579	





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

		E (meV)																						
		1. dan									2. dan													
		1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			3. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja	
1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	
minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta
pIAC	361	365	338	341	343	343	343	355	353	351	351	351	360	358	357	357	361	363	361	361	363	363	369	380
5,5	358	359	341	341	343	343	351	351	351	351	351	360	358	357	357	361	363	361	361	363	363	369	380	
4,9	351	346	336	336	333	333	349	349	349	349	347	347	347	347	349	349	349	349	349	349	351	362	375	
4,3	355	347	342	342	334	334	357	357	357	357	358	358	358	358	340	340	340	340	340	340	356	367	385	
3,7	370	364	360	360	355	355	373	373	373	373	379	379	379	379	365	365	365	365	365	365	372	388	404	
3,1	390	387	383	383	380	380	400	400	400	400	402	402	402	402	391	391	391	391	391	380	413	420	420	
2,5	22,00	23,33	26,50	26,50	27,00	27,00	28,17	28,17	28,17	28,17	31,67	31,67	31,67	31,67	42,50	42,50	42,50	42,50	42,50	17,17	17,17	29,00	25,67	
Nagib	0,9298	0,8861	0,9442	0,9442	0,8933	0,8933	0,9403	0,9403	0,9403	0,9403	0,9888	0,9888	0,9888	0,9888	0,9999	0,9999	0,9999	0,9999	0,9999	0,9631	0,9631	0,9339	0,9865	
Faktor regresije																								

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

		E (meV)																			
		1. dan									2. dan										
		1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja	
	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	
pIAC	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta
5,5	144	144	140	141	145	106	78	80	83	86	81	85	81	82	81	82	81	82	81	81	81
4,9	142	142	136	136	109	112	81	81	86	88	84	86	81	81	84	84	81	81	84	84	84
4,3	156	156	150	150	130	131	96	96	96	96	97	98	93	93	97	98	93	93	97	97	97
3,7	173	173	170	170	150	150	115	115	118	119	119	120	118	118	119	120	118	118	123	123	123
3,1	197	197	196	196	174	174	142	142	143	143	145	144	143	143	145	144	143	143	150	150	150
2,5	224	224	22	22	200	200	169	169	169	167	170	170	171	171	170	170	171	171	174	174	174
Nagib	34,17	34,17	36,33	36,33	37,67	32,14	31,29	30,81	29,67	28,24	30,95	29,57	38,33	38,33	32,57	32,57	38,33	38,33	32,81	32,81	32,81
Faktor regresije	0,9816	0,9816	0,9858	0,9858	0,9970	0,9721	0,9461	0,9375	0,9349	0,9266	0,9466	0,9349	0,9839	0,9839	0,9444	0,9444	0,9839	0,9839	0,9444	0,9444	0,9484

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

		E (meV)																	
		1. dan						2. dan											
		1. poliranje		2. poliranje		1. bez poliranja		1. poliranje		2. poliranje		3. poliranje		1. bez poliranja		2. bez poliranja			
1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.		
pLAC	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	
5,5	149	152	117	121	94	100	85	85	86	88	88	88	88	88	88	88	92	93	
4,9	147	151	119	123	105	110	85	85	93	93	89	89	89	90	90	90	95	95	
4,3	156	159	132	136	128	129	101	101	106	106	103	103	103	103	103	103	108	108	
3,7	175	176	156	157	151	152	121	121	123	123	120	120	120	127	127	127	128	128	
3,1	198	197	175	175	176	175	149	149	148	148	148	148	148	154	154	155	155	155	
2,5	214	212	203	202	198	198	174	174	173	173	176	176	176	180	180	178	178	178	
Nagib	29,33	26,67	29,62	27,071	36,00	33,71	37,67	37,67	29,38	28,90	30,19	30,19	30,19	32,19	32,19	30,00	30,00	29,76	
Faktor regresije	0,9834	0,9823	0,9459	0,9467	0,9906	0,9866	0,9891	0,9891	0,9592	0,9517	0,9275	0,9275	0,9275	0,9410	0,9410	0,9466	0,9466	0,9422	

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

	E (meV)																						
	1. dan									2. dan													
	1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			3. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja	
	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	
pIAC	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta
5,5	79	83	86	86	86	76	76	76	60	59	68	68	69	68	72	73	75	84	84	84	84	84	84
4,9	81	85	78	78	83	83	83	67	67	67	69	69	69	73	78	77	77	91	91	91	91	91	91
4,3	92	94	95	95	99	99	99	82	82	82	80	80	80	89	90	88	88	102	102	102	102	102	102
3,7	11	113	109	109	117	117	117	105	105	105	106	106	106	113	115	114	114	127	127	127	127	127	127
3,1	142	142	135	135	144	144	144	132	132	132	133	133	133	136	136	137	137	154	154	154	154	154	154
2,5	170	166	163	163	165	165	165	157	157	157	160	160	160	160	160	161	161	177	177	177	177	177	177
Nagib	31,29	28,81	27,14	27,14	30,76	30,76	30,76	33,48	33,71	32,29	32,05	32,05	32,05	30,43	32,76	30,29	32,33	32,22	32,22	32,22	32,22	32,22	32,22
Faktor regresije	0,9185	0,9188	0,8834	0,8834	0,9710	0,9710	0,9710	0,9659	0,9688	0,9292	0,9245	0,9245	0,9245	0,9678	0,9506	0,9421	0,9577	0,9577	0,9577	0,9577	0,9577	0,9577	0,9577

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

		E (meV)																							
		1. dan									2. dan														
		1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			3. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja		
1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.		
pIAC	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	
5,5	73	72	56	60	59	60	60	44	48	45	50	41	45	47	49	41	43	47	49	41	43	47	49	41	43
4,9	80	80	69	73	64	64	64	58	61	60	63	37	44	46	46	55	55	46	46	55	55	46	46	55	55
4,3	81	81	70	76	70	70	62	66	66	60	65	49	54	44	44	42	42	44	44	42	42	44	44	42	42
3,7	96	96	90	95	84	84	75	79	79	77	81	60	66	71	71	70	70	71	71	70	70	71	71	70	70
3,1	123	123	114	114	109	109	107	108	108	102	103	89	94	87	87	93	93	87	87	93	93	87	87	93	93
2,5	154	154	143	143	141	141	141	141	141	105	129	131	132	129	129	140	140	129	129	140	140	129	129	140	140
Nagib	26,14	26,38	28,10	26,53	27,38	27,14	30,71	29,48	29,48	26,67	25,29	38,00	36,00	45,17	45,17	52,83	52,83	45,17	45,17	52,83	52,83	45,17	45,17	52,83	52,83
Faktor regresije	0,8711	0,8769	0,9241	0,9387	0,9113	0,9065	0,9044	0,9125	0,9125	0,9316	0,9314	0,9182	0,9242	0,9672	0,9672	0,9743	0,9743	0,9672	0,9672	0,9743	0,9743	0,9672	0,9672	0,9743	0,9743

