

Utjecaj površinsko aktivnih organskih tvari na elektrokemijsko određivanje kapaciteta kompleksiranja bakra u morskoj vodi

Matanović, Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:346193>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-31**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Martina Matanović

**UTJECAJ POVRŠINSKO AKTIVNIH
ORGANSKIH TVARI NA
ELEKTROKEMIJSKO ODREĐIVANJE
KAPACITETA KOMPLEKSIRANJA BAKRA
U MORSKOJ VODI**

Diplomski rad

predložen Kemijskom odsjeku

Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

radi stjecanja akademskog zvanja

magistre kemije

Zagreb, 2022.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Laboratoriju za biogeokemiju mora i atmosfere, Zavoda za istraživanje mora i okoliša, Instituta Ruđer Bošković pod mentorstvom dr. sc. Slađane Strmečki Kos. Nastavnik imenovan od strane Kemijskog odsjeka je prof. dr. sc. Nives Galić.

Diplomski rad izrađen je u okviru projekta Hrvatske zaklade za znanost pod nazivom „Biokemijski odgovori površinskog sloja oligotrofnog područja Jadranskog mora na atmosfersko taloženje” (BiREADI) (IP-2018-01-3105).

Zahvale

U prvom redu, veliku zahvalnost dugujem mentorci dr. sc. Slađani Strmečki Kos na trudu, posvećenom vremenu, stručnom vodstvu, nesebičnom dijeljenju znanja kao i na pruženoj podršci i razumijevanju tijekom izrade diplomskog rada.

Također, zahvaljujem se svim ostalim članovima Laboratorija za biogeokemiju mora i atmosfere, Zavoda za istraživanje mora i okoliša, Instituta Ruđer Bošković na pomoći, ljubaznosti i prijateljskoj atmosferi.

Veliko hvala kolegama na fakultetu posebno Moniki i Robertu na ogromnoj potpori, mnogobrojnim savjetima te neizmjerne podršci i ohrabrenjima tijekom studiranja.

Na kraju, najveću zaslugu dugujem svome bratu, roditeljima, obitelji Popovčić i svim prijateljima koji su bili uz mene u svakom trenutku kao najveća potpora.

Sadržaj

SAŽETAK.....	XI
ABSTRACT	XIII
§ 1. UVOD.....	1
§ 2. LITERATURNI PREGLED	3
2.1. Tragovi metala u moru	3
2.2. Otopljena organska tvar	5
2.3. Kapacitet kompleksiranja metala (MCC)	8
2.3.1. Pseudopolarografija	13
2.3.2. PAT kao interferencija u određivanju KKCu	14
2.4. Voltametrij.....	15
2.4.1. Diferencijalno pulsna voltametrij.....	18
2.4.2. Voltametrij izmjenične struje.....	20
§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO	21
3.1. Kemikalije i otopine	21
3.2. Uzorkovanje i priprema uzoraka	23
3.3. Instrumentacija i pribor	25
3.4. Metode i mjerenja	27
3.5. Obrada podataka	29
§ 4. REZULTATI I RASPRAVA	30
4.1. Modelne površinsko aktivne tvari.....	30
4.1.1. T-X-100.....	30
4.1.2. SDS	33
4.1.3. TMAB.....	35
4.2. Modelne organske molekule	38
4.2.1. Dekstran.....	39
4.2.2. Alginat.....	49
4.2.3. t-karagenana.....	55
4.2.4. Kitozan.....	61
4.2.5. BSA	68
4.2.6. SRFA.....	73
4.2.7. Zajednička voltametrijska svojstva modelnih spojeva	79
4.3. Prirodni uzorci	80

4.3.1. <i>Organska tvar u prirodnim uzorcima</i>	80
4.3.2. <i>KKCu u prirodnim uzorcima</i>	82
§ 5. ZAKLJUČAK	90
§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA	92
§ 7. LITERATURNI IZVORI	94
§ 8. ŽIVOTOPIS	XVI



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Diplomski rad

SAŽETAK

UTJECAJ POVRŠINSKO AKTIVNIH ORGANSKIH TVARI NA ELEKTROKEMIJSKO ODREĐIVANJE KAPACITETA KOMPLEKSIRANJA BAKRA U MORSKOJ VODI

Martina Matanović

Kapacitet kompleksiranja bakra (KKCu) predstavlja sposobnost organskih molekula u prirodnim vodama da “vežu” određenu koncentraciju Cu^{2+} -iona u stabilne komplekse čime se regulira njihova biodostupnost. Metodom diferencijalno pulsne voltametrije anodnog otapanja uz višeću živinu kap kao radnu elektrodu definirani su uvjeti mjerenja (desorpcijski potencijal, $E_d = -1,4$ V i dodatak 1 mg dm^{-3} T-X-100) pri kojima je minimalan utjecaj adsorpcije organskih površinsko aktivnih tvari (BSA, kitozan, karagenan, alginat, dekstran, fulvična kiselina) na detekciju Cu^{2+} -iona. Optimalni uvjeti primijenjeni su za određivanje parametara KKCu u uzorcima postaje SJ101 (0 m i dno) uzorkovani u proljeće-ljeto 2017. godine u sjevernom Jadranu: određena su dva razreda liganada $(12,0 - 71,5) \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$ i pripadajuće uvjetne konstanta stabilnosti ($\log K' = 8,42 - 11,17$). Koncentracije liganada su bile više u površinskom sloju tijekom ljetnih mjeseci kada je izraženija fitoplanktonska aktivnost.

(95 stranica, 75 slika, 4 tablice, 41 literaturnih navoda, jezik izvornika: Hrvatski jezik)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Horvatovac 102a, Zagreb i Repozitoriju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Ključne riječi: kapacitet kompleksiranja bakra, površinsko aktivne tvari, voltometrija, uzorci morske vode, sjeverni Jadran

Mentor: dr. sc. Slađana Strmečki Kos, v. znan. sur., Institut Ruđer Bošković
Nastavnik (imenovan od strane Kemijskog odsjeka): prof. dr. sc. Nives Galić

Ocjenitelji:

1. prof. dr. sc. Nives Galić
 2. doc. dr. sc. Nikola Cindro
 3. prof. dr. sc. Željka Soldin
- Zamjena: prof. dr. sc. Iva Juranović Cindrić

Datum diplomskog ispita: 26. rujna 2022.



University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Diploma Thesis

ABSTRACT

INFLUENCE OF SURFACE ACTIVE ORGANIC SUBSTANCES ON ELECTROCHEMICAL DETERMINATION OF COPPER COMPLEXING CAPACITY IN SEAWATER

Martina Matanović

Copper complexing capacity (KKCu) represents the ability of organic molecules in natural waters to „bind“ a certain concentration of Cu^{2+} -ions in stable complexes, regulating their bioavailability. Using the differential pulse voltammetry method the measurement conditions were defined (desorption potential, $E_d = -1.4$ V, addition of 1 mg dm^{-3} T-X-100) under which the adsorption interference of organic surface-active substances (BSA, chitosan, carrageenan, alginate, dextran, fulvic acid) on the working electrode (mercury drop) is minimal for the detection of Cu^{2+} -ions. The optimal conditions were applied to determine the KKCu parameters in the samples from station SJ101 (0 m and bottom) sampled in the northern Adriatic Sea in spring/summer 2017: two classes of ligands were determined ($12.0 - 71.5$) $\times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$ and the corresponding conditional stability constants ($\log K' = 8.42 - 11.17$). The concentrations of ligands were higher in the surface layer during the summer months due to more pronounced phytoplankton activity.

(94 pages, 75 figures, 4 tables, 41 references, original in Croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, Zagreb, Croatia and in Repository of the Faculty of Science, University of Zagreb

Keywords: copper complexing capacity, surface-active compounds, voltammetry, seawater samples, northern Adriatic

Mentor: dr. sc. Slađana Strmečki Kos, Senior Research Associate, Institut Ruđer Bošković
Supervisor (appointed by the Department of Chemistry): prof. dr. sc. Nives Galić

Reviewers:

1. prof. dr. sc. Nives Galić
2. doc. dr. sc. Nikola Cindro
3. prof. dr. sc. Željka Soldin

Substitute: prof. dr. sc. Iva Juranović Cindrić

Date of exam: 26.9.2022.

§ 1. UVOD

Kemijska specijacija tragova metala (koncentracije $< 1 \mu\text{mol dm}^{-3}$) u prirodnim vodama podrazumijeva raspodjelu iona metala između definiranih kemijskih vrsta. Bakar (Cu^{2+}) je jedan od najproučavanijih i najpraćenijih metalnih iona prisutnih u tragovima u morskoj vodi zbog svog nutritivnog učinka, ali, ovisno o koncentraciji, i štetnog toksičnog učinka na fitoplankton.¹ Kemijska specijacija Cu^{2+} u morskoj vodi uglavnom je kontrolirana interakcijama s otopljenim organskim ligandima putem stvaranja stabilnih kompleksa.^{2,3} Kako bi karakterizirali navedene ligande, oni se grupiraju na temelju sličnih afiniteta funkcionalnih skupina za vezanje Cu^{2+} -iona te se određuju parametri kapaciteta kompleksiranja bakra (KKCu): ukupna koncentracija pojedinih grupa organskih liganada (L_1 , L_2) i pripadajuće uvjetne konstante stabilnosti (K'_i).^{4,5} Prilikom elektrokemijskog određivanja parametara KKCu u morskim uzorcima koristeći živinu kap kao radnu elektrodu, interferencije nastaju zbog adsorpcije površinski aktivnih organskih tvari (PAT) prisutnih u uzorku na površinu radne elektrode. Taj proces ometa redukciju prisutnih labilnih Cu^{2+} -iona u amalgam, kao i njihovu reoksidaciju u kompleksometrijskim titracijama, što rezultira smanjenjem osjetljivosti i određivanjem nepreciznih parametara KKCu.⁶

Ovaj rad podijeljen je na dva dijela. U prvom dijelu cilj je istražiti i definirati uvjete mjerenja (potencijal desorpcije,⁶ koncentraciju Tritona-X-100 (2-[4-(2,4,4-trimetilpentan-2-il)fenoksi]etanol), SDS-a (natrijev dodecil suflat) i TMAB-a (trimetil(oktadecil)amonijev bromid) kao modelne PAT⁷) koji osiguravaju minimalni utjecaj adsorpcije modelnih organskih molekula (polisaharidi dekstran, α -karagenan, kitozan, natrijev alginat, protein BSA, fulvična kiselina) na redoks procese Cu^{2+} -iona. U drugom dijelu cilj je odrediti parametre KKCu u odabranim uzorcima morske vode koristeći optimalne uvjete izabrane na temelju analize dobivenih rezultata za modelne otopine. Uzorci morske vode uzorkovani su pri površini i pri dnu postaje SJ101 u sjevernom dijelu Jadranskog mora u razdoblju ožujak-kolovoz 2017. godine te će se rezultati interpretirati u skladu s biogeokemijskim procesima u tom području.

U radu će se koristiti μ Autolab potencijostat/galvanostat (tip III) povezan s 663VA Stand troelektrodnim sustavom i modulom za automatsku živinu elektrodu (Metrohm Autolab, Utrecht, Nizozemska). U kompleksometrijskim titracijama će se koristiti metoda diferencijalno pulsne voltametrije s anodnim otapanjem, a za istraživanje adsorpcije te kvantifikaciju PAT u

uzorcima koristit će se voltometrija izmjenične struje. Za određivanje parametara KKCu koristit će se matematički program ProMCC.⁵

§ 2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Tragovi metala u moru

Elemente koji su u moru prisutni u koncentracijskom području $< 10^{-6}$ i $> 10^{-9}$ mol dm⁻³ nazivamo elementima u tragovima. U morskoj vodi se u tu skupinu ubrajaju i ioni metala poput Mn, Fe, Co, Ni, Cu i Zn koji su esencijalni mikronutrijenti za morske organizme, ali i Cd, Cr, Pb, Ag, Se, Hg i dr. (tablica 2.1).

Tablica 2.1. Prosječna koncentracija iona metala u tragovima u morskim vodama.¹⁰

<i>Element</i>	<i>Simbol i atomski broj</i>	<i>Prosječna koncentracija u moru / nmol dm⁻³</i>
Aluminij	Al 13	20
Titanij	Ti 22	< 20
Vanadij	V 23	30
Krom	Cr 24	4
Mangan	Mn 25	0,3
Željezo	Fe 26	0,5
Kobalt	Co 27	0,02
Nikal	Ni 28	8
Bakar	Cu 29	4
Cink	Zn 30	5
Galij	Ga 31	0,3
Germanij	Ge 32	0,07
Arsen	As 33	23
Selenij	Se 34	1,7
Molibden	Mo 42	110
Srebro	Ag 47	0,025
Kadmij	Cd 48	0,6
Kositar	Sn 50	0,004
Antimon	Sb 51	1,6
Telurij	Te 52	< 0,001
Lantan	La 57	0,3
Cerij	Ce 58	0,02
Olovo	Pb 82	0,01
Volfram	W 74	0,06
Platina	Pt 78	0,003
Zlato	Au 79	<< 0,001
Živa	Hg 80	0,002
Torij	Th 90	< 0,001
Uran	U 92	14

Za neke od njih poput Hg i Pb poznato je da pokazuju toksične učinke i ubraja ih se među onečišćivala, dok za određene metale do sada nije poznat biološki učinak.^{8,9} S obzirom da organizmi lako apsorbiraju metale u tragovima iz okruženja nužno je odrediti svojstva, njihovu ulogu u biogeokemijskim ciklusima te utjecaj na cijeli morski ekosustav.

Bakar (točnije Cu^{2+}) je jedan od najproučavanijih i najpraćenijih metala u tragovima u morskoj vodi zbog svog nutritivnog učinka. Iako je esencijalan za ispravno funkcioniranje metabolizma, dio je mnogih enzima te sudjeluje u geokemijskom ciklusu dušika i ugljika, također je poznato da ovisno o prisutnoj kemijskoj vrsti (speciji) i njezinoj koncentraciji može pokazivati toksična svojstva za organizme poput fitoplanktona. Zbog toga se smatra specifičnim onečišćivalom od iznimne ekotoksikološke zabrinutosti.^{1,7}

Ukupna koncentracija bakra u morskoj vodi raspodijeljena je između različitih fizičko-kemijskih vrsta u otopljenoj ($<0,45 \mu\text{m}$) i čestičnoj ($>0,45 \mu\text{m}$) frakciji.

$$[\text{Cu}]_{\text{uk}} = [\text{Cu}^{2+}] + \Sigma[\text{CuX}_i] + \Sigma[\text{CuL}_i] + \Sigma[\text{Cu}_{\text{čest}}] \quad (1)$$

Gdje je: $[\text{Cu}]_{\text{uk}}$ – ukupna koncentracija bakra,

$[\text{Cu}^{2+}]$ – koncentracija slobodnog hidratiziranog iona Cu^{2+} ,

$\Sigma[\text{CuX}_i]$ – zbroj koncentracija anorganskih kompleksa Cu^{2+} -iona,

$\Sigma[\text{CuL}_i]$ – zbroj koncentracija organskih kompleksa Cu^{2+} -iona,

$\Sigma[\text{Cu}_{\text{čest}}]$ – zbroj koncentracija Cu^{2+} -iona vezanih na čestice.

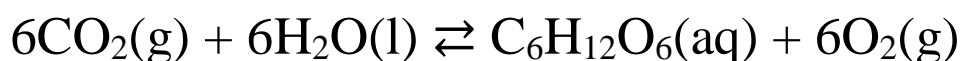
U otopljenoj frakciji prisutne su kemijske vrste koje mogu proći kroz membranski filter s veličinom pora $0,45 \mu\text{m}$: slobodni ioni Cu^{2+} te njegovi anorganski i organski kompleksi. Cu^{2+} -ioni su biodostupni jer mogu prolaziti kroz staničnu membranu fitoplanktona te već pri koncentracijama $[\text{Cu}^{2+}] > 10^{-12} \text{ mol dm}^{-3}$ pokazuju toksična svojstva za pojedine vrste fitoplanktona¹¹. Anorganski ligandi koji čine komplekse s bakrom (II) su OH^- , Cl^- , HCO_3^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} i dr.. Konstante stabilnosti tih kompleksa su poznate te je njihova koncentracija stalna, dok se najveći udio Cu^{2+} -iona nalazi vezan u organskim kompleksima. U čestičnoj frakciji Cu^{2+} -ioni su adsorbirani na koloidnim česticama (Fe_2O , MnO_2 , itd.) čija je veličina veća od $0,45 \mu\text{m}$ te tijekom filtracije zaostaju na filteru. Bitno je napomenuti da nije ukupna koncentracija bakra izravno povezana s toksičnosti već samo koncentracija dostupnog (slobodnog i labilnog) Cu^{2+} -iona koji je u pogodnom fizičkom i kemijskom obliku biološki

unos. Koncentracija „slobodnog“ metala je regulirana složenim kompetitivnim reakcijama između otopljenih anorganskih i organskih liganada, te reaktivnih koloida i površina čestica.¹² S obzirom da je uska granica između esencijalne i toksične koncentracije, formiranje stabilnih kompleksa Cu²⁺-iona s organskim ligandima može reducirati koncentraciju slobodnih Cu²⁺-iona i na taj način održavati njihovu biodostupnost u optimalnim koncentracijama.^{11,13} Stoga je za određivanje kritične koncentracije i svojstava pojedine specije potrebno znati kemijsku specijaciju. Kemijska specijacija definirana prema IUPAC-u podrazumijeva analitičke postupke identificiranja i/ili kvantificiranja jedne ili više kemijskih specija u uzorku.¹⁴ Speciju definiramo kao formu elementa kojeg karakterizira izotopni sastav, elektronsko ili oksidacijsko stanje, kompleks ili molekulska struktura.

2.2. Otopljena organska tvar

Ključni biološki procesi u morima su proizvodnja i potrošnja organske tvari. Proizvodnja se primarno odvija fotosintezom djelovanjem prisutnih organizama poput fitoplanktona koji u svojoj strukturi sadrže klorofile. Fitoplankton su jednostanični autotrofni organizmi koji obitavaju u morskoj vodi te sami proizvode složene organske spojeve. Putem fotosinteze, fitoplankton adsorbira sunčevu svjetlost, otopljeni ugljikov dioksid (CO₂) i vodu kako bi producirao kisik i potrebne hranjive tvari za druge organizme.¹⁵

FOTOSINTEZA



STANIČNO
DISANJE

Primarna proizvodnja hranjivih tvari, od kojih većinom kisik i ugljikohidrati, kontrolirana je složenom kombinacijom fizikalnih (svjetlost i temperatura), bioloških (stupanj rasta) i kemijskih (dostupnost nutrijenata) čimbenika.¹⁵ Stoga je za održavanje ravnoteže potreban niz nutritivnih elemenata koji osiguravaju rast i razvoj organizama. Nekih od nutrijenata ima u izobilju u odnosu na biološke potrebe, dok su drugi prisutni u niskim koncentracijama u odnosu na biološku potražnju i stoga njihova opskrba može ograničiti

primarnu proizvodnju. Među potencijalno ograničavajućim hranjivim sastojcima se smatraju makronutrijenti dušik, fosfor i silicij, iako su istraživanja posljednjih godina naglasila važnu ulogu nekih drugih mikroelemenata, posebice željeza i drugih metala u tragovima.¹⁶ Cirkulacija morske vode ima velik utjecaj na distribuciju hranjivih tvari koje dolaze izmjenom tvari zrakmore, donosom vode iz rijeka, te izravnim utjecajem klimatskih uvjeta, no učinak ovisi o dubini mora. Pod većim utjecajem je površinski dio, pa je korisno razdvojiti distribuciju hranjivih tvari u površinskim i dubokim vodama, iako se temeljni biogeokemijski procesi odvijaju na isti način. Uzimajući u obzir sve navedene uvjete koji su potrebni za rast i razvoj fitoplanktona te za odvijanje fotosinteze može se jasno zaključiti da se primarna proizvodnja organskih tvari odvija upravo u površinskom (fotičkom) dijelu morske vode.

U moru je prisutna velika količina različitih organskih spojeva koji nisu kemijski karakterizirani što je posljedica složene smjese organskih komponenti koje su rezultat kombinacije biološke i geokemijske aktivnosti, ali i onečišćenja. Organske tvari (engl. *organic matter*, OM) se u morskoj vodi mogu podijeliti prema podrijetlu na autohtone i alohtone. U autohtone vrste spadaju organske tvari čija je prisutnost u morskom ekosustavu rezultat isključivo prirodnih procesa koje obavlja fitoplankton, bakterije i heterotrofi bez ikakve čovjekove intervencije, te je koncentracija tih tvari dominantna. Općenito, moguća su tri puta nastanka autohtonih organskih tvari¹⁵:

1. izlučivanjem iz fitoplanktonskih stanica,
2. izlučivanjem zooplanktona,
3. procesom raspada uginulih organizama.

Alohtone organske tvari posljedica su ispiranja tla, trošenja stijena, onečišćenja iz atmosfere, kao i antropogenih aktivnosti (industrije, otpadne vode, intenzivna poljoprivreda, ...). Također, OM se u morskoj vodi mogu razdvojiti na dvije frakcije na temelju veličine, a to su otopljena (engl. *dissolved organic matter*, DOM, $<0,45 \mu\text{m}$) i čestična organska tvar (engl. *particulate organic matter*, POM, $>0,45 \mu\text{m}$). DOM čini najveći rezervoar reduciranog ugljika na Zemlji, te ima ključnu ulogu u ciklusu ugljika i funkcioniranju morskog ekosustava.¹⁷ Za jednostavnije razumijevanje DOM-a određuje se koncentracija otopljenog organskog ugljika (engl. *dissolved organic carbon*, DOC), a mjerena u prirodnim vodama izražava se kao mg C dm^{-3} , no taj nam podatak ne daje informaciju o vrsti prisutne organske tvari. DOC je nespecifičan parametar definiran kao ukupni otopljeni organski ugljik koji može proći kroz filter veličina pora 0,45 ili

0,70 μm .¹⁸ Organske molekule u otopljenoj frakciji morske vode su složenog polimernog sastava, a manji dio karakteriziran na molekulskom nivou su:

- **Proteini** su polimeri aminokiselina nastali povezivanjem peptidnom vezom između karboksilne i amino skupine dvije α -aminokiseline. Oni su glavne strukturne komponente koje izgrađuju tkiva organizama. Aminokiseline karakterizira bočni ogranak po kojem se razlikuju, te koji određuje njihova hidrofobna/hidrofilna svojstva. Najzastupljenije aminokiseline u proteinima planktona su glicin, alanil, glutaminska i asparaginska kiselina.¹⁵
- **Ugljikohidrati** izgrađuju potporno tkivo mikroorganizama, služe kao izvor energije koja je potrebna za rad stanica i jedan su od glavnih produkata fotosinteze. U morskoj vodi postoje različiti ugljikohidrati: monosaharidi poput glukoze, galaktoze, fruktoze, disaharidi npr. saharoza, te polisaharidi poput karagenana, alginata, xantana, dekstrana, koji su izgrađeni od istih ili različitih monomera.
- **Lipidi** su raznolika grupa spojeva kojima je jedino zajedničko svojstvo da su netopljivi u vodi, a topljivi u organskim otapalima, te da su proizvedeni od strane živućih organizama koji na taj način skladište svoju energiju. Obuhvaćaju triacilglicerole (masti, ulja), fosfolipide, glikolipide, sterole i steroide, te voskove (estere masnih kiselina s dugolančanim alkoholima). Fosfolipidi su gliceridi s fosfornom kiselinom koji su zajedno s masnim kiselinama najzastupljeniji lipidi u fitoplanktonu, dok su steroli hormonalni regulatori rasta, disanja i reprodukcije kod većine morskih životinja.¹⁵
- Mnoge **druge organske molekule** povezane uz fitoplanktonsku proizvodnju: nukleinske kiseline, vitamini, koenzimi, ugljikovodici, pigmenti i dr.. S obzirom na složenost i raznolikost nabrojanih spojeva, samo neki od njih su identificirani i kategorizirani.
- **Humusna tvar** jedna je od nekarakteriziranih organskih tvari prisutnih u moru. Njezin sastav čine heterogeni polimeri koji imaju polifunkcionalna i polielektrolitna svojstva. Važne su komponente humusa, tla, treseta i ugljena, a karakterizira ih prirodno podrijetlo i veliki raspon molekulskih masa. No, razlikuju se po ponašanju pri različitom pH.¹⁹ Humusna kiselina (*engl. humic acid*, HA) je jedan tip humusne tvari koja je primarno izgrađena od ugljikovodičnog lanca i prstenastih ugljičnih dijelova. Uz ugljik, humusne kiseline također sadrže kisik, dušik, vodik i fosfor. Točan sastav varira ovisno o izvoru. Teško su topljive u vodi, u kiselom mediju precipitiraju, no mogu se

ekstrahirati lužinama. Drugi tip humusne tvari je fulvična kiselina (engl. *fulvic acid*, FA) sa manje složenijom molekulskom strukturom od HA. Njihova struktura je slična, no razlika je što FA posjeduje veći udio kisika pa je topljiva u otopinama neovisno o pH vrijednosti.

Nabrojane organske vrste u svojoj strukturi osim ugljika i vodika sadrže i različite funkcijske skupine poput karbonilne, hidroksilne, amino, tiolne, sulfatne, te se mogu ponašati kao ligandi i vezati slobodne Cu^{2+} -ione. Pri lužnatom pH dominantno je kompleksiranje metalnih iona s otopljenim organskim ligandima, jer su pri nižim pH-vrijednostima funkcijske skupine protonirane ili nenabijene, a kako pH-vrijednost raste skupine postaju negativno nabijene i mogu stupiti u elektrostatske interakcije s ionima metala¹². Istraživanjima je pokazano da DOM dominantno veže slobodne ione metala, npr. više od 99% Cu^{2+} -iona je snažno vezano s organskim ligandima. No, stabilnost i način nastajanja takvih kompleksa ovisi o različitim fizikalno-kemijskim uvjetima.²⁰

2.3. Kapacitet kompleksiranja metala (MCC)

Kako je već spomenuto u prethodnim poglavljima, različite vrste liganada koje su prisutne u moru mogu stvarati komplekse s ionima metala, u našem slučaju Cu^{2+} -ionima. Kinetika reakcije vezanja Cu^{2+} -iona s nekim organskim ligandom (L_i) prikazuje se jednadžbom:



Konstantom brzine asocijacije (k_a) opisuje se napredna reakcija, odnosno brzina nastajanja kompleksa, dok se brzina povratne reakcije izražava konstantom brzine disocijacije (k_d). Omjer navedenih konstanti predstavlja koncentracijsku konstantu ravnoteže (K_c):

$$K_c = \frac{[\text{Cu}L_i]}{[\text{Cu}^{2+}] \times [L_i]} = \frac{k_a}{k_d} \quad (3)$$

Gdje je $[\text{Cu}^{2+}]$ koncentracija slobodnih Cu^{2+} -iona i $[L_i]$ koncentracija organskih liganada. Poznato je da u moru DOM ima važnu ulogu u specijaciji iona metala, pa tako i Cu^{2+} -iona. S obzirom na složenost sustava i nedovoljno precizno karakteriziranih organskih liganada,

specijacija se vrši na način da se određuju parametri kapaciteta kompleksiranja Cu^{2+} -iona (KKCu). Nastali kompleksi se mogu podijeliti na labilne i nelabilne (inertne) komplekse ovisno omjeru konstanti brzine asocijacije i disocijacije.²¹ Labilni kompleksi koje većim dijelom čine anorganski ligandi karakterizirani su velikom konstantom disocijacije, te su reducibilniji. Organski ligandi u većini slučajeva stvaraju inertne komplekse s ionima metala, posjeduju visoku konstantu stabilnosti, te se teže reduciraju i na taj način određuju biodostupnost metala u sustavu. Najvažniji parametar za karakterizaciju kompleksiranja iona metala sa organskim ligandima je kapacitet kompleksiranja metala (engl. *metal complexing capacity*, MCC). MCC je parametar koji u morskoj vodi kvantificira ligande koji s ispitivanim ionima metala formiraju inertne komplekse, tj. predstavlja koncentraciju pojedinog razreda liganda prisutnih u uzorku $[\text{L}_i]$. Jedinica MCC-a je izražena u mol dm^{-3} kao ekvivalent vezanog metala. Uz koncentraciju pojedinog razreda liganada MCC se dodatno opisuje uvjetnom konstantom stabilnosti nastalih kompleksa, K'_i čiji izraz je jednak onome za koncentracijsku konstantu ravnoteže (3), ali je strogo definirana uvjetima pri kojima se određuje, vrijedi za medij određenog pH i ionske jakosti, te se izražava kao:

$$K'_i = \frac{[\text{CuL}_i]}{[\text{Cu}^{2+}] \times [\text{L}_i]} \quad (4)$$

Parametri MCC-a K'_i i $[\text{L}_i]$ su termodinamički jedinstveni za određeni kompleks jer su karakterizirani različitim fizikalno-kemijskim uvjetima pri kojima se određuju: ionskom jakosti medija, pH, prisutnošću glavnih elemenata kao i metala u tragovima, te kemijskim svojstvima oba člana; organskog liganda i metalnog iona.² Pojam MCC podrazumijeva da je za određeni metal moguće zajedno grupirati ligande na temelju njihovog sličnog ponašanja. U sustavu je moguće odrediti i više razreda liganada te uz pomoć matematičkih modela odrediti koncentraciju pojedinog razreda liganada i njihovu pripadajuću uvjetnu konstantu.

Nekoliko analitičkih metoda koristi se za specijaciju iona metala te ih možemo podijeliti na direktne i indirektne. Elektrokemijske tehnike poput voltometrije anodnog i katodnog otapanja te poteciometrijske tehnike ubrajaju se među direktne metode jer omogućuju izravno mjerenje u uzorku vode. Kod indirektnih metoda prvo se provodi separacija pojedinih frakcija uzorka metodama kromatografije ionske izmjene, ekstrakcije, ultrafiltracije i dr., nakon čega se pomoću drugih tehnika određuje ispitivani analit u pojedinoj odijeljenoj frakciji. Za to se

primjenjuju spektrometrijske tehnike poput atomske apsorpcijske spektrometrije (engl. *atomic absorption spectroscopy*, AAS), induktivno spregnute plazme-masene spektrometrije (engl. *inductively coupled plasma mass spectrometry*, ICP-MS) i dr..^{22,23} Svaka od navedenih metoda ima svoje prednosti i nedostatke, međutim najčešće korištena metoda je upravo diferencijalno pulsna voltometrija s anodnim otapanjem (engl. *differential pulse anodic stripping voltammetry*, DPASV)^{6,24}. Postupak određivanja MCC-a se izvodi direktnom titracijom uzorka standardnom otopinom metala, pri prirodnom pH, a elektrokemijski odgovor mjeri se DPASV metodom. Prati se strujni odaziv sve dok nagib krivulje ovisnosti vršne struje pika (i_p) slobodnog metala o koncentraciji dodanog ne postane konstantan. Strujni pik rezultat je oksidacije elektrokemijski labilne vrste iona metala koja je prethodno reducirana u amalgam sa Hg elektrodom.²⁵ U literaturi se mogu pronaći različiti pristupi i programi koji se koriste za interpretaciju dobivenih kompleksometrijskih krivulja^{26,27}. Podaci iz tih krivulja se zatim mogu pomoću različitih linearizacijskih (npr. Ružić - van den Berg) i nelinearizacijskih (npr. Langmuir/Gerringa model) metoda matematički transformirati kako bi se odredio MCC.^{26,28} Najčešće korišteni pristup je Ružić - van den Berg-ovog model u kojem su detektibilne vrste hidratizirani Cu^{2+} -ioni i/ili Cu^{2+} -ioni vezani za anorganske ili labilne organske ligande (čija je konstanta brzine disocijacije velika za metodu koja se primjenjuje). Inertni kompleksi CuL_i ne disociraju i nisu reducibilni na postavljenom odabranom potencijalu akumulacije (o kojemu će biti riječ u idućem poglavlju), te ih to čini nedetektabilnim²⁵. No, za korištenje ovoga modela podrazumijeva se da je unaprijed poznata ukupna koncentracija prisutnog metala u uzorku.

Ako pretpostavimo da se različiti ligandi mogu tretirati kao jedna vrsta koja s ionom metala stvara 1:1 kompleks onda se njihovo sveukupno ponašanje izražava kao prosjek svojstava, kao što je uvjetna konstanta stabilnosti K'_i . Ukupna koncentracija liganada, $[\text{L}_i]_{\text{uk}}$, dana je izrazom:

$$[\text{L}_i]_{\text{uk}} = [\text{L}_i] + [\text{CuL}_i] \quad (5)$$

Gdje je $[\text{L}_i]$ – koncentracija liganada razreda L_i koji su slobodni za vezanje Cu^{2+} -iona, a $[\text{CuL}_i]$ – koncentracija nastalog Cu^{2+} -ligand kompleksa. Iz izraza (5) može se izvesti da je koncentracija nastalog kompleksa jednaka:

$$[\text{CuL}_i] = [\text{L}_i]_{\text{uk}} - [\text{L}_i] \quad (6)$$

Uvrštavanjem izraza za $[L_i]$ iz (4) u (6) dobiva se:

$$[CuL_i] = [L_i]_{uk} - \frac{[CuL_i]}{K'_i \times [Cu^{2+}]} \quad (7)$$

Sređivanjem izraza (7) dobiva se:

$$\frac{[Cu^{2+}]}{[CuL_i]} = \frac{[Cu^{2+}]}{[L_i]_{uk}} + \frac{1}{K'_i \times [L_i]_{uk}} \quad (8)$$

Koncentracija nastalog kompleksa može se izraziti i kao:

$$[CuL_i] = [Cu^{2+}]_{uk} - [Cu^{2+}]_{nađeno} \quad (9)$$

$[Cu^{2+}]_{uk}$ predstavlja ukupnu koncentraciju bakra prisutnu u istraživanom uzorku (prirodno prisutna + dodana količina u kompleksometrijskim titracijama), a $[Cu^{2+}]_{nađeno}$ koncentraciju iona koja se određuje korištenom metodom. $[Cu^{2+}]_{nađeno}$ određuje se kao:

$$[Cu^{2+}]_{nađeno} = \frac{i_p}{S} \quad (10)$$

gdje je i_p visina pika bakra detektiranog DPASV metodom, a S osjetljivost DPASV metode na prisutnost labilnog Cu^{2+} -iona koja je jednaka nagibu linearnog dijela titracijske krivulje nakon što su sva vezna mjesta zasićena Cu^{2+} -ionima. Zatim zamjenom $[CuL_i]$ s izrazom (9) u (8) se dobiva konačan izraz kojim se opisuje Ružić - van den Berg-ov model:

$$\frac{[Cu^{2+}]_{nađeno}}{[Cu^{2+}]_{uk} - [Cu^{2+}]_{nađeno}} = \frac{[Cu^{2+}]_{nađeno}}{[L_i]_{uk}} + \frac{1}{K'_i \times [L_i]_{uk}} \quad (11)$$

Prikazana jednadžba pravca (11) opisuje ovisnosti $[Cu^{2+}]_{nađeno} / ([Cu^{2+}]_{uk} - [Cu^{2+}]_{nađeno})$ o $[Cu^{2+}]_{nađeno}$ kojom je opisana titracijska krivulja na slici 2.1. Iz nagiba dobivenog pravca $1/[L_i]_{uk}$ određuje se MCC, tj. ukupna koncentracija određenog razreda liganada, dok se iz odsječka pravca na ordinati $1/(K'_i \times [L_i]_{uk})$ može odrediti pripadajuća uvjetna konstanta stabilnosti K'_i . Ukoliko je u sustavu prisutno više od jednog razreda liganada koji daju značajno različite uvjetne konstante stabilnosti, takvi ligandi se mogu grupirati u razrede L_1 i L_2 .^{26,27} Pod pretpostavkom da kompleksi i u ovome slučaju nastaju u omjeru 1:1 izraz za koncentraciju vezanog metala, tj. nastalih kompleksa (CuL_1 i CuL_2) dana je izrazom:

$$[\text{Cu}^{2+}]_{\text{uk}} - [\text{Cu}^{2+}]_{\text{nađeno}} = [\text{L}_1]_{\text{uk}} - [\text{L}_1] + [\text{L}_2]_{\text{uk}} - [\text{L}_2] \quad (12)$$

iz čega proizlazi da su pripadajuće uvjetne konstante stabilnosti za pojedini razred jednake:

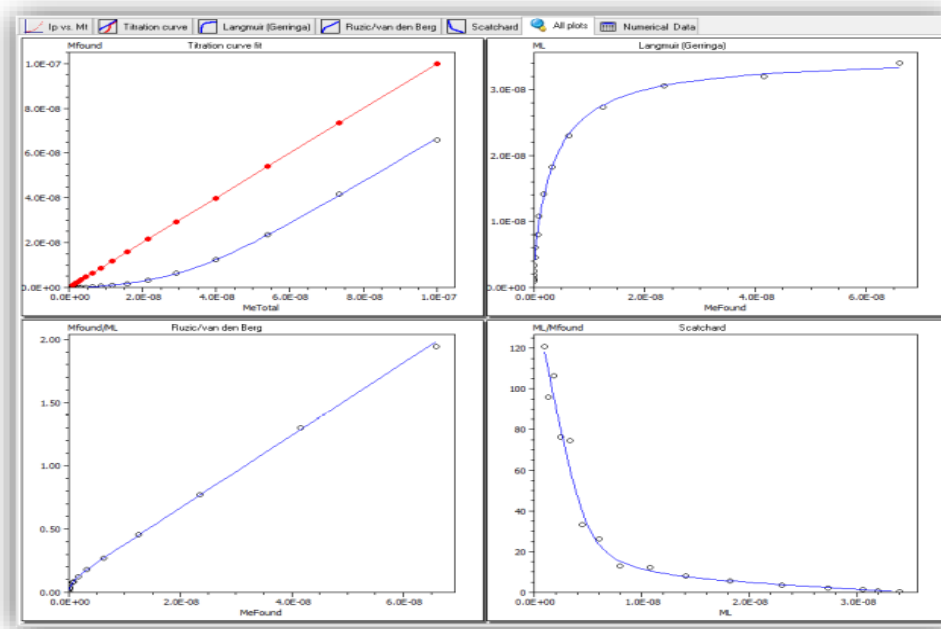
$$K'_1 = \frac{[\text{L}_1]_{\text{uk}} - [\text{L}_1]}{[\text{Cu}^{2+}] \times [\text{L}_1]} \quad \text{i} \quad K'_2 = \frac{[\text{L}_2]_{\text{uk}} - [\text{L}_2]}{[\text{Cu}^{2+}] \times [\text{L}_2]} \quad (13)$$

Daljnijim raspisivanjem jednadžbe dobivaju se složeni izrazi koji su detaljno opisani u citiranim literaturama²⁷.

