

# Elektrokemijsko ponašanje cisteina na kompozitnim elektrodama s kserogel - ugljikovim nanočesticama-AgCuS kompozitima kao osjetilnim materijalom

---

Jerončić, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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:167:847256>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-05**

Repository / Repozitorij:

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



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

**ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE CISTEINA NA KOMPOZITNIM  
ELEKTRODAMA S KSEROGEL - UGLJIKOVIM NANOČESTICAMA-AgCuS  
KOMPOZITIMA KAO OSJETILNIM MATERIJALOM**

**DIPLOMSKI RAD**

**ANA JERONČIĆ**  
**MATIČNI BROJ: 89**

**Split, studeni 2019.**



**SVEUČILISTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**  
**DIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE**  
**ORGANSKA KEMIJA I BIOKEMIJA**

**ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE CISTEINA NA KOMPOZITNIM**  
**ELEKTRODAMA S KSEROGEL - UGLJIKOVIM NANOČESTICAMA-AgCuS**  
**KOMPOZITIMA KAO OSJETILNIM MATERIJALOM**

**DIPLOMSKI RAD**

**ANA JERONČIĆ**  
**MATIČNI BROJ: 89**

**Split, studeni 2019.**

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

**ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR OF CYSTEINE ON COMPOSITE  
ELECTRODES WITH XEROGEL -CARBON NANOPARTICLES-AgCuS  
COMPOSITES AS SENSITIVE MATERIAL**

**DIPLOMA THESIS**

**ANA JERONČIĆ**  
**PARENT NUMBER: 89**

**Split, November 2019.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

### DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu  
Kemijско-tehnološki fakultet u Splitu  
Diplomski studij kemije

**Znanstveno područje:** Prirodne znanosti

**Znanstveno polje:** Kemija

**Tema rada** je prihvaćena na 19. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijско-tehnološkog fakulteta

**Mentor:** doc. dr. sc. Maša Buljac

**Pomoć pri izradi:** izv. prof. dr. sc. Marijo Buzuk

### ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE CISTEINA NA KOMPOZITNIM ELEKTRODAMA S KSEROGEL – UGLJIKOVIM NANOČESTICAMA-AgCuS KOMPOZITIMA KAO OSJETILNIM MATERIJALOM

Ana Jerončić, 89

#### Sažetak:

Elektrokemijsko ponašanje kompozitnih elektroda sa kserogel ugljikovim nanočesticama i ternarnim sulfidom AgCuS, kao osjetilnim elementom je ispitivano u ovom radu, u svrhu elektrokemijskog određivanja cisteina. Kserogelni kompoziti razvijeni na ovaj način su upotrijebljeni kao osjetilni elementi u poli(vinil) klorid matricama za modificiranje površine elektrode od staklastog ugljika. Mjerenja su vršena pri trima pH vrijednostima (pH 5, pH 7 i pH 9).

Elektroanalitičko određivanje cisteina je rađeno metodama cikličke voltometrije i amperometrije na kompozitnim elektrodama s različitim udjelima kompozita (10, 30 i 50 mg), pri čemu je uočena elektroaktivnost cisteina kako na anodnim tako i na katodnim potencijalima, na elektrodi koja je modificirana s kserogelom koji je sadržavao 30 mg smjese MWCNT-AgCuS, pri pH 9. Elektrokemijsko ponašanje ove elektrode je praćeno pri različitim uvjetima čuvanja elektrode (kondicionirana i ne kondicionirana), te je uočena ovisnost elektrokemijskog ponašanja o načinu čuvanja elektrode. Dobiveni rezultati su ukazali na potrebu za dodatnim istraživanjima, kako samog sastava elektrode, tako i uvjeta kondicioniranja te odabira pogodne metode i njenih parametara, za postizanje zadanog cilja.

**Ključne riječi:** elektrokemijsko ponašanje, cistein, kserogel, ugljikove nanočestice, ciklička voltometrija

**Rad sadrži:** 56 stranica, 34 slike, 4 tablice, 0 priloga, 28 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Sastav Povjerenstva za obranu:**

1. izv. prof. dr. sc. Marijo Buzuk
2. doc. dr. sc. Ivana Škugor Rončević
3. doc. dr. sc. Maša Buljac

Predsjednik  
Član  
Mentor

**Datum obrane:** 27.11.2019.

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

## BASIC DOCUMENTATION CARD

## DIPLOMA THESIS

**University of Split**  
**Faculty of Chemistry and Technology Split**  
**Study**

**Scientific area:** Natural Sciences

**Scientific field:** Chemistry

**Thesis subject:** was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 19

**Mentor:** Maša Buljac – PhD, assistant prof.

**Technical assistance:** Marijo Buzuk, associate prof.

### **ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR OF CYSTEINE ON COMPOSITE ELEKTRODES WITH XEROGEL – CARBON NANOPARTICLES-AgCuS COMPOSITES AS SENSITIVE MATERIAL**

**Ana Jerončić, 89**

#### **Abstract:**

The electrochemical behavior of composite electrodes with xerogel carbon nanoparticles and ternary sulfide AgCuS, as a sensing element, was investigated in this paper for the purpose of electrochemical determination of cysteine. The xerogel composites developed in this way have been used as sensing elements in poly(vinyl) chloride matrices to modify the surface of a glassy carbon electrode. Measurements were made at three pH values (pH 5, pH 7 and pH 9).

Electroanalytical determination of cysteine was performed by cyclic voltammetry and amperometry methods on composite electrodes with different proportions of composites (10, 30 and 50 mg), whereby cysteine electroactivity was observed at both anode and cathode potentials, at an electrode modified with xerogel contained 30 mg of MWCNT-AgCuS mixture, at pH 9. The electrochemical behavior of this electrode was monitored under different electrode storage conditions (conditioned and non-conditioned), and the dependence of the electrochemical behavior on the electrode storage method was observed. The obtained results indicated the need for additional research, both the composition of the electrode itself and the conditioning conditions, and the selection of a suitable method and its parameters, in order to achieve the desired goal.

**Keywords:** electrochemical behaviour, cysteine, xerogel, carbon nanoparticles, cyclic voltammetry

**Thesis contains:** 56 pages, 34 figures, 4 tables, 0 supplements, 28 references

**Original in:** Croatian

#### **Defence committee:**

1. Marijo Buzuk, Phd associate prof.
2. Ivana Škugor Rončević, Phd assistant prof.
3. Maša Buljac, Phd assistant prof.

Chair person  
Member  
Supervisor

**Defence date:** November 27. 2019.

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

*Diplomski rad je izrađen u Zavodu za kemiju okoliša Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Maše Buljac u razdoblju od svibnja do rujna 2019. godine.*



*Zahvaljujem se svojoj mentorici doc. dr. sc. Maši Buljac na stručnim savjetima te nesebičnoj pomoći tijekom izrade ovog rada.*

*Također se zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Mariju Buzuku na stručnoj pomoći te uputama i savjetima koji su mi pomogli tijekom izrade diplomskog rada.*

*Hvala kolegici Luciji Radaš na pomoći i potpori tijekom izrade eksperimentalnog dijela rada.*

*Posebnu zahvalu želim uputiti svom dečku Duji koji me je podržavao i bio potpora tokom učenja i pisanja diplomskog rada.*

*Na kraju najveću zahvalu za ono što sam postigla pripisujem svojim roditeljima koji su mi omogućili da budem tu gdje jesam, a osobito sam im zahvalna na povjerenju i potpori koju su mi pružili tijekom studija.*

**ZADATAK:**

1. Razvijanje sol-gel kompozita u kojemu će biti inkorporirane ugljikove nanočestice i osjetilni materijal na bazi ternarnog sulfida AgCuS.
2. Ugrađivanje razvijenog kompozita u osjetilni sloj s matricom od poli(vinil) klorida te modificiranje radne elektrode od staklastog ugljika.
3. Utvrđivanje elektrokemijskog ponašanja nemodificirane i modificiranih (različitom udjelom kompozita) elektrode/a pri pH 5, pH 7 i pH 9, u prisutnosti cisteina.
4. Odabiranje i optimiranje najpogodnije elektrokemijske metode na osnovu dobivenih rezultata, za elektroanalitičko određivanje cisteina.

## SAŽETAK:

Elektrokemijsko ponašanje kompozitnih elektroda sa kserogel ugljikovim nanočesticama i ternarnim sulfidom AgCuS, kao osjetilnim elementom je ispitivano u ovom radu, u svrhu elektrokemijskog određivanja cisteina. Kserogelni kompoziti razvijeni na ovaj način su upotrijebljeni kao osjetilni elementi u poli(vinil) klorid matricama za modificiranje površine elektrode od staklastog ugljika. Mjerenja su vršena pri trima pH vrijednostima (pH 5, pH 7 i pH 9).

Elektroanalitičko određivanje cisteina je rađeno metodama cikličke voltametrije na kompozitnim elektrodama s različitim udjelima kompozita (10, 30 i 50 mg), pri čemu je uočena elektroaktivnost cisteina kako na anodnim tako i na katodnim potencijalima, na elektrodi koja je modificirana s kserogelom koji je sadržavao 30 mg smjese MWCNT-AgCuS, pri pH 9. Elektrokemijsko ponašanje ove elektrode je praćeno pri različitim uvjetima čuvanja elektrode (kondicionirana i ne kondicionirana), te je uočena ovisnost elektrokemijskog ponašanja o načinu čuvanja elektrode. Dobiveni rezultati su ukazali na potrebu za dodatnim istraživanjima, kako samog sastava elektrode, tako i uvjeta kondicioniranja te odabira pogodne metode i njenih parametara, za postizanje zadanog cilja.

**Ključne riječi:** elektrokemijsko ponašanje, cistein, kserogel, ugljikove nanočestice, ciklička voltametrija

**ABSTRACT:**

The electrochemical behavior of composite electrodes with xerogel carbon nanoparticles and ternary sulfide AgCuS, as a sensing element, was investigated in this paper for the purpose of electrochemical determination of cysteine. The xerogel composites developed in this way have been used as sensing elements in poly(vinyl) chloride matrices to modify the surface of a glassy carbon electrode. Measurements were made at three pH values (pH 5, pH 7 and pH 9).

Electroanalytical determination of cysteine was performed by cyclic voltammetry methods on composite electrodes with different proportions of composites (10, 30 and 50 mg), whereby cysteine electroactivity was observed at both anode and cathode potentials, at an electrode modified with xerogel contained 30 mg of MWCNT-AgCuS mixture, at pH 9. The electrochemical behavior of this electrode was monitored under different electrode storage conditions (conditioned and non-conditioned), and the dependence of the electrochemical behavior on the electrode storage method was observed. The obtained results indicated the need for additional research, both the composition of the electrode itself and the conditioning conditions, and the selection of a suitable method and its parameters, in order to achieve the desired goal.

**Keywords:** electrochemical behaviour, cysteine, xerogel, carbon nanoparticles, cyclic voltammetry

## SADRŽAJ:

|   |    |
|---|----|
| <b>1. OPĆI DIO</b> .....  | 1  |
| 1.1. U središtu radnje – cistein .....  | 3  |
| 1.1.1. Trojaki karakter – nukleofilnost, redoks aktivnost i vezanje metala..... | 4  |
| 1.2. Srebro-bakrovi sulfidi .....   | 5  |
| 1.3. Tioli i srebro-bakrovi sulfidi ili interakcija s $\text{Cu}^{2+}$ .....    | 6  |
| 1.4. Sol-gel postupak.....  | 8  |
| 1.4.1. Prednosti sol-gel postupka .....   | 11 |
| 1.4.2. Nedostaci sol-gel postupka .....   | 11 |
| 1.5. Ugljikove nanocjevčice .....   | 12 |
| 1.6. Polimerna matrica .....  | 13 |
| 1.6.1. PVC.....   | 13 |
| 1.7. Elektroanalitičke metode.....  | 13 |
| 1.7.1. Voltometrija.....  | 15 |
| 1.7.2. Ciklička voltometrija.....   | 15 |
| 1.8. Elektrode .....  | 16 |
| 1.8.1. Radna elektroda - elektroda od staklastog ugljika .....                  | 16 |
| 1.8.2. Referentna elektroda - srebro/srebrov klorid elektroda.....              | 17 |
| 1.8.3. Protuelektroda - platinska pločica .....                                 | 18 |
| <b>2. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....   | 19 |
| 2.1. Priprava otopina .....   | 20 |
| 2.1.1. Priprava otopine cisteina .....  | 20 |
| 2.1.2. Priprava otopine $\text{KNO}_3$ .....                                    | 21 |
| 2.1.3. Priprava otopine $\text{NaOH}$ .....                                     | 21 |
| 2.1.4. Priprava otopine $\text{H}_2\text{SO}_4$ .....                           | 21 |
| 2.1.5. Priprava otopine $\text{CH}_3\text{COONa}$ .....                         | 21 |
| 2.1.6. Priprava otopine $\text{CH}_3\text{COOH}$ .....                          | 21 |

|  |           |
|--|-----------|
| 2.1.7. Priprava otopine $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ .....                                      | 21        |
| 2.1.8. Priprava otopine $\text{NH}_4\text{Cl}$ .....   | 22        |
| 2.1.9. Priprava otopine acetatnog pufera.....  | 22        |
| 2.1.10. Priprava otopine fosfatnog pufera .....  | 22        |
| 2.1.11. Priprava otopine amonijakalnog pufera .....  | 22        |
| 2.1.12. Priprava osnovnog elektrolita .....  | 22        |
| 2.1.13. Priprava sol-gela.....   | 22        |
| 2.1.14. Priprava kompozita .....   | 22        |
| 2.2. Aparatura i elektrodni materijal .....  | 23        |
| 2.2.1. Uređaj za elektrokemijska mjerenja.....   | 23        |
| 2.2.2. Elektrokemijska ćelija.....   | 23        |
| 2.2.3. Referentna elektroda i protuelektroda .....   | 24        |
| 2.2.4. Priprema radne elektrode .....  | 25        |
| 2.2.5. Modifikacija radne elektrode .....  | 25        |
| <b>3. REZULTATI I RASPRAVA.....</b>  | <b>27</b> |
| 3.1. Elektrokemijska ispitivanja-ciklička voltometrija.....                                  | 28        |
| 3.1.1. Elektrokemijsko ponašanje nGCE (nemodificirane GCE).....                              | 28        |
| 3.1.2. Utjecaj dodatka cisteina na CV u različitim puferima za nGCE .....                    | 30        |
| 3.1.3. Utjecaj dodatka cisteina na CV u različitim puferima za elektrodu MWCNT-10.32         |           |
| 3.1.4. Utjecaj dodatka cisteina na CV u različitim puferima za elektrodu MWCNT-3...34        |           |
| 3.1.5. Utjecaj dodatka cisteina na CV u različitim puferima za elektrodu MWCNT-50.36         |           |
| 3.1.6. Utjecaj dodatka cisteina na CV u različitim puferima za elektrodu MWCNT-AgCuS-10..... | 38        |
| 3.1.7. Utjecaj dodatka cisteina na CV u različitim puferima za elektrodu MWCNT-AgCuS-30..... | 39        |
| 3.1.8. Utjecaj miješanja na CV pri pH 9 za elektrodu MWCNT-AgCuS-30 .....                    | 42        |
| 3.1.9. Utjecaj posmika na CV pri pH 9 za elektrodu MWCNT-AgCuS-30.....                       | 43        |
| 3.1.10. Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 9 za elektrodu MWCNT-AgCuS-30.....             | 44        |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.1.11. Utjecaj miješanja na CV pri pH 9 za elektrodu MWCNT-AgCuS-30 .....                                       | 46        |
| 3.1.12. Ispitivanje reproducibilnosti rezultata utjecaja posmika na CV pri pH 9 za elektrodu MWCNT-AgCuS-30..... | 47        |
| 3.1.13. Utjecaj čuvanja elektrode na suhom MWCNT-AgCuS-30 na CV snimljene pri pH 9 u prisutnosti cisteina.....   | 48        |
| 3.1.14. Utjecaj miješanja na CV pri pH 9 za elektrodu MWCNT-AgCuS-30 .....                                       | 49        |
| 3.1.15. Utjecaj posmika na CV pri pH 9 za elektrodu MWCNT-AgCuS-30.....  | 50        |
| 3.1.16. Utjecaj kondicioniranja elektrode MWCNT-AgCuS-30 na CV u prisutnosti cisteina pH 9.....                  | 51        |
| 3.1.17. Utjecaj posmika na CV pri pH 9 za elektrodu MWCNT-AgCuS-30.....  | 52        |
| <b>4. ZAKLJUČAK.....</b>   | <b>53</b> |
| <b>5. LITERATURA .....</b>   | <b>54</b> |

## UVOD

Cistein (Cys, C) je jedna od neesencijalnih aminokiselina. Jedna je od 20 aminokiselina koje ulaze u sastav proteina te jedina, uz metionin koja ima sumpor u bočnom ogranku. Metalni kompleksi cisteina su iznimno važni zbog svog mogućeg terapijskog učinka na toksične teške metale. Svojestvo kompleksiranja cisteina s metalima se može iskoristiti u svrhu određivanja cisteina različitim metodama. Elektrokemijske metode nude veliki izbor mogućnosti za elektroanalitičko određivanje cisteina. Cistein koji je elektroaktivna vrsta podložan je oksidacijskim i redukcijskim procesima na čvrstofaznim elektrodama. Kao elektrode koje nude velik potencijal za elektroanalitičko određivanje cisteina, mogu biti korištene kristalne elektrode srebro-bakrovih sulfida. Cikličkom voltametrijom mogu se mjeriti elektrokemijski procesi cisteina na elektrodnim površinama.

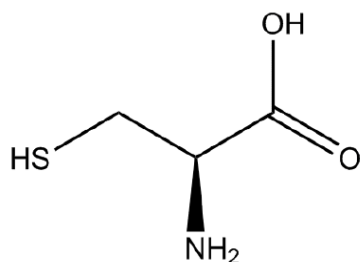
U ovom radu je predstavljen potencijal čvrstofaznih elektroda temeljenih na srebro-bakrovim sulfidima za elektrokatalitičko ponašanje prema cisteinu.



## **1. OPĆI DIO**

### 1.1. U središtu radnje – cistein

Cistein (Cys, C) je neesencijalna aminokiselina molekulske formule  $C_3H_7NO_2S$  i jedna od 20 aminokiselina koje ulaze u sastav proteina. Sadrži sumpor u bočnom ogranku (kao i metionin). Poput svih ostalih proteinogenih aminokiselina, cistein sadrži  $\alpha$ -ugljikov atom, koji ne samo da sadrži amino ( $-NH_2$ ) i karboksilnu ( $-COOH$ ) skupinu, nego još dvije komponente od kojih je jedna vodik, a druga alkilna skupina (R-), koja se naziva i bočnim ogrankom, a po kojoj se aminokiseline raspoznaju. Pri neutralnoj pH vrijednosti, nalazi se u obliku „zwitteriona“, što ukazuje na to da je amino skupina protonirana ( $-NH_3^+$ ), a karboksilna skupina deprotonirana ( $-COO^-$ ) tako da je ukupni naboj 0. Četiri različite skupine, koje su vezane za  $\alpha$ -C atom, čine ga kiralnom molekulom, što znači da postoji u dva zrcalno simetrična oblika L-izomer i D-izomer. Međutim, kao i kod drugih aminokiselina, samo L-cistein ulazi u sastav proteina<sup>[1]</sup>.