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

		E (meV)																										
		1. dan									2. dan																	
		1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			3. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja					
1.	3.	minuta	1.	3.	minuta	1.	3.	minuta	1.	3.	minuta	1.	3.	minuta	1.	3.	minuta	1.	3.	minuta	1.	3.	minuta	1.	3.	minuta		
pIAC	1.	3.	minuta	1.	3.	minuta	1.	3.	minuta	1.	3.	minuta	1.	3.	minuta	1.	3.	minuta	1.	3.	minuta	1.	3.	minuta	1.	3.	minuta	
5,5	60	63	95	97	112	112	112	118	117	117	119	123	144	140	143	144	144	148	143	144	149	149	149	149	149	149	149	
4,9	75	80	102	102	116	116	120	123	120	123	123	126	155	156	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170	170	
4,3	91	94	111	111	126	126	136	134	136	134	134	139	187	186	199	199	199	199	199	199	199	199	199	199	199	199	199	
3,7	103	104	121	121	138	138	140	146	140	146	146	155	186	186	199	199	199	199	199	199	199	199	199	199	199	199	199	
3,1	130	130	154	154	169	169	167	174	167	174	174	186	186	199	199	199	199	199	199	199	199	199	199	199	199	199	199	
2,5	154	156	191	191	204	204	190	208	190	208	208	215	215	224	224	224	224	224	224	224	224	224	224	224	224	224	224	
Nagib	30,81	29,76	30,76	30,29	30,05	30,05	24,29	24,05	24,29	29,52	29,05	40,67	37,50	27,10	27,10	27,10	27,10	27,10	27,10	27,10	27,10	27,10	27,10	27,10	27,10	27,10	27,10	
Faktor regresije	0,9799	0,9730	0,8843	0,8743	0,8897	0,8897	0,9234	0,9180	0,9234	0,9108	0,9011	0,9790	0,9703	0,9245	0,9245	0,9245	0,9245	0,9245	0,9245	0,9245	0,9245	0,9245	0,9245	0,9245	0,9245	0,9245	0,9245	0,9245

Tablica 20. Rezultati mjerenja za elektrodu 19 s izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje unjeravanja

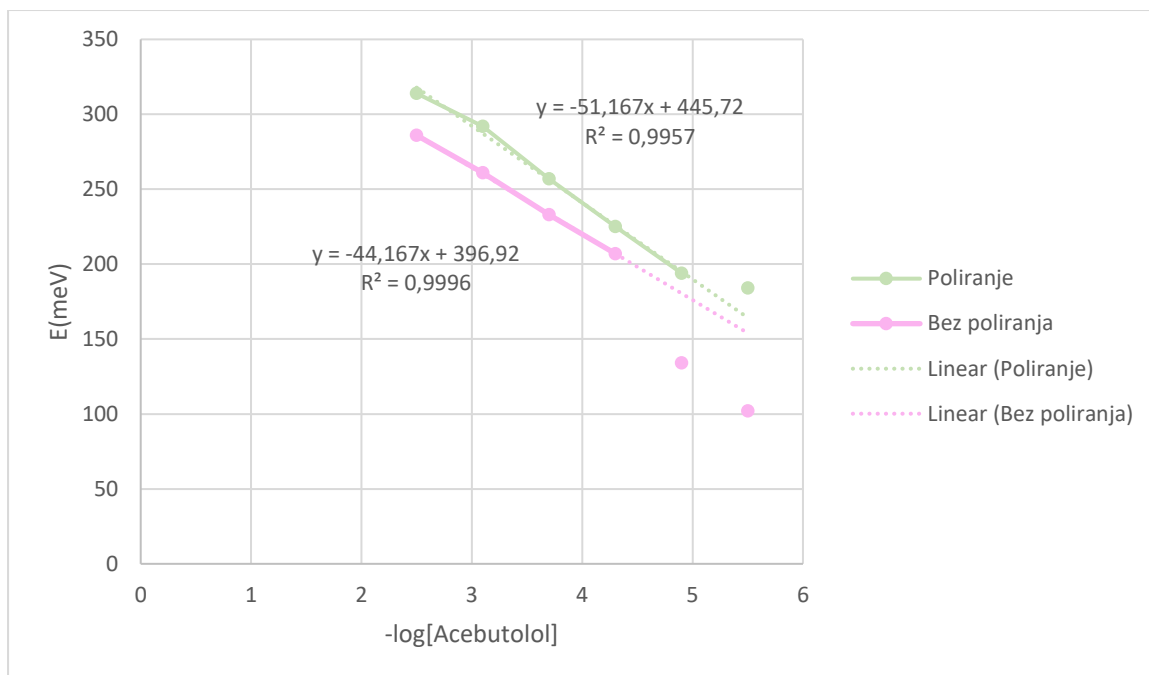
		E (meV)																						
		1. dan						2. dan																
		1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			3. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja	
1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	
minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta
pIAC	57	63	67	71	69	63	62	63	65	55	56	52	54	59	58	62	61	63	65	67	63	64	62	61
5,5	63	73	71	71	71	74	74	72	72	67	67	63	63	64	64	70	70	64	64	67	63	64	70	70
4,3	67	75	91	91	91	83	83	89	89	85	85	80	80	83	83	94	94	83	83	85	80	83	94	94
3,7	129	130	125	125	125	120	120	118	118	117	117	111	111	116	116	122	122	116	116	117	111	116	122	122
3,1	162	162	158	158	158	152	152	146	146	146	146	142	142	144	144	152	152	144	144	146	142	144	152	152
2,5	194	193	190	190	190	185	185	173	173	174	174	167	167	175	175	181	181	175	175	174	167	175	181	181
Nagib	49,71	46,29	43,33	42,86	42,86	41,95	42,19	38,14	37,67	41,14	40,90	40,14	39,67	40,62	40,86	41,38	41,62	40,62	40,86	41,14	40,14	40,62	41,38	41,62
Faktor regresije	0,9179	0,9257	0,9567	0,9179	0,9179	0,9497	0,9523	0,9727	0,9676	0,9786	0,9766	0,9753	0,9708	0,9622	0,9649	0,9776	0,9796	0,9622	0,9649	0,9786	0,9753	0,9708	0,9776	0,9796



