

Elektrokemijsko ponašanje katehina na ugljikovim nanomaterijalima : prilog optimizaciji elektrolitičkih metoda određivanja prirodnih reducensa

Magazin, Ružica

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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:167:698567>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-18**

Repository / Repozitorij:

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



UNIVERSITY OF SPLIT



**SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE KATEHINA NA UGLJIKOVIM
NANOMATERIJALIMA: PRILOG OPTIMIZACIJI ELEKTROANALITIČKIH
METODA ODREĐIVANJA PRIRODNIH REDUCENSA**

DIPLOMSKI RAD

RUŽICA MAGAZIN

Matični broj: 272

Split, listopad 2020.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ KEMIJSKA TEHNOLOGIJA
Smjer: Zaštita okoliša

ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE KATEHINA NA UGLJIKOVIM
NANOMATERIJALIMA: PRILOG OPTIMIZACIJI ELEKTROANALITIČKIH
METODA ODREĐIVANJA PRIRODNIH REDUCENSA

DIPLOMSKI RAD

RUŽICA MAGAZIN

Matični broj: 272

Split, listopad 2020.

**UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
GRADUATE STUDY OF CHEMICAL TECHNOLOGY
ENVIRONMENTAL PROTECTION**

**ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR OF CATECHIN ON CARBON
NANOMATERIALS: A CONTRIBUTION TO THE OPTIMIZATION OF
ELECTROANALYTICAL METHODS FOR DETERMINATION OF NATURAL
REDUCERS**

DIPLOMA THESIS

RUŽICA MAGAZIN

Parent number: 272

Split, October 2020.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište u Splitu

Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu

Diplomski sveučilišni studij Kemijska tehnologija, smjer: Zaštita okoliša

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Kemija

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

Mentor: doc. dr. sc. Maša Buljac

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

ELEKTROKEMIJSKO PONAŠANJE KATEHINA NA UGLJIKOVIM NANOMATERIJALIMA: PRILOG OPTIMIZACIJI ELEKTROANALITIČKIH METODA ODREĐIVANJA PRIRODNIH REDUCENSA

Ružica Magazin, 272

Sažetak:

U ovom radu izvršena je modifikacija elektrode od staklastog ugljika sa različitim ugljikovim nanomaterijalima (grafen, elektrokemijski reducirani grafenov oksid, jednozidne ugljikove nanočestice, višezidne ugljikove nanočestice). Ispitano je elektrokemijsko ponašanje modificiranih i elektrokemijski funkcionaliziranih elektroda u prisutnosti katehina u tri različita pufera (acetatni pufer, Britton-Robinson pufer, model otopine vina), te pri različitim pH vrijednostima (2,6-3,6 u Britton-Robinson puferu). Elektrokemijsko ponašanje katehina je određivano u različitim puferima metodama cikličke voltametrije i elektrokemijske impedancijske spektroskopije (EIS). Prikazan je utjecaj različitog broja ciklusa, kao i ovisnost visine anodnog strujnog pika o brzini posmika i njegovu korijenu u različitim puferima, te utjecaj različitih pH vrijednosti.

Uočena je znatna ovisnost elektrokemijskog ponašanja katehina na modificiranim elektrodama u ovisnosti o puferu u kojima su mjerenja vršena.

Nakon provedenih mjerenja objašnjen je mehanizam elektrokemijskih reakcija, ponašanje elektroda u različitim puferima, te ograničenja i problemi vezani za elektrokemijsko ponašanje.

Kao najoptimalniji sustav za određivanje katehina, na osnovu analize, isprofilirale su se elektrode modificirane s ugljikovim nanocijevčicama u Britton-Robinson puferu, pri pH vrijednosti 3,6 i ErGO u otopini modela vina.

Ključne riječi: prirodni reducensi (*antioksidansi*), polifenoli, katehin, ciklička voltametrija, elektrokemijska impedancijska spektroskopija, ugljikovi nanomaterijali, elektroanalitika.

Rad sadrži: 97 stranica, 65 slika, 3 tablice, 0 priloga, 36 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

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

Predsjednik
Član
Mentor

Datum obrane: 29. listopad 2020.

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

BASIC DOCUMENTATION CARD

DIPLOMA THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Graduate study of Chemical technology, Environmental Protection

Scientific area: Natural sciences

Scientific field: Chemistry

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

Mentor: Maša Buljac, PhD, assistant prof.

Technical assistance: Marijo Buzuk, associate prof.

ELECTROCHEMICAL BEHAVIOR OF CATECHIN ON CARBON NANOMATERIALS: A CONTRIBUTION TO THE OPTIMIZATION OF ELECTROANALYTICAL METHODS FOR DETERMINATION OF NATURAL REDUCERS

Ružica Magazin, 272

Abstract:

In this diploma thesis, a modification of a glassy carbon electrode with different carbon nanomaterials as modifications (graphene, electrochemically reduced graphene oxide, single-walled carbon nanoparticles and multi-walled carbon nanoparticles) was investigated. The electrochemical behavior of modified and electrochemically functionalized electrodes in the presence of catechin in three different buffers (acetate buffer, Britton-Robinson buffer and wine solution model) and at different pH values (2.6-3.6 in Britton-Robinson buffer) was examined.

The electrochemical behavior of catechin was determined in different buffers by cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy (EIS) methods.

The influence of different number of cycles is shown, as well as the dependance of the height of the anode current peak on the shear rate and its root in different pH values.

A significant dependance of the electrochemical behavior of catechin on modified electrodes was observed depending on the buffer in which the measurments were performed.

After the measurments were done, the mechanism of electrochemical reactions, the behavior of the electrodes in different buffers, the limitations and problems related to electrochemical behavior were explained.

Based on analysis, as the most optimal system for the determination of catechin, electrodes modified with carbon nanotubes in Britton-Robinson buffer, at pH 3.6 and ErGO in the model wine solution were profiled.

Keywords: natural reductants (antioxidants), polyphenols, catechin, cyclic voltammetry, electrochemical impedance spectroscopy, carbon nanomaterials, electroanalytics.

Thesis contains: 97 pages, 65 figures, 3 tables, 0 supplements, 36 references

Original in: Croatian

Defence committee:

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

Chair person
Member
Supervisor

Defence date: 29th October 2020

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

Diplomski rad je izrađen u Zavodu za kemiju okoliša i Zavodu za opću i anorgansku kemiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Maše Buljac u razdoblju od svibnja do rujna 2020. godine.

Zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Maši Buljac na stručnoj pomoći, strpljenju i prenesenom znanju prilikom izrade ovog rada.

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

Hvala kolegici Ivani Bandić na pomoći i potpori tijekom izrade eksperimentalnog dijela rada.

Najveća hvala mojim roditeljima za sve što su napravili za mene, na beskonačnom strpljenju, brizi, podršci i ljubavi koju su mi pružili tijekom cijelog studiranja. Zahvaljujem se i svome bratu jer je jedini i neponovljivi. Hvala vam što ste mi svojim radom i ljubavlju omogućili sve što sam do sada postigla.

Na kraju, veliko hvala ostalim članovima moje obitelji, mojem momku te prijateljima koji su vjerovali u mene i studentske dane učinili nezaboravnima.

ZADATAK:

1. Modificirati elektrode od staklastog ugljika s različitim ugljikovim nanomaterijalima (grafen, elektrokemijski reducirani grafenov oksid, jednozidne ugljikove nanocijevčice, višezidne ugljikove nanocijevčice), metodom nakapavanja.
2. Elektrokemijski karakterizirati pripravljene modificirane elektrode.
3. Ispitati elektrokemijsko ponašanje katehina na gore pripremljenim elektrodama u različitim eksperimentalnim uvjetima, odnosno u različitim puferima (acetatnom, Britton-Robinson i otopina modela vina) te pri različitim pH vrijednostima.
4. Na osnovu provedenih mjerenja objasniti mehanizam elektrokemijskih reakcija i pojave koje se uočavaju kod elektrokemijskog ponašanja katehina.
5. Na osnovu analize dobivenih podataka, predložiti uvjete i elektrokemijsku metodu za određivanje katehina u realnim uzorcima.

SAŽETAK

U ovom radu izvršena je modifikacija elektrode od staklastog ugljika sa različitim ugljikovim nanomaterijalima (grafen, elektrokemijski reducirani grafenov oksid, jednozidne ugljikove nanočestice, višezidne ugljikove nanočestice). Ispitano je elektrokemijsko ponašanje modificiranih i elektrokemijski funkcionaliziranih elektroda u prisutnosti katehina u tri različita pufera (acetatni pufer, Britton-Robison pufer, model otopine vina), te pri različitim pH vrijednostima (2,6-3,6 u Britton-Robinson puferu).

Elektrokemijsko ponašanje katehina je određivano u različitim puferima metodama cikličke voltametrije i elektrokemijske impedancijske spektroskopije (EIS). Prikazan je utjecaj različitog broja ciklusa, kao i ovisnost visine anodnog strujnog pika o brzini posmika i njegovu korijenu u različitim puferima, te utjecaj različitih pH vrijednosti.

Uočena je znatna ovisnost elektrokemijskog ponašanja katehina na modificiranim elektrodama u ovisnosti o puferu u kojima su mjerenja vršena.

Nakon provedenih mjerenja objašnjen je mehanizam elektrokemijskih reakcija, ponašanje elektroda u različitim puferima, te ograničenja i problemi vezani za elektrokemijsko ponašanje.

Kao najoptimalniji sustav za određivanje katehina, na osnovu analize, isprofilirale su se elektrode modificirane s ugljikovim nanocijevčicama u Britton-Robinson puferu, pri pH vrijednosti 3,6 i ErGO u otopini modela vina.

Ključne riječi: prirodni reducensi (*antioksidansi*), polifenoli, katehin, ciklička voltametrija, elektrokemijska impedancijska spektroskopija, ugljikovi nanomaterijali, elektroanalitika.

SUMMARY

In this diploma thesis, a modification of a glassy carbon electrode with different carbon nanomaterials as modifications (graphene, electrochemically reduced graphene oxide, single-walled carbon nanoparticles and multi-walled carbon nanoparticles) was investigated. The electrochemical behavior of modified and electrochemically functionalized electrodes in the presence of catechin in three different buffers (acetate buffer, Britton-Robinson buffer and wine solution model) and at different pH values (2.6-3.6 in Britton-Robinson buffer) was examined.

The electrochemical behavior of catechin was determined in different buffers by cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy (EIS) methods.

The influence of different number of cycles is shown, as well as the dependence of the height of the anode current peak on the scan rate and its root in different pH values.

A significant dependence of the electrochemical behavior of catechin on modified electrodes was observed depending on the buffer in which the measurements were performed.

After the measurements were done, the mechanism of electrochemical reactions, the behavior of the electrodes in different buffers, the limitations and problems related to electrochemical behavior were explained.

Based on analysis, as the most optimal system for the determination of catechin, electrodes modified with carbon nanotubes in Britton-Robinson buffer, at pH 3.6 and ErGO in the model wine solution were profiled.

Keywords: natural reductants (antioxidants), polyphenols, catechin, cyclic voltammetry, electrochemical impedance spectroscopy, carbon nanomaterials, electroanalytics.

SADRŽAJ

UVOD.....	1
1. OPĆI DIO	2
1.1. Polifenoli	3
1.1.2. Flavonoidi.....	3
1.2. Elektrokemijske / elektroanalitičke metode	7
1.2.1. Voltametrijske metode.....	9
1.2.2. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija (EIS).....	11
1.3. Elektrode	14
1.3.1. Radna elektroda – elektroda od staklastog ugljika	14
1.3.2. Referentna elektroda – srebro/srebrov (I) klorid elektroda	15
1.3.3. Protuelektroda – platinska pločica.....	15
1.4. Modifikacije elektroda	16
1.4.1. Elektroda od staklastog ugljika	16
2. EKSPERIMENTALNI DIO	23
2.1. Priprava otopina	24
2.1.1. Priprava otopine natrijevog acetata ($V=250$ mL)	25
2.1.2. Priprava otopine octene kiseline ($c=0,1$ M; $V=1$ L)	25
2.1.3. Priprava otopine sumporne kiseline ($c=0,5$ M; $V=0,5$ L).....	25
2.1.4. Priprava otopine acetatnog pufera (jakost= $0,1$ M; $\text{pH}=3,6$; $V=1$ L)	25
2.1.5. Priprava otopine natrijevog hidroksida ($c=1$ M; $V=100$ mL).....	25
2.1.6. Priprava model otopine vina ($\text{pH}=3,6$; $V=1$ L).....	25
2.1.7. Priprava Britton-Robinson pufera (B-R) (jakost= $0,1$ M; $\text{pH}=3,6-6,6$; $V=1$ L)	25
2.1.8. Priprava otopine katehina ($c=0,05$ M; $V=25$ mL)	26
2.1.9. Priprava otopine 5 mM $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ u $0,1$ M otopini KCl ($V=500$ mL)	26
2.1.10. Priprava suspenzije SWCNT ($c=0,5$ mg mL^{-1} ; $V=10$ mL).....	26
2.1.11. Priprava suspenzije MWCNT ($c=0,5$ mg mL^{-1} ; $V=10$ mL).....	26
2.1.12. Priprava otopine reduciranog grafenovog oksida ($c=0,5$ mg mL^{-1} ; $V=10$ mL).....	26
2.1.13. Priprava otopine grafena ($c=0,5$ mg mL^{-1} ; $V=10$ mL).....	26
2.2. Aparatura i elektrodni materijal	27
2.2.1. Uređaj za elektrokemijska mjerenja	27
2.2.2. Elektrokemijska ćelija	28
2.2.3. Referentna elektroda, protuelektroda i radna elektroda	29
2.2.4. Priprema radne elektrode.....	30
2.2.5. Modifikacije radne elektrode sa SWCNT i MWCNT	30
2.2.6. Modifikacija radne elektrode elektrokemijski reduciranim grafenovima oksidom(ErGO).....	30
2.2.7. Modifikacija radne elektrode grafenom (Gr)	30
3. REZULTATI.....	32
3.1. Elektrokemijska priprema ugljikovih materijala.....	33

3.1.1. ErGO.....	33
3.1.2. SWCNT	34
3.1.3. MWCNT	35
3.2. Elektrokemijsko ponašanje elektroda u otopini $K_3[Fe(CN)_6]$ u 0,1 M KCl	36
3.2.1. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija (EIS).....	37
3.3. Elektrokemijsko ponašanje modificiranih elektroda u prisutnosti katehina	39
3.3.1 GCE	39
3.3.2. Gr.....	40
3.3.3. ErGO.....	41
3.3.4. EoGCE.....	42
3.3.5. SWCNT	43
3.3.6. MWCNT	44
3.3.7. Impedancijski spektri.....	45
3.4. Elektrokemijsko ponašanje katehina u ovisnosti o broju ciklusa.....	47
3.4.1. GCE	47
3.4.2. Gr.....	48
3.4.3. ErGO.....	49
3.4.4. EoGCE.....	50
3.4.5. SWCNT	51
3.4.6. MWCNT	52
3.5.1. GCE	53
3.5.2. Gr.....	54
3.5.3. ErGO.....	55
3.5.4. EoGCE.....	56
3.5.5. SWCNT	57
3.5.6. MWCNT	58
3.6. Elektrokemijsko ponašanje elektroda u prisutnosti katehina pri različitim pH vrijednostima.....	59
3.6.1. GCE	59
3.6.2. Gr.....	60
3.6.4. EoGCE.....	62
3.7.1. SWCNT	65
3.7.2. Gr.....	66
3.8. Elektrokemijsko ponašanje elektroda u prisutnosti katehina pri različitim brzinama posmika	67
3.8.1. GCE	67
3.8.4. EoGCE.....	70
3.8.5. SWCNT	71
3.8.6. MWCNT	72
4. RASPRAVA	73
4.1. Usporedba elektrokemijskog ponašanja katehina na različitim elektrodama.....	74
4.2. Ponašanje elektroda u ovisnosti o koncentraciji katehina i mjernom puferu.....	76
4.2.1. Frumkinovom efekt	78
4.3. Ovisnost o pH.....	84

4.4. Utjecaj miješanja-kontrola elektrokemijske reakcije	87
4.5. Utjecaj brzine posmika.....	88
4.6. Usporedba elektrokemijskog ponašanja katehina na različitim elektrodama u različitim puferima	88
5. ZAKLJUČAK	90
6. LITERATURA.....	93

UVOD

(+)- Katehin spada u skupinu polifenolnih spojeva, odnosno u podgrupu flavanoida. Zastupljen je u većim količinama u voću, ali i u nekim čajevima. Katehin je heptaprotektivno sredstvo, poznato još i po antioksidacijskim mogućnostima i svojstvima stabiliziranja membrane. Ima antioksidacijsko, antibakterijsko i antimikrobno djelovanje.

Za određivanje katehina mogu se koristiti različite analitičke tehnike poput spektrofotometrije, tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti, plinske kromatografije te niz elektrokemijskih metoda. U elektrokemiji detekcija katehina je moguća sa uobičajenim elektrodama, ali radi spore kinetike reakcije određivanja se usmjeravaju prema modificiranim elektrodama.

U ovom diplomskom radu korištene su dvije elektrokemijske tehnike: ciklička voltametrija i elektrokemijska impedancijska spektroskopija. Cikličkom voltametrijom će se pratiti redoks potencijali različitih funkcionalnih skupina katehina pri različitim koncentracijama katehina u otopini i pri različitim pH vrijednostima.

U radu su prikazani utjecaji različitih parametara (broj ciklusa, ovisnost visine anodnog strujnog pika o brzini posmika i njegovu korijenu u različitim puferima) na elektroanalitički signal.

1. OPĆI DIO

1.1. Polifenoli

Polifenolni spojevi predstavljaju veliku skupinu organskih molekula, biljnog podrijetla, koji se najčešće nalaze u voću, povrću i pićima poput vina, kave i čajeva. Polifenoli su sekundarni metaboliti biljaka u kojima imaju višestruku ulogu kao što su: boja, aroma, okus, senzorska svojstva, otpornost biljaka prema bolestima i patogenim organizmima (štite stanice od opasnog UV zračenja). Utjecaj na zdravlje ovisi o količini konzumiranja i njihovoj biološkoj dostupnosti.^[1] Polifenoli, a posebno katehin, dobro uklanjaju kisikove i dušikove slobodne radikale.

Njihovu strukturu čini aromatski prsten s jednom ili više hidroksilnih skupina.^[2] Polifenoli su u prirodi podijeljeni zbog svoje velike strukturne raznolikosti. Podjela polifenola temelji se na broju fenolnih prstenova koje sadrže i na strukturnim elementima koji te prstenove povezuju.^[3] Polifenoli se mogu podijeliti na dvije velike grupe:

1. Flavonoidi
2. Non-flavonoidi

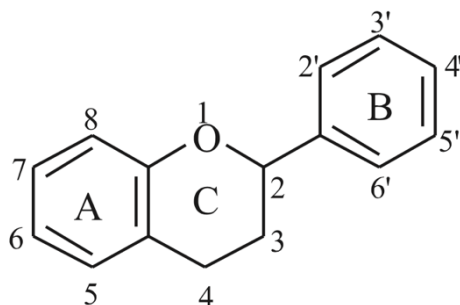
1.1.2. Flavonoidi

Skupina flavonoida je najveća skupina prirodnih polifenolnih spojeva te imaju jako izražena antiradikalna, antioksidacijska, protuupalna, antikancerogena i antimutagena svojstva. Svi flavonoidi su sintetizirani iz aromatskih amonikiselina, tirozina i fenilalanina.

Opća kemijska struktura flavonoida sastoji se od dva benzenska prstena koji su međusobno povezani jednim heterocikličkim prstenom i sagrađeni od 15 ugljikovih atoma (Slika 1).

Flavonoide odlikuje sposobnost hvatanja slobodnih radikala, nastali flavanoid radikal se dimerizira s drugom molekulom polifenola uz obnovu hidroksilnih skupina. Krajnji produkti su kinoni u obliku dimera ili trimera početnog spoja.

Trenutno je poznatno oko 6000 flavonoida, koji doprinose pigmentaciji biljaka, voća i povrća.^[4] Flavonoidi su sekundarni metaboliti biljaka koji su odgovorni za ljekovito djelovanje kako u biljkama tako i u drugim organizmima. Pripadaju grupi nisko molekularnih fenolnih spojeva koji su široko rasprostranjeni među biljnim vrstama.



Slika 1. Opća struktura flavonoida ^[2]

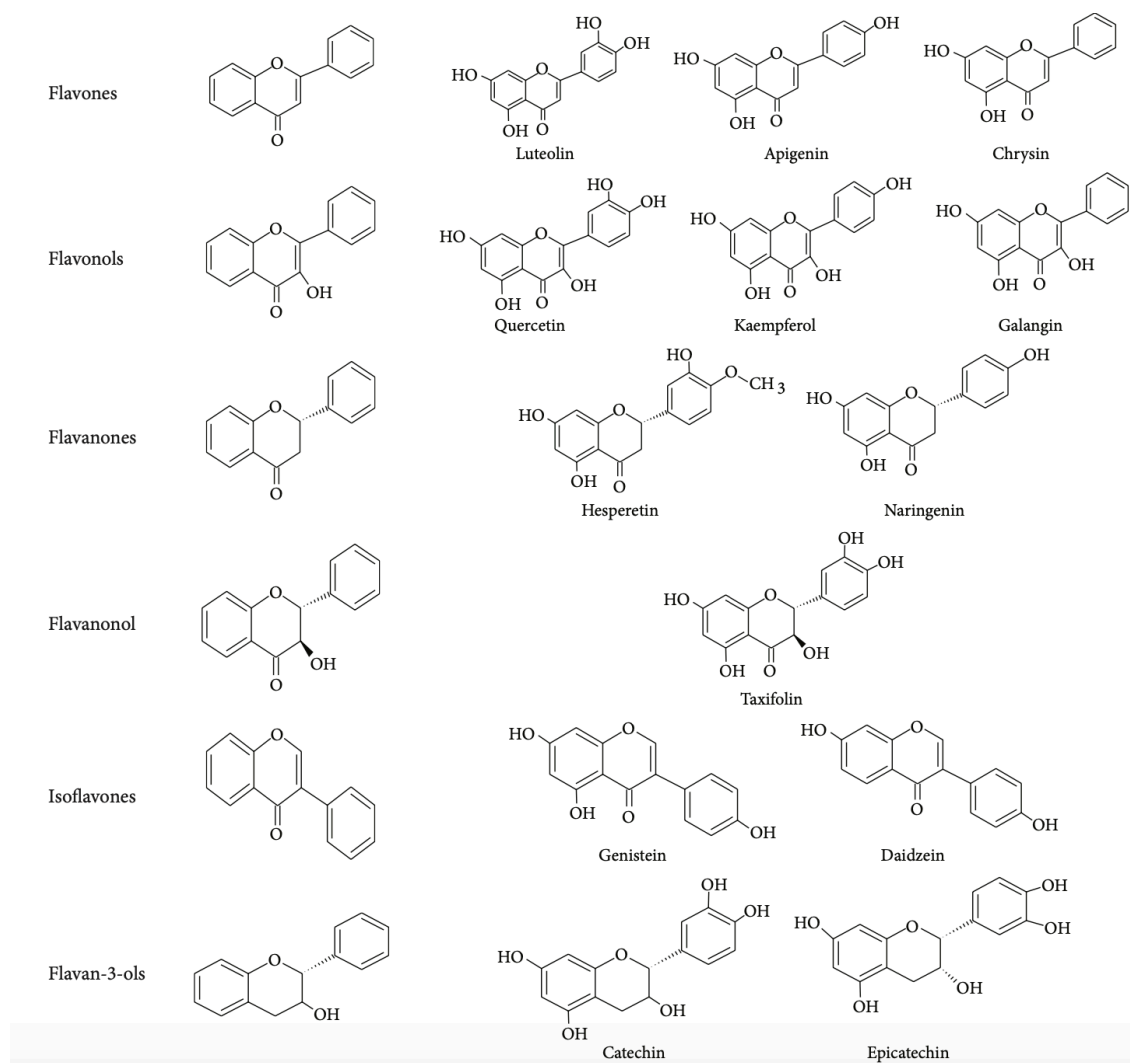
Nalaze se najviše u čajevima, čokoladama i crnim vinima gdje čine 85% ukupnih fenola, dok su u manjim količinama zastupljeni u bijelim vinima. U prirodi, flavonoidi mogu biti u slobodnom ili vezanom obliku sa drugim flavonoidima, koji se najčešće esterificiraju u jednu ili dvije molekule šećera kroz najmanje jednu hidroksilnu skupinu.^[5]

1.1.2.1. Podjela flavonoida

Flavonoidi se mogu podijeliti u šest podgrupa s obzirom na ugljikov atom koji se nalazi u C prstenu na kojem je povezan B prsten te na stupanj oksidacije i nezasićenost C prstena.^[4]

Tablica 1. Podjela flavonoida

PODGRUPA FLAVONOIDA	PREDSTAVNICI
FLAVANOLI (flavan-3-ol)	katehin, epikatehin
FLAVONOLI (flavon-3-ol)	kvarcetin, miricetin
FLAVANDIOLI (flavan-3,4-diol)	leukoantocijanidini
FLAVANONI	eridiktol
IZOFLAVONI	orobotol, daidzein
ANTOCIJANIDINI	cijanidin, malvidin



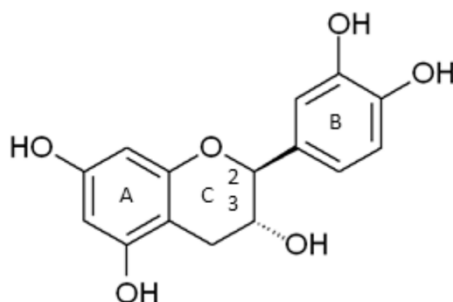
Slika 2. Podjela i strukture flavonoida

1.1.2.1.1. Katehin

Najzastupljeniji flavanoli, flavan-3-oli, u prirodi su monomeri (+)-katehin i njegov enantiomer (-)-epikatehin.^[5]

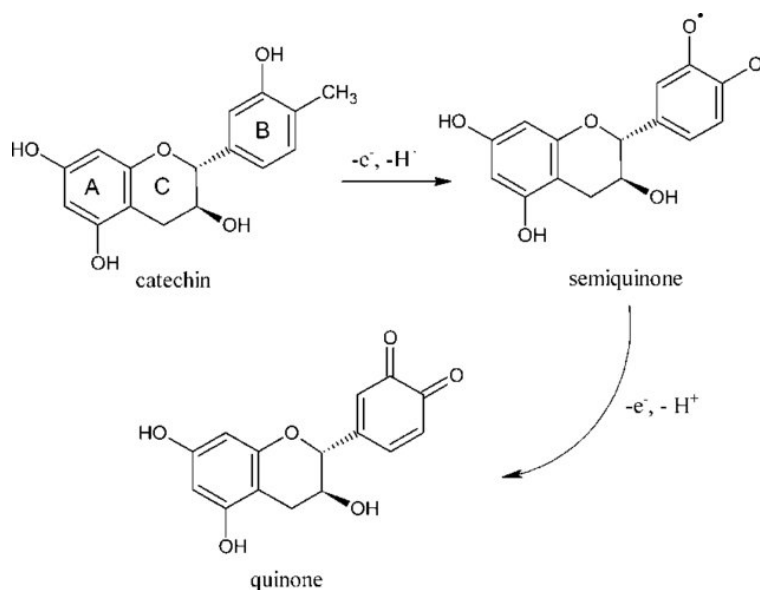
Flavan-3-oli su zastupljeni u većim količinama u voću kao što su grožđe, borovnice, marelice, ali i nekim čajevima. U grožđu se nalaze u obliku monomera, oligomera i polimera. Zastupljeni su u koži, peteljka, ali najviše u sjemenkama grožđa odakle se

ekstrahiraju u vino. U vinima su zaslužni za gorak okus i osjet trpkosti. Ekstrahiraju se tijekom alkoholnog vrenja.



Slika 3. Struktura katehina

(+)- Katehin je heptaprotektivno sredstvo, poznato po antioksidacijskim mogućnostima i svojstvima stabiliziranja membrane. Katehin se koristi kao prirodni antioksidans u uljima i mastima protiv oksidacije lipida, kao dodatak prehrani životinja i zaštiti životinjskih proizvoda također se koristi i kao antimikrobno sredstvo u prehrambenim proizvodima i zdravstveno funkcionalni je sastojak u raznim namirnicama i dodacima prehrani kod ljudi.^[6] Interes za kvantifikaciju (+)- katehina je u skladu s njegovom važnošću kao potencijalno korisnom za ljudsko zdravlje, koje su potkrijepljene raznim “in vitro” studijama koje uzimaju u obzir povezanost unosa katehina i bolesti.^[7] Povoljno utječu na ljudsko zdravlje, prvenstveno na sprječavanje nastanka kardiovaskularnih i neuroloških bolesti.



Slika 4. Mehanizam oksidacije katehina

1.2. Elektrokemijske / elektroanalitičke metode

Elektrokemija je dio znanosti posvećen razumijevanju posebnih vrsta fizikalnih i kemijskih pojava te procesa pretvorbe tvari vezanih za postojanje i djelovanje osnovne čestice elektriciteta “slobodnih” (pokretnih) elektrona koji u koordiniranom gibanju predstavljaju električnu struju.^[8]

Elektrokemija se bavi proučavanjem onih kemijskih reakcija koje se događaju na račun utroška energije ili pak služe kao izvor električne energije. Ona izučava zakonitosti po kojima kemijski ili električni oblik energije prelazi jedan u drugi.^[9]

Elektroanalitičke metode skupina su analitičkih tehnika i podataka s kojima se dobivaju informacije. Dobivaju se podatci o koncentraciji, aktivitetu ili nekom drugom podatku određivane kemijske vrste koji se dobiva na temelju međusobno razmjernih odnosa analognih električnih veličina, signal odziva, tj. uz pomoć električnog napona, naboja ili električne struje.^[10]

Kod elektroanalitičkih mjerenja sve reakcije se odvijaju unutar elektrokemijske ćelije. U ćelije su uronjene elektrode, radna, referentna i pomoćna elektroda. Kod većine metoda svojstva elektrolitne otopine dobivamo pomoću elektroda. Ta elektroda je radna elektroda, kada kroz ćeliju teče električna struja, a indikatorska elektroda kod potenciometrijskih mjerenja. Temelj svih elektroanalitičkih mjerenja je elektrokemijska reakcija na radnoj ili indikatorskoj elektrodi. Elektrode mogu služiti za dovođenje neke električne veličine iz vanjskog izvora koja uzrokuje promjene na dodirnoj površini elektrode i otopine, a kao produkt nastaje neka druga veličina koja se mjeri. Također elektrode mogu služiti kao senzori ili osjetila kada su uronjene u otopinu, tada dolazi do promjene razlike potencijala uspostavljene na dodirnoj površini elektroda - otopina, jer dolazi do elektrokemijske reakcije gdje se mijenja koncentracija određene kemijske vrste.^[11]

Razlikuju se dva tipa elektrokemijskih ćelija: galvanski članak i elektrolitički članak. Galvanski članak služi kao izvor napona, a koristi se za spontane elektrokemijske procese u kojima se kemijska energija pretvara u električnu energiju, dok kod elektroanalitičkih članaka se iz električne energije dobiva kemijska energija.^[12]

Elektroanalitičke metode dijelimo u dvije grupe:

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

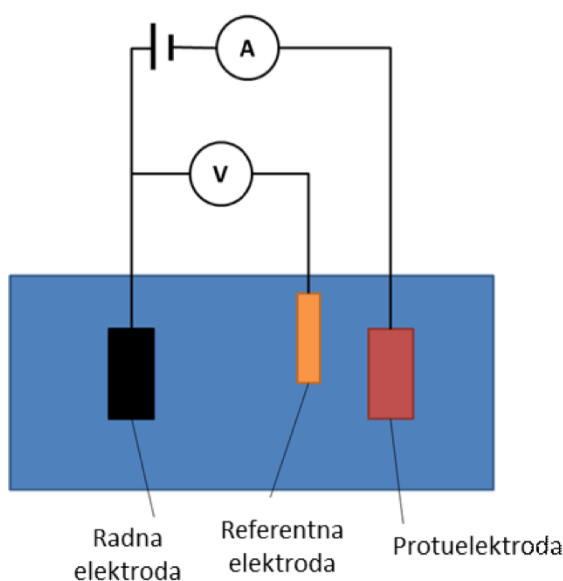
Kod metoda kod kojih ne teče električna struja, električni napon, što nastaje između elektroda, uspostavlja se spontano, odvijanjem elektrokemijskih reakcija na elektrodama. Budući da vanjskim električnim krugom ne teče električna struja elektrokemijske reakcije na elektrodama mogu postići stanje dinamičke ravnoteže. Tako se na elektrodi uspostavlja ravnotežni, elektrodni potencijal. Razlika potencijala, tj. napona, između elektroda pokazuje samo nakanu tijeka reakcije koja bi se odvijala u elektrokemijskoj ćeliji kada bi zatvorili strujni krug. Ova elektroanalitička metoda se naziva potencijometrija.

Druga elektroanalitička metoda je ona kod kojih kroz elektrokemijski članak teče električna struja kao posljedica primjene napona iz vanjskog izvora. Ovi procesi se odvijaju u elektrolitičkoj ćeliji, a sam proces se naziva elektroliza. Tok struje kroz vanjski krug koji povezuje elektrode uzrokuje elektrokemijske reakcije na elektrodama, odnosno odvijanje reakcija oksidacije i redukcije. Fizikalna veličina koja se mjeri u ovom sustavu je odziv sustava u ćeliji na promjenu vanjskog signala pobude, što bi značilo ako je vanjski signal pobude električni napon, kroz radnu elektrodu će teći električna struja, čija jakost ovisi o obliku naponskog signala pobude, koncentraciji elektroaktivnih tvari i vrsti korištene elektrode. Prema tome, rezultirajuća mjerena fizikalna veličina, odnosno signal odziva, je električna struja. Ako se mjeri kao funkcija narinutog napona tada je elektroanalitička metoda voltometrija. Mjeri li se rezultirajuća električna struja kao funkcija vremena elektrolize radi se o kronoamperometrijskoj metodi. Kod kulometrijske metode mjeri se količina električnog naboja potrebnog za provođenje elektrolize.^[13]

1.2.1. Voltametrijske metode

Voltametrijske metode spadaju u skupinu elektroanalitičkih metoda u kojima je signal pobude električni napon, dok je signal odziva struja ćelije, koja se mjeri kao funkcija narinutog napona. Grafički prikaz signala odziva voltametrije naziva se voltamogram.^[10]

Osnovne sastavnice instrumenta za voltametrijska mjerenja su elektrokemijski članak, potencijostat te računalo. Elektrokemijski članak je u ulozi nosača otopine analita u kojoj su uronjene elektrode. Osnovni zadatak potencijostata je nametanje potencijala i mjerenje jakosti struje.



