

# Razvoj nove ionsko-selektivne elektrode na bazi paste od ugljikovog materijala za potenciometrijsko određivanje djelatne tvari farmaceutika

---

Radić, Josip

Doctoral thesis / Disertacija

2024

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:167:610076>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-02**

Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U SPLITU  
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

Josip Radić

**Razvoj nove ionsko-selektivne elektrode  
na bazi paste od ugljikovog materijala za  
potenciometrijsko određivanje djelatne tvari  
farmaceutika**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Split, 2022.

UNIVERSITY OF SPLIT  
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY

Josip Radić

**Development of a new ion-selective  
carbon paste electrode for the potentiometric  
determination of active pharmaceutical  
ingredient**

DOCTORAL THESIS

Split, 2022.

SVEUČILIŠTE U SPLITU  
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

Josip Radić

**Razvoj nove ionsko-selektivne elektrode  
na bazi paste od ugljikovog materijala za  
potenciometrijsko određivanje djelatne tvari  
farmaceutika**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentorica:

doc. dr. sc. Maša Buljac

Komentor:

prof. dr. sc. Mitja Kolar

Split, 2022.

UNIVERSITY OF SPLIT  
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY

Josip Radić

**Development of a new ion-selective  
carbon paste electrode for the potentiometric  
determination of active pharmaceutical  
ingredient**

DOCTORAL THESIS

Supervisor:

Assistant Professor Maša Buljac, Ph.D.

Co-supervisor:

Full Professor Mitja Kolar, Ph.D.

Split, 2022.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

Kandidat Josip Radić, mag. chem. predao je 25. veljače 2022. doktorsku disertaciju izrađenu pod mentorstvom doc. dr. sc. Maše Buljac s Kemijsko-tehnološkog fakulteta Sveučilišta u Splitu i komentorstvom prof. dr. sc. Mitje Kolara s *Fakulteta za kemiju in kemijsko tehnologiju Univerza v Ljubljani*.

Povjerenstvo u sastavu:

Prof. dr. sc. Josipa Giljanović, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu;

Prof. dr. sc. Marija Bralić, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu;

Prof. dr. sc. Tomislav Bolanča, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

povoljno je ocijenilo disertaciju, a Fakultetsko vijeće Kemijsko-tehnološkog fakulteta Sveučilišta u Splitu je na svojoj 26. sjednici održanoj dana 13. travnja 2022. prihvatilo ocjenu i odobrilo obranu pred povjerenstvom u istom sastavu.

Obrana disertacije održana je dana 28. travnja 2022.

Dekan:

Prof. dr. sc. Matko Erceg

UDK: 544.6.076.327(043.3)

543.554(043.3)

Znanstveno područje: prirodne znanosti

Znanstveno polje: kemija

Znanstvena grana: analitička kemija

Institucija: Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, Zavod za kemiju okoliša

Voditelji rada: doc. dr. sc. Maša Buljac, mentorica; prof. dr. sc. Mitja Kolar, komentor

Broj stranica: 135

Broj slika: 36

Broj tablica: 24

Broj literaturnih referenci: 243

Datum obrane: 28. travnja 2022.

Sastav povjerenstva za obranu:

Prof. dr. sc. Josipa Giljanović, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu;

Prof. dr. sc. Marija Bralić, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu;

Prof. dr. sc. Tomislav Bolanča, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu.

Rad je pohranjen u:

Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu, Ruđera Boškovića 35;

Sveučilišnoj knjižnici u Splitu, Ruđera Boškovića 31;

Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Ulica Hrvatske bratske zajednice 4.

Tema rada prihvaćena je na 14. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta Sveučilišta u Splitu održanoj dana 18. lipnja 2021. godine.



*Zahvaljujem se mentorici doc. dr. sc. Maši Buljac na stručnom vodstvu tijekom mog studiranja na poslijediplomskom sveučilišnom studiju, ukazanom povjerenju u odabiru i realizaciji mojih znanstveno-istraživačkih aktivnosti kao i korisnim savjetima prilikom izrade doktorske disertacije.*

*Želim se zahvaliti i predstojnici Zavoda za kemiju okoliša prof. dr. sc. Mariji Bralić na poticanju i prenesenom znanju tijekom našeg zajedničkog rada, te svakako na utrošenom vremenu i pokazanoj pažnji prilikom pregleda disertacije.*

*Za financijsku potporu u nabavki potrebnih kemikalija, dozvoljenu mi apsolutnu samostalnost te još i više za omogućen razvoj vlastitih ideja, ali uz naše iscrpne rasprave vezane za dobivene rezultate eksperimentalnih mjerenja veliko hvala komentoru prof. dr. sc. Mitji Kolaru koji me je u startu kupio svojom jednostavnošću i običnošću, a potom i znanjem te koji nikad nije dozvolio da se osjećam znanstveno mu nedoraslim.*

*Hvala izv. prof. dr. sc. Boštjanu Genoriju na pomoći u početnom dijelu mog eksperimentalnog rada vezanog za sintezu pa potom i karakterizaciju materijala, a posebno na vedrom raspoloženju koje mi je tako bilo potrebno u prvim tjednima mojih znanstvenih istraživanja u Ljubljani.*

*Stručnom, tehničkom i pomoćnom osoblju Katedre za analitičku kemiju hvala na ljubaznosti i susretljivosti tijekom mojih aktivnosti na Fakultetu za kemiju i kemijsku tehnologiju Sveučilišta u Ljubljani.*

*Hvala laborantici gđi. Marici Mijić na obzirnosti tijekom mog znanstveno-istraživačkog rada i pisanja ove disertacije kao i kolegicama i kolegama s Kemijsko-tehnološkog fakulteta koje sam kontaktirao vezano za nomenklaturu kemijskih spojeva.*

*Zahvaljujem i prof. dr. sc. Vesni Sokol, voditeljici poslijediplomskog sveučilišnog studija Kemija mediteranskog okoliša na jednostavnosti, brzini i ekspeditivnosti u rješavanju svih pitanja iz tekuće problematike.*

*Mojoj supruzi Maji hvala na svakoj riječi podrške, iskazane hrabrosti, poticaja, a ponajviše ljubavi posebno u razdobljima kada u ovoj priči sve i nije baš bilo obojano ružičastim tonovima.*

*Tatinom suncu, mjesecu, radosti, pjesmi i veselju, tatinoj snazi, ljubavi, tatinom ostvarenju snova, životu, mojoj Kati, hvala na svakom osmjehu, zagrljaju, poljupcu, svakoj upućenoj mi riječi i izrečenoj misli, svakoj razigranosti, nestašluku...*

*Ovu disertaciju kao plod predanog samostalnog rada i velikog odricanja, ponajviše u dijelu odvojenosti od obitelji, posvećujem upravo njima, mojim dvjema ljubavima i nadolazećem članu naše sretne obitelji – još jednom našem zlatu...*

*Hvala mojim i Majinim roditeljima kao i mojoj sestri kako na brizi i pažnji, tako i svim onim riječima potpore. S druge pak strane bratova ispunjenost obitelji i uspjehom je ono što nadahnjuje.*

*Dragoj Suzy iskazujem zahvalnost na ustupljenom prekrasnom smještaju u Domžalama, a u spomen na meni nikad zaboravljenog Mirana.*

*I za kraj, hvala svim mojim prijateljima kao i svima onima koje nisam spomenuo, a koji su izravno ili neizravno, skupa sa mnom i mojim najbližima koračali ususret ovom uspjehu.*

## SAŽETAK

U ovoj disertaciji opisan je detaljan tijek razvoja ionsko-selektivnog potenciometrijskog senzora na bazi paste od ugljikovog materijala za određivanje antimuskarinskog lijeka triheksifenidila. Osmišljeno je i u laboratoriju izrađeno tijelo elektrode kojim je omogućen niz mjerenja uz minimalnu potrošnju kemikalija koje sačinjavaju membranu.

Pripravljeno je i testirano 235 membrana prosječne mase  $101,6 \pm 7,9$  mg. Kao optimalna pokazala se membrana pripravljena od 40,6% grafita, 45,0% dibutilftalata kao veziva, 10,2% triheksifenidilovog tetrafenilborata kao ionsko-asocijacijskog kompleksa, 0,3% natrijevog tetrafenilborata kao ionskog aditiva te 3,9% reduciranog grafenovog oksida prethodno sintetiziranog iz grafita kao polazišnog materijala, a potom i karakteriziranog različitim analitičkim tehnikama. Pod optimiziranim eksperimentalnim uvjetima, elektroda je ostvarila Nernstovu promjenu potencijala od  $58,9 \pm 0,2$  mV po dekadi promjene koncentracije uz koeficijent regresije od 0,9992. Pokazala je dobru selektivnost i ponovljivost, brzo vrijeme odziva (unutar 5 s) kao i širok raspon linearnog dinamičkog područja od  $4,0 \times 10^{-7}$  do  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>. Donja granica dokazivanja iznosi  $2,5 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. Elektroda je primjenjiva u pH području od 2,4 do 5,2, a vrijeme života joj iznosi 19 dana.

Analitičke primjene pripravljene kemijski modificirane elektrode na bazi paste od ugljikovog materijala dale su jako dobra iskorištenja u rasponu od 96,8 do 101,7% što ovu elektrodu svrstava u koristan analitički alat za brzo, jeftino i jednostavno određivanje triheksifenidila u čistim otopinama, otopinama farmaceutika odnosno u ljudskom urinu uz minimalnu predobradu uzorka.

Razvijen je opći matematički model za metodu standardnog dodatka u potenciometriji prikazan segmentnim oblikom jednadžbe pravca.

**Ključne riječi:** elektrode na bazi paste od ugljikovog materijala, triheksifenidil, reducirani grafenov oksid, metoda standardnog dodatka u potenciometriji

## SUMMARY

This dissertation analyzes the detailed course of development of an ion-selective potentiometric sensor based on a carbon paste electrode for the determination of the antimuscarinic drug trihexyphenidyl. An electrode body, which enables a series of measurements with minimal consumption of chemicals that make up the membrane, was designed and made in the laboratory.

235 membranes with an average mass of  $101.6 \pm 7.9$  mg were prepared and tested. A membrane prepared from 40.6% graphite, 45.0% dibutyl phthalate as a binder, 10.2% trihexyphenidyl-tetraphenylborate as ion-associated complex, 0.3% sodium tetraphenylborate as an ionic additive and 3.9% reduced graphene oxide previously synthesized from graphite as a starting material, and then characterized by various analytical techniques, proved to be optimal. Under optimized experimental conditions, the electrode achieved a Nernst potential change of  $58.9 \pm 0.2$  mV per concentration decade with a regression coefficient of 0.9992. It showed good selectivity and repeatability, fast response time (within 5 s) as well as a wide linear dynamic range from  $4.0 \times 10^{-7}$  to  $1.0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>. The lower limit of detection is  $2.5 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. The electrode is applicable in the pH range from 2.4 to 5.2, and its lifetime is 19 days.

Analytical applications of prepared chemically modified carbon paste electrode gave a very good recovery in the range of 96.8 to 101.7%, which makes this electrode a useful analytical tool for fast, cheap and easy determination of trihexyphenidyl in pure solutions, pharmaceutical suspensions and in human urine with minimal sample pretreatment.

A general mathematical model presented by the intercept form of equation of a line has been developed within the standard addition method in potentiometry.

**Key words:** carbon paste electrodes, trihexyphenidyl, reduced graphene oxide, standard addition method in potentiometry

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. OPĆI DIO</b> .....	<b>3</b>
2.1. Struktura i osobine ugljika i njegovih alotropskih modifikacija.....	3
2.2. Grafitov i grafenov oksid .....	6
2.1.1. Metode redukcije grafenovog oksida .....	7
2.3. Kemijski senzori i njihove odlike .....	10
2.4. Potencimetrija kao jedna od osnovnih elektrokemijskih tehnika.....	12
2.4.1. Izravna potencimetrija.....	15
2.4.2. Metoda standardnog dodatka u potencimetriji .....	16
2.4.3. Potencimetrijska titracija.....	17
2.4.4. Metode određivanja koeficijenta selektivnosti u potencimetrijskim mjerenjima.....	19
2.5. Indikatorske elektrode .....	22
2.5.1. Ionsko-selektivne (membranske) elektrode.....	22
2.6. Ionsko-selektivne elektrode s pastom na bazi ugljika.....	28
2.6.1. Komponente, priprava, vrste i fizikalno-kemijska svojstva CPE...	30
2.7. Analitičke tehnike i metode .....	33
2.7.1. Ramanova spektroskopija.....	34
2.7.2. Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR).....	35
2.7.3. Pretražna elektronska mikroskopija (SEM) .....	35
2.7.4. Brunauer-Emmett-Tellerova (BET) metoda .....	37
2.7.5. CHN elementna analiza.....	38
2.7.6. Istovremena termogravimetrijska i masena analiza (TGA/MS)....	38
2.7.7. Rendgenska difrakcijska analiza (XRD) .....	40
2.7.8. Spektrometrija masa uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS) .	41
2.7.9. Rendgenska fotoelektronska spektroskopija (XPS) .....	41
2.8. Triheksifenidil kao ispitivani analit .....	42
2.9. Literaturni pregled primjene elektroda na bazi ugljikovog materijala..	43
<b>3. METODIKA</b> .....	<b>48</b>
3.1. Sinteza reduciranog grafenovog oksida .....	50
3.1.1. Oksidacija grafita .....	50
3.1.2. Gašenje reakcije (eng. <i>quenching a reaction</i> ) .....	51
3.1.3. Ispiranje .....	52
3.1.4. Liofilizacija .....	53
3.1.5. Redukcija GO .....	53

3.2.	Postupci, metode i tehnike karakterizacije sintetiziranog materijala ....	53
3.3.	Priprava otopina za taloženje ionsko-asocijacijskog kompleksa .....	55
3.4.	Priprava otopina za potenciometrijska mjerenja .....	59
3.5.	Priprava otopina za ispitivanje utjecaja pH na potencijal elektrode .....	60
3.6.	Priprava otopina interferirajućih vrsta .....	60
3.7.	Dizajniranje i laboratorijska izrada tijela za elektrode na bazi paste od ugljikovog materijala .....	61
3.8.	Priprava elektroda na bazi ugljikove paste.....	62
3.9.	Korištena aparatura za potenciometrijska mjerenja .....	69
3.10.	Ispitivanja odzivnih karakteristika pripremljenih elektroda.....	70
3.11.	Analitička primjena .....	71
3.11.1.	Priprava otopina realnih uzoraka.....	71
3.11.2.	Izvod segmentnog oblika jednadžbe pravca u metodi standardnog dodatka u potenciometriji.....	72
3.11.3.	Primjena potenciometrijske titracije.....	76
<b>4.</b>	<b>REZULTATI I RASPRAVA .....</b>	<b>78</b>
4.1.	Interpretacija analiza sintetiziranih materijala .....	78
4.2.	Optimizacija sastava membrane određivanjem odzivnih karakteristika	84
4.2.1.	Utjecaj masenog udjela veziva na konzistentnost paste i odziv membrane .....	85
4.2.2.	Utjecaj elektroaktivne tvari i vrste veziva na odziv membrane .....	87
4.2.3.	Utjecaj dodatka ionskog aditiva na odziv membrane.....	97
4.2.4.	Utjecaj dodatka reduciranog grafenovog oksida na odziv membrane .....	101
4.2.5.	Utjecaj dodatka grafitovog oksida na odziv membrane .....	104
4.3.	Ostali validacijski parametri optimizirane CMCPE.....	108
4.3.1.	Utjecaj pH na odzivne karakteristike elektrode .....	108
4.3.2.	Vrijeme odziva i ponovljivost .....	109
4.3.3.	Vrijeme života elektrode .....	111
4.3.4.	Selektivnost elektrode .....	112
4.4.	Primjena optimizirane CMCPE u kvantitativnoj analizi THP-a u čistim otopinama i realnim uzorcima.....	113
<b>5.</b>	<b>ZAKLJUČAK .....</b>	<b>117</b>
<b>6.</b>	<b>LITERATURA .....</b>	<b>119</b>

## 1. UVOD

Početak šezdesetih godina prošlog stoljeća, nakon otkrića da neki antibiotici poput valinomicina, monensina i nonaktina selektivno vežu određene ione poput kalija, natrija i amonijaka,<sup>[1]</sup> primjetan je sve veći interes znanstvene zajednice za razvoj ionsko-selektivnih elektroda<sup>[2]</sup> (ISE, eng. *ion-selective electrodes*) kao elektrokemijskih ionskih senzora koji pretvaraju aktivitet ciljnog iona u električni potencijal kao mjerljivi signal.<sup>[3]</sup> ISE su kemijski senzori s možda i najdužom povijesti istraživanja od onih koji se koriste u komercijalne svrhe.<sup>[4]</sup> Imaju vrlo širok spektar primjene bilo da se radi o kliničkoj, industrijskoj odnosno ekološkoj analizi. Koriste se u analitičkoj kemiji zbog svoje jednostavnosti izvedbe i mjerenja, relativno niske cijene, kraćeg vremena analize u odnosu na druge tehnike, te primjenjivosti na složene uzorke bez kompleksne prethodne obrade. Ubrajaju se u jednu od najzelenijih analitičkih tehnika s obzirom na malu potrošnju otapala.

Jedan od puteva u razvoju ISE za određivanje djelatne tvari farmaceutika je ugradnja kompleksa povezanog s lipofilnim ionskim parom u membranu od poli(vinil-klorid) odnosno u pastu na bazi ugljikovog materijala. Uspoređujući ih, membrane na bazi poli(vinil-klorida) imaju nekoliko nedostataka, kao što su ispiranje plastifikatora i membranskih ionofora, odnosno problem apsorpcije vodene otopine od strane membrane.

Razvoj ISE s pastom na bazi ugljikovog materijala (CPE, eng. *carbon paste electrodes*),<sup>[5]</sup> privukao je sedamdesetih godina prošlog stoljeća značajni interes znanstvene zajednice ponajviše jer iste nude nekoliko prednosti u odnosu na konvencionalne membranske elektrode, uključujući: jednostavnu obnovljivost površine elektrode, kemijsku inertnost, stabilan i brzi odziv, jednostavnost kemijske ili biološke modifikacije, nisku omsku otpornost, ekološku prihvatljivost i netoksičnost te čvrsti unutarnji kontakt. Uz sve nabrojano, relativno su jednostavne i jeftine za pripremu budući da su CPE smjesa grafitnog praha, elektroaktivnog materijala i prikladnog neprovodljivog tekućeg veziva, uz dodatak ugljikovih nanomaterijala kao novog trenda u razvoju istih.

U elektrokemijskim mjerenjima, reducirani grafenov oksid (rGO) široko je korištena komponenta zbog svoje jednostavne sinteze, visoke električne vodljivosti, male težine, velike specifične površine i mehaničke čvrstoće te kemijske stabilnosti. Iako ima slična svojstva, u usporedbi s grafenom, znatno je jeftiniji, a nedvojbeno je vodljiviji od

grafitovog oksida (GO) i kao takav je najprikladniji izbor za primjenu u elektrokemijskim mjerenjima.

Triheksifenidil (THP) se prema Anatomsko-terapijsko-kemijskoj klasifikaciji lijekova koju propisuje Svjetska zdravstvena organizacija ubraja u lijekove s djelovanjem na živčani sustav. Koristi za liječenje ukočenosti, tremora, grčeva kao i slabe kontrole mišića, a ponajviše za liječenje Parkinsonove bolesti. Njegova terapijska važnost dovela je do razvoja nekoliko analitičkih metoda za njegovo određivanje i dokazivanje, kako u farmaceuticima, tako i u tjelesnim tekućinama. Međutim, u dostupnoj literaturi pronađen je svega jedan znanstveni članak za određivanje THP-a pomoću CPE.<sup>[6]</sup> Čak štoviše, prema istoj još nije razvijen ni jedan senzor za određivanje THP-a koji sadrži bilo koju vrstu nanomaterijala.

Ova doktorska disertacija opisuje razvoj i primjenu modificirane CPE za selektivno i osjetljivo potenciometrijsko određivanje THP-a u čistim otopinama, farmaceutskim (tablete Parkopan) i biološkim uzorcima (urin).

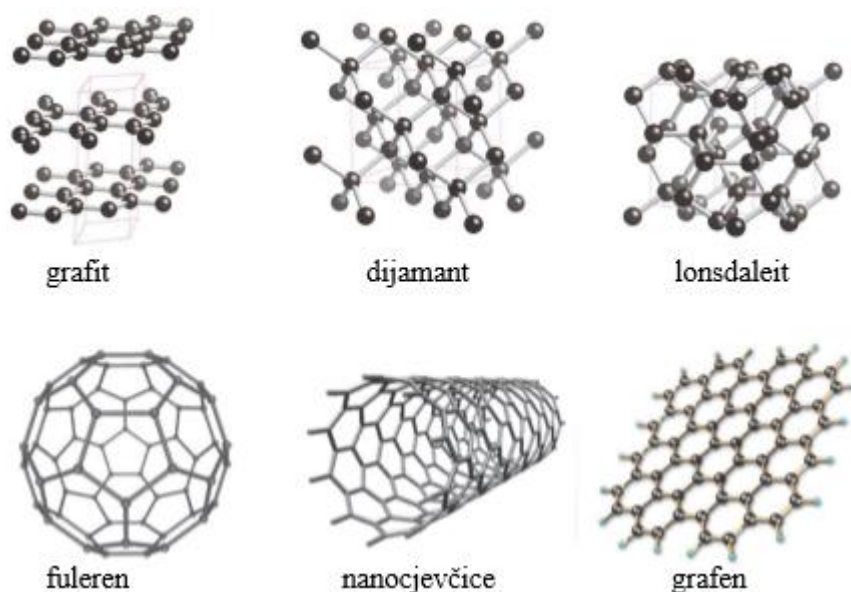


## 2. OPĆI DIO

### 2.1. Struktura i osobine ugljika i njegovih alotropskih modifikacija

Ugljik predstavlja osnovnu građevnu jedinicu svih organskih molekula i kao takav odgovoran je za postojanje života na zemlji. On je šesti element u periodnom sustavu. U osnovnom atomskom stanju, 6 elektrona ugljika se nalaze u konfiguraciji  $1s^2 2s^2 2p^2$ . Znači, 2 elektrona popunjavanju unutrašnju ljusku  $1s$  koja se nalazi najbliže jezgri i koja ne utječe na kemijske reakcije. Preostala 4 elektrona zauzimaju vanjsku ljusku u kojoj su  $2s$  i  $2p$  orbitale.

Ugljik ima veliki broj alotropskih modifikacija (grafit, dijamant, lonsdaleit, fuleren, ugljikove nanocjevčice, grafen i dr. – slika 1) i sve one imaju različite fizičke, kemijske i morfološke osobine uslijed različite atomske strukture i različitog međusobnog načina vezivanja atoma ugljika.

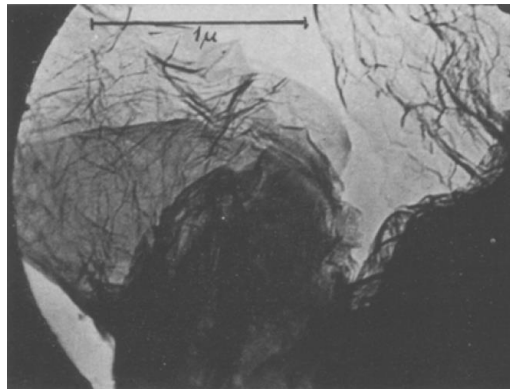


**Slika 1.** Strukture nekih alotropskih modifikacija ugljika<sup>[7]</sup>

Grafit je poznat još od 16-og stoljeća kada je otkriven u jednom rudniku u Velikoj Britaniji. Ima planarnu (slojevit), heksagonalnu  $sp^2$  hibridiziranu strukturu. Između slojeva grafita prevladavaju slabe van der Waalove veze duljine 0,335 nm koje omogućavaju susjednim slojevima grafita da „klize“ jedan preko drugog. Svaki atom ugljika povezan je jakom kovalentnom vezom duljine 0,142 nm s tri susjedna ugljikova atoma istog sloja grafita. Ta duljina predstavlja prosjek između duljine jednostruke (C–C) i dvostruke (C=C) kovalentne  $\sigma$  veze. Kut između veza iznosi  $120^\circ$ . Grafit ima svojstva

metala i nemetala, sjajne je sivkasto-crne boje, mekan, cijepa se uz visoki tlak, neelastičan, posjeduje visoku toplinsku i električnu vodljivost te je gotovo inertan u kontaktu s bilo kojim drugim materijalom. Prirodni grafit većinom sadrži druge minerale pa često nije pogodan za korištenje u analitičke svrhe. Sintetski grafit, čistoće iznad 99%, nastaje zagrijavanjem tvari kao što su nafta i ugljen na temperaturama u rasponu 2500-3000 °C odnosno kada se uklone sve hlapive komponente i mnogi metali iz sirovine.

Kanadski fizičar Wallace 1947. godine privukao je pažnju znanstvene zajednice kada je svojim izračunima predstavio teoriju da je grafit uslijed svoje vodljivosti, zasigurno građen od vrlo tankih slojeva.<sup>[8]</sup> Već sljedeće godine Ruess i Vogt objavljuju prvi prikaz nekoliko tankih slojeva grafita (slika 2) snimljen transmisivskim elektronskim mikroskopom (TEM).<sup>[9]</sup>



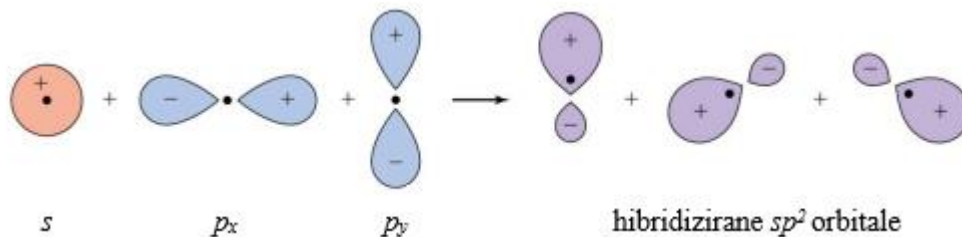
**Slika 2.** TEM prikaz nekoliko tankih slojeva grafita<sup>[9]</sup>

Grupa znanstvenika 1962. godine izolirala je monosloj grafita<sup>[10]</sup> koji je prethodno reduciran hidrazinom. Tom otkriću tada se u znanstvenoj zajednici nije pridavala neka velika važnost pa su u idućih 25 godina nastavljeni isključivo teorijska istraživanja grafita, odnosno njegovog monosloja kao osnovne građevne jedinice. Pojam grafen uveden je prvi put tek 1987. godine<sup>[11]</sup> i tada započinju intenzivna istraživanja. Znanstvenici Geim i Novoselov su prvi koji su uopće uspjeli izolirati grafen iz grafita, a to su 2004. godine postigli mikromehaničkom eksofolijacijom (tzv. metodom „ljepljive trake“).<sup>[12]</sup>

Grafen je, dakle, materijal koji se sastoji isključivo od atoma ugljika smještenih u heksagonalnu dvodimenzionalnu kristalnu rešetku.<sup>[13]</sup> Debljina takve makromolekule je samo jedan atom, dok joj površina, može biti nekoliko kvadratnih metara zbog čega je grafen tipični predstavnik nove skupine materijala koji se nazivaju dvodimenzionalnim (2D). Jake kemijske veze između atoma ugljika osiguravaju mu termodinamičku

stabilnost zbog čega je mehanički i kemijski postojan čak i ukoliko je izložen atmosferi u standardnim uvjetima. Na zraku je otporan na oksidaciju i pri temperaturi od 200 °C.

Za sve ugljikove nanomaterijale karakteristična je  $sp^2$  hibridizacija (slika 3) koja nastaje miješanjem jedne  $s$ -orbitale i dvije  $p$ -orbitale pri čemu se nastale  $sp^2$  hibridne orbitale nalaze u istoj ravnini pod kutom od 120° te imaju trećinu energije  $s$ -orbitale i dvije trećine energije  $p$ -orbitale.



**Slika 3.** Shematski prikaz  $sp^2$  hibridizacije

Dakle, u grafenu su tri elektrona vezana sa susjednim atomima, dok je četvrti elektron relativno slabo vezan te se može slobodno kretati. Iz navedenog, jasno je zašto grafen vodi električnu struju čak 1000 puta bolje nego bakar, dok je mehanički 1000 puta čvršći od čelika. Vodljivost topline grafena bolja je od vodljivosti topline dijamanta. Neotrovan je, elastičan, sa specifičnom površinom od 2630 m<sup>2</sup>/g.<sup>[14]</sup> Kada se uz sva navedena njegova svojstva pridoda još i optička prozirnost, elastičnost te široko područje primjene u senzorima, baterijama, nanokompozitima, superkondenzatorima i dr. razumljivo je zašto je Geimu i Novoselovu 2010. godine dodijeljena Nobelova nagrada za fiziku za doprinos u istraživanju grafena kao jednog od najzanimljivijih materijala za primjenu u elektrokemijskim sustavima.<sup>[15]</sup> Njihova istraživanja<sup>[13]</sup> predstavljaju znanstvenu revoluciju u punom smislu te riječi, a grafen kao takav zauzeo je mjesto „nove zvijezde“ elektrokemije<sup>[16]</sup> uslijed već navedenih izvrsnih mehaničkih, električnih, toplinskih i optičkih svojstava. Može se proizvesti prethodno navedenom mikromehaničkom eksofolijacijom<sup>[12]</sup>, epitaksijalnim rastom<sup>[17]</sup>, kemijskom depozicijom iz parne faze<sup>[18,19]</sup> te redukcijom grafen oksida<sup>[20]</sup>. Iako se uz prve tri metode može dobiti grafen relativno savršene strukture i izvrsnih svojstava, iste nisu široko primjenjivane. Razlog tome je što u usporedbi s njima metoda redukcije grafenovog oksida ima dvije iznimno važne karakteristike:<sup>[21]</sup>

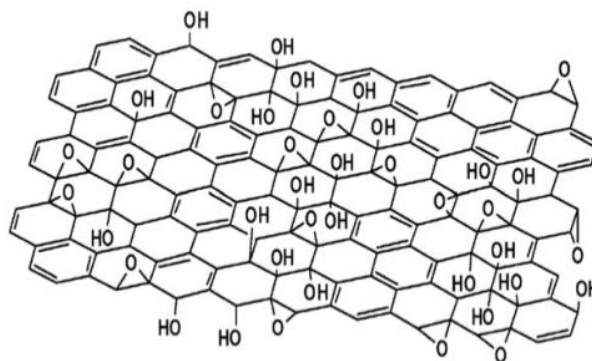
- a) kao prekursor u sintezi GO koristi se jeftini grafit te ekonomične kemijske metode s visokim prinosima (posebno kemijska redukcija)

b) GO je visoko hidrofilan i kao takav može tvoriti stabilne vodene koloide.

## 2.2. Grafitov i grafenov oksid

Grafitov oksid je krutina građena od atoma ugljika, vodika i kisika. Svojom slojevitom strukturom sličan je grafitu. Ono što ih najviše razlikuje je to što ravnina ugljikovih atoma u oksidu sadrži razne funkcionalne skupine kisika koje se prilikom oksidacije vežu na dvodimenzionalnu ugljikovu strukturu i koje slojeve čine hidrofilnijima te posljedično povećavaju razmak između njih,<sup>[22]</sup> a što nije slučaj kod grafita.

Grafitov oksid poznat je još od sredine devetnaestog stoljeća, pa su tijekom godina postavljeni mnogi modeli njegove strukture. U onome koji se uzima kao polazišno točan navodi se da se u strukturi grafitovog oksida nalaze listovi međusobno povezani van der Waalsovima. Na bazalnoj plohi (listu) prisutne su hidroksilne i epoksidne funkcionalne skupine kao dominantne (slika 4). Uz njih se mogu detektirati i karboksilne skupine na rubnim dijelovima listova kao i defekti u unutrašnjosti strukture. Također, u vrlo malom obimu uočena je i prisutnost petero- i šestero-članih laktola, kao i estera i tercijarnih alkohola.<sup>[23]</sup>



**Slika 4.** Lerf-Klinovski model grafitovog (grafenovog) oksida s dominantnim funkcionalnim skupinama<sup>[24]</sup>

Kako je grafitov oksid važan prekursor u sintezi grafena, kao i odlična platforma za raznorazne derivate i kompozitne materijale, tijekom godina su razvijene mnoge metode za njegovu sintezu, od kojih su svaka u svom razdoblju ostavile trag. Temeljene su uglavnom na oksidaciji grafita u smjesi jakih kiselina s kalijevim kloratom (Brodieva, Staudenmaierova, Hofmannova) ili permanganatom (Hummersova).<sup>[25]</sup> Kao nedostatak, važno je napomenuti da ovim sintezama nastaju eksplozivni ( $\text{ClO}_2$ ) odnosno toksični ( $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$ ) plinovi. Modificiranom Hummersovom metodom s fosfatnom kiselinom, a

bez korištenja  $\text{NaNO}_3$ , ostvaren je viši prinos, jednostavnija sinteza te je spriječen nastanak štetnih i opasnih plinova kao nusprodukata.<sup>[26]</sup> Slojevi tako sintetiziranog grafitovog oksida dalje mogu biti raslojeni mehaničkim miješanjem ili ultrazvukom pri čemu se u strukturi zadržavaju funkcionalne skupine kisika. Ako raslojeni listovi sadrže samo jedan ili nekoliko slojeva ugljikovih atoma, ti listovi se nazivaju grafenov oksid koji je za razliku od grafena topljiv u vodi i nekim drugim otapalima zbog prisutnosti kisikovih funkcionalnih skupina (bitno za poboljšavanje svojstava polimernih kompozita na bazi grafena). Raslojavanje grafitovog oksida često posljedično dovodi do strukturnih defekata tj. loma listova grafitovog oksida, odnosno do defekata unutar  $sp^2$  hibridizirane strukture ( $sp^3$  hibridizacije) koji onda ovakav materijal čine nevodljivim. Ovako pripremljen materijal može se (elektro)kemijskim, (hidro)termalnim odnosno mikrovalnim putem dijelom reducirati u grafen (reducirani grafenov oksid).<sup>[25,27–29]</sup> Uklanjanjem kisikovih skupina i eliminacijom defekata unutar strukture odnosno njenim oporavkom dolazi do značajnih promjena u svojstvima ovog materijala koji postaje ponovno hidrofoban i vodljiv kao i polazni (grafit), ali s mnogo boljim karakteristikama koje ga zbog relativno jednostavne sinteze, male težine, spomenute visoke električne vodljivosti, visoke mehaničke čvrstoće, velike specifične površine te kemijske stabilnosti klasificiraju kao široko korištenu komponentu u elektrokemijskim mjerenjima.<sup>[30–34]</sup> Međutim, zbog velike specifične površine reducirani grafenov oksid (rGO) ima tendenciju formiranja nepovratnih aglomerata. Utjecaj tog nepovoljnog procesa se može znatno umanjiti vezivanjem određenih stabilizatora na listove rGO.<sup>[35–37]</sup>

### 2.1.1. Metode redukcije grafenovog oksida

Kako je već i navedeno, cilj redukcije GO je eliminacija funkcionalnih skupina prethodno oksidiranog grafita te popravak strukturnih defekata unutar  $sp^2$  hibridizirane strukture. Odnos ugljika i kisika u GO varira ovisno o načinu sinteze, stupnju oksidacije i varijacijama u uvjetima sinteze, a najčešće je u omjeru između 4:1 i 2:1.<sup>[38,39]</sup> U prosjeku, maseni udio kisika u GO je oko 30%.<sup>[40]</sup> Redukcija GO se usmjerava na funkcionalne skupine vezane za bazalnu plohu budući da one znatno više utječu na provodnost rGO od onih koje su vezane za rubove plohe.<sup>[25]</sup> Uklanjanjem epoksidnih funkcionalnih skupina na bazalnoj plohi, a koje su stabilnije od hidroksilnih uslijed viših energija vezanja, prethodno će doći i do eliminacije hidroksilnih skupina. Posljedično dolazi do porasta omjera ugljika prema kisiku u rGO na približno 12:1.<sup>[41,42]</sup> Grupa autora navodi da je

nakon redukcije koju su proveli, ostvaren omjer ugljika prema kisiku u iznosu 246:1.<sup>[43]</sup> Najčešće korištene metode redukcije grafenovog oksida su: termalna, hidrotermalna, elektrokemijska i kemijska redukcija.<sup>[24]</sup>

Termalna redukcija GO jednostavan je postupak zagrijavanja GO u inertnoj atmosferi. Postupno smanjenje mase u termogravimetrijskoj analizi ukazuje na razgradnju funkcionalnih skupina i pretvaranje GO u rGO.<sup>[40]</sup> Brzim zagrijavanjem GO (iznad  $2000\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ) dolazi do raslojavanja grafitnog oksida u grafen. Naime, pri visokoj temperaturi dolazi do raspada kisikovih funkcionalnih skupina, a nastali ugljikov (II) odnosno ugljikov (IV) oksid stvaraju vrlo visok tlak između slojeva što rezultira ekspanzijom materijala. Proračuni pokazuju da se pri 300 i 1000 °C na površini grafena stvara tlak od 40 odnosno 130 MPa.<sup>[40]</sup> Međutim, kako je tlak od samo 2,5 MPa dovoljan za odvajanje dva susjedna sloja GO<sup>[44]</sup> jasno je da ovaj postupak otkriva i neke nedostatke budući da uslijed mnogo višeg rezultirajućeg tlaka od potrebnog dolazi do usitnjavanja ploha kao i gubitka planarne strukture.<sup>[45]</sup>

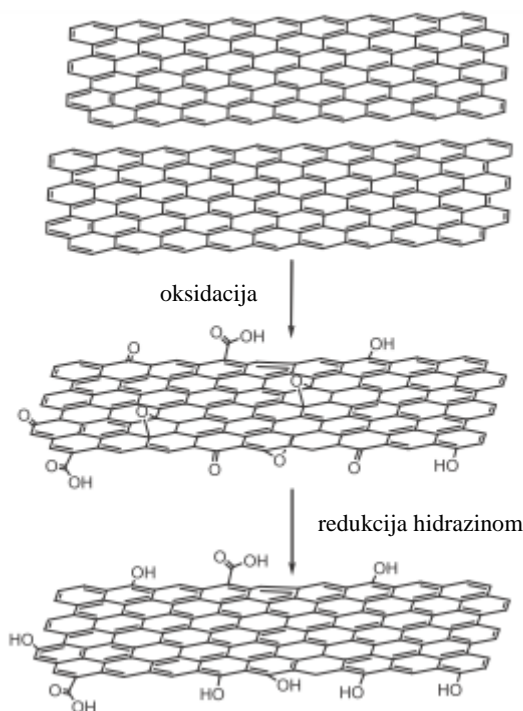
Hidrotermalna redukcija se vrši u temperaturnom intervalu od 200 do 2000 °C u inertnoj atmosferi u otapalu u zatvorenom reaktoru<sup>[46]</sup> na način da povećanjem tlaka sustava, otapalo stalno ostaje u kapljevitom stanju čak i ako se zagrijava iznad temperature ključanja.<sup>[47]</sup> Najčešće korišteno otapalo u ovom procesu redukcije je voda s obzirom na njenu ekološku prihvatljivost, široku dostupnost i netoksičnost. Solvotermalna redukcija podrazumijeva korištenje nevodnih otapala kao i otapala u ili blizu superkritičnih uvjeta. Nedostatak ove metode je neizbježna eliminacija i dijela ugljikovih atoma iz strukture GO.<sup>[48]</sup> Dvije grupe autora izvještavaju o proizvodnji vrlo kvalitetnog rGO pri relativno niskoj temperaturi od 180 °C,<sup>[49,50]</sup> dok treća grupa autora predlaže metodu redukcije koja se vrši pri 140 °C i istu predlažu za komercijalnu proizvodnju rGO hidrotermalnim postupkom.<sup>[51]</sup>

Elektrokemijskom redukcijom izbjegava se korištenje toksičnih, agresivnih i ekološki neprihvatljivih reagensa.<sup>[27]</sup> Uz navedeno ovom redukcijom uočljiv je manji broj defekata u strukturi. Princip ove vrste redukcije je izmjena elektrona na površini elektrode te nastajanje tankog filma rGO na katodi nakon što se ciljano narine određeni potencijal. Zhou i suradnici navode da je elementna analiza rGO pokazala omjer ugljika i kisika u iznosu 23,9 uz vrijednost provodljivosti reduciranog materijala oko  $85\text{ S cm}^{-1}$ .<sup>[52]</sup> Glavni nedostatak elektrokemijske redukcije je nemogućnost komercijalne proizvodnje rGO.

Kemijska redukcija GO uglavnom se provodi na temperaturama do oko 100 °C i pri atmosferskom tlaku uz cijenom široko dostupne reagense. Kao takva pogodna je za proizvodnju većih količina rGO. Ova redukcija se temelji na kemijskoj reakciji GO i pogodnog reducensa od kojih su najkorišteniji hidrazin hidrat,<sup>[53,54]</sup> metalni hidridi (NaBH<sub>4</sub>, LiAlH<sub>4</sub>, NaH),<sup>[53–55]</sup> askorbinska kiselina,<sup>[56,57]</sup> jodovodična kiselina i dr.

Redukcija hidrazin hidratom (slika 5) provodi se dodatkom istog vodenoj disperziji GO. Rezultirajući proizvod je crni prah rGO električne provodljivosti do najviše 99,6 S cm<sup>-1</sup>. Uočeno je da redukcijom hidrazinom nastaju defekti unutar strukture reduciranog materijala<sup>[56]</sup> kao i da dobiveni slojevi rGO aglomeriraju uslijed smanjene hidrofilnosti zbog eliminiranja velikog dijela atoma kisika pa kao takvi kroz van der Waalsove interakcije utječu na jedinstvena svojstva, a koja bi imao svaki pojedinačni sloj rGO.<sup>[55]</sup> Iako je redukcijom askorbinskom kiselinom dobiven rGO nešto niže provodljivosti (do 77 S cm<sup>-1</sup>) u odnosu na redukciju hidrazin hidratom, zbog njene netoksičnosti i antioksidativnih karakteristika za ljudsko zdravlje kao i zbog toga što ovim načinom dobiveni listovi rGO ne aglomeriraju, askorbinska kiselina može poslužiti kao idealna zamjena za hidrazin.<sup>[56,58]</sup> Još nižu provodljivost pokazuje rGO dobiven redukcijom uz pomoć natrij borovog tetrahidrida kojim se najučinkovitije reduciraju karbonilne skupine, a nešto lošije epoksidne i karboksilne. Međutim, hidroksilne skupine gotovo u potpunosti zaostaju u proizvodu nakon redukcije. Što se tiče redukcije jodovodičnom kiselinom dvije grupa autora<sup>[59,60]</sup> navode da provodljivost tako sintetiziranog materijala iznosi 300 S cm<sup>-1</sup> uz ovom redukcijom ostvarenu veću elastičnost listova u usporedbi s bilo kojom drugom provedenom metodom kemijske redukcije. Međutim grupa autora 2018. godine<sup>[61]</sup> nakon redukcije grafita jodovodičnom kiselinom navodi provodljivost rGO od samo 51,5 S cm<sup>-1</sup>.

U posljednjih desetak godina od ostalih reagensa kojima se vrši redukcija GO sve zanimljiviji su oni okolišno prihvatljivi kao što su malatonin,<sup>[62]</sup> fenolni spojevi iz ekstrakta lista masline odnosno otpadnih voda iz mlina prilikom obrade maslina,<sup>[63]</sup> aminokiselina cistein,<sup>[64]</sup> tripeptid glutation,<sup>[65]</sup> galna kiselina,<sup>[66]</sup> tanin,<sup>[67]</sup> ekstrakt ulja palminog lista<sup>[68]</sup> i mnogi drugi.<sup>[69,70]</sup>



**Slika 5.** Oksidacija grafita u grafenov oksid i redukcija hidrazinom do reduciranog grafenovog oksida<sup>[54]</sup>

### 2.3. Kemijski senzori i njihove odlike

Prema IUPAC-u kemijski senzor je definiran kao uređaj koji može određenu kemijsku informaciju pretvoriti u analitički signal odnosno neku drugu mjerljivu veličinu (jakost struje, apsorbanacija, potencijal i dr.)<sup>[71,72]</sup> koja se dalje može lako obrađivati. Svi kemijski senzori u sebi neizostavno sadrže aktivnu tvar (receptor) koja je osjetljiva na određenu kemijsku vrstu, te pretvornik signala, koji ima ulogu preoblikovanja signala u mjerljivu vrijednost koja se potom očitava na mjernom uređaju<sup>[71]</sup> (slika 6).

Najvažnije odlike dobrog kemijskog senzora su:<sup>[73]</sup>

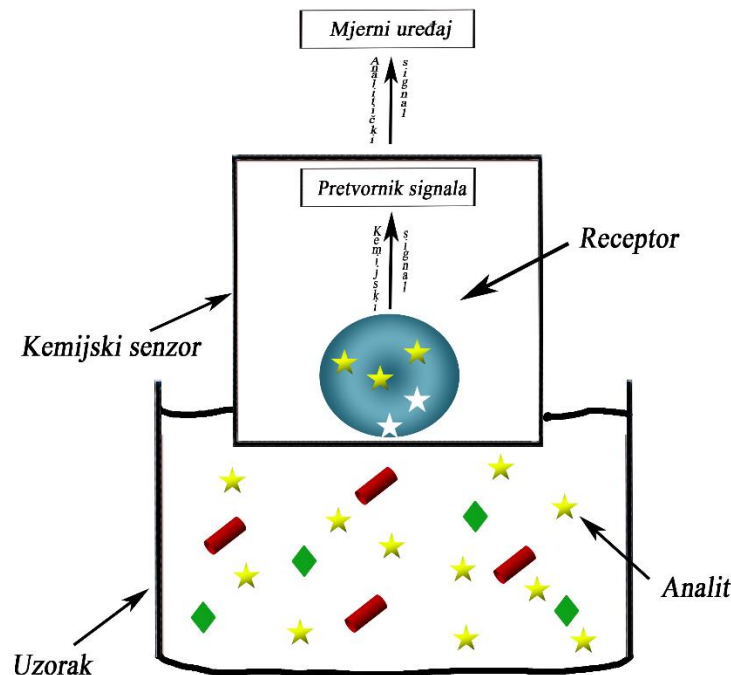
- selektivnost – predstavlja sposobnost senzora da razvije signal na samo jedan ciljani analit, odnosno sposobnost senzora da slični analiti ne daju istovjetne signale;
- preciznost - predstavlja mjeru podudaranja rezultata dobivenih mjerenjem iz istog uzorka, a iskazuje se kao standardno odnosno relativno standardno odstupanje;
- točnost – predstavlja razliku izmjerene i prave vrijednosti, a provjerava se usporedbom rezultata dobivenih mjerenjem iz uzorka s rezultatima dobivenih



mjerenjem iz referentnog materijala ili analizom rezultata dobivenih pomoću propisane standardne metode;

- mjerno područje – predstavlja područje koje se nalazi između najviše i najniže vrijednosti neke mjerne veličine unutar kojeg se precizno i točno može odrediti analit;
- linearnost – predstavlja proporcionalnu ovisnost signala (rezultata dobivenih mjerenjem) o nekoj mjernoj veličini (najčešće koncentraciji analita) unutar mjernog područja;
- granica dokazivanja – predstavlja najmanju moguću koncentraciju analita koju senzor može detektirati, ali ne i kvantitativno odrediti;
- granica određivanja – predstavlja najmanju moguću koncentraciju analita koja se može kvantitativno odrediti;
- vrijeme odziva – predstavlja vremenski interval između početka mjerenja i uspostave stabilnog signala.

Uz sve navedeno, poželjno je da je izrada kemijskog senzora relativno jeftina, da je jednostavan za korištenje, pogodan za višekратно korištenje kao i da se može reciklirati.



Slika 6. Shematski prikaz kemijskog senzora

Prema principu rada kemijski senzori se mogu podijeliti na: elektrokemijske (temelje se na mjerenju promjene električnih svojstava koje nastaju kao posljedica elektrokemijske reakcije analita s elektrodom), električne (temelje se na mjerenju promjene električnih svojstava koje nisu nastale kao posljedica kemijske reakcije analita s elektrodom), masene (temelje se na pretvaranju promjene mase u signal), optičke (temelje se na detektiranju promjene optičkih svojstava kao posljedice interakcije s analitom) i ostale senzore (temelje se na detektiranju promjene drugih fizikalnih veličina).<sup>[74]</sup>

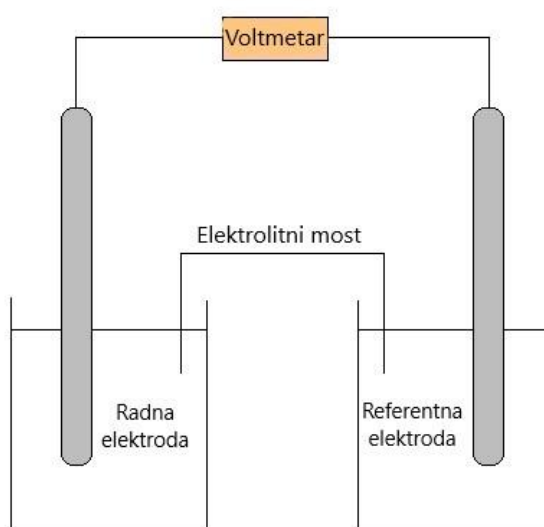
Od svih kemijskih senzora, elektrokemijski senzori su oni koji su od najvećeg interesa znanstvene zajednice s obzirom na osjetljivost, jednostavnost izvedbe i relativno nisku cijenu izrade u usporedbi s gore navedenim sensorima.