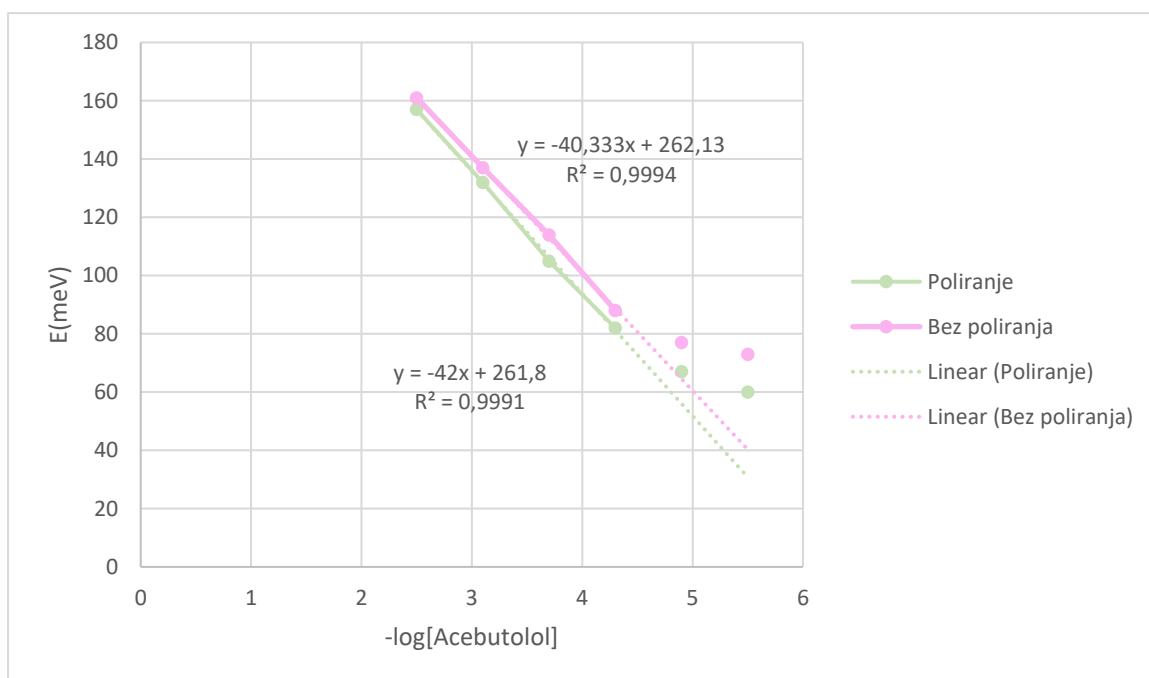
Tablica 21. Rezultati mjerenja za elektrodu 20 s izračunatim nagibom i faktorom regresije krivulje umjeravanja

	E (meV)																									
	1. dan									2. dan																
	1. poliranje			2. poliranje			1. bez poliranja			1. poliranje			2. poliranje			3. poliranje			1. bez poliranja			2. bez poliranja				
	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.	1.	3.		
	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	minuta	
pLAC	124	124	117	118	129	129	117	118	125	125	117	118	125	125	70	74	84	85	93	93	95	95	103	103	98	98
5,5	129	129	129	129	129	129	129	129	129	129	129	129	129	129	85	88	95	95	97	97	103	103	105	105	105	105
4,9	143	143	144	144	144	144	144	144	144	144	144	144	144	105	107	113	113	112	112	112	122	122	122	122	122	122
4,3	181	181	176	176	176	176	176	169	169	169	169	169	169	135	135	140	140	137	137	137	145	145	146	146	146	146
3,7	213	213	198	198	198	198	197	197	197	197	197	197	197	163	164	168	168	167	167	167	171	171	171	171	171	171
3,1	243	243	223	223	223	223	230	230	230	230	230	230	230	193	193	199	199	198	198	198	200	200	202	202	202	202
2,5	42,14	42,14	36,62	36,38	36,62	36,38	38,57	38,33	38,33	38,57	38,33	38,33	41,86	40,52	39,10	38,86	39,10	36,19	36,19	36,19	35,81	35,81	35,33	35,33	35,33	35,33
Nagib	0,9485	0,9485	0,9808	0,9788	0,9808	0,9788	0,9594	0,9565	0,9565	0,9594	0,9565	0,9565	0,9861	0,9835	0,9751	0,9729	0,9751	0,9454	0,9454	0,9454	0,9732	0,9732	0,9649	0,9649	0,9649	0,9649
Faktor regresije	0,9485	0,9485	0,9808	0,9788	0,9808	0,9788	0,9594	0,9565	0,9565	0,9594	0,9565	0,9565	0,9861	0,9835	0,9751	0,9729	0,9751	0,9454	0,9454	0,9454	0,9732	0,9732	0,9649	0,9649	0,9649	0,9649

