Primjena modificirane ugljikove elektrode za voltametrijsko određivanje teških metala u prehrambenim proizvodima

Bosnić, Ljubica

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

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:167:058550

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO – TEHNOLOŠKI FAKULTET

PRIMJENA MODIFICIRANE UGLJIKOVE ELEKTRODE ZA VOLTAMETRIJSKO ODREĐIVANJE TEŠKIH METALA U PREHRAMBENIM PROIZVODIMA

ZAVRŠNI RAD

LJUBICA BOSNIĆ

Matični broj: 310

Split, rujan 2018.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO – TEHNOLOŠKI FAKULTET

PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE

PRIMJENA MODIFICIRANE UGLJIKOVE ELEKTRODE ZA VOLTAMETRIJSKO ODREĐIVANJE TEŠKIH METALA U PREHRAMBENIM PROIZVODIMA

ZAVRŠNI RAD

LJUBICA BOSNIĆ

Matični broj: 310

Split, rujan 2018.

UNIVERSITY OF SPLIT

FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY

UNDERGRADUATE STUDY IN CHEMISTRY

APPLICATION OF MODIFIED CARBON ELECTRODE FOR VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF HEAVY METALS IN DIETARY PRODUCTS

BACHELOR THESIS

LJUBICA BOSNIĆ

Parent number: 310

Split, September 2018

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko – tehnološki fakultet
Preddiplomski studij Kemije, smjer: Kemija

Znanstveno područje: prirodne znanosti
Znanstveno polje: Kemija
Tema rada je prihvaćena na III. Sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko–tehnološkog fakulteta

Mentor: doc. dr. sc. Ivana Škugor Rončević
Pomoć pri izradi: dr. sc. Nives Vladislavić

PRIMJENA MODIFICIRANE UGLJIKOVE ELEKTRODE ZA VOLTAMETRIJSKO ODREĐIVANJE TEŠKIH METALA U PREHRAMBENIM PROIZVODIMA

Ljubica Bosnić, 310

Sažetak: U ovom završnom radu su određivane koncentracije teških metala, olova i kadmija, u realnim uzorcima meda i šećera. Na elektrodi od staklastog ugljika (GC) kronamperometrijski je formiran film hidroksiapatita (HAp) te su pomoću voltametrijskih metoda (ciklička voltametrija, pravokutnovalna voltametrija) ispitane njegove osobine te primjena za određivanje koncentracije teških metala (olova i kadmija). Prilikom mjerenja korištene su tri elektrode: radna elektroda (GC elektroda), referentna elektroda (Ag/AgCl) i prouelektroda (platinska žica). Hidroksiapatit posjeduje veliku poroznost te sposobnost prihvaćanja drugih iona kao supstituenata. Nanošenjem ovog filma, elektrodi je povećavana osjetljivost te granica detekcije do jako niskih koncentracija teških metala. Izmjerena i određena koncentracija u šećeru za Pb iznosila je 823,7 μg/kg, dok je koncentracija izmjerena za Cd iznosila 860,0 μg/kg. Izmjerena i određena koncentracija u medu za Pb iznosila je 4410,0 μg/kg, dok je koncentracija izmjerena za Cd iznosila 387,4 μg/kg. Određene koncentracije za olovo i kadmij u oba realna uzorka premašuju vrijednosti koje su propisane Pravilnikom kao dozvoljene koncentracije tih teških metala u medu i šećeru.

Ključne riječi: teški metali, šećer, med, hidroksiapatit, staklasti ugljik

Rad sadrži: 44 stranice, 21 sliku, 5 tablica, 20 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav povjerenstva za obranu: 1. doc. dr. sc. Maša Buljac - predsjednica
2. doc. dr. sc. Ivana Smoljko – član
3. doc. dr. sc. Ivana Škugor Rončević – član-mentor

Datum obrane: 26. rujna 2018.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko – tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of chemistry and technology Split
Undergraduate study of chemistry, orientation: Chemistry

Scientific area: Natural sciences
Scientific field: Chemistry
Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. III

Mentor: Ivana Škugor Rončević, PhD, assistant prof.
Technical assistance: Nives Vladislavić, PhD

APPLICATION OF MODIFIED CARBON ELECTRODE FOR VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF HEAVY METALS IN DIETARY PRODUCTS

Ljubica Bosnić, 310

Abstract: In this bachelor thesis, concentrations of heavy metals (Pb and Cd) are determined in real samples of sugar and honey. Hydroxyapatite (HAp) film was chronoamprometrically formed on the glassy carbon (GC) electrode and voltammetric methods (cyclic voltammetry, square wave voltammetry) were used for testing its properties and for determination of the concentrations of heavy metals (Pb and Cd). Three electrodes were used during the measurement: working electrode (GC electrode), reference electrode (Ag/AgCl) and counterelectrode (platinum wire). Hydroxyapatite has great porosity and ability to accept other ions as substituens. The presence of HAp increased the sensitivity and capacity of GC electrode for the determination of heavy metals accurately at very low level. The concetration that we determined in sugar for the Pb is 823,7 μg/kg, while the concentration that we determined in sugar for the Cd is 860,0 μg/kg. The concentration that we determined in honey for the Pb is 4410,0 μg/kg, while the concentration that we determined in honey for the Cd is 387,4 μg/kg. The resulting concentrations of lead and cadmium in both real samples exceed the values prescribed by the Ordinance as permissible concentrations of these heavy metals in honey and sugar.

Keywords: heavy metals, sugar, honey, hydroxyapatite, glassy carbon

Thesis contains: 44 pages, 21 pictures, 5 tables, 20 literatury references

Original in : Croatian

Defence committee:
1. Maša Buljac, PhD, assistant prof. — chair person
2. Ivana Smoljko, PhD, assistant prof. — member
3. Ivana Škugor Rončević, PhD, assistant prof. — supervisor

Defence date: September 26th, 2018.

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

Završni rad je izrađen u Zavodu za Opću i anorgansku kemiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Ivane Škugor Rončević u razdoblju od travnja do lipnja 2018. godine.

Zahvala

Zahvaljujem se dr. sc. Nives Vladislavić na stručnoj pomoći i savjetima prilikom izrade ovog završnog rada.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

- Odabrati realne uzorke meda i šećera
- Pripremiti realne uzorke za postupak mjerenja
- Pripremiti otopine standarda
- Mehanički obraditi GC elektrodu
- Pripremiti film hidroksiapatita na GC elektrodi
- Odrediti sadržaj teških metala (Pb i Cd) u medu i šećeru
- Usporediti dobivene koncentracije s vrijednostima koje su propisane pravilnikom

SAŽETAK

U ovom završnom radu su određivane koncentracije teških metala, olova i kadmija, u realnim uzorcima meda i šećera. Na elektrodi od staklastog ugljika (GC) kronamperometrijski je formiran film hidroksiapatita (HAp) te su pomoću voltametrijskih metoda (ciklička voltametrija, pravokutnovalna voltametrija) ispitane njegove osobine te primjena za određivanje koncentracije teških metala (olova i kadmija). Prilikom mjerenja korištene su tri elektrode: radna elektroda (GC elektroda), referentna elektroda (Ag/AgCl) i prouelektroda (platinska žica). Hidroksiapatit posjeduje veliku poroznost te sposobnost prihvaćanja drugih iona kao supstituenata. Nanošenjem ovog filma, elektrodi je povećavana osjetljivost te granica detekcije do jako niskih koncentracija teških metala. Izmjerena i određena koncentracija u šećeru za Pb iznosi 823,7 μg/kg, dok je koncentracija izmjerena za Cd iznosila 860,0 μg/kg. Izmjerena i određena koncentracija u medu za Pb iznosila je 4410,0 μg/kg, dok je koncentracija izmjerena za Cd iznosila 387,4 μg/kg. Određene koncentracije za olovo i kadmij u oba realna uzorka premašuju vrijednosti koje su propisane pravilnikom kao dozvoljene koncentracije tih teških metala u medu i šećeru.

Ključne riječi: teški metali, šećer, med, hidroksiapatit, staklasti ugljik

SUMMARY

In this bachelor thesis, concentrations of heavy metals (Pb i Cd) are determined in real samples of sugar and honey. Hydroxyapatite (HAp) film was chronoamprometrically formed on the glassy carbon electrode and voltammetric methods (cyclic voltammetry, square wave voltammetry) were used for testing its properties and for determination of the concentrations of heavy metals (Pb i Cd). Three electrodes were used during the measurement: working electrode (GC electrode), reference electrode (Ag/AgCl) and counterelectrode (platinum wire). Hydroxyapatite has great porosity and ability to accept other ions as substituens. The presence of HAp increased the sensitivity and capacity of GC electrode for the determination of heavy metals accurately at very low level. The concetration that we determind in sugar for the Pb is 823,7 μg/kg, while the concentration that we determined in sugar for the Cd is 860,0 μg/kg. The concentration that we determined in honey for the Pb is 4410,0 μg/kg, while the concentration that we determined in honey for the Cd is 387,4 μg/kg. The resulting concentrations of lead and cadmium in both real samples exceed the values prescribed by the Ordinance as permissible concentrations of these heavy metals in honey and sugar.

Keywords: heavy metals, sugar, honey, hydroxyapatite, glassy carbon

Sadržaj

UVOD 1
1. OPĆI DIO 3
1.1. Med – osnovne karakteristike 4
1.2. Šećer – osnovne karakteristike 5
1.3. Teški metali u okolišu 6
1.3.1. Kadmij 7
1.3.2. Olovo 8
1.3.3. Dozvoljene koncentracije Cd i Pb u medu i šećeru 9
1.4. Mjerne tehnike 10
1.4.1. Voltametrija 10
1.4.2. Kronoamperometrija 13
1.4.3. Infracrvena (IR) spektroskopija 14
1.5. Elektrode 16
1.6. Hidroksiapatit 17
2. EKSPERIMENTALNI DIO 19
2.1. Kemikalije i otopine 20
2.2. Priprava otopine standarda 20
2.3. Metoda određivanja 21
2.4. Priprava uzorka 21
2.5. Priprava radne elektrode 22
2.6. Aparatura 24
3. REZULTATI I RASPRAVA 26
3.1. Elektrokemijsko deponiranje hidroksiapatita 27
3.2. Ciklički voltamogram GC elektrode i HAp/GC elektrode u elektrolitu 28
3.3. FTIR spektar površine radne elektrode 29
3.4. Elektroanalitičko određivanje olova i kadmija 31
3.5. Elektroanalitičko određivanje metala u šećeru i medu 35
3.5.1. Određivanje olova u šećeru 35
3.5.2. Određivanje kadmija u šećeru 36

3.5.3. Određivanje olova u medu 37
3.5.4. Određivanje kadmija u medu 38
3.6. Opći prikaz rezultata 39
4. ZAKLJUČAK 40
5. LITERATURA 42

UVOD

Kroz povijest, ljudska aktivnost nije značajno utjecala na okoliš sve do razvoja industrije. Razvojem industrije i upotrebom ugljena dolazi do povećanog ispuštanja ugljičnih, sumporovih i dušikovih oksida. Razvojem kemije i primjenom kemijskih tvari u industriji, raste doprinos i drugih štetnih tvari u onečišćenju okoliša. Kao direktna posljedica industrijske i poljoprivredne djelatnosti širom svijeta, sve je više onečišćenih površina.

Nagomilavanje onečišćivača (teški metali, organski onečišćivači) opterećuje proizvodni kapacitet ekosustava. Tlo učestalo prima, veže i zadržava štetne tvari. Ako unos tih onečišćivača prijeđe određenu granicu, tlo počinje predstavljati rizik za zdravlje. Pod pojmom onečišćenja tla teškim metalima podrazumijevamo udio teškog metala u tlu u onoj količini koja dovodi do mjerljivih poremećaja neke od funkcija tla, a posebice one vezane za tvorbu organske tvari. [1]

S aspekta biljne ishrane, teške metale možemo podijeliti na: mikroelemente (Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, Ni) i toksične elemente (Cd, Hg, Cr, Pb). Svi teški metali imaju tendenciju neograničenog nakupljanja u organizmu ili biljnom tkivu, što je posebno opasno na zagađenim staništima i pri uzgoju biljaka koje imaju visok afinitet prema tim elementima.

