

Elektrokemijska karakterizacija serotonina

Jelavić, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:182:985745>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-23**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Diplomski studij kemije

Ivana Jelavić

ELEKTROKEMIJSKA KARAKTERIZACIJA SEROTONINA

Diplomski rad

Mentorica: izv. prof. dr. sc. Martina Medvidović-Kosanović

Komentorica: doc. dr. sc. Anamarija Stanković

Neposredni voditelj: Dominik Goman, mag. chem.

Osijek, 2023.

*Ovaj rad prezentiran je na 14th International Scientific and Professional Conference
WITH FOOD TO HEALTH, 14-15. rujna 2023.*

Zahvala

Želim izraziti veliku zahvalu svojoj obitelji za neizmjernu podršku, razumijevanje i ohrabrenje koje ste mi pružili tijekom cijelog školovanja. Također, veliko vam hvala što ste me motivirali kada su izazovi bili veliki i što ste vjerovali u mene kad sam sumnjala u sebe. Bez vaše podrške, ovaj uspjeh ne bi bio moguć.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku**Odjel za kemiju****Diplomski studij kemije****Znanstveno područje: Prirodne znanosti****Znanstveno polje: Kemija****ELEKTROKEMIJSKA KARAKTERIZACIJA SEROTONINA****Ivana Jelavić****Rad je izrađen na:** Odjelu za kemiju**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Martina Medvidović-Kosanović**Sažetak**

Glavni cilj istraživanja bio je ispitati elektrokemijska svojstva serotonina u dva otapala uporabom cikličke i diferencijalne pulsne voltametrije. Ispitan je utjecaj pH, brzine polarizacije elektrode i koncentracije serotonina na njegova oksido-redukcijska svojstva te istražiti moguću adsorpciju serotonina na površinu radne elektrode. Cikličkom voltametrijom utvrđen je porast potencijala i struje oksidacijskog strujnog vrha s povećanjem brzine polarizacije elektrode, te da je takav proces difuzijski kontroliran dok je proces redukcije pod miješanom adsorpcijskom i difuzijskom kontrolom. Diferencijalnom pulsnom voltametrijom utvrđeno je kako sukcesivnim snimanjem voltamograma opada visina oksidacijskog strujnog vrha serotonina što ukazuje da se oksidacijski produkt serotonina adsorbira na površinu radne elektrode. Osim toga, utvrđene su i pH vrijednosti za oksidaciju serotonina u etanolnoj otopini pri pH=9 te vodenoj otopini pri pH=5. Također je utvrđeno da visina oksidacijskog strujnog vrha raste s porastom koncentracije te da struja oksidacijskog strujnog vrha linearno ovisi o koncentraciji u koncentracijskom području od $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ do $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ za alkoholnu otopinu serotonina te od $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ do $9 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ za vodenu otopinu serotonina.

Diplomski rad obuhvaća: 42 stranice, 26 slika, 3 tablice, 36 literaturnih navoda.**Jezik izvornika:** hrvatski**Ključne riječi:** serotonin / ciklička voltametrija / diferencijalna pulsna voltametrija / difuzijski kontroliran proces / oksidacija i redukcija**Rad prihvaćen:** 10. listopada 2023.**Stručno povjerenstvo za ocjenu:**

1. izv. prof. dr. sc. Tomislav Balić, predsjednik
2. izv. prof. dr. sc. Martina Medvidović-Kosanović, mentorica i članica
3. doc. dr. sc. Anamarija Stanković, komentorica i članica
4. doc. dr. sc. Olivera Galović, zamjena člana

Rad je pohranjen: u Knjižnici Odjela za kemiju, Franje Kuhača 20, Osijek

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Department of Chemistry
Graduate Study of Chemistry
Scientific Area: Natural Sciences
Scientific Field: Chemistry