Slika 5. Elektrokemijska ćelija za voltametrijska mjerenja^[14]

Elektrokemijska ćelija za voltametrijska mjerenja se sastoji od tri elektrode koje su uronjene u otopinu analita (Slika 5):

1. Radna elektroda (Working Electrode-WE) – je elektroda na kojoj se odvija ciljana redoks reakcija polučlanka te je njena struja izvor analitičke informacije. Potencijal joj se mijenja s vremenom,
2. Referentna elektroda (Reference Electrode-RE) – je zaslužna za osiguravanje režima potencijala radne elektrode na način da vrši stalnu i trenutnu korekciju strujnih parametara (kalomelova ili Ag/AgCl elektroda),

3. Pomoćna ili protuelektroda (Counter Electrode-CE) – platinska elektroda koja služi za odvijanje redok-reakcije drugog polučlanka kako bi se postiglo zatvaranje strujnog kruga elektrokemijske ćelije. Elektroda služi za vođenje elektrona od izvora signala kroz otopinu do radne elektrode.

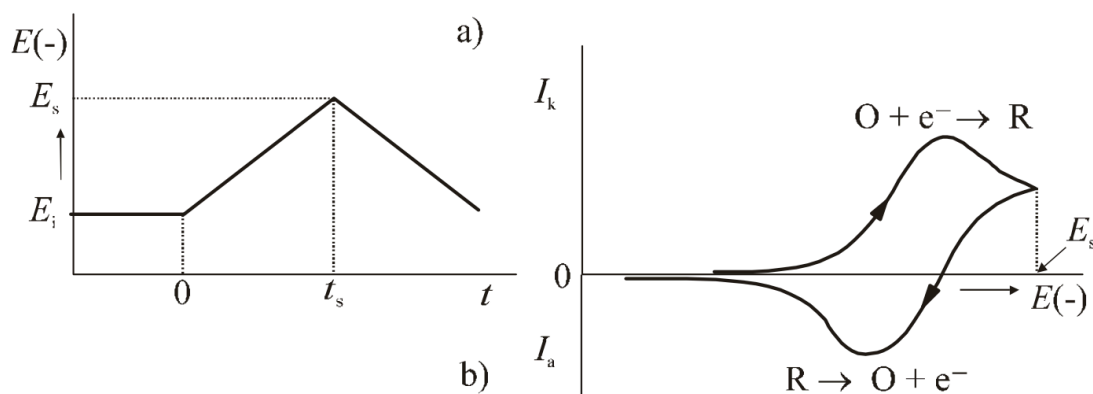
Struja koja nastaje na elektrodi proporcionalna je koncentraciji na površini, a jednaka je koncentraciji u uzorku. Rezultirajuća struja koja teče kroz ćeliju mjera je koncentracije (aktiviteta) uključenih elektroaktivnih vrsta.^[10]

Najčešće korištene voltametrijske metode su ciklička voltametrija, diferencijalna pulsna voltametrija, voltametrija s linearnom promjenom potencijala i stripping voltametrija.

1.2.1.1. Ciklička voltametrija

Ciklička voltametrija je elektrokemijska metoda koja se koristi pri proučavanju mehanizma i kinetike elektrodnih reakcija, određivanja redoks potencijala, broja izmijenjenih elektrona, istraživanje kemijskih reakcija i adsorpcijskih procesa koji prethode ili slijede prijenosu elektrona.^[10]

Potencijal radne elektrode (signal pobude) kontrolira se i linearno mijenja u naprednom i povratnom smjeru, a potom se mjeri struja koja protječe kroz ćeliju.^[14] Napon signala pobude od početka se mjerenja negativira, a zatim se kod određenog potencijala (E_s) započinje pozitivirati. Promjene su potencijala (posmika) u oba smjera linearne. Kod polaznog posmika potencijala struja ćelija katodna je struja redukcije. Na početku promjene smjera signala pobude proces redukcije O u R i dalje traje jer je potencijal elektrode znatno negativniji od formalnog potencijala. Kako se dalje pozitivira potencijal elektrode približava se formalnom elektrodnom potencijalu redoks sustava elektroaktivne vrste, tada počinje elektrodni proces oksidacije, i to reduciranog oblika (R) redoks sustava što je stvoren, uz površinu elektrode, procesom redukcije. Zatim se javlja anodna struja, odnosno struja oksidacije. Daljnjim pozitiviranjem opada struja redukcije i raste struja oksidacije. Postepeno struja ćelije opada na vrijednost osnovne struje. Mjerena struja odziva, tj. struja ćelije, je razlika katodne i anodne struje procesa na radnoj elektrodi. Signal odziva ima karakterističan oblik s katodnim i anodnim vrhom. Grafički prikaz odziva cikličke voltametrije naziva se ciklički voltamogram (Slika 6).^[10]



Slika 6. Signal pobude i odziva cikličke voltametrije ^[10]

Visina strujnog odziva ovisi o koncentraciji elektoreduktanada (O) u otopini (c_o), o broju razmijenjenih elektrona po čestici (z), o površini elektrode (A) i o čimbenicima koji određuju brzinu difuzije, tj. koncentracijskom gradijentu, uz površinu elektrode elektoreduktanda (O) pri polaznom posmiku i elektrooksidanda (R) pri povratnom posmiku potencijala. Gradijent koncentracije elektroaktivnih vrsta uz površinu elektrode ovisi o difuzijskom koeficijent (D_o i D_R) i brzini promjene potencijala signala pobude (v).^[10]

1.2.2. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija (EIS)

Električna impedancija je mjera suprotstavljanja prolasku izmjenične struje kroz strujni krug. Predstavlja omjer efektivnog napona i efektivne struje u krugu izmjenične struje u kojem se nalaze zavojnica s induktivnim otporom, kondenzator s kapacitivnim otporom i omski otpor.

Otpor prolasku struje kod električnih vodiča i otpor u normalnim okolnostima jednak je za istosmjernu i izmjeničnu struju. Odnosi otpora, napona i struje za istosmjerne strujne krugove opisani su Ohmovim zakonom (1).

$$R = \frac{U}{I} \quad (1)$$

Ukoliko struji krug sadrži zavojnicu i/ili kondenzator, a to su elementi koji imaju reaktivni otpor, Ohmov zakon se mora napisati pomoću Laplaceove transformacije, odnosno potrebno je Ohmov zakon izraziti u području kružne frekvencije, $j\omega$ (2).

$$Z(j\omega) = \frac{U(j\omega)}{I(j\omega)} \quad (2)$$

Metoda elektrokemijske impedancijske spektroskopije omogućava dobivanje električne impedancije tvari kao funkcije frekvencije primijenjene električne struje.^[15] To je visoko osjetljiva tehnika karakterizacije koja se koristi za uspostavljanje električnog odgovora kemijskih sustava na nerazorni način. EIS sustavi karakteriziraju vremenski odziv kemijskih sustava koji koriste napon izmjenične struje niske amplitude (AC) u rasponu frekvencija. Koristi nisko amplitudni sinusni pobudni signal, potencijalni ili strujni, a prati se odzivni sinusni signal, strujni ili potencijalni. Prilikom mjerenja impedancije moraju se zadovoljiti uvjeti da odnos između pobudnog i odzivnog signala bude linearan, da se sustav mora vratiti u prvotno stanje te sustav ne smije producirati odgovor prije promjene pobudnog signala. Nisko amplitudni pobudni signal se koristi kako bi se osigurali mali pomaci sustava iz početnog, vremenski neovisnog stanja i kako bi se osiguralo dobivanje linearnog odgovora, sustav se može u svakoj točki svog početnog stanja prikazati linearnim jednadžbama. Elektrokemijska ćelija se sastoji od radne, referentne i protuelektrode, poznati napon se prenosi sa radne elektrode preko elektrolita na protuelektrodu.

Elektrokemijska impedancijska spektroskopija je metoda koja se primjenjuje za karakterizaciju različitih elektrokemijskih sustava, za ispitivanje korozije i pasivacije metala i legura, ionskih i elektronskih vodljivosti materijala, karakterizaciju kemijski modificiranih materijala za elektrode, također se koristi i za određivanje površinskih parametara (brzine reakcije, konstante brzine, difuzijskog koeficijenta, konstante brzine adsorpcije).

1.2.2.1. Mjerenje impedancije

Elektrokemijska impedancijska spektroskopija se temelji na mjerenju odgovora sustava na pobudni signal. Prilikom mjerenja koristi nisko-amplitudni sinusni pobudni (strujni ili potencijalni) signal, a prati se odzivni sinusni (potencijalni ili strujni) signal.

Prilikom mjerenja impedancije nužno je zadovoljiti sljedeće uvjete:

1. Linearnost - relacija između pobudnog i odzivnog signala mora biti linearna,
2. Kauzalnost – sustav ne smije producirati odgovor prije primjene pobudnog signala,
3. Stabilnost – uklanjanjem stimulansa, sustav se mora vratiti u prvotno stanje.

Razlikuju se dvije metode mjerenja impedancije:

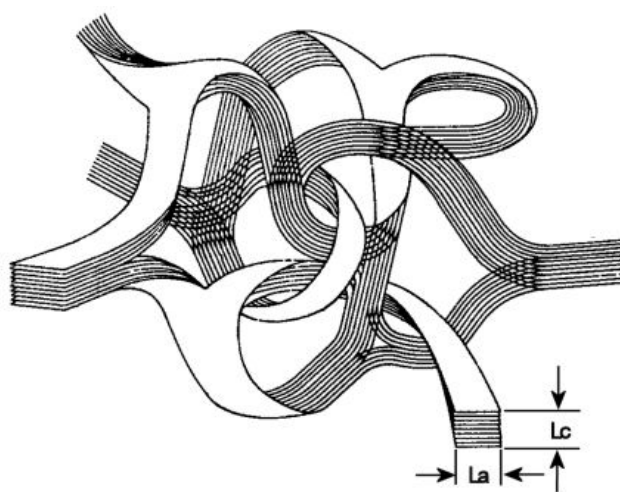
1. Single-sine tehnika,
2. Multi-sine tehnika.

Osnova na kojoj se temelje obje metode je da se sinusni signal sa malom amplitudom narine na elektrodu i mjeri se potencijalni ili strujni odziv.

1.3. Elektrode

1.3.1. Radna elektroda – elektroda od staklastog ugljika

Staklasti ugljik je materijal koji je karakteriziran svojstvima grafita koji su kombinirani sa svojstvima stakla i keramike. Najvažnija svojstva su stabilnost prilikom visokih temperatura, niska električna otpornost, tvrdoća, niska gustoća, niska toplinska otpornost, visoka kemijska otpornost te nepropusnost za tekućine i plinove.



Slika 7. Struktura staklastog ugljika ^[16]

Struktura staklastog ugljika (Slika 7) je predmet rasprava. Strukturni modeli su na početku pretpostavljali da su prisutni hibridizirani atomi sp^2 i sp^3 , ali kasnije je utvrđeno da se radi samo o sp^2 hibridiziranim atomima. Najnovija istraživanja ukazuju da staklasti ugljik ima strukturu povezanu s fulerenom.^[17]

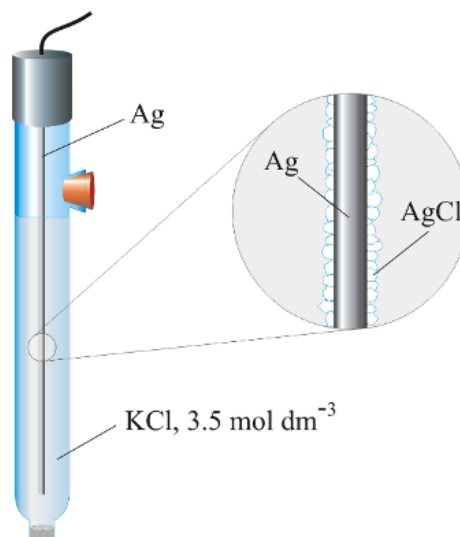
Elektroda se pripravlja na način da se utiskuje staklasti ugljik u obliku valjčića ili pločice u teflonski nosač ili se staklasti ugljik zalijepi aralditnim ljepilom u staklenu cijev.^[10] Površina elektrode od staklastog ugljika se može modificirati pri čemu se postiže velika osjetljivost i selektivnost prilikom mjerenja.

1.3.2. Referentna elektroda – srebro/srebrov (I) klorid elektroda

Najčešće korištena referentna elektroda je srebro/srebrov-klorid elektroda zbog stabilnosti, neotrovnosti, niske cijene i jednostavnosti.

Zasniva se na reakciji: $\text{AgCl} + e^- \rightleftharpoons \text{Ag(s)} + \text{Cl}^-$ ($E^\circ = 0,222 \text{ V}$)

Pripravlja se tako da se srebrena elektroda, odnosno komadić srebrene žice kojoj je jedan kraj savijen u zavojnicu, a na površini joj je anodnom oksidacijom u kloridnoj otopini stvoren sloj teško topljivog AgCl, uroni u kloridnu otopinu zasićenu s AgCl-om. Aktivitet Ag^+ iona i potencijal elektrode regulirani su koncentracijom kloridnih iona u otopini. Najčešće se upotrebljava srebro/srebrov-klorid elektroda sa zasićenom otopinom KCl-a (Slika 8), kojoj elektrodni potencijal iznosi +0,197 V u odnosu prema standardnoj vodikovoj elektrodi.^[10]



Slika 8. Srebro/srebrov-klorid elektroda

1.3.3. Protuelektroda – platinska pločica

Kao materijal za izradu protuelektroda koristi se platina. Platina se odlikuje malim elektrokatalitičkim svojstvima te je kao takva pogodna za izradu protuelektroda koje se koriste u voltametrijskim mjerenjima.

Reakcije koje se na njoj odvijaju su samo reakcije razvijanja kisika i vodika.

Protuelektroda se izrađuje u obliku tanke pločice (Slika 9) kako bi se postigla što veća kontaktna površina, a time se postiže manja gustoća struje, odnosno dolazi do manjeg odstupanja od ravnotežnog stanja.



Slika 9. Platinska pločica – protuelektroda^[18]

1.4. Modifikacije elektroda

1.4.1. Elektroda od staklastog ugljika

Elektroda od staklastog ugljika (GCE – Glassy Carbon Electrode) je elektroda, sa ili bez obrađene površine, koja se često upotrebljava prilikom voltametrijskih mjerenja iz razloga što ima izvanredna električna i mehanička svojstva, širok raspon potencijala, kemijski inertan, odnosno otpornost na otapala te je odlikuju relativno reproducibilni rezultati. Također staklasti ugljik odlikuje i niska brzina oksidacije i niska permeabilnost za tekućine i plinove.^[19]

Priprema staklastog ugljika zahtijeva kontrolirano zagrijavanje predmodelirane polimerne smole u inetrnoj atmosferi. Struktura GCE se sastoji od tankih i smotanih trakica poprečno povezanih slojeva grafita (Slika 7).

Površina elektrode od staklastog ugljika se često predobrađuje i modificira kako bi se osigurala reproducibilnost, poboljšala osjetljivost i selektivnost elektrode. Predobrada elektroda se vrši fizikalnom i elektrokemijskom pripremom, gdje je elektrokemijska priprema pokazala veću aktivnost elektrode. Modifikacije se lako nanose na površinu

senzora. Najčešći materijali koji se upotrebljavaju za modifikaciju su grafen, grafenov oksid, ugljikove nanocjevčice (SWCNT, MWCNT).

Postoje senzori utemeljeni na nanocijevima i nanožicama koji su uklopljeni u unutrašnjost materijala. Najvažnije i najčešće korištene su ugljikove nanostrukture.

Ugljikove nanocjevčice (CNT) se najčešće koriste prilikom modifikacije senzora. Ta alotropska modifikacija ugljika se sastoji od koncentričnih šupljih valjaka, promjera od nekoliko nm, a duljine nekoliko stotina μm . Međusobno su povezani prstenastim šesterokutima ugljikovih atoma.

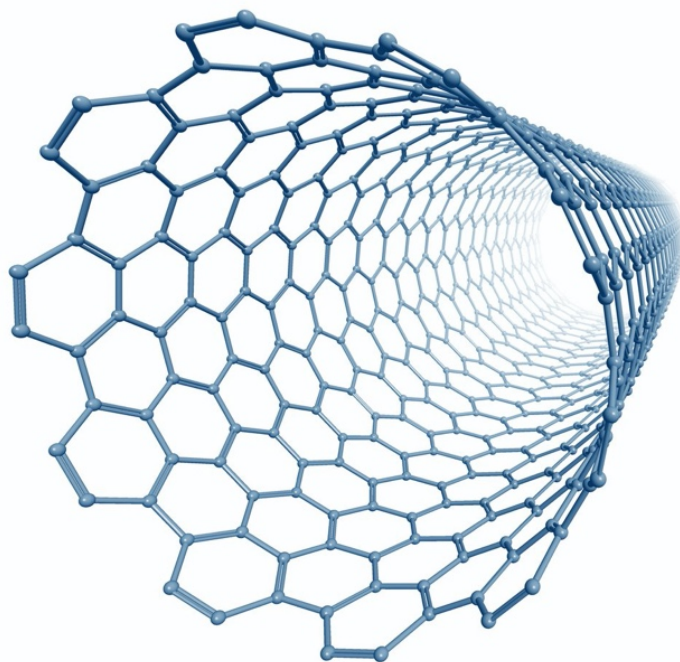
Senzore na bazi ugljikovih nanocjevčica odlikuje velika električna vodljivost, izuzetna čvrstoća i toplinska vodljivost, osjetljiviji su, imaju nižu granicu određivanja i bržu kinetiku prijenosa elektrona. Svojstva CNT-a je moguće modificirati sa dodatcima raznih funkcionalnih skupina, koje mogu biti vezane kovalentnim ili ne-kovalentnim vezama. Kovalentne funkcionalne skupine se odnose na dodavanje karboksilnih grupa nakon oksidacije, a na koje se mogu vezati amidne, tiolne ili druge skupine. Ne-kovalentnim skupinama modificiraju se zidovi aromatskim strukturama, polimerima ili hidrofobnim interakcijama. Sve modifikacije donose važne promjene na elektronička svojstva materijala.

Dijele se na:

- jednozidne nanocijevi (engl. single-walled carbon nanotubes, SWCNT) - imaju jedan koncentrični valjak
- višezidne nanocijevi (engl. multi-walled carbon nanotubes, MWCNT) – imaju nekoliko koncentričnih valjaka

1.4.1.1. Jednozidne ugljikove nanocijevčice (SWCNT)

SWCNT su formirane od jednog sloja grafita koji je raspoređen u obliku šupljeg cilindra. Središnji dio cijevi je formiran od linearnog hibridiziranog sp^2 atoma ugljika, dok su krajevi oblikovani posebnom raspodjelom peterokutnih i šesterokutnih prstenova, što im daje pravu zakrivljenost i omogućava zatvaranje grafitnog cilindra.



Slika 10. *Struktura SWCNT* ^[20]

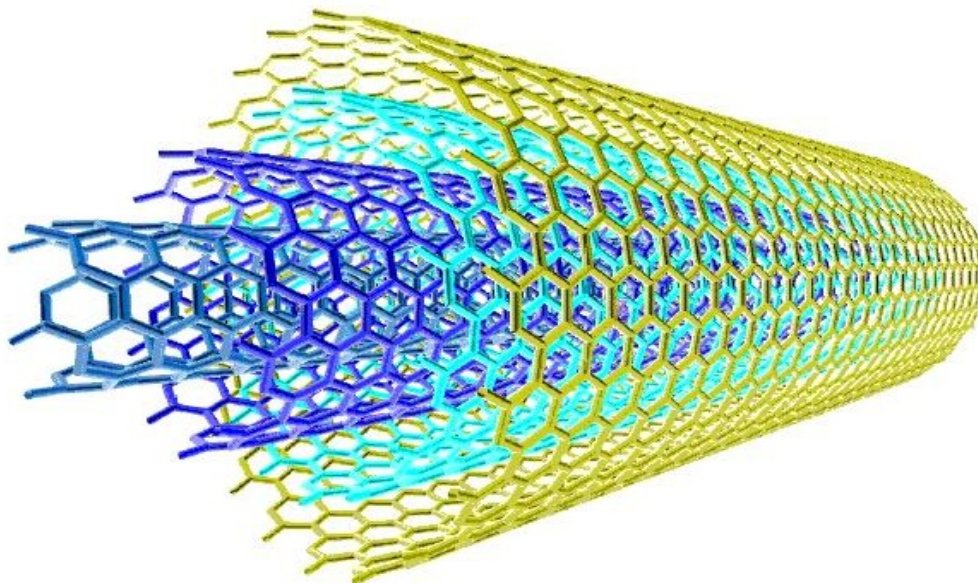
Najistaknutija svojstva SWCNT-a su:

- izvrsna snaga,
- velika električna provodljivost,
- velika kontaktna površina,
- termalna stabilnost,
- kemijska inertnost,
- lagan materijal.^[20]

1.4.1.2. Višezidne ugljikove nanocijevčice (MWCNT)

MWCNT su višeslojne cilindrične nanocijevčice koje se sastoje od više koncentričnih šupljih cilindara grafena, koji su različite veličine raspoređeni jedni unutar drugih. Složene su strukture, dok je svaki sloj ugljika okarakteriziran drugačijom kiralnošću i elektronskim svojstvima.

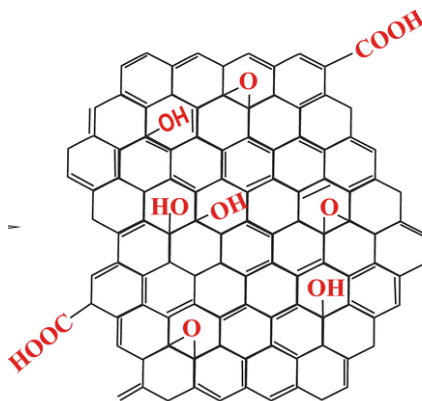
Imaju izvanrednu aktivnu površinu, kemijsku inertnost, visoku čvrstoću i malu otpornost na prijenos naboja u vodenoj i nevodenoj otopini.



Slika 11. Struktura MWCNT [21]

1.4.1.3. Reducirani grafenov oksid (rGO)

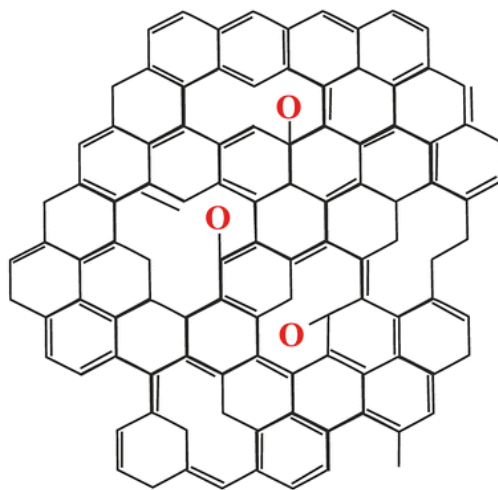
Grafenov oksid je kemijski modificirani grafen, čija struktura se sastoji od kisikovih funkcionalnih skupina, kao što su alkoholi, karboksilne kiseline i epoksidi. Grafenov oksid se priprema oksidacijom i eksfolijacijom (raslojavanjem) grafita, što je popraćeno opsežnom izmjenom bazalne ravnine, ravnine okomite na glavnu os u tom kristalnom sustavu, prilikom čega se povećava razmak između slojeva. Monosloj grafenovog oksida odlikuje visok sadržaj kisika, gdje je tipičan odnos C/O manji od 3:1, a bliže 2:1.^[19]



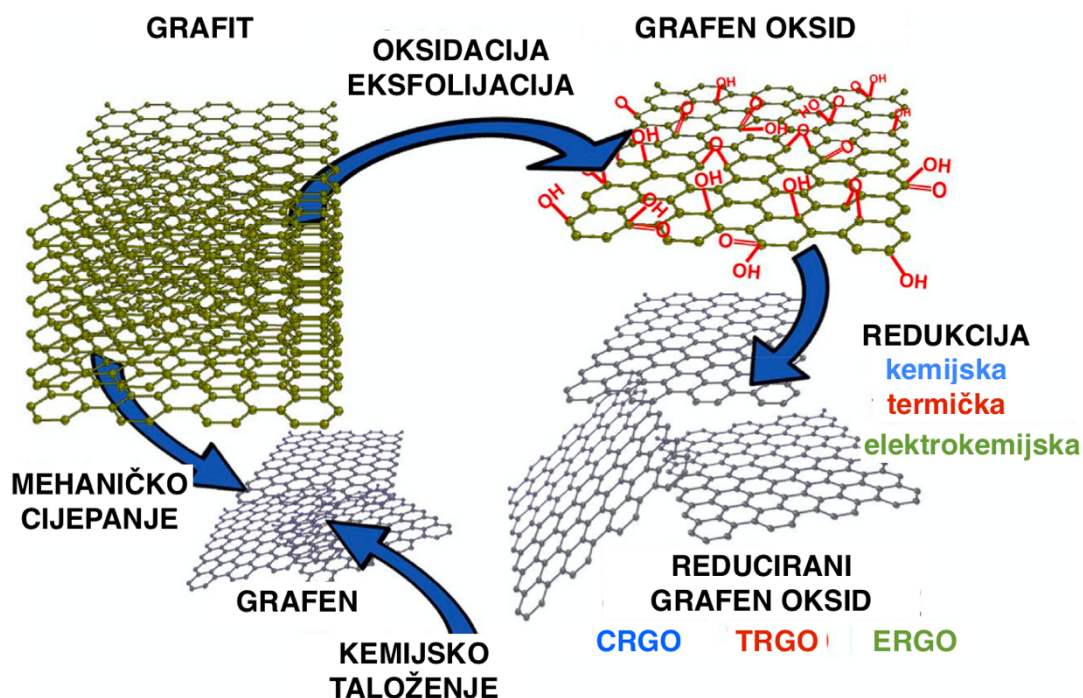
Slika 12. Molekulska struktura grafenovog oksida

Reducirani grafenov oksid (rGO) se dobiva redukcijom grafen oksida pomoću raznih metoda, kako bi se smanjio sadržaj kisika. Metode koje se koriste za redukciju su:

- kemijska,
- termička,
- foto-kemijska,
- foto-termička,
- elektrokemijska.



Slika 13. Molekulska struktura reduciranog grafenovog oksida



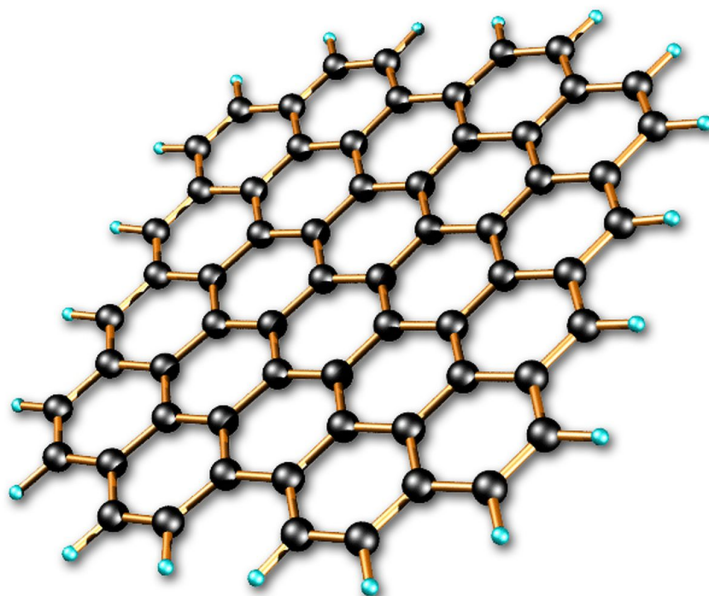
Slika14. Shematski prikaz dobivanja grafena i reduciranog grafenovog oksida^[19]

Korištenjem reduciranog grafenovog oksida kao senzorske modifikacije postiže se veća i stabilnija kontaktna površina, kao i bolja osjetljivost senzora.

1.4.1.4. Grafen (Gr)

Grafen predstavlja jednu od alotropskih modifikacija ugljika, ujedno je i najtanji poznati materijal.

Struktura grafena se sastoji od ugljikovih atoma koji su raspoređeni u dvodimenzionalnu heksagonalnu strukturu, koji su međusobno povezani sp^2 vezama. Svaki atom ugljika je povezan sa susjednim ugljikovim atomom snažnom σ -vezom, ali i slabom π -vezom, upravo zbog toga grafen ima odlična mehanička svojstva. Također, grafen pokazuje izvanrednu sposobnost prijenosa elektrona, koji se slobodno mogu kretati u kristalu grafena zbog postojanja π -orbitale. Smatra se da je grafen osnovna građevna jedinica za ostale ugljikove nanočestice kao što su grafit, nanocjevčice i fulereni.



Slika 15. Struktura grafena ^[22]

Najčešće korištena metoda proizvodnje grafena je tekuća elsfolijacija, odnosno metoda razbijanja slojeva grafita uz pomoć ultrazvučne energije u tekućem mediju u tzv. ultrazvučnoj kupelji.

Elektrode koje su modificirane s grafenom pokazuju izvrsne performanse u kemijskoj detekciji malih molekula, imaju veću selektivnost i osjetljivost, veliku električnu vodljivost radi čega se danas često koriste u elektroanalitičkim metodama.

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. Priprava otopina

Tablica 2. Korištene kemikalije

KEMIKA LIJE	MOLEKULSKA FORMULA	DOBAVLJAČ
etanol (96%)	C ₂ H ₅ OH	GRAM-MOL Zagreb d.o.o.,
etanol (apsolutni)	C ₂ H ₅ OH	GRAM-MOL Zagreb d.o.o.,
sumporna kiselina (96%)	H ₂ SO ₄	T.T.T. d.o.o., Sveta Nedelja
octena kiselina (99,8%)	CH ₃ COOH	GRAM-MOL Zagreb d.o.o.,
natrijev acetat	CH ₃ COONa	GRAM-MOL Zagreb d.o.o.,
natrijev hidroksid	NaOH	GRAM-MOL Zagreb d.o.o.,
N, N-dimetilformamid	C ₃ H ₇ NO	Merck KgaA, Darmstadt
(+)- katehin hidrat	C ₁₅ H ₁₄ O ₆ * xH ₂ O	SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
fosforna kiselina (85%)	H ₃ PO ₄	Alkaloid, Skopje
borna kiselina	H ₃ BO ₃	Kemika d.d., Zagreb
tartaratna kiselina	C ₄ H ₆ O ₆	GRAM-MOL Zagreb d.o.o.,
Grafen (Gr)		SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
Grafenov oksid (GO)		SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
Jednozidne ugljikove nanocijevčice (SWCNT)		SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
Višezidne ugljikove nanocijevčice (MWCNT)		SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH

2.1.1. Priprava otopine natrijevog acetata ($V=250$ mL)

Pripravljena je otopina natrijevog acetata, koncentracije 0,1 M, otapanjem 2,05 g CH_3COONa u 250 mL destilirane vode.

2.1.2. Priprava otopine octene kiseline ($c=0,1$ M; $V=1$ L)

Otopina octene kiseline pripravljena je dodavanjem 5,7 mL koncentrirane HAc ($w=99,8\%$) u tikvicu od 1 L. Tako pripravljena otopina ima koncentraciju 0,1 M.

2.1.3. Priprava otopine sumporne kiseline ($c=0,5$ M; $V=0,5$ L)

Otopina sumporne kiseline koncentracije 0,5 M je pripravljena otapanjem 13,9 mL H_2SO_4 ($w = 96\%$) u 0,5 L destilirane vode. Ovako pripravljena otopina ima koncentraciju od 0,5 M.

2.1.4. Priprava otopine acetatnog pufera (jakost=0,1 M; $\text{pH}=3,6$; $V=1$ L)

U 0,1 M otopinu octene kiseline (pH je iznosio 3,07) dodavana je, uz miješanje 0,1 M otopina natrijeva acetata za postizanje pH 3,6. pH je kontroliran pH -metrom sa staklenom pH elektrodom.

2.1.5. Priprava otopine natrijevog hidroksida ($c=1$ M; $V=100$ mL)

Otopina natrijevog hidroksida je pripravljena otapanjem 4 g NaOH u 100 mL destilirane vode. Tako pripravljena otopina ima koncentraciju od 1M.

2.1.6. Priprava model otopine vina ($\text{pH}=3,6$; $V=1$ L)

Model otopine vina se sastoji od 12 % (v/v) udjela etanola i koncentrirane tartaratne kiseline od 33 mM. Za pripravu 1 L gore navedene otopine 5 g tartaratne kiseline je otopljeno u 12 % (v/v) vodenoj otopini etanola. pH ove otopine je iznosila 2,5 te je podešavana do 3,6 dodatkom 1 M otopine NaOH. pH je kontroliran pH -metrom sa staklenom pH elektrodom.

2.1.7. Priprava Britton-Robinson pufera (B-R) (jakost=0,1 M; $\text{pH}=3,6-6,6$; $V=1$ L)

6,2 g borne kiseline, 5,7 mL koncentrirane ($w=99,8$ %) octene kiseline i 6,3 mL koncentrirane fosfatne kiseline ($w=85$ %) je otopljeno u destiliranoj vodi do konačnog volumena od 1 L. pH otopine bio je 1,8. Željeni pH je podešavan dodatkom 1 M otopine NaOH, uz stalno praćenje pH vrijednosti pH -metrom.