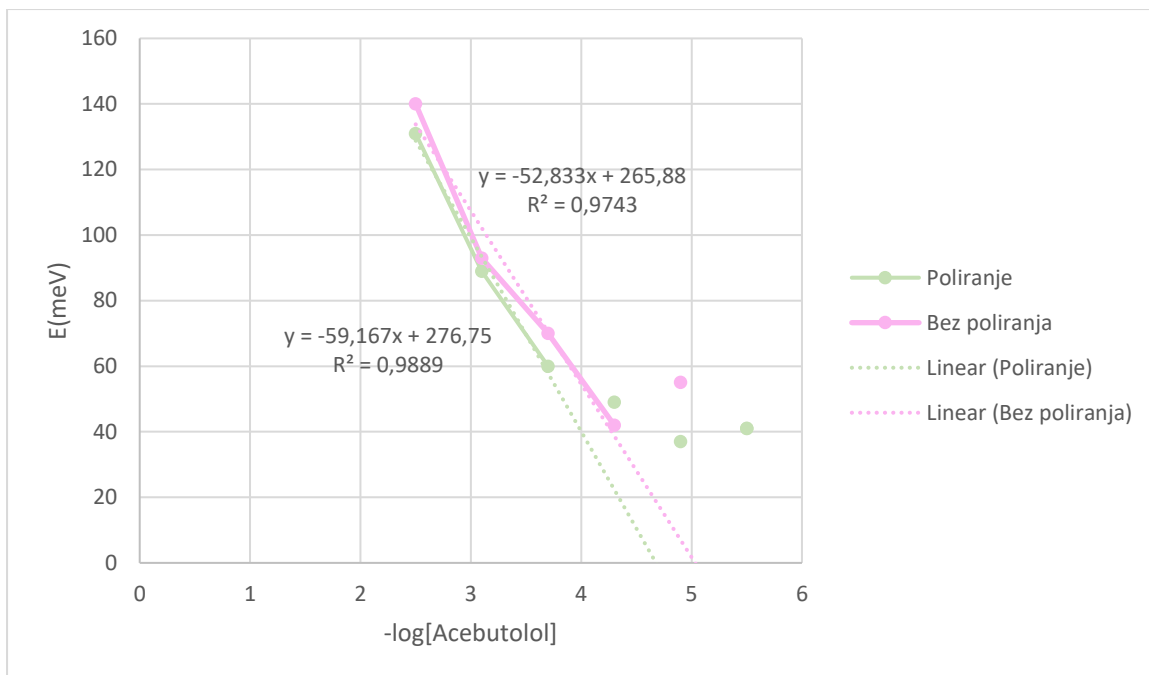
Na sljedećim grafovima prikazana je ovisnost promjene potencijala elektroda o negativnom logaritmu koncentracija radnih otopina za empirijski odabrane elektrode.



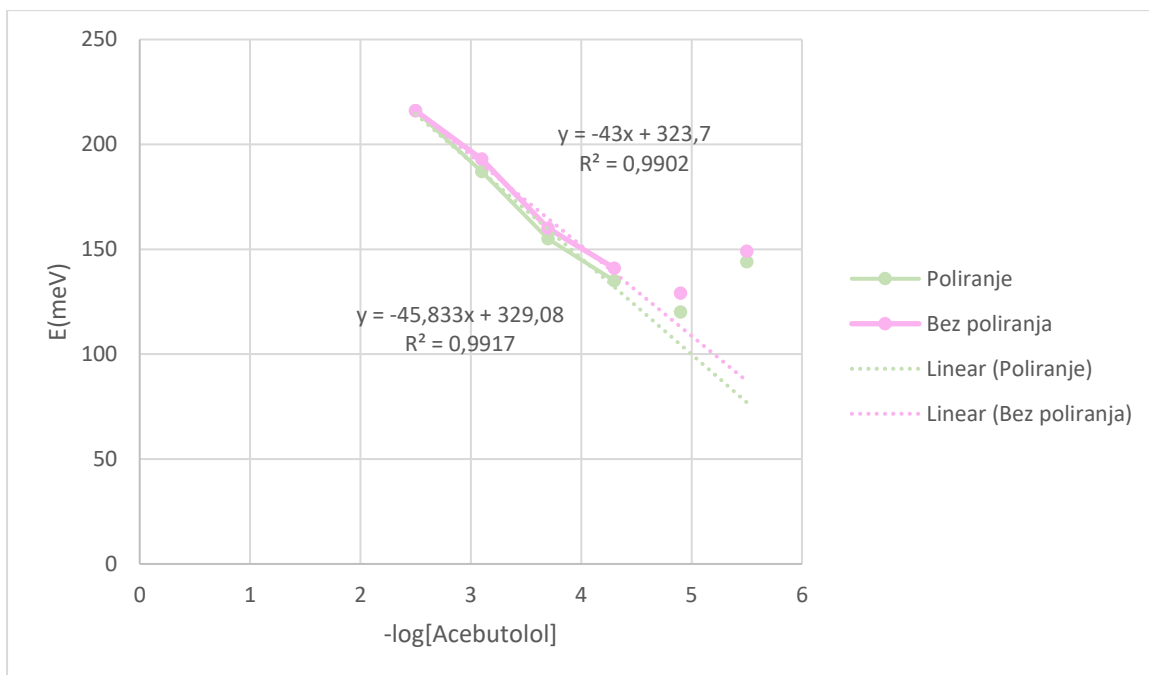
Graf 3. Ovisnost promjene potencijala elektrode 1 (AC-PTA) o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina acebutolola drugi dan nakon priprave paste



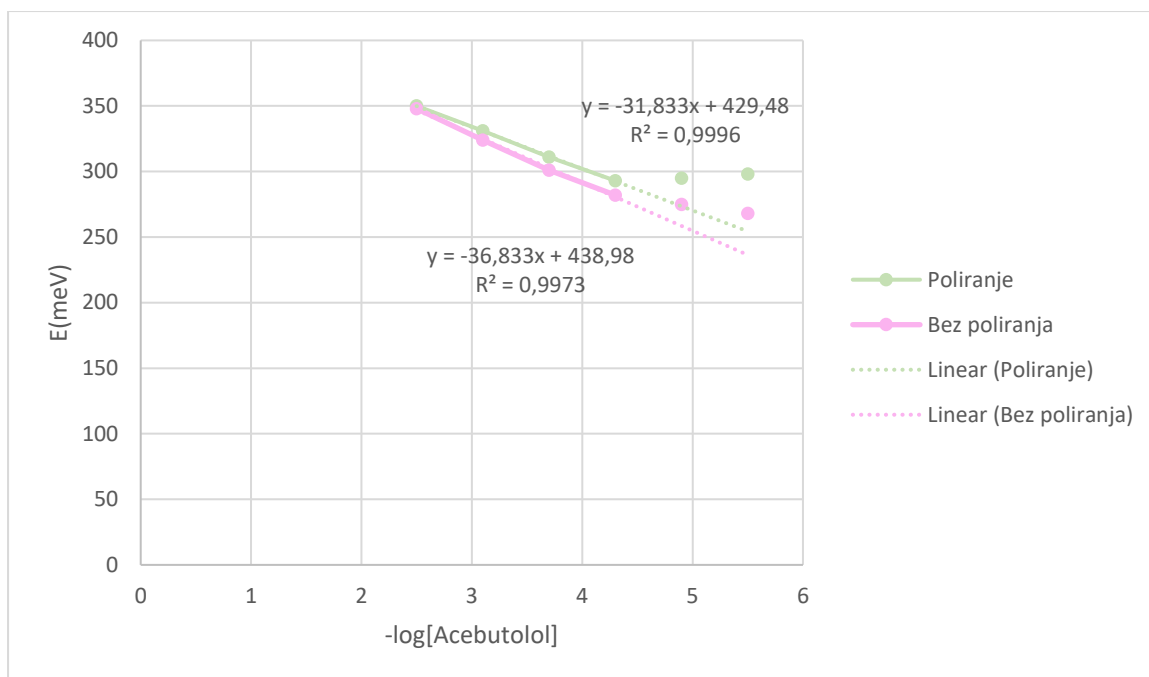
Graf 4. Ovisnost promjene potencijala elektrode 16 (AC-PTA) o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina acebutolola drugi dan nakon priprave paste