U ovome radu za određivanje kapaciteta kompleksiranja $[\text{L}_1]$ i $[\text{L}_2]$ te izračun pripadajućih vrijednosti K'_1 i K'_2 korišten je računalni program ProMCC. Uvrštavanjem podataka visine vršne struje pika Cu^{2+} -iona (i_p) i pripadajuće ukupne koncentracije Cu^{2+} -iona prisutne u uzorku, podaci su transformirani pomoću 3 modela u grafove:

1. Langmuir/Gerringa model ($[\text{CuL}_i]$ vs. $[\text{Cu}^{2+}]_{\text{nađeno}}$),
2. Ružić - van den Berg-ov model ($[\text{Cu}^{2+}]_{\text{nađeno}} / [\text{CuL}_i]$ vs. $[\text{Cu}^{2+}]_{\text{nađeno}}$),
3. Scatchard-ov model ($[\text{CuL}_i] / [\text{Cu}^{2+}]_{\text{nađeno}}$ vs. $[\text{CuL}_i]$)

koji su kao primjer prikazani na slici 2.1.

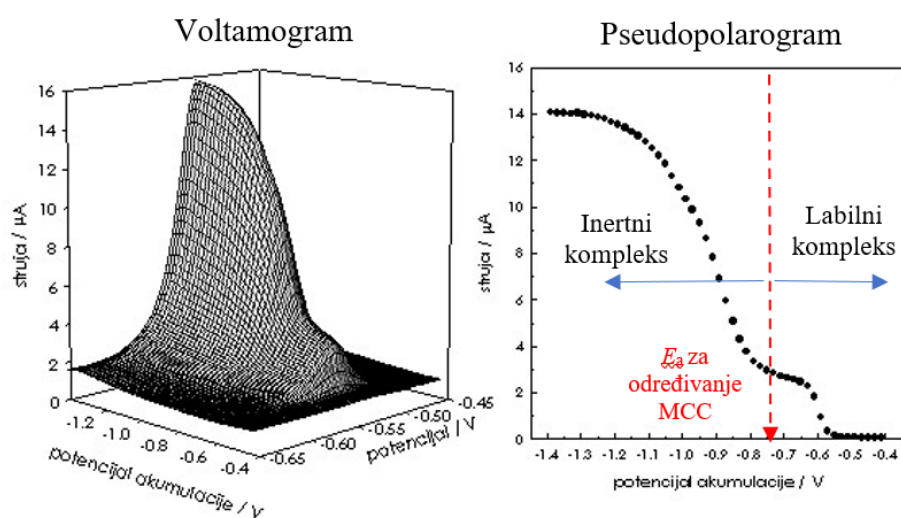


Slika 2.1. Primjer prozora računalnog programa ProMCC. Prikazani grafovi s lijeva na desno:

- 1) kompleksometrijska krivulja; 2) Langmuir/Gerringa model; 3) Ružić - van den Berg-ov model i 4) Scatchard-ov model.

2.3.1. Pseudopolarografija

Pseudopolarografija je elektroanalitička metoda koja se koristi za određivanje specija iona metala u tragovima u modelnim elektrolitima i prirodnim vodama pri vrlo niskim koncentracijama. Metoda se počela koristiti u 70-im godinama prošlog stoljeća, a zasniva se na voltametriji anodnog otapanja (engl. *anodic stripping voltammetry*, ASV) uz Hg kao radnu elektrodu²⁹. U proteklih nekoliko godina sve je češće korištena metoda jer je automatizirana i omogućuje karakterizaciju interakcije DOM sa ionima metala koji zajedno sa živom tvore amalgam^{2,6,30}. Izvodi se na način da se otopina ispitivanog analita podvrgne mjerenju serije ASV voltamograma uz uzastopne promjene akumulacijskog potencijala. Postupak uključuje nakupljanje nastalog amalgama pri različitim redukcijskim potencijalima, te njegovu naknadnu reoksidaciju.³⁰ Pseudopolarogrami se prikazuju kao ovisnost intenziteta vršne struje pika (i_p), koja je očitana iz voltamograma o pripadajućem potencijalu akumulacije (E_a) koji su kao primjer prikazani na slici 2.2.



Slika 2.2. Primjer dobivenih voltamograma pri različitim potencijalima akumulacije pri snimanju pseudopolarograma.³¹

Pseudopolarografija ne ovisi izravno o koncentraciji oksidirane i reducirane vrste već o potencijalu akumulacije. Glavna prednost ove metode je što omogućuje separaciju različitih specija metala na one elektrokemijski labilne od inertnih.^{2,6} Prema teoriji i provedenim istraživanjima dokazano je da je moguće uočiti jedan ili više redukcijskih pikova koji odgovaraju jednom labilnom i/ili jednom ili više inertnih kompleksa metal-ligand. Položaj pikova tj. potencijal pri kojem se javljaju (E_p) određen je odgovarajućom konstantom stabilnosti

pripadajućeg kompleksa. Inertniji kompleksi će se reducirati pri negativnijim potencijalima nego labilni kompleksi.³² Upravo iz toga proizlazi da se pseudopolarogrami mogu smatrati „otiskom prsta“ svakog uzorka, jer položaj pika i oblik same krivulje su karakteristični za svaki uzorak te iz njih možemo dobiti informacije o kompleksiranju.⁶ Za određivanje MCC-a kojeg smo obradili u prošlom odlomku bitno je i odrediti potencijal akumulacije pri kojemu se mjerenja vrše. Povoljan E_a je onaj pri kojemu će se sav slobodan i labilno vezan metal uspješno reducirati, a inertni kompleksi ostati nepromijenjeni, te ga je moguće odrediti upravo iz pseudopolarograma (slika 2.2.)³².

2.3.2. PAT kao interferencija u određivanju KKCu

Cu^{2+} -ioni su u morskoj vodi prisutni u vrlo malim koncentracijama što znači da je za njihovu kvantifikaciju i specijaciju potrebno primijeniti vrlo osjetljive analitičke metode. Prilikom određivanja parametara koristeći DPASV na živinoj elektrodi u prirodnim vodenim uzorcima javljaju se interferencije zbog prisutnosti površinski aktivnih tvari (PAT). PAT utječu na fizikalno-kemijska svojstva površina na način da se akumuliraju na granicama različitih faza, te tako ograničavaju proces prijenosa tvari između faza.³³

Od organskih spojeva prisutnih u morskoj vodi samo je manji dio identificiran te klasificiran po skupinama: ugljikovodici, aminokiseline, proteini, ugljikohidrati, lipidi i masne kiseline, dok je većina tvari nekarakterizirana na molekulskom nivou²⁵. Pojedine vrste organskih spojeva pokazuju svojstva površinski aktivnih tvari. Svojstva potječu iz njihovih amfifilnih struktura: hidrofilne funkcionalne skupine npr. $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$, $-\text{SH}$ stvaraju elektrostatske interakcije s molekulama vode, a hidrofobni dijelovi strukture poput aromatskog prstena, ugljikovodika, te lanaca masnih kiselina ne stvaraju. Organske molekule adsorbiraju se na površinu radne elektrode te zbog svog amfifilnog karaktera mijenjaju električna svojstva granice faza elektroda/otopina i na taj način utječu na elektrokemijske procese tvari, kao što su na primjer redoks procesi iona metala.³³ PAT ometaju redukciju Cu^{2+} -iona u amalgam, kao i njihovu reoksidaciju.^{6,7} Posljedica adsorpcije je slabija osjetljivost i/ili deformacija pika, što krajnje može dovesti do nepreciznih parametara KKCu. Prednost korištenja viseće živine kapi kao radne elektrode je stvaranje nove kapi jednake površine prije svakog mjerenja. Količina adsorbirane tvari i njezin utjecaj ovisi o sastavu prirodnog uzorka kao i količini PAT.

Istraživanja su pokazala da se primjenom negativnog potencijala u vremenu od 1% od ukupnog vremena akumulacije gotovo cijeli sloj adsorbirane prirodne PAT ukloni sa površine živine kapi što znatno smanjuje efekt površinskih interferencija i omogućava bolji odziv određivanog metala.⁶ Kako bi se uklonile interferencije nakon koraka akumulacije je potrebno primijeniti korak desorpcije na negativnom potencijalu.⁶ Nadalje, neki elektrodni procesi mogu se odvijati s većom uspješnosti kada je na elektrodi adsorbiran spoj koji može olakšati prijenos elektrona. U prisutnosti nekih modelnih PAT elektrostatske interakcije u adsorbiranom sloju poboljšavaju voltametrijski signal Cu^{2+} -iona. Takav utjecaj primijećen je s modelnim neionski sufraktantom T-X-100 koji je pokazao da ima pozitivan utjecaj na redoks procese Cu.^{6,7,34} Također je pokazano da SDS (natrijev dodecil sulfat) smanjuje interferenciju proteina prilikom detekcije kadmija i olova na rotirajućoj elektrodi od staklastog grafitu u ASV³⁵ te da je SDS efektivan u sprečavanju adsorpcije proteina i fosfolipida na elektrodi od staklastog grafitu u voltametrijskoj detekciji bioorganskih spojeva³⁶. Razlog takvog djelovanja je interakcija SDS-a s proteinom čime utječe na njegovu strukturu i konformaciju.³⁷

2.4. Voltametrija

Voltametrija je zajednički naziv za skupinu elektrokemijskih tehnika koje se temelje na mjerenju struje nastale kontinuiranim mijenjanjem napona na elektrodama. Voltametrijska mjerenja izvode se u elektrokemijskoj ćeliji s troelektrodim sustavom:

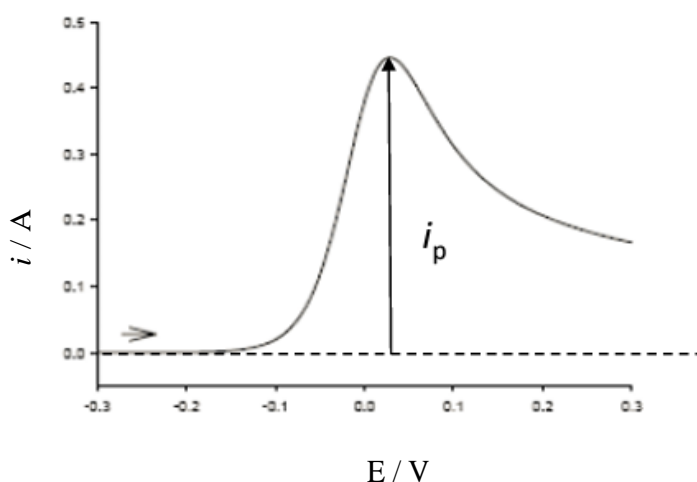
- **Radna elektroda** je ona čiji se potencijal mijenja s vremenom jer se na njenoj površini odvija temeljna elektrokemijska reakcija. U voltametriji se koriste elektrode koje imaju stalnu površinu poput viseće živine kapi, elektroda s živinim filmom ili elektrode od materijala poput platine i grafitu. Viseća živina kap sve je češće korištena tijekom voltametrijskih mjerenja zbog nekoliko razloga. Svaka nova kap koja se stvori ima svježju površinu čime se izbjegava zagađivanje elektrode, što je važno zbog visoke osjetljivosti i reproducibilnosti mjerenja. Drugi razlog je što posjeduje relativno visok raspon negativnog potencijala koji se može primijeniti, a da se izbjegne redukcija vode u vodik, u odnosu na druge elektrode³⁸. Dodatna prednost je što se koristi u analizi iona metala koji sa Hg stvaraju amalgam ili iona metala čiji se kompleksi mogu adsorbirati na Hg površini.³⁹

- **Referentna elektroda** je elektroda konstantnog potencijala, od kojih se najčešće koristi Ag/AgCl elektroda sa zasićenom otopinom KCl-a kojoj je elektodni potencijal + 0,197 V u odnosu prema standardnoj vodikovoj elektrodi. Zasniva se na polureakciji:



- **Protuelektroda** služi za zatvaranje strujnog kruga s radnom elektrodom i na taj način omogućuje protok struje tijekom mjerenja, a u tu svrhu najčešće je korištena platinska žica³⁸.

Elektrode se spajaju na potenciostat koji omogućuje primjenu različitog potencijala pobude (signal pobude) između referentne i radne elektrode, a mjeri se jakost struje (signal doziva) koja teče između radne elektrode i protuelektrode. Signal pobude funkcija je vremena, te može biti linearna, stupnjevita ili pulsna, dok neke vrste voltametrije koriste i superponirani izmjenični signal (voltametrija izmjenične struje, engl. *alternating current voltammetry*, ACV). S obzirom na način primjene potencijala razvijene su različite vrste voltametrije, a neke od njih su ciklička voltametrija, voltametrija s linearnom promjenom potencijala, diferencijalna i normalna pulsna voltametrija i dr.. Dobiveni rezultati mjerenja zatim se prikazuju kao voltamogrami koji predstavljaju ovisnost jakosti struje o različitom potencijalu kao primjer na slici 2.3.



Slika 2.3. Voltametrijska krivulja ovisnosti jakosti struje (i) o potencijalu (E) (uz linearnu promjenu potencijala s vremenom).³⁹

Metoda se temelji na tome da je potencijal korištene radne elektrode znatno pozitivniji od formalnog elektrodnog potencijala (E°) redoks sustava elektroaktivne vrste koja se određuje, te tada kroz ćeliju teče samo osnovna (rezidualna) struja. Primjenom negativnijeg potencijala na elektrodu raste brzina redukcije elektroaktivne vrste te se na površini elektrode odvija reakcija:



Gdje je O oksidirani i R reducirani oblik ispitivane vrste, a z broj elektrona koji sudjeluje u reakciji, pri čemu ako je metal topiv u živi nastaje amalgam. Kada vrijednost potencijala primijenjenog na radnu elektrodu postane gotovo jednaka formalnom naboju elektroaktivne vrste brzina redukcije naglo raste i na voltamogramu se pojavljuje uzlazni dio krivulje odaziva. Struja elektrode je određena brzinom difuzije čestica O na površinu elektrode iz otopine, a brzina difuzije ovisi o koncentraciji prisutne tvari. Kod dovoljno negativnog potencijala doći će do trenutne redukcije svih O vrsta koje su difundirale iz otopine. Pri tim uvjetima je brzina difuzije prema površini radne elektrode maksimalna i struja poprima maksimalnu vrijednost koji označavamo sa i_p . Daljnjim odvijanjem procesa redukcije smanjuje se koncentracija vrste O koje se nalaze u graničnom sloju oko živine kapi, što rezultira postupnim sniženjem strujnog odaziva iz čega proizlazi valni oblik krivulje koji se uočava na voltamogramima. Vršna struja dobivenog vala i_p definirana je izrazom³⁹:

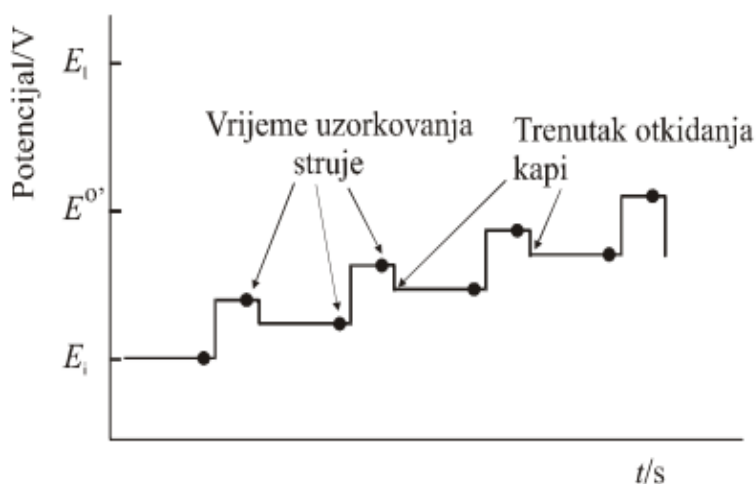
$$i_p = k z^{\frac{3}{2}} A (D_O v)^{\frac{1}{2}} c_o \quad (16)$$

Gdje je k konstanta, A površina živine kapi (radne elektrode), D_O difuzijski koeficijent oksidirane vrste O, v brzina promjene potencijala i c_o koncentracija oksidirane tvari O. Iz toga proizlazi da je vršna struja direktno proporcionalna prisutnoj koncentraciji ispitivane tvari prisutne u otopini.

Voltometrija je elektroanalitička metoda koja omogućuje direktno mjerenje analita i karakteriziraju ju niske detekcijske granice za određivanje redoks aktivnih tvari do koncentracije 10^{-11} mol dm⁻³, zbog čega je jedna od primjenjivanih metoda u analitičkoj kemiji.

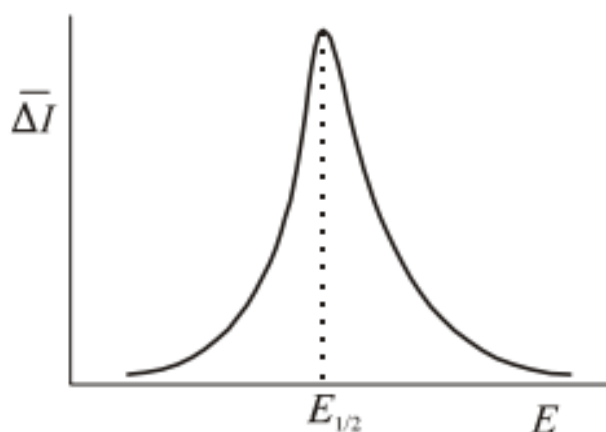
2.4.1. Diferencijalno pulsna voltametrija

Diferencijalno pulsna voltametrija (engl. *differential pulse voltammetry*, DPV) predstavlja voltametrijsku tehniku koja je dobila ime po tome što se mjeri razlika u struji koja je uzrokovana primjenom naponskog impulsa amplitude od 10 do 100 mV na radnoj elektrodi. Postupak se provodi na način da se struja u uzorku mjeri dva puta tijekom života živine kapi: prije svakog primijenjenog naponskog impulsa i na kraju trajanja impulsa, te se odredi razlika između izmjerenih vrijednosti struje (signal odziva) kao funkcija potencijala. Naponski impuls traje od 5 do 100 ms, a primjenjuje se na osnovni signal pobude pri čemu se javlja mali pravokutni naponski impuls koji je prikazan na slici 2.4. Vrijeme otkidanja živine kapi kao i vrijeme primjene napona automatski je kontrolirano i zadano računalnim programom.



Slika 2.4. Oblik signala pobude i vremena primjene naponskog impulsa s naznačenim vremenima uzorkovanja (mjerjenja) struje ćelije u DPV.³⁹

Diferencijalno pulsni voltamogrami prikazuju funkciju ovisnosti signala odziva o potencijalu elektrode te daju jasno definirane pikove koji su pogodni za analizu (slika 2.5). Signal odziva je faradayska struja koja potječe od kemijske reakcije tj. procesa reoksidacije iona metala iz amalgama.



Slika 2.5. Izgled diferencijalnog pulsno voltamograma.³⁹

Metodu karakterizira visoka osjetljivost na ispitivanu elektroaktivnu tvar, omogućuje detekciju iona metala i pri 1000 puta nižim koncentracijama nego što je moguće sa klasičnim voltametrijskim tehnikama.³⁸ Upotrebljava se u sklopu voltametrije anodnog otapanja u koraku u kojem se vrši oksidacija akumuliranog metala na radnoj elektrodi. Takva metoda naziva se diferencijalno pulsna voltametrija anodnog otapanja (engl. *Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry, DPASV*).

Postupak se provodi u dva dijela:

- 1) Akumulacija ili pretkoncentriranje ispitivanog metala na radnoj elektrodi. Postupak akumulacije se provodi na potencijalu negativnijem od poluvalnog potencijala ($E_{1/2}$) ispitivane vrste³⁹ uz neprestano miješanje otopine koje je računalno kontrolirano. Ako su u uzorku prisutni i spojevi koji sa metalnim ionom mogu tvoriti inertne ili labilne komplekse, potencijal akumulacije treba biti još negativniji. Vrijeme akumulacije analita se određuje ovisno o koncentraciji i traje od 2 do 15 min, pri čemu se ispitivani metal taloži na površini elektrode, a ukoliko je metal topljiv u živi stvara se amalgam.
- 2) Anodno otapanje metala koji se akumulirao na živinoj kapi izvodi se na način da se promijeni potencijal radne elektrode u pozitivnom smjeru, čime dolazi do oksidacije metala i snima se pripadajući voltamogram.

Koncentracija nastalog amalgama ovisi o mnogim čimbenicima: trajanje koraka akumulacije, primijenjeni potencijal, volumen žive, koncentracija iona metala u uzorku, uvjeti anodnog otapanja... DPASV metoda jedna je od najosjetljivijih metoda koje se primjenjuju za specijaciju metala u tragovima, čiji detekcijski prag u povoljnim uvjetima može biti ispod 10^{-11} mol dm⁻³.^{6,7,24} Ograničenje ove metode predstavlja činjenica da se radi o kinetički ovisnoj tehnici, te da bi određeni inertni kompleksi mogli disocirati tijekom koraka akumulacije, što bi vodilo do krivih rezultata.⁶

2.4.2. Voltometrija izmjenične struje

Voltometrija izmjenične struje (engl. *alternating current voltammetry*, ACV) je voltometrijska metoda koja je ovisna o frekvenciji te je karakterizirana amplitudama malih potencijala u vremenu kao signal pobude.⁴⁰ Tijekom izvođenja metode moguća je primjena sinusoidalnog pobudnog potencijala izvan faze (fazni kut, $\Phi = 90^\circ$) i u fazi ($\Phi = 0^\circ$), što nam omogućuje nezavisno mjerenje kapacitivne struje (I_c) i faradayske struje (I_f) kao funkcije elektrodnog potencijala.²⁴ Kapacitivna struja je ona struja koja nastaje kao posljedica nabijanja električnog dvosloja na površini elektrode te se mjeri uz primjenu pobudnog potencijala izvan faze. Faradayska struja se mjeri primjenom pobudnog potencijala u fazi, a nastaje zbog redoks procesa koji se odvija na radnoj elektrodi. Signal odziva se javlja kao posljedica procesa adsorpcije/desorpcije električki nabijene ili nenabijene molekule na elektrodi. Mjerenja izvan faze primjenjuju se za proučavanje organskih molekula koje imaju svojstva površinsko aktivnih tvari u prirodnim vodama.^{18,25,26} U prisutnosti površinski aktivnih organskih tvari vrijednost kapacitivne struje se snižava u odnosu na čisti elektrolit pri odabranom potencijalu što se karakterizira kao funkcija količine adsorbirane tvari na elektrodi.²⁴

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Kemikalije i otopine

Prilikom provođenja eksperimentalnog rada korištene su sljedeće kemikalije:

- Milli-Q voda, MQ, 18.2 M Ω cm, Merck-Millipore, Darmstadt, Njemačka
- Dušična kiselina 65 %, HNO₃, p.a., KEFO, Ljubljana, Slovenija
- Dušična kiselina 65 %, HNO₃, s.p., Merck-Millipore, Darmstadt, Njemačka
- Metanol, CH₃OH, p.a., Kemika, Zagreb
- Etanol, C₂H₅OH, p.a., Kemika, Zagreb
- Triton-X-100, T-X-100, Sigma-Aldrich, Steinheim, Njemačka
- Natrijev dodecil sulfat, CH₃(CH₂)₁₁OSO₃Na, SDS, $c = 10^{-2}$ mol dm⁻³
- Trimetil(oktadecil)amonijev bromid, C₂₁H₄₆BrN, TMAB, MW = 392,50 Da, Sigma-Aldrich, Švicarska
- Dekstran, MW = 2 000 000 Da
- Kitozan oligosaharid laktat, MW = 5 000 Da, Sigma-Aldrich, USA
- Natrijev alginat, Sigma-Aldrich, Kina
- Goveđi serum albumin, BSA, MW = 66 463 Da, liofiliziran, Merck, Darmstadt, Njemačka
- Fulvična kiselina, izolirana iz rijeke, International Humic Substances Society (IHSS) Suwane River Fulvic Acid, SRFA; 3S101F: Suwannee River III, $\gamma = 100$ mg dm⁻³
- ι-karagenan, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Njemačka
- Standardna otopina bakrovog(II) nitrata, Cu(NO₃)₂, $\gamma = 1$ g dm⁻³, Merck, Darmstadt, Njemačka
- Pufferi pH = 7,00 i 4,00, Kemika, Zagreb, Hrvatska

Priprema otopina modelnih morskih analita

Otopine modelnih spojeva ($\gamma = 1 \text{ g dm}^{-3}$) dekstrana, kitozana, alginata, ι -karagenana, BSA i 100 mg dm^{-3} SRFA pripremljene su otapanjem u MQ vodi. Krute tvari izvagane su na analitičkoj vagi te prenesene u odmjernu tikvicu. Tikvica je zatim nadopunjena do oznake MQ vodom. Za određivanje DOC-a odvojeno je 20 mL otopine, a ostatak je korišten za voltometrijska mjerenja.

Priprema otopina modelnih površinski aktivnih tvari

Otopina T-X-100 priređena je razrjeđivanjem tekuće kemikalije na koncentraciju $\gamma = 0,7 \text{ g dm}^{-3}$ i $\gamma = 0,25 \text{ g dm}^{-3}$. SDS je pripremljen razrjeđivanjem otopine na $\gamma = 0,5 \text{ g dm}^{-3}$. Otopina TMAB koncentracije $\gamma = 0,5 \text{ g dm}^{-3}$ priređena je vaganjem na polumikro vagi (na 5 decimalnih mjesta, Mettler-Toledo, XS205, Švicarska) te otapanjem praha u MQ vodi izlaganjem mikrovalovima.

Priprema standardnih otopina bakra

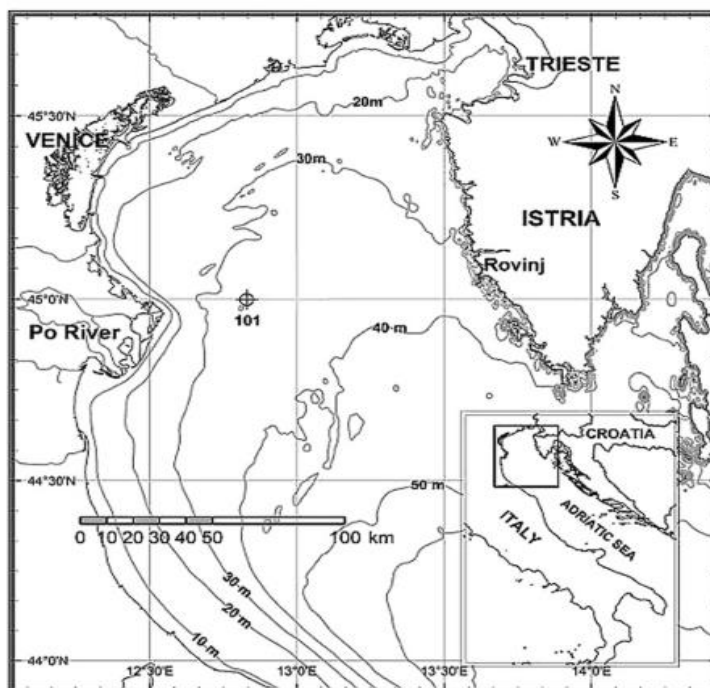
Standardna otopina $10^{-5} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ pripravljena je dodatkom $50 \mu\text{L } 10^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u $4950 \mu\text{L}$ MQ vode, dok je standardna otopina $10^{-4} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ pripravljena dodatkom $500 \mu\text{L } 10^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u $4500 \mu\text{L}$ MQ vode.

Priprema modelnog elektrolita

Elektrolit morske vode pripremljen je uklanjanjem organske tvari iz morske vode uzorkovane u središnjem Jadranu. Nakon čuvanja u hladnjaku na $+4 \text{ }^\circ\text{C}$ najmanje 3 mjeseca, voda je profiltrirana kroz GF/F membranski filter veličine pora $0,7 \mu\text{m}$ (Whatman) kako bi se uklonila čestična tvar. Sustav za vakuum filtraciju prije korištenja ispran je MQ vodom. Sakupljeni filtrat zatim je izložen 24 h UV zračenju (150 W visokotlačna Hg lampa) kako bi se oksidirala organska tvar. Nakon uklanjanja čestične i otopljene organske tvari, zaostali su samo anorganski ioni prirodno prisutni u moru.

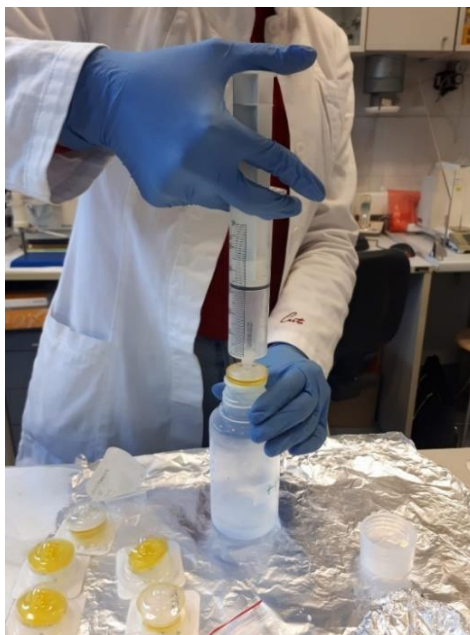
3.2. Uzorkovanje i priprema uzoraka

Morski uzorci analizirani u radu uzorkovani su na području sjevernog Jadrana, na postaji SJ101 (44°59'53" sjeverno, 12°49'48" istočno) (slika 3.1). Uzorci su prikupljeni u ožujku, svibnju, lipnju, srpnju i kolovozu 2017. godine pomoću Niskinovog crpca uz površinu (~0,5 m) i pri dnu (~30 m). Spremljeni su u PE boce koje su prethodno oprane 10 % -tnom otopinom HNO₃ i dobro isprane MQ vodom. Uzorci su zatim odmah smrznuti na -20 °C te su tako skladišteni do analiza.



Slika 3.1. Sjeverni Jadransko more sa označenom postajom za uzorkovanje SJ101.²⁵

Prije samog mjerenja uzorci su odmrznuti preko noći u hladnjaku na +4 °C. Nakon termostataranja na sobnu temperaturu svaki uzorak je profiltriran pomoću šprice kroz celulozno acetatni (CA) filter veličine pora 0,45 µm (Minisart, Sartorius, Göttingen, Njemačka) kako bi se odvojile čestice od otopljene organske frakcije (slika 3.2). Filteri su prije korištenja isprani sa 180 mL MQ vode.



Slika 3.2. Filtriranje uzorka morske vode pomoću šprice kroz celulozno acetatni (CA) filter veličine pora 0,45 μm .

Alikvoti volumena 25 mL tako pripremljenih filtrata korišteni su za određivanje koncentracije DOC-a, prirodno prisutnih PAT, ukupnog bakra u uzorku, te za kompleksometrijsku titraciju. U kompleksometrijskoj titraciji uzorci su titrirani standardnom otopinom Cu^{2+} , pri prirodnom pH. Rezultati su grafički prikazani kao ovisnost struje (i_p) o koncentraciji Cu^{2+} -iona (prirodno prisutnog + dodanog tijekom kompleksometrijske titracije).

Za određivanje ukupne koncentracije bakra u uzorku morske vode, svaki uzorak (aliquot 25 mL) je zakiseljen 65 % -tnom HNO_3 , *s.p.* do $\text{pH} < 2$ te izložen 24 h UV zračenju. Zračenjem su „razoreni“ prisutni ligandi čime se oslobodio sav bakar iz inertnih kompleksa. Uzorci su zatim titrirani standardnom otopinom Cu^{2+} sa najmanje 5 dodataka. Dobivene vrijednosti ovisnosti struje vrha pika Cu^{2+} (i_p) o dodanoj koncentraciji Cu^{2+} -iona unesene su u program StandAdd te je iz odsječka pravca na x-osi izračunata koncentracija ukupnog otopljenog bakra u uzorku. Podaci o ukupnoj koncentraciji otopljenog Cu^{2+} i slobodnog/labilnog Cu^{2+} potrebni su za određivanje parametara KKCu: koncentracije pojedinih grupa organskih liganada (L_i) i njihovih uvjetnih konstanti stabilnosti ($\log K'_i$).

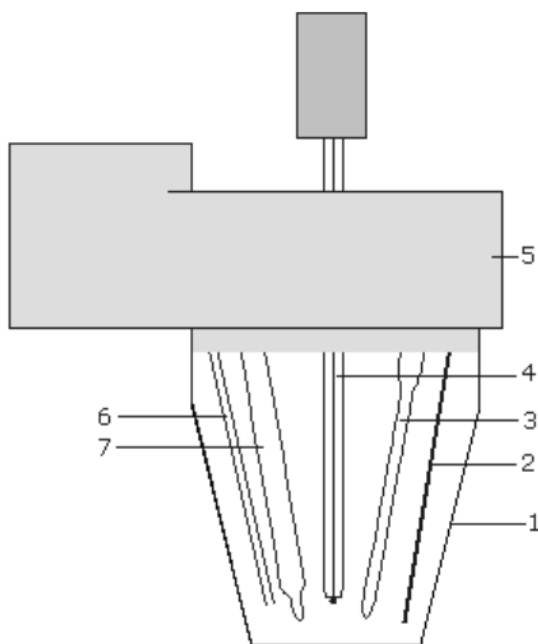
3.3. Instrumentacija i pribor

Sva voltametrijska mjerenja provedena su instrumentom μ AUTOLAB potenciostat/galvanostat tip III (Metrohm, Utrecht, Nizozemska) povezanim s 663VA Stand troelektrodnim sustavom (Metrohm, Herisau, Švicarska) i IME (engl. *Interface for Mercury Electrode*) jedinicom (slika 3.3). Sustavom se upravljalo putem osobnog računala pomoću programskog paketa *GPES 4.9* (engl. *General Purpose Electrochemical System*).



Slika 3.3. Mjerni sustav korišten za voltametrijska mjerenja: 663VA Stand troelektrodni sustav povezan s μ AUTOLAB potenciostatom/galvanostatom i IME jedinicom.

Elektroanalitička ćelija sa troelektrodnim sustavom shematski je prikazana na slici 3.4. U staklenu ćeliju radnog volumena 25 mL su uronjene: referentna elektroda, staklena kapilara sa živom, protuelektroda, cjevčica za uvođenje dušika (99,999%, Messer, Zagreb) i teflonska rotirajuća miješalica. Na poklopcu ćelije nalazi se otvor s čepom (nije naznačen na slici) kroz koji je moguće dodavati otopinu, namjestiti pH elektrodu ili biretu.



Slika 3.4. Shema troelektrodnog sustava: 1 - elektrokemijska ćelija, 2 - protuelektroda, 3 - referentna elektroda, 4 - staklena kapilara, 5 - poklopac, 6 - cjevčica za uvođenje dušika, 7 - rotirajuće teflonsko miješalo.

Radna elektroda bila je viseća živina kap (engl. *static mercury drop electrode*, SMDE) površine $0,52 \text{ mm}^2$. Kao protuelektroda korišten je štapić od staklastog ugljika (engl. *glassy carbon*, GC). Svi potencijali su izraženi prema referentnoj elektrodi Ag|AgCl s $5.5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ NaCl}$ u elektrolitnom mostu. Postupci miješanja otopine, propuštanja dušika, te stvaranja nove živine kapi tijekom mjerenja kontrolirani su računalom.

Ostala korištena oprema:

- polumikro vaga (Mettler-Toledo, XS205, Švicarska),
- UV lampa (150 W visokotlačna Hg lampa),
- pH metar (Hanna Instruments) s mikroelektrodom (Metrohm, Švicarska),
- mikropipete Eppendorff (2 – 20) μL , (10 – 100) μL , (10 – 1000) μL , (1000 – 5000) μL ,
- odmjerne tikvice, laboratorijske čaše, šprica, filteri...

3.4. Metode i mjerenja

Voltametrijska mjerenja provedena su tehnikama voltametrije izmjenične struje (ACV) i diferencijalne pulsne voltametrije anodnog otapanja (DPASV). Modelne otopine korištene su za eksperimentalno određivanje optimalnih uvjeta rada i utjecaja PAT koji su se zatim primijenili za određivanje parametara KKCu u uzorcima morske vode. U elektroanalitičku ćeliju je za svako mjerenje stavljeno 25 mL otopine.

Predeksperimentalne radnje

Korištene metode imaju visoku osjetljivost na metal koji se određuje, zbog čega je potrebno ukloniti sve nečistoće prije mjerenja. Elektroodni sustav i ćelija ispirani su prije i poslije svakog mjerenja razrijeđenom 10 %-tnom otopinom HNO₃ p.a. kako bi se uklonile anorganske nečistoće, a zatim tri puta MQ vodom kako bi se uklonila zaostala kiselina. Ukoliko nije postignuta zadovoljavajuća čistoća sustav bi se dodatno ispirao metanolom te ponovno kiselinom i tri puta MQ vodom. Postupak čišćenja je ponavlján dok nije utvrđeno da je sustav čist, nakon čega bi se pristupilo mjerenju. Prije svakog mjerenja u ACV ili DPASV snimljena je bazna linija u modelnom elektrolitu.