2.1.8. Priprava otopine katehina ($c=0,05\text{ M}$; $V=25\text{ mL}$)

0,372 g katehina je dodano u 12 mL destilirane vode. Zbog slabije topljivosti katehina u čistoj vodi, u ovu otopinu je dodano 4 mL EtOH i nadopunjeno do 25 mL destiliranom vodom. Tako pripravljena otopina ima koncentraciju 0,05 M.

2.1.9. Priprava otopine 5 mM $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ u 0,1 M otopini KCl ($V=500\text{ mL}$)

0,825 g $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ i 3,75 g KCl je otopljeno u destiliranoj vodi na konačni volumen od 500 mL.

2.1.10. Priprava suspenzije SWCNT ($c=0,5\text{ mg mL}^{-1}$; $V=10\text{ mL}$)

5 mg SWCNT dodano je u 10 mL dimetilformamida (DMF), te je smjesa tretirana u ultrazvučnoj kupelji 2 sata, za dobivanje homogene suspenzije.

2.1.11. Priprava suspenzije MWCNT ($c=0,5\text{ mg mL}^{-1}$; $V=10\text{ mL}$)

5 mg MWCNT dodano je u 10 mL dimetilformamida (DMF), te je smjesa tretirana u ultrazvučnoj kupelji 2 sata, za dobivanje homogene suspenzije.

2.1.12. Priprava otopine reduciranog grafenovog oksida ($c=0,5\text{ mg mL}^{-1}$; $V=10\text{ mL}$)

Suspenzija grafenovog oksida je pripravljena miješanjem 5 mg grafenovog oksida s destiliranom vodom do konačnog volumena od 10 mL, te tretirana u ultrazvučnoj kupelji oko 6 sati.

2.1.13. Priprava otopine grafena ($c=0,5\text{ mg mL}^{-1}$; $V=10\text{ mL}$)

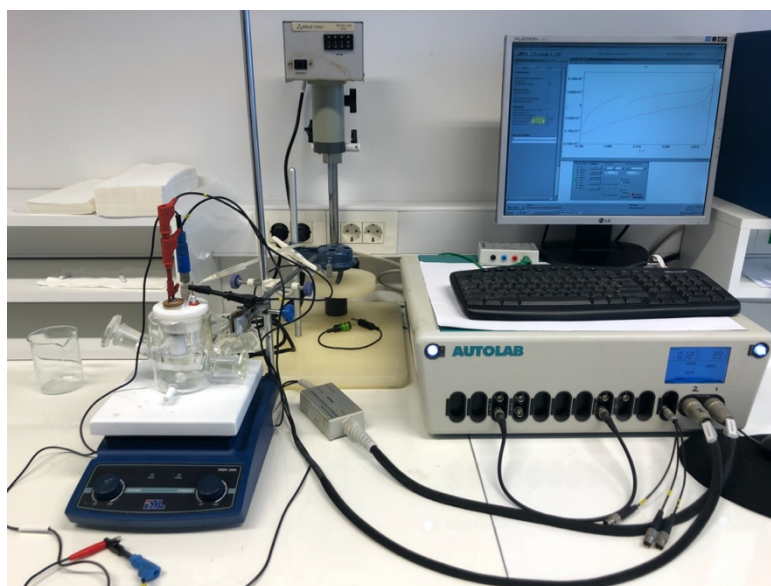
Suspenzija grafena je pripravljena miješanjem 5 mg grafena s destiliranom vodom do konačnog volumena od 10 mL, te tretirana u ultrazvučnoj kupelji oko 6 sati.

2.2. Aparatura i elektrodni materijal

2.2.1. Uređaj za elektrokemijska mjerenja

Elektrokemijska mjerenja izvršena su s potencijostatom (Autolab PGSTAT 302N) koji je spojen na osobno računalo (PC), kojim se upravlja pomoću GPES 4.9 Softwarea (Eco Chemie).

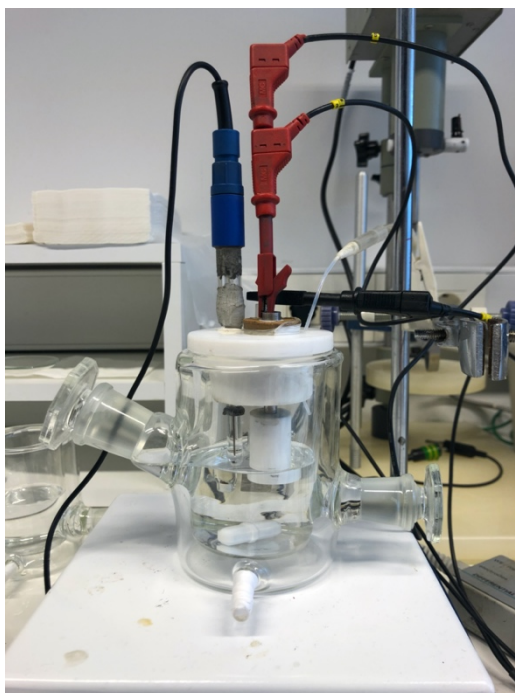
Za mjerenja je korišteno i magnetno miješalo kako bi se osigurala homogenost otopine.



Slika 16. Uređaj za elektrokemijska mjerenja

2.2.2. Elektrokemijska ćelija

Prilikom elektrokemijskih mjerenja korištena je elektrokemijska ćelija od staklenog materijala.



Slika 17. Elektrokemijska ćelija

Prije svakog mjerenja ćelija je pripremljena na sljedeći način:

1. ispiranje koncentriranom dušičnom kiselinom – osigurava se uklanjanje nečistoća ili ostataka iz prethodnih mjerenja,
2. ispiranje vodovodnom vodom,
3. ispiranje destiliranom vodom,
4. ispiranje etanolom,
5. ispiranje destiliranom vodom,
6. ispiranje malom količinom elektrolita koji se koristi za sljedeće mjerenje.

2.2.3. Referentna elektroda, protuelektroda i radna elektroda

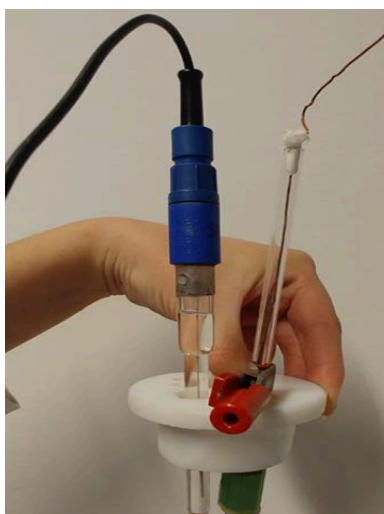
Kao radna elektroda korištena je elektroda od staklastog ugljika uklopljena u bazu načinjenu od teflona.



Slika 18. Radna elektroda

Kao referentna elektroda korištena je srebro/srebrov (I) klorid (Ag/AgCl) elektroda koja je prije svakog mjerenja isprana vodovodnom vodom, a zatim destiliranom vodom.

Platinska pločica korištena je kao protuelektroda koja je prije svakog mjerenja očišćena koncentriranom HNO_3 , potom isprana vodovodnom vodom i destiliranom vodom.



Slika 19. Referentna i protuelektroda

2.2.4. Priprema radne elektrode

Prije prvog mjerenja s GCE elektroda je pripremljena na sljedeći način:

1. mehanička priprema:

- brušenje papirima finoće 1200, 2000 i metalografski redom kako su navedeni (papir se prije brušenja namoči vodom, a brusi se na mekanoj podlozi)
- poliranje je vršeno pastom od aluminijev (III) oksida veličine čestica 1 μm , zatim 0,05 μm .

2. elektrokemijska priprema:

- u 0,5 M H_2SO_4 cikličkom voltametrijom s deset ciklusa u području potencijala od -0,2 V do +1,2 V, bez miješanja otopine.

2.2.5. Modifikacije radne elektrode sa SWCNT i MWCNT

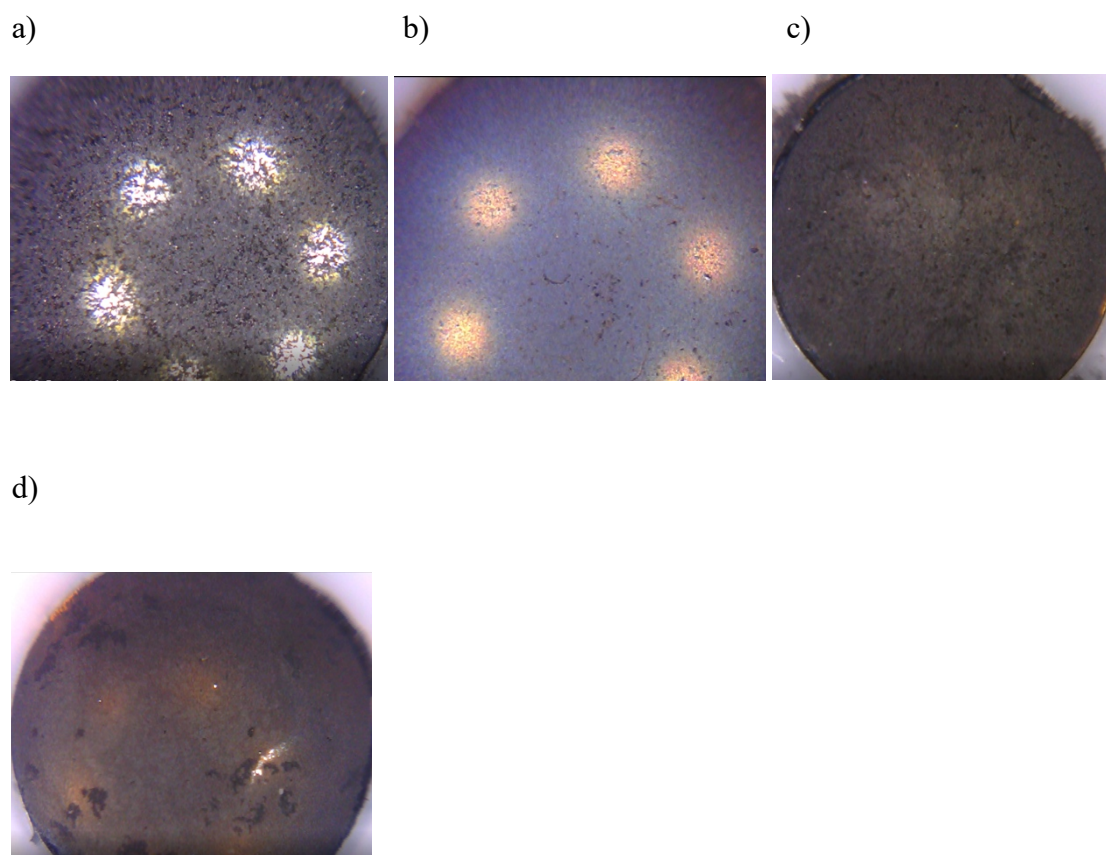
Na prethodno mehanički ili elektrokemijski pripremljenu GCE nanoseno je 15 μL suspenzije SWCNT (ili MWCNT), te je elektroda sušena u sušioniku 30 minuta na 50°C. Nakon nanošenja suspenzije i sušenja, elektroda je ciklizirana u 0,5 M H_2SO_4 deset ciklusa u području potencijala od -0,2 V do +1,2 V, te zatim u mjernom puferu pri istim uvjetima.

2.2.6. Modifikacija radne elektrode elektrokemijski reduciranim grafenovim oksidom (ErGO)

Na prethodno mehanički pripremljenu GCE nanosen je sloj od 25 μL suspenzije grafenovog oksida. Modificirana elektroda je sušena u sušioniku 30 minuta na 50°C. Nakon sušenja vršena je elektrokemijska redukcija grafenovog oksida u mjernom puferu, deset ciklusa u području potencijala od 0 V do -1,5 V.

2.2.7. Modifikacija radne elektrode grafenom (Gr)

Prethodno mehanički pripravljena GCE je elektrokemijski oksidirana u 0,5 M H_2SO_4 deset ciklusa u području potencijala od -0,2 V do +1,2 V. Nakon toga je na elektrodu nanoseno 25 μL suspenzije grafena, te je elektroda sušena u sušioniku 30 minuta na 50°C.

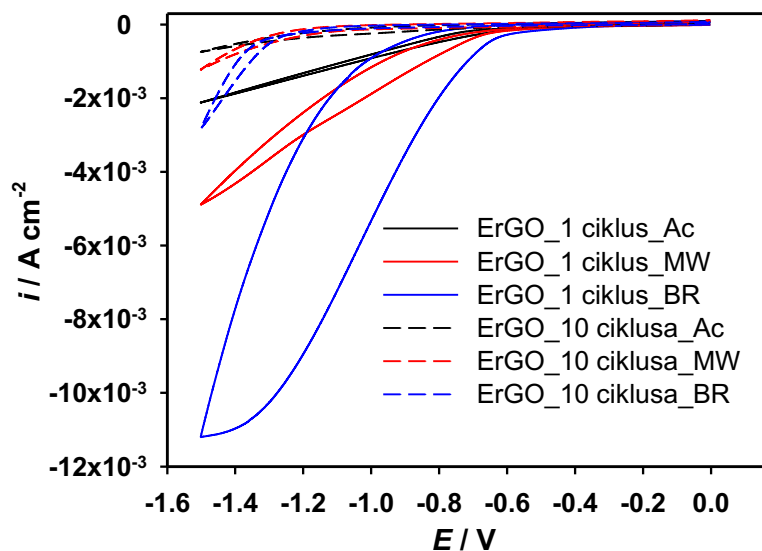


Slika 20. Mikroskopski snimak površine modificiranih elektroda: (a) Gr; (b) ErGO; (c) SWCNT; (d) MWCNT

3. REZULTATI

3.1. Elektrokemijska priprema ugljikovih materijala

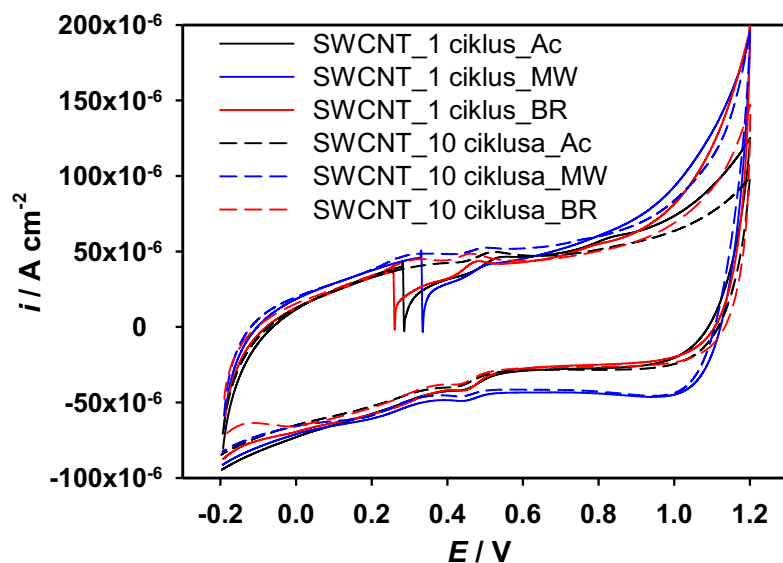
3.1.1. ErGO



Slika 21. Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodama modificiranim s ErGO, pri različitim brojem ciklusa i u različitim puferima

Snimljeni ciklički voltamogrami prikazani na Slici 21 pokazuju porast katodne struje pri potencijalima negativnijim od $-0,6$ V u danim uvjetima za elektrodu modificiranu s jednim slojem grafenovog oksida (GO). Ovaj porast katodnih struja je različit za različite puferne. One se mogu pripisati simultanim katodnim reakcijama izlučivanja vodika (HER) i redukciji grafenovog oksida. Iz Slike 21 je vidljivo da se navedene reakcije znatno bolje odvijaju u B-R puferu. Nadalje, iz oblika katodne grane cikličkih voltamograma može se zaključiti da su reakcije potpunije (uglavnom se može pripisati to za reakciju redukcije grafenovog oksida) u B-R puferu. U acetatnom puferu prvi ciklus i deseti ciklus u katodnoj grani cikličkih voltamograma sugeriraju istu katodnu(e) reakciju(e)

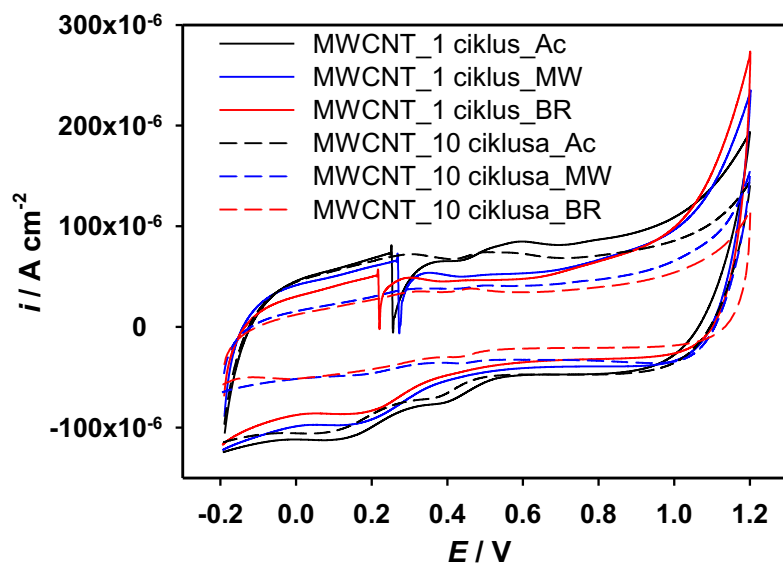
3.1.2. SWCNT



Slika 22. Ciklički voltamogrami snimljeni za elektrode modificirane sa SWCNT u različitim puferima za različiti broj ciklusa

Slika 22 prikazuje cikličke voltamograme snimljene na SWCNT modificiranoj GCE s jednim slojem, u različitim puferima. Spektri ukazuju na pseudokapacitivno ponašanje ove elektrode u svim mjernim puferima.

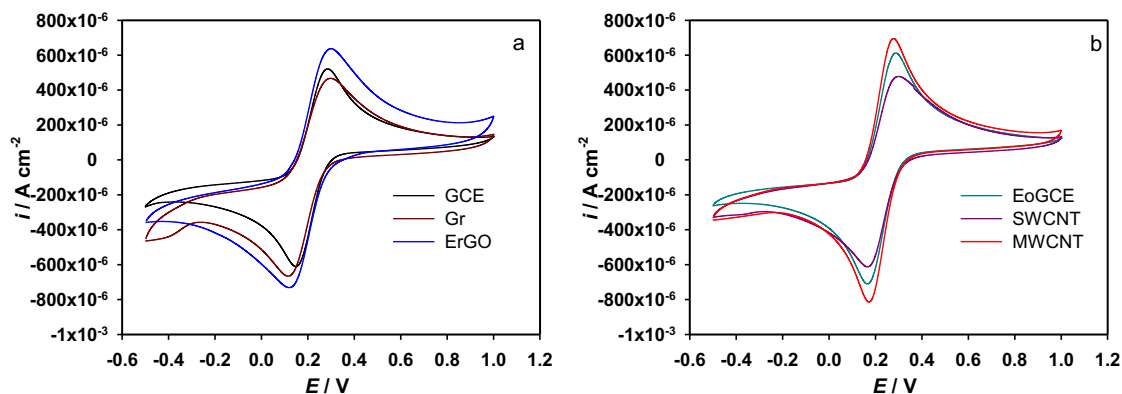
3.1.3. MWCNT



Slika 23. Ciklički voltamogrami snimljeni za elektrode modificirane sa MWCNT u različitim puferima za različiti broj ciklusa

Slika 23 prikazuje cikličke voltamograme snimljene na MWCNT modificiranoj GCE s jednim slojem, u različitim puferima. Kao i u slučaju SWCNT, snimljeni spektri ukazuju na pseudokapacitivno ponašanje ove elektrode u svim mjernim puferima.

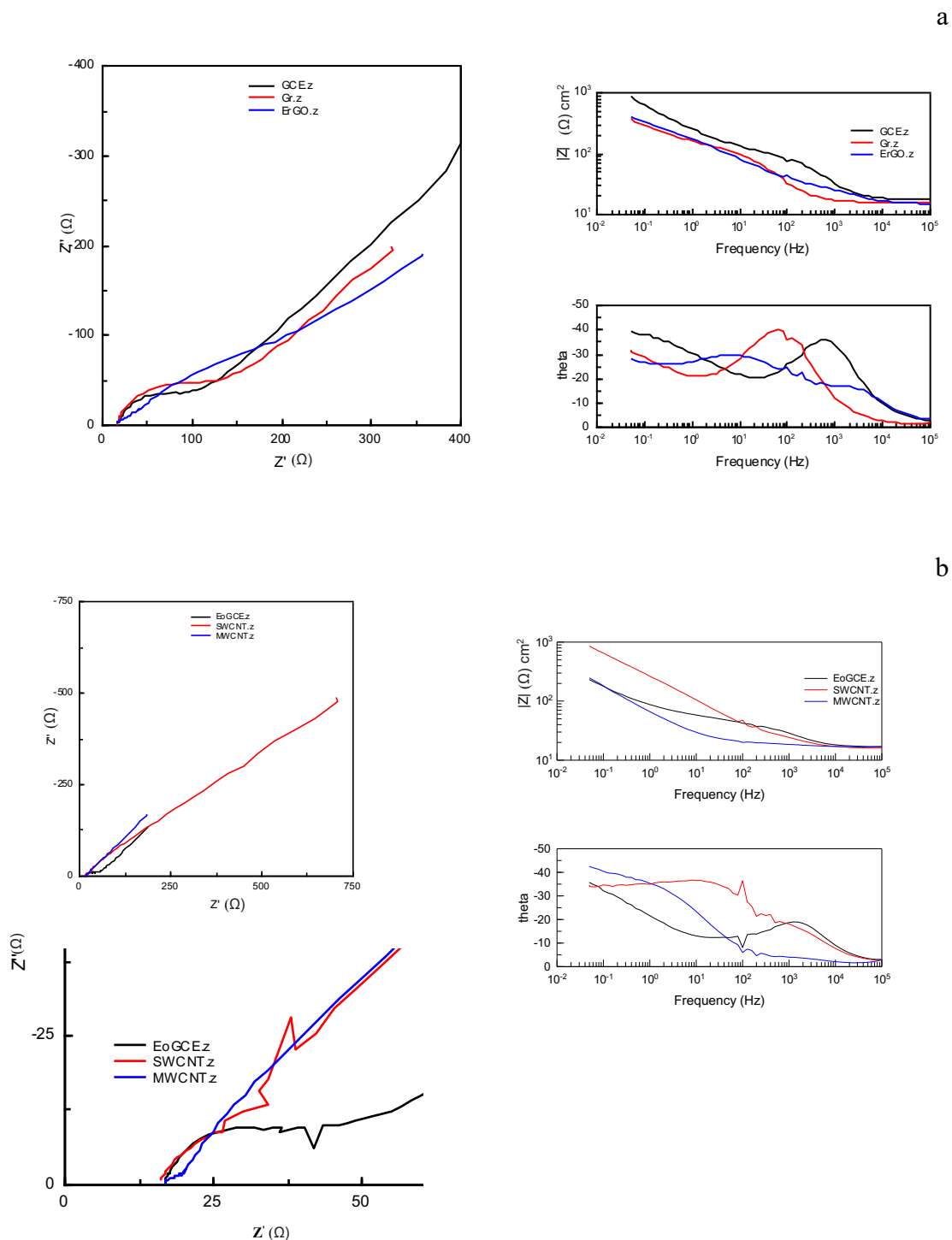
3.2. Elektrokemijsko ponašanje elektroda u otopini $K_3[Fe(CN)_6]$ u 0,1 M KCl



Slika 24. Ciklički voltamogrami snimljeni za različite elektrode u 5 mM otopini $K_3[Fe(CN)_6]$ u 0,1 M KCl.

Ciklički voltamogrami snimljeni u 5 mM otopini $K_3[Fe(CN)_6]$ i 0,1 M KCl otkrivaju reverzibilnije ponašanje (manju razliku potencijala između vrhova strujnih pikova) za elektrode tretirane materijalima koji su oksidirani i GCE elektrodu koja je oksidirana (b) u odnosu na mehanički pripremljenu elektrodu i elektrode koje su modificirane materijalima koji su reducirani ili nisu elektrokemijski tretirani (a). Može se zaključiti da kinetika prijelaza elektrona (heterogena) ovisi o vrsti modifikatora kao i o njegovom tretmanu. U slučaju elektrokemijskog oksidacijskog tretmana, skupine stvorene elektrokemijskom oksidacijom na/u materijalu modifikatora olakšavaju transfer elektrona kroz heterogenu granicu otopina/elektroda, no to nužno ne znači da je broj ukupno izmijenjenih elektrona različit (usporediti ErGO i MWCNT). Debljina sloja modifikatora nije uzročila značajnije promjene u cikličkim voltamogramima (nije prikazano).

3.2.1. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija (EIS)

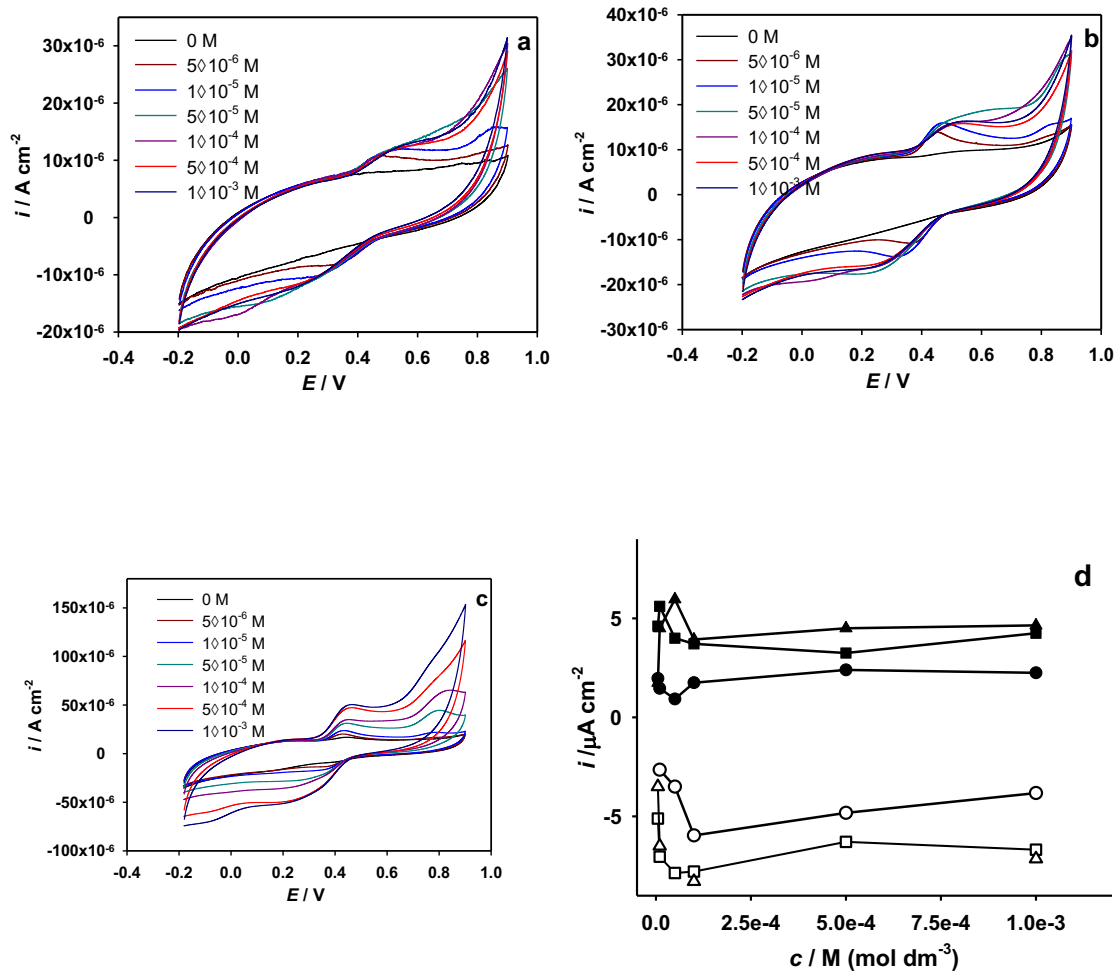


Slika 25. (a) Elektrokemijski impedancijski spektri snimljeni za različite elektrode u 5 mM otopini $K_3[Fe(CN)_6]$ u 0,1 M KCl; (b) Elektrokemijski impedancijski spektri snimljeni za elektrokemijski oksidirane elektrode u 5 mM otopini $K_3[Fe(CN)_6]$ u 0,1 M KCl.

Snimljeni elektrokemijski impedancijski spektri (EIS) u 5 mM otopini $K_3[Fe(CN)_6]$ u 0,1 M KCl pokazuju jednostavan Randlesov električni krug, sastavljen od otpora elektrolita, otpora faradejskoj reakciji (prijenos elektrona preko granice faza otopina/elektroda) i difuzijskoj komponenti. Dakako, za neke sustave (SWCNT, MWCNT, ErGO) moguće je uočiti i neke druge procese vezane za modificirani sloj, no to prelazi okvire ovog diplomskog rada i upućuje na dodatna istraživanja koja bi rasvijetlila navedene procese. U ova istraživanja su se uključila i ona vezana za efekt debljine sloja na EIS spektar koja ovdje nisu prikazana. Modifikacijom GCE elektrode sa svim modifikatorima, osim s Gr, dolazi do smanjenja otpora faradejskoj reakciji, upućujući na poboljšanje elektrokatalitičkih svojstava modifikatora u odnosu na čistu GCE. Ista pojava je uočena kada je elektroda elektrokemijski oksidirana. Ovo upućuje na olakšan prijelaz elektrona između heterogene granice faza otopina/elektrolit kada na modifikatoru postoje funkcionalne skupine (stvorene elektrokemijskom oksidacijom) poput karboksi, keto, hidroksi. Nadalje, modifikacija s grafenom nije rezultirala poboljšanjem elektrokatalitičkih svojstava zbog nedostatka navedenih funkcionalnih skupina. Isti su rezultati očekivani od ErGO (elektrokemijski reduciranog grafenovog oksida) no oni nisu dobiveni mjerenjima. Razlog može biti u nepotpunoj redukciji skupina, stvorenih tijekom pripreme grafenovog oksida (GO). Svi ovi snimljeni spektri su u suglasnosti sa snimljenim cikličkim voltamogramima u istoj otopini. Kroz ova preliminarna mjerenja, može se zaključiti da se najbolja elektrokatalitička svojstva za elektrokemijske katalitičke procese očekuju od elektroda modificiranim sa MWCNT, ErGO i SWCNT, ali i od EoGCE. Nešto slabije struje se očekuju od elektroda GCE i Gr.