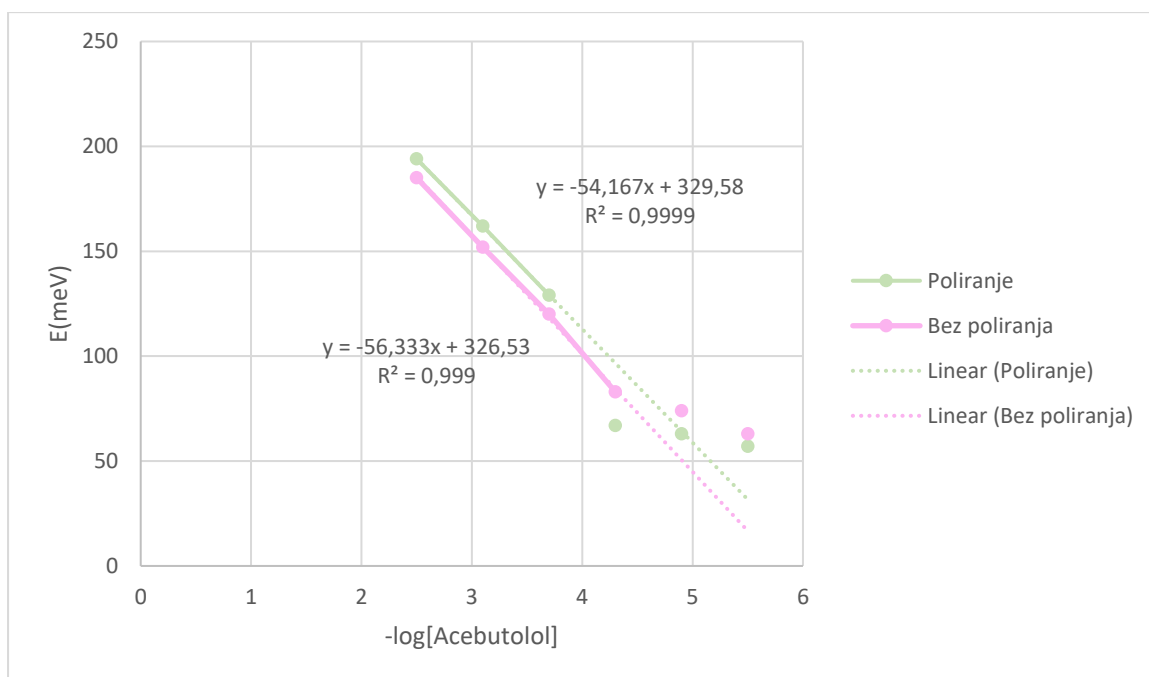
Graf 5. Ovisnost promjene potencijala elektrode 17 (AC-PTA) o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina acebutolola drugi dan nakon priprave paste



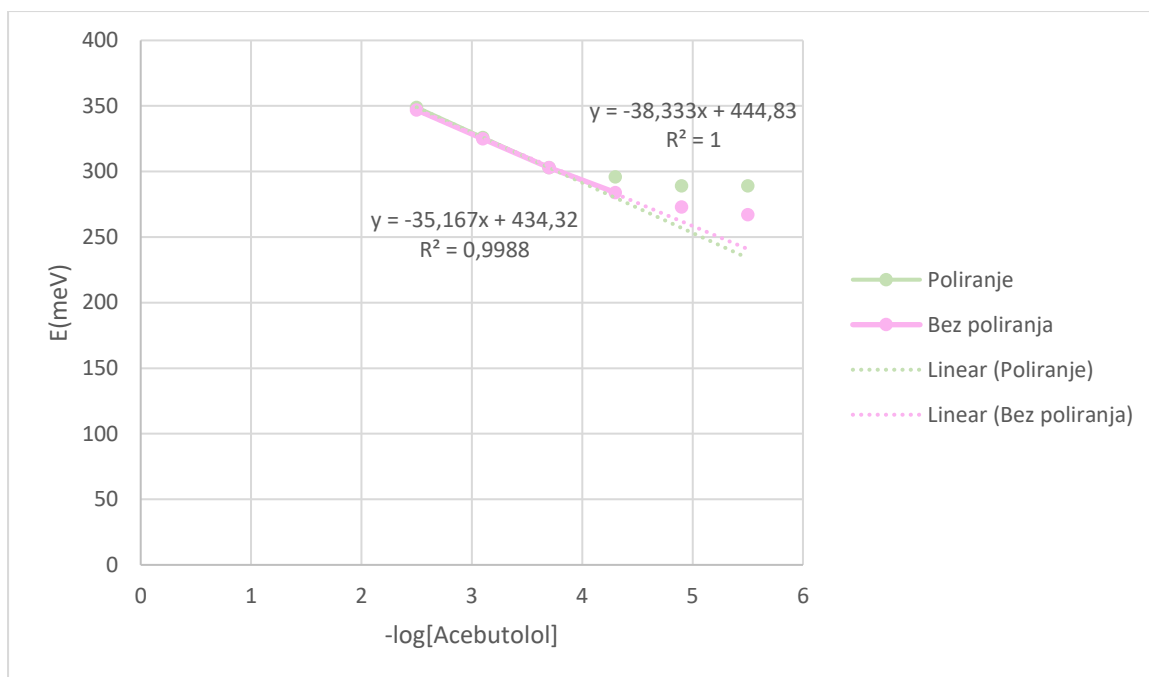
Graf 6. Ovisnost promjene potencijala elektrode 18 (AC-PTA) o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina acebutolola drugi dan nakon priprave paste