#### **2.4. Potencijometrija kao jedna od osnovnih elektrokemijskih tehnika**

Elektroanalitičke tehnike i metode su one kod kojih se podatak o koncentraciji, aktivitetu ili drugom termodinamičkom svojstvu određivane molekulske vrste dobiva u ovisnosti o električnom naponu, struji ili naboju.<sup>[75]</sup> Prema signalu pobude, dijele se na: potencijometriju, voltometriju, kronoamperometriju, elektrogravimetriju, kulometriju, kronopotencijometriju, i konduktometriju.

Potencijometrija se kao jedna od tehnika elektrokemijske analize temelji na mjerenju razlike potencijala pri ravnotežnim uvjetima (pri nultoj jakosti struje) između dviju elektroda uronjenih u elektrokemijsku ćeliju s elektrolitom. Signal pobude je kemijska reakcija, a signal odziva razlika potencijala.<sup>[75-79]</sup>

Najjednostavniji primjer elektrokemijskog članka jesu dvije elektrode uronjene u otopine koje povezuje elektrolitni most (slika 7). Voltmetar je pričvršćen na elektrode kako bi mjerio razliku potencijala među njima. U većini slučajeva elektrode su uronjene u različite otopine kako bi se spriječilo njihovo miješanje, a elektricitet se iz jedne otopine u drugu provodi elektrolitnim mostom. Koncentracija elektrolita u mostu mora biti visoka radi što bolje vodljivosti i mora imati ione približno jednake pokretljivosti kako bi difuzijski potencijal bio što manji.



**Slika 7.** Prikaz elektrokemijskog članka

Jedna elektroda je referentna, čiji potencijal je poznat, a druga je indikatorska (mjerna ili radna) elektroda čiji se potencijal mjeri u odnosu prema referentnoj. Obje elektrode su tzv. polučlanci. Potencijal referentne elektrode ne ovisi o aktivitetima aktivnih molekulskih vrsta te se zbog toga tijekom mjerenja ne mijenja, dok potencijal indikatorske elektrode ovisi o aktivitetu, odnosno koncentraciji molekulskih vrsta.

Laboratorijskim eksperimentom se može odrediti samo razlika potencijala polučlanaka. Određeno je da potencijal standardne vodikove elektrode iznosi 0,000 V pri svim temperaturama, a u literaturi su dani standardni elektrodni potencijali u odnosu na standardnu vodikovu elektrodu. Razlika potencijala između elektroda se mjeri voltmetrom velike impedancije, koji osigurava zanemarivo malu struju koja ne utječe na ravnotežno stanje na elektrodama. Kako nema struje, nema ni elektrokemijskih reakcija te je sustav u ravnoteži. Na taj se način mjeri električni rad koji ovisi o potencijalu članka. Što je potencijal članka veći, to veća količina elektrona prelazi s jedne elektrode na drugu i obavlja veći rad.<sup>[79]</sup>

Indikatorska elektroda uronjena u otopinu analita razvija potencijal ( $E_{ind}$ ) koji ovisi o aktivitetu analita. Većina indikatorskih elektroda koje se koriste u potenciometriji daje visoko selektivan odziv na ispitivane ione. Kontaktni potencijal ( $E_{kon}$ ) nastaje na granici između dviju tekućina koje stvaraju elektrolitni most te sprječava miješanje otopine s otopinom u referentnoj elektrodi. Referentna elektroda ima konstantan potencijal ( $E_{ref}$ ) neovisan o aktivitetu analita. Potencijal koji se očitava na voltmetru rezultat je jednadžbe:

$$E_{\text{ćelije}} = E_{\text{ind}} - E_{\text{ref}} + E_{\text{kon}} \quad (1)$$

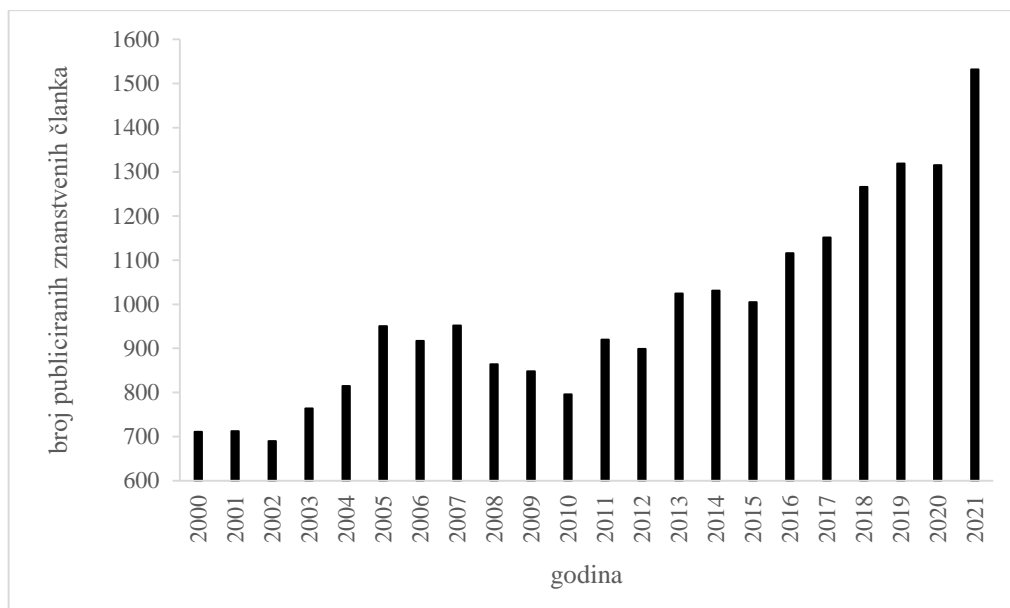
Elektrokemijski ćlanak se shematski mođe zapisati na sljedeći naćin:

indikatorska elektroda | otopina 1 || elektrolitni most || otopina 2 | referentna elektroda

Elektrokemijski ćlanci se dijele na galvanski ili elektrolitićki, koji se dalje dijele u reverzibilne (povratne) i ireverzibilne (nepovratne). Galvanski ćlanci su baterije u kojima se kemijska energija spontano pretvara u elektrićnu. Ovaj ćlanak sastoji se od dva polućlanka, a svaki polućlanak od elektrode uronjene u elektrolit. Elektrolit mođe biti zajednićki za obje elektrode ili razlićit za svaku elektrodu. Dva elektrolita odvojena su polupropusnom membranom ili su spojena elektrolitskim mostom. Ako se elektrode poveđu nekim vodićem, elektroni putuju kroz vodić od negativnog pola prema pozitivnom polu, odnosno tok elektrona se kreće s anode (oksidacija) prema katodi (redukcija) preko vanjskog vodića. Iz dobivene razlike redoks potencijala tvari koja se oksidirala odnosno reducirala, izraćunava se elektromotorna sila.

Za razliku od galvanskog ćlanka, u elektrolitićkom ćlanku elektrokemijske reakcije se ne mogu odvijati spontanim putem jer je za pokretanje tih reakcija potreban vanjski izvor elektrićne energije. Elektrokemijska reakcija u galvanskom ćlanku mođe se preokrenuti ako se obrnu polovi elektroda. Kod reverzibilnih ćlanaka dolazi do promjene toka elektrona kada se promijeni smjer elektrokemijske reakcije. U ireverzibilnim lancima promjena smjera struje uzrokuje potpuno razlićite reakcije na jednoj ili objema elektrodama.<sup>[80]</sup>

Potencimetrija se najćeće koristi u svrhu određivanja koncentracije iona u ispitivanoj otopini ili za određivanje završne toćke titracije, a svoju široku primjenu između ostalog pronalazi i u medicinskoj dijagnostici zbog svoje prilagodljivosti, jednostavne izvedbe i relativno jeftine cijene.<sup>[81]</sup> Koliko je ona i danas vrlo korićštena tehnika najbolje prikazuje slika 8.



**Slika 8.** Grafički prikaz broja publiciranih znanstvenih članaka po godini u razdoblju od 2000. do 2021. god uz termin „potentiometric AND (sensor OR electrode)” - izvor Science Direct, preuzeto 7. ožujka 2022.

#### 2.4.1. Izravna potenciometrija

Izravna potenciometrija predstavlja jednostavan i brz način određivanja koncentracije kationa odnosno aniona analita, preračunavanjem potencijala (nastalog na indikatorskoj elektrodi u ispitivanom uzorku) u koncentraciju pomoću prethodno krivuljom umjeravanja definirane ovisnosti potencijala o negativnom logaritmu poznate koncentracije analita.

Ovisnost elektrodnog potencijala redoks sustava o aktivitetu oksidiranog i reduciranog oblika u otopini daje Nernstova jednadžba za elektrodni potencijal:

$$E = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln \frac{a_o^n}{a_r^m} \quad (2)$$

gdje je:

$E$  = ravnotežni elektrodni potencijal članka,  $E^0$  = standardni elektrodni potencijal članka,  $R$  = univerzalna plinska konstanta,  $T$  = termodinamička temperatura,  $z$  = broj elektrona koji se izmjenjuju u redoks reakciji,  $F$  = Faradayeva konstanta,  $a_o$  = aktivitet oksidiranog oblika,  $a_r$  = aktivitet reduciranog oblika,  $n$  = stehiometrijski koeficijent oksidiranog oblika te  $m$  = stehiometrijski koeficijent reduciranog oblika.

Ako se aktivitet aktivne ionske vrste na unutarnjoj strani membrane, održava konstantnim, onda je ukupna razlika potencijala kroz membranu ovisna samo o aktivitetu u otopini analita, a ta je ovisnost iskazana jednadžbom 3:

$$E = E^0 \pm \frac{RT}{zF} \ln a \quad (3)$$

Predznak ispred izraza  $\frac{RT}{zF}$  je negativan kada se vrše potenciometrijska mjerenja aniona, odnosno pozitivan kada se radi o potenciometrijskim mjerenjima kationa.

Objedinjujući sve konstante, prosječnu temperaturu eksperimentalnog rada (25 °C) kao i pretvarajući prirodni logaritam u logaritam s bazom 10, izmjereni potencijal opisuje se jednadžbom pravca

$$E = K \pm S \log a \quad (4)$$

u kojoj  $E$  predstavlja izmjereni potencijal,  $K$  konstantu dobivenu iz jednadžbe 3,  $S$  promjena potencijala po koncentracijskoj dekadi odnosno nagib pravca, a sve uz uvjet da je na osi apscisa vrijednost (negativnog) logaritma aktiviteta analita, a na osi ordinata izmjereni potencijal.

Iz izraza 4 razvidno je da potencijal linearno slijedi logaritamsku vrijednost aktiviteta slobodnih iona.

Izravna potenciometrija široko je primjenjiva metoda u kemijskim analizama posebno kada je potrebno odrediti mjernu veličinu (koncentraciju analita) u većem broju uzoraka u relativno kratkom vremenskom intervalu. Isto tako, prednost je što je primjenjiva u kontinuiranoj odnosno automatskoj kemijskoj analizi. Kao najvažniji nedostatak ove metode može se istaknuti utjecaj interferirajućih iona koji utječu na mjereni potencijal.<sup>[79]</sup>

#### **2.4.2. Metoda standardnog dodatka u potenciometriji**

Metodom standardnog dodatka može se smanjiti utjecaj interferirajućih vrsta na određivanje analita. Postoji nekoliko načina primjene ove metode, ali je svima zajedničko nužnost prethodne izrade krivulje umjeravanja.

Jedan od načina korištenja ove metode je da se elektrode urone u poznati volumen standardne otopine ( $V_s$ ) i zabilježi izmjereni potencijal ( $E_0$ ). Ovoj otopini potom se

sukcesivno dodaju određeni volumeni nepoznatog uzorka ( $V_A$ ) i nakon svakog dodatka se bilježi izmjereni potencijal ( $E_i, E_{i+1}, E_{i+2}$  itd.). Drugi, općeprihvaćeniji, način korištenja ove metode je da se elektrode urone u otopinu poznatog volumena ispitivanog uzorka ( $V_A$ ) i zabilježi izmjereni potencijal ( $E_0$ ). Potom se u tu otopinu sukcesivno dodaju volumeni standardne otopine ( $V_S$ ) i po dodatku svakog mjeri potencijal ( $E_i, E_{i+1}, E_{i+2}$  itd.).

### 2.4.3. Potenciometrijska titracija

Preciznost mjerenja kod izravne potenciometrije (posebno kod određivanja viših vrijednosti koncentracija iona u otopinama) ovisi o brojnim faktorima kao što su stabilnost elektrodnog potencijala, preciznost instrumenata odnosno tehnike mjerenja, promjena potencijala po koncentracijskoj dekadi, kao i točnosti poznavanja koeficijenta aktiviteta s obzirom na preveliku razliku između aktiviteta (o kojem ovisi potencijal elektrode) i stvarne koncentracije iona u otopini.

Naime, budući da je potencijal indikatorske elektrode s Nernstovim odzivom, logaritamska funkcija koncentracije iona u otopini, apsolutno značajne razlike u koncentraciji (kod mjerenja s višim vrijednostima koncentracija), uzrokuju malu promjenu potencijala elektrode. Primjera radi, potencijal indikatorske elektrode za ione  $\text{Cu}^{2+}$  uronjene u otopine koje sadrže 1,00 odnosno 1,01 mol  $\text{L}^{-1}$   $\text{Cu}^{2+}$  iona razlikuje se samo za 0,1 mV. Ta vrijednost predstavlja praktično nemjerljivu razliku potencijala, premda je razlika u koncentraciji iona u otopinama 1%.<sup>[79]</sup>

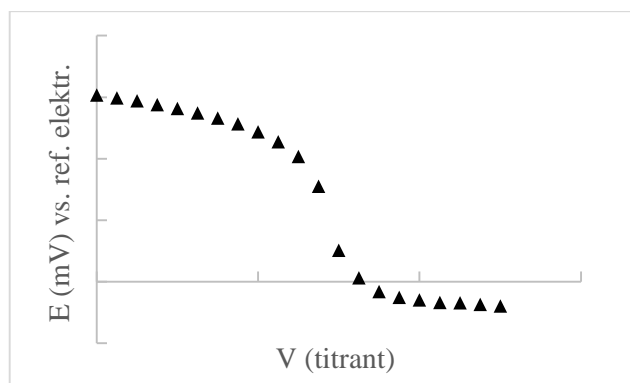
Negativni utjecaj navedenih faktora može se izbjeći korištenjem potenciometrijske titracije<sup>[82]</sup> kao volumetrijske elektrokemijske metode određivanja analita kojom se završna točka titracije (točka ekvivalencije) određuje mjerenjem razlike potencijala između indikatorske i referentne elektrode kao funkcije dodanog volumena titranta poznate koncentracije.

Ova metoda se može primijeniti na kompleksne reakcije i redoks reakcije odnosno sve ostale kemijske reakcije koje idu "do kraja". Kod kompleksnih reakcija, dodatkom titranta određivana tvar se veže u stabilni kompleks ili slabo topljivi talog,<sup>[79]</sup> pa se tijekom titracije uspostavlja heterogena ravnoteža.<sup>[83]</sup> U kompleksne reakcije u širem smislu ubrajaju se i protolitičke odnosno kiselinsko-bazne reakcije, pri kojima nastaje

promjena aktiviteta  $\text{H}_3\text{O}^+$  iona u otopini. Kod redoks reakcija određivana molekulska vrsta se oksidira odnosno reducira u reakciji s titrantom.<sup>[79]</sup>

Dodatkom titranta u otopinu koncentracija analita postupno se smanjuje, a dokle god ima slobodnog analita u otopini, koncentracija titranata će biti oko nule. Relativna promjena koncentracije najveća je upravo u samoj točki ekvivalencije kada je dodano toliko titranta da je u otopini uspostavljena dinamička ravnoteža, a koncentracija slobodnog i analita i titranta je približno jednaka nuli. Kako po prethodno opisanom, potencijal indikatorske elektrode s Nernstovim odzivom nije ništa drugo do li logaritamska funkcija relativne promjene koncentracije aktivnog iona,<sup>[79]</sup> logična je skokovita promjena potencijala indikatorske elektrode u točki ekvivalencije. Postoji nekoliko načina za određivanje točke ekvivalencije:

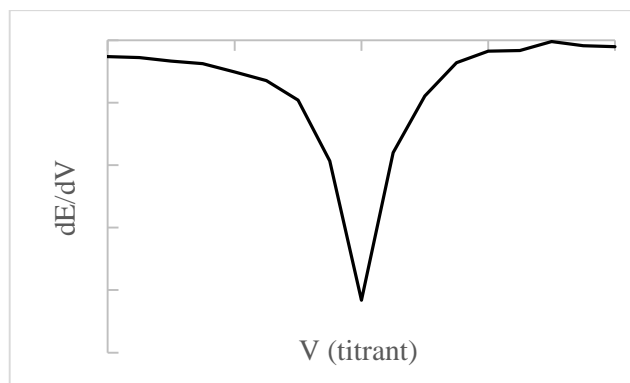
- 1.) Najjednostavniji način određivanja volumena ekvivalencije jest grafičko aproksimativno određivanje točke infleksije kao središnje točke na potenciometrijskoj  $E - V$  krivulji. Točka infleksije poklapa se s volumenom ekvivalencije (slika 9).



**Slika 9.** Oblik promjene potencijala u ovisnosti o volumenu dodanog titranta

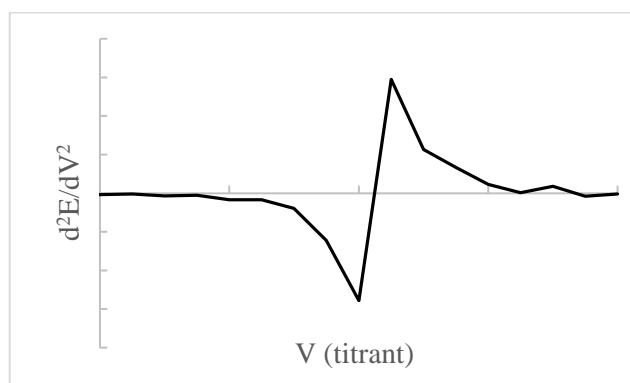
- 2.) Budući da je u točki infleksije  $E - V$  krivulje najbrža promjena potencijala po volumenu dodanoga titranta, brzina promjene potencijala po volumenu ( $\frac{dE}{dV}$ ) kao funkcija volumena titranta ( $V$ ) doseže ekstremnu vrijednost (maksimum ili minimum) u točki volumena ekvivalencije (slika 10).





**Slika 10.** Prikaz brzine promjene potencijala po volumenu kao funkcije volumena dodanog titranta

- 3.) Nul-točka druge derivacije ( $\frac{d^2E}{dV^2}$ )  $E - V$  krivulje je točka infleksije koja predstavlja volumen ekvivalencije (slika 11).



**Slika 11.** Prikaz druge derivacije potencijala po volumenu kao funkcije volumena

Volumen ekvivalencije odnosno točku infleksije kod simetričnih potenciometrijskih krivulja može se utvrditi i provođenjem diferencijalne potenciometrijske titracije koja se koristi u redoks titracijama, a provodi se uz uporabu dviju istovrsnih indikatorskih elektroda uronjenih u titriranu otopinu analita.<sup>[79]</sup>

#### **2.4.4. Metode određivanja koeficijenta selektivnosti u potenciometrijskim mjerenjima**

Potenciometrijski koeficijenti selektivnosti koji karakteriziraju učinak interferirajućih iona na vrijednost potencijal elektroda najvažniji su parametri ISE. Njihovo ispravno određivanje ključno je kako za procjenu mogućnosti uporabe elektroda za analizu realnih uzoraka tako i za objektivnu usporedbu selektivnosti različitih elektroda.<sup>[84]</sup>

Potenciometrijski koeficijenti selektivnosti izraženi su prema Nikolsky-Eisenmanovoj jednadžbi:

$$E = E_0 + \frac{RT}{z_A F} \ln \left[ a_A + \sum_B K_{A,B}^{pot} (a_B)^{\frac{z_A}{z_B}} \right] \quad (5)$$

gdje je  $E$  izmjereni potencijal;  $E_0$  je konstanta koja uključuje standardni potencijal ionsko-selektivne elektrode, potencijal referentne elektrode i potencijal kontakta;  $z_A$  i  $z_B$  su naboji primarnog (A) odnosno interferirajućeg (B) iona;  $a_A$ ,  $a_B$  njihovi aktiviteti;  $K_{A,B}^{pot}$  koeficijent selektivnosti za primarni ion u odnosu na interferirajući, a  $R$ ,  $T$  i  $F$  konstante. Dakle, ako su vrijednosti  $K_{A,B}^{pot}$  kao numeričke mjere koja pokazuje koliko dobro membrana može biti upotrebljiva za određivanje analita u prisustvu interferirajućih vrsta, više od 1, ISE reagira na interferirajuće ione selektivnije nego na primarne ioni. U većini slučajeva,  $K_{A,B}^{pot}$  vrijednost je niža od 1, što znači da je ISE selektivnija na ciljani analit u odnosu prema interferirajućoj vrsti. Tako npr. vrijednost  $K_{A,B}^{pot} = 0,001$  podrazumijeva da je elektroda 1000 puta selektivnija na primarni u odnosu na interferirajući ion.

Kako se Nikolsky-Eisenmanovom jednadžbom podrazumijeva Nernstov odgovor ne samo za primarni ion, već i za onaj interferirajući, nekoliko eksperimentalnih metoda za određivanje potenciometrijskih koeficijenata selektivnosti temelje se na toj jednadžbi. Međutim, isto tako Nikolsky-Eisenmanova jednadžba se ne može koristiti u slučajevima kada interferirajući i primarni ion imaju naboje suprotnog predznaka. U tim slučajevima nužno je primijeniti još složenije modele.<sup>[85]</sup>

Slijedom navedenog, brojčane vrijednosti potenciometrijskih koeficijenata selektivnosti mogu se razlikovati za više od jednog reda veličine ovisno o koncentracijama primarnog (analita) i interferirajućeg iona u mjerenju.<sup>[86]</sup> Budući da se dobivene vrijednosti predstavljene u publiciranim radovima različitih autora (pa čak i u radovima istih autora za membrane sličnog sastava) ponekad značajno razlikuju,<sup>[84]</sup> IUPAC-om su preporučene dvije glavne skupine: metode mješovitih otopina (MSM, eng. *mixed solution method*) odnosno metode izdvojenih otopina (SSM, eng. *separate solution methods*), a koje se sastoje od ukupno šest različitih metoda za određivanje koeficijenata selektivnosti u potenciometriji<sup>[87]</sup> od kojih samo jedna nije ovisna o Nikolsky-Eisenmanovoj jednadžbi ili njenim modifikacijama.

U MSM spadaju: metoda konstantnog aktiviteta interferirajućeg iona (FIM, eng. *fixed interference method*), metoda konstantnog aktiviteta primarnog iona (FPM, eng. *fixed primary ion method*), metoda dviju otopina (TSM, eng. *two solution method*), metoda podudarajućeg potencijala (MPM, eng. *matched potential method*). SSM obuhvaća dvije metode od kojih u odvojenim otopinama, jedna podrazumijeva mjerenja potencijala pri jednakim aktivitetima interferirajućeg i primarnog iona, a druga određivanje aktiviteta pri jednakim potencijalima.

Kod FIM mjeri se potencijal u otopini koja ima konstantni aktivitet interferirajućeg iona ( $a_B$ ), a mijenja se aktivitet primarnog. Prikazuje se grafička ovisnost negativnog logaritma aktiviteta primarnog iona i izmjerenog potencijala, a koordinata apscise sjecišta ekstrapoliranih linearnih dijelova krivulje predstavlja negativni logaritam aktiviteta primarnog iona ( $a_A$ ), iz koje se izračunava koeficijent selektivnosti po formuli

$$K_{A,B}^{pot} = \frac{a_A}{a_B^{\frac{|z_A|}{|z_B|}}} \quad (6)$$

u kojoj  $z_A$  i  $z_B$  predstavljaju vrijednosti nabojnih brojeva primarnog odnosno interferirajućeg iona.

Uz FIM široko korištena je i FPM u kojoj se mjeri potencijal u otopini koja ima konstantni aktivitet primarnog iona, a mijenja se aktivitet interferirajućeg.

Metoda podudarajućeg potencijala definira  $K_{A,B}^{pot}$  kao omjer aktiviteta primarnih i interferirajućih iona koji daju jednaku promjenu potencijala pri istim uvjetima. Najprije se određeni volumen otopine poznatog aktiviteta primarnog iona ( $a'_A$ ) dodaje u referentnu otopinu koja sadrži konstantni aktivitet primarnih iona ( $a_A$ ), te se bilježi odgovarajuća promjena potencijala ( $\Delta E$ ). Potom se dok se ne zabilježi ista promjena potencijala ( $\Delta E$ ), referentnoj otopini dodaje volumen otopine poznatog aktiviteta interferirajućeg iona ( $a_B$ ). Konačno, vrijednost koeficijenta selektivnosti izračunava se sljedećom jednačinom:

$$K_{A,B}^{pot} = \frac{a'_A - a_A}{a_B} \quad (7)$$

## 2.5. Indikatorske elektrode

Indikatorske elektrode koje se često nazivaju i potenciometrijskim senzorima mogu biti raznolike. Razvrstavaju se prema načinu nastajanja razlike potencijala na dodirnoj površini elektroda - otopina. Ta razlika posljedica je elektrokemijske reakcije na površini elektrode. Pritom nastaje razdvajanje naboja na dodirnoj površini, a time i razlika potencijala između elektrode i otopine s njom u kontaktu. Ne postoji potpuno selektivna elektroda, ali postoje neke vrlo selektivne elektrode na tržištu. Dvije su temeljne vrste indikatorskih elektroda: kovinske (metalne) elektrode i selektivne (membranske) elektrode poznatije pod nazivom ionsko-selektivne elektrode.

Kod kovinskih elektroda razlika potencijala na dodirnoj granici elektroda-otopina posljedica je redoks reakcije na elektrodi, dok kod ISE potencijal elektrode proizlazi iz promjene slobodne entalpije reakcije prijelaza iona, ionskom izmjenom, adsorpcijom, ekstrakcijom ili drugim načinom, kroz međusloj membrana-ispitivana otopina.<sup>[79]</sup>

Na temelju te razlike u načinu nastajanja potencijala indikatorske elektrode, potenciometrija se isto tako može podijeliti na redoks-potenciometriju, kod koje potencijal indikatorske elektrode ovisi o aktivitetima oksidiranog i reduciranog oblika redoks-sustava, i pH-potenciometriju, pA-potenciometriju odnosno pM-potenciometriju kod koje se primjenjuju selektivne elektrode za mjerenje aktiviteta (koncentracije) vodikovih iona (pH), aktiviteta aniona (pA) odnosno aktiviteta metalnih iona (pM).<sup>[79]</sup>

### 2.5.1. Ionsko-selektivne (membranske) elektrode

ISE su široko korištene u potenciometriji. To su elektrokemijski senzori koji stvaraju elektrokemijski potencijal prema Nernstovoj jednadžbi kada se urone u otopinu slobodnih iona određene vrste. Svaka ISE pokazuje relativno visoki stupanj selektivnosti za određenu vrstu iona u otopini. Velika prednost ISE je u njezinom brzom odzivu i kod najmanje promjene koncentracije ispitivane otopine. Danas se te elektrode mogu koristiti u širokom koncentracijskom području od  $10^{-1}$  do  $10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> (s malim ili skorom nikakvim preinakama metode). ISE su široko prihvaćene prvenstveno zbog svoje jednostavnosti, relativno su jeftine, a u odnosu na druge tehnike značajno skraćuju vrijeme analize.<sup>[88]</sup> Najpogodnije su za one analize gdje je potrebna točnost i preciznost mjerenja, a koje ne variraju više od  $\pm 2\%$  u odnosu na koncentraciju.<sup>[82]</sup> Kod nekih

slučajeva, npr. industrijskih sustava gdje su temperaturne razlike jako izražene, postiže se točnost od  $\pm 5\%$  do  $\pm 10\%$ .

Kao što je već navedeno, kod njih potencijal elektrode proizlazi iz promjene slobodne entalpije reakcije prijelaza iona, ionskom izmjenom, adsorpcijom, ekstrakcijom ili drugim načinom, kroz međusloj membrana-ispitivana otopina. Dizajnirane su tako da njihov potencijal ovisi o aktivitetu samo jedne ionske vrste prisutne u potenciometrijskoj ćeliji. Pretpostavi li se granična površina između dviju elektrolitnih faza kroz koju može prolaziti jedna ionska vrsta, tada se ovisno o aktivitetu tih aktivnih iona s jedne, odnosno druge strane, na graničnoj površini pojavljuje razlika potencijala. Često se membranske elektrode nazivaju još i p-ion elektrodama jer se njihov izlazni signal očitava kao p-funkcija, odnosno negativni logaritam aktiviteta određenog iona, odnosno kao pH, pCu, pAg i dr.

U većini ISE razlika potencijala na dodirnoj površini posljedica je zamjene iona iz otopine i iona u površinskom dijelu materijala membrane. Na dodirnoj površini dviju elektrolitnih otopina različitog sastava nastaje difuzijski potencijal. Posljedica je razlike u brzini difuzije iona elektrolita kroz graničnu površinu između dviju otopina. Da bi membrana mogla služiti kao osjetilo, u materijalu same membrane moraju postojati pokretljivi nositelji električnog naboja koji prenose električnu struju kroz membranu.

Pretpostavi li se da je selektivno ponašanje granične površine ostvareno pomoću idealne membrane, razlika potencijala na membrani ( $E_m$ ) pri kojoj se uspostavlja dinamička ravnoteža na graničnoj površini prikazuje se formulom:

$$E_m = \frac{RT}{z_i F} \ln \frac{a_j}{a_{ir}} \quad (8)$$

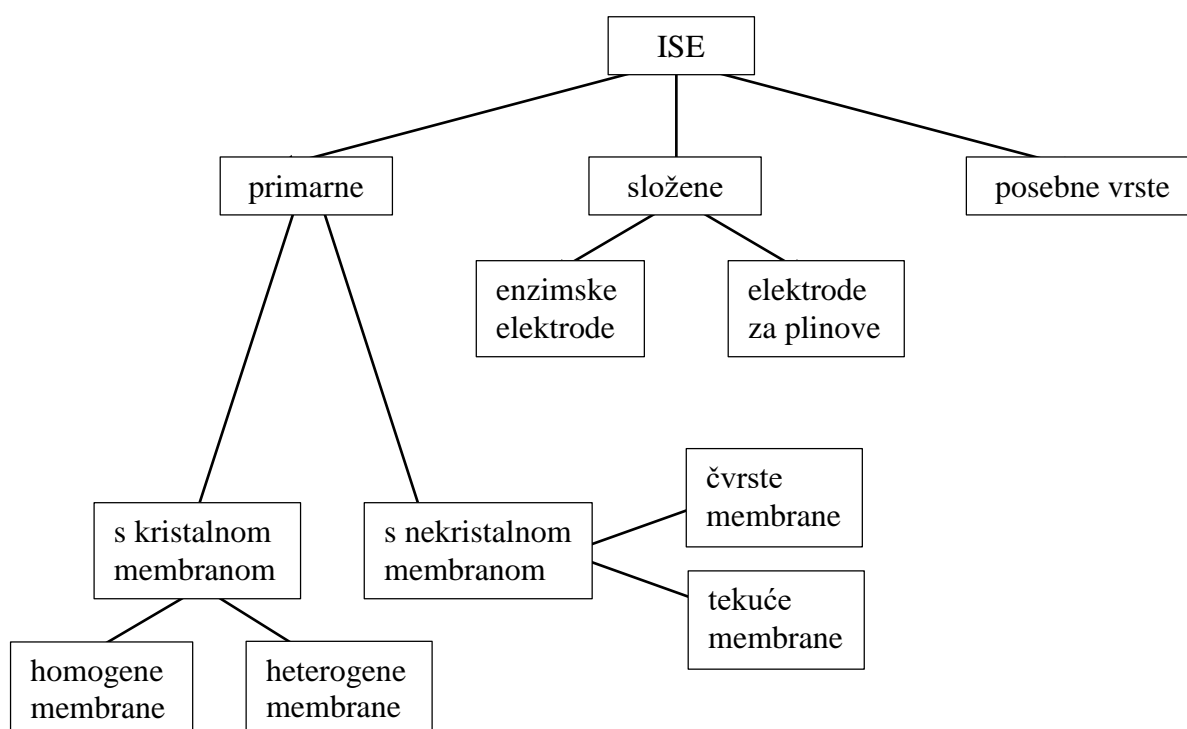
gdje  $a_j$  predstavlja aktivitet iona na jednoj strani otopine a  $a_{ir}$  aktivitet iona na drugoj strani otopine. Ako se pretpostavi da je vrijednost  $a_{ir}$  konstantna,  $E_m$  se može izraziti i kao:

$$E_m = \frac{RT}{z_i F} \ln a_j \quad (9)$$

Budući da je situacija u realnim uzorcima značajno različita od teorije, generirani potencijal će biti suma reakcije svih iona (interferencija) iz uzorka što se prikazuje Nikolsky-Eisenmanovom jednadžbom.<sup>[79,80,87,89]</sup>

Potencijal membrane prikazuje se istom relacijom kao i za redoks-sustave, iako je način uspostavljanja potencijala različit. Membranski potencijal nastaje zamjenom iona, dok na metalnoj elektrodi nastaje zbog redoks reakcije gdje sudjeluju elektroni. Iako se u osnovi ISE mogu podijeliti u dvije osnovne grupe, ovisno o tome u kakvom je stanju membrana, tekućem ili čvrstom, ova se podjela, iako jednostavna, ne čini praktičnom jer ne daje uvid u sam sastav membrane, prirodu unutarnjeg kontakta i način prepoznavanja analita.<sup>[79,80,90]</sup>

Usljed svega navedenog ISE je najbolje podijeliti u 3 osnovne skupine: primarne, složene te posebne vrste ISE<sup>[79]</sup>, a slikom 12 prikazan je detaljan shematski prikaz njihove podjele.



**Slika 12.** Shematski prikaz podjele ISE

#### 2.5.1.1. Primarne ISE

Primarne ISE se dijele na elektrode s kristalnom odnosno nekristalnom membranom.

##### 2.5.1.1.1. Elektrode s kristalnom membranom

Elektrode s kristalnom membranom sadrže slabo topljivu sol metala kao aktivnu komponentu. Selektivnost im ovisi o konstanti produkta topljivosti teško topljive soli koje

čine membranu. Potencijal kristalnih membranskih elektroda posljedica je stanja ravnoteže reakcije zamjene iona u otopini i u čvrstoj fazi membrane. Ove elektrode su selektivne na ione sadržane u membrani. Mogu biti homogene i heterogene.

#### 2.1.1.1.1.1. Homogene membrane

Kod ove vrste membrana kristalna tvar je načinjena od jednog spoja ( $\text{Ag}_2\text{S}$ ,  $\text{CuS}$ ), homogene smjese spojeva ( $\text{AgI}/\text{Ag}_2\text{S}$ ) ili mogu biti momokristali ( $\text{LaF}_3$ ). Često se izrađuju membrane od smjese dviju (rijetko više) kristalnih tvari od kojih je, redovito, samo jedna elektrokemijski aktivna tvar membrane. Kako se njihovo elektrokemijsko ponašanje može objasniti pomoću ravnoteže na granici faza i konstante produkta topljivosti, ovaj tip membrana može se ubrojiti i u taložne ionsko-selektivne elektrode.<sup>[91,92]</sup> Površina elektrode je selektivna i na druge molekulske vrste koji s ionima membrane tvore teško topljive soli ili stabilne topljive komplekse.

Potencijal kristalnih membranskih elektroda posljedica je stanja ravnoteže reakcije zamjene iona u otopini i u čvrstoj fazi membrane. Ove elektrode su selektivne na ione sadržane u kristalu membrane.<sup>[75–78,80,93]</sup> U vodljivim membranama (onima sa srebrovim solima) električni kontakt se može ostvariti izravno preko metalnog vodiča s unutarnjom stranom membrane.<sup>[78,80]</sup>

Iako je danas moguće pribaviti veliki broj komercijalno dostupnih ISE, elektrode s homogenom kristalnom membranom su i dalje u fokusu interesa znanstvene zajednice budući da se mogu relativno lako pripremiti u laboratoriju na način da se istalože potrebne soli koje se potom pomiješaju u željenom omjeru uz dodatak inertne komponente, npr. teflon, polietilen, polistiren ili polipropilen u prahu te se potom prešaju u membranu.<sup>[94,95]</sup>

#### 2.5.1.1.1.1. Heterogene membrane

Kod heterogenih membrana, aktivna tvar, tj. kristalna krutina je dispergirana u čvrstom, elektrokemijski inaktivnom nosivom materijalu. Kao nosivi materijal najčešće se koristi silikonska guma ili polimerni materijali na bazi polietilena, poli(dimetil-siloksana) i poli(vinil-klorida) (PVC, eng. *polyvinyl chloride*). Heterogene membrane se pripremaju miješanjem i prešanjem aktivne tvari i inaktivnog nosača u pločicu debljine približno 5 mm. Nakon stvrdnjavanja, membrane se lijepe na otvor staklenog ili plastičnog nosača. Električni kontakt se ostvaruje preko unutrašnje elektrolitne otopine i unutrašnje referentne elektrode. Ove elektrode se moraju prije upotrebe kondicionirati u

otopini iona za koje su selektivne, a najčešće se koriste za određivanje iona kao što su  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{CN}^-$ ,  $\text{SCN}^-$ .<sup>[79,80,90]</sup>

#### 2.5.1.1.2. Elektrode s nekristalnom membranom

Ove elektrode sadrže ionske ili nenabijene kemijske vrste kao aktivne komponente membrana u inaktivnom nosaču. Inaktivni nosač membrane može biti porozan (npr. mikroporozni filtar) ili neporozan (npr. staklo, PVC).<sup>[80,90]</sup> Dije se na elektrode s čvrstom membranom i selektivne elektrode s tekućom membranom.

##### 2.5.1.1.2.1. Elektrode s čvrstom nekristalnom membranom

Najpoznatija od svih elektroda s nekristalnom čvrstom membranom je staklena elektroda za mjerenje pH. To je prva membranska elektroda konstruirana početkom 20. stoljeća.<sup>[96]</sup> Sastoji se od elektrode  $\text{Ag}/\text{AgCl}$  u otopini klorovodične kiseline konstantne pH vrijednosti koja se nalazi unutar posudice tankih staklenih stjenki. Pri određivanju pH staklena elektroda se spaja s nekom referentnom elektrodom radi mjerenja elektromotorne sile članka.<sup>[44,46]</sup>

##### 2.5.1.1.2.2. Elektrode s tekućom membranom

Selektivne elektrode s tekućom membranom još se nazivaju i elektrode s mobilnim prenositeljem. Kod njih se razlika potencijala uspostavlja na dodirnoj površini između otopine koja sadrži analit i membrane koja sadrži aktivnu komponentu otoplenu u hidrofobnom otapalu. Hidrofobna tekućina membrane odijeljena je od ispitivane otopine dijafragmom odnosno poroznom staklenom ili keramičkom pločicom. Na taj način sprječava se mehaničko miješanje nevodene otopine tekuće membrane s ispitivanom vodenom otopinom, ali omogućen je prijelaz iona iz jedne faze u drugu. Kao aktivne tvari u tekućim membranama koriste se ionski spojevi odnosno neutralne makromolekule kao tvari koje čine komplekse. Aktivna tvar membrane tvori, selektivno, komplekse samo s određenim ionima i na taj način kroz granicu faza membrana - otopina prolaze samo ioni koji s aktivnom tvari membrane tvore kompleks.

#### 2.5.1.2. Složene ISE

Složene (specijalne) ISE sadrže obično dvije membrane odvojene tankim slojem elektrolitne otopine. Dije se na elektrode za plinove, koje sadrže dvije membrane

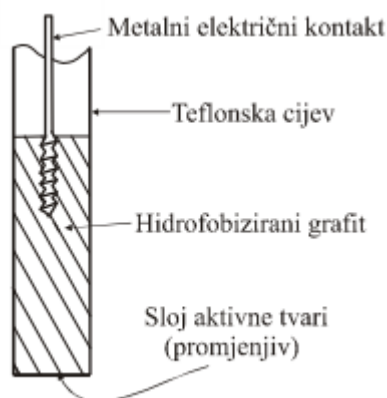


(hidrofobnu za plin propusnu i membranu selektivnu za ione) i enzimske elektrode (biosenzore).<sup>[80,90]</sup>

### 2.5.1.3. Posebne vrste ISE

Kod većine dosad opisanih elektroda potencijal na dodirnoj površini membrana - otopina mjereno je s pomoću unutrašnje referentne elektrode uronjene u otopinu stalnoga sastava. Danas se na tržištu pojavljuju elektrode kod kojih se električni kontakt s unutrašnjom stranom membrane ostvaruje pomoću metalnog električnog vodiča u izravnom kontaktu s membranom. Već je spomenuto da se na taj način električni kontakt može ostvariti s čvrstom membranom od Ag-soli. Posebna je vrsta tzv. Ružičkina S elektroda, kojoj se selektivnost može mijenjati. Zapravo je ona modifikacija u voltametriji rabljene grafitne elektrode na radnu površinu koje se nanosi aktivna tvar membrane.

Kao nosač aktivne tvari koristi se hidrofobni grafitni prah smješten u teflonskoj cijevi. Na otvorenu površinu tog nosača utrlja se aktivna tvar (npr. srebro-halogenidi i dr.) i na taj način izradi se membranska elektroda selektivna za određenu ionsku vrstu. Električni kontakt s elektrodom ostvaruje se pomoću metalnog (nehrđajućeg) vodiča utisnutog u grafitni nosač aktivne tvari (slika 13).



**Slika 13.** Shematski prikaz CPE<sup>[79]</sup>

Grafitni prah može se dispergirati u nevodljivom mineralnom ulju čime se dobije pasta u koju se potom inkorporira elektroaktivna tvar. Tako pripravljene CPE se vrlo intenzivno istražuju zahvaljujući širokoj mogućnosti primjene, posebno u kontroli kvalitete i korištenja farmaceutika,<sup>[6,16,34,98-108]</sup> stabilnosti odziva, malom omskom otporu, relativno niskoj cijeni i još nizu prednosti.<sup>[5,109]</sup>

Na inertni nosač elektrode može se u obliku PVC-a ili drugog polimernog filma nanijeti inkorporirana aktivna tvar.<sup>[79]</sup> Tako, u razvoju ISE za detekciju djelatne tvari farmaceutika važnu ulogu igra ugradnja kompleksa odnosno lipofilnog ionskog para kao aktivne tvari u poli(vinil-klorid) membranu.<sup>[16,110–114]</sup> Međutim, elektrode s membranom na bazi PVC-a pokazuju određene manjkavosti u usporedbi s CPE koje se manifestiraju gubikom signala prema analitu uslijed ispiranja plastifikatora i(li) ionofora, odnosno problema apsorpcije vodene otopine u membranu.<sup>[115,116]</sup>

## 2.6. Ionsko-selektivne elektrode s pastom na bazi ugljika

Prvom rečenicom svog kratkog priopćenja 1958. godine: „Tijekom istraživanja svojstava kapajuće ugljikove elektrode, razvijena je nova elektroda koja posjeduje jedinstvene prednosti u anodnoj polarografiji“,<sup>[117]</sup> Ralph Norman Adams nesumnjivo je osigurao mjesto u povijesti kao izumitelj elektrode s pastom na bazi ugljika bez obzira što jedanaest godina nakon toga isti autor navodi da se inicijalni zaključak o razvoju kapajuće ugljikove elektrode kao zamjene za često korištenu živinu elektrodu nije pokazao točnim ni primjenjivim.<sup>[118]</sup>

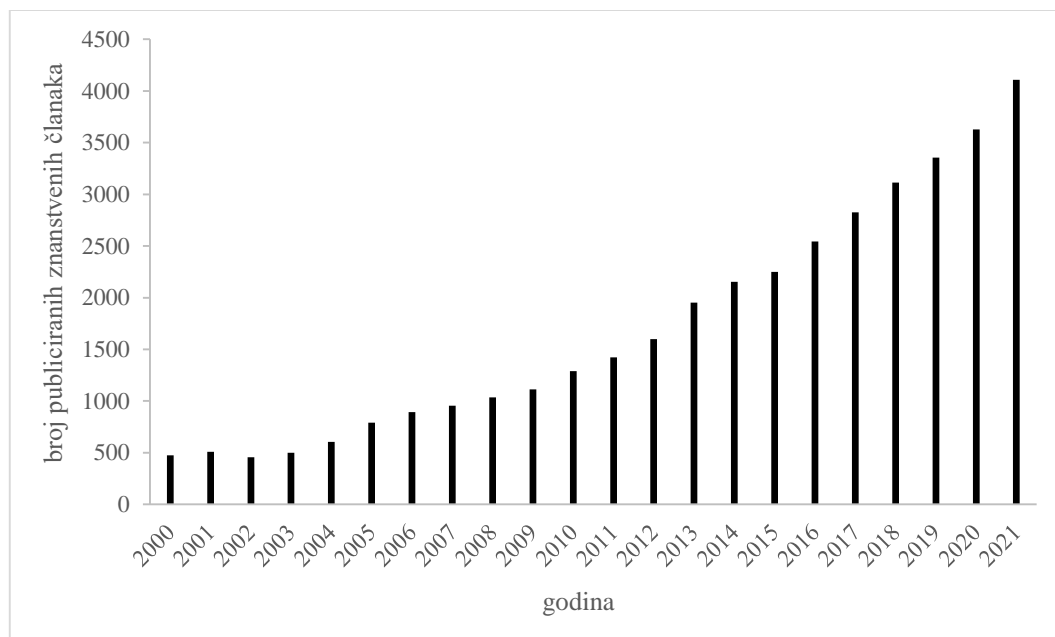
Svaka CPE u svom sastavu neizostavno sadrži materijal od ugljika te tekuće vezivo. Provodljivi ugljik (grafit) ima svojstva zbog kojeg ga se i koristi kao elektrodu, dok je tekuće vezivo izolacijskog karaktera.<sup>[119]</sup> Ono djeluje kao inertni medij, vezujući pojedine čestice grafita u kompaktnu smjesu. Iako ove dvije komponente ugljikove paste imaju oprečni karakter, uloga tekućeg veziva je podjednako važna kao i ona ugljikovog materijala pa se prilikom izrade CPE pažnja mora obratiti na odabir obje navedene komponente paste.

Prva ugljikova pasta je bila mješavina 1 g ugljikovog praha i 7 mL tribromometana te su njena svojstva proučavana na oksidaciji jodida u otopini  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .<sup>[117,118]</sup>

CPE imaju nekoliko prednosti u odnosu na ostale materijale koji se koriste za izradu elektroda: niska cijena, jednostavna izrada, nizak otpor, beznačajno mali utjecaj struje, široki raspon mjerenja potencijala, jednostavna i brza homogenizacija s drugim materijalima i dr. Međutim, kako ugljik može imati različita fizikalna, kemijska i elektrokemijska svojstva proizišla iz različitih načina priprava, to se očituje kao

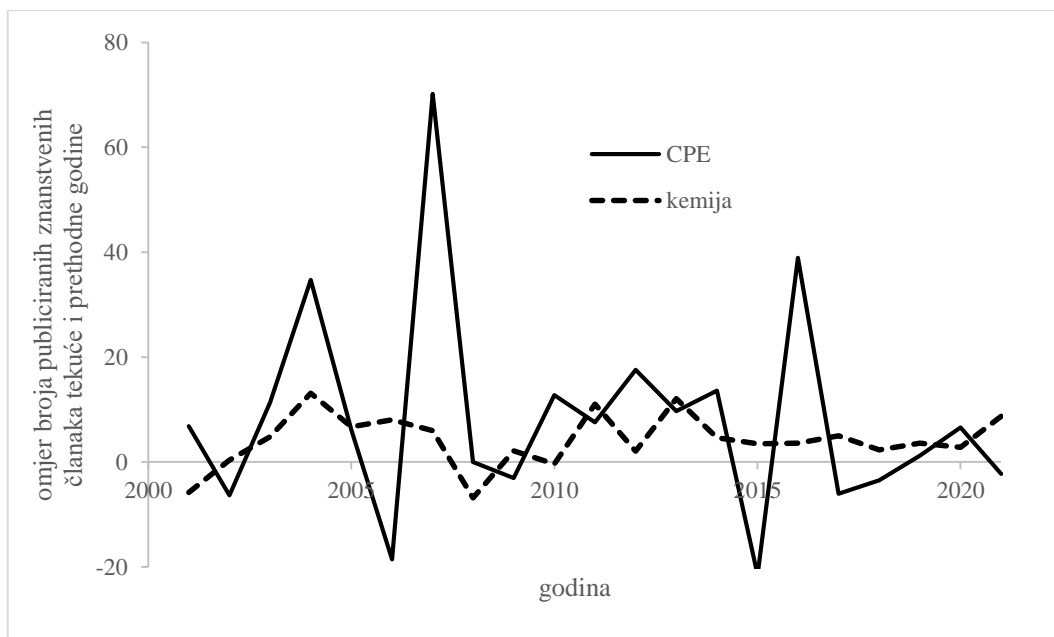
nedostatak koji ograničava uporabu ovih elektroda u praktičnoj analizi pa se iz tog razloga svaka od pripremljenih elektroda mora umjeravati posebno.<sup>[120]</sup>

Svejedno, razvoj CPE je u sve većem fokusu znanstvene zajednice, s obzirom na broj od preko 37500 publiciranih znanstvenih članka (s terminom CPE) u posljednjih dvadesetak godina (slika 14).



**Slika 14.** Broj publiciranih znanstvenih članaka po godini u razdoblju od 2000. do 2021. godine s terminom „carbon paste electrode” (izvor Science Direct, preuzeto 6. siječnja 2022.)

Konačno, usporedbom omjera broja publiciranih znanstvenih članaka s ključnom riječi „carbon paste electrode” tekuće i prethodne godine s omjerom ukupnog broja publiciranih znanstvenih članaka iz polja kemije tekuće i prethodne godine (slika 15) da se zaključiti da CPE drže istaknuto mjesto kao vrsta često istraživanih i korištenih elektrokemijskih senzora.