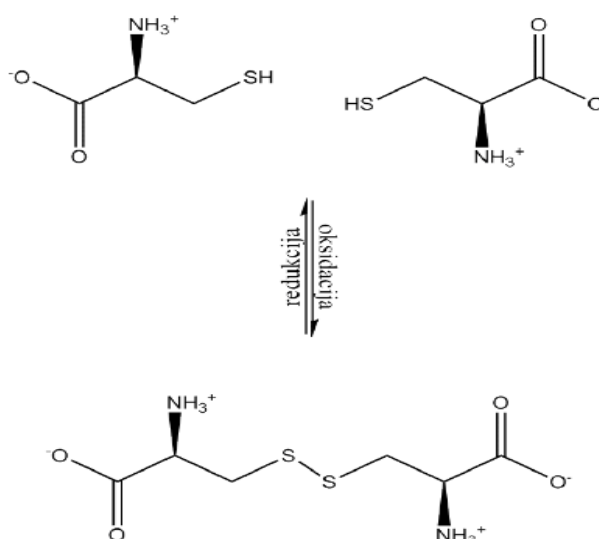
*Slika 1.* Strukturna formula L-cisteina

Cistein u svome bočnom lancu ima sulfhidrilnu skupinu ( $-SH$ ), pa se u ovisnosti o pH okoline može javiti u obliku tiola (RSH) ili tiolata ( $RS^-$ ). Budući da ima tri skupine koje se mogu ionizirati i vrlo su blizu jedna drugoj, on ima mogućnost sudjelovanja u mnogobrojnim biokemijskim reakcijama i procesima. Bočni ogranak cisteina, zbog tiolne skupine izrazito je polaran i neutralan, a ona može funkcionirati kao donator i akceptor vodikove veze, pa cistein tako može s vodom tvoriti vodikove mostove, što ga čini topljivijim u vodi od drugih, nepolarnih pripadnika ove vrste spojeva<sup>[2,3]</sup>.

**Tablica 1.** Prikaz pK vrijednosti funkcijskih skupina cisteina<sup>[4]</sup>

| <i>Aminokiselina cistein</i>                   |      |
|--|------|
| pK1 ( $\alpha$ -COOH)                          | 1,92 |
| pK2 ( $\alpha$ -NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> ) | 10,8 |
| pK3 (R-skupina)                                | 8,3  |

Tiolna skupina cisteina ima nukleofilni karakter i lako ju je oksidirati. Zahvaljujući njoj, on je vrlo reaktivan i ima sposobnost tvorbe intramolekulskih i intermolekulskih disulfidnih veza. Tako ima posebnu ulogu u stabilizaciji strukture izvanstaničnih proteina i blagom oksidacijom lako prelazi u dimer tvoreći kovalentne disulfidne mostove, dok se blagom redukcijom proces može obrnuti<sup>[5]</sup>.

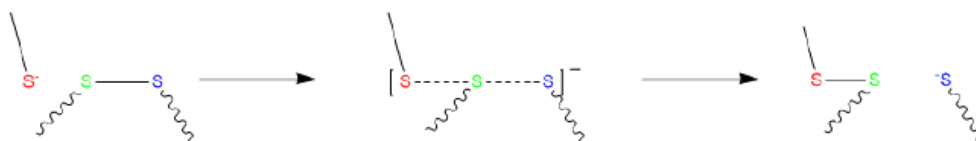


**Slika 2.** Nastanak dimera cistina formiranjem disulfidne veze između dvije molekule cisteina (zwitterion oblik)

### 1.1.1. Trojaki karakter – nukleofilnost, redoks aktivnost i vezanje metala

Nukleofilni karakter cisteina se očituje u njegovoj sposobnosti da katalizira reakcije hidrolize. Hidrolitičkim enzimima je potreban nukleofil kako bi mogli napasti, a potom i pocijepati ciljanu (estersku ili amidnu) vezu. Ono što ga čini posebnim je to što, iako je sredstvo za hidrolizu, i dalje je redoks-osjetljiv, što znači da njegova katalitička aktivnost može biti izgubljena prilikom oksidacije. Nukleofilni karakter

cisteina uočavamo u srži reakcija tiol-disulfidne zamjene. To su posebne reakcije supstitucije kod kojih napad tiolata na  $-S-S-$  vezu disulfida uzrokuje redoks reakciju.



**Slika 3.** Shematski prikaz tiol-disulfidne zamjene s međuproduktom

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

Biokemijski značaj ove vrste unutarstaničnih redoks procesa još je važniji kod glutation/glutation disulfid redoks para, GSH/GSSG koji postoji u većini ljudskih stanica u citosolnim koncentracijama od oko 10 mM, dok se nijedan drugi redoks sustav na bazi metalnih iona ne pojavljuje u tako visokim koncentracijama u ljudskim stanicama. U takvim sustavima ne može se postići učinkovitost redoks djelovanja, a metalni ioni nemaju takva svojstva da daju sumporu aktivnu ulogu u odgovoru na redoks promjene. GSH/GSSG par tvori glavnu sastavnicu staničnog redoks puferirajućeg sustava i na taj način održava redukcijski, negativni unutarstanični potencijal i ujedno reagira s cisteinskim reziduama u proteinima i enzimima<sup>[6]</sup>. Između ostalog, tiolna skupina cisteina ima sposobnost koordinacije iona metala bakra, željeza, cinka i kadmija. To svojstvo predstavlja osnovu uloge cisteina u strukturi proteina, zajedno s disulfidnim vezama, elektrostatskim interakcijama i vodikovim vezama. Međutim, uloga elektrostatskih interakcija i vodikovih veza u strukturi proteina je skoro zanemarivo mala u odnosu na onu koju imaju disulfidni mostovi i kompleksi metala. Metalni kompleksi cisteina su posebno važni upravo zbog svog potencijalnog terapijskog djelovanja na toksične teške metale. Cistein posjeduje tri moguća koordinacijska mjesta za vezanje metala: S, N i O. Sva tri mjesta mogu koordinirati Pb, Cd, Co, Cr i Mo, ali samo S i N mogu koordinirati Cu, Mo, Sn ili Hg.

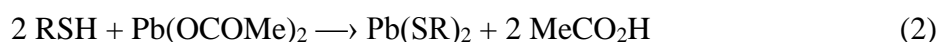
## 1.2. Srebro-bakrovi sulfidi

Do sada je poznato da se u procesima ko-precipitacije, pored jalpaita, mogu formirati i drugi ternarni spojevi. Na elektroaktivnim materijalima prisustvo ovih

ternarnih spojeva može otežati interpretaciju i razumijevanje odziva elektrode. Međutim, dostupan je ograničen broj informacija u vezi s elektrodama koje se koriste za određivanje  $\text{Cu}^{2+}$  iona, a koje su temeljene na drugim srebro-bakrovim spojevima, pripremljene simultanim taloženjem pomiješanih soli metala s  $\text{Na}_2\text{S}$  pri različitim molnim omjerima. Promatranjem elektrokemijskih svojstava i ograničenja potenciometrijskih osobina na ovim elektrodama može biti vrlo korisno pri razumijevanju odzivnog mehanizma te porijekla potonjih ograničenja. Tehnike poput spektrofotometrije i potenciometrije korištene su pri karakterizaciji  $\text{Cu}^{2+}$  ion-selektivnih elektroda, koje su pripravljene od različitih elektroaktivnih materijala. One su pripremljene koprecipitacijom pomiješanih iona metala ( $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ) i  $\text{S}^{2-}$  (iz  $\text{Na}_2\text{S}$ ) u različitim molnim omjerima (1:0,5; 1:1; 1:1,8)<sup>[7]</sup>.

### 1.3. Tioli i srebro-bakrovi sulfidi ili interakcija s $\text{Cu}^{2+}$

Tioli (RSH) su sumporovi analozi alkohola ili fenola kod kojih je kisikov atom hidroksilne skupine zamijenjen atomom sumpora. Za tiole bi se moglo reći da su derivati sumporovodika ( $\text{H}_2\text{S}$ ), kao što se za alkohole može reći da su derivati vode. Hlapljivi tioli su neugodna mirisa koji je veoma sličan mirisu sumporovodika. Za razliku od alkohola, oni tvore netopljive soli s teškim metalima poput žive i olova. Odatle i zastarjeli naziv *merkaptaniod* latinskog *mercuriumcaptans*, što doslovce prevedeno znači „lovljenje žive“. Danas se pri nomenklaturi spojeva preferira naziv tiol, iako se u nekim slučajevima i dalje koristi prefiks „merkpto-“.



#### **Slika 4.** Prikaz reakcija teških metala s tiolima

Ove reakcije ukazuju na vrlo visoku toksičnost žive i olova, jer u živih organizama oni reagiraju s vitalnim staničnim enzimima koji sadrže tiolne (sulfhidrilne) ostatke trujućí domaćina.

Zahvaljujući izvanrednoj reaktivnosti sulfhidrilne skupine cisteina odnosit ćemo se prema njemu kao prema tiolu. Visoka reaktivnost anionskog sumpora čini cistein vrlo osjetljivim na razne oksidirajuće reagense, što mu daje mogućnost da s njima tvori mnoge oksidirane vrste te da bude sudionik mnogih fizioloških funkcija. Polazeći od

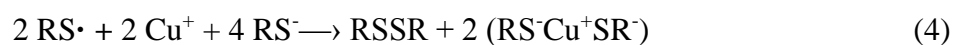
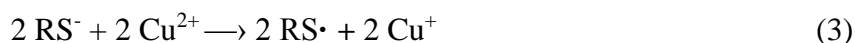
stvaranja prenosnica koje stabiliziraju strukturu proteina, preko velike nukleofilne moći u aktivnim mjestima enzima te djelovanja pri redoks signaliziranju na način da se, budući da je sumpor u sulfhidrilnoj skupini u maksimalnom negativnom stupnju oksidacije, prevođenjem u oksidirani oblik (reverzibilnim ili ireverzibilnim) cistein koji se ponaša kao prekidač koji regulira katalitička svojstva enzima, može se uvidjeti tek dio šarolike lepeze njegove fiziološke uloge. Proteini koji ovise o njemu usko su povezani s neurodegenerativnim procesima. Nužno je da se oni nalaze u prikladnoj redoks okolini, što bi fiziološki uvjeti i bili, jer se tada tiolni bočni lanac nalazi u deprotoniranom obliku te ovi proteini posjeduju sposobnost redoks kontrole kod neurodegenerativnih bolesti. Pored toga, zamijećena su njegova antioksidacijska svojstva u izvanstaničnom okolišu što mu i omogućuje da bude glavna komponenta raznih fizioloških antioksidativnih sustava. Nadalje, vrlo važnu ulogu ima u proizvodnji reaktivnih sumporovih vrsta (RSS, eng. *Reactive sulphur species*)<sup>[8]</sup>.

Bakar kao prijelazni metal i mikronutrijent ulazi u sastav nekih proteina koji sudjeluju u prijenosu elektrona, vezanju kisika ili staničnom disanju, on ima i funkciju kofaktora enzima koji su ključni u respiracijskim procesima te ima ulogu u uklanjanju reaktivnih kisikovih vrsta (ROS, eng. *Reactive oxygen species*). Kako se bakrovi ioni ( $\text{Cu}^+$  i  $\text{Cu}^{2+}$ ) mogu pretvarati jedan u drugi, sudjeluju u neenzimskim redoks procesima tako što mijenjaju unutar stanični redoks potencijal. Bakrovi ioni utječu na nastanak reaktivnih kisikovih vrsta (ROS), pa tako i razinu oksidativnog stresa na način da, uz prisustvo kisika, stimuliraju katalitičku oksidaciju biomolekula.

Istraživanja su pokazala da tioli podliježu samooksidaciji pri aerobnim uvjetima, koja je katalizirana malim količinama metala, uz nastanak međuprodukta kojim je reakcija olakšana. Također, poznato je da je oksidacija cisteina katalizirana cistinom uz nastanak cistein-cistin kompleksa te da je oksidacija tiola metalima moguća čak i pri anaerobnim uvjetima<sup>[9]</sup>.

Kada je bakar prisutan kao  $\text{Cu}^{2+}$  ion, može stupiti u interakciju s mnogim tiolima koji se nalaze u stanicama, među kojima su, pred ostalih, cistein te reducirani glutation (GSH). Interakcija  $\text{Cu}^{2+}$  iona s bilo kojim od tiola dovodi do stehiometrijskog formiranja  $\text{Cu}^+$  iona. Kada se tioli nađu u suvišku, oni imaju sposobnost vezanja na  $\text{Cu}^+$  ione te tvore odgovarajuće  $\text{Cu}^+$ -tiol komplekse.

Raspad cisteina u prisustvu  $\text{Cu}^{2+}$  i  $\text{Cu}^+$  može se prikazati sljedećim jednadžbama:



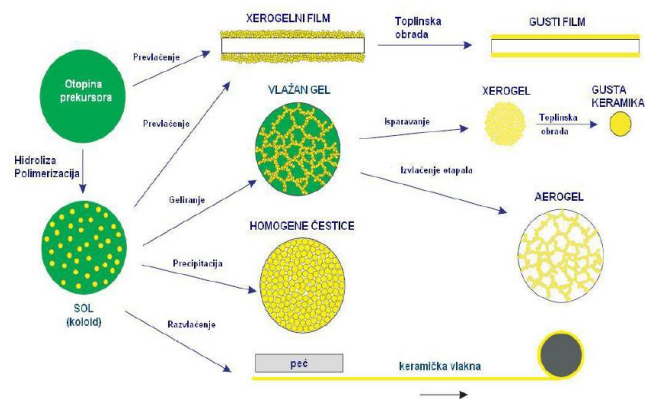
*Slika 5.* Shema reakcije raspada cisteina u prisustvu bakrovih iona

#### 1.4. Sol-gel postupak

Sol-gel postupak otkriven je krajem 19. stoljeća te znatno istraživanih ranih tridesetih godina 20. stoljeća, ali značajniji interes za ovim postupkom počinje sedamdesetih godina 20. stoljeća formiranjem monolitnih anorganskih gelova na niskim temperaturama i njihovom pretvorbom u staklo bez visokotemperaturnih postupaka taljenja.

Sol-gel postupak uključuje razvoj anorganskih mreža kroz formiranje koloidne otopine (sol) i geliranje sola da formira mrežu u kontinuiranoj tekućoj fazi (gel). Koloidna otopina predstavlja otopinu koja sadrži vrlo sitne čestice (promjera od 1nm do 1 $\mu\text{m}$ ), koje su jednoliko suspendirane u tekućini. Gel je koloidna suspenzija tekućine u krutini, pri čemu nastaje želatinasti materijal krući od sola. Prekursor, (polazni materijal) za sintezu tog koloida sastoji se od metala i metalnih elemenata okruženih različitim reaktivnim ligandima (atomi vezani na centralni atom). Metalni alkoksidi (organski spojevi koji se koriste kao jake baze, a dobivaju se u reakcijama metala s alkoholom ili fenolom, gdje se na atom kisika veže metal), su najpopularniji jer brzo reagiraju s vodom<sup>[10]</sup>.

Kao polazne tvari najčešće se upotrebljavaju silicijevi alkoksidi (alkoksisilani), zbog svoje postojanosti, razmjerno jednostavnog rukovanja i dostupnosti. Općenita formula je  $\text{Si}(\text{OR})_4$ , gdje je R alifatski lanac, obično  $-\text{CH}_3$  (tetrametoksisilan, TMOS) ili  $-\text{C}_2\text{H}_5$  (tetraetoksisilan, TEOS). Najčešće se rabi TEOS,  $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ <sup>[11]</sup>.



**Slika 6.** Sol-gel postupak<sup>[10]</sup>

Kemijski procesi koji se odvijaju tijekom sol-gel postupka su tri reakcije:

- 1) hidroliza
- 2) kondenzacija alkohola,
- 3) kondenzacija vode,

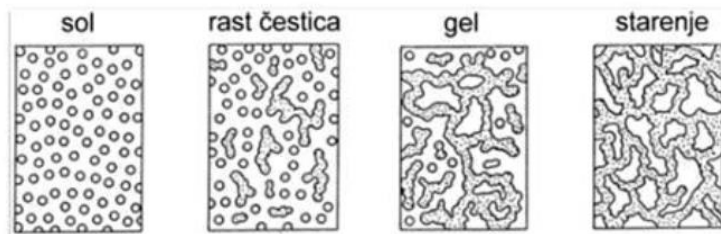
na način da proces obuhvaća reakcije hidrolize i kondenzacije metalnih alkoksida pri čemu iz koloidne otopine (sol) nastaje gel s neprekinutom trodimenzijskom metaloksidnom mrežom.

Gel nastaje hidrolizom i kondenzacijom alkoksida, uz kiselinu ili bazu kao katalizator. Prvi korak sol-gel sinteze jest hidroliza alkoksida uz izdvajanje vode ili alkohola, a nakon toga slijedi kondenzacija hidroliziranih alkoksida. Kondenzacija hidroliziranih alkoksida naizgled liči kondenzacijskoj polimerizaciji, no u zbilji se odvija u tri stupnja. Kondenzacijom monomera u prvom stupnju nastaju cikličke strukture (redovito pravilni poliedri) na koje se vežu monomeri tvoreći trodimenzijske čestice koje u drugom stupnju služe kao klice daljnjeg rasta, pri čemu se broj čestica smanjuje budući da se sitnije, lakše topljive čestice otapaju i ponovo talože na krupnijim, teže topljivim česticama. Rast čestica prestaje kada razlika u topljivosti između najsitnijih i najkrupnijih čestica postane zanemariva. Pojedinačne čestice se grupiraju i jednoliko raspoređuju stvarajući tako sol. Pri višim temperaturama, a posebno iznad pH 7, zbog veće topljivosti nastaju veće čestice. U trećem stupnju te se čestice povezuju u lance zahvaljujući kondenzaciji skupina na svojoj površini čime nastaje neprekinuti trodimenzionalni umreženi gel, tzv. alkogel. Nastankom alkogela ne prekida se sol-gel proces jer gel nastavlja stariti i granati se daljnjim stvaranjem veza između čestica. Za



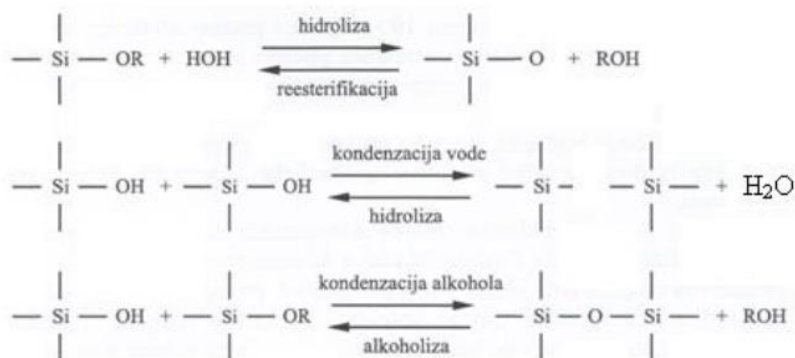
starenje gela često je potrebno više vremena nego za gelaciju, jer se radi o difuzijskom kontroliranom procesu<sup>[10]</sup>.

Shematski prikaz nastajanja gela prikazan je na slici 7.