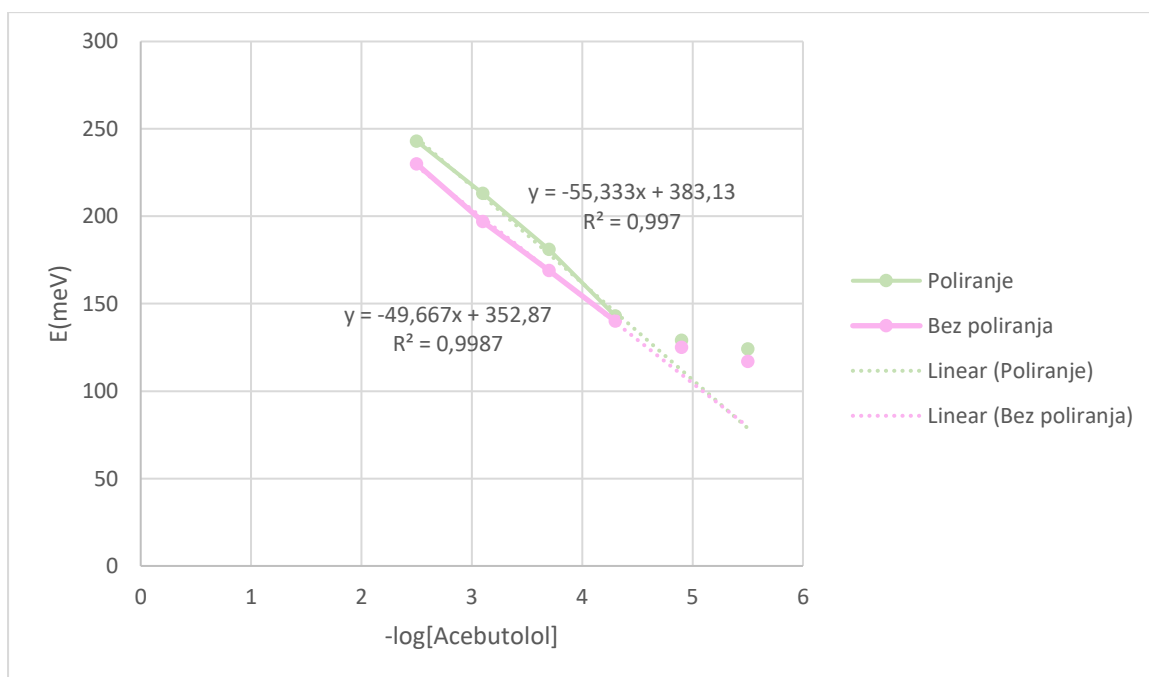
Graf 7. Ovisnost promjene potencijala elektrode 9 (AC-PMA) o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina acebutolola drugi dan nakon priprave paste



Graf 8. Ovisnost promjene potencijala elektrode 19 (AC-PMA) o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina acebutolola prvi dan nakon priprave paste



Graf 9. Ovisnost promjene potencijala elektrode 10 (AC-PMA) o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina acebutolola prvi dan nakon priprave paste



Graf 10. Ovisnost promjene potencijala elektrode 20 (AC-PMA) o negativnom logaritmu koncentracije radnih otopina acebutolola prvi dan nakon priprave paste

## 5. Rasprava

Zbog široke konzumacije raznih lijekova bilo je važno razviti brzu, isplativu, preciznu i točnu kvantitativnu metodu za njihovo određivanje u biološkim i farmaceutskim uzorcima. Po uzoru na mnogobrojne radove zaključilo se da je optimalno razviti elektrodu na bazi ugljika, pa se u ovom radu određivanje analita acebutolola, koji spada u skupinu kardiovaskularnih lijekova, baziralo na toj metodi. Takve elektrode se svrstavaju u ion-selektivne elektrode, njihov rad se bazira na pretvaranju afiniteta ciljanog analita u električni potencijal, kao mjerljivi signal.

Iz navedenih radova možemo zaključiti da odabir djelatne tvari i veziva ima snažan utjecaj na odgovor grafitne paste ( $CPE^{[25]-[32]}$ ). Karakteristike elektroda su se određivale mjerenjem potencijala otopina poznatih koncentracija. Membrane elektroda su se pripremale mijenjajući samo količinu i tip soli te ionsko-asocijacijski kompleks. Sve navedene membrane su sadržavale grafit, vezivo i ionsko-asocijacijski kompleks, a samo membrane 14, 15, 16, 17, 18, 19 i 20 sadrže dvije vrste ionskih aditiva (soli), NaTPB i TBATPB. Sve membrane su testirane u koncentracijskom području od  $3,16 \times 10^{-3}$  do  $3,16 \times 10^{-6}$  M, od niže prema višoj koncentraciji u acetatnom puferu (pH=4,5).

Za svaku membranu provedena su tri mjerenja u prvom danu, dva s poliranjem površine elektrode i jedan bez poliranja, i pet mjerenje u drugom danu, tri s poliranjem i dva bez poliranja. Prije mjerenja u pripremljenim otopinama elektroda se svaki put kondicionirala 10 minuta u acetatnom puferu. Mjerenje u otopinama je trajalo u većini slučajeva tri minute, osim ako u najrazrijeđenijim otopinama potencijal nije bio stabilan nakon 3 minute. Može se primijetiti da pri većim koncentracijama razlika potencijala u odzivu elektrode između prve i treće minute je sve manja odnosno ostaje ista. U ovom radu je provedeno 120 mjerenja, što je u konačnici rezultiralo pripravi potencijalnih membrana za kvantitativno određivanje acebutolola, koje se mogu u daljnjim istraživanjima usavršiti dodavanjem nanočestica kao što je to grafem.