**Slika 15.** Grafički prikaz omjera broja publiciranih znanstvenih članaka tekuće i prethodne godine s terminom „carbon paste electrode” u naslovu rada ili kao ključnom riječi i omjera ukupnog broja publiciranih znanstvenih članaka iz polja kemije tekuće i prethodne godine u razdoblju od 2000. – 2021. godine (izvor Science Direct, preuzeto 6. siječnja 2022.)

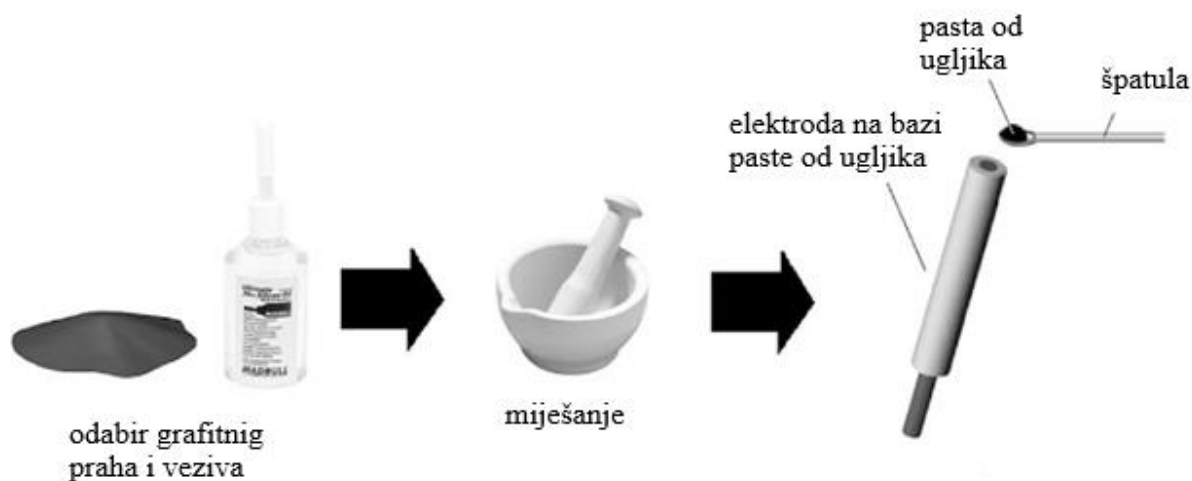
### 2.6.1. Komponente, priprava, vrste i fizikalno-kemijska svojstva CPE

Elektrode s ugljikovom pastom općenito se pripremaju kombiniranjem materijala od ugljika i veziva<sup>[121]</sup> (slika 16). Smjesa ugljika i tekućeg veziva se ručno miješa u omjeru 1 g : 0,4-1,0 mL kako bi se dobila pasta odgovarajuće konzistencije (ne smije biti niti previše tvrda, meka ili ljepljiva). Navedeni omjeri nisu fiksni već ovise o njihovom međusobnom prijanjanju pa tako neke paste mogu sadržavati i veći udio veziva. Pasta se obično puni u držač koji može biti polietilenska štrcaljka, staklena odnosno teflonska cijev.

Postoji mnogo vrsta ugljikovog praha: spektralni grafit, ugljični materijali i novi oblici ugljika kao što su grafen, fuleren, ugljikove nanočestice, nanovlakna itd. Ugljikov prah mora zadovoljavati određene kriterije za njegovo korištenje pri izradi ugljikove paste. Neke od njih su sljedeće:

- Odgovarajuća veličina i distribucija čestica ugljika - uobičajene veličine čestica su izražene u mikrometrima. Poželjno je da veličina raspršenog zrnja bude što ujednačenija. Danas se mogu pripremiti paste koje sadržavaju čestice veličine nekoliko desetaka nanometara, ali uobičajeno se koriste čestice 5-20 mikrometara.

- Niska mogućnost adsorpcije - ova neželjena značajka može se detektirati putem sadržaja kisika koji se nalazi u porama grafita što ometa rezultate mjerenja.
- Visoka čistoća - ugljikov prah ne smije sadržavati nečistoće koje bi mogle poremetiti mjerenja. Ovo je posebno slučaj u eksperimentima povezanim s detekcijom vrlo malih struja (nA) gdje bi čak i zanemarivi tragovi elektroaktivnih nečistoća mogli pokazati preklapajuće i nepoželjne signale.<sup>[109]</sup>



**Slika 16.** Uobičajeni prikaz pripreme elektrode od ugljikove paste<sup>[109]</sup>

Neki od autora pokušali su probleme vezane za prisutnost kisika u grafitnome prahu, riješiti njegovom obradom posebnim postupcima. U postupku pročišćavanja korištena je metoda toplinske desorpcije kisika pri 400 °C u atmosferi inertnoga plina koji prolazi preko grafita. Time je omogućeno uklanjanje značajnoga dijela adsorbiranoga kisika.<sup>[109]</sup> Sličan postupak, ali poboljšan impregniranjem rafiniranog grafita s cerezin voskom se pokazao iskoristivim.<sup>[122]</sup> Međutim, čini se da takva naknadna laboratorijska oksidacija i impregnacija ugljikovog materijala nije nužno potrebna, budući da spektroskopski grafiti proizvedeni suvremenim tehnologijama pokazuju zadovoljavajuću nisku sposobnost adsorpcije. Isto tako, paste na bazi ugljika se pripremaju ručnim miješanjem i tijekom takve pripreme prah može vezati kisik iz atmosfere pa prethodno uklanjanje kisika zahtjevnim postupcima ne bi značajno pridonijelo razvoju ovih senzora.

Tekuće vezivo ima ulogu povezivanja ugljikovih čestica te daje određena kemijsko-fizikalna i elektrokemijska svojstva samoj pasti. Vezivo bi trebalo biti netopljivo u otopini koja se ispituje kako se elektrode ne bi raspale u dodiru s ispitivanom otopinom, trebalo bi imati nizak tlak pare koji osigurava mehaničku stabilnost i dugi vijek trajanja elektrodnog sustava te bi trebalo biti elektrokemijski inaktivno kako bi se

spriječile visoke pozadinske struje i promjene sastava materijala. Hidrofobnost odnosno lipofilnost ugljikove paste, a koja proizlazi iz odabranog veziva, najbitnija je karakteristika koja određuje ostala kemijsko-fizikalna svojstva CPE.<sup>[109]</sup> Kao veziva najčešće se koriste parafinsko ulje, silikonsko ulje, bromonaftalen, halogenirani, alifatski i aromatski ugljikovodici i dr. Zanimljiva je i primjena ionskih kapljevina<sup>[30,31,123]</sup> kao veziva u CPE, međutim niti jedno ne ispunjava savršeno sve uvjete.<sup>[109,121]</sup>

CPE se mogu podijeliti na nekoliko različitih načina, ovisno o fizikalno-kemijskim svojstvima veziva, konzistenciji te mogućim modifikacijama ugljikove paste. Ovisno o fizikalno-kemijskim svojstvima postoje razne vrste CPE, ali najkorištenije su klasične CPE koje čine 80 - 90% današnjih CPE, a sastoje se od ugljikovog praha i tekućeg veziva. Vezano za konzistenciju, CPE se dijele na suhe i mokre elektrode. Sama konzistencija ovisi o omjeru ugljika i veziva. Navedena podjela nije široko korištena te se uglavnom koristila u ranije objavljenim radovima.

Najčešća podjela je ona na nemodificirane i modificirane CPE. Nemodificirane elektrode se još nazivaju i nativnim ili djevičanskim elektrodama jer se sastoje samo od dvije komponente: grafitnog praha i veziva. Modificirane elektrode imaju dodatnu komponentu (tzv. modifikator), prema kojoj se dijele na kemijski modificirane elektrode od ugljikove paste (CMCPE, eng. *chemically modified carbon paste electrodes*) i biološki modificirane elektrode koje nazivamo i biosenzorima od ugljikove paste. CMCPE u svom sastavu imaju modifikator kemijskog podrijetla<sup>[124-131]</sup> dok biosenzori imaju modifikator podrijetlom iz prirode primjerice alge,<sup>[109,132-134]</sup> bakterije,<sup>[135,136]</sup> makromolekule iz biljaka kao što su keratin, hitin i dr.<sup>[137-139]</sup>

CPE se modificiraju kako bi se poboljšala selektivnost mjerenja. Zbog jednostavnosti pripreme, u najvećem broju slučajeva modifikator se u pastu dodaje zajedno s ostalim komponentama. Miješanje se može obaviti i uz lagano zagrijavanje paste ili uz dodatak male količine organskog otapala (kloroform, ugljikov tetraklorid) zbog lakšeg homogeniziranja u vodi netopivog modifikatora. Nakon isparavanja otapala na sobnoj temperaturi, tako pripravljena pasta je spremna za upotrebu. Tako npr. bakrov (I) oksid, Cu<sub>2</sub>O je kao modifikator unutar CPE pronašao primjenu u određivanju široke lepeze analita (jodida,<sup>[128]</sup> alkohola,<sup>[129]</sup> amina,<sup>[129]</sup> aminokiselina,<sup>[129,140-142]</sup> ugljikohidrata,<sup>[129-131]</sup> askorbinske kiseline<sup>[130,142]</sup> i dr.). Alge kao modifikatori mogu se koristiti za akumuliranje metalnih iona kao što su zlato,<sup>[132]</sup> bakar,<sup>[133]</sup> olovo<sup>[134]</sup> odnosno

kadmij.<sup>[109]</sup> Ako se pak neke bakterije koriste kao modifikatori, one mogu predstavljati izvore dehidrogenaza ili oksidaza a i poslužiti za izradu biosenzora npr. za određivanje glukoze.<sup>[135,136]</sup>

Modifikatori ugljikove paste mogu biti i ionski aditivi (soli) o čijoj vrsti i dodanoj količini ovisi osjetljivost potenciometrijskih senzora. Lipofilni ionski aditivi su neophodni za stabilizaciju nabijenih kompleksa, osiguravanje selektivnosti i neutralnosti membrana. Oni poboljšavaju vodljivost paste te omogućavaju kvalitetniju izmjenu iona. Dakle, kada u sastavu senzora nema modifikatora, rezultirajuća krivulja umjeravanja često ima lošiji nagib i uže linearno dinamičko područje (LDP). Dodavanjem empirijski određene optimalne količine modifikatora odzivne karakteristike CMCPE se u mnogim slučajevima poboljšavaju.<sup>[143]</sup> Prema dostupnoj literaturi neki od najčešće korištenih ionskih aditiva u posljednjih desetak godina jesu: tetrabutilamonijev tetrafenilborat,<sup>[104]</sup> natrijev tetrafenilborat,<sup>[6,103,104,144,145]</sup> kalijev tetrafenilborat,<sup>[144,145]</sup> kalijev tetrakis(4-klorfenil)borat<sup>[104]</sup> i dr.<sup>[104,144,146,147]</sup>

Što se tiče fizikalno-kemijskih svojstava važno je napomenuti da što je više tekućeg veziva, to je manje praznih prostora između ugljikovih čestica i obrnuto. Otpor u omima je izrazito malen pa CPE karakterizira visoka vodljivost. Standardne ugljikove paste s parafinskim ili silikonskim uljima imaju otpor od 10  $\Omega$  i manje. CPE su relativno nestabilne u organskim otapalima. Vrijeme života paste ovisi o sastavu, a ponajviše stabilnosti tekućeg veziva. Ugljikove paste pripremljene od hlapljivih vezivnih tekućina imaju prilično ograničen vijek trajanja. Odgovarajuće mješavine ugljikovih pasta se zbog isparavanja veziva brzo suše, što je popraćeno vidnim promjenama u konzistenciji, i nepovratnim fizikalno - kemijskim odnosno elektrokemijskim svojstvima. Tako CPE na bazi organskih fosfata, mineralnih i silikonskih ulja mogu ispariti iz paste tijekom jednog ili dva tjedna, unatoč njihovoj relativno visokoj viskoznosti. To je moguće spriječiti pohranom i skladištenjem na hladnom i mračnom mjestu. Ipak, dugoročno skladištenje ugljikovih pasta nije praktično jer im je životni vijek ograničen, čak i ako su pakirane u čvrsto zatvorene posude.<sup>[109]</sup>

## 2.7. Analitičke tehnike i metode

Za karakterizaciju materijala koriste se različite analitičke tehnike i metode od kojih su neke opisane u sljedećim potpoglavljima.

### 2.7.1. Ramanova spektroskopija

Elektromagnetsko zračenje predstavlja širenje izmjenjivog električnog i magnetskog polja, a time i energije. Za razliku od klasičnog poimanja koje objašnjava da se energija zračenjem širi kontinuirano, prema kvantnoj teoriji, zračenje se iz nekog izvora emitira diskontinuirano u diskretnim jedinicama koje se nazivaju fotonima i čija su energija ( $\Delta E$ ) i frekvencija ( $\nu$ ) proporcionalne veličine definirane Planckovim izrazom:

$$\Delta E = h\nu \quad (10)$$

u kojem  $h$  predstavlja Planckovu konstantu. Sve navedeno (uz Born-Openheimerovu teoriju kojom se ukupna energija molekule definira kao zbroj elektronske, vibracijske i rotacijske energije) označava temeljne principe apsorpcijske spektroskopije kod koje apsorpiranje fotona vidljive svjetlosti točno određene energije dovodi do pobuđivanja molekule iz osnovnog u pobuđeno stanje. Posljedično dolazi do promjene energije molekule u pozitivnom smjeru pri čemu je razlika frekvencija upadne i raspršene energije jednaka apsorpiranoj energiji molekule. Promjene u vibracijskoj i rotacijskoj energiji molekule mogu se detektirati Ramanovom odnosno infracrvenom spektroskopijom. Ramanova spektroskopija detektira promjene u polarizabilnosti molekule, a temelji se na neelastičnom raspršenju elektromagnetskog zračenja pri kojem je frekvencija pobudnog zračenja različita od frekvencije raspršenog zračenja. Razlikuju se Stokesovo odnosno anti-Stokesovo Ramanovo raspršenje tj. ono kod kojeg se molekula nakon pobude u virtualno stanje (iz nižeg vibracijskog nivoa) vraća u viši vibracijski nivo osnovnog elektronskog stanja pa je slijedom toga emitirani foton niže energije, odnosno ono kod kojega se molekula nakon pobude u više virtualno stanje (iz višeg vibracijskog nivoa osnovnog elektronskog stanja) vraća u viši vibracijski nivo osnovnog elektronskog stanja pa je emitirani foton više energije.

Ramanova spektroskopija kao nedestruktivna i vrlo brza tehnika pogodna je za karakterizaciju grafenskih materijala kod kojih se javljaju tri karakteristične vrpce spektra pri valnim brojevima od  $1350 \text{ cm}^{-1}$  ( $D$  vrh),  $1580 \text{ cm}^{-1}$  ( $G$  vrh) te na  $2700 \text{ cm}^{-1}$  ( $2D$  vrh). Na osnovu Ramanovog spektra moguće je dobiti detaljnije informacije o prethodno opisanim defektima, debljini slojeva, prisutnim nečistoćama, provodljivosti kao i drugim karakteristikama sintetiziranog grafena odnosno reduciranog grafenovog oksida.



### 2.7.2. Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR)

Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom (FTIR, eng. *Fourier transform infrared spectroscopy*) jedna je od najvažnijih analitičkih metoda koja se koristi za detekciju odnosno identifikaciju funkcionalnih skupina prisutnih u organskim, polimernim, a ponekad i anorganskim materijalima. Temelji se na infracrvenom zračenju (elektromagnetsko zračenje u rasponu valnih duljina od od 0,7  $\mu\text{m}$  do 500  $\mu\text{m}$ ) koje prolazi kroz ispitivani uzorak. Matematičkim algoritmima dobije se infracrveni spektar koji predstavlja prikaz apsorbiranog zračenja (energije) kao funkcije valne duljine.

Svaka od funkcionalnih skupina određene molekule apsorbira energiju zračenja pri točno određenoj valnoj duljini (frekvenciji) koja se podudara s energijom vibracija veze unutar molekule.

Kako su energija i frekvencija proporcionalne veličine, a energije istezanja veza veće su od onih potrebnih za savijanje tako su i frekvencije istezanja viših vrijednosti u odnosu prema frekvencijama potrebnih za savijanje. Vibracije istezanja veza funkcionalnih skupina pojavljuju se iznad 1400  $\text{cm}^{-1}$ , a one savijanja ispod te vrijednosti. Ispod 1400  $\text{cm}^{-1}$ , a posebno u području 900-1400  $\text{cm}^{-1}$  pojavljuju se vibracije specifične za molekulu, vibracije kostura molekule. To područje se stoga naziva područje otiska prsta (eng. *fingerprint region*).<sup>[148]</sup> Područje ispod 900  $\text{cm}^{-1}$  pripada vibracijama izvan ravnine koje odgovaraju deformaciji veza vodika i  $sp^2$  hibridiziranih atoma, a koje se danas se većinom istražuje  $^1\text{H}$  NMR spektroskopijom.

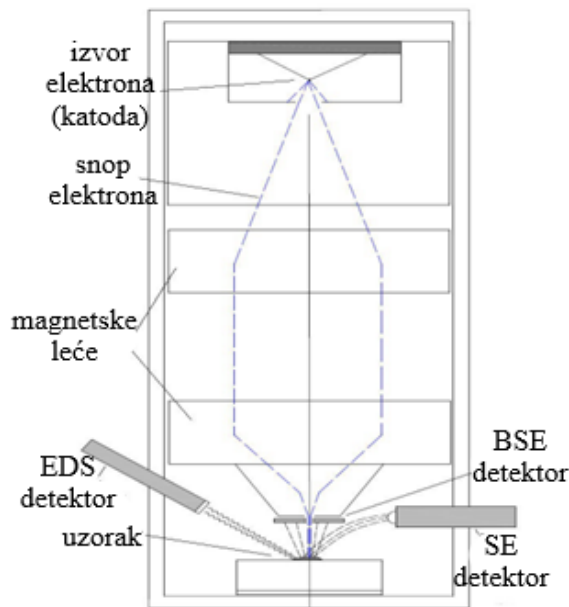
### 2.7.3. Pretražna elektronska mikroskopija (SEM)

Pretražna elektronska mikroskopija (SEM, eng. *Scanning electron microscope*) je jedna od najčešće korištenih metoda za određivanje strukture (morfologije) i identifikaciju površine provodljivog materijala na bazi visokog vakuuma. Osnova rada SEM-a koji omogućava istraživanje mikrostrukture promjera 3 nm i više odnosno uvećanjem i do 1.000.000 puta, temelji se na pretraživanju površine prelaskom precizno fokusiranim snopom elektrona preko ispitivanog uzorka.

Uzorak se nalazi na nosaču u komori mikroskopa, a izvor elektrona je katoda smještena u emisijskoj komori (slika 17). Elektroni se ubrzavaju na putu između katode i anode čija je razlika potencijala vrlo visoka (od 1 do 20 kV). Elektroni se dalje fokusiraju i usmjeravaju magnetskim lećama na površinu uzorka. Prilikom udarca elektrona o

površinu uzorka, događaju se razni efekti, odnosno dolazi do stvaranja signala koji se mjere posebnim detektorima, a koji se koriste za dobivanje slike i provođenje analize. SEM koristi tri osnovna tipa detektora, a oni su:

- detektor sekundarnih elektrona,
- detektor povratnog raspršenja,
- energijsko disperzivni spektrometar.



**Slika 17.** Shematski prikaz SEM-a

U trenutku sudara elektrona iz elektronskog snopa mikroskopa s uzorkom, dolazi do izbijanja elektrona iz elektronskog omotača atoma iz uzorka. Ti izbijeni elektroni se nazivaju sekundarni elektroni (SE, eng. *Secondary Electrons*). Detektor SE prikazuje površinu uzorka u visokoj rezoluciji, pa je posebno pogodan za proučavanje morfologije. Sekundarni elektroni dolaze do detektora gdje se stvara električni signal koji se pojačava i pretvara u digitalni oblik. Oštrina slike ovisi o jačini signala uzorka (energiji sekundarnih elektrona). Uzorci koji se analiziraju ovom tehnikom moraju biti vodljivi, a ukoliko nisu moraju se prethodno prekriti slojem zlata ili nekim drugim metalom raspršivanjem i vakuum uparivanjem.

Drugi važan efekt koji se događa prilikom sudara s atomskom jezgrom atoma koji grade uzorak, je da se elektroni iz elektronskog snopa mikroskopa mogu odbiti natrag. Tako odbijeni elektroni nazivaju se elektroni povratnog raspršenja (BSE, eng. *Back Scatter Electrons*). Detektiraju se pomoću BSE detektora koji prikazuje uzorak u nijansama sive boje koje odgovaraju atomskim težinama atoma koji izgrađuju uzorak.

Koristi se za proučavanje razlika u kemijskom sastavu uzoraka, a ujedno smanjuje efekte izazvane nakupljanjem elektrona na površini uzorka (nabijanje), pa se uz njegovu upotrebu mogu snimati i uzorci koji nisu električki vodljivi.

Kod izbijanja elektrona iz elektronskog omotača atoma ostaje prazno mjesto, koje se popunjava elektronom iz druge elektronske ljuske više energije. Prilikom tog skoka elektrona emitira se jedan kvant energije ili X-zraka. Energija ovako nastalog zračenja karakteristična je za svaki kemijski element. Ovu vrstu zračenja detektira energijsko disperzivni detektor (EDS, eng. *Energy Dispersive Spectrometer*). Ovaj detektor služi za određivanje kemijskog sastava uzorka na temelju X-zraka koje emitira uzorak pod elektronskim snopom mikroskopa.

#### **2.7.4. Brunauer-Emmett-Tellerova (BET) metoda**

Specifična površina svojstvo je materijala u čvrstom stanju definirano kao njegova ukupna površina po jedinici mase. Ova fizikalna veličina može služiti za određivanje vrste i svojstava ispitivanih materijala. Najčešće korištene metode za određivanje specifične površine čestica su Langmuirova metoda u kojoj se jedan sloj inertnog plina adsorbira na površinu te Brunauer-Emmett-Tellerova (BET) metoda<sup>[149]</sup> koja se temelji na višeslojnoj adsorpciji plina na površinu ispitivanog uzorka i kojom se mogu odrediti specifične površine od 1 do 1200 g m<sup>-2</sup>. Kao adsorbens najčešće se koristi plinoviti dušik koji je komercijalno lako dostupan, visokog stupnja čistoće, te vrlo niske točke vrelišta (-195,8 °C).<sup>[150]</sup>

Mjeri se volumen adsorbiranog plina u ovisnosti o parcijalnom tlaku pri konstantnoj temperaturi. Kako bi se snimila i desorpcijska krivulja ovaj se proces ponavlja, ali obrnutim redoslijedom pri čemu se dobije adsorpcijsko-desorpcijska izoterma dušika karakterističnog S oblika. Da bi se ona odredila, poznata količina plina dozira se postepeno u cjevčicu s ispitivanim uzorkom. Pri svakom doziranju plina, plin se adsorbira na uzorak što uzrokuje pad tlaka sve dok se ne postigne ravnoteža odnosno dok se površina ne zasiti plinom. Količina adsorbiranog plina je razlika između količine doziranog plina i količine koji ispunjava mrtvi volumen (slobodni prostor u cjevčici iznad uzorka) koji se odredi primjenom opće plinske jednadžbe. Adsorpcijska izotermna krivulja prikazuje se kao ovisnost količine ili volumena adsorbiranog plina o odgovarajućim relativnim tlakovima  $p/p_0$ . Primjenom jednadžbi 11 i 12 (u kojima  $V$ ,  $p$ ,  $V_m$  predstavljaju volumen, tlak, odnosno molarni volumen dušika potreban za adsorpciju,

$c$  konstantu za BET metodu,  $S_{BET}$  specifičnu površinu dobivenu BET metodom, a  $\alpha_{BET}$  površinu poprečnog presjeka molekule dušika) određuje se kapacitet monosloja na površini uzorka te se izračunava specifična površina.

$$\frac{p}{V(p_0 - p)} = \frac{1}{V_m c} + \frac{(c - 1)p}{c V_m p_0} \quad (11)$$

$$S_g = \frac{V_m N_A}{22400} \alpha_{BET} \quad (12)$$

### 2.7.5. CHN elementna analiza

CHN elementna analiza predstavlja metodu za kvantitativno određivanje kemijskog sastava tj. za određivanje udjela ugljika, vodika i dušika u nekom organskom spoju, na temelju kojeg se dalje izračunava njihov stehiometrijski odnos. Od samog otkrića<sup>[151]</sup> pa do danas, analiza se sastoji od razaranja uzorka, najčešće spaljivanjem odnosno oksidacijom elemenata u jednostavne anorganske spojeve, čija se količina može lako mjeriti.

Proces zahtijeva visoku temperaturu sagorijevanja (peć na cca 1000 °C) pri kojoj uzorak izgara u čistom kisiku kvantitativno se prevodeći u jednostavnije spojeve. Tako razvijeni plinovi (ugljik se prevodi u ugljikov (IV) oksid, vodik u vodu, a dušik u dušikove okside ili u dušik u plinovitom stanju) se mjere automatiziranim načinima. Sustav se sastoji od četiri glavne zone: zona izgaranja, zona kontrole plina, zona odvajanja i zona detekcije. Pristup izgaranju je statičan i dinamičan, dok kombinacija ova dva načina izgaranja osigurava potpuno sagorijevanje uzorka.

CHN elementna analiza nalazi široku primjenu u različitim granama industrije kao što su kemijska, naftna, farmaceutska, prehrambena itd.

### 2.7.6. Istovremena termogravimetrijska i masena analiza (TGA/MS)

Jedna od najviše korištenih metoda termičke analize svakako je termogravimetrijska analiza koja se temelji na kontinuiranom praćenju promjene mase uzorka u ovisnosti o vremenu i/ili temperaturi. Detektira se promjena mase uzorka odnosno njeno povećanje ili smanjenje. Promjena mase omogućuje kvantitativnu i kvalitativnu analizu uzorka. Prilikom analize važno je odrediti pojedini korak u kojem dolazi do promjene mase te odrediti temperaturu karakterističnu za taj korak. Promjena

mase najčešće se izražava kao postotni udio od početne mase uzorka. U svrhu termogravimetrijskih mjerenja koristi se uređaj nazvan termovaga. Elektronska mikrovaga i peć su povezane s računalom i odgovarajućim programom za prikupljanje i analizu podataka. Uzorak se istovremeno uz zagrijavanje ili hlađenje važe uz kontroliranu promjenu temperature u određenom vremenu. Kako tijekom termogravimetrijske analize sastav i tlak atmosfere ne bi utjecali na točnost dobivenih podataka, termovaga s uzorkom mora se nalaziti u kontroliranoj atmosferi. Praćenje promjene mase uzorka u vremenu pri konstantnoj temperaturi se naziva izotermička termogravimetrija. Kada se govori o termogravimetriji najčešće se podrazumijevaju mjerenja kod kojih se uzorak zagrijava uz konstantnu brzinu promjene temperature. Takav način mjerenja se naziva dinamička termogravimetrija.<sup>[152]</sup>

Ovisnost promjene mase uzorka o temperaturi i/ili vremenu opisuje se termogravimetrijskom krivuljom (TGA krivulja). Ovisno o tome u koliko koraka se uzorak raspada TGA krivulja može biti jednostupanjska ili višestupanjska. Analizom dobivene krivulje određuju se temperature pri kojima je došlo do promjene masa odnosno masenih udjela komponenti eliminiranih iz uzorka. Ukoliko je brzina snimanja prevelika ili ako do raspada dolazi pri vrlo bliskim temperaturama vaga ne može jasno razlučiti korake termičkog raspada te se kao rezultat eksperimenta dobiva jednostupanjska umjesto višestupanjske krivulje. Ponovljenim snimanjem uz manje brzine zagrijavanja ponekad je moguće bolje razlučiti korake termičkog raspada.<sup>[152]</sup>

Dodatne informacije o sastavu uzorka i toplinskom ponašanju mogu se dobiti analizom plinova koji se razvijaju dok se zagrijava uzorak. To omogućava da se utvrdi ne samo temperatura na kojoj se događa gubitak mase, već su uključene i molekularne strukture. Analiza evoluiranog plina obično se provodi različitim analitičkim tehnikama.

Kako bi se ispitaio sam mehanizam reakcije termičkog raspada uzorka kod istovremene termogravimetrijske i masene analize (TGA/MS, eng. *Thermal Gravimetric Analysis with Mass-Spectrometry*), plinovi koji su nastali raspadanjem uzorka uvode se u (s termovagom povezani) maseni detektor preko zagrijane kapilare (najčešće od nehrđajućeg čelika).

### 2.7.7. Rendgenska difrakcijska analiza (XRD)

Rendgenska difrakcijska analiza (XRD, eng. *X-ray diffraction analysis*), čiji je temeljni princip razvijen istraživanjem optike, nedestruktivna je analitička tehnika kojom se dobiva informacija o parametrima kristalne rešetke. Difrakcija rendgenskog zračenja posljedica je međudjelovanja elektronskog omotača atoma i rendgenskih zraka koje mu prilikom kontakta predaju svoju energiju te se od njega obijaju pod točno određenim kutom refleksije koji je jednak upadnom kutu. Naime, svako elektromagnetsko zračenje se kreće u obliku valova, a svaki elektromagnetski val ima svoju jedinstvenu valnu duljinu. Može doći do konstruktivne interferencije dva vala (koja su u fazi) i tada dolazi do pojačanja intenziteta odnosno destruktivne interferencije dva vala (koja nisu u fazi) kada dolazi do slabljenja intenziteta. Do konstruktivne interferencije tzv. difrakcijskog maksimuma dolazi kada je zadovoljena Braggova jednadžba:

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (13)$$

gdje je:  $n$  – cijeli broj,  $\lambda$  - valna duljina,  $d$  – razmak između ravnina atoma,  $\theta$  - Braggov kut.

Iz jednadžbe 13 može se odrediti udaljenost između ravnina atoma u kristalnoj rešetki eksperimentalnim određivanjem Braggovog kuta i poznavanjem valne duljine  $\lambda$  upotrijebljenih rendgenskih zraka. Kako su Braggov kut i razmak između ravnina atoma u kristalnoj rešetki obrnuto proporcionalne veličine, maksimumi pri malim kutovima su posljedica kristalnih ravnina s većom međusobnom udaljenosti, a za veće vrijednosti kutova maksimumi su posljedica ravnina s manjom udaljenosti između ravnina atoma u kristalnoj rešetki. Također, tijekom mjerenja uzorak se rotira te se time mijenja kut upadnog zračenja, a uvjet koji treba biti ispunjen da dođe do difrakcije elektromagnetnog zračenja je da vrijednosti udaljenosti ravnina kristalne rešetke i valne duljine zračenja budu bliske.

S obzirom na činjenicu da se svaki materijal odlikuje jedinstvenom refleksijom X-zraka, na osnovu položaja snimljenih difrakcijskih maksimuma moguće je korištenjem neke od raspoloživih baza podataka o strukturi materijala, izvršiti pouzdanu identifikaciju faza koje su prisutne u uzorku. Na osnovu intenziteta snimljenih difrakcijskih maksimuma moguće je izvršiti i kvantitativnu analizu uzorka tj. odrediti masene udjele svake pojedinačne komponente u uzorku.<sup>[153]</sup>

### **2.7.8. Spektrometrija masa uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS)**

Spektrometrija masa uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS, eng. *Inductively coupled plasma mass spectrometry*) je suvremena metoda koja se koristi za višeelementnu kvantitativnu karakterizaciju različitih materijala. Ona je vrsta atomske spektrometrije u kojoj se induktivno spregnuta plazma (ICP, eng. *Inductively coupled plasma*) koristi kao izvor ionizacije, a detekcija se vrši spektrometrijom masa (MS, eng. *Mass spectrometry*). Ima široku primjenu zbog niskih granica određivanja, izuzetne osjetljivosti na određivanje širokog raspona elemenata, mogućnosti analize izotopa, kao i visoke rezolucije.

Tekući uzorak uvodi se u instrument, prevodi u aerosol, te zagrijava u plazmi argona pri temperaturama između 6000 i 10000 K, što je prikladno za ionizaciju i ekscitaciju većine elemenata. Nakon toga slijedi desolvacija, uparavanje i proces kidanja molekulskih veza, pri čemu nastaju ionizirane vrste koji prelaze u spektrometar masa i razdvajaju se temeljem omjera mase i naboja ( $m/z$ ), što je osnova njihove detekcije i identifikacije. Detektor računa i pohranjuje ukupni signal za svaki omjer  $m/z$  stvarajući maseni spektar, a intenzitet specifičnog pika u masenom spektru proporcionalan je količini tog izotopa (elementa) u uzorku.

Interferencije kod ICP-MS tehnike dijele se na spektralne i one uzrokovane efektima matrice. Spektralne interferencije mogu stvarati ionske vrste koje imaju isti omjer  $m/z$  kao i ion analita, a to su najčešće oksidni ioni, višeatomski ioni i dvostruko nabijeni ioni. One se mogu ukloniti upotrebom analizatora mase visoke rezolucije kada se izborom odgovarajuće rezolucije za pojedini element postiže maksimalno razdvajanje izotopa od mogućih interferencija. Visoke koncentracije matrice također mogu ometati signal analita. Te smetnje mogu se umanjiti razrjeđivanjem uzorka, promjenom postupka uvođenja ili odvajanjem matrice od analita.<sup>[154]</sup>

### **2.7.9. Rendgenska fotoelektronska spektroskopija (XPS)**

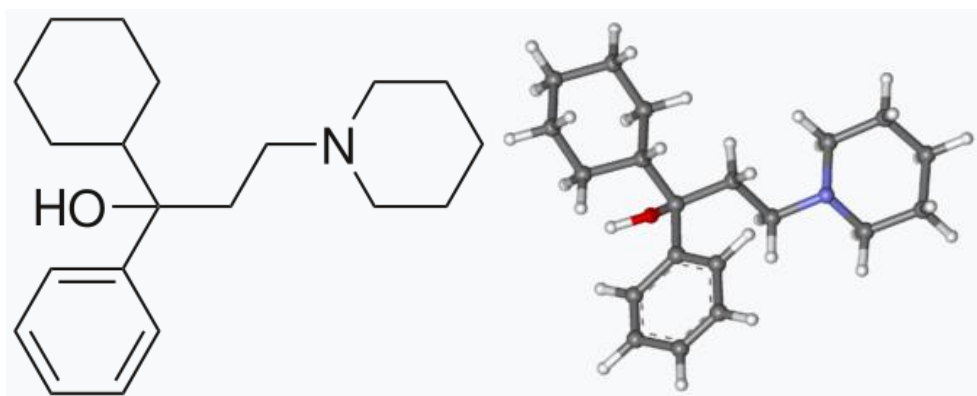
Rendgenska fotoelektronska spektroskopija (XPS, eng. *X-ray Photoelectron Spectroscopy*) je analitička tehnika koja se temelji na međudjelovanju niskoenergijskih rendgenskih fotona s atomima na površini uzoraka, a koje uzrokuje ionizaciju i posljedično emisiju fotoelektrona. Koristi se za detekciju elemenata na površinskim

slojevima širokog spektra materijala, od metala i poluvodiča do organskih ili bioloških uzoraka i polimera.

Energije emitiranih fotoelektrona, koje se analiziraju u elektronskom analizatoru, karakteristične su za pojedine elemente. XPS je izrazito površinska tehnika s dubinom uzimanja signala do 70 Å, a posebnost ove tehnike leži u mogućnosti određivanja kemijskog stanja detektiranih elemenata na površinama, poput razlikovanja njihovih oksidacijskih stanja.

## 2.8. Triheksifenidil kao ispitivani analit

Triheksifenidil molekulske formule je  $C_{20}H_{31}NO$  (slika 18) i molarne mase 301,5  $g\ mol^{-1}$ . je bijeli, kristalični prah, slabo topljiv u vodi, a topljiv u kloroformu i metanolu koji je u literaturi poznat kao benzehol odnosno triheks.<sup>[155]</sup> Prema IUPAC-u njegov naziv glasi 1-cikloheksil-1-fenil-3-piperidin-1-il-propan-1-ol.



**Slika 18.** Prikaz strukturnog i molekularnog modela triheksifenidila

Ubraja u antimuskarinske lijekove (antikolinergike) koji djeluju tako što sprečavaju aktivnosti neurotransmitera acetilkolina.<sup>[156,157]</sup> Neurotransmiteri su kemijski spojevi koji se nalaze u mozgu i živcima i koji djeluju kao kemijski glasnici među živčanim stanicama. Kod Parkinsonove bolesti primjetan je nedostatak neurotransmitera dopamina u mozgu, što uzrokuje poremećaj u ravnotežnoj aktivnosti dopamina i acetilkolina na način da nedostatak dopamina rezultira prekomjernom aktivnošću acetilkolina. Nasuprot tome, neke psihičke bolesti, na primjer šizofrenija, povezane su s prekomjernom aktivnošću dopamina u mozgu. Stoga mnogi antipsihotici koji se koriste za liječenje ovih bolesti smanjuju aktivnost dopamina u mozgu. Smanjujući aktivnost dopamina, a time posljedično povećavajući aktivnost acetilkolina, antipsihotici mogu proizvesti nuspojave koje nalikuju simptomima Parkinsonove bolesti. THP pomaže u



kontroli Parkinsonove bolesti i nuspojava korištenja antipsihotika blokiranjem acetilkolinskih receptora. Kako na taj način smanjuje aktivnost acetilkolina odnosno posljedično vraća u ravnotežu omjer acetilkolina i dopamina u mozgu,<sup>[156]</sup> Američka agencija za hranu i lijekove ga je 2003. godine odobrila za simptomatsko liječenje Parkinsonove bolesti.<sup>[158]</sup> Uz navedeno, često se koristi za ublažavanje ekstrapiramidalnih nuspojava koje se javljaju tijekom liječenja antipsihoticima. THP se terapijom indicira između 2–15 mg dnevno po odrasloj osobi. Kako se ovaj farmaceutik ne nakuplja u tkivima,<sup>[159]</sup> budući da se 60% brzo izlučuje urinom,<sup>[6]</sup> očekivana koncentracija THP-a u urinu iznosi  $2,4 \times 10^{-6}$  do  $1,8 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>.

Terapijska važnost THP-a dovela je do razvoja nekoliko analitičkih metoda za njegovo određivanje i dokazivanje, kako u farmaceuticima, tako i u tjelesnim tekućinama, uključujući sljedeće tehnike: plinsku kromatografiju,<sup>[160–163]</sup> tekućinsku kromatografiju reverzne faze<sup>[88,164]</sup> ili visoko djelotvornu tekućinsku kromatografiju,<sup>[165,166]</sup> tekućinsku kromatografiju spregnutu s masenom spektrometrijom,<sup>[167–169]</sup> spektrofotometriju,<sup>[155,170]</sup> radioimunološki test,<sup>[159]</sup> kapilarnu elektroforezu,<sup>[171–173]</sup> gravimetriju<sup>[174]</sup> i polarografiju.<sup>[175]</sup> Korištenje većine gore navedenih tehnika obično zahtijeva dugotrajni postupak cjelokupne analize i visokokvalificirano osoblje za rad na skupim instrumentima. S druge strane, potenciometrijski senzori naširoko su korišteni za određivanje različitih kemijskih vrsta kako zbog njihove relativno visoke osjetljivosti i selektivnosti, tako i brzog odziva, primjenjivosti na mutne i obojene otopine, prilagodljivosti mrežnim analitičkim sustavima i utroška malog volumena uzorka.<sup>[30,34,104,109,176–178]</sup>

## 2.9. Literaturni pregled primjene elektroda na bazi ugljikovog materijala

Iako se s primjenom elektroda na bazi ugljikovog materijala započelo sedamdesetih godina prošlog stoljeća, u ovom poglavlju dan je pregled literature u posljednjih desetak godina.

Elektrode na bazi ugljikovog materijala koriste se kulometriji, voltimetriji, amperometriji i potenciometriji, za elektroanalitičko određivanje aktivnih spojeva u raznim farmaceutskim pripravcima,<sup>[179]</sup> teških metala u vodi i urinu,<sup>[180]</sup> kao biosenzor glukoze,<sup>[135,136,181–183]</sup> za mjerenje tumorskih markera<sup>[184–186]</sup> i kolesterola u krvi,<sup>[187,188]</sup> dopamina<sup>[189,190]</sup> i dr. Nedvojbeno se najviše u elektrokemiji koristi u određivanju

anorganskih spojeva te je do sada potenciometrijski ispitano više od 70 kemijskih elemenata.<sup>[109,121]</sup>

Zanimljiva je i primjena elektroda na bazi ugljikovog materijala u mikrobiologiji. Senzori na temelju kemijski modificiranog grafena mogu detektirati samo jednu koloniju bakterije *Staphylococcus aureus* po mL što do sada nijednom metodom nije uspjelo. Značajno su jeftiniji, jednostavniji, brži i osjetljiviji od dosadašnjih široko korištenih metoda detekcije bakterija. Tako npr. lančana reakcija polimeraze (PCR, eng. *Polymerase Chain Reaction*) je mnogo skuplja i složenija tehnika budući da zahtijeva ekstrakciju DNA, a metoda kulture stanica zahtijeva duži vremenski period za dobivanje rezultata u odnosu na pripravljenu elektrodu na bazi ugljikovog materijala.<sup>[191]</sup>

Iako su istraživanja na elektrodama na bazi ugljikove paste započela relativno kasno (u drugoj polovici prošlog stoljeća) uočen je sve veći interes znanstvene zajednice za razvojem istih. Slovenski znanstvenici su napravili mikroelektrode od ugljikove paste koje ujedinjuju visoku vodljivost ugljikovih nanočestica s izvrsnim elektrokemijskim svojstvima mikroelektroda. Rađena su mjerenja koncentracija dopamina, askorbata, kadmija i olova te su na temelju dobivenih rezultata zaključili da su CPME vrijedan alat u budućnosti elektrokemije.<sup>[192]</sup>

Kako s razvojem industrije dolazi do sve većeg onečišćenja okoliša zaključeno je da bi bilo bitno razviti dobre metode kojima bi se brzo otkrila onečišćenja u površinskim vodama i na taj način omogućila brzu reakciju lokalnih vlasti na to. Jedni od glavnih onečišćivača su fosfati, sulfati, nitrati, teški metali. Za mjerenje koncentracija fosfata, nitrata, a posebno sulfata budući da je u literaturi pronađeno relativno malo radova o određivanju sulfata u površinskim vodama, kao vrlo korisne pokazale su površinski modificirane zeolitne elektrode na bazi ugljikovog materijala (SMZ-CPE, eng. *surfactant modified zeolite carbon paste electrode*).<sup>[193–195]</sup> Od teških metala, uz pomoć CPE koristeći elektroanalitičke tehnike, osim žive<sup>[196,197]</sup> i bakra,<sup>[198–200]</sup> različiti autori su opisali primjenu CPE-a na određivanje olova,<sup>[200–203]</sup> kadmija,<sup>[200,202,204,205]</sup> cinka,<sup>[200,202]</sup> talija,<sup>[206–208]</sup> kositra,<sup>[205]</sup> bizmuta,<sup>[209,210]</sup> antimona<sup>[211]</sup> i dr. Potenciometrijom se uz CPE mogu odrediti maseni udjeli aluminijski niži i od  $10^{-9}$ .<sup>[212]</sup> Sve gore navedene elektrode od ugljikove paste pokazale su se kao dovoljno osjetljive, selektivne i pouzdane u određivanju niskih koncentracija ispitivanih analita. Također, pokazalo se da bi se elektronalitičkim tehnikama mogao pratiti raspad pesticida kao još jedne vrste

onečišćivača okoliša. Dobar izbor u praćenju može biti primjena CMCPE koja elektroaktivno reagira s lipofilnim molekulama nekih pesticida,<sup>[213]</sup> a temeljem recentno publiciranog materijala korištenjem CMCPE mogu se u 0,2 M otopini fosfatnog pufera pri pH vrijednosti 6,0 odrediti koncentracije herbicida linurona niže čak od 15 nmol L<sup>-1</sup> [214]

Elektroda NiMn<sub>2</sub>O<sub>4</sub> na bazi paste od ugljikovog materijala primijenjena je pri osjetljivom određivanju sarkozina, dobro poznatog biomarkera raka prostate. Izvanredna osjetljivost i visoka selektivnost metode u rasponu koncentracija od 0,01-5,00 μmol L<sup>-1</sup> i s relativnim standardnim odstupanjem od 3,49% omogućuje primjenu senzora u mjerenju koncentracije sarkozina u realnim uzorcima,<sup>[186]</sup> a kao takva ista bi mogla postati standard u određivanju navedenog.

Bez obzira je li riječ o provjeri koncentracije aktivnih tvari u farmaceutskim pripravcima ili o mjerenju koncentracije lijeka u krvnoj plazmi, slini odnosno urinu, elektroanalitičke tehnike s CPE-om imaju svoju primjenu u medicini/farmaciji. U nastavku su opisani konkretni primjeri potenciometrijske primjene CPE od 2014. godine do danas, u raznim farmaceutskim pripravcima bilo da se radi o antikoagulantima, vitaminima, antibioticima, antikoagulantima i dr., a s posebnim naglaskom na antipsihotike i antiparkinsonike čije je djelovanje uzročno-posljedično povezano.

CPE modificirana s rGO i srebrovim nanočesticama se pokazala primjenjivom u potenciometrijskom mjerenju koncentracija gabapentina, antikonvulzivnog lijeka koji se koristi u liječenju epilepsije i neuropatske boli. Inkorporacijom srebrovih nanočestica poboljšava se stabilnost senzora, povećava redom: aktivna površina, osjetljivost, selektivnost kao i prijenos elektrona, čime se značajno skraćuje vrijeme potrebno za analizu.<sup>[215]</sup>

Preporuka je da se senzori na bazi ugljikove paste koriste u određivanju koncentracija tiamina vitamina B skupine koji djeluje kao koenzim u brojnim procesima kao što su sinteze neurotransmitera, nukleinskih kiselina odnosno redukcijskih tvari bitnih u obrani od staničnog „stresa“.<sup>[106]</sup>

Medicinski važan antibiotik koji se koristi za liječenje različitih bakterijskih infekcija, levofloksacin može se odrediti elektrodom na temelju grafita, rGO, trikrezil fosfata kao veziva, NaTPB-a kao taložnog reagensa za nastajanje ionsko-asocijacijskog kompleksa ((IAC, eng. *ion-associated complex*) te natrijevog tetrakis[3,5-bis

(trifluormetil)fenil]borata kao lipofilnog aditiva.<sup>[147]</sup> Iako postoji niz metoda za određivanje doksiciklina, još jednog antibiotika širokog spektra djelovanja, čak dvije grupe autora<sup>[145,216]</sup> predložile su potenciometriju s CMCPE obzirom na vrlo kratko vrijeme odziva i vrijeme života elektrode duže od 2 mjeseca.<sup>[145]</sup> Elektroda na temelju ugljikove paste i 2-hidroksipropil beta-ciklodekstrina je koristan alat u kvantifikaciji makrolidnog antibiotika rifampicina potenciometrijom.<sup>[108]</sup> Jedno od najnovijih istraživanja u ovom području je voltametrijsko određivanje niza drugih makrolidnih antibiotika uz inkorporaciju nanočestica zlata u pastu.<sup>[217]</sup>

Razvijene CMCPE na temelju ionsko-asocijacijskog kompleksa atorvastatina i 5,6-diaminouracil hidroklorida ili pirične kiseline su se pokazale jednako uspješne kao i dosada korištene metode mjerenja koncentracije atorvastatina, soli koja pripada u skupinu lijekova koji snižavaju povišene lipide u krvi.<sup>[107]</sup> Isto tako potenciometrija s CMCPE koja se temelji na ionsko-asocijacijskom kompleksu klopidogetil-silikovolframat daje dobre rezultate u usporedbi s do sada korištenim metodama mjerenja antikoagulansa klopidogetila u uzorcima seruma, urina i farmaceutskim pripravcima.<sup>[102]</sup> Al-Harbijevo istraživanje<sup>[105]</sup> je pokazalo da se CPE na temelju grafena ili višezidnih ugljikovih nanocijevčica mogu primijeniti za određivanje karbahaola, estera kolina koji se koristi u liječenju glaukoma i u oftalmološkim operacijama, sukladno rezultatima dobivenim dosadašnjim metodama koje su skupe, složene, ekološki neprihvatljive i zahtijevaju više vremena za analizu. Zanimljivim se pokazalo i istraživanje u kojem je za određivanje losartana, lijeka za liječenje arterijskih hipertenzija, korištena CMCPE s ionskom kapljevinom kao vezivom.<sup>[31]</sup>

Olanzapin je atipični antipsihotik koji se koristi u liječenju shizofrenije, bipolarnog poremećaja i drugih psihijatrijskih poremećaja. Kako bi se dobio potenciometrijski senzor za njegovu kvantifikaciju u različitim medijima, znanstvenici su koristili olanzapin-fosfolframat kompleks za pripremu CMCPE kojom se detektiraju niže koncentracije olanzapina od onih koje se mogu odrediti mnogo složenijim i skupljim konvencionalnim tehnikama koje se koriste u tu svrhu.<sup>[104]</sup> Slično, mjerenja provedena s CMCPE, izrađenim od nanočestica grafena, favorizirana su u odnosu na ostale metode budući da su jeftinija, brža, a njima se isto tako detektiraju niže koncentracije vilazodona kao antidepresiva najnovije generacije.<sup>[16]</sup> CMCPE s GO korištene su i za određivanje galantamina,<sup>[146]</sup> lijeka koji se je prije koristio za liječenje Alzheimerove bolesti, a danas ponajviše za liječenje različitih oblika epilepsije. Haloperidol je jedan od najjačih

antipsihotika koji se koristi u liječenju shizofrenije, svih vrsta psihoza, Huntigtonove bolesti i nekih drugih stanja. Do nedavno su se njegove koncentracije određivale izuzetno selektivnim, ali skupim i složenim metodama čiji su se rezultati dugo čekali. Stoga se pojavila potreba za novim načinom određivanja. Jednom od pripremljenih CMCPE potenciometrijski su dobiveni jednako dobri rezultati kao i s drugim tehnikama, ali je izvedba neusporedivo jednostavnija i jeftinija.<sup>[103]</sup> Provedena su i potenciometrijska mjerenja koncentracije antiparkinsonika triheksifenidila hidroklorida uz pomoć CMCPE senzora koji se temelji na kompleksu triheksifenidilovog tetrafenilborata uz dibutilftalat kao vezivo,<sup>[6]</sup> a također je pokazano da je potenciometrijsko određivanje koncentracije neostgimina na bazi ugljikove paste superiornije mnogim do tada razrađenim metodama.<sup>[218]</sup> Grupa autora izvještava da je uspješno pripremila CMCPE za određivanje sertralina, široko korištenog antidepresiva, čiji je odziv u skladu s teorijskom Nernstovom promjenu potencijala u linearnom dinamičkom području od 3 koncentracijske dekade i uz vrijeme odziva kraće od 6 sekundi.<sup>[144]</sup>

Prema dostupnoj literaturi, u posljednje dvije godine pripravljene su CMCPE za potenciometrijsko određivanje antimikotika butenafina,<sup>[98]</sup> anestetika cinhokaina,<sup>[115]</sup> lijekova s djelovanjem na srce i krvožilni sustav ramiprila<sup>[219]</sup> i verapamila<sup>[220]</sup> od kojih je potonji jedan od najčešće korištenih lijekova uopće, zatim oksibutnina<sup>[221]</sup> lijeka s djelovanjem na mokraćni sustav, aminoglikozidnog antibiotika tobramicina<sup>[222]</sup> kao i već opisanog levofloksacina<sup>[147]</sup> te u veterini široko korištenog antiprotozoika amprolija.<sup>[223]</sup>

Slijedom svega navedenog, može se zaključiti kako će CPE i dalje imati vrlo široku potenciometrijsku primjenu i biti od izuzetne koristi kako u mikrobiologiji i u zaštiti okoliša tako i u medicinskoj dijagnostici i detekciji aktivnih tvari u farmaceutskim pripravcima i tjelesnim tekućinama.