**Slika 7.** Shematski prikaz nastajanja gela

Primjerice, geliranje sustava se ostvaruje reakcijama hidrolize i alkoksida prekursora, uz kiselinu ili bazu kao katalizator. Na slici 8. su prikazane jednačbe reakcije hidrolize, kondenzacije alkohola i kondenzacije vode na primjeru SiO<sub>2</sub> praha.



**Slika 8.** Jednačbe reakcije hidrolize, kondenzacije alkohola i kondenzacije vode na primjeru SiO<sub>2</sub> praha

U reakcijama hidrolize, dodatkom vode, zamjenjuje se alkoksidna skupina (OR) s hidroksilnom skupinom (OH). Kondenzacija uključuje Si-OH skupinu proizvodeći vezu Si-O-Si, uz nusprodukt vodu, gdje je Si metal koji sudjeluje u reakciji. Čimbenici kao što su pH vrijednost, molarni omjer H<sub>2</sub>O/Si i katalizatori mogu pospješiti završetak hidrolize prije nego počme kondenzacija. Kako broj Si-O-Si veze raste, individualne molekule ugrađuju se u nagomilani zajednički sol (koloidna otopina). Polimerizacijom se dalje čestice sola međusobno formiraju u mrežu i formira se gel. Gel faza u sol-gel

postupku se opisuje kao trodimenzionalni kruti kostur okružen tekućom fazom, gdje su tekuća i kruta faza kontinuirane i koloidnih (nanometarskih) dimenzija<sup>[10]</sup>.

Nakon faze geliranja slijedi sušenje kod kojeg voda ili alkohol izdvojeni u hidrolizi, pod utjecajem visoke temperature, izlaze iz gela i mreža se skuplja kod idućih kondenzacija. Osušena forma koja nastaje nakon uklanjanja tekuće faze iz pora umrežene strukture naziva se kserogel. Kserogeli obično zadržavaju visoku poroznost (15-50%) i ogromnu površinu (150-900 m<sup>2</sup>/g), zajedno s vrlo malom veličinom pora (1-10nm). Čitav postupak završava sinteriranjem, prilikom čega konačni proizvod dobiva potrebnu gustoću i očekivana svojstva.

Mogu se proizvesti homogeni anorganski metalni oksidi poželjnih svojstava tvrdoće, optičke prozirnosti, kemijske otpornosti, poroznosti i toplinske otpornosti<sup>[12]</sup>.

#### **1.4.1. Prednosti sol-gel postupka**

Ovaj postupak, prilagođen pripremi tankih oksidnih prevlaka, ima mnoge prednosti:

- visoka čistoća prekursora,
- visoka homogenost prevlake,
- niska temperatura postupka,
- nije potrebna uporaba vakuuma,
- niska cijena,
- visoka fleksibilnost i izvedivost,
- jednolika debljina prevlake,
- mogućnost prevlačenja velikih površina,
- dobivanje vrlo glatke prevlake<sup>[13]</sup>

#### **1.4.2. Nedostaci sol-gel postupka**

- visoka cijena polaznog materijala (prekursora),
- ograničenost procesa na oksidne i polimerne materijale,
- velika reaktivnost pojedinih alkoksida,
- poteškoće pri sintezi višekomponentnih materijala u pogledu idealne homogenosti<sup>[13]</sup>

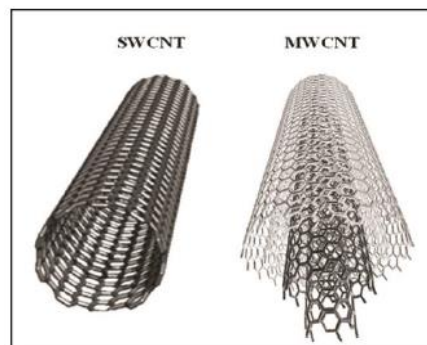
## 1.5. Ugljikove nanocjevčice

Ugljikove nanocjevčice pripadaju skupini nanocjevčica punila čiji je promjer manji od 100 nm, a omjer dimenzija duljine i promjera  $l/d = 10^0 - 10^6$ .

Ugljikove nanocjevčice se mogu podijeliti prema strukturi u dvije grupe:

- jednoslojne (Singlewalledcarbonnanotubes, SWCNT)
- višeslojne (Multiwalledcarbonnanotubes , MWCNT)

Osnovna struktura obje skupine nanocjevčica izvodi se iz planarne strukture grafena (koji izgrađuje grafit). Izolirani list grafena izgrađen je od  $sp^2$  hibridiziranih ugljikovih atoma. Nanocjevčice s jednom stjenkom mogu se zamisliti kao grafenski listići smotani u cilindar bez rubova. Heksagonalna simetrija ugljikovih atoma u planarnoj grafitnoj plohi je iskrivljena jer je rešetka zakrivljena i mora se poklapati duž rubova da bi se stvorio savršeni cilindar. To vodi spiralnom (heliksnom) rasporedu ugljikovih atoma.



**Slika 9.** Jednoslojna i višeslojna ugljikova nanocjevčica

MWCNT se sastoje od nekoliko koncentričnih cjevčica grafita, jednih smještenih unutar drugih (Slika 9.). Složene su strukture, a svaki sloj ugljika ima drugačiju kiralnost i elektronska svojstva. Promjer MWCNT je nekoliko desetaka nanometara, duljine slične kao i kod SWCNT, mikrometerske.

Zbog velike površine, dobre vodljivosti, izvanredne elektrokatalitičke sposobnosti, visoke površinske aktivnosti i dobre biokompatibilnosti, ugljikove nanocjevčice često nalaze primjenu kao senzori. Senzori na bazi CNT-a su osjetljiviji, imaju nižu granicu određivanja (Limit of detection, LOD) i bržu kinetiku prijenosa elektrona. Sva navedena svojstva moguće je modificirati dodatkom funkcionalnih skupina što znači i širu primjenu u elektroanalitici. Općenito funkcionalne skupine mogu biti vezane

kovalentnim i ne-kovalentnim vezama. Kovalentne funkcionalne skupine uključuju dodavanje karboksilnih grupa nakon oksidacije, na koje se mogu potom vezati različite skupine poput amidne, tiolne ili drugih.

Nekovalentne modifikacije CNT-a odnose se na modifikaciju bočnih zidova aromatskim strukturama, surfaktantima, polimerima ili hidrofobnim interakcijama. Takve modifikacije također utječu na elektrokemijske osobine materijala<sup>[14]</sup>.

## **1.6. Polimerna matrica**

Polimerne matrice se koriste u izradi ion-selektivnih elektroda. Danas tipična ionsko-selektivna membrana ima sastav 33% (w/w) poli(vinil) klorida (PVC), 66% (w/w) plastifikatora, 1% ionofore, te lipofilne dodatke. Glavna karakteristika polimera u izradi ionsko-selektivnih elektroda je njihova temperatura skladištenja<sup>[15]</sup>.

### **1.6.1. PVC**

Poli(vinil) klorid naziv je za skupinu plastomernih materijala koji sadrže makromolekule s ponavljanim jedinicama  $-\text{CH}_2-\text{CHCl}-$ . Svojstva temeljnog polimera mogu se lako mijenjati brojnim postupcima, preinakama pa je poznato više od stotinu vrsta poli(vinil) klorida. Razlikuju se prema postupcima dobivanja, vrsti i količini dodatnih omekšivača, udjelom komonomera i drugih vrsta polimera u smjesama.

Smatra se pogodnim za širok spektar primjena s obzirom na njegove razne mogućnosti modifikacijskih svojstava.

Da bi se dobila elektroda s membranom optimalnih fizikalnih osobina, u polimernu matricu dodaje se plastifikator. Odabirom plastifikatora može se utjecati i na lipofilnost, topljivost, selektivnost i izlučivanje iz matrice<sup>[16]</sup>.

## **1.7. Elektroanalitičke metode**

Elektrokemija je dio znanosti posvećen razumijevanju posebnih vrsta fizikalnih i kemijskih pojava i procesa pretvorbe tvari vezanih za postojanje i djelovanje osnovne čestice elektriciteta “slobodnih” (pokretnih) elektrona koji u koordiniranom gibanju predstavljaju električnu struju. Elektrokemija ima posebnu ulogu u kemijskoj analizi<sup>[17]</sup>.

Elektroanalitičke metode su skupina analitičkih postupaka i tehnika kojima se informacija, odnosno podatak o koncentraciji, aktivitetu ili nekom drugom podatku određivane kemijske vrste (atoma, iona ili molekule) dobiva na temelju međusobno razmjernih odnosno analognih električnih veličina, tj. s pomoću električnog napona, električne struje ili električnog naboja<sup>[18]</sup>. Elektrokemijska ćelija je ključni instrument u kojem se provode elektroanalitička mjerenja, a sastoji se od posude koja sadrži otopinu (najčešće je to otopina elektrolita - ionski vodič) u koju su uronjene elektrode - elektronski vodiči. One imaju dvojaki karakter, jer na njima može nastati dana električna veličina, dok mogu služiti i za dovođenje iste iz vanjskog izvora. Elektroda ima ulogu senzora (osjetila) kada biva uronjena u otopinu, jer tada dolazi do elektrokemijske reakcije prilikom koje se promjena koncentracije molekulske vrste manifestira kao promjena razlike potencijala uspostavljene na dodirnoj površini elektroda-otopina. Pored toga, elektroda može biti sredstvo za dovođenje električne veličine koja uzrokuje promjene na dodirnoj površini elektroda-otopina. Kao produkt navedene promjene nastaje neka druga veličina koju mjerimo<sup>[19]</sup>.

Elektroanalitičke metode dijelimo u dvije osnovne kategorije:

- 1) metode kod kojih kroz elektrokemijsku ćeliju ne teče električna struja
- 2) metode kod kojih kroz elektrokemijsku ćeliju teče električna struja

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

Druga, mnogobrojnija skupina elektroanalitičkih metoda, je ona kod kojih kroz elektrokemijski članak teče električna struja kao posljedica djelovanja vanjskog izvora

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

Kod većine elektroanalitičkih metoda mjereni podatak o svojstvima elektrolitne otopine dobivamo s pomoću jedne od elektroda elektrolitičke ćelije. Tu elektrodu nazivamo radnom kada kroz ćeliju teče električna struja, a indikatorskom pri potenciometrijskim mjerenjima. Stoga, temelj elektroanalitičkih mjerenja jest elektrokemijska reakcija na radnoj ili indikatorskoj elektrodi<sup>[18]</sup>.

Elektroanalitička kemija danas dominira u području elektrokemije zbog toga što se njene metode mogu automatizirati, i izgraditi elektronski instrument pomoću kojih se lako dobivaju kompjuterski zapisi rezultata. Ovo je danas široko zastupljeno naročito u kliničkoj medicinskoj praksi, i u ekološkim istraživanjima onečišćenosti zraka, vode i tla pomoću elektrokemijskih senzora<sup>[17]</sup>.

### **1.7.1. Voltometrija**

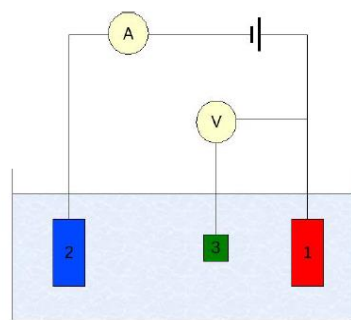
Voltometrija je zajednički naziv za niz elektrokemijskih metoda koje se zasnivaju na mjerenjima odnosa struje i potencijala kod elektrokemijskog procesa na radnoj elektrodi. Signal pobude je električni napon, a signal odziva je struja ćelije, a mjeri se kao funkcija narinutog napona.

### **1.7.2. Ciklička voltometrija**

Kod cikličke voltetrije signal pobude (narinuti potencijal) određeno vrijeme linearno raste, te nakon što dosegne krajnju vrijednost promijeni se smjer potencijala. U oba smjera promjena potencijala je linearna. U ovim ciklusima moguće je elektrokemijski oksidirati ili reducirati produkte zbog čega je ciklička voltometrija naročito pogodna za istraživanja mehanizama elektrokemijskih reakcija<sup>[20,21]</sup>.

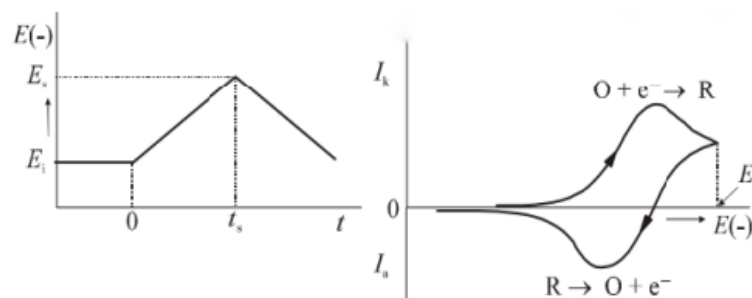
Elektrokemijska ćelija se sastoji od posude u kojoj se nalazi smjesa analita i neutralnog elektrolita u koju su uronjene tri elektrode. Mjerimo potencijal radne elektrode koji se mijenja linearno s vremenom dok je druga elektroda referentna, najčešće ZKE, zasićena kalomelova elektroda sa stalnim potencijalom koji iznosi 0,241 V. Treća elektroda u sustavu je protuelektroda, najčešće od platinske žice koja služi za provođenje struje od izvora signala do radne elektrode koja je male površine kako bi se poboljšala njena težnja ka polarizaciji<sup>[22]</sup>.

Grafički prikaz odziva cikličke voltametrije nazivamo cikličkim voltamogramom<sup>[18]</sup>.



**Slika 10.** Troelektrodna elektrolitička ćelija

(1– radna elektroda, 2 - protu elektroda, 3 – referentna elektroda)



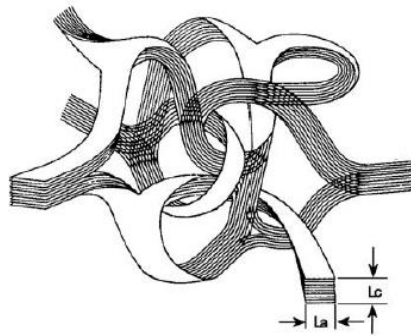
**Slika 11.** Grafički prikaz odziva cikličke voltametrije<sup>[18]</sup>

## 1.8. Elektrode

### 1.8.1. Radna elektroda - elektroda od staklastog ugljika

Staklasti ugljik je materijal koji kombinira svojstva stakla i keramike sa svojstvima grafita. Najvažnija od tih svojstava su: otpornost na visoke temperature, tvrdoća, niska gustoća, niska električna otpornost, niska toplinska otpornost, visoka kemijska otpornost i nepropusnost za plinove i tekućine. Struktura staklastog ugljika (slika 12.)

odavno je predmet rasprava. Rani strukturni modeli su pretpostavljali da su prisutni atomi  $sp^2$  i  $sp^3$  hibridizirani, dok se danas zna da se radi samo o  $sp^2$  hibridizaciji. U novijim istraživanjima se sugerira da staklasti ugljik ima strukturu povezanu s fulerenom. Staklasti ugljik naširoko se koristi kao elektrodni materijal u elektrokemiji<sup>[23]</sup>.

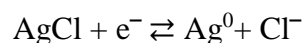


*Slika 12.* Struktura staklastog ugljika<sup>[24]</sup>

Elektroda se priprema utiskivanjem valjčića ili pločice staklastoga ugljika u teflonski nosač ili se staklasti ugljik zalijepi aralditnim ljepilom u staklenu cjevčicu. Površina elektrode od staklastog ugljika može se modificirati nanošenjem sloja drugog materijala.

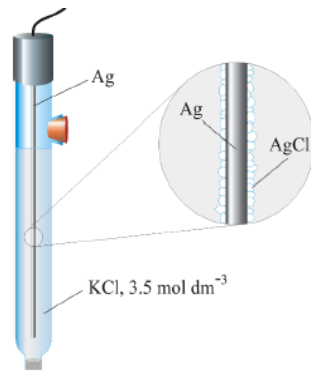
### 1.8.2. Referentna elektroda - srebro/srebrov klorid elektroda

Zasniva se na reakciji:



Priređuje se tako da srebrnu elektrodu, zapravo komadić srebrne žice kojoj je jedan kraj savijen u uzvojnici, a na površini joj je anodnom oksidacijom u kloridnoj otopini stvoren sloj teško topljivog AgCl-a, uronimo u kloridnu otopinu zasićenu s AgCl-om. Aktivitet  $\text{Ag}^+$  iona, a time i potencijal elektrode, reguliran je koncentracijom kloridnih iona u otopini. Najčešće se koristi srebro/srebrov klorid elektroda sa zasićenom otopinom KCl-a (slika 13.), kojoj je elektrodni potencijal + 0,197 V u odnosu prema standardnoj vodikovoj elektrodi<sup>[25]</sup>.





**Slika 13.** Srebro/srebrov klorid elektroda (zasićena KCl-om)<sup>[26]</sup>

### 1.8.3. Protuelektroda - platinska pločica

Platina je materijal sa malo elektrokatalitičkih svojstava, te je kao takav pogodan za izradu protuelektroda za voltometrijska mjerenja. U pravilu se na njoj događaju samo reakcije razvijanja kisika i vodika. Izvedena je u obliku tanke pločice (slika14.) kako bi se dobila što veća površina jer je tada manja gustoća struje, odnosno manje odstupanje od njenog ravnotežnog stanja<sup>[25]</sup>.



**Slika 14.** Platinska pločica kao elektroda<sup>[26]</sup>

## **2. EKSPERIMENTALNI DIO**

## 2.1. Priprava otopina

Za pripravu otopina potrebnih za provedbu eksperimenta korištene su sljedeće kemikalije:

*Tablica 2.* Korištene kemikalije

| <b>Kemikalija</b>         | <b>Molekulska formula</b>                        | <b>Dobavljač</b>        |
|---------------------------|--|-------------------------|
| <b>kalijev nitrat</b>     | KNO <sub>3</sub>                                 | T.T.T. d.o.o.           |
| <b>amonijev klorid</b>    | NH <sub>4</sub> Cl                               | Kemika d.d., Zagreb     |
| <b>natrijev acetat</b>    | CH <sub>3</sub> COONa                            | Kemika d.d., Zagreb     |
| <b>natrijev fosfat</b>    | Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                 | Kemika d.d., Zagreb     |
| <b>fosforna kiselina</b>  | H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>                   | T.T.T. d.o.o.           |
| <b>natrijev hidroksid</b> | NaOH   | Gram-Mol d.o.o., Zagreb |
| <b>octena kiselina</b>    | CH <sub>3</sub> COOH                             | Gram-Mol d.o.o., Zagreb |
| <b>Sumporna kiselina</b>  | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                   | T.T.T. d.o.o.           |
| <b>amonijak</b>           | NH <sub>3</sub>                                  | T.T.T. d.o.o.           |
| <b>MWCNT</b>              |  | NTP                     |
| <b>cistein</b>            | C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub> S  | p.a. Merck, SAD         |
| <b>TEOS</b>               | C <sub>8</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub> Si | Ru –Ve d.o.o.           |
| <b>PVC</b>                | -CH <sub>2</sub> -CHCl-                          | „Borsod chem“           |
| <b>o-NPOE</b>             | C <sub>14</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>3</sub>  | Kemika d.d., Zagreb     |

### 2.1.1. Priprava otopine cisteina

Otopina cisteina, koncentracije  $c(\text{cistein}) = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ , pripravljena je otapanjem 0,121 g cisteina u odmjerne tikvici od 10 cm<sup>3</sup> s destiliranom vodom te nadopunjena destiliranom vodom do oznake. Za pripravu 0,01 mol dm<sup>-3</sup> uzet je 1 cm<sup>3</sup> prethodno napravljene (0,1 mol dm<sup>-3</sup>) otopine cisteina te razrijeđeno na volumen od 10 cm<sup>3</sup>, a zatim je 1 cm<sup>3</sup> te otopine iskorišteno za pripravu 0,001 mol dm<sup>-3</sup>.