Cilj ovog rada bio je odrediti koncentraciju odabranih teških metala (Cd i Pb) u medu i šećeru. Med je sladak i gust sok što ga pčele medarice tvore od nektara kojeg skupljaju na cvjetovima ili slatkim izlučevinama nekih kukaca. Danas je vrlo cijenjen proizvod koji se koristi u prehrambene i ljekovite svrhe. Šećer je jedan od najzastupljenijih zaslađivača hrane danas. Dobiva se iz šećerne repe i šećerne trske.[1]

1. OPĆI DIO

1.1. Med – osnovne karakteristike

Med se od davnina koristi u ljudskoj prehrani i oduvijek je bio cijenjen. Moderna istraživanja potvrđuju stara narodna vjerovanja koja mu pripisuju antibakterijska, antioksidacijska, antivirusna, antikancerogena i mnoga druga svojstva. U svakodnevnoj prehrani koristi se kao sladilo i kao prirodni konzervans.[2]

Med se sastoji uglavnom od monosaharida, glukoze i fruktoze, čiji udio u iznosi od 75 do 80 %. Udio vode je od 16 do 20 %, a ostatak čine drugi ugljikohidrati, flavonoidi, minerali, vitamini i enzimi. Flavonoidi, askorbinska kiselina, fenolne kiseline i karotenoidi samo su neki od antioksidansa prisutnih u medu. Sastav antioksidansa i antioksidacijska aktivnost meda ovise o biljnom izvoru, a tamniji med pokazuje jača antioksidacijska svojstva. Kao glavne antioksidanse izolirane iz meda valja izdvojiti flavonoide, za koje studije pokazuju da imaju jača antioksidacijska djelovanja od vitamina. Prirodni antioksidansi imaju povoljan učinak na krvožilni sustav čovjeka. Flavonoidi se u farmaceutskoj industriji koriste za poboljšanje tonusa žila, poboljšanje vida i otpornosti kapilara.[3]

Prema izvoru iz kojeg je dobiven, med dijelimo na:

- cvjetni ili nektarni med i
- med medljikovac.

Cvjetni med dobiva se sakupljanjem sokova nektara biljaka. Razlikujemo mnogo vrsta meda ovisno o biljci s koje potječe (kestenov, bagremov, lipov itd.). Da bi dobio taj naziv, med mora proći ispitivanje broja peludnih zrnaca koji je propisan i u pravilu mora prelaziti 45 %. Iznimno od ovoga broj peludnih zrnaca za neke vrste meda može biti znatno veći ili manji od 45 %. To se odnosi na pitomi kesten 85 %, uljanu repicu 60 %, metvicu 20 %, lipu 25 %, kadulju 15 %, bagrem 20 %, ružmarin 20 %, lavandu 10 % i na još neke manje poznate i tropske vrste meda. U područjima gdje nema takvih mogućnosti pčele sakupljaju nektar s različitih vrsta biljaka i tada govorimo o poliflornom cvjetnom medu.

Med medljikovac (ili šumski med) (Slika 1.) nastaje od medljike. Medljika je slatka tekućina koju proizvode kukci (lisne i štitaste uši), za vrijeme hranjenja sokom biljke na kojoj se nalaze. Opisanu tekućinu pčele sakupljaju i pohranjuju u saće. Postoji više vrsta medljikovca ovisno o biljci s koje potječe (hrastov, bukov itd.). Takav med je lošije kvalitete, brzo se kristalizira, ali je bogat mineralnim tvarima. Sadrži veću količinu teških metala od cvjetnog meda.[4]



Slika 1. Medljikovac

(Izvor: https://www.olx.ba/artikal/20875138/med medljikovac/)

1.2. Šećer – osnovne karakteristike

Šećer je prirodni kemijski spoj kojega pronalazimo u slatkim sokovima biljaka. Tvori velike, bezbojne, monoklinske kristale (Slika 2). Pod pojmom šećer, kuhinjski šećer ili obični (konzumni) šećer podrazumijeva se saharoza. To je ugljikohidrat, disaharid u kojem je molekula glukoze povezana molekulom fruktoze.[5]

Iako se u sokovima mnogih biljaka nalazi nešto saharoze (neki javori, šećerno proso, stabljika kukuruza te posebno riža, ječam, i agava kao izvori zdravih zaslađivača), za industrijsku proizvodnju saharoze značajne su samo šećerna repa i šećerna trska. Šećerna repa uzgaja se u umjerenom klimatskom pojasu i od nje se šećer proizvodi u cijeloj Europi. Poznavali su je i stari Rimljani i upotrebljavali kao varivo. Uzgajanje šećerne trske vezano je uz tropske predjele. Indijci su od pamtivijeka vadili sladak sok iz šećerne trske, a Europljani su taj proizvod upoznali za vrijeme križarskih ratova.[6]



Slika 2. Kristali šećera

(Izvor: https://bs.wikipedia.org/wiki/%C5%A0e%C4%87er)

1.3. Teški metali u okolišu

Teški metali su prijelazni metali s relativnom atomskom masom iznad 20 g mol^{-1} i specifičnom težinom iznad 5 g cm^{-3}. U biologiji se pojam „težak“ odnosi na niz metala ili metaloida koji mogu biti toksični, kako za biljke tako i za životinje, čak i kada su im koncentracije vrlo niske. Porast broja stanovništva, intenzivna industrijalizacija i urbanizacija uvjetovale su zagađenje čovjekove sredine, prije svega zagađenje vode i zemljišta (Tablica 1). Onečišćenje tla teškim metalima bitno se razlikuje od onečišćenja vode i zraka, zbog toga što se teški metali duže zadržavaju u tlu nego u vodi ili u zraku. Teški metali se dijele na esencijalne ili neesencijalne. Esencijalni teški metali, poput bakra, cinka, mangana, željeza, nikla, kroma i kobalta, neophodni su u mikrokoličinama za brojne funkcije u ljudskom organizmu. Neesencijalni teški metali poput astata, kadmija, olova i žive nemaju nikakvu poznatu fiziološku funkciju.[7]

Tablica 1. Prikaz grana industrija koje emitiraju teške metale

Industrijska grana	Cd	Cr	Cu	Hg	Pb	Ni	Sn	Zn
Papirna industrija	-	+	+	+	+	+	-	-
Petrokemija	+	+	-	+	+	-	+	+
Proizvodnja klora	+	+	-	+	+	-	+	+
Industrija gnojiva	+	+	+	+	+	+	-	+

1.3.1. Kadmij

Kadmij (lat. *Cadmium*, Cd) je mekan, savitljiv, srebrno-bijeli ili plavkasto-bijeli metal koji se prirodno javlja u okolišu u anorganskom obliku kao posljedica vulkanskih emisija i trošenja stijena, a njegovu količinu u tlu, vodi i živim organizmima dodatno povećavaju antropogeni izvori poput izgaranja ugljena, nafte, spaljivanja otpada, izgaranja benzina, proizvodnje i uporabe mineralnih gnojiva i dr. Povećanje razine kadmija u tlu rezultira porastom unosa kadmija u biljke, ovisno o biljnoj vrsti, pH i ostalim karakteristikama tla. Na taj način dolazi i do posrednog unosa kod životinja koje se hrane tim biljkama. U prošlom stoljeću klasificiran je kao kancerogen koji ima štetna djelovanja na ljude i životinje. Kadmij nema poznatu biološku funkciju u organizmu životinja i ljudi, ali oponaša druge dvovalentne metale koji su bitni za različite biološke funkcije. Kadmij može prolaziti kroz razne biološke membrane pomoću različitih mehanizama, a jednom kada se nađe unutar stanice veže se na ligande s iznimnim afinitetom (npr. niskomolekularnim bjelančevinama - metalotioneinima). Zbog niske učinkovitosti eksportnih staničnih sustava, kadmij se zadržava u stanicama što objašnjava njegovo dugo vrijeme zadržavanja u tkivima poput crijeva, jetre i bubrega. Kadmij je u prirodi relativno rijedak element. Nalazi se u sastavu granita i bazalta. Kadmij, njegovi spojevi i otopine, vrlo su otrovni. Naročito su otrovne pare kadmijevog oksida koje, nakon kratkog vremena i u malim koncentracijama, uzrokuju smetnje poput povišene tjelesne temperature i mučnine. Zbog toksičnosti kadmija i njegovih spojeva, te razvojem ekološke svijesti, u novije se doba kadmij počinje izbacivati iz upotrebe i gdje god je moguće, nadomjestiti zamjenskim materijalom.

Prirodni izvori kadmija obuhvaćaju procese poput erozije tla, abrazije stijena te u posebnim pojavama poput šumskih požara i erupcije vulkana. Iz tla dolazi do apsorpcije u biljkama, a zatim prehrambenim lancem do akumulacije kod ljudi i životinja. Glavni izvor kadmija predstavljaju žitarice, povrće i lignje.[8]

1.3.2. Olovo

Olovo (lat. *Plumbum,* Pb) je plavkasto-sivi metal bez posebnog okusa i mirisa koji se ubraja u skupinu teških metala, a može ga se naći u svim dijelovima našeg okoliša (u kopnenim vodama, moru, tlu i zraku). Ljudske aktivnosti poput rudarstva te proizvodnje i izgaranja fosilnih goriva glavni su izvori olova u okolišu. Olovo postoji u organskom i anorganskom obliku, a u okolišu je anorgansko olovo češće od organskog olova. Olovo uneseno u ljudsko tijelo akumulira se prvenstveno u koštanom tkivu. Iz koštanog tkiva postepeno se otpušta nazad u krvotok, osobito pri fiziološkim ili patološkim razdobljima demineralizacije kostiju kao što su trudnoća, dojenje i osteoporoza, čak i ako je izloženost olovu već prestala. Olovo se može prenijeti s majke na fetus/dijete u maternici, ali i putem majčinog mlijeka.

Olovo se kompleksno veže na okso-skupine enzima i tako ometa korake sinteze hemoglobina i metabolizam porfirina. Također ometa i sintezu bjelančevina i vrlo štetno djeluje na središnji i periferni živčani sustav. Nakupljanje olova u biljkama koje se nalaze u blizini velikih prometnica ovisi o udaljenosti biljaka od prometnica, prekrivenosti tla biljakama, dužini trajanja vegetacije. intezitetu vjetra i dr.