### 3. METODIKA

Tijekom eksperimentalnog rada korištene su kemikalije prikazane tablicom 1.

**Tablica 1.** Korištene kemikalije

kemikalija	proizvođač	država proizvodnje
Sumporna kiselina, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 96%, p.a.	Carlo Erba	Francuska
Fosforna kiselina, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , 85%, p.a.	Alkaloid	Makedonija
Grafitni prah Timrex KS 44	Imerys Graphite & Carbon	Švicarska
Kalijev permanganat, KMNO <sub>4</sub>	Kemična tovarna Podnart	Slovenija
Vodikov peroksid, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 30%, p.a.	Sigma-Aldrich	Njemačka
Hidrazin hidrat, N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ×H <sub>2</sub> O, ~80%, p.a.	Sigma-Aldrich	Njemačka
Grafitov oksid	sintetiziran u laboratoriju, vidi poglavlje 3.1.1	
Reducirani grefenov oksid	sintetiziran u laboratoriju, vidi poglavlje 3.1	
Dušična kiselina, HNO <sub>3</sub> , ≥65%	Honeywell	SAD
Octena kiselina, CH <sub>3</sub> COOH, 99,5%, p.a.	Kemika	Hrvatska
Natrijev acetat bezvodni, C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> NaO <sub>2</sub> , p.a.	Gram-Mol	Hrvatska
Triheksifenidil hidroklorid (THPHCl), C <sub>20</sub> H <sub>31</sub> NO×HCl	Sigma	SAD
Natrijev tetrafenilborat (NaTPB), Na[B(C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>4</sub> ]	Merck	Njemačka
Fosfovolframska kiselina monohidrat (PTA), H <sub>3</sub> PW <sub>12</sub> O <sub>40</sub> ×H <sub>2</sub> O	Sigma-Aldrich	Njemačka
Fosfomolibdenska kiselina monohidrat (PMA), H <sub>3</sub> PMo <sub>12</sub> O <sub>40</sub> ×H <sub>2</sub> O	VWR International BVBA	Belgija
Amonijev diamintetratiocijanato kromat(III) monohidrat (amonijev reinekato), NH <sub>4</sub> [Cr(SCN) <sub>4</sub> (NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ]xH <sub>2</sub> O, ≥93%	Acros Organics BVBA	Kina
Srebrov (I) nitrat, AgNO <sub>3</sub> , p.a.	Kemika	Hrvatska
Dibutilftalat (DBP), C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub> , p.a.	Sigma	SAD
Bis(2-etilheksil)ftalat (DOP), C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub> , 99%	Sigma-Aldrich	Njemačka
Parafinsko ulje (PO)	Sigma-Aldrich	Njemačka
Tris(2-etilheksil)fosfat (TEPh), C <sub>24</sub> H <sub>51</sub> O <sub>4</sub> P, 97%	Sigma-Aldrich	Njemačka
2-nitrofenil-oktil-eter (NPOE), C <sub>14</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub> , >99%	Fluka	Švicarska
Bis(2-etilheksil)adipat (DEHA), C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>4</sub> , 99%	Acros Organics BVBA	Belgija
Etanol, C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O, ~96%	Gram-Mol	Hrvatska
Tetrabutylamonijev tetrafenilborat (TBATPB), C <sub>40</sub> H <sub>56</sub> BN, ≥99%	Sigma-Aldrich	Njemačka
Natrijev hidroksid, zrnca 2-5 mm, NaOH, p.a.	Kemika	Hrvatska
Solna kiselina, HCl, ≥36,5%, p.a.	Kemika	Hrvatska
Kalijev nitrat, KNO <sub>3</sub> , p.a.	Kemika	Hrvatska
Amonijev klorid, NH <sub>4</sub> Cl, ≥99,5%	Sigma-Aldrich	Njemačka
Kalcijev nitrat tetrahidrat, Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ×4H <sub>2</sub> O, ≥99%	Sigma-Aldrich	Njemačka
Magnezijev nitrat heksahidrat, Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ×6H <sub>2</sub> O, ≥99%	Merck	Njemačka

Cinkov nitrat heksahidrat, $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ , 98%	Merck	Njemačka
Olovni(II) nitrat, $Pb(NO_3)_2$ , p.a.	Kemika	Hrvatska
Željezov(III) nitrat nonahidrat, $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ , p.a.	Kemika	Hrvatska
Glukoza, $C_6H_{12}O_6$ , $\geq 97,5\%$	Merck	Njemačka
Galaktoza, $C_6H_{12}O_6$ , $\geq 97\%$	Merck	Njemačka
Fruktoza, $C_6H_{12}O_6$ , $\geq 99,0\%$	Merck	Njemačka
Acetilsalicilna kiselina, $2-(CH_3CO_2)C_6H_4CO_2H$ , $\geq 99,0\%$	Sigma-Aldrich	Njemačka
Paracetamol	Galenski laboratorij - Ljekarna Splitsko-dalmatinske županije	Hrvatska
Maprotilin hidroklorid, $C_{20}H_{23}N \cdot HCl$ , $\geq 99\%$	Sigma	SAD
Parkopan, 2 mg tablete	Hexal	Njemačka

U istraživanjima su korišteni uređaji, oprema i ostali pribor prikazani tablicom 2.

**Tablica 2.** Uređaji, oprema i ostali pribori korišteni u istraživanju

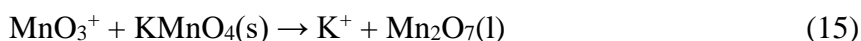
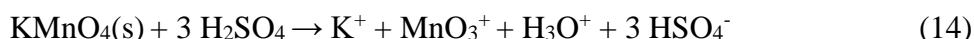
Uređaj, oprema i ostali pribor	Proizvođač	država proizvodnje
Mehanička miješalica IKA 2600000 EUROSTAR Power Control-Visc Stirrer	Artisan Technology Group	SAD
Centrifuga LACE16R	COLO lab experts	Slovenija
pH ispitivač HI 98103	HANNA instruments	Rumunjska
Vorteks miješalica Hula Dancer basic	IKA-Werke GmbH & Co	Njemačka
Uređaj za liofilizaciju Heto PowerDry LL1500 Freeze Dryer	Thermo Electron Corporation	SAD
Vakuummetar Pirani-Penning PPV40	Inštitut za elektroniku in vakumsko tehniku	Slovenija
Ultrazvučna kupelj Sonis 4	Iskra	Slovenija
Ručni ultrazvučni homogenizator UP200Ht	Hielscher Ultrasound Technology	Njemačka
0,2 $\mu m$ PTFE filter JGWP04700 Milipore	Merck	Njemačka
0.45 $\mu m$ filter HVLP04700	Merck	Njemačka
FTIR spektrofotometar IFS 66/S	Bruker Optics	Njemačka
Hidraulična preša	Perkin-Elmer	Njemačka
Ramanov spektrometar Alpha300 RAS	WITec	Njemačka
Spektrometar masa uz induktivno spregnutu plazmu 7900 ICP-MS	Agilent Technologies	SAD
Softver ICP-MS MassHunter 4.4	Agilent Technologies	SAD
Pretražni elektronski mikroskop s emisijom polja elektrona Zeiss ULTRA plus FE-SEM	Carl Zeiss AG	Njemačka
Silikonski detektor SDD tipa X-Max	Oxford Instruments Inc.	Ujedinjeno Kraljevstvo

INCA softver	ETAS	Ujedinjeno Kraljevstvo
Rendgenski difrakcijski analizator PANalytical X'Pert PRO MPD	Malvern Panalytical	Ujedinjeno Kraljevstvo
Termogravimetrijski analizator STA 449 F3 Jupiter	Netzsch	Njemačka
Maseni spektrometar spregnut s termogravimetrijskim analizatorom TGA/STA-QMS 403 D Aëolos	Netzsch	Njemačka
CHNS/O analizator 2400 II	Perkin-Elmer	Njemačka
Apsorpcijski analizator ASAP 2020	Micromeritics	SAD
Uređaj za rendgensku fotoelektronsku spektroskopiju PHI Quantera SXM	Physical Electronics	SAD
Analitička vaga, Pioneer PA214C	OHAUS	Švicarska
Referentna Ag/AgCl elektoda InLab 51343190	Mettler-Toledo GmbH	Švicarska
Referentna Ag/AgCl elektoda, LL ISE Reference WOS 60750100	Metrohm	Švicarska
pH elektroda InLab Expert Pro	Mettler Toledo GmbH	Švicarska
Magnetna miješalica, MSH-20A	Witeg Labortechnik, GmbH	Njemačka
Magnetna miješalica, IKA toplino	IKA-Werke GmbH & Co	Njemačka
Magnetna miješalica, EcoStir	DLAB	Kina
Milivoltmetar Seven Easy	Mettler-Toledo GmbH	Švicarska
Milivoltmetar, MU6100H	VWR International bvba	Belgija
Tijelo indikatorske elektrode	Izrađeno u laboratoriju	Vidi poglavlje 3.7

### 3.1. Sinteza reduciranog grafenovog oksida

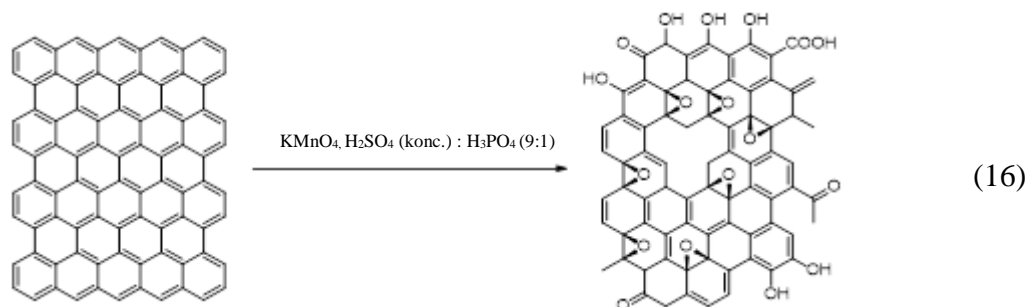
#### 3.1.1. Oksidacija grafita

U laboratorijsku čašu od 3 L dodano je 375,0 mL koncentrirane sumporne kiseline u koju je postepeno dodavano 40,2 mL fosforne kiseline uz kontinuirano miješanje (120 okr min<sup>-1</sup>). U reakcijsku smjesu polagano je dodavano 10 g KMnO<sub>4</sub> te je broj okretaja miješalice podešen na 180 okr min<sup>-1</sup>. U egzotermnoj reakciji malih količina kalijevog permanganata s koncentriranom sumpornom kiselinom u prvom koraku nastaje vrlo nestabilni MnO<sub>3</sub><sup>+</sup> koji trenutno u reakciji s kalijevim permanganatom daje oksidirajući tamno zeleno-ljubičasti manganov(VII) oksid.





Nakon što se reakcijska smjesa ohladila, u istu je, u trajanju od oko 30 minuta postepeno dodavano ukupno 10,0 g grafitnog praha. Time je započela oksidacija grafitnog praha, prema predloženoj reakciji:



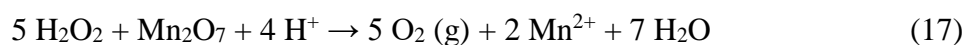
Nakon 4 sata miješanja, u reakcijsku smjesu polagano je dodavan novi obrok od 10 g  $\text{KMnO}_4$ . Sve je ostavljeno u digestoru preko noći uz uključenu miješalicu, pokriveno aluminijskom folijom. Sljedeći dan povećan je broj okretaja miješalice na  $200 \text{ okr min}^{-1}$ . U razmaku od 4 sata u reakcijsku smjesu polagano su dodavana 2 obroka od po 10 g  $\text{KMnO}_4$ . Obojenje smjese je i dalje bilo tamno zeleno-ljubičasto. Reakcijska smjesa je ostavljena u digestoru preko noći uz uključenu miješalicu. Nakon 24 sata je uočena promjena boje reakcijske smjese u smeđu.

Postepeno u obrocima, dodano je još 10 g  $\text{KMnO}_4$  te je sve ostavljeno u digestoru 72 sata uz uključenu miješalicu.

### 3.1.2. Gašenje reakcije (eng. *quenching a reaction*)

Čaša s reakcijskom smjesom stavljena je u posudu s ledom. Brzina miješanja je povećana i postavljena na  $300 \text{ okr min}^{-1}$ . U reakcijsku smjesu dodano je oko 500 mL sitno smrvljenog leda. Nakon toga je dodano ukupno 75 mL hladne 30%-tne otopine  $\text{H}_2\text{O}_2$  u obrocima od po 1 mL do prestanka nastajanja mjehurića odnosno završetka izrazito egzotermne reakcije tj. do nastanka žute boje emulzije grafitovog oksida. Postupak je proveden u digestoru.

Otopina  $\text{H}_2\text{O}_2$  reducira suvišak  $\text{Mn}_2\text{O}_7$  u niža oksidacijska stanja kako bi se u daljnjim koracima spriječila mogućnost oksidacije zbog zaostalog  $\text{Mn}_2\text{O}_7$ .



### 3.1.3. Ispiranje

U 24 kivete od 50 mL preneseno je po oko 40 mL reakcijske smjese, a potom je u svaku dodavana destilirana voda do izjednačavanja masa. Centrifugiranje je vršeno na 4000 okr  $\text{min}^{-1}$  u trajanju od 7 minuta. Po završetku centrifugiranja, otopina iznad taloga je izlivena, te je time završen prvi ciklus ispiranja. Kivete s talogom, ponovno su nadopunjene destiliranom vodom do oznake. Emulzija je homogenizirana te potom ponovno centrifugirana. Identični postupak ispiranja ponavljan je u naredna 2 ciklusa. Talog je ispiran destiliranom vodom ukupno 18 ciklusa kroz 4 dana, odnosno dok pH supernatanta nakon centrifugiranja nije dostigao vrijednost približno 3.

U tablici 3 su prikazani ciklusi i uvjeti ispiranja (vrijeme, brzina okretaja centrifuge) te srednja pH vrijednost supernatanta nakon centrifugiranja.

**Tablica 3.** Ciklusi i uvjeti ispiranja grafitovog oksida

<b>ciklus</b>	<b>vrijeme centrifugiranja (min)</b>	<b>brzina okretaja (broj okr <math>\text{min}^{-1}</math>)</b>	<b>srednja pH vrijednost supernatanta nakon centrifugiranja</b>
1.	7	4000	nije izmjereno
2.	7	4000	nije izmjereno
3.	7	4000	nije izmjereno
4.	7	5000	nije izmjereno
5.	7	7000	nije izmjereno
6.	7	8000	2,01
7.	7	9000	1,97
8.	7	9000	nije izmjereno
9.	15	9000	2,54
10.	15	9000	2,75
11.	15	9000	2,14
12.	15	10000	2,34
13.	15	10000	2,37
14.	15	10000	2,68
15.	15	11000	2,93
16.	25	12000	2,34
17.	25	12000	2,82
18.	25	12000	3,16

### **3.1.4. Liofilizacija**

Liofilizacija je tehnika zamrzavanja "vlažnih" materijala osjetljivih na toplinu i kvantitativnog uklanjanja otapala pri temperaturama od oko -100 °C koristeći sublimaciju u vakuumu.

Kivete bez čepa su uronjene u izolirane posudice od stiropora u koje je prethodno uliven tekući dušik. Sporije ključanje dušika ukazivalo da je materijal smrznut. Kivete su prebačene u liofilizator čija je komora potom zatvorena. Nakon 72 sata sušenja smrznutog materijala u visokom vakuumu, izmjerena je masa suhog GO koja je u ovom eksperimentu iznosila 13,1 g.

### **3.1.5. Redukcija GO**

U tikvicu s okruglim dnom od 1 L prethodno postavljenu u ultrazvučnu kupelj preneseno je 2,0 g osušenog sintetiziranog grafitovog oksida. Sve je otopljeno u 355 mL destilirane vode uz pomoć ručnog ultrazvučnog homogenizatora. Potom je tikvica sa smeđom homogenom disperzijom spojena na povratno hladilo, uronjena u uljnu kupelj prethodno zagrijanu na 90 °C. Sve je postavljeno na magnetnu miješalicu. Kroz povratno hladilo postepeno je dokapavano redukcijsko sredstvo hidrazin hidrat do ukupnog volumena od 20 mL. Disperzija se obojila u crno. Temperatura kupelji je postavljena na 110 °C, a brzina miješanja na 300 okr min<sup>-1</sup>.

Nakon 24 sata refluksiranja, suspenzija je „na vruće“ filtrirana (pore 0,2 μm, PTFE membrana) kroz Buchnerov lijevak. Reducirani grafen oksid je postepeno ispiran s 1,5 L kipuće destilirane vode, a potom s 150 mL 96%-tnog etanola te pod vakuumom ostavljen na sušenju 24 sata.

## **3.2. Postupci, metode i tehnike karakterizacije sintetiziranog materijala**

### FTIR

Ispitivani materijal je u ahatnom tarioniku pomiješan s kalijevim bromidom i prešan u pastile pomoću hidraulične preše. FTIR spektar snimljen je pri sobnoj temperaturi.

### Ramanova spektroskopija

Pri atmosferskom tlaku laserom valne duljine 532 nm i snage 5 mW u trajanju 10 sekundi vršeno je snimanje spektra uzorka postavljenog na mikroskopsko staklo.

### SEM s EDS analizom

Karakterizacija mikrostrukture provedena je korištenjem pretražnog elektronskog mikroskopa s emisijom polja elektrona (FE-SEM, eng. *Field Emission Scanning Electron Microscope*) kao vrste elektronskog mikroskopa pomoću kojeg je moguće dobiti sliku visoke rezolucije ispitivanog uzorka.

Uzorci su zalijepljeni na vodljivu traku od ugljikovog materijala postavljenu na aluminijski SEM držač. Sve je potom uneseno u komoru pod vakuumom. Korišten je izvor zračenja od 2 kV na udaljenosti 5,5 mm od ispitivanog uzorka, a slike su snimljene SE detektorom.

EDS detektorom određivani su udjeli kemijskih elemenata na radnoj površini uzorka od 50 mm<sup>2</sup> uz izvor zračenja od 20 kV na jednakoj udaljenosti od ispitivanog uzorka kao i kod SEM analize. Za obradu podataka korišten je INCA softver.

### ICP-MS

Analiza elemenata u uzorcima određena je korištenjem ICP-MS, s mikroanalitičkim raspršivačem (nebulizatorom) za maglu, komorom za raspršivanje, bakljom za ICP i kvadropolnim analizatorom mase. Plin argon visoke čistoće korišten je pri protoku od 15 L min<sup>-1</sup>, a dobiveni podaci su obrađeni i analizirani softverom MassHunterom 4.4.

50,0 mg ispitivanog materijala je preneseno u laboratorijsku čašu od 100 mL u koju je dodano 25 mL HNO<sub>3</sub> (Honeywell) i 4 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Smjesa je zagrijavana do točke vrenja i ostavljena da kuha dok polovica volumena ne ispari. Ohlađena je, kvantitativno prebačena u tikvicu od 50 mL, razrijeđena ultračistom vodom do oznake te filtrirana kroz filter promjera pora od 0,45 μm.

Prije svakog mjerenja, pripravljena otopina je razrijeđena 100 puta ultračistom vodom.

### XPS

XPS mjerenja su provedena rendgenskim fotoelektronskim analizatorom s monokromatskim Al K<sub>α</sub> izvorom X-zraka. Praškasti uzorci GO odnosno rGO su se utisnuli u foliju od indija, sve se fiksiralo na XPS nosač uzoraka te su se vršila mjerenja pri visokom vakuumu. Spektri su izmjereni korištenjem energije izvora od 17 eV,

rezolucije od 1 eV i ukupnom vremenu integracije od 0,2 s po točki mjerenja. Energija vezanja je umjeravana i korigirana za  $C1s$  vrhom na 284 eV.

### BET

Specifična površina izmjerena je apsorpcijskim analizatorom korištenjem BET metode adsorpcijom  $N_2$  na 77 K. Prethodno su uzorci preneseni u staklenu kapilaru, deaerirani u vakuumu pri 120 °C tijekom 2 sata.

### XRD analiza

Mjerenja difrakcije rendgenskih zraka praškastih GO i rGO uzoraka provedena su na PANalytical X'Pert PRO MPD difraktometru s  $Cu K_{\alpha 1}$  zračenjem ( $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ ). Analiza je provedena u rasponu kutova ( $2\theta$ ) od 10° do 60° s korakom od 0,034° s<sup>-1</sup>. Ispitivani uzorci su mjereni na držaču od silicija.

### TGA/MS

Da bi se ispitala mjera termičkog raspada oko 15 mg uzorka stavljeno je u posudicu od aluminijevog (III) oksida volumnog kapaciteta 0,3 mL. Mjerenja su vršena u temperaturnom rasponu od 30 °C do 1200 °C pri brzini zagrijavanja od 10 °C min<sup>-1</sup>, s brzinom protoka argona od 50 mL min<sup>-1</sup>. Plinovi nastali TG obradom preneseni su u maseni detektor pod radnim tlakom od  $2 \times 10^{-5}$  mbar kroz kvarcnu kapilaru unutarnjeg promjera od 75  $\mu\text{m}$ , prethodno zagrijanu na 220 °C.

### CHN analiza

U kositrenoj kapsuli izvagano je oko 1 mg svakog od ispitivanih uzoraka IAC-a i uneseno u CHN analizator u kojem se uzorak u vertikalnoj peći spaljuje pri 950 °C, a količinu razvijenih plinova uređaj mjeri automatiziranim načinima.

## **3.3. Priprava otopina za taloženje ionsko-asocijacijskog kompleksa**

### Priprava otopine natrijevog tetrafenilborata koncentracije 0,01 mol L<sup>-1</sup> za taloženje IAC-a

Otopina NaTPB-a za taloženje IAC-a pripravljena je otapanjem 171,2 mg NaTPB-a u destiliranoj vodi, u odmjerne tikvici od 50 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine fosfovolframske kiseline koncentracije 0,01 mol L<sup>-1</sup> za taloženje IAC-a

Otopina PTA-e za taloženje IAC-a pripravljena je otapanjem 720,0 mg PTA-e u destiliranoj vodi, u odmjernoj tikvici od 25 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine fosfomolibdenske kiseline koncentracije 0,01 mol L<sup>-1</sup> za taloženje IAC-a

Otopina PMA-e za taloženje IAC-a pripravljena je otapanjem 456,2 mg PMA-e u destiliranoj vodi, u odmjernoj tikvici od 25 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine amonijevog reinekata koncentracije 0,01 mol L<sup>-1</sup> za taloženje IAC-a

Otopina amonijevog reinekata za taloženje IAC-a pripravljena je otapanjem je 180,9 mg amonijevog reinekata u destiliranoj vodi, u odmjernoj tikvici od 50 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine triheksifenidil hidroklorida koncentracije 0,01 mol L<sup>-1</sup> za taloženje IAC-a

Otopina THPHCl-a za taloženje IAC-a pripravljena je otapanjem je 844,8 mg THPHCl-a u destiliranoj vodi prethodno zagrijanoj na 37 °C, sve je preneseno u odmjernu tikvicu od 250 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine srebrovog nitrata koncentracije 0,1 mol L<sup>-1</sup>

Otopina AgNO<sub>3</sub> pripravljena je otapanjem 169,8 mg AgNO<sub>3</sub> u destiliranoj vodi, sve je preneseno u odmjernu tikvicu od 10 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

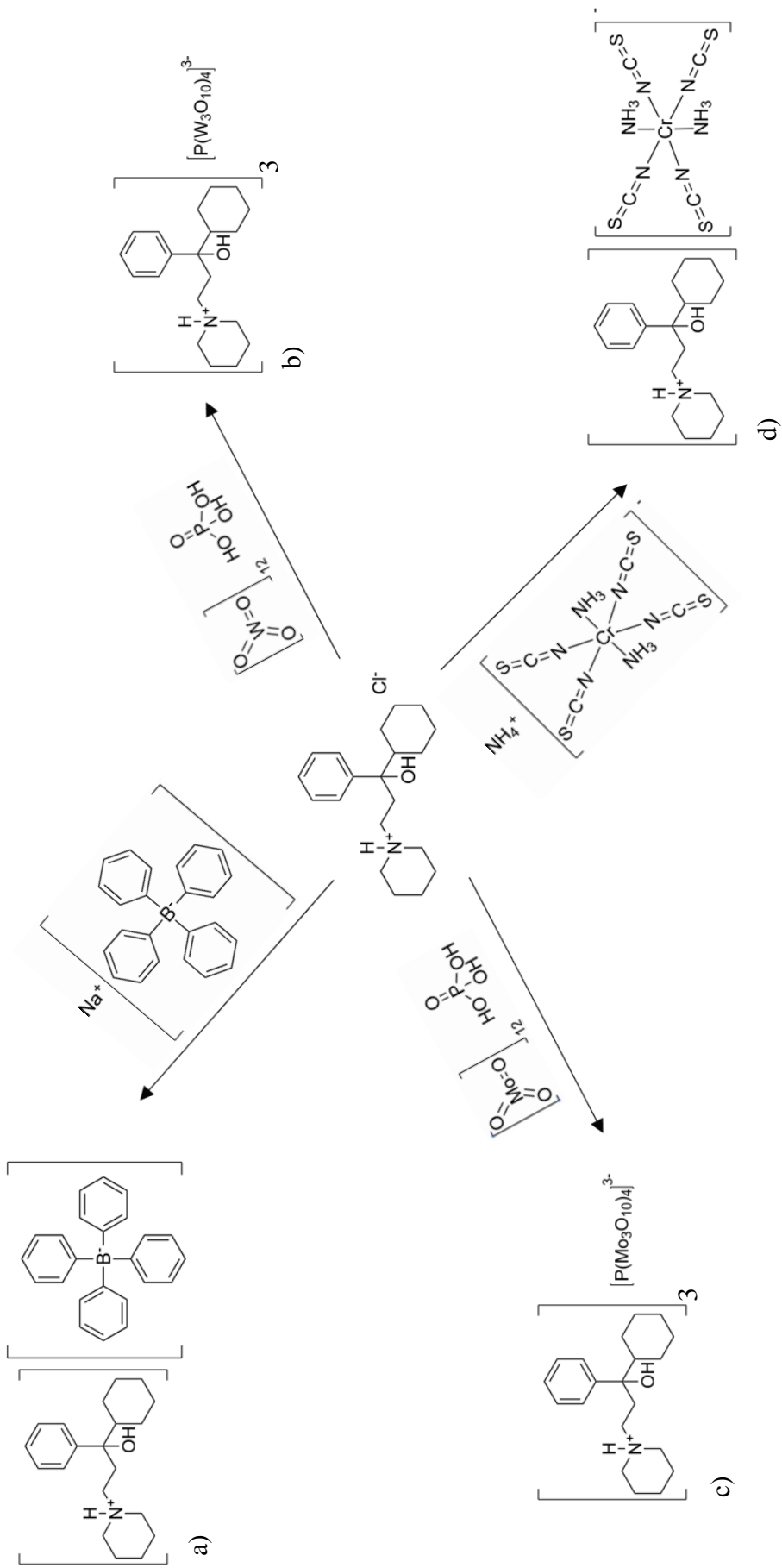
#### Priprava ionsko-asocijacijskih kompleksa

- U 50,0 mL otopine NaTPB-a koncentracije 0,01 mol L<sup>-1</sup> za taloženje IAC-a, postepeno je dokapavano 50,0 mL otopine THPHCl-a koncentracije 0,01 mol L<sup>-1</sup> za taloženje IAC-a uz stalno miješanje. Nastao je slabo topljivi bijeli ionsko-asocijacijski triheksifenidilov tetrafenilborat kompleks (THP-TPB), a shema kemijske reakcije njegovog nastanka prikazana je slikom 19 a).
- U 16,7 mL otopine PTA-e koncentracije 0,01 mol L<sup>-1</sup> za taloženje IAC-a, postepeno je dokapavano 50,0 mL otopine THPHCl-a koncentracije 0,01 mol L<sup>-1</sup> za taloženje IAC-a uz stalno miješanje. Nastao je slabo topljivi blijedo žućkasti

triheksifenidilov fosfovolframat kompleks (THP-PT). Shema kemijske reakcije njegovog nastanka prikazana je slikom 19 b).

- U 16,7 mL otopine PMA-e koncentracije  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  za taloženje IAC-a, postepeno je dokapavano 50,0 mL otopine THPHCl-a koncentracije  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  za taloženje IAC-a uz stalno miješanje. Nastao je slabo topljivi tirkizno zeleni triheksifenidilov fosfomolibdat kompleks (THP-PM) (slika 19 c).
- U 50,0 mL otopine amonijevog reinekata koncentracije  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  za taloženje IAC-a, postepeno je dokapavano 50,0 mL otopine THPHCl-a koncentracije  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  za taloženje IAC-a uz stalno miješanje. Nastao je slabo topljivi rozi triheksifenidilov reinekat kompleks (THP-REIN) (slika 19 d).

Pripravljene suspenzije ostavljene su u svojim matičnim otopinama preko noći. Sutradan je izvršena filtracija preko filter papira bijela vrpca za svaku od suspenzija posebno. Potom je svaki nastali kolač ispiran s destiliranom vodom do potvrđene negativne reakcije na kloride (s otopinom  $\text{AgNO}_3$  koncentracije  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ), te ostavljen da se suši na sobnoj temperaturi 72 sata. Nakon sušenja svaki pripravljeni THP-TPB, THP-PT, THP-PM odnosno THP-REIN kompleks je u ahatnom tarioniku usitnjen do praškastog oblika. Izvršena je CHN analiza pripravljenih kompleksa.



**Slika 19.** Shematski prikaz kemijskih reakcija nastajanja ionsko-asocijacijskih kompleksa: a) THP-TPB; b) THP-TPB; c) THP-PT; d) THP-REIN



### 3.4. Priprava otopina za potenciometrijska mjerenja

#### Priprava otopine octene kiseline koncentracije 0,015 mol L<sup>-1</sup>

U odmjernu tikvicu od 100 mL preneseno je 86 µL ledene octene kiseline te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine natrijevog acetata koncentracije 0,015 mol L<sup>-1</sup>

123,0 mg natrijevog acetata otopljeno je u destiliranoj vodi, preneseno u odmjernu tikvicu od 100 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine acetatnog pufera (pH=4,5; c=0,015 mol L<sup>-1</sup>)

U odmjernu tikvicu od 1 L dodano je 556 µL ledene octene kiseline i 436,0 mg natrijevog acetata te nadopunjeno do oznake destiliranom vodom. pH vrijednost tako pripremljene otopine pufera je podešena na vrijednost 4,5 dodatkom otopine octene kiseline odnosno otopine natrijevog acetata iste koncentracije (0,015 mol L<sup>-1</sup>).

#### Priprava otopine triheksifenidil hidroklorida koncentracije 0,01 mol L<sup>-1</sup>

U otopini pufera prethodno zagrijanoj na 37 °C otopljeno je 337,9 mg THPHCl-a. Nakon što je otopina ohlađena na sobnu temperaturu, prenesena je u odmjernu tikvicu od 100 mL te nadopunjena otopinom pufera do oznake.

#### Priprava otopina za konstrukciju krivulja umjeravanja

Krivulje umjeravanja konstruirane su na temelju prosječnih rezultata dobivenih mjerenjem potencijala otopina različitih koncentracija THP-a. Kao ishodna otopina za pripremu svih otopina korištena je pripravljena otopina THPHCl-a koncentracije 0,01 mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 2,0) za potenciometrijska mjerenja u otopini acetatnog pufera.

Radne otopine nižih koncentracija THP-a redom  $4,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 2,4),  $1,6 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 2,8),  $6,3 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 3,2),  $2,5 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 3,6),  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 4,0),  $4,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 4,4),  $1,6 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 4,8),  $6,3 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 5,2),  $2,5 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 5,6),  $1,0 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 6,0),  $4,0 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 6,4),  $2,5 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 6,6),  $1,6 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 6,8),  $1,0 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 7,0),  $6,3 \times 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 7,2),  $4,0 \times 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup> (pTHP = 7,4) pripravljene su slijednim razrjeđenjem ishodne otopine.

### **3.5. Priprava otopina za ispitivanje utjecaja pH na potencijal elektrode**

#### Priprava otopine NaOH koncentracije 1,0 mol L<sup>-1</sup>

Za pripravu otopine natrijevog hidroksida koncentracije 1,0 mol L<sup>-1</sup> otopljeno je 400,0 mg NaOH u destiliranoj vodi u odmjernoj tikvici od 10 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine HCl koncentracije 1,0 mol L<sup>-1</sup>

U odmjernu tikvicu od 10 mL preneseno je 833 µL 36,5%-tne otopine klorovodične kiseline te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

### **3.6. Priprava otopina interferirajućih vrsta**

#### Priprava otopine KNO<sub>3</sub> koncentracije 0,1 mol L<sup>-1</sup>

101,1 mg KNO<sub>3</sub> otopljeno je u destiliranoj vodi, preneseno u odmjernu tikvicu od 10 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine NH<sub>4</sub>Cl koncentracije 0,1 mol L<sup>-1</sup>

53,8 mg NH<sub>4</sub>Cl otopljeno je u destiliranoj vodi, preneseno u odmjernu tikvicu od 10 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> koncentracije 0,1 mol L<sup>-1</sup>

238,5 mg Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>×6H<sub>2</sub>O otopljeno je u destiliranoj vodi, preneseno u odmjernu tikvicu od 10 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> koncentracije 0,1 mol L<sup>-1</sup>

259,0 mg Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>×6H<sub>2</sub>O otopljeno je u destiliranoj vodi, preneseno u odmjernu tikvicu od 10 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> koncentracije 0,1 mol L<sup>-1</sup>

303,6 mg Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>×6H<sub>2</sub>O otopljeno je u destiliranoj vodi, preneseno u odmjernu tikvicu od 10 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> koncentracije 0,1 mol L<sup>-1</sup>

331,2 mg Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> otopljeno je u destiliranoj vodi, preneseno u odmjernu tikvicu od 10 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> koncentracije 0,1 mol L<sup>-1</sup>

404,0 mg Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>×9H<sub>2</sub>O otopljeno je u destiliranoj vodi, preneseno u odmjernu tikvicu od 10 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine glukoze koncentracije 0,1 mol L<sup>-1</sup>

184,8 mg glukoze otopljeno je u destiliranoj vodi, preneseno u odmjernu tikvicu od 10 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine galaktoze koncentracije 0,1 mol L<sup>-1</sup>

185,7 mg galaktoze otopljeno je u destiliranoj vodi, preneseno u odmjernu tikvicu od 10 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine fruktoze koncentracije 0,1 mol L<sup>-1</sup>

182,0 mg fruktoze otopljeno je u destiliranoj vodi, preneseno u odmjernu tikvicu od 10 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine acetilsalicilne kiseline koncentracije 0,1 mol L<sup>-1</sup>

182,0 mg acetilsalicilne kiseline otopljeno je u destiliranoj vodi, preneseno u odmjernu tikvicu od 10 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine paracetamola koncentracije 0,1 mol L<sup>-1</sup>

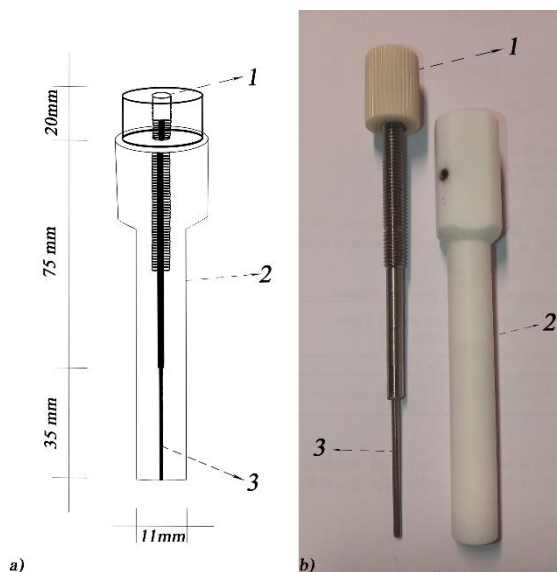
151,2 mg paracetamola otopljeno je u destiliranoj vodi, preneseno u odmjernu tikvicu od 10 mL te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

#### Priprava otopine maprotilina koncentracije 0,1 mol L<sup>-1</sup>

31,4 mg maprotilin hidroklorida je otopljeno u destiliranoj vodi prethodno zagrijanoj na 37 °C. Na sobnu temperaturu ohlađena otopina je prenesena u odmjernu tikvicu od 10 mL koja je potom nadopunjena destiliranom vodom do oznake.

### **3.7. Dizajniranje i laboratorijska izrada tijela za elektrode na bazi paste od ugljikovog materijala**

Tijelo elektrode je izrađeno od poli(tetrafluoretilenske) šipke vanjskog odnosno korisnog promjera baze od 11 mm odnosno 2 mm. Električni spoj membrane (paste) i milivoltmetra ostvaren je preko šipke od nehrđajućeg čelika na čijem je gornjem dijelu utor za koaksijalni kabel. U duljini od 4 cm šipke od nehrđajućeg čelika izrađeno je čak 50 navoja čime je omogućeno njeno čvrsto prijanjanje uz tijelo elektrode kao i mogućnost do 100 testiranja jedne pripravljene membrane (slika 20).



**Slika 20.** a) Tehnički nacrt elektrode; b) Prikaz rastavljene elektrode. (1-utor za koaksijalni kabel, 2-teflonsko tijelo elektrode, 3-šipka od nehrđajućeg čelika promjera 2 mm)

S pastom približne mase 100 mg moguće je izvršiti više od 50 obnavljanja površine membrane elektrode, uzevši u obzir činjenicu da zbrojeni maseni udjeli grafita i veziva u većini pasti premašuje 90%. Kada se tome pridodaju neke vrlo skupe (u malim udjelima zastupljene) ostale komponente paste, jasna je opravdanost izrade tijela ovakvih minijaturnih karakteristika korisnog volumena.

### 3.8. Priprava elektroda na bazi ugljikove paste

U ahatnom tarioniku na analitičkoj vagi izvagane su određene količine grafita, veziva, istaloženog IAC-a, aditiva, sintetiziranog GO odnosno rGO prema definiranom redu prikazanom tablicom 4.

**Tablica 4.** Udio komponenti u pripremljenim membranama

<i>CPE</i>	<i>grafit (%)</i>	<i>vezivo (%)</i>	<i>IAC (%)</i>	<i>aditiv (%)</i>	<i>rGO (%)</i>	<i>GO (%)</i>
1	64,6	35,4				
2	59,8	40,2				
3	55,3	44,7				
4	51,8	48,2				
5	45,2	54,8				
6	65,4	34,6				
7	59,4	40,6				
8	54,9	45,1				
9	50,2	49,8				

10	45,0		55,0	
11	63,9		36,1	
12	60,0		40,0	
13	54,7	PO	45,3	
14	48,8		51,2	
15	45,2		54,8	
16	64,7		35,3	
17	58,9		41,1	
18	54,1	TEPh	45,9	
19	49,9		50,1	
20	43,8		56,2	
21	65,0		35,0	
22	59,7		40,3	
23	55,4	NPOE	44,6	
24	49,9		50,1	
25	44,7		55,3	
26	65,4		34,6	
27	60,4		39,6	
28	55,0	DEHA	45,0	
29	49,9		50,1	
30	44,4		55,6	
31	54,1		45,6	0,3
32	53,9		45,1	1,0
33	50,6	DBP	46,5	2,9
34	49,8		44,5	5,7
35	44,9		44,9	10,2
36	40,5		45,0	14,5
37	54,3		45,3	0,4
38	54,2		44,8	1,0
39	52,1	DOP	44,9	3,0
40	48,1		46,1	5,8
41	54,8		44,9	0,3
42	53,9		45,0	1,1
43	50,8	PO	44,6	4,6
44	44,9		45,6	9,5
45	55,1		44,6	0,3
46	55,0	TEPh	44,1	0,9
47	52,8		44,9	2,3
48	50,6		45,3	4,1

THP-TPB

49	47,7		45,6	6,7
50	54,2		45,6	0,2
51	53,7	NPOE	45,3	1,0
52	52,2		44,6	3,2
53	49,1		45,2	5,7
54	45,4		45,8	8,8
55	54,9		44,8	0,3
56	53,6	DEHA	45,5	0,9
57	52,0		45,2	2,8
58	48,9		44,6	6,5
59	39,8		45,3	14,9
60	54,5		45,2	0,3
61	53,3	DBP	45,6	1,1
62	52,1		45,0	2,9
63	49,0		45,0	6,0
64	46,2		45,1	8,7
65	40,4		44,6	15,0
66	55,0		44,8	0,2
67	53,8		45,3	0,9
68	53,1	DOP	44,9	2,0
69	50,4		45,3	4,3
70	45,3		45,6	9,1
71	54,4		45,3	0,3
72	54,4	PO	44,8	0,8
73	53,1		44,1	2,8
74	49,6		44,2	6,2
75	46,3		44,6	9,1
76	53,9		45,8	0,3
77	54,8	TEPh	44,3	0,9
78	51,5		45,6	2,9
79	49,7		44,2	6,1
80	45,8		44,9	9,3
81	55,1		44,6	0,3
82	52,6	NPOE	46,5	0,9
83	52,0		45,2	2,8
84	48,3		45,4	6,3
85	44,8		46,1	9,1
86	54,4		DEHA	45,3
87	53,7	45,5		0,8

THP-PT

88	51,7		45,4	2,9
89	48,5		45,6	5,9
90	40,4		45,2	14,4
91	55,2		44,6	0,2
92	55,1		43,9	1,0
93	52,1	DBP	45,1	2,8
94	49,9		44,1	6,0
95	46,2		44,4	9,4
96	54,8		44,9	0,3
97	54,6		44,2	1,2
98	52,0	DOP	44,6	3,4
99	49,3		44,6	6,1
100	54,6		45,1	0,3
101	53,7		45,2	1,1
102	51,5	PO	45,6	2,9
103	48,4		45,8	5,8
104	44,5		45,9	9,6
105	55,2		44,6	0,2
106	54,7		44,4	0,9
107	52,4	TEPh	44,9	2,7
108	49,3		45,0	5,7
109	45,8		45,0	9,2
110	55,1		44,6	0,3
111	54,7		44,3	1,0
112	52,1	NPOE	45,0	2,9
113	49,1		45,1	5,8
114	45,2		45,6	9,2
115	52,9		46,9	0,2
116	55,3		43,6	1,1
117	52,8	DEHA	44,3	2,9
118	49,8		44,2	6,0
119	40,1		45,0	14,9
120	53,4		46,3	0,3
121	53,3		45,8	0,9
122	51,6	DBP	45,2	3,2
123	47,1		45,3	7,6
124	39,7		45,6	14,7
125	54,7		45,1	0,2
126	53,4	DOP	45,6	1,0

THP-PM

THP-REIN

127	51,1		45,8		3,1	
128	46,0		45,2		8,8	
129	39,8		45,0		15,2	
130	54,3		45,4		0,3	
131	54,6		44,3		1,1	
132	53,0	PO	44,2		2,8	
133	48,3		44,1		7,6	
134	38,9		45,8		15,3	
135	55,4		44,3		0,3	
136	53,7		45,3		1,0	
137	51,6	TEPh	44,9		3,5	
138	46,9		44,8		8,3	
139	39,3		45,6		15,1	
140	54,6		45,1		0,3	
141	52,6		46,3		1,1	
142	52,2	NPOE	45,2		2,6	
143	48,6		45,3		6,1	
144	39,4		45,3		15,3	
145	54,1		45,6		0,3	
146	54,1		44,9		1,0	
147	52,2	DEHA	44,6		3,2	
148	45,8		46,2		8,0	
149	39,9		45,3		14,8	
150	47,6		44,3		8,1	
151	43,3	DBP	44,7		12,0	
152	54,1		45,3	THP-TPB	0,6	
153	54,0	TEPh	44,6		1,4	
154	53,0		44,6		2,4	
155	50,8		44,9		4,3	
156	52,8	NPOE	45,3	THP-PT	1,9	
157	51,7		44,2		4,1	
158	54,8		44,6		0,6	
159	52,9	DOP	44,9		2,2	
160	51,0		44,9	THP-PM	4,1	
161	52,8		44,9		2,3	
162	50,9	NPOE	45,3		3,8	
163	46,8		45,0		8,1	0,1
164	46,3	DBP	45,4	THP-TPB	8,0	0,3
165	45,4		45,5		8,2	0,9

NaTPB

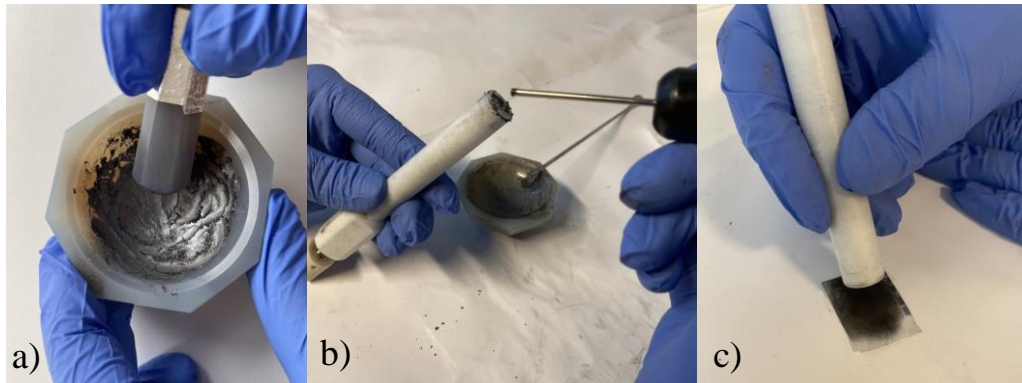


166	44,6		44,9	8,3	2,2
167	44,8		45,0	10,1	0,1
168	44,1		45,4	10,2	0,3
169	43,5		45,4	10,1	1,0
170	52,8		45,6	1,4	0,2
171	52,6	TEPh	45,5	1,5	0,4
172	52,4		45,1	1,5	1,0
173	51,3		45,0	1,4	2,3
174	52,5		44,2	3,2	0,1
175	52,0		44,6	3,1	0,3
176	51,0		44,8	3,2	1,0
177	49,6		44,9	3,0	2,5
178	52,7	NPOE	44,4	2,8	0,1
179	52,2		44,7	2,7	0,4
180	50,5		45,6	2,9	1,0
181	51,6		45,3	3,0	0,1
182	51,4		45,2	3,1	0,3
183	51,0		45,0	3,1	0,9
184	46,7		44,9	8,3	0,1
185	46,8		44,8	8,0	0,4
186	46,3		44,9	7,9	0,9
187	42,6	DBP	45,0	8,1	4,3
188	44,5		45,3	10,0	0,2
189	43,9		45,4	10,3	0,4
190	43,6		45,3	10,1	1,0
191	52,6		45,8	1,5	0,1
192	52,8	TEPh	45,2	1,6	0,4
193	51,9		45,7	1,5	0,9
194	47,5		44,8	1,4	6,3
195	52,0		44,8	3,1	0,1
196	51,4		45,3	3,0	0,3
197	52,2		44,2	2,8	0,8
198	46,3		45,1	2,9	5,7
199	52,3	NPOE	44,6	3,0	0,1
200	51,2		45,2	3,2	0,4
201	51,0		45,3	2,8	0,9
202	51,2		45,8	2,9	0,1
203	51,0		45,6	3,1	0,3
204	51,2		44,9	3,1	0,8

TBATPB

205	44,3		45,3	10,0	0,3	0,1		
206	43,8		45,4	10,1	0,2	0,5		
207	42,3	DBP	45,2	10,2	0,3	2,0		
208	40,6		45,0	10,2	0,3	3,9		
209	38,1		45,6	9,9	0,2	6,2		
210	42,7		44,9	8,1	0,3	4,0		
211	53,4		44,7	1,4	0,3	0,2		
212	52,8	TEPh	44,9	THP-TPB	0,3	0,5		
213	51,0		45,1		1,5	0,3	2,1	
214	49,3		45,0		1,4	0,3	4,0	
215	43,3		45,3		1,6	0,3	9,5	
216	51,6		44,9		3,3	0,1	0,1	
217	51,5		44,8	3,1	0,2	0,4		
218	51,2		44,8	3,0	0,1	0,9		
219	49,4		45,6	2,8	0,1	2,1		
220	47,6		45,3	2,9	0,2	4,0		
221	51,3	NPOE	45,2	3,1	NaTPB	0,3	0,1	
222	51,1		45,0	3,0		0,4	0,5	
223	51,0		45,1	2,8		0,3	0,8	
224	50,1		44,9	2,9		0,2	1,9	
225	48,0		44,7	3,2		0,3	3,8	
226	51,6		44,9	3,1	0,3	0,1		
227	51,1		45,0	3,2	0,3	0,4		
228	49,8		45,3	3,0	0,3	1,6		
229	40,7		44,8	10,1	0,3	4,0	0,1	
230	40,3	DBP	45,2	9,8	0,3	3,9	0,5	
231	39,2		44,9	10,2	0,4	3,7	1,6	
232	37,0		45,1	10,0	0,3	3,8	3,8	
233	50,5		43,9	3,1	0,2	2,2	0,1	
234	49,0	NPOE	44,6	3,2	0,3	1,9	1,0	
235	46,5		44,9	2,9	0,2	2,3	3,2	

Kružnim pokretima tučkom vršena je homogenizacija (slika 21a). Pripravljene paste imale su masu  $101,6 \pm 7,9$  mg. Potom je pomoću špatulice i punjača svaka pasta unošena u već opisano tijelo elektrode vodeći računa o tome da se tijekom punjenja tijela elektrode izbjegne pojava mjehurića zraka u pasti (slika 21b). Membrana elektrode je prema potrebi polirana na para filmu (slika 21c).