Ovako priređene otopine korištene su u elektrokemijskim mjerenjima i to na način da se od svake dodavao određeni volumen u ćeliju s 100 cm<sup>3</sup> osnovnog elektrolita.

Prilikom svakog novog mjerenja pripremljena je uvijek nova otopina cisteina.

**Tablica 3.** Koncentracije cisteina korištene pri mjerenju konačne koncentracije

| <i>c (Cys)<br/>pripravljena</i> | <i>V (Cys)<br/>dodanog cisteina iz kolone 1</i> | <i>c (Cys)<br/>u ćeliji</i> |
|---------------------------------|---|-----------------------------|
| 0,001                           | 10 $\mu\text{L}$                                | $1 \times 10^{-7}$          |
| 0,01                            | 10 $\mu\text{L}$                                | $1 \times 10^{-6}$          |
| 0,1                             | 10 $\mu\text{L}$                                | $1 \times 10^{-5}$          |
| 0,1                             | 100 $\mu\text{L}$                               | $1 \times 10^{-4}$          |
| 0,1                             | 1000 $\mu\text{L}$                              | $1 \times 10^{-3}$          |

### 2.1.2. Priprava otopine $\text{KNO}_3$

20,22 g kalijevog nitrata otopljeno je u destiliranoj vodi razrjeđenjem na konačni volumen od  $2 \text{ dm}^3$ . Koncentracija ove otopine je bila  $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ .

Iz ove otopine pripravljeno je  $90 \text{ cm}^3$   $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$  otopine kalijevog nitrata.  $18 \text{ cm}^3$  otopine  $\text{KNO}_3$  koncentracije  $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$  preneseno je u tikvicu i razrijeđeno destiliranom vodom do oznake.

### 2.1.3. Priprava otopine $\text{NaOH}$

Za pripravu  $0,2 \text{ mol dm}^{-3}$  otopine natrijevog hidroksida odvagano je 2 g istog spoja te otopljeno u destiliranoj vodi na konačni volumen od  $0,25 \text{ dm}^3$ .

### 2.1.4. Priprava otopine $\text{H}_2\text{SO}_4$

Za pripravu  $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$  otopine sumporne kiseline odvagano je 49,03 g  $\text{H}_2\text{SO}_4$  te otopljeno u destiliranoj vodi razrjeđenjem na konačni volumen od  $1 \text{ dm}^3$ .

### 2.1.5. Priprava otopine $\text{CH}_3\text{COONa}$

Za pripravu  $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$  odvagano je 0,82 g  $\text{CH}_3\text{COONa}$  te preneseno u odmjernu tikvicu od  $250 \text{ cm}^3$  i otopljeno destiliranom vodom do oznake.

### 2.1.6. Priprava otopine $\text{CH}_3\text{COOH}$

Za pripravu  $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$  octene kiseline odvagano je 1,5 g octene kiseline te zatim razrijeđeno na konačni volumen od  $0,2 \text{ dm}^3$ .

### 2.1.7. Priprava otopine $\text{Na}_2\text{HPO}_4$

Za pripravu  $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$  otopine  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  odvagano je 1,42 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  te otopljeno u  $250 \text{ cm}^3$  destilirane vode.

### **2.1.8. Priprava otopine NH<sub>4</sub>Cl**

Za pripravu 0,1 mol dm<sup>-3</sup> otopine amonijevog klorida odvagano je 1,34 g istog spoja te otopljeno u 250 cm<sup>3</sup> destilirane vode.

### **2.1.9. Priprava otopine acetatnog pufera**

Dodavanjem 0,1 mol dm<sup>-3</sup> otopine CH<sub>3</sub>COONa u otopinu CH<sub>3</sub>COOH ( $c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ , pH 2) prilagođava se pH do željene vrijednosti (pH 5). Ovo dodavanje je vršeno uz stalno praćenje pH vrijednosti pH-metrom.

### **2.1.10. Priprava otopine fosfatnog pufera**

Dodavanjem koncentrirane otopine H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> u otopinu Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ( $c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ , pH 9) prilagođava se pH do željene vrijednosti (pH 7). Ovo dodavanje je vršeno uz stalno praćenje pH vrijednosti pH-metrom.

### **2.1.11. Priprava otopine amonijakalnog pufera**

Dodavanjem koncentriranog amonijaka u otopinu amonijevog klorida ( $c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ ) prilagođava se pH do željene vrijednosti (pH 9). Ovo dodavanje je vršeno uz stalno praćenje pH vrijednosti pH-metrom.

### **2.1.12. Priprava osnovnog elektrolita**

Osnovni elektrolit je pripravljen miješanjem 90 cm<sup>3</sup> 0,1 mol dm<sup>-3</sup> KNO<sub>3</sub> i 10 cm<sup>3</sup> 0,1 mol dm<sup>-3</sup> odgovarajućeg pufera.

### **2.1.13. Priprava sol-gela**

3 mL EtOH i 3 mL TEOS-a dodano je u čašicu (čineći tako molni omjer TEOS : etanol 1 : 3,8) i ostavljeno 20 minuta na miješalici. 2 mL takve otopine preneseno je u plastičnu kivetu i postavljeno na ultrazvučnu kupelj. Nakon 15 minuta u ultrazvučnoj kupelji, dodano je 400 μL vode i opet postavljeno u ultrazvučnu kupelj 10 minuta. Zatim je dodano 36 μL HF (40%) i ponovno tretirano u ultrazvučnoj kupelji 10 minuta, do formiranja krutine. Omjer za nastanak sola je bio TEOS : etanol : voda : HF = 1 : 3,8 : 5 : 0,035.

### **2.1.14. Priprava kompozita**

U 2 mL otopine EtOH i TEOS-a dodano je 0,01 g MWCNT, a u preostala 2 mL 0,072 g MWCNT + 0,072 g AgCuS. Postavljeno je u ultrazvučnu kupelj 15 minuta, zatim je dodana voda i 40% HF kao što je opisano u poglavlju 2.1.13.

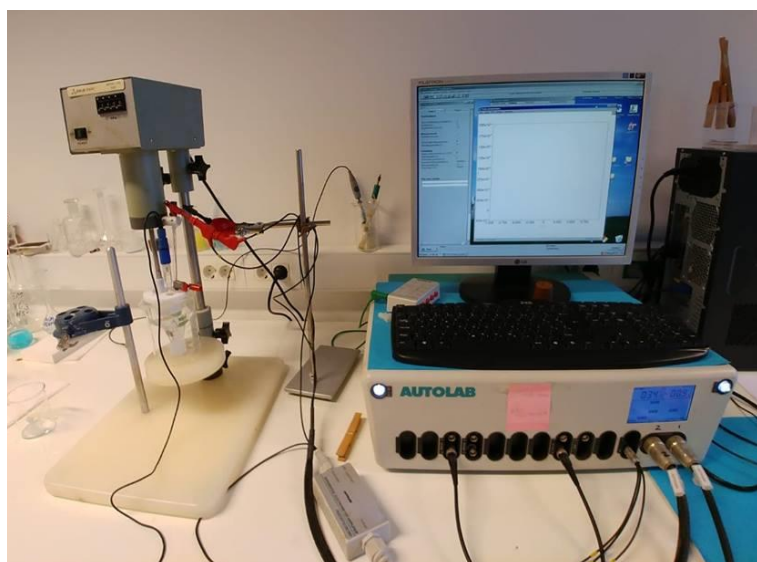
Ovako pripremljeni kompoziti su tretirani u sušioniku na 60 °C 4 sata i ostavljeni na zraku 24 sata. Nastali kserogel je usitnjen u tarioniku i kao takav upotrijebljen u daljnjem postupku modifikacije.

## 2.2. Aparatura i elektroodni materijal

### 2.2.1. Uređaj za elektrokemijska mjerenja

Sva elektrokemijska mjerenja su izvršena s potenciostatom (Autolab PGSTAT 302N) spojenim na osobno računalo (PC), a kojim se upravlja pomoću GPES 4,9 Softwarea (Eco Chemie) (slika 17.).

Za mjerenja je korišteno magnetno miješalo kako bi se osigurala homogenost otopine.



*Slika 15.* Uređaj za elektrokemijska mjerenja

### 2.2.2. Elektrokemijska ćelija

Za sva mjerenja korištena je elektrokemijska ćelija od staklenog materijala izvedena u obliku konusa koja je prije svakog mjerenja pripremljena na sljedeći način:

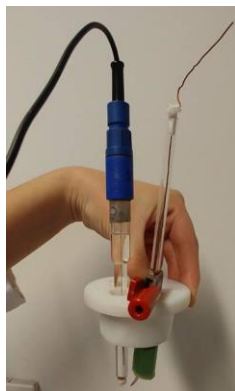
- a) ispiranje koncentriranom dušičnom kiselinom
- b) ispiranje vodovodnom vodom
- c) ispiranje destiliranom vodom

Ispiranjem konc.  $\text{HNO}_3$  osigurava se uklanjanje eventualnih nečistoća ili ostataka metala iz prethodnih mjerenja.

### 2.2.3. Referentna elektroda i protuelektroda

Kao referentna elektroda korištena je srebro/srebrov-klorid (Radiometar XR 300 (3 M  $\text{Ag}/\text{AgCl}$ )) elektroda koja je prije svakog mjerenja isprana vodovodnom, te potom destiliranom vodom.

Kao protuelektroda korištena je platinska pločica koja je prije svakog mjerenja očišćena konc.  $\text{HNO}_3$ , a zatim isprana vodovodnom, te destiliranom vodom. Referentna elektroda i protuelektroda prikazane su na slici 16.



**Slika 16.** Referentna elektroda (lijevo) i protuelektroda (desno)

Kao radna elektroda korištena je elektroda od staklastog ugljika (engl. Glassy carbon electrode - GCE) uklopljena u bazu načinjenu od teflona (slika 15).

Površina GCE je  $0,28 \text{ cm}^2$ .



*Slika 17.* GCE – radna elektroda

#### **2.2.4. Priprema radne elektrode**

Prije prvog mjerenja GCE elektroda je pripremljena na sljedeći način:

a) mehanička priprema

- brušenje papirima finoće 1200 i 2000 (papir se prije brušenja namoči vodom; brusi se na mekanoj podlozi)

1. - poliranje pastom aluminijevog(III) oksida veličine čestica 1  $\mu\text{m}$ , zatim 0,05  $\mu\text{m}$

b) kemijsko odmašćivanje

2. - u etanolu (96%) u ultrazvučnoj kupelji u trajanju od 1 minute

c) elektrokemijska priprema

- u 0,5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  cikličkom voltametrijom s deset ciklusa u području potencijala od  $-1$  V do 1 V, bez miješanja otopine

#### **2.2.5. Modifikacija radne elektrode**

Osjetilni sloj elektroda načinjen je od 10, 30 ili 50 mg kompozita MWCNT kojemu je dodano 33 mg PVC-a, 66 mg plastifikatora orto-nitrofenil-oktil etera (o-NPOE) te 500  $\mu\text{L}$  THF koji su dobro izmiješani i nanieseni na tri elektrode (po 20  $\mu\text{L}$ ). Na preostale tri elektrode nanieseno je 10, 30 ili 50 mg kompozita MWCNT / AgCuS pomiješano s istom količinom PVC-a, o-NPOE-a i THF-a.



**Tablica 4.** Priprava osjetilnog sloja

| <b>Naziv elektrode</b> | <b>Kompozit</b>             | <b>Masa kompozita u osjetilnom sloju / mg</b> | <b>PVC / mg</b> | <b>o-NPOE / mg</b> | <b>THF / <math>\mu</math>L</b> |
|------------------------|-----------------------------|---|-----------------|--------------------|--------------------------------|
| MWCNT-10               | sol-gel/<br>MWCNT           | 10  | 33              | 66                 | 500                            |
| MWCNT-30               |                             | 30  |                 |                    |                                |
| MWCNT-50               |                             | 50  |                 |                    |                                |
| MWCNT-AgCuS-10         | sol-gel/<br>MWCNT/<br>AgCuS | 10  |                 |                    |                                |
| MWCNT-AgCuS-30         |                             | 30  |                 |                    |                                |
| MWCNT-AgCuS-50         |                             | 50  |                 |                    |                                |

### **3. REZULTATI I RASPRAVA**

### 3.1. Elektrokemijska ispitivanja-ciklička voltometrija

Voltometrijska ispitivanja obuhvatila su snimanje cikličkih voltagrama u prisutnosti različite koncentracije cisteina pri različitim pH vrijednostima. Ciklički voltagrami su snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika (nGCE) te na modificiranim elektrodama s različitim udjelom kompozita sol-gel/MWCNT te kompozita sol-gel/MWCNT/AgCuS (vidi eksperimentalni dio Tablica 4). Voltagrami su snimljeni u 0,1 M otopini  $\text{KNO}_3$  puferiranoj s acetatnim, fosfatnim i amonijakalnim puferima za postizanje tri pH vrijednosti (5, 7, 9).

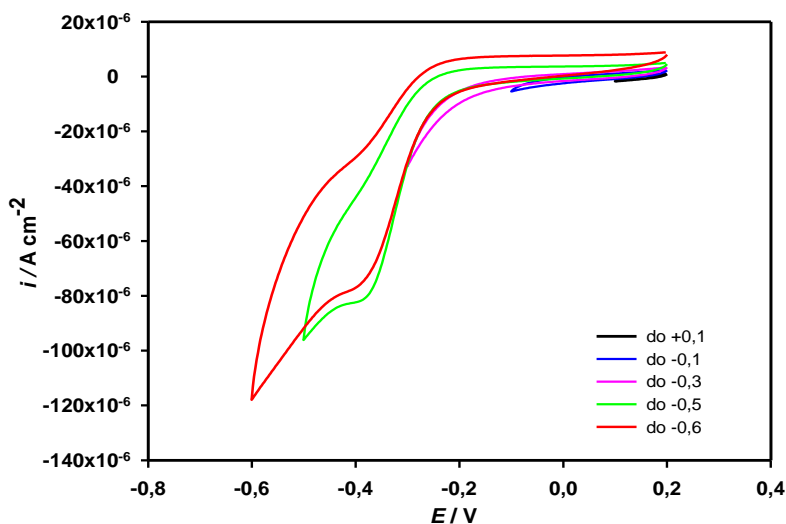
Sva mjerenja su rađena pri posmiku od 50 mV/s, ukoliko nije drukčije navedeno.

#### 3.1.1. Elektrokemijsko ponašanje nGCE (nemodificirane GCE)

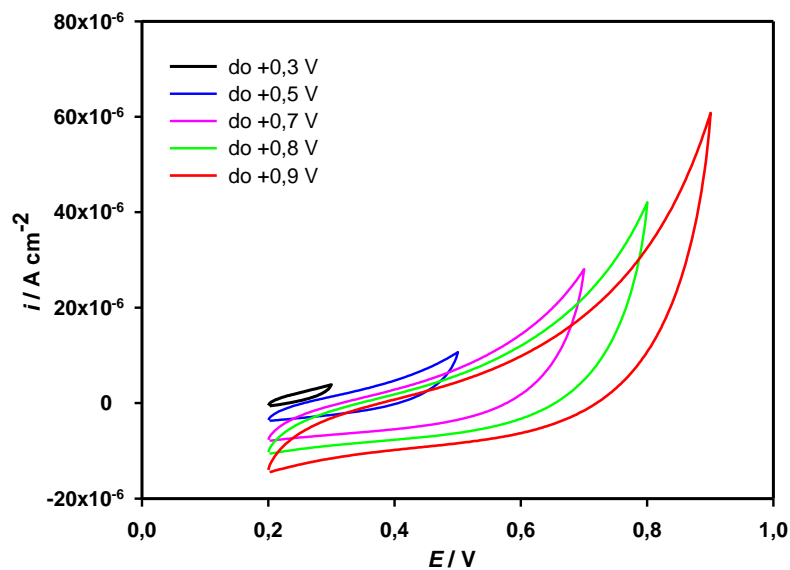
Preliminarna mjerenja su obuhvatila određivanje područja polarizabilosti nemodificirane elektrode od staklastog ugljika (nGCE). Mjerenja su odrađena u različitim područjima potencijala.

Područje poralizabilnosti nemodificirane elektrode od staklastog ugljika (nGCE) je ispitivano pomakom potencijala, kako u katodnom, tako i u anodnom području.

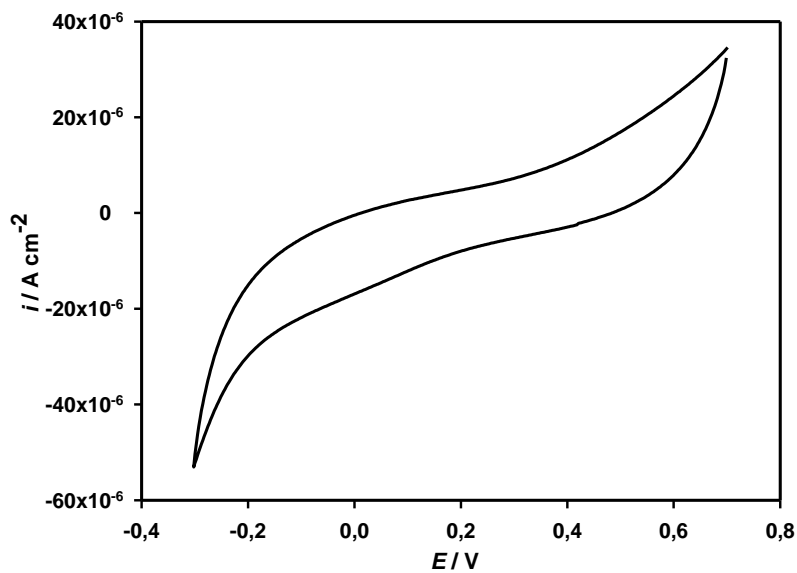
Snimljeni ciklički volamogrami prikazani su na Slici 18a i 18b.



*Slika 18a.* CV snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika (nGCE) pomakom katodne granice u 0,1 M  $\text{KNO}_3$



*Slika 18b.* CV snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika (nGCE) pomakom anodne granice u 0,1 M  $\text{KNO}_3$



*Slika 18c.* CV snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika (nGCE) u odabranim područjima potencijala od -0,3 V do +0,7 V

Na Slici 18a. vidljiv je porast katodne struje na potencijalima nižim od -0,2 V koji se može pripisati katodnom izlučivanju vodika prema reakciji (6).



Možemo pretpostaviti da su deformacije na piku pri -0,4 V rezultat redukcije nekih rezidualnih nečistoća na elektrodi, nastalih tijekom mehaničke pripreme.