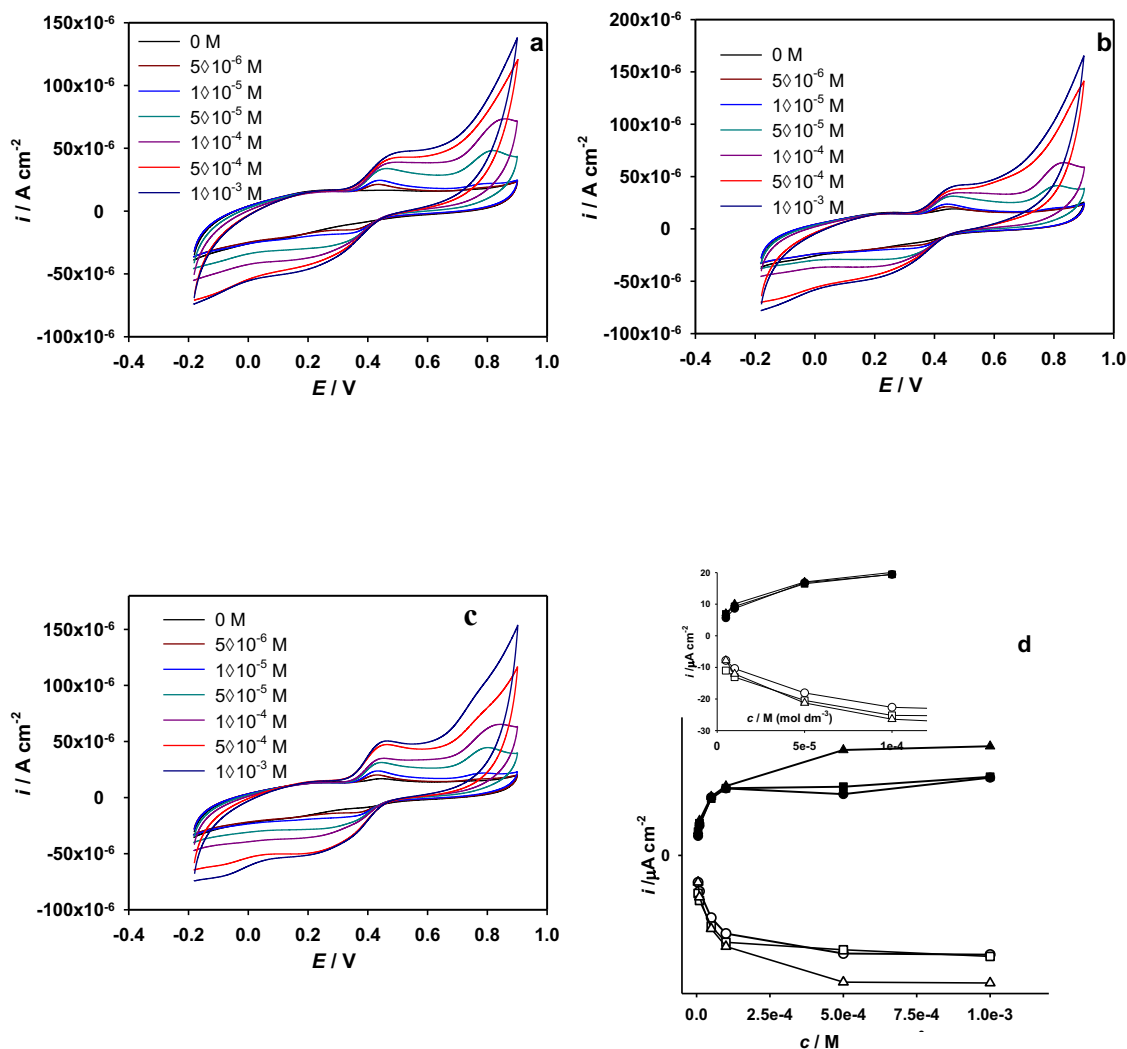
3.3. Elektrokemijsko ponašanje modificiranih elektroda u prisutnosti katehina

3.3.1 GCE



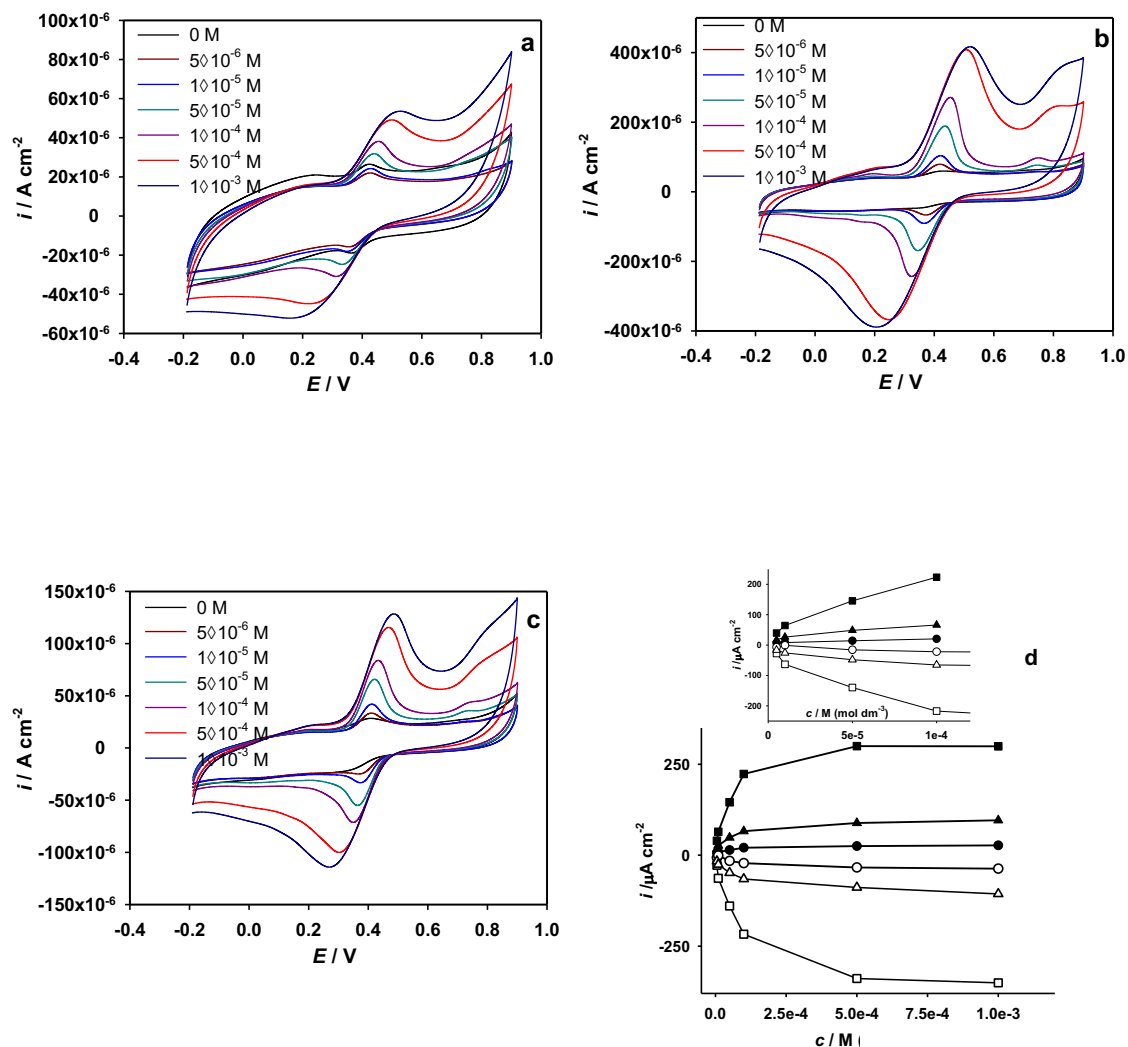
Slika 26. Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika, pri različitim koncentracijama katehina u različitim puferima: a) acetatni pufer; b) model otopine vina; c) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6. Posmik 50 mV s^{-1} . d) Ovisnost visine strujnog pika (iz prikazanih voltamograma) o koncentraciji katehina za različite pufere: (●) acetatni pufer; (■) model otopine vina; (▲) Britton-Robinson pufer pri, pH 3,6.

3.3.2. Gr



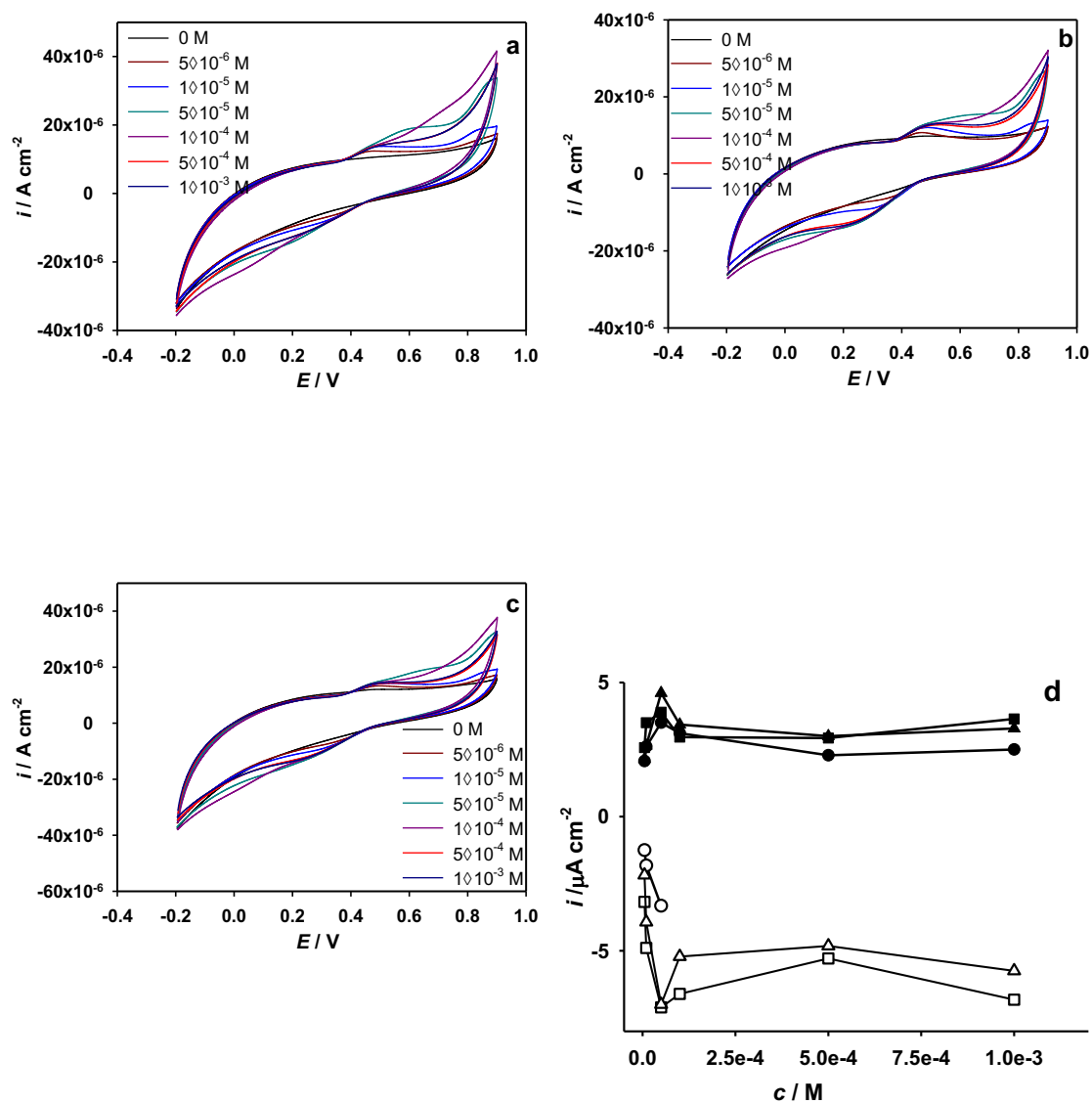
Slika 27. Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika, modificiranoj sa Gr, pri različitim koncentracijama katehina u različitim puferima: a) acetatni pufer; b) model otopine vina; c) Britton-Robinson pufer pri, pH 3,6. Posmik 50 mV s^{-1} . d) Ovisnost visine strujnog pika (iz prikazanih voltamograma) o koncentraciji katehina za različite pufere: (●) acetatni pufer; (■) model otopine vina; (▲) Britton-Robinson pufer pri, pH 3,6.

3.3.3. ErGO



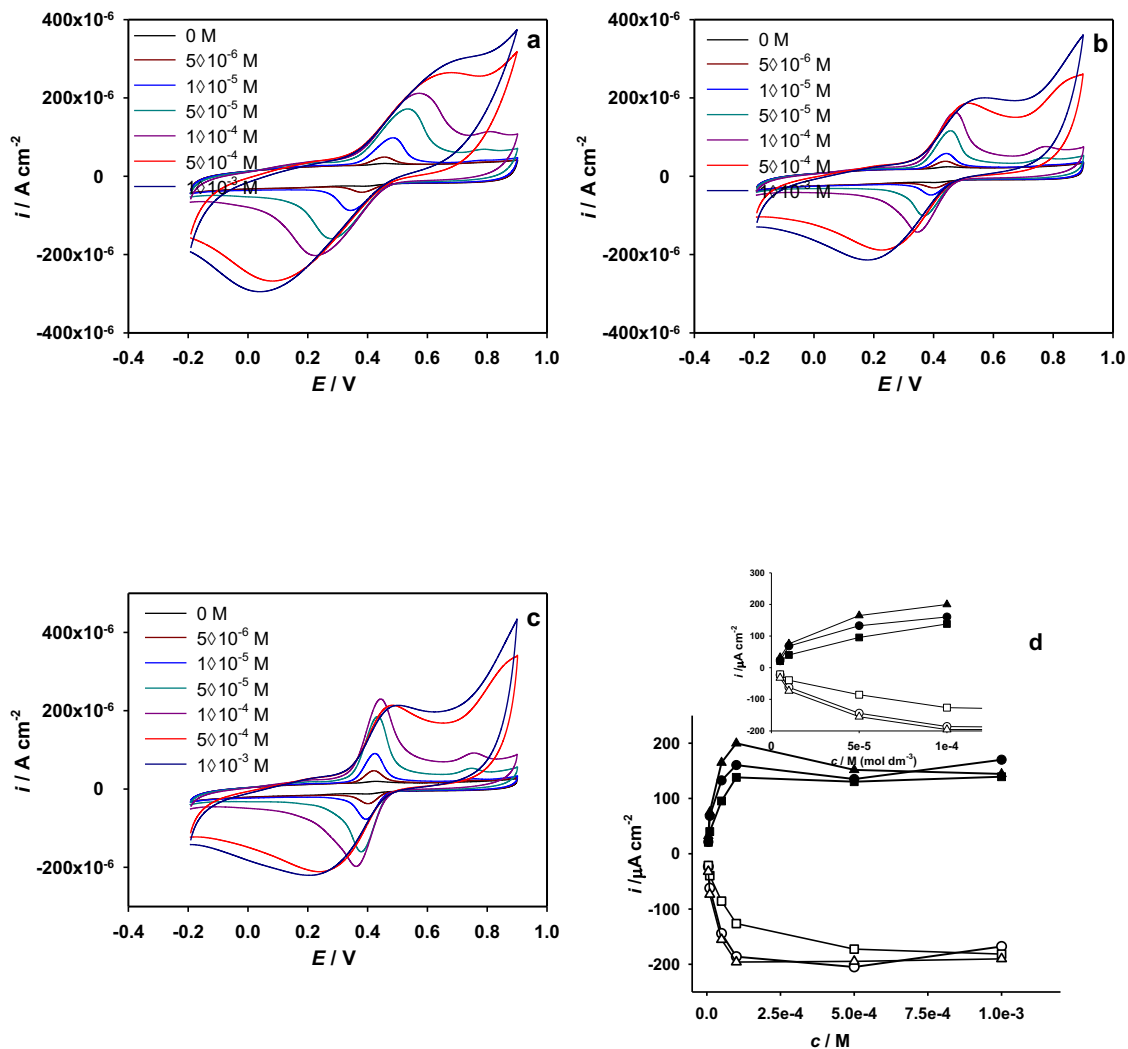
Slika 28. Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika, modificiranoj s ErGO, pri različitim koncentracijama katehina u različitim puferima: a) acetatni pufer; b) model otopine vina; c) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6. Posmik 50 mV s^{-1} . d) Ovisnost visine strujnog pika (iz prikazanih voltamograma) o koncentraciji katehina za različite pufere: (●) acetatni pufer; (■) model otopine vina; (▲) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6.

3.3.4. EoGCE



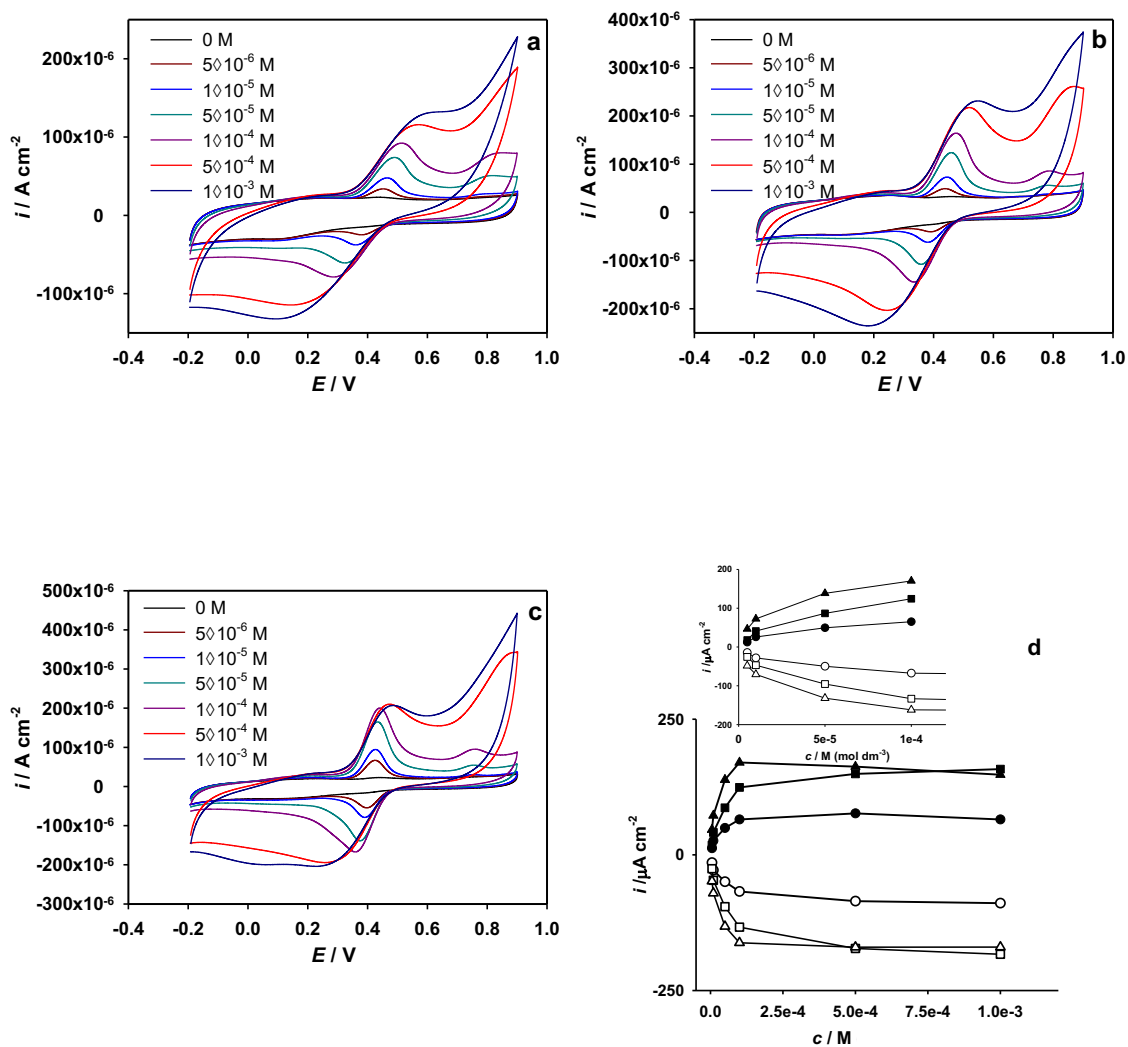
Slika 29. Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrokemijski pripremljenoj elektrodi od staklastog ugljika, pri različitim koncentracijama katehina u različitim puferima: a) acetatni pufer; b) model otopine vina; c) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6. Posmik 50 mV s^{-1} . d) Ovisnost visine strujnog pika (iz prikazanih voltamograma) o koncentraciji katehina za različite pufere: (●) acetatni pufer; (■) model otopine vina; (▲) Britton-Robinson pufer pri pH 3,6.

3.3.5. SWCNT



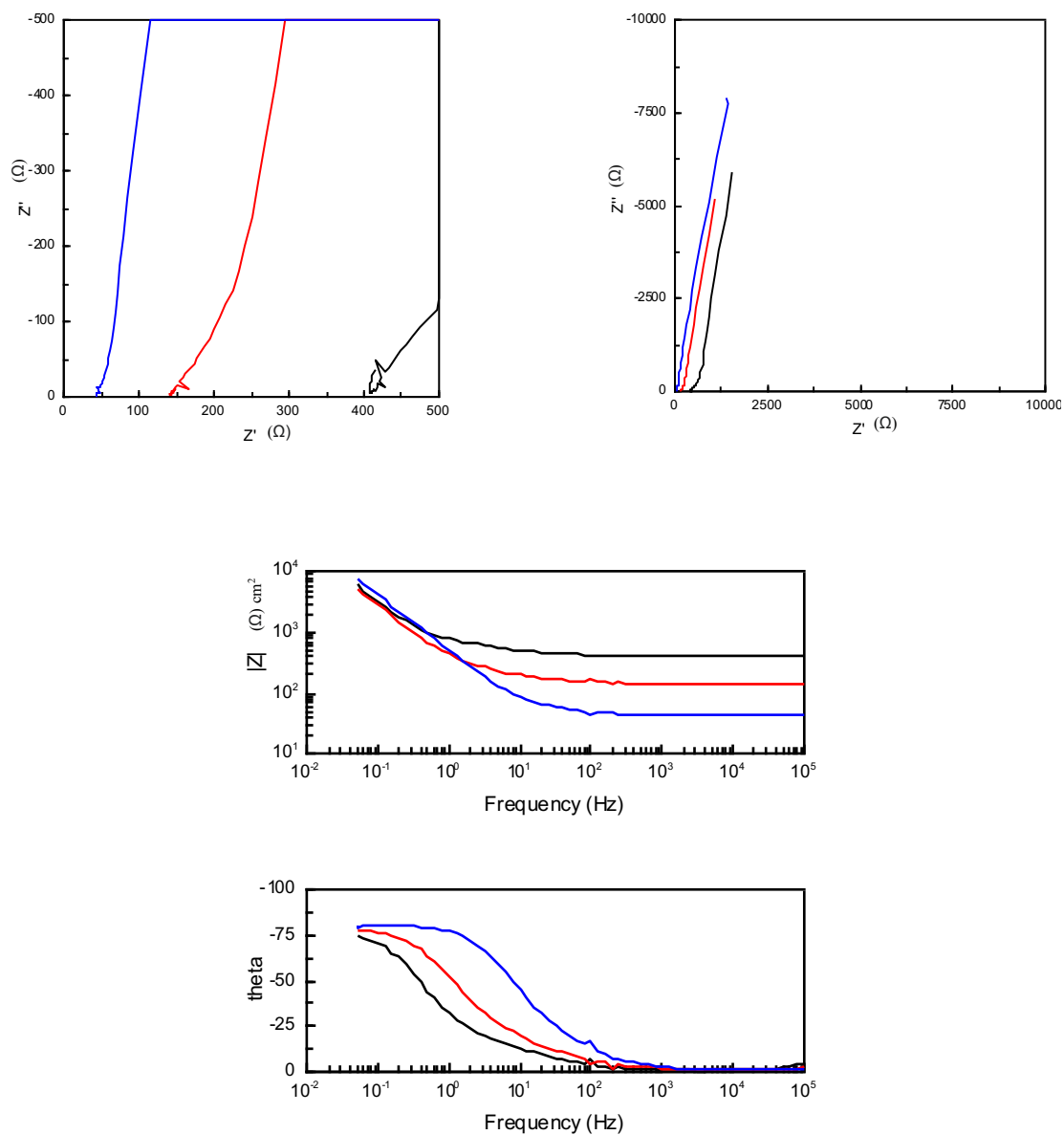
Slika 30. Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika, modificiranoj sa SWCNT, pri različitim koncentracijama katehina u različitim puferima: a) acetatni pufer; b) model otopine vina; c) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6. Posmik 50 mV s^{-1} . d) Ovisnost visine strujnog pika (iz prikazanih voltamograma) o koncentraciji katehina za različite pufere: (●) acetatni pufer; (■) model otopine vina; (▲) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6.

3.3.6. MWCNT

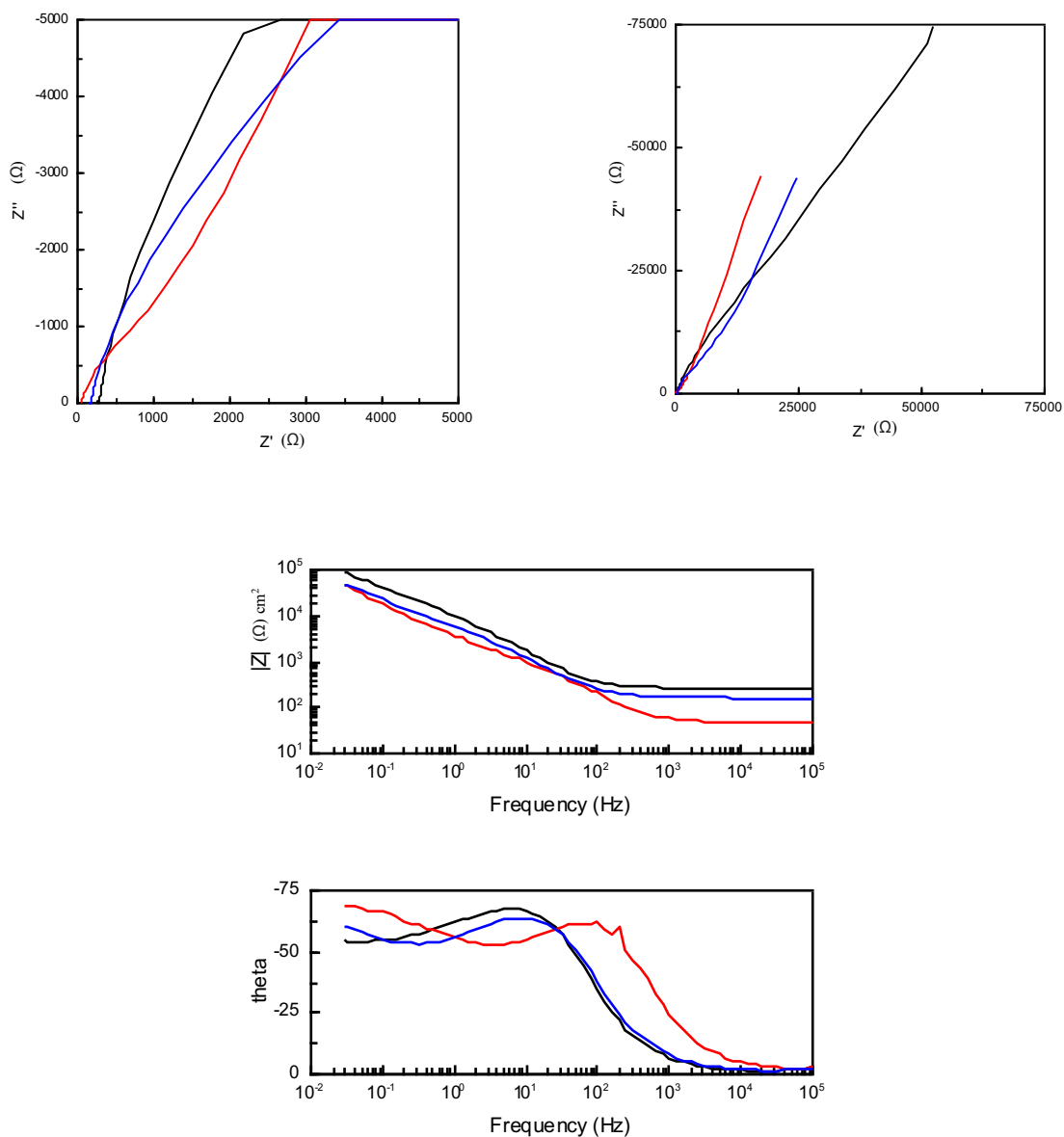


Slika 31. Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika, modificiranoj s MWCNT, pri različitim koncentracijama katehina u različitim puferima: a) acetatni pufer; b) model otopine vina; c) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6. Posmik 50 mV s^{-1} . d) Ovisnost visine strujnog pika (iz prikazanih voltamograma) o koncentraciji katehina za različite pufere: (●) acetatni pufer; (■) model otopine vina; (▲) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6.

3.3.7. Impedancijski spektri



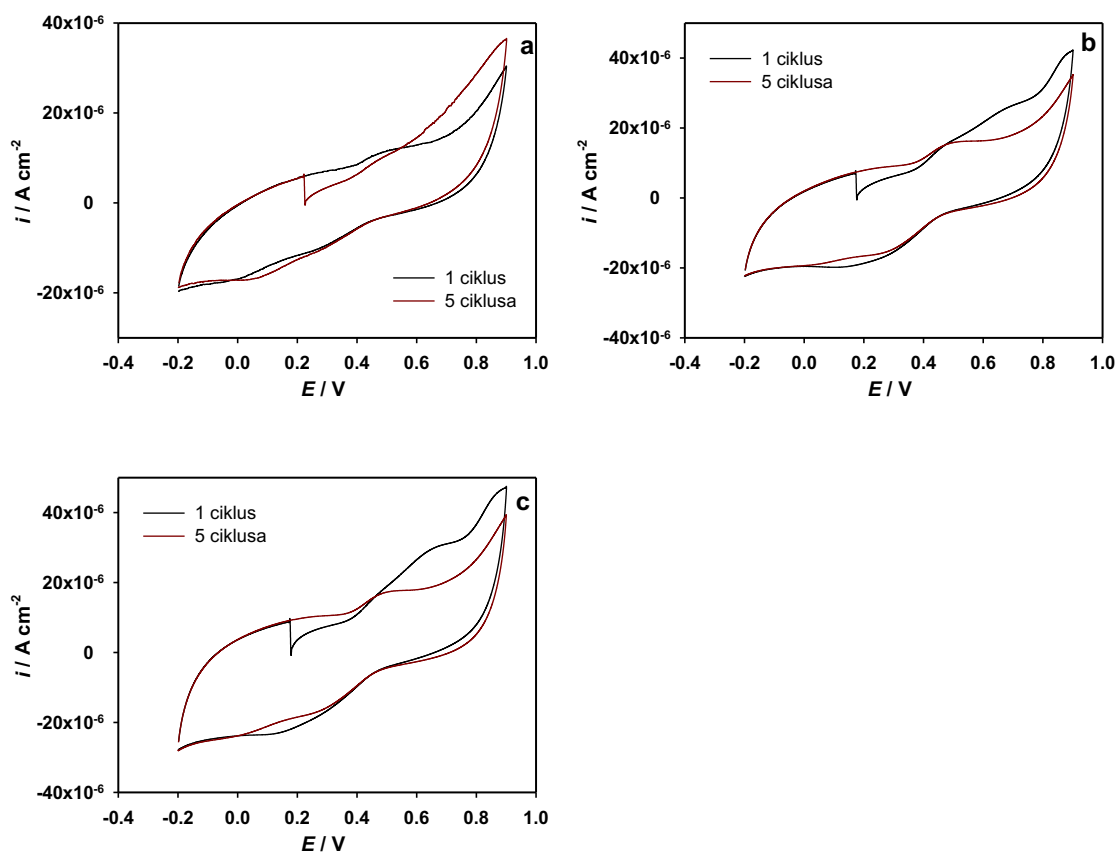
Slika 32. Impedancijski spektri snimljeni u čistim puferima za GCE elektrodu modificiranu s MWCNT. Acetatni pufer-crna; model otopine vina-plava; Britton-Robinson pufer-crvena.



Slika 33. Impedancijski spektri snimljeni u čistim puferima za elektrodu GCE. Acetatni pufer-crna; model otopine vina-plava; Britton-Robinson pufer-crvena.

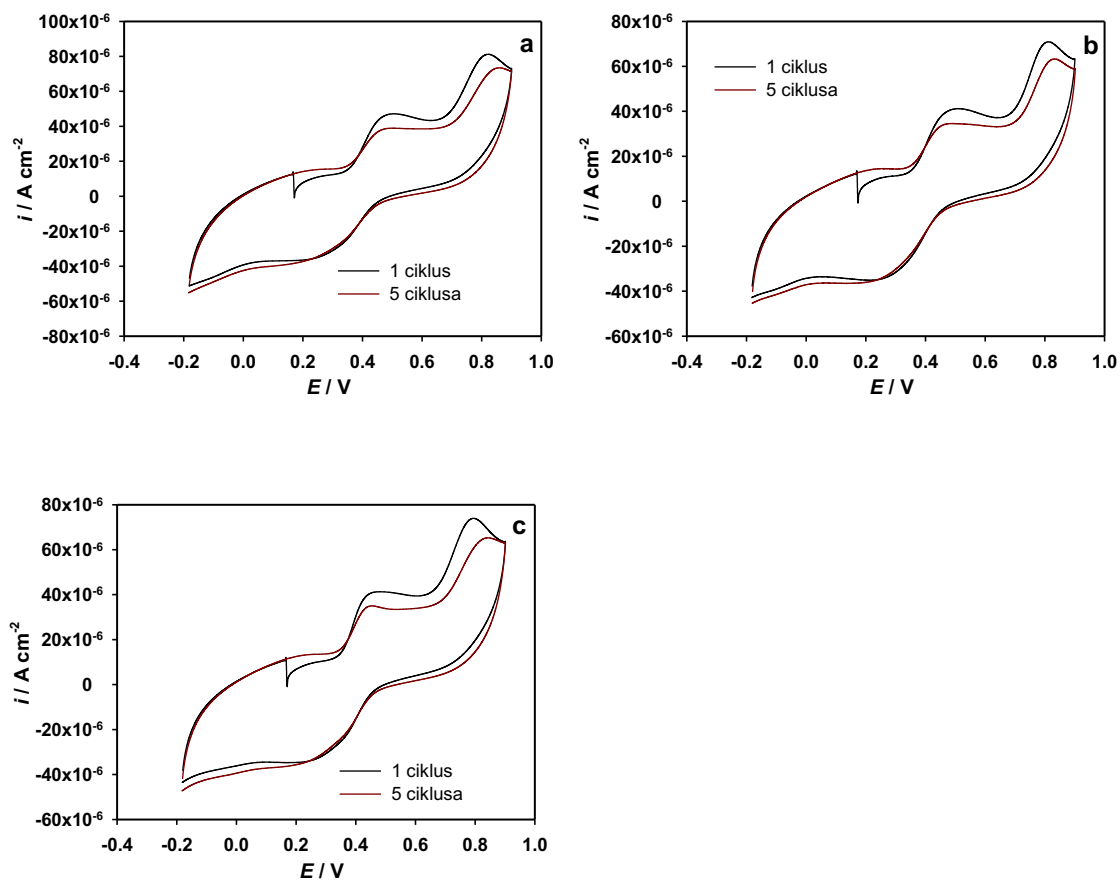
3.4. Elektrokemijsko ponašanje katehina u ovisnosti o broju ciklusa

3.4.1. GCE



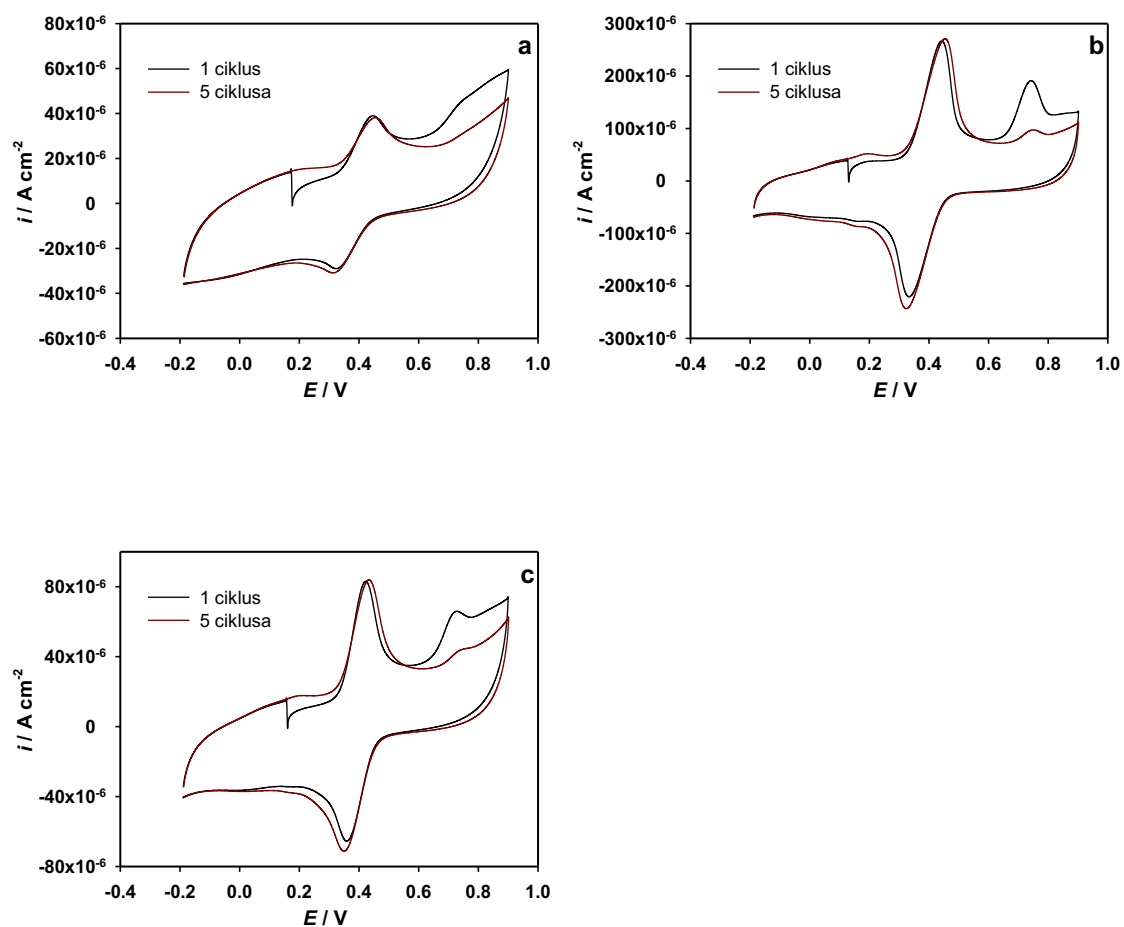
Slika 34. Ciklički voltamogrami snimljeni pri različitim brojem ciklusa, na elektrodi od staklastog ugljika pri koncentraciji katehina od $1,0 \times 10^{-4}$ M u različitim puferima: (a) acetatni pufer; (b) otopina modela vina; (c) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6.