**Slika 21.** Slijed priprave CPE

### 3.9. Korištena aparatura za potenciometrijska mjerenja

U eksperimentalnom radu za potenciometrijska mjerenja korištene su u laboratoriju pripravljene indikatorske ionsko-selektivne elektrode na bazi paste od ugljikovog materijala prema tablici 4.

Kao referentna elektroda korištena je Ag/AgCl elektroda (model InLab 51343190, Mettler-Toledo odnosno LL ISE Reference WOS model 60750100, Metrohm).

Potencijali su mjereni modelima milivoltmetara Seven Easy odnosno MU6100H.

Svaka otopina miješana je uz pomoć magnetskih miješalica, a stalan broj okretaja reguliran je preko regulacijskog transformatora.

Sva potenciometrijska mjerenja vršena su u elektrokemijskoj ćeliji (slika 22) čiji shematski prikaz glasi:

Ag/AgCl (zasićeno)//otopina uzorka/pasta od ugljikovog materijala/šipka od nehrđajućeg čelika<sup>[224]</sup>



**Slika 22.** Čelija s elektrodom na bazi paste od ugljikovog materijala i referentom elektrodom

### 3.10. Ispitivanja odzivnih karakteristika pripremljenih elektroda

Svojstva svake pripravljene elektrode ispitivana su mjerenjem promjene potencijala u 20 mL svake od radnih otopine THP-a, a čije su koncentracije mijenjane od najniže ( $4,0 \times 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup>) prema najvišoj ( $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>). Prije svakog ciklusa mjerenja površina membrane elektrode je polirana i kondicionirana 15 minuta u otopini acetatnog pufera koncentracije 0,015 mol L<sup>-1</sup> i pH vrijednosti 4,5. Očitani potencijali svakog mjerenja prikazani su kao linearna funkcija negativnog logaritma koncentracije THP-a. Statističkom obradom više provedenih istovrsnih mjerenja, za svaku pripravljenu elektrodu definirani su: nagib krivulje umjeravanja uz standardno odstupanje istoga, faktor regresije, linearno dinamičko područje te donja granica dokazivanja.

Za određivanje ostalih validacijskih parametara korištena je elektroda koja je pokazivala najbolje odzivne karakteristike prema određivanju THP-a.

Utjecaj pH na potencijal takve elektrode ispitivan je na način da je svakoj od otopina volumena 50 mL koncentracija THP-a  $1,0 \times 10^{-4}$ ,  $1,0 \times 10^{-5}$  odnosno  $1,0 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> mijenjan pH, u rasponu od 1,2 do 8,4 dodatkom malih volumena otopina HCl-a odnosno NaOH koncentracija 1,0 mol L<sup>-1</sup>. Istovremeno su praćene promjene potencijala i pH. Ovako dobiveni podaci korišteni su za utvrđivanje radnog područja elektrode u ovisnosti o pH vrijednosti.

Ponovljivost je ispitivana uzastopnim uranjanjima elektrode u koncentracijski niz 5 otopina THP-a (od  $1,0 \times 10^{-6}$  do  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>) volumena 20 mL, od kojih je svaka sljedeća imala deseterostruko višu koncentraciju THP-a od prethodne. Potom je proveden isti postupak, ali u obrnutom smjeru (od viših prema nižim vrijednostima koncentracija). Eksperiment je ponavljan do gubitka osjetljivosti elektrode.

Vrijeme života elektrode s inicijalno najboljim odzivnim karakteristikama, ispitivano je u trajanju od 30 dana, mjerenjem promjene potencijala u 20 mL radnih otopina koncentracijskog niza THP-a od  $4,0 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> do  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>. Iz dobivenih eksperimentalnih vrijednosti nakon svakog dana mjerenja, konstruirana je krivulja umjeravanja iz koje je određen nagib. Po završetku svakog ciklusa mjerenja, površina membrane elektrode isprana je u destiliranoj vodi, obrisana i obložena parafilmom te tako čuvana pri sobnoj temperaturi.

U prvom koraku kod određivanja selektivnosti elektrode u 50 mL radne otopine THP-a koncentracije  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> (ishodna otopina) uz bilježenje potencijala, 10 puta je sukcesivno dodavan volumen od po 0,5 mL otopine THP-a koncentracije  $1,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> tj. dok se nije postigla željena koncentracija otopine THP-a od  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>. Nakon toga su u drugom koraku u niz ishodnih otopina (50 mL otopine THP-a koncentracije  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>) u malim obrocima dodavane otopine ispitivanih interferirajućih vrsta koncentracije od 0,1 mol L<sup>-1</sup> (vrijedi za sve interferente, osim maprotilin hidroklorida čija je pripravljena koncentracija 0,01 mol L<sup>-1</sup>) dok nije uočeno „preklapanje“ s nekim od prethodno zabilježenih potencijala iz prvog koraka tj. do bilo koje od uočenih jednakih vrijednosti potencijala prethodno zabilježenih u prvom koraku. Temeljem dodanog volumena i izračunatih vrijednosti koncentracija svakog od interferenta izračunati su koeficijenti selektivnosti prema jednadžbi 7.

### **3.11. Analitička primjena**

#### **3.11.1. Priprava otopina realnih uzoraka**

Pomoću tučka i ahatnog tarionika, pet Parkopan tableta (ukupno 10 mg THP-a) ručno je usitnjeno u fini prah koji je potom kvantitativno prenesen u 100 mL otopine acetatnog pufera, prethodno zagrijane na 37 °C. Suspenzija je uz održavanje stalne temperature miješana na magnetnoj miješalici 60 minuta. Nakon hlađenja, filtrirana je preko filter papira bijela vrpca. Filtrat čija je očekivana koncentracija THP-a iznosila

$3,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , razrjeđivan je otopinom acetatnog pufera u cilju pripreme otopina Parkopan tableta očekivanih koncentracija THP-a od  $1,0 \times 10^{-4}$  odnosno  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .

Kako bi se pripravili realni uzorci urina koncentracija THP-a od  $1,0 \times 10^{-4}$  odnosno  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , u po 25 mL uzorka ljudskog urina dodano je 500  $\mu\text{L}$  odnosno 5 mL otopine THP-a koncentracije  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Takve otopine urina obogaćene THP-om prenesene su u dvije odmjerne tikvice od 50 mL te nadopunjene otopinom acetatnog pufera do oznaka.

### 3.11.2. Izvod segmentnog oblika jednadžbe pravca u metodi standardnog dodatka u potencijometriji

Uz sve prethodno opisano u uvodnom poglavlju daljnim preuređenjem Nernstove jednadžbe u ovom poglavlju je prikazan je matematički izvod izraza za određivanje nepoznate koncentracije analita u metodi standardnog dodatka u potencijometriji kako slijedi:

$$E_i = E^0 - \frac{RT}{zF} \ln \frac{a_r}{a_o} \quad (18)$$

$$E_i = E^0 - S \log \frac{a_r}{a_o} \quad (19)$$

$$E_i = E^0 - S \log \frac{1}{a_o} \quad (20)$$

$$E_i = E^0 + S \log a_o \quad (21)$$

Izlučena vrijednosti aktiviteta oksidirane vrste ( $a_o$ ) iz Nernstove jednadžbe, predstavlja izraz za određivanje aktiviteta kationa koji glasi:

$$a_o = 10^{\frac{E_i - E^0}{S}} \quad (22)$$

U metodi standardnog dodatka dodatkom određenog ukupnog volumena standarda ( $V_s$ ) poznate koncentracije ( $c_s$ ) u poznati volumen ispitivane otopine ( $V_A$ ) nepoznate koncentracije ( $c_A$ ) povećava se ukupna množina analita ( $n_{uk}$ ).

$$n_{uk} = n_A + n_S \quad (23)$$

$$c_{uk}V_{uk} = c_A V_A + c_S V_S \quad (24)$$

$$c_{uk}(V_A + V_S) = c_A V_A + c_S V_S \quad /:(V_A + V_S) \quad (25)$$

Ukupna koncentracija u ćeliji ( $c_{uk}$ ) prikazana je jednadžbom:

$$c_{uk} = \frac{c_A V_A + c_S V_S}{V_A + V_S} \quad (26)$$

Uz pretpostavku da koeficijent aktiviteta iznosi 1,0 ukupna koncentracija jednaka je aktivitetu

$$a_o = \frac{c_A V_A + c_S V_S}{V_A + V_S} \quad (27)$$

Jednadžba

$$c_A = 10^{\frac{E_0 - E^0}{S}} \quad (28)$$

nije ništa drugo doli preuređeni oblik jednadžbe 22 u kojoj  $E_0$  predstavlja onaj (multi) potencijal otopine nepoznate (ispitivane) koncentracije ( $c_A$ ) prije dodatka standarda.

Izjednačavanjem jednadžbi 22 i 27 dobije se

$$\frac{c_A V_A + c_S V_S}{V_A + V_S} = 10^{\frac{E_i - E^0}{S}} \quad (29)$$

Dijeljenjem jednadžbe 29 s jednadžbom 28 poništava se utjecaj konstante  $E^0$  kako slijedi:

$$\frac{\frac{c_A V_A + c_S V_S}{V_A + V_S}}{c_A} = \frac{10^{\frac{E_i - E^0}{S}}}{10^{\frac{E_0 - E^0}{S}}} \quad (30)$$

$$\frac{c_A V_A + c_S V_S}{c_A (V_A + V_S)} = 10^{\frac{E_i - E_0}{S}} \quad (31)$$

Daljnijim preuređenjem jednadžbe 31, po prvi put uopće razvijena je i primjenjena metoda standardnog dodatka u potenciometriji prikazana pomoću segmentnog oblika jednadžbe pravca.

$$\frac{c_A V_A + c_S V_S}{c_A} = 10^{\frac{E_i - E_0}{S}} (V_A + V_S) \quad (32)$$

$$V_A + \frac{c_S V_S}{c_A} = 10^{\frac{E_i - E_0}{S}} (V_A + V_S) \quad /:V_A \quad (33)$$

$$1 + \frac{\frac{c_S V_S}{c_A}}{V_A} = \frac{10^{\frac{E_i - E_0}{S}} (V_A + V_S)}{V_A} \quad (34)$$

$$\frac{\frac{c_S V_S}{V_A}}{-c_A} + \frac{10^{\frac{E_i - E_0}{S}} (1 + \frac{V_S}{V_A})}{1} = 1 \quad (35)$$

Izraz  $E_i - E_0$  iz gornjih jednadžbi predstavlja razliku očitano potencijala nakon svakog sukcesivnog dodatka standarda u ispitivanu otopinu analita i onog (nultog) očitano u ispitivanoj otopini prije dodatka standarda ( $E_1 - E_0$ ,  $E_2 - E_0$ ,  $E_3 - E_0$ , itd.).

Izraz

$$\frac{\frac{c_S V_S}{V_A}}{-c_A} + \frac{10^{\frac{\Delta E}{S}} (1 + \frac{V_S}{V_A})}{1} = 1 \quad (36)$$

predstavlja segmentni oblik jednadžbe pravca iz kojeg je vidljivo da nul-točka pravca predstavlja negativnu vrijednost koncentracije ciljanog kationa u nepoznatom uzorku, a sve uz uvjet da je izraz  $\frac{c_S V_S}{V_A}$  varijabla osi apscisa, a izraz  $10^{\frac{\Delta E}{S}} (1 + \frac{V_S}{V_A})$  varijabla osi ordinata.

Nastavno na gore definirano, segmentni oblik jednadžbe pravca čija nul-točka predstavlja negativnu vrijednost koncentracije ciljanog aniona u nepoznatom uzorku glasi isto kao i za katione samo što je  $\Delta E$  razlika očitano (nultog) potencijala u ispitivanoj otopini analita i onog očitano potencijala nakon svakog sukcesivnog dodatka standarda

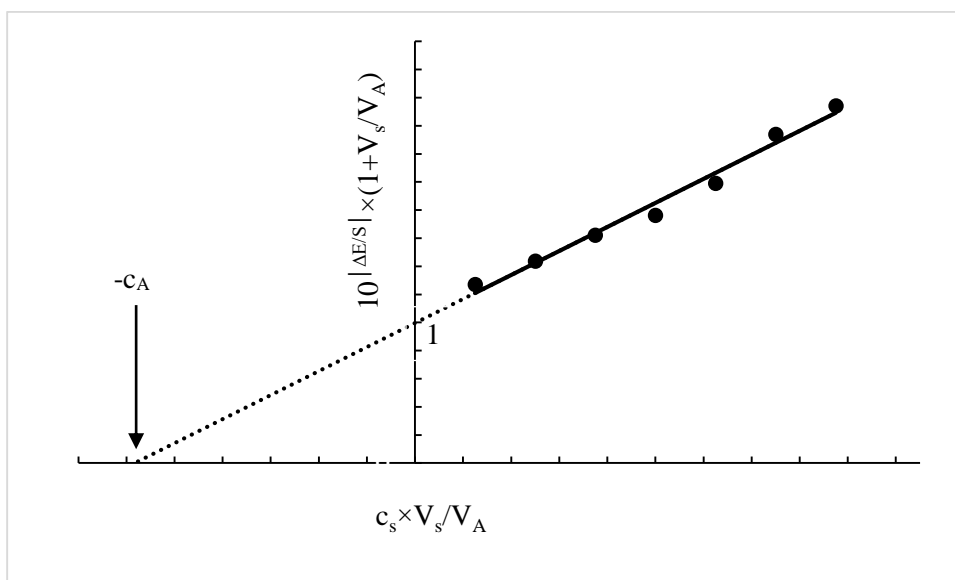


u analiziranu otopinu ( $E_0 - E_1$ ,  $E_0 - E_2$ ,  $E_0 - E_3$ , itd.) tj. suprotnog predznaka u usporedbi s metodom standardnog dodatka za potenciometrijsko određivanje kationa.

Kada se kvocijenti gore obrazloženih promjena potencijala i nagiba krivulje umjeravanja izraze u obliku apsolutnih vrijednosti, segmentni oblik jednadžbe pravca poprima konačni oblik

$$\frac{\frac{c_s V_s}{V_A}}{-c_A} + \frac{10^{\left|\frac{\Delta E}{S}\right|} \left(1 + \frac{V_s}{V_A}\right)}{1} = 1 \quad (37)$$

a pravac se može konstruirati kako slijedi:



**Slika 23.** Grafički prikaz predloženog modela za određivanje nepoznate koncentracije analita metodom standardnog dodatka u potenciometriji

Isti se predlaže kao opći matematički model za određivanje nepoznate koncentracije analita u ispitivanim otopinama ako se kao metoda određivanja koristi metoda standardnog dodatka u potenciometriji.

Važno je za napomenuti da je vrijednost odsječka na osi ordinata, kod na ovakav način konstruirane jednadžbe pravca, konstantna i u teoriji iznosi 1 i kao takva može služiti kao indikator vjerodostojnosti rezultata provedenih eksperimentalnih mjerenja.

### 3.11.2.1. Primjena metode standardnog dodatka

U 50 mL svakog pripremljenog alikvota očekivane koncentracije THP-a od  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  sukcesivno su u 9 obroka dodavani volumeni od po 1 mL (ukupno 9 mL) pripremljenog standarda otopine THP-a koncentracije  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  te su bilježeni potencijali. Dobivene eksperimentalne vrijednosti preračunate su i grafički prikazane temeljem predloženog općeg matematičkog modela metode standardnog dodatka (jednadžba 38, slika 23). Ekstrapolacijom jednadžbe pravca izračunata je nul-točka čija negativna vrijednost predstavlja eksperimentalnu vrijednost koncentracije THP-a u ispitivanom alikvotu. Statističkom obradom očekivane i eksperimentalne vrijednosti prikazana je točnost svakog provedenog mjerenja.

Za alikvote očekivane koncentracije THP-a od  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  i volumena 50 mL sukcesivno su u 9 obroka dodavani volumeni od po 100  $\mu\text{L}$  (ukupno 900  $\mu\text{L}$ ) standarda otopine THP-a koncentracije  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  te su zabilježeni potencijali koji su dalje numerički modelirani kako je prethodno objašnjeno.

### 3.11.3. Primjena potenciometrijske titracije

Elektroda s optimiziranim udjelom komponenti, uronjena je u alikvot od 50 mL očekivane koncentracije THP-a od  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Otopina je dalje (u malim obrocima od 25 do 250  $\mu\text{L}$ ) slijedno titrirana s otopinom PTA-e koncentracije  $3,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  te je svakim dodatkom zabilježen potencijal. Grafički je određena točka ekvivalencije primjenom prve derivacije (definiranjem brzine promjene potencijala po volumenu kao minimuma funkcije volumena titranta), detaljno opisane u općem dijelu ove disertacije. Statističkom obradom očekivane i eksperimentalne vrijednosti prikazana je točnost svakog provedenog mjerenja. Na isti način pripremljeni alikvot titriran je i s otopinom NaTPB-a koncentracije  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ . Alikvoti istog volumena, a očekivane koncentracije THP-a od  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  titrirani su s otopinom PTA-e koncentracije  $3,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  odnosno otopinom NaTPB-a koncentracije  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .

U svakom od 6 različitih alikvota (čista otopina THP-a, otopina tableta Parkopan, otopina urina obogaćena standardnom otopinom THP-a, koncentracija  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  odnosno  $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) od kojih je svaki pripremljen 28 puta na jednak način primijenjene su metode izravne potenciometrije, standardnog dodatka te potenciometrijske titracije. Dobivenim rezultatima su definirane vrijednosti iskorištenja i

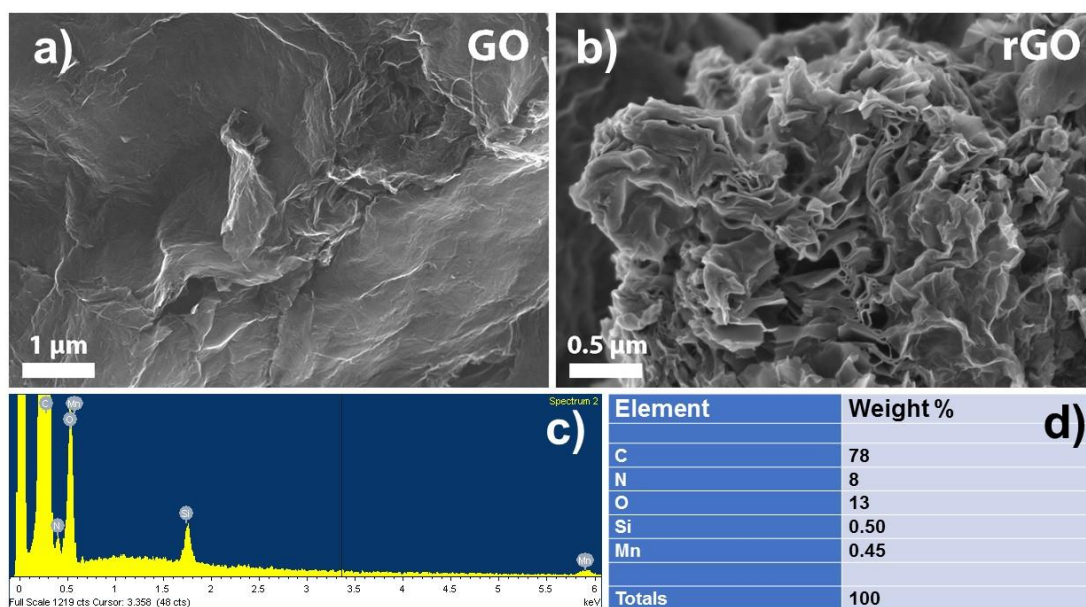
njihovih relativnih standardnih odstupanja prikazanih u sljedećem poglavlju, a koji rezultatima točnosti najbolje govore o vjerodostojnosti rezultata.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Interpretacija analiza sintetiziranih materijala

Prema metodama koje predlažu različiti autori, uz izmjene eksperimentalnih uvjeta, u prethodnom poglavlju ove doktorske disertacije detaljno je opisan tijek pripreve i postupak provedenih analiza GO odnosno rGO iz grafita kao polazišnog materijala.

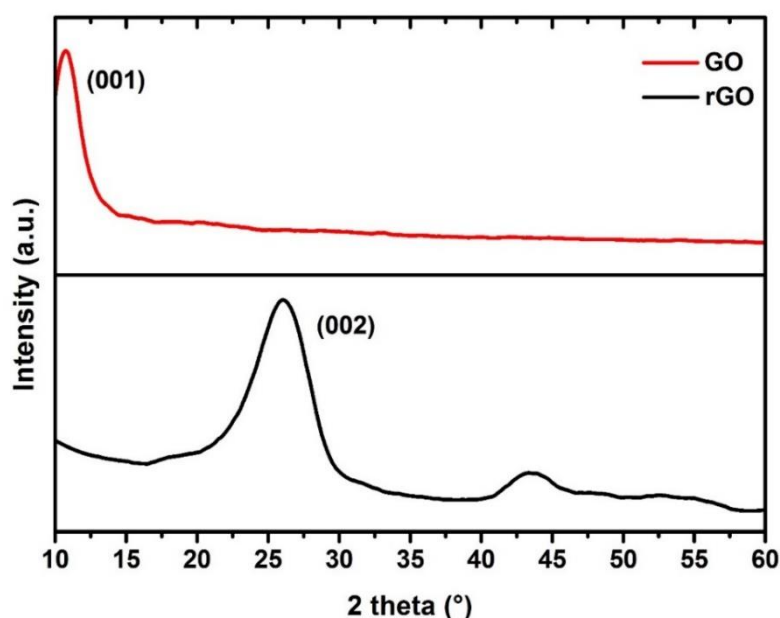
SEM-om je prikazana morfološka karakterizacija GO (slika 24a) i rGO (slika 24b). Vidljiva je slojevita pahuljasta struktura s velikom specifičnom površinom koja je potvrđena BET analizom. Naime, specifična površina rGO iznosi  $369 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  dok je numerička vrijednost specifične površina GO skoro 10 puta manja ( $37 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ), što ukazuje da je djelovanjem ultrazvuka odnosno kemijskom redukcijom GO osigurano i raslojavanje listova. Pahuljice promjera svega nekoliko  $\mu\text{m}$  jako su naborane kod oba ispitivana materijala (posebno rGO). Čak štoviše, kod rGO su uočljive crvolike strukture, a za koje je u literaturi pronađeno da poboljšavaju odzivne karakteristike različitih senzora.<sup>[224–226]</sup> EDS analizom rGO određen je kako kemijski sastav (slika 24c), tako i kvantifikacija sintetiziranog materijala (slika 24d).



**Slika 24.** a) SEM snimka grafitovog oksida; b) SEM snimka reduciranog grafenovog oksida; c) EDS spektar reduciranog grafenovog oksida; d) rezultati kvantifikacije reduciranog grafenovog oksida određeni EDS analizom

Vidljivo je da je većina funkcionalnih skupina kisika uklonjena tijekom redukcije GO što neizravno sugerira da je struktura rGO djelomično obnovljena. Zanimljivo je da je identificiran i zaostali dušik (8% masenog udjela) iz sinteze koji se mogao ugraditi u strukturu ispitivanog materijala tijekom redukcije s hidrazinom, ali i drugim nečistoćama uvedenim tijekom koraka oksidacije s  $\text{KMnO}_4$ . Identificiran je i Mn (<1% masenog udjela). U literaturi je pronađeno da su oba elementa korisna za poboljšanje karakteristika materijala vezanih za njihovu primjenu kod senzora.<sup>[227–229]</sup>

Postojanje navedenih crvolikih struktura dodatno je potvrđeno XRD analizom. Oba dobivena rendgenska difraktograma (slika 25) tipična su za GO i rGO, što je u skladu s literarnim podacima.<sup>[230]</sup>



**Slika 25.** XRD spektri grafitovog oksida - crvena krivulja i reduciranog grafitovog oksida - crna krivulja

Iz crvene krivulje može se vidjeti da GO prikazuje difrakcijski vrh sa središtem pri kutu  $10^\circ$  što Braggovom jednadžbom (izraz 13) nedvosmisleno potvrđuje ekspanziju udaljenosti između dva susjedna sloja i to zbog formiranja kisikovih funkcionalnih skupina između slojeva nastalih oksidacijom grafitovog materijala. Isto tako važno je za napomenuti da je zbog hidrofilne prirode formiranog GO, mala količina molekula vode uvijek prisutna kao zarobljena vrsta između slojeva. Međutim, utjecaj vode u ekspanziji udaljenosti slojeva je neznatan u usporedbi s nastankom funkcionalnih skupina kisika kao i nastalim defektima unutar strukture oksidiranog materijala što je u uvodnom poglavlju detaljno opisano. S druge strane, nakon redukcije vrh difraktograma nalazi se pri  $26^\circ$  čime

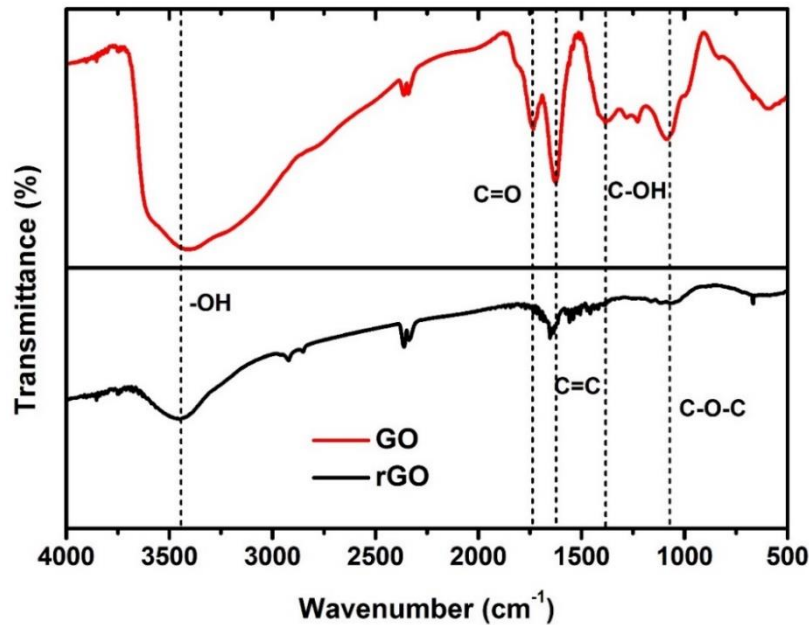
je potvrđeno smanjenje udaljenosti među slojevima što se pripisuje uklanjanju većine funkcionalnih skupina bogatih kisikom kao i regeneraciji strukturnih defekata. Dakle, difraktogram GO ima drugačiju kristaličnu strukturu, ali veću udaljenost između slojeva, dok difraktogram rGO pokazuje udaljenost među slojevima sličnu polazišnom materijalu (grafitu). Kako se ova tehnika u prvom redu koristi za određivanje udaljenosti među susjednim slojevima kristalne rešetke, eventualno dobivena struktura jednog lista grafita (grafen) ne bi se mogla analizirati ovom tehnikom, a rGO predstavlja višeslojni grafen.

Temeljita elementna analiza rGO-a je provedena korištenjem ICP-MS tehnike. Rezultati (tablica 5) jasno ukazuju na visoke vrijednosti koncentracija B, K, Mn i Fe. Većina metala s višim vrijednostima koncentracija inkorporirana je u ispitivani uzorak tijekom sinteze kao i iz nečistoća korištenih reagensa, dok su B i Fe inherentni s polazišnim grafitnim materijalom.

**Tablica 5.** Udjeli elemenata u reduciranom grafitnom oksidu određeni ICP-MS tehnikom

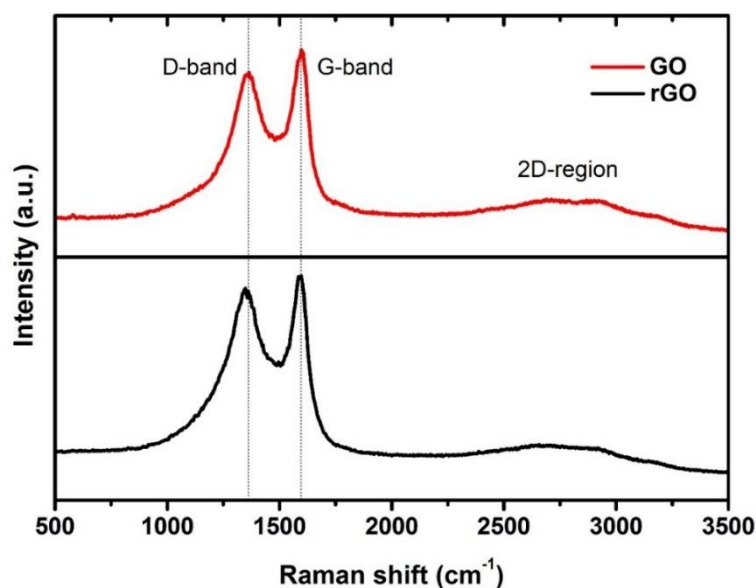
	<b>Be</b>	<b>B</b>	<b>Mg</b>	<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>Ti</b>	<b>V</b>
w ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	200,5	25205,1	210,4	4755,4	23,4	6,3	7,7
	<b>Cr</b>	<b>Mn</b>	<b>Fe</b>	<b>Co</b>	<b>Ni</b>	<b>Cu</b>	<b>Zn</b>
w ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	83,0	404,6	741,2	7,9	12,3	286,0	165,8
	<b>Ga</b>	<b>As</b>	<b>Rb</b>	<b>Sr</b>	<b>Zr</b>	<b>Mo</b>	<b>Ag</b>
w ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	16,6	117,9	8,0	13,3	31,2	316,3	424,5
	<b>Cd</b>	<b>Ba</b>	<b>Pt</b>	<b>Tl</b>	<b>Pb</b>	<b>Bi</b>	<b>U</b>
w ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	3,9	10,2	8,5	24,7	10,8	5,8	4,8

Na slici 26 prikazani su FTIR spektri GO i rGO. Široki apsorpcijski maksimum kod GO iznad valne duljine od  $3000\text{ cm}^{-1}$  nedvosmisleno ukazuje na prisutnost rastezних vibracija hidroksilne funkcionalne skupine. Rastezne vibracije  $\text{-C-O}$  veza uzrokuju apsorpcijske maksimume u području  $1380\text{-}1080\text{ cm}^{-1}$  što ukazuje na prisutnost epoksi i alkoksi skupina unutar strukture GO. Na  $1730\text{ cm}^{-1}$  je vrpca koja se pripisuje karbonilnoj skupini. Dakle, FTIR spektar GO pokazuje visoku koncentraciju funkcionalnih skupina kisika. Usporedba navedenog sa spektrom rGO i ovom tehnikom ukazuje da je tijekom procesa redukcije većina funkcionalnih skupina kisika uklonjena pri prethodno navedenim valnim brojevima. Također, u odnosu na GO kod rGO se pojavljuju nove apsorpcijske vrpce karakteristične za istežanje  $\text{C=C}$  veze pri valnim brojevima između  $1600$  i  $1400\text{ cm}^{-1}$  što je i očekivano.



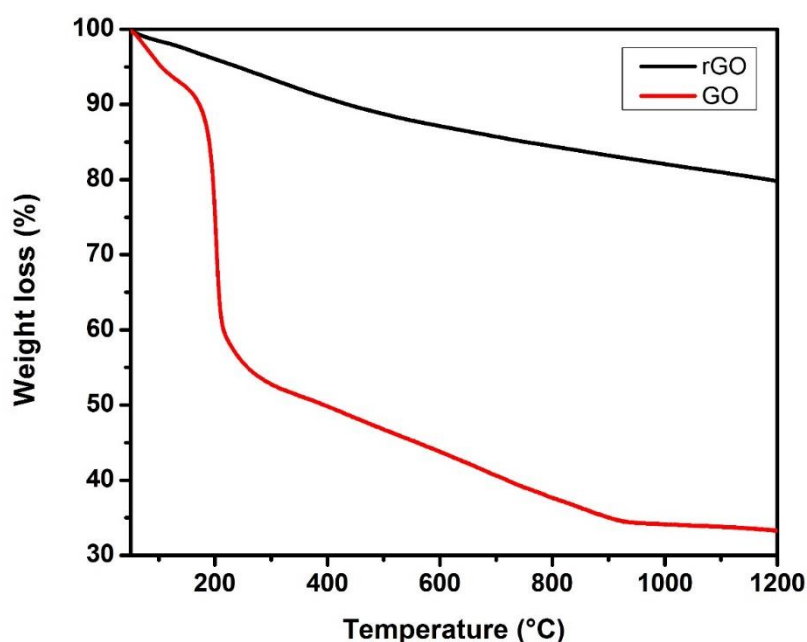
**Slika 26.** FTIR spektri grafitovog oksida - crvena krivulja i reduciranog grafenovog oksida - crna krivulja

Kao jedna od najčešće primjenjivanih metoda za karakterizaciju ugljikovih materijala koristi se Ramanova spektroskopija budući da se kao što je već ranije navedeno u spektru ugljikovih materijala javljaju tri karakteristična vrha pri valnim brojevima od  $1350\text{ cm}^{-1}$  (*D* vrh),  $1580\text{ cm}^{-1}$  (*G* vrh) te na  $2700\text{ cm}^{-1}$  (*2D* vrh) pomoću kojih se na relativno jednostavan način može se utvrditi broj slojeva i defekata u ispitivanom materijalu. Tako se broj slojeva grafena određuje se omjerom intenziteta *G* vrha i *2D* vrha. Kod jednoslojnog grafena *G* vrh je manjeg intenziteta od *2D* vrha, kod dvoslojnog grafena ti vrhovi su približno istog intenziteta, dok je kod višeslojnog grafena *G* vrh većeg intenziteta od *2D* vrha. Koncentracija defekata proporcionalna je intenzitetu *D* vrha na  $1350\text{ cm}^{-1}$ .<sup>[231]</sup> Oba Ramanova spektra u ovoj disertaciji (slika 27) pokazuju intenzivne *D* i *G* vrhove te slabo izražene *2D* vrhove. Nastavno na navedeno, jasna je visoka vrijednost omjera intenziteta vrha *G* prema *2D* kako kod GO tako i kod rGO što ukazuje na višeslojnost sintetiziranog materijala. Intenzivan pak *D* vrh ukazuje na defekte u smislu strukturnih nedostataka oba sintetizirana materijala.



**Slika 27.** Ramanovi spektri grafitovog oksida i reduciranog grafenovog oksida

Rezultati provedene TGA u inertnoj atmosferi argona (slika 28) također potvrđuju da je GO, kao prekursor korišten za sintezu rGO, visoko oksidiran. Znatno manje oksidirana struktura rGO, neizravno ukazuje na obnovu  $sp^2$  hibridizacije ugljikovih atoma. Također, velika razlika između GO i rGO u gubitku mase ukazuje da je omjer C/O drastično povećan nakon redukcije što je između ostalog i njen osnovni cilj.

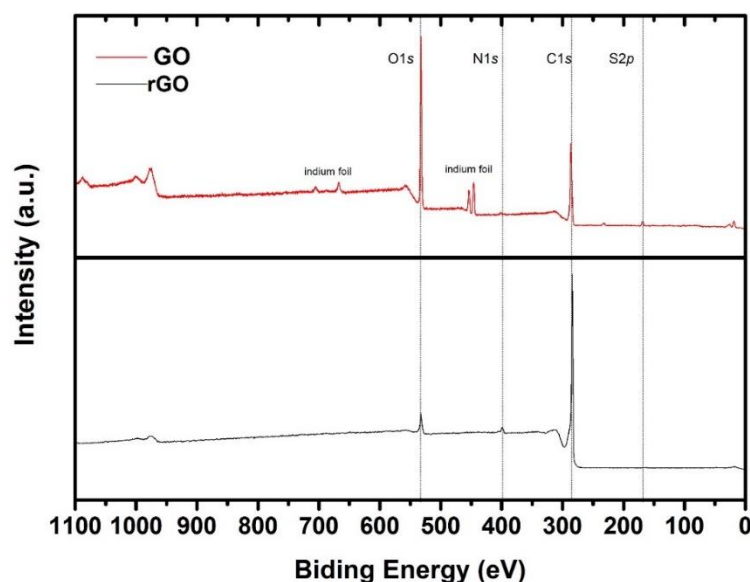


**Slika 28.** TGA krivulje grafitovog oksida i reduciranog grafenovog oksida

Dalje, kako bi se potvrdili prethodni zaključci i kvantificirao C/O omjer korištena je XPS tehnika (slika 29, tablica 6). Kvantifikacija  $C1s$  i  $O1s$  signala ukazuje da je C/O



omjer za GO 1,7 što je u rasponu tipičnom za GO. Nadalje, omjer C/O za rGO značajno raste (na 27,9) što je karakteristično za materijale rGO budući da se redukcijom eliminiraju funkcionalne skupine kisika. Nadalje, također je potvrđena prisutnost sumpora kod GO koji je u ispitivani uzorak unesen preko sumporne kiseline u inicijalnom koraku sinteze, a posebno dušika koji je unesen tijekom redukcije hidrazinom, a što je prethodno i navedeno.



**Slika 29.** XPS spektri grafitovog oksida i reduciranog grafenovog oksida

**Tablica 6.** Udjeli ugljika, kisika i dušika dobiveni rendgenskom fotoelektronskom spektroskopijom

Uzorak	C (%)	O (%)	N (%)
grafitov oksid (GO)	63,1	36,9	0
reducirani grafenov oksid (rGO)	94,9	3,4	1,7

Konačno, elementnom analizom masenih udjela ugljika, vodika i dušika potvrđen je i kemijski sastav svih istaloženih ionsko-asocijacijskih kompleksa kao elektroaktivnih tvari pripremljenih modificiranih CPE (tablica 7).

**Tablica 7.** Rezultati CHN analize istaloženih ionsko-asocijacijskih kompleksa

Uzorak		maseni udjeli		
		C (%)	H (%)	N (%)
THP-TPB	izračunati	84,99	8,45	2,25
	izmjereni	85,14	7,85	2,20
THP-PT	izračunati	19,04	2,56	1,11
	izmjereni	19,86	2,17	0,86

<b>THP-PM</b>	izračunati	26,40	3,55	1,54
	izmjereni	29,32	3,49	1,57
<b>THP-REIN</b>	izračunati	46,42	6,18	15,79
	izmjereni	46,71	5,51	15,62

Rezultati CHN analize pokazuju dobro slaganje s teorijskim (izračunatim) podacima što potvrđuje da triheksifenidil ima visok afinitet za uparivanje s ionima suprotnog naboja kao i točnost postavljenih stehiometrijskih omjera reaktanata u svakoj od reakcija (slika 19). Ipak određena odstupanja mogu se pripisati prisutnosti nečistoća, higroskopnosti uzorka i vezane vode iz atmosfere, vezivanjem CO<sub>2</sub> iz zraka kao i samoj oksidaciji.

#### **4.2. Optimizacija sastava membrane određivanjem odzivnih karakteristika**

U ovoj doktorskoj disertaciji provedena je opsežna kvalitativna i kvantitativna optimizacija svih komponenti paste za razvoj CMCPE za potenciometrijsko određivanje triheksifenidil hidroklorida. Ispitani su utjecaji masenog udjela i vrste veziva, IAC-a, lipofilnog dodataka te prethodno sintetiziranog nanomaterijala na inicijalne potenciometrijske odzive svih pripremljenih elektroda, a koji uključuju određivanje:

- nagiba krivulje umjeravanja sa standardnim odstupanjem i faktora regresije,
- linearnog dinamičkog područja,
- donje granica dokazivanja.

Svaka od elektroda ispitivana je kako bez poliranja tako i s poliranjem površine membrane, kroz više dana uz napomenu da su pojedine elektrode s boljim odzivnim karakteristikama testirane znatno više puta.

Sva potenciometrijska mjerenja vezana za optimizaciju sastava CMCPE provedena su temeljem prethodno opisanog postupka rada (poglavlje 3.4) u otopinama od nižih prema višim vrijednostima koncentracija THP-a uz acetatni pufer koncentracije 0,015 mol L<sup>-1</sup> i pH vrijednosti 4,5 uz konstantno miješanje i pri sobnoj temperaturi.

Krivulje umjeravanja ovisnosti potencijala o negativnom logaritmu koncentracije THP iona konstruirane su korištenjem metode linearne regresije i funkcije LINEST programa Microsoft Excell 2016.

Pregledom dostupne literature, vidljivo je da izbori veziva<sup>[6,31,98,102,104,106,107,115,144,145,147,216,218,220,232,233]</sup> te reagensa za taloženje elektroaktivne tvari tj. IAC-a<sup>[6,98,102,103,107,115,145,218,221,232]</sup> snažno utječu na odzivne karakteristike CPE. U literaturi su pronađeni rezultati različitih istraživanja o masenim udjelima veziva u pasti, u rasponu između 15% i 55%.<sup>[104,105,109,193,218]</sup> Neke paste sadrže čak i veći postotak veziva budući da konzistencija paste ovisi o međusobnom prijanjanju dviju glavnih komponentni (grafit i vezivo). Tako paste mogu biti guste, ali mogu biti i prilično tvrde ili mekane pa čak i ljepljive.<sup>[109]</sup>

Mnoga provedena istraživanja vezana su uz optimiziranje masenog udjela IAC-a. Tako su neki autori vršili testiranja u području od 0 - 5%,<sup>[6,102-104,218]</sup> neki od 0 - 10%,<sup>[106,107,145,232]</sup> neki od 3 - 15%,<sup>[98]</sup> a neki od 15% pa do 22%<sup>[234]</sup> masenog udjela IAC-a.

Značajnu ulogu igra i dodatak i izbor vrste jednog ili više ionskih aditiva u pastu.<sup>[6,103,104,144-146,224]</sup> Isto tako, kao što je već i navedeno, u posljednje vrijeme sve uočljivija je uporaba ugljikovih nanomaterijala u razvoju CPE kod mnogih elektronolitičkih tehnika<sup>[14,121,192,235-238]</sup> pa time i onih potenciometrijskih.<sup>[16,31,34,105,146,215,216,220]</sup>

#### **4.2.1. Utjecaj masenog udjela veziva na konzistentnost paste i odziv membrane**

Kao veziva u ovoj doktorskoj disertaciji korištena su ona koja su i temeljem pretražene recentne literature najčešće ispitivana u razvoju CPE senzora. Redom to su: dibutilftalat (DBP),<sup>[6,98,102-104,106,107,115,144,145,218,220,232]</sup> bis(2-etilheksil)ftalat (DOP),<sup>[6,102,107,115,144-146,197,218,220,232]</sup> parafinsko ulje (PO),<sup>[16,31,104-106,215,234]</sup> tris(2-etilheksil)fosfat (TEPh),<sup>[6,103]</sup> 2-nitrofenil-oktil-eter (NPOE)<sup>[102,104,106,115,145,216,218]</sup> te bis(2-etilheksil)adipat (DEHA).<sup>[6,106,144,145,220]</sup>

Pripravom nemodificiranih elektroda (tablica 8) ispitivana je konzistentnost paste u rasponu od 35% do 55% masenog udjela (*w/w*) veziva, te odziv elektrode u koncentracijskom području THP-a od  $6,3 \times 10^{-6}$  do  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>. Dobiveni rezultati ukazuju da elektrode 3, 8, 18 i 23 s DBP, DOP, TEPh odnosno NPOE kao vezivom pokazuju neznatno bolje odzivne karakteristike u usporedbi s elektrodama istog kvalitativnog i različitog kvantitativnog sastava premda je jasno da sve pripravljene nemodificirane CPE daju praktički neupotrebljiv analitički odziv prema THP-u bez obzira

bile im membrane polirane ili ne. Tijekom mjerenja, uočeno je da najpostojaniju konzistentnost imaju sve paste kojima je  $w/w$  veziva u pasti približno 45%. Na to dijelom upućuju i rezultati mjerenja budući da je povećanjem  $w/w$  veziva u pasti iznad 45% u pravilu zabilježen i značajniji skok relativnih standardnih odstupanja nagiba krivulje umjeravanja.

**Tablica 8.** Sastav i odzivne karakteristike nativnih CPE

CPE	sastav membrane (%)		nagib (mV/dek) $\pm$ S.D.		faktor regresije	
	grafit	vezivo	nepolir	polir	nepolir	polir
1	64,6	35,4	-11,2 $\pm$ 0,9	-10,6 $\pm$ 1,0	0,8468	0,8528
2	59,8	40,2	-13,6 $\pm$ 0,9	-12,4 $\pm$ 0,7	0,8431	0,8849
3	55,3	44,7	-17,6 $\pm$ 1,4	-17,0 $\pm$ 0,9	0,8887	0,9046
4	51,8	48,2	-13,1 $\pm$ 1,2	-14,6 $\pm$ 0,8	0,9002	0,8963
5	45,2	54,8	-9,6 $\pm$ 1,2	-9,7 $\pm$ 0,7	0,8663	0,8395
6	65,4	34,6	-11,9 $\pm$ 1,3	-11,9 $\pm$ 1,2	0,8636	0,8677
7	59,4	40,6	-12,3 $\pm$ 0,8	-12,1 $\pm$ 0,9	0,8434	0,8400
8	54,9	45,1	-14,1 $\pm$ 1,1	-14,6 $\pm$ 1,1	0,8877	0,8878
9	50,2	49,8	-13,9 $\pm$ 1,5	-14,1 $\pm$ 1,6	0,8599	0,8651
10	45,0	55,0	-12,8 $\pm$ 2,4	-12,3 $\pm$ 2,8	0,8001	0,8246
11	63,9	36,1	-8,3 $\pm$ 1,6	-8,1 $\pm$ 1,0	0,7531	0,8330
12	60,0	40,0	-7,9 $\pm$ 1,4	-7,4 $\pm$ 1,8	0,8192	0,7469
13	54,7	45,3	-8,3 $\pm$ 1,5	-8,6 $\pm$ 1,3	0,7118	0,7916
14	48,8	51,2	-7,6 $\pm$ 1,8	-8,2 $\pm$ 1,9	0,8225	0,8133
15	45,2	54,8	-8,1 $\pm$ 2,4	-7,5 $\pm$ 2,4	0,6914	0,7813
16	64,7	35,3	-11,6 $\pm$ 1,5	-11,5 $\pm$ 1,3	0,8432	0,8146
17	58,9	41,1	-11,1 $\pm$ 1,4	-10,2 $\pm$ 0,8	0,8211	0,8412
18	54,1	45,9	-13,7 $\pm$ 1,6	-13,5 $\pm$ 0,8	0,8733	0,8805
19	49,9	50,1	-12,9 $\pm$ 1,8	-13,1 $\pm$ 1,5	0,8411	0,8232
20	43,8	56,2	-13,1 $\pm$ 2,5	-13,3 $\pm$ 2,4	0,8172	0,8241
21	65,0	35,0	-14,3 $\pm$ 1,3	-13,2 $\pm$ 1,2	0,8790	0,8815
22	59,7	40,3	-13,9 $\pm$ 1,4	-14,6 $\pm$ 1,4	0,8936	0,8879
23	55,4	44,6	-16,1 $\pm$ 0,9	-16,6 $\pm$ 0,8	0,9121	0,9276
24	49,9	50,1	-15,1 $\pm$ 1,6	-16,1 $\pm$ 1,3	0,8872	0,8713
25	44,7	55,3	-13,6 $\pm$ 1,5	-14,9 $\pm$ 1,7	0,8452	0,8495
26	65,4	34,6	-5,5 $\pm$ 1,1	-4,2 $\pm$ 1,6	0,5124	0,4824
27	60,4	39,6	-4,9 $\pm$ 0,9	-4,3 $\pm$ 1,2	0,4692	0,6457
28	55,0	45,0	-5,8 $\pm$ 1,4	-4,5 $\pm$ 0,9	0,5992	0,4972
29	49,9	50,1	-6,2 $\pm$ 2,0	-4,3 $\pm$ 1,6	0,4119	0,5396

30	44,4	55,6	-4,6±3,1	-5,1±2,8	0,5485	0,6470
----	------	------	----------	----------	--------	--------

Rezultati ispitivanja odzivnih karakteristika nativnih CPE pronađeni su u 7 publiciranih znanstvenih radova. Preliminarna istraživanja u razvoju CPE za određivanje srebra,<sup>[34]</sup> olova,<sup>[239]</sup> atorvastatin kalcija,<sup>[107]</sup> haloperidola,<sup>[103]</sup> i losartana<sup>[31]</sup>, u značajnoj mjeri se poklapaju s dobivenim rezultatima odzivnih karakteristika nativnih CPE u ovoj doktorskoj disertaciji s obzirom na definirana vrlo uska linearna dinamička područja te gotovo pa i nezamjetan odziv, a što se zaključuje iz vrlo niskih vrijednosti nagiba krivulja umjeravanja iz tablice 8. Međutim, kod istraživanja na gabapentinu<sup>[215]</sup> autori prikazuju nagib krivulje umjeravanja native CPE u iznosu od 47,45 mV u uskom linearnom dinamičkom području od svega jednog reda veličine, preciznije od  $1,0 \times 10^{-3}$  do  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>. Odziv elektrode 5 još je i više u koliziji s onim publiciranim za određivanje triheksifenidila.<sup>[6]</sup> Naime, u navedenom radu nagib krivulje umjeravanja native CPE iznosi 50,1 mV u linearnom dinamičkom području od  $5,4 \times 10^{-6}$  do  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> uz donju granicu dokazivanja od  $4,5 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>, dok je elektroda s membranom identičnog kvantitativnog, a vrlo sličnog kvalitativnog sastava u ovoj doktorskoj disertaciji (CPE 5) ostvarila za analitičku primjenu neupotrebljiv nagib krivulje umjeravanja od 9,6 odnosno 9,7 mV uz visoke vrijednosti relativnih standardnih odstupanja kao i niske vrijednosti faktora regresije.