ELECTROCHEMICAL CHARACTERIZATION OF SEROTONIN**Ivana Jelavić**

Thesis completed at: Department of Chemistry
Supervisor: Assoc. Prof. Martina Medvidović-Kosanović, PhD

Abstract

The main aim of the research was to investigate the electrochemical properties of serotonin in two solvents using cyclic and differential pulse voltammetry. The influence of pH, speed of electrode polarization and concentration of serotonin on its redox properties was investigated and the possible adsorption of serotonin on the surface of the working electrode was investigated. Cyclic voltammetry showed an increase in the potential and current peak with increasing electrode polarization speed, and such a process is under mixed adsorption and diffusion control. By means of differential pulse voltammetry, it was determined that the height of the oxidation current peak of serotonin decreases with successive recording of the voltammogram, which indicates that the oxidation product of serotonin is adsorbed on the surface of the working electrode. In addition, the pH values for the oxidation of serotonin in an ethanol solution at pH=9 and in an aqueous solution at pH=5 were determined. It was also determined that the height of the oxidation current peak increases with increasing concentration and that the current of the oxidation current peak depends linearly on the concentration in the concentration range from $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ to $1 \cdot 10^{-4} \text{ dm}^{-3}$ for an alcoholic solution of serotonin and from $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ to up to $9 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ for aqueous solution of serotonin.

Thesis includes: 42 pages, 26 figures, 3 tables, 36 references.

Original in: Croatian

Keywords: serotonin / cyclic voltammetry / differential pulse voltammetry / diffusion – controlled process / oxidation and reduction

Thesis accepted: 10th of October 2023

Reviewers:

1. Tomislav Balić, PhD, Associate professor
2. Martina Medvidović-Kosanović, PhD, Associate professor
3. Anamarija Stanković, PhD, Assistant professor
4. Olivera Galović, PhD, Assistant professor

Thesis deposited: at the Library of Department of Chemistry, Franje Kuhača 20, Osijek

SADRŽAJ

| | |
|---|----|
| 1. UVOD..... | 1 |
| 2. LITERATURNI PREGLED..... | 2 |
| 2.1. SEROTONIN..... | 2 |
| 2.2. METABOLIZAM SEROTONINA..... | 3 |
| 2.3. KRISTALNA STRUKTURA SEROTONINA..... | 3 |
| 2.4. SEROTONINSKI SINDROM..... | 4 |
| 2.5. METODE KARAKTERIZACIJE SEROTONINA..... | 6 |
| 2.6. ELEKTROKEMIJSKE METODE..... | 6 |
| 2.6.1. POTENCIOMETRIJA..... | 7 |
| 2.6.7. KONDUKTOMETRIJA..... | 12 |
| 2.6.8. KULOMETRIJA..... | 12 |
| 2.6.9. DIELEKTROMETRIJA..... | 13 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO..... | 14 |
| 3.1. KEMIKALIJE I PRIPRAVA OTOPIVA..... | 14 |
| 3.2. ISPITIVANJE TOPLJIVOSTI SEROTONINA..... | 16 |
| 3.3. ELEKTROKEMIJSKA ČELIJA..... | 17 |
| 3.4. METODE..... | 18 |
| 3.4.1. CIKLIČKA VOLTAMETRIJA..... | 18 |
| 3.4.2. DIFERENCIJALNA PULSNA VOLTAMETRIJA..... | 18 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA..... | 19 |
| 4.1. CIKLIČKA VOLTAMETRIJA..... | 19 |
| 4.1.1. Utjecaj brzine polarizacije elektrode..... | 19 |
| 4.1.2. Utjecaj pH..... | 25 |
| 4.2. DIFERENCIJALNA PULSNA VOLTAMETRIJA..... | 31 |
| 4.2.1. Utjecaj koncentracije serotonina..... | 33 |
| 5. ZAKLJUČAK..... | 38 |
| 6. LITERATURA..... | 39 |
| 7. ŽIVOTOPIS..... | 42 |