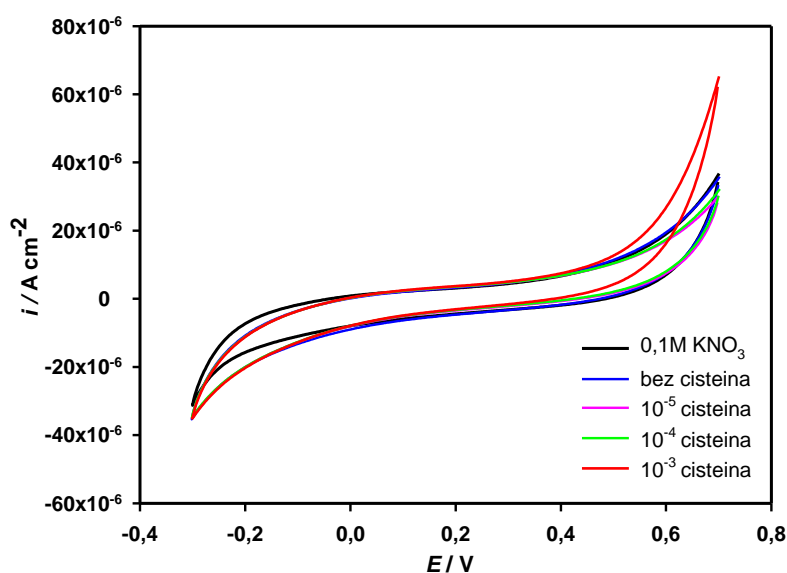
Anodno izlučivanje kisika prema reakciji (7) se može uočiti porastom anodne struje pri porastu potencijala u anodnom smjeru, što je vidljivo na Slici 18b.



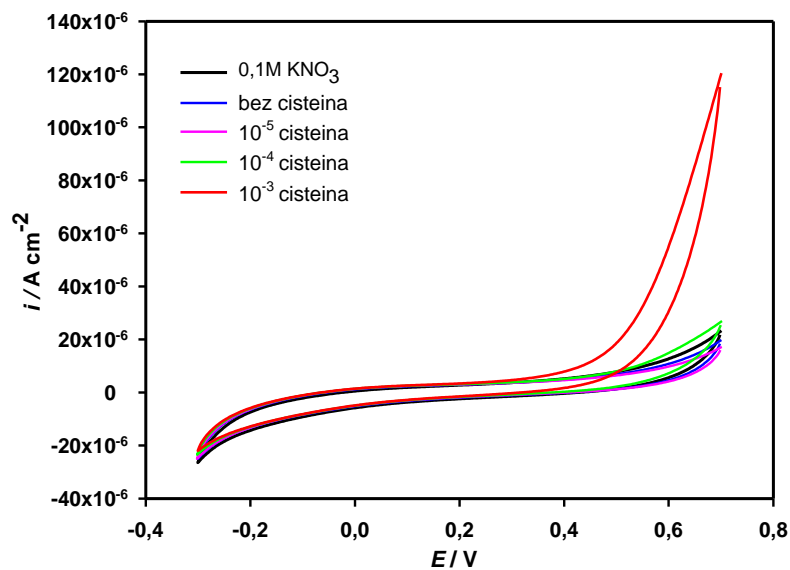
Na osnovu snimljenih CV (ka katodnim i ka anodnim granicama - slika 18a i slika 18b) kao područje polarizabilnosti GCE odabrano je područje potencijala od -0,3 V do +0,7 V. Snimljeni ciklički voltamogrami u odabranom području potencijala prikazani su na Slici 18c. Sva daljnja mjerenja u ovom radu vršena su u ovim granicama potencijala.

### 3.1.2. Utjecaj dodatka cisteina na CV u različitim puferima za nGCE

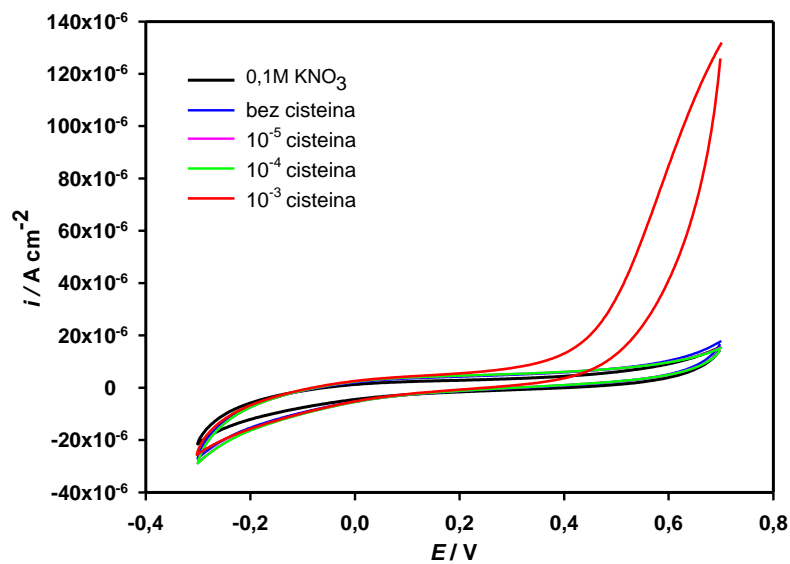
Utjecaji dodatka cisteina na cikličke voltamogramе nemođificirane elektrode od staklastog ugljika (nGCE) u različitim puferima prikazani su na Slici 19a, Slici 19b i Slici 19c.



*Slika 19a.* Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 5. Elektroda od staklastog ugljika (nGCE).



*Slika 19b.* Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 7. Elektroda od staklastog ugljika (nGCE).



*Slika 19c.* Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 9. Elektroda od staklastog ugljika (nGCE).

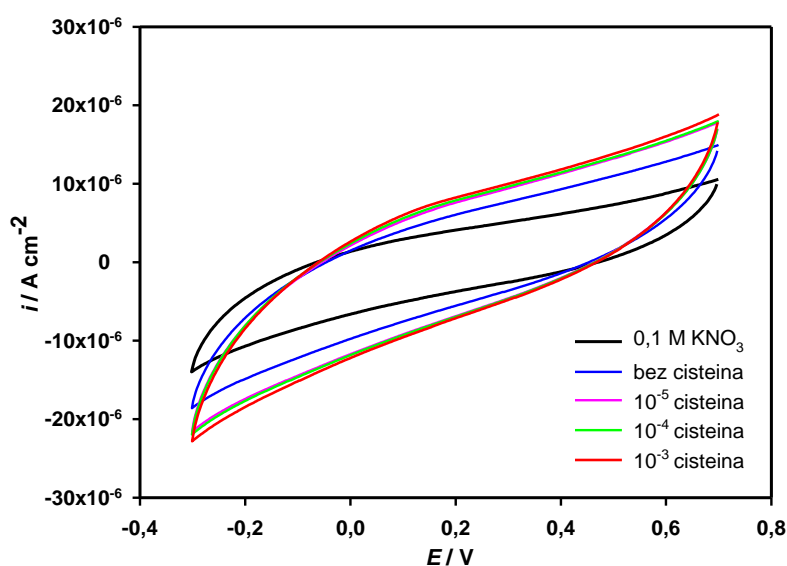
Kod svih cikličkih voltamograma snimljenih pri koncentracijama nižim od  $10^{-3}$  pri sve tri pH vrijednosti nije vidljiva značajna elektroaktivnost cisteina na nGCE. Pri

koncentracijama od  $10^{-3}$  cisteina vidljiv je porast anodne struje pri potencijalima višim od 0,4 V. Vrijednosti struje rastu za iste potencijale s porastom pH vrijednosti. Ovo sugerira da je za ovaj porast anodnih struja odgovorna anodna oksidacija cisteina na površine nGCE. Anodna oksidacija je to više olakšana što je udio deprotonizirane forme cisteina veći. Ovaj udio je veći s porastom pH vrijednosti.

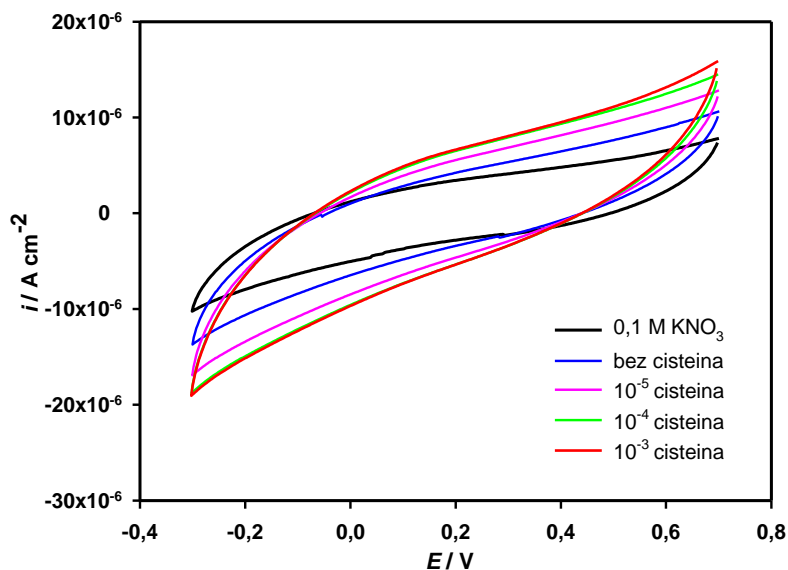


### 3.1.3. Utjecaj dodatka cisteina na CV u različitim puferima za elektrodu MWCNT-10

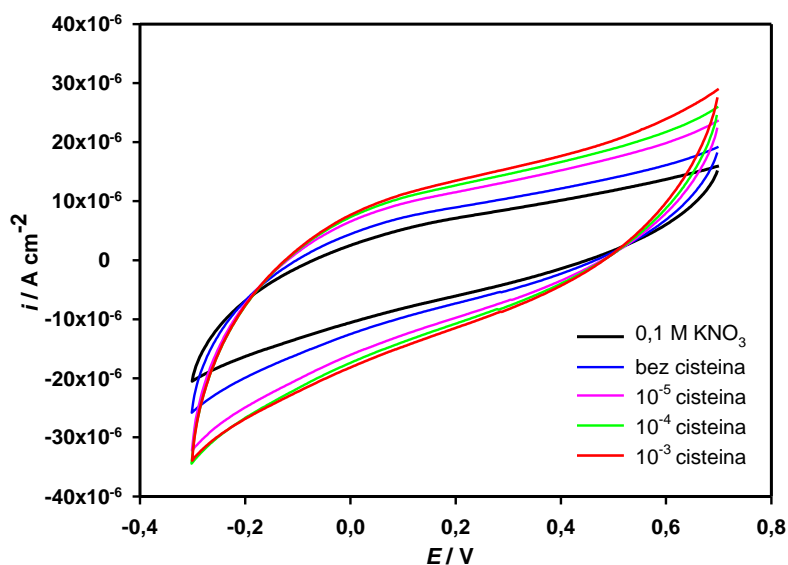
CV snimljeni na elektrodi modificiranoj s 10 mg kompozita (MWCNT-10) u PVC matrici, u prisutnosti cisteina pri različitim pH vrijednostima su prikazani na Slici 20a, Slici 20b i Slici 20c.



*Slika 20a.* Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 5. Elektroda MWCNT-10.



*Slika 20b.* Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 7. Elektroda MWCNT-10.



*Slika 20c.* Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 9. Elektroda MWCNT-10.

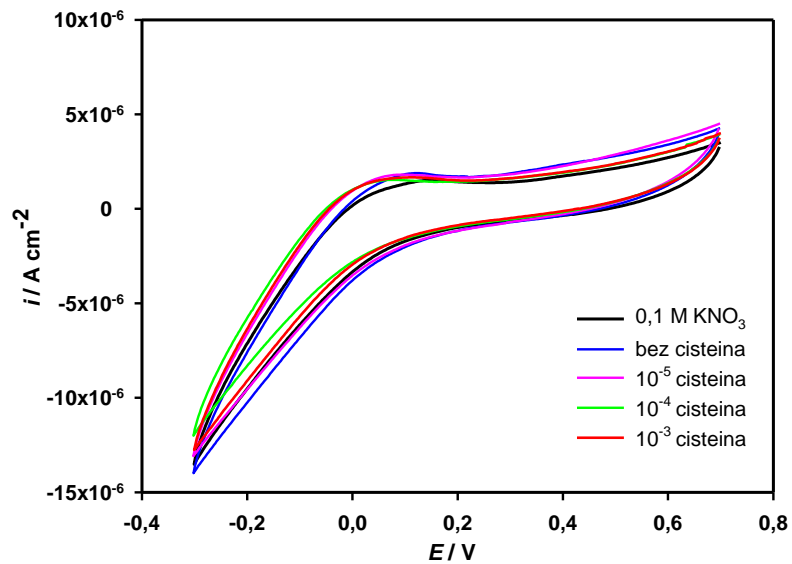
Vidljive su promjene s dodatkom pufera i cisteina pri sve tri pH vrijednosti. Budući je elektroda bila „suha“ moguće promjene se mogu pripisati porastu kapacitivne komponente membrane, obzirom da ova membrana sadržava najmanji udio kompozita sol-gel/MWCNT. Stoga se ova promjena ne može pripisati odzivu prema cisteinu. Ovu



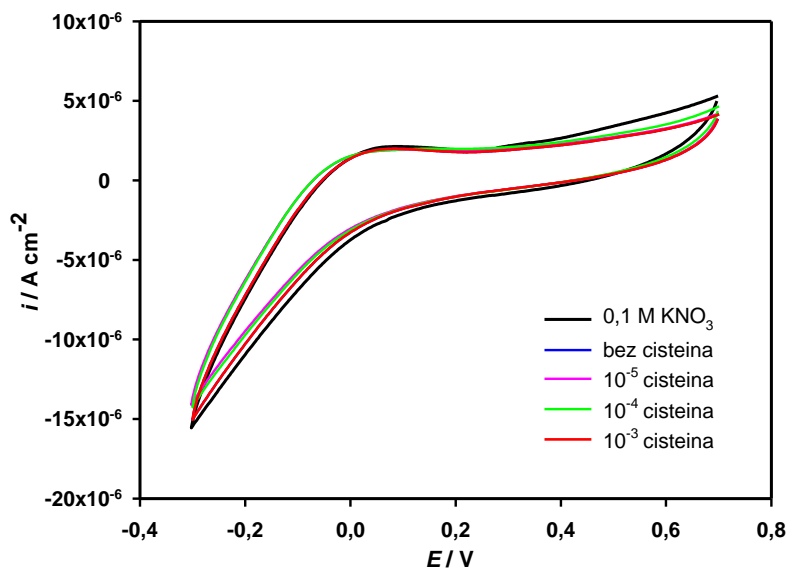
tezu potkrepljuju i podaci za druge dvije elektrode „bogatije“ s MWCNT (vidi Sliku 21. i Sliku 22.).

### 3.1.4. Utjecaj dodatka cisteina na CV u različitim puferima za elektrodu MWCNT-30

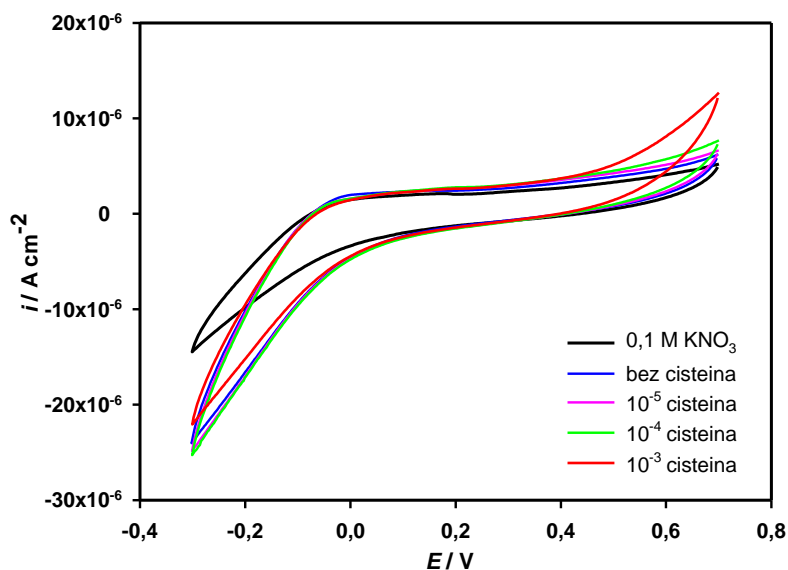
Slika 21a, Slika 21b i Slika 21c prikazuju CV snimljene na elektrodi modificiranoj s 30 mg kompozita (MWCNT-30) u PVC matrici, u prisutnosti cisteina pri različitim pH vrijednostima.



*Slika 21a.* Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 5. Elektroda MWCNT-30.



*Slika 21b.* Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 7. Elektroda MWCNT-30.



*Slika 21c.* Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 9. Elektroda MWCNT-30.

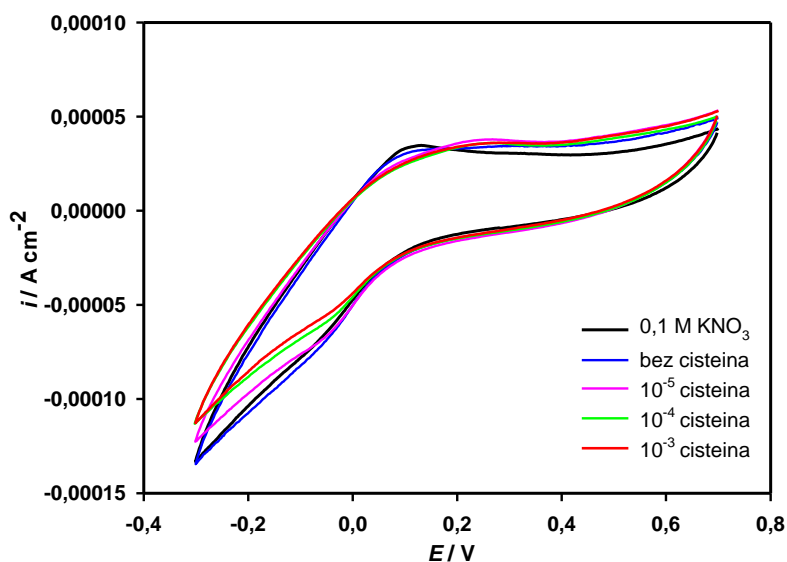
Ne mogu se uočiti značajnije promjene CV s dodatkom cisteina. Jedina značajnija promjena je vidljiva na CV snimljenom pri koncentraciji cisteina  $10^{-3}$  M (pH 9) i to pri anodnim potencijalima (većim od +0,4 V). Moguće objašnjenje povećanja struje pri ovim potencijalima je anodna oksidacija cisteina koji se pri ovim pH vrijednostima nalazi u deprotoniziranoj formi prema jednadžbi (10).

Pri svim pH vrijednostima CV pokazuju rast katodne struje od potencijala 0 ka katodnijim što se pripisuje katodnom izlučivanju molekularnog vodika prema jednadžbi (6).