S obzirom na analitički neupotrebljive odzivne karakteristike svih nativnih CPE, iste nisu mogli biti kriterij izbora optimalne vrste veziva za razvoj CPE za određivanje triheksifenidila. Međutim, kako su se paste s vrijednošću  $w/w$  ispitivanih veziva od 45% pokazale najkonzistentnijim, upravo je ta vrijednost uzeta kao ciljani  $w/w$  svih veziva u pastama u daljnjem eksperimentalnom radu.

#### 4.2.2. Utjecaj elektroaktivne tvari i vrste veziva na odziv membrane

Budući da se temeljem preliminarnih rezultata nije mogla odrediti optimalna vrsta veziva, elektrodama od 31 do 162 ispitan je utjecaj:

- vrste veziva te
- vrste i masenih udjela prethodno istaloženih ionsko-asocijacijskih kompleksa (triheksifenidilov tetrafenilborat, triheksifenidilov fosfovolframat, triheksifenidilov fosfomolibdat te triheksifenidilov reinekatski kompleks)

na odziv membrane.

Da bi se to moglo odrediti, pripravljene su paste od grafita, navedenih ionsko-asocijacijskih kompleksa s različitim  $w/w$  te veziva približnog masenog udjela od 45%. Mjereni su njihovi potenciometrijski odzivi u koncentracijskom području THP-a od  $1,0 \times 10^{-6}$  do  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>. Parametri validacije elektroda koje nisu poredane redom pripreve i ispitivanja već logičnim slijedom kako bi se mogle opažati promjene odzivnih karakteristika membrana istih kvantitativnih sastava, ali slijedno uvećanih masenih udjela točno određene komponente, prikazani su tablicama 9-14.

Nužno je za napomenuti da zbog jednostavnosti prikaza, kod elektroda s nižim vrijednostima faktora regresije, termin linearno dinamičko područje u principu oslikava određeno ispitivano dinamičko područje pa slijedom toga za te elektrode nije ni moguće brojčanom vrijednosti izraziti donju granicu dokazivanja, a koja isto tako nije prikazana kod svih onih elektroda kojima je nagib krivulje umjeravanja niži od 20,0 mV po koncentracijskoj dekadi THP-a.

Odzivne karakteristike elektrode s dibutilftalatom kao vezivom koje su modificirane IAC-om prikazane su tablicom 9.

**Tablica 9.** Odzivne karakteristike CPE s različitim vrstama i udjelima IAC-a i dibutilftalatom kao vezivom u membrani

CPE	IAC ( $w/w$ %)	nagib (mV/dek) ± S.D.	linearno dinamičko područje (mol L <sup>-1</sup> )	donja granica dokazivanja (mol L <sup>-1</sup> )	faktor regresije
31	0,3	-38,1±0,6	$6,3 \times 10^{-6}$ - $1,0 \times 10^{-2}$	$4,7 \times 10^{-6}$	0,9892
32	1,0	-42,3±0,8	$6,3 \times 10^{-6}$ - $1,0 \times 10^{-2}$	$3,8 \times 10^{-6}$	0,9876
33	2,9	-47,8±0,3	$2,5 \times 10^{-6}$ - $1,0 \times 10^{-2}$	$2,0 \times 10^{-6}$	0,9976
34	5,7	-48,3±0,6	$2,5 \times 10^{-6}$ - $1,0 \times 10^{-2}$	$2,2 \times 10^{-6}$	0,9921
150	8,1	-50,2±0,3	$2,5 \times 10^{-6}$ - $1,0 \times 10^{-2}$	$2,2 \times 10^{-6}$	0,9977
35	10,2	-50,0±0,3	$2,5 \times 10^{-6}$ - $1,0 \times 10^{-2}$	$2,1 \times 10^{-6}$	0,9980
151	12,0	-49,4±0,3	$2,5 \times 10^{-6}$ - $1,0 \times 10^{-2}$	$2,0 \times 10^{-6}$	0,9981
36	14,5	-48,1±0,3	$2,5 \times 10^{-6}$ - $1,0 \times 10^{-2}$	$2,4 \times 10^{-6}$	0,9982
60	0,3	-19,8±1,4	$1,6 \times 10^{-5}$ - $1,6 \times 10^{-3}$	-	0,9333
61	1,1	-28,1±1,8	$6,3 \times 10^{-6}$ - $4,0 \times 10^{-3}$	$6,3 \times 10^{-6}$	0,9580
62	2,9	-34,5±0,8	$6,3 \times 10^{-6}$ - $4,0 \times 10^{-3}$	$5,1 \times 10^{-6}$	0,9976
63	6,0	-37,6±0,6	$6,3 \times 10^{-6}$ - $4,0 \times 10^{-3}$	$5,0 \times 10^{-6}$	0,9913
64	8,7	-33,4±1,1	$6,3 \times 10^{-6}$ - $1,6 \times 10^{-3}$	$4,8 \times 10^{-6}$	0,9846
65	15,0	-24,5±1,8	$1,6 \times 10^{-5}$ - $1,6 \times 10^{-3}$	$1,4 \times 10^{-5}$	0,9666
91	T H r 0,2	-17,3±1,2	$1,6 \times 10^{-5}$ - $1,6 \times 10^{-3}$	-	0,9214

<b>92</b>	1,0	-26,9±1,7	$1,6 \times 10^{-5} - 1,6 \times 10^{-3}$	-	0,9382
<b>93</b>	2,8	-42,3±1,9	$6,3 \times 10^{-6} - 4,0 \times 10^{-3}$	$6,1 \times 10^{-6}$	0,9766
<b>94</b>	6,0	-31,5±1,4	$1,6 \times 10^{-5} - 1,6 \times 10^{-3}$	$1,3 \times 10^{-5}$	0,9781
<b>95</b>	9,4	-27,3±1,6	$1,6 \times 10^{-5} - 1,6 \times 10^{-3}$	$1,6 \times 10^{-5}$	0,9556
<b>120</b>	0,3	-16,3±1,5	$4,0 \times 10^{-5} - 6,3 \times 10^{-4}$	-	0,9538
<b>121</b>	0,9	-16,1±1,6	$4,0 \times 10^{-5} - 6,3 \times 10^{-4}$	-	0,9302
<b>122</b>	3,2	-15,2±1,2	$4,0 \times 10^{-5} - 6,3 \times 10^{-4}$	-	0,9627
<b>123</b>	7,6	-17,7±1,4	$4,0 \times 10^{-5} - 6,3 \times 10^{-4}$	-	0,9571
<b>124</b>	14,7	-16,9±1,8	$4,0 \times 10^{-5} - 6,3 \times 10^{-4}$	-	0,9229

Iz gornje je tablice uočljivo da se povećanjem masenog udjela THP-TPB-a do 10,2% s dibutilftalatom kao vezivom, poboljšavaju odzivne karakteristike elektroda do nagiba  $50,2 \pm 0,3$  mV što elektrode 33-36 i 150 kategorizira kao obećavajuće u razvoju CPE za određivanje triheksifenidila, ali uz daljnje modifikacije sastava membrane o čemu će biti riječi u potpoglavlju 4.2.3.

Literaturno je pronađeno svega 8 objavljenih radova u kojima je navedeno da je kao reagens za taloženje IAC-a korištena sol čiji je anionski dio tetrafenilborat te dibutilftalat kao vezivo.<sup>[6,98,102,103,106,115,144,170,218]</sup> Kod pripremljenih CPE za određivanje tiamina<sup>[106]</sup> i sertralina<sup>[144]</sup> nije vršena daljnja optimizacija sastava membrane s obzirom na ostvarene dobre odzivne karakteristike membrana pripremljenih isključivo od grafita, tetrafenilborata kao anionskog dijela IAC-a te dibutilftalata. Međutim, kao i u ovoj disertaciji, druge grupe autora prikazuju da su vršili daljnje modifikacije kod određivanja triheksifenidila<sup>[6]</sup> i haloperidola.<sup>[103]</sup>

Ostali ispitani ionsko-asocijacijski kompleksi u pasti s dibutilftalatom, čine elektrode s nešto lošijim odzivima uz napomenu da sve pripravljene membrane s THP-REIN-om kao elektroaktivnom tvari i dibutilftalatom kao vezivom (CPE 120-124) daju neupotrebljiv signal za kemijsku analizu THP-a.

U literaturi je pronađeno da je jedno od najčešće korištenih veziva u razvoju CPE bis(2-etilheksil)ftalat.<sup>[6,102,103,107,115,144-146,197,218,220,232]</sup> Odzivne karakteristike elektroda s bis(2-etilheksil)ftalatom kao vezivom modificirane s IAC-om prikazane su tablicom 10.

Analizirajući dobivene rezultate s bis(2-etilheksil)ftalatom kao vezivom, vidljivo je da je elektroda s 1,2% w/w THP-PM-a dala najbolje odzivne karakteristike. Međutim s obzirom na nagib koji je niži od 40 mV po koncentracijskoj dekadi, ista nije bila od

daljnjeg interesa za istraživanje. Preciznije kazano, odzivne karakteristike elektroda prikazanih tablicom 10 čije su membrane pripravljene homogenizacijom 3 komponente (grafit, bis(2-etilheksil)ftalat i IAC) pokazuju da ispitano vezivo nije pogodno za pripremu ove vrste senzora za određivanje triheksifenidila, što se ne podudara s istraživanjem grupe autora koja favorizira pripremu CPE s navedenim komponentama.<sup>[107]</sup> Isto tako ovi rezultati nisu u skladu s istraživanjem vezanim za razvoj CPE za određivanje galantamina<sup>[146]</sup> u kojem autori nakon prve modifikacije inkorporacijom IAC-a u nativnu membranu s bis(2-etilheksil)ftalom kao vezivom ostvaruju zadovoljavajuće nagibe krivulja umjeravanja, a koje im služe kao podloga za daljnju modifikaciju do optimizirane membrane.<sup>[146]</sup> Međutim, rezultati koji ovom doktorskom disertacijom eliminiraju bis(2-etilheksil)ftalat kao vezivo u razvoju membrane za određivanje THP-a podudaraju se s karakteristikama u literaturi pronađene membrane CPE za određivanje sertralina,<sup>[144]</sup> a koja se u kvalitativnom sastavu razlikuje od membrana iz tablice 10 jedino u kationskom dijelu IAC-a (sertralinov odnosno triheksifenidilov kation).

**Tablica 10.** Odzivne karakteristike CPE s različitim vrstama i udjelima IAC-a i bis(2-etilheksil)ftalom kao vezivom u membrani

CPE	IAC (w/w %)	nagib (mV/dek) ± S.D.	linearno dinamičko područje (mol L <sup>-1</sup> )	donja granica dokazivanja (mol L <sup>-1</sup> )	faktor regresije
37	0,4	-28,3±0,4	1,6×10 <sup>-5</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	9,8×10 <sup>-6</sup>	0,9927
38	1,0	-33,1±0,5	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	4,9×10 <sup>-6</sup>	0,9916
39	3,0	-32,6±0,5	6,3×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	5,7×10 <sup>-6</sup>	0,9899
40	5,8	-27,1±0,7	1,6×10 <sup>-5</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	1,3×10 <sup>-5</sup>	0,9774
66	0,2	-21,3±1,2	1,6×10 <sup>-5</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	-	0,9452
67	0,9	-26,3±0,4	6,3×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	6,1×10 <sup>-6</sup>	0,9941
68	2,0	-28,9±0,4	6,3×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	5,3×10 <sup>-6</sup>	0,9939
69	4,3	-31,2±0,4	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	4,1×10 <sup>-6</sup>	0,9931
70	9,1	-24,6±0,5	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	6,2×10 <sup>-6</sup>	0,9846
96	0,3	-17,5±0,9	1,6×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,9744
158	0,6	-29,2±0,8	1,6×10 <sup>-5</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	1,5×10 <sup>-5</sup>	0,9812
97	1,2	-39,6±0,7	6,3×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	5,8×10 <sup>-6</sup>	0,9989
159	2,2	-34,2±0,5	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	6,0×10 <sup>-6</sup>	0,9954
98	3,4	-30,1±0,7	6,3×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	6,0×10 <sup>-6</sup>	0,9991
160	4,1	-31,3±0,9	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	5,9×10 <sup>-6</sup>	0,9815
99	6,1	-30,8±0,7	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	5,5×10 <sup>-6</sup>	0,9947
125	0,2	-12,0±1,5	4,0×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,8904
126	1,0	-11,2±1,6	4,0×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,9002



<b>127</b>	3,1	-7,2±2,3	4,0×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,8818
<b>128</b>	8,8	-6,1±1,9	4,0×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,8969
<b>129</b>	15,2	-7,8±1,8	4,0×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,8953

I s bis(2-etilheksil)ftalatom kao vezivom uočeno je da sve pripravljene membrane s THP-REIN-om kao elektroaktivnom tvari membrane skoro pa i ne pokazuju bilo kakvu osjetljivost prema određivanju triheksifenidila.

Tablicom 11 prikazani su rezultati odzivnih karakteristika membrana koje sadrže isključivo grafit, parafinsko ulje kao vezivo te jedan od IAC-a. Njihove nezadovoljavajuće eksperimentalno dobivene odzivne karakteristike nije moguće usporediti s nekim u novijoj literaturi pronađenim radovima vezanim za razvoj CPE s parafinskim uljem kao vezivom. [16,31,104,105] Međutim, usporedba dobivenih rezultata se može vršiti s rezultatima razvoja CPE za određivanje tiamina<sup>[106]</sup> odnosno gabapentina<sup>[215]</sup> u kojima autori objavljuju odzivne karakteristike elektroda s membranama koje također ne sadrže ni jednu drugu komponentu izuzev grafita, parafinskog ulja i IAC-a. Uočljivo je da su te CPE pokazale bolje odzivne karakteristike od onih iz tablice 11.

**Tablica 11.** Odzivne karakteristike CPE s različitim vrstama i udjelima IAC-a i parafinskim uljem kao vezivom u membrani

CPE	IAC (w/w %)	nagib (mV/dek) ± S.D.	linearno dinamičko područje (mol L <sup>-1</sup> )	donja granica dokazivanja (mol L <sup>-1</sup> )	faktor regresije
<b>41</b>	0,3	-11,2±1,2	1,6×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,8215
<b>42</b>	THP-TPB	1,1	1,6×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,8170
<b>43</b>		4,6	1,6×10 <sup>-5</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	-	0,8082
<b>44</b>		9,5	1,6×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,7623
<b>71</b>		0,3	-12,3±2,1	6,3×10 <sup>-6</sup> - 2,5×10 <sup>-4</sup>	-
<b>72</b>	THP-PT	0,8	6,3×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,8042
<b>73</b>		2,8	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	-	0,7507
<b>74</b>		6,2	6,3×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,7436
<b>75</b>		9,1	6,3×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,7549
<b>100</b>	THP-PM	0,3	6,3×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,8146
<b>101</b>		1,1	6,3×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,8474
<b>102</b>		2,9	6,3×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,9243
<b>103</b>		5,8	6,3×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,8367
<b>104</b>		9,6	6,3×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,8981
<b>130</b>	T H	0,3	4,0×10 <sup>-5</sup> - 2,5×10 <sup>-4</sup>	-	0,5038

<b>131</b>	1,1	-7,1±5,2	4,0×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,4627
<b>132</b>	2,8	-8,5±3,1	4,0×10 <sup>-5</sup> - 2,5×10 <sup>-4</sup>	-	0,5764
<b>133</b>	7,6	-9,6±4,6	4,0×10 <sup>-5</sup> - 2,5×10 <sup>-4</sup>	-	0,5489
<b>134</b>	15,3	-8,9±4,8	4,0×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,6255

Iz rezultata prikazanih tablicom 11 jasno je da parafinsko ulje nije pogodno kao vezivo u membranama za određivanje triheksifenidila ukoliko se kao ionsko-asocijacijski kompleksi ispituju oni korišteni u ovoj doktorskoj disertaciji.

Rezultati odzivnih karakteristika membrana pripremljenih s tris(2-etilheksil)fosfatom kao vezivom (tablica 12), ukazuju da je jedino elektroda s 1,4% w/w THP-TPB-a pokazala obećavajuće preliminarne odzivne karakteristike prema triheksifenidilu. Nešto lošije odzivne karakteristike pokazale su membrane s ostalim ispitivanim udjelima THP-TPB-a, dok su sve membrane s drugim IAC-ima pokazale značajno lošije odzivne karakteristike.

**Tablica 12.** Odzivne karakteristike CPE s različitim vrstama i udjelima IAC-a i tris(2-etilheksil)fosfatom kao vezivom u membrani

CPE	IAC (w/w %)	nagib (mV/dek) ± S.D.	linearno dinamičko područje (mol L <sup>-1</sup> )	donja granica dokazivanja (mol L <sup>-1</sup> )	faktor regresije
<b>45</b>	0,3	-18,7±0,5	6,3×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,9905
<b>152</b>	0,6	-38,5±0,7	6,3×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	4,9×10 <sup>-6</sup>	0,9939
<b>46</b>	0,9	-45,7±1,1	2,5×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	2,0×10 <sup>-6</sup>	0,9957
<b>153</b>	1,4	-49,3±0,9	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	1,5×10 <sup>-6</sup>	0,9926
<b>47</b>	2,3	-42,7±1,0	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	5,2×10 <sup>-6</sup>	0,9911
<b>48</b>	4,1	-41,2±0,8	6,3×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	3,7×10 <sup>-6</sup>	0,9873
<b>49</b>	6,7	-42,5±1,3	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	4,8×10 <sup>-6</sup>	0,9964
<b>76</b>	0,3	-18,3±1,0	1,6×10 <sup>-5</sup> - 2,5×10 <sup>-4</sup>	-	0,8989
<b>77</b>	0,9	-23,7±1,5	1,6×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	1,6×10 <sup>-5</sup>	0,8836
<b>78</b>	2,9	-28,9±1,1	1,6×10 <sup>-5</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	1,4×10 <sup>-5</sup>	0,9118
<b>79</b>	6,1	-30,3±1,2	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	6,0×10 <sup>-6</sup>	0,9410
<b>80</b>	9,3	-29,1±1,2	1,6×10 <sup>-5</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	1,5×10 <sup>-5</sup>	0,9263
<b>105</b>	0,2	-14,3±1,3	1,6×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,8723
<b>106</b>	0,9	-27,2±1,2	1,6×10 <sup>-5</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	1,5×10 <sup>-5</sup>	0,9444
<b>107</b>	2,7	-33,6±1,7	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	5,9×10 <sup>-6</sup>	0,9568
<b>108</b>	5,7	-30,5±0,9	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	5,4×10 <sup>-6</sup>	0,9609
<b>109</b>	9,2	-31,3±1,3	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	5,3×10 <sup>-6</sup>	0,9541
<b>135</b>	0,3	-13,6±2,0	1,6×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,7844

<b>136</b>	1,0	-22,9±1,4	$1,6 \times 10^{-5} - 6,3 \times 10^{-4}$	$1,5 \times 10^{-5}$	0,9322
<b>137</b>	3,5	-28,5±1,4	$1,6 \times 10^{-5} - 6,3 \times 10^{-4}$	$1,5 \times 10^{-5}$	0,9244
<b>138</b>	8,3	-27,2±1,0	$1,6 \times 10^{-5} - 1,6 \times 10^{-3}$	$1,4 \times 10^{-5}$	0,9225
<b>139</b>	15,1	-26,0±1,6	$1,6 \times 10^{-5} - 6,3 \times 10^{-4}$	$1,5 \times 10^{-5}$	0,8999

Povećanjem udjela IAC-a (do određene razine) u membranama s tris(2-etilheksil)fosfatom kao vezivom (tablica 12) uočavaju se poboljšanja odzivnih karakteristika. Isto je u skladu s istraživanjem Saadeha i sur. koji u razvoju CPE za određivanje olova prvo pikazuju nagib krivulje umjeravanja native membrane (s tris(2-etilheksil)fosfatom kao vezivom) od 13,0 mV po koncentracijskoj dekadi. Potom postepenom modifikacijom s IAC-om masenog udjela od 0,5% do 3,0% u membrani, prikazuju kod jedne od njih nagib od 27,0 mV po koncentracijskoj dekadi.<sup>[239]</sup> Dakle, navedeno je slično rezultatima iz tablice 12, gdje su dodatkom IAC-a odnosno određenim rastom vrijednosti njegovog masenog udjela, poboljšane odzivne karakteristike membrana s tris(2-etilheksil)fosfatom kao vezivom.

Pripravljene su i membrane s 2-nitrofenil-oktil-eterom kao vezivom i različitim vrstama i masenim udjelima IAC-a, a čiji su odzivi prikazani tablicom 13.

**Tablica 13.** Odzivne karakteristike CPE s različitim vrstama i udjelima IAC-a i 2-nitrofenil-oktil-eterom kao vezivom u membrani

CPE	IAC (w/w %)	nagib (mV/dek) ± S.D.	linearno dinamičko područje (mol L <sup>-1</sup> )	donja granica dokazivanja (mol L <sup>-1</sup> )	faktor regresije
<b>50</b>	0,2	-18,8±0,4	$1,6 \times 10^{-5} - 1,6 \times 10^{-3}$	-	0,9747
<b>51</b>	1,0	-29,0±0,5	$2,5 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$2,4 \times 10^{-6}$	0,9895
<b>154</b>	2,4	-42,5±0,5	$2,5 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$1,8 \times 10^{-6}$	0,9942
<b>52</b>	3,2	-46,8±0,8	$2,5 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$1,6 \times 10^{-6}$	0,9901
<b>155</b>	4,3	-44,3±0,8	$2,5 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$1,9 \times 10^{-6}$	0,9990
<b>53</b>	5,7	-44,7±1,1	$6,3 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$5,7 \times 10^{-6}$	0,9944
<b>54</b>	8,8	-41,1±0,9	$6,3 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$6,0 \times 10^{-6}$	0,9973
<b>81</b>	0,3	-19,6±1,2	$1,6 \times 10^{-5} - 1,6 \times 10^{-3}$	-	0,9671
<b>82</b>	0,9	-26,5±0,7	$6,3 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$5,3 \times 10^{-6}$	0,9964
<b>156</b>	1,9	-38,7±0,6	$2,5 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$2,2 \times 10^{-6}$	0,9991
<b>83</b>	2,8	-49,9±0,9	$2,5 \times 10^{-6} - 4,0 \times 10^{-3}$	$1,8 \times 10^{-6}$	0,9972
<b>157</b>	4,1	-46,5±0,7	$2,5 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$1,9 \times 10^{-6}$	0,9948
<b>84</b>	6,3	-41,6±0,6	$6,3 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$4,7 \times 10^{-6}$	0,9940
<b>85</b>	9,1	-39,9±1,1	$6,3 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$4,7 \times 10^{-6}$	0,9913
<b>110</b>	T H 0,3	-20,9±0,7	$6,3 \times 10^{-6} - 6,3 \times 10^{-4}$	$6,3 \times 10^{-6}$	0,9781

<b>111</b>		1,0	-27,5±0,8	$6,3 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$5,8 \times 10^{-6}$	0,9842
<b>161</b>		2,3	-43,4±0,6	$6,3 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$4,7 \times 10^{-6}$	0,9965
<b>112</b>		2,9	-48,4±0,9	$2,5 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$2,3 \times 10^{-6}$	0,9890
<b>162</b>		3,8	-47,0±0,5	$2,5 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$2,2 \times 10^{-6}$	0,9951
<b>113</b>		5,8	-43,5±0,8	$6,3 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$5,0 \times 10^{-6}$	0,9964
<b>114</b>		9,2	-43,6±0,5	$2,5 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$2,4 \times 10^{-6}$	0,9817
<b>140</b>		0,3	-16,7±0,8	$1,6 \times 10^{-5} - 1,0 \times 10^{-2}$	-	0,9438
<b>141</b>	THP-REIN	1,1	-15,8±1,2	$1,6 \times 10^{-5} - 6,3 \times 10^{-4}$	-	0,9465
<b>142</b>		2,6	-16,5±1,7	$1,6 \times 10^{-5} - 2,5 \times 10^{-4}$	-	0,9575
<b>143</b>		6,1	-14,2±0,9	$1,6 \times 10^{-5} - 6,3 \times 10^{-4}$	-	0,9360
<b>144</b>		15,3	-15,9±1,5	$1,6 \times 10^{-5} - 6,3 \times 10^{-4}$	-	0,9537

Iz gornje tablice je vidljivo da su ispitivanjem elektroda s 2-nitrofenil-oktil-eterom kao vezivom te modificiranih približno s 3,0% w/w THP-TPB-a, THP-PT-a odnosno THP-PM-a, dobivene odzivne karakteristike s malim standardnim odstupanjima uz pogodan faktor regresije krivulje umjeravanja. Isto navodi na zaključak da bi se daljnjim razvojem ove elektrode mogle dodatno poboljšati odzivne karakteristike. Takvo stajalište je u skladu s istraživanjem grupe autora koja kod razvoja membrana pripremljenih od grafita i 2-nitrofenil-oktil-etera te modificiranih samo s IAC-om, a za određivanje olanzapina, prikazuje linearnu promjenu potencijala od 48,7 do 54,0 mV po koncentracijskoj dekadi pa u daljnjem tijeku razvoja membrane vrše još jednu modifikaciju.<sup>[104]</sup>

U pretraženoj literaturi 5 grupa autori navodi da su vršili modifikaciju membrana s IAC-om, a u kojima je kao vezivo korišten bis(2-etilheksil)adipat.<sup>[6,106,144,145,220]</sup> Međutim odzivne karakteristike membrana iz tablice 14 usporedive su jedino s onima za određivanje sertralina,<sup>[144]</sup> doksiciklina<sup>[145]</sup> i tiamina<sup>[106]</sup> kod kojih su prikazani rezultati odziva elektroda s membranom od grafita, bis(2-etilheksil)adipata i jednim od IAC-a bez daljnjih modifikacija. Ti autori prikazuju da nagibi krivulja umjeravanja tako pripremljenih elektroda za određivanje doksiciklina variraju između 48,5 i 49,0 mV po koncentracijskoj dekadi uz 2 - 3% masenog udjela IAC-a u membrani, za određivanje sertralina nagib iznosi 31,6 mV po koncentracijskoj dekadi uz 3% masenog udjela IAC-a, odnosno 24,8 za određivanje dvovalentnog tiamina uz 2% masenog udjela IAC-a. Kada se odzivne karakteristike elektroda 57, 88, 117 i 147 usporede s navedenim odzivima elektroda iz literature sličnog kvantitativnog sastava, vidljivo je da jedino elektroda 117 pokazuje nagib (30,7 mV po koncentracijskoj dekadi) približne vrijednosti

kao i CPE za određivanje sertralina. S obzirom na loš odziv prema sertralinu, ista dalje nije modificirana kao što nisu ni membrane s bis(2-etilheksil)adipatom kao vezivom u ovoj disertaciji budući da su nakon prve modifikacije s IAC-om i one kao i ona za određivanje sertralina pokazale nezadovoljavajuće odzive.

**Tablica 14.** Odzivne karakteristike CPE s različitim vrstama i udjelima IAC-a i bis(2-etilheksil)adipatom kao vezivom u membrani

CPE	IAC (w/w %)	nagib (mV/dek) ± S.D.	linearno dinamičko područje (mol L <sup>-1</sup> )	donja granica dokazivanja (mol L <sup>-1</sup> )	faktor regresije
55	0,3	-5,9±1,7	1,0×10 <sup>-4</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,6003
56	0,9	-8,6±1,6	1,0×10 <sup>-4</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,7838
57	2,8	-9,0±1,4	1,0×10 <sup>-4</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,8445
58	6,5	-20,6±1,3	1,6×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	1,4×10 <sup>-5</sup>	0,9871
59	14,9	-12,8±1,2	4,0×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,8360
86	0,3	-4,2±1,1	1,0×10 <sup>-4</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,6714
87	0,8	-9,2±1,5	1,0×10 <sup>-4</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,8710
88	2,9	-18,6±2,2	1,6×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,9563
89	5,9	-17,4±2,2	1,6×10 <sup>-5</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	-	0,9289
90	14,4	-14,0±1,9	4,0×10 <sup>-5</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	-	0,8880
115	0,2	-8,9±2,1	4,0×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,7005
116	1,1	-17,2±0,9	1,6×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,9832
117	2,9	-30,7±0,6	6,3×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	4,9×10 <sup>-6</sup>	0,9949
118	6,0	-21,4±0,8	1,6×10 <sup>-5</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	1,3×10 <sup>-5</sup>	0,9889
119	14,9	-14,8±1,4	4,0×10 <sup>-5</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,8414
145	0,3	-5,3±2,3	1,0×10 <sup>-4</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,6500
146	1,0	-5,9±2,4	1,0×10 <sup>-4</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,7199
147	3,2	-1,5±1,2	1,0×10 <sup>-4</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,4685
148	8,0	-3,8±1,6	1,0×10 <sup>-4</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,7222
149	14,8	-4,9±1,9	1,0×10 <sup>-4</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	-	0,6899

Kada se sumiraju svi rezultati optimizacije utjecaja masenog udjela i vrste veziva na odziv membrane, zapaža se da ispitivane elektrode s membranama u kojima je kao vezivo korišteno bilo parafinsko ulje, bilo s bis(2-etilheksil)adipatom skoro da i nisu pokazale osjetljivost prema određivanju triheksifenidila, dok su one s membranama s bis(2-etilheksil)ftalatom kao vezivom pokazale nešto bolje odzivne karakteristike, ali ipak nezadovoljavajuće da bi ih se dalje modificiralo.

Također, iz tablica 9-14 uočljivo je da od svih elektroda s triheksifenidilovim reinkatom kao elektroaktivnom tvari jedino elektrode 136-139 pokazuju određenu

osjetljivost prema triheksifenidilu, ali u vrlo uskom dinamičkom području za kojega se čak ne može ni tvrditi da se radi o linearnom dijelu s obzirom na niske vrijednosti faktora regresije. Osjetljivost tih elektroda prema ciljanom analitu može se dijelom usporediti s literaturno objavljenim podacima za određivanje butenafina,<sup>[98]</sup> a čije membrane sadrže reinekat kao anionski dio elektroaktivne tvari. Naime, membrane s 12% odnosno 15% masenog udjela elektroaktivne tvari butenafin-reinekat pokazuju slične odzive kao i elektrode 136-139 iz ove doktorske disertacije. Iščitavajući iz navedenog rada, vrijednosti 3%, 6% i 9% masenog udjela butenafin-reinekata u membrani pokazale su promjenu potencijala od 44,3, 35,7 odnosno 39,1 mV po koncentracijskoj dekadi što je analitički značajno bolja vrijednost nagiba krivulja umjeravanja u usporedbi sa svim u ovoj disertaciji ispitivanim elektrodama s membranama koje u svojem sastavu sadrže grafit, jedno od veziva te triheksifenidilov reinekat kao IAC (CPE 120-149). Slijedom navedenog, praktički neusporediv je loš odziv elektroda 120-149 s publiciranim rezultatima razvoja CPE za određivanje cinhokaina<sup>[115]</sup> i clopidrogela<sup>[102]</sup> u kojima je kao anionski dio elektroaktivnog materijala također korišten reinekat, a koje pokazuju jako dobre odzivne karakteristike s rasponom nagiba od 40,9 do 59,2 odnosno 52,3 do 57,5 mV po koncentracijskoj dekadi uz široko LDP.

Dalje, iz dobivenih rezultata optimizacije vrste veziva te masenog udjela i vrste ionsko-asocijacijskih kompleksa može se primijetiti da je najšire linearno dinamičko područje ( $2,5 \times 10^{-6}$  -  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>) zabilježeno kod elektroda s membranama koje sadrže:

- dibutilftalat kao vezivo te ionsko-asocijacijski kompleks THP-TPB u rasponu masenog udjela u pasti od 2,9 – 14,5% (CPE 33-36, 150, 151);
- tris(2-etilheksil)fosfat kao vezivo te ionsko-asocijacijski kompleks THP-TPB u rasponu masenog udjela u pasti od 0,9 – 1,4% kao (CPE 46, 153);
- 2-nitrofenil-oktil-eter kao vezivo te ionsko-asocijacijske komplekse THP-TPB, THP-PT odnosno THP-PM u rasponima masenih udjela od 1,0 - 4,3% (CPE 51, 52, 154, 155), 1,9 - 4,1% (CPE 83, 156, 157) odnosno 2,9 – 3,8% (CPE 112, 162).

Faktori regresije kod svih krivulja umjeravanja gore navedenih elektroda su u pravilu viši od vrijednosti 0,9900 što ih je činilo obećavajućim u daljnjem razvoju senzora poboljšanih odzivnih karakteristika.

Konačno, dobiveni rezultati klasificiraju natrijev tetrafenilborat u razvoju CMCPE za određivanje triheksifenidila kao najoptimalnije taložno sredstvo za pripremu IAC-a, a prije modifikacija u sljedećim koracima. Isto je u skladu s literaturnim podacima budući da je isti kao što je i prethodno navedeno, najčešće upotrebljavani reagens za taloženje elektroaktivnih tvari kod CMCPE u izradi potenciometrijskih senzora za farmaceutike.

#### 4.2.3. Utjecaj dodatka ionskog aditiva na odziv membrane

U membrane koje su detektirane kao obećavajuće u razvoju CPE za određivanje triheksifenidila je na temelju zaključaka iz literature<sup>[6,103,104,108,143]</sup> dodavana određena količina ionskih aditiva u svrhu daljnjeg poboljšanja odzivnih karakteristika. Tako su elektrode 35, 52, 83, 97, 112, 150 i 153 modificirane dodatkom natrijevog odnosno tetrabutilamonijevog tetrafenilborata budući da je literaturno opisano kako osjetljivost potenciometrijskih CPE senzora ovisi i o vrsti i dodanoj količini ionskog aditiva.<sup>[109]</sup>

Ukoliko se rezultati odzivnih karakteristika elektroda 163-166 iz tablice 15 usporede s odzivima elektrode 150 kao i oni elektroda 167-169 s odzivima elektrode 35, a koje se razlikuju u tome što elektrode 150 i 35 ne sadrže ionski aditiv NaTPB, vidljivo je da su se dodatkom NaTPB-a u masenom rasponu od 0,1% do 0,3% nagibi krivulja umjeravanja približili Nernstovom nagibu za 7,4% pa do 11,2%. (Dodatnim povećanjem masenih udjela NaTPB-a, apsolutne vrijednosti nagiba krivulja umjeravanja su ostale iste ili su se smanjile. To se pripisuje zasićenju sastava membrane ionskim aditivom čime je smanjena mogućnost izmjene iona analita između membrane i otopine.) Ostvareno je šire linearno dinamičko područje te niža donja granica određivanja. Sve to je elektrode 164 i 166 (maseni udio NaTPB-a 0,3%) klasificiralo kao one kod kojih je sljedećim korakom modifikacije moguće eventualno ostvarivanje još boljih odzivnih karakteristika, a koje bi omogućile još precizniju i osjetljiviju analitičku primjenu pripremljene CPE za određivanje triheksifenidila.

**Tablica 15.** Odzivne karakteristika CPE s različitim vrstama i udjelima ionskih aditiva uz THP-TPB kao IAC te dibutilfталat kao vezivo u membrani

CPE	ionski aditiv (w/w %)	THP-TPB (w/w %)	nagib (mV/dek) ± S.D.	linearno dinamičko područje (mol L <sup>-1</sup> )	donja granica dokazivanja (mol L <sup>-1</sup> )	faktor regresije	
163	NaTPB	0,1	8,1	-53,9±0,2	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	9,3×10 <sup>-7</sup>	0,9990
164		0,3	8,0	-54,5±0,2	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	7,9×10 <sup>-7</sup>	0,9993
165		0,9	8,2	-50,2±0,4	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	2,3×10 <sup>-6</sup>	0,9964

<b>166</b>	2,2	8,3	-46,8±0,5	$6,3 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-2}$	$4,5 \times 10^{-6}$	0,9957
<b>167</b>	0,1	10,1	-54,6±0,4	$1,0 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-2}$	$6,6 \times 10^{-7}$	0,9970
<b>168</b>	0,3	10,2	-55,6±0,3	$1,0 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-2}$	$7,1 \times 10^{-7}$	0,9983
<b>169</b>	1,0	10,1	-51,2±0,4	$2,5 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-2}$	$1,7 \times 10^{-6}$	0,9976
<b>184</b>	0,1	8,3	-50,3±0,4	$2,5 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-2}$	$2,2 \times 10^{-6}$	0,9915
<b>185</b>	0,4	8,0	-49,6±0,5	$2,5 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-2}$	$2,3 \times 10^{-6}$	0,9939
<b>186</b>	0,9	7,9	-49,2±0,4	$2,5 \times 10^{-6} - 4,0 \times 10^{-2}$	$2,2 \times 10^{-6}$	0,9904
<b>187</b>	4,3	8,1	-45,9±0,9	$6,3 \times 10^{-6} - 1,6 \times 10^{-3}$	$6,0 \times 10^{-6}$	0,9812
<b>188</b>	0,2	10,0	-50,2±0,3	$2,5 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-2}$	$1,9 \times 10^{-6}$	0,9964
<b>189</b>	0,4	10,3	-48,7±0,4	$6,3 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-2}$	$5,1 \times 10^{-6}$	0,9949
<b>190</b>	1,0	10,1	-48,9±0,8	$6,3 \times 10^{-6} - 4,0 \times 10^{-2}$	$9,0 \times 10^{-6}$	0,9892

Poboljšanje odzivnih karakteristika elektroda 163-169 modificiranih ionskim aditivima podudaraju se s istraživanjem CPE koje u svom sastavu također sadrže grafit, dibutilftalat, tetrafenilborat kao anionski dio IAC-a te ionski aditiv.<sup>[6]</sup> Naime, autori navode da je dodatkom natrijevog tetrafenilborata masenog udjela od samo 0,1% u membranu, vrijednost nagiba krivulje umjeravanja povećana za 3,7 mV po koncentracijskoj dekadi, dok su donje granice LDP odnosno dokazivanja smanjene za 2,3 odnosno 2,8 puta.<sup>[6]</sup>

Također ovi rezultati u skladu s onima Khatera i sur.<sup>[144]</sup> koji su prvo pripravili selektivnu CPE modificiranu jedino i isključivo s tetrafenilboratom kao anionskim dijelom IAC-a da bi potom ispitali utjecaj dodatka različitih ionskih aditiva u takvu membranu. Ustanovili su da membrana dodatkom natrijevog tetrafenilborata kao IAC-a masenog udjela od preko 0,5% značajno gubi osjetljivost, a što je u skladu s rezultatima dobivenim u ovom istraživanju. Rezultati razvoja CPE za određivanje doksiciklina<sup>[145]</sup> također navode na isti zaključak.

Membrane kod kojih je kao ionski aditiv dodan TBATPB (CPE 184-189) nisu pokazale poboljšane odzive u usporedbi s elektrodama 150 odnosno 35, a koje se kao što je i navedeno razlikuju u značajnom dijelu jedino u tome što potonje ne sadrže ionski aditiv. Slijedom toga, pripravljene elektrode s TBATPB-om kao ionskim aditivom te uz THP-TPB-om kao IAC-om te dibutilftalom kao vezivom nisu uzete u obzir prilikom daljnje modifikacije. Slični, pa čak i gotovo isti zaključci vezani za TBATPB kao ionski aditiv u CPE senzoru za određivanje triheksifenidila su izvedeni i iz dobivenih rezultata modifikacije svih ostalih elektroda (tablice 16, 17; CPE 191-204).



Provedene su dodatne modifikacije elektrode 153 s istim ionskim aditivima sličnih masenih udjela, a koja je dosadašnjim modifikacijama elektroda s tris(2-etilheksil)fosfatom kao vezivom pokazala odzive koji su je označili kao potencijalno obećavajuću za određivanje THP-a, čime su dobivene elektrode iz tablice 16. Dodatkom NaTPB-a masenog udjela 0,2% odnosno 0,4% uočeno je da elektrode 170 i 171 pokazuju nešto bolje odzivne karakteristike od elektrode 153 (bez NaTPB-a). Temeljem dobivenih rezultata, iste su uzete su u obzir u daljnjim koracima optimizacije sastava membrane.

**Tablica 16.** Odzivne karakteristika CPE s različitim vrstama i udjelima ionskih aditiva uz THP-TPB kao IAC te tris(2-etilheksil)fosfat kao vezivo u membrani

CPE	ionski aditiv (w/w %)	THP-TPB (w/w %)	nagib (mV/dek) ± S.D.	linearno dinamičko područje (mol L <sup>-1</sup> )	donja granica dokazivanja (mol L <sup>-1</sup> )	faktor regresije
170	0,2	1,4	-52,6±0,7	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	1,6×10 <sup>-6</sup>	0,9972
171	NaTPB	0,4	-52,2±0,8	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	9,8×10 <sup>-7</sup>	0,9985
172		1,0	-49,0±0,4	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	2,3×10 <sup>-6</sup>	0,9948
173		2,3	-46,8±0,5	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	5,3×10 <sup>-6</sup>	0,9912
191		0,1	1,5	-49,6±0,8	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	1,9×10 <sup>-6</sup>
192	TBATBP	0,4	-49,2±0,7	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	2,3×10 <sup>-6</sup>	0,9901
193		0,9	-48,0±0,6	2,5×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	2,3×10 <sup>-6</sup>	0,9964
194		6,3	1,4	-46,8±0,5	6,3×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	5,3×10 <sup>-6</sup>

Nisu pronađeni literaturni navodi koji opisuju razvoj CPE s tris(2-etilheksil)fosfatom kao vezivom i modifikacijom s ionskim aditivima. Međutim, ako bi se pratile odzivne karakteristike ovisne o rastućem trendu vrijednosti masenih udjela oba ispitivana ionska aditiva u membranama iz tablice 15 vidljivo je da su u skladu s rezultatima iz tablice 16 bez obzira što membrane (elektroda iz uspoređenih tablica) sadrže različite vrste veziva.

Od svih ispitivanih elektroda s membranama s 2-nitrofenil-oktil-eterom kao vezivom, a prije dodatka ionskog aditiva kao najbolje pokazale su se elektrode 52, 83 i 112. Za razliku od elektroda s membranama s dibutilftalatom kao vezivom i THP-TPB-om kao ionsko-asocijacijskim kompleksom kod kojih se kao najbolja pokazala elektroda s dodatkom 0,3% NaTPB-a, uvidom u rezultate prikazane tablicom 17 kod elektroda s membranama s 2-nitrofenil-oktil-eterom i THP-TPB-om kao IAC-om kao nešto bolja (u usporedbi s dodatkom 0,3% NaTPB-a – CPE 175) se pokazala elektroda s membranom koja sadrži 0,1% NaTPB-a (CPE 174). Daljnjim povećanjem masenog udjela tog ionskog

aditiva smanjuje se osjetljivost, a to se pripisuje ranije objašnjenom utjecaju sadržaja ionskog aditiva.

**Tablica 17.** Odzivne karakteristika CPE s različitim vrstama i udjelima ionskih aditiva i IAC-a te 2-nitrofenil-oktil-eter kao vezivo u membrani

CPE	ionski aditiv (w/w %)	IAC (w/w %)	nagib (mV/dek) ± S.D.	linearno dinamičko područje (mol L <sup>-1</sup> )	donja granica dokazivanja (mol L <sup>-1</sup> )	faktor regresije		
174	0,1	3,2	-53,0±0,4	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	8,1×10 <sup>-7</sup>	0,9918		
175	0,3	THP-TPB	3,1	-52,8±0,3	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	1,4×10 <sup>-6</sup>	0,9964	
176	1,0		3,2	-47,4±0,7	2,5×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	2,4×10 <sup>-6</sup>	0,9891	
177	2,5		3,0	-43,1±0,6	6,3×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	4,1×10 <sup>-6</sup>	0,9944	
178	0,1		NaTPB	2,8	-53,1±0,4	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	9,5×10 <sup>-7</sup>	0,9999
179	0,4	THP-PT		2,7	-54,7±0,6	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	6,4×10 <sup>-7</sup>	0,9991
180	1,0			2,9	-48,2±0,6	2,5×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	2,9×10 <sup>-6</sup>	0,9807
181	0,1	THP-PM		3,0	-51,4±0,3	2,5×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	2,0×10 <sup>-6</sup>	0,9974
182	0,3		3,1	-52,0±0,5	1,0×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	8,4×10 <sup>-7</sup>	0,9936	
183	0,9		3,1	-46,3±0,9	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	2,2×10 <sup>-6</sup>	0,9994	
195	0,1	TBATPB	3,1	-46,8±0,4	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	5,9×10 <sup>-6</sup>	0,9912	
196	0,3		THP-TPB	3,0	-47,3±0,6	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	2,0×10 <sup>-6</sup>	0,9957
197	0,8			2,8	-45,2±0,5	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	4,7×10 <sup>-6</sup>	0,9986
198	5,7			2,9	-41,1±0,8	6,3×10 <sup>-6</sup> - 6,3×10 <sup>-4</sup>	6,7×10 <sup>-6</sup>	0,9775
199	0,1		THP-PT	3,0	-49,1±0,8	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	2,1×10 <sup>-6</sup>	0,9909
200	0,4	3,2		-50,6±0,8	2,5×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	2,1×10 <sup>-6</sup>	0,9912	
201	0,9	2,8		-47,7±0,7	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	2,2×10 <sup>-6</sup>	0,9937	
202	0,1	THP-PM		2,9	-48,0±0,7	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	1,8×10 <sup>-6</sup>	0,9935
203	0,3		3,1	-48,0±0,7	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	2,0×10 <sup>-6</sup>	0,9876	
204	0,8		3,1	-46,6±0,9	6,3×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	5,1×10 <sup>-6</sup>	0,9930	

Prije modifikacije elektroda s membranama s vezivom 2-nitrofenil-oktil-eterom najbolje eksperimentalne rezultate odziva pokazala je elektroda 83 s THP-PT-om kao ionsko-asocijacijskim kompleksom. Inkorporacijom 0,4% masenog udjela NaTPB-a u membranu, dobivena je elektroda 179. Analizirajući rezultate odziva te dvije elektrode, uočeno je da je granica linearnog dinamičkog područje snižena za 2,5 puta, a donja granica dokazivanja za više od 2 puta. Također brojčana vrijednost nagiba krivulje umjeravanja je uvećana za 9,6%, a relativno standardno odstupanje nagiba smanjeno za 64,4%.

Usporedbom odziva elektrode 112 s elektrodama 181-183 koje u svom sastavu sadrže 2-nitrofenil-oktil-eter kao vezivo te THP-PM kao IAC, vidljivo je poboljšanje odzivnih karakteristika dodatkom NaTPB-a kod elektroda 181 i 182. Te dvije elektrode nisu zasićene ionskim aditivom, dok je kod membrane 183 (koja je imala najveći udio ionskog aditiva) uočeno smanjenje promjene potencijala po koncentracijskoj dekadi za oko 2 mV.

Iako u dostupnoj literaturi nisu pronađeni objavljeni rezultati istraživanja razvoja bilo koje CPE isključivo s vezivom 2-nitrofenil-oktil-eterom i NaTPB-om kao ionskim aditivom, ipak se može zaključiti da su ovi rezultati u skladu s onima iz prethodno navedene literature vezane za utjecaj dodatka ionskih aditiva. Naime, i iz tablice 17, uočljivo je da se rastom vrijednosti masenih udjela NaTPB-a do određenog nivoa, mogu poboljšati odzivne karakteristike CPE

Dodatkom ionskog aditiva TBATPB-a u membrane s 2-nitrofenil-oktil-eter kao vezivom (elektrode 195-204) uočeno je da male količine ovog aditiva ne poboljšavaju u značajnom dijelu odzivne karakteristike elektroda u usporedbi s onima koje u svom sastavu nemaju ionski aditiv (CPE 52, 83, 112). Čak se da zaključiti da manje količine niti ne utječu, dok zastupljenost TBATPB-a u pasti u masenom udjelu većem od 0,4%, ometa signal i dovodi do smanjene osjetljivosti.