1. UVOD

Serotonin je biogeni amin koji se još naziva i 5-hidroksitriptamin. Ima ulogu neurotransmitera, a smatra se i hormonom sreće. Serotonin šalje poruku između živčanih stanica u ljudskom tijelu. Također, serotonin ima značajne uloge u ljudskom organizmu. Utječe na raspoloženje, emocije, na apetit i na probavu. Isto tako, sudjeluje u regulaciji spavanja i budnosti. Serotonin se naziva kemikalijom za „dobar“ osjećaj, stoga je česti sastojak u lijekovima (antidepresivima) koji se koriste kao terapija u liječenju depresije, anksioznosti i drugih poremećaja raspoloženja.

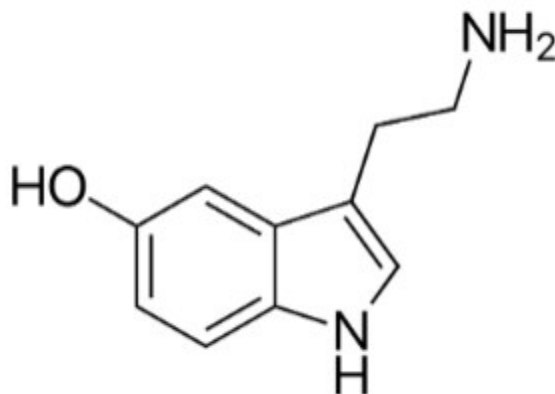
Cilj rada bio je ispitati elektrokemijska svojstva serotonina voltametrijskim tehnikama (cikličkom i diferencijalnom pulsnom voltametrijom) koristeći standardne otopine serotonina priređene u etanolu i u vodi. U radu su proučavani utjecaj koncentracije, pH vrijednosti te brzine polarizacije elektrode na potencijal i struju oksidacijskog strujnog vrha, a ispitana je i moguća adsorpcija serotonina na površinu radne elektrode tijekom istraživanja.

Prvi dio diplomskog rada obuhvaća definiciju, svojstva, biološku važnost, te mehanizam djelovanja serotonina. Također, opisana su i glavna obilježja serotoniniskog sindroma, te njegovo liječenje. Osim navedenog, detaljnije su opisane i elektrokemijske metode (potenciometrija, voltometrija, konduktometrija, kulometrija, dielektrometrija), te metode karakterizacije serotonina. U eksperimentalnom radu navedene su kemikalije koje su se upotrebljavale u radu, način pripreme otopina, aparatura i metode koje su se koristile u radu. Nadalje, u rezultatima i raspravi prikazani su i dobiveni rezultati, te njihova pojašnjenja.

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. SEROTONIN

Serotonin je biogeni amin koji se još naziva i 5-hidroksitriptamin (Slika 1). Ima ulogu neurotransmitera, a smatra se i hormonom sreće. Serotonin šalje poruku između živčanih stanica u ljudskom tijelu te stoga ima značajne uloge u ljudskom organizmu. Osim toga, utječe na raspoloženje, emocije, apetit te probavu. Isto tako, sudjeluje u regulaciji spavanja i budnosti [1].

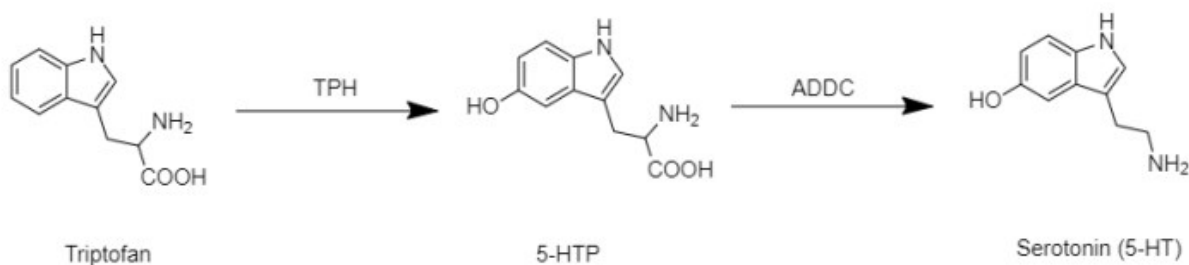


Slika 1. Strukturni prikaz molekule serotonina [2].