Modelni spojevi

Postupak mjerenja i određivanja:

1. Mjerena je promjena kapacitetne struje u morskoj vodi s dodatkom modelnog spoja ACV tehnikom iz čega je određena adsorpcijska izoterma za svaki model. Modelni spoj dodavao se dok minimalno 3 uzastopna dodatka nisu dala jednaku vrijednost kapacitetne struje. Odabirom koncentracije modelne otopine, prema podacima iz adsorpcijske izoterme (navedeno u tekstu za svaki model), promatran je utjecaj primjene različitog potencijala akumulacije (E_a), vremena akumulacije (t_a) i potencijala desorpcije (E_d) na vrijednost kapacitetne struje tehnikom ACV.
2. Mjerenje utjecaja koncentracije PAT na visinu pika Cu²⁺ u modelnoj otopini u DPASV. U modelnu otopinu dodani su Cu²⁺-ioni (u tekstu navedena koncentracija) te je titrirana s PAT. Promatran je utjecaj na visinu pika Cu²⁺ pri potencijalu $\sim -0,2$ V.
3. Određivanje utjecaja različitog potencijala desorpcije (E_d) na visinu pika Cu²⁺ u modelnoj otopini u DPASV.

4. Krivulja kapaciteta kompleksiranja bakra (KKCu) dobivena je titracijom modelne otopine sa standardnom otopinom Cu^{2+} . Mjerenja su izvedena u DPASV pri uvjetima koji su dali najbolje rezultate u prethodnim ispitivanjima. Ukoliko je KKCu mjeren uz prisustvo T-X-100, on je dodan u otopinu prije samog početka titracije.

Površinski aktivne tvari:

Postupak mjerenja i određivanja:

1. Određena je adsorpcijska izoterma za PAT: T-X-100, SDS i TMAB.
2. Snimljeni su voltamogrami svih ispitanih PAT pri različitim koncentracijama u DPASV kako bi se utvrdilo da oni sami ne daju pik pri potencijalu $\sim -0,2$ V na kojem se očekuje reoksidacijski pik Cu^{2+} .

Sva mjerenja tehnikom ACV provedena su bez prethodnog uklanjanja kisika pri sljedećim uvjetima:

- korak potencijala (ΔE) = 40,05 i 19,95 mV,
- amplituda impulsa (a) = 49,95 mV,
- vrijeme trajanja impulsa = 0,21 s,
- vrijeme između impulsa = 0,61 s,
- frekvencija, $f = 77,35$ Hz,
- fazni kut, $\Phi = 90$.

Mjerenja tehnikom DPASV provedena su pri sljedećim uvjetima:

- vrijeme uvođenja dušika u otopinu, $t(\text{N}_2) = 180$ s,
- korak potencijala (ΔE) = 4,95 mV,
- amplituda impulsa (a) = 25,05 mV,
- vrijeme impulsa = 0,05 s,
- vrijeme između impulsa = 0,61 s.

3.5. Obrada podataka

Snimljeni voltamogrami su analizirani u programu ECDSOFT (engl. *ElectroChemical Data SOFTWARE*). Očitana je visina i potencijal vrha pika, te širina na polovici visine pika. Svi grafički prikazi i dijagrami izrađeni su u programu OriginPro 2018.

Ukupna koncentracija bakra u pojedinom uzorku izračunata je pomoću programa StandAdd, koji je dostupan na internetskoj stranici <https://www.irb.hr/Zavodi/Zavod-za-istrazivanje-mora-i-okolisa/Laboratorij-za-fizicku-kemiju-tragova/Clanci/Software/Standard-Addition-Plot>.

Rezultati kompleksometrijskih titracija morskih uzoraka su u programu ProMCC matematički transformirani u Ružić - van den Berg, Scatchard i Langmuir/Gerringa model. Iz Scatchard-ovog modela određen je broj grupa liganada (L_i) koji vežu Cu^{2+} -ione te je izračunata koncentracija tih grupa liganada i odgovarajuća uvjetna konstanta stabilnosti. Programi ECDSOFT i ProMCC razvijeni su na Institutu Ruđer Bošković. ProMCC je dostupan na internetskoj stranici <https://sites.google.com/site/daromasoft/home/promcc>, dok je u radu Omanović i sur., 2015. detaljno objašnjena njegova primjena⁵.

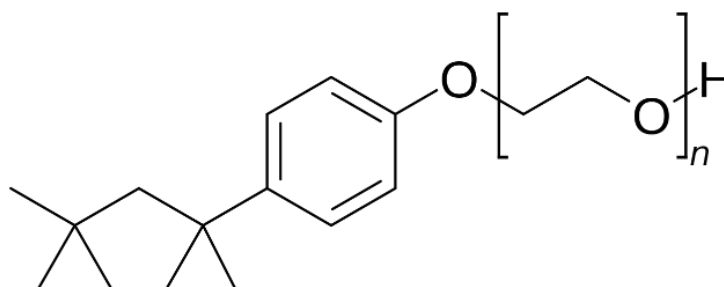
§ 4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovome radu istraživali smo ulogu modelnog neionskog sufraktanta T-X-100, kationskog TMAB (trimetil(oktadecil)amonijev bromid) i anionskog SDS u uklanjanju interferencija prilikom određivanja parametara $KKCu$, a koje su posljedica adsorpcije izabranih organskih molekula prirodno prisutnih u moru i porijeklom iz mora. Najprije smo ispitali adsorpciju i moguće elektrodne procese njih samih, a zatim njihov utjecaj na elektrokemijski odziv Cu^{2+} .

4.1. Modelne površinsko aktivne tvari

4.1.1. T-X-100

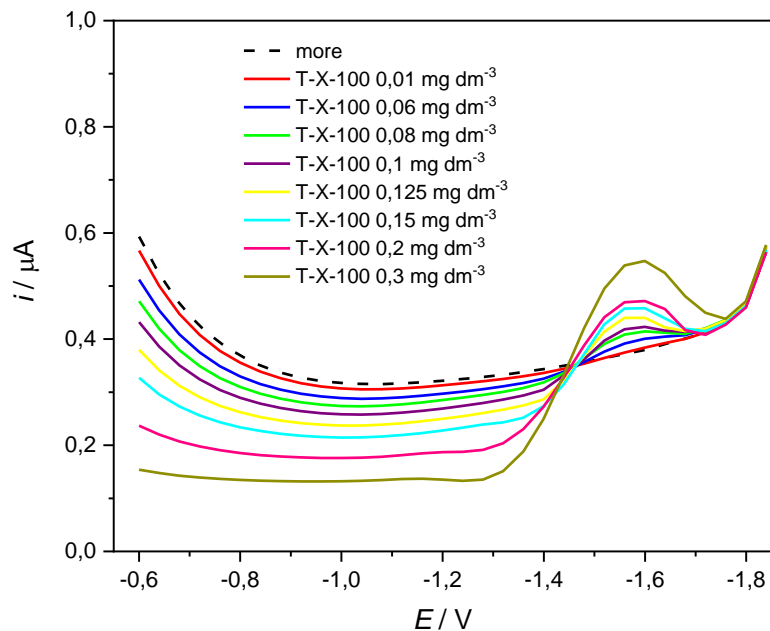
T-X-100, 2-[4-(2,4,4-trimetilpentan-2-il)fenoksi]etanol, je tekućina topljiva u vodi. Struktura mu se sastoji od hidrofilnog lanca polietilen oksida i aromatske hidrofobne skupine sa ugljikovodičnim lancem u para položaju (slika 4.1). Zbog svoje amfifilne strukture ubraja se u neionske PAT.



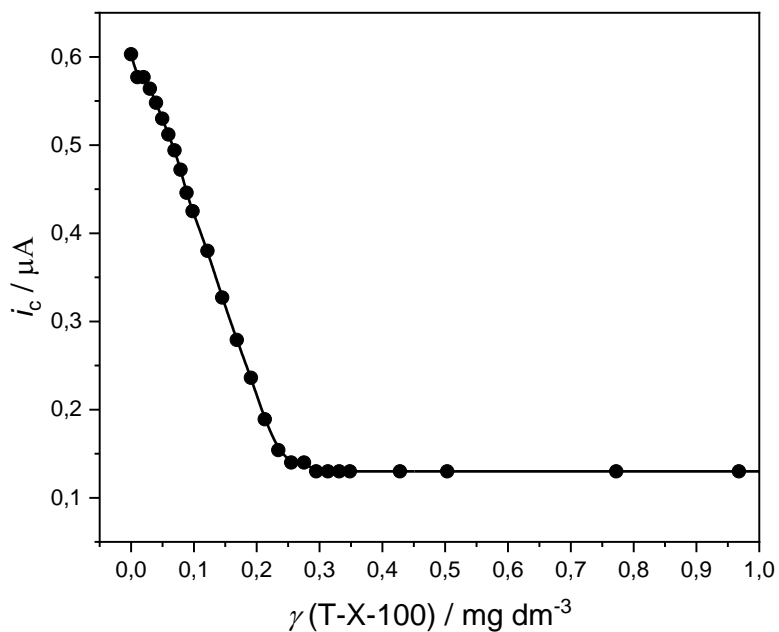
Slika 4.1. Strukturni prikaz T-X-100.

U literaturi je pokazano da dodatak T-X-100 u uzorak utječe na redoks procese bakra i da pomaže pri dobivanju pouzdanih parametara $KKCu$ u modelnim otopinama.^{7,34} Modelni elektrolit UVSW volumena 25 mL titriran je otopinom T-X-100, te je pri svakom dodatku snimljen AC voltamogram s primijenjenim potencijalom akumulacije $E_a = -0,6$ V u trajanju od 60 s (slika 4.2). Kapacitetna struja (i_c) očitavana je pri potencijalu $-0,6$ V i opaženo je sniženje s porastom koncentracije. Vrijednosti i_c se linearno smanjuju povećanjem koncentracije T-X-100 do $0,25$ mg dm^{-3} , nakon čega daljnjim dodatkom ne dolazi do promjene što upućuje da je postignuta maksimalna prekrivenost radne elektrode (slika 4.3). Adsorpcijska izoterma

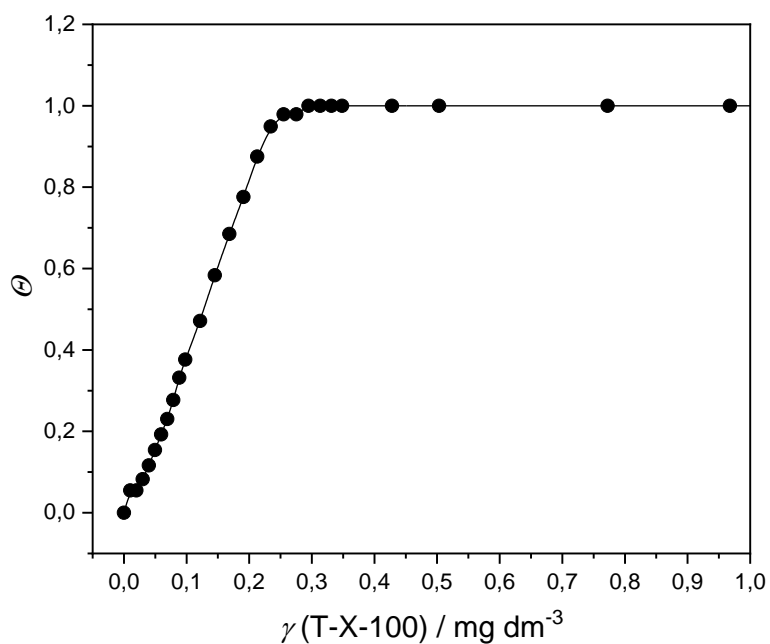
prikazuje stupanj prekrivenosti elektrodne površine dodanom tvari i izražena je kao ovisnost Θ ($\Delta_i / \Delta_{i_{\max}}$) o masenoj koncentraciji T-X-100 (slika 4.4).



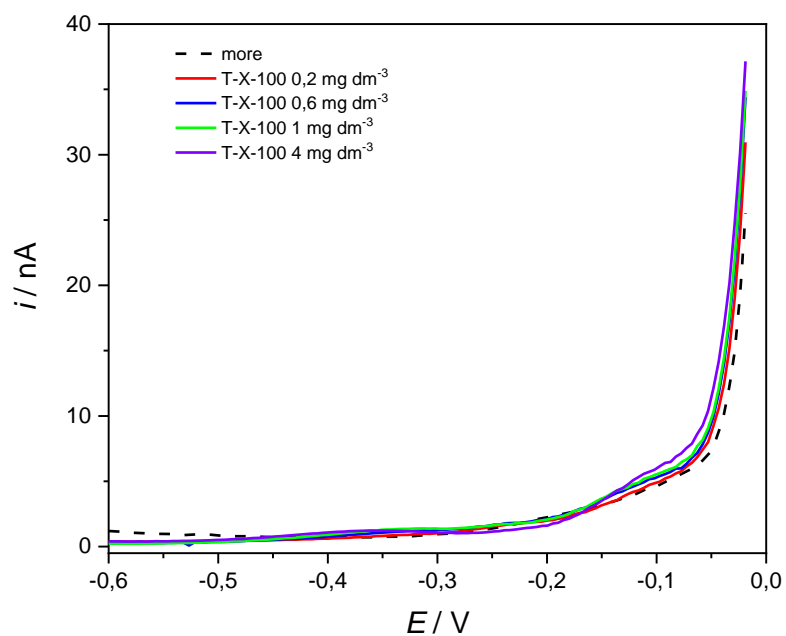
Slika 4.2. AC voltamogrami rastućih koncentracija T-X-100. $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60\text{s}$.



Slika 4.3. Sniženje kapacitetne struje dodatkom T-X-100. Uvjeti mjerenja: $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.



Slika 4.4. Adsorpcijska izoterma T-X-100. Uvjeti mjerenja: $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.

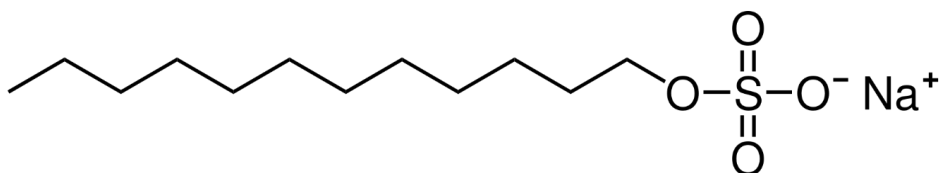


Slika 4.5. DPASV voltamogrami T-X-100 pri različitim koncentracijama u modelnom elektrolitu UVSW. Uvjeti mjerenja: $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.

Na slici 4.5. prikazani su snimljeni DPASV voltamogrami T-X-100 pri različitim koncentracijama kojima smo potvrdili da sam T-X-100 nema redoks procesa na potencijalu oko $-0,2$ V gdje se očekuje pik reoksidacije Cu^{2+} u kompleksometrijskim titracijama.

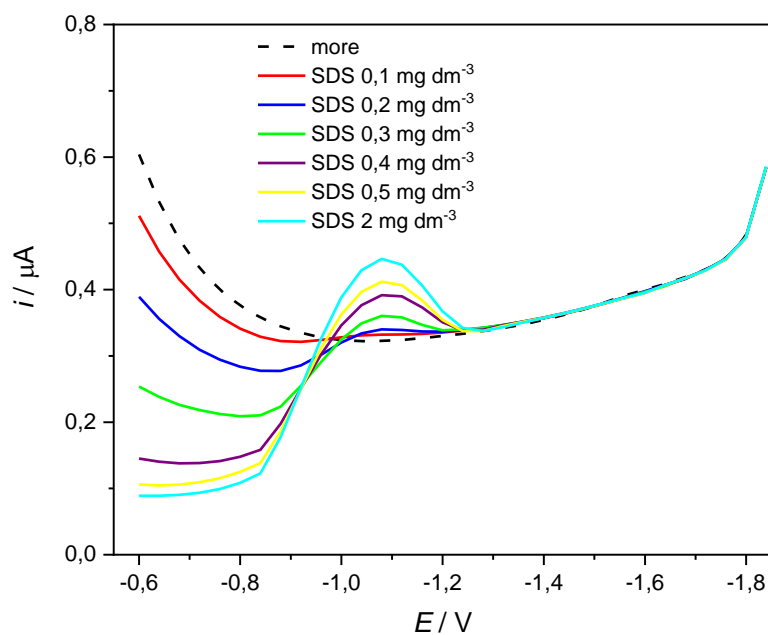
4.1.2. SDS

Natrijev dodecil sulfat (engl. *sodium lauryl sulfate*, SDS), $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3\text{Na}$, je natrijeva sol sa 12 ugljikovih atoma u nerazgranatom ugljikovodičnom lancu sa vezanom sulfatnom skupinom ($-\text{SO}_4^-$) (slika 4.6). Dugi ugljikovodični lanac sa polarnom sulfatnom skupinom na početku daje mu amfifilna svojstva. Svrstava se u skupinu anionskih sufraktanata zbog negativno nabijene sulfatne skupine koja zajedno s ionom Na^+ tvori ionski par.

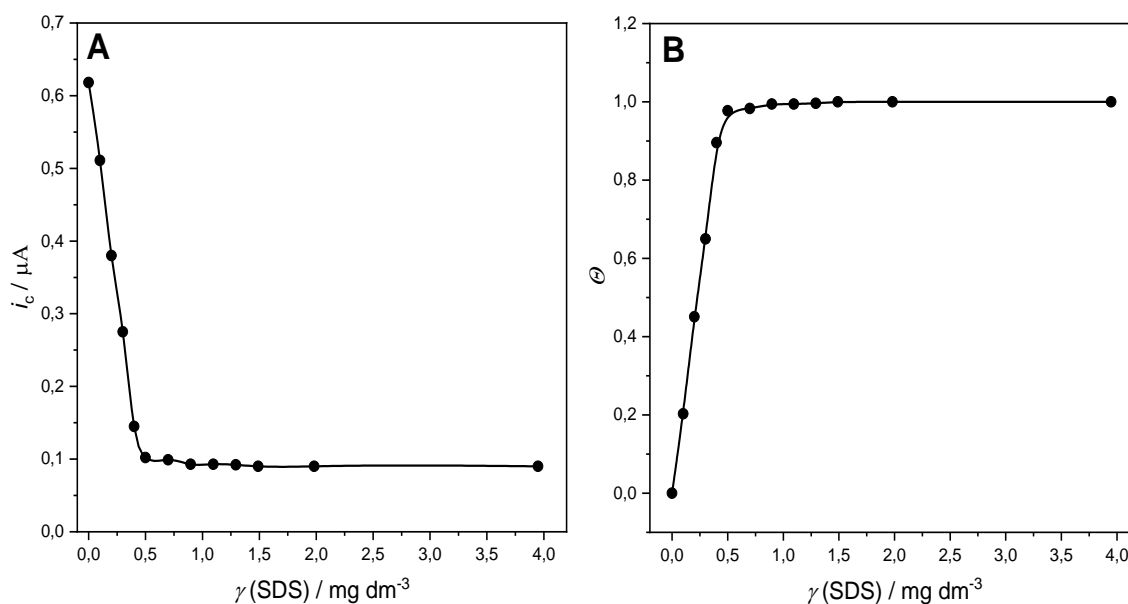


Slika 4.6. Strukturni prikaz natrijeva dodecil sulfata (SDS).

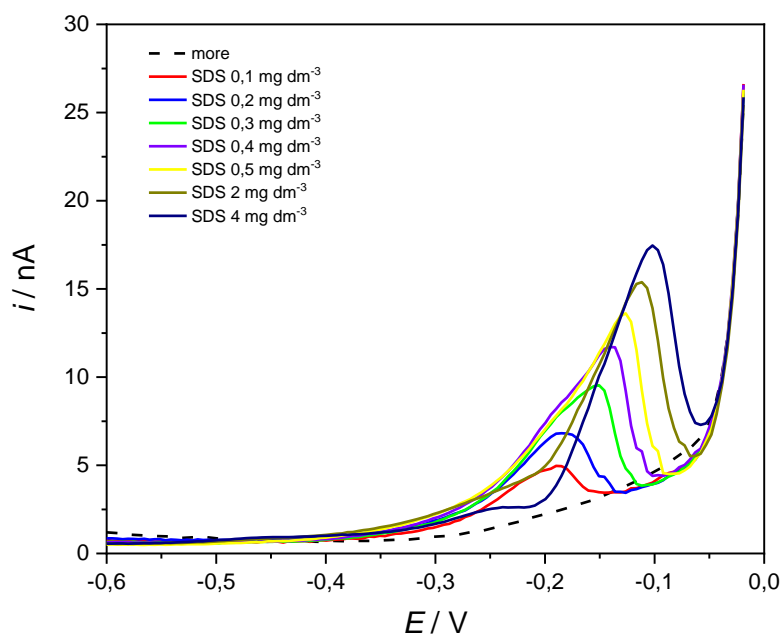
Provedena su jednaka mjerenja kao i za neionski surfaktant. Modelni elektrolit UVSW titriran je s otopinom SDS, nakon svakog dodatka snimljen je AC voltamogram s primijenjenim potencijalom akumulacije $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s (slika 4.7). Na slici 4.8A prikazani su rezultati dobiveni analizom voltamograma i očitanjem kapacitetne struje pri potencijalu $-0,6$ V. Uočeno je linearno sniženje i_c do koncentracije $0,49$ mg dm^{-3} SDS-a pri kojoj je postignuta maksimalna zasićenost elektrodne površine. Daljnjim dodacima SDS-a ne dolazi do promjene u vrijednosti kapacitetne struje. Priložena je i pripadajuća adsorpcijska izoterma (slika 4.8B).



Slika 4.7. AC voltamogrami rastuće koncentracije SDS. Uvjeti mjerenja: $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s.



Slika 4.8. A) Sniženje kapacitetne struje dodatkom SDS. B) Adsorpcijska izoterma SDS. Uvjeti mjerenja: $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s.

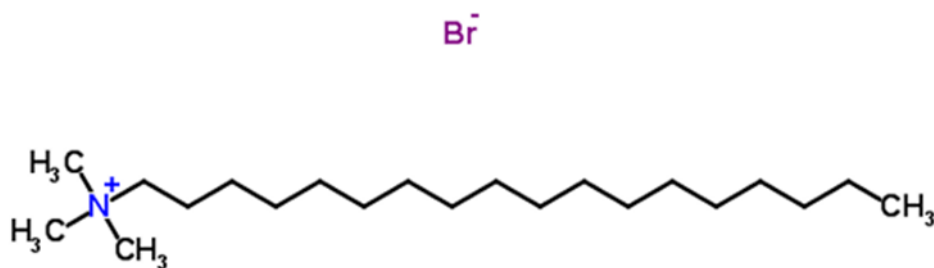


Slika 4.9. DPASV voltamogrami SDS pri različitim koncentracijama u modelnom elektrolitu UVSW. Uvjeti mjerenja: $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s.

Na slici 4.9. DPASV voltamogrami SDS-a pri različitim koncentracijama pokazali su oksidacijski proces samog SDS-a na potencijalu oko $-0,2$ V i $-0,1$ V gdje se očekuje reoksidacijski pik Cu^{2+} što znači da SDS ne možemo koristiti kao modelni PAT u kompleksometrijskim titracijama Cu^{2+} .

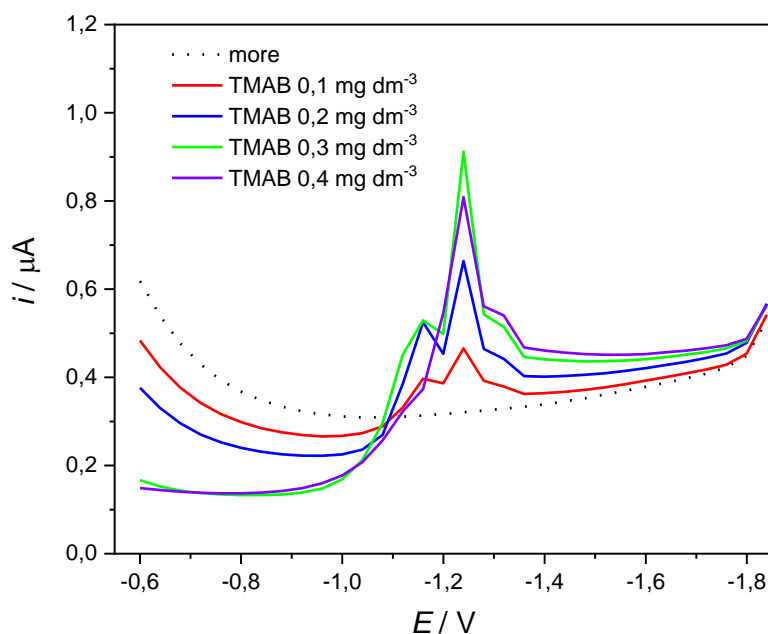
4.1.3. TMAB

Trimetil(oktadecil)amonijev bromid, TMAB, $\text{C}_{21}\text{H}_{46}\text{BrN}$, je praškasta tvar bijele boje topljiva u vodi. Struktura amonijeve soli se od hidrofobnog ugljikovodičnog lanca od 18 ugljikovih atoma i polarne amino skupine ($-\text{NR}_3$) na koju su vezane tri metilne skupine (slika 4.10). Amino skupina je pozitivno nabijena i tvori ionski par sa ionom Br^- što ovaj spoj svrstava u kationske sufraktante.

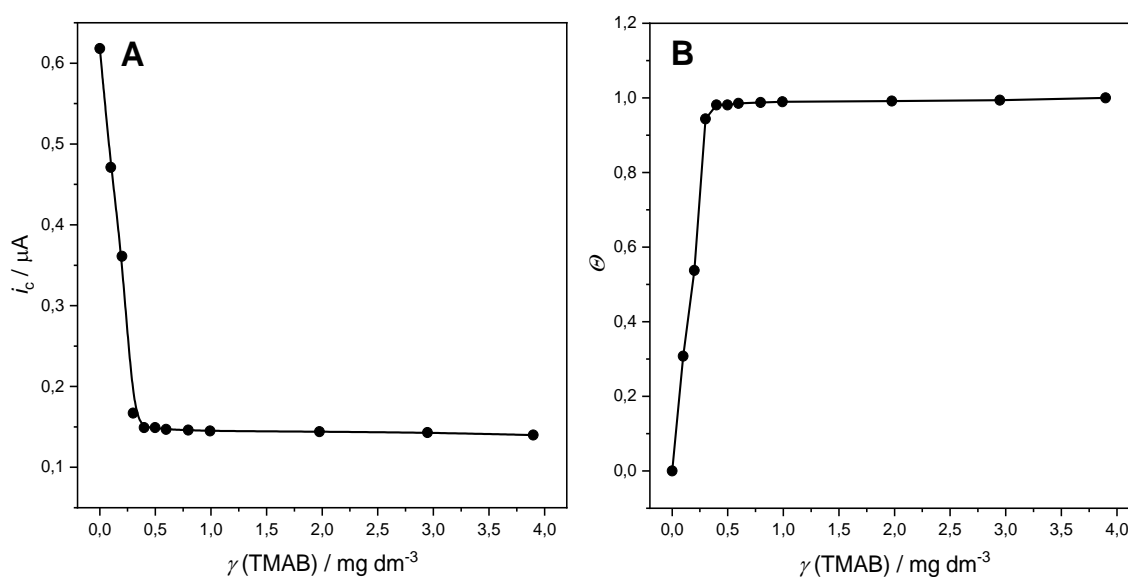


Slika 4.10. Strukturni prikaz trimetil(oktadecil)amonijevog bromida, TMAB.

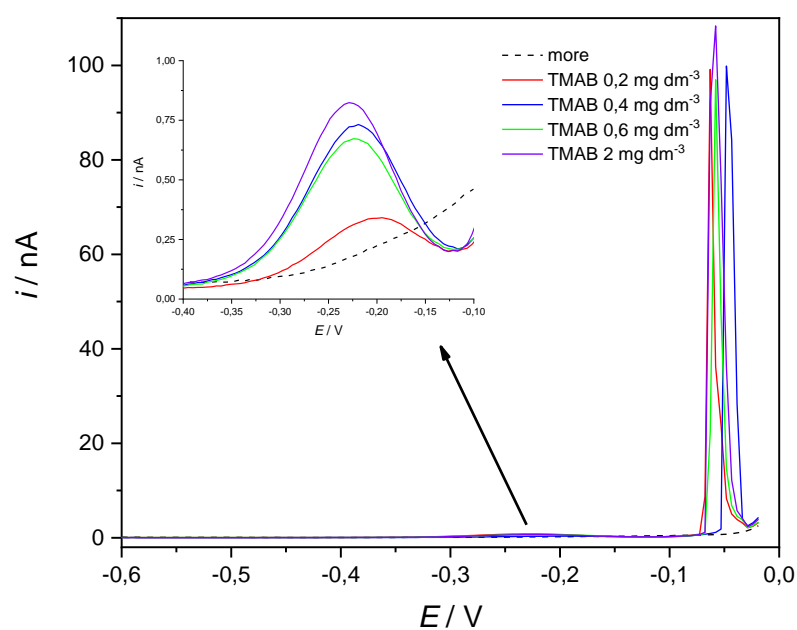
AC voltamogrami na slici 4.11. snimljeni su uz primjenu $E_a = -0,6$ V u trajanju od 60 s pri različitim koncentracijama u otopini modelnog elektrolita UVSW pokazuju sniženje kapacitetne struje dodatkom TMAB-a. Iz grafa na slici 4.12A vidljivo je da se vrijednost kapacitetne struje u rasponu koncentracije TMAB do 0 do $0,4$ mg dm^{-3} linearno smanjuje. Zasićenje elektrodne površine živine kapi postiže se pri koncentraciji od $0,4$ mg dm^{-3} (slika 4.12B).



Slika 4.11. AC voltamogrami različitih koncentracija TMAB. $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s.



Slika 4.12. A) Snižanje kapacitetne struje dodatkom TMAB. B) Adsorpcijska izoterma TMAB. Uvjeti mjerenja: $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.



Slika 4.13. DPASV voltamogrami TMAB pri različitim koncentracijama u modelnom elektrolitu UVSW. Detalj na slici: uvećani prikaz voltamograma pri potencijalu oko $-0,2 \text{ V}$. Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 120 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.

DPASV voltamogrami TMAB-a pri različitim koncentracijama su pokazali rastući oksidacijski proces samog TMAB-a na potencijalu oko $-0,25$ V (slika 4.13) što znači da niti on nije pogodan za korištenje u kompleksometrijskim titracijama Cu^{2+} .

Priloženi rezultati pokazuju da se analizirani sufraktanti pri potencijalu $-0,6$ V adsorbiraju na površinu živine elektrode te da se zasićenje elektrodne površine postiže pri vrlo niskim koncentracijama ($0,25 \text{ mg dm}^{-3}$ T-X-100, $0,4 \text{ mg dm}^{-3}$ SDS i $0,49 \text{ mg dm}^{-3}$ TMAB). Prisutnost PAT snižava i_c na vrijednosti niže od one za modelni elektrolit UVSW. Sniženje i_c je funkcija količine PAT adsorbirane na elektrodu. Adsorpcijskom izotermom prikazan je stupanj prekrivenosti površine u ovisnosti o koncentraciji. Kada vrijednost i_c prestane ovisiti o koncentraciji dodane tvari postignuta je ravnoteža između adsorbensa u otopini i na površini elektrode, što upućuje na to da su sva slobodna mjesta za vezanje popunjena.

4.2. Modelne organske molekule

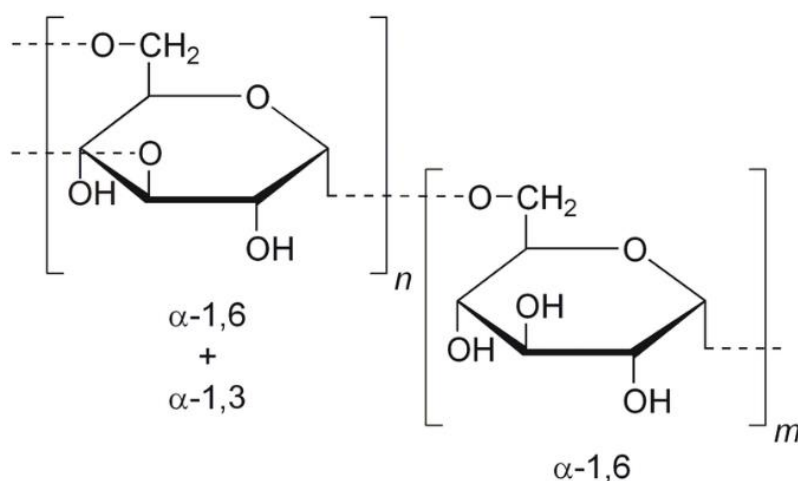
Fulvična kiselina, BSA protein, te ugljikohidrati dekstran, Na-alginat, kitozan i ι -karagenan su odabrani kao modelni organski spojevi prirodno prisutni u smjesi organskih tvari u moru, a koji pokazuju površinsku aktivnost na živinoj elektrodi²⁴. Ispitat ćemo mogućnost smanjenja interferencije svake molekule zasebno dodatkom T-X-100 i primjenom E_d . Koncentracije koje smo koristili odredili smo prema njihovim vrijednostima DOC-a (tablica 4.1) uzimajući u obzir da je DOC u uzorcima mora oko 1 mg dm^{-3} .

Tablica 4.1. Izmjerene vrijednosti DOC-a u 1 mg dm^{-3} otopine.

Modelni organski spoj	DOC / mg C dm^{-3}
Fulvična kiselina	0,533
BSA	0,186
Dekstran	0,559
Alginat	0,353
Kitozan	0,503
ι -karagenan	0,292

4.2.1. Dekstran

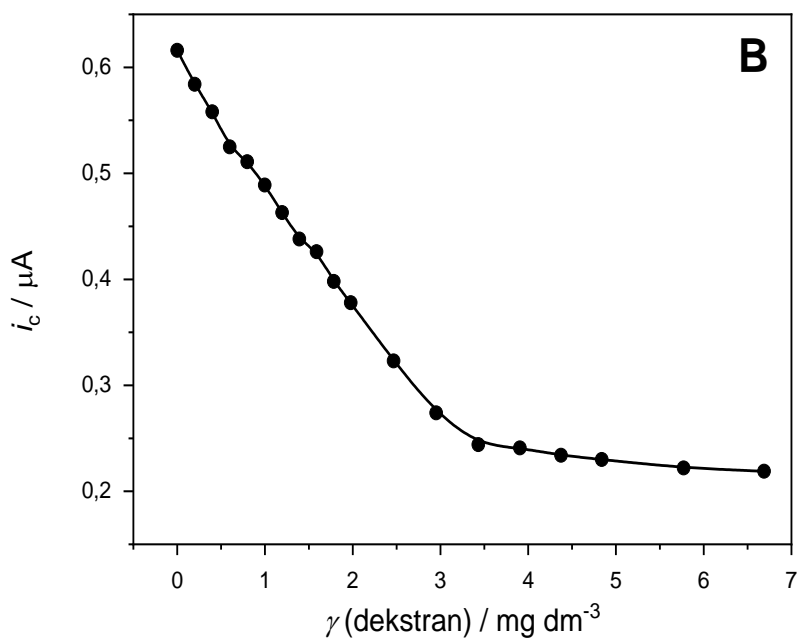
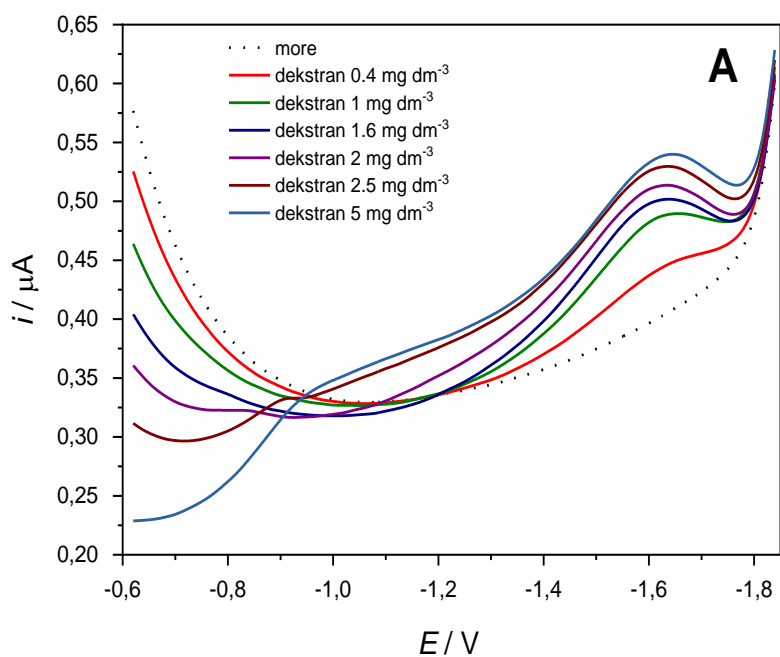
Dekstran, $(C_6H_{10}O_5)_n$, neutralni ugljikohidrat molekulske mase 2×10^6 Da odabran je kao modelni predstavnik polisaharida koji se mogu pronaći u morskoj vodi i ponašati kao PAT. Razgranati polimer glukoze izgrađen je od jedinica α -D-glukoze povezanih $\alpha(1 \rightarrow 6)$ i $\alpha(1 \rightarrow 3)$ glikozidnim vezama što mu daje dugu razgranatu strukturu (slika 4.14). Smatra se da nastaje kao posljedica djelovanja bakterija mliječne kiseline npr. *Leuconostoc mesenteroides* u prisustvu saharoze kao izvora ugljika.⁴¹ Topljivost dekstrana proizlazi iz njegove strukture. Zbog velikog broja hidroksilnih skupina (-OH) stvaraju se vodikove veze s molekulama vode što ga čini topljivim u vodi. Koncentracija otopljenog ugljika u 1 mg dm^{-3} otopine dekstrana iznosi $0,559 \text{ mg C dm}^{-3}$ (tablica 4.1).