Trovanja olovom poznata su već od starog vijeka, a u novijoj povijesti moguće je naći veliki broj slučajeva trovanjem ovim metalom i njegovim spojevima. Olovo može dospjeti u organizam čovjeka i iz onečišćenog okoliša u kojem se javlja kao posljedica emisije iz različitih izvora, kao što su dimnjaci talionica ruda, iz kemijske industrije te iz termoenergetskih postrojenja.[8]

1.3.3. Dozvoljene koncentracije Cd i Pb u medu i šećeru

Maksimalne dozvoljene koncentracije Pb i Cd u medu i bijelom šećeru su prikazane u Tablici 2.[9,10]

Tablica 2. Dozvoljene koncentracije za Cd i Pb u medu i šećeru

PROIZVOD	Pb	Cd
Bijeli šećer	500 μg kg^{-1}	500 μg kg^{-1}
Med	300 μg kg^{-1}	300 μg kg^{-1}

Prevelika koncentracija navedenih metala u organizmu, može dovesti do raznolikih poremećaja. Olovo se nalazi u vodovodnim cijevima, staklenim predmetima, kozmetici, bojama za kosu i dr. Olovo onemogućava apsorpciju niza važnih minerala poput cinka, željeza i kalcija. Kod djece može uzrokovati usporen razvoj, osobito može utjecati na ponašanje, sluh i sposobnost učenja, a kod odraslih može dovesti do oštećenja mozga i živčanog sustava, želuca, bubrega, štitnjače i jetre.[11]

Kadmij se nalazi u dimu cigarete, nekim plastičnim proizvodima te nekim gaziranim sokovima. Osim što je proglašen jednim od glavnih uzročnika nastanka karcinoma, utječe na funkciju bubrega i jetre tako što ih ometa u proizvodnji enzima potrebnih za izlučivanje toksina. Potpomaže nastanak slobodnih radikala koji u tijelu stvaraju upalne procese i dovode do preuranjenog starenja.[11]

1.4. Mjerne tehnike

1.4.1. Voltametrija

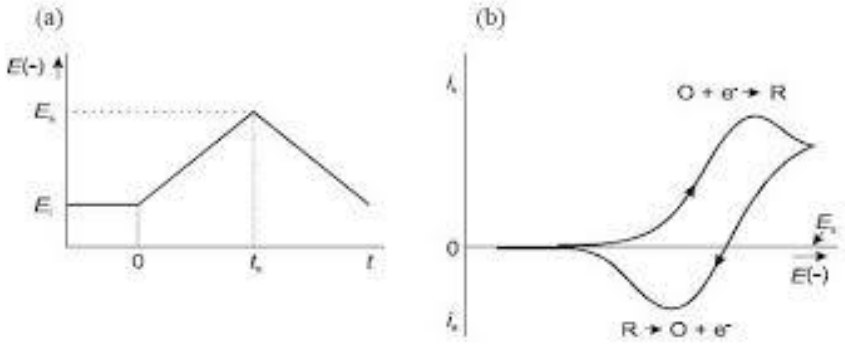
Voltametrija predstavlja skup elektroanalitičkih tehnika za kvalitativnu i kvantitativnu analizu uzorka kod kojih je signal pobude električni napon, a signal odziva električna struja. Voltametrijska mjerenja provode se u elektrokemijskoj ćeliji, u kojoj se signal pobude nameće između referentne i radne elektrode, a mjeri se struja koja teče između radne elektrode i protuelektrode. Signal pobude funkcija je vremena (linearna, stupnjevita, kvadratnovalna ili pulsna). Potencijal se može mijenjati u jednom smjeru (linearna) ili ciklički (ciklička voltametrija) u jednom ili povratno u više ciklusa. Strujni odgovor kao funkcija vremena (voltamogram) daje kvantitativne i kvalitativne informacije o analiziranoj tvari. Radna elektroda može biti stacionarna (viseća živina elektroda, staklasti ugljik, amalgamske ili metalne elektrode) ili nestacionarna (kapajuća živina elektroda).

Sustav korišten u voltametriji se sastoji od tri dijela, a to su računalo, potenciostat (mjeri jakost struje uz narinuti potencijal) i elektrokemijski članak u kojem se nalazi otopina analita, u koju su uronjene tri elektrode, radna, protu elektroda i referentna elektroda.[12]

- **Ciklička voltametrija**

Ciklička voltametrija (eng. *Cyclic voltammetry, CV*) je elektroanalitička tehnika mjerenja. Služi za određivanje redoks potencijala, istraživanja adsorpcijskih procesa, kemijskih reakcija te za istraživanje kinetike i mehanizma redoks reakcija. Zbog korištenja različitih brzina određenog potencijala, moguće je pratiti spore i brze elektrodne reakcije. Na radnoj elektrodi dolazi do linearnog mijenjanja potencijala s vremenom. Smjer promjene potencijala mijenja se u trenutku kada dosegne određenu vrijednost. Dobiveni signal pobude, linearne promjene potencijala s vremenom, izgleda u obliku trokuta. Upravo se zbog kontinuirane linearne promjene potencijala, na elektrodi događa elektrokemijska reakcija, koja se očituje kao struja. Približavanjem potencijala, redoks potencijalu analita, potrebno je konstantno mjeriti struju koja protječe kroz članak, jer dolazi do promjene struje, odnosno do porasta jakosti struje.

Međutim, nakon pojave strujnog vala, koncentracija analita u blizini elektrode se smanjuje i dolazi do pada jakosti struje. Strujni val nastaje promjenom potencijala preko karakterističnog potencijala redoks procesa. Produkti nastali u prvoj polovici ciklusa, će se [reducirati] ili oksidirati kada se potencijal vrati na početne vrijednosti. Ciklički voltamogram, koji predstavlja rezultirajuću odzivnu krivulju, poprima oblik ovisno o brzinama prijenosa elektrona, prijenosa tvari i kemijskim reakcijama (Slika 3).[12]

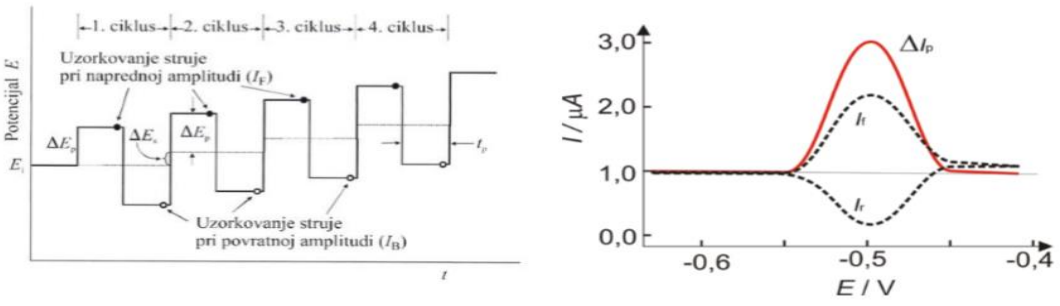


Slika 3. Signal pobude(a) i signal odziva(b) u CV

(Izvor: I. Piljac, 2010)[12]

- **Pravokutnovalna voltametrija**

Pravokutnovalna voltametrija (eng. *Square wave voltammetry, SWV*) dobila je naziv upravo na osnovu signala pobude, odnosno karakterizirana je pravokutnim izmjeničnim signalom pobude koji je stubasto rastući odnosno padajući. U voltametriji s pravokutnim izmjeničnim signalom pobude struja se mjeri pri kraju trajanja pozitivne i negativne poluperiode izmjeničnog pravokutnog impulsa. Kao radna elektroda rabi se elektroda stalne površine. U metodi se zapisuje struja odziva kao razlika struja pri jednoj (negativnoj) odnosno drugoj (pozitivnoj) poluperiodi izmjeničnog pravokutnog signala pobude za svaki pojedini ciklus pobude. U suvremenim napravama, temeljenim na primjeni digitalnih sklopova i računala, signal pobude može se jednostavno programirati i regulirati. Prednost ove metode je njezina brzina i to što voltamogram može biti snimljen za nekoliko sekundi. S obzirom na brzinu ove metode, u novije vrijeme se koristi u kvantifikaciji i detekciji ionskih i molekulskih vrsta. Razlog tome je da frekvencije od 1 do 100 ciklusa u sekundi dopuštaju upotrebu iznimno brzih promjena potencijala, čime je skraćeno vrijeme analize. Za vrijeme svakog ciklusa, struju je potrebno mjeriti dva puta, na početku polaznog pulsa i na kraju pulsa suprotnog smjera. Ovu tehniku je moguće koristiti za istraživanje mehanizma prijenosa elektrona. Razlog se krije u tome što je veličina pulsa za reverzibilnu reakciju redukcije dovoljna da se oksidacija produkta, koji se stvorio na polaznom pulsu, dogodi za vrijeme pulsa suprotnog smjera. Anodnu struju proizvodi povratni puls, dok katodnu proizvodi polazni puls i razlika ovih dviju struja razmjerna je koncentraciji analita u otopini (Slika 4).[12]

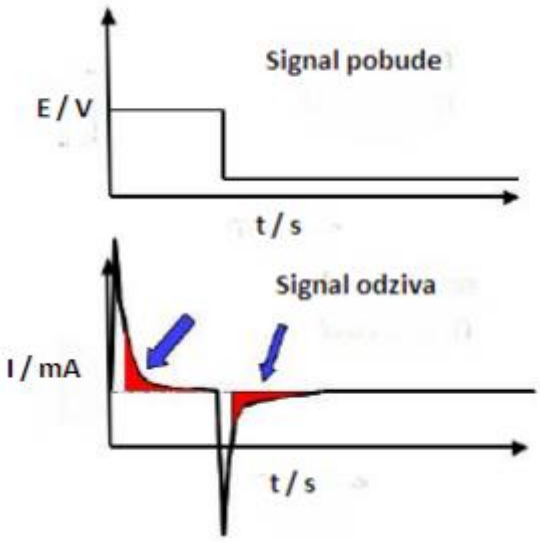


Slika 4. Prikaz pobude (lijevo) i odziva (desno) elektrokemijskog sustava (Izvor: https://repozitorij.fkit.unizg.hr/islandora/object/fkit:245/preview)[13]

1.4.2. Kronoamperometrija

Kronoamperometrija (eng. *Chronoamperometry, CA*) je elektrokemijska tehnika kod koje je potencijal radne elektrode konstantan, a rezultirajuća struja je prikazana kao funkcija vremena. Kronoamperometrija stvara velike struje koje eksponencijalnom ovisnošću opadaju tijekom vremena. Ako je potencijal dovoljno velik i nalazi se u području graničnih struja difuzije koncentracija reaktanata na elektrodi pada na nulu (Slika 5).

Kronoamperometrija se uglavnom koristi u ispitivanjima troelektrodnih sustava. Budući da se struja integrira preko relativno dužeg vremenskog intervala ovom tehnikom može se dobiti bolji odnos signala i šuma u usporedbi s drugim amperometrijskim tehnikama.[13]

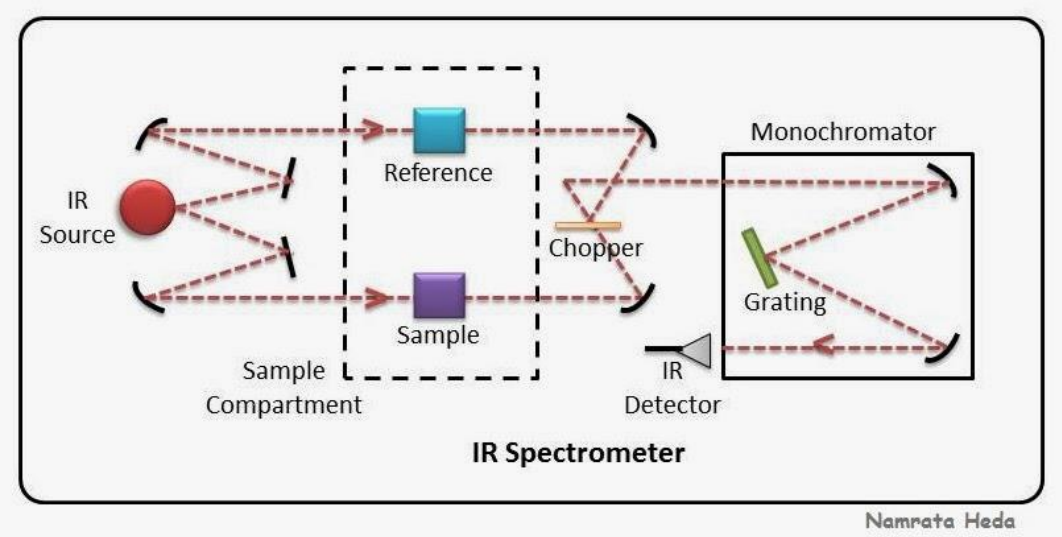


Slika 5. Shema dijagrama amperometrijskog mjerenja

(Izvor: https://en.wikipedia.org/wiki/Chronoamperometry)

1.4.3. Infracrvena (IR) spektroskopija

Infracrvena (IR) spektroskopija je metoda određivanja strukture molekula koja se zasniva na njihovoj apsorpciji infracrvenog zračenja. Infracrvena spektroskopija djeluje na veze te izaziva vibracije unutar molekula. Kada se analit ozrači infracrvenim zračenjem tada dolazi do promjene vibracijske energijske razine unutar iste elektronske energijske razine. Infracrvena spektroskopija se koristi za identifikaciju različitih materijala, odnosno za kvalitativnu analizu.[14]



Slika 6. Princip rada IR spektrometra

(Izvor: http://vatoz.atozdevelopment.co/ftir/)

- **Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom**

Kod FTIR spektroskopije (eng. *Fourier transformation infrared spectroscopy, FTIR*) koristi se jedan snop zračenja te sve potrebne frekvencije istovremeno prolaze kroz instrument. S obzirom da nema disperznog elementa, sve se valne duljine detektiraju i mjere simultano. Uz pomoć računala i korištenjem matematičkog algoritma nastaje infracrveni spektar te se pristupa interpretaciji rezultata.[14] Prednosti FTIR-a mogu se vidjeti u sljedećem:

- podaci za cijeli spektar mogu se dobiti za jednu sekundu,
- osjetljivost je veća nego uz korištenje disperznih elemenata i
- spektar poznatih nečistoća može se izdvojiti iz osnovnog spektra.