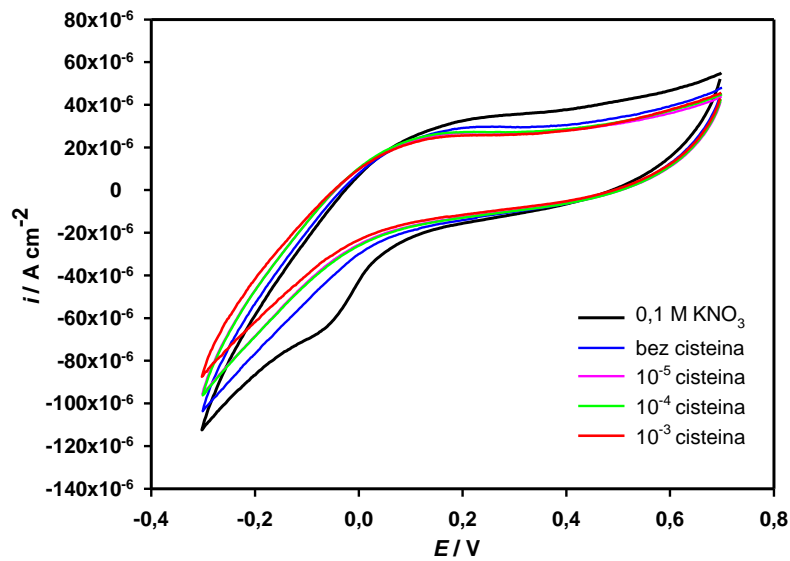
Ova pojava nije vidljiva na elektrodi modificiranoj s 10 mg kompozita (MWCNT-10) zbog smanjene količine vodljive faze. Također s pojavom porasta anodne struje snižavaju se struje katodne reakcije. Moguće objašnjenje leži u adsorpciji produkata jednadžbe (10), cistina, na površini elektrode čime se smanjuje njena efektivna površina (pasivacija produktima oksidacija) što za posljedicu ima i smanjenje struje.

### 3.1.5. Utjecaj dodatka cisteina na CV u različitim puferima za elektrodu MWCNT-50

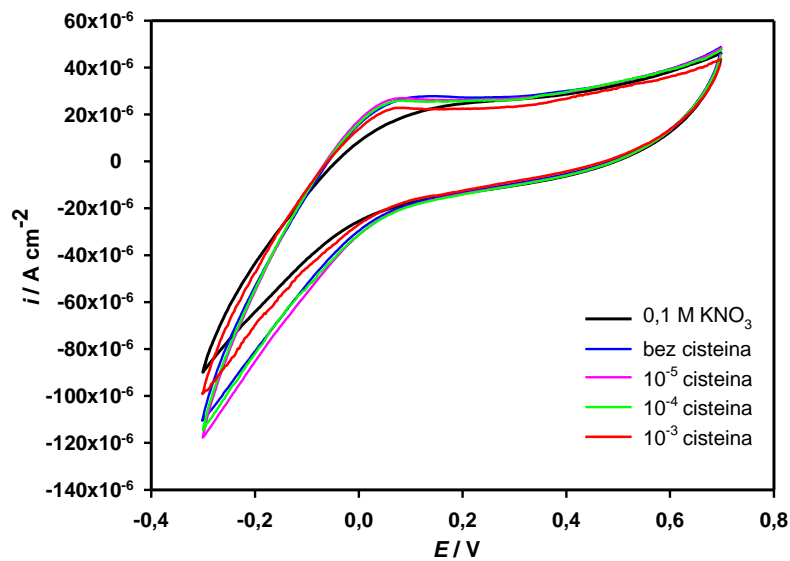
Slika 22a, Slika 22b i Slika 22c prikazuju cikličke voltamograme snimljene na elektrodi modificiranoj s 50 mg kompozita (MWCNT-50) u PVC matrici, u prisutnosti cisteina pri različitim pH vrijednostima.



**Slika 22a.** Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 5. Elektroda MWCNT-50.



*Slika 22b.* Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 7. Elektroda MWCNT-50.

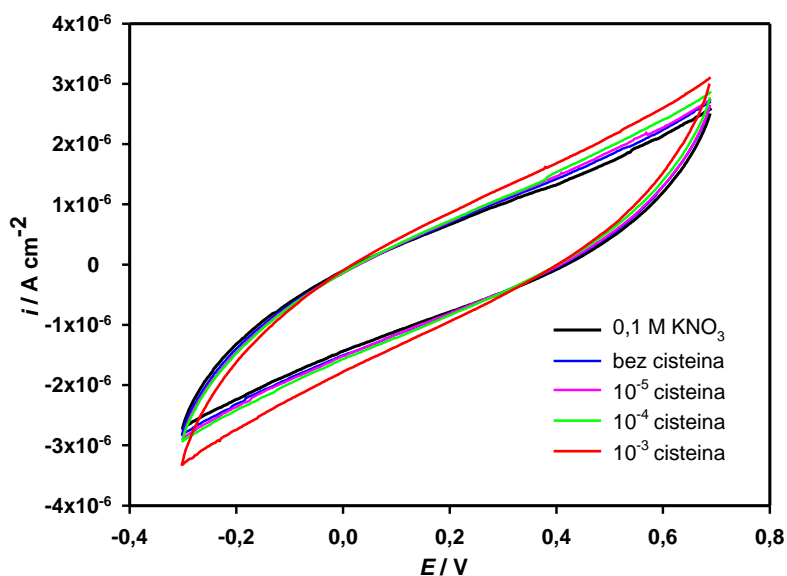


*Slika 22c.* Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 9. Elektroda MWCNT-50.

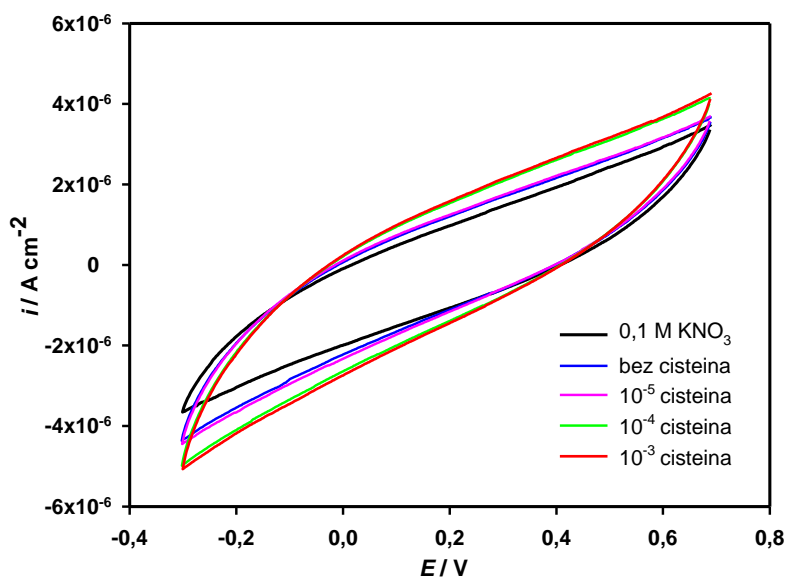
Iznenadujuće, elektroda modificirana s 50 mg kompozita (MWCNT-50) u PVC matrici nije pokazala „odziv“ na cistein ni pri najvišim koncentracijama cisteina kod pH 9. Kod drugih pH vrijednosti vidljiva promjena je samo ona u katodnom području. To izvorno potvrđuju vrijednosti katodnih struja koje opadaju s porastom pH.

### 3.1.6. Utjecaj dodatka cisteina na CV u različitim puferima za elektrodu MWCNT-AgCuS-10

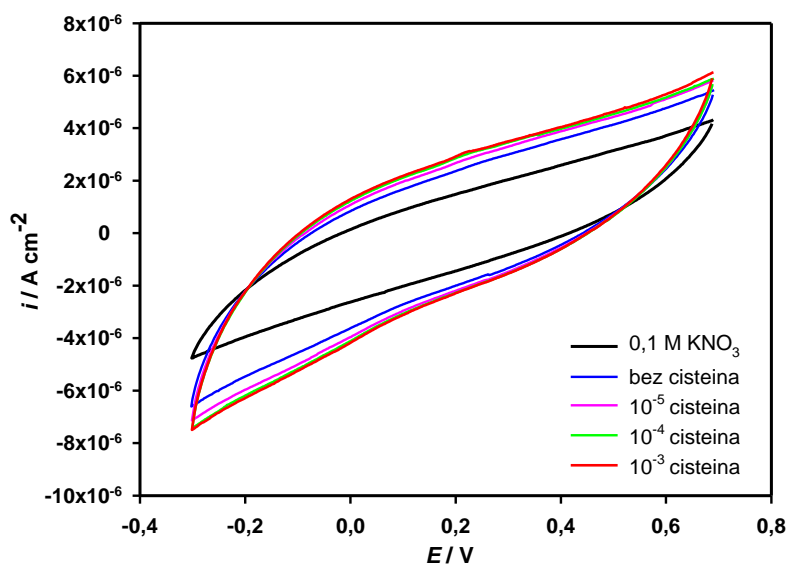
Slika 23a, Slika 23b i Slika 23c predstavljaju CV snimljene na elektrodi modificiranoj s 10 mg kompozita (MWCNT-AgCuS-10) u PVC matrici, u prisutnosti cisteina pri pH 5, pH 7 i pH 9.



*Slika 23a.* Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 5. Elektroda MWCNT-AgCuS-10.



**Slika 23b.** Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 7. Elektroda MWCNT-AgCuS-10.

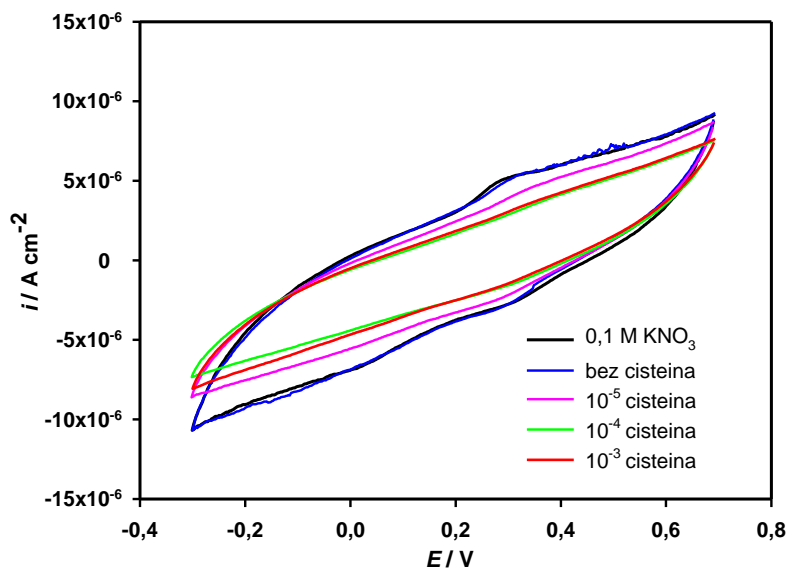


**Slika 23c.** Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 9. Elektroda MWCNT-AgCuS-10.

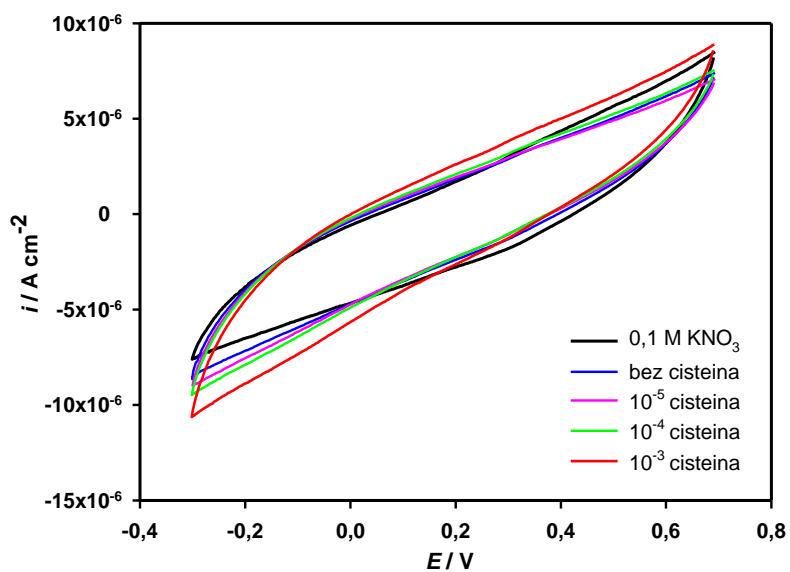
CV snimljeni s kompozitom sol-gel/MWCNT/AgCuS ne pokazuju znatne promjene prema dodatku cisteina. Može se primijetiti smanjenje "promjene" CV zbog smanjena kapacitivne komponente u kompozitu. Nadalje, vrijednosti struja su znatno niže nego za slučaj elektrode modificirane s 10 mg kompozita (MWCNT-10) u PVC matrici što se pripisuje sniženju udjela MWCNT u kompozitu (smanjenje vodljivosti membrane) u odnosu na membranu MWCNT-10.

### 3.1.7. Utjecaj dodatka cisteina na CV u različitim puferima za elektrodu MWCNT-AgCuS-30

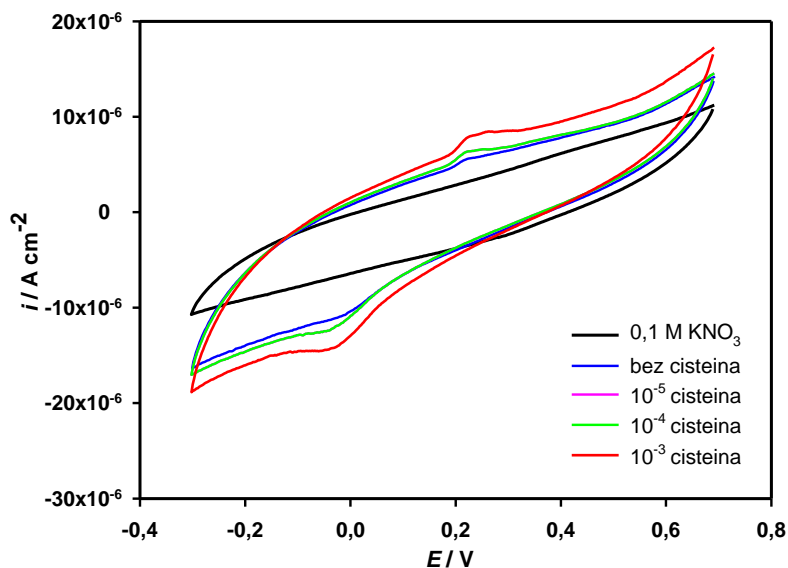
Slika 24a, Slika 24b i Slika 24c predstavljaju CV snimljene na elektrodi modificiranoj s 30 mg kompozita (MWCNT-ACuS-30) u PVC matrici, u prisutnosti cisteina pri pH 5, pH 7 i pH 9.



*Slika 24a.* Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 5. Elektroda MWCNT-AgCuS-30.



*Slika 24b.* Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 7. Elektroda MWCNT-AgCuS-30.



**Slika 24c.** Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 9. Elektroda MWCNT-AgCuS-30.

U kiselom i neutralnom mediju nema značajnije promjene CV s dodatkom cisteina. Značajnije promjene CV s dodatkom cisteina su snimljene pri pH 9. Vidljiva je pojava kako anodnog tako i katodnog pika pri +0,2 V odnosno 0 V, na CV snimljenim u otopini puferiranoj amonijakalnim puferom. Ovi pikovi postaju definiraniji porastom koncentracije cisteina. Ovo sugerira olakšanu oksidaciju elektroaktivnog materijala (AgCuS koji se može smatrati smjesom Ag<sub>2</sub>S i Cu<sub>2</sub>S) pri ovoj pH vrijednosti prema reakciji:



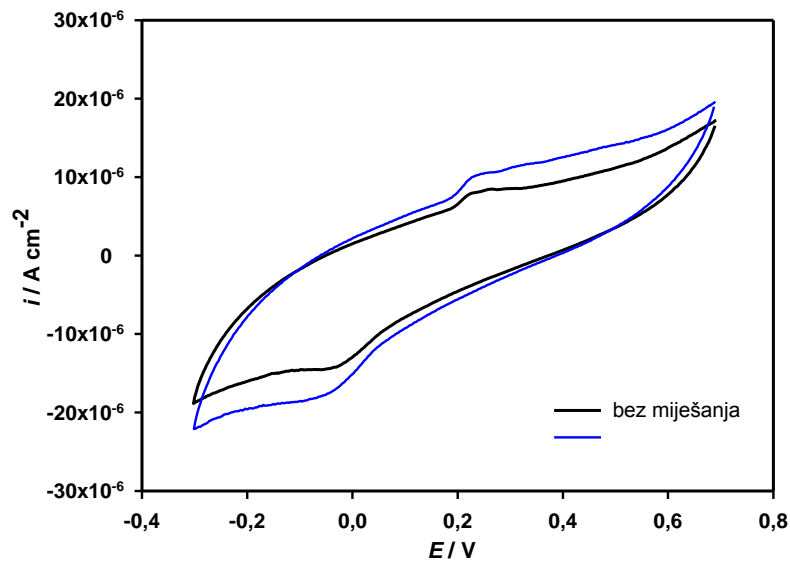
Slijedno ovoj oksidaciji dolazi i do redukcije pri katodnim potencijalima od 0V. Ovu redukciju možemo pripisati redukciji produkata nastalih oksidacijom u reakciji:





### 3.1.8. Utjecaj miješanja na CV pri pH 9 za elektrodu MWCNT-AgCuS-30

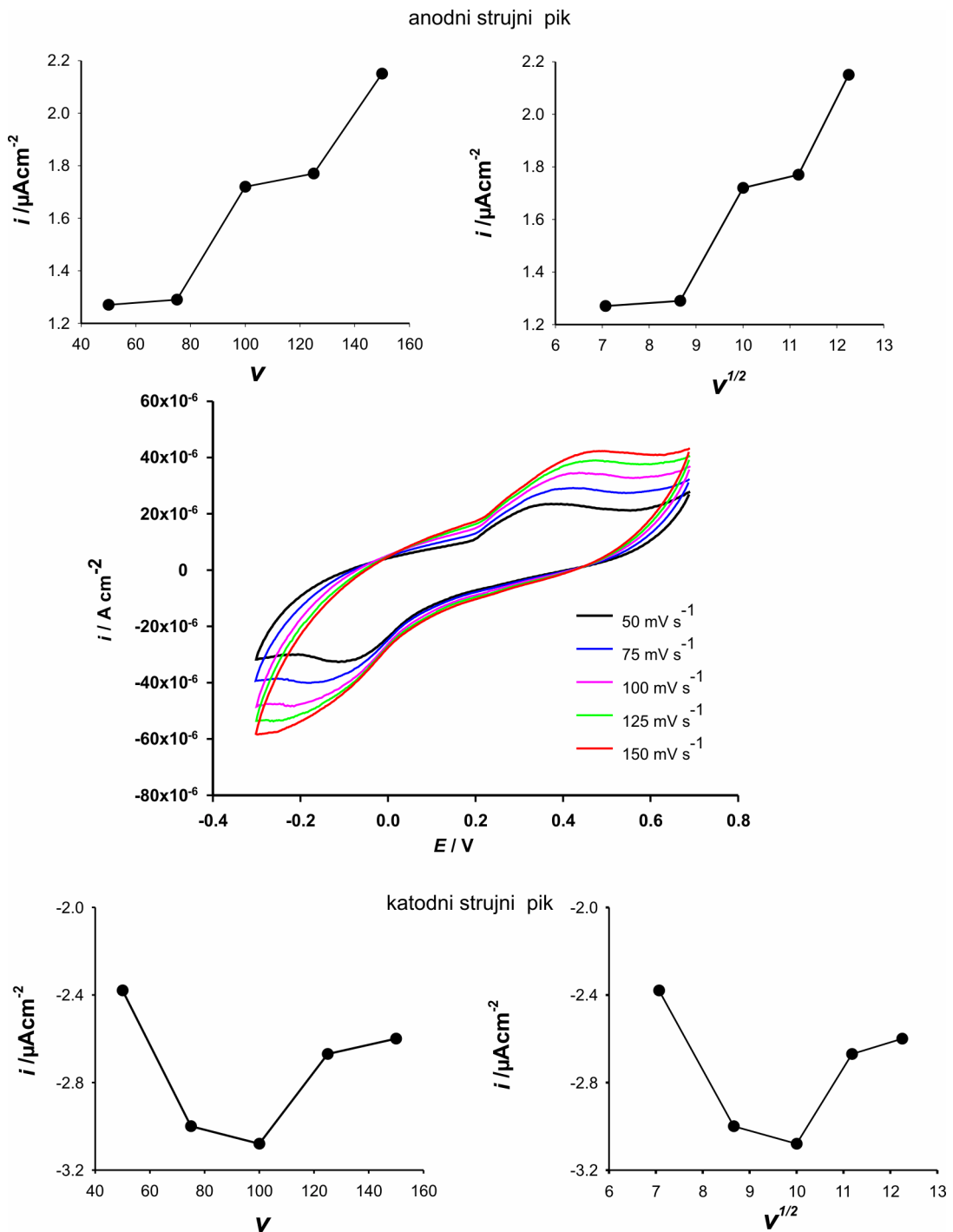
Utjecaj miješanja na CV u svrhu ispitivanja mehanizma reakcije je prikazan na Slici 25.