Ovaj rad je baziran samo na dva IAC-a i dva tipa veziva iako je moguće napraviti još mnogo kombinacija membrana i veziva odnosno IAC-a. Grafitne membrane od 1 do 5 su sastavljene samo od kombinacije veziva DOP i ionsko-asocijacijskog kompleksa AC-PTA pri različitim masama IAC-a. Može se primijetiti da su Nernstovi nagibi bolji što je veća

masa AC-PTA-a, pa tako membrana 1, koja sadrži 0,0033 g IAC-a, daje nagib od 59,8, membrana 2 (0,0009 g) nagib od 48,5, membrana 3 (0,0003 g) nagib 39,0, dok membrana 4 i membrana 5 sadrže 0,0016 g i 0,0055 g AC-PTA-a, a Nernstovi nagibi im opadaju u usporedbi s membranama 1-3. Iz čega se može zaključiti da postoji gornja granica mase ionsko-asocijacijskog kompleksa koja se može dodati bez da nagib počne opadati. Treba naglasiti da neke membrane nisu imale jednako široko linearno dinamičko područje, već su pretežito bile manje selektivne pri nižim koncentracijama analita. Stoga su se u prikazanim grafovima i tablicama naznačile koncentracije koje ulaze u linearno dinamičko područje dajući u konačnici nagibe bliže teorijskom Nernstovom nagibu.

U membranama 6-7 je kombinacija veziva DOP s ionsko-asocijacijskim kompleksom AC-PMA, no njihovi rezultati su bili jako loši, dajući negativne Nernstove nagibe, što ukazuje na važnost kompatibilnosti samog veziva s ionsko-asocijacijskim kompleksom. Iako AC-PMA, u kombinaciji s vezivom DOP, nije davao dobre rezultate, kada se povezao s vezivom DBP pružio je mnogo bolje rezultate. Membrane 9-13 su stoga izrađene s različitim masama AC-PMA-a, od 0,0004 g do 0,0055 g, dajući nagibe u rasponu od 20 do 40.

Temeljem literaturnih podataka dodatak ionskih aditiva se dodavao u membrane koje su pokazale najbolje rezultate. Dodatkom 0,0003 g i 0,0001 g TBATPB i NaTPb u najbolju, membranu 1, njen nagib se nije značajno promijenio, a u slučaju TBATPB soli se čak i drastičnije smanjio. U daljnjim istraživanjima se koristio samo NaTPb kao ionski aditivi. Jedina takva membrana koja je pokazala poboljšani odziv je membrana 17 koja je sadržavala 0,003 g AC-PTA i 0,001 g NaTPb, njen maksimalni nagib se postigao u drugom danu mjerenja, drugo poliranje i iznosio je 52,8.

Modificirane membrane 9 i 10, koje su sadržavale kombinaciju DBP-a s AC-PMA-om su također istraživane. Izabrane su dvije takve membrane čiji je prosjek nagiba bio oko 20 (membrana 9 i membrana 10), te se u njih dodao NaTPb u masama od 0,0002 g i 0,0001 g. Te membrane su pokazale obećavajuće nagibe, pa je tako modificirana membrana 9 imala najbolji nagib od 49,7, dobiven u prvom danu i prvom poliranju, a modificirana pasta 10 nagib od 42,1, također dobiven u prvom danu i prvom poliranju. Dakle, ionski aditivi utječu na poboljšanje odzivnih karakteristika elektrode, no promjena potencijala po koncentracijskoj dekadi (nagib) još uvijek je niža od teoretskog (59 mV).

Usporedbom dobivenih rezultata s rezultatima iz dostupne literature<sup>[9]</sup>, pokazuje da opisane elektrode imaju lošije odzivne karakteristike kao i područje linearnosti od opisane elektrode na bazi PVC-a korištene za određivanje acetobutalola potenciometrijski.



## **6. Zaključak**

- Kombinacije veziva DOP i IAC-a AC-PTA daju bolje odzivne karakteristike, kao i kombinacija DBP i AC-PMA, dok DBP i AC-PTA daju jako loše odzive, što ukazuje na važnost odabira veziva.
- Stabilan potencijal se uspostavlja kod većine membrana u vremenu od 1 minute.
- Odabir ionskih aditiva je jako važan. Dodatak ionskih aditiva može značajno poboljšati nagibe.
- Nagib najbliži teorijskom je imala membrana 17 i iznosio je 52,8.

## 7. Literatura

- [1] Š. Mesarić and E. A. M. F. Dahmen, Ion-Selective Carbon-Paste Electrodes for Halides and Silver (I) Ions, *Anal. Chim. Acta* **64** (1973)
- [2] A. Nezamzadeh-Ejhieh and Z. Nematollahi, Surfactant modified zeolite carbon paste electrode (SMZ-CPE) as a nitrate selective electrode, *Electrochim. Acta* **56** (2011), doi: 10.1016/j.electacta.2011.07.013.
- [3] A. Nezamzadeh-Ejhieh and A. Esmaeilian, Application of surfactant modified zeolite carbon paste electrode (SMZ-CPE) towards potentiometric determination of sulfate, *Microporous Mesoporous Mat.* **147** (2012), doi: 10.1016/j.micromeso.2011.06.026.
- [4] F. R. Simões and M. G. Xavier, *Electrochemical Sensors*, *Nanosci. App.* (2017) pp. 155–177, doi: 10.1016/B978-0-323-49780-0/00006-5.
- [5] A. Dehnavi and A. Soleymanpour, New chemically modified carbon paste sensor for nanomolar concentration measurement of rifampicin in biological and pharmaceutical media, *Mater. Sci. Eng. C* **94** (2019), doi: 10.1016/j.msec.2018.09.052.
- [6] N. K. Bakirhan, B. Uslu, and S. A. Ozkan, Sensitive and Selective Assay of Antimicrobials on Nanostructured Materials by Electrochemical Techniques, *Nanostructures for Antimicrobial Therapy: Nanostructures in Therapeutic Medicine Series*, (2017), pp. 55–83. doi: 10.1016/B978-0-323-46152-8.00003-2.
- [7] M. Fallah, M. Rahimnejad, M. Asghary, and M. Mashkour, An electrochemical sensor based on a carbon paste electrode for the determination of busserelin, *Anal. Methods* **12** (2019), doi: 10.1039/c9ay01760g.
- [8] A. A. el hadi Ahmed, M. A. Korany, and M. M. Khalil, Electrochemical determination of verapamil hydrochloride using carbon nanotubes/TiO<sub>2</sub> nanocomposite based potentiometric sensors in surface water and urine samples, *Microchem. J.* **157** (2020), doi: 10.1016/j.microc.2020.104909.
- [9] F. M. Abdel-Haleem, S. Mahmoud, N. E. T. Abdel-Ghani, R. M. el Nashar, M. Bechelany, and A. Barhoum, Polyvinyl chloride modified carbon paste electrodes for sensitive determination of levofloxacin drug in serum, urine, and pharmaceutical formulations, *Sensors* **21** (2021), doi: 10.3390/s21093150.
- [10] N. v. Fares, P. M. Medhat, C. M. el Maraghy, S. Okeil, and M. F. Ayad, Influence of nitrogen-doped carbon dot and silver nanoparticle modified carbon paste electrodes on the potentiometric determination of tobramycin sulfate: A comparative study, *Chemosensors* **9** (2021), doi: 10.3390/chemosensors9030052.
- [11] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, and S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, (9) (2014) C. Simpson and A. Landsberg, Eds. Brooks/Cole, Cengage Learning
- [12] J. Koryta, *Ion-Selective Electrodes*, (1986) [Online]. Available: [www.annualreviews.org](http://www.annualreviews.org)
- [13] R. A. Durst, *Ion-Selective Electrodes*, (1969)
- [14] *Ionode Electrodes, Ion Selective Theory*
- [15] R. N. Adams, *Carbon Paste Electrodes*, *Anal. Chem.* (1958)