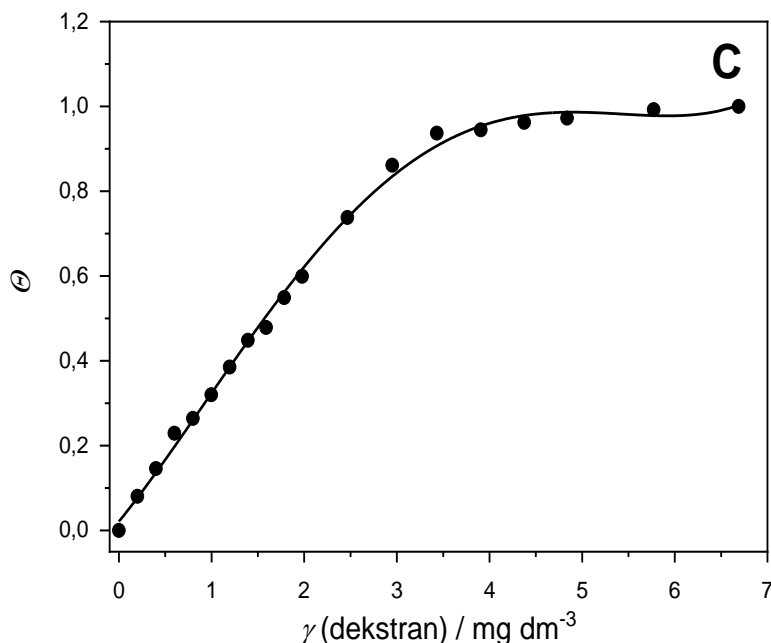


Slika 4.14. Strukturni prikaz molekule dekstrana sa naznačenim glikozidnim vezama.

Tijekom titracije modelnog elektrolita UVSW pripremljenom otopinom dekstrana pri svakom dodatku snimljen je AC voltamogram s primjenjenim potencijalom akumulacije $-0,6 \text{ V}$ u trajanju od 60 s. Očitanjem vrijednosti kapacitetne struje pri potencijalu $-0,6 \text{ V}$ uočeno je da se vrijednost i_c smanjuje povećanjem koncentracije dekstrana (slika 4.15A). U rasponu koncentracije od 0 do $3,4 \text{ mg dm}^{-3}$ vrijednost i_c se linearno snižava (slika 4.15B) što upućuje na adsorpciju dekstrana na elektrodnu površinu. Zasićenje elektrodne površine postignuto je pri koncentraciji $3,4 \text{ mg dm}^{-3}$, te daljnjim dodatkom nije došlo do promjene i_c (slika 4.15C). Potencijal $-0,6 \text{ V}$ odgovara potencijalu pri kojem površina živine kapi u $5,5 \text{ mol dm}^{-3} \text{ NaCl}$

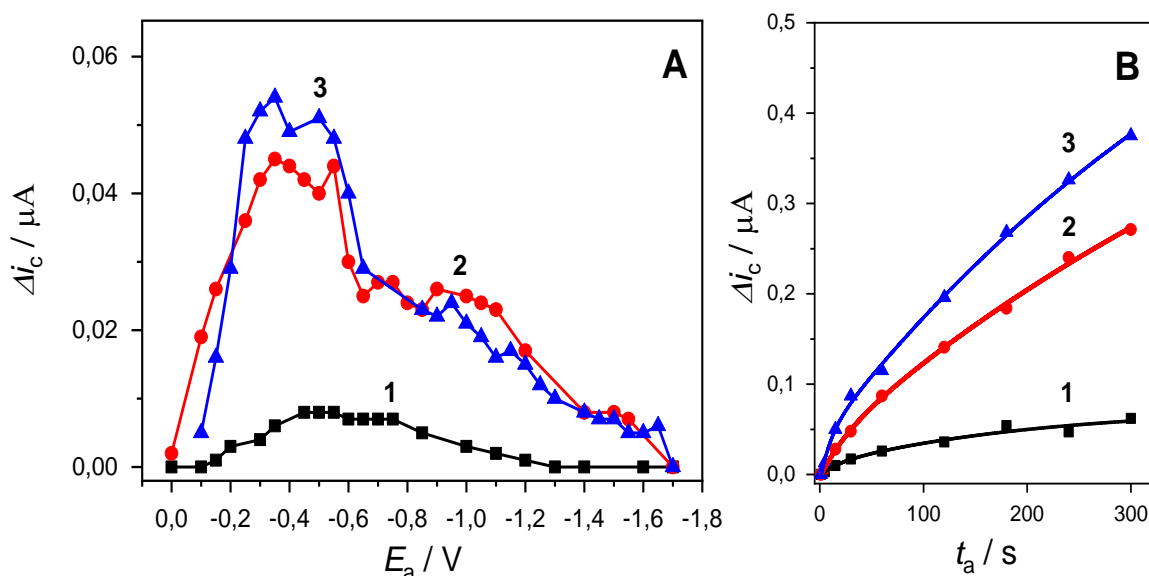
nema nikakav naboj. Stoga neutralne molekule poput dekstrana pokazuju visoki afinitet adsorpcije prema takvim površinama.





Slika 4.15. A) AC voltamogrami različitih koncentracija dekstrana. B) Sniženje kapacitetne struje dodatkom dekstrana (očitano na $-0,6$ V). C) Adsorpcijska izoterma dekstrana. Uvjeti mjerenja: $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s.

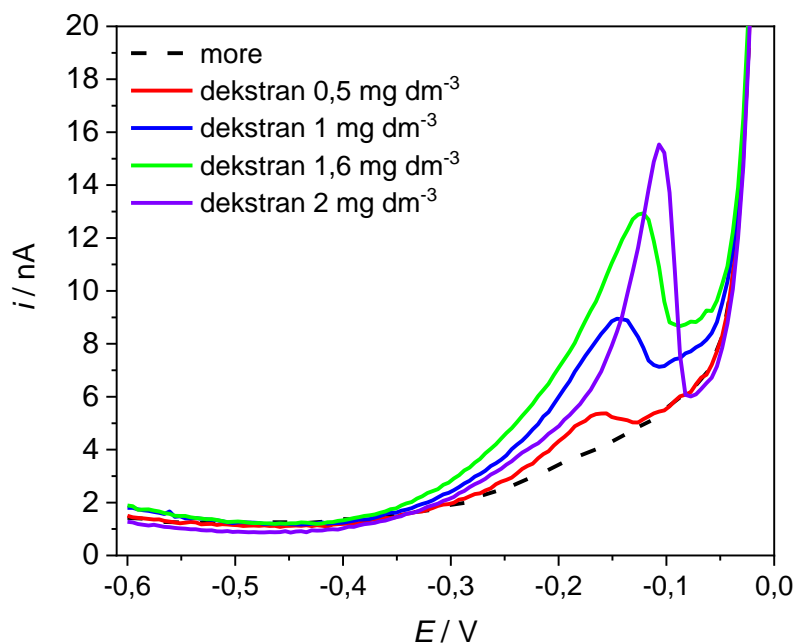
Promatran je utjecaj primjene različitog potencijala akumulacije na vrijednost kapacitetne struje, prikazano kao razlika i_c kod različitih potencijala akumulacije i i_c na negativnom potencijalu koji je dao najveću vrijednost (slika 4.16A). Najveće sniženje uočeno je pri primjeni potencijala $-1,7$ V, te je on odabran kao referentni potencijal. Krivulja 1 dobivena je primjenom različitih potencijala akumulacije u otopini modelnog elektrolita UVSW. Uočava se minimalno sniženje i_c jer u elektrolitu nema organske tvari. Krivulje 2 i 3 odnose se na primjenu različitog potencijala akumulacije u otopini dekstrana $\gamma = 0,5$ mg dm^{-3} . Za krivulju 2 na kraju vremena akumulacije primijenjen je negativan potencijal $E_d = -1,7$ V u trajanju od 1 s. Primjenom negativnijeg potencijala akumulacije vrijednost Δi_c se smanjila u području $E_a -0,2$ V do $-0,6$ V, što upućuje na djelomičnu desorpciju PAT sa elektrodne površine. U ovisnosti Δi_c o vremenu akumulacije opaža se da porastom vremena dolazi do povećanja količine adsorbirane tvari na elektrodi (slika 4.16B). Vrijednosti Δi_c krivulje 2 niže su od vrijednosti krivulje 3 zbog primjene desorpcijskog koraka na kraju vremena akumulacije čime se dio dekstrana desorbirao s elektrodne površine (slika 4.16B). Različito vrijeme akumulacije bez primjene E_d nije imalo utjecaja na Δi_c u UVSW (slika 4.16B).



Slika 4.16. A) ACV razlika kapacitetne struje kod različitih potencijala akumulacije i kapacitetne struje na negativnom potencijalu ($-1,7$ V) u otopini dekstrana $\gamma = 0,5$ mg dm $^{-3}$, bez (krivulja 3) i sa (krivulja 2) primjenom desorpcijskog potencijala $-1,7$ V tijekom 1 s nakon koraka akumulacije. Krivulja 1 dobivena je u modelnom elektrolitu UVSW bez primijenjenog koraka desorpcije. B) Ovisnost razlike kapacitetne struje o vremenu akumulacije. Uvjeti mjerenja: (1) i (3) $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s; (2) $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s i $E_d = -1,7$ V, $t_d = 1$ s.

Nakon dokazivanja sposobnosti adsorpcije dekstrana na površinu živine kapi istraživana je utjecaj različite koncentracije dekstrana, T-X-100 i primjene potencijala desorpcije na pik Cu^{2+} DPASV metodom. Najprije smo istražili da li sam dekstran pokazuje reduksijski proces u području potencijala gdje se očekuje pik reoksidacije Cu.

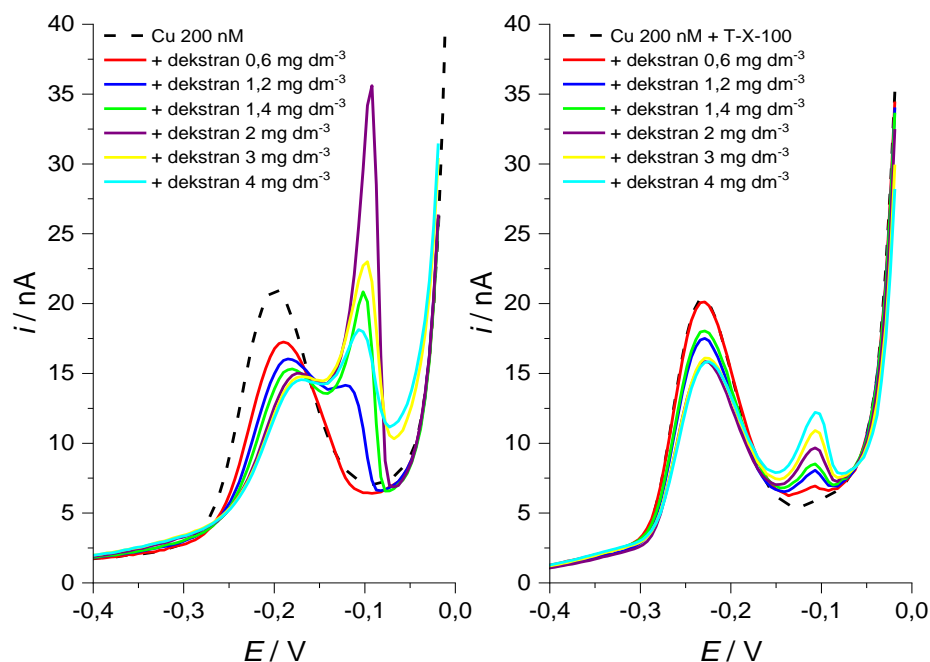
Na slici 4.17. prikazani su DPASV voltamogrami dekstrana pri različitim koncentracijama na kojima se uočava odvijanje redoks procesa samog dekstrana. Povećanjem koncentracije nastali pik se povećava i pomiče prema manje negativnom potencijalu. Detaljnije smo proučili što se dešava prilikom dodatka Cu^{2+} -iona i T-X-100 da bi odredili uvjete u kojima pik dekstrana nema ili ima minimalan utjecaj na pik samog Cu^{2+} .



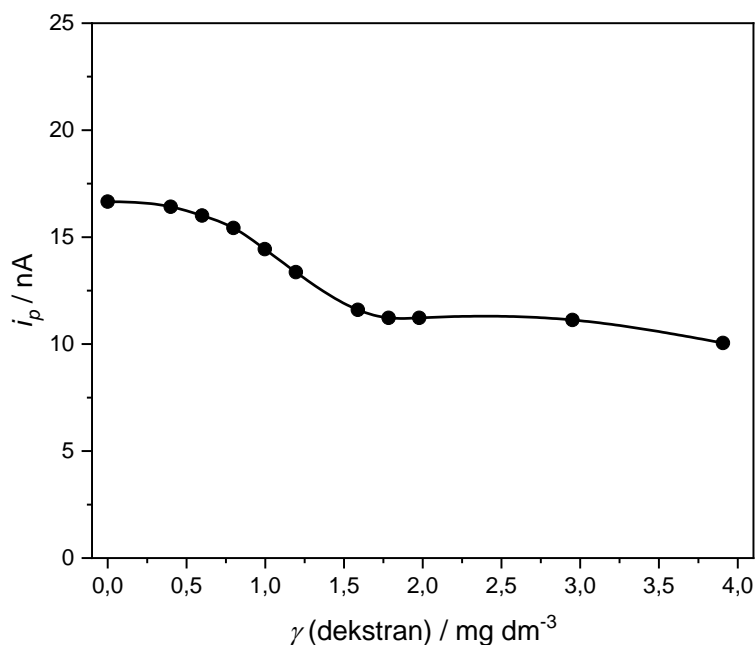
Slika 4.17. DPASV voltamogrami dekstrana pri različitim koncentracijama. Uvjeti mjerenja:

$$t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}, E_a = -0,6 \text{ V}, t_a = 60 \text{ s}.$$

Prilikom titracije $200 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u modelnom elektrolitu dodatkom dekstrana pri uvjetima $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$ primijećeno je da se s povećanjem koncentracije dekstrana pik Cu^{2+} smanjuje te se pri koncentraciji višoj od 1 mg dm^{-3} uočava još jedan pik koji se raste što upućuje na istovremeno odvijane dva redoks procesa. Kako bi pokušali odvojiti dva procesa, u otopinu $200 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ dodan je 1 mg dm^{-3} T-X-100. Titracija je izvedena pod istim uvjetima. Dobivena su dva dobro definirana pika: prvi na potencijalu $\sim -0,220 \text{ V}$ koji odgovara piku Cu^{2+} te drugi na $\sim -0,106 \text{ V}$ koji ovisi o dekstranu (slika 4.18). Ovisnost i_p za pik $E_p \sim -0,220 \text{ V}$ je prikazana na slici 4.19. iz koje se vidi da se povećanjem koncentracije dekstrana visina pika Cu^{2+} smanjuje. Za određivanje parametara KKCu odabrana je koncentracija $0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ dekstrana koja ne utječe na sam pik Cu^{2+} .

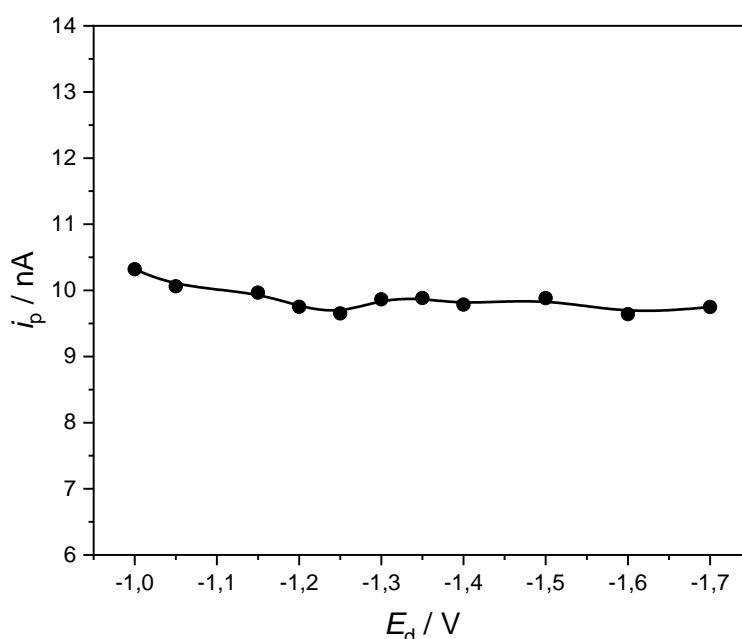


Slika 4.18. DPASV voltamogrami pri različitim koncentracijama dekstrana u otopini $200 \times 10^{-9}\ mol\ dm^{-3}\ Cu^{2+}$, bez (lijevo) i sa dodatkom (desno) $1\ mg\ dm^{-3}\ T-X-100$. Uvjeti mjerenja: $t(N_2) = 180\ s$, $E_a = -0,6\ V$, $t_a = 60\ s$.



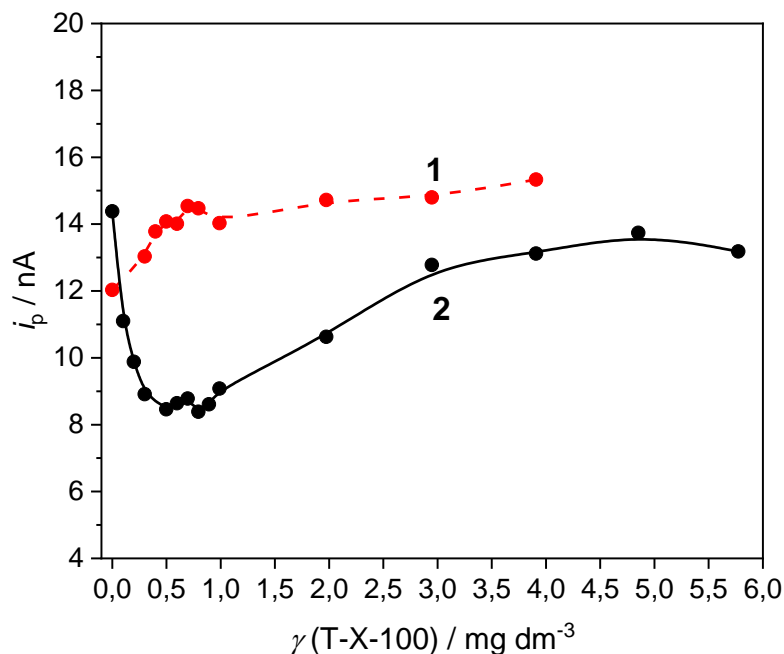
Slika 4.19. DPASV ovisnost visine pika $200 \times 10^{-9}\ mol\ dm^{-3}\ Cu^{2+}$ uz $\gamma(T-X-100) = 1\ mg\ dm^{-3}$ o koncentraciji dekstrana. Uvjeti mjerenja: $t(N_2) = 180\ s$, $E_a = -0,6\ V$, $t_a = 60\ s$.

Primjena različitog potencijala desorpcije u otopini dekstrana $\gamma = 0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ u trajanju od 1 s nakon primijenjenog $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$ nije pokazala značajnu razliku u visini pika $200 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ (slika 4.20), no točan utjecaj nije bilo moguće odrediti zbog preklapanja dva pika.



Slika 4.20. DPASV promjena visine pika $200 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u otopini dekstrana $\gamma = 0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ primjenom različitog E_d . Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 120 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$, $t_d = 1 \text{ s}$.

U 25 mL otopine dekstrana $\gamma = 0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ dodano je $200 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ te tako pripremljena otopina titrirana je s T-X-100. Pri svakom dodatku snimljen je DPASV voltamogram i očitana visina pika pri potencijalu $\sim -0,2 \text{ V}$. Mjerenje je izvedeno uz primjenu potencijala desorpcije $-1,7 \text{ V}$ tijekom 1 s i bez. Iz grafa na slici 4.21. možemo zaključiti da utjecaj T-X-100 ovisi o uvjetima mjerenja. Kod primjene $E_d = -1,7 \text{ V}$ s povećanjem koncentracije T-X-100 do 1 mg dm^{-3} pik Cu^{2+} se polagano snižava, nakon čega pik počinje rasti i pri koncentracijama većim od 3 mg dm^{-3} ne pokazuje ovisnost o dodanom T-X-100. Krivulja koja predstavlja rezultate mjerenja bez E_d pokazuje da T-X-100 ima pozitivan utjecaj na rast visine pika Cu^{2+} do koncentracije 1 mg dm^{-3} nakon čega daljnim dodatkom više ne dolazi do promjene.

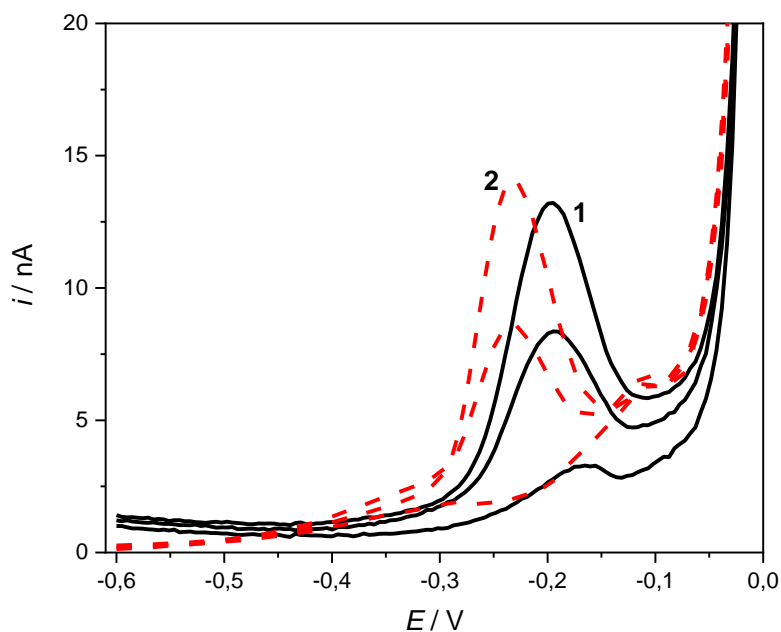


Slika 4.21. DPASV promjena visine pika $200 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u otopini dekstrana $\gamma = 0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ s koncentracijom T-X-100 bez E_d (1) i sa primjenom $E_d = -1,7 \text{ V}$, $t_d = 1 \text{ s}$ (2). Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.

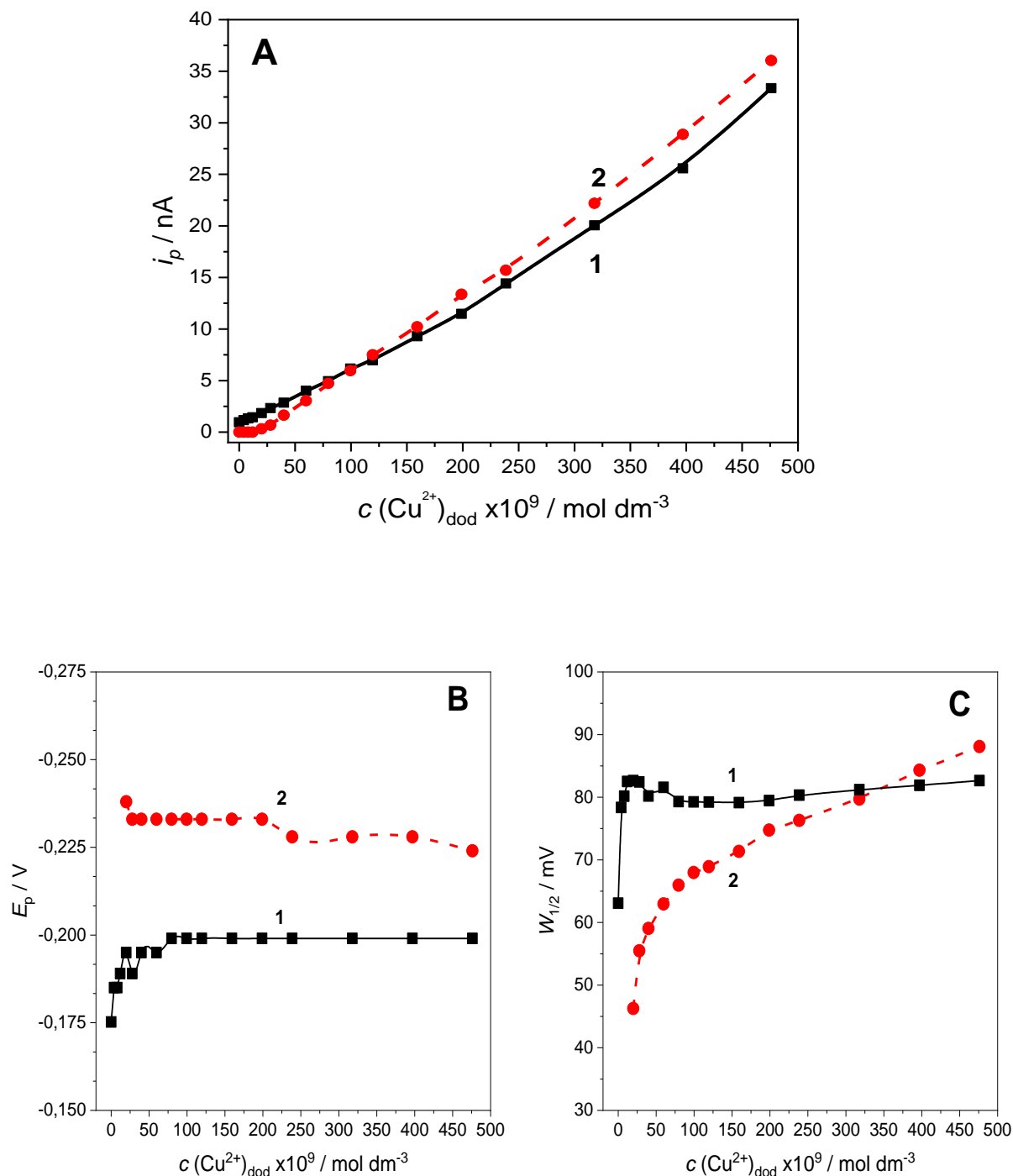
Analizom dobivenih rezultata izabrani su uvjeti koji su se primijenili tijekom kompleksometrijskih titracija sa standardnom otopinom Cu^{2+} -iona. S obzirom da je T-X-100 pokazao različit utjecaj na pik Cu^{2+} ovisno o primjeni negativnog potencijala mjerenja su izvedena na dva načina: 1) bez T-X-100 s primjenom $E_d = -1,7 \text{ V}$, $t_d = 1 \text{ s}$ i 2) bez E_d sa T-X-100 1 mg dm^{-3} jer je tada pokazao najveći utjecaj na povećanje pika. Na slici 4.22. uočava se karakterističan pik dekstrana $\gamma = 0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ već ranije opažen (krivulja 1). Prisutnost tog proširenog pika pri potencijalu $-0,175 \text{ V}$ otežava očitavanje karakterističnog pika Cu^{2+} pri očekivanom potencijalu $-0,2 \text{ V}$, te može dovesti do pogrešnih zaključaka. Dodatkom T-X-100 prije početka titracije uklonjena je interferencija pomicanjem pika dekstrana prema manje negativnom potencijalu (krivulja 2). Pik bakra se tijekom titracije pojavljuje pri negativnijem potencijalu $\sim -0,235 \text{ V}$ jer T-X-100 stabilizira energijski prijelaz u više oksidacijsko stanje i na taj način olakšava sam proces oksidacije.

Prema titracijskim krivuljama iz grafa na slici 4.23A krivulja 1 prividno pokazuje da dekstran pri primijenjenim uvjetima nema mogućnost kompleksiranja Cu^{2+} , što ne možemo potvrditi

zbog već spomenutog pika samog dekstrana. Iz krivulje 2 možemo očitati da se pik bakra pojavljuje tek pri dodanoj koncentraciji od $20 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ što ukazuje na to da dekstran ima sposobnost kompleksiranja pri zadanim uvjetima. Pomoću programa ProMCC izračunate su uvjetne konstante kompleksiranja i pripadajuće koncentracije liganada: $[L_1] = 18,6 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$ i $\log K'_1 = 9,84$; $[L_2] = 90,8 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$ i $\log K'_2 = 7,50$.



Slika 4.22. DPASV voltamogrami $200 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$ i $400 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u otopini dekstrana $\gamma = 0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ snimljeni pri različitim uvjetima: 1) $t(\text{N}_2) = 300 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$, $E_d = -1,7 \text{ V}$, $t_d = 1 \text{ s}$; 2) $\gamma(\text{T-X-100}) = 1 \text{ mg dm}^{-3}$, $t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$, bez E_d .

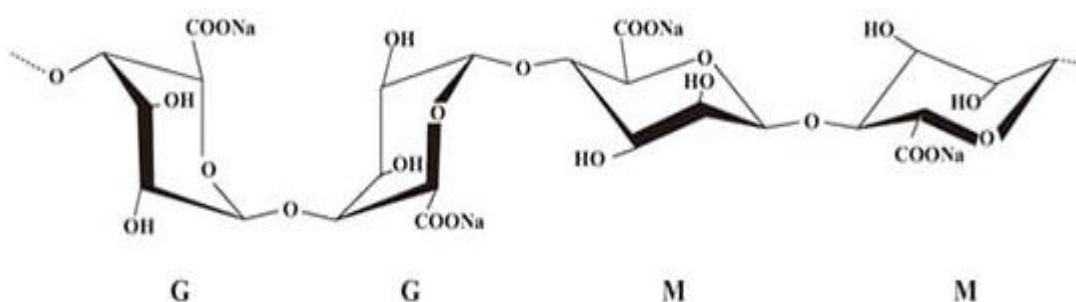


Slika 4.23. Podaci dobiveni analizom pika Cu^{2+} pri rastućoj koncentraciji Cu^{2+} -iona u otopini dekstrana $\gamma = 0,5 \text{ mg dm}^{-3}$. A) Titracijske krivulje kompleksiranja Cu^{2+} -iona, B) potencijal pika, C) širina pika na polovici visine. Uvjeti mjerenja i oznake krivulja dane su u opisu slike

4.22.

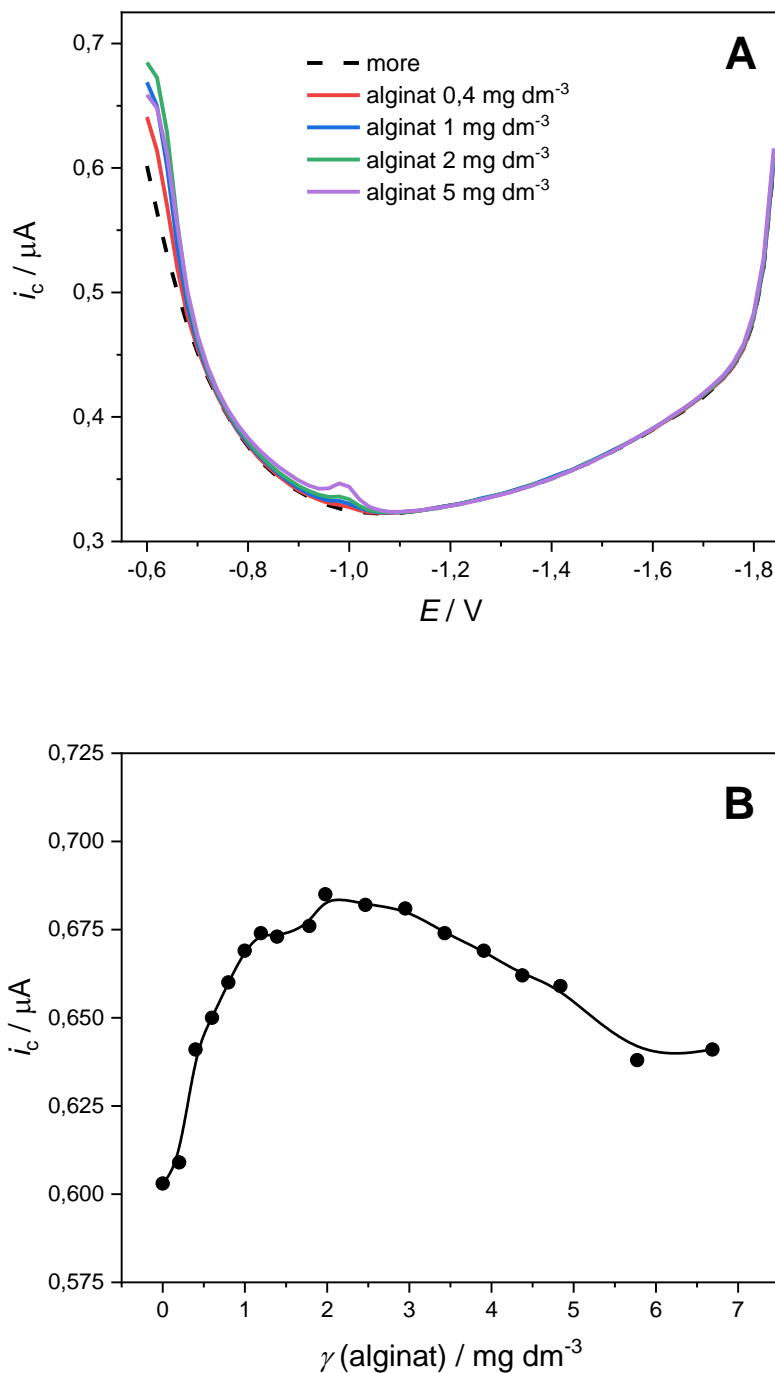
4.2.2. Alginat

Natrijev alginat je derivat alginske kiseline kojem su na karboksilne skupine alginata vezani natrijevi ioni. Alginska kiselina je polisaharid izgrađen od linearno povezanih jedinica 1,4- β -D-manuronske (M) i α -L-guluronske (G) kiseline (slika 4.24). Prirodno se nalazi u moru kao komponenta stanične stijenke smeđih makroalgi koja sadrži približno 30 do 60% alginske kiseline. Sama alginska kiselina nije topljiva u vodi, ali njena natrijeva sol je topljiva što olakšava njezinu ekstrakciju i povećava biodostupnost. Koncentracija DOC u otopini natrijevog alginata 1 mg dm⁻³ iznosila je 0,353 mg C dm⁻³ (tablica 4.1). U daljnjem tekstu bit će imenovana kao „alginat“.



Slika 4.24. Struktura natrijevog alginata s naznačenim strukturnim jedinicama: β -D-manuronske (M) i α -L-guluronske (G) kiseline.

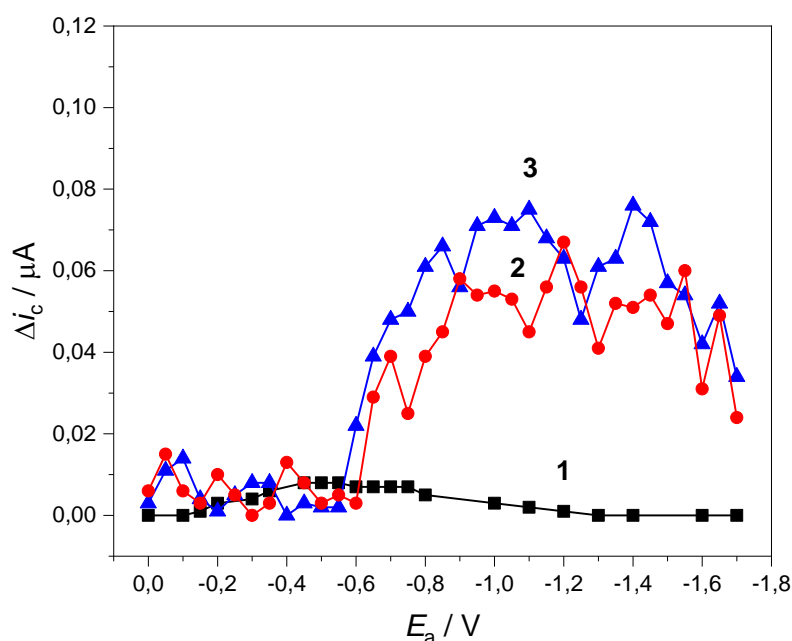
Povećanjem koncentracije alginata se vrijednost kapacitetne struje u ACV mjerenjima pri potencijalu $-0,6$ V povećava u odnosu na vrijednost dobivenu za modelni elektrolit (slika 4.25A). Alginat u ispitivanom rasponu koncentracija ($0,4 - 7$) mg dm⁻³ ne pokazuje afinitet za adsorpciju na nenabijenu elektrodnu površinu pa nije bilo moguće napraviti adsorpcijsku izotermu (slika 4.25B). Razlog povećanju i_c može biti reorijentacija molekula najčešće zbog redukcijskog/oksidacijskog procesa oko $-0,6$ V. Takav proces bi se naknadno trebao istražiti.



Slika 4.25. A) AC voltamogrami različitih koncentracija alginata. B) Promjena kapacitetne struje dodatkom alginata. Uvjeti mjerenja: $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.

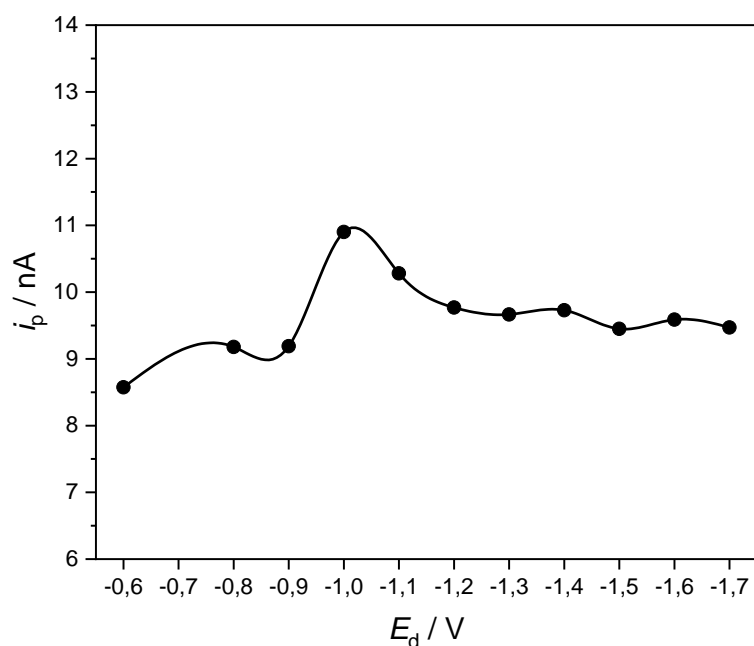
U elektrolitičku ćeliju stavljena je otopina alginata koncentracije 2 mg dm^{-3} i promatran je utjecaj različitog potencijala akumulacije sa $E_d = -1,7 \text{ V}$, $t_d = 1 \text{ s}$ (krivulja 2) i bez primjene desorpcijskog koraka (krivulja 3) ACV metodom (slika 4.26). Na slici 4.25A vidljivo je da je

na potencijalu $-1,7$ V alginat potpuno desorbiran s elektrode i to je bio razlog njegovog odabira za E_d . Pretpostavljamo da se na potencijalima akumulacije manje negativnim od $-0,6$ V inducira redukcija u kojoj sudjeluje alginat pri čemu dolazi do njegove reorijentacije koja se vidi kao reorijentacijski pik u ACV metodi (izvan faze). Zato se tek na potencijalima negativnijim od $-0,6$ V može promatrati adsorpcija alginata. Primjena desorpcijskog potencijala $E_d = -1,7$ V tijekom 1 s nakon koraka akumulacije i kod negativnijih potencijala nije rezultirala desorpcijom alginata (krivulja 2, slika 4.26).