**Slika 25.** Utjecaj miješanja u otopini puferiranoj amonijakalnim puferom (pH 9).  
Elektroda MWCNT-AgCuS-30.

Može se uočiti blagi porast strujnih pikova kao i razvučenost istih u mjerenjima obavljenih s miješenjem. Ovo sugerira difuzijski kontroliranu reakciju. No, ovo treba uzeti s rezervom imajući u vidu urađena mjerenja prikazana na Slici 28.

### 3.1.9. Utjecaj posmika na CV pri pH 9 za elektrodu MWCNT-AgCuS-30



**Slika 26.** Utjecaj posmika na CV elektrode MWCNT-AgCuS-30 u prisutnosti  $1 \times 10^{-3}$  cisteina u otopini puferiranoj amonijakalnim puferom (pH 9).

Za utvrđivanje mehanizama oksidacije i redukcije snimani su voltamogrami pri različitim brzinama posmika, a pri konstantnoj koncentraciji cisteina. Snimljeni

voltamogramima prikazani su na Slici 26. zajedno s ovisnošću gustoće struje katodnih i anodnih pikova o posmiku i vrijednosti njegovih korijena.

Iz Slike 26 je vidljiv porast strujnih pikova s povećanjem posmika. Zanimljivo je da katodni strujni pikovi, s porastom posmika, postaju manje izraženi te se njihove vršne vrijednosti približavaju konstantnoj vrijednosti što može sugerirati i adsorpcijski mehanizam katodne reakcije. Iz jednadžbe (11) i (12) je vidljivo da se na površini mogu formirati kako spojevi bakrovog(II) kationa ( $\text{CuSO}_4$ ), tako i cisteinski kompleksi bakrovog(I) kationa, iz kojih se može odvijati katodna redukcija navedenih kationa, te stoga ne iznenađuje i mogući adsorpcijski mehanizam. Za anodne strujne pikove ovisnost o posmiku, kao i o njegovom korijenu nije idealno linearna, te se može primjetiti njihov pomak ka anodnim potencijalima s porastom posmika. Ovo može sugerirati kompleksniji mehanizam anodne reakcije i kinetički ograničavajuće faktore (ponajviše se misli na kinetiku prijenosa elektrona). Imajući u vidu, kompleksacijski potencijal kako produkata same oksidacije (RSSR), tako i neproreagiranih  $\text{RS}^-$ , moguće je da se bakrov(I) kation nalazi u jednom svom dijelu u kompleksu s cisteinom (prema reakcijama (12) i (13) iz kojega se odvija oksidacija  $\text{Cu}^+$  u  $\text{Cu}^{2+}$ ). Dakako, dio ovih teza treba potkrijepiti daljnjim eksperimentima.

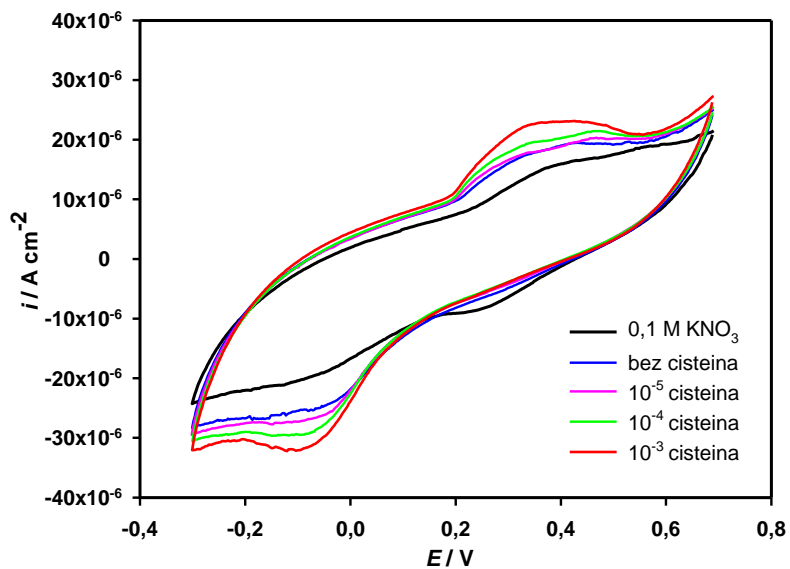
### **3.1.10. Utjecaj dodatka cisteina na CV pri pH 9 za elektrodu MWCNT-AgCuS-30**

Na Slici 27. su prikazani CV snimljeni nakon slijednih mjerenja prikazanih na Slici 24., Slici 25. i Slici 26.

Ova mjerenja su rađena zbog utvrđivanja histereze od prethodnih mjerenja ponajviše utjecaja posmika i prisutnosti cisteina. Naime, u prethodnim mjerenjima utvrđen je mogući udio adsorpcije u elektrokemijskom ponašanju pripremljenih elektroda te se u ovim ispitivanjima pokušalo dobiti uvid u stanje i elektrokemijsko ponašanje elektrode nakon slijednih mjerenja CV.

Vidljiv je efekt histereze, čak i na CV mjerenom u čistom  $\text{KNO}_3$ . Nadalje, dodatkom pufera i cisteina dolazi do značajnijeg porasta strujnih pikova kako anodnih tako i katodnih, što može sugerirati pojačanu osjetljivost elektroda za iste koncentracije cisteina kao i pri mjerenjima čiji su rezultati prikazani na Slici 24. Ovu pojavu se može dovesti u kontekst apsorbiranih vrsta na površini elektrode ili utjecajem močenja

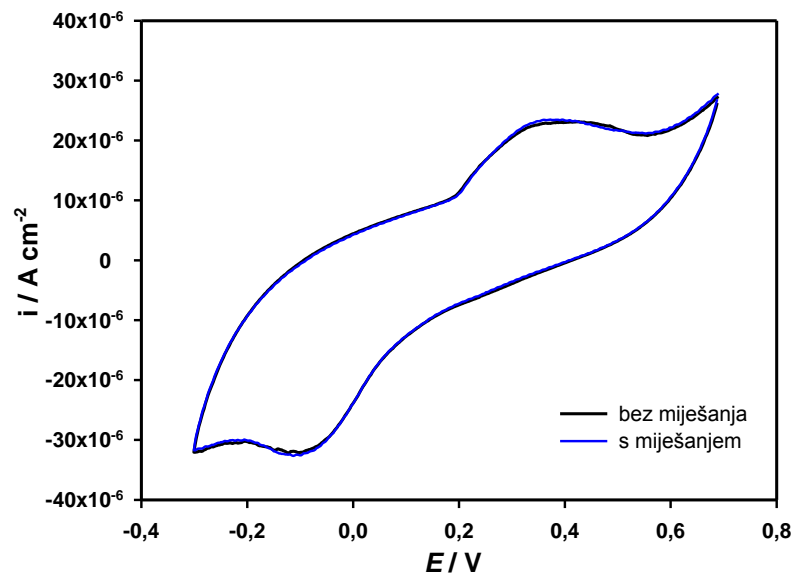
elektrode u elektrolitima, čime se može bitno povećao broj aktivnih elektrokatalitičkih centara u dodirnom dijelu membrane s otopinom.



**Slika 27.** Utjecaj dodatka cisteina na CV u otopini puferiranoj amonijakalnim puferom (pH 9) nakon mjerenja prikazanih na slici 9. Elektroda MWCNT-AgCuS-30.

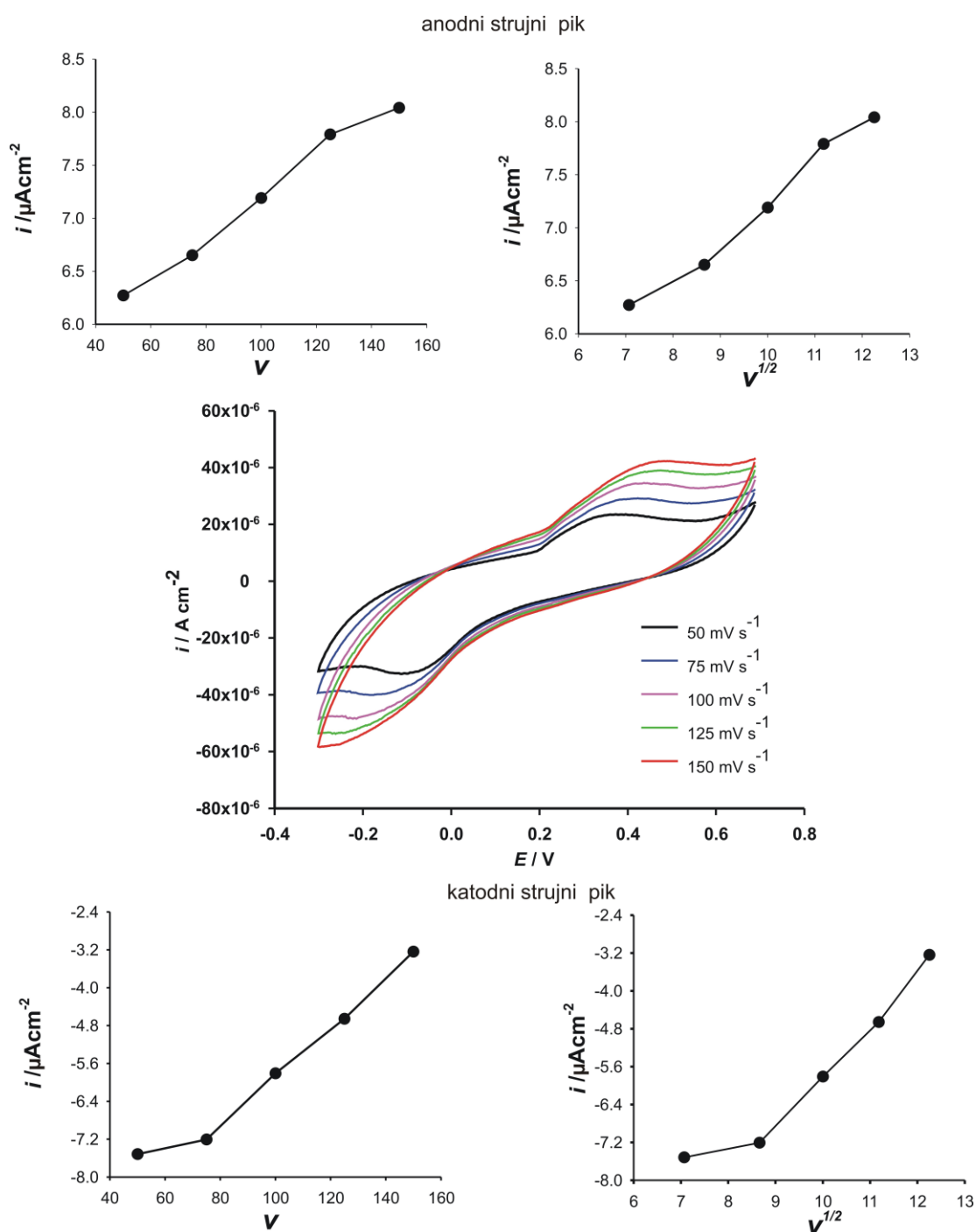
### 3.1.11. Utjecaj miješanja na CV pri pH 9 za elektrodu MWCNT-AgCuS-30

Slika 28. prikazuje utjecaj miješanja u otopini, pri pH 9 nakon mjerenja prikazanih na Slici 27. Za razliku od Slike 25., u ovom slučaju nije vidljiva promjena s miješanjem što ide ponovo u prilog adsorpcijskom mehanizmu reakcije.



*Slika 28.* Utjecaj miješanja u otopini puferiranoj amonijakalnim puferom (pH 9).  
Elektroda MWCNT-AgCuS-30.

### 3.1.12. Ispitivanje reproducibilnosti rezultata utjecaja posmika na CV pri pH 9 za elektrodu MWCNT-AgCuS-30



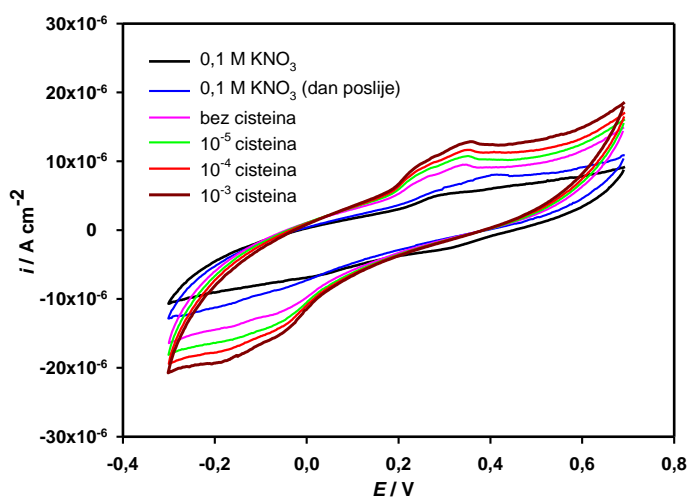
**Slika 29.** Ispitivanje reproducibilnosti rezultata utjecaja posmika na CV u prisutnosti  $1 \times 10^{-3}$  cisteina u otopini puferiranoj amonijakalnim puferom (pH 9). Elektroda MWCNT-AgCuS-30.

Slika 29. prikazuje CV snimljene pri različitim posmicima. Za razliku od rezultata dobivenih i prikazanih na Slici 26. ovdje se mogu uočiti definirani strujni pikovi i mnogo veća linearnost u ovisnosti o posmiku i njegovom korijenu. Razlozi leže u definiranim i stabilnijem osjetilnom sloju-u kontekstu kondicioniranja elektrode-odnosno elektroda se profilirala u dodiru s elektrolitima. Nadalje, snimljeni CV ukazuju na pomak potencijala strujnog pika s porastom brzine posmika čime se potvrđuje teza o kinetički ograničavajućem parametru-prijenosa elektrona s i ka elektrodi.

Ovako dobiveni podaci su usmjerili istraživanja ka utjecaju „čuvanja“ elektrode prije samih mjerenja. Stoga su naredna ispitivanja usmjerena na snimanje CV, utjecaja posmika za elektrodu koja je različito čuvana, na suhom i u 0,1 M KNO<sub>3</sub>.

### 3.1.13. Utjecaj čuvanja elektrode na suhom MWCNT-AgCuS-30 na CV snimljene pri pH 9 u prisutnosti cisteina

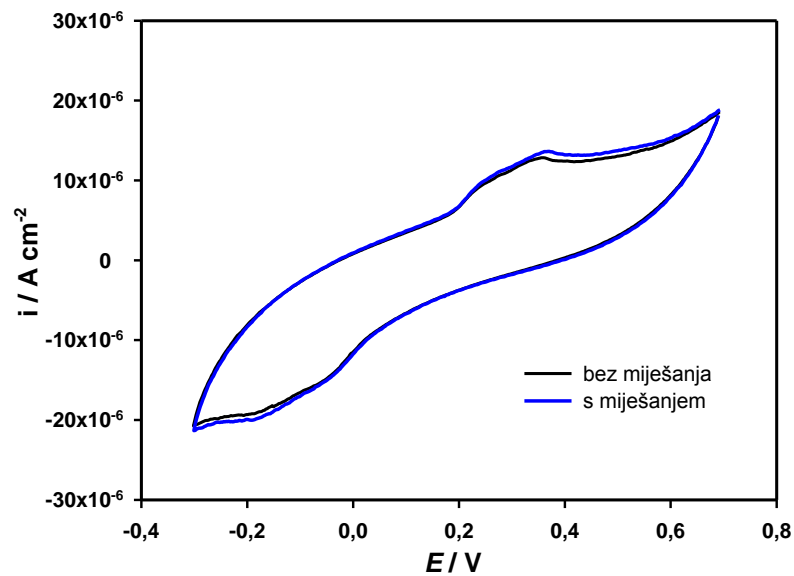
Na Slici 30. su prikazani CV snimljeni nakon što je elektroda bila čuvana preko noći "na suhom". Ovako snimljeni CV pokazuju elektrokemijsko ponašanje slično mjerenjima snimljenim odmah po izradi elektrode (Slika 24c). No, ne može se zanemariti i utjecaj prethodnih mjerenja (Slika 27.). Ovo sugerira „povratak“ elektrode ka početnom stanju i odzivu ukoliko se ona čuva dovoljno dugo na suhom



**Slika 30.** Utjecaj dodatka cisteina na CV u otopini puferiranoj amonijakalnim puferom (pH 9) nakon mjerenja prikazanih na slici 26. Elektroda MWCNT-AgCuS-30 na suhom preko noći.

### 3.1.14. Utjecaj miješanja na CV pri pH 9 za elektrodu MWCNT-AgCuS-30

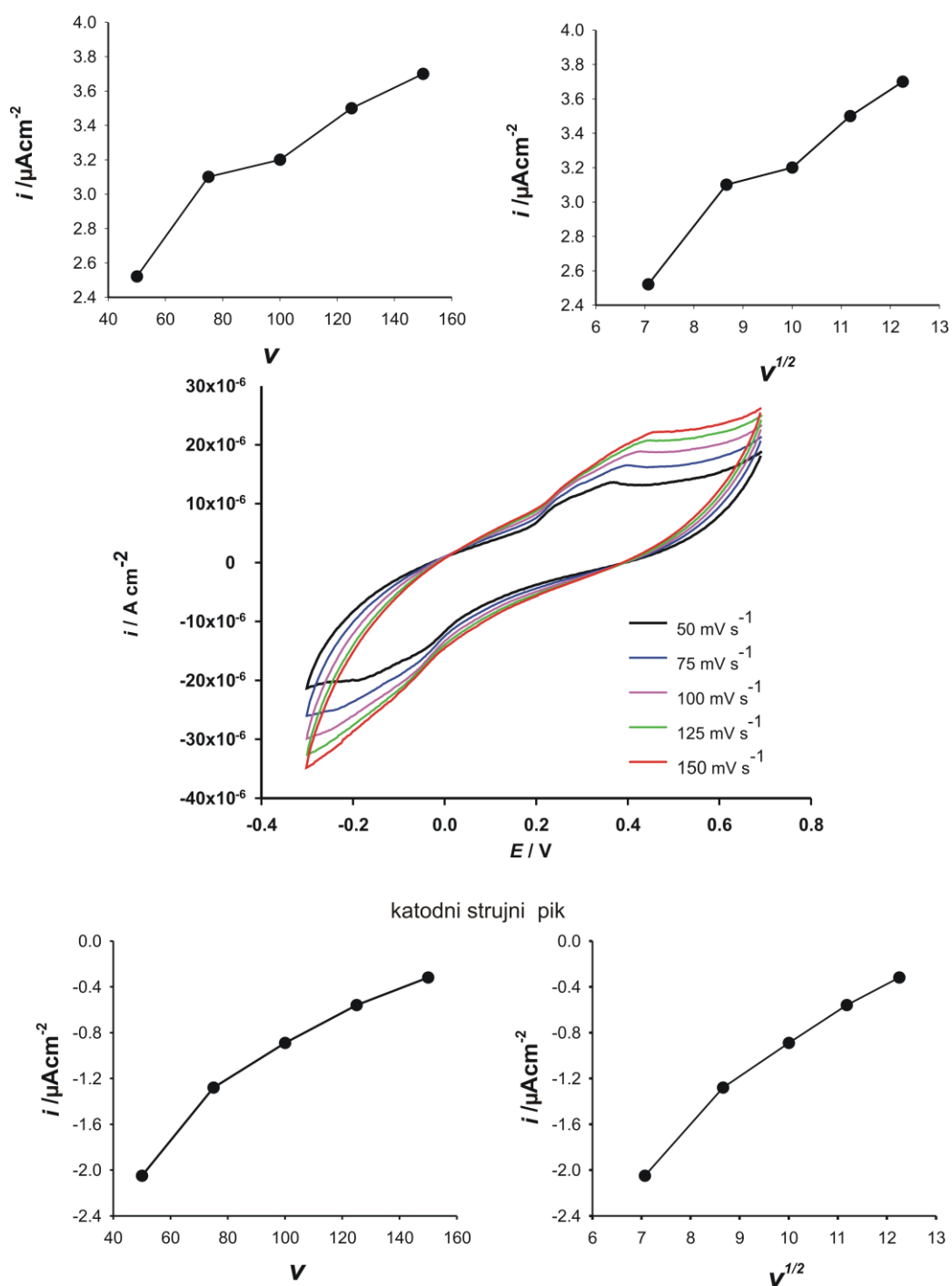
Utjecaj miješanja na CV za elektrodu MWCNT-AgCuS-30 je prikazan na Slici 31. Za razliku od Slike 25., u ovom slučaju nije vidljiva promjena s miješanjem (kao i na Slici 28) što ide u prilog apsorpcijskom mehanizmu reakcije.



*Slika 31.* Utjecaj ispitivanja reproducibilnog miješanja u otopini puferiranoj amonijakalnim puferom (pH 9). Elektroda MWCNT-AgCuS-30



### 3.1.15. Utjecaj posmika na CV pri pH 9 za elektrodu MWCNT-AgCuS-30 anodni strujni pik

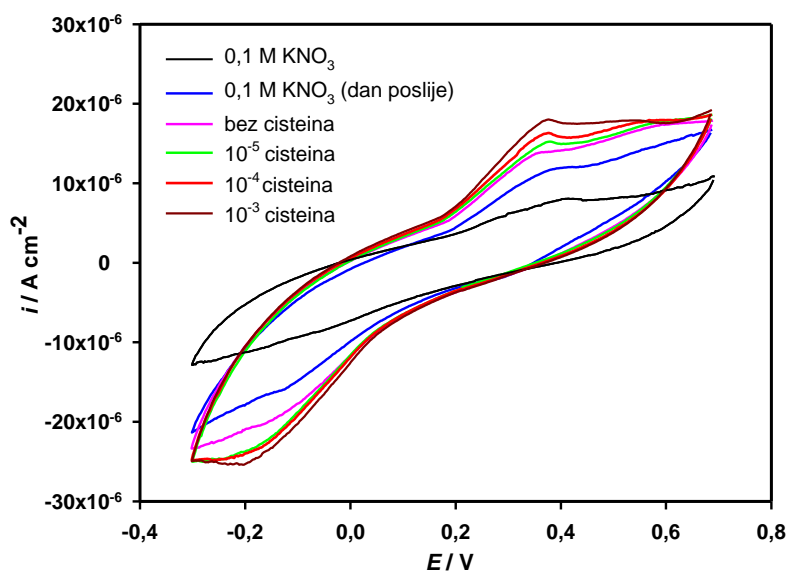


**Slika 32.** Utjecaj posmika na CV u prisutnosti  $1 \times 10^{-3}$  cisteina u otopini puferiranoj amonijakalnim puferom (pH 9). Elektroda MWCNT-AgCuS-30.

Ne mogu se opaziti značajnija odstupanja od ponašanja uočenih kod prethodnih mjerenja CV u ovisnosti o posmiku (Slika 29.).

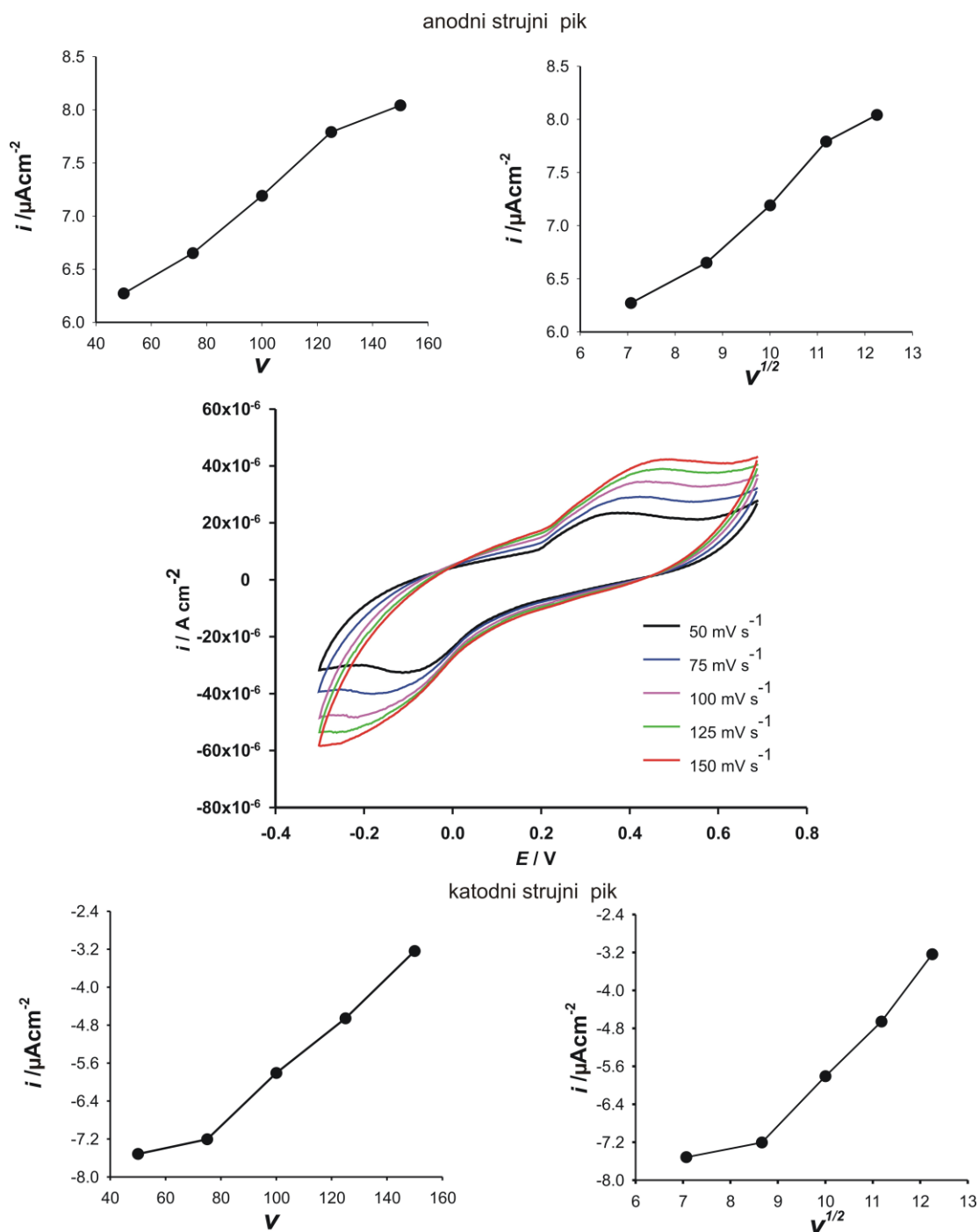
### 3.1.16. Utjecaj kondicioniranja elektrode MWCNT-AgCuS-30 na CV u prisutnosti cisteina pH 9

Nakon prethodnih mjerenja, elektroda je kondicionirana u otopini kalijevog nitrata ( $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ ) te su se snimili CV pri istim uvjetima kao i u prethodnim mjerenjima. Na slici 33. su prikazani CV snimljeni za elektrodu modificiranu s 30 mg kompozita (MWCNT-AgCuS-30) u PVC matrici nakon što je preko noći bila kondicionirana u  $0,1 \text{ M KNO}_3$ . Vidljiva je značajna promjena CV snimljenog u  $\text{KNO}_3$ , nakon kondicioniranja. Ovo povećanje osjetljivosti sugerira „punjenje“ osjetilnog sloja s elektrolitom čime se povećava efektivna elektroaktivna površina (u koju sada ulazi i ona u unutrašnjosti membrane).



**Slika 33.** Utjecaj dodatka cisteina na CV u otopini puferiranoj amonijakalnim puferom (pH 9) nakon mjerenja prikazanih na slici 9. Elektroda MWCNT-AgCuS-30 čuvana u  $0,1 \text{ M KNO}_3$  preko noći.

### 3.1.17. Utjecaj posmika na CV pri pH 9 za elektrodu MWCNT-AgCuS-30



**Slika 34.** Utjecaj posmika na CV u prisutnosti  $1 \times 10^{-3}$  cisteina u otopini puferiranoj amonijakalnim puferom (pH 9). Elektroda MWCNT-AgCuS-30.

Utjecaj posmika na CV snimljene na elektrodi modificiranoj s 30 mg kompozita (MWCNT-AgCuS-30) u PVC matrici pri  $10^{-3}$  cisteina i pH 9 prikazan je na slici 34. Ovi CV su po obliku slični onima prikazani na Slici 29., što i ne iznenađuje imajući u vidu

da je elektroda u oba slučaja bila kondicionirana. U slučaju CV na slici 29 kondicionirana je bila u kontekstu prethodno izvršenih mjerenja.

Mjerenja obavljena s elektrodom MWCNT-AgCuS-50 sugeriraju identično ponašanje ove elektrode kao i elektrode MWCNT-AgCuS-30 kod različitih mjerenja i načina čuvanja (kondicioniranje ili čuvanje na "suhom").

Na osnovu dobivenih rezultata i analize CV, pokušalo se razviti optimalnu metodu za elektrokemijsko određivanje cisteina na ovako pripremljenim elektrodama. Iznenadjujuće, amperometrijska mjerenja kako pri katodnim, tako i pri različitim vrijednostima anodnih potencijala (određenim položajem strujnih pikova) nisu dali relevantne i reproducibilne rezultate.

Nadalje, kako se u samim procesima koji se događaju na dodirnoj površini faza otopina-membrana, sumnjalo na adsorpcijski mehanizam, tako se kao prikladna metoda iskristalizirala i "stripping" voltometrija (anodnog otapanja). Naime, parametri za elektroanalitičko određivanje cisteina ovom metodom su postavljeni (na takvim potencijalima) da dođe do adsorpcije kompleksa koji sadržavaju bakrove katione na površini elektrode, te da ih se slijedno, katodno ili anodno oksidira ili reducira. Unatoč brojnim promjenama parametara, relevantni rezultati nisu postignuti.

Iako je evidentno da postoji elektroaktivnost cisteina na ovako pripremljenim membranama koji čak i sugeriraju elektrokemijsko određivanje cisteina pogodnom metodom, u ovom radu se ta metoda nije uspjela primijeniti. Razlozi mogu biti kako kinetičke prirode, tako i u problemima vezanim za samu izradu elektrode (reproducibilnost izrade) i njenog čuvanja. Budući da potraga za elektrodom i metodom kojom bi se s ovako pripremljenim modifikatorom moglo određivati cistein prelazi granice ovog diplomskog rada, to je pitanje i ispitivanje za buduća istraživanja.

#### **4. ZAKLJUČAK**

1. Pripravljene su kompozitni materijali sol-gel postupkom (kserogeli) koji su sadržavali ugljikove materijale te ugljikove materijale i ternarni sulfid AgCuS.
2. Razvijeni kserogelni kompoziti su upotrijebljeni kao osjetilni elementi u poli(vinil) klorid matricama za modificiranje površine elektrode od staklastog ugljika.
3. Ispitivano je elektrokemijsko ponašanje ovako modificiranih elektroda pri različitim pH vrijednostima u prisutnosti cisteina. Uočena je elektroaktivnost cisteina, kako na anodnim tako i na katodnim potencijalima, na elektrodi koja je modificirana s kserogelom koji je sadržavao 30 mg smjese MWCNT-AgCuS, pri pH 9.
4. Elektrokemijsko ponašanje ove elektrode je praćeno pri različitim uvjetima čuvanja elektrode (kondicionirana i ne kondicionirana). Uočena je ovisnost elektrokemijskog ponašanja u ovisnosti o čuvanju elektrode.
5. Elektrokemijski procesi u kojima sudjeluje cistein na ovoj elektrodi su kompleksne prirode i uključuju adsorpcijske procese. Nadalje, uočena je značajna histereza poslije obavljenih mjerenja, sugerirajući ireverzibilni karakter elektrokemijskih procesa na elektrodi.
6. Na osnovu analiza dobivenih rezultata, nekoliko metoda je upotrijebljeno u svrhu elektrokemijskog određivanja cisteina na ovako modificiranoj elektrodi (amperometrija, voltometrija otapanja, i sl.) no niti jedna nije dala relevantne rezultate.
7. Potencijal za elektrokemijsko određivanje cisteina na ovako modificiranim elektrodama postoji, no potrebna su dodatna istraživanja, kako samog elektrodnog sastava, tako i kondicioniranja i odabira metode i njenih parametara, za dostizanje zadanog cilja.

## **1. LITERATURA**

- [1] V. W. Rodwell, D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kennelly, P. A. Weil, *Harper's Illustrated Biochemistry*, US: The McGraw-Hill Education, **2015**
- [2] G. C. Barrett, *Chemistry and Biochemistry of the Amino Acid*, London: Chapman and Hall, **1985**
- [3] G. Wu, *Amino Acids - Biochemistry and Nutrition*, Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC, **2013**
- [4] J. T. Moore, R. H. Langley, *Biochemistry for Dummies*, Indianapolis, Indiana: Wiley Publishing, Inc., **2011**
- [5] R. J. Flanagan, D. Perrett, R. Whelpton, Cambridge: *Electrochemical Detection in HPLC - Analysis of Drugs and Poisons*, The Royal Society of Chemistry, **2015**
- [6] A. B. Hughes, *Amino Acids, Peptides and Proteins in Organic Chemistry - Analysis and Function of Amino Acids and Peptides*, Weinheim: Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA., **2012**
- [7] S. Brinić, M. Buzuk, M. Bralić, M. Buljac & D. Jozić, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2012**, 7,14.
- [8] R. J. Cremlyn, *An Introduction to Organosulfur Chemistry*, West Sussex: John Wiley & Sons Ltd, **1996**
- [9] R. Höffer, *Sustainable Solutions for Modern Economies*, Cambridge: The Royal Society of Chemistry, **2009**
- [10] T. Filetin, K. Grilec, *Postupci modificiranja i prevlačenja površina - priručnik za primjenu*, Hrvatsko društvo za materijale i tribologiju, Zagreb, **2004**
- [11] J. Macan, *Organsko-anorganski hibridi dobiveni sol-gel procesom: kinetika očvršćivanja i svojstva*; Magistarski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, **2002**.
- [12] A. Vugrinčić, L. Levačić, *Nanostrukturirani sol-gel TiO<sub>2</sub>-ZrO<sub>2</sub> filmovi: priprava, karakterizacija i povećanje otpornosti na koroziju nehrđajućeg čelika*, Fakultet strojarstva i brodogradnje, Zagreb, **2013**
- [13] P. Dabić: *Primjena sol-gel procesa za pripremu anorganskih materijala posebnih svojstava*; Kemijsko-tehnološki fakultet, Split, (preuzeto s interneta dana 01.08.2019.)



- [14] X. Yang, Y. Ding, J. Fei, B. Feng, X He, F Li, *Microchim Acta*, **2013**, 180, 935-956
- [15] M. Buzuk, Razvoj senzora za određivanje ionskih vrsta u vodenom mediju, Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, **2010**
- [16] R. Eugster, *Anal. Chim., Acta* 289, **1994**, 1-13
- [17] J.O.M. Bockris, A.K.N. Reddy, M. Gamboa-Aldeco, *Modern Electrochemist 2A*, Fundamentals of Electrodeics, 2nd Edition, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, **2000**
- [18] I. Piljac, *Elektroanalitičke metode*, RMC Zagreb, **1995**
- [19] H.H. Girault, *Analytical and Physical Electrochemistry*, Lausanne: EPFL Press. **2004**.
- [20] J. W. Robinson, E. M. Skelly Frame, G. M. Frame II, *Undergraduate Instrumental Analysis*, Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC, **2014**
- [21] F. Scholz, *Electroanalytical Methods*, Berlin: Springer-Verlag, **2010**
- [22] D. Krivić, *Elektrokemijsko ponašanje L-cisteina na miješanim srebro – bakrovim sulfidima u svrhu analitičke primjene*, Završni rad, Kemijsko-tehnološki fakultet, Split, **2016**
- [23] <http://goldbook.iupac.org/html/G/G02639.html> (preuzeto 06.08.2019.)
- [24] G.M. Jenkins, K. Kawamura, *Nature*, **1971.**, 231,175
- [25] I. Piljac, *Senzori fizikalnih veličina i elektroanalitičke metode*, Media print, Zagreb, **2010**
- [26] <https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=srebro%2Fsrebrov+klorid+elektroda> (preuzeto 12.08.2019.)
- [27] M. Buzuk, *Kemijski senzori i biosenzori*, neregulirani nastavni materijal (ppt prezentacija), Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, Split, **2018**
- [28] <https://www.aliexpress.com/item/Platinum-foil-platinum-electrode-auxiliary-anode-PTFE-jacket-0-3mm-reference/32378635724.html>(preuzeto 12.08.2019.)