Serotonin se naziva kemikalijom za „dobar“ osjećaj, stoga je česti sastojak u lijekovima (antidepresivima) koji se koriste kao terapija u liječenju depresije, anksioznosti i drugih poremećaja raspoloženja. Dva su uzroka niske razine serotonina: nedovoljna proizvodnja serotonina za održavanje normalne razine ili nedostatak vitamina (vitamina B₆ i vitamina D). Niska razina serotonina može se vidjeti iz nekoliko znakova, kao što su npr. poremećaji spavanja, promjene raspoloženja, gubitak apetita, te problemi s pamćenjem. Dakako, čovjek može povećati količinu serotonina u mozgu konzumiranjem hrane koja sadrži vitamine ili provoditi vrijeme na suncu jer sunčeva svjetlost, kao i vitamini D i B₆, povećavaju količinu serotonina u mozgu i samim time utječu na dobro raspoloženje [3].

2.2. METABOLIZAM SEROTONINA

Proizvodnja serotonina se izvodi u dva koraka kao što je prikazano na slici 2. Prvi korak je taj da se esencijalna aminokiselina triptofan hidroksilira u 5-hidroksitriptofan (5-HTP) pomoću enzima triptofan hidroksilaze. U drugom koraku se 5-HTP dekarboksilira u 5-hidroksitriptamin (5-HT). Pretvorba triptofana u serotonin čini 5 % ukupnog metabolizma triptofana zbog više razloga. Jedan od razloga je taj što se triptofan hidroksilaza nalazi isključivo u mozgu. 95 % pretvorbe triptofana se odvija u jetri iz hrane u kinurenin pomoću triptofan pirolaze [4].



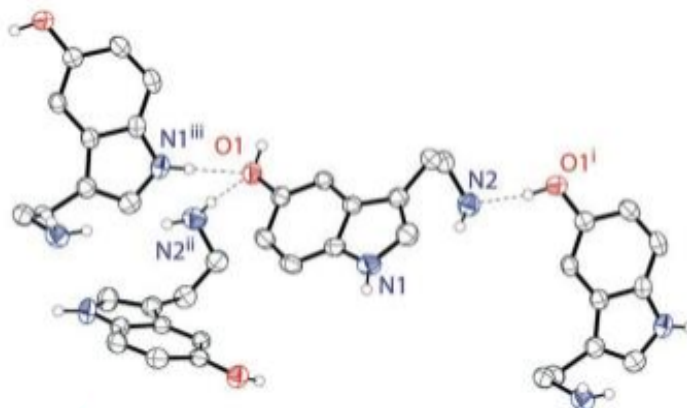
Slika 2. Sinteza serotonina iz triptofana [5].

Serotonin se obrađuje u središnjem živčanom sustavu. Naime, serotonin se, nakon depolarizacije neurona, oslobađa u sinaptičku pukotinu, a nakon toga se može vezati za postsinaptičke serotoninске receptore (5-HT receptore) na presinaptičkoj membrani. Ulogu uklanjanja serotonina iz sinaptičke membrane ima visoko selektivni transporter serotonina. Nakon transporta u presinaptički neuron, dolazi do recikliranja serotonina natrag u presinaptičke vezikule koji ga štite od metabolizma. Serotonin koji potječe iz enterokromafinskih stanica se otpušta u cirkulaciju. Zatim se eliminira iz plazme tako da se unosi u trombocite i metabolizmom u jetru [5].