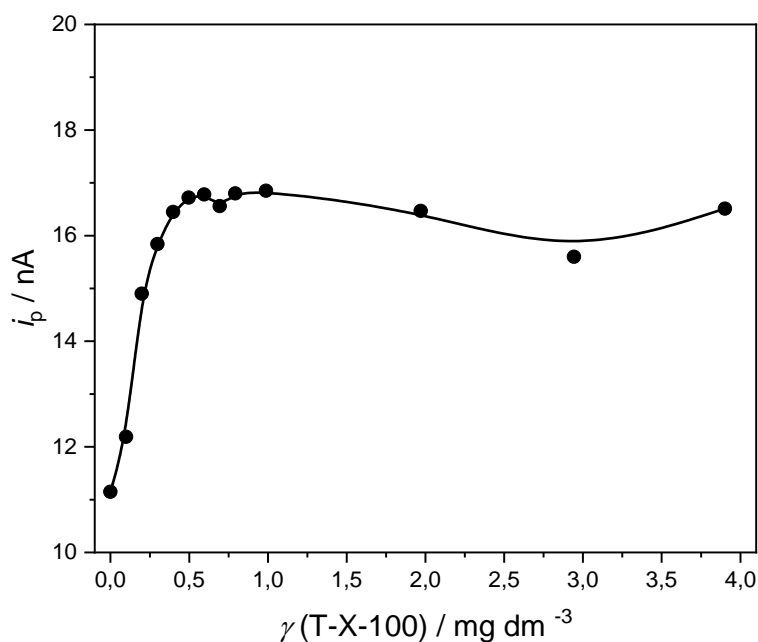


Slika 4.26. ACV razlika kapacitetne struje kod različitih potencijala akumulacije i najviše dobivene vrijednosti kapacitetne struje u otopini alginata $\gamma = 2 \text{ mg dm}^{-3}$, sa (krivulja 2) i bez (krivulja 3) primjene E_d . Krivulja 1 odnosi se na modelni elektrolit UVSW bez primijenjenog potencijala desorpcije. (1) $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s; (2) $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s i $E_d = -1,7$ V, $t_d = 1$ s; (3) $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s.

U otopini alginata $\gamma = 2 \text{ mg dm}^{-3}$ je proučavan utjecaj primjene različitog E_d (slika 4.27) i T-X-100 (slika 4.28) DPASV metodom na visinu pika $200 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$. Najveća promjena uočena je primjenom $E_d = -1$ V (slika 4.27) te se taj potencijal koristio tijekom kompleksometrijske titracije. Titracijom otopine s T-X-100 opaženo je da se visina pika Cu^{2+} linearno povećava do dodatka $0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ T-X-100 nakon čega se visina pika više ne mijenja (slika 4.28).

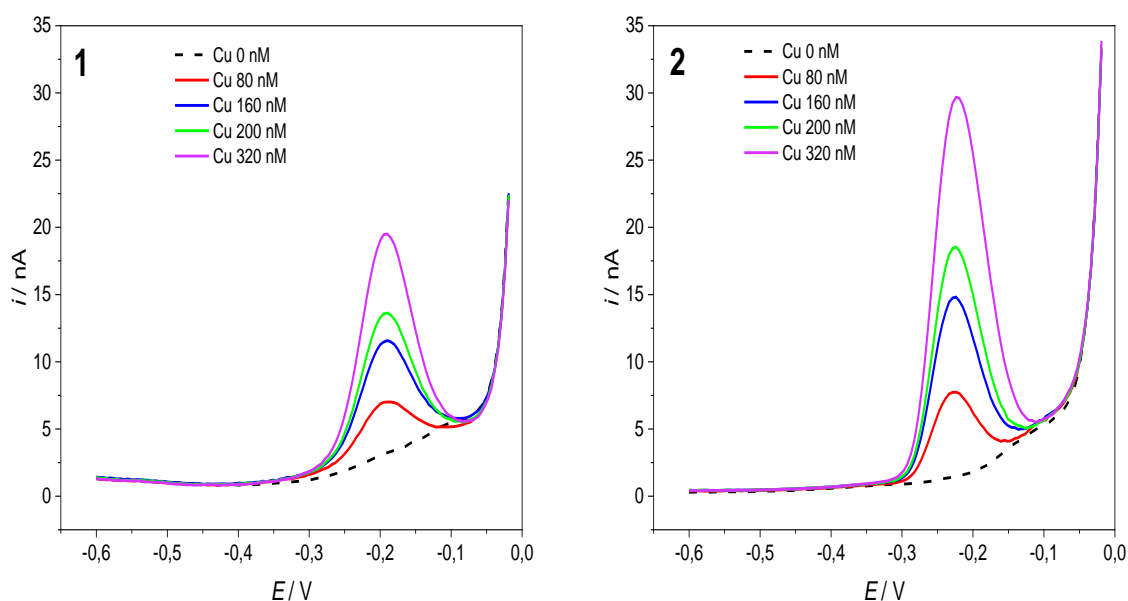


Slika 4.27. DPASV promjena visine pika $200 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u otopini alginata $\gamma = 2 \text{ mg dm}^{-3}$ primjenom različitog E_d . Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$, $t_d = 1 \text{ s}$.

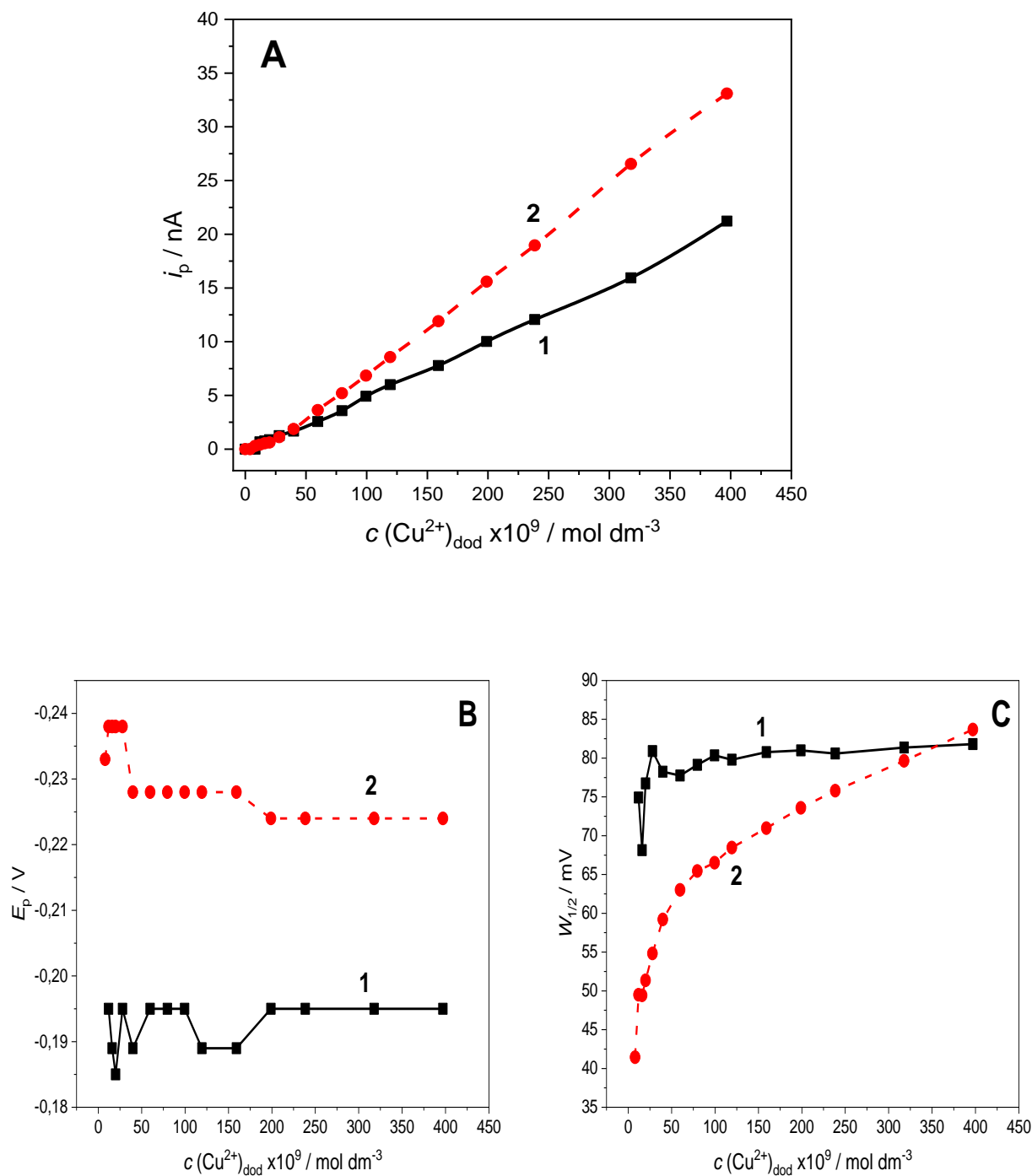


Slika 4.28. DPASV promjena visine pika $200 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u otopini alginata $\gamma = 2 \text{ mg dm}^{-3}$ pri različitoj koncentraciji T-X-100. Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}$,
 $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.

Nadalje, provedene su dvije kompleksometrijske titracije otopine alginata $\gamma = 2 \text{ mg dm}^{-3}$ sa standardnom otopinom Cu^{2+} -iona: bez E_d i bez dodatka T-X-100 te sa dodatkom T-X-100, $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$ i pri $E_d = -1 \text{ V}$, $t_d = 1 \text{ s}$ (slika 4.29). Analizom reoksidacijskog pika Cu^{2+} pri rastućoj koncentraciji Cu^{2+} -iona dobivene su titracijske krivulje kompleksiranja bakra koje pokazuju da alginat ima sposobnost kompleksiranja Cu^{2+} -iona, jer se pik uočava tek pri dodanoj koncentraciji Cu^{2+} od $12 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$ (krivulja 1) i $8 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$ (krivulja 2). Usporedbom voltamograma može se primjetiti da ekvivalentne koncentracije Cu^{2+} ne daju jednake vršne struje. Dodatak T-X-100 uzrokuje veću osjetljivost radne elektrode, te pik postaje intenzivniji i bolje definiran. Također olakšava reoksidacijski proces koji se odvija na površini elektrode i uzrokuje pomak pika prema negativnijem potencijalu oko $E_p = -0,225 \text{ V}$, te uže pikove (slika 4.30). Podaci kompleksometrijske krivulje 2 uneseni su u program ProMCC i izračunata je uvjetna konstanta kompleksiranja i koncentracija liganada $[L_1] = 28,1 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$ i $\log K'_1 = 9,04$.



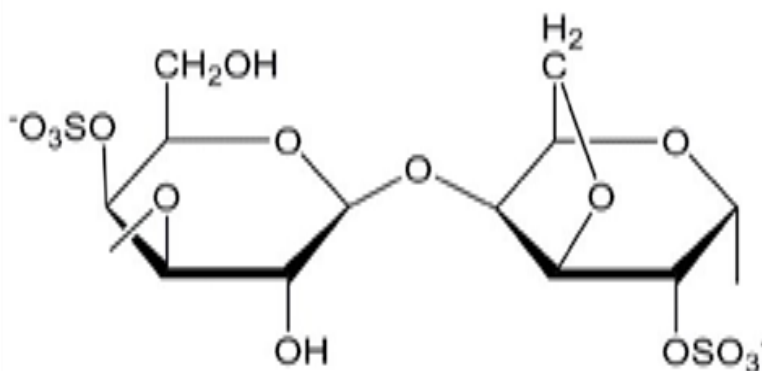
Slika 4.29. DPASV voltamogrami bakra u otopini alginata $\gamma = 2 \text{ mg dm}^{-3}$ bez E_d , bez dodatka T-X-100 (1), sa dodatkom T-X-100, $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$ i korakom desopcije $E_d = -1 \text{ V}$, $t_d = 1 \text{ s}$ (2). Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.



Slika 4.30. Podaci dobiveni analizom pika Cu^{2+} pri rastućoj koncentraciji Cu^{2+} u otopini alginata $\gamma = 2 \text{ mg dm}^{-3}$: A) titracijske krivulje kompleksiranja Cu^{2+} -iona, B) potencijal pika i C) širina pika na polovici visine. (1) bez E_d , bez dodatka T-X-100, (2) sa dodatkom T-X-100, $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$ i korakom desopcije $E_d = -1 \text{ V}$, $t_d = 1 \text{ s}$. Uvjeti mjerenja su u opisu slike 4.29.

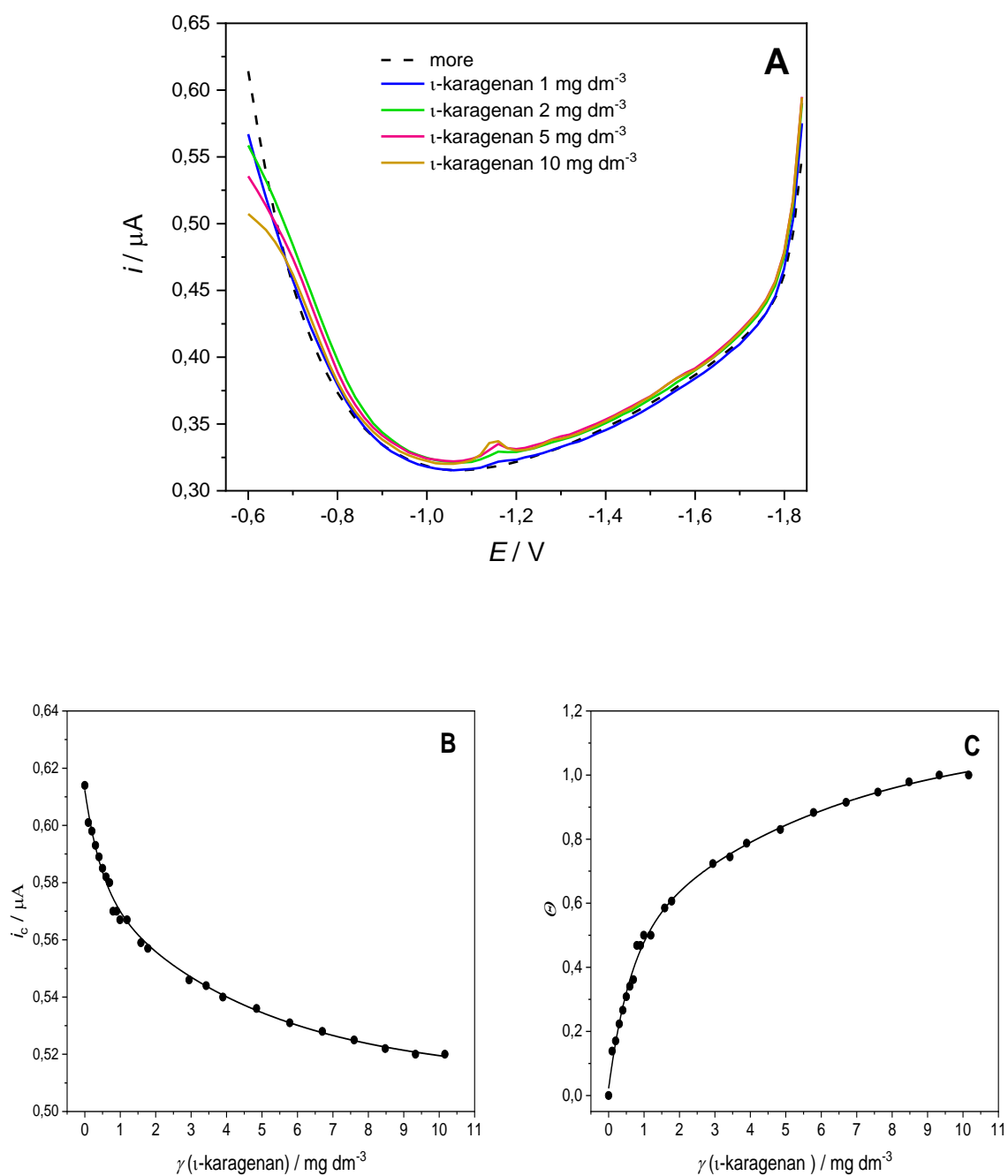
4.2.3. ι -karagenana

Karagenani su polisaharidi podrijetlom iz mora, pronađeni u staničnim membranama crvenih morskih algi (*Rhodophyta*). Svi karagenani imaju veliku molekulsku masu $3,5\text{--}7,5 \times 10^5$ Da. Linearni polimer građen je od ponavljajućih sulfoniranih jedinica 3- β -D-galaktoze i 4- α -D-galaktoze. Razlikujemo tri tipa karagenana ι -, κ - i λ -, a klasificirani su prema mjestu vezanja 4- α -D-galaktoze i broju sulfatnih skupina, te prisutnosti 3,6-anhidridnog mosta u α -D-galaktoznoj jedinici. U ovome radu koristili smo ι -karagenan koji je građen od jedinica β -D-galaktoze i 3,6-anhidrida galaktoze naizmjenično povezanih β -1-4 i α -1-3 vezama (slika 4.31). Koncentracija DOC-a u 1 mg dm^{-3} ι -karagenana iznosi $0,292 \text{ mg C dm}^{-3}$, a u radu smo koristili i koncentraciju 2 mg dm^{-3} gdje ukupan DOC iznosi $0,584 \text{ mg dm}^{-3}$ (tablica 4.1).



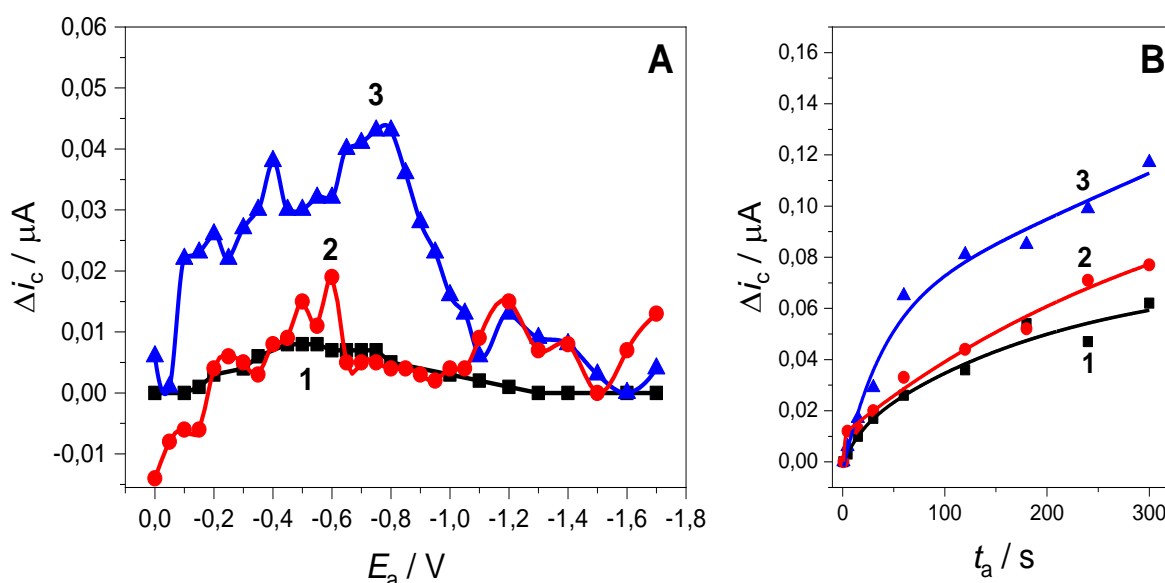
Slika 4.31. Strukturni prikaz ι -karagenana.

Napravljena su ACV mjerenja da bi odredili pri kojim koncentracijama ι -karagenana dolazi do maksimalne prekrivenosti površine radne elektrode. Mjerenja su izvedena pri $E_a = -0,6 \text{ V}$ u rasponu koncentracija ι -karagenana od $0,1 \text{ mg dm}^{-3}$ do 10 mg dm^{-3} . S povećanjem koncentracije smanjivala se vrijednost kapacitetne struje, a adsorpcijski plato nastaje pri koncentracijama višim od $9,3 \text{ mg dm}^{-3}$ kada dolazi do potpune prekrivenosti površine elektrode. Na slici 4.32. prikazani su odabrani voltamogrami, te grafovi čije vrijednosti su dobivene očitanjem vrijednosti i_c pri potencijalu $-0,6 \text{ V}$.



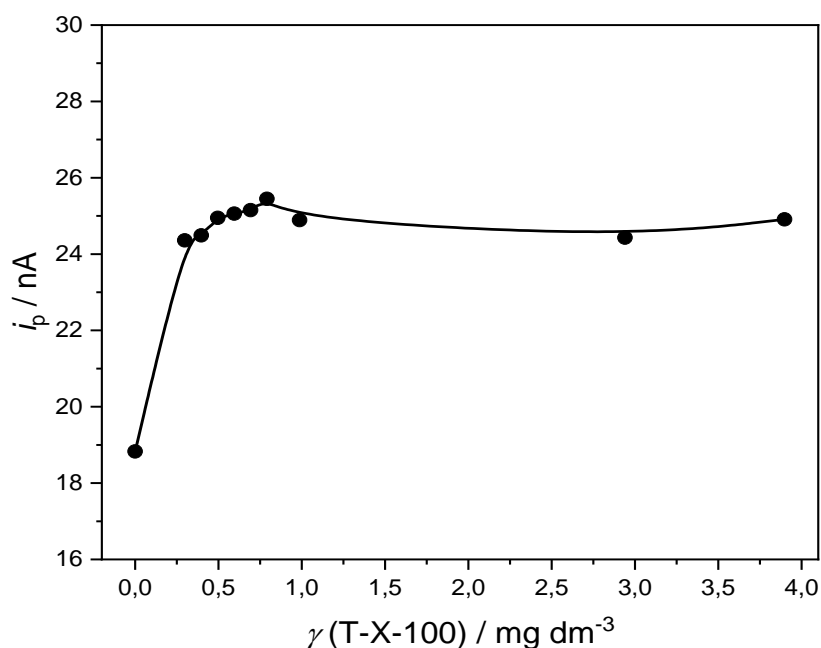
Slika 4.32. A) AC voltamogrami različitih koncentracija ι -karagenana. B) Sniženje kapacitne struje dodatkom ι -karagenana. C) Adsorpcijska izoterma ι -karagenana. Uvjeti mjerenja: $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.

Slika 4.33A prikazuje razliku u kapacitetnoj struji kod primjene različitih potencijala akumulacije u otopini ι -karagenana $\gamma = 2 \text{ mg dm}^{-3}$. Prema krivulji 3 jasno se vidi da pri manje negativnim potencijalima dolazi do sniženja kapacitetne struje tj. Δi_c su više što upućuje na adsorpciju ι -karagenana na elektrodnu površinu. Kod negativnijih potencijala od $-0,8 \text{ V}$ dolazi do snižavanja Δi_c vrijednosti jer je elektrodna površina negativno nabijena što smanjuje afinitet vezanja ι -karagenana zbog elektrostatskog odbijanja negativno nabijenih sulfatnih skupina. Iz krivulje 2 možemo zaključiti da se primjenom negativnog potencijala tijekom 1 s može ukloniti gotovo sav sloj ι -karagenana vezanog na elektrodu. Slika 4.33B opisuje ovisnost razlike kapacitetne struje povećanjem vremena akumulacije na potencijalu $-0,6 \text{ V}$ bez (krivulja 3) i sa primjenom $E_d = -1,7 \text{ V}$, 1 s (krivulja 2). Povećanjem vremena akumulacije povećava se i količina adsorbiranog ι -karagenana na elektrodi. Vrijednosti za krivulju 2 su niže jer se primjenom negativnog potencijala desorbira dio vezanih molekula.



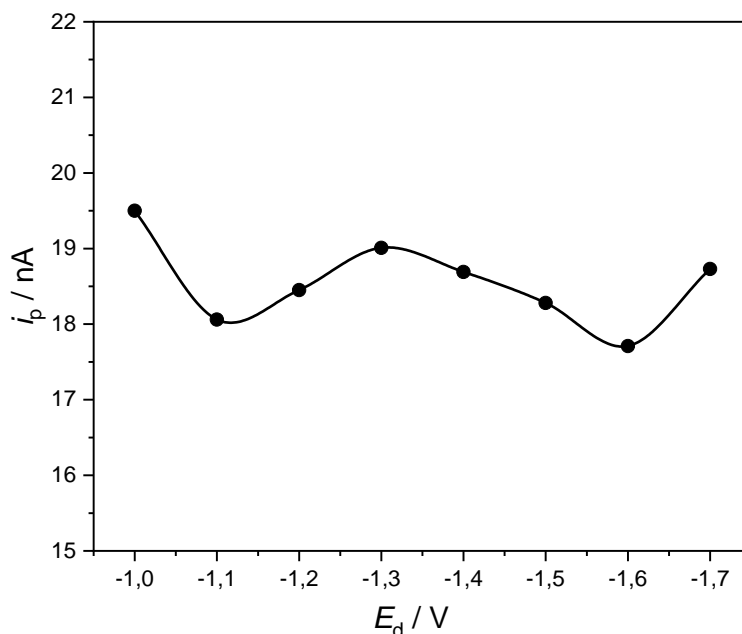
Slika 4.33. A) ACV razlika kapacitetne struje kod različitih potencijala akumulacije i najviše dobivene vrijednosti kapacitetne struje u otopini ι -karagenana $\gamma = 2 \text{ mg dm}^{-3}$, bez (krivulja 3) i sa (krivulja 2) primjenom desorpcijskog potencijala $-1,7 \text{ V}$ tijekom 1 s nakon koraka akumulacije. Krivulja 1 odnosi se na modelni elektrolit UVSW bez primijenjenog koraka desorpcije. B) Ovisnost razlike kapacitetne struje o vremenu akumulacije. (1) $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$; (2) $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$ i $E_d = -1,7 \text{ V}$, $t_d = 1 \text{ s}$; (3) $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.

Ispitan je utjecaj T-X-100 na elektrokemijsku reakciju $400 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ -iona u otopini ι -karagenana $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$. Prema navedenim rezultatima proizlazi da dodatak do $0,3 \text{ mg dm}^{-3}$ T-X-100 uzrokuje naglo povećanje visine pika Cu^{2+} . Maksimalan porast uočen je pri koncentracijama oko 1 mg dm^{-3} , nakon čega se daljnjim dodatkom visina vršne struje nije značajno mijenjala (slika 4.34).



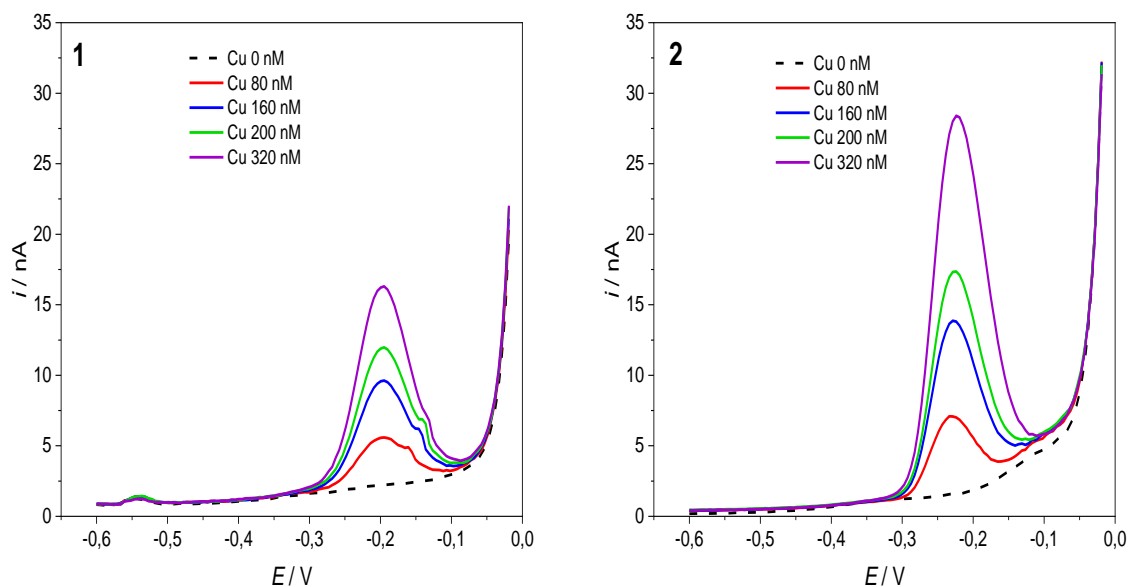
Slika 4.34. DPASV promjena visine pika $400 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u otopini ι -karagenana $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$ s koncentracijom T-X-100. Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.

Iz prikazanih rezultata na slici 4.35. vidljivo je da primjena desorpcijskog koraka u trajanju od 1 s nema značajan niti pozitivan niti negativna utjecaj na elektrokemijsku reakciju Cu^{2+} -iona.



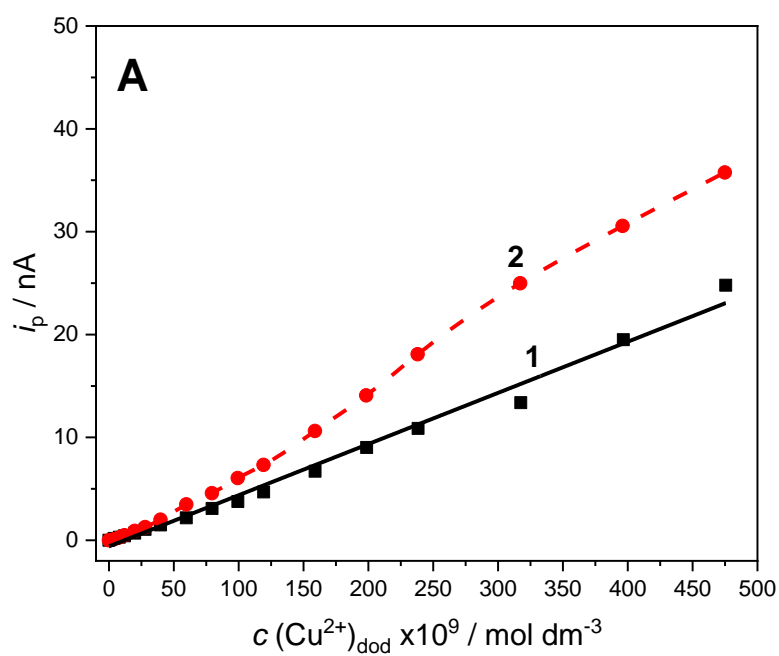
Slika 4.35. DPASV promjena visine pika $400 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u otopini ι -karagenana $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$ primjenom različitog E_d . Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 120 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$, $t_d = 1 \text{ s}$.

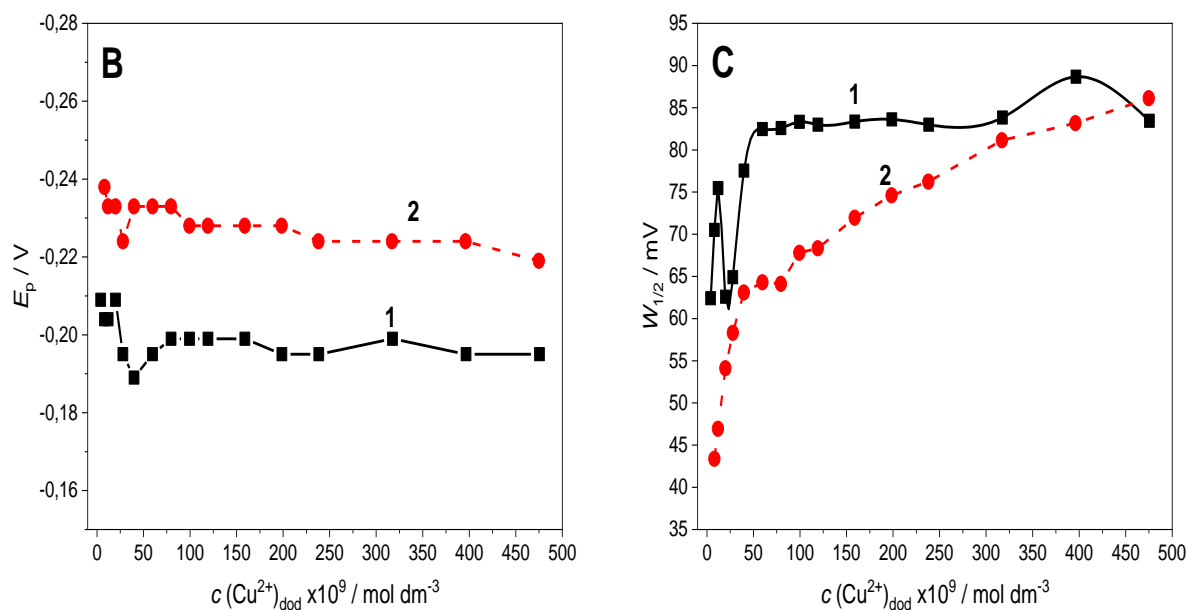
Kompleksometrijske titracije izvedene su DPASV metodom bez primjene E_d i bez dodatka T-X-100 (1) te s dodatkom T-X-100 $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$ i $E_d = -1,4 \text{ V}$ u trajanju od 1 s (2). Usporedbom odabranih voltamograma u slučaju 1 na samom piku bakra se pojavljuje grba što je posljedica nečistoća prisutnih u kemikaliji (slika 4.36). Dodatkom T-X-100 pik bakra je pomaknut prema negativnijem potencijalu, širina pika na polovici visine je puno manja i raste povećanjem koncentracije, a nastali pik je uži i puno bolje definiran (slika 4.37B i C). Uspoređujući vršne struje pika pri ekvivalentnim koncentracijama uočava se značajan porast pri dodatku T-X-100. Iz grafa A na slici 4.37. zaključili smo da ι -karagenan pri odabranim uvjetima nema kapacitet za kompleksiranje Cu^{2+} -iona jer pokazuje linearnu ovisnost visine pika i dodatka Cu^{2+} -iona te je odmah pri najmanjem dodatku od $4 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ uočen pik na DPASV voltamogramima u oba mjerenja.



Slika 4.36. DPASV voltamogrami Cu^{2+} u otopini ι -karagenana $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$ bez E_d i bez T-X-100 (1); sa dodatkom T-X-100 $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$, $E_d = -1,4 \text{ V}$, $t_d = 1 \text{ s}$ (2).

Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.

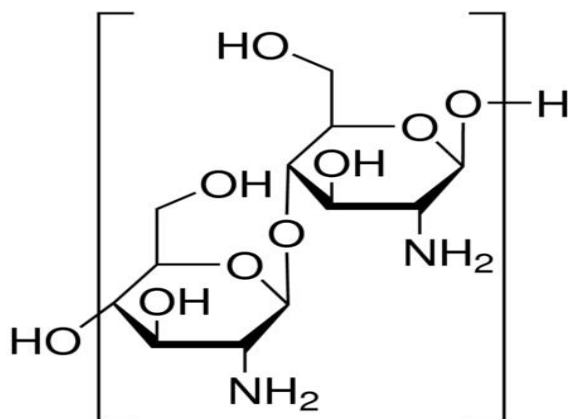




Slika 4.37. Podaci dobiveni analizom voltamograma (slika 4.36) A) Titracijske krivulje kompleksiranja Cu^{2+} -iona u otopini γ -karagenana $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$; B) potencijal pika i C) širina pika na polovici visine kod rastuće koncentraciju Cu^{2+} . Uvjeti mjerenja i oznake krivulja dane su u opisu slike 4.36.