1.5. Elektrode

- **Radna elektroda**

Kao radna elektroda korišten je staklasti ugljik (eng. *Glassy Carbon, GC*) (Slika 7). U ovom materijalu kombiniraju se osobine stakla i keramike s osobinama grafita. Staklasti ugljik nepropustan je za plinove i tekućine te otporan na visoke temperature i kemikalije. Upravo su to razlozi zbog kojih je staklasti ugljik uvelike našao svoju primjenu u elektrokemiji.[15]

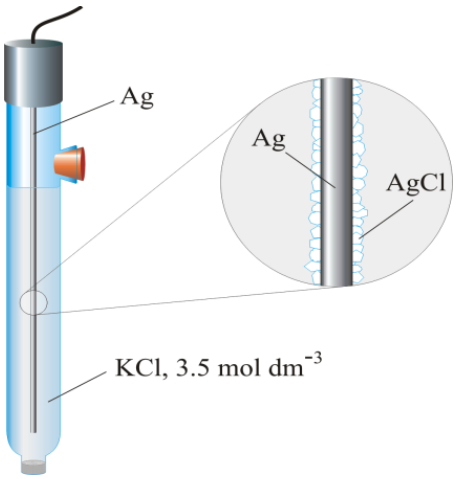


Slika 7. Staklasti ugljik (GC)

(Izvor: https://en.wikipedia.org/wiki/Glassy_carbon)

- **Referentna elektroda**

Potencijal ove elektrode ne mijenja se tijekom provođenja elektroanalitičkog postupka. Referentna elektroda služi kao standard prema kojem mjerimo potencijal druge elektrode ili prema kojem reguliramo vanjski napon koji dovodimo na radnu elektrodu. U izvedbi ovog završnog rada korištena je referentna srebro/srebrov klorid (Ag/AgCl) elektroda koja je jedna od najprimjenjivanijih zbog svoje cijene, dostupnosti i jednostavnosti (Slika 8).[16]



Slika 8. Referentna Ag/AgCl elektroda

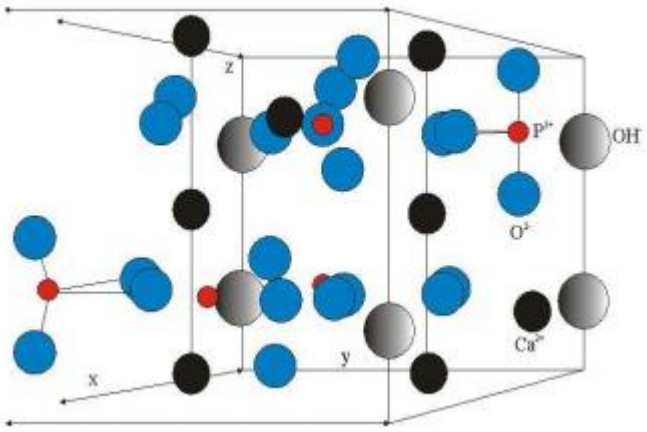
(Izvor: https://www.periodni.com/enig/potenciometrijski_senzori.html)

- **Protuelektroda**

Kao protuelektroda koristila se elektroda od platine. U elektrokemijskom članku, ova elektroda služi za zatvaranje strujnog kruga s radnom elektrodom i tako omogućuje protok struje tijekom elektrokemijskog ispitivanja.

1.6. Hidroksiapatit

Hidroksiapatit (HAp) je kalcijev fosfat stehiometrijske formule $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, s molarnim omjerom Ca/P = 1,67. Kristalna struktura hidroksiapatita može se opisati kao kompleksna heksagonska slagalina kisikovih atoma s metalima koji zauzimaju tetraedarske ili oktaedarske šupljine u slagalini (Slika 9). Kristalna struktura hidroksiapatita može prihvatiti druge ione kao supstituente. Te supstitucije se mogu odvijati na mjestima kalcijevih iona, fosfatnih ili hidroksilnih skupina. Ionske supstitucije mogu utjecati na parametre ćelije, kristalnu morfologiju, kristaliničnost, topivost i termalnu stabilnost hidroksiapatita. Kationski supstituenti najčešće se pojavljuju u područjima zauzetim kalcijevim atomima te uključuju natrij, magnezij, kalij, stroncij i mangan.[17]



Slika 9. Prikaz kristalne strukture hidroksiapatita

(Izvor: https://sukasukamickey.blogspot.com/2015/07/material-medict.html)

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. Kemikalije i otopine

Prilikom izrade ovog završnog rada, korištene su sljedeće kemikalije i otopine:

- Pripravljena otopina standarda Pb^{2+}, γ = 0, 01 g dm^{-3},
- Pripravljena otopina standarda Cd^{2+}, γ = 0, 01 g dm^{-3},
- Originalna otopina standarda Pb^{2+}, „Merck“, Darmstadt,
- Originalna otopina standarda Cd^{2+}, „Merck“, Darmstadt,
- Ultračista voda,
- Vodikov peroksid (H_2O_2), M = 34,01 g mol^{-1}, „Kemika“, Zagreb,
- Dušična kiselina (HNO_3), c = 0,5 mol dm^{-3}, M = 63,01g mol^{-1}, „Kemika“, Zagreb,
- Otopina kalijevog nitrata (KNO_3), c = 0,2 mol dm^{-3}, M = 101,1032 g mol^{-1}, „Kemika“, Zagreb,
- Otopina kalijevog hidroksida (KOH, 25%), „Kemika“, Zagreb,
- Otopina natrijevog hidroksida (NaOH), c = 1,0 mol dm^{-3}, M = 39,99 g mol^{-1}, „Kemika“, Zagreb,
- Otopina kalcijevog nitrata tetrahidrata ($Ca(NO_3)_2 \times 4H_2O$), c = 0,5 mol dm^{-3}, M = 236, 15 g mol^{-1}, „Kemika“, Zagreb,
- Otopina amonijevog dihidrogenfosfata ($NH_4H_2PO_4$), c = 0,06mol dm^{-3}, M = 132,06 g mol^{-1}, „Kemika“, Zagreb.

Sve korištene kemikalije bile su čistoće p.a 99,99 %.

2.2. Priprava otopine standarda

- **Otopina standarda Pb^{2+}**

Korištena je originalna otopina standarda Pb^{2+} (γ = 0,1 g dm^{-3}). Originalna otopina je razrijeđena, uzet je alikvot od 10 mL te je prenesen u okruglu tikvicu od 100 mL koju je zatim napunjena ultračistom vodom do oznake. Koncentracija pripremljene otopine Pb^{2+} iznosila je γ = 0, 01 g dm^{-3}.

- **Otopina standarda Cd^{2+}**

  Korištena je originalna otopina standarda Cd^{2+} (γ = 0,1 g dm^{-3}). Originalna otopina je razrijeđena, uzet je alikvot od 10 mL te je prenesen u okruglu tikvicu od 100 mL koja je zatim napunjena ultračistom vodom do oznake. Koncentracija pripremljene otopine Cd^{2+} iznosila je γ = 0, 01 g dm^{-3}.

2.3. Metoda određivanja

Metoda standardnog dodatka

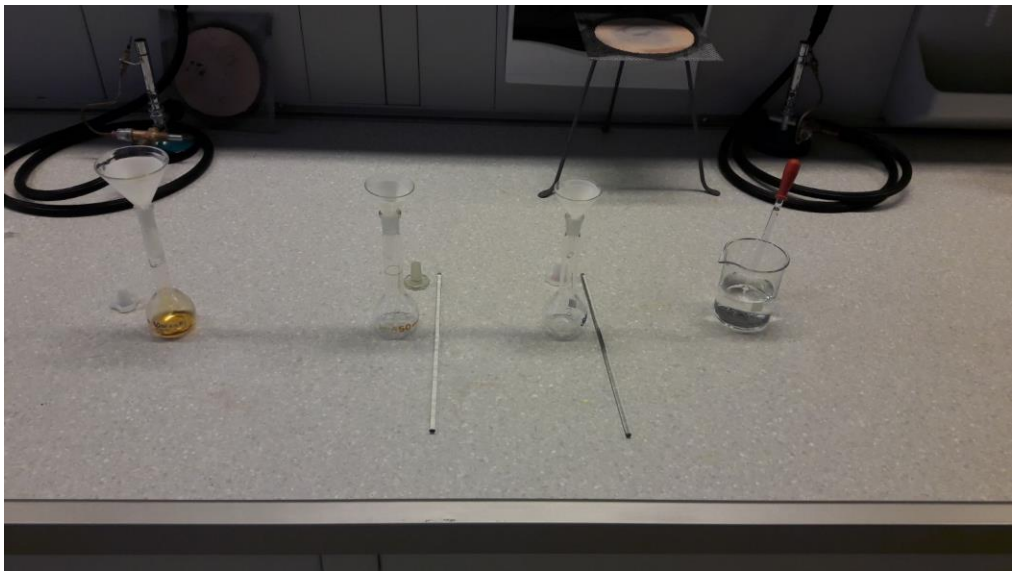
Metode standardnog dodavanja korisni su načini umjeravanja kada matrica uzorka utječe na signal analita ili kada su koncentracije analita u uzorku vrlo blizu granice određivanja. U ovim postupcima, signal se bilježi za uzorak, a tada se u uzorak doda poznata količina standarda što rezultira promjenom signala. U primjeni metode standardnih dodataka, najprikladnije je dodati male količine koncentriranog standarda u otopinu uzorka kako bi se minimizirala promjena volumena. Najprecizniji rezultati se dobiju ako je koncentracija prvog dodatka jednaka najmanje dvostrukoj koncentraciji analita u uzorku.[18]

2.4. Priprava uzorka

U izradi ovog završnog rada, korišteni su uzorci: konzumni bijeli šećer u pakovanju od 1 kg proizvođača „Viro“ te jedan uzorak meda s područja Ličko – senjske županije.

Odvagano je 2,0 g realnog uzorka. Zatim je dodana dušična kiselina, volumena 5,0 mL te je ostavljeno 24 h u digestoru. Nakon toga, smjesa je prebačena u porculanski lončić koji se žario na 160 °C u vremenskom periodu od 30 minuta. Nakon vađenja lončića iz sušionika, preneseni su ponovno u digestor gdje je dodano 8,0 mL vodikovog peroksida i 2,0 mL dušične kiseline (Slika 10). Sljedeći korak bilo je zagrijavanje te bistrenje otopina. Uzet je alikvot od 10,0 mL pripravljenog uzorka te je namješten pH na 4.