#### **4.2.4. Utjecaj dodatka reduciranog grafenovog oksida na odziv membrane**

Sukladno dobivenim rezultatima, nastavljena je optimizacija sastava ispitivanih membrana CPE za određivanje triheksifenidila dodatkom prethodno sintetiziranog reduciranog grafenovog oksida u svrhu dodatnih poboljšana odzivnih karakteristika, a koji prema dostupnoj literaturi još nije korišten u pripravi CPE za određivanje THP-a.

Tako su membrane koje su nakon modifikacije ionskim aditivima pokazale najbolje odzivne karakteristike (CPE 164, 168, 170, 171, 174, 175, 179 te 182) dalje pripravljane slijednom inkorporacijom rGO u pastu u rasponu  $w/w$  od 0,1% do 9,5% (tablice 18 i 19).

Modifikacijom elektrode 168 dodavanjem sintetiziranog rGO do 3,9% masenog udjela poboljšavale su se karakteristike elektroda te povećavala osjetljivost odnosno nagib do vrijednosti -58,9 mV po koncentracijskoj dekadi (CPE 208). Dodatnim povećanjem masenog udjela rGO pogoršale su se odzivne karakteristike.

CPE 210 je također pokazala poboljšanje odziva u odnosu na CPE 164, a s kojom se razlikuje u tome što u sastavu svoje membrane sadrži rGO. Međutim u odnosu na CPE 208 s kojom se razlikuje u vrijednosti masenog udjela THP-TPB-a kao elektroaktivne tvari, pokazala je nešto lošije odzivne karakteristike.

**Tablica 18.** Odzivne karakteristika CPE s različitim udjelima rGO i THP-TPB-a kao IAC-a uz NaTPB kao ionski aditiv te dibutilftalat kao vezivo u membrani

CPE	rGO (w/w %)	THP-TPB (w/w %)	nagib (mV/dek) ± S.D.	linearno dinamičko područje (mol L <sup>-1</sup> )	donja granica dokazivanja (mol L <sup>-1</sup> )	faktor regresije
205	0,1	10,0	-55,8±0,4	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	7,6×10 <sup>-7</sup>	0,9968
206	0,5	10,1	-56,8±0,2	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	7,5×10 <sup>-7</sup>	0,9992
207	2,0	10,2	-58,4±0,2	4,0×10 <sup>-7</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	3,3×10 <sup>-7</sup>	0,9991
208	3,9	10,2	-58,9±0,2	4,0×10 <sup>-7</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	2,5×10 <sup>-7</sup>	0,9992
209	6,2	9,9	-57,4±0,3	4,0×10 <sup>-7</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	3,6×10 <sup>-7</sup>	0,9986
210	4,0	8,1	-57,1±0,4	4,0×10 <sup>-7</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	3,7×10 <sup>-7</sup>	0,9977

Usporedbom elektroda 211-215 (tablica 19) s elektrodama 170 i 171 vrlo sličnog kvantitativnog i istog kvalitativnog sastava osim u dijelu dodatka rGO u membranu, nije uočeno značajnije poboljšanje odziva prema THP-u. Iz rezultata je vidljivo da elektrode 211-213 s tris(2-etilheksil)fosfatom pokazuju analitički prihvatljive odzivne karakteristike, ali u usporedbi s CPE 208 ipak znatno lošije pa kao takve nisu uzete u obzir u narednom koraku modifikacije.

**Tablica 19.** Odzivne karakteristika CPE s različitim udjelima rGO i THP-TPB-a kao IAC-a uz NaTPB kao ionski aditiv te tris(2-etilheksil)fosfat kao vezivo u membrani

CPE	rGO (w/w %)	THP-TPB (w/w %)	nagib (mV/dek) ± S.D.	linearno dinamičko područje (mol L <sup>-1</sup> )	donja granica dokazivanja (mol L <sup>-1</sup> )	faktor regresije
211	0,2	1,4	-52,4±0,5	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	1,6×10 <sup>-6</sup>	0,9994
212	0,5	1,5	-52,0±0,6	1,0×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	8,1×10 <sup>-7</sup>	0,9983
213	2,1	1,5	-53,5±0,5	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	9,4×10 <sup>-7</sup>	0,9996
214	4,0	1,4	-51,6±0,6	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	1,9×10 <sup>-6</sup>	0,9992
215	9,5	1,6	-50,4±0,4	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	9,6×10 <sup>-7</sup>	0,9985

Modifikacijom CPE 174, 175, 179 i 182 s rGO razvijene su elektrode prikazane u tablici 20. Uočeni su poboljšani odzivi od kojih je najbolji zabilježen kod CPE 223 (pripravljena modifikacijom elektrode 179 s 0,8% masenog udjela rGO zastupljenog u pasti. Iz odzivnih karakteristika elektroda navedenih u tablici 20 uočeno je slično kao i kod onih iz tablice 18 da se samo do određenog masenog udjela rGO u membrani

poboljšava osjetljivost prema određivanju THP-a. Razlika je što u membranama s 2-nitrofenil-oktil-eterom to poboljšanje nije toliko naglašeno kao kod onih s dibutilftalatom kao vezivom.

**Tablica 20.** Odzivne karakteristika CPE s različitim udjelima rGO, različitim vrstama i udjelima IAC-a uz NaTPB kao ionski aditiv te 2-nitrofenil-oktil-eter kao vezivo u membrani

CPE	rGO (w/w %)	IAC (w/w %)	nagib (mV/dek) ± S.D.	linearno dinamičko područje (mol L <sup>-1</sup> )	donja granica dokazivanja (mol L <sup>-1</sup> )	faktor regresije
216	0,1	3,3	-52,8±0,5	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	8,9×10 <sup>-7</sup>	0,9967
217	0,4	3,1	-53,4±0,3	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	8,9×10 <sup>-7</sup>	0,9972
218	0,9	3,0	-53,9±0,3	1,0×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	8,0×10 <sup>-7</sup>	0,9950
219	2,1	2,8	-54,5±0,5	1,0×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	8,2×10 <sup>-7</sup>	0,9974
220	4,0	2,9	-53,9±0,3	2,5×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	1,3×10 <sup>-6</sup>	0,9989
221	0,1	3,1	-53,2±0,5	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	7,8×10 <sup>-7</sup>	0,9954
222	0,5	3,0	-53,2±0,5	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	7,9×10 <sup>-7</sup>	0,9914
223	0,8	2,8	-55,2±0,4	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	8,4×10 <sup>-7</sup>	0,9921
224	1,9	2,9	-54,3±0,5	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	7,3×10 <sup>-7</sup>	0,9993
225	3,8	3,2	-52,0±0,2	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,6×10 <sup>-3</sup>	1,1×10 <sup>-6</sup>	0,9985
226	0,1	3,1	-53,1±0,6	1,0×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	8,2×10 <sup>-7</sup>	0,9975
227	0,4	3,2	-52,6±0,6	2,5×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	1,6×10 <sup>-6</sup>	0,9960
228	1,6	3,0	-52,7±0,5	1,0×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	9,4×10 <sup>-7</sup>	0,9996

Iako je objavljen niz radova vezanih za laboratorijsku sintezu reduciranog grafenovog oksida, u novijoj literaturi pronađena su svega 3 znanstvena rada koja za potenciometrijska mjerenja koriste CPE modificirane spomenutim u laboratoriju sintetiziranim nanomaterijalom. Bagheri i sur.<sup>[31]</sup> Afkhami i sur.<sup>[34]</sup> te Abdallah i Ibrahim<sup>[215]</sup> svoje rezultate prikazuju slijedno kako su elektrode bile modificirane te u konačnici navode skoro pa Nernstove vrijednosti nagiba krivulja umjeravanja (59,64; 59,70 odnosno 59,86 mV po koncentracijskoj dekadi). Tako se npr. LDP za određivanje gabapentina<sup>[215]</sup> proteže kroz čak 8 redova veličina (od 1×10<sup>-10</sup> do 1×10<sup>-2</sup> mol L<sup>-1</sup>), a granica dokazivanja iznosi 4,5×10<sup>-11</sup> mol L<sup>-1</sup>. Bez modifikacije rGO-om te elektrode su pokazale lošije odzive, koji su u skladu s rezultatima dobivenim u ovoj doktorskoj disertaciji.

Isto tako, pronađeno je 6 radova<sup>[16,105,146,216,220,234]</sup> koja kao komponentu za poboljšanje odziva membrana CPE u potenciometrijskim mjerenjima koriste komercijalni grafen tj. grafenov oksid. Slično kao i prethodno navedeno, svi autori navode izvrsne odzivne karakteristike. Međutim, samo Tamaddon i Asghari<sup>[234]</sup> te Abdel-Haleema i sur.<sup>[146]</sup> opisuju slijed rezultata optimizacije membrane CPE, a koji se u dijelu modifikacije CPE s ugljikovim nanomaterijalima podudaraju s ovima iz doktorske disertacije.

#### 4.2.5. Utjecaj dodatka grafitovog oksida na odziv membrane

S obzirom na rezultate provedene karakterizacije grafitovog oksida i reduciranog grafenovog oksida, očekivano je da bi CPE s rGO trebale davati bolje odzivne karakteristike. Svejedno, ispitan je i utjecaj grafitovog oksida na odzivne karakteristike CPE budući da u dostupnoj literaturi nisu opisani rezultati ovakve vrste modifikacije CPE koje se koriste u potenciometrijskim mjerenjima.

GO je dodavan u membrane CPE 208 odnosno 223, a dobiveni rezultati odziva prikazani su tablicom 21. Vidljivo je da grafitov oksid kada je dodan u malim količinama nema značajnijeg utjecaja na odzivne karakteristike, a povećanjem njegovog masenog udjela, elektrode pokazuju lošije odzive. Takvi rezultati su logični i očekivani budući da grafitov oksid ima nižu provodljivost i manju specifičnu površinu od rGO pa kao takav time doprinosi i nižoj osjetljivosti. Budući da se radi o niskim broječanim vrijednostima masenih udjela komponenti kojima se modificiraju CPE (IAC, ionski aditivi, GO, rGO), svakom inkorporacijom bilo koje komponente značajno se mijenjaju njihovi omjeri unutar membrane pa se time vrši utjecaj i na odzivne karakteristike svake pripravljene CPE.

**Tablica 21.** Odzivne karakteristika CPE s različitim udjelima GO, uz THP-TPB kao IAC, NaTPB kao ionski aditiv te dibutilftalat kao vezivo u membrani

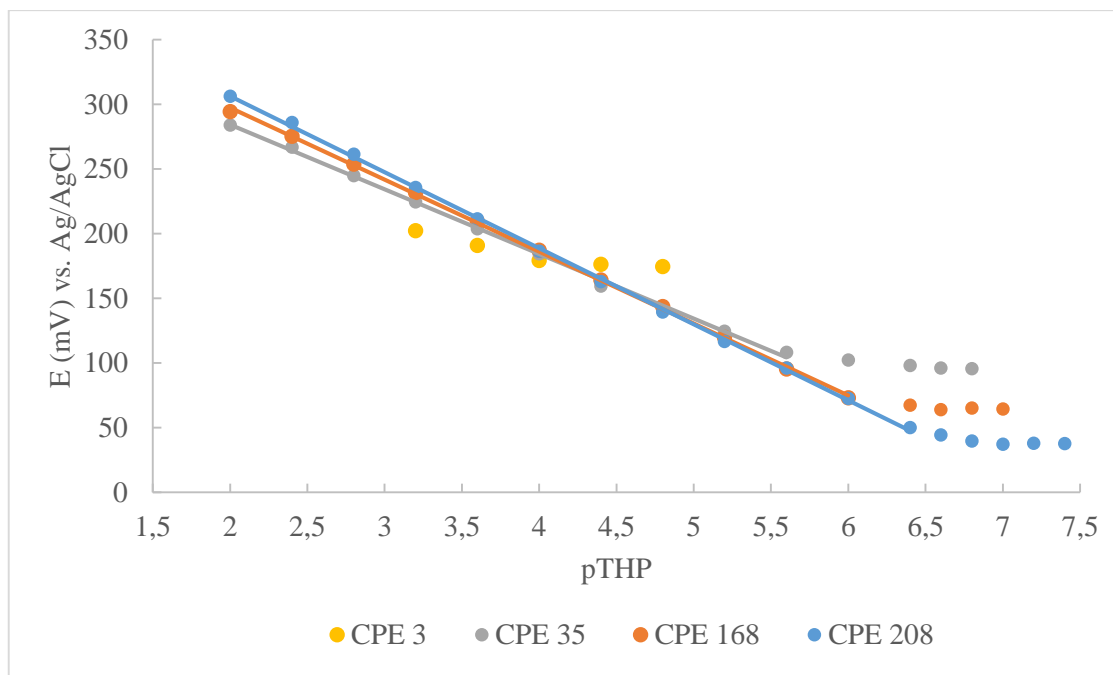
CPE	GO (w/w %)	nagib (mV/dek) ± S.D.	linearno dinamičko područje (mol L <sup>-1</sup> )	donja granica dokazivanja (mol L <sup>-1</sup> )	faktor regresije
229	0,1	-58,5±0,2	4,0×10 <sup>-7</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	3,6×10 <sup>-7</sup>	0,9968
230	0,5	-57,8±0,3	4,0×10 <sup>-7</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	3,9×10 <sup>-7</sup>	0,9951
231	1,6	-56,2±0,6	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	8,3×10 <sup>-7</sup>	0,9907
232	3,8	-55,9±0,5	1,0×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	9,6×10 <sup>-7</sup>	0,9910

**Tablica 22.** Odzivne karakteristika CPE s različitim udjelima GO, uz THP-PT kao IAC, NaTPB kao ionski aditiv te 2-nitrofenil-oktil-eter kao vezivo u membrani

CPE	GO (w/w %)	nagib (mV/dek) ± S.D.	linearno dinamičko područje (mol L <sup>-1</sup> )	donja granica dokazivanja (mol L <sup>-1</sup> )	faktor regresije
233	0,1	-55,4±0,4	1,0×10 <sup>-6</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	8,0×10 <sup>-7</sup>	0,9932
234	1,0	-54,7±0,4	2,5×10 <sup>-6</sup> - 1,0×10 <sup>-2</sup>	1,8×10 <sup>-6</sup>	0,9983
235	3,2	-52,0±0,7	2,5×10 <sup>-6</sup> - 4,0×10 <sup>-3</sup>	2,4×10 <sup>-6</sup>	0,9894

Konačno, na temelju provedenih mjerenja i obrazloženih rezultata optimizacije sastava membrane, slike 30 i 31 prikazuju slijedni razvoj dvije CMCPE s najboljim odzivnim karakteristikama CPE 208 odnosno 223 i to od onih djevičanskih neosjetljivih na THP-a (CPE 3, 23) preko modifikacije s IAC-om (CPE 35, 83) i ionskim aditivima (CPE 169, 179) pa sve do inkorporacije rGO u membranu. Točke na grafovima predstavljaju eksperimentalne podatke, dok su krivulje umjeravanja izračunate korištenjem metode linearne regresije i funkcije LINEST programa Microsoft Excell 2016.

Usporedbom potenciometrijskih odziva elektroda prikazanih slikom 30 s dibutilftalatom kao vezivom vidljivo je da modifikacijom elektrode 3 dodatkom THP-TPB-a kao IAC-a (čime je pripravljena elektroda 35) ista pokazuje osjetljivost prema THP-u u linearnom dinamičkom području  $c(\text{THP}) = 2,5 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  uz granicu dokazivanja od  $2,1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  i nagibom od 50,0 mV. Daljnjom modifikacijom, dodatkom ionskog aditiva NaTPB-a u membranu i razvojem elektrode 168, prošireno je linearno dinamičko područje, snižena donja granica određivanja te nagib povećan na 55,6 mV. Konačno inkorporacijom membrane s rGO, jasno je uočljivo da promjena potencijala kod CPE 208 linearno slijedi smanjenje koncentracije THP iona u širem koncentracijskom području,  $c(\text{THP}) = 4,0 \times 10^{-7} - 1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  u odnosu na linearno dinamičko područje zabilježeno kod elektroda 35 i 168, a posebno u odnosu na nemodificiranu djevičansku elektrodu 3 koja ne pokazuje osjetljivost prema ionima THP-a. Isto tako, zabilježena je promjena potencijala po dekadi u iznosu od 58,9 mV što je u jako dobrom slaganju s teorijskim Nernstovim potencijalom za jednovalentne ione (59,16 mV) uz faktor regresije od 0,9992, te granicom dokazivanja od  $2,5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ .

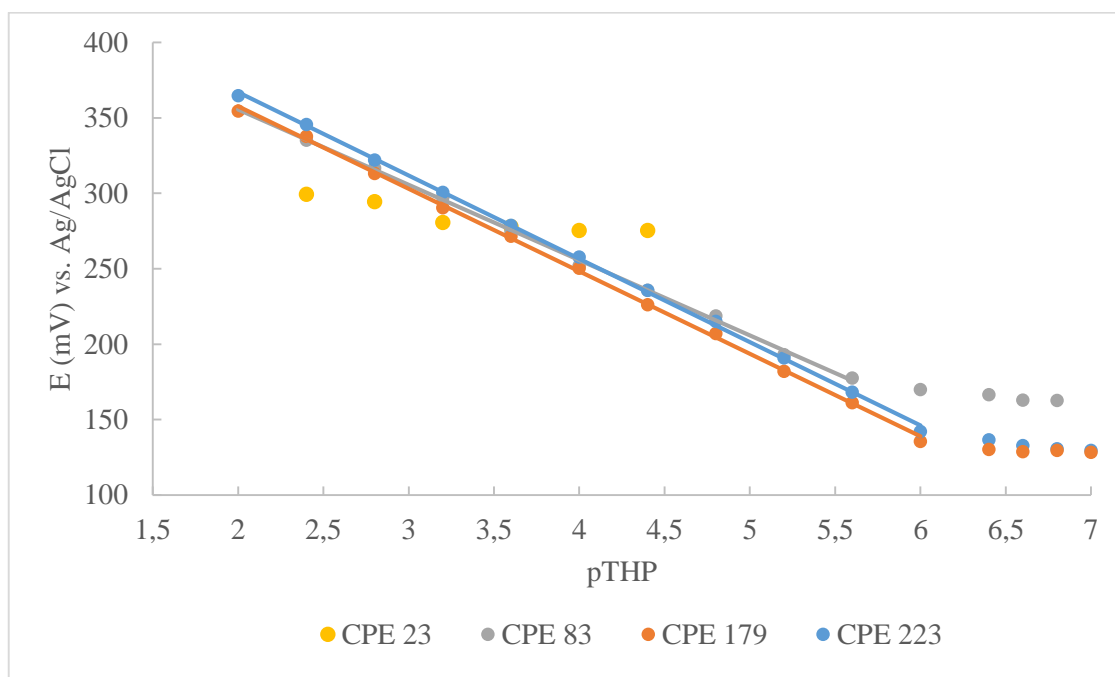


**Slika 30.** Ovisnost potencijala o negativnom logaritmu koncentracije THP-a za membrane različitog sastava uz dibutilftalat kao vezivo

Paušalno uspoređujući moglo bi se kazati da poboljšanje odzivnih karakteristika elektroda vezanih za optimizaciju sastava membrane iz ovog rada slijedi rezultate u literaturi jedine pronađene CPE za određivanje THP-a.<sup>[6]</sup> Međutim detaljnijom usporedbom odziva elektroda identičnog kvantitativnog, a vrlo sličnog kvalitativnog sastava ove disertacije s literaturnim navodom uočen je visok stupanj nepodudarnosti. Naime, elektroda CPE 3 (tablica 8) iz ovog rada prikazuje nagib od 9,6 odnosno 9,7 mV po koncentracijskoj dekadi, što je čini analitički neprimjenjivom čak i bez daljnje linearne regresijske analize koja je svejedno izvršena. U spomenutom radu navedeno je da nagib krivulje umjeravanja nativne elektroda s 52,5% masenog udjela DBP-a i 47,5% grafita iznosi 50,1 mV po koncentracijskoj dekadi uz LDP od  $5,4 \times 10^{-6}$  do  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-2</sup>. Modifikacijom nativne elektrode u ovoj disertaciji značajno su poboljšani odzivi do nagiba 50,2 mV po koncentracijskoj dekadi (uz 8,1% masenog udjela THP-TPB-a, CPE 150), a u referentnom radu do 54,1 mV po koncentracijskoj dekadi (uz 1,0% masenog udjela istog IAC-a). Važno je za napomenuti da u analiziranom radu nisu obavljene rezultati eventualnih modifikacija elektroda s vrijednostima masenih udjela IAC-a viših od 5,0%. Sljedećim korakom modifikacije, dodatkom 0,1%-tnog udjela ionskog aditiva nagib u referentnom radu je poboljšao do vrijednosti 57,8 mV po koncentracijskoj dekadi uz LDP raspona od  $1,2 \times 10^{-6}$  –  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> te granicu dokazivanja od  $7,1 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>, dok je u ovoj disertaciji dodatkom 0,3%-tnog udjela ionskog aditiva (CPE 168) nagib



krivulje umjeravanja elektrode povećan na 55,6 mV po koncentracijskoj dekadi uz šire LDP i identičnu vrijednost donje granice dokazivanja, ali uz mnogo bolji odnosno analitički prihvatljiviji faktor regresije (0,9983 prema 0,9816). U citiranom radu nije navedeno da su vršene bilo kakve daljnje modifikacije, dok su u ovoj disertaciji izvršene i modifikacije CPE sa sintetiziranim grafitovim odnosno reduciranim grafitovim oksidom što je već detaljno i opisano.



**Slika 31.** Ovisnost potencijala o negativnom logaritmu koncentracije THP-a za membrane različitog sastava uz 2- nitrofeniloktil eter kao vezivo

Iz slike 31 je vidljivo da nemođificirana elektroda 23 ne pokazuje osjetljivost prema THP-u. Prvom modifikacijom membrane koja sadrži 2-nitrofenil-oktil-eter kao vezivo, s THP-PT-om kao IAC-om, krivulja umjeravanja elektrode 83 postigla je nagib od 49,9 mV po promjeni koncentracijske dekade THP-a u linearnom dinamičkom području od  $2,5 \times 10^{-6}$  -  $4,0 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>. Pripravom elektrode 179, dobiveni su još bolji eksperimentalni rezultati. Neznatno bolji odziv prema THP-u pokazala je elektroda 223 s linearnom promjenom potencijala u koncentracijskom području THP-a od  $1,0 \times 10^{-7}$  do  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>, granicom dokazivanja  $8,4 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>. Nagib krivulje umjeravanja od 55,2 mV po dekadi promjene koncentracije. Međutim kao što je već i navedeno, potenciometrijske odzivne karakteristike elektroda koje sadrže 2-nitrofenil-oktil-eter, THP-PT te NaTPB kao vezivo, IAC odnosno ionski aditiv, se značajno ne poboljšavaju dodatkom rGO (usporedba elektroda 179 i 223), za razliku od pripremljenih membrana s dibutilftalatom kao vezivom. Iako je u nekima od radova 2-nitrofenil-oktil-eter prikazan

kao najbolje vezivo za izradu CPE senzora za određivanja različitih jednovalentnih aktivnih tvari farmaceutika,<sup>[104,216]</sup> to ne potvrđuju rezultati provedenih mjerenja u ovoj doktorskoj disertaciji. Ipak dobiveni rezultati su u skladu s zaključkom grupe autora koji u rezultatima svojih istraživanja na heterogenim membranama kod kojih je kao neaktivni nosač korišten poli(vinil-klorid) navode da su veziva s nižim vrijednostima dielektričnih konstanti pogodnija za pripravu membrana za određivanje jednovalentnih iona u odnosu na dvo- odnosno viševalentne.<sup>[240]</sup> Naime, vrijednost dielektrične konstante 2-nitofeniloktil etera iznosi približno 24, a dibutilftalata 5.<sup>[233]</sup>

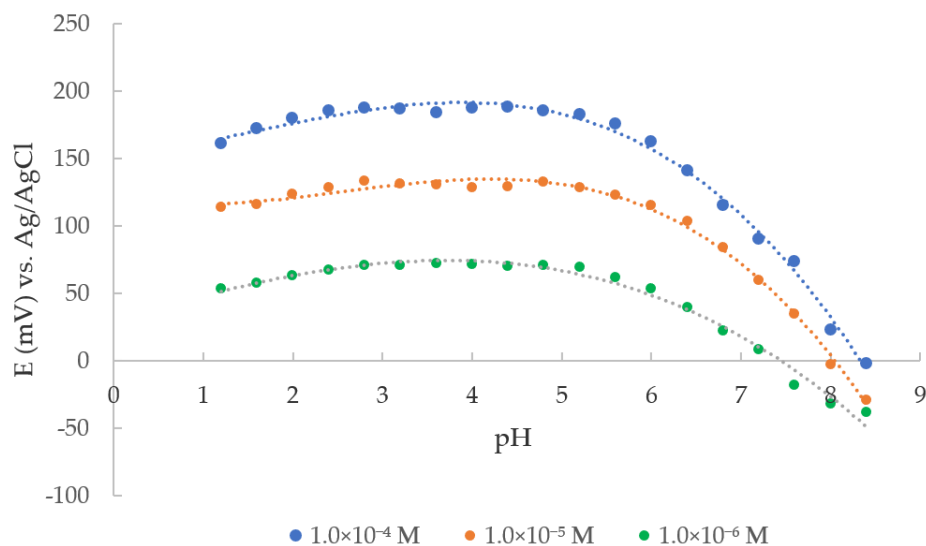
Na temelju svih provedenih ispitivanja, kao konačni rezultat optimizacije membrane za izradu CMPCE za potenciometrijsko određivanje triheksifenidila uzet je sljedeći sastav membrane: 40,6% grafit, 45,0% dibutilftalat, 10,2% THP-TPB, 0,3% NaTPB i 3,9% rGO (CPE 208). Opisana elektroda pokazuje bolje inicijalne odzivne karakteristike u odnosu na sličnu navedenu u literaturi<sup>[6]</sup> jer daje mnogo bolji koeficijent regresije posebno pri nižim vrijednostima koncentracije THP-a, nižu donju granicu dokazivanja, trostruko nižu donju granicu linearnog dinamičkog područja, poboljšani nagib krivulje umjeravanja uz sniženje vrijednosti relativnog standardnog odstupanja nagiba za više od 50%. Ovako pripravljena CMPCE je korištena u daljnjem tijeku ove disertacije.

### **4.3. Ostali validacijski parametri optimizirane CMCPE**

#### **4.3.1. Utjecaj pH na odzivne karakteristike elektrode**

Ovisnost potencijala o koncentraciji vodikovih iona, pri stalnoj koncentraciji THP-a prikazana je slikom 32.

Dobiveni rezultat pokazuje da se elektroda može koristiti za određivanje THP-a u rasponu pH od 2,4 - 5,2. Pri različitim ispitivanim koncentracijama THP-a nisu uočena značajna odstupanja pH utjecaja. Iz slike je vidljivo da vrijednost potencijala opada iznad pH = 5,2, što može biti uzrokovano neutralizacijom THP kationa iz otopine OH<sup>-</sup> ionima. Za pretpostaviti je da nastaje slobodna THP baza odnosno smanjuje se koncentracija protonirane THP vrste u ispitivanim otopinama.



**Slika 32.** Grafički prikaz utjecaja pH na promjenu potencijala optimizirane CPE<sup>[224]</sup>

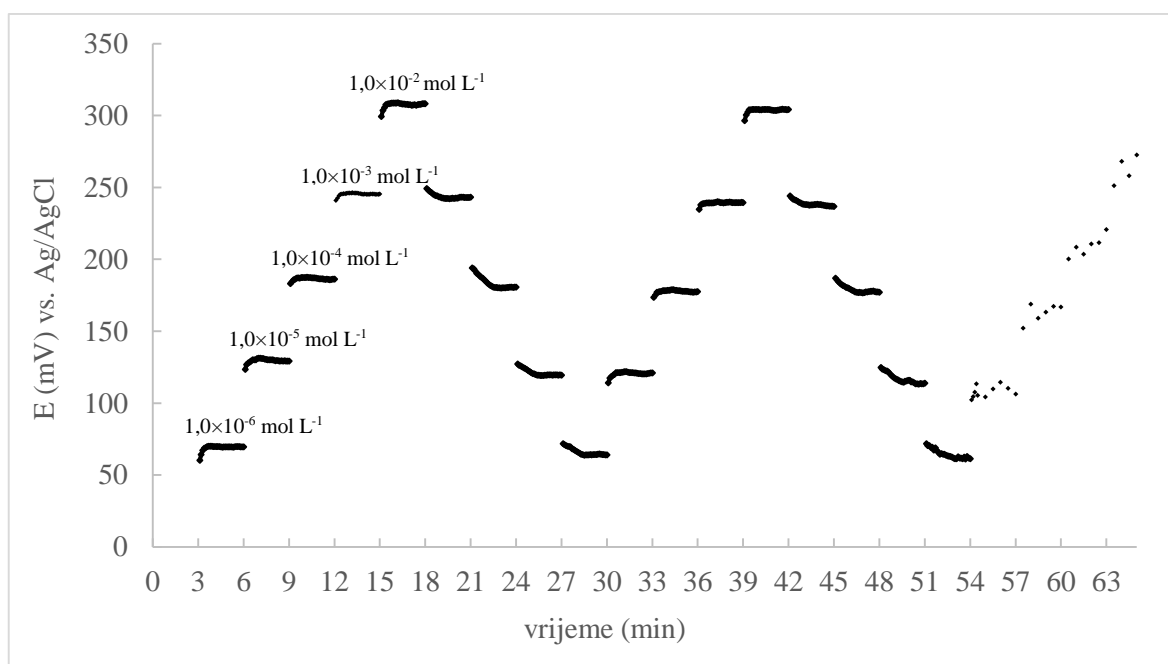
Jedno od objašnjenja zašto se potencijal blago smanjuje pri vrijednostima pH nižim od 2,4, moglo bi biti da se ioni  $\text{H}_3\text{O}^+$  zbog svoje velike pokretljivosti mogu natjecati s THP ionima i tako interferirati s mjernim signalom, a što je sukladno literaturnim navodima.<sup>[6,224]</sup>

Vrijedno je za naglasiti da je u ovoj doktorskoj disertaciji kao i u objavljenom radu proizišlim iz nje (Radić i sur.<sup>[224]</sup>), vršeno testiranje elektrode na utjecaj pH vrijednosti uz koncentraciju THP-a od  $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$  zbog očekivane koncentracije THP-a u urinu tog reda veličine, a što nije prikazano u literaturnom navodu Abu Shawisha.<sup>[6]</sup>

#### 4.3.2. Vrijeme odziva i ponovljivost

Rezultati određivanja vremena odziva, ponovljivosti odnosno histereze elektrode od velike su važnosti za njenu analitičku primjenu. Kao vrijeme odziva uzeto je ono koje je proteklo od trenutka kontakta referentne i indikatorske elektrode s otopinom THP-a pa do trenutka u kojem je zabilježena apsolutna vrijednost promjene potencijala unutar  $1 \text{ mV min}^{-1}$ . Ponovljivost je ispitivana uzastopnim uranjanjima elektrode u koncentracijski niz otopina THP-a, od kojih je svaka otopina imala deseterostruko povećanje koncentracije i to od  $1,0 \times 10^{-6}$  do  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  pa potom u obrnutom smjeru (od viših prema nižim vrijednostima koncentracija). Ovaj postupak je uzastopno ponavljan do gubitka osjetljivosti elektrode.

Elektroda je u posebno kratkom vremenu (unutar 5 s) dostigla stabilan potencijal za sve ispitivane koncentracije kada se uranja u otopine prema rastućim vrijednostima koncentracija. Za procjenu ponovljivosti nastavljen je isti postupak, ali u obrnutom smjeru (od višim prema nižim vrijednostima koncentracija THP-a). Dobiveni rezultati pokazuju da je elektrodi, kada se uranja u otopine od viših prema nižim koncentracijama, potrebno dulje vrijeme (unutar 13 s) da pokaže odziv na promjene koncentracije analita i postigne ravnotežne vrijednosti. Elektroda je dakle reverzibilna i ne pokazuje značajan memorijski učinak prema prethodno testiranim otopinama viših koncentracija THP-a (slika 33). Nakon četiri ciklusa mjerenja, elektroda je postala neuporabljiva budući da je osjetljivost elektrode izgubljena zbog propusnosti i dezintegracije površine membrane elektrode. Taj problem je jednostavno otklonjen obnavljanjem površine membrane (poliranjem) i kondicioniranjem.



**Slika 33.** Grafički prikaz vremena odziva i ponovljivosti predložene CPE

Ako se povuče paralela s u novijoj literaturi već spomenutim radovima u kojima je modifikacija CPE izvršena s u laboratoriju sintetiziranim rGO, može se zaključiti da se rezultati podudaraju. Naime, prilikom razvoja CPE za određivanje losartana<sup>[31]</sup> i srebra<sup>[32]</sup> autori kao vrijeme odziva navode jednake vrijednosti i to od 6 s kada se mjerenja provode prema rastućim, odnosno 18 s kada se provode od viših prema nižim vrijednostima koncentracija ispitivanog analita. Kod razvoja CPE za određivanje gabapentina<sup>[215]</sup> koja je također modificirana s rGO kao vrijeme odziva navodi se 15 s. Međutim, od pretražene

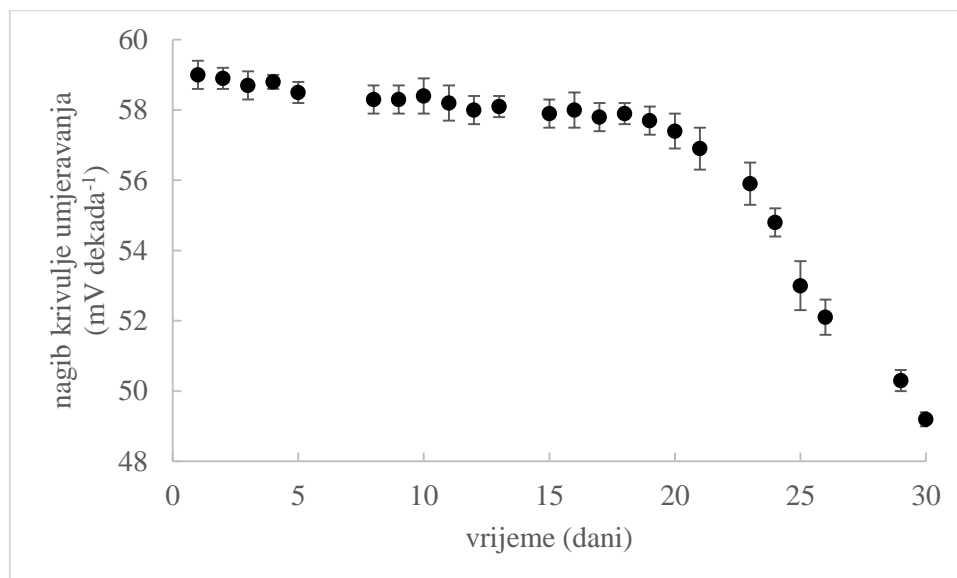
literature jedino razvijene CPE za potenciometrijsko određivanje olanzapina<sup>[104]</sup> i rifampicina,<sup>[108]</sup> pokazuju kraće vrijeme odziva (4 s).

#### 4.3.3. Vrijeme života elektrode

Vrijeme života modificirane CPE 208 procijenjeno je ispitivanjem njenog odziva u koncentracijskom području THP-a od  $4,0 \times 10^{-7}$  do  $1,0 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> u trajanju od 90 dana. Prije svakog ciklusa mjerenja, površina membrane elektrode polirana je i kondicionirana 15 minuta u otopini acetatnog pufera. Iz dobivenih eksperimentalnih vrijednosti, konstruirana je krivulja umjeravanja iz koje je definiran njen nagib nakon svakog dana u kojem su provedena mjerenja.

Slika 34 prikazuje mjerenja provedena u trajanju od 30 dana. U prvih 19 dana nema značajne promjene nagiba krivulje umjeravanja. Ipak, počevši od 12. dana uočeno je postupno blago sužavanje linearnog dinamičkog područja. U sljedećih 11 dana, došlo je do smanjenja vrijednosti nagiba sa 57,4 na 49,2 mV po koncentracijskoj dekadi, a sve je praćeno i dodatnim značajnijim povišenjima vrijednosti kako donje granice linearnog dinamičkog područja tako i donje granice dokazivanja. Iz ovih eksperimentalnih podataka razdoblje od 19 dana se može uzeti kao optimalno vrijeme života elektrode.

U literaturi je pronađen niz različitih podataka o vremenima života pripremljenih CPE. Uočeno je da vremena života variraju od mjesec i nekoliko dana,<sup>[16,98,105,119,144,241]</sup> do preko 2 i više mjeseci,<sup>[31,104,108,145,216,242]</sup> pa čak i do onih kuriozitetnih od nekoliko godina.<sup>[243]</sup> Međutim u mnogima od tih radova autori kao vrijeme života elektrode uzimaju period od pripreme elektrode do skoro pa potpunog gubitka osjetljivosti. Tako npr. prilikom razvoja CPE za određivanje triprolidina<sup>[232]</sup> u prvih 8 dana nagib krivulje umjeravanja iznosi oko 54,0 mV po koncentracijskoj dekadi pa potom u vremenskom periodu od 60 dana opada do vrijednosti 50,0 mV. Vodeći se tom logikom moglo bi se pogrešno zaključiti da je vrijeme života ove CPE duže od navedenih 19 dana, budući da ista nakon proteka 30 dana (a u naredna 2 mjeseca) skoro da zadržava konstantnu vrijednost nagiba krivulja umjeravanja (od približno 48 mV).



**Slika 34.** Grafički prikaz ovisnosti promjene nagiba krivulje umjeravanja i vremena

#### 4.3.4. Selektivnost elektrode

Koeficijent selektivnosti jedan je od najznačajnijih parametara ISE na bazi kojeg se može predvidjeti ponašanje elektrode u sustavima koji sadrže moguće interferentne vrste<sup>[82]</sup> koje mogu ometati određivanje iona analita i time dati upitnu točnost mjerenja. Niža vrijednost koeficijenta selektivnosti podrazumijeva da elektroda može određivati ciljane vrste bez značajnijeg utjecaja interferenta. U ovoj doktorskoj disertaciji ispitivana je selektivnost optimizirane CMCPE primjenom MPM metode opisane u uvodnom dijelu budući da ista od svih u literaturi preporučenih metoda ne ovisi o Nikolsky-Eisenmanovoj jednadžbi, kao ni polu ni vrijednosti naboja kako ispitivane tako ni interferirajuće vrste.

Kao potencijalne interferirajuće kemijske vrste ispitivane su one koje se uobičajeno najčešće koriste kao pomoćne tvari lijekova odnosno one najzastupljenije u urinu,<sup>[98,102,105]</sup> a čiji utjecaj na određivanje triheksifenidila prema dostupnoj pretraženoj literaturi nije ispitivan. Uz to ispitan je i interferirajući utjecaj nekih nesteroidnih protuupalnih lijekova kao i antidepresiva maprotilina hidroklorida.

Budući da vrijednosti negativnog logaritma koeficijenta selektivnosti za sve ispitivane vrste dostižu vrijednosti više od 3 (osim kod maprotilina kod kojeg je nešto niža), jasno je da ove vrste u značajnoj mjeri ne utječu na određivanje THP-a (tablica 23). Dakle, preciznije kazano, ove vrste bi u značajnoj mjeri interferirale samo u slučaju da je njihova koncentracija viša za najmanje 3 reda veličine od one ispitivane. Budući da takav

omjer ispitivanih vrsta u otopini nije realan, ovom CMCPE moguće je precizno i točno odrediti koncentraciju THP u otopinama koje sadrže i ispitivane interferirajuće vrste.

**Tablica 23.** Koeficijenti selektivnosti određeni MPM metodom<sup>[224]</sup>

Interferirajuća vrsta	$\log K_{THP,INT}^{pot}$
K <sup>+</sup>	-4,19
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-4,36
Ca <sup>2+</sup>	-3,81
Mg <sup>2+</sup>	-3,62
Zn <sup>2+</sup>	-3,72
Pb <sup>2+</sup>	-3,18
Fe <sup>3+</sup>	-3,26
glukoza	-3,46
galaktoza	-3,53
fruktoza	-3,94
acetilsalicilna kiselina	-4,11
paracetamol	-3,95
maprotilin hidroklorid	-2,84

Isto tako potencijalne interferirajuće vrste za svaku kationsku elektrodu mogu biti i anioni koji bi svojom penetracijom u pripremljenu membranu mogli mijenjati njenu elektrostabilnost i time umanjiti osjetljivosti na ciljani analit. U ovom istraživanju nisu uočene interferencije nitrata niti klorida koji predstavljaju kiselinke ostatke ispitivanih soli. Ako bi se pak uzelo u razmatranje prisustvo ionskih vrsta acetatnog pufera u ispitivanim čistim otopinama kao eventualnih interferenata, rezultati ove doktorske disertacije potvrđuju da iste nemaju značajnog utjecaja na selektivno određivanje THP-a razvijenom elektrodom.

#### **4.4. Primjena optimizirane CMCPE u kvantitativnoj analizi THP-a u čistim otopinama i realnim uzorcima**

Nakon validacije elektrode provedena je i kvantitativna analiza THP-a u čistim otopinama kao i dva različita realna uzorka. Jedan realni uzorak predstavlja pripravljene otopine farmaceutika Parkopan, dok je drugi alikvot ljudskog urina obogaćen standardnom otopinom THP-a („spajkani“ urin).

Točnost kao stupanj sukladnosti, te preciznost koja predstavlja stupanj ponovljivosti, utvrđene su provođenjem 7 međusobno neovisnih mjerenja u svakoj na jednak način pripravljenoj otopini. Točnije, svaka od 6 ispitivanih otopina pripravljena 28 puta na jednak način ispitivana je po 7 puta izravnom potenciometrijom, metodom standardnog dodatka te potenciometrijskom titracijom.

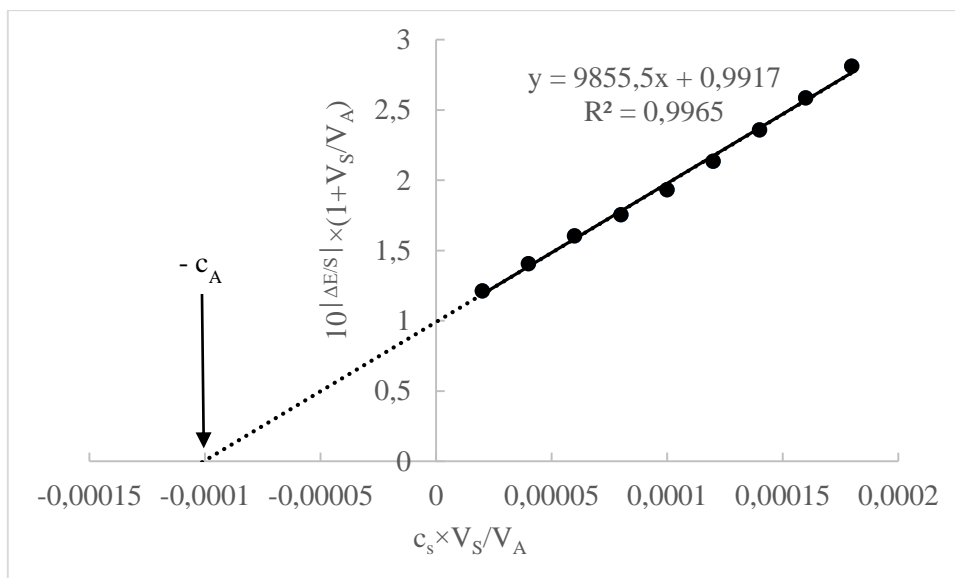
Iz tablice 24 vidljivo je da je izravnom potenciometrijom za čiste otopine koncentracije THP-a od  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> ostvareno prosječno iskorištenje od 99,0% uz relativno standardno odstupanje od  $\pm 0,6\%$ , dok je za čiste otopine koncentracije THP-a od  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> iskorištenje iznosilo 98,4% uz relativno standardno odstupanje od  $\pm 1,3\%$ . Izravnom potenciometrijom u pripremljenim otopinama iz Parkopan tableta koncentracija THP-a i „spajkanih“ od  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> odnosno od  $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> uočene su nešto niže vrijednosti iskorištenja kao i više vrijednosti njihovih relativnih standardnih odstupanja.

**Tablica 24.** Rezultati primjene različitih metoda za određivanje THP-a u čistim otopinama, otopinama farmaceutika Parkopan i uzorcima urina.<sup>[224]</sup>

		Očekivana koncentracija THP-a (mol L <sup>-1</sup> )	Iskorištenje $\pm$ RSD (%)
Čista otopina	Izravna potenciometrija	$1,0 \times 10^{-4}$	99,0 $\pm$ 0,6
		$1,0 \times 10^{-5}$	98,4 $\pm$ 1,3
	Metoda standardnog dodatka	$1,0 \times 10^{-4}$	99,4 $\pm$ 0,4
		$1,0 \times 10^{-5}$	99,2 $\pm$ 0,5
Otopina Parkopan tableta	Potenciometrijska titracija	$1,0 \times 10^{-4}$	99,4 $\pm$ 0,3
		$1,0 \times 10^{-5}$	99,2 $\pm$ 0,6
	Izravna potenciometrija	$1,0 \times 10^{-4}$	98,1 $\pm$ 1,4
		$1,0 \times 10^{-5}$	97,0 $\pm$ 2,0
Otopina „spajkanog“ urina	Metoda standardnog dodatka	$1,0 \times 10^{-4}$	98,9 $\pm$ 0,6
		$1,0 \times 10^{-5}$	98,4 $\pm$ 1,0
	Potenciometrijska titracija	$1,0 \times 10^{-4}$	98,9 $\pm$ 0,7
		$1,0 \times 10^{-5}$	98,7 $\pm$ 1,0
	Izravna potenciometrija	$1,0 \times 10^{-4}$	98,2 $\pm$ 1,7
		$1,0 \times 10^{-5}$	96,8 $\pm$ 1,8
	Metoda standardnog dodatka	$1,0 \times 10^{-4}$	100,9 $\pm$ 0,8
		$1,0 \times 10^{-5}$	101,7 $\pm$ 1,1
	Potenciometrijska titracija	$1,0 \times 10^{-4}$	101,0 $\pm$ 0,9
		$1,0 \times 10^{-5}$	98,6 $\pm$ 1,0

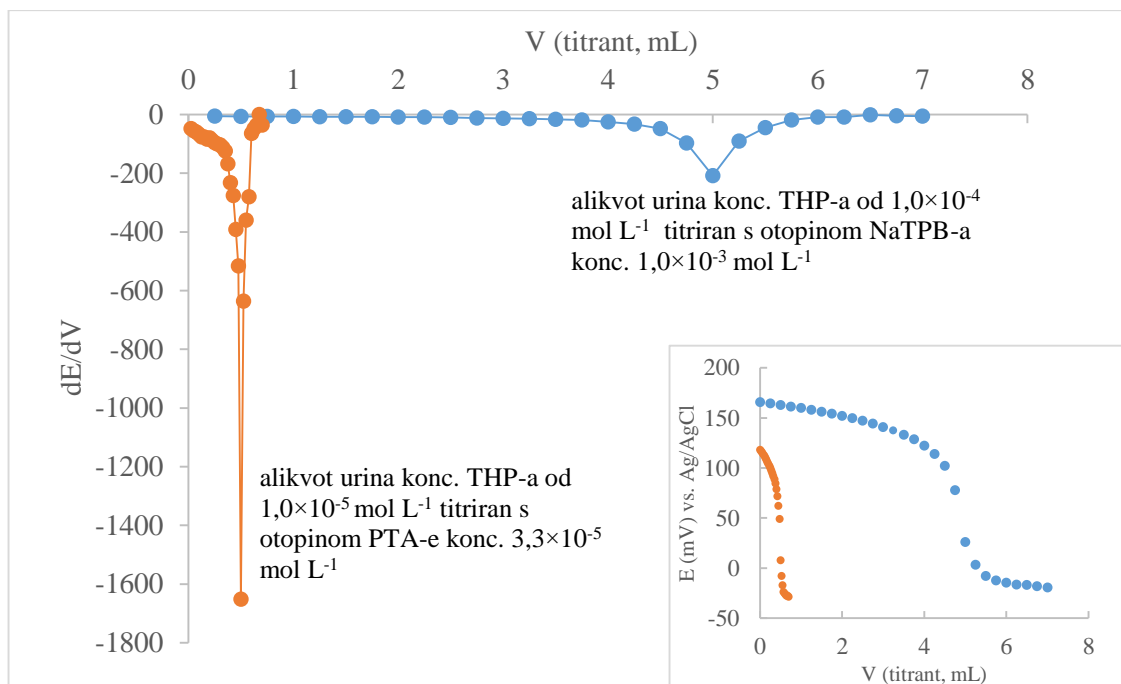
Predloženi opći matematički model (izraz 37, slika 23) primijenjen je u metodi standardnog dodatka. Ista je korištena kako bi se minimizirao potencijalni učinak matrice koja može interferirati s analitom, te na taj način bili ostvareni bolji analitički rezultati u usporedbi s onima dobivenim izravnom potenciometrijom. Prosječna iskorištenja uz relativna standardna odstupanja iznosila su redom 99,3%  $\pm$  0,4%, 98,7%  $\pm$  0,9%, odnosno 101,3%  $\pm$  1,0% u čistim otopinama, otopinama iz Parkopan tableta odnosno „spajkanim“ alikvotima urina. Slika 35 predstavlja obradu rezultata jednog od 42 provedena mjerenja ovom metodom.