2.3. KRISTALNA STRUKTURA SEROTONINA

Serotonin, tj. 5-HT ima kristalnu strukturu čija je molekulska formula $C_{10}H_{12}N_2O$. Njegov sustavni naziv je 3-(2-aminoetil)-1H-indol-5-ol. Sadrži jednu molekulu u asimetričnoj jedinici, a

molekule su u kristalu povezane u trodimenzionalnu mrežu vodikovim vezama. Stvaraju se vodikove veze na susjednim molekulama serotonina interakcijom hidroksi skupine na dušikovim atomima amina. Isto tako, dušikovi atomi indola tvore vodikove veze s hidroksilnim skupinama susjednih molekula serotonina preko vodikovih veza $N_1-H_1 \cdots O_1$, a polovica vodikovih atoma koji se nalaze u aminu su vezani za hidroksi skupine susjedne molekule preko vodikovih veza $N_2-H_2 \cdots O_1$. U kristalnoj strukturi serotonina nema zapaženih slaganja (Slika 3) [6,7].



Slika 3. Prikaz vodikovih veza između molekula serotonina [7].

2.4. SEROTONINSKI SINDROM

Serotoninski sindrom je stanje kada ljudsko tijelo sadrži prekomjernu količinu serotonina, a često je posljedica konzumiranja lijekova ili kombinacije lijekova (antidepresiva). Simptomi serotoninskog sindroma počinju par sati nakon povećanja doze lijeka ili nakon konzumiranja antidepresiva s drugim lijekovima koji su izdani na recept. Simptomi serotoninskog sindroma se mogu lako uočiti. Neki od njih su sljedeći: nemir, proširene zjenice, glavobolja, mučnina i povraćanje, dijareja, promjene krvnog tlaka, ubrzan rad srca, visoka temperatura, pojačano znojenje i drhtavica. Ukoliko se ne liječi, serotoninski sindrom može uzrokovati stanja koja su opasna po život kao npr. zatajenje bubrega, komu i smrt. Najvažniji korak u liječenju serotoninskog sindroma je prestanak konzumiranja lijeka koji je uzrokovao bolest, a nije isključeno ni da pacijent koji boluje od sindroma ostane u bolnici kako bi se pratio njegov oporavak [8].

Serotoninski sindrom najčešće uzrokuje kombinacija lijeka inhibitora monoaminooksidaze (MAOI) u kombinaciji s bilo kojim inhibitorom ponovne pohrane serotonina (SRI) [9]. Serotoenergični lijekovi koji izazivaju toksični sindrom uključuju mnoge antidepressive, antipsihotike i analgetike (fentanil, tramadol, metadon i dr), Serotoninergički lijekovi sadrže selektivne inhibitore ponovne pohrane serotonina (SSRI), inhibitore ponovne pohrane serotonin-norepinefrina (SNRI) i tricikličke antidepressive (TCA). Njihova uloga je inhibicija oba neurotransmita odgovorna za otpuštanje serotonina. U tablici 1 su navedeni neki od lijekova koji mogu izazvati serotoninski sindrom [10].

Tablica 1. Popis nekih od lijekova koji mogu izazvati serotoninski sindrom.

| Razred | Lijekovi |
|---|---|
| MAOI = inhibitori monoaminooksidaze | Izokarboksazid, Linezolid Fenelzin Selegilin Tranilcipromin |
| Inhibitori ponovne pohrane serotonina – noradrenalina | Bupropion Nefazodon Trazodon Venlafaksin |
| Antidepressivi SSRI | Citalopram Escitalopram Fluoksetin Fluvoksamin Paroksetin |

Liječenje započinje ukidanjem svih serotoninskih lijekova. Pacijentima se daje benzodiazepam, pa se prestaje konzumirati u roku od 24 do 72 sata. Ukoliko se radi o težem slučaju, liječenje se odvija na intenzivnoj njezi. Ukoliko su pacijenti oboljeli od tahikardije ili hipertenzije, liječenