

Elektrokemijska detekcija antioksidansa na elektrodi od grafitne paste s nanočesticama titan dioksida

Gospić, Ema Antonia

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:415696>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-27**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Ema Antonia Gospić

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2015.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Ema Antonia Gospić

**ELEKTROKEMIJSKA DETEKCIJA ANTIOKSIDANSA NA ELEKTRODI OD
GRAFITNE PASTE S NANOČESTICAMA TITAN DIOKSIDA**

DIPLOMSKI RAD

Voditelj rada: Prof. dr. sc. Sanja Martinez

Članovi ispitnog povjerenstva:

Prof. dr. sc. Sanja Martinez

Doc. dr. sc. Marijana Kraljić Roković

Dr. sc. Martina Periša

Zagreb, rujan 2015.

Zahvaljujem:

Svojoj mentorici, prof. dr. sc. Sanji Martinez na mogućnosti realizacije ovog rada, svim savjetima, ukazanom strpljenju i pomoći bez koje bi ovaj rad bio nezamisliv.

Svim djelatnicima Zavoda za elektrokemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije koji su na bilo koji način pomogli pri izradi ovog rada, na njihovim stručnim savjetima i ugodnom radnom okruženju.

Posebno se zahvaljujem svojoj obitelji i prijateljima na podršci, strpljenju i razumijevanju kroz sve ove godine, ali najviše zato što su vjerovali u mene kad ni ja sama nisam. Ovo je, prije svega, vaš uspjeh.

SAŽETAK

U ovom radu istražen je utjecaj modifikacije elektrode od grafitne paste nanočesticama titan dioksida u svrhu poboljšanja osjetljivosti i selektivnosti elektrode. Grafitna pasta modificirana je sa 15 odnosno 30% nanočestica TiO_2 , ali s obzirom da u preliminarnim istraživanjima povećanje udjela nanočestica nije dovelo do poboljšanja signala, daljnja istraživanja nastavljena su na elektrodi s 15% TiO_2 . Odziv modificirane elektrode ispitan je cikličkom voltametrijom u otopinama šest antioksidansa: askorbinske, mokraćne, galne, kumarinske, kavene i klorogenske kiseline. Elektroda je također osvijetljena UV lampom da bi se ispitaio utjecaj fotokatalitičkog efekta nanočestica titan dioksida na njen odziv. Dobiveni rezultati uspoređeni su sa odzivom elektrode od čiste grafitne paste i pokazuju da se dodatkom nanočestica TiO_2 , već na sobnom osvijetljenju, a posebice pod UV lampom, oksidacijska struja povećava, a strujni vrhovi se pomiču prema nižim potencijalima.

Budući da se oksidacijski strujni vrhovi svih ispitivanih kiselina nalaze na bliskim potencijalima, odziv modificirane elektrode ispitan je i u devet otopina njihovih mješavina. Najbolji odziv odnosno najbolje razdvajanje signala postignuto je u mješavinama s kumarinskom kiselinom, dok je najgore u otopinama s askorbinskom kiselinom. UV svjetlost ne poboljšava značajno odziv mješavina na modificiranoj elektrodi.

Ključne riječi: antioksidansi, elektroda od grafitne paste, nanočestice TiO_2 , fotokatalitički efekt, ciklička voltometrija

SUMMARY

For the purposes of this study, carbon paste electrode was modified with TiO_2 nanoparticles in order to enhance its sensitivity and selectivity. The paste was modified with 15 and 30% of nanoparticles, but since the larger amount of TiO_2 didn't improve the given signal, further studies were conducted only with 15% TiO_2 modified carbon paste electrode. The electrochemical behaviour of the modified electrode was investigated by cyclic voltammetry in water solutions of six antioxidants: ascorbic, uric, gallic, coumaric, caffeic and chlorogenic acid. The electrode was also illuminated with UV lamp to study photocatalytic effect of TiO_2 . Obtained results were compared to the results on the bare carbon paste electrode and they show that the presence of TiO_2 , especially under the UV illumination, improved the sensitivity by enhancing peak currents and shifting the oxidation potentials to lower values.

Since all investigated acids have quite close oxidation potentials, cyclic voltammetry with modified electrode was performed in nine mixtures of the acids. Best response was obtained in mixtures with coumaric acid, while the response was worst in ascorbic acid mixtures. In almost all the cases, UV light didn't improve significantly signal of antioxidant mixtures.

Key words: antioxidants, carbon paste electrode, TiO_2 nanoparticles, cyclic voltammetry

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. Antioksidansi.....	3
2.2. Ciklička voltametrija	9
2.2.1. Ciklički voltamogram za reverzibilnu reakciju	10
2.2.2. Ciklički voltamogram za ireverzibilnu reakciju	11
2.2.3. Kapacitivna komponenta struje	12
2.3. Titan dioksid.....	13
2.3.1. Fotokatalitički efekt.....	13
2.3.2. Modifikacija elektrode od grafitne paste s TiO ₂ nanočesticama	15
3. EKSPERIMENTALNI DIO	16
3.1. Priprema radne elektrode	16
3.2. Aparatura.....	16
3.3. Elektrokemijska ćelija.....	17
3.4. Otopine	19
3.5. Postupak mjerenja	19
4. REZULTATI.....	20
4.1. Usporedba odziva elektroda modificiranih s 15 i 30% TiO ₂ nanočestica.....	20
4.2. Ciklički voltamogrami u osnovnom elektrolitu	21
4.3. Ciklički voltamogrami ispitivanih kiselina	23
4.4. Ciklički voltamogrami mješavina	27
4.5. Ciklički voltamogrami feri-cijanida	36

5. RASPRAVA	37
5.1. Odziv ispitivanih kiselina na modificiranoj elektrodi	37
5.2. Aktivna površina	44
5.3. Broj izmijenjenih elektrona.....	44
5.4. Odziv mješavina ispitivanih kiselina na modificiranoj elektrodi.....	46
6. ZAKLJUČAK	48
7. POPIS SIMBOLA.....	49
8. LITERATURA	50
ŽIVOTOPIS.....	53

1. UVOD

Neka od najuzbudljivijih istraživanja što utiru nove znanstvene putove usmjerena su na nanomaterijale i nanotehnologije. Pod nanostrukturiranim materijalima podrazumijevaju se materijali zrnate ili slojevite strukture, sastavljeni od gradivnih čestica (zrna, kristalita ili pak slojeva) u području dimenzija od 1 do 100 nm. Takve ultrafine mikrostrukture pokazuju nova, tehnološki zanimljiva svojstva koja su od velike važnosti za razvoj novih proizvoda i aplikacija [1].

Prije više od 40 godina, eksperimentirajući sa kristalima titanovog oksida, tada još uvijek student Akira Fujishima otkrio je da elektrode od titanovog dioksida obasjane svjetlošću mogu rastaviti vodu na vodik i kisik. Kasnije je primijećeno da se smanjenjem čestica do nano razine, svojstva poboljšavaju. Razlog tomu je što, kao prvo, sve manje od 50 nm ne podliježe više zakonima klasične već kvantne fizike. To znači da nanočestice mogu imati sasvim nova optička, magnetna ili električna svojstva od materijala od kojeg su nastale. S druge pak strane, smanjenjem veličine čestica drastično se smanjuje omjer između mase i površine. Zbog velike specifične površine koju posjeduju, nanočestice imaju znatan utjecaj na svoj okoliš, odnosno, 2 grama nekog materijala u nanočesticama bit će mnogo reaktivnija od 2 grama tog istog materijala u česticama makroskopske veličine. Nanočestice kristalne strukture na svojoj površini obiluju atomima koji su slabije povezani u odnosu na one u unutrašnjosti čestice. Stoga ti atomi na površini imaju veliki afinitet za reagiranjem sa tvarima iz okoliša. Fujishimino otkriće rezultiralo je sa više od 6000 različitih patenata, 12 konferencija o uporabi fotokatalitičkih svojstava titanovog dioksida u pročišćavanju vode i zraka i zaštiti od korozije te više od 700 milijuna dolara vrijednih gospodarskih aktivnosti na području Europe i Azije. Danas se nanočestice titanovog dioksida upotrebljavaju u različite svrhe, od izgradnje solarnih ćelija, pročištača zraka i vode, premaza za zaštitu od korozije sve do kozmetičkih proizvoda [2, 3].

Cilj ovog rada je uporaba nanočestica titan dioksida za modifikaciju elektrode od grafitne paste u svrhu detekcije antioksidansa. Naime, sa povećanjem eksperimentalnih, kliničkih i epidemioloških podataka koji pokazuju pozitivne efekte antioksidansa, njihova važnost i uloga poprimaju novu pozornost i znanstvenici sa velikim zanimanjem pokušavaju razviti metodu za određivanje antioksidativne aktivnosti koja bi bila jednostavna, brza i ekonomski povoljna. Ciklička voltametrijra ispunjava te uvjete, a elektroda od grafitne paste nameće se kao zanimljiv

odabir radne elektrode zbog niskog omskog otpora i mogućnosti modifikacije što je kroz povijest često korišteno za razvoj visoko osjetljivih senzora za istraživanje i određivanje i organskih i anorganskih spojeva [22, 23].

Odziv modificirane elektrode ispitan je cikličkom voltametrijom u otopinama šest antioksidansa i njihovih mješavina. Korištena su dva najvažnija antioksidansa u krvnoj plazmi- askorbinska i mokraćna kiselina, tri fenolne kiseline – galna, kumarinska i kavena, te ester kavene i kininske kiseline – klorogenska kiselina. Rezultati dobiveni cikličkom voltametrijom na modificiranoj elektrodi uspoređeni su sa rezultatima dobivenim na elektrodi koja je sadržavala čistu grafitnu pastu, bez modifikacija. Također, ciklička voltometrija provedena je i na modificiranoj elektrodi osvijetljenoj UV lampom da bi se utvrdio utjecaj fotokatalitičkog efekta nanočestica titanovog dioksida.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Antioksidansi

Oksidacijski procesi i nastajanje slobodnih radikala (oksidansa) su sastavni dio metabolizma živih bića. Slobodni radikali su nestabilne molekule koje imaju elektron viška i najčešće su to superoksid (O_2^-) te hidroksil radikal ($OH^\cdot$). Da bi postigli stabilnost, oni doniraju elektron različitim molekulama u organizmu i tako ih uništavaju. Oksidacijsko oštećenje može utjecati na strukturu i funkciju brojnih biomolekula (lipida, ugljikohidrata, proteina i nukleinskih kiselina), što rezultira promjenama u strukturi i funkciji stanica, tkiva i organa. Tako nastala oštećenja mogu narušiti homeostazu iona, prijenos signala u stanici, gensku transkripciju i dovesti do drugih poremećaja. Oksidacijski stres ima značajnu ulogu kod bolesti srca i krvnih žila, infektivnih bolesti, tumora, šećerne bolesti, neurodegenerativnih bolesti, fibroze, hemolize i procesa starenja [4, 5].

Da bi se stanice i organi zaštitili od djelovanja slobodnih radikala u ljudskom organizmu je razvijen visoko kompleksan antioksidativni sustav zaštite koji sadrži veliki broj endogenih i egzogenih komponenti koje djeluju interaktivno da bi neutralizirali slobodne radikale. Pod normalnim uvjetima produkcija prooksidativnih vrsta, posebice ROS (reactive oxygen species), je u ravnoteži sa antioksidativnom zaštitom organizma. Kontroliranu razinu slobodnih radikala u organizmu održava nekoliko mehanizama koji se osnivaju na reakcijama antioksidansa [4-8].

Najšire prihvaćena definicija bioloških antioksidansa jest ona koju je dao Halliwell (1990), a prema kojoj su antioksidansi “tvari koje prisutne u malim koncentracijama u odnosu na supstrat (biomolekulu) koji se oksidira, značajno usporavaju ili sprječavaju oksidaciju tog supstrata”.

Mogu se podijeliti na enzimatske (superoksid dizmutaza, katalaza, glutation peroksidaza) i neenzimatske, a prema mjestu nastanka dijele se na endogene i egzogene. Endogeni nastaju u ljudskom organizmu i presudni su za održavanje ravnoteže sa slobodnim radikalima. Međutim, pri izlaganju alkoholu, lijekovima, infekcijama, strogim dijetama, radijaciji ili napornoj fizičkoj aktivnosti, endogena antioksidativna obrana nije dovoljna za suprotstavljanje oksidativnom stresu pa zaštita organizma ovisi o djelotvornosti egzogenih antioksidansa odnosno antioksidansa koji se unose hranom [6, 7, 9].

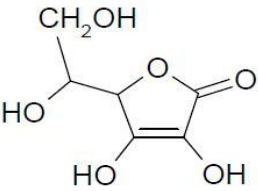
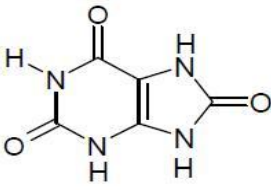
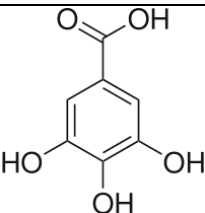
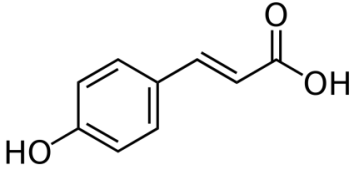
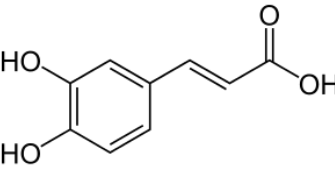
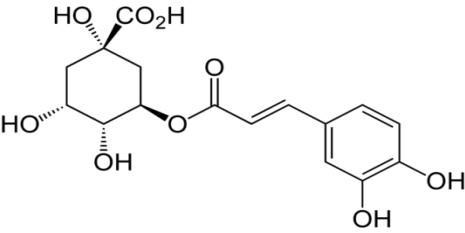
Uz prirodne antioksidanse razvijeni su i sintetski antioksidansi koji se u praksi koriste kao aditivi, nadomjesci i lijekovi, ali je opće prihvaćena činjenica da su prirodni antioksidansi vrijedniji, učinkovitiji i sigurniji od sintetskih [6, 7].

Što se tiče mehanizma njihovog djelovanja, antioksidansi mogu inhibirati ili usporiti oksidaciju na dva načina: ili uklanjanjem slobodnih radikala, u tom slučaju se sastojak definira kao primarni antioksidans, ili mehanizmom koji ne uključuje izravno uklanjanje slobodnih radikala, u tom slučaju sastojak se definira kao sekundarni antioksidans. Sekundarni antioksidansi djeluju putem različitih mehanizama i to [7, 8]:

- keliranjem prooksidativnih metalnih iona (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} i Mg^{2+});
- aktiviranjem antioksidacijskih enzima;
- inhibicijom prooksidativnih enzima (lipoksigenaza, NAD(P)H oksidaza, ksantinoksidaza, oksidaza, enzimi citokroma P-450).

Svih šest antioksidansa ispitivanih u ovom radu su neenzimatski; pet ih je egzogenih i jedan endogeni – mokraćna kiselina koja nastaje u organizmu tijekom metabolizma purina.

Tablica 2.1. Ispitivani antioksidansi i njihove strukture

Antioksidans	Struktura
Askorbinska kiselina	
Mokraćna kiselina	
Galna kiselina	
p-kumarinska kiselina	
Kavena kiselina	
Klorogenska kiselina	

Askorbinska kiselina spada u vitamine koji su lako topljivi u vodi i svrstava se u antioksidanse male molekularne mase (low molecular weight antioxidants - LMWA). Široko je rasprostranjena u hrani koju unosimo u organizam, pogotovo u zelenom povrću te citrusnom voću. Neophodna je za brojne funkcije u organizmu: stvaranje kolagena, sintezu proteina, apsorpciju i metabolizma željeza itd. Potpuno je netoksična iako u visokim dozama sa malim unosom vode i pojačanim unosom kalcija može doprinijeti razvoju bubrežnih kamenaca [10].

Mokraćna kiselina je rezultat raspada nukleotida u ljudskom organizmu, kao što su alantoin, adenin i timin. Teško je topljiva u krvnoj plazmi, te ako je prisutna u suvišku može uzrokovati razna oštećenja i oboljenja. Tada kristalizira, te stvara nakupine koje uzrokuju začepljenje i zgrušavanje krvi pa je zbog toga potrebno kontinuirano pratiti koncentraciju mokraćne kiseline u tjelesnim tekućinama [4].

Galna, kumarinska i kavena kiselina ubrajaju se u *fenolne kiseline*. Fenolne kiseline su velika skupina fenolnih spojeva koje možemo pronaći u hrani biljnog porijekla. Sastoje se od fenolne jezgre i bočnog niza koji sadrži jedan (derivati benzojeve kiseline) ili tri (derivati cimetine kiseline) ugljikova atoma. Najzastupljeniji hidroksi derivati benzojeve kiseline su: *p*-hidroksibenzojeva, vanilinska, galna, protokatehinska, siringinska, gentizinska i elaginska kiselina, koje su prisutne uglavnom u obliku glukozida u biljkama. Najzastupljeniji hidroksi derivati cimetine kiseline su: *p*-kumarinska, kavena, ferulna i sinapinska kiselina koje su često prisutne u hrani kao esteri sa kininskom kiselinom ili glukozom. Najpoznatiji ester kavene i kininske kiseline je klorogenska kiselina. Fenolne kiseline su poznati antioksidansi ne samo zbog svoje sposobnosti da predaju vodik ili elektron već i zato što njihovi stabilni međuprodukti u obliku radikala sprječavaju oksidaciju različitih komponenti žitarica, naročito masnih kiselina i ulja.

Antioksidativna aktivnost fenolnih kiselina je povezana sa strukturom tj. supstituentima i njihovim položajem na aromatičnom prstenu i strukturom bočnog niza. Smatra se da je prisutnost $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$ grupe kod hidroksi derivata cimetine kiseline razlog za znatno višu antioksidativnu aktivnost nego COOH grupe kod hidroksi derivata benzojeve kiseline. Također, veći broj hidroksilnih i metoksilnih grupa i naročito prisutnost *o*-dihidroksi grupe na fenolnom prstenu povećava antioksidativnu aktivnost kao na primjer kod kavene kiseline [11, 12].

Galna kiselina je trihidroksibenzojeva kiselina. Često se koristi kao standard za određivanje fenola u drugim tvarima putem Folin-Ciocalteu testa, čiji rezultati se navode u ekvivalentima galne kiseline. Više istraživanja pokazalo je da posjeduje protu upalna i citotoksična svojstva – programirano napada stanice tumora i uništava ih bez da oštećuje zdrave stanice, a koristi se i za tretman psorijaze i krvarenja [11, 12].

p-kumarinska kiselina je derivat cimetne kiseline i najzastupljenija je u prirodi od tri izomera kumarinske kiseline. Može se pronaći u kikirikiju, grahu, rajčicama, mrkvi i medu, a u vinu je prekursor za sintezu 4-etil fenola – komponente koja daje karakterističnu aromu. Blagotvorno djeluje na smanjenje rizika od želučanog tumora jer inhibira nastanak štetnih nitrozamina [11, 12].

Kavena kiselina se može naći u svim biljkama jer je ključna u biosintezi lignina koji je osnovni izvor biomase, ali naravno, najčešće se veže uz kavu. Jedna litra kave sadrži 250–400 mg kavene kiseline. Katalizirana enzimima transformira se u furalnu kiselinu, a pored toga što je antioksidans, pokazuje imunomodulatorna i antiupalna svojstva [11, 12].

Još jedna kiselina koja se veže uz kavu je klorogenska kiselina. Ona je najpoznatiji ester kavene i kininske kiseline i prisutna je u zrnima (sjemenkama) kave, ali i ostalim vrstama voća i povrća poput jabuka, krušaka, rajčica, borovnica, jagoda i krumpira. U litri kave nalazi se u količini od 500–800 mg. U posljednje vrijeme posebnu pozornost privlači kao temeljni sastojak ekstrakta zelene kave zbog utjecaja na smanjenje tjelesne mase. Smatra se da smanjuje koncentraciju postprandijalne glukoze kao i apsorpciju glukoze u crijevima, a može mijenjati i razinu adipokina i distribuciju masti u tijelu [11, 14].

Zbog višestrukih dobrobiti koje antioksidansi donose ljudskom organizmu, veliki je interes znanstvenika za razvijanjem metoda određivanja antioksidativne aktivnosti u hrani koju čovjek unosi u organizam, kao i antioksidativne aktivnosti unutar organizma. Cilj je, dakle, razvoj metoda koje bi brzo i jednostavno određivale antioksidativnu aktivnost u hrani i biološkim uzorcima.

Najčešće korištene metode određivanja antioksidativne aktivnosti bioloških uzoraka mogu se podijeliti na [15-18]:

a) spektrofotometrijske

- TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity)
- FRAP (ferric reducing ability)
- ORAC (oxygen radical absorbance capacity)
- Brand-Williams (DPPH)

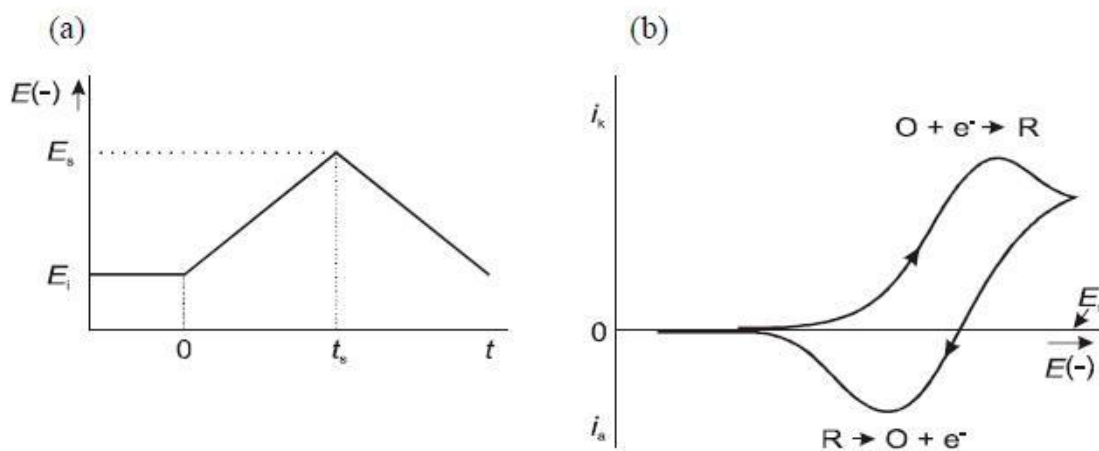
b) elektrokemijske

- voltametrijske: ciklička voltametrija i diferencijalna pulsna voltametrija
- potenciometrijske i
- amperometrijske metode

Primjena elektrokemijskih metoda u određivanju antioksidativne aktivnosti logičan je izbor obzirom da je antioksidativna jakost spojeva u reakciji sa slobodnim radikalima direktno povezana sa njihovom sposobnošću da se ponašaju kao reducirajući agens na elektrodi.

2.2. Ciklička voltametrija

Ciklička voltametrija [19-21] je jedna od najčešće korištenih tehnika za prikupljanje kvalitativnih informacija o elektrokemijskim reakcijama jer pruža mogućnost brzog određivanja podataka koji govore o termodinamici redoks procesa, kinetici heterogenih procesa prijenosa elektrona ili adsorpcijskim procesima. Pripada skupini elektroanalitičkih tehnika mjerenja, u kojima je signal pobude linearno promjenljivi potencijal, a signal odziva je struja, koja se mjeri kao funkcija narinutog potencijala kao što je prikazano na slici 2.1.



Slika 2.1. Signal pobude (a) i krivulja odziva (b) cikličke voltametrije

Potencijal se mijenja linearno kroz područje potencijala u kojem se odvija reakcija na elektrodi nakon čega se mijenja smjer promjene potencijala nazad do početnog potencijala. Eksperiment obično počinje na potencijalu gdje nema elektrodne reakcije ($i = 0$) i zatim se pomiče prema pozitivnijim vrijednostima za proučavanje oksidacije odnosno prema negativnijim za proučavanje redukcije. Visina strujnog odziva ovisi o:

- koncentracijama oksidiranog (O) i reduciranog (R) oblika u otopini,
- broju izmijenjenih elektrona (n),
- površini radne elektrode (A) i
- čimbenicima što određuju brzinu difuzije, odnosno koncentracijski gradijent uz površinu elektrode.

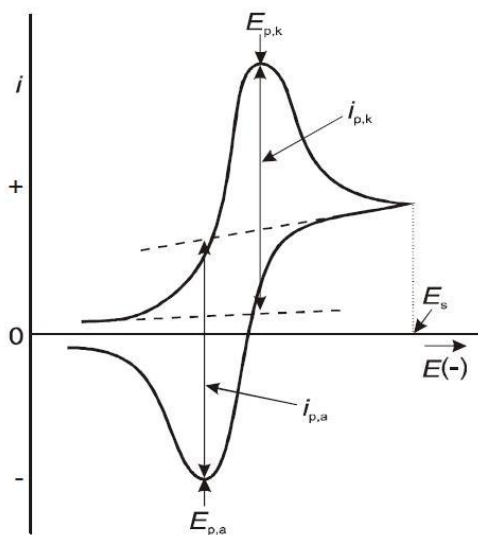
Gradijent koncentracije elektroaktivnih vrsta uz površinu elektrode ovisi o difuzijskom koeficijentu (D_O i D_R) i brzini promjene potencijala signala pobude (v). Brzina promjene

potencijala može se mijenjati u širokom opsegu pa se ovom tehnikom mogu ispitivati kako spore, tako i vrlo brze elektrodne reakcije.

Procesi koji se odvijaju na elektrodi za vrijeme mjerenja cikličkom voltametrijom mogu se prema brzini prijenosa naboja svrstati u tri skupine:

- 1) Reverzibilan proces: Prijenos naboja je puno brži od difuzije pa se na površini elektrode u svakom trenutku uspostavlja ravnoteža dana Nernstovom jednažbom. Struja ovisi o dopremi reaktanta do površine elektrode.
- 2) Ireverzibilan proces: Prijenos naboja je jako spor u usporedbi s procesom difuzije. S obzirom da je izmjena naboja spora struja slijedi Butler-Volmerovu kinetiku.
- 3) Kvazireverzibilan proces: Procesi koji se kod malih brzina promjena potencijala ponašaju reverzibilno, a porastom brzine pokazuju odstupanje od reverzibilnog ponašanja.

2.2.1. Ciklički voltamogram za reverzibilnu reakciju



Slika 2.2. Ciklički voltamogram reverzibilnog sustava

Eksperimentalne veličine koje karakteriziraju ciklički voltamogram su omjer visine polaznog i povratnog vala, te razlika potencijala vrhova katodnog i anodnog vala.

Potencijal vrha za katodni val iskazana je relacijom (1):

$$E_p = E_{1/2} - 1,109 \frac{RT}{zF} \quad (1)$$

gdje je $E_{1/2}$ polarigrafski poluvalni potencijal elektroaktivne vrste, odnosno pri 25 °C:

$$E_p = E_{1/2} - \frac{28,5}{n} \text{ mV} \quad (2)$$

Za potencijal anodnog vrha vrijede iste relacije, uz promjenu predznaka ispred drugog člana na desnoj strani jednadžbe (1). Slijedi da je razlika potencijala vrha katodnog ($E_{p,k}$) i anodnog ($E_{p,a}$) vala za reverzibilni proces jednaka:

$$E_{p,k} - E_{p,a} = \frac{57}{n} \text{ mV} \quad (3)$$

Potencijal vrha voltametrijskog vala karakteristična je veličina za određenu elektroaktivnu vrstu u danom mediju i određenu ionsku jakost, a nije ovisan o koncentraciji elektroaktivne vrste niti o brzini promjene potencijala pobude.

Struja vrha vala dana je Randles - Ševčikovom jednadžbom iz koje slijedi da je izravno proporcionalna koncentraciji elektroaktivne vrste u otopini:

$$i_p = 2,69 \cdot 10^5 n^{3/2} A D^{1/2} c_0 v^{1/2} \quad (4)$$

U cikličkoj voltametriji koriste se brzine promjene potencijala od 0.04 do 1000 V s⁻¹ i za taj opseg promjene brzine potencijala, voltametrijsku reverzibilnost pokazivat će oni elektrodni procesi kojima je standardna konstanta brzine elektrodne reakcije veća od 0.1 cm s⁻¹.

2.2.2. Ciklički voltamogram za ireverzibilnu reakciju

Kod ireverzibilnog elektrokemijskog procesa promjenu potencijala elektrode ne slijedi promjena omjera koncentracija oksidiranog i reduciranog oblika redoks-sustava u skladu s Nernstovom jednadžbom, jer je elektrodna reakcija spora.

Struja vrha vala, pri 25°C iskazana je relacijom:

$$i_p = 3,01 \cdot 10^5 n(\alpha n_\alpha)^{1/2} A c_0 D_0^{1/2} v^{1/2} \quad (5)$$

Ako je riječ o reakciji oksidacije u jednadžbu se uvrštavaju koncentracija i difuzijski koeficijent reduciranog oblika redoks sustava, te umjesto α uvrštava se $(1 - \alpha)$.

Za ireverzibilni voltamogram vrijede sljedeći parametri:

- E_p - ovisi o v , za proces redukcije E_p se pomiče za $(30/\alpha n_\alpha)$ mV prema negativnijim vrijednostima kod deseterostrukog povećanja brzine, a obratno kod oksidacije.
- $i_p/v_{1/2}$ - konstantan, ne ovisi o v
- nema struje odziva kod povratnog potencijala
- ciklički voltamogram ima samo katodni odnosno anodni val.

2.2.3. Kapacitivna komponenta struje

Uz faradejsku struju voltametrijski val sadržava i kapacitivnu komponentu struje koja je uzrokovana nabijanjem kondenzatora, kojeg čini električni dvosloj na površini radne elektrode. Dakle, registrirana struja voltametrijskog vala sadržava faradejsku struju elektroaktivne vrste i rezidualnu struju, koju čine osnovna i kondenzatorska struja. Osnovna je struja u odnosu prema kondenzatorskoj malena, osobito kod većih brzina promjena potencijala. Zato rezidualnu struju vala, prema kojoj se mjeri faradejska struja, tj. visina vala, čini pretežito kapacitivna struja.

Postoje dva pristupa kojima se može izvršiti korekcija zbog kapacitivne struje:

- a) oduzimanje pozadinskih signala
- b) teoretski pristup

Kod oduzimanja pozadinskih signala, struje dobivene snimanjem cikličkih voltamograma u čistom otapalu (bez elektroaktivne tvari) oduzimaju se od onih dobivenih snimanjem CV u prisutnosti elektroaktivnih tvari.

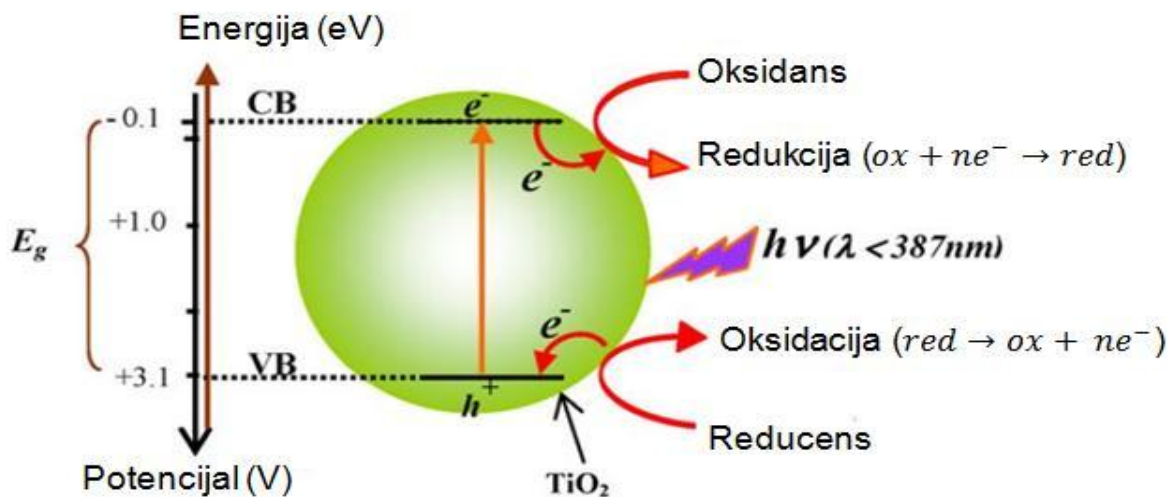
Teoretski pristup je mnogo teži jer je kapacitet često neodređena funkcija potencijala.

2.3. Titan dioksid

Titan dioksid deveti je mineral po zastupljenosti u Zemljinoj kori. Stabilan je i kemijski inertan i od njegovog otkrića u 19. stoljeću, razvijen je širok spektar primjena. Zbog visoke vrijednosti refrakcijskog indeksa, komercijalno je najvažniji bijeli pigment. Koristi za boje za zidove, boje za ceste i tunele, kao aditiv hrani, aditiv kremama i preparatima za sunčanje, za lijekove, pastu za zube, perive boje, punilo za plastiku, te kao tanki film za izradu dielektričnih zrcala. Kao n-poluvodič sa širokim energetske rascjepom često se koristi u znanosti i inženjerstvu. Zbog jednostavnosti sinteze TiO_2 nanomaterijala te njihove netoksičnosti, biokompatibilnosti, stabilnosti, visoke fotokatalitičke i elektrokatalitičke aktivnosti, vrlo često su korišteni za izradu različitih senzora i to posebice elektrokemijskih senzora i biosenzora [24].

2.3.1. Fotokatalitički efekt

Fotokatalitički mehanizam iniciran je adsorpcijom fotona $h\nu$ s energijom koja je veća ili jednaka energetske rascjepu TiO_2 . To uzrokuje generiranje parova elektron-šupljina na površini TiO_2 nanočestice kao što je prikazano na slici 2.3: elektron (e_{cb}^-) prelazi u vodljivu vrpcu (CB) dok se u valentnoj vrpci (VB) formira pozitivno nabijena šupljina (h_{vb}^+) [24-26].



Slika 2.3. Shematski dijagram fotokatalitičkog procesa [24]

Pobuđeni elektroni i šupljine mogu se rekombinirati i rasipati ulaznu energiju u obliku topline, mogu ostati zarobljeni u metastabilnim površinskim stanjima ili reagirati s elektron donorima i elektron akceptorima koji se nalaze adsorbirani na površini poluvodiča ili u okolnom električnom dvosloju nabijenih čestica. Tako npr. fotogenerirane šupljine putuju do granice faza TiO_2 /elektrolit gdje oksidiraju površinske nečistoće ili reagiraju s adsorbiranim OH^- ionima i daju hidroksilne radikale velikog oksidacijskog potencijala koji zatim oksidiraju tvari na površini. S druge strane, fotogenerirani elektroni akumuliraju se u TiO_2 premazu i supstratu ali i sudjeluju u reakcijama na granici faza TiO_2 /elektrolit gdje reduciraju kisik u superoksid, O_2^- . Ovisno o uvjetima, šupljine, hidroksilni radikali, O_2^- , H_2O_2 i O_2 mogu igrati važnu ulogu u mehanizmu fotokatalitičke reakcije [25, 26].

Fotokatalitički efekt titanovog dioksida često se primjenjuju za pročišćavanje vode i zraka te zaštitu od korozije. Naime, ako je metal zaštićen premazom na bazi TiO_2 i osvijetljen UV zračenjem fotogenerirani elektroni prelaze na metalnu podlogu čineći njen elektrodni potencijal nižim od njenog korozijskog potencijala i tako se sprječava otapanje metala. Premaz se pritom ne troši budući da anodna reakcija u ovom slučaju nije raspad TiO_2 nego oksidacija vode i/ili adsorbiranih organskih vrsta fotogeneriranim šupljinama [25].

Što se tiče primjene u analitičke svrhe, u praksi je teško kontrolirati opseg fotokatalitičke oksidacije jer se neke tvari, kao što su primjerice one koje sadrže hidroksilnu skupinu (alkoholi ili glukoza) brzo oksidiraju, dok je nekima, kao što su aromati, potrebno više vremena. Stoga je mnogo jednostavnije osigurati da su sve organske tvari potpuno razgrađene produljivanjem reakcijskog vremena, izlaganjem izvoru UV zračenja dovoljnog intenziteta, osiguravanjem dovoljne količine TiO_2 fotokatalizatora i ispitivanjem manje količine organskih tvari u elektrokemijskoj ćeliji. Međutim, to onemogućava individualno određivanje organskih komponenti prisutnih u uzorku, ali se vrlo uspješno može koristiti za određivanje njihove ukupne količine. Zato se često koristi za određivanje ukupnog organskog ugljika (TOC) i kemijske potrošnje kisika (COD). Može se koristiti i za individualno određivanje organskih sastojaka, ali uglavnom u kombinaciji sa drugim separacijskim metodama kao što je HPLC [24].

2.3.2. Modifikacija elektrode od grafitne paste s TiO_2 nanočesticama

Zbog velike specifične površine te elektroničkih i katalitičkih sposobnosti, ugradnja TiO_2 nanomaterijala može značajno poboljšati elektrokemijski signal radne elektrode pa se u te svrhe često primjenjuje [24].

Posebno je jednostavno modificirati elektrodu od grafitne paste i u literaturi je zabilježeno više takvih slučajeva. Primjerice, elektroda od grafitne paste modificirana je nanočesticama TiO_2 za detekciju askorbinske kiseline. Tako pripremljena elektroda pokazala je značajno smanjenje oksidacijskog prenapona i poboljšanje kinetike elektrodne reakcije pa je uspješno primijenjena za točno i precizno određivanje askorbinske kiseline u farmaceutskim preparatima. Također, u kombinaciji askorbinske i mokraćne kiseline, modificirana elektroda dala je dva dobro razdvojena signala što je posebno važno ako znamo da su oksidacijski potencijali ove dvije kiseline na nemodificiranoj elektrodi preblizu da bi se pojedinačna antioksidativna aktivnost te dvije komponente mogla odrediti mjerenjima. S obzirom da ove kiseline koegzistiraju u biološkim uzorcima kao što su krv ili urin, ovakva modifikacija predstavlja važan pomak prema njihovom jednostavnijem i točnijem određivanju [27].

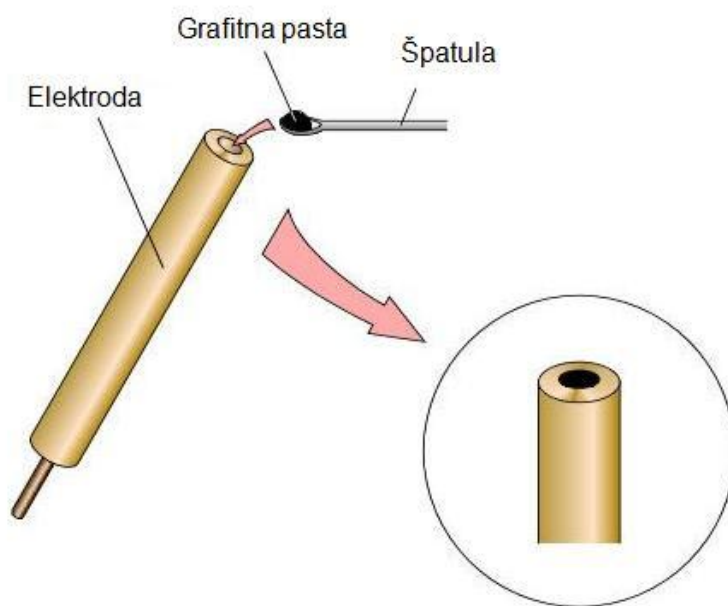
Elektroda od grafitne paste modificirana nanočesticama TiO_2 korištena je i za određivanje antidepressiva, buzepid metodida (BZP). Nanočestice su učinkovito poboljšale kinetiku prijelaza elektrona između lijeka i elektrode. U usporedbi sa signalom dobivenim na nemodificiranoj elektrodi, signal TiO_2 modificirane elektrode je znatno bolji i pomaknut je prema negativnijim potencijalima. Na temelju ove elektrode, razvijena je jednostavna, brza i osjetljiva elektrokemijska metoda za određivanje buzepid metodida i uspješno je primijenjena za njegovu detekciju u serumu ljudske krvi te uzorcima urina [28].

Pored toga, TiO_2 -modificirana grafitna pasta korištena je i za određivanje brojnih drugih tvari kao što je norepinefrin, acetaminofen, folna kiselina, penicilamin i triptofan [24].

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Priprema radne elektrode

Grafitna pasta pripremljena je miješanjem grafitnog praha sa parafinskim uljem u tarioniku. Dobivena pasta zatim je sabijena u za to predviđenu šupljinu (slika 3.1). pazeći da ne ostane zraka, da bi se ostvario što bolji električni kontakt. Po završetku, elektroda je polirana na čistom indeks papiru dok nije postignuta glatka i sjajna površina.

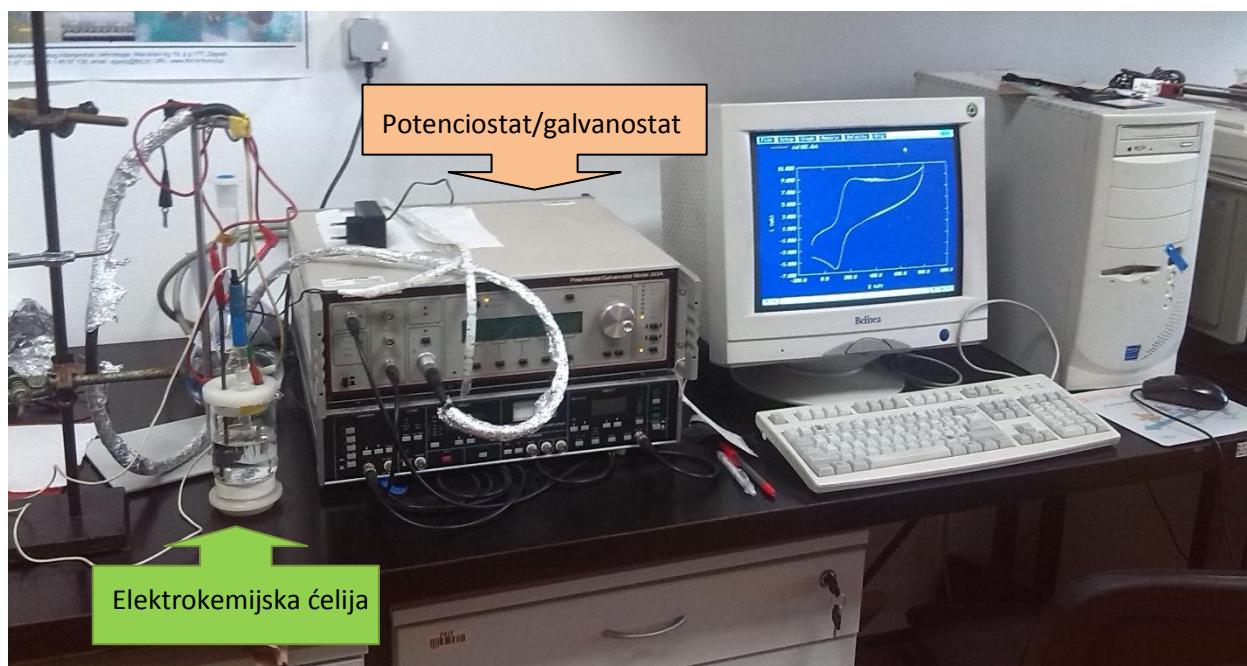


Slika 3.1. Priprema elektrode od grafitne paste

Za istraživanje utjecaja nanočestica, grafitna pasta pomiješana je sa 15 odnosno 30% nanočestica TiO_2 , promjera 10 nanometara i pripremljena za mjerenje na isti način.

3.2. Aparatura

Mjerenja su provedena na računalom upravljanoj aparaturi sastavljenoj od potencijostata / galvanostata EG&G Princeton Applied Research model 263A i elektrokemijske ćelije. Aparatura je prikazana na slici 3.2.



Slika 3.2. Aparatura korištena za elektrokemijska mjerenja

3.3. Elektrokemijska ćelija

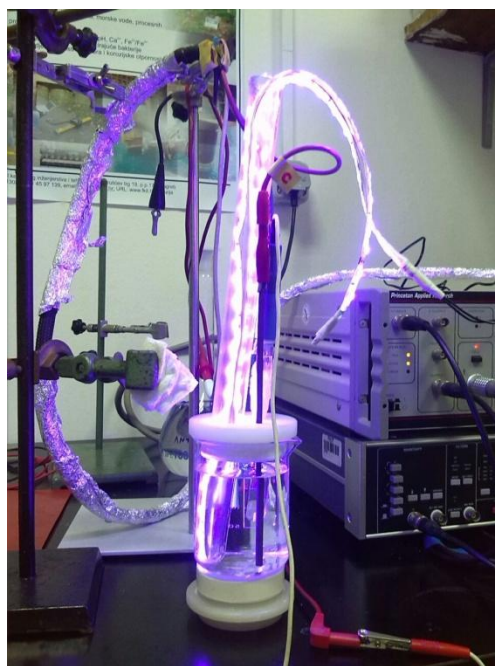
Sva mjerenja provedena su u klasičnoj troelektrodnoj ćeliji, koja se sastoji od radne, referentne i protu elektrode, na sobnoj temperaturi (slika 3.3).

Kao radna elektroda korištena je elektroda od grafitne paste, a kao protuelektroda upotrijebljen je grafitni štapić. Referentna elektroda bila je zasićena kalomel elektroda čiji je potencijal $E_{zke} = +0,242$ V. Stoga su svi potencijali u rezultatima prikazani u odnosu na zasićenu kalomel elektrodu.



Slika 3.3. Elektrokemijska ćelija

Za ispitivanje fotokatalitičkog efekta nanočestica TiO_2 radna elektroda obasjana je UV lampom koja je uronjena u ispitivanu otopinu, kao što je prikazano na slici 3.4.



Slika 3.4. Ispitivanje fotokatalitičkog efekta TiO_2

3.4. Otopine

Ciklički voltamogrami ispitivanih antioksidansa snimani su u simuliranoj fiziološkoj otopini (fosfatni pufer, pH 7,4). Sastav pufera u 1000 mL otopine je prikazan u tablici 3.1.

Tablica 3.1. Sastav fosfatnog pufera u 1000 mL otopine

KH_2PO_4	$0,1 \text{ mol dm}^{-3}$	500 ml
NaOH	$0,1 \text{ mol dm}^{-3}$	391 ml
NaCl	$8,2 \text{ g dm}^{-3}$	7,3 g

U ovom radu ispitano je šest otopina antioksidansa, koncentracije $200 \mu\text{M}$ i devet otopina njihovih mješavina, i to:

- mokraćna kiselina ($100 \mu\text{M}$) i askorbinska kiselina ($100 \mu\text{M}$),
- mokraćna kiselina ($100 \mu\text{M}$) i galna kiselina ($100 \mu\text{M}$),
- mokraćna kiselina ($100 \mu\text{M}$) i klorogenska kiselina ($100 \mu\text{M}$)
- mokraćna kiselina ($100 \mu\text{M}$) i kumarinska kiselina ($100 \mu\text{M}$).
- askorbinska kiselina ($100 \mu\text{M}$) i galna kiselina ($100 \mu\text{M}$),
- askorbinska kiselina ($100 \mu\text{M}$) i kavena kiselina ($100 \mu\text{M}$),
- askorbinska kiselina ($100 \mu\text{M}$) i klorogenska kiselina ($100 \mu\text{M}$),
- kumarinska kiselina ($100 \mu\text{M}$) i kavena kiselina ($100 \mu\text{M}$) i
- kavena kiselina ($100 \mu\text{M}$) i klorogenska kiselina ($100 \mu\text{M}$).

3.5. Postupak mjerenja

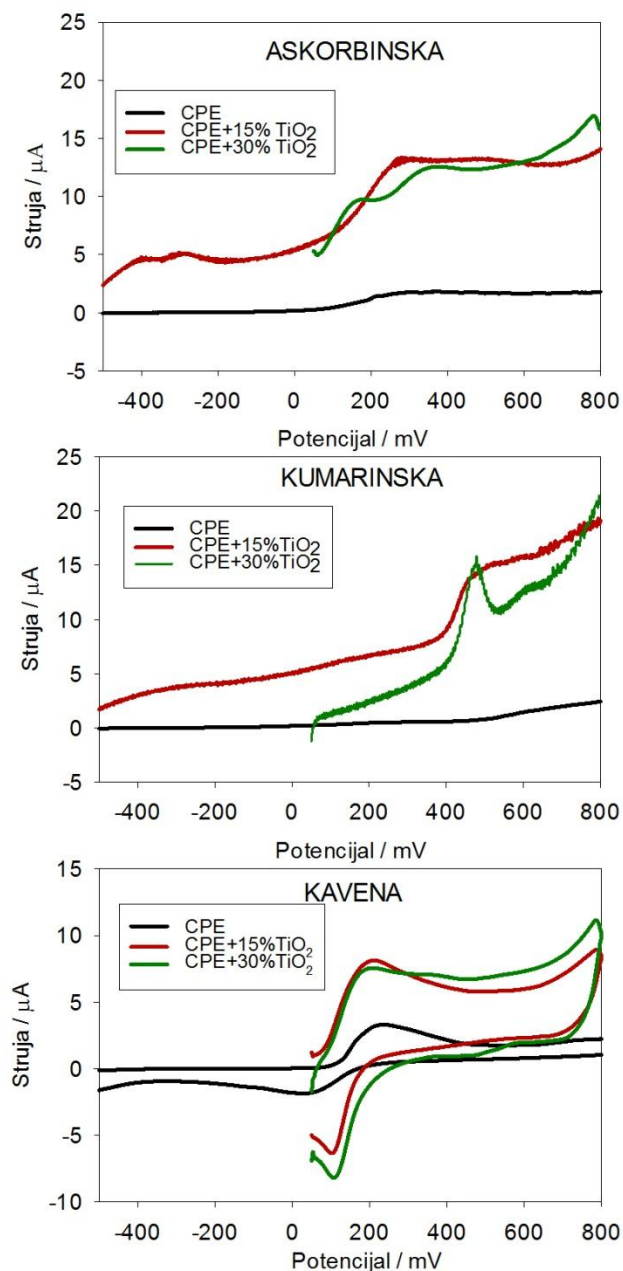
Ciklički voltamogrami snimani su u čistoj otopini fosfatnog pufera kao i u otopinama antioksidansa u puferu, na brzinama promjene potencijala od 50 mVs^{-1} do 500 mVs^{-1} . Uzorci antioksidanasa pripremani su neposredno prije mjerenja, zbog njihove nestabilnosti.

Ciklički voltamogrami snimljeni u čistoj otopini fosfatnog pufera korišteni su kao pozadinski signal. Stvarna površina elektrode određena je snimanjem cikličkih voltamograma u $0,2 \text{ mM}$ otopini $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ u $0,1 \text{ M KCl}$.

4. REZULTATI

4.1. Usporedba odziva elektroda modificiranih s 15 i 30% TiO_2 nanočestica

Na samom početku istraživanja, snimljeni su ciklički voltamogrami otopina askorbinske, kavene i kumarinske kiseline u puferu na elektrodi od grafitne paste te na elektrodi modificiranoj sa 15 odnosno 30% nanočestica TiO_2 . Rezultati su prikazani na slici 4.1.



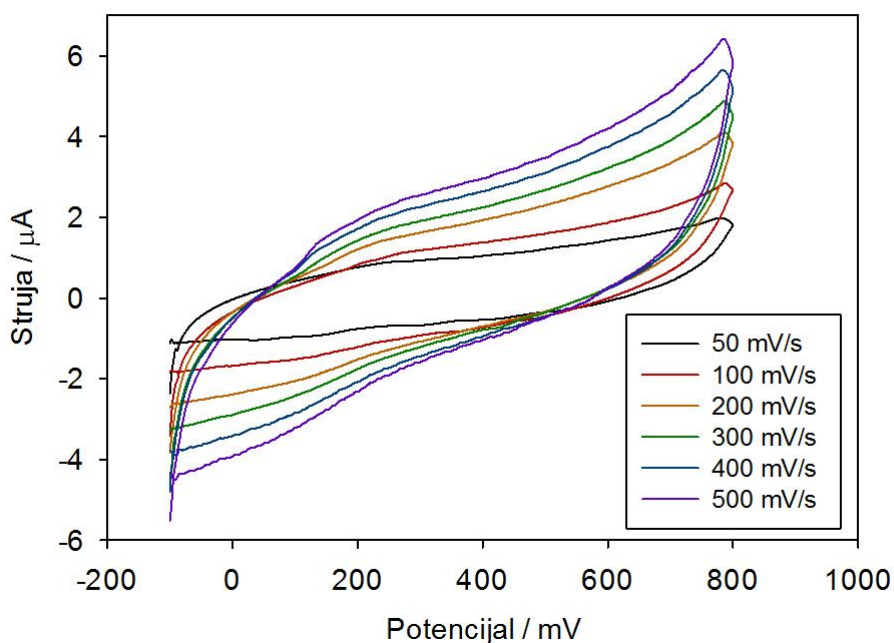
Slika 4.1. Odziv elektrode od grafitne paste te elektroda modificiranih nanočesticama TiO_2 u otopinama askorbinske, kumarinske i kavene kiseline

Iz ovih rezultata vidljivo je da se odziv elektrode znatno poboljšava dodatkom nanočestica TiO_2 , ali povećanje udjela nanočestica s 15 na 30% ne dovodi do povećanja strujnih maksimuma ispitivanih kiselina. Daljnja istraživanja nastavljena su stoga samo na elektrodi modificiranoj s 15 % TiO_2 nanočestica.

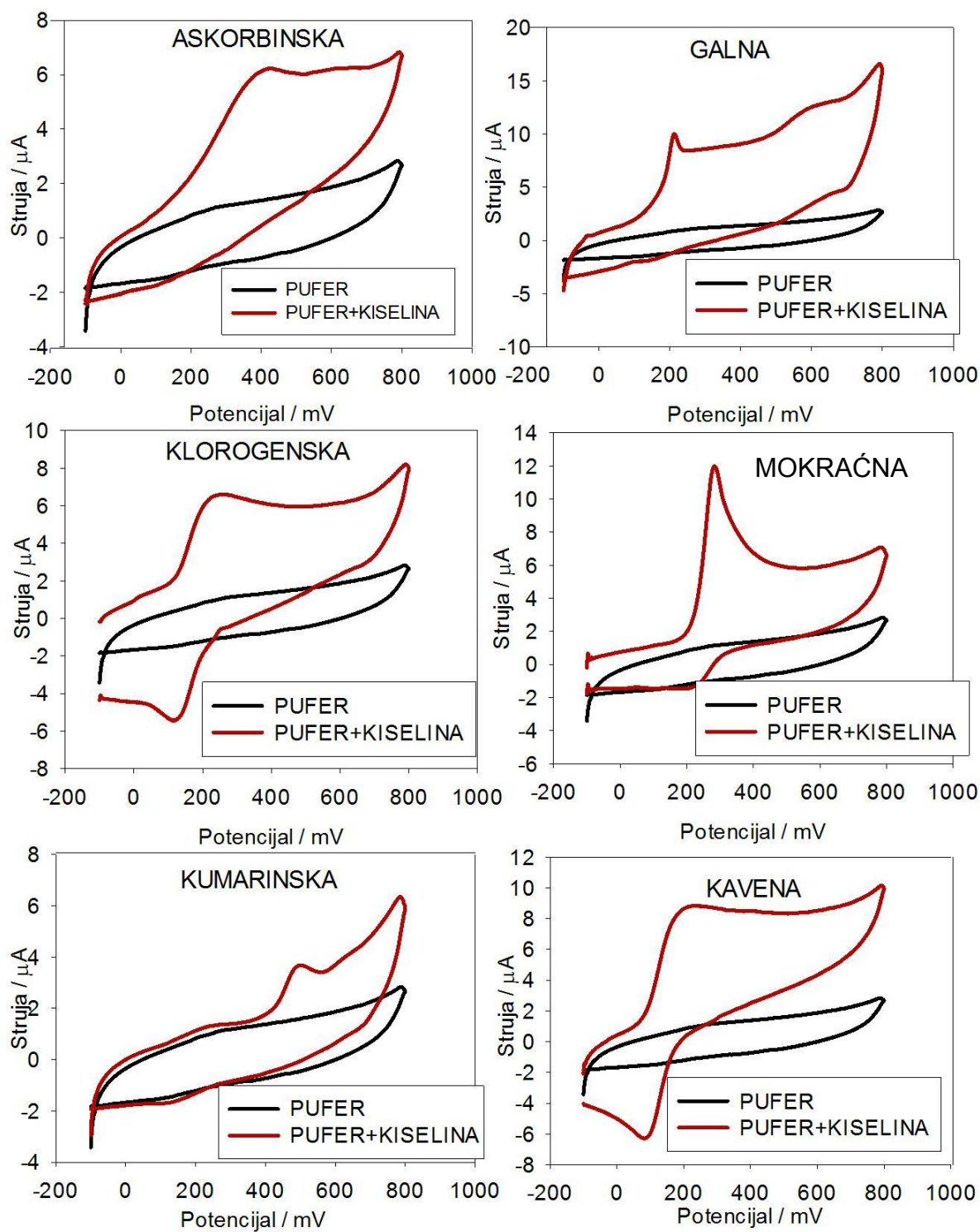
4.2. Ciklički voltamogrami u osnovnom elektrolitu

Da bi se dobili voltamogrami iz kojih je moguće očitati struju i potencijal strujnog vrha (i_p i E_p), oduzeta je strujna komponenta pozadinskog signala od signala koji daje uzorak. Pozadinski signali moraju biti u istom području potencijala, kao i signali uzoraka.

Slika 4.2. prikazuje pozadinske signale u čistom fosfatnom puferu na različitim brzinama promjene potencijala.



Slika 4.2. Pozadinski signali snimljeni u čistoj otopini fosfatnog pufera na elektrodi od grafitne paste s 15% nanočestica TiO_2



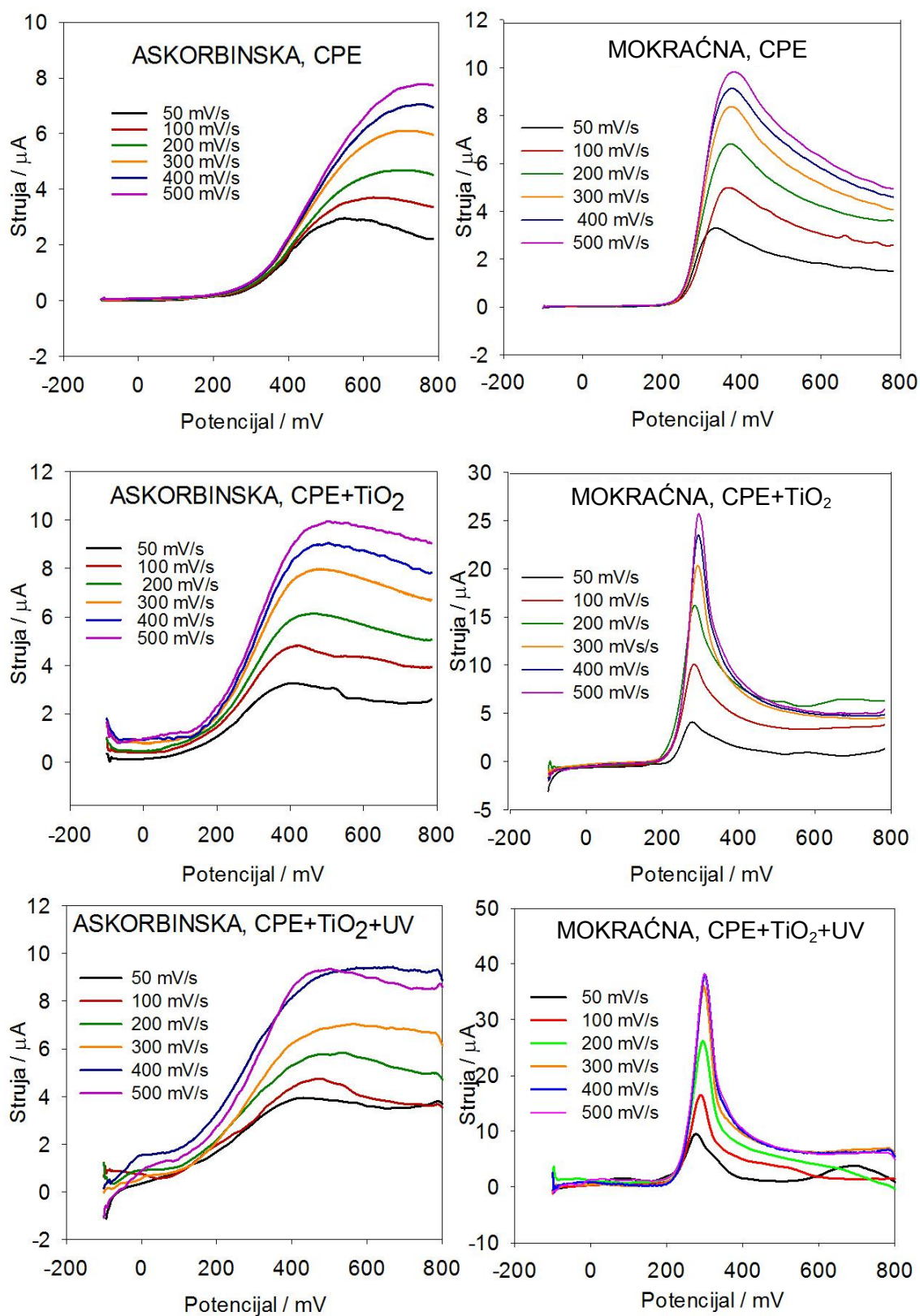
Slika 4.3. Usporedba pozadinskog signala i signala u prisutnosti ispitivanih kiselina, snimljenih cikličkom voltametrijom na elektrodi od grafitne paste sa 15% nanočestica TiO_2 ; brzina promjene potencijala 100 mV/s

Iz slike 4.3. vidljivo je da jedino klorogenska i kavena kiselina imaju povratni strujni vrh što znači da je njihova oksidacija reverzibilna, dok je oksidacija ostalih kiselina ireverzibilna jer imaju samo jedan strujni vrh.

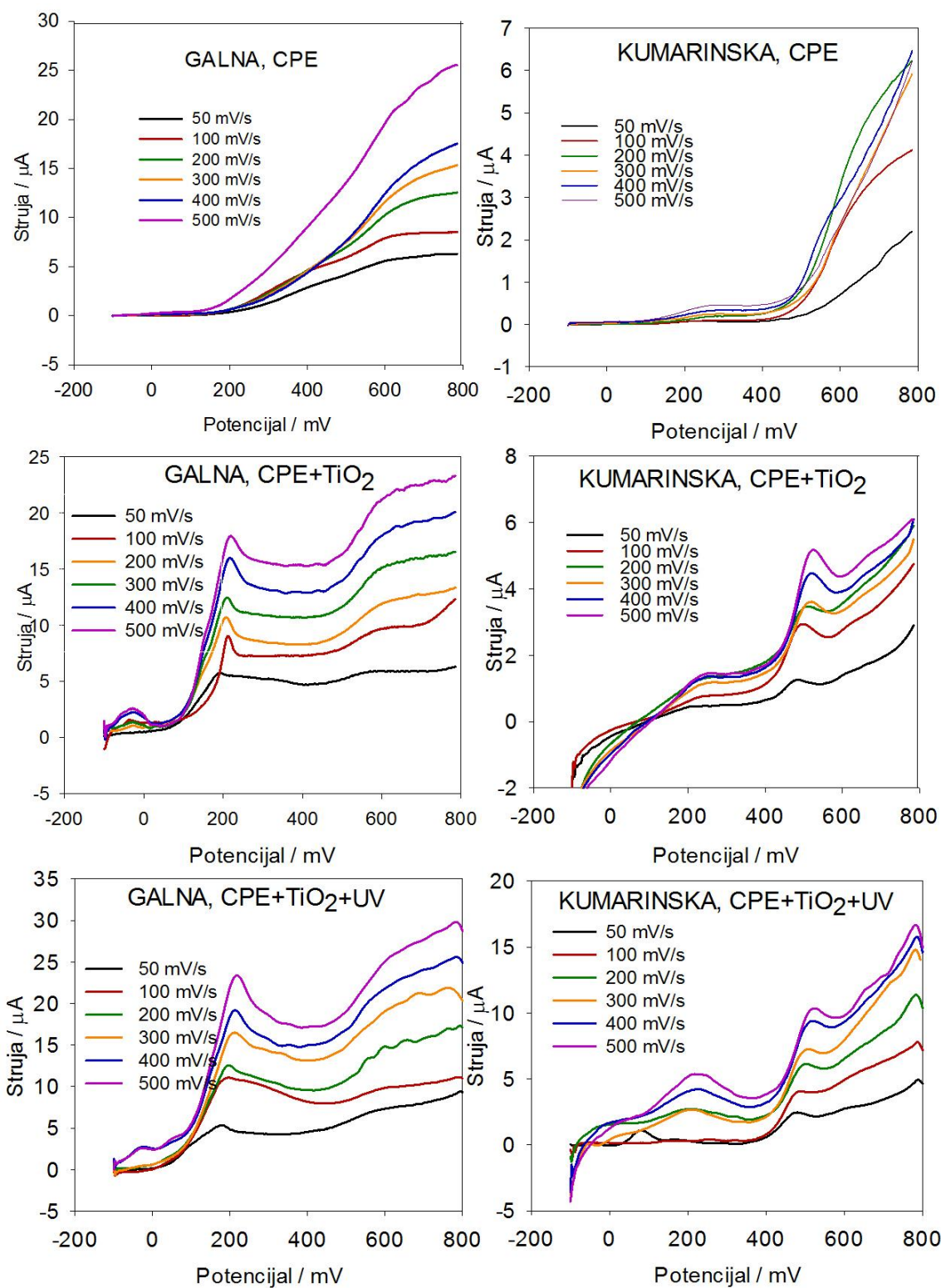
4.3. Ciklički voltamogrami ispitivanih kiselina

Snimljeni su ciklički voltamogrami na elektrodi od grafitne paste i elektrodi modificiranoj sa 15% nanočestica TiO_2 u otopinama ispitivanih kiselina, koncentracije 200 μM . Snimano je u području potencijala od -100 do 800 mV i to na brzinama promjene potencijala od 50 do 500 mV/s. Za proučavanje fotokatalitičkog efekta nanočestica TiO_2 u modificiranoj elektrodi, površina elektrode prilikom cikličke voltametrije bila je osvijetljena UV lampom.

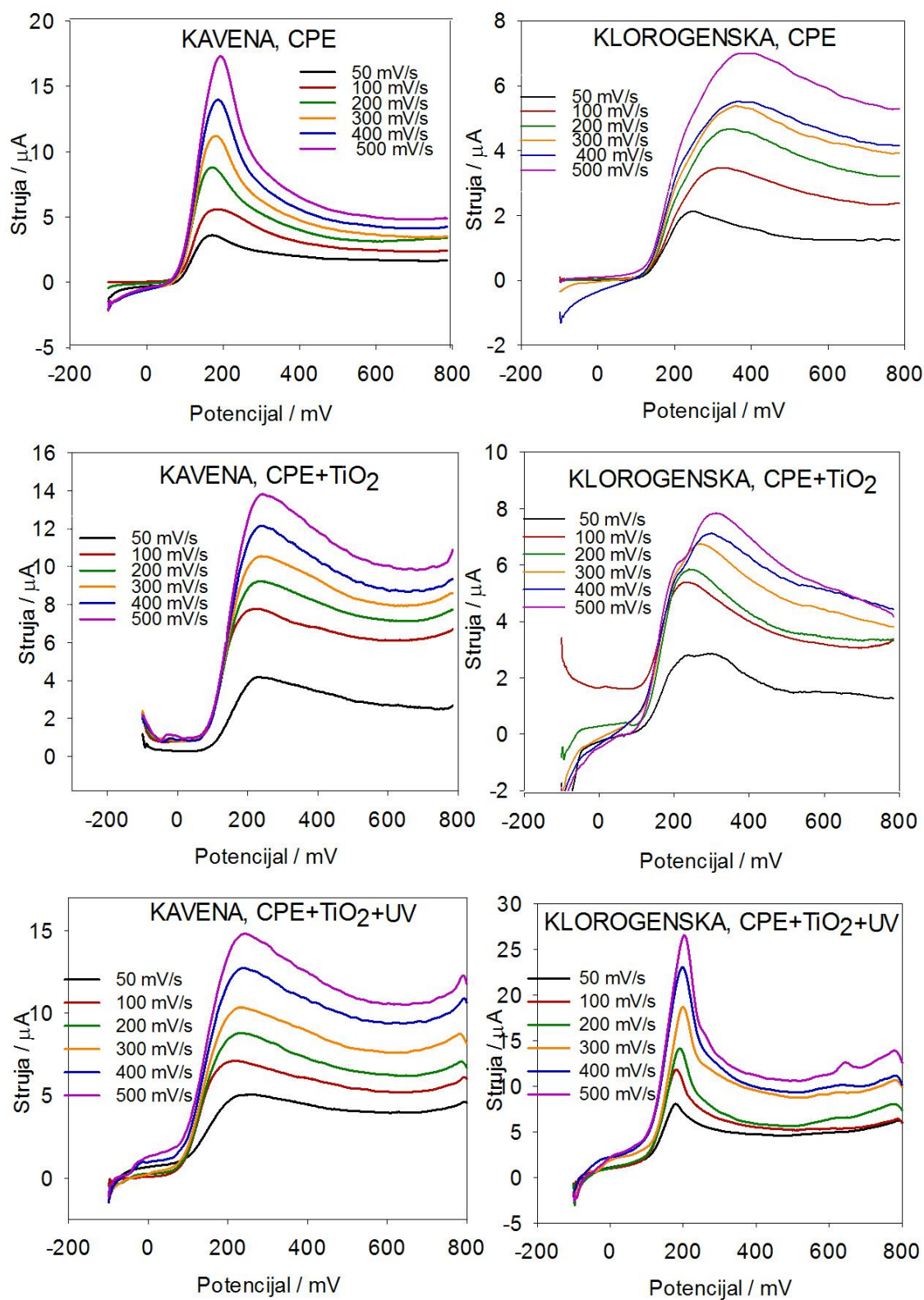
Na slikama 4.4.-4.6. prikazani su voltamogrami anodne struje, nakon oduzimanja pozadinskog signala snimljenog u čistom fosfatnom puferu. Kod svih ispitivanih otopina, struja raste s povećanjem brzine promjene potencijala.



Slika 4.4. Ciklički voltamogrami askorbinske i mokraćne kiseline



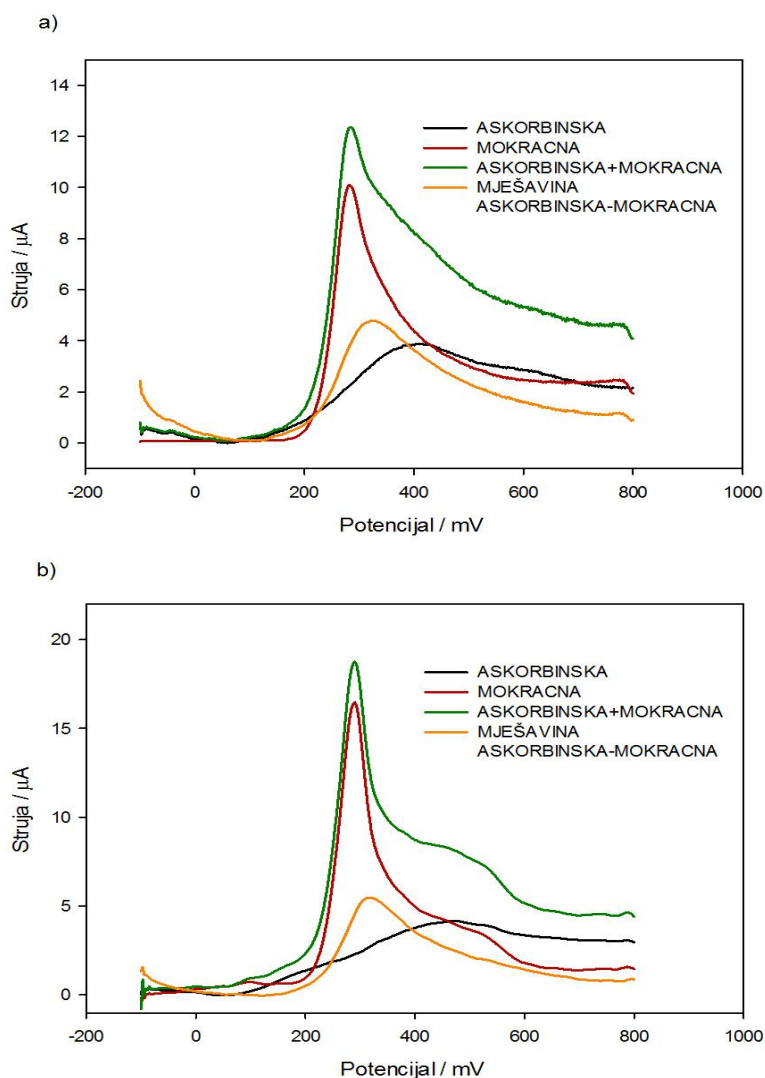
Slika 4.5. Ciklički voltamogrami galne i kumarinske kiseline



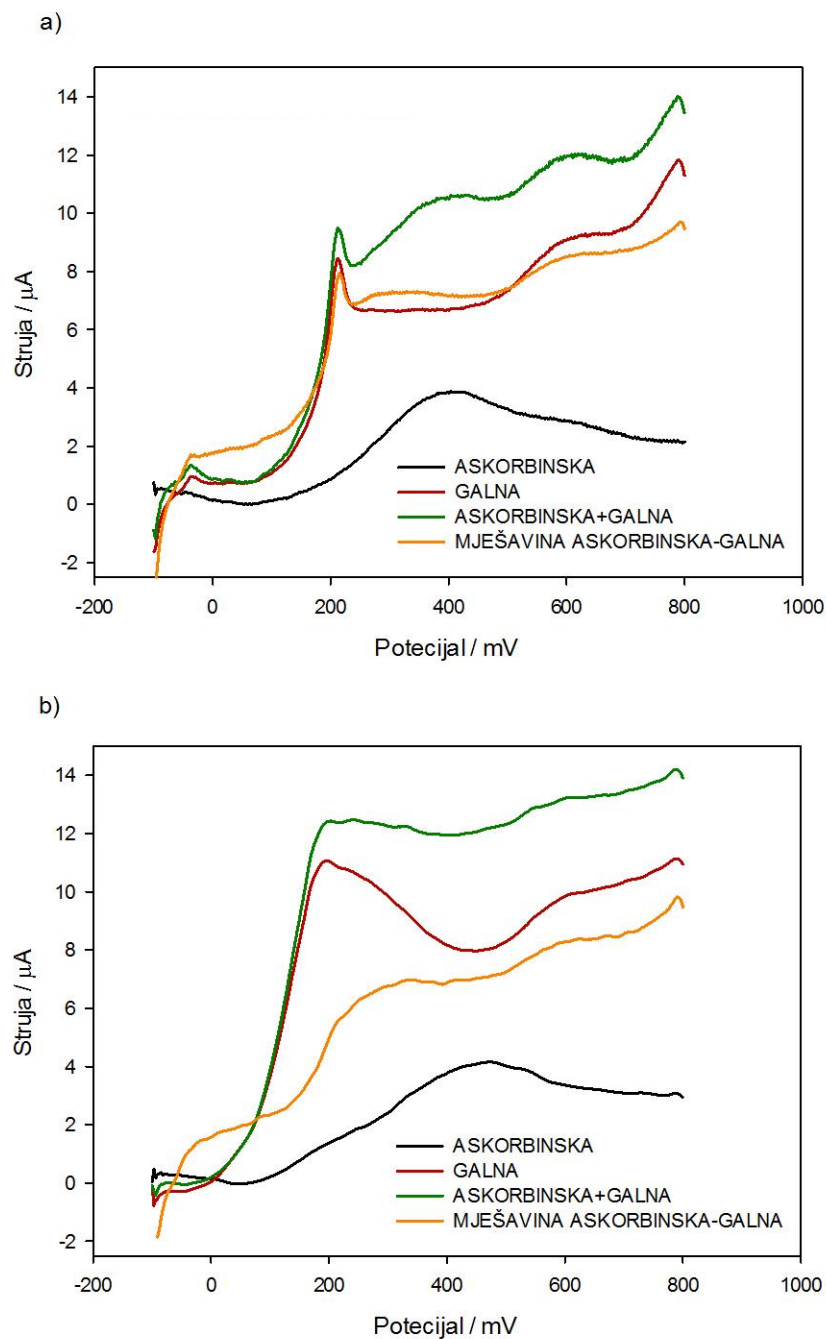
Slika 4.6. Ciklički voltamogrami kavene i klorogenske kiseline

4.4. Ciklički voltamogrami mješavina

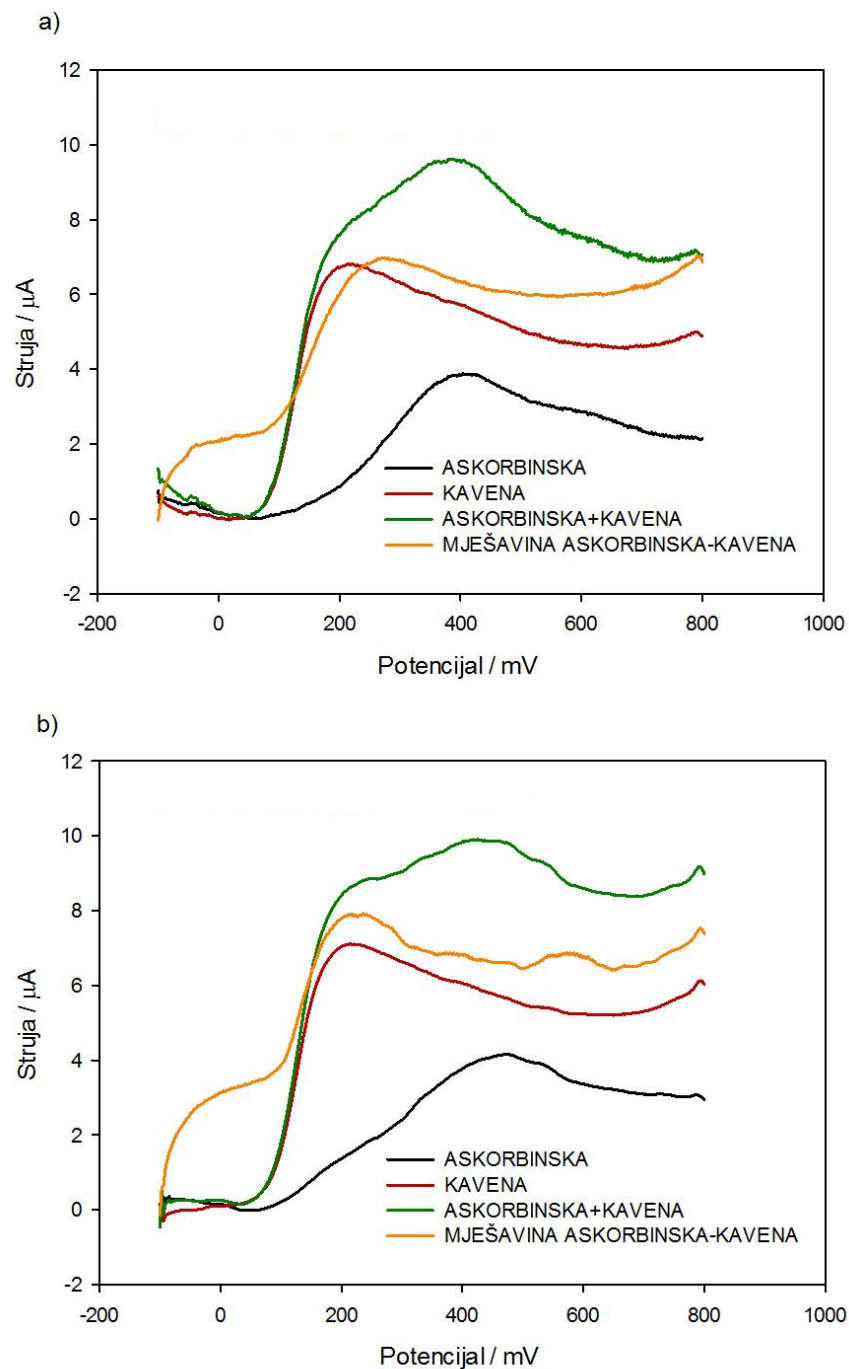
Da bi se ispitalo ponašanje modificirane elektrode u nešto kompleksnijim sustavima nego što je to analitička otopina samo jedne kiseline, ciklički voltamogrami snimani su i u mješavinama ispitivanih kiselina i to u normalnim uvjetima, te u uvjetima osvjetljenosti UV lampom. Na slikama 4.7.-4.15. prikazani su odzivi pojedinačnih kiselina, zbroj njihovih signala te odziv u ekvimolarnoj mješavini kiselina.



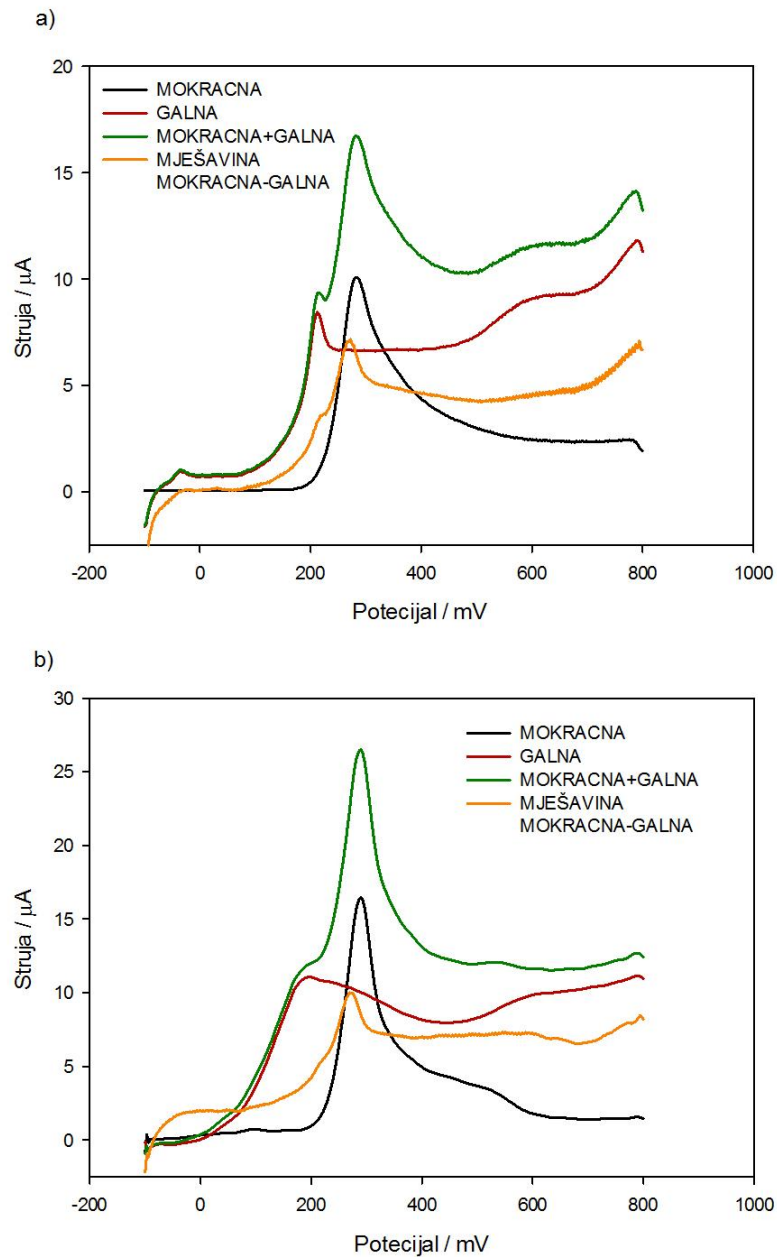
Slika 4.7. Odziv mješavine askorbinske i mokraćne kiseline u usporedbi sa odzivima pojedinačnih kiselina te zbrojem njihovih signala pod a) sobnim osvjetljenjem i b) UV lampom



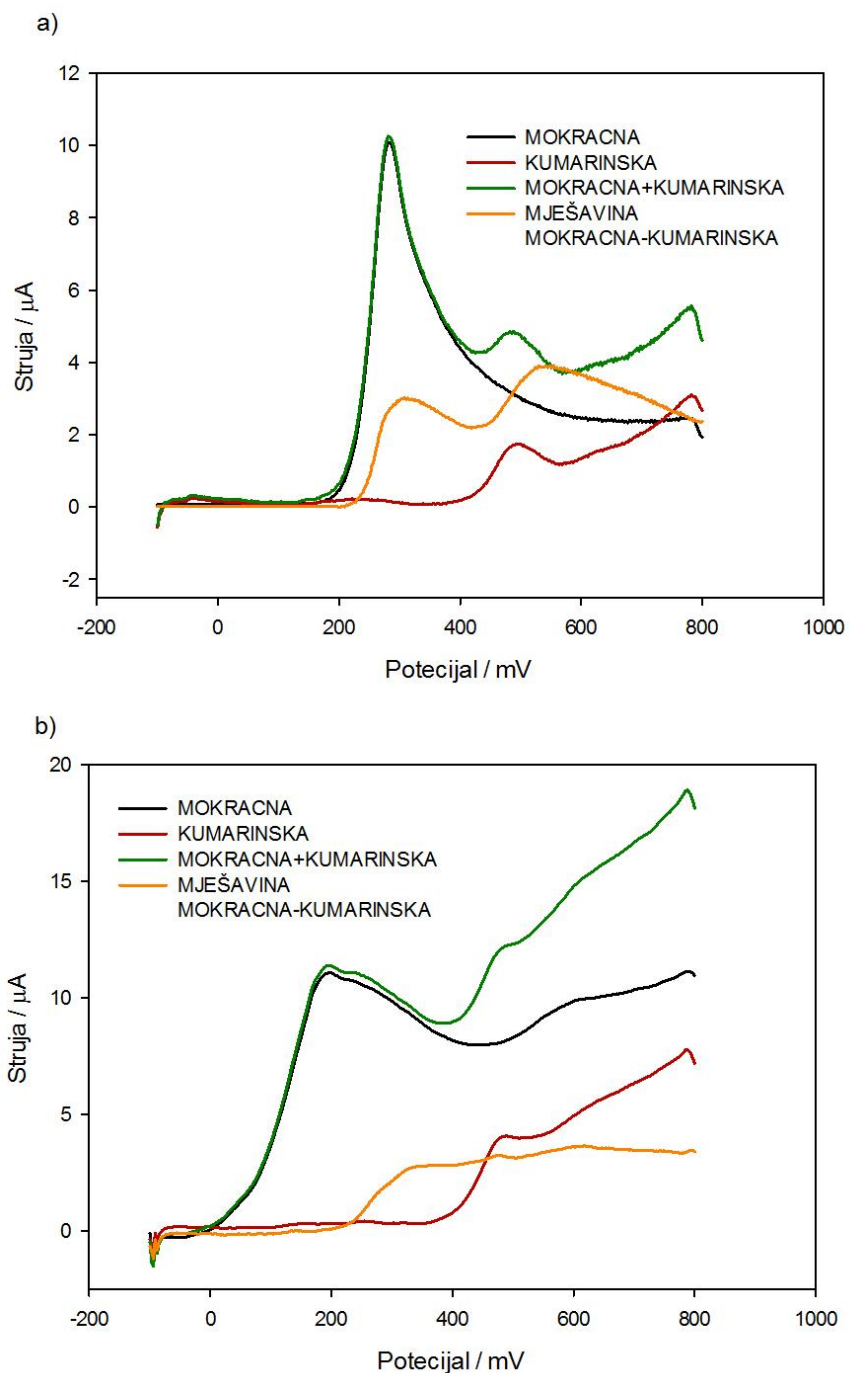
Slika 4.8. Odziv mješavine askorbinske i galne kiseline u usporedbi sa odzivima pojedinačnih kiselina te zbrojem njihovih signala pod a) sobnim osvjetljenjem i b) UV lampom



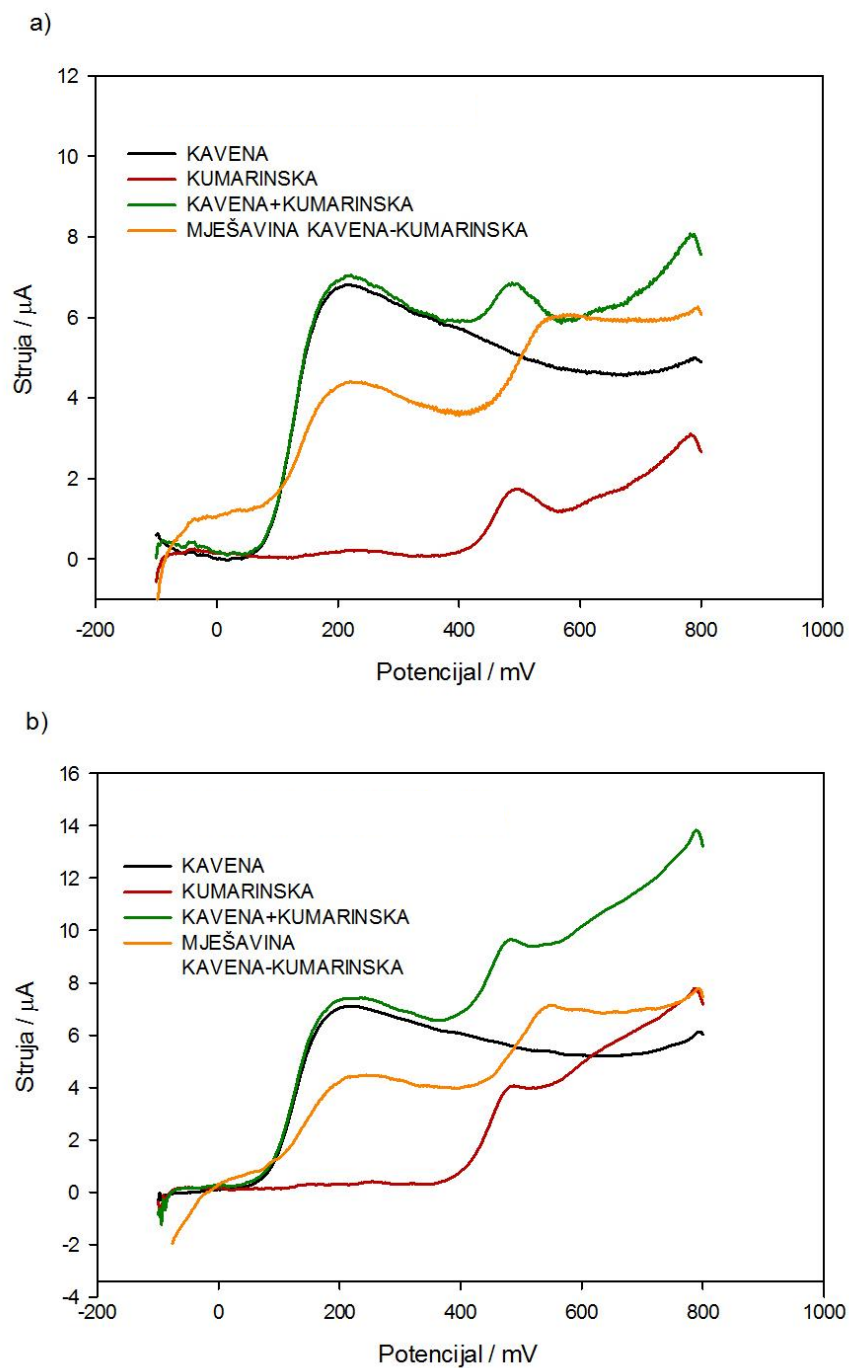
Slika 4.9. Odziv mješavine askorbinske i kavene kiseline u usporedbi sa odzivima pojedinačnih kiselina te zbrojem njihovih signala pod a) sobnim osvjetljenjem i b) UV lampom



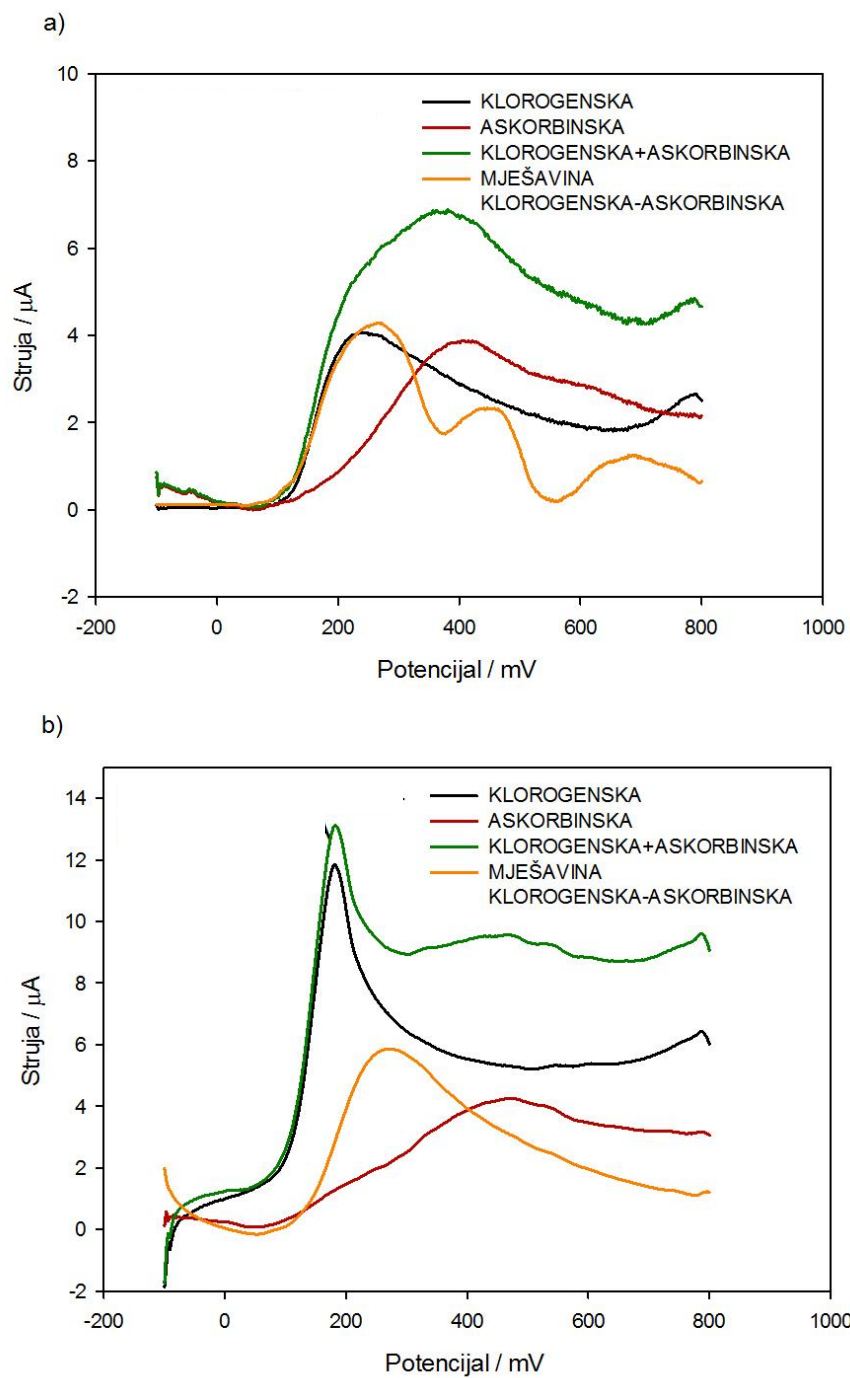
Slika 4.10. Odziv mješavine mokračne i galne kiseline u usporedbi sa odzivima pojedinačnih kiselina te zbrojem njihovih signala pod a) sobnim osvjetljenjem i b) UV lampom



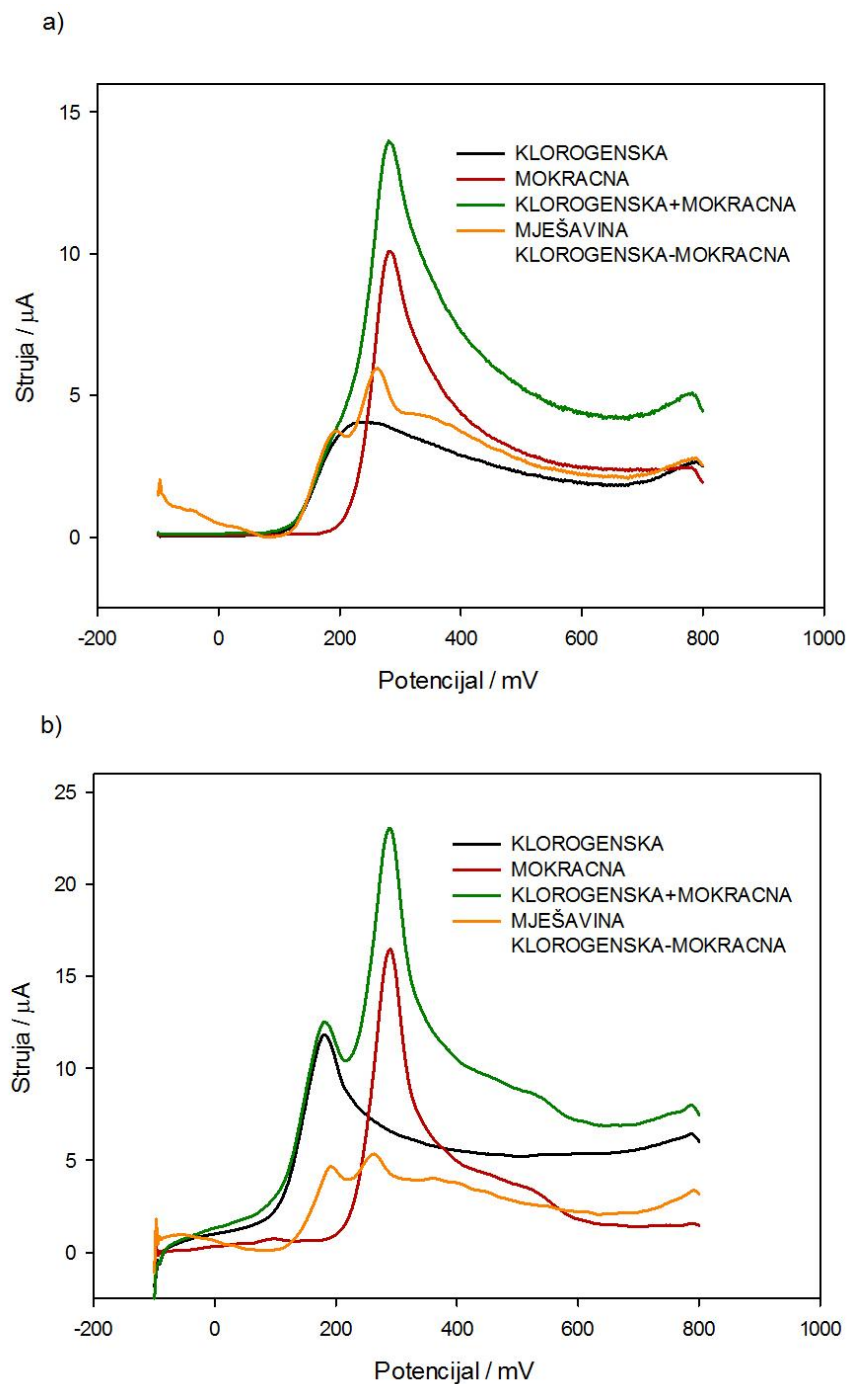
Slika 4.11. Odziv mješavine mokračne i kumarinske kiseline u usporedbi sa odzivima pojedinačnih kiselina te zbrojem njihovih signala pod a) sobnim osvjetljenjem i b) UV lampom



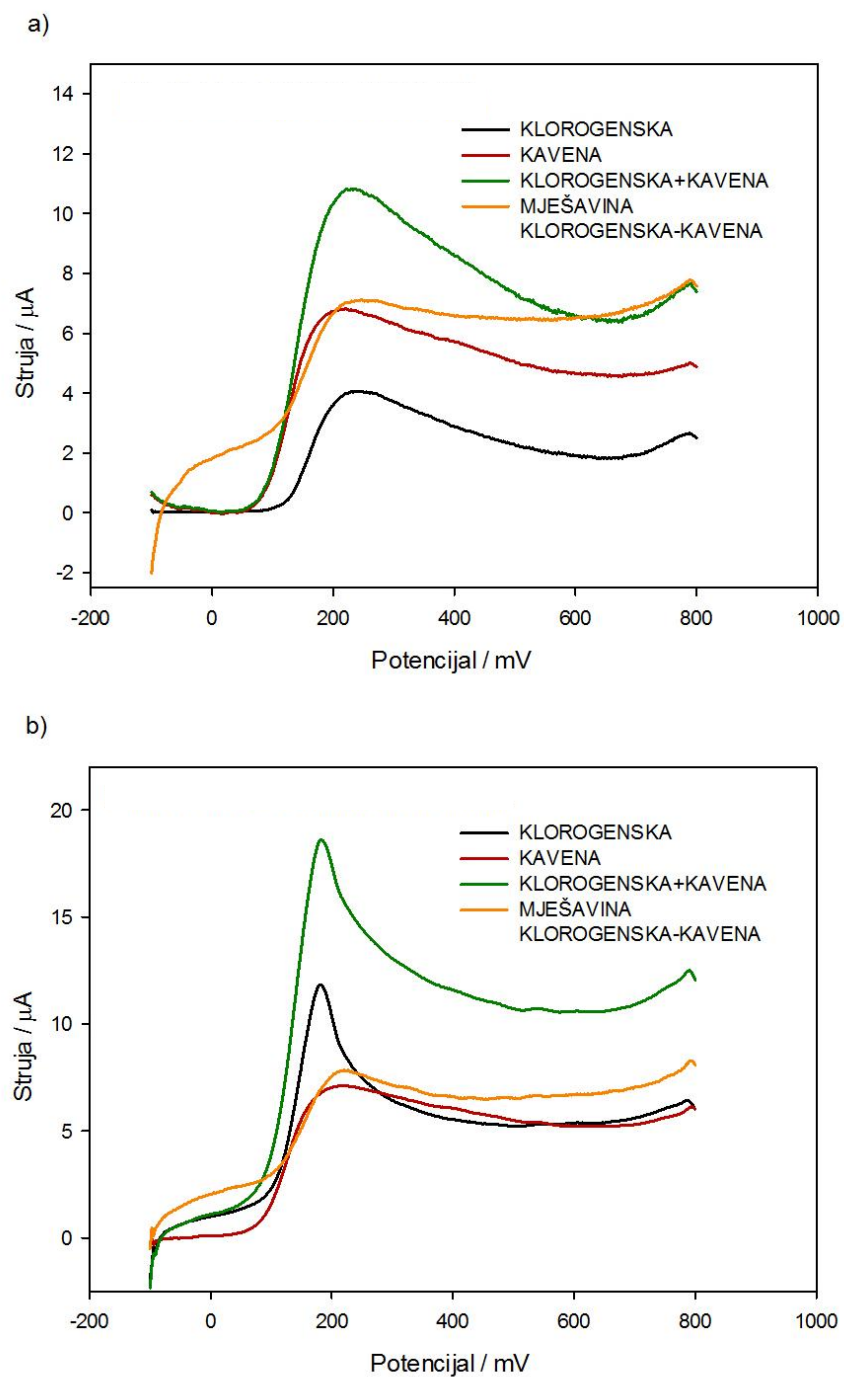
Slika 4.12. Odziv mješavine kavene i kumarinske kiseline u usporedbi sa odzivima pojedinačnih kiselina te zbrojem njihovih signala pod a) sobnim osvjetljenjem i b) UV lampom



Slika 4.13. Odziv mješavine klorogenske i askorbinske kiseline u usporedbi sa odzivima pojedinačnih kiselina te zbrojem njihovih signala pod a) sobnim osvjetljenjem i b) UV lampom



Slika 4.14. Odziv mješavine klorogenske i mokraćne kiseline u usporedbi sa odzivima pojedinačnih kiselina te zbrojem njihovih signala pod a) sobnim osvjetljenjem i b) UV lampom

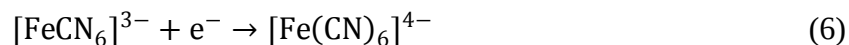


Slika 4.15. Odziv mješavine klorogenske i kavene kiseline u usporedbi sa odzivima pojedinačnih kiselina te zbrojem njihovih signala pod a) sobnim osvjetljenjem i b) UV lampom

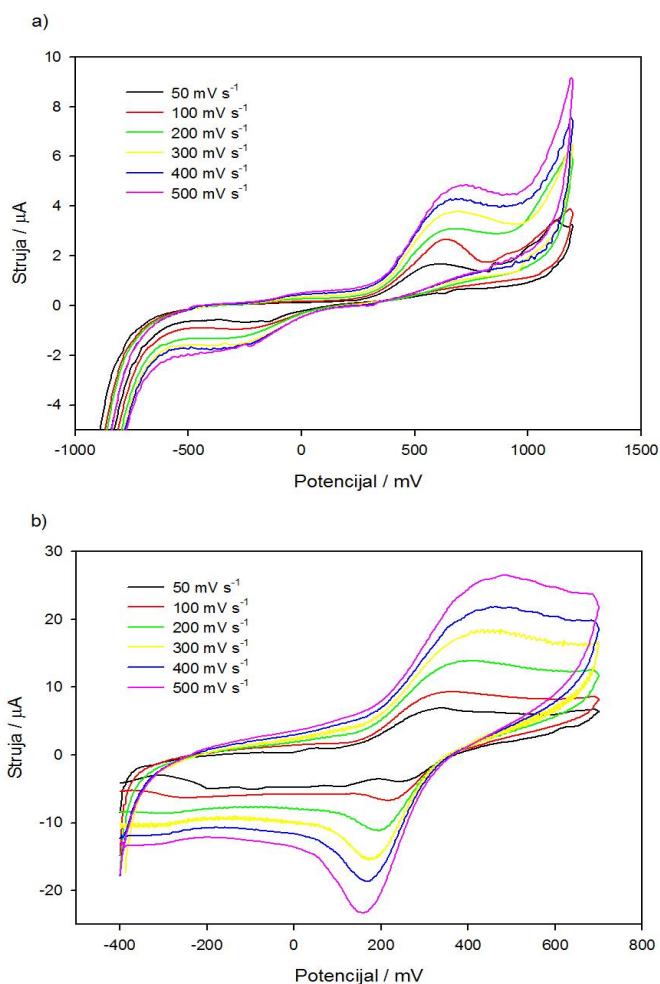
4.5. Ciklički voltamogrami feri-cijanida

Osim cikličkih voltamograma za ispitivane kiseline, snimljeni su i voltamogrami u 0,2 mM otopini feri-cijanida u 0,1 M KCl-u.

Redukcija feri-cijanida u fero-cijanid:



je reverzibilna reakcija, te je to jedna od najčešćih redoks reakcija koje se koriste pri ilustraciji reverzibilnih reakcija. Voltamogrami za reverzibilnu reakciju pokazuju i anodni i povratni katodni strujni vrh kao što se vidi na slici 4.16.



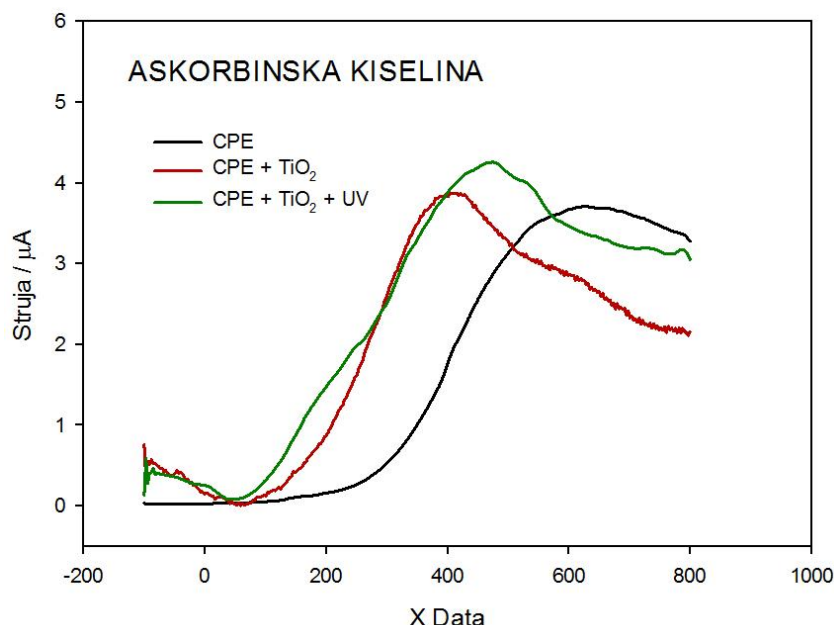
Slika 4.16. Ciklički voltamogrami za feri-cijanid na elektrodi od grafitne paste modificiranoj sa 15% nanočestica TiO_2

5. RASPRAVA

5.1. Odziv ispitivanih kiselina na modificiranoj elektrodi

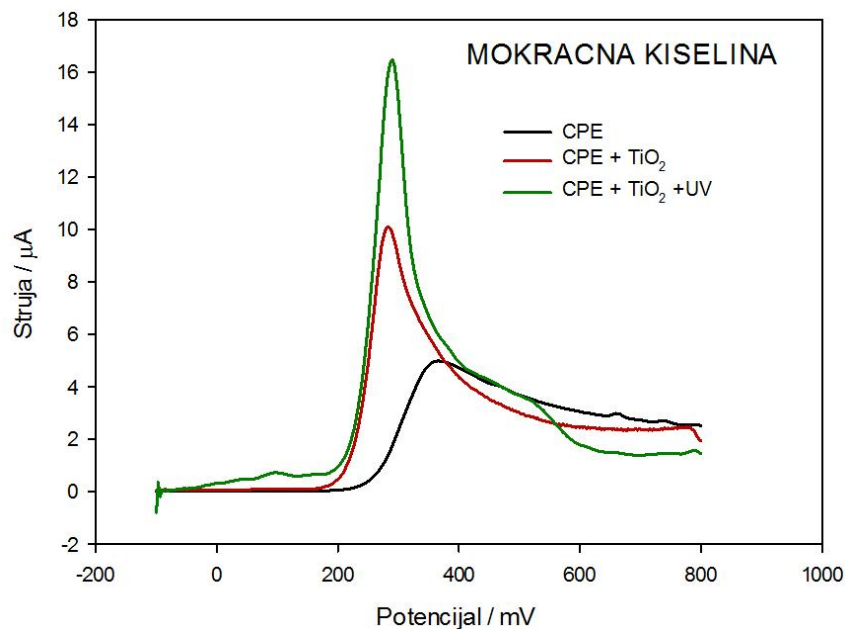
Već ako se usporede slike 4.4.-4.6. vidljivo je da su dodatkom nanočestica TiO_2 strujni maksimumi izraženiji – struja je veća i signal je uočljiviji, što omogućuje njihovu lakšu detekciju. Ta promjena najmanje se primjećuje kod kavene i klorogenske kiseline, koje i na elektrodi od čiste grafitne paste imaju zadovoljavajući signal.

Fotokatalitički efekt dodatno poboljšava signal, a najzornije je to predloženo na slikama 5.1.-5.6. gdje je dana usporedba odziva na nemodificiranoj elektrodi sa odzivima na modificiranoj elektrodi pri normalnim uvjetima i pod UV lampom, na brzini promjene potencijala 100 mV/s.

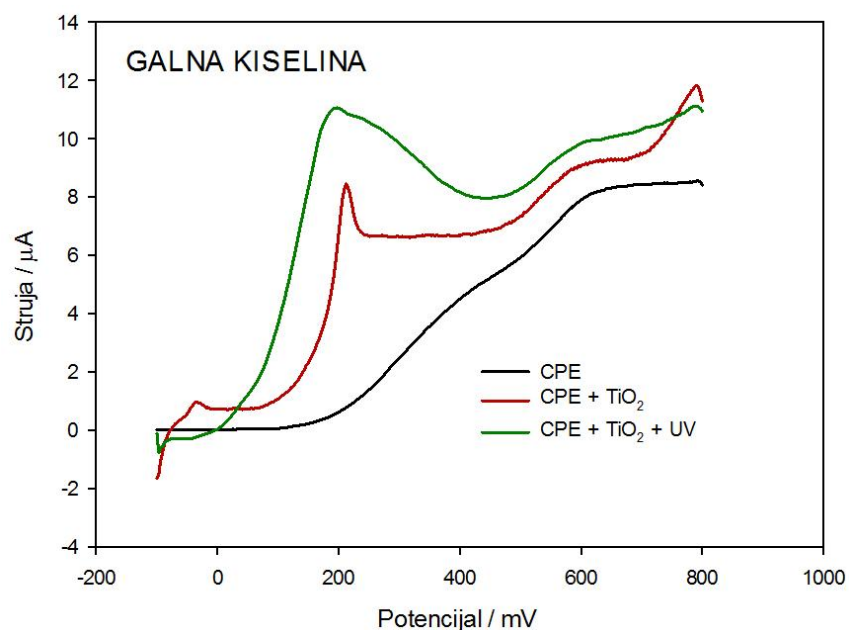


Slika 5.1. Usporedba odziva askorbinske kiseline na brzini promjene potencijala 100 mV/s

Oksidacija i askorbinske i mokraćne kiseline je ireverzibilan proces prilikom kojeg dolazi do otpuštanja dva protona i dva elektrona [29]. U oba slučaja uspješno je detektirana i na čistoj elektrodi od grafitne paste i na elektrodi modificiranoj sa nanočesticama TiO_2 . Kod askorbinske kiseline, na modificiranoj elektrodi pojavljuje se još jedan strujni vrh na 398 mV u odnosu na čistu elektrodu od grafitne paste gdje imamo samo jedan na 635 mV.

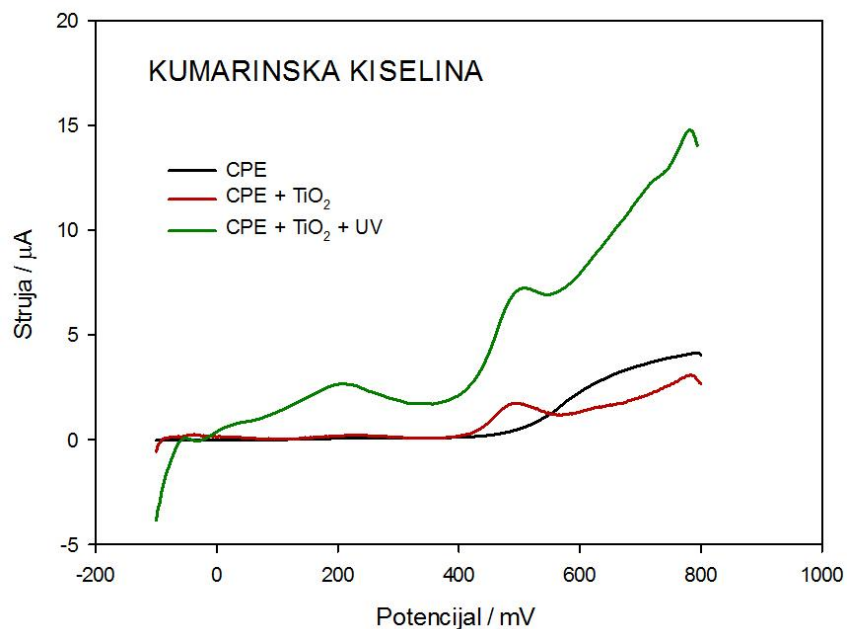


Slika 5.2. Usporedba odziva mokraćne kiseline na brzini promjene potencijala 100 mV/s

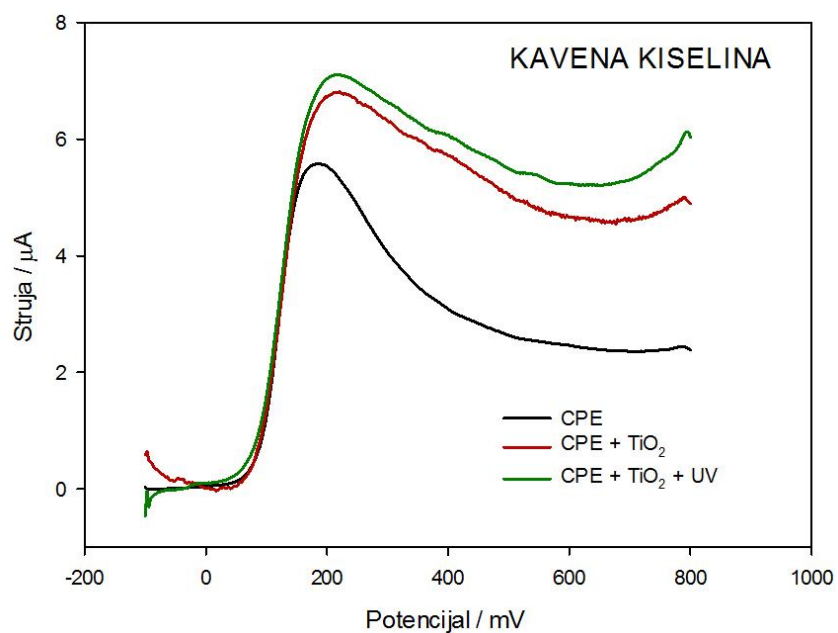


Slika 5.3. Usporedba odziva galne kiseline na brzini promjene potencijala 100 mV/s

Elektrokemijska oksidacija galne kiseline prikazuje dva anodna strujna vrha od kojih onaj na nižem potencijalu predstavlja stvaranje semikinon radikala, a onaj na višem potencijalu njegovu oksidaciju do kinona [30]. Oba strujna vrha jasno su vidljiva u odzivu modificirane elektrode, dok su na elektrodi od grafitne paste teško uočljivi.



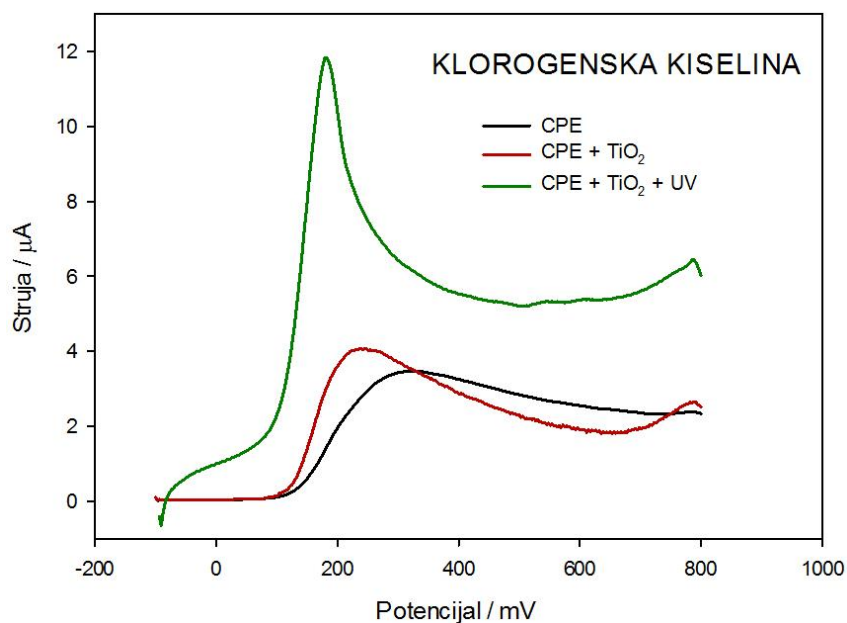
Slika 5.4. Usporedba odziva kumarinske kiseline na brzini promjene potencijala 100 mV/s



Slika 5.5. Usporedba odziva kavene kiseline na brzini promjene potencijala 100 mV/s

Kumarinska i kavena kiselina dvije su fenolne kiseline vrlo slične strukture [31]. Kavana kiselina sadrži jednu hidroksilnu skupinu više u odnosu na kumarinsku, pa je i potencijal njenog signala niži (218,9 mV) od potencijala oksidacije kumarinske kiseline (491 mV). Odziv obje kiseline

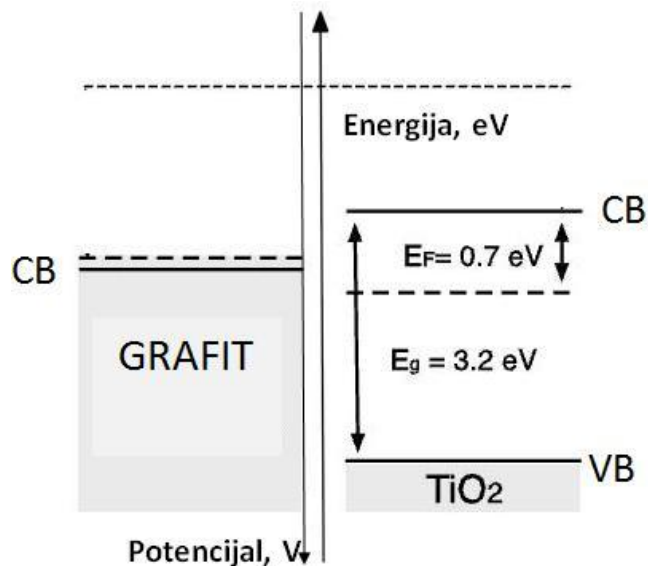
poboljšava se dodatkom nanočestica, ali je ta promjena izraženija kod kumarinske kiseline koja na elektrodi od grafitne paste nema izražen strujni vrh, za razliku od kavena kiseline koja daje zadovoljavajući odziv i na nemodificiranoj elektrodi. U odnosu na ostale dvije fenolne kiseline ispitivane u ovom radu, kavena kiselina već na elektrodi od grafitne paste pokazuje najvišu antioksidativnu aktivnost zbog svoje strukture odnosno zato što posjeduje najviše supstituenata na fenolnom prstenu.



Slika 5.6. Usporedba odziva klorogenske kiseline na brzini promjene potencijala 100 mV/s

Klorogenska kiselina također pokazuje visoku antioksidativnu aktivnost zbog svoje strukture odnosno velikog broja supstituenata [32], a dodatak nanočestica i posebice osvjetljavanje UV lampom znatno poboljšavaju njen odziv.

Iz slika 5.1.-5.6. vidljivo je da su signali na modificiranoj elektrodi oštiri i veći i pomaknuti su prema negativnijim vrijednostima potencijala. Naime, dodatak TiO_2 poboljšava prijelaz elektrona što se očituje povećanjem struje. Kako je prikazano na slici 5.7. energija vodljive vrpce (CB) grafita je niža od energije vodljive vrpce TiO_2 , odnosno potencijal TiO_2 je negativniji u odnosu na grafit pa su i signali na modificiranoj elektrodi pomaknuti prema nižim potencijalima.



Slika 5.7. Energijski nivoi grafita u usporedbi sa TiO₂ [34]

U svim slučajevima, odziv je najbolji na modificiranoj elektrodi u uvjetima osvjetljenosti UV lampom, zbog fotokatalitičkog efekta TiO₂ nanočestica.

Kao sažetak, u tablici 5.1. je dan pregled potencijala i struja strujnih vrhova te naboj ispod anodnih krivulja, pri brzini promjene potencijala od 100 mV/s, za sve ispitivane kiseline te feroferi sustav na čistoj elektrodi od grafitne paste, te na modificiranoj elektrodi na sobnom osvjetljenju i pod UV lampom.

Tablica slijedi rezultate prikazane na slikama 5.1.-5.6. i lako je uočljivo da se struja, kao i naboj povećava s lijeva na desno, odnosno dodavanjem nanočestica i fotokatalitičkim efektom.

Tablica 5.1. Potencijali i struje strujnih vrhova i naboj ispod anodnih krivulja cikličkih voltamograma

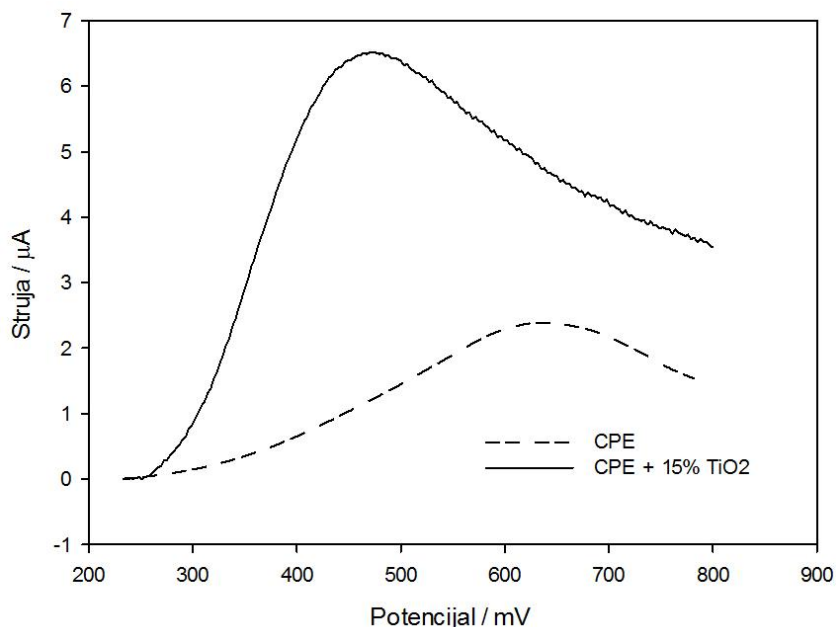
Otopina	CPE					CPE + 15% TiO ₂					CPE + 15% TiO ₂ + UV				
	$E_{\max I}$ / mV	$i_{\max I}$ / μ A	$E_{\max II}$ / mV	$i_{\max II}$ / μ A	Q / mC	$E_{\max I}$ / mV	$i_{\max I}$ / μ A	$E_{\max II}$ / mV	$i_{\max II}$ / μ A	Q / mC	$E_{\max I}$ / mV	$i_{\max I}$ / μ A	$E_{\max II}$ / mV	$i_{\max II}$ / μ A	Q / mC
fero/feri			635	2,39	718,32			470	6,52	2028,28	--	--	--	--	--
mokraćna kiselina	365	4,99	--	--	1813,09	275	9,70	--	--	2275,84	290	16,47	512*	3,55*	2672,25
askorbinska kiselina	--	--	635	3,70	1458,46	398	3,86	581*	2,93*	1745,86	221*	1,67*	473	4,25	2002,21
kumarinska kiselina	--	--	749*	3,92*	781,74	--	--	485	1,67	720,07	206	2,67	509	7,25	2084,49
kavena kiselina	185	5,58	--	--	2317,48	221	6,82	--	--	3731,65	221	7,10	--	--	4073,21
klorogenska kiselina	326	3,47	--	--	1765,62	230	4,05	--	--	1777,99	182	11,84	--	--	4108,85
galna kiselina	446*	5,17*	644*	8,29*	3422,56	212	8,45	641*	9,24*	5283,11	197	11,07	608*	9,91*	6685,79

* neizraženi vrhovi - ramena

5.2. Aktivna površina

Pored toga što kao poluvodič n-tipa, TiO_2 poboljšava prijelaz elektrona, također povećava i aktivnu površinu, što rezultira povećanjem struje. Na slici 5.8. prikazana je usporedba anodnog strujnog vrha feri-cijanida na elektrodi od grafitne paste i elektrodi modificiranoj sa 15% nanočestica TiO_2 , na brzini promjene potencijala 100 mV/s.

Ponovno se može uočiti da je strujni vrh na modificiranoj elektrodi pomaknut prema nižim vrijednostima potencijala, ali i da je struja znatno veća. Integriranjem površine ispod krivulje dobiveno je da je na elektrodi od grafitne paste izmijenjen naboj od $Q_{\text{CPE}}=7,183 \mu\text{C}$, a na modificiranoj elektrodi $Q_{\text{CPE}+\text{TiO}_2}=22,957 \mu\text{C}$, što znači da je površina modificirane elektrode 3,196 puta veća u odnosu na površinu elektrode od grafitne paste.



Slika 5.8. Usporedba anodnih valova feri-cijanida na elektrodi od grafitne paste i elektrodi modificiranoj sa 15% TiO_2

5.3. Broj izmijenjenih elektrona

Ako se uspoređi površina ispod strujnog vala određene kiseline sa površinom ispod strujnog vala feri-cijanida, može se dobiti broj elektrona izmijenjenih u reakciji obzirom da je broj elektrona izmijenjenih u reakciji oksidacije feri-cijanida na elektrodi od grafitne paste poznat i iznosi 1.

U tablici 5.2. dan je omjer naboja antioksidansa u odnosu na naboj fero/feri sustava na elektrodi od grafitne paste.

Tablica 5.2. Omjer naboja antioksidansa u odnosu na naboj sustava fero/feri na elektrodi od grafitne paste.

Otopina	Q/Q _{CPE} (fero/feri)		
	CPE	CPE + 15 % TiO ₂	CPE + 15 % TiO ₂ +UV
fero/feri	1,00	2,80	-
mokraćna kiselina	2,50	3,20	3,70
askorbinska kiselina	2,00	2,40	2,80
kumarinska kiselina	1,10	1,00	2,90
kavena kiselina	3,20	5,20	5,70
klorogenska kiselina	2,50	2,50	5,70
galna kiselina	4,80	7,40	9,30

Iz tablice je vidljivo da se omjer naboja povećava u većini slučajeva već samim dodatkom nanočestica TiO₂ u elektrodu od grafitne paste, a posebice pod UV svjetlom zbog fotokatalitičkog efekta. To znači da se povećava broj izmijenjenih elektrona, što potvrđuje da TiO₂ doista djeluje kao posrednik u prijenosu naboja kako je to u literaturi i zabilježeno [33].

5.4. Odziv mješavina ispitivanih kiselina na modificiranoj elektrodi

Za razliku od odziva u pojedinačnim otopinama kiselina, gdje signal postaje oštiji i struja veća na modificiranoj elektrodi u odnosu na čistu elektrodu od grafitne paste, u otopinama mješavina uglavnom ne dolazi do priželjkivanog razdvajanja signala, kao što je to prikazano na slikama 4.7.-4.16. gdje je dan odziv modificirane elektrode u pojedinačnim otopinama kiselina, zbroj njihovih signala te odziv u ekvimolarnoj mješavini kiselina.

Askorbinska i mokraćna kiselina dva su antioksidansa koji često koegzistiraju u biološkim uzorcima kao što su krvi ili urin, ali njihovi oksidacijski potencijali su preblizu da bi se pojedinačna antioksidativna aktivnost te dvije komponente mogla odrediti mjerenjima. Kao što prikazuje slika 4.7., ni na modificiranoj elektrodi nije postignuto razdvajanje njihovih signala, čak ni pod UV lampom.

Kod mješavine galne i askorbinske kiseline također nije uočeno razdvajanje signala na modificiranoj elektrodi niti poboljšanje u uvjetima osvjetljenosti UV lampom. Odziv mješavine u oba slučaja, i pod normalnim osvjetljenjem i pod UV lampom daje samo strujne vrhove oksidacije galne kiseline – nastajanje semikinon radikala i njegovu oksidaciju do kinona, dok strujni vrh oksidacije askorbinske kiseline nije uočljiv. Međutim, UV svjetlost odnosno fotokatalitički efekt TiO_2 nanočestica, znatno poboljšava odziv elektrode u otopini askorbinske i kavene kiseline – vidljiva su dva strujna vrha od kojih onaj na nižem potencijalu (212 mV) odgovara oksidaciji kavene kiseline, dok onaj na višem potencijalu (580 mV) odgovara oksidaciji askorbinske kiseline, kako je to prikazano na slici 4.9..

Odziv modificirane elektrode u otopini mokraćne i galne kiseline prikazuje dva oštra strujna vrha – jedan na potencijalu od 219 mV koji odgovara oksidaciji galne kiseline, odnosno nastajanju semikinon radikala i drugi na 270 mV koji odgovara oksidaciji mokraćne kiseline, dok strujni vrh oksidacije semikinon radikala do kinona nije uočljiv. On se nazire na potencijalu od otprilike 600 mV na odzivu koji je dobiven pod UV lampom, ali su zato ostala dva manje oštra u odnosu na odziv pod normalnim osvjetljenjem.

Od svih ispitivanih mješavina, mješavine s kumarinskom kiselinom (slike 4.11. i 4.12.) na modificiranoj elektrodi imaju najbolji odziv. Odziv otopine mokraćne i kumarinske kiseline ima dva strujna vrha, od kojih onaj na potencijalu od 312 mV točno odgovara oksidaciji mokraćne

kiseline, a za drugi, na 540 mV, iako je pomaknut prema pozitivnijim potencijalima u odnosu na odziv pojedinačne kumarinske kiseline, možemo zaključiti da se radi o kumarinskoj kiselini. UV svjetlost u ovom slučaju znatno pogoršava odziv.

Odziv u otopini kumarinske i kavene kiseline i pod normalnim i pod UV osvjetljenjem daje dva dobro definirana strujna vrha – jedan na potencijalu od 218 mV koji odgovara oksidaciji kavene kiseline dok je strujni vrh oksidacije kumarinske kiseline ponovno pomaknut prema višim potencijalima i nalazi se na potencijalu od 540 mV.

Od svih mješavina sa askorbinskom kiselinom, jedino odziv mješavine askorbinske i klorogenske kiseline, pri sobnom osvjetljenju, pokazuje i strujni vrh oksidacije klorogenske kiseline, na 262 mV i strujni vrh oksidacije askorbinske kiseline, na 450 mV, dok su na odzivu dobivenom pod UV lampom oba signala spojena u jedan na 265 mV i ne mogu se razlučiti.

Zadovoljavajući odziv na modificiranoj elektrodi daje i ekvimolarna otopina klorogenske i mokraćne kiseline. Njihovi oksidacijski potencijali su također preblizu i, kao što je vidljivo na prikazu zbroja njihovih signala u pojedinačnim otopinama, teško ih je razlučiti. Međutim, odziv na modificiranoj elektrodi, i na normalnom osvjetljenju i pod UV lampom, daje dva dobro definirana strujna vrha – na 185 mV, što točno odgovara oksidaciji klorogenske kiseline, te 245 mV što odgovara oksidaciji mokraćne kiseline.

Kao što je bilo moguće primijetiti već na rezultatima prikazanim na slici 4.6. klorogenska i kavena kiselina, iako imaju različitu strukturu, daju vrlo sličan odziv i na čistoj elektrodi od grafitne paste i na elektrodi modificiranoj sa nanočesticama TiO_2 . Odziv njihove ekvimolarne mješavine i na sobnom osvjetljenju, i pod UV lampom, daje samo jedan široki strujni vrh na 245 mV odnosno 209 mV.

Općenito, u svim slučajevima, osim u otopini askorbinske i kavene kiseline, odziv se ili ne mijenja znatno ili se čak pogoršava pod UV osvjetljenjem.

6. ZAKLJUČAK

Snimljeni su ciklički voltamogrami koji opisuju ponašanje šest antioksidansa na elektrodi od grafitne paste modificiranoj sa nanočesticama TiO_2 . Eksperimenti su provedeni pod sobnim osvjetljenjem te pod UV lampom, zbog proučavanja fotokatalitičkog efekta TiO_2 . Dobiveni rezultati uspoređeni su sa rezultatima na elektrodi od čiste grafitne paste i pokazuju da se kod svih šest ispitivanih kiselina signal poboljšava odnosno struja povećava dodatkom nanočestica, a posebice djelovanjem fotokatalitičkog efekta. Poboljšanje signala najuočljivije je u slučaju galne i kumarinske kiseline, koje imaju vrlo slab odziv na elektrodi od čiste grafitne paste, dok su na modificiranoj elektrodi vrlo dobro uočljivi njihovi oksidacijski strujni vrhovi. Poboljšanje signala, iako je prisutno, najmanje se uočava na cikličkim voltamogramima kavene i klorogenske kiseline koje i na elektrodi od grafitne paste imaju zadovoljavajući odziv.

Pored šest antioksidansa, na modificiranoj elektrodi snimljeni su i ciklički voltamogrami oksidacije feri-cijanida. S obzirom da je broj elektrona izmijenjenih u reakciji oksidacije feri-cijanida na elektrodi od grafitne paste poznat i iznosi 1, usporedbom površine ispod strujnih valova ispitivanih kiselina sa površinom ispod strujnog vala feri-cijanida dobivenog na elektrodi od grafitne paste, određen je i broj izmijenjenih elektrona koji se povećava već dodatkom nanočestica, a posebice fotokatalitičkim efektom, što potvrđuje da dodatak TiO_2 poboljšava prijenos naboja.

Ciklički voltamogrami snimljeni su i u devet otopina mješavina ispitivanih kiselina na modificiranoj elektrodi, pod sobnim osvjetljenjem i UV lampom i najbolji odziv odnosno najbolje razdvajanje signala postignuto je u mješavinama s kumarinskom kiselinom, dok je najslabije u mješavinama s askorbinskom kiselinom. UV svjetlost ne poboljšava značajno odziv mješavina na modificiranoj elektrodi.

7. POPIS SIMBOLA

E_p – potencijal vrha vala, V

$E_{1/2}$ – polarigrafski poluvalni potencijal, V

E_{zke} – potencijal zasićene kalomel elektrode, V

R – opća plinska konstanta, J mol⁻¹ K⁻¹

T – temperatura, K

F – Faradayeva konstanta, C mol⁻¹

i_p – struja vrha vala, A

A – površina elektrode, cm²

D – difuzijski koeficijent, cm² s⁻¹

c_0 – koncentracija elektroaktivne vrste u otopini, mol cm⁻³

v – brzina promjene potencijala, Vs⁻¹

α – koeficijent prijelaza

n_α – broj elektrona najsporijeg stupnja razmjene

E_g – energetski rascjep, eV

λ – valna duljina, nm

Q – naboj, C

8. LITERATURA

1. A. Mathiazhagan and Rani Joseph: Nanotechnology-A New Prospective in Organic Coating - Review, International Journal of Chemical Engineering and Applications, Vol. 2 , No. 4 , 2011
2. J. F. Jacobs, I. Van de Poel, P. Osseweijer: Towards Safety and Sustainability by Design: Nano-sized TiO₂ in Sunscreens, 2010
3. A. Shin'ichi: The Light Clean Revolution, Sci-Tech Feature, 2002
4. B.N. Ames, R. Cathcart, E. Schwiers, P. Hochstein: Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis, Proc Natl Acad Sci USA, 78, 1981, 6858-62
5. M. Mazloun Ardakani, Z. Akrami, H. Kazemian, H.R. Zare: Electrocatalytic characteristics of uric acid oxidation at graphite–zeolite-modified electrode doped with iron (III), Journal of Electroanalytical Chemistry, 2006
6. A. Kesić, A. Crnkić, Z. Hodžić: Stabilnost antioksidanasa u medu, Hranom do zdravlja, 2011
7. A. Pichler: Utjecaj dodataka i skladištenja na kvalitetu, reološka i termofizikalna svojstva paste od maline, disertacija, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2011
8. D. Huang, B. Ou, R. L. Prior: The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays, Agric. Food Chem., 2005
9. B. Halliwell, J.M. Gutteridge: Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview, Methods Enzymol. 1990; 186:1-85
10. M.B. Davies, J. Austin, D.A.Partridge: Vitamin C: Its Chemistry and Biochemistry, The Royal Society of Chemistry, 1991
11. P. Mattila, J. Hellström, R. Törrönen: Phenolic acids in berries, fruits, and beverages, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54: 71-93
12. R. Robbins: Phenolic Acids in Food: An Overview of Analytical Methodology, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51, 25-28

13. A.S. Cho, S.M. Jeon, M.J. Kim, J. Yeo, K.I. Seo, M.S. Choi, M.K. Lee: Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice, *Food Chem Toxicol.*, 2010, 48(3):937-43
14. E. Thom: The effect of chlorogenic acid enriched coffee on glucose absorption in healthy volunteers and its effect on body mass when used long-term in overweight and obese people, *J Int Med Res.*, 2007, 35(6):900-8.
15. G. Cao , R.L. Prior: Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum, *Clin Chem.*, 1998
16. P. Molyneux: The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *J. Sci. Technol.* 26, 2004, 211-219
17. J.W. Luo, M. Zhang, D.W. Pang: Selective and sensitive determination of uric acid at DNA-modified graphite powder microelectrodes, *Sensors and Actuators*, 106, 2005
18. I.F. Abdullin, Y.N. Bakanina, E.N. Turova, G.K. Budnikov: Determination of uric acid by voltammetry and coulometric titration, *J. Anal. Chem.* 56, 2001, 453-456
19. I. Piljac: Elektroanalitičke metode, RMC, Zagreb, 1995.
20. Kemijsko tehnološke vježbe – interna skripta, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, 2011.
21. J. Wang: *Analitical Electrochemistry*, Wiley-VCH, 2nd ed., USA, 2000., str. 28-35,60-62
22. I. Švancara, K. Vytras, K. Kalcher, A. Walcarius, J. Wang: Carbon Paste Electrodes in Facts, Numbers, and Notes: A Review on the Occasion of the 50-Years Jubilee of Carbon Paste in Electrochemistry and Electroanalysis, *Electroanalysis*, 2009
23. I. Švancara, K. Schachl: Testing of Unmodified Carbon Paste Electrodes, *Chem. Listy* 93, 490-499, 1999
24. J. Qiu, S. Zhang, H. Zhao: Recent applications of TiO₂ nanomaterials in chemical sensing in aqueous media, *Sensors and Actuators B* 160, 2011, 875– 890

25. A. Zaleska: Doped-TiO₂: A Review, Recent Patents on Engineering, 2008
26. L. Straka, Y. Yagodzinskyy, H. Kawakami, J. Romu, R. Ilola, H. Hänninen: Open-circuit potential as an indicator of damage of atomic layer deposited TiO₂ on AISI 304 stainless steel, Thin Solid Films 517, 2008
27. M. Mazloun-Ardakani, M.A. Sheikh-Mohseni, H. Beitollahi, A. Benvidi, H.Naeimi: Electrochemical determination of vitamin C in the presence of uric acid by a novel TiO₂ nanoparticles modified carbon paste electrode, Chin. Chem. Lett. 21, 2010, 1471–1474
28. S.S. Kalanur, J. Seetharamappa, S.N. Prashanth, Voltammetric sensor for buzepide methiodide determination based on TiO₂ nanoparticle-modified carbon paste electrode, Colloids Surf. B 78, 2010, 217–221
29. Ascorbic Acid (Vitamin C): A Cyclic Voltammetric Study of its Oxidation at a Glassy Carbon Electrode, Experiments in Analytical Electrochemistry
30. J. Tashkhourian, S. F. Nami Ana, S. Hashemnia, M. R. Hormozi-Nezhad: Construction of a modified carbon paste electrode based on TiO₂ nanoparticles for the determination of gallic acid, J Solid State Electrochem, 2013, 17:157–165
31. A. Simić, D. Manojlović, D. Šegan, M. Todorović: Electrochemical Behavior and Antioxidant and Prooxidant Activity of Natural Phenolics, Molecules, 2007, 12, 2327-2340
32. M. Šeruga, I. Tomac: Electrochemical Behaviour of Some Chlorogenic Acids and Their Characterization in Coffee by Square-Wave Voltammetry, Int. J. Electrochem. Sci., 9, 2014, 6134 – 6154
33. M. Mashhadizadeh, E. Afshar: Electrochemical investigation of clozapine at TiO₂ nanoparticles modified carbon paste electrode and simultaneous adsorptive voltammetric determination of two antipsychotic drugs, Electrochimica Acta 87, 2013, 816– 823
34. A. Cultrera, L. Boarino, G. Amato, C. Lamberti: Band-gap states in unfilled mesoporous nc-TiO₂: measurement protocol for electrical characterization, J. Phys. D: Appl. Phys. 47, 2014

ŽIVOTOPIS

Ema Antonia Gospić rođena je 13. lipnja 1992. godine u Splitu. Osnovnu školu „fra Didak Buntić” i Osnovnu glazbenu školu, odsjek violina, završila je 2006. godine u Čitluku, BiH, te upisala opću gimnaziju u Srednjoj školi „fra Slavko Barbarić”, također u Čitluku, BiH. Maturirala je 2010. godine s odličnim uspjehom. Iste godine upisala se na Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, smjer Primijenjena kemija. Stručnu praksu odradila je u „Ledo d.o.o. Čitluk”. Obranom završnog rada na temu ‘Zaštita od korozije uronjenih metalnih konstrukcija sustavima premaza’ 2013. godine završava preddiplomski studij s prosjekom ocjena 4.1. Diplomski studij nastavlja na istom smjeru, modul Specifični materijali i napredne tehnologije. Preko Erasmus+ programa studentske mobilnosti, jedan semestar provela je na Kemijskom fakultetu Tehničkog sveučilišta u Brnu u Republici Češkoj, sudjelujući na projektu izrade senzora za atmosferski ozon. Nagrađena je Dekanovom nagradom 2014. godine za zapažen studentski znanstveni rad na temu: Ispitivanje različitih formulacija nanostrukturiranog premaza na bazi TiO_2 za zaštitu od korozije.