Namještanje pH provedeno je uz pomoć otopine kalijevog hidroksida. Otopina je zatim prenesena u okruglu tikvicu s ravnim dnom koja je napunjena do 100,0 mL s otopinom koncentriranog kalijevog nitrata. Zatim je pristupljeno mjerenju.



Slika 10. Priprava uzorka (dodavanje vodikovog peroksida)

(Izvor: autor rada)

2.5. Priprava radne elektrode

Radna elektroda u ovom elektrokemijskom mjerenju je staklasti ugljik. Proces priprave elektrode sastoji se od 3 koraka:

- brušenje,
- poliranje i
- odmaščivanje.

Brušenje, kao prvi korak pripreme elektrode, pripada mehaničkoj obradi elektrode. Za ovaj proces korišteni su vodobrusni papiri različite finoće (od 800 do 3000). Elektrodu je potrebno kružnim pokretima te vrlo lagano brusiti po brusnim papirima. Nakon ovog koraka slijedilo poliranje, također dio mehaničke obrade. Poliranje se vršilo modificiranom bušilicom i suspenzijom aluminijevog oksida koji je nanesen na FILC. Nakon poliranja uslijedio je završni korak pripreme, a to je odmaščivanje. Proces odmaščivanja se provodio u ultrazvučnoj kupelji koja je ispunjena s organskim otapalom (etanol, 96%) (Slika 11). Proces se vršio 3 minute te je nakon toga uslijedilo

brisanje staničevinom te ponovni postupak odmaščivanja u trajanju od 1 minute. Kao konačni produkt potrebno je dobiti elektrodu zrcalnog sjaja.



Slika 11. Ultrazvučna kupelj

(Izvor: http://www.ru-ve.hr/proizvod/ultrazvucne-kupelji-za-ci-scaron-cenje-36-23)

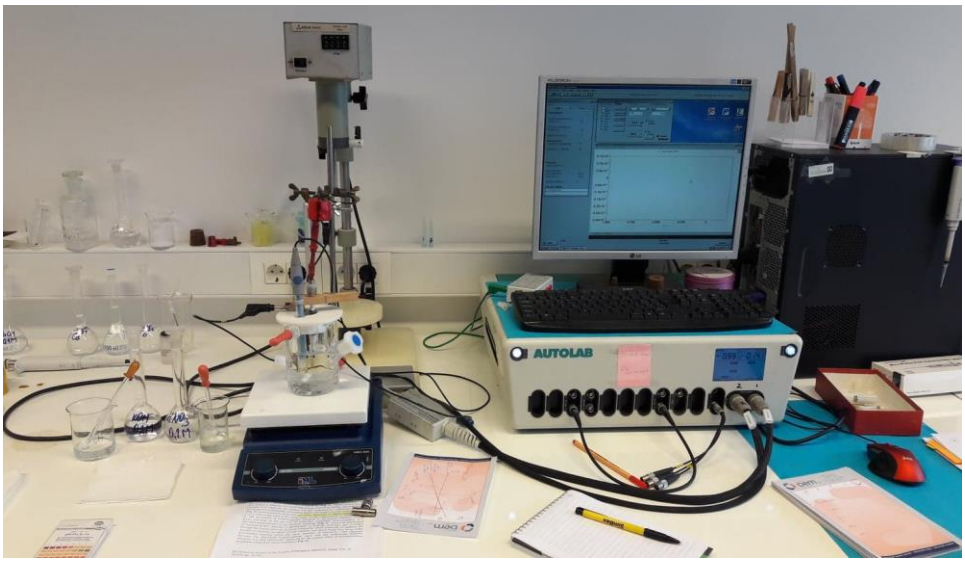
- **Elektrodepozicija hidroksiapatita (HAp) na radnu elektrodu**

Proces elektrodepozicije, odnosno elektrotaloženje, postupak je taloženja čvrstog materijala na elektrodnu površinu elektrolizom. HAp ima vrlo poroznu strukturu te se ponaša kao spužva. U njega mogu ući teški metali te se na taj način povećava granica detekcije elektrode kojom se sada mogu određivati i niže koncentracije metala.[19]

Elektrodepozicija hidroksiapatita provedena je u otopini za elektrodepoziciju koja je pripremljena od 50 mL 0,05M $Ca(NO_3)_2 \times 4H_2O$ i 50 mL 0,04 M $(NH_4)_2H_2PO_4$ pH = 5 (namješten pomoću 0,05 M HNO_3) na potencijalu od -0,85 V pri sobnoj temperaturi. Nakon završetka procesa elektrodepozicije, površina elektrode je isprana redestiliranom vodom te zatim ostavljena 1 sat u 1M NaOH pri 80 ^oC. Nakon toga je opet potrebno provesti ispiranje redestiliranom vodom. Elektroda je zatim ostavljena na zraku kako bi se sloj hidroksiapatita osušio. Nakon toga pristupilo se mjerenju.

2.6. Aparatura

U izvedbi ovog završnog rada korištena je elektrokemijska ćelija koja se sastojala od 3 elektrode: staklastog ugljika kao radne elektrode, Ag/AgCl kao referentne elektrode i platinske žice kao protuelektrode. Sva mjerenja su provedena na potenciostatu (Autolab PGSTAT 302N) koji je spojen na osobno računalo (PC), a kojim se upravlja pomoću GPES 4,9 Softwarea (Eco Chemie). Uz to, još je korištena i analitička vaga (Mettler, AT261), magnetska mješalica(MSH-20A) te pH-metar (Slika 12).



Slika 12. Elektrokemijska ćelija s postavljenim elektrodama (lijevo) i potenciostat s računalom (desno)

(Izvor: autor rada)

- **Priprema ćelije**

Za elektrokemijsko mjerenje korištena je ćelija volumena 100 mL. Ćelija je prvo isprana vodovodnom vodom zatim destiliranom vodom te dušičnom kiselinom i redestiliranom vodom. U ćeliju se ulije 100 mL određenog elektrolita, ubaci se magnetno miješalo te se postave sve elektrode. Zadnji korak bilo je spajanje na strujni krug te uključivanje računala i potenciostata.

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Elektrokemijsko deponiranje hidroksiapatita

Elektrodepozicija hidroksiapatita provedena je u 2 koraka:

- Korak 1: redukcija vodika iz H_2PO_4 i HPO_4^{2-}:

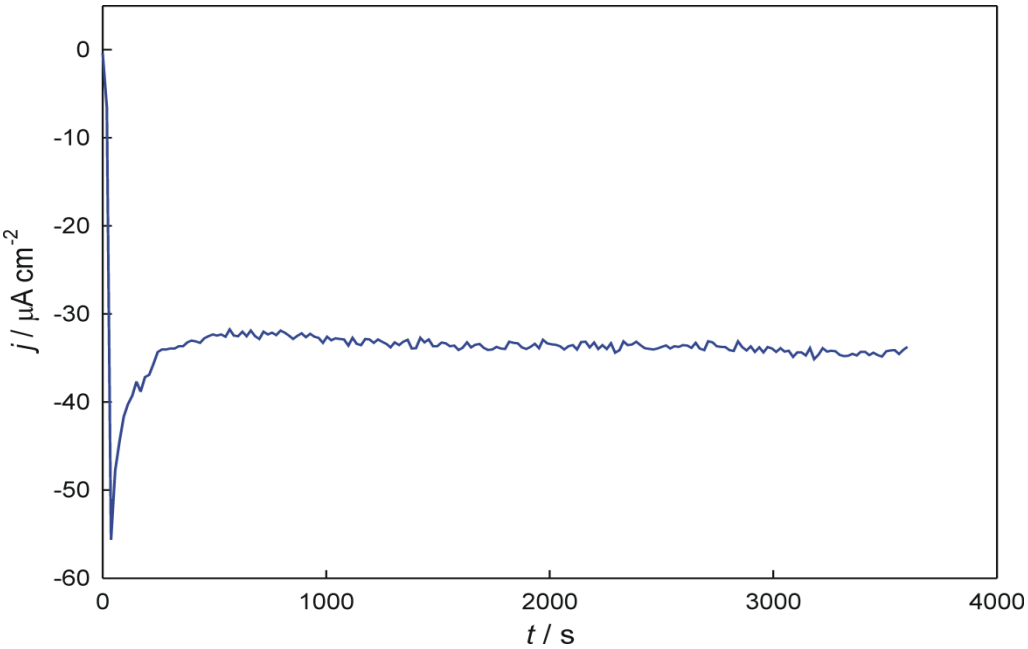
$$2\ H_2PO_4^- + 2e^- \rightarrow 2\ HPO_4^{2-} + H_2\ (g) \qquad (1)$$
$$2\ HPO_4^{2-} + 2e^- \rightarrow 2PO_4^{3-} + H_2(g) \qquad (2)$$

- Korak 2 : Ca^{2+} ion reagira s HPO_4^{2-} i PO_4^{3-} te dolazi do formiranja $CaHPO_4 \times 2\ H_2O$ i $Ca_3(PO_4)_2$

$$Ca^{2+} + HPO_4^{2-} + 2H_2O \rightarrow CaHPO_4 \times 2H_2O\ (s) \qquad (3)$$
$$3\ Ca^{2+} + 2PO_4^{3-} \rightarrow Ca_3(PO_4)_2(s) \qquad (4)$$

Kalcijev hidrogenfosfat dihidrat i kalcijev fosfat su prethodnici stabilnijoj fazi – hidroksiapatitu. Djelovanjem NaOH, navedeni film prelazi u hidroksiapatit.[20]

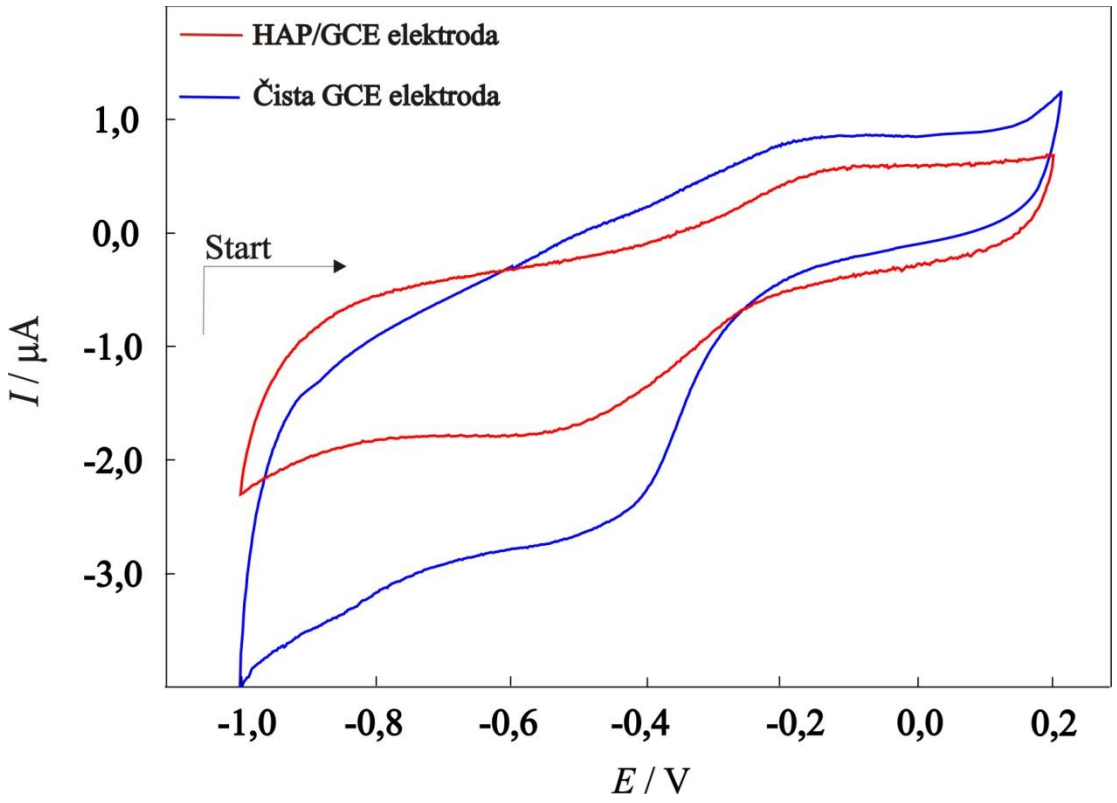
$$10\ CaHPO_4 \times 2H_2O + 12OH^- \rightleftarrows Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2\ (s) + 4PO_4^{3-} + 30\ H_2O \qquad (5)$$



Slika 13. Trenutni vremenski prijelazi za nukleaciju i rast HAp na GC elektrodi zabilježeni pri određenom potencijalu od -0,85 V

3.2. Ciklički voltamogram GC elektrode i HAp/GC elektrode u elektrolitu

Snimljeni su ciklički voltamogrami na elektrodi od staklastog ugljika u elektrolitu 0,2 M KNO_3. Na Slici 14 prikazana su dva voltamograma: jedan prikazuje čistu GC elektrodu, dok drugi voltamogram prikazuje modificiranu HAp/GC elektrodu. Ciklički voltamogrami snimljeni su od startnog potencijala 1,0 V do 0,2 V i završno do potencijala 1,0 V.



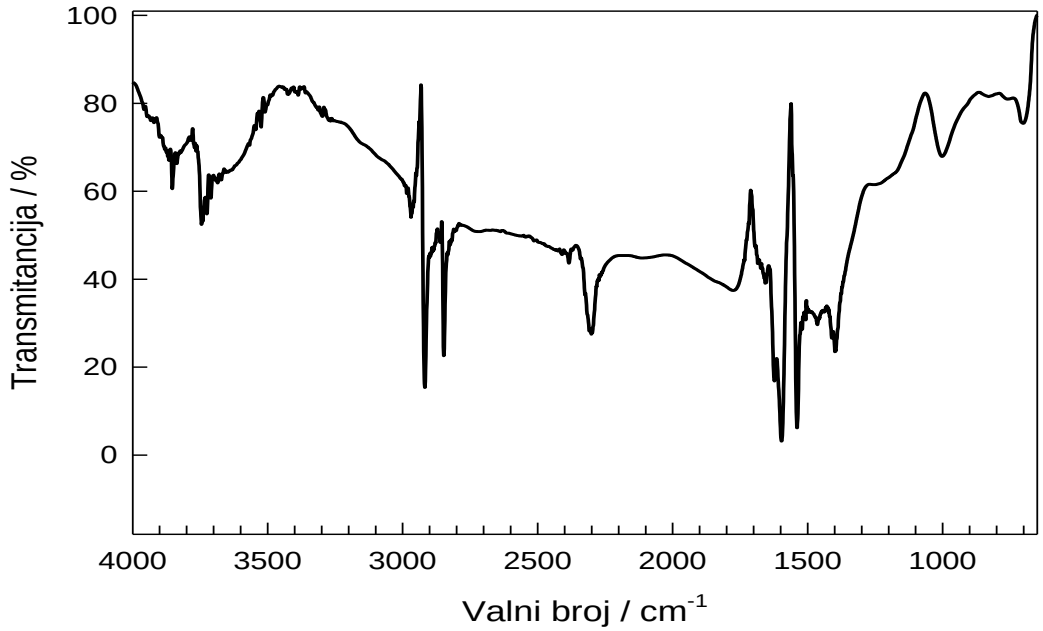
Slika 14. Ciklički voltamogrami dobiveni na nemodificiranoj i na HAp-om modificiranoj GC elektrodi

Na slici se vidi kako s povećanjem katodnog potencijala do približno -1,0 V dolazi do porasta struje redukcije koja se može pripisati reakciji razvijanja vodika. Taj porast struje je manje uočljiv na modificiranoj elektrodi te HAp/GC elektrodu čini manje osjetljivom na vodik i proširuje područje primjene s obzirom na potencijal. Ista pojava primjećena je i za anodno područje, odnosno reakciju razvijanja kisika.

Smanjenje struje indikator je i prekrivenosti površine, uz pretpostavku kako se H_2/O_2 razvijaju samo s čiste površine.

3.3. FTIR spektar površine radne elektrode

Kako bi dobili potvrdu uspješnog formiranja filma hidroksiapatita, snimljen je FTIR spektar površine GC elektrode modificirane hidroksiapatitom. Modificiranje površine hidroksiapatitom provedeno je elektrodepozicijom. Dobiveni spektar prikazan je na Slici 15.



Slika 15. FTIR spektar elektrode od staklastog ugljika na koju je elektrodeponiran hidroksiapatit

Spektar sadrži pikove, na 2919 cm^{-1} i na 2848 cm^{-1}, koji se mogu pripisati frekvenciji asimetričnog (2919 cm^{-1}) i simetričnog (2848 cm^{-1}) istezanja C–H veze metilne skupine ($-CH_2$) koja potječe od nečistoće organskog porijekla. FTIR spektar sadrži pik na 1015 cm^{-1} koji se može pripisati frekvenciji asimetričnog istezanja P–O veze fosfatnog iona. Pik u FTIR spektru na valnom broju oko 2310 cm^{-1} se može pripisati O–H istezanju. U FTIR spektru površine HAp/GC elektrode, pikovi u području valnih brojeva od 3400 - 3900 cm^{-1} pripisuju se OH^- ionu. U FTIR spektru površine HAp/GC elektrode pikove u području valnih brojeva od 1570 cm^{-1} - 1350 cm^{-1} na valnim brojevima 1540 cm^{-1}, 1472 cm^{-1} i 1400 cm^{-1} možemo pripisati vibraciji organskih ostataka ili vibraciji karbonatne skupine. Pik na oko 863 cm^{-1} pripisujemo frekvenciji istezanja P–OH veze hidrogenfosfatnog iona ili karbonatnom ionu ugrađenom u strukturu apatita. Karbonatna skupina potječe od CO_2 iz atmosfere. Karbonatni ioni tijekom procesa elektrodepozicije zamjenjuju PO_4^{3-} ione u hidroksiapatitnom filmu, što potvrđuju FTIR rezultati. Taj bi

pik također mogao ukazivati na to da se kiselo-baznom reakcijom nije sav elektrodeponirani kalcijev hidrogenfosfat dihidrat, $CaHPO_4 \times 2H_2O$, DCPD transformirao u hidroksiapatit. FTIR rezultati potvrđuju prisutnost HAp/GC.

3.4. Elektroanalitičko određivanje olova i kadmija

- **Određivanje olova**

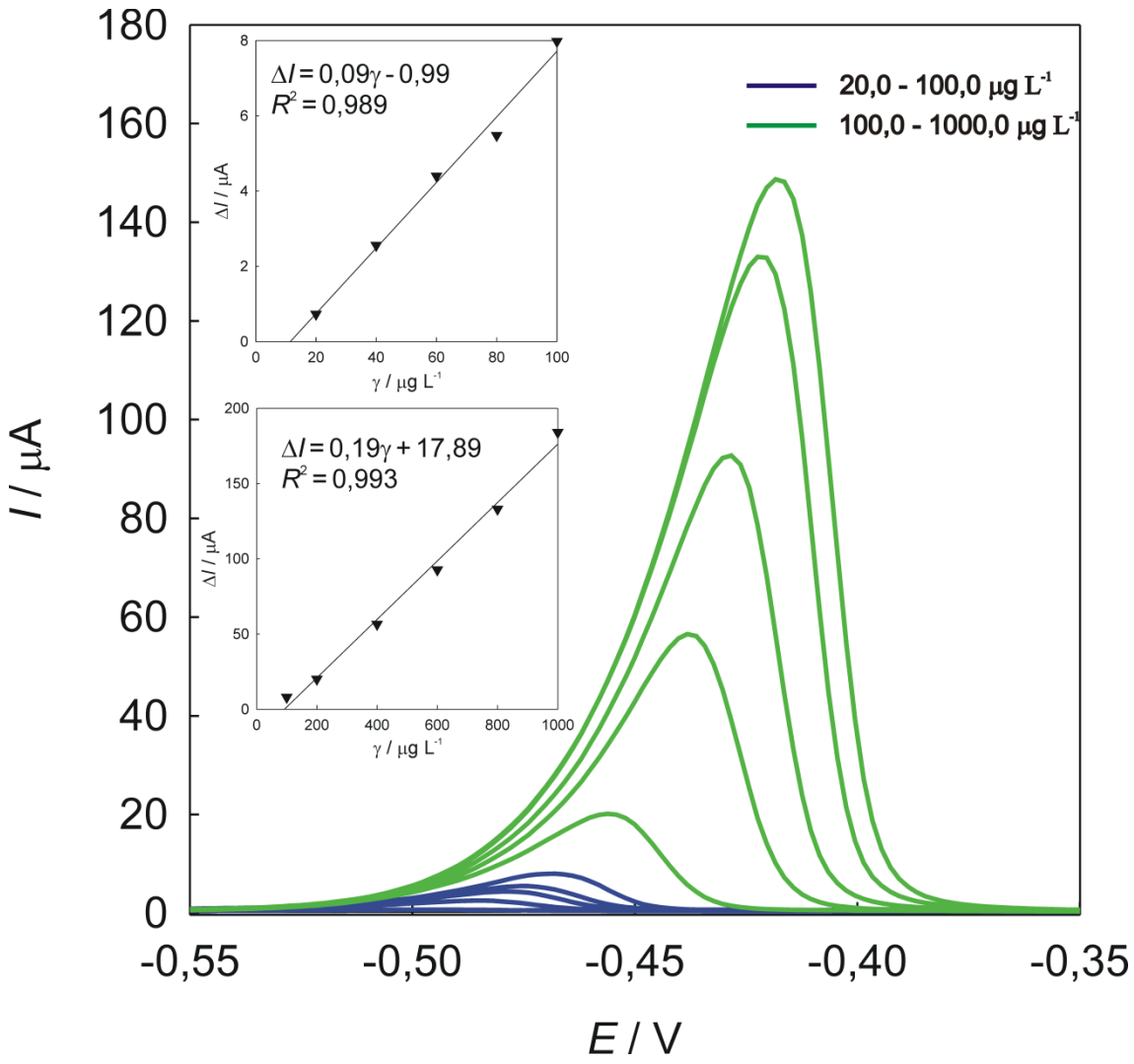
U Tablici 3 prikazani su optimizirani eksperimentalni parametri mjerenja. Odabrano je vrijeme akumulacije t_{akum} od 180 s, potencijal akumulacije E_{akum} od -1,0 V, pH elektrolita u iznosu 4, frekvencija ƒ u iznosu od 50 Hz te vrijeme uravnoteženja u mirujućem elektrolitu od 60 s.

Tablica 3. Parametri odabrani za optimizaciju sustava kod određivanja Pb^{2+}

	t_{akum} s	E_{akum} V	pH	ƒ Hz	$t_{\text{uravnoteženja}}$ s
Reakcija redukcije Pb^{2+}	180	-1,0	4	50	60

S odabranim potencijalom omogućeno je akumuliranje olova na GC elektrodi. Također, optimizacijom sustava omogućeno je da olovo ne kompleksira te da količina razvijenog vodika bude minimalna.

Na Slici 16 prikazani su rezultati dobiveni snimanjem voltamograma za Pb^{2+} s pripadajućom krivuljom umjeravanja za redukciju u širem koncentracijskom području (srednje i visoko koncentracijsko područje). Iz dobivenih rezultata možemo zaključiti kako unutar promatranog koncentracijskog područja, u kojem očekujemo i rezultate analitičke primjene, struja redukcije Pb^{2+} raste linearno s promjenom koncentracije. Osjetljivost na više koncentracijsko područje (0,19) dvostruko je veća nego za niže koncentracijsko područje (0,09).



Slika 16. SWV voltamogram s osnovnom korekcijom, ispitivanih koncentracija olova, zabilježen na HAp/GC elektrodi u 0,2 M KNO_3 (pH = 4,0) s odgovarajućim krivuljama umjeravanja

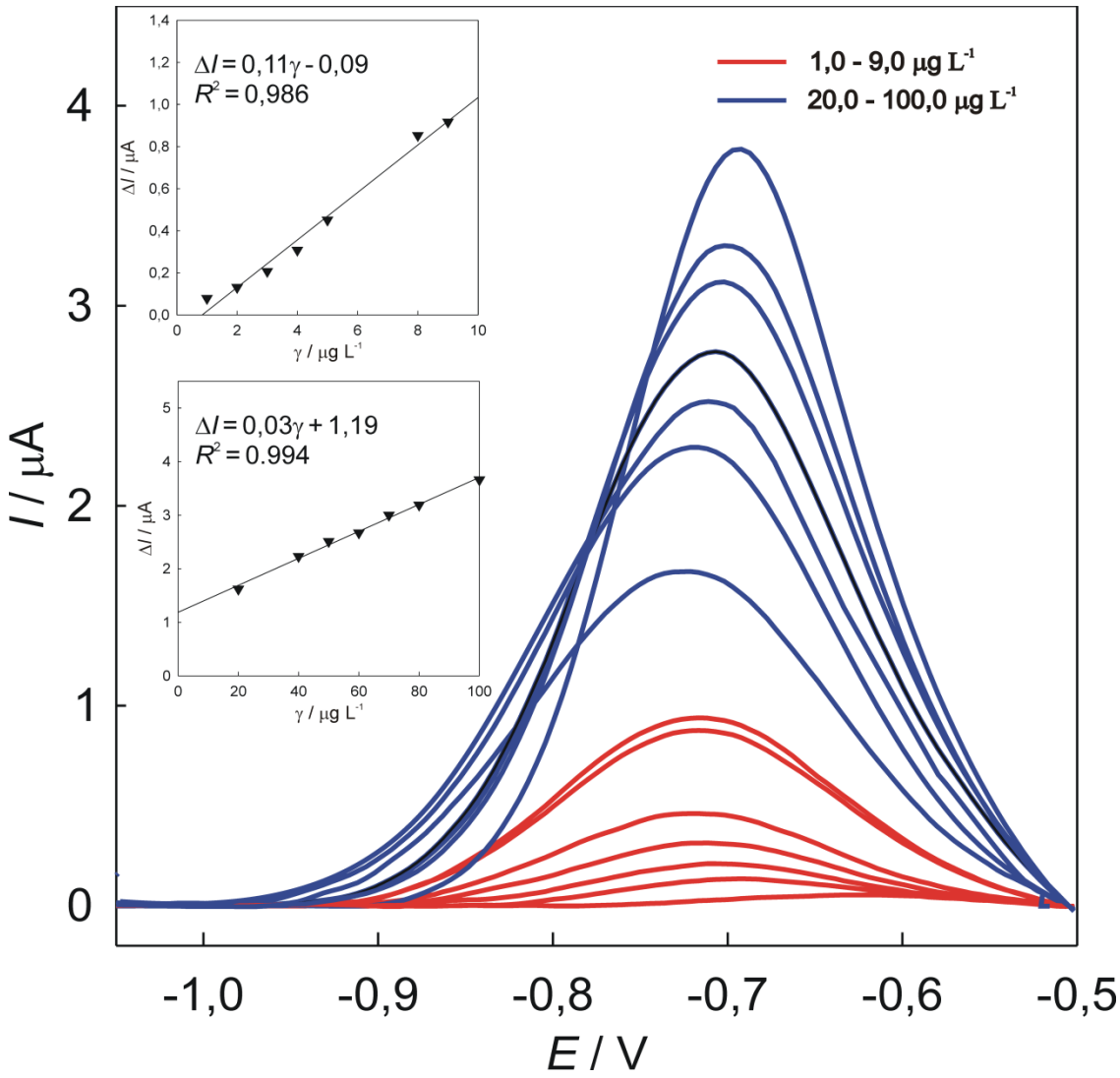
- **Određivanje kadmija**

U Tablici 4 prikazani su optimizirani eksperimentalni parametri mjerenja. Odabrano je vrijeme akumulacije t_{akum} od 60 s, potencijal akumulacije E_{akum} od -1,2 V, pH elektrolita u iznosu 4, frekvencija ƒ u iznosu od 50 Hz te vrijeme uravnoteženja u mirujućem elektrolitu od 60 s.

Tablica 4. Parametri odabrani za optimizaciju sustava kod Cd^{2+}

	t_{akum} s	E_{akum} V	pH	ƒ Hz	$t_{\text{uravnoteženja}}$ s
Reakcija redukcije Cd^{2+}	60	-1,2	4	50	60

Na Slici 17 prikazani su rezultati dobiveni snimanjem voltamograma za Cd^{2+} s pripadajućom krivuljom umjeravanja za redukciju u širem koncentracijskom području (nisko i srednje koncentracijsko područje). Iz dobivenih rezultata možemo zaključiti kako unutar promatranog koncentracijskog područja, u kojem očekujemo i rezultate analitičke primjene, struja redukcije Cd^{2+} raste linearno s promjenom koncentracije. Iz dobivenih krivulja umjeravanja možemo zaključiti kako s porastom koncentracije kadmija osjetljivost opada približno tri puta (0,11 za niže koncentracijsko područje, a 0,03 za više koncentracijsko područje).



Slika 17. SWV voltamogram s osnovnom korekcijom, ispitivanih koncentracija kadmija, zabilježen na HAp/GC elektrodi u 0,2 M KNO_3 (pH = 4,0) s odgovarajućim krivuljama umjeravanja

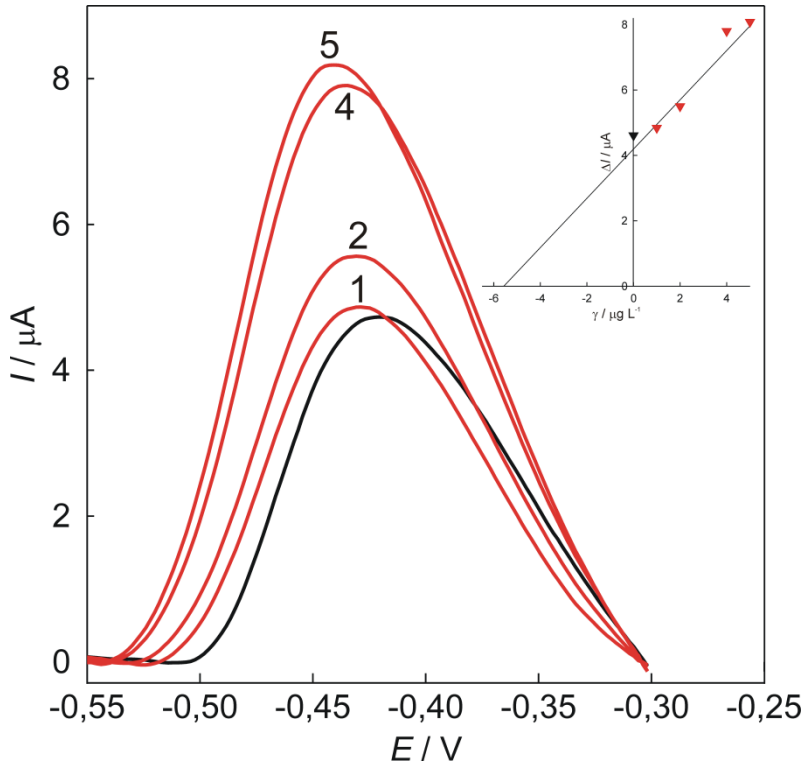
3.5. Elektroanalitičko određivanje metala u šećeru i medu

Uzorci su pripremljeni kao što je navedeno u eksperimentalnom dijelu. Dobiveni rezultati prikazani su na Slikama 18-21. Na svim grafovima u isječku krivulja umjeravanja prikazana je ovisnost strujnog vrha o konačnoj koncentraciji Pb^{2+} ili Cd^{2+} gdje odsječak na ordinati odgovara vrijednosti strujnog vrha redukcije teškog metala, na osnovu koje je izračunata nepoznata koncentracija.

3.5.1. Određivanje olova u šećeru

Na Slici 18 prikazan je voltamogram za realni uzorak šećera s 4 dodatka otopine standarda Pb^{2+}.

- 1. dodatak: γ = 1 µg dm^{-3}, vršna struja I = 4,84 µA
- 2. dodatak: γ = 2 µg dm^{-3}, vršna struja I = 5,50 µA
- 3. dodatak: γ = 4 µg dm^{-3}, vršna struja I = 7,80 µA
- 4. dodatak: γ = 5 µg dm^{-3}, vršna struja I = 8,08 µA

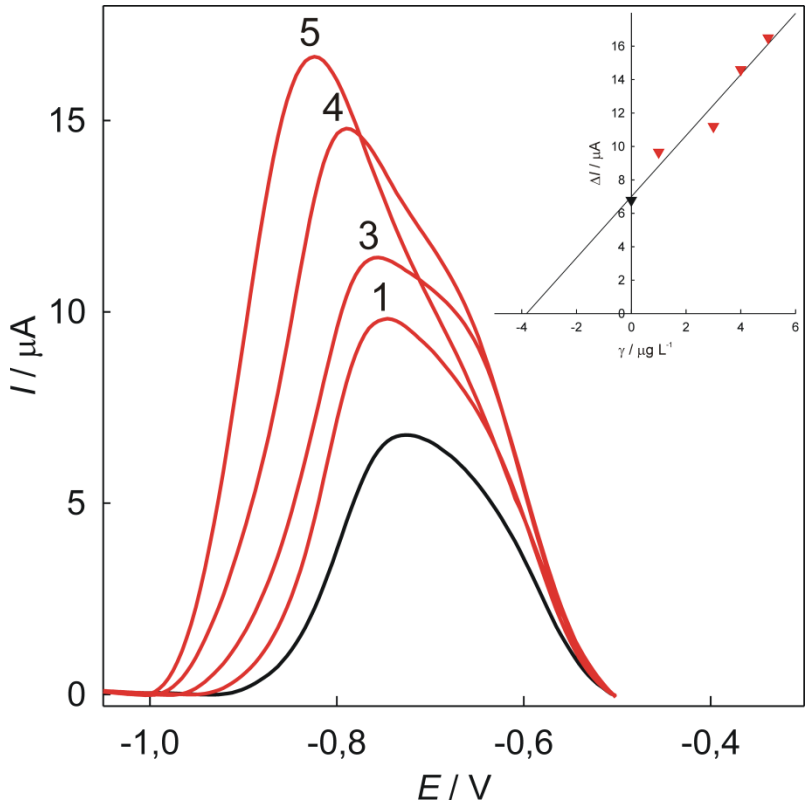


Slika 18. SW voltamogram, korigiran za vrijednost bazne linije, s odgovarajućom krivuljom umjeravanja u svrhu određivanja nepoznate koncentracije olova u realnom uzorku šećera metodom standardnog dodatka

3.5.2. Određivanje kadmija u šećeru

Na Slici 19 prikazan je voltamogram za realni uzorak šećera s 4 dodataka otopine standarda Cd^{2+}.