**Slika 35.** Grafički prikaz razvijenog modela metode standardnog dodatka u potenciometriji (primijenjen za određivanje koncentracije THP-a u 50 mL alikvota uzorka urina očekivane koncentracije  $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , korištenjem otopine THP-a koncentracije  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  kao standarda)<sup>[224]</sup>

Nadalje, optimizirana elektroda ispitana je kao indikatorska elektroda završne točke titracije otopine THP-a s NaTPB-om odnosno PTA-om kao titrantom. Završna točka titracije određena je kao srednja vrijednost minimuma prvih derivacija sedam titracijskih krivulja svake od na isti način pripravljene otopine. Dobro definirani S-oblik titracijskih krivulja i velika promjena razlike potencijala između indikatorske i Ag/AgCl referentne elektrode u završnoj točki, sugeriraju točnost rezultata. Zbog opsežnosti, sva 84 mjerenja (korištenjem potenciometrijske titracije) nije moguće grafički prikazati pa su slikom 36 prikazana dva mjerenja, a koja se mogu uzeti kao predložak za ostala mjerenja provedena ovom metodom. Rezultati dobiveni titracijom slični su onima dobivenim metodom standardnog dodatka. Bez obzira što je potenciometrijska titracija preporučena za kvantitativno određivanje analita viših koncentracija (opisano u općem dijelu), potenciometrijska titracija provedena u ovoj doktorskoj disertaciji s optimiziranom elektrodom primjenjiva je i pri niskim vrijednostima koncentracija THP-a.



**Slika 36.** Grafički prikaz prvih derivacija titracijskih krivulja 50 mL alikvota urina različitih koncentracija THP-a titriranih s otopinama PTA-e odnosno NaTPB-a (umetnuto: grafički prikaz tipične titracijske krivulje)

Konačno, iz tablice 24 je vidljivo da su rezultati izmjerenih koncentracija THP-a u svim ispitivanim otopinama, pokazali jako dobro slaganje s deklariranim (tablete) ili očekivanim (čiste otopine odnosno „spajkani“ alikvoti urina THP-om) vrijednostima koncentracija THP-a. Isto tako uočljivo je bolje iskorištenje i niže relativno standardno odstupanje kod ispitivanih otopina THP-a koncentracije od  $1,0 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> u odnosu na one otopine jednog reda niže vrijednosti koncentracije ispitivanog analita ( $1,0 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>). Također, uočljivo je da je točnost i preciznost mjerenja nešto bolja u čistim otopinama THP-a u odnosu na one realnih uzoraka, a što je logično budući da u čistim otopinama interferirajuće vrste gotovo da i nisu prisutne. Neznatno niže vrijednosti iskorištenja i njihovih relativnih standardnih devijacija u ispitivanim realnim uzorcima u odnosu prema onima u čistim otopinama, u skladu su s rezultatima ispitivanja selektivnosti elektrode budući da nije uočena značajnija interferirajuća vrsta.

## 5. ZAKLJUČAK

Istraživanje u ovom radu imalo je za cilj pripremu ionsko-selektivne elektrode na bazi paste od ugljikovog materijala za određivanje triheksifenidila. Osmišljenim i u laboratoriju izrađenim tijelom elektrode malog korisnog promjera baze, omogućena je minimalna potrošnja kemikalija u pripravi paste (membrane). Tijelo visoke funkcionalnosti koja se očituje u brzom i lakom izmjeni paste, odlikuje se i visokom mehaničkom stabilnošću.

Iz provedenih eksperimentalnih mjerenja i dobivenih rezultata mogu se sažeti sljedeći zaključci:

- Rezultati karakterizacije grafitovog oksida i reduciranog grafenovog oksida, oba prethodno sintetizirana iz grafita kao polazišnog materijala, ukazuju da je potonji manje oksidiran i kao takav pogodniji za primjenu u elektrokemijskim mjerenjima.
- Elementnom analizom potvrđeno je uspješno taloženje ionsko-asocijacijskih kompleksa budući da njihovi eksperimentalno utvrđeni kemijski sastavi pokazuju dobro slaganje s teorijskim vrijednostima.
- Kao najkonzistentnije pokazale su se paste koje sadrže 45% veziva.
- Bis(2-etilheksil)ftalat, parafinsko ulje odnosno bis(2-etilheksil)adipat nisu se pokazali kao pogodna veziva za pripremu membrana CPE za određivanje triheksifenidila.
- Sve ispitivane membrane s triheksifenidilovim reinkatom kao elektroaktivnom tvari pokazale su loše odzivne karakteristike.
- U laboratoriju oksidirani grafit nije pogodan kao modifikator CPE za određivanje THP-a.
- Natrijev tetrafenilborat se predlaže i kao optimalno taložno sredstvo u pripravi ionsko-asocijacijskog kompleksa te kao optimalni ionski aditiv u razvoju CPE za određivanje THP-a.
- Dobre odzivne karakteristike pokazale su membrane s 2-nitrofenil-oktil-eterom uz modifikaciju s THP-TPB-om, THP-PT-om odnosno THP-PM-om.
- Inkorporacijom reduciranog grafenovog oksida (do njegovog masenog udjela od 4,0% u membrani) značajno su poboljšane odzivne karakteristike ispitivanih senzora.

- Elektroda pripravljena od 40,6% grafita, 45,0% dibutilftalata kao veziva, 10,2% triheksifenidilovog tetrafenilborata kao ionsko-asocijacijskog kompleksa, 0,3% natrijevog tetrafenilborata kao ionskog aditiva te 3,9% reduciranog grafenovog oksida pokazuje izvrsnu selektivnost za određivanje THP-a, široko linearno dinamičko područje, nisku donju granicu određivanja te brzo vrijeme odziva i ponovljivost rezultata.
- pH područje primjene elektrode je od 2,4 do 5,2.
- Vrijeme života pripravljene elektrode je 19 dana.
- Za provedena mjerenja optimiziranim senzorom nije potrebna kompleksna predobrada realnog uzorka.
- U metodi standardnog dodatka za određivanje nepoznate koncentracije analita razvijen je opći matematički model prikazan segmentnim oblikom jednadžbe pravca.
- Opisani način pripreme elektrode na bazi paste od ugljikovog materijala osim za određivanje THP-a može biti pogodan i za određivanje i drugih lijekova s djelovanjem na živčani sustav kao npr. antidepresiva maprotilina.

## 6. LITERATURA

- [1] A. Radu, T. Radu, C. McGraw, P. Dillingham, S. Anastasova-Ivanova, D. Diamond, *J. Serbian Chem. Soc.* **2013**, *78*, 1729.
- [2] E. G. Kulapina, O. V. Barinova, *J. Anal. Chem.* **2001**, *56*, 457.
- [3] J. Hu, A. Stein, P. Bühlmann, *Trends Anal. Chem.* **2016**, *76*, 102.
- [4] A. K. Hassan, S. T. Ameen, B. Saad, *Arab. J. Chem.* **2017**, *10*, 1484.
- [5] S. Mesarić, E. A. M. F. Dahmen, *Anal. Chim. Acta* **1973**, *64*, 431.
- [6] H. M. Abu Shawish, M. Elhabiby, H. S. Abu Aziz, S. M. Saadeh, A. Tbaza, *Sensors Actuators B Chem.* **2016**, *235*, 18.
- [7] A. R. Oganov, R. J. Hemley, R. M. Hazen, A. P. Jones, *Rev. Mineral. Geochemistry* **2013**, *75*, 47.
- [8] P. R. Wallace, *Phys. Rev.* **1947**, *71*, 622.
- [9] G. Ruess, F. Vogt, *Monatshefte für Chemie* **1948**, *78*, 222.
- [10] H. P. Boehm, A. Clauss, G. O. Fischer, U. Hofmann, *ZAAC - J. Inorg. Gen. Chem.* **1962**, *316*, 119.
- [11] A. Hamwi, S. Mouras, D. Djurado, J. C. Cousseins, *J. Fluor. Chem.* **1987**, *35*, 151.
- [12] K. S. Novoselov, A. K. Geim, S. V. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S. V. Dubonos, I. V. Grigorieva, A. A. Firsov, *Science* **2004**, *306*, 666.
- [13] A. K. Geim, K. S. Novoselov, *Nat. Mater.* **2007**, *6*, 183.
- [14] E. B. Bahadir, M. K. Sezgintürk, *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2016**, *76*, 1.
- [15] B. E. Conway, V. Birss, J. Wojtowicz, *J. Power Sources* **1997**, *66*, 1.
- [16] A. M. El-Kosasy, M. H. Abdel Rahman, S. H. Abdelaal, *Talanta* **2019**, *193*, 9.
- [17] N. Mishra, J. Boeckl, N. Motta, F. Iacopi, *Phys. status solidi* **2016**, *213*, 2277.
- [18] R. M. Jacobberger, R. Machhi, J. Wroblewski, B. Taylor, A. L. Gillian-Daniel, M. S. Arnold, *J. Chem. Educ.* **2015**, *92*, 1903.
- [19] Z.-Y. Juang, C.-Y. Wu, A.-Y. Lu, C.-Y. Su, K.-C. Leou, F.-R. Chen, C.-H. Tsai, *Carbon N. Y.* **2010**, *48*, 3169.
- [20] N. O. Weiss, H. Zhou, L. Liao, Y. Liu, S. Jiang, Y. Huang, X. Duan, *Adv. Mater.*

**2012**, 24, 5782.

- [21] J. Ira Gowda, R. Manohar Hanabaratti, S. Thotappa Nandibewoor, *Sci. J. Anal. Chem.* **2019**, 7, 92.
- [22] W. Gao, in *Graphene Oxide*, Springer International Publishing, Cham, **2015**, pp. 61–95.
- [23] D. R. Dreyer, S. Park, C. W. Bielawski, R. S. Ruoff, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 228.
- [24] S. Pei, H.-M. Cheng, *Carbon N. Y.* **2012**, 50, 3210.
- [25] R. K. Singh, R. Kumar, D. P. Singh, *RSC Adv.* **2016**, 6, 64993.
- [26] D. C. Marcano, D. V. Kosynkin, J. M. Berlin, A. Sinitskii, Z. Sun, A. Slesarev, L. B. Alemany, W. Lu, J. M. Tour, *ACS Nano* **2010**, 4, 4806.
- [27] S. Y. Toh, K. S. Loh, S. K. Kamarudin, W. R. W. Daud, *Chem. Eng. J.* **2014**, 251, 422.
- [28] C. T. J. Low, F. C. Walsh, M. H. Chakrabarti, M. A. Hashim, M. A. Hussain, *Carbon N. Y.* **2013**, 54, 1.
- [29] S. Bose, T. Kuila, N. H. Kim, J. H. Lee, in *Graphene*, Elsevier, **2014**, pp. 81–98.
- [30] M. R. Ganjali, H. Khoshshafar, F. Faridbod, A. Shirzadmehr, M. Javanbakht, P. Norouzi, *Electroanalysis* **2009**, 21, 2175.
- [31] H. Bagheri, A. Shirzadmehr, M. Rezaei, *J. Mol. Liq.* **2015**, 212, 96.
- [32] A. Shirzadmehr, A. Afkhami, T. Madrakian, *J. Mol. Liq.* **2015**, 204, 227.
- [33] M. R. Ganjali, F. Faridbod, N. Davarkhah, S. J. Shahtaheri, P. Norouzi, *Int. J. Environ. Res.* **2015**, 9, 333.
- [34] A. Afkhami, A. Shirzadmehr, T. Madrakian, H. Bagheri, *Talanta* **2015**, 131, 548.
- [35] P. He, J. Sun, S. Tian, S. Yang, S. Ding, G. Ding, X. Xie, M. Jiang, *Chem. Mater.* **2015**, 27, 218.
- [36] D. Li, M. B. Müller, S. Gilje, R. B. Kaner, G. G. Wallace, *Nat. Nanotechnol.* **2008**, 3, 101.
- [37] D. Konatham, A. Striolo, *Nano Lett.* **2008**, 8, 4630.

- [38] T. Szabó, O. Berkesi, P. Forgó, K. Josepovits, Y. Sanakis, D. Petridis, I. Dékány, *Chem. Mater.* **2006**, *18*, 2740.
- [39] H.-K. Jeong, Y. P. Lee, R. J. W. E. Lahaye, M.-H. Park, K. H. An, I. J. Kim, C.-W. Yang, C. Y. Park, R. S. Ruoff, Y. H. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1362.
- [40] M. R. Karim, S. Hayami, in *Graphene Mater. - Adv. Appl.*, InTech, **2017**.
- [41] H. C. Schniepp, J.-L. Li, M. J. McAllister, H. Sai, M. Herrera-Alonso, D. H. Adamson, R. K. Prud'homme, R. Car, D. A. Saville, I. A. Aksay, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 8535.
- [42] C. Mattevi, G. Eda, S. Agnoli, S. Miller, K. A. Mkhoyan, O. Celik, D. Mastrogiovanni, G. Granozzi, E. Garfunkel, M. Chhowalla, *Adv. Funct. Mater.* **2009**, *19*, 2577.
- [43] W. Gao, L. B. Alemany, L. Ci, P. M. Ajayan, *Nat. Chem.* **2009**, *1*, 403.
- [44] M. J. McAllister, J.-L. Li, D. H. Adamson, H. C. Schniepp, A. A. Abdala, J. Liu, M. Herrera-Alonso, D. L. Milius, R. Car, R. K. Prud'homme, et al., *Chem. Mater.* **2007**, *19*, 4396.
- [45] I. Sengupta, S. Chakraborty, M. Talukdar, S. K. Pal, S. Chakraborty, *J. Mater. Res.* **2018**, *33*, 4113.
- [46] W. I. Hayes, P. Joseph, M. Z. Mughal, P. Papakonstantinou, *J. Solid State Electrochem.* **2015**, *19*, 361.
- [47] G. Demazeau, *J. Mater. Chem.* **1999**, *9*, 15.
- [48] K. Byrappa, T. Adschiri, *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.* **2007**, *53*, 117.
- [49] Y. Niu, Q. Fang, X. Zhang, P. Zhang, Y. Li, *Phys. Lett. A* **2016**, *380*, 3128.
- [50] N. Díez, A. Śliwak, S. Gryglewicz, B. Grzyb, G. Gryglewicz, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 81831.
- [51] M. Ghorbani, H. Abdizadeh, M. R. Golobostanfard, *Procedia Mater. Sci.* **2015**, *11*, 326.
- [52] M. Zhou, Y. Wang, Y. Zhai, J. Zhai, W. Ren, F. Wang, S. Dong, *Chem. - A Eur. J.* **2009**, *15*, 6116.
- [53] A. B. Bourlinos, D. Gournis, D. Petridis, T. Szabó, A. Szeri, I. Dékány, *Langmuir*

- 2003**, *19*, 6050.
- [54] V. Singh, D. Joung, L. Zhai, S. Das, S. I. Khondaker, S. Seal, *Prog. Mater. Sci.* **2011**, *56*, 1178.
- [55] Y. Shang, D. Zhang, Y. Liu, C. Guo, *Bull. Mater. Sci.* **2015**, *38*, 7.
- [56] M. J. Fernández-Merino, L. Guardia, J. I. Paredes, S. Villar-Rodil, P. Solís-Fernández, A. Martínez-Alonso, J. M. D. Tascón, *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 6426.
- [57] K. Tewatia, A. Sharma, M. Sharma, A. Kumar, *Mater. Today Proc.* **2021**, *44*, 3933.
- [58] B. Geeta Rani, M. Sai Bhargava Reddy, S. Kailasa, H. Maseed, K. Bikshalu, V. Rao Kalagada, *Mater. Res. Express* **2019**, *6*, 115624.
- [59] S. Pei, J. Zhao, J. Du, W. Ren, H.-M. Cheng, *Carbon N. Y.* **2010**, *48*, 4466.
- [60] I. K. Moon, J. Lee, R. S. Ruoff, H. Lee, *Nat. Commun.* **2010**, *1*, 73.
- [61] N. S. Ahmed, O. Azizi, A. El-Boher, J. Gahl, S. Bok, *ECS J. Solid State Sci. Technol.* **2018**, *7*, M173.
- [62] A. Esfandiar, O. Akhavan, A. Irajizad, *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 10907.
- [63] M. Raić, D. Sačer, M. Kraljić Roković, *Chem. Biochem. Eng. Q.* **2019**, *33*, 385.
- [64] D. Chen, L. Li, L. Guo, *Nanotechnology* **2011**, *22*, 325601.
- [65] T. A. Pham, J. S. Kim, J. S. Kim, Y. T. Jeong, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2011**, *384*, 543.
- [66] J. Li, G. Xiao, C. Chen, R. Li, D. Yan, *J. Mater. Chem. A* **2013**, *1*, 1481.
- [67] Y. Lei, Z. Tang, R. Liao, B. Guo, *Green Chem.* **2011**, *13*, 1655.
- [68] M. S. Amir Faiz, C. A. Che Azurahaman, S. A. Raba'ah, M. Z. Ruzniza, *Results Phys.* **2020**, *16*, 102954.
- [69] M. T. H. Aunkor, I. M. Mahbubul, R. Saidur, H. S. C. Metselaar, *RSC Adv.* **2016**, *6*, 27807.
- [70] R. Ortega-Amaya, Y. Matsumoto, E. Díaz-Torres, C. D. Gutierrez-Lazos, M. A. Pérez-Guzmán, M. Ortega-López, in *Graphene Mater. - Struct. Prop. Modif.*, InTech, **2017**.



- [71] J. R. Stetter, W. R. Penrose, S. Yao, *J. Electrochem. Soc.* **2003**, *150*, S11.
- [72] H. Bai, G. Shi, *Sensors* **2007**, *7*, 267.
- [73] M. Kaštelan-Macan, *Kemijska Analiza u Sustavu Kvalitete*, Školska Knjiga, Zagreb, **2003**.
- [74] A. Hulanicki, S. Glab, F. Ingman, *Pure Appl. Chem.* **1991**, *63*, 1247.
- [75] J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, **2006**.
- [76] D. Harvey, *Modern Analytic Chemistry*, London, **2000**.
- [77] A. J. Bard, C. G. Zoski, *Electroanalytical Chemistry*, CRC Press, Boca Raton, **2010**.
- [78] D. A. Skoog, D. M. West, J. F. Holler, *Osnove Analitičke Kemije*, Školska Knjiga, Zagreb, **1999**.
- [79] I. Piljac, *Senzori Fizikalnih Veličina i Elektroanalitičke Metode*, Media Print Tiskara Hrastić, Zagreb, **2010**.
- [80] A. Prkić, Razvoj Spektrofotometrijskih i Potenciometrijskih Metoda Za Određivanje Tiola, Doktorska disertacija, FKIT, Zagreb, **2013**.
- [81] J. D. Kruse-Jarres, *Med. Prog. Technol.* **1988**, *13*, 107.
- [82] J. Komljenović, Prilog Razvoju Ion-Selektivnih Elektroda u Čvrstom Stanju, Magistarski rad, Tehnološki fakultet, Split, **1987**.
- [83] N. Radić, L. Kukoč Modun, *Uvod u Analitičku Kemiju*, Školska Knjiga, Zagreb, **2016**.
- [84] V. V. Egorov, E. A. Zdrachek, V. A. Nazarov, *J. Anal. Chem.* **2014**, *69*, 535.
- [85] M. Nägele, E. Bakker, E. Pretsch, *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 1041.
- [86] E. M. Rakhman'ko, V. V. Yegorov, A. L. Gulevich, Y. F. Lushchik, *Sel. Electrode Rev.* **1991**, *13*, 5.
- [87] Y. Umezawa, P. Buhlmann, K. Umezawa, K. Tohda, S. Amemiya, *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 1851.
- [88] S. V. Parvataneni, P. J. Nagarjuna, *World J. Pharm. Pharm. Sci.* **2014**, *3*, 1021.

- [89] Y. Umezawa, K. Umezawa, H. Sato, *Pure Appl. Chem.* **1995**, *67*, 507.
- [90] M. Buzuk, Razvoj Senzora Za Određivanje Ionskih Vrsta u Vodenom Mediju, Doktorska disertacija, FKIT, Zagreb, **2010**.
- [91] K. Tóth, E. Pungor, *Anal. Chim. Acta* **1973**, *64*, 417.
- [92] E. Pungor, K. Tóth, *Pure Appl. Chem.* **1973**, *34*, 105.
- [93] J. Radić, M. Bralić, M. Kolar, B. Genorio, A. Prkić, I. Mitar, *Molecules* **2020**, *25*, 5213.
- [94] A. Prkić, T. Vukušić, I. Mitar, J. Giljanović, V. Sokol, P. Bošković, M. Jakić, A. Sedlar, *Int. J. Electrochem. Sci.* **2019**, *14*, 861.
- [95] M. Bralić, A. Prkić, J. Radić, I. Pleslić, *Int. J. Electrochem. Sci.* **2018**, *13*, 1390.
- [96] B. Marczewska, K. Marczewski, *Zeitschrift für Phys. Chemie* **2010**, *224*, 795.
- [97] D. A. Skoog, D. M. West, J. F. Holler, S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry, 9th Ed.*, **2014**.
- [98] E. Y. Frag, M. El badry Mohamed, G. G. Mohamed, M. S. Ebrahim, *Microchem. J.* **2020**, *157*, 104870.
- [99] S. Yang, G. Li, G. Wang, J. Zhao, Z. Qiao, L. Qu, *Sensors Actuators B Chem.* **2015**, *206*, 126.
- [100] M. Afzali, A. Mostafavi, T. Shamspur, *Sensors Actuators B Chem.* **2019**, *290*, 188.
- [101] P. M. Jawanjal, P. B. Patil, J. Patil, M. Waghulde, J. B. Naik, *Curr. Environ. Eng.* **2019**, *6*, 134.
- [102] A. F. Khorshid, *Arab. J. Chem.* **2019**, *12*, 1740.
- [103] H. M. Abu Shawish, K. I. Abed Almonem, S. M. Saadeh, W. S. Al-lham, *Measurement* **2016**, *78*, 180.
- [104] M. Rouhani, A. Soleymanpour, *Measurement* **2019**, *140*, 472.
- [105] E. A. Al-Harbi, M. H. Abdelrahman, A. M. El-Kosasy, *Sensors(Basel)* **2019**, *19*, 2357.
- [106] Y. M. Issa, F. M. A. Attia, O. E. Sherif, A. S. A. Dena, *Arab. J. Chem.* **2017**, *10*, 751.

- [107] S. F. Rassi, *Anal. Chem. Res.* **2017**, *12*, 65.
- [108] A. Dehnavi, A. Soleymanpour, *Mater. Sci. Eng. C* **2019**, *94*, 403.
- [109] I. Švancara, K. Kalcher, A. Walcarius, K. Vytras, *Electroanalysis with Carbon Paste Electrodes*, CRC Press Taylor And Francis Group, Boca Raton, **2012**.
- [110] V. K. Gupta, A. Nayak, S. Agarwal, B. Singhal, *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **2011**, *14*, 284.
- [111] R. A. Ammar, *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* **2016**, *36*, 242.
- [112] M. El-Tohamy, S. Razeq, M. El-Maamly, A. Shalaby, *Med. Chem. Anal.* **2014**, *4*, 130.
- [113] Y. M. Issa, A. F. Khorshid, *J. Adv. Res.* **2011**, *2*, 25.
- [114] E. M. El Nemma, *Microchim. Acta* **1997**, *127*, 259.
- [115] S. E. A. Elashery, E. Y. Frag, A. A. E. Sleim, *Measurement* **2021**, *173*, 108549.
- [116] D. N. Reinhoudt, J. F. J. Engbersen, Z. Brzozka, H. H. van der Vlekkert, G. W. N. Honig, H. A. J. Holterman, U. H. Verkerk, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 3618.
- [117] R. N. Adams, *Anal. Chem.* **1958**, *30*, 1576.
- [118] R. N. Adams, *Electrochemistry at Solid Electrodes*, Marcel Dekker Inc., New York, **1969**.
- [119] I. Švancara, K. Vytrás, J. Barek, J. Zima, *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2001**, *31*, 311.
- [120] Eliana, N. Bojorge, in *Met. Ceram. Polym. Compos. Var. Uses*, InTech, **2011**.
- [121] I. Švancara, A. Walcarius, K. Kalcher, K. Vytrás, *Cent. Eur. J. Chem.* **2009**, *7*, 598.
- [122] J. Lindquist, *Anal. Chem.* **1973**, *45*, 1006.
- [123] E. Eslami, F. Farjami, *J. Phys. Chem. Electrochem.* **2014**, *2*, 111.
- [124] M. A. Khalilzadeh, H. Karimi-Maleh, *Anal. Lett.* **2009**, *43*, 186.
- [125] H. Sopha, L. Baldrianová, E. Tesařová, G. Grincienė, T. Weidlich, I. Švancara, S. B. Hočevar, *Electroanalysis* **2010**, *22*, 1489.
- [126] E. Svobodova-Tesarova, L. Baldrianova, M. Stoces, I. Svancara, K. Vytras, S. B. Hocevar, B. Ogorevc, *Electrochim. Acta* **2011**, *56*, 6673.

- [127] L. S. T. Alamo, T. Tangkuaram, S. Satienerakul, *Talanta* **2010**, *81*, 1793.
- [128] G. Lefevre, J. Bessiere, A. Walcarius, *Sensors Actuators B Chem.* **1999**, *59*, 113.
- [129] Y. Xie, C. O. Huber, *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 1714.
- [130] S. Dong, S. Zhang, X. Cheng, P. He, Q. Wang, Y. Fang, *J. Chromatogr. A* **2007**, *1161*, 327.
- [131] X. Huang, J. J. Pot, W. T. Kok, *Anal. Chim. Acta* **1995**, *300*, 5.
- [132] J. Gardea-Torresdey, D. Daenall, J. Wang, *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.* **1988**, *252*, 197.
- [133] S. K. Alpat, Ş. Alpat, B. Kutlu, Ö. Özbayrak, H. B. Büyükişik, *Sensors Actuators B Chem.* **2007**, *128*, 273.
- [134] M. Yüce, H. Nazır, G. Dönmez, *Biosens. Bioelectron.* **2010**, *26*, 321.
- [135] Y. Ito, S. Yamazaki, K. Kano, T. Ikeda, *Biosens. Bioelectron.* **2002**, *17*, 993.
- [136] S. Timur, U. Anik, D. Odaci, L. Gorton, *Electrochem. commun.* **2007**, *9*, 1810.
- [137] X. Kang, J. Wang, H. Wu, I. A. Aksay, J. Liu, Y. Lin, *Biosens. Bioelectron.* **2009**, *25*, 901.
- [138] K. Sugawara, T. Takano, H. Fukushi, S. Hoshi, K. Akatsuka, H. Kuramitz, S. Tanaka, *J. Electroanal. Chem.* **2000**, *482*, 81.
- [139] M. Vaničková, J. Labuda, M. Bučková, I. Surugiu, M. Mecklenburg, B. Danielsson, *Collect. Czechoslov. Chem. Commun.* **2000**, *65*, 1055.
- [140] S. Dong, S. Zhang, L. Chi, P. He, Q. Wang, Y. Fang, *Anal. Biochem.* **2008**, *381*, 199.
- [141] J. Labuda, A. Meister, P. Gläser, G. Werner, *Fresenius. J. Anal. Chem.* **1998**, *360*, 654.
- [142] Z. Dursun, G. Nişli, *Talanta* **2004**, *63*, 873.
- [143] T. Rosatzin, E. Bakker, K. Suzuki, W. Simon, *Anal. Chim. Acta* **1993**, *280*, 197.
- [144] M. M. Khater, H. B. Hassib, Y. M. Issa, S. H. Mohammed, *Talanta* **2015**, *134*, 546.
- [145] Y. M. Issa, H. M. Abdel-Fattah, N. B. Abdel-Moniem, *Lit. J. Pharm. Drug Deliv.*

*Technol.* **2016**, *02*, 13.

- [146] F. M. Abdel-Haleem, M. Saad, A. Barhoum, M. Bechelany, M. S. Rizk, *Mater. Sci. Eng. C* **2018**, *89*, 140.
- [147] F. M. Abdel-Haleem, S. Mahmoud, N. E. T. Abdel-Ghani, R. M. El Nashar, M. Bechelany, A. Barhoum, *Sensors* **2021**, *21*, 3150.
- [148] W. Kemp, *Organic Spectroscopy*, Palgrave, Hampshire, **1991**.
- [149] S. Brunauer, P. H. Emmett, E. Teller, *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, *60*, 309.
- [150] N. Revellin, H. Dulot, C. López-García, F. Baco, J. Jose, *Energy & Fuels* **2005**, *19*, 2438.
- [151] J. Liebig, *Ann. der Phys. und Chemie* **1831**, *97*, 1.
- [152] M. E. Brown, *Introduction to Thermal Analysis*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, **2004**.
- [153] J. A. Newell, *Essentials of Modern Materials Science and Engineering*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, **2008**.
- [154] I. Nemet, *Spektrometrijska Analiza i Karakterizacija Materijala s Temeljnomo Matricom Željeza*, Doktorska disertacija, PMF, Zagreb, **2018**.
- [155] A. Patel, A. Shrivastava, A. Jain, G. Singh, *Asian J. Res. Chem.* **2009**, *2*, 104.
- [156] A. M. Downs, X. Fan, C. Donsante, H. A. Jinnah, E. J. Hess, *Neurobiol. Dis.* **2019**, *125*, 115.
- [157] A. Giachetti, E. Giraldo, H. Ladinsky, E. Montagna, *Br. J. Pharmacol.* **1986**, *89*, 83.
- [158] M. K. Harris, N. Shneyder, A. Borazanci, E. Korniychuk, R. E. Kelley, A. Minagar, *Med. Clin. North Am.* **2009**, *93*, 371.
- [159] H. He, G. McKay, B. Wirshing, K. K. Midha, *J. Pharm. Sci.* **1995**, *84*, 561.
- [160] D. J. Lovejoy, *J. Chromatogr. A* **1971**, *57*, 137.
- [161] P. Kintz, B. Godelar, P. Mangin, A. J. Chaumont, A. A. Lugnier, *J. Anal. Toxicol.* **1989**, *13*, 47.
- [162] J. A. Owen, M. Sribney, J. S. Lawson, N. Delva, F. J. J. Letemendia, *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* **1989**, *494*, 135.

- [163] A. Ishii, M. Nishikawa, H. Seno, T. Kumazawa, K. Watanabe, O. Suzuki, *Japanese J. Forensic Toxicol.* **1994**, *12*, 241.
- [164] D. Patel, J. Patel, *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* **2010**, *4*, 85.
- [165] T. N. V. Pradas, M. Sivakumar, *Pharmazie* **1992**, *47*, 231.
- [166] K. R. Mahadik, H. Aggarwal, N. Kaul, *Indian Drugs* **2002**, *39*, 441.
- [167] V. Čápková, Y. Xu, Y. Hong Chen, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **1999**, *21*, 507.
- [168] V. Čápková, Y. Xu, *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* **2001**, *762*, 181.
- [169] S.-L. Yuan, X.-F. Li, X.-M. Jiang, H.-X. Zhang, S.-K. Zheng, *Chinese J. Anal. Chem.* **2013**, *41*, 49.
- [170] A. Borkar, S. Wate, *Indian J. Pharm. Sci.* **2010**, *72*, 265.
- [171] G. Vargas, J. Havel, L. Babáčková, J. Patočka, *J. Capill. Electrophor. Microchip Technol.* **1998**, *5*, 153.
- [172] H. Li, P. Wang, C. Li, H. Wang, H. Zhang, *Microchem. J.* **2008**, *89*, 34.
- [173] S. Chalavi, A. R. Fakhari, S. Nojavan, *J. Chromatogr. A* **2018**, *1567*, 211.
- [174] E. Papke, *Pharmazie* **1968**, *23*, 148.
- [175] G. Bozsai, G. Vastagh, *Pharm Zentralhalle Dtschl* **1964**, *103*, 403.
- [176] V. K. Gupta, S. Agarwal, B. Singhal, *Int. J. Electrochem. Sci.* **2011**, *6*, 3036.
- [177] V. K. Gupta, A. K. Singh, B. Gupta, *Anal. Chim. Acta* **2007**, *583*, 340.
- [178] M. H. Mashhadizadeh, S. Ramezani, S. Ebrahimi, *Sensors Actuators B Chem.* **2012**, *169*, 305.
- [179] B. J. Sanghavi, A. K. Srivastava, *Electrochim. Acta* **2010**, *55*, 8638.
- [180] R. Pauliukaite, R. Metelka, I. Švancara, A. Królicka, A. Bobrowski, K. Vytrás, E. Norkus, K. Kalcher, *Anal. Bioanal. Chem.* **2002**, *374*, 1155.
- [181] F. N. Comba, M. D. Rubianes, P. Herrasti, G. A. Rivas, *Sensors Actuators, B Chem.* **2010**, *149*, 306.
- [182] M. Khasanah, A. A. Widati, U. S. Handajani, M. Harsini, B. Ilmiah, I. D. Oktavia, *Indones. J. Chem.* **2020**, *20*, 1301.
- [183] S. Donmez, *Prep. Biochem. Biotechnol.* **2020**, *50*, 961.

- [184] M. Fallah, M. Rahimnejad, M. Asghary, M. Mashkour, *Anal. Methods* **2019**, *12*, 33.
- [185] J. Lin, Z. Wei, H. Zhang, M. Shao, *Biosens. Bioelectron.* **2013**, *41*, 342.
- [186] M. Rashedi, T. Alizadeh, *Anal. Chim. Acta* **2021**, *1186*, 339121.
- [187] G. A. Tığ, D. K. Zeybek, Ş. Pekyardımcı, *Chem. Pap.* **2016**, *70*, 695.
- [188] E. Canbay, İ. Yaşa, E. Akyılmaz, *Electroanalysis* **2021**, *33*, 2381.
- [189] E. S. D' Souza, J. G. Manjunatha, C. Raril, *Chem. Chem. Technol.* **2021**, *15*, 153.
- [190] N. Abd Azis, I. M. Isa, N. Hashim, M. S. Ahmad, S. N. A. M. Yazid, M. I. Saidin, S. M. Si, R. Zainul, A. Ulianas, M. Mawardi, et al., *Int. J. Electrochem. Sci.* **2020**, *15*, 9088.
- [191] R. Hernández, C. Vallés, A. M. Benito, W. K. Maser, F. Xavier Rius, J. Riu, *Biosens. Bioelectron.* **2014**, *54*, 553.
- [192] S. B. Hočevar, B. Ogorevc, *Talanta* **2007**, *74*, 405.
- [193] A. Nezamzadeh-Ejhieh, N. Masoudipour, *Anal. Chim. Acta* **2010**, *658*, 68.
- [194] A. Nezamzadeh-Ejhieh, Z. Nematollahi, *Electrochim. Acta* **2011**, *56*, 8334.
- [195] A. Nezamzadeh-Ejhieh, A. Esmaeilian, *Microporous Mesoporous Mater.* **2012**, *147*, 302.
- [196] M. N. Abbas, G. A. E. Mostafa, *Anal. Chim. Acta* **2003**, *478*, 329.
- [197] M. H. Mashhadizadeh, M. Talakesh, M. Peste, A. Momeni, H. Hamidian, M. Mazlum, *Electroanalysis* **2006**, *18*, 2174.
- [198] J. M. Flores-Álvarez, D. Cortés-Arriagada, J. Reyes-Gómez, Z. Gómez-Sandoval, J. C. Rojas-Montes, K. Pineda-Urbina, *J. Electroanal. Chem.* **2021**, 888, 115208.
- [199] M. Ghanei-Motlagh, C. Karami, M. A. Taher, S. J. Hosseini-Nasab, *RSC Adv.* **2016**, *6*, 89167.
- [200] Z. Koudelkova, T. Syrový, P. Ambrozova, Z. Moravec, L. Kubac, D. Hynek, L. Richtera, V. Adam, *Sensors* **2017**, *17*, 1832.
- [201] M. T. S. Escribano, J. R. Procopio, J. M. P. Macias, L. H. Hernandez, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **1989**, *37*, 107.

- [202] K. Koirala, J. H. Santos, A. L. Tan, M. A. Ali, A. H. Mirza, *Sens. Rev.* **2016**, *36*, 339.
- [203] N. Mouhamed, K. Cheikhou, G. E. M. Rokhy, D. M. Bagha, M.-D. C. Guèye, T. Tzedakis, *Am. J. Anal. Chem.* **2018**, *9*, 171.
- [204] H. Ashkenani, M. A. Taher, *Microchim. Acta* **2012**, *178*, 53.
- [205] B. L. Li, Z. L. Wu, C. H. Xiong, H. Q. Luo, N. B. Li, *Talanta* **2012**, *88*, 707.
- [206] S. Cheraghi, M. A. Taher, H. Fazelirad, *Microchim. Acta* **2013**, *180*, 1157.
- [207] I. Rutyna, M. Korolczuk, *Electroanalysis* **2014**, *26*, 2639.
- [208] K. Vytrás, E. Khaled, J. Ježková, H. N. A. Hassan, B. N. Barsoum, *Fresenius. J. Anal. Chem.* **2000**, *367*, 203.
- [209] G. A.-H. Mostafa, A. M. Homoda, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2008**, *81*, 257.
- [210] W. Huang, *Microchim. Acta* **2004**, *144*, 125.
- [211] H. Guo, Y. Li, X. Chen, L. Nie, N. He, *Sensors* **2005**, *5*, 284.
- [212] M. H. Mashhadizadeh, H. Khani, *Anal. Methods* **2010**, *2*, 24.
- [213] J. Đorđević, Z. Papp, V. Guzsány, I. Švancara, T. Trtić-Petrović, M. Purenović, K. Vytrás, *Sensors* **2012**, *12*, 148.
- [214] K. Prabhu, S. J. Malode, N. P. Shetti, *Environ. Technol. Innov.* **2021**, *23*, 101687.
- [215] N. A. Abdallah, H. F. Ibrahim, *Carbon Lett.* **2018**, *27*, 50.
- [216] T. A. Ali, G. G. Mohamed, A. Z. El-Sonbati, M. A. Diab, A. M. Elkfass, *Russ. J. Electrochem.* **2018**, *54*, 1081.
- [217] O. Vajdle, S. Šekuljica, V. Guzsány, L. Nagy, Z. Kónya, M. Avramov Ivić, D. Mijin, S. Petrović, J. Anojčić, *J. Electroanal. Chem.* **2020**, *873*, 114324.
- [218] A. F. Khorshid, Y. M. Issa, *Biosens. Bioelectron.* **2014**, *51*, 143.
- [219] E. Y. Frag, M. E. Mohamed, M. O. Elhassan, *J. Anal. Chem.* **2020**, *75*, 384.
- [220] A. A. E. Ahmed, M. A. Korany, M. M. Khalil, *Microchem. J.* **2020**, *157*, 104909.
- [221] M. Mostafa, G. Mohamed, M. Mohamed, E. Y. Frag, *Indian J. Chem.* **2020**, *59A*, 324.
- [222] N. V. Fares, P. M. Medhat, C. M. El Maraghy, S. Okeil, M. F. Ayad, *Chemosensors*



**2021**, 9, 52.

- [223] A. M. Abdel-Raouf, A. Elsonbaty, S. Abdulwahab, W. S. Hassan, M. S. Eissa, *Microchem. J.* **2021**, 165, 106185.
- [224] J. Radić, M. Buljac, B. Genorio, E. Gričar, M. Kolar, *Sensors* **2021**, 21, 2955.
- [225] H. T. Le, D. T. Tran, N. H. Kim, J. H. Lee, *J. Colloid Interface Sci.* **2021**, 583, 425.
- [226] J. Gao, J. Qin, J. Chang, H. Liu, Z.-S. Wu, L. Feng, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2020**, 12, 38674.
- [227] J. Xu, Y. Wang, S. Hu, *Microchim. Acta* **2017**, 184, 1.
- [228] J. Chen, W. De Zhang, J. S. Ye, *Electrochem. commun.* **2008**, 10, 1268.
- [229] M. Nosan, M. Löffler, I. Jerman, M. Kolar, I. Katsounaros, B. Genorio, *ACS Appl. Energy Mater.* **2021**, 4, 3593.
- [230] R. Sharma, N. Chadha, P. Saini, *Indian J. Pure Appl. Phys.* **2017**, 55, 625.
- [231] Z. Ereš, *Kem. Ind.* **2019**, 68, 137.
- [232] S. I. M. Zayed, *Anal. Sci.* **2004**, 20, 1043.
- [233] R. F. Aglan, M. M. Hamed, H. M. Saleh, *J. Anal. Sci. Technol.* **2019**, 10, 7.
- [234] A. Tamaddon, A. Asghari, *Anal. Bioanal. Electrochem.* **2018**, 10, 230.
- [235] R. M. Yaragatti, S. J. Malode, N. P. Shetti, D. S. Nayak, R. M. Kulkarni, S. B. Halbhavi, A. F. Dandin, D. C. Idli, S. S. Kalmani, V. A. Randewadi, *Mater. Today Proc.* **2019**, 18, 780.
- [236] S. M. Ghoreishi, M. Behpour, M. Mortazavi, A. Khoobi, *J. Mol. Liq.* **2016**, 215, 31.
- [237] A. Benvidi, S. Jahanbani, A. Akbari, H. R. Zare, *J. Electroanal. Chem.* **2015**, 758, 68.
- [238] E. De Rycke, C. Stove, P. Dubruel, S. De Saeger, N. Beloglazova, *Biosens. Bioelectron.* **2020**, 169, 112579.
- [239] S. M. Saadeh, H. M. A. Shawish, H. M. Dalloul, N. M. EL-Halabi, B. K. Daher, *Mater. Sci. Eng. C* **2012**, 32, 619.

- [240] R. Eugster, T. Rosatzin, B. Rusterholz, B. Aebersold, U. Pedrazza, D. Rüegg, A. Schmid, U. E. Spichiger, W. Simon, *Anal. Chim. Acta* **1994**, 289, 1.
- [241] K. Kalcher, J.-M. Kauffmann, J. Wang, I. Švancara, K. Vytrás, C. Neuhold, Z. Yang, *Electroanalysis* **1995**, 7, 5.
- [242] R. F. Dutra, K. A. Moreira, M. I. P. Oliveira, A. N. Araújo, M. C. B. S. Montenegro, J. L. L. Filho, V. L. Silva, *Electroanalysis* **2005**, 17, 701.
- [243] I. Švancara, K. Vytrás, K. Kalcher, A. Walcarius, J. Wang, *Electroanalysis* **2009**, 21, 7.

## ŽIVOTOPIS

Josip Radić je rođen 22. lipnja 1980. godine u Splitu gdje je pohađao Osnovnu školu „Trstenik“ pa potom i IV. gimnaziju Marko Marulić (smjer: prirodoslovno-matematički), u kojima je nagrađivan kao najbolji učenik generacije. Po dobivanju priznanja na državnom natjecanju, 1997. godine sudjelovao je na „8. međunarodnom natjecanju mladih europskih istraživača okoliša“ u Leipzigu na kojem je nagrađen njegov prezentirani rad. Preddiplomski sveučilišni studij (smjer: kemija) te diplomski sveučilišni studij kemije (smjer: organska kemija i biokemija) završio je na Kemijsko-tehnološkom fakultetu čime je stekao akademski naziv „magistar kemije“. U znak priznanja za izvanredne rezultate postignute tijekom studija, dobitnik je Dekanove nagrade u dva navrata.

U rujnu 2016. godine izabran je na radno mjesto I. vrste u suradničkom zvanju – asistent bez zasnivanja radnog odnosa iz znanstvenog područja: prirodne znanosti, znanstveno polje: kemija u Zavodu za analitičku kemiju (naslovno zvanje) pri Kemijsko-tehnološkom fakultetu u Splitu. U travnju 2017. godine zaposlen je na radno mjesto I. vrste u suradničkom zvanju – asistent iz znanstvenog područja: prirodne znanosti, znanstvenog polja: kemija na određeno vrijeme u punom radnom vremenu, u Zavodu za kemiju okoliša pri Kemijsko-tehnološkom fakultetu.

Temeljem navedenog sudjelovao je odnosno sudjeluje u nastavnom procesu sljedećih kolegija: Vježbe iz analiza realnih uzoraka, Vježbe iz organske kemije, Organska sinteza, Kemometrika, Organizacija rada i akreditacija laboratorija, Analitička instrumentacija, Kemija u farmakologiji, Vježbe iz kemije i zaštite zraka, Kemija materijala, Analitička kemija okoliša te Kemijska ekologija. Na istom fakultetu u prosincu 2017. godine upisao je poslijediplomski doktorski studij "Kemija mediteranskog okoliša" (smjer: modul 1).

U travnju 2018. godine te u razdobljima od listopada 2019. do ožujka 2020. godine odnosno od studenog 2021. do siječnja 2022. godine bio je na stručnom usavršavanju na Fakultetu za kemiju i kemijsku tehnologiju Sveučilišta u Ljubljani preko programa Erasmus+.

Bio je suradnik na studentskom projektu „Kemija eteričnog ulja mediteranskog bilja“ temeljem kojeg su studentima dodijeljene Pohvalnice dekana Kemijsko-tehnološkog fakulteta za najbolje ocijenjeni studentski projekt u području znanosti i

tehnologije, financiran sredstvima ostvarenim od upisnina studenta Sveučilišta u Splitu u akademskoj godini 2017/18 te za osvojenu nagradu za najbolji znanstveni rad na Prvom kongresu tehnoloških fakulteta održanom u Banjoj Luci u listopadu 2018. godine.

Kontinuirano bavljenje znanstvenom djelatnošću rezultiralo je objavom četiri znanstvena rada u časopisima indeksiranim u *Web of Science Core Collection*. Sudjelovao je na jednom međunarodnom, te tri hrvatska znanstvena skupa s međunarodnim sudjelovanjem, s ukupno pet posterskih priopćenja i jednim usmenim izlaganjem. Kao neposredni voditelj sudjelovao je u izradi deset završnih te osam diplomskih radova.

**Popis znanstvenih radova u časopisima koje kategorizira *Web of Science Core Collection*:**

1. Bralić, Marija; Prkić, Ante; **Radić, Josip**; Pleslić, Ivana, Preparation of Phosphate Ion-Selective Membrane Based on Silver Salts Mixed with PTFE or Carbon Nanotubes // *International Journal of Electrochemical Science*, 13 (2018), 2; 1390-1399 doi:10.20964/2018.02.49
2. **Radić, Josip**; Bralić, Marija; Kolar, Mitja; Genorio, Boštjan; Prkić, Ante; Mitar, Ivana, Development of the New Fluoride Ion-Selective Electrode Modified with Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Nanoparticles // *Molecules*, 25 (2020), 21; 5213, 13 doi:10.3390/molecules25215213
3. **Radić, Josip**; Buljac, Maša; Genorio, Boštjan; Gričar, Ema; Kolar, Mitja, A Novel Reduced Graphene Oxide Modified Carbon Paste Electrode for Potentiometric Determination of Trihexyphenidyl Hydrochloride in Pharmaceutical and Biological Matrices // *Sensors*, 21 (2021), 9; 2955, 14 doi:10.3390/s21092955
4. Buljac, Maša; **Radić, Josip**; Buzuk, Marijo; Škugor Rončević, Ivana; Vladislavić, Nives; Krivić, Denis; Marijanović, Ana, Application of the Stripping Voltammetry Method for the Determination of Copper and Lead Hyperaccumulation Potential in *Lunaria annua* L. // *Chemosensors*, 10 (2022), 52, 11 doi:10.3390/chemosensors10020052

**Popis sudjelovanja na domaćim znanstvenim i stručnim skupovima:**

1. **Radić, Josip**; Bačić, Marko; Buljac, Maša; Prkić, Ante, Fluorid ionsko-selektivna elektroda s različitim membranama - odzivne karakteristike // *Book of Abstracts*,

- XII Meeting of Young Chemical Engineers ; XII. susret mladih kemijskih inženjera, Knjiga sažetaka / Vrsaljko, Domagoj; Dejanović, Igor; Žižek, Krunoslav (ur.). Zagreb, 2018. str. 53-53 (predavanje, domaća recenzija, sažetak, znanstveni)
2. Glumac, Mateo; Jažo, Zvonimir; **Radić, Josip**; Granić, Glorija; Folo, Franka; Drventić, Ivana, *Salvia officinalis* L. – mala tvornica spojeva. Varijacije među jedinkama // 26. hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera, Knjiga sažetaka / Galić, Nives; Rogošić, Marko (ur.). Zagreb: Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehnologa, 2019. str. 91-91 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
  3. **Radić, Josip**; Munitić, Ivana; Budić-Leto, Irena; Bralić, Marija, Potenciometrijsko određivanje fluorida u vinima s područja Dalmacije i statistička analiza // 26. hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera, Knjiga sažetaka / Galić, Nives; Rogošić, Marko (ur.). Zagreb: Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehnologa, 2019. str. 101-101 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
  4. Jažo, Zvonimir; Glumac, Mateo; **Radić, Josip**, Analitička analiza tla na području Dalmacije // 26. hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera, Knjiga sažetaka / Galić, Nives; Rogošić, Marko (ur.). Zagreb: Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehnologa, 2019. str. 161-161 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)
  5. **Radić, Josip**; Bralić, Marija; Buljac, Maša; Šola, Marina, Potentiometric response characteristics of carbon paste electrode for maprotiline determination// 27. hrvatski skup kemičara i kemijskih inženjera, Knjiga sažetaka / Marković, Dean; Meštrović, Ernest; Namjesnik, Danijel; Tomašić, Vesna. (ur.). Zagreb: Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehnologa, 2021. str. 102-102 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)

#### **Popis sudjelovanja na međunarodnim znanstvenim skupovima:**

1. **Radić, Josip**; Bek, Eva; Grbelja, Iva; Bralić, Marija; Prkić, Ante; Mitar, Ivana, Priprava novih membrana za fluorid ionsko-selektivnu elektrodu // 17. Ružičkinci dani "Danas znanost-sutra industrija" / Tomas, Srećko; Ačkar, Đurđica (ur.). Osijek i Zagreb: Sveučilište Josipa Juraja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Osijek i Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehnologa, 2018. str. 28-28 (poster, međunarodna recenzija, sažetak, znanstveni)