- [16] *A. Nezamzadeh-Ejhieh and N. Masoudipour*, Application of a new potentiometric method for determination of phosphate based on a surfactant-modified zeolite carbon-paste electrode (SMZ-CPE), *Anal. Chim. Acta* **658** (2010), doi: 10.1016/j.aca.2009.10.064.
- [17] *I. Švancara, K. Vytras, J. Barek, and J. Zima*, Carbon paste electrodes in modern electroanalysis, *Crit. Rev. Anal. Chem.* **31** (2001), doi: 10.1080/20014091076785.
- [18] *S. B. Hočevár and B. Ogorevc*, Preparation and characterization of carbon paste micro-electrode based on carbon nano-particles, *Talanta* **74** (2007), doi: 10.1016/j.talanta.2007.10.007.
- [19] *A. Borghesi and G. Guizzetti*, Graphite (C), *Handbook of Optical Constants of Solids*, (1998) pp. 449–460. doi: 10.1016/b978-0-08-055630-7.50029-8.
- [20] *J. C. Slonczewski and P. R. Weiss*, Band structure of graphite, *Phys. Rev.* **109** (1958), doi: 10.1103/PhysRev.109.272.
- [21] *H. Lipson and A. R. Stokes*, The Structure of Graphite, *Proc. Math. Phys. Eng. Sci. P ROY SOC A-MATH PHY* **181** (1942), doi: 10.1098/rspa.1942.0063.
- [22] *N. Maleki, A. Safavi, and F. Tajabadi*, High-Performace Carbon Composite Electrodes Based on an Ionic Liquid as a Binder, *Anal. Chem* **78** (2006), doi: 10.1021/ac060070.
- [23] *S. M. Saadeh, H. M. A. Shawish, H. M. Dalloul, N. M. EL-Halabi, and B. K. Daher*, Lead(II) complexes with some SNO and ONO tridentate schiff base ligands and their evaluation as lead(II) sensors, *Mater. Sci. Eng. C* **32** (2012), doi: 10.1016/j.msec.2012.01.001.
- [24] *U. Behrens, F. Hoffmann, and F. Olbrich*, Solid-state structures of base-free lithium and sodium tetraphenylborates at room and low temperature: Comparison with the higher homologues MB(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub> (M = K, Rb, Cs), *Organometallics* **31** (2012), doi: 10.1021/om200943n.
- [25] *H. Bahramipur and F. Jalali*, Sensitive determination of paracetamol using a graphene-modified carbon- paste electrode, *AJPP* **6** (2012), doi: 10.5897/ajpp12.212.
- [26] *N. A. Alarfaj and M. F. El-Tohamy*, Construction and validation of new electrochemical carbon nanotubes sensors for determination of acebutolol hydrochloride in pharmaceuticals and biological fluids, *JCCS* **61** (2014), doi: 10.1002/jccs.201300552.
- [27] *A. F. Khorshid and Y. M. Issa*, Modified carbon paste sensor for the potentiometric determination of neostigmine bromide in pharmaceutical formulations, human plasma and urine, *Biosens. Bioelectron.* **51** (2014), doi: 10.1016/j.bios.2013.07.018.
- [28] *M. M. Khater, H. B. Hassib, Y. M. Issa, and S. H. Mohammed*, Surface morphology changes of polymer membrane and carbon paste sertraline sensors, *Talanta* **134** (2015), doi: 10.1016/j.talanta.2014.11.018.
- [29] *H. M. Abu Shawish, K. I. Abed Almonem, S. M. Saadeh, and W. S. Al-Lham*, Determination of haloperidol drug in ampoules and in urine samples using a potentiometric modified carbon paste electrode, *Measurement* **78** (2016), doi: 10.1016/j.measurement.2015.10.008.
- [30] *H. M. Abu Shawish, M. Elhabiby, H. S. Abu Aziz, S. M. Saadeh, and A. Tbaza*, Determination of Trihexyphenidyl hydrochloride drug in tablets and urine using a potentiometric carbon paste electrode, *Sens. Actuators, B: Chem.* **235** (2016), doi: 10.1016/j.snb.2016.05.058.
- [31] *Issa Yousry M, Hussein M Abdel-Fattah, and Nahla B Abdel-Moniem*, CPE potentiometry DOXYCYCLINE aditiv ionopho, *Drug Deliv.* **02** 2016.

- [32] *S. F. Rassi*, Chemically modified carbon paste ion-selective electrodes for determination of atorvastatin calcium in pharmaceutical preparations, *Anal. Chem. Res.* **12** (2017), doi: 10.1016/j.ancr.2017.06.001.
- [33] *J. Fischer and C. R. (C. R. Ganellin)*, Analogue-based drug discovery. Wiley-VCH, (2006) pp. 212-214. ISBN: 3-527-31257-9
- [34] *Foster T Robert and Carr A Robert*, Acebutolol, Faculty of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences University of Alberta Edmonton, Alberta, CANADA. pp. 1–26 (1990) doi: 10.1016/S0065-2377(08)60212-4.