3.4.2. Gr



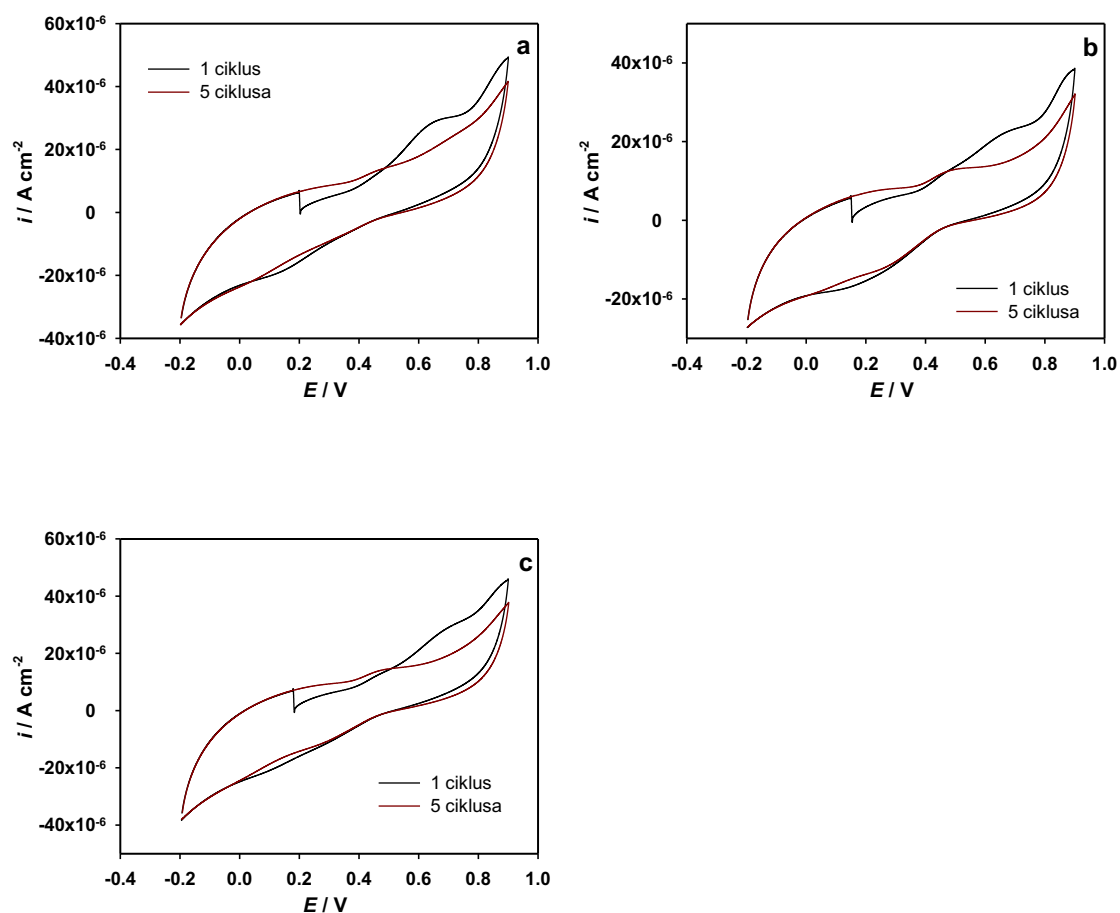
Slika 35. Ciklički voltamogrami snimljeni pri različitim brojem ciklusa, na elektrodi od staklastog ugljika, modificiranoj s Gr, pri koncentraciji katehina od $1,0 \times 10^{-4}$ M u različitim puferima: (a) acetatni pufer; (b) otopina modela vina; (c) Britton-Robinson pufer, pH 3,6.

3.4.3. ErGO



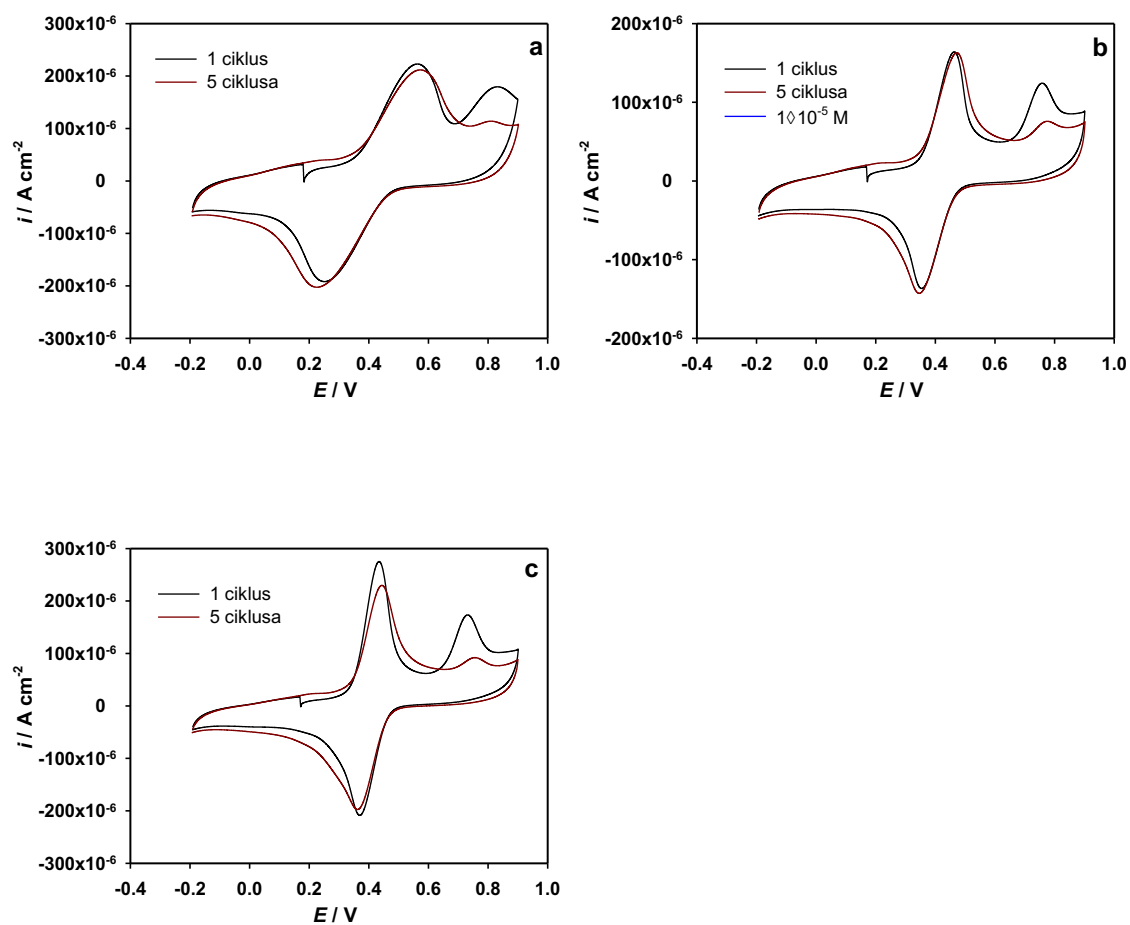
Slika 36. Ciklički voltamogrami snimljeni pri različitim brojem ciklusa, na elektrodi od staklastog ugljika, modificiranoj s ErGO, pri koncentraciji katehina od $1,0 \times 10^{-4} M$ u različitim puferima: (a) acetatni pufer; (b) otopina modela vina; (c) Britton-Robinson pufer, pH 3,6.

3.4.4. EoGCE



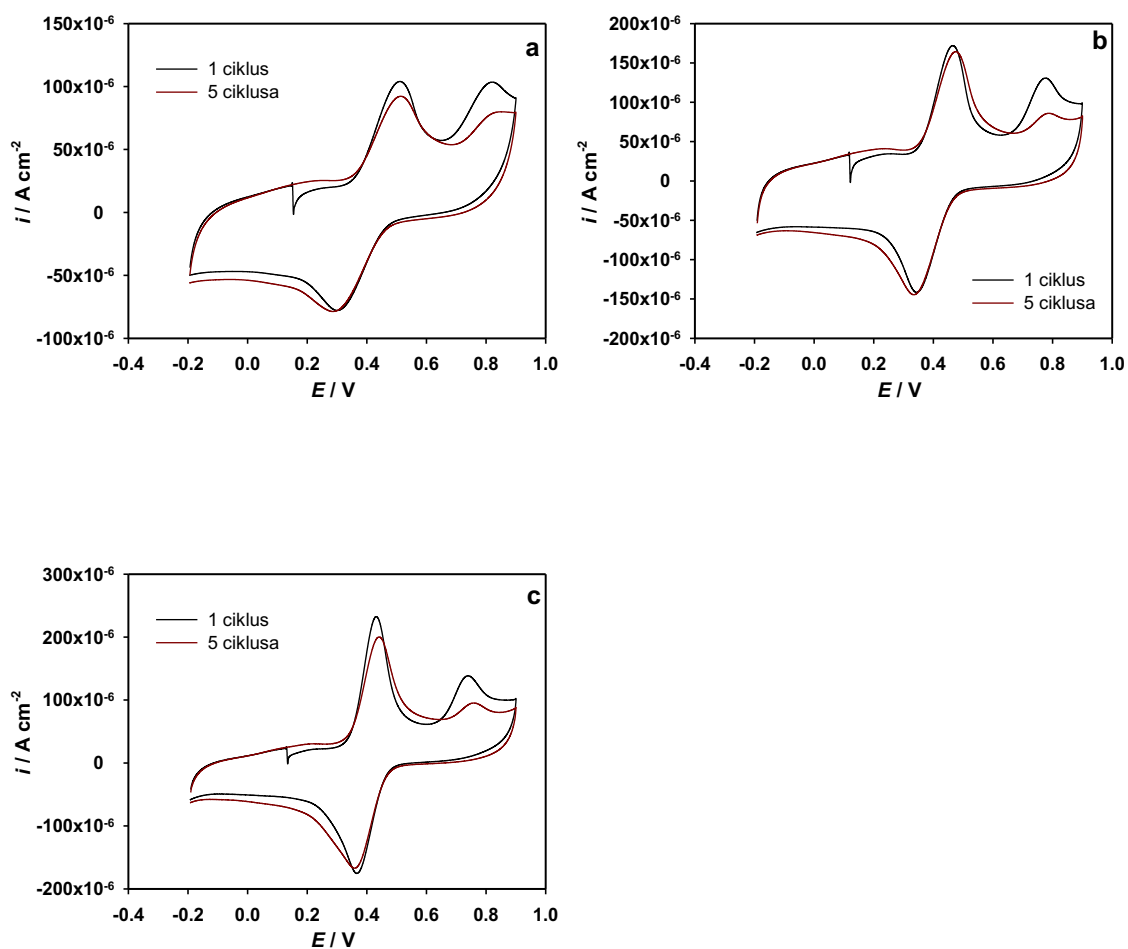
Slika 37. Ciklički voltamogrami snimljeni pri različitim brojem ciklusa, na elektrokemijski pripremljenoj elektrodi od staklastog ugljika, pri koncentraciji katehina od $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ u različitim puferima: (a) acetatni pufer; (b) otopina modela vina; (c) Britton-Robinson pufer, pH 3,6.

3.4.5. SWCNT



Slika 38. Ciklički voltamogrami snimljeni pri različitim brojem ciklusa, na elektrodi od staklastog ugljika, modificiranoj sa SWCNT, pri koncentraciji katehina od $1,0 \times 10^{-4} M$ u različitim puferima: (a) acetatni pufer; (b) otopina modela vina; (c) Britton-Robinson pufer, pH 3,6.

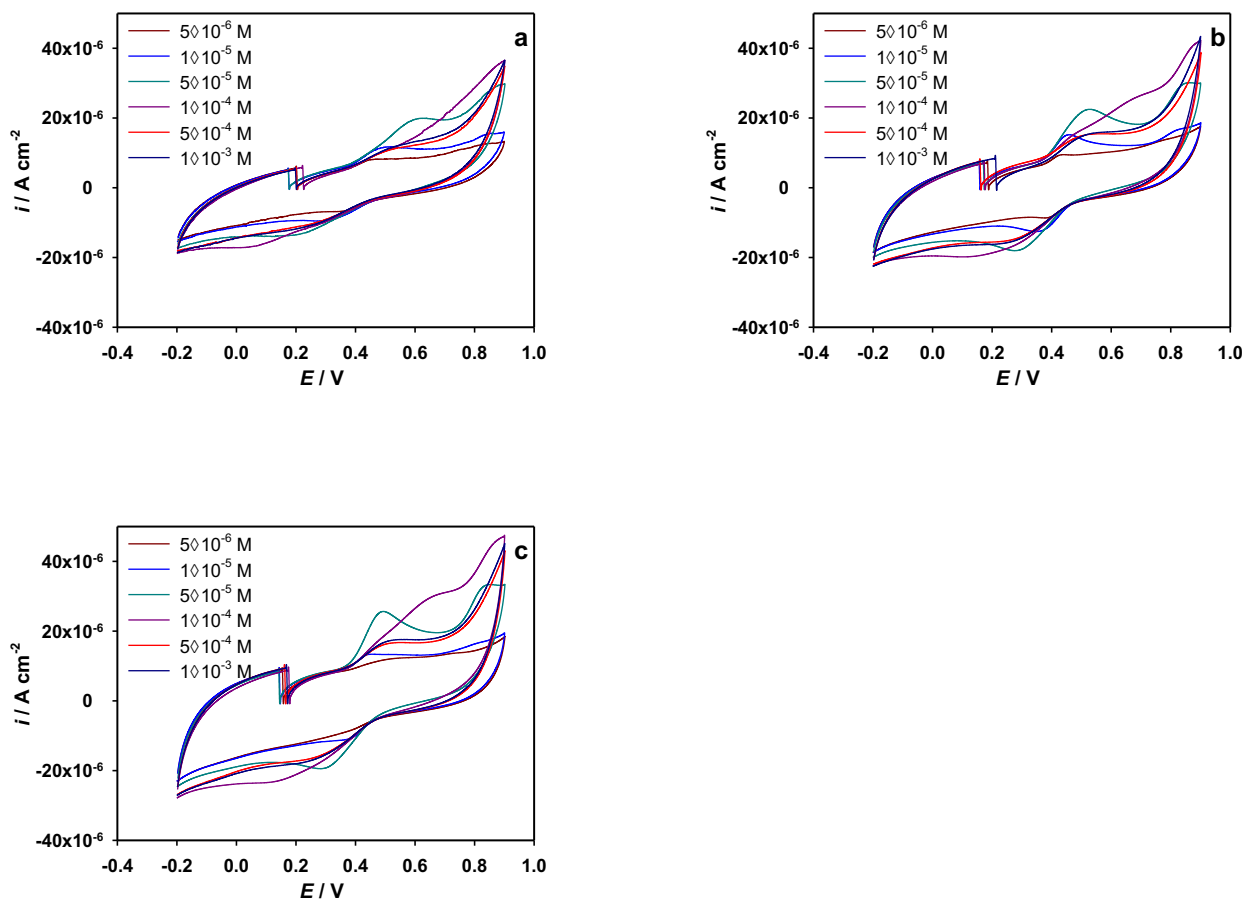
3.4.6. MWCNT



Slika 39. Ciklički voltamogrami snimljeni pri različitim brojem ciklusa, na elektrodi od staklastog ugljika, modificiranoj s MWCNT, pri koncentraciji katehina od $1,0 \times 10^{-4} M$ u različitim puferima: (a) acetatni pufer; (b) otopina modela vina; (c) Britton-Robinson pufer, pH 3,6.

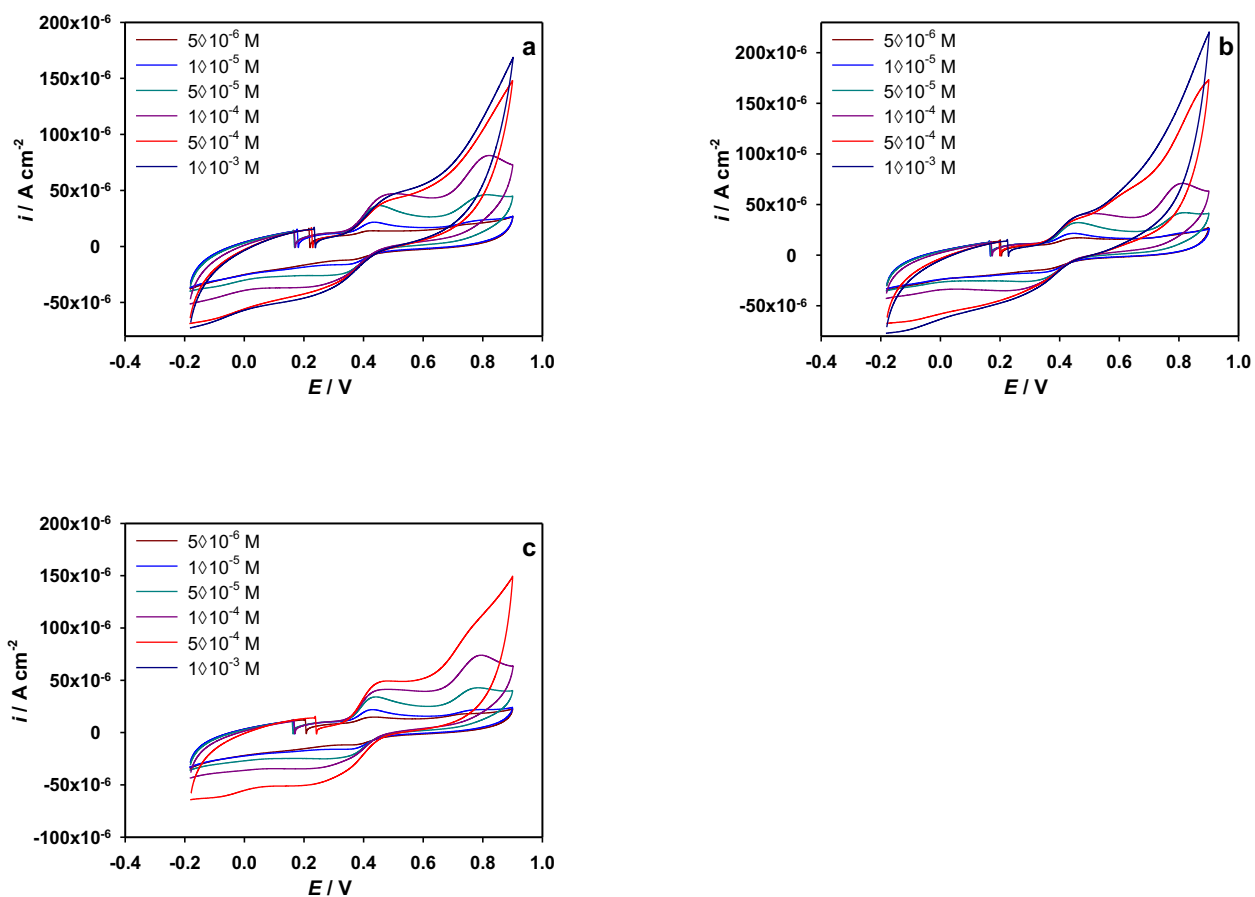
3.5. Elektrokemijsko ponašanje katehina na različito modificiranim elektrodama u prvom ciklusu

3.5.1. GCE



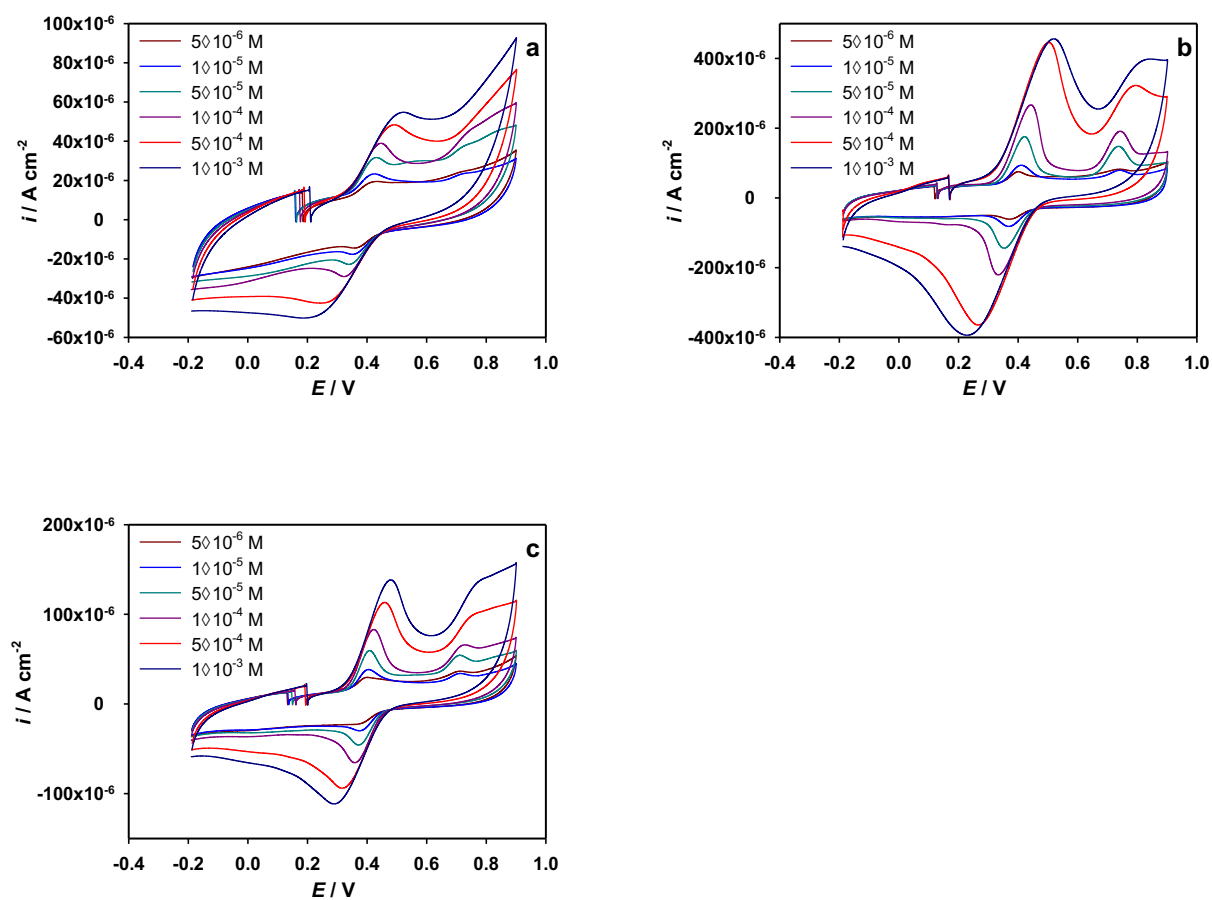
Slika 40. Prvi ciklus cikličkih voltamograma snimljenih pri različitim koncentracijama katehina na GCE elektrodi, u različitim puferima: (a) acetatni pufer; (b) otopina model vina; (c) Britton-Robinson pufer

3.5.2. Gr



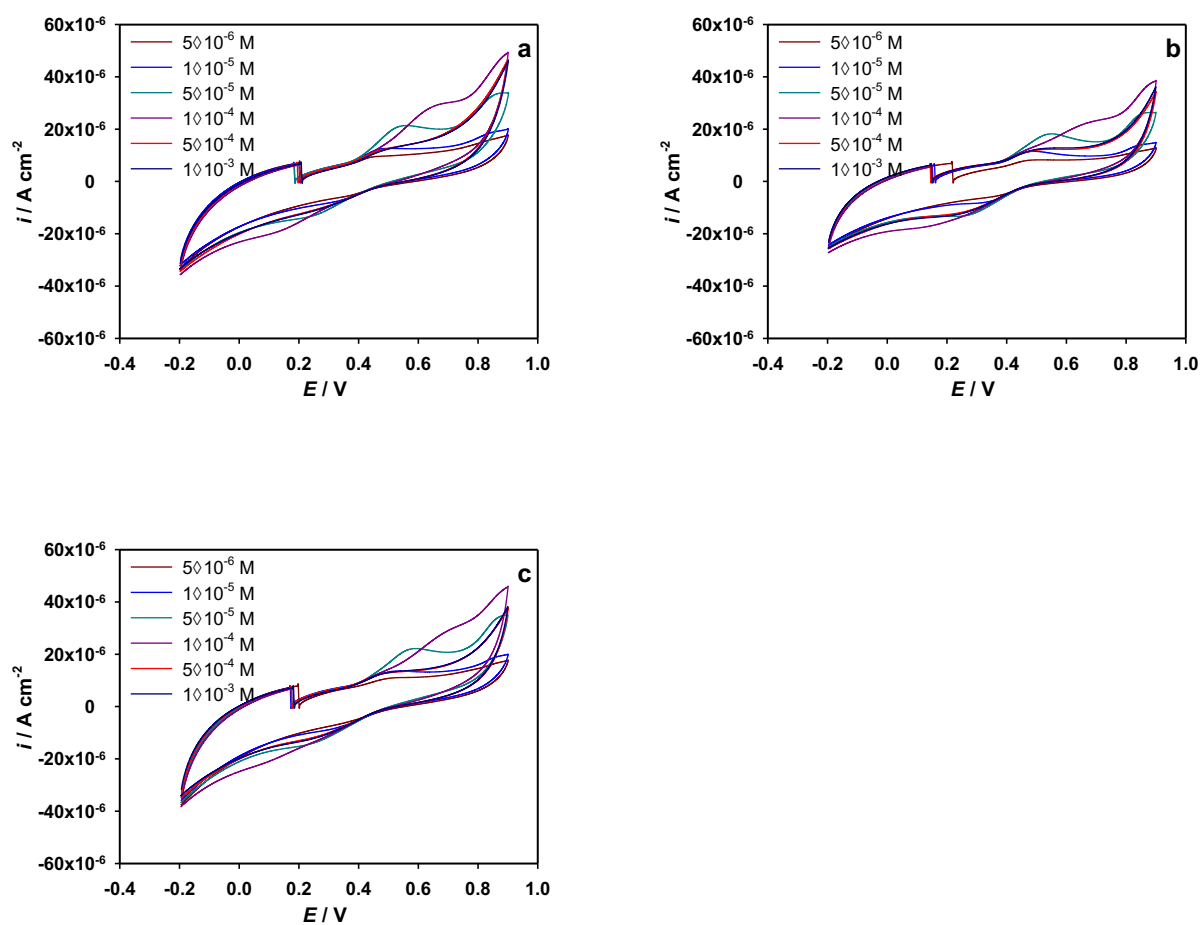
Slika 41. Prvi ciklus cikličkih voltamograma snimljenih pri različitim koncentracijama katehina na Gr elektrodi, u različitim puferima: (a) acetatni pufer; (b) otopina model vina; (c) Britton-Robinson pufer

3.5.3. ErGO



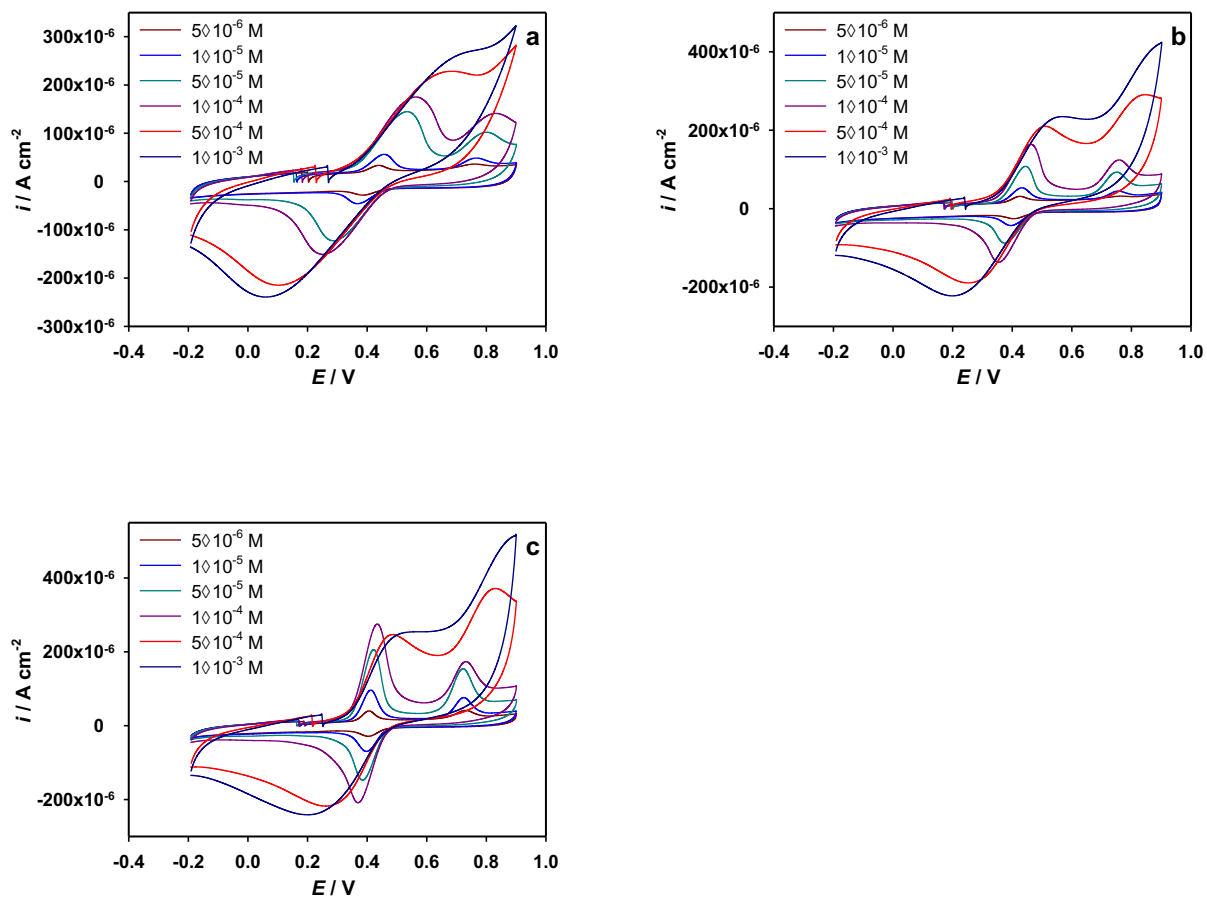
Slika 42. Prvi ciklus cikličkih voltamograma snimljenih pri različitim koncentracijama katehina, na ErGO elektrodi, u različitim puferima: (a) acetatni pufer; (b) otopina model vina; (c) Britton-Robinson pufer

3.5.4. EoGCE



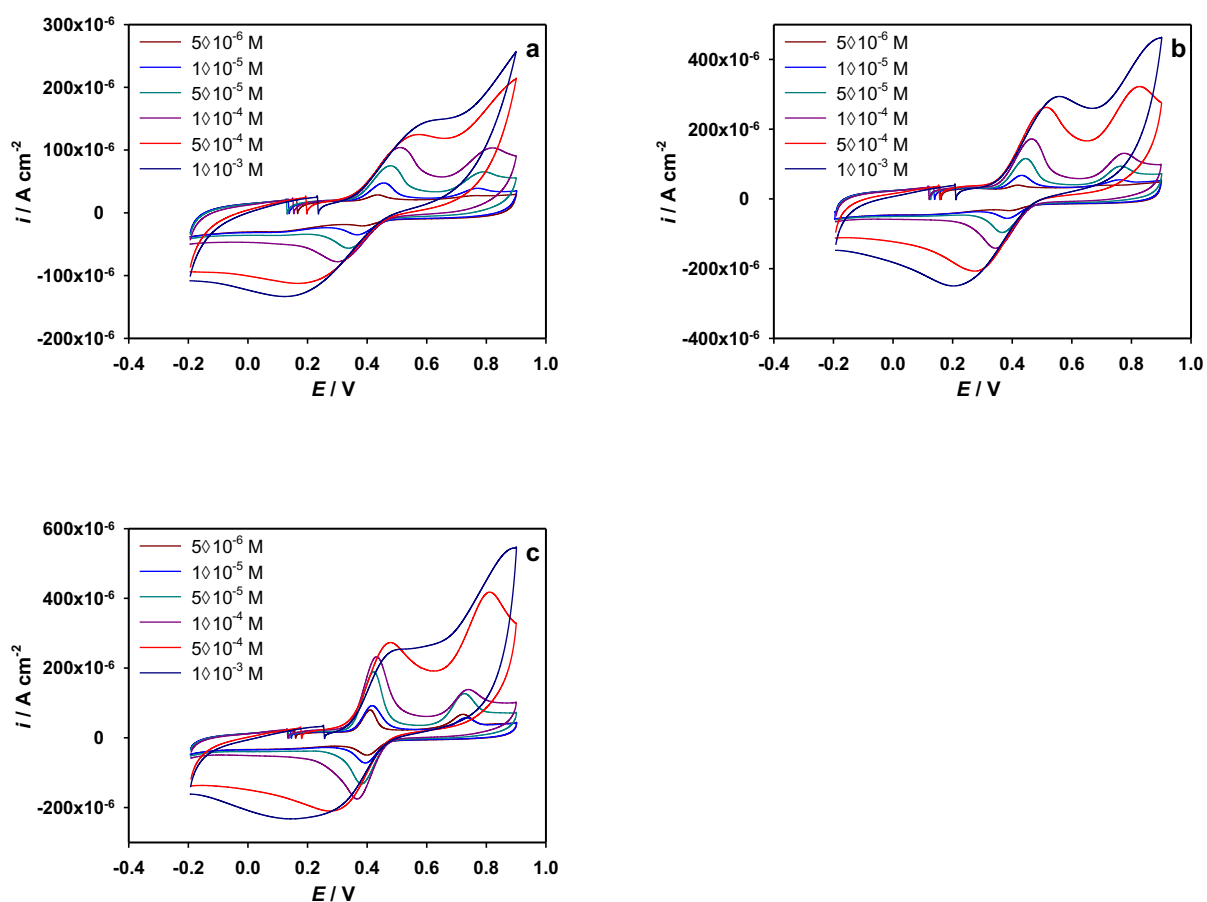
Slika 43. Prvi ciklus cikličkih voltamograma snimljenih pri različitim koncentracijama katehina na EoGCE elektrodi, u različitim puferima,: (a) acetatni pufer; (b) otopina model vina; (c) Britton-Robinson pufer

3.5.5. SWCNT



Slika 44. Prvi ciklus cikličkih voltamograma snimljenih pri različitim koncentracijama katehina na SWCNT elektrodi, u različitim puferima: (a) acetatni pufer; (b) otopina model vina; (c) Britton-Robinson pufer

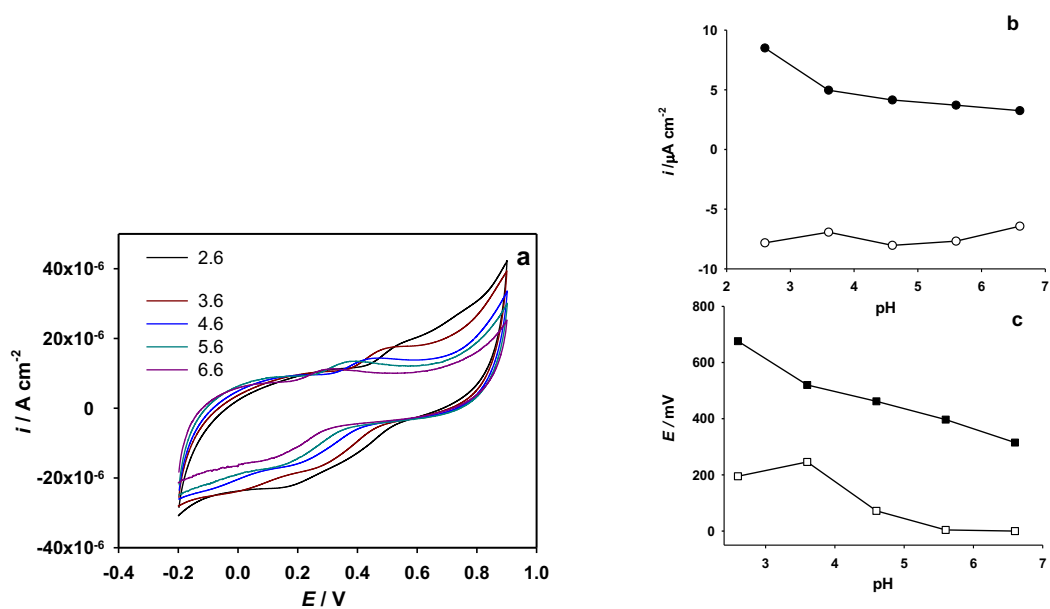
3.5.6. MWCNT



Slika 45. Prvi ciklus cikličkih voltamograma snimljenih pri različitim koncentracijama katehina na MWCNT elektrodi, u različitim puferima: (a) acetatni pufer; (b) otopina model vina; (c) Britton-Robinson pufer.

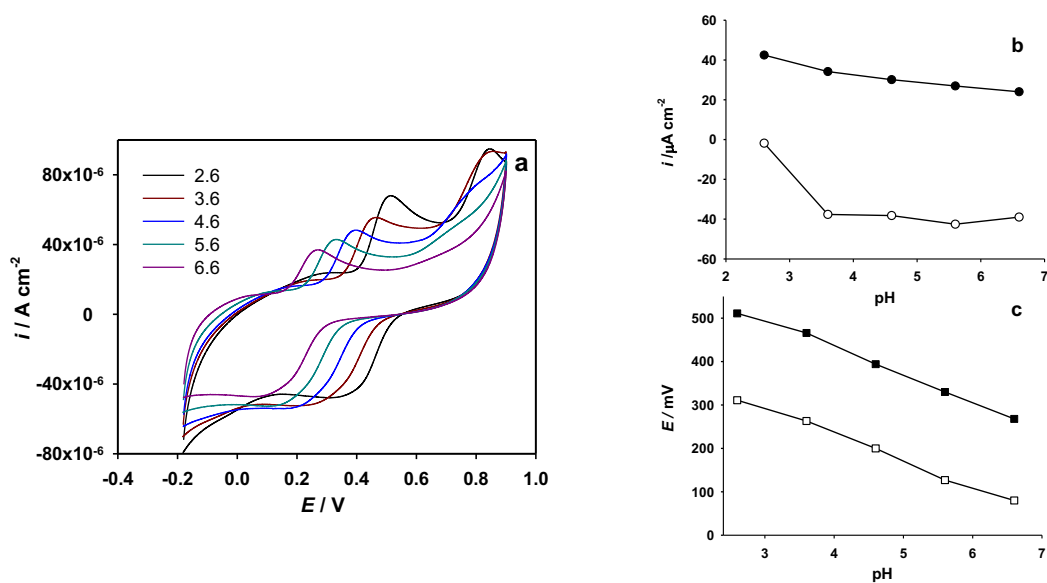
3.6. Elektrokemijsko ponašanje elektroda u prisutnosti katehina pri različitim pH vrijednostima

3.6.1. GCE



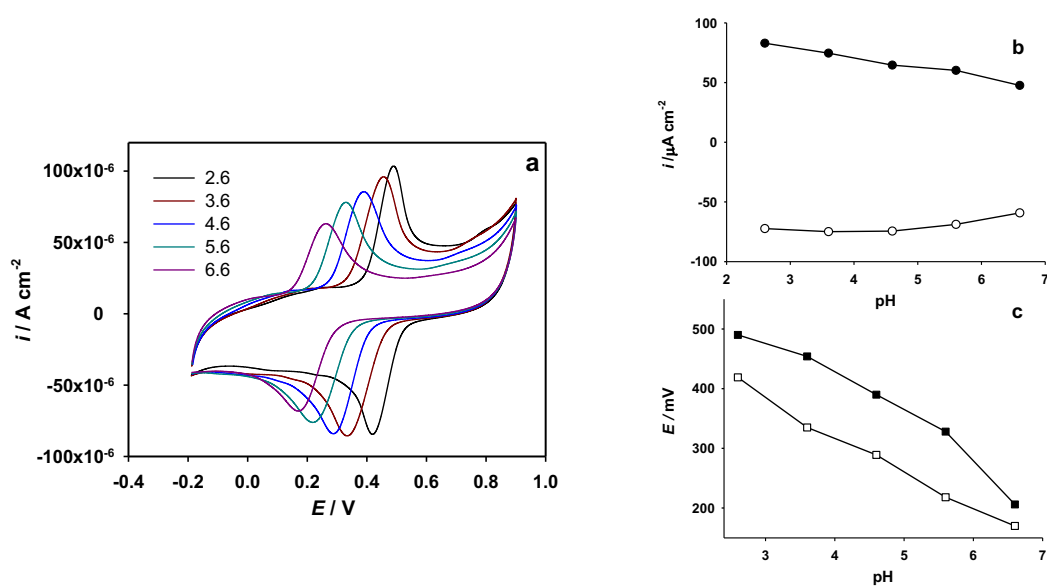
Slika 46. (a) Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika u Britton-Robinson puferu pri različitim pH vrijednostima. Brzina posmika 50 mV s^{-1} . Koncentracija katehina od $1,0 \times 10^{-4}\text{ M}$; (b) Ovisnost visine strujnog pika o pH; (c) Ovisnost potencijala strujnog pika o pH.

3.6.2. Gr



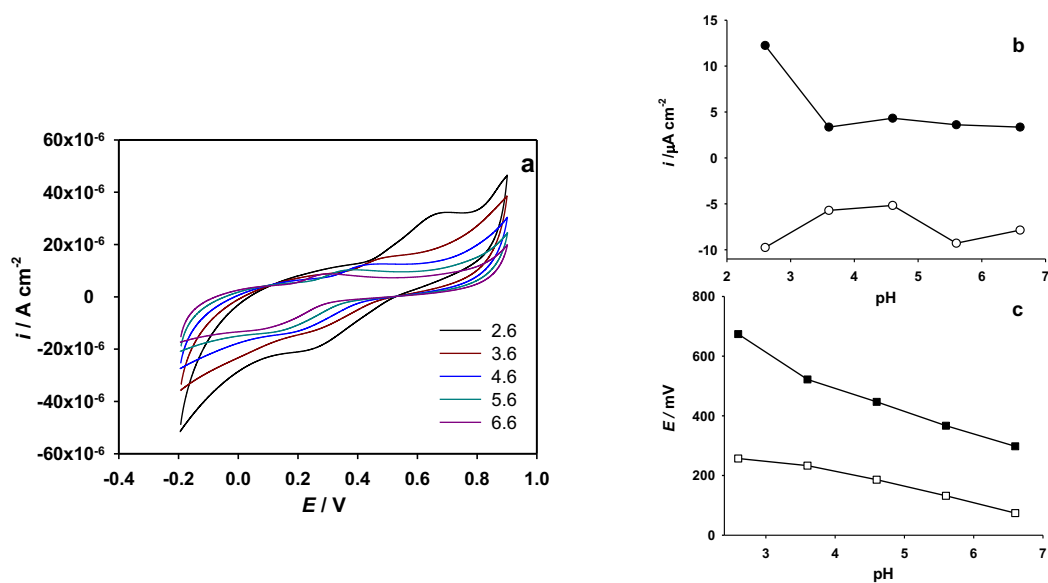
Slika 47. (a) Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika, modificiranoj s Gr, u Britton-Robinson puferu pri različitim pH vrijednostima. Brzina posmika 50 mV s^{-1} . Koncentracija katehina od $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$; (b) Ovisnost visine strujnog pika o pH; (c) Ovisnost potencijala strujnog pika o pH.

3.6.3. ErGO



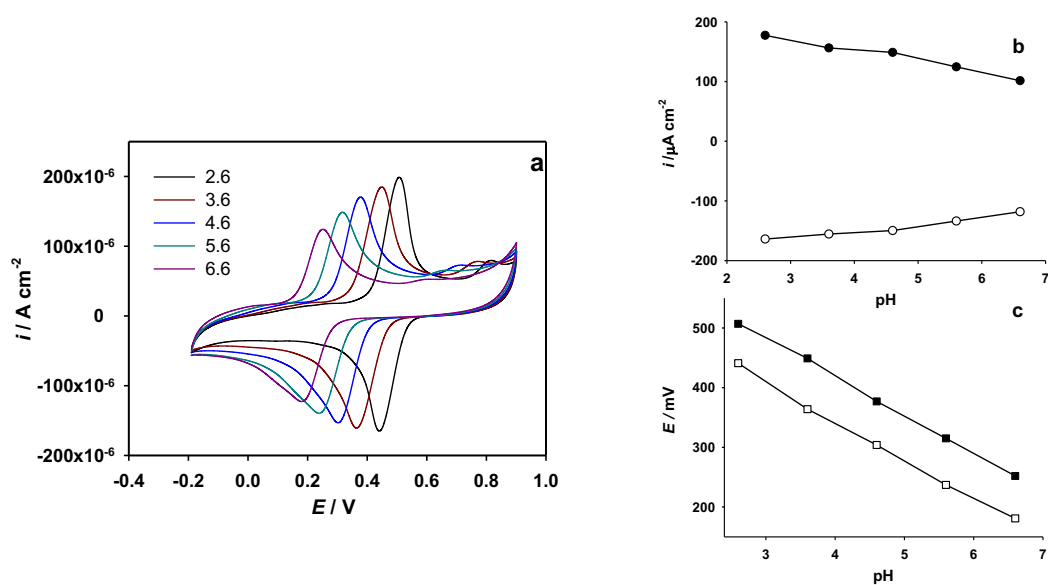
Slika 48. (a) Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika, modificiranoj s ErGO, u Britton-Robinson puferu pri različitim pH vrijednostima. Brzina posmika 50 mV s^{-1} . Koncentracija katehina od $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$; (b) Ovisnost visine strujnog pika o pH; (c) Ovisnost potencijala strujnog pika o pH.

3.6.4. EoGCE



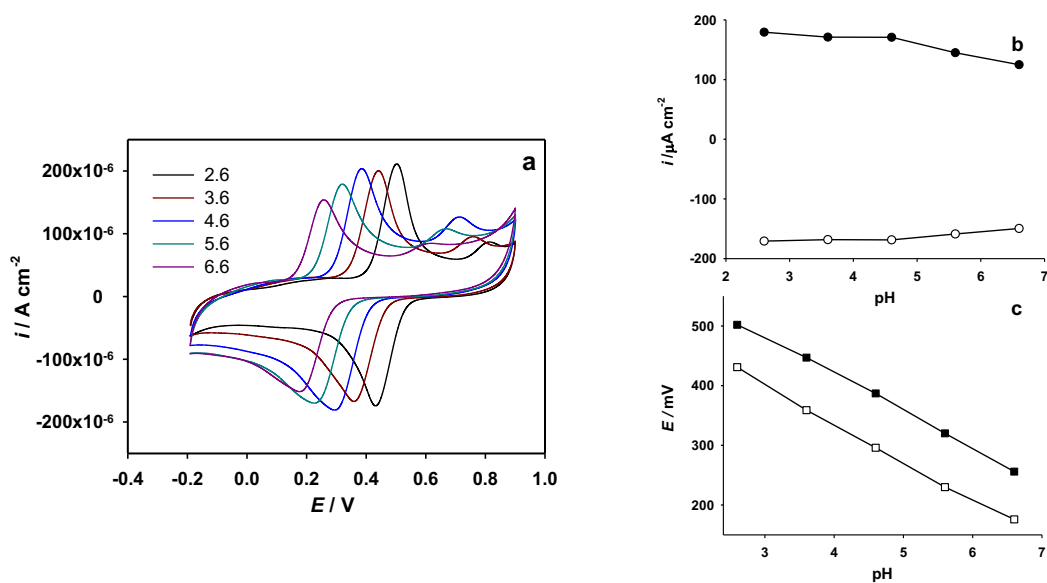
Slika 49. (a) Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrokemijski pripremljenoj elektrodi od staklastog ugljika u Britton-Robinson puferu pri različitim pH vrijednostima. Brzina posmika 50 mV s^{-1} . Koncentracija katehina od $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$; (b) Ovisnost visine strujnog pika o pH; (c) Ovisnost potencijala strujnog pika o pH

3.6.5. SWCNT



Slika 50. (a) Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika, modificiranoj sa SWCNT, u Britton-Robinson puferu pri različitim pH vrijednostima. Brzina posmika $50\ mV\ s^{-1}$. Koncentracija katehina od $1,0 \times 10^{-4}\ M$; (b) Ovisnost visine strujnog pika o pH; (c) Ovisnost potencijala strujnog pika o pH

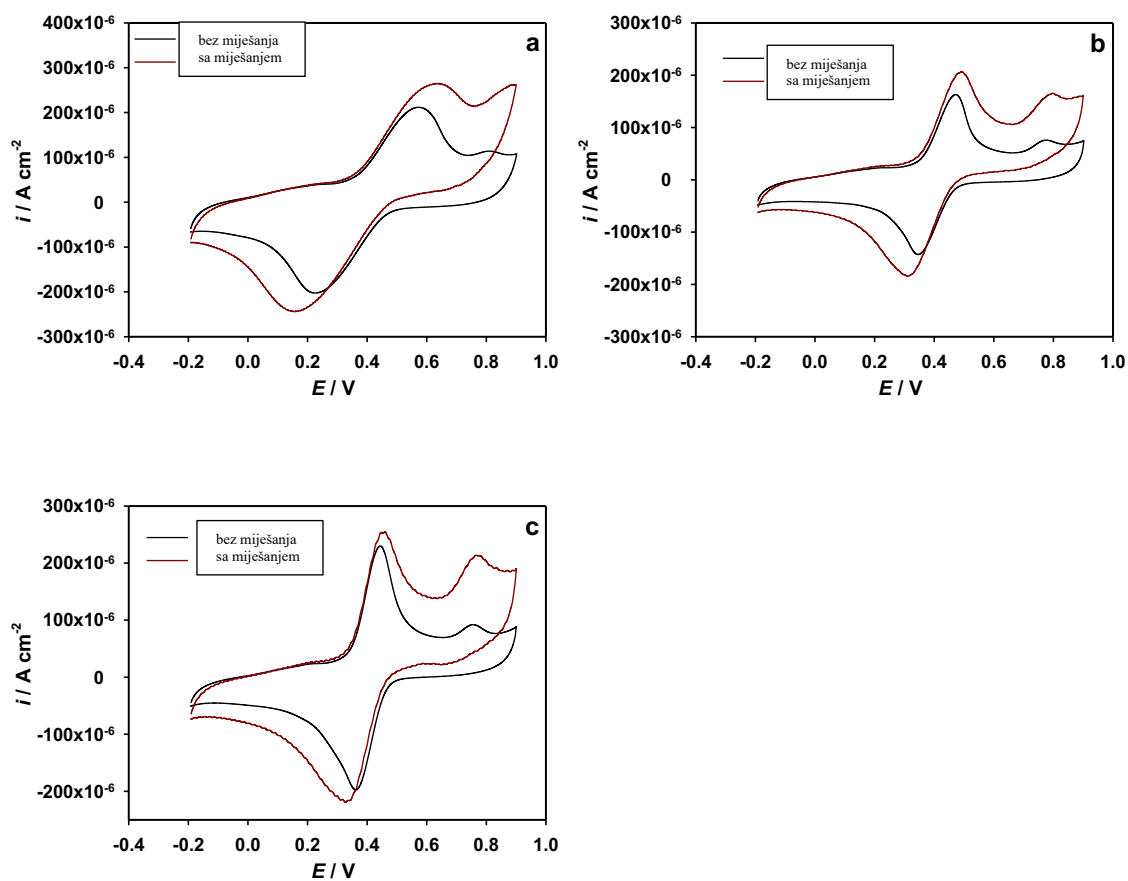
3.6.6. MWCNT



Slika 51. (a) Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika, modificiranoj s MWCNT, u Britton-Robinson puferu pri različitim pH vrijednostima. Brzina posmika 50 mV s^{-1} . Koncentracija katehina od $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$; (b) Ovisnost visine strujnog pika o pH; (c) Ovisnost potencijala strujnog pika o pH

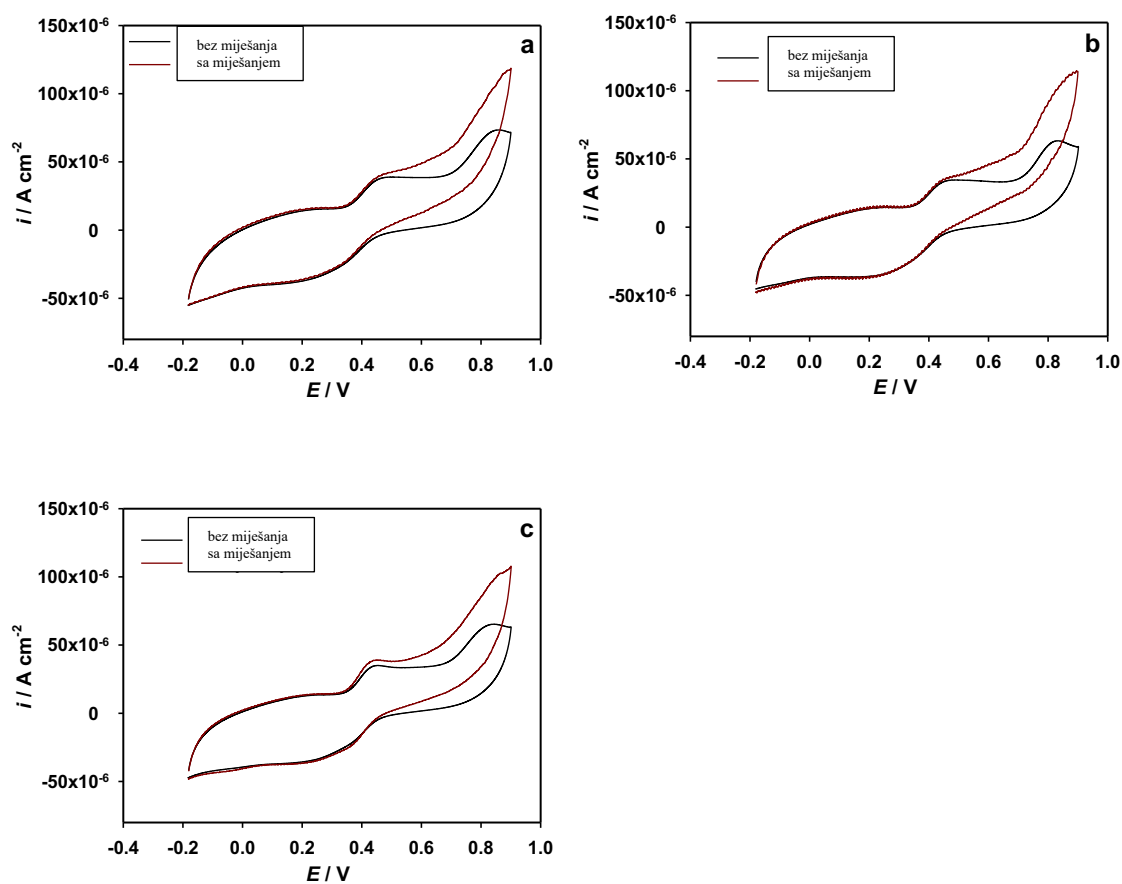
3.7. Utjecaj miješanja na CV spektre

3.7.1. SWCNT



Slika 52. Ciklički voltamogrami snimljeni bez i uz prisilnu konvekciju, na elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj sa SWCNT, pri koncentraciji katehina od $1,0 \times 10^{-4}$ M u različitim puferima: (a) acetatni pufer; (b) otopina modela vina; (c) Britton-Robinson pufer, pH 3,6.

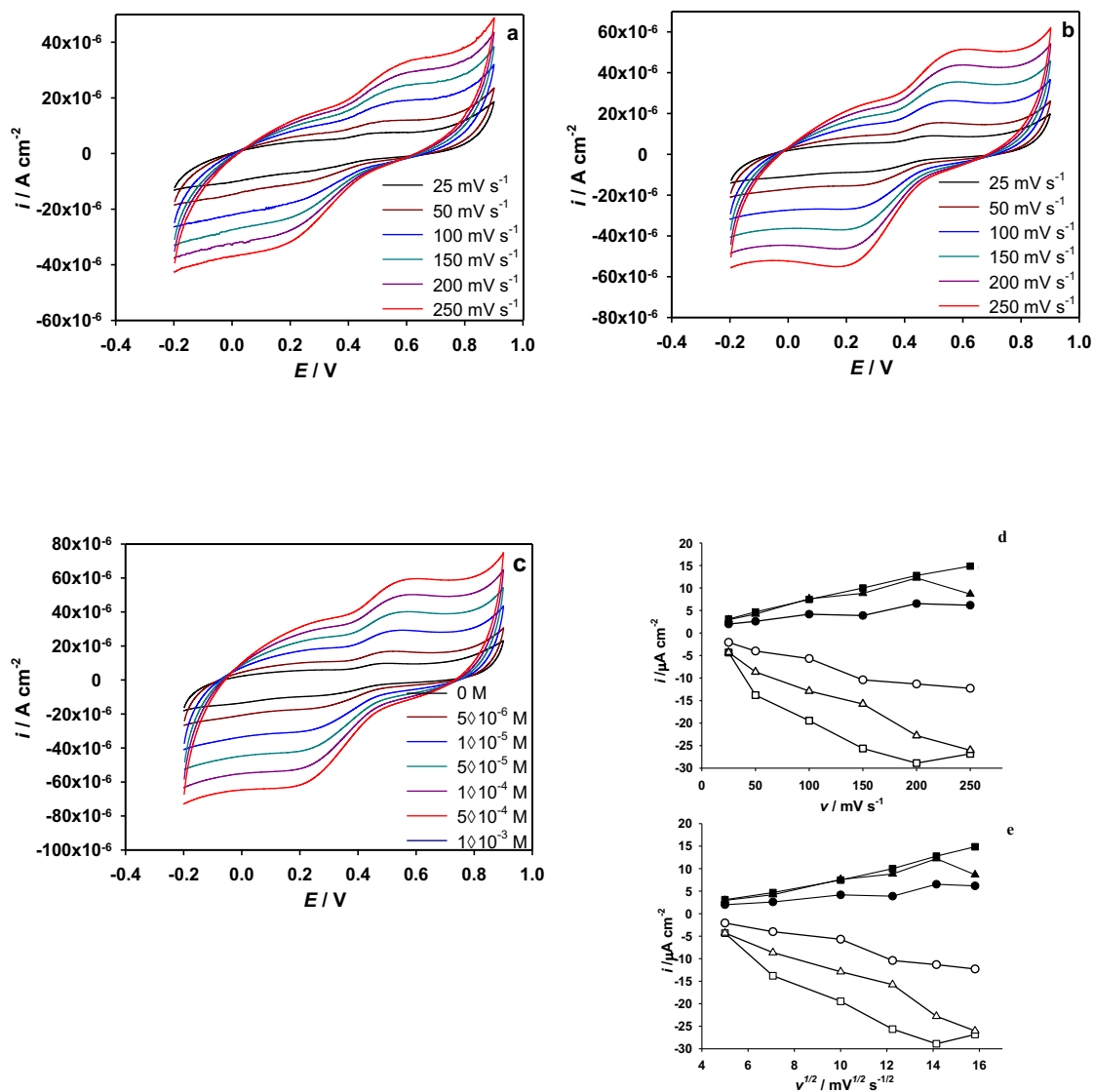
3.7.2. Gr



Slika 53. Ciklički voltamogrami snimljeni bez i uz prisilnu konvekciju, na elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj s Gr, pri koncentraciji katehina od $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ u različitim puferima: (a) acetatni pufer; (b) otopina modela vina; (c) Britton-Robinson pufer, pH 3,6.

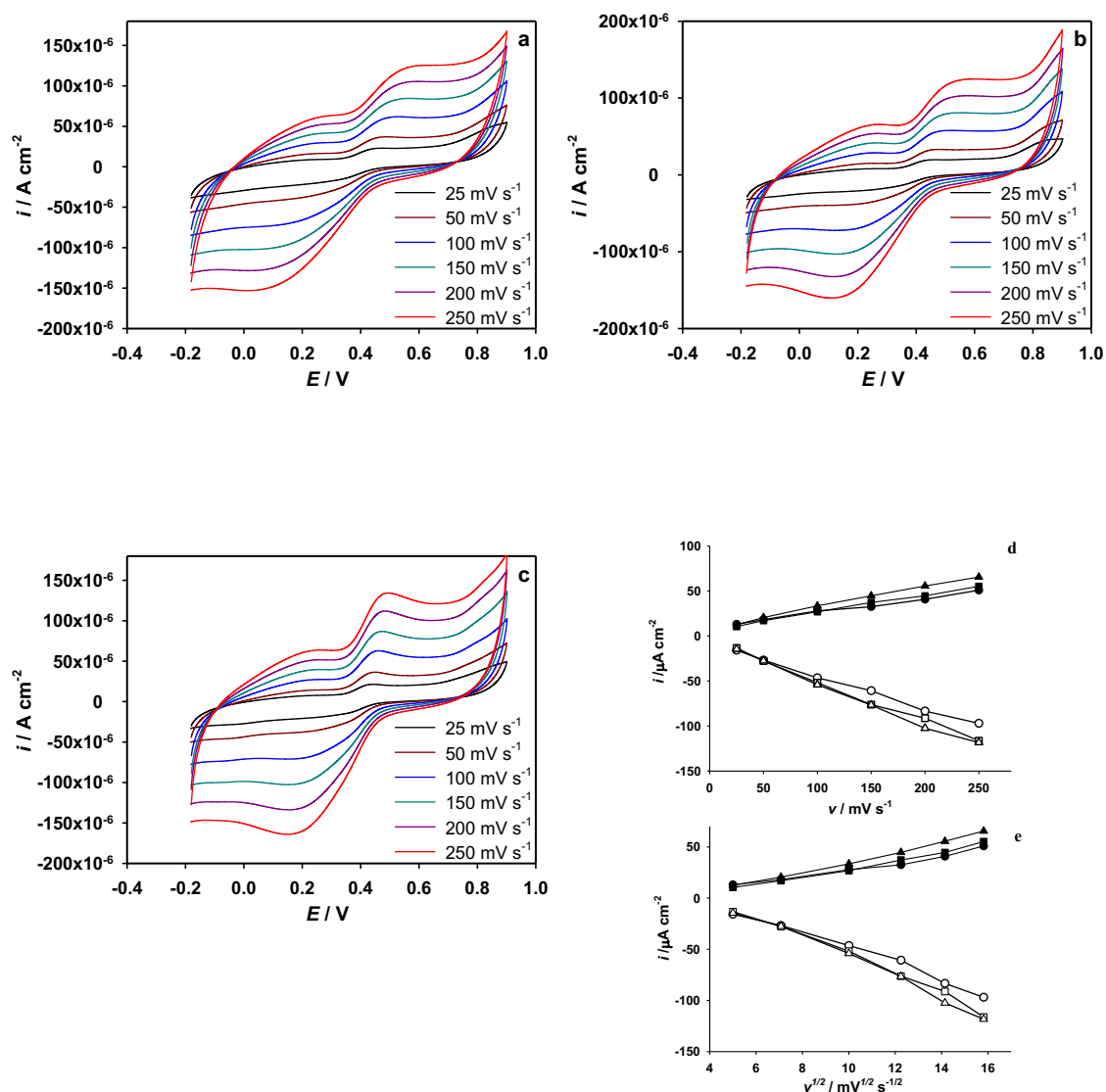
3.8. Elektrokemijsko ponašanje elektroda u prisutnosti katehina pri različitim brzinama posmika

3.8.1. GCE



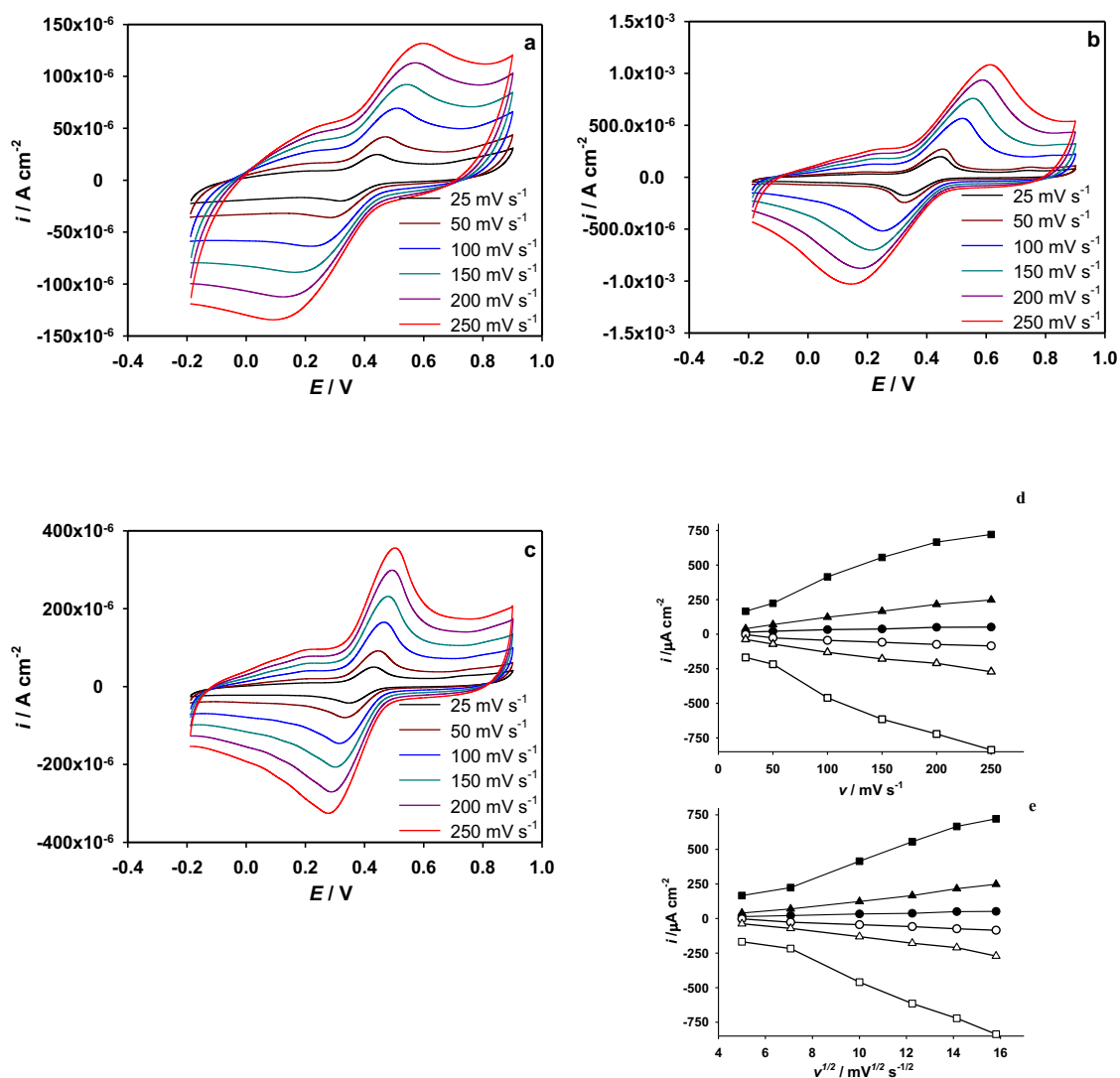
Slika 54. Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika pri različitoj brzini posmika. Koncentracija katehina od $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ u različitim puferima: a) acetatni pufer; b) model otopine vina; c) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6. Ovisnost visine anodnog strujnog pika (iz prikazanih voltamograma) o brzini posmika (d) i njegovom korijenu (e) u različitim puferima: (●) acetatni pufer; (■) model otopine vina; (▲) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6.

3.8.2. Gr



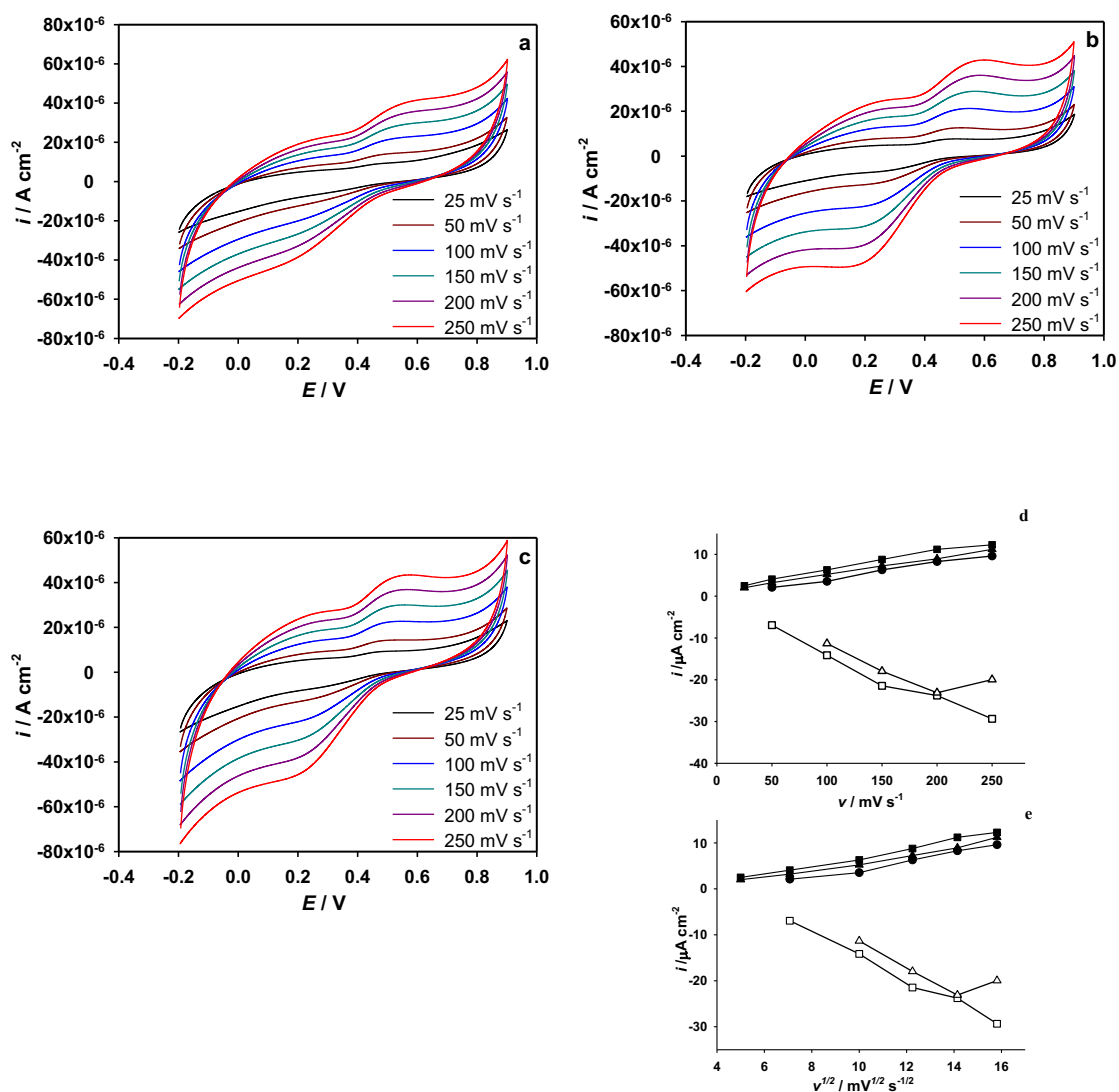
Slika 55. Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj s Gr, pri različitoj brzini posmika. Koncentracija katehina od $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ u različitim puferima: a) acetatni pufer; b) model otopine vina; c) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6. Ovisnost visine anodnog strujnog pika (iz prikazanih voltamograma) o brzini posmika (d) i njegovom korijenu (e) u različitim puferima: (●) acetatni pufer; (■) model otopine vina; (▲) Britton-Robinson pufer pri pH 3,6.

3.8.3. ErGO



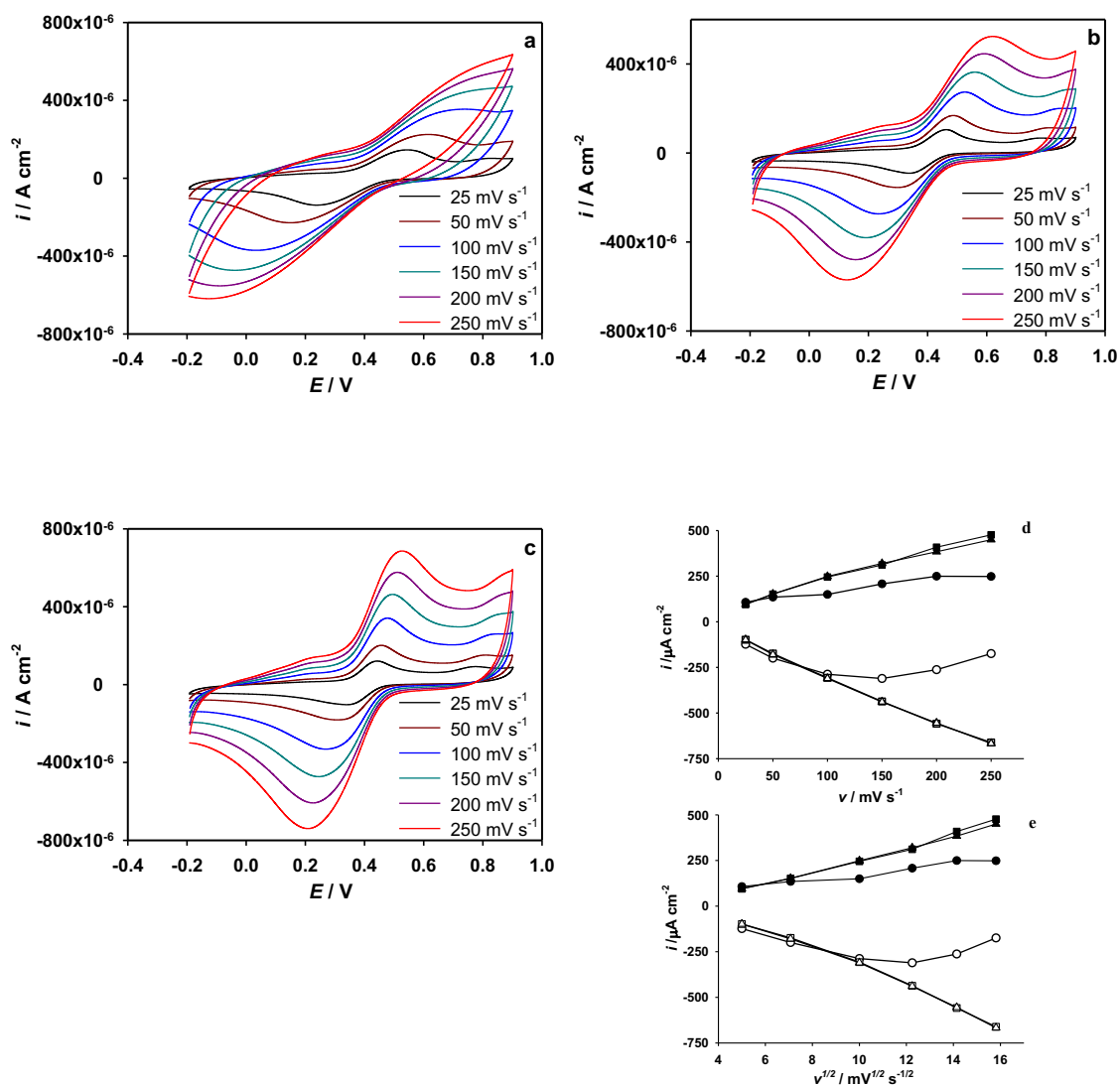
Slika 56. Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj s ErGO, pri različitoj brzini posmika. Koncentracija katehina od $1,0 \times 10^{-4}$ M u različitim puferima: a) acetatni pufer; b) model otopine vina; c) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6. Ovisnost visine anodnog strujnog pika (iz prikazanih voltamograma) o brzini posmika (d) i njegovom korijenu (e) u različitim puferima: (●) acetatni pufer; (■) model otopine vina; (▲) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6.

3.8.4. EoGCE



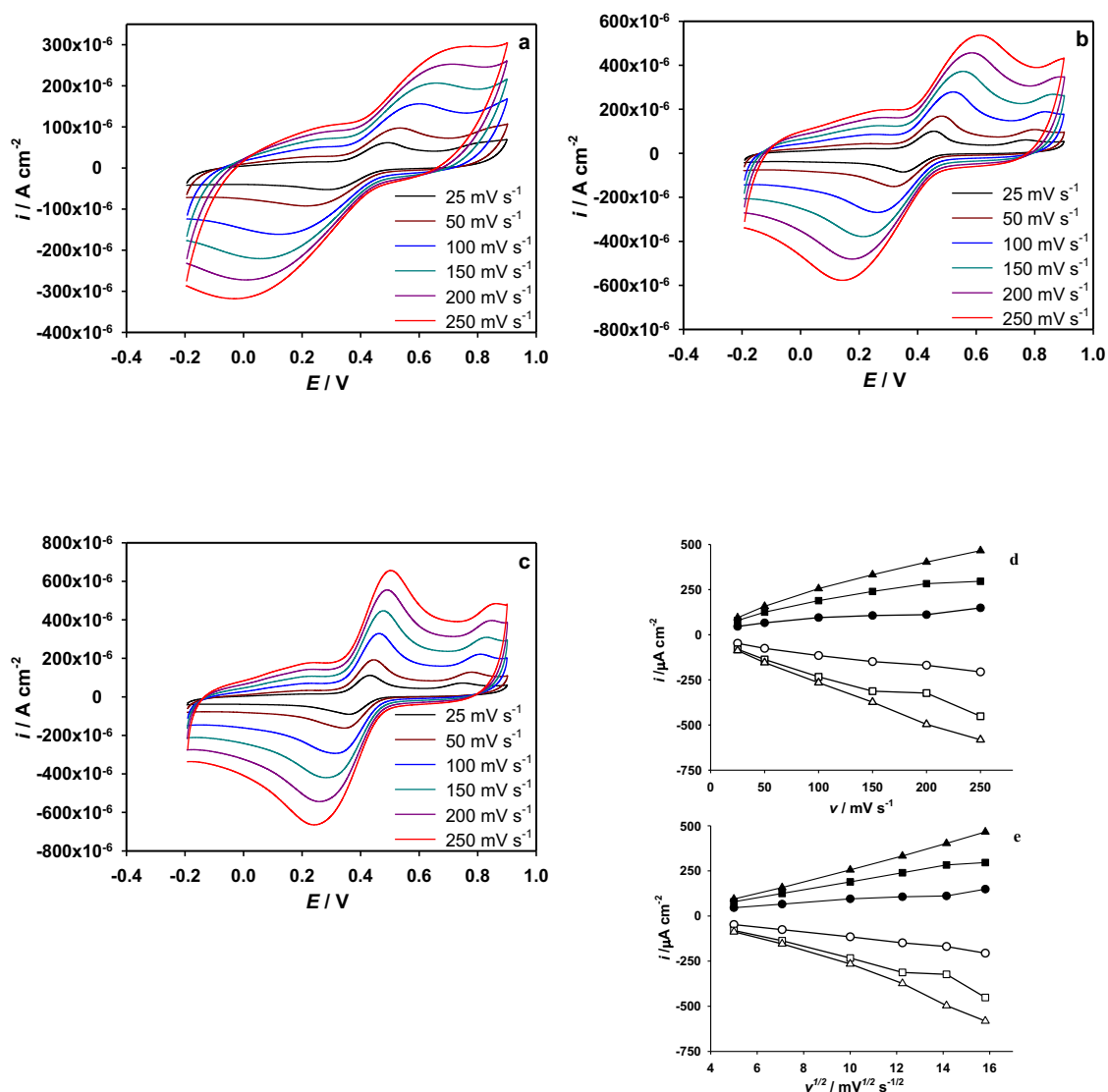
Slika 57. Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrokemijski pripremljenoj elektrodi od staklastog ugljika pri različitoj brzini posmika. Koncentracija katehina od $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ u različitim puferima: a) acetatni pufer; b) model otopine vina; c) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6. Ovisnost visine anodnog strujnog pika (iz prikazanih voltamograma) o brzini posmika (d) i njegovom korijenu (e) u različitim puferima: (●) acetatni pufer; (■) model otopine vina; (▲) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6.

3.8.5. SWCNT



Slika 58. Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj sa SWCNT, pri različitoj brzini posmika. Koncentracija katehina od $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ u različitim puferima: a) acetatni pufer; b) model otopine vina; c) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6. Ovisnost visine anodnog strujnog pika (iz prikazanih voltamograma) o brzini posmika (d) i njegovom korijenu (e) u različitim puferima: (●) acetatni pufer; (■) model otopine vina; (▲) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6.

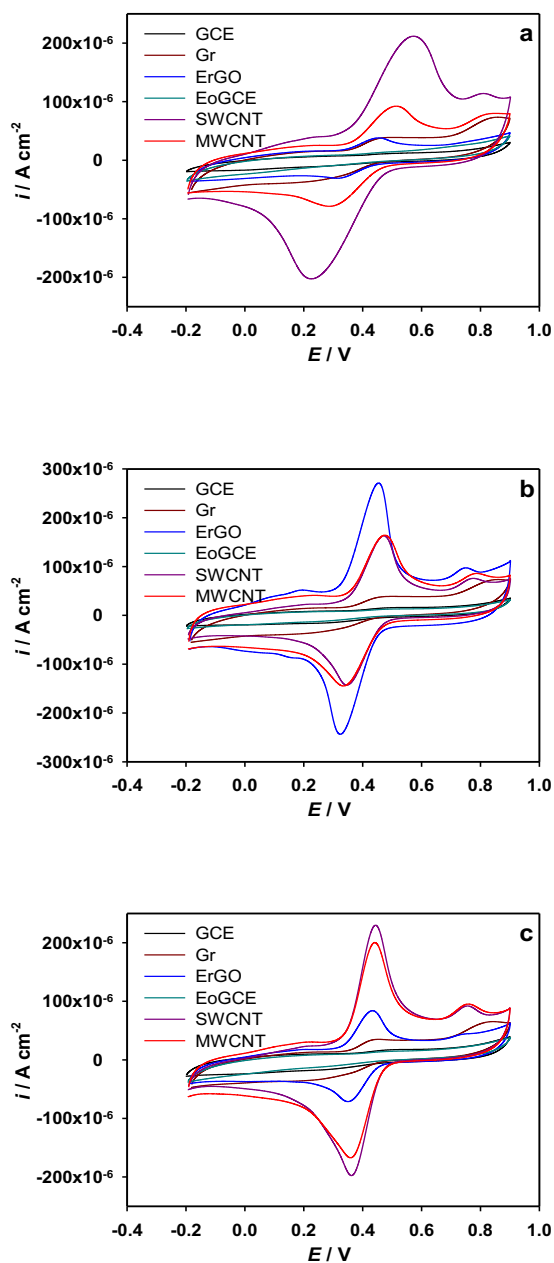
3.8.6. MWCNT



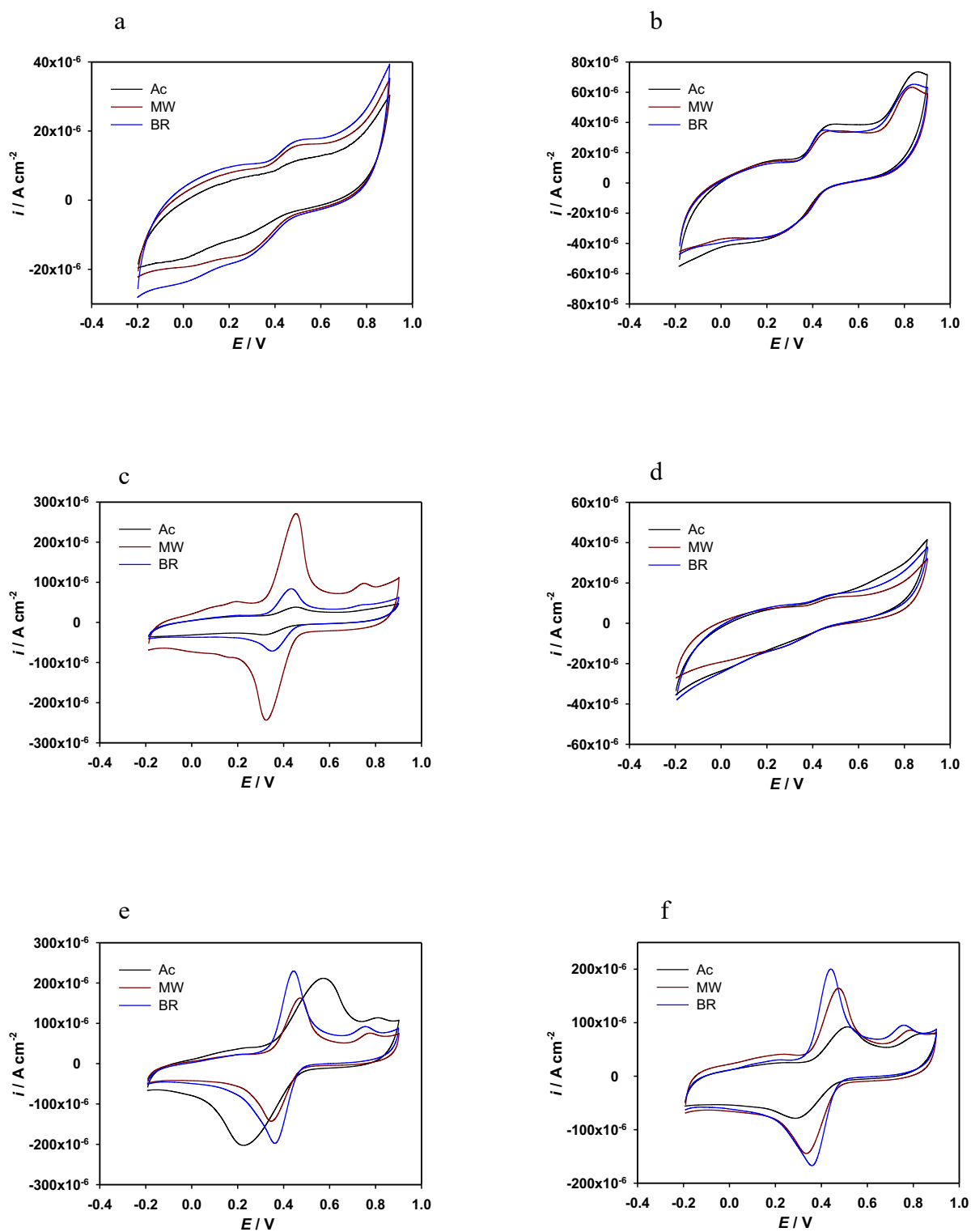
Slika 59. Ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika modificiranoj s MWCNT, pri različitoj brzini posmika. Koncentracija katehina od $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ u različitim puferima: a) acetatni pufer; b) model otopine vina; c) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6. Ovisnost visine anodnog strujnog pika (iz prikazanih voltamograma) o brzini posmika (d) i njegovom korijenu (e) u različitim puferima: (●) acetatni pufer; (■) model otopine vina; (▲) Britton-Robinson pufer, pri pH 3,6.

4. RASPRAVA

4.1. Usporedba elektrokemijskog ponašanja katehina na različitim elektrodama



Slika 60. Ciklički voltamogrami snimljeni pri koncentraciji katehina od $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ na različitim elektrodama i u različitim puferima (pH 3,6; 0,1 M): (a) acetatni pufer; (b) model otopine vina; (c) Britton-Robinson pufer

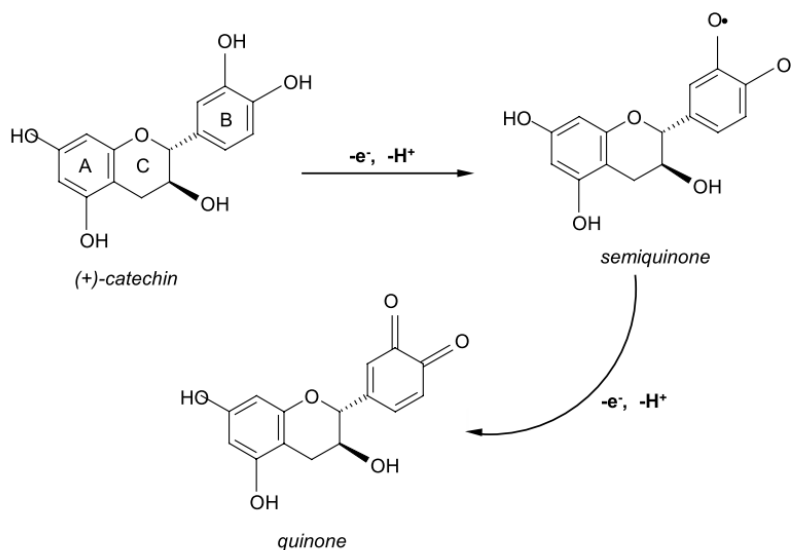


Slika 61. Ciklički voltamogrami snimljeni pri koncentraciji katehina od $1,0 \times 10^{-4} M$ u različitim puferima, na različitim elektrodama: (a) GCE; (b) Gr; (c) ErGO; (d) EoGCE;; (f) SWCNT; (e) MWCNT.

4.2. Ponašanje elektroda u ovisnosti o koncentraciji katehina i mjernom puferu

Na Slikama 26-31 prikazani su ciklički voltamogrami snimljeni pri različitim koncentracijama katehina, u različitim puferima, za različite elektrode. Uočavaju se razlike u snimljenim cikličkim voltamogramima kako u ovisnosti o mjernom puferu, tako i o vrsti radne elektrode.

Za sve elektrode, s dodatkom katehina dolazi do porasta anodne struje na potencijalima višim od oko 0,4 V te slijedno tome i katodne struje na istom potencijalu. Ovaj strujni signal može se pripisati elektrokemijskoj oksidaciji katehina na čvrstim elektrodama prema predloženom mehanizmu. [28]



Slika 62. Mehanizam oksidacije katehina.

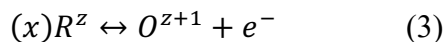
Ovaj strujni signal prestaje biti ovisan o koncentraciji katehina iznad $1,0 \times 10^{-5}$ M za elektrode GCE i EoGCE (Slike 26 i 29), dok se za modificirane elektrode s ugljikovim nanomaterijalima to događa pri višim koncentracijama. No, bez obzira na određeni rast struja s dodatkom katehina, za koncentracije iznad $5,0 \times 10^{-5}$ M, za sve modificirane elektrode se može sigurno tvrditi da ne prate Cotellovu ovisnost. Struktura katehina s

hidroksidnim skupinama na prstenastoj strukturi otkriva elektron donorske potencijale katehina, slično ostalim flavanoidima (redukcijski potencijal). Budući da je poznato da su hidroksilne skupine, kao bazične skupine na B prstenu (na Slici 62) lakše podložne oksidaciji nego li resorcinolov A prsten. Iz Slike 62. je vidljivo da se oksidacija na B prstenu odvija u dva stupnja. Nadalje, teorijski proračuni o stabilnosti raznih katehinskih radikala potvrđuju slijedeći niz njihove stabilnosti, 4'-OH, 3'-OH, 7-OH, 5-OH [29]. Ciklički voltamogrami na svim elektrodama otkrivaju da je prvi stupanj reverzibilan (ili kvazireverzibilan) i da se odvija pri nižem anodnom potencijalu te da je povezan s redukcijskim porastom struje na oko +0,4 V. Drugi stupanj (koji se odvija na potencijalima višim od +0,75 V) je ireverzibilan. Ovaj ireverzibilni pik je ovisan o koncentraciji katehina, te s porastom koncentracije katehina, za sve elektrode i u svim puferima dolazi do njegovog smanjivanja zajedno s pomicanjem potencijala prema anodnijim vrijednostima.

Kao što je i spomenuto, nešto razlučiviji strujni signali se uočavaju kod elektroda modificiranih s ugljikovim nanomaterijalima u odnosu na nemodificirane elektrode. Među njima najrazlučiviji su oni, snimljeni kroz cijelo mjerno koncentracijsko područje, na materijalima modificiranim s elektrokemijski ili rezidualnim skupinama koje sadržavaju kisikove atome (ErGO, SWCNT, MWCNT). Nadalje, ovisnost snimljenih cikličkih voltamograma o puferu otkriva da se bolja osjetljivost bilježi u slučaju kada su mjerenja rađena u Britton-Robinson puferu osim u slučaju kada su mjerenja vršena na ErGO elektrodi u Britton-Robinson puferu (Slika 28b) (slična pojava-trend je uočena i kod kofeinske kiseline) [30]. Osim prestanka ovisnosti strujnog pika, s porastom koncentracije katehina, uočava se i pomak potencijala strujnih pikova ka anodnijim, odnosno katodnijim vrijednostima. Kao i u slučaju kofeinske kiseline, efekt je eksponiraniji u acetatnom puferu u odnosu na ostala dva pufera te se može objasniti Frumkinovim efektom.

4.2.1. Frumkinovom efekt

Za reakciju oksidacije iz jednog stupnja:



položaj vrste R^z se nalazi najbliže elektrodi do granice vanjske Helmholtzove ravnine (OHP). Potencijal OHP (ϕ_2) nije jednak onome u otopini (ϕ^S). Razlika proizlazi iz pada potencijala kroz difuzijski sloj (ali mogućih adsorbiranih iona). Ove razlike u potencijalima mogu za posljedicu imati promjene u kinetici elektrokemijske reakcije na površini elektrode na dva načina:

a) Tako se može pretpostaviti da je koncentracija R^z na OHP ($c_{x2, t}$) različita od koncentracije R^z u difuznom sloju – c_R^b (koja se smatra koncentracijom "na elektrodnoj površini"),

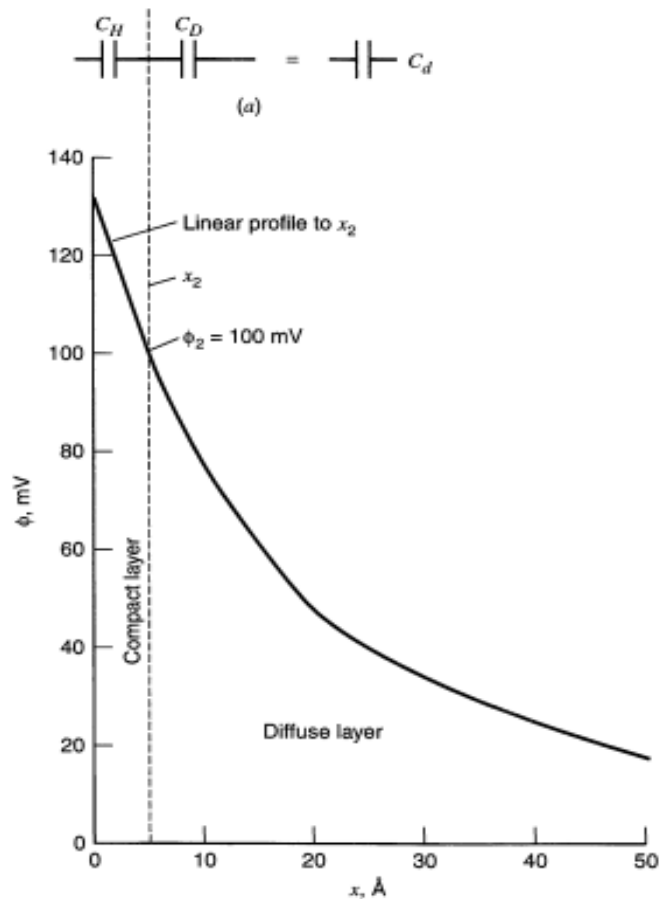
b) razlika potencijala (kao pogonske sile elektrodne reakcije) nije $E = \phi^M - \phi^S$ (ϕ^M = potencijal elektrode) već $\phi^M - \phi^S - \phi_2$, te je efektivni elektrodni potencijal $E_{ef} = \phi^M - \phi^S = E - \phi_2$. Za kompenzaciju ϕ_2 nužno je upotrijebiti prenapon istog iznosa, što se očituje pomakom potencijala ka anodnijim vrijednostima.

Budući da ϕ_2 ovisi o koncentraciji elektrolita, za očekivati je i promjene u kinetici elektrokemijske reakcije.

Tako za koncentriranije osnovne otopine (koje ne utječu na stvaranja ionskih parova ili ne sudjeluju u bilo kojem EC mehanizmu) manje je odstupanje od narinutog potencijala na elektrodu jer je manja razlika između ϕ_2 i ϕ^S .

Pristup se može temeljiti i na analizi preko kapaciteta Helmholtzovog sloja i difuznog sloja.

Ukupni kapacitet dvosloja se može izraziti kao suma serijski povezanih kapaciteta Helmholtzovog sloja (C_H) i difuznog sloja (C_D) (slika 63).



Slika 63. Prikaz ukupnog kapaciteta u Gouy-Chapman-Sternovom (GSC) modelu kao zbroj kapaciteta Helmholtzova sloja i difuznog kapaciteta serijskih povezanih kondenzatora. Promjena potencijala u GSC modelu.

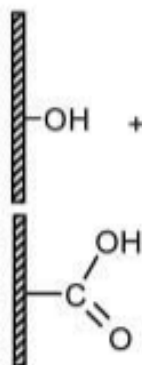
Ukupni kapacitet serijski povezanih kondenzatora se može izraziti kao:

$$\frac{1}{C_d} = \frac{1}{C_H} + \frac{1}{C_D} \quad (4)$$

C_H je neovisan o narinutom potencijalu, dok C_D tada ovisi o polarizaciji elektrode ili o koncentraciji osnovnog analita. Prema tome, ukupni kapacitet biti će određen kapacitetom manjeg iznosa. Za velike koncentracije osnovnog elektrolita ili za velike polarizacije u razrijeđenim otopinama, C_D postaje znatno veći od C_H , te je ukupni kapacitet onoga koje je posljedica kapaciteta OHP-a.

Frumkinov efekt kao posljedicu niske koncentracije osnovnog elektrolita ima odmak potencijala redoks reakcije od standardnog redoks potencijala. Ovo znači da je potrebno kompenzirati efektivni napon potreban za reakciju s dodatnim prenaponom, što se očituje kao odmak (katodni ili anodni) od standardnog redoks potencijala. Osim utjecaja koncentracije osnovnog elektrolita, ovaj efekt se može pojaviti i kod specifične adsorpcije. Kako je iz cikličkih voltamograma snimljenih u ovisnosti o brzini posmika (vidi kasnije) zaključeno da su elektrokemijski procesi, na svim elektrodama kontrolirani difuzijom, ovdje teoriju o specifičnoj adsorpciji analita, produkata elektrokemijske reakcije ili čak elektrolita možemo odbaciti.

No, kao uvjet pojave ovog efekta navedena je i prisutnost okso grupa (rezidualnih ili elektrokemijski generiranih) na/u modifikatorima.



Slika 64. Prikaz funkcijskih grupa na modifikatorima

Za te grupe možemo smatrati da su adsorbirane na materijal (Slika 64). Kako je prikazano, dio tih grupa su i karboksilne skupine. One mogu i disocirati ^[31] ukoliko se ostvare uvjeti: pH vrijednost i potencijal elektrode. Za konstantnu vrijednost pH, pri anodnijim potencijalima očekivana je povećana disocijacija karboksilnih skupina. Isto tako, pri konstantnom potencijalu elektrode (npr. OCP) za očekivati je povećanje stupnja disocijacije ovih skupina sa povećanjem pH. Prema tome, pri anodnijim potencijalima možemo smatrati da je dio ovih skupina na modifikatoru disociran pri pH 3,6 te se u konačnici javlja situacija poput specifične adsorpcije aniona. Iako bi ova pojava trebala smanjiti Frumkinov efekt, to se ipak ne događa. Razlog možemo tražiti u samom

mehanizmu oksidacije, u kiselom mediju, pri čemu nastaje kationski radikal (Slika 62). Kationski radikal znatno utječe na raspodjelu jakosti električnog potencijala. Kako pozitivan ion u Sternovom sloju uzrokuje efekt koji bi uzrokovale adsorbirane pozitivne čestice (potencijal ϕ_2 postaje pozitivniji)-efektivni napon se umanjuje za vrijednost ϕ_2 , te se oksidacija odvija na pozitivnijim potencijalima. Prelaskom u katodnu granu cikličkog voltamograma, dolazi do redukcije produkata oksidacije katehina, pri čemu slijedno nastaju i kationski radikali. Na disociranim karboksi skupinama, dolazi do efekta adsorpcije na negativno nabijenu elektrodu te se efektivni naboj povećava za vrijednost ϕ_2 , pa se redukcija odvija na negativnijim potencijalima. Efekt je veći sa povećanjem koncentracije katehina.

Impedancijski spektri snimljeni u čistim otopinama pufera s elektrodom MWCNT su prikazani na Slici 32, dok su na Slici 33 prikazani impedancijski spektri snimljeni s nemodificiranom GCE. Iz spektra je vidljiva razlika u visokofrekventnom području, koja se može pripisati omskom otporu pufera. Vidljivo je da je omski otpor najveći za acetatni pufer. Budući da se dio gore navedenog ponašanja može pripisati i malom omskom otporu otopine (što pridonosi migraciji-te slijedno padu napona u otopini i utjecaju toga pada napona na ukupni napon narinut na elektrodu) ^[32] simulirane su korekcije s parametrima omskog otpora otopina (AutoLab; GPES). Kao vrijednost omskog otpora otopine uzete su vrijednosti iz visokofrekventnog područja u Nyquistovom prikazu impedancije za acetatni pufer (cca 400 Ω). Simulacije su otkrile promijene u položaju strujnih pikova, što je bilo i za očekivati ako uzmemo u obzir vrijednosti struja vrha strujnih pikova za MWCNT od oko 400 μA , te bi pad napona ($I \times R_{\text{otopine}}$; za struje pri konc. $1,0 \times 10^{-3} \text{ M}$), za ovaj slučaj, zbog utjecaja omskog otpora elektrolita iznosio oko 160 mV cm^{-2} ili 44 mV te 2 mV cm^{-2} odnosno 0,56 mV (za struje pri koncentraciji $1,0 \times 10^{-3} \text{ M}$). Za usporedbu, za Britton-Robinson pufer (cca 50 Ω omski otpor otopine) vrijednost pada napona za struje pri koncentraciji katehina od $1,0 \times 10^{-3} \text{ M}$ iznosi 30 mV cm^{-2} odnosno oko 8,4 mV . Zaključno, ove vrijednosti nisu u skladu sa snimljenim spektrima, te se ovaj efekt ne može objašnjavati padom napona zbog omskog otpora elektrolita. Dakako, nužna je pomnija analiza ovisnosti između snimljenih voltamograma i impedancijskih spektara za detaljnije uvide u ova ponašanja. No, valja spomenuti i saznanja koja su dobivena promjenom jakosti acetatnog pufera za ista mjerenja s galnom kiselinom. Ona su otkrila smanjenje razlike potencijala strujnih vrhova s povećanjem jakosti acetatnog pufera. ^[33] Imajući u vidu sličnost ponašanja elektroda u acetatnom puferu pri mjerenjima s kofeinskom i

galnom kiselinom te katehinom, to se može zaključiti da je za pomake potencijala odgovorna jakost acetatnog pufera, ali i vrsta modifikacije.

Zanimljive rezultate, koji mogu biti korisni za uvid u mehanizam oksidacije katehina, daju ciklički voltamogrami snimljeni na različitim elektrodama i puferima pri različitim brojem ciklusa pri konstantnoj koncentraciji katehina (Slike 34-39).

Ciklički voltamogrami, snimljeni pri različitim brojem ciklusa, otkrivaju da na nemodificiranim elektrodama, u svim puferima, u prvom ciklusu dolazi do pojave porasta anodne struje na oko +0,4 V (bez definiranog strujnog pika) te dodatnog porasta struja na potencijalima koji karakteriziraju ireverzibilnu oksidaciju 3'-O(H) skupine na B prstenu katehina. S porastom broja ciklusa, radi ireverzibilnosti reakcije oksidacije u drugom stupnju, dolazi do nestanka, odnosno smanjivanja ovih struja.

Za cikličke voltamograme snimljene pri istim uvjetima ali na elektrodama modificiranim ugljikovim nanomaterijalima jasno su definirani strujni pikovi, u svim puferima, u prvom ciklusu. S porastom broja ciklusa, dolazi do neznatne promijene u visini strujnog pika za prvi stupanj oksidacije. Razlog ovom smanjivanju struje s brojem ciklusa se može pripisati i adsorpciji katehina na površinu elektroda, pa krajnji produkti oksidacije blokiraju aktivnu površinu, što se očituje smanjenjem struje izmjene. Drastičnije promjene se vide za drugi stupanj oksidacije zbog njenog karaktera-ireverzibilnost. Pojava drugog strujnog pika je u ovisnosti o vrsti modifikacije i puferu u kojem su mjerenja rađena. Tako za elektrodu modificiranu s grafenom, ovaj pik se pojavljuje pri anodnijim potencijalima od elektroda modificiranih s ostalim ugljikovim nanomaterijalima. Također, za ovu elektrodu je karakteristična manja promjena struje s brojem ciklusa. Naime, s obzirom na usporenu i nedovršenu reakciju (karakterizira je neformirani pik) odnosno usporenu kinetiku, i imajući u vidu i stabilnost formiranog 4'-OH radikala, čak i u petom ciklusu postoji dovoljna njihova koncentracija uz površinu elektrode, što kao posljedicu ima malu razliku u visini pika između prvog i petog ciklusa. Za one elektrode u kojima su oba stupnja reakcije potpuna (ciklički voltamogrami karakterizirani s dobro definiranim strujnim pikovima) uočava se znatno smanjenje struja i potpunost ireverzibilne oksidacije 4'-OH radikala. Ovo su elektrode koje sadrže elektrokemijski stvorene ili rezidualne funkcionalne skupine na ugljikovim nanomaterijalima. S obzirom na predstavljeno, može se zaključiti da je potpunost i

kinetika elektrokemijske oksidacije katehina veća za ugljikove nanomaterijale s elektrokemijski aktivnim skupinama (ErGO, SWCNT, MWCNT).

To zorno pokazuju Slike 40-45. Pojavnost ovog pika kod svih elektroda je u korelaciji s pojavnošću anodnog strujnog pika na +0,4 V. Ovo se zorno vidi na nemodificiranim elektrodama (Slika 21 i 25) i može se pripisati ireverzibilnoj oksidaciji 4'-OH radikala prema Slici 62. Također, njegov položaj ovisi o potencijalu i kinetici prvog stupnja oksidacije tj. nastajanja 4'-OH radikala. Eklatantan primjer ovog ponašanja se vidi na elektrodama modificiranim s ugljikovim nanocijevčicama u acetatnom puferu (Slika 44a i 45a). Iz snimljenih cikličkih voltamograma se vidi da pomak potencijala, ali i kinetička ograničenja inducirana difuzijom (nesimetričnost pika), prvog stupnja oksidacije, imaju za utjecaj pomak potencijala strujnog pika drugog stupnja oksidacije. Kako su mjerenja rađena do +0,9 V, za više koncentracije katehina, drugi strujni pik oksidacije je izvan mjernih granica potencijala. Ove pojave su uočljive i u drugim puferima (Slike 44 i 45). Zanimljivo je da za elektrodu ErGO u otopini modela vina i Britton-Robinson puferu (Slika 42c), pri najvišim koncentracijama katehina, se uočava najmanji utjecaj kinetičkih ograničenja. Ova kinetička ograničenja mogu biti prouzrokovana difuzijom ili snažnom adsorpcijom katehina, ali i produkata oksidacije katehina na ugljikove materijale. ^[28] Koji od ova dva efekta za posljedicu ima pomak potencijala? Na ovo pitanje nam odgovor leži u usporedbi cikličkih voltamograma snimljenih pri istim uvjetima na elektrodama modificiranim sa SWCNT i MWCNT (Slike 44c i 45c) i s ErGO (Slika 42c).

- SWCNT i MWCNT: uspoređujući vrijednosti strujnih pikova za koncentracije do $5,0 \times 10^{-4}$ M te položaj potencijala tih pikova, uočava se da dolaze do izražaja elektrokatalitička svojstva ugljikovih nanocijevčica, temeljena na većoj brojnosti centara izmjene elektrona (skupine s kisikovim atomima) što rezultira većom reverzibilnošću i boljom osjetljivošću nego li kod ErGO elektrode. Pri koncentracijama višim od $5,0 \times 10^{-4}$ M, zbog poroznosti sloja dolazi do pojave adsorpcije što dovodi do blokade aktivnih centara (oksidiranih skupina na nanocijevčicama) i kao posljedicu ima limitiranost dosega elektrokemijske reakcije ($i = konst$) te kinetičke limitiranosti zbog toga (pomak potencijala strujnih pikova ka anodnijim i katodnijim potencijalima).
- ErGO: za razliku od SWCNT i MWCNT elektroda, kod ErGO elektrode zbog manjeg broja elektrokatalitičkih skupina, manja je osjetljivost elektrode.

- Također kroz cijelo koncentracijsko područje dolazi do pomaka strujnih pikova što se pripisuje kinetičkoj limitiranosti elektrokemijske reakcije (manji broj elektroaktivnih centara nego li kod nanocijevčica) ali i djelomičnoj adsorpciji. Pri višim koncentracijama katehina, zbog kompaktnosti sloja, manji je efekt adsorpcije unutar sloja, što posljedično dovodi do manje blokade modificiranog sloja, a što se manifestira manjom asimetričnošću pika, ali i manjim pomakom potencijala strujnih pikova na koncentracijama višim od $5,0 \times 10^{-4}$ M nego li u slučaju SWCNT i MWCNT.

4.3. Ovisnost o pH

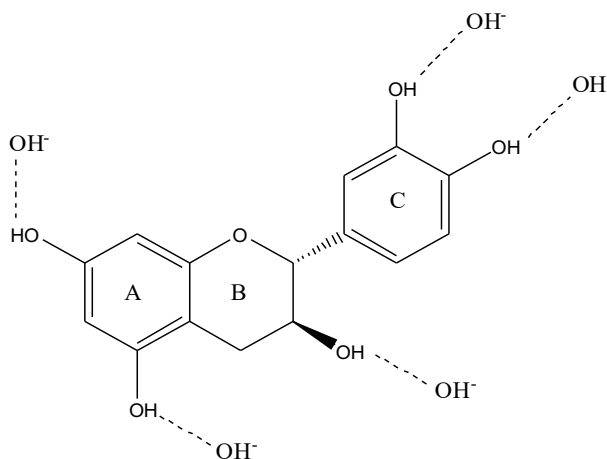
Dodatne informacije o mehanizmu oksidacije katehina na različito pripremljenim elektrodama mogu se dobiti iz analize cikličkih voltamograma snimljenih pri različitim pH vrijednostima uz konstantnu koncentraciju katehina (Slike 46-51). Za sve elektrode je nađeno da povećanje pH vrijednosti za posljedicu ima:

- smanjenje strujnih pikova (katodnih i anodnih) reverzibilne reakcije stvaranja 4'-OH radikala (prvi stupanj);
- pomak potencijala strujnih vrhova reverzibilne reakcije prema katodnijim potencijalima;
- povećanje nesimetričnosti strujnih vrhova reverzibilne reakcije;
- pomak potencijala strujnih vrhova ireverzibilne reakcije (drugi stupanj);
- smanjenje strujnog oksidacijskog pika ireverzibilne reakcije.

Ukoliko promotrimo Sliku 62, jasno se može zaključiti da bi povećanje pH vrijednosti pomicalo ravnotežu ka produktima. Ovo znači da bi elektrokemijska oksidacija katehina u njegov 4'-OH radikal, u lužnatom mediju trebala biti olakšana. Ovo bi se manifestiralo pomicanjem potencijala oksidacije ka katodnim potencijalima. Slijedno tomu, očekivan je pomak potencijala oksidacije i kod ireverzibilne reakcije oksidacije 4'-OH radikala (drugi stupanj). Olakšana oksidacija sugerira da je pri višim pH vrijednostima redukcijska ("antioksidacijska") moć katehina veća. Nadalje, zajedno s pomicanjem potencijala strujnog vrha ka katodnim potencijalima, potencijal reverzibilne reakcije (redukcije 4'-

OH radikala) se pomiče katodnije. I ova pojava je očekivana budući da je reverzibilna reakcija prominentna u kiselom mediju.

No, iako se povećava reduksijska moć katehina s povišenjem pH vrijednosti, struja opada. Uz ovaj efekt javlja se pojava asimetričnosti oba anodna, ali i katodnog pika. Asimetričnost pika sugerira difuzijska ograničenja. Razlog sporije difuzije katehina u lužnatom mediju može se protumačiti u kontekstu elektrostatskih međumolekulskih privlačenja između hidroksidnih iona i molekula katehina. Hidroksidne skupine B prstena katehina su one koje prve disociraju.^[34] No kako ih karakterizira slaba kiselost (prva konstanta disocijacije $pK_a = 8,68$), zaključuje se da je u ispitivanom području pH vrijednosti katehin u nedisociranom obliku. To znači da katehin ima polarne hidroksidne skupine. Imajući u vidu da na difuziju utječe promjena pH vrijednosti, možemo pretpostaviti da su u kiselom mediju moguća međumolekulska privlačenja, ona između vodikovih atoma i kisikovih atoma hidroksidne skupine. Kako je kisikov atom kovalentno vezan na ugljikov prsten, tada su ova privlačenja slaba. No, s porastom koncentracije hidroksidnih iona u otopini dolazi do elektrostatskih privlačenja između hidroksidnih iona iz otopine i vodika iz hidroksidne skupine. Kao posljedicu ovoga imamo manju brzinu difuzije katehina.



Slika 65. Shematski prikaz međumolekulskog djelovanja hidroksidnih iona s alkoholnim skupinama katehina

Tablica 3. Nagib pravca za ovisnost položaja potencijala anodnog pika u ovisnosti o pH

elektroda	područje linearne ovisnost E o pH		nagib pravca mV/pH (anodni/katodni)
	anodni	katodni	
GCE	3,6-6,6	-	68,0/-
Gr	2,6-6,6	2,6-6,6	62,6/59,8
ErGO	3,6-6,6	2,6-6,6	63,0/61,5
EoGCE	3,6-6,6	3,6-6,6	75,2/46,7
SWCNT	2,6-6,6	2,6-6,6	64,7/64,7
MWCNT	2,6-6,6	2,6-6,6	63,9/63,9

U Tablici 3. su prikazane vrijednosti nagiba pravca iz Slika 46c-51c, te izračunate vrijednosti nagiba za prijelaz elektrona za reakciju oksidacije katehina u njegov 4'-OH radikal s prijelazom elektrona ($z=1$). Za one elektrode koje pokazuju ovu ovisnost, može se reći da su izračunate vrijednosti blizu teoretske vrijednosti za jednoelektrodne procese (59 mV/pH). Uočava se da elektrode modificirane ugljikovim nanomaterijalima pokazuju ovisnost kroz cijelo mjerno područje pH s najbližom vrijednosti promjene potencijala onoj teoretskoj.

4.4. Utjecaj miješanja-kontrola elektrokemijske reakcije

Na Slici 52 prikazani su ciklički voltamogrami snimljeni na elektrodi modificiranoj sa SWCNT bez i uz prisilnu konvekciju (miješanje). U svim mjernim puferima se može uočiti pomak potencijala strujnih pikova. Ovaj efekt je posebno izražen u acetatnom puferu. Kao posljedica pomaka anodnog pika, pripisanog prvom stupnju oksidacije, u anodnije područje potencijala, drugi anodni pik se nije snimio u mjernom području potencijala (pomaknut izvan mjernog područja). Efekt je najmanje izražen u Britton-Robinson puferu. Nadalje, karakteristično je i povećanje struje uz istovremeno povećanje asimetričnosti pika kada su ciklički voltamogrami snimljeni uz prisilnu konvekciju u svim puferima.

S obzirom da su mjerenja rađena pri koncentraciji katehina od $1,0 \times 10^{-4}$ M, gdje adsorpcija nije toliko izražena (Slika 30 pri višim koncentracijama katehina) na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da se do ove koncentracije katehina javljaju oba efekta. Kao posljedica adsorpcije dolazi do pomaka potencijala, a kao posljedica konvekcije dolazi do povećanja struje i asimetričnosti pika. Pomak potencijala strujnih pikova nije isti u svim puferima, te se može zaključiti da je najmanji efekt adsorpcije na ovoj elektrodi u Britton-Robinnson puferu, a najveći u acetatnom puferu. Nadalje, strujni pik pripisan drugom stupnju oksidacije je puno izraženiji uz konvekciju nego li bez nje (primjer Slika 52c). Iako se anodni pik prvog stupnja oksidacije nije značajnije povećao, drugi anodni pik je postao izraženiji. Ovu pojavu se može protumačiti u kontekstu ukupne struje ispod anodnog strujnog pika, koja je veća uz konvekciju nego li bez nje. To znači da je prvi stupanj oksidacije potpuniji, a što za posljedicu ima povećanu koncentraciju 4'-OH radikala uz površinu elektrode.

Za razliku od elektrode modificirane sa SWCNT, elektroda modificirana s Gr, pri istoj koncentraciji katehina pokazuje samo utjecaj difuzije (Slika 53).

4.5. Utjecaj brzine posmika

Utjecaj brzine posmika za sve elektrode u različitim puferima pri koncentraciji katehina od $1,0 \times 10^{-4}$ M je prikazan na Slikama 56-59. Nemodificirana elektroda pokazuje linearnu ovisnost strujnog pika o korijenu brzine posmika u otopini modela vina i to za oksidacijski proces. Katodni proces je očigledno ometan prekrivenošću površine produktima oksidacije (vidi kasnije). Rezultati dobiveni za elektrode modificirane ugljikovim nanocijevčicama i grafenom te na elektrokemijski oksidiranoj elektrodi (Slika 55 c/d, 57 c/d, 58 c/d, 59 c/d) otkrivaju zanimljivo ponašanje katehina pri različitim brzinama posmika. Tako se linearna ovisnost pri svim puferima dobila u ovisnosti o brzini posmika za katodnu reakciju, te o korijenu brzine posmika za anodnu reakciju. Ovo sugerira da je veći utjecaj adsorpcije za katodnu reakciju, a oksidacija je kontrolirana difuzijom. Ovo zapravo otkriva da pri procesima oksidacije nastaju produkti koji se adsorbiraju na modifikatoru i tako ometaju reakciju redukcije. No, ostaje pitanje zašto se isti efekt ne uočava za oksidaciju. Dio odgovora leži i u tome da prilikom reakcije redukcije, produkti oksidacije bivaju deadsorbirani, pa je elektroda manje opterećena produktima oksidacije, što dovodi do povećane kontrole reakcije difuzijom. Ove rezultate najbolje potvrđuje i zorno pokazuje Slika 53. Dakle, može se zaključiti da su elektrokemijski procesi katehina na elektrodama kontrolirani miješanim mehanizmom.

4.6. Usporedba elektrokemijskog ponašanja katehina na različitim elektrodama u različitim puferima

Na Slici 60, prikazani su ciklički voltamogrami snimljeni na različitim elektrodama u istim puferima. Slike jasno dokazuju prethodno elaborirano ponašanje elektroda.

Uspoređujući pufere, najveće kinetičko ograničenje (dakle, miješanim mehanizmom) uočava se u acetatnom puferu, dok je najmanje u Britton-Robinson puferu. Kao najosjetljivije modifikacije za određivanje katehina pokazale su se ugljikove nanocijevčice. No, u acetatnom puferu one imaju manju reverzibilnost nego ostale modifikacije. U otopini modela vina, elektroda modificirana s ErGO pokazuje najveću osjetljivost, ali i reverzibilnost. Može se učiniti kao eksperimentalna greška, no isti

rezultati su dobiveni i u ponovljenim mjerenjima. Nadalje, ovo ponašanje je uočeno i kod galne kiseline^[33] i kod kofeinske kiseline^[30], tako da je ovo i očekivano ponašanje. Svakako da ovo intrigira na daljnje proučavanje i razjašnjavanje elektrokemijskog ponašanja polifenola na elektrodama modificiranim s ErGO materijalom.

Usporedba ponašanja katehina na istim elektrodama, ali na različitim puferima je prikazana na Slici 43. Dakako, osim u slučaju elektrode ErGO u otopini modela vina, puno bolji odzivi i reverzibilnosti su dobiveni u Britton-Robinson puferu, dok je ograničenje evidentno u acetatnom puferu.

5. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog eksperimenta i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Elektrode od staklastog ugljika modificirane su sa Gr, ErGO, SWCNT i MWCNT.
2. Za sve elektrode, s dodatkom katehina dolazi do porasta anodne struje na potencijalima višim od oko 0,4 V te slijedno tome i katodne struje na istom potencijalu. Ovaj strujni signal prestaje biti ovisan o koncentraciji katehina iznad $1,0 \times 10^{-5}$ M za elektrode GCE i EoGCE, dok se za modificirane elektrode s ugljikovim nanomaterijalima to događa pri višim koncentracijama. Osim prestanka ovisnosti strujnog pika, s porastom koncentracije katehina, uočava se i pomak potencijala strujnih pikova ka anodnijim, odnosno katodnijim vrijednostima. Efekt je eksponiraniji u acetatnom puferu u odnosu na ostala dva pufera te se može objasniti Frumkinovim efektom. Razlučiviji strujni signali se uočavaju kod elektroda modificiranih s ugljikovim nanomaterijalima u odnosu na nemodificirane elektrode. Najrazlučiviji su oni, snimljeni kroz cijelo mjerno koncentracijsko područje, na materijalima modificiranim s elektrokemijski ili rezidualnim skupinama koje sadržavaju kisikove atome (ErGO, SWCNT, MWCNT).
3. Ciklički voltamogrami, snimljeni pri različitim brojem ciklusa, otkrivaju da na nemodificiranim elektrodama, u svim puferima, u prvom ciklusu dolazi do pojave porasta anodne struje na oko +0,4 V (bez definiranog strujnog pika) te dodatnog porasta struja na potencijalima koji karakteriziraju ireverzibilnu oksidaciju 3'-O(H) skupine na B prstenu katehina. S porastom broja ciklusa, radi ireverzibilnosti reakcije oksidacije u drugom stupnju, dolazi do nestanka, odnosno smanjivanja ovih struja. Može se zaključiti da je potpunost i kinetika elektrokemijske oksidacije katehina veća za ugljikove nanomaterijale s elektrokemijski aktivnim skupinama (ErGO, SWCNT, MWCNT).
4. Povećanje pH vrijednosti dovodi do pomicanja ravnoteže ka produktima. Iako se povećava redukcijska moć katehina s povišenjem pH vrijednosti, struja opada, a time dolazi i do smanjenja osjetljivosti. Uočava se da elektrode modificirane

ugljkovim nanomaterijalima pokazuju ovisnost položaja anodnog pika o pH vrijednosti kroz cijelo mjerno područje pH s najbližom vrijednosti promjene potencijala onoj teoretskoj.

5. Utjecaj miješanja vidljiv je u svim mjernim puferima, gdje se uočava pomak potencijala strujnih pikova. Ovaj efekt je posebno izražen u acetatnom puferu, dok je efekt najmanje izražen u Britton-Robinson puferu. Vidljivo je i povećanje struje uz istovremeno povećanje asimetričnosti pika kada su ciklički voltamogrami snimljeni uz prisilnu konvekciju u svim puferima. Kao posljedica adsorpcije dolazi do pomaka potencijala, a kao posljedica konvekcije dolazi do povećanja struje i asimetričnosti pika. Za razliku od elektrode modificirane sa SWCNT, elektroda modificirana s Gr, pri istoj koncentraciji katehina pokazuje samo utjecaj difuzije.
6. Kinetička ograničenja vezana za prijenos elektrona kroz heterogenu granicu faza ispitivana su u širokom području brzina posmika. Za elektrode modificirane ugljikovim nanocijevčicama i grafenom te na elektrokemijski oksidiranoj elektrodi u različitim puferima pri koncentraciji katehina od $1,0 \times 10^{-4}$ M rezultati su otkrili da je ukupni proces određen miješanim mehanizmom i to katodni adsorpcijom, a anodni difuzijom.
7. Najveće kinetičko ograničenje uočava se u acetatnom puferu, dok je najmanje u Britton-Robinson puferu. Kao najosjetljivije modifikacije za određivanje katehina pokazale su se ugljikove nanocijevčice, ali u acetatnom puferu one imaju manju reverzibilnost nego ostale modifikacije. U otopini modela vina, elektroda modificirana s ErGO pokazuje najveću osjetljivost, ali i reverzibilnost. Puno bolji odzivi i reverzibilnosti su dobiveni u Britton-Robinson puferu.
8. Kao najoptimalniji sustav za određivanje katehina, na osnovu analize, isprofilirale su se elektrode modificirane s ugljikovim nanocijevčicama u Britton-Robinson puferu, pri pH vrijednosti 3,6 i ErGO u otopini modela vina.

6. LITERATURA

- [1.] V. Rastija, M. Medić-Šarić, *Kromatografske metode analize polifenola u vinima, Kemija u Industriji*, **2009**, 58, 121-122.
- [2.] S. Berend, Z. Grabarić, *Određivanje polifenola u namirnicama metodom ubrizgavanja u protok, Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*, **2008**, 59, 205-212.
(doi: <https://doi.org/10.2478/10004-1254-59-2008-1868>)
- [3.] A.N. Panche, A.D. Diwan, S.R. Chandra, *Flavonoids: an overview, Journal of Nutritional Science*, **2016**, 5, 1-15.
(doi: [10.1017/jns.2016.41](https://doi.org/10.1017/jns.2016.41))
- [4.] J. Garrido, F. Borges, *Wine and grape polyphenols - A chemical perspective, Food Research International*, **2013**, 54, 1846-1847.
(doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.08.002>)
- [5.] G. Sagdicoglu Celep, R. Rastmanesh, F. Marotta, *Microbial Metabolism of Polyphenols and Health, Polyphenols in Human Health and Disease*, **2014**, 1, 577-589.
- [6.] D. El-Hady, N. El-Maali, *Selective square wave voltammetric determination of (+)-catechin in commercial tea samples using beta-cyclodextrin modified carbon paste electrode, Microchimica acta*, **2008**, 161, 225-231.
(doi: [10.1007/s00604-007-0780-5](https://doi.org/10.1007/s00604-007-0780-5))
- [7.] K. Heloizy Garcia Feritas, O. Fatibello-Filho, *Carbon Composite Electrode Modified With Copper(II) Phosphate Immobilized in a Polyester Resin for Voltammetric Determination of Catechin in Teas, Analytical Letters*, **2010**, 43, 2091-2104.
(doi: <https://doi.org/10.1080/00032711003687112>)
- [8.] H.H. Girault, *Analytical and Physical Electrochemistry*, EPFL Press, **2004**.
- [9.] URL: <https://byjus.com/chemistry/electrochemical-cell/>, (21. srpanj 2020.)
- [10.] A. Đaković, *Voltametrijsko određivanje nikla u tlu elektrodom od staklastog ugljika modificiranom slojem žive*, Diplomski rad, Kemijsko-tehnološki fakultet Split, **2018**, 24.

- [11.] J. Radošević, *Elektrokemija, rad za internu upotrebu*, Split, **2007**.
- [12.] S. Gudić, *Elektrokemijske tehnologije u zaštiti okoliša*, rad za internu upotrebu.
- [13.] URL: <https://physics.mff.cuni.cz/kfpp/povrchy/method/cv-principles>, (21. srpanj 2020.).
- [14.] I. Piljac, *Senzori fizikalnih veličina i elektroanalitičke metode*, Media print, **2010**, 391-627.
- [15.] URL: <https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=ciklička+voltometrija>, (21. srpanj 2020.).
- [16.] K. Wandelt, *Encyclopedia of Interfacial Chemistry: Surface Science and Electrochemistry*, Elsevier, **2018**.
- [17.] URL: <https://www.als-japan.com/1408.html#defaultTab12>, (24 srpanj 2020.).
- [18.] P.J.F. Harris, *Fullerene-related structure of commercial glassy carbons*, *Philosophical Magazine*, **2006**, 84, 3159-3167.
(doi: <https://doi.org/10.1080/14786430410001720363>)
- [19.] URL: <https://www.aliexpress.com/item/32378635724.html>, (24 srpanj 2020.).
- [20.] J. Macan, *Sol-gel postupak za pripravu organsko-anorganskih hibridnih materijala*, *Kemija u Industriji*, **2008**, 7, 335-361.
- [21.] G. Malucelli, *Hybrid Organic/Inorganic Coatings Through Dual-Cure Processes: State of the Art and Perspectives*, *Coatings*, **2016**, 6, 1-11.
(doi: [10.3390/coatings6010010](https://doi.org/10.3390/coatings6010010))
- [22.] URL: <http://www.chemat.com/chemattechnology/SolGel.aspx>, (25 srpanj 2020.).
- [23.] A. Dekanski, J. Stevanović, R. Stevanović, B.Ž. Nikolić, V.M. Jovanović, *Glassy carbon electrodes-characterization and electrochemical activation*, *Carbon*, **2001**, 39, 1195-1205.

(doi: [https://doi.org/10.1016/S0008-6223\(00\)00228-1](https://doi.org/10.1016/S0008-6223(00)00228-1))

[24.] URL: <https://www.popsci.com/technology/article/2011-02/graphene-could-help-physicists-probe-higgs-bosons-secrets/>, (25 srpanj 2020.).

[25.] S.J. Rowley-Neale, E.P. Randviir, A.S. Abo Dena, C.E. Banks, *An overview of recent applications of reduced graphene oxide as a basis of electroanalytical sensing platforms*, *Applied Materials Today*, **2018**, 10, 218-226.

(doi: <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2017.11.010>)

[26.]URL:<https://www.2dmaterialsmag.com/the-global-market-for-graphene-2d-materials-and-carbon-nanotubes/>, (27 srpanj 2020.).

[27.] URL: <https://sites.google.com/site/sidhirkedare/what-are-the-multiwalled-carbon-nanotubes-applications> (27 srpanj 2020.).

[28.] P. Su, B. Haghpanah, W.W. Doerr, Z. Karimi, S. Hassan, L. Gritz, A.A. Busnaina, A. Vaziri, *Decontamination of Surfaces Exposed to Carbon-Based Nanotubes and Nanomaterials*, *Journal of Nanomaterials*, **2014**, 2014, 1-9.

(doi: <https://doi.org/10.1155/2014/249603>)

[29.] A.B. Porto, G.G. Silva, H.F. dos Santos, L.F.C. de Oliveira, *Oxidation of Single-Walled Carbon Nanotubes under Controlled Chemical Conditions*, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **2018**, 29, 2387-2396.

(doi: <http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20180116>)

[30.] P. Janeiro, *Catechin electrochemical oxidation mechanisms*, *Analytica Chimica Acta*, **2004**, 518, 109-115.

(doi: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.05.038>)

[31.] C. Cren-Olivé, P. Hapiot, J. Pinson, C. Ronaldo, *Free Radical Chemistry of Flavan-3-ols: Determination of Thermodynamic Parameters and of Kinetic Reactivity from Short (ns) to Long (ms) Time Scale*, *Journal of the America Society* , **2002**, 124, 14027-14038.

(doi: [10.1021/ja0262434](https://doi.org/10.1021/ja0262434))

[32.] A. Boban, *Elektrokemijsko ponašanje kofeinske kiseline na ugljikovim nanomaterijalima: prilog optimizaciji elektroanalitičkih metoda određivanja prirodnih reducensa*, Diplomski rad, Kemijsko-tehnološki fakultet Split, **2020**.

[33.] K. Raza, N. Thotakura, P. Kumar, M. Joshi, S. Bhushan, A. Bhatia, V. Kumar, R. Malik, G. Sharma, S.K. Guru, O.P. Katare, *C₆₀-Fullerenes for Delivery of Docetaxel to Breast Cancer Cells: A Promising Approach for Enhanced Efficacy and Better Pharmacokinetic Profile*, *International journal of pharmaceutics*, **2015**, 495, 551-559.
(doi: [10.1016/j.ijpharm.2015.09.016](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.09.016))

[34.] A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Faradaic processes and factors affecting rates of electrode reactions*, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, Wiley, **2001**, 2, 18-28.

[35.] I. Bandić, *Elektrokemijska studija galne kiseline na modificiranim elektrodama od staklastog ugljika s ugljikovim nanomaterijalima: doprinos optimizaciji elektroanalitičkih metoda*, Diplomski rad, Kemijsko-tehnološki fakultet Split, **2020**.

[36.] J.M. Herrero-Martínez, M. Sanmartin, M. Rosés, E. Bosch, C. Ràfols, *Determination of dissociation constants of flavonoids by capillary electrophoresis*, *Electrophoresis*, **2005**, 26, 1886-1895.
(doi: [10.1002/elps.200410258](https://doi.org/10.1002/elps.200410258))