- 1. dodatak: γ = 1 µg dm^{-3}, vršna struja I = 9,66 µA
- 2. dodatak: γ = 3 µg dm^{-3}, vršna struja I = 11,20 µA
- 3. dodatak: γ = 4 µg dm^{-3}, vršna struja I = 14,60 µA
- 4. dodatak: γ = 5 µg dm^{-3}, vršna struja I = 16,50 µA

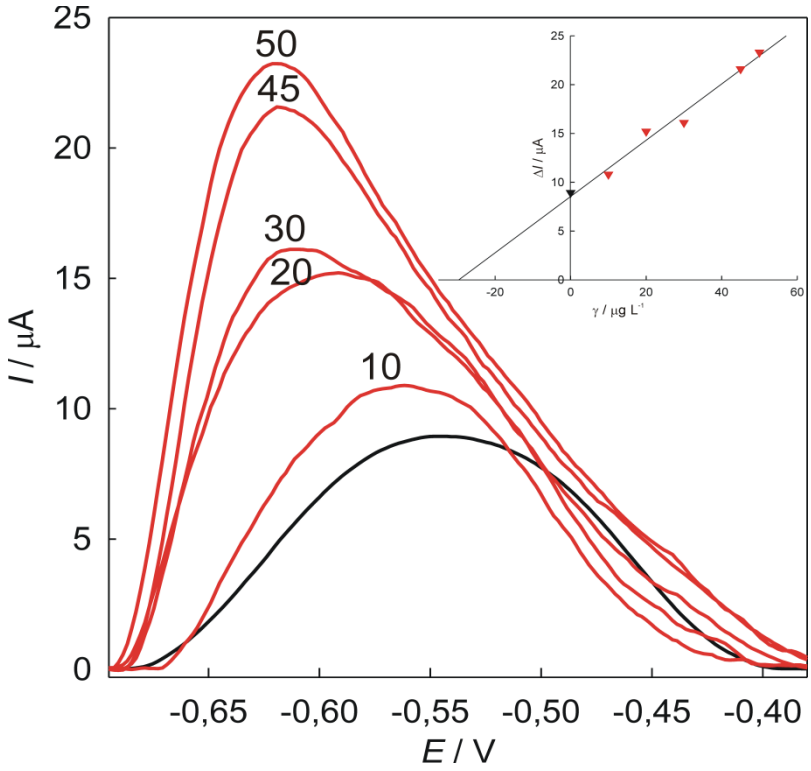


Slika 19. SW voltamogram, korigiran za vrijednost bazne linije, s odgovarajućom krivuljom umjeravanja u svrhu određivanja nepoznate koncentracije kadmija u realnom uzorku šećera metodom standardnog dodatka

3.5.3. Određivanje olova u medu

Na Slici 20 prikazan je voltamogram za realni uzorak meda s 5 dodataka otopine standarda Pb^{2+}.

- 1. dodatak: γ = 10 µg dm^{-3}, vršna struja I = 10,80 µA
- 2. dodatak: γ = 20 µg dm^{-3}, vršna struja I = 15,20 µA
- 3. dodatak: γ = 30 µg dm^{-3}, vršna struja I = 16,10 µA
- 4. dodatak: γ = 45 µg dm^{-3}, vršna struja I = 21,60 µA
- 5. dodatak: γ = 50 µg dm^{-3}, vršna struja I = 23,30 µA

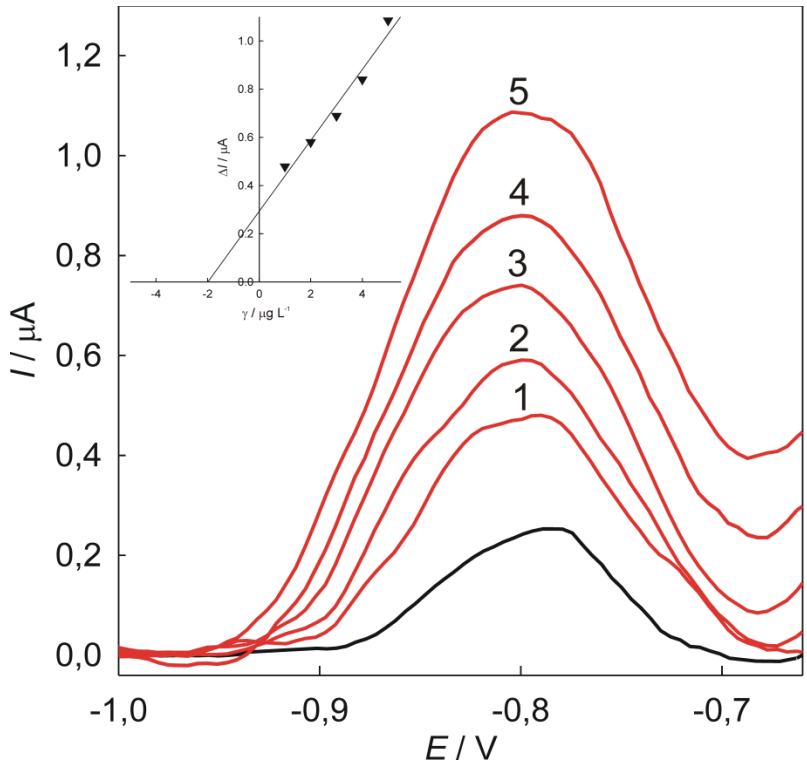


Slika 20. SW voltamogram, korigiran za vrijednost bazne linije, s odgovarajućom krivuljom umjeravanja u svrhu određivanja nepoznate koncentracije olova u realnom uzorku meda metodom standardnog dodatka

3.5.4. Određivanje kadmija u medu

Na Slici 21 prikazan je voltamogram za realni uzorak meda s 5 dodataka otopine standarda Cd^{2+}.

- 1. dodatak: $\gamma = 1$ µg dm^{-3}, vršna struja $I = 0{,}48$ µA
- 2. dodatak: $\gamma = 2$ µg dm^{-3}, vršna struja $I = 0{,}58$ µA
- 3. dodatak: $\gamma = 3$ µg dm^{-3}, vršna struja $I = 0{,}69$ µA
- 4. dodatak: $\gamma = 4$ µg dm^{-3}, vršna struja $I = 0{,}85$ µA
- 5. dodatak: $\gamma = 5$ µg dm^{-3}, vršna struja $I = 1{,}08$ µA



Slika 21. SW voltamogram, korigiran za vrijednost bazne linije, s odgovarajućom krivuljom umjeravanja u svrhu određivanja nepoznate koncentracije kadmija u realnom uzorku meda metodom standardnog dodatka

3.6. Opći prikaz rezultata

U Tablici 5 prikazane su dobivene vrijednosti teških metala u šećeru i medu, u tikvici od 25 mL, odvaganom uzorku od 2 g te u 1 kg kao bazi prema kojoj se daju referentne vrijednosti za krute uzorke.

Tablica 5. Dobivene koncentracije Cu i Pb u šećeru i medu

	Realni uzorak šećera		Realni uzorak meda	
Količina	Pb^{2+}	Cd^{2+}	Pb^{2+}	Cd^{2+}
25 mL	1,65 µg	1,72 µg	8,82 µg	0,77 µg
2 g	1,65 µg	1,72 µg	8,82 µg	0,77 µg
1 kg	823,70 µg	860,00 µg	4410,00 µg	387,40 µg

4. ZAKLJUČAK

Kao zaključak, možemo istaknuti kako je predložen relativno jednostavan voltametrijski sustav HAp/GC za određivanje teških metala u realnim uzorcima meda i šećera.

Postupak kronoamperometrijske pripreme filma omogućio je dobivanje visokoporoznog filma dobrih mehaničkih karakteristika te reproducibilnosti, na brz i jednostavan način. Modifikacija površine GC elektrode filmom hidroksiapatita značajno je povećala njezinu osjetljivost. Hidroksiapatit kao film se pokazao jako dobrim rješenjem zbog svoje izuzetne poroznosti te sposobnosti izmjene iona. FTIR studija potvrđuje postojanje funkcionalnih skupina karakterističnih za HAp film na površini elektrode.
U usporedbi s literaturnim podacima i za razliku od sofisticiranih analitičkih metoda opisana elektroanalitička metoda je brza, jednostavna te se mjerenja mogu izvoditi u širokom području koncentracija.

Detektirane koncentracije Pb i Cd u medu i šećeru prelaze koncentracije navedenih teških metala koje su propisane Pravilnikom.

Naime, u šećeru su otkrivene povišene koncentracije Pb (823,70 μg kg^{-1}) i Cd (860,0 μg kg^{-1}) dok dozvoljene koncentracije za Pb i Cd iznose 500,0 μg kg^{-1}.

U medu su također otkrivene povišene koncentracije Pb (4410,0 μg kg^{-1}) i Cd (387,40 μg kg^{-1}) dok dozvoljene koncentracije za Pb i Cd iznose 300,0 μg kg^{-1}.

Kako koncentracija teških metala u medu ovisi o geografskom porijeklu meda, čistoći zraka i tla, o blizini prometnica i naseljenih mjesta, razlog ovakvim prekoračenim vrijednostima osobito za olovo u medu može biti upravo područje prikupljanja nektara, odnosno neposredno uz prometnice.

Predložena metodologija pokazala se jednostavnijom i bržom od klasičnih analitičkih metoda kao što su Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (eng. High performance liquid chromatography, HPLC) ili Analiza injektiranja protoka (eng. Flow injection analysis, FIA) te se u nastavku istraživanja pouzdanost mora potvrditi propisanom metodom.

5. LITERATURA

[1] https://repozitorij.ktf-split.hr/islandora/object/ktfst:234/preview (31.8.2018.)

[2] http://antolcic-med.com/pdfovi/O-medu.pdf (31.8.2018.).

[3] http://www.varzakmed.hr/o_medu.php (31.8.2018.).

[4]http://www.gospodarski.hr/Controls/PrintContent.aspx?ContentType=Article&IdConten t=8099 (31.8.2018.).

[5] https://hr.wikipedia.org/wiki/Glukoza (31.8.2018.).

[6] https://hr.wikipedia.org/wiki/Saharoza (31.8.2018.).

[7] https://www.sensa.hr/clanci/zensko-zdravlje/teski-metali-kako-djeluju-na-organizam-i-kako-se-od-njih-ocistiti (2.9.2018.).

[8] Lj. Kovačević, I. Žugaj, *Kemijski elementi*, Media Sci, Zagreb, **1996**, pp. 92-121.

[9] P. Tiwari, P. Naithani, J.K. Tiwari, *World j. of ph. and pharm. Sci.*, **2016**, *5*, 812.

[10] M. A. Ghandour, O. A. Farghaly, M. Khodari, *Chem. Pap.* **2000**, *55*, 91.

[11] https://www.slobodnadalmacija.hr/stil/ljepota/clanak/id/290446/znakovi-da-vam-je-tijelo-puno-teskih-metala-kako-ih-se-rijesiti-i-kako-ih-ubuduce-izbjeci (4.9.2018.).

[12] I. Piljac, *Senzori fizikalnih veličina i elektroanalitičke metode,* Media Print, Zagreb, **2010,** pp. 391-423.

[13] https://repozitorij.fkit.unizg.hr/islandora/object/fkit:245/preview (4.9.2018.).

[14]https://www.fkit.unizg.hr/_download/repository/Nastavni_tekst_Molekulska_spektroskopija.pdf (4.9.2018.).

[15] https://repozitorij.ktf-split.hr/islandora/object/ktfst:190/preview (5.9.2018.).

[16] https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=referentna+elektroda (5.9.2018.).

[17] https://repozitorij.fkit.unizg.hr/islandora/object/fkit:94/preview (6.9.2018.).

[18] Gary D. Christian, *Analytical Chemistry*, John Willey & Sons, Washington, **2014**, pp.379-402.

[19] https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=elektrodepozicija (8.9.2018.).

[20] I. Škugor Rončević, Z. Grubač, M. Metikoš-Huković, *Int. J. Electrochem. Sci.* **2014**, *9*, 21. (6.9.2018.).