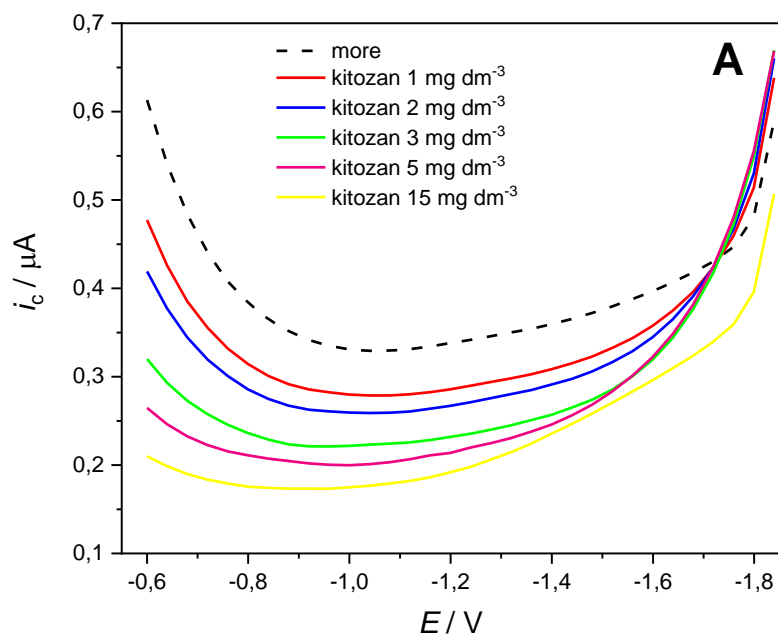
4.2.4. Kitozan

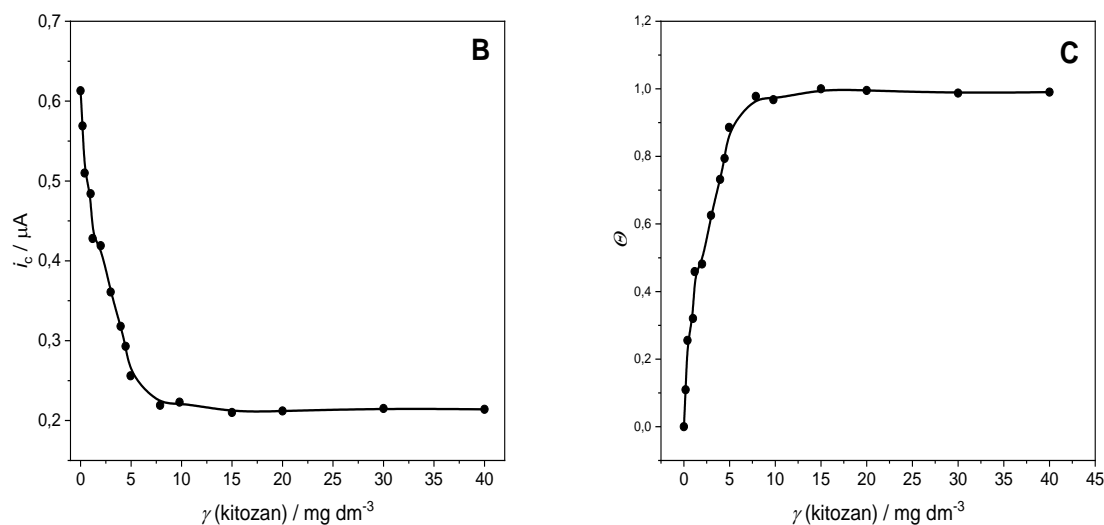
Kitozan je linearni biopolimer koji se sastoji od jedinica D -glukozamina i N -acetil- D -glukozamina koje su međusobno nasumično povezane glikozidnom β -(1-4) vezom. Molekulska težina ovog prirodnog polimera korištenog u radu iznosila je 5 000 Da. Njegova molekulska struktura sastoji se amino skupine vezane na C2 atomu i dvije hidroksilne skupine na C3 i C6 atomima koje tvore intermolekulske i intramolekulske vodikove veze koje određuju stabilnost polimera (slika 4.38). Zbog posjedovanja pozitivno nabijene amino skupine i hidroksilnih skupina primjenom različitih uvjeta može se kemijski modificirati. Karakteriziran je kao čvrsti polikristalni polimer bijele do svjetlo žute boje, a pronađen je u egzoskeletu morskih rakova. Izmjereni DOC u otopini γ (kitozan) = 1 mg dm^{-3} iznosio je $0,5029 \text{ mg C dm}^{-3}$ (tablica 4.1).



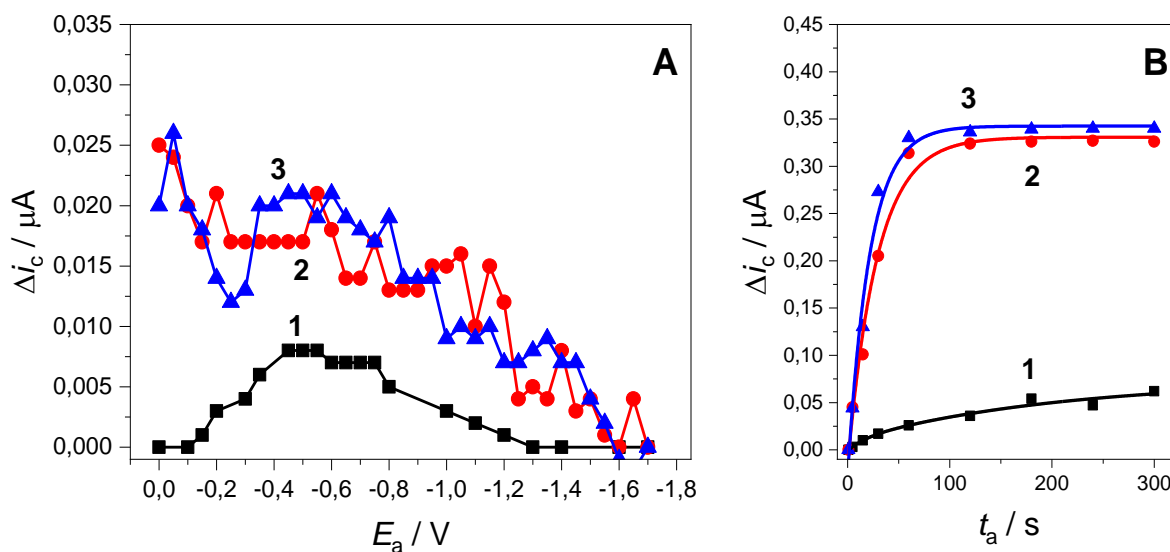
Slika 4.38. Strukturni prikaz molekule kitozana.

Titracijom modelnog elektrolita s pripremljenom otopinom kitozana ACV metodom dokazali smo da kitozan ima afinitet za vezanje na nenabijenu površinu živine kapi tijekom mjerenja u uvjetima $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s u rasponu koncentracija od 0 do $7,8$ mg dm⁻³ (slika 4.39A). Prema adsorpcijskoj izotermi maksimalna prekrivenost postignuta je za koncentraciju $7,8$ mg dm⁻³, nakon čega čak ni pri znatno većim koncentracijama ne dolazi do promjene (slika 4.39C).





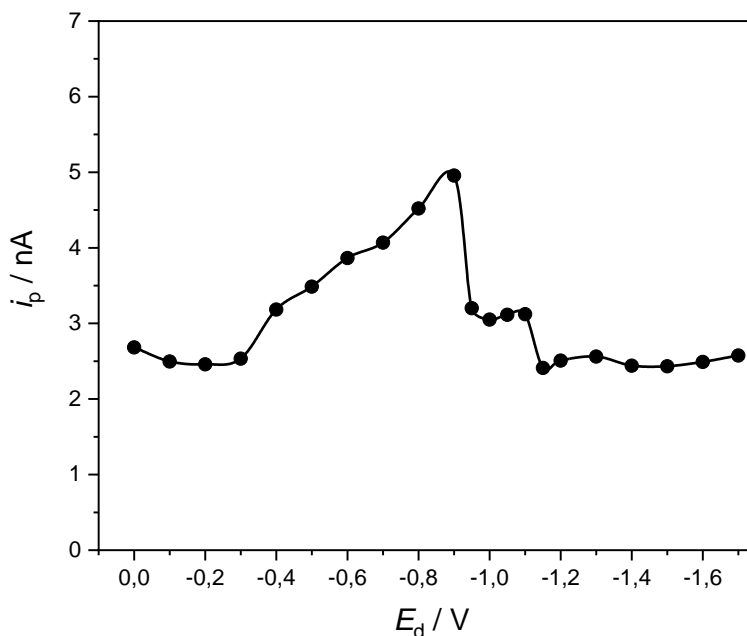
Slika 4.39. A) AC voltamogrami različitih koncentracija kitozana. B) Sniženje kapacitetne struje dodatkom kitozana. C) Adsorpcijska izoterma kitozana. $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.



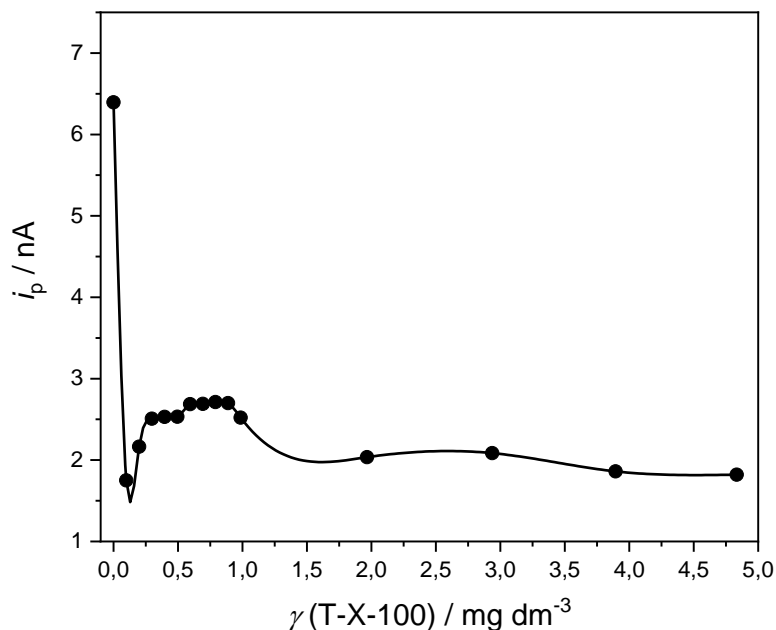
Slika 4.40. A) ACV razlika kapacitetne struje kod različitih potencijala akumulacije i kapacitetne struje na negativnom potencijalu ($-1,7 \text{ V}$) u otopini kitozana $\gamma = 20 \text{ mg dm}^{-3}$, bez (krivulja 3) i sa (krivulja 2) primjenom desorpcijskog potencijala $-1,7 \text{ V}$ tijekom 1 s nakon koraka akumulacije. Krivulja 1 dobivena je u modelnom elektrolitu UVSW bez primijenjenog koraka desorpcije. B) Ovisnost razlike kapacitetne struje o vremenu akumulacije. (1) $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$; (2) $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$ i $E_d = -1,7 \text{ V}$, $t_d = 1 \text{ s}$; (3) $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.

Na slici 4.40. prikazani su rezultati dobiveni određivanjem utjecaja različitog potencijala akumulacije na kapacitetnu struju u otopini kitozana $\gamma = 20 \text{ mg dm}^{-3}$. Na manje negativnim potencijalima dolazi do adsorpcije molekula kitozana na elektrodu i razlika Δi_c je veća. Nema značajne razlike između krivulje 3 i krivulje 2 kod koje je primijenjen korak desorpcije. Na slici 4.40B opaža se da povećanjem vremena akumulacije naglo raste Δi_c do $t_a = 60 \text{ s}$ tj. naglo se smanjuje vrijednost kapacitetne struje kao posljedica povećanja količine adsorbirane tvari na površini elektrode. Primjenom potencijala desorpcije nije uklonjen sloj adsorbiranih molekula sa elektrodne površine.

U otopini kitozana $0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ i $560 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ je proučavan utjecaj primjene različitog E_d (slika 4.41) i dodatak T-X-100 (slika 4.42) na pik Cu^{2+} DPASV metodom. Najveći porast visine pika opažen je pri potencijalu $-0,9 \text{ V}$. Dodatak T-X-100 uzrokovao je naglo snižene visine pika već pri dodanoj koncentraciji od $0,1 \text{ mg dm}^{-3}$, te daljnjim dodacima nije dokazano poboljšanje. U kompleksometrijskim titracijama nismo dodavali T-X-100.



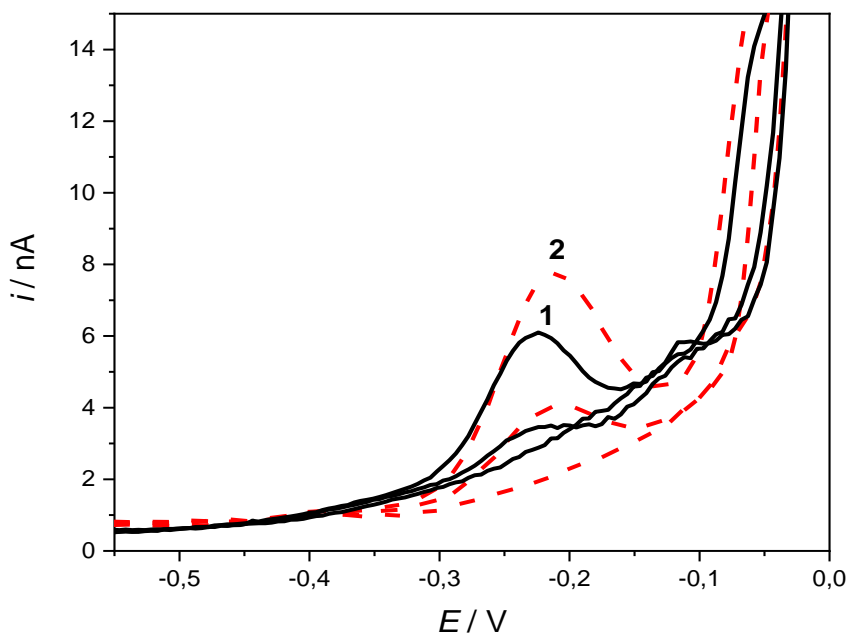
Slika 4.41. DPASV promjena visine pika $560 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u otopini kitozana $\gamma = 0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ primjenom različitog E_d . Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$,
 $t_a = 60 \text{ s}$, $t_d = 1 \text{ s}$.



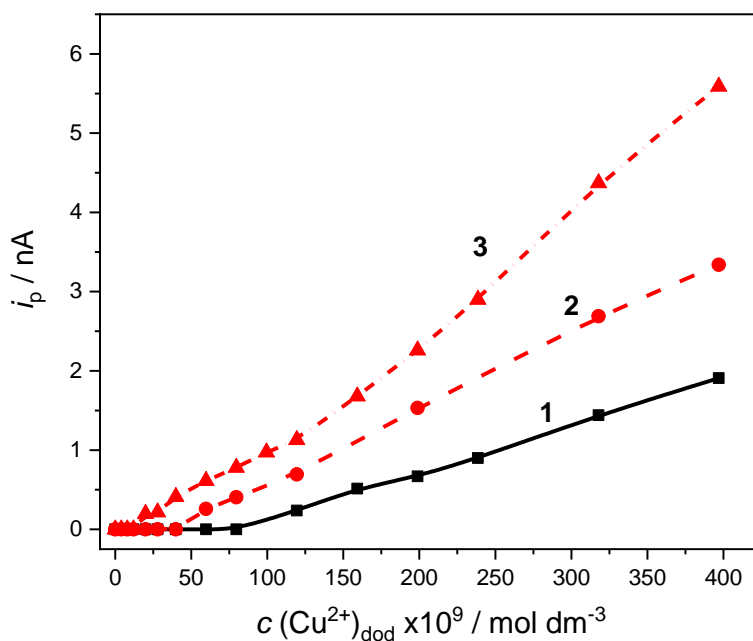
Slika 4.42. DPASV promjena visine pika $560 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u otopini kitozana $\gamma = 0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ kod različite koncentracije T-X-100. Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$, $E_d = -0,9 \text{ V}$, $t_d = 1 \text{ s}$.

Kompleksometrijske titracije izvedene su s primjenom desorpcijskog potencijala $-0,9 \text{ V}$ u trajanju od 1 s (2) i bez E_d (1) kako bi se rezultati mogli usporediti. Na slici 4.43. prikazani su odabrani voltamogami 200×10^{-9} i $480 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u otopini kitozana $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$. Usporedbom vrijednosti vršnih struja za iste koncentracije Cu^{2+} -iona uočavaju se više vrijednosti u mjerenjima s desorpcijskim korakom. Iz titracijskih krivulja na slici 4.44. može se zaključiti da kitozan ima kapacitet za kompleksiranje iona Cu^{2+} -iona u morskoj vodi. Pik bakra kod mjerenja bez E_d (krivulja 1) javlja se tek pri dodatku od $120 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$, nakon čega se uočava linearan odaziv s obzirom na daljnji dodatak Cu^{2+} -iona. Kod mjerenja s primijenjenim E_d pik se uočava u DPASV voltamogramima pri dodatku $60 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ -iona. Analizom pika Cu^{2+} pri rastućoj koncentraciji Cu^{2+} -iona u otopini kitozana $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$ zamijećeno je da primjena E_d pomiče potencijal pika prema negativnijem potencijalu u odnosu na mjerenja bez E_d , te se širina pika na polovici visine linearno povećava s porastom koncentracije Cu^{2+} (slika 4.45). Na slici 4.44. prikazana je i titracijska krivulja kompleksiranja Cu^{2+} -iona u otopini kitozana $\gamma = 0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ (krivulja 3) s primjenom $E_d = -0,9 \text{ V}$. Ako usporedimo s krivuljom 2 vidimo da također pokazuje linearnu ovisnost, samo što se u ovome

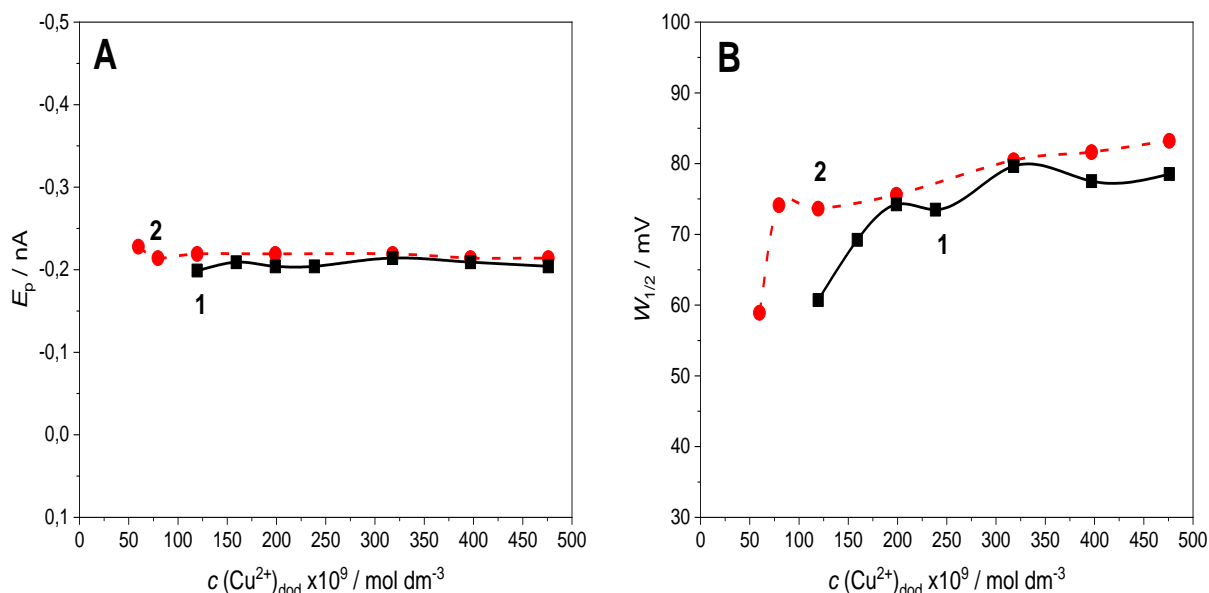
slučaju pik Cu^{2+} uočava ranije tj. kod dodatka do $20 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$, što je i očekivano jer je u otopini prisutna manja koncentracija kitozana i manje je povoljnih mjesta za vezanje iona Cu^{2+} -iona. Vrijednosti krivulje 2 unesene su u program ProMCC i određen je kapacitet kompleksiranja Cu^{2+} -iona od $241 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$ s pripadajućom uvjetnom konstantom stabilnosti $\log K' = 8,09$.



Slika 4.43. DPASV voltamogrami 200×10^{-9} i $480 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ -iona u otopini kitozana $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$ bez E_d (1) i s primjenom koraka desorpcije $t_d = 1 \text{ s}$, $E_d = -0,9 \text{ V}$ (2).
Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$, bez dodatka T-X-100.



Slika 4.44. Titracijske krivulje kompleksiranja Cu^{2+} -iona u otopinama kitozana: 1) γ (kitozan) = 1 mg dm^{-3} , bez E_d ; 2) γ (kitozan) = 1 mg dm^{-3} , $E_d = -0,9 \text{ V}$, $t_d = 1 \text{ s}$; 3) γ (kitozan) = $0,5 \text{ mg dm}^{-3}$, $E_d = -0,9 \text{ V}$, $t_d = 1 \text{ s}$. Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$, bez T-X-100.

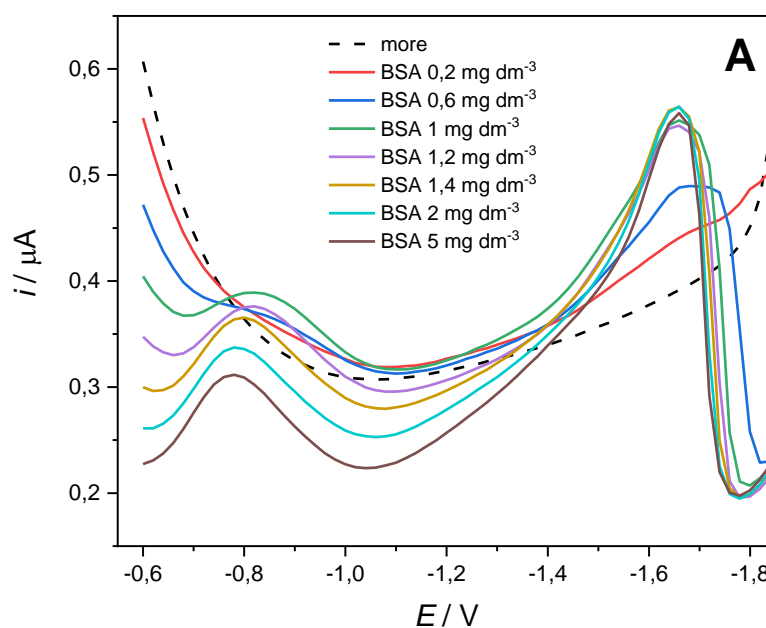


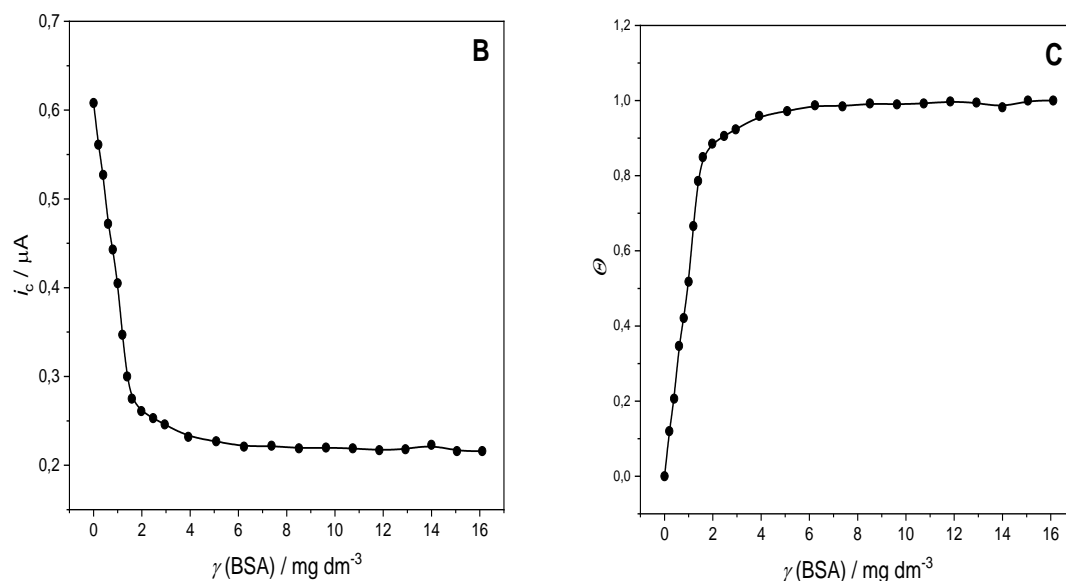
Slika 4.45. Podaci dobiveni analizom pika Cu^{2+} pri rastućoj koncentraciji Cu^{2+} -iona u otopini kitozana γ (kitozan) = 1 mg dm^{-3} : A) potencijal pika, B) širina pika na polovici visine. Uvjeti mjerenja i oznake krivulja dane su u opisu slike 4.44.

4.2.5. BSA

Goveđi serum albumin (engl. *bovine serum albumin*, BSA) je globularni protein molekulske mase 66 463 Da. U strukturi ima 583 aminokiselinskih ostataka, od kojih 17 cisteinskih bočnih ogranača čine osam disulfidnih mostova (-SS) i jednu slobodnu tiolnu skupinu (-RS-). S obzirom na strukturu proteina, prisustvo velikog broja ugljikovih atoma i različitih funkcionalnih skupina u bočnim ograncima aminokiselina moguće je odvijanje hidrofobnih, hidrofilnih i elektrostatskih interakcija ovisno o mediju kojim je okružen. Prirodno je dobiven iz goveda, a najčešće se koristi kao standardni protein u različitim analitičkim i biokemijskim istraživanjima, ali i u analitičkoj kemiji morske vode. U ovome radu korišten je komercijalno dostupan liofilizirani protein. Izmjerena vrijednost DOC-a u 1 mg dm⁻³ otopine BSA iznosila je 0,186 mg C dm⁻³ (tablica 4.1).

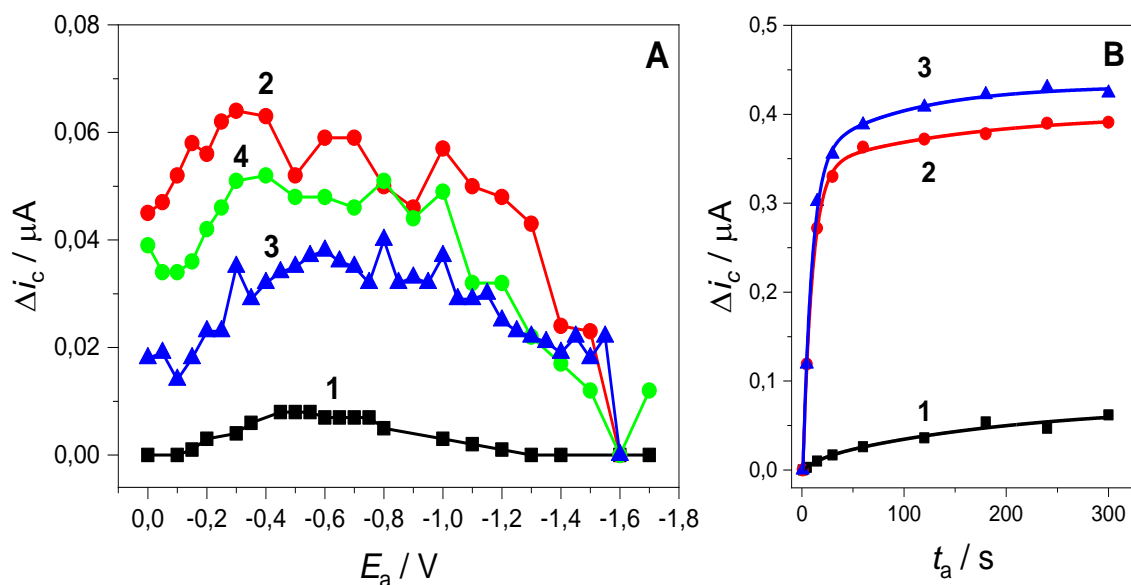
Ispitana su adsorpcijsko-desorpcijska svojstva BSA tako da je pri svakoj dodanoj koncentraciji BSA u rasponu od 0,2 do 16,1 mg dm⁻³ snimljen AC voltamogram. Odabrani voltamogrami prikazani su na slici 4.46A. Vrijednosti kapacitetne struje očitane su na -0,6 V i prikazane su na slici 4.46B u ovisnosti o masenoj koncentraciji. Vrijednost i_c se linearno snižava u odnosu na vrijednost za modelni elektrolit do koncentracije 1,6 mg dm⁻³, nakon čega dolazi tek do manjih promjena daljnjim povećanjem koncentracije. Adsorpcijski plato nastaje pri koncentracijama višim od 3 mg dm⁻³ (slika 4.46C).





Slika 4.46. A) AC voltamogrami snimljeni kod različitih koncentracija BSA. B) Sniženje kapacitetne struje dodatkom BSA. C) Adsorpcijska izoterma BSA.

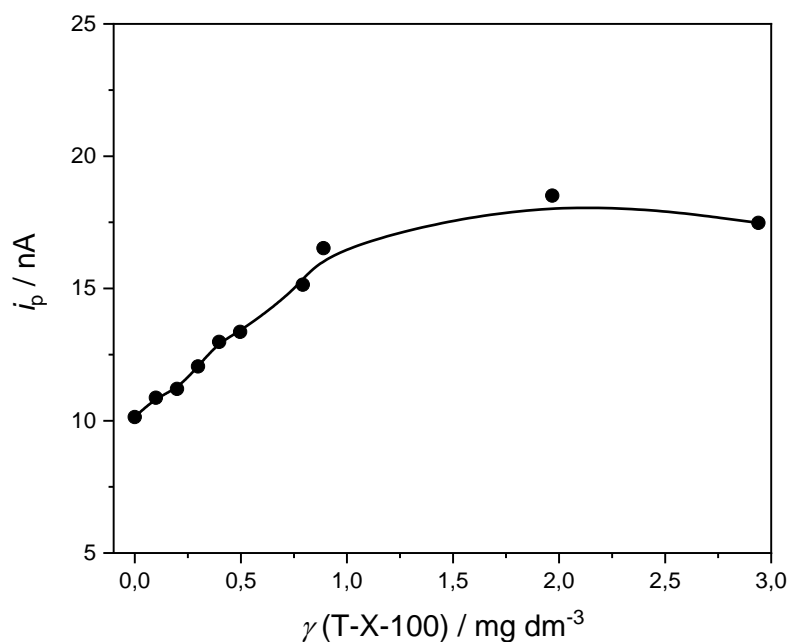
Uvjeti mjerenja: $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s.



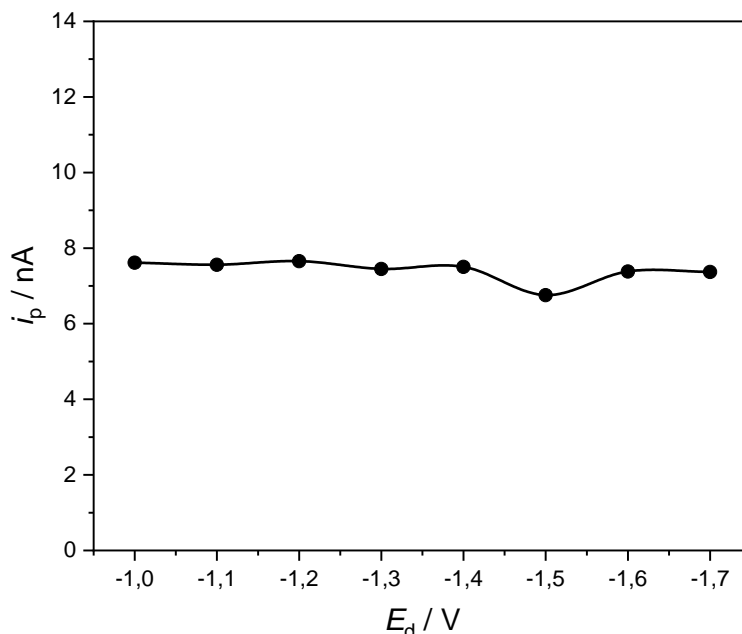
Slika 4.47. A) ACV razlika kapacitetne struje na različitom E_a i kapacitetne struje na negativnom potencijalu ($-1,6$ V) u otopini BSA $\gamma = 5$ mg dm⁻³, bez primjene koraka desorpcije E_d (krivulja 3), sa $E_d = -1,6$ V (krivulja 2) i $E_d = -1,7$ V (krivulja 4) tijekom 1 s nakon koraka akumulacije. Krivulja 1 odnosi se na modelni elektrolit UVSW bez primijenjenog koraka desorpcije. B) Ovisnost razlike kapacitetne struje o vremenu akumulacije. (1) $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s; (2) $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s i $E_d = -1,4$ V $t_d = 1$ s; (3) $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s.

Za istraživanja utjecaja različitog potencijala akumulacije i vremena akumulacije, te primjene desorpcijskog koraka korištena je koncentracija 5 mg dm^{-3} BSA pri kojoj je postignuto potpuno zasićenje živine kapi. Na slici 4.47A prikazane su krivulje koje predstavljaju promjenu u vrijednosti kapacitetne struje kod različitog potencijala akumulacije. Iz krivulja 2 i 4 možemo primijetiti da primjenom negativnog potencijala u kratkom vremenu dolazi čak do povećanja vrijednosti Δi_c , što upućuje na veći stupanj adsorpcije na elektrodnu površinu. Primjenom E_d dolazi do vrlo male desorpcije BSA s elektrode (slika 4.47B).

Ispitan je utjecaj dodatka T-X-100 na visinu pika $400 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u otopini 1 mg dm^{-3} BSA. Povećanjem koncentracije T-X-100 visina pika se linearno povećava do koncentracije 1 mg dm^{-3} , nakon čega se više ne mijenja (slika 4.48). Primjena negativnog potencijala od -1 do $-1,7 \text{ V}$ u trajanju od 1 s nije pokazala utjecaj na visinu pika $400 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u otopini BSA (slika 4.49).

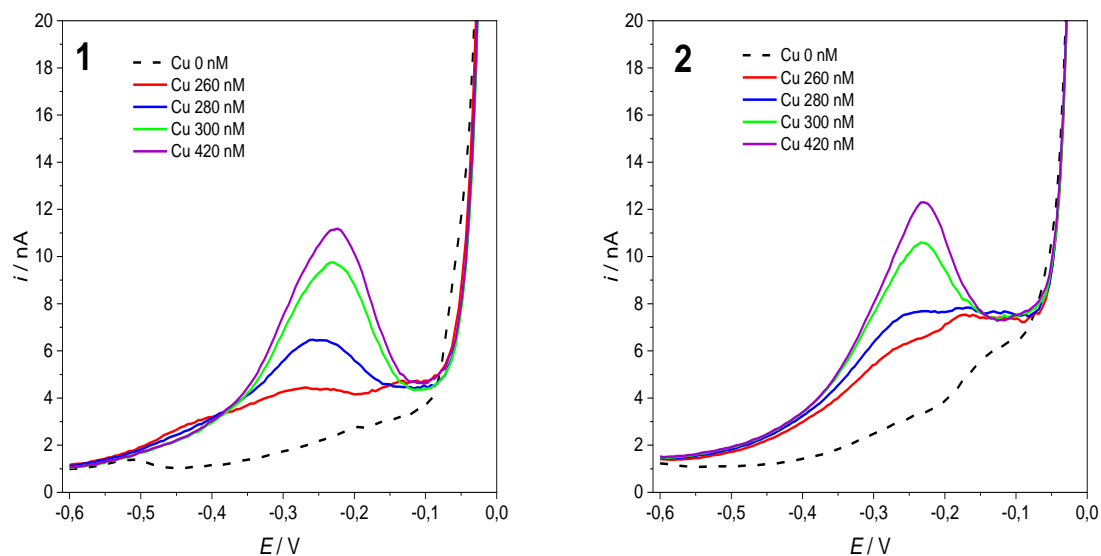


Slika 4.48. DPASV promjena visine pika $400 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u otopini 1 mg dm^{-3} BSA kod različite koncentracije T-X-100. Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.

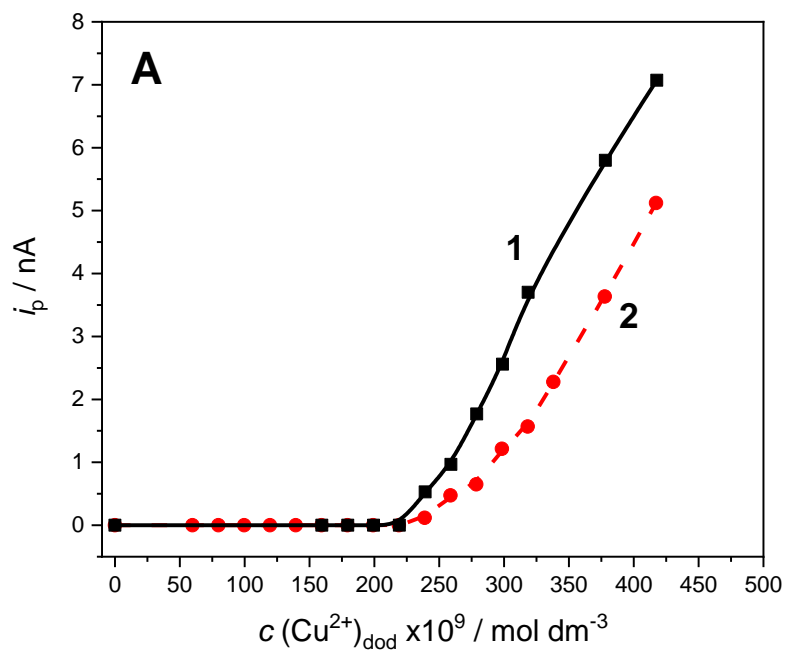


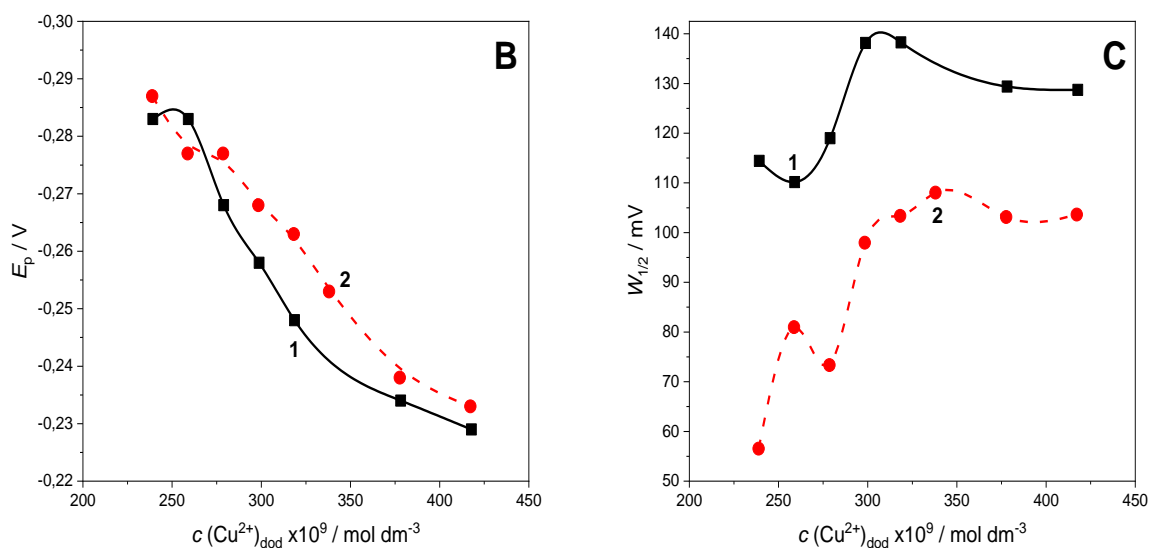
Slika 4.49. DPASV promjena visine pika $400 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u otopini BSA $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$ primjenom različitog E_d . Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$, $t_d = 1 \text{ s}$.

Kompleksometrijske titracije izvedene su u otopini BSA $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$ bez E_d i bez dodatka T-X-100 (1) te s dodatkom T-X-100 $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$ i primjenom $E_d = -1,4 \text{ V}$ (2). Na slici 4.50. prikazani su odabrani DPASV voltamogrami iz kojih se vidi da su dobiveni pikovi prošireni i slabo definirani u slučaju 1 što je otežavalo očitavanje vršne struje. Na slici 4.51A se vidi da se pik bakra pojavljuje tek pri koncentraciji $240 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ iz čega se jasno može zaključiti da BSA ima visoki kapacitet za kompleksiranje iona Cu^{2+} u otopini. Mjerenja koja se izvedena uz dodatak T-X-100 pokazala su uži i bolje definiran pik, koji je pomaknut prema negativnijem potencijalu (slika 4.51B i C). Dobiveni rezultati potvrđuju da i u otopini proteina T-X-100 pozitivno utječe na elektrokemijske procese Cu^{2+} i olakšava reoksidaciju na elektodnoj površini. U programu ProMCC izračunato je da BSA ima kapacitet za kompleksiranjem $275 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ ($\log K = 9,12$).



Slika 4.50. DPASV voltamogrami Cu^{2+} u otopini BSA $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$ bez E_d (1), sa dodatkom T-X-100 $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$, $E_d = -1,4 \text{ V}$, $t_d = 1 \text{ s}$ (2). Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.



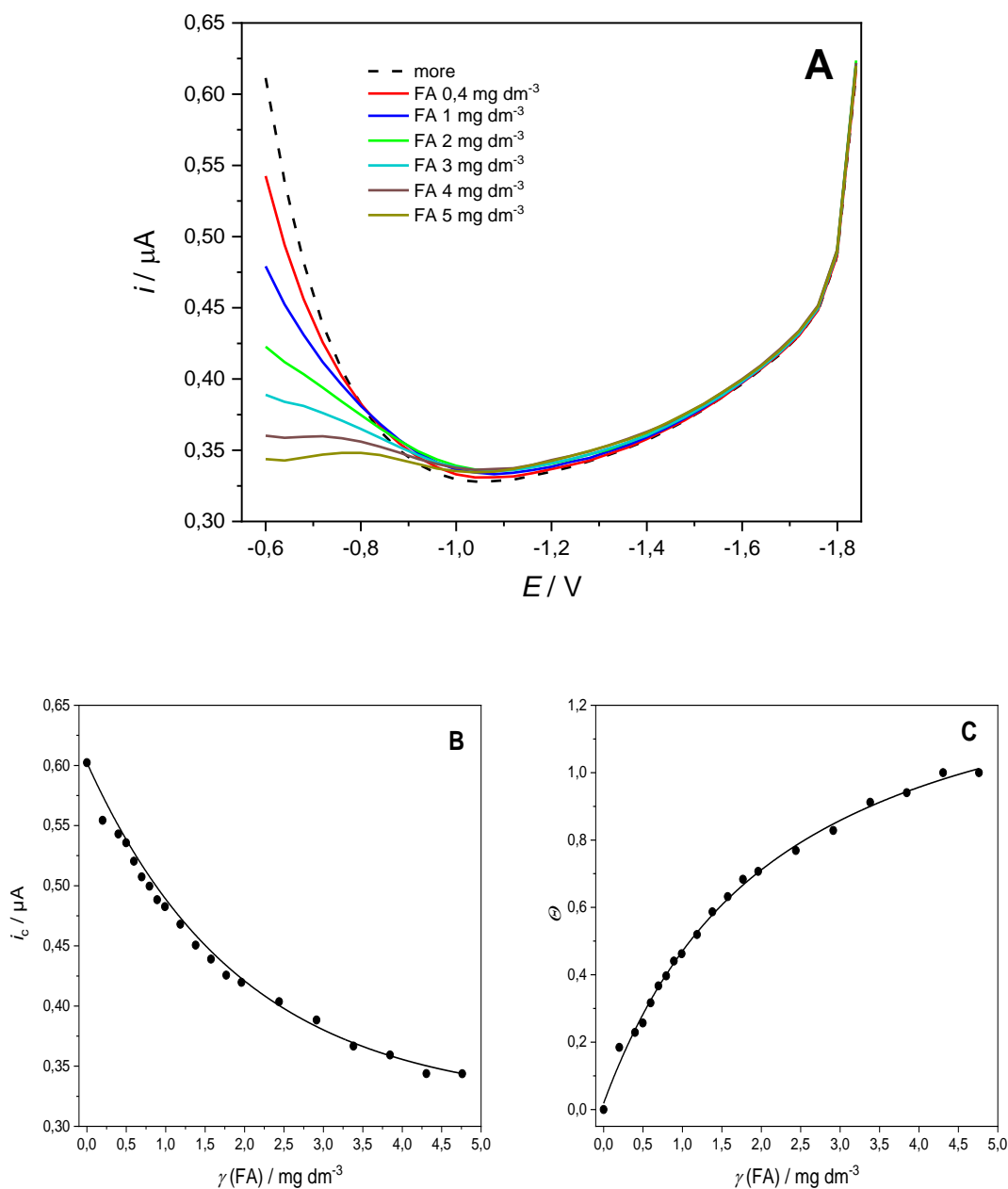


Slika 4.51. Podaci dobiveni analizom pika Cu^{2+} pri rastućoj koncentraciji iona Cu^{2+} u otopini BSA $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$: A) titracijske krivulje kompleksiranja Cu^{2+} -iona, B) potencijal pika i C) širina pika na polovici visine. Uvjeti mjerenja i oznake krivulja dane su u opisu slike 4.50.

4.2.6. SRFA

Fulvična kiselina (*engl.* fulvic acid, FA) pripada jednoj od dvije klase prirodnih organskih polimera koji se ekstrahiraju iz humusa. FA je kupljena kao referentna tvar SRFA III (*engl.* Suwannee River *Fulvic Acid*) koja predstavlja većinu DOC-a u vodama nastalu raspadom vegetacije. U SFRA III je potvrđeno prisustvo elemenata C, H, O, N, S i P. Ukupna koncentracija DOC prisutna u 1 mg dm^{-3} SFRA III iznosi $0,533 \text{ mg C dm}^{-3}$. U daljnjem tekstu biti će imenovana kao „FA“.

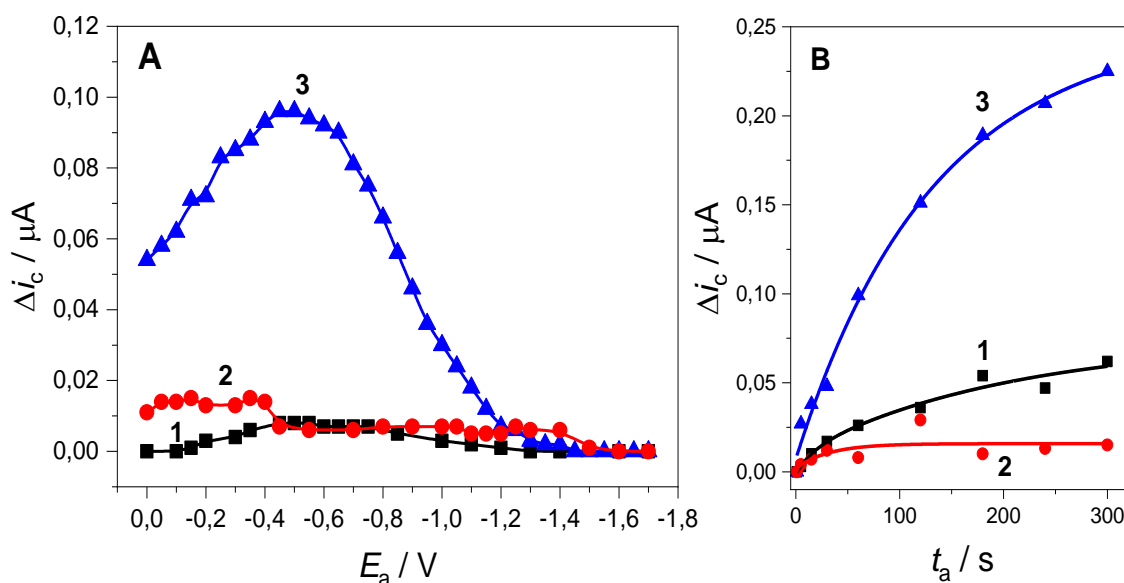
Povećanjem koncentracije FA u rasponu od 0 do $4,8 \text{ mg dm}^{-3}$ kapacitetna struja se snižavala u odnosu na osnovni elektrolit (očitana struja na potencijalu $-0,6 \text{ V}$, slika 4.52A, B). Adsorpcijski plato postigao se kod koncentracije $4,3 \text{ mg dm}^{-3}$. Za daljnja istraživanja ponašanja FA prilikom primjene različitog potencijala odabrana je koncentracija 1 mg dm^{-3} FA pri kojoj je zauzeto oko pola dostupnih mjesta za adsorpciju na površini živine kapi.



Slika 4.52. A) AC voltamogrami različitih koncentracija FA. B) Sniženje kapacitetne struje dodatkom FA. C) Adsorpcijska izoterma FA. Uvjeti mjerenja: $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s.

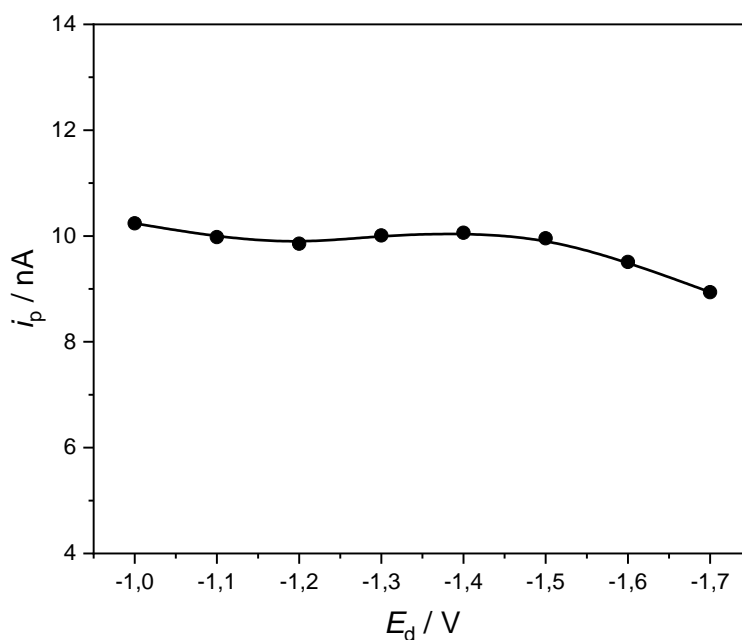
Na slici 4.53A prikazani su rezultati ACV mjerenja primjenom različitog potencijala akumulacije. Najviše FA se adsorbiralo oko potencijala $-0,5$ V na kojem je elektrodna površina nenabijena što upućuje da FA ima visoki afinitet za vezanje na takvu hidrofobnu površinu (krivulja 3). Δi_c postaje gotovo zanemariva primjenom desorpcijskog negativnog potencijala od $-1,7$ V tijekom 1 s (krivulja 2). Negativan potencijal uspješno desorbira FA sa površine živine

kapi te se dobivaju rezultati vrlo slični onima u UVSW u kojem nema organskih molekula (krivulja 1). Iz ovisnosti Δi_c o vremenu akumulacije može se zaključiti da bez primjene E_d količina adsorbirane FA na elektrodi raste povećanjem vremena akumulacije, dok primjenom negativnog E_d ne dolazi do značajne promjene u vrijednosti i_c čak niti nakon 300 s akumulacije (slika 4.53B).

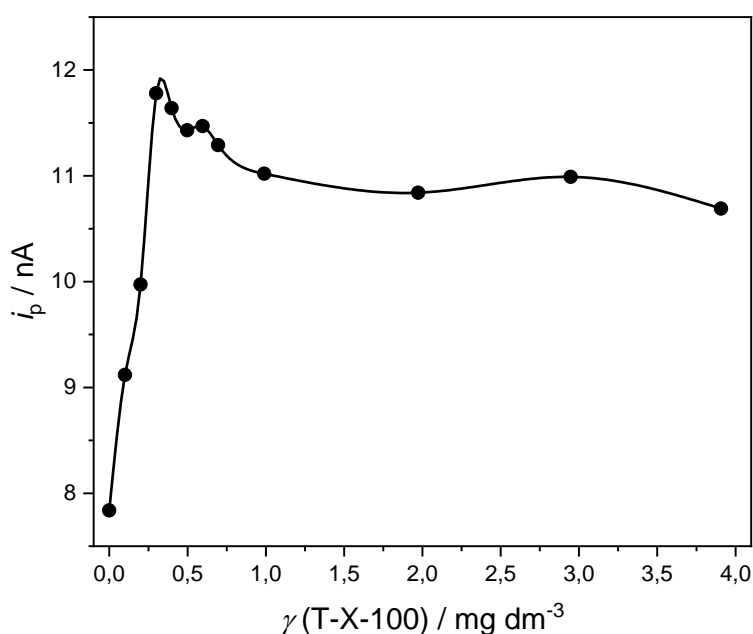


Slika 4.53. A) ACV razlika kapacitetne struje kod različitih potencijala akumulacije i kapacitetne struje na negativnom potencijalu ($-1,7$ V) u otopini FA $\gamma = 1$ mg dm $^{-3}$, bez (krivulja 3) i sa (krivulja 2) primjenom desorpcijskog potencijala $-1,7$ V tijekom 1 s nakon koraka akumulacije. Krivulja 1 odnosi se na modelni elektrolit UVSW bez primijenjenog koraka desorpcije. B) Ovisnost razlike kapacitetne struje o vremenu akumulacije. (1) $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s; (2) $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s i $E_d = -1,7$ V, $t_d = 1$ s; (3) $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s.

U daljnjim eksperimentima je istraženo kako adsorpcija FA utječe na redukcijско-oksidacijske procese Cu $^{2+}$ te da li se njezina interferencija može smanjiti primjenom E_d i dodatkom T-X-100. Primjena različitog E_d u rasponu od $-1,0$ do $-1,7$ V tijekom 1 s nije značajno utjecala na visinu pika 200×10^{-9} mol dm $^{-3}$ Cu $^{2+}$ u otopini FA (slika 4.54). Dodatak T-X-100 do $0,3$ mg dm $^{-3}$ uzrokovao je naglo povećanje vršne struje pika Cu $^{2+}$, te se daljnjim povećanjem koncentracije visina pika nije značajno mijenjala (slika 4.55).

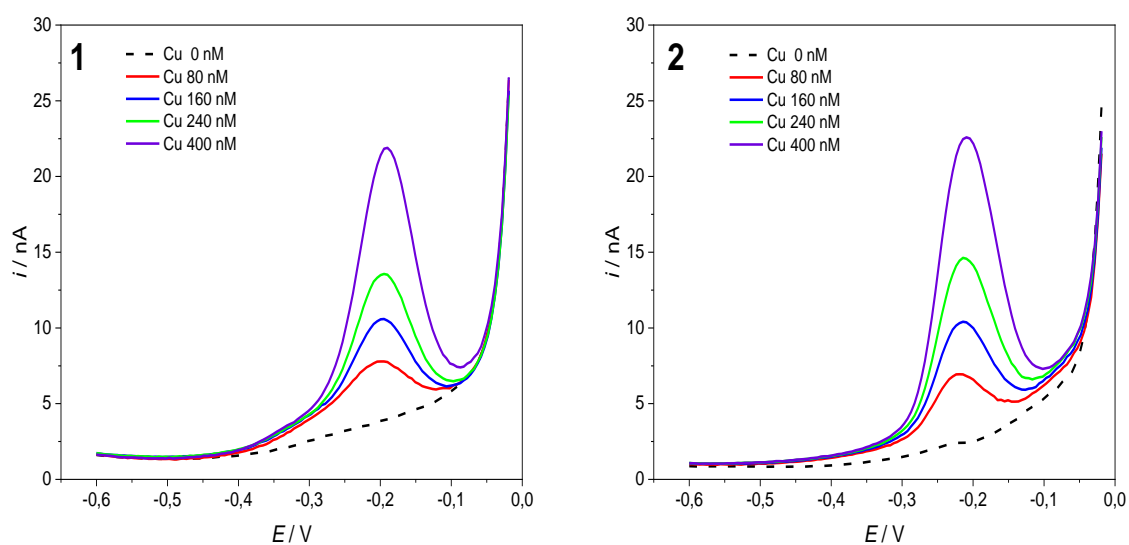


Slika 4.54. DPASV promjena visine pika $200 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u otopini FA $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$ primjenom različitog E_d . Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 120 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$, $t_d = 1 \text{ s}$.

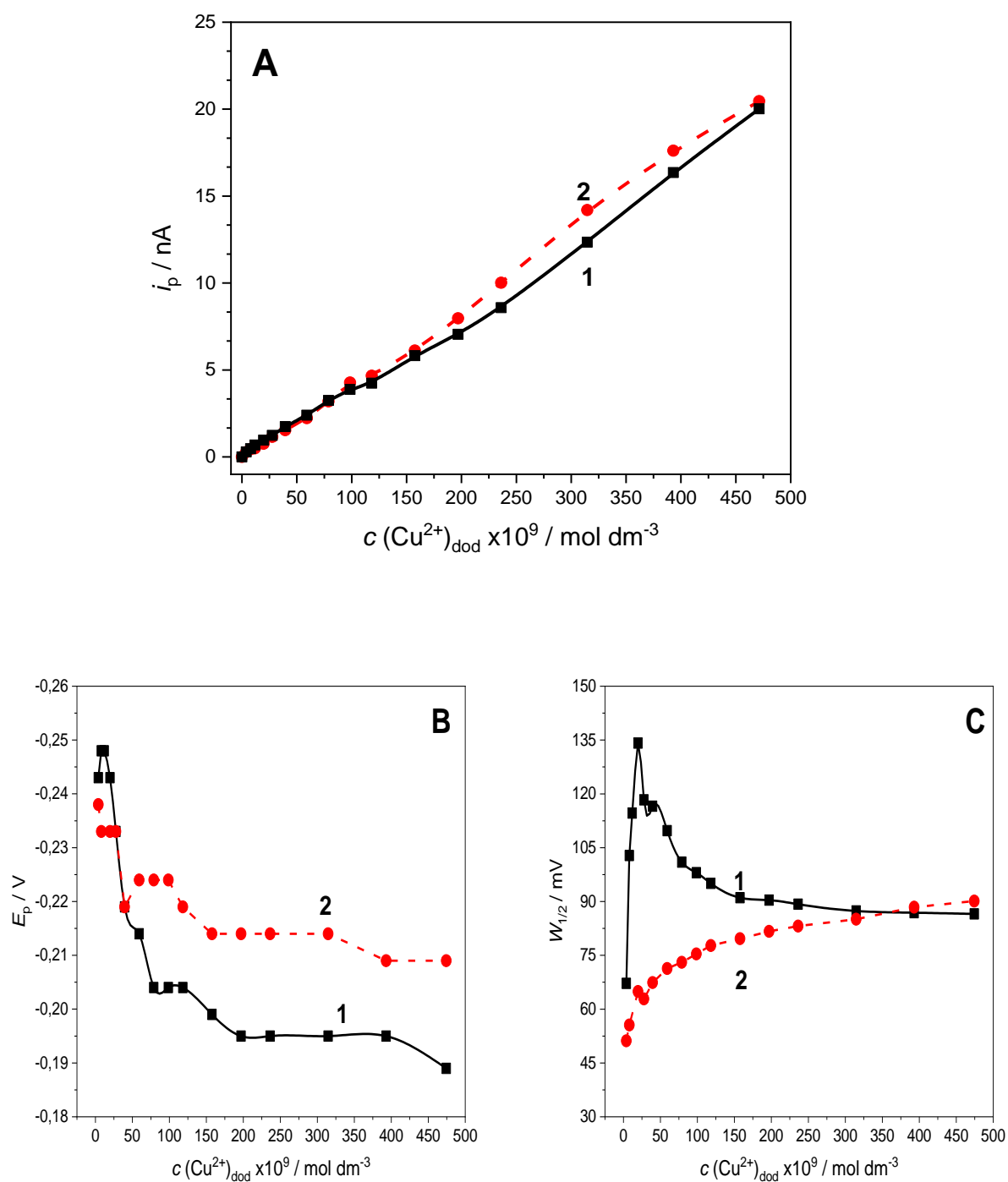


Slika 4.55. DPASV promjena visine pika $200 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3} \text{ Cu}^{2+}$ u otopini FA $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$ s koncentracijom T-X-100. Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.

Kompleksometrijske titracije izvedene su bez (1) i sa dodatkom $0,3 \text{ mg dm}^{-3}$ T-X-100 (2) pri kojoj je dokazan najveći utjecaj na pik bakra. Razlike u vršnoj struji ekvivalentnih koncentracija Cu^{2+} -iona gotovo nema (slika 4.56) te dobiveni rezultati na slici 4.57A pokazuju da FA nema kapacitet za vezanje Cu^{2+} -iona u odabranim uvjetima mjerenja jer se pik uočava već pri najmanjem dodatku od $4 \times 10^{-9} \text{ mol dm}^{-3}$. Ipak, analizom dobivenih voltamograma vidljivo je da se pikovi pojavljuju pri negativnijem potencijalu i imaju manju širinu na polovici visine, nego što je to kod voltamograma snimljenih bez T-X-100 (slika 4.57B, C).



Slika 4.56. DPASV voltamogrami Cu^{2+} u otopini FA $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$ bez dodatka (1) i sa dodatkom T-X-100 $\gamma = 0,3 \text{ mg dm}^{-3}$ (2). Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 180 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 60 \text{ s}$.



Slika 4.57. Podaci dobiveni analizom pika Cu^{2+} pri rastućoj koncentraciji Cu^{2+} -iona u otopini FA $\gamma=1 \text{ mg dm}^{-3}$: A) titracijske krivulje kompleksiranja Cu^{2+} -iona, B) potencijal pika i C) širina pika na polovici visine. Uvjeti mjerenja i oznake krivulja dane su u opisu slike 4.56.

4.2.7. Zajednička voltametrijska svojstva modelnih spojeva

Odabrani modelni spojevi predstavljaju različite organske molekule prirodno prisutne u morskoj vodi. Svi korišteni modeli osim alginata pokazali su afinitet za adsorpciju na hidrofobnu površinu živine kapi koja je služila kao radna elektroda. Stupanj prekrivenosti elektrodne površine je bio veći povećanjem njihove koncentracije (osim alginata) sve do određene koncentracije nakon čega je uslijedio adsorpcijski plato, pa za njih vrijedi Langmuirova adsorpcijska izoterma.

Primjenom različitog potencijala akumulacije od 0 V do $-1,7$ V navedene molekule zbog svoje različite strukture mogu pokazivati drugačija adsorpcijsko-desorpcijska svojstva i tako utjecati na redukcijsko-oksidacijske procese labilnih kemijskih vrsta Cu^{2+} tijekom kompleksometrijske titracije standardnom otopinom Cu^{2+} mjereno u DPASV metodi. Takva interferencija se očekuje oko $-0,6$ V tijekom akumulacijskog koraka (redukcija Cu^{2+}) i/ili stripping koraka (reoksidacija Cu iz amalgama) u kojem se u DPASV voltamogramu pojavljuje loše definiran pik oko $-0,2$ V. Osim BSA i alginata, ostale molekule se adsorbiraju pri manje negativnim potencijalima akumulacije. BSA ne pokazuje značajno drugačije ponašanje pri promjeni potencijala u rasponu od 0 do $-1,7$ V, dok se alginat jače veže na elektrodu primjenom potencijala negativnijeg od $-0,6$ V. Adsorpcija i desorpcija tvari pri različitim uvjetima može se objasniti na temelju hidrofobnih i elektrostatskih interakcija koje proizlaze iz strukture molekula. Primjenom negativnog potencijala u trajanju od 1 s nakon koraka akumulacije molekule se uspješno desorbiraju s elektrode, što potvrđuje opravdanost primjene E_d kao mogući voltametrijski parametar za uklanjanje interferencija organskih površinsko aktivnih molekula na redukcijsko-oksidacijske procese Cu^{2+} .

Dodatakom neionskog surfaktanta T-X-100 i primjenom E_d u trajanju od 1 s u otopinama modelnih spojeva dobiven je dobro definiran pik Cu^{2+} : viša vršna struje pika, negativniji potencijal pika, te uži pik. Dodatak T-X-100 u otopinu kod svih modela stabilizira energiju prijelaznog stanja u reoksidacijskom procesu $\text{Cu} \rightarrow \text{Cu}^{2+}$ koji se odvija na elektrodnoj površini i na taj način olakšava sam proces, a posljedica toga je pik koji se javlja pri negativnijem potencijalu. Primjenom koraka desorpcije pri negativnom potencijalu smanjene su interferencije koje su posljedica adsorbirane organske molekule kitozana i alginata, te djelomično ι -karagenana, čime je elektroda postala osjetljivija na labilan Cu^{2+} . Za dekstran, FA i BSA nije zapaženo povećanje intenziteta vršne struje pika Cu^{2+} . Kod svih modelnih otopina mjerenih uz dodatak T-X-100 dobiveni pikovi imali su manju širinu na polovici visine čime su

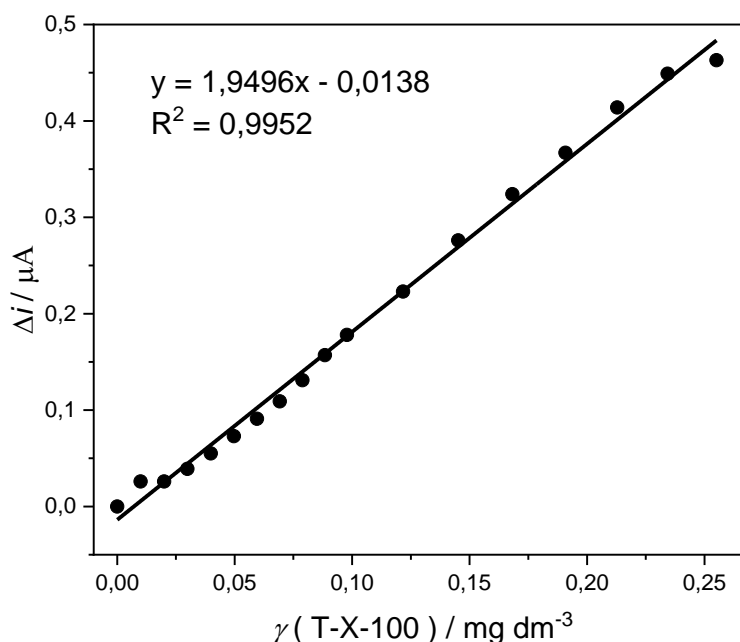
bili bolje definirani. Visina vršne struje pika Cu^{2+} kod svih modela je bila povećana dodatkom sufraktanta, osim kod kitozana koji se pokazao kao iznimka. Dodatak T-X-100 uzrokovao je naglo sniženje vršne struje Cu^{2+} pika. Modeli BSA, alginat i kitozan pokazali su sposobnost kompleksiranja Cu^{2+} -iona što ih svrstava u moguće ligande koji tvore stabilne komplekse i u morskim uzorcima.

4.3. Prirodni uzorci

Prirodni uzorci morske vode su uzorkovani u razdoblju ožujak-kolovoz 2017. godine u sjevernom dijelu Jadranskog mora na postaji SJ101 pri površini (0,5 m) i pri dnu (~30 m). U njima je izmjeren pH, salinitet, koncentracija PAT, DOC, te su određeni parametri kapaciteta kompleksiranja bakra (KKCu): koncentracija pojedinih grupa liganada $[\text{L}_i]$ s pripadajućom uvjetnom konstantom stabilnosti ($\log K'_i$).

4.3.1. Organska tvar u prirodnim uzorcima

Vrijednosti DOC određene u periodu ožujak-kolovoz 2017. godine su u rasponu od 1,507 do 1,999 mg C dm^{-3} za površinu i od 1,096 do 1,394 mg C dm^{-3} za uzorke pri dnu. Prosječna koncentracija DOC veća je u površinskim uzorcima (1,785 mg C dm^{-3}) nego u uzorcima dna (1,192 mg C dm^{-3}). Koncentracija DOC se povećava od ožujka do ljetnih mjeseci lipnja i srpnja. PAT čine veliki dio otopljene organske tvari u uzorcima mora, a koncentracija prisutnih PAT u uzorcima određena je ACV metodom na temelju smanjenja vrijednosti kapacitetne struje u odnosu na modelni elektrolit. Koncentracije su izražene kao ekvivalenti koncentracija T-X-100 koji se pokazao kao dobar model prema jednadžbi pravca na slici 4.58. Rezultati su prikazani u tablici 4.2. Koncentracije PAT pokazuju slični sezonski trend kao i DOC, s višim koncentracijama u površinskom sloju. Vrijednosti PAT su u rasponu od $0,126 \pm 0,008$ do $0,167 \pm 0,009$ eq. mg T-X-100 dm^{-3} u površinskim uzorcima i od $0,085 \pm 0,008$ do $0,127 \pm 0,008$ eq. mg T-X-100 dm^{-3} u uzorcima pri dnu. Najveća koncentracija PAT je određena u površinskom uzorku prikupljenog u srpnju 2017. godine. Koncentracija uzoraka sa dna prokazuje lagani trend rasta u ljetnim mjesecima svibanj-srpanj. Površinski uzorci su pod većim utjecajem rijeke Po što uzrokuje veće promjene u koncentraciji tvari tijekom ljetnih mjeseci, dok su uzorci sa dna homogeniji. Rezultati su prikazani i grafički na slici 4.59.



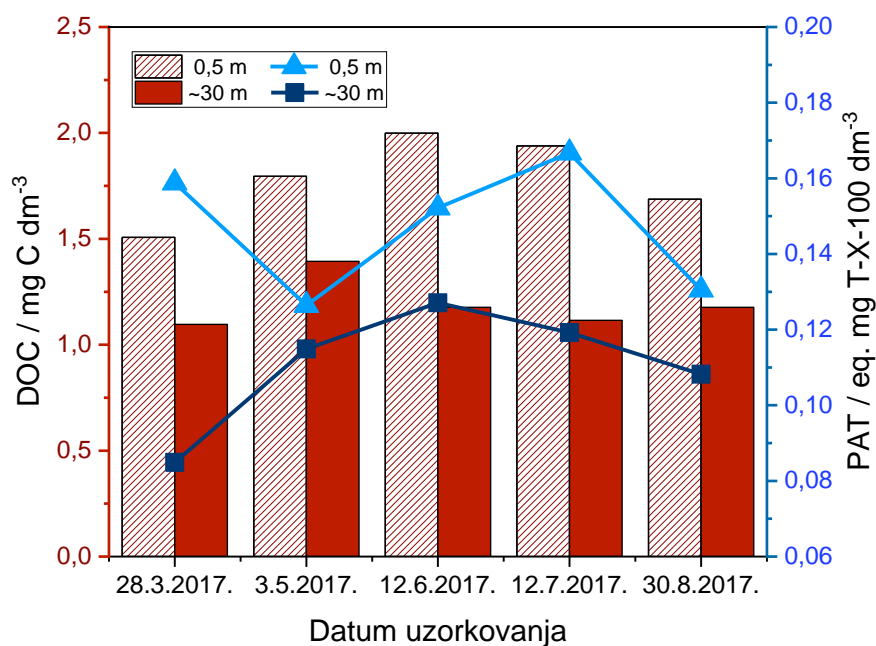
Slika 4.58. Kalibracijski pravac ovisnosti razlike kapacitetne struje o koncentraciji T-X-100.

Uvjeti mjerenja: $E_a = -0,6\ V$, $t_a = 60\ s$.

Tablica 4.2. Koncentracije otopljenog organskog ugljika (DOC) i površinsko aktivnih tvari (PAT), vrijednosti pH i saliniteta u uzorcima SJ101 u razdoblju ožujak-srpanj 2017. godine.

Datum uzorkovanja	Dubina /m	Salinitet ^a	pH	DOC / $mg\ C\ dm^{-3}$	PAT / eq. mg T-X-100 dm^{-3}
28.3.2017.	0,5	34,77	8,10	1,507	0,159±0,009
	~30	38,14	8,01	1,096	0,085±0,008
3.5.2017.	0,5	35,33	7,97	1,795	0,126±0,008
	~30	38,17	8,08	1,394	0,115±0,008
12.6.2017.	0,5	35,17	8,28	1,999	0,152±0,008
	~30	38,29	8,23	1,177	0,127±0,008
12.7.2017.	0,5	36,19	8,34	1,939	0,167±0,009
	~30	38,24	8,24	1,115	0,119±0,008
30.8.2017.	0,5	36,55	8,31	1,687	0,131±0,008
	~30	38,28	8,17	1,177	0,108±0,008

^a Salinitet je maseni udjel otopljene anorganske tvari u morskoj vodi nakon što se svi bromidi i jodidi zamijene ekvivalentnom količinom klorida i svi hidrogenkarbonati i karbonati pretvore u oksid.



Slika 4.59. Raspodjela koncentracije DOC i PAT prema mjesecima i dubini uzorkovanja na postaji SJ101.

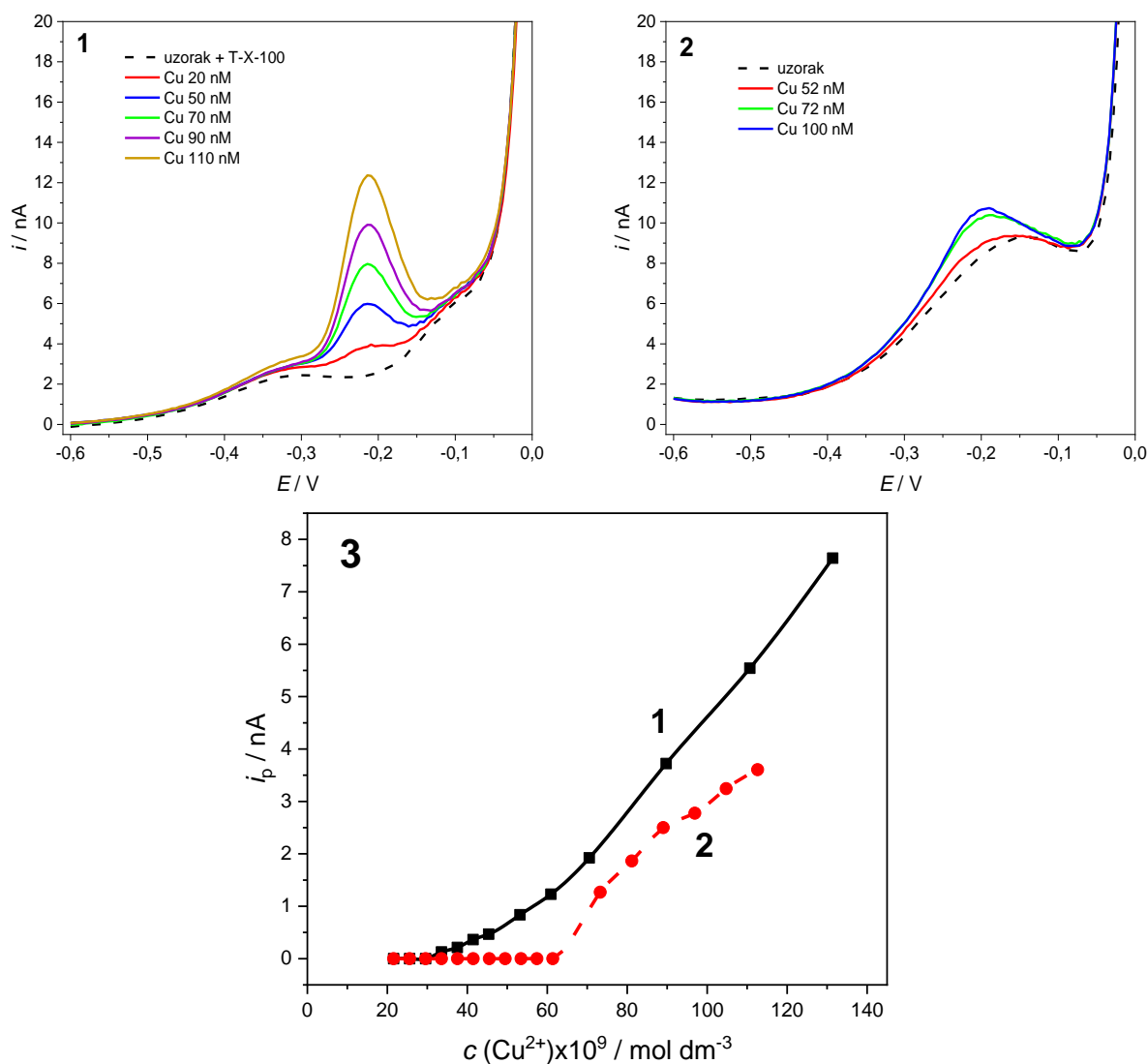
pH vrijednosti u svim uzorcima bila je $> 7,90$ (tablica 4.2). Vrijednosti površinskih uzoraka u rasponu $7,97 - 8,34$ i $8,01 - 8,24$ za uzorke na dubini od 30 m. Najveće vrijednosti izmjerene su za mjesec srpanj na obje razine. Uzorcima je određivan i salinitet. Salinitet od 1 promila kazuje da je u kilogramu vode otopljen 1 gram soli. Vrijednost je u svim uzorcima bila $> 34,70$ (tablica 4.2). Veće koncentracije soli izmjerene su u uzorcima prikupljenima sa dna, za koje je srednja vrijednost saliniteta iznosila $38,22$, te tijekom sezone nije dolazilo do znatih promjena. Srednja vrijednost saliniteta za površinske uzorke iznosila je $35,60$, te se uočava trend rasta tijekom ljetnih mjeseci srpnja i kolovoza. Razlog smanjenog saliniteta u površinskom sloju je dotok slatke vode u proljetnim mjesecima rijekom Po i češćim padalinama.

4.3.2. KKCu u prirodnim uzorcima

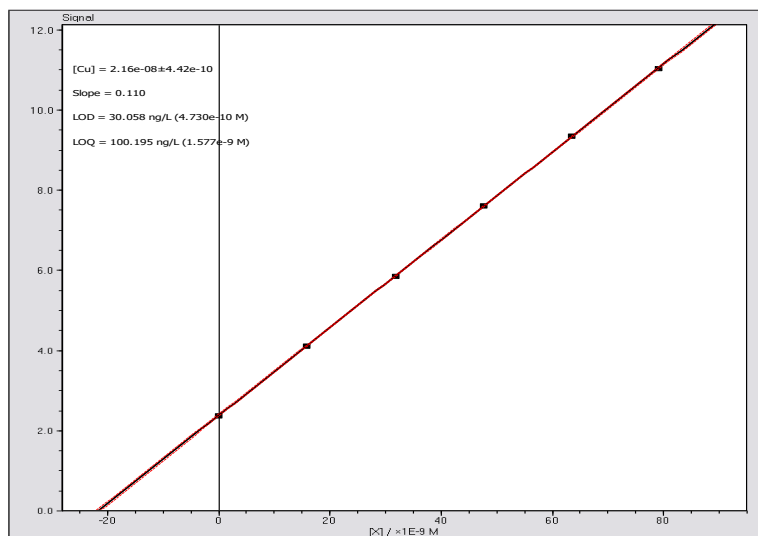
Kompleksometrijske titracije napravljene su u mjernim uvjetima na temelju ACV i DPASV rezultata za modelne spojeve: odabrana je koncentracija surfaktanta T-X-100 i vrijednost E_d koji su osiguravali minimalni utjecaj adsorpcije PAT u samim uzorcima. Izabrana je koncentracija od 1 mg dm^{-3} T-X-100 jer je kod većine modela pri toj koncentraciji dobiveno najveće poboljšanje u visini vršne struje pika Cu^{2+} . Kod proučavanja utjecaja različitog E_d

poboljšanje je bilo pri potencijalima negativnijim od $E_d = -0,9$ V, a kod većine modela pri $-1,4$ V. Stoga su upravo ti uvjeti primijenjeni u kompleksometrijskim titracijama. Detaljno ćemo prikazati analizu uzoraka dno i površine uzorkovanih u mjesecu ožujku 2017. godine analizirani bez dodatka T-X-100 i bez primjene koraka E_d te s dodatkom 1 mg dm^{-3} T-X-100 i s primjenom negativnog potencijala $E_d = -1,4$ V u trajanju od 1 s.

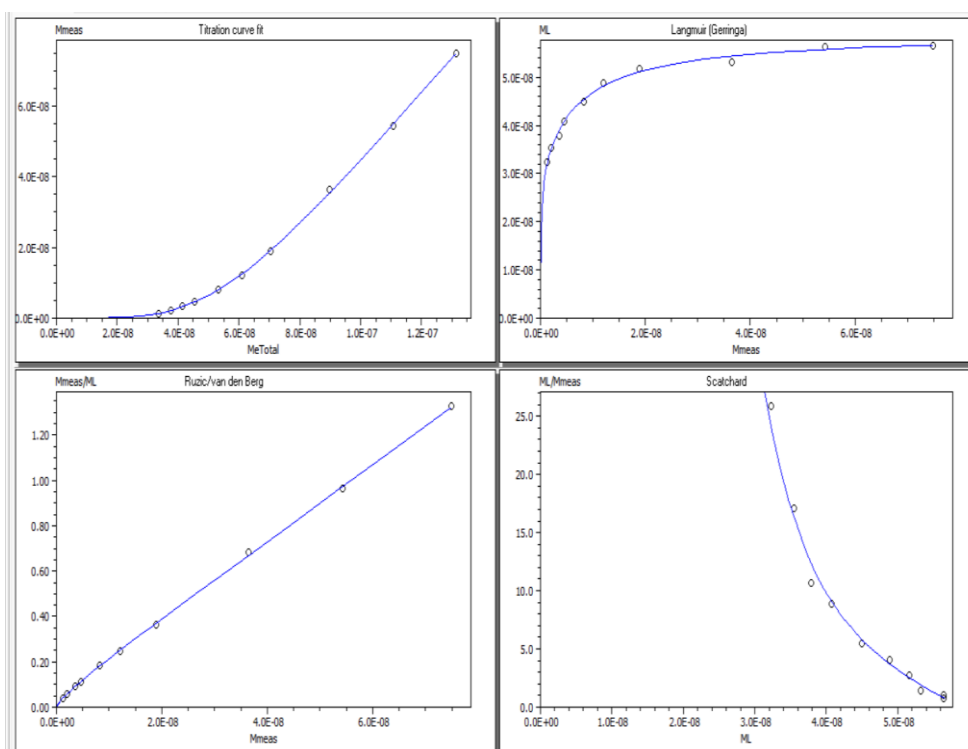
Uzorak 0,5 m 28.3.2017.



Slika 4.60. DPAS voltamogrami Cu^{2+} u površinskom (0,5 m) uzorku morske vode iz sjevernog Jadrana, postaja SJ101 (28.3.2017., pH = 8,1): 1) sa dodatkom T-X-100 $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$, $E_d = -1,4$ V, $t_d = 1$ s; 2) bez dodatka T-X-100, bez E_d ; 3) usporedba titracijskih krivulja kapaciteta kompleksiranja Cu^{2+} -iona za slučaj 1 i 2. Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 300$ s, $E_a = -0,6$ V, $t_a = 120$ s.

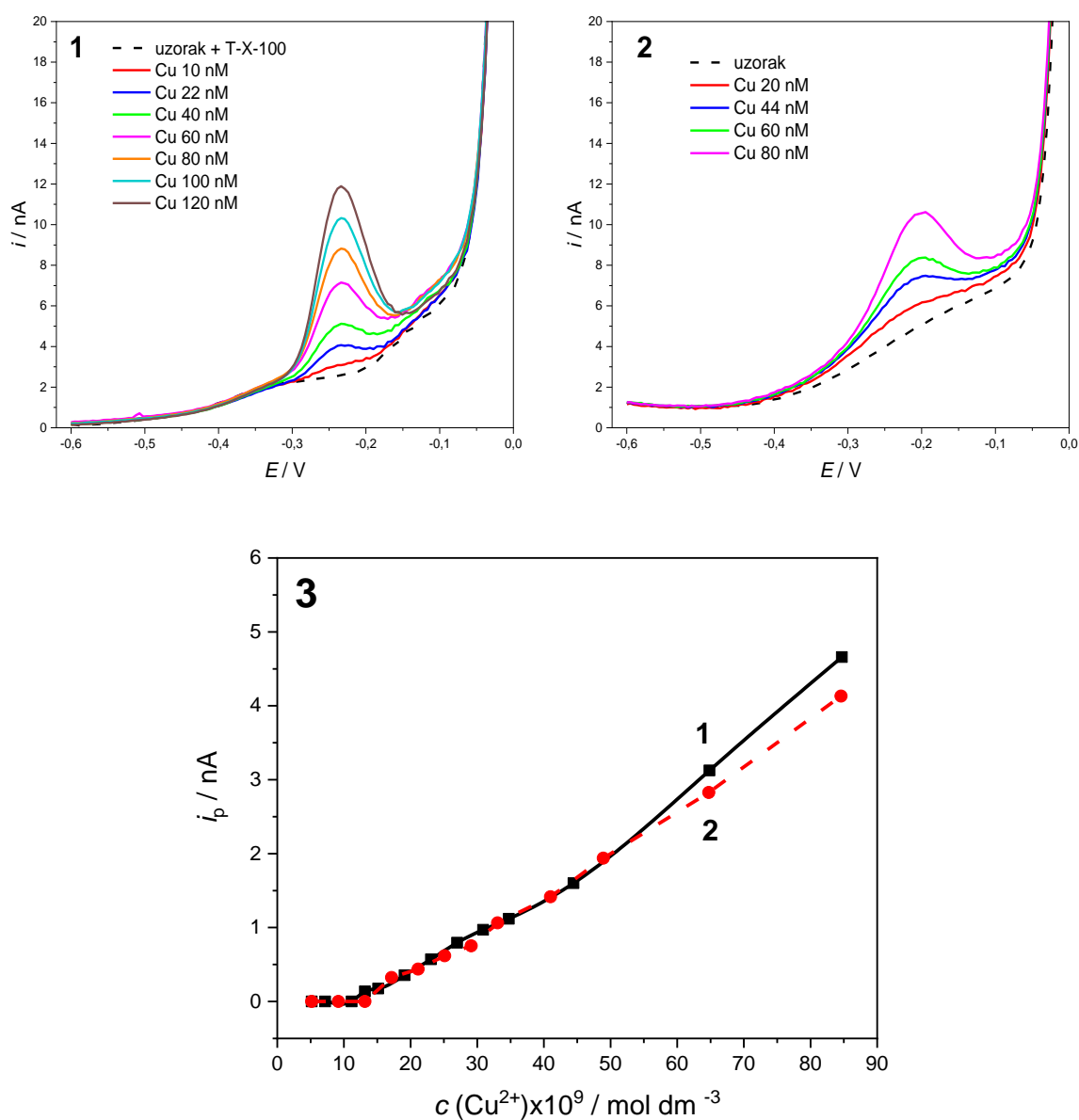


Slika 4.61. Određivanje ukupne koncentracije Cu^{2+} pomoću programa StandAdd s dodacima standardne otopine Cu u uzorak SJ101 0,5 m, prethodno zakiseljen $\text{pH} < 2$ i izložen UV zračenju.

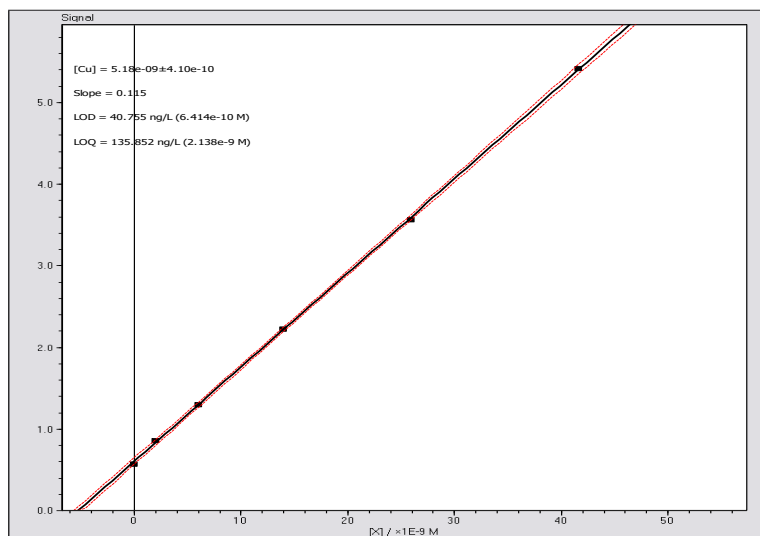


Slika 4.62. Određivanje parametara kapaciteta kompleksiranja bakra (KKCu) u uzorku SJ101 0,5 m (28.3.2017., $\text{pH} = 8,1$) pomoću računalnog progama ProMCC. Prikazani grafovi s lijeva na desno: 1) titracijska krivulja; 2) Langmuir/Gerringa model; 3) Ružić - van den Berg-ov model i 4) Scatchard-ov model.

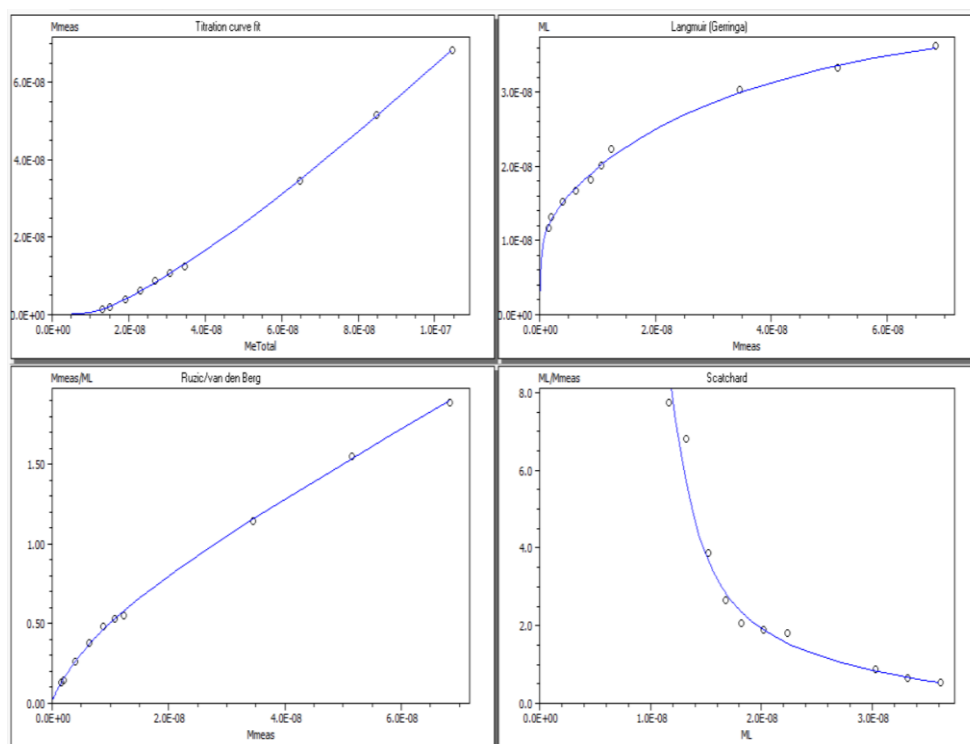
Uzorak ~30m 28.3.2017



Slika 4.63. DPASV voltamogrami Cu^{2+} u uzorku morske vode iz sjevernog Jadrana postaja SJ101 dno (23.3.2017., pH = 8,01): 1) sa dodatkom T-X-100 $\gamma = 1 \text{ mg dm}^{-3}$, $E_d = -1,4 \text{ V}$, $t_d = 1 \text{ s}$; 2) bez dodatka T-X-100, bez E_d ; 3) titracijske krivulje kapaciteta kompleksiranja Cu^{2+} -iona za slučaj 1 i 2. Uvjeti mjerenja: $t(\text{N}_2) = 300 \text{ s}$, $E_a = -0,6 \text{ V}$, $t_a = 120 \text{ s}$.



Slika 4.64. Određivanje ukupne koncentracije Cu^{2+} pomoću programa StandAdd dodacima standardne otopine Cu^{2+} u uzorak SJ101 dno (~30 m), prethodno zakiseljen $\text{pH} < 2$ i izložen UV zračenju.



Slika 4.65. Određivanje parametara kapaciteta kompleksiranja bakra (KKCu) u uzorku SJ101 30 m (28.3.2017., $\text{pH} = 8,01$) pomoću računalog programa PromCC. Prikazani grafovi s lijeva na desno: 1) titracijska krivulja; 2) Langmuir/Gerringa model; 3) Ružić - van den Berg-ov model i 4) Scatchard-ov model.

Dobiveni DPASV voltamogrami za uzorke površine (0,5 m) i dna (~30 m) prikazani su na slici 4.60. i 4.63. Pozadinska struja je velika kod mjerenja bez primjene odabranih uvjeta, što potječe od prirodno prisutnih PAT. Pri takvim uvjetima očitavanje pika Cu^{2+} je otežano, jer je pik širok i vrlo loše definiran. Dodatkom surfaktanta T-X-100 i primjenom E_d uočava se znatno poboljšanje. Pozadinska struja je snižena što upućuje na to da je s primjenom potencijala $-1,4$ V tijekom 1 s uspješno desorbiran sloj vezanih PAT, čime je povećana osjetljivost elektrode za ione Cu^{2+} . T-X-100 je kao i kod modelnih spojeva pokazao svoje karakteristično djelovanje: pomaknuo je pik prema negativnijem potencijalu i doprinio stvaranju užeg i definiranog pika. Već iz titracijskih krivulja može se zaključiti da su u uzorcima prisutne molekule koje imaju sposobnost vezanja Cu^{2+} -iona jer se pik bakra na DPASV voltamogramima ne uočava pri manjim koncentracijama dodane standardne otopine Cu^{2+} -iona. Kod površinskog uzorka pik je uočen tek pri dodatku $11,95 \times 10^{-9}$ mol dm^{-3} Cu^{2+} tj. pri ukupnoj koncentraciji od $33,55 \times 10^{-9}$ mol dm^{-3} Cu^{2+} , jer određeno da je u samom uzorku prisutno $(21,6 \pm 0,4) \times 10^{-9}$ mol dm^{-3} Cu^{2+} (slika 4.61) U uzorku prikupljenog na dubini od 30 m određena je koncentracija Cu^{2+} od $(5,18 \pm 0,41) \times 10^{-9}$ mol dm^{-3} (slika 4.64), a pik Cu^{2+} je na voltamogramima dobiven pri ukupno koncentraciji od $13,16 \times 10^{-9}$ mol dm^{-3} Cu^{2+} . Rezultati su matematički transformirani pomoću programa ProMCC u Langmuir/Gerringa, Ružić - van den Berg-ov i Scatchard-ov model prikazani na slici 4.62. i 4.65. Iz Scatchard-ovog modela određena su dva razreda liganada (L_1 i L_2) koji vežu Cu^{2+} -ione, te je izračunata njihova koncentracija i odgovarajuća uvjetna konstanta stabilnosti (tablica 4.3). U površinskom uzorku određena je koncentracija s pripajućom konstantom $[L_1] = (30,6 \pm 3,1) \times 10^{-9}$ mol dm^{-3} , $\log K'_1 = 11,17 \pm 0,29$ i koncentracija $[L_2] = (28,6 \pm 2,9) \times 10^{-9}$ mol dm^{-3} , $\log K'_2 = 9,44 \pm 0,92$. Te za uzorak sa dna $[L_1] = (12,0 \pm 5,3) \times 10^{-9}$ mol dm^{-3} , $\log K'_1 = 10,78 \pm 1,3$ i koncentracija $[L_2] = (36,6 \pm 8,5) \times 10^{-9}$ mol dm^{-3} , $\log K'_1 = 8,56 \pm 0,42$.

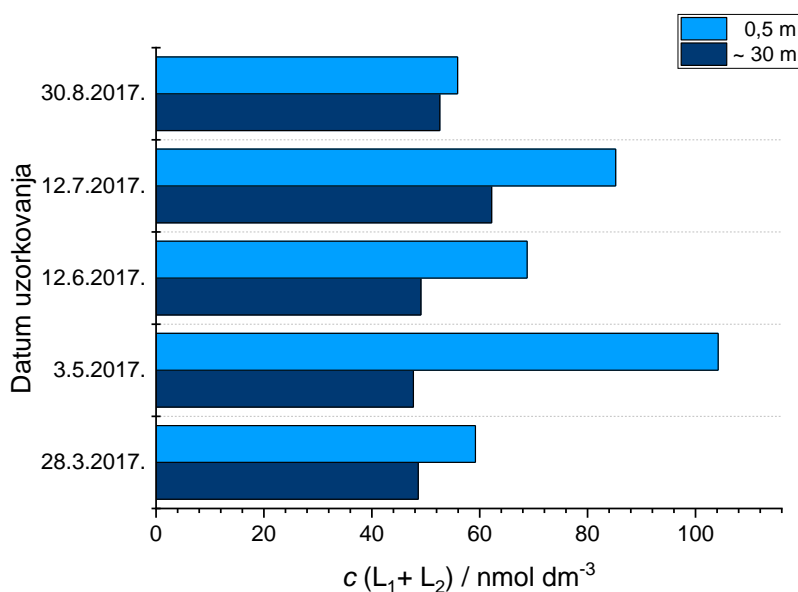
Tablica 4.3. Koncentracije ukupnog Cu^{2+} u uzorcima, koncentracije liganada i odgovarajuće uvjetne konstante stabilnosti određene za uzorke postaje SJ 101 na dubinama 0,5 m i ~30 m.

Datum uzorkovanja	Dubina / m	$[\text{Cu}^{2+}] \times 10^9 / \text{mol dm}^{-3}$	$[\text{L}_1] \times 10^9 / \text{mol dm}^{-3}$	$\log K'_1$	$[\text{L}_2] \times 10^9 / \text{mol dm}^{-3}$	$\log K'_2$
28.3.2017.	0,5	21,6±0,442	30,6±3,1	11,17±0,29	28,6±2,9	9,44±0,92
	~30	5,18±0,41	12,0±5,3	10,78±1,31	36,6±8,5	8,56±0,42
3.5.2017.	0,5	23,5±1,37	32,7±4,1	11,37±0,74	71,5±10,1	8,57±0,21
	~30	7,11±0,293	25,7±4,6	10,01±0,14	22,0±7,3	8,46±0,61
12.6.2017.	0,5	38,7±1,35	45,3±4,1	10,66±0,33	23,5±4,9	8,42±0,41
	~30	9,71±0,170	18,4±1,8	10,94±0,11	30,7±3,1	9,8±0,96
12.7.2017.	0,5	30,40±4,84	27,6±2,8	10,40±0,10	57,6±5,8	8,72±0,87
	~30	23,7±0,325	29,6±3,1	10,93±0,40	32,6±3,5	8,57±0,22
30.8.2017.	0,5	22,1±1,18	24,0±4,0	10,77±0,64	31,9±4,2	8,61±0,28
	~30	14,6±1,63	28,7±6,4	10,53±0,29	23,9±5,9	8,84±0,56

Koncentracija ukupnog Cu^{2+} u uzorcima, pojedinih razreda liganada i odgovarajuće uvjetne konstanta stabilnosti za sve uzorke prikazane su u tablici 4.3. Nakon razaranja svih kompleksa zakiseljavanjem i UV zračenjem određena je koncentracija ukupnog bakra u uzorcima u rasponu od $(21,6 \pm 0,44) \times 10^{-9}$ do $(38,7 \pm 1,35) \times 10^{-9}$ mol dm^{-3} u površinskom dijelu i od $(5,18 \pm 0,41) \times 10^{-9}$ do $(23,7 \pm 0,325) \times 10^{-9}$ mol dm^{-3} na dnu. Koncentracija na površini se povećava tijekom ljetnog razdoblja, s najvećom koncentracijom u lipnju. Koncentracije Cu^{2+} -iona na dubini od ~30 m su niže u odnosu na površinu, ali naglo povećanje uočeno je u srpnju.

Za sve uzorke potvrđena je prisutnost dva razreda liganda iz Scatchard-ovog modela u koncentracijskom području $(12,0 \text{ do } 45,3) \times 10^{-9}$ mol dm^{-3} za L_1 i $(22,0 \text{ do } 71,5) \times 10^{-9}$ mol dm^{-3} za L_2 sa konstantom $\log K'_1$ 10,01 – 11,17 i $\log K'_2$ 8,42 – 9,80. Kompleksi Cu^{2+} -iona s L_1 grupom liganada su stabilniji s većim konstantama stabilnosti čija je srednja vrijednost $\log K'_1$ 10,76. L_2 grupa liganada prisutna je u većem koncentracijskom području nego L_1 , ali njihova konstanta stabilnosti je manja i prosječno iznosi $\log K'_2$ 8,79.

Usporedbom vijednosti između uzoraka površine i dna možemo zaključiti da površinski uzorci imaju višu koncentraciju liganada koji kompleksiraju Cu^{2+} -ione u stabilne komplekse. Na slici 4.66. grafički je prikazana promjena koncentracije ukupnih liganada ($L_1 + L_2$) prema mjesecima i dubini uzorkovanja. Najveća koncentracija određena je u uzorku uzorkovanom u svibnju. Koncentracije liganada pri dnu ne mijenjaju se značajno u istraživanom razdoblju što potvrđuje činjenicu da su uzorci tog dijela mora homogeniji u odnosu na površinu.



Slika 4.66. Promjena ukupne koncentracije liganada ($L_1 + L_2$) tijekom istraživanih mjeseci u površinskim uzorcima i uzorcima sa dna.

Više koncentracije liganada u površinskom sloju posljedica su primarne produkcije i izlučivanja organske tvari. Najintenzivnija primarna produkcija je u proljeće i ljeto u površinskom sloju zbog dotoka hranjivih soli nitrata i fosfata rijekom Po, povećanja temperature mora te jače sunčeve radijacije. Dublji slojevi nisu toliko pod utjecajem navedenih faktora pa je i koncentracija DOC-a i KCu niža.

§ 5. ZAKLJUČAK

U AC voltometriji istražena su adsorpcijsko-desorpcijska svojstva proteina BSA, fulvične kiseline i polisaharida dekstrana, natrijevog alginata, kitozana i ι -karagenana. Navedeni polisaharidi su odabrani jer u svojim strukturama sadrže različite funkcionalne skupine: hidroksilne (-OH) u dekstranu, amino skupine (-NH₂) u kitozanu, karboksilne skupine (-COOH) u Na-alginatu i sulfatne (-SO₄) u ι -karagenanu. Kao modelni spoj za proteine izabran je standardni protein BSA, a fulvična kiselina SRFA III bila je model za humusne tvari.

Na temelju eksperimentalno dobivenih rezultata može se zaključiti:

- Odabrane modelne organske molekule posjeduju svojstva površinsko aktivnih tvari, te pokazuju afinitet za adsorpciju na nenabijenu površinu živine kapi tijekom ACV mjerenja pri uvjetima $E_a = -0,6$ V, $t_a = 60$ s.
- Primjenom negativnog potencijala u trajanju od 1 s pospješuje se desorpcija vezane organske tvari sa elektrodne površine.
- Dodatak neionskog sufraktanta T-X-100 pri koncentraciji od 1 mg dm⁻³ pozitivno utječe na reoksidacijski pik Cu²⁺, olakšava elektrodni proces koji se odvija na površini radne elektrode tako što stabilizira prijelazno stanje, uzrokuje povišenje vršne struje pika i pomak prema negativnijem potencijalu.
- Primjenom negativnog potencijala u trajanju 1 s nakon akumulacijskog koraka uočeno je smanjenje interferencija uzrokovanih adsorpcijom odabranih organskih molekula na elektrodu, čime se povećava osjetljivosti elektrode na labilne Cu²⁺-ione. Opaženo je povećanje intenziteta vršne struje pika Cu²⁺ s primjenom E_d negativnijeg od -0,9 V.
- Modelne otopine ugljikohidrata alginata, kitozana i proteina BSA pri odabranim uvjetima mjerenja pokazali su afinitet za kompleksiranje Cu²⁺-iona.
- Optimalni parametri za određivanje parametara KKCu u morskoj vodi DPASV metodom: 1 mg dm⁻³ T-X-100 i primjena $E_d = -1,4$ V. Zapaženo je iz snimljenih voltamograma da T-X-100 zajedno s E_d kompetitivno inhibira adsorpciju površinski aktivne prirodne organske tvari na elektrodu, uvelike poboljšavajući oblik i visinu pika reoksidacije Cu²⁺.
- Kemijskom specijacijom u analiziranim uzorcima Jadranskog mora određena je prisutnost dva razreda liganada L₁ i L₂ s pripadajućom uvjetnom konstantom stabilnosti.

Ligandi L_1 prisutni su u manjem koncentracijskom području nego ligandi L_2 , ali ih karakterizira veća konstanta stabilnosti ($\log K'_1$ 10,76). Dok ligandi L_2 s Cu^{2+} -ionima tvore labilnije komplekse (manja konstanta stabilnosti, $\log K'_2$ 8,79).

- Veća koncentracija DOC-a i PAT-a izmjerena je u površinskim uzorcima morske vode tijekom ljetnih mjeseci što se pripisuje aktivnosti fitoplanktona.
- Ligandi također čine dio određenog DOC-a i PAT-a jer je dokazano da i modelne molekule koje se adsorbiraju na površini elektrode imaju određeni kapacitet da vežu ione Cu^{2+} . Uzimajući u obzir da koncentracija liganada ovisi o vrsti organske tvari, jesu li su to proteini, polisaharidi, aminokiseline ili dr. ne moraju točno pratiti trend kao i DOC-a, ali i njihova koncentracija je znatno veća pri površini.

§ 6. POPIS OZNAKA, KRATICA I SIMBOLA

Kratice	Značenje
AAS	Atomska apsorpcijska spektroskopija
ACV	Voltometrija izmjenične struje
ASV	Voltometrija anodnog otapanja
BSA	Goveđi serum albumin
DOC	Otopljeni organski ugljik
DOM	Otopljena organska tvar
DPASV	Diferencijalno pulsna voltometrija anodnog otapanja
FA	Fulvična kiselina
HA	Humusna kiselina
ICP-MS	Masena spektrometrija s induktivno spregnutom plazmom
KKCu	Kapacitet kompleksiranja bakra
MCC	Kapacitet kompleksiranja metala
MQ	Milli-Q voda
MW	Molekulska masa
OM	Organska tvar
PAT	Površinsko aktivna tvar
POC	Čestični organski ugljik
SDME	Viseća živina kap
SDS	Natrijev dodecil sulfat
SRFA	Suwannee River Fulvična kiselina
TMAB	Trimetil(oktadecil)amonijev bromid
T-X-100	Triton-X-100
UVSW	Morska voda podvrgnuta UV zračenju

Oznake	Značenje	Jedinica
a	Amplituda naponskog signala	V
A	Površina elektrode	m^2
c	Množinska koncentracija prije uravnoteženja	$mol\ dm^{-3}$
[]	Ravnotežna množinska koncentracija	$mol\ dm^{-3}$
D	Difuzijski koeficijent	$m^2\ s^{-1}$
E	Potencijal elektrode	V
$E_{1/2}$	Poluvalni potencijal	V
E^o	Standardni elektrodni potencijal	V
ΔE	Korak potencijala	V
I_c	Kapacitivna struja	A
I_t	Faradayeva struja	A
i	Jakost električne struje	A
i_p	Jakost vršne struje pika	A
K_c	Koncentracijska konstanta ravnoteže	$mol^{\Sigma}\ dm^{-3\Sigma}$
K'	Uvjetna konstanta ravnoteže (koncentracijska)	$mol^{\Sigma}\ dm^{-3\Sigma}$
k_a	Konstanta brzine asocijacije	$mol^{1-\Sigma}\ dm^{-3(1-\Sigma)}\ s^{-1}$
k_d	Konstanta brzine disocijacije	$mol^{1-\Sigma}\ dm^{-3(1-\Sigma)}\ s^{-1}$
t	Vrijeme	s
t_{ak}	Vrijeme akumulacije	s
v	Brzina promjene potencijala	$V\ s^{-1}$
z	Broj izmijenjenih elektrona	

Simboli	Značenje	Jedinica
γ	Masena koncentracija	$g\ dm^{-3}$
Θ	Stupanj prekrivenosti površine elektrode	
Φ	Fazni kut	°

§ 7. LITERATURNI IZVORI

1. J. S. Lopez, L. Lee, K. R. M. Mackey, *Front. Mar. Sci.* **5** (2019) 511.
2. R. Nicolau, Y. Louis, D. Omanović, C. Garnier, S. Mounier, I. Pižeta *Anal. Chim. Acta* **618** (2008) 35–42.
3. H. Whitby, A. M. Posacka, M. T. Maldonado, C. M. G. van den Berg, *Mar. Chem.* **204** (2018) 36–48.
4. I. Ružić, *Anal. Chim. Acta* **140** (1982) 99–113.
5. D. Omanović, C. Garnier, I. Pižeta, *Mar. Chem.* **173** (2015) 25–39.
6. Y. Louis, P. Cmuk, D. Omanović, C. Garnier, V. Lenoble, S. Mounier, I. Pižeta, *Anal. Chim. Acta* **606** (2008) 37–44.
7. J. Pađan, S. Marcinek, A. M. Cindrić, C. Santinelli, S. R. Brogi, O. Radakovitch, C. Garnier, D. Omanović, *Front. Chem.* **8** (2021) 628749.
8. B. V. Tangahu, S. R. Sheikh Abdullah, H. Basri, M. Idris, N. Anuar, M. Mukhlisin, *Int. J. Chem. Eng.* **2011** (2011) 939161.
9. S. H. Kim, K. Ra, K. Kim, H. Jeong, J. Lee, D. Kang, T. Rho, I. Kim, *Ocean Sci. J.* **54** (2019) 673–684.
10. R. P. Mason, *Trace Metals in Aquatic Systems*, John Wiley & Sons, New York, 2013.
11. H. Whitby, C. M.G. van den Berg, *Mar. Chem.* **173** (2015) 282–290.
12. I. A. M. Ahmed, J. Hamilton-Taylor, M. Bieroza, H. Zhang, W. Davison, *Water research* **67** (2014) 276–291.
13. H. Whitby, J. T. Hollibaugh, C. M. G. van den Berg, *Front. Mar. Sci.* **4** (2017) 178.
14. D. M. Templeton, F. Ariese, R. Cornelis, L.-G. Danielsson, H. Muntau, L. P. van Leeuwen, and R. Lobinski, *Pure Appl. Chem.* **72** (2000) 1453–1470.
15. R. Chester, T. D. Jickells, *Marine geochemistry*, Wiley/Blackwell, UK, 2012.
16. W. G. Sunda, *Biological Oceanography* **6** (1989) 411–442.
17. S. Retelletti Brogi, C. Balestra, R. Casotti, G. Cossarini, Y. Galletti, M. Gonnelli, S. Vestri, C. Santinelli, *Sci. Total Environ.* **733** (2020) 139212.
18. I. Ciglencečki, I. Vilibić, J. Dautović, V. Vojvodić, B. Čosović, P. Zemunik, N. Dunić, H. Mihanović, *Sci. Total Environ.* **730** (2020) 139104.
19. D. L. Sparks, *Environmental Soil Chemistry*, Academic Press, 2003, 75–113.

20. K. Hirosie, *Anal. Sci.* **22** (2006) 1055–1063.
21. M. Plavšić, D. Krznarić, M. Branica, *Mar. Chem.* **11** (1982) 17–31.
22. T. Hoa, C. Chiena, B. Wanga, A. Siriraks, *Talanta* **82** (2010) 1478–1484.
23. S. Glodowski, Z. Kublik, *Anal. Chim. Acta* **149** (1983) 137–146.
24. M. Plavšić, S. Strmečki, *Carbohydr. Polym.* **135** (2016) 48–56.
25. M. Plavšić, B. Gašparović, S. Strmečki, V. Vojvodić, N. Tepić, *Estuarine, Coastal Shelf Sci.* **85** (2009) 299–306.
26. I. Pižeta, S.G. Sander, R.J.M. Hudson, D. Omanović, O. Baars, K.A. Barbeau, K.N. Buck, R.M. Bundy, G. Carrasco, P.L. Croot, C. Garnier, L.J.A. Gerringa, M. Gledhill, K. Hirose, Y. Kondo, L.M. Laglera, J. Nuester, M.J.A. Rijkenberg, S. Takeda, B.S. Twining, M. Wells, *Mar. Chem.* **173** (2015) 3–24.
27. I. Ružić, *Anal. Chim. Acta* **140** (1982) 99–113.
28. C. Garnier, I. Pižeta, S. Mounier, J. Y. Benaïma, M. Branica, *Anal. Chim. Acta* **505** (2004) 263–275.
29. S. Bubic, M. Branica, *Thalassia Jugoslav.* **9** (1973) 4.
30. G. Branica, M. Lovrić, *Electrochim. Acta* **42** (1997) 1247–1251.
31. <https://cupdf.com/document/trace-metal-complexation-in-natural-waters-pseudopolarography-metal-complexing.html?page=6> (datum pristupa 20. srpnja 2022.)
32. D. Omanović, M. Branica, *J. Electroanal. Chem.* **543** (2003) 83–92.
33. M. Plavšić, D. Krznarić, B. Ćosović, *Electroanalysis*. **6** (1994) 469–474.
34. D. Omanović, I. Pižeta, Ž. Peharec, M. Branica, *Mar. Chem.* **53** (1996) 121–129.
35. B. Hoyer, N. Jensen, *Electrochem. Commun.* **5** (2003) 759–764.
36. B. Hoyer, N. Jensen, *Electrochem. Commun.* **17** (2005) 2037–2042.
37. M. Jafari, F. Mehrnejad, F. Rahimi, S. M. Asghari, *Sci. Rep.* **8** (2018) 2150.
38. D. A. Skoog, F. J. Holler, S. R. Crouch, *Principles of Instrumental Analysis*, 7th Edition, Cengage Learning, USA, 2017.
39. I. Piljac, *Elektroanalitičke metode*, RMC, Zagreb, 1995.
40. J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, John Wiley & Sons, New York, 2000.
41. E. Díaz-Montes, *Polysaccharides* **2** (2021) 554–565.

§ 8. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci

Ime i prezime: Martina Matanović

Datum rođenja: 13.lipnja 1998.

Mjesto rođenja: Vinkovci

Obrazovanje

2005–2013 Osnovna škola „Stari Jankovci“, Stari Jankovci

2013–2017 Gimnazija Matije Antuna Reljkovića, Vinkovci

2017–2020 Preddiplomski studij kemije, Odjel za kemiju, Sveučilište J.J. Strossmayera, Osijek

Sudjelovanja u popularizaciji znanosti

2019 23. Smotra Sveučilišta J.J Strossmayera

Sudjelovanja na znanstvenim skupovima

1. Usmeno priopćenje: M. Matanović, S. Strmečki Kos, *Utjecaj površinsko aktivnih organskih tvari na elektrokemijsko određivanje kapaciteta kompleksiranja bakra u morskoj vodi*, Knjiga sažetaka "11th ISE–SSRSE", Zagreb: HDKI, 2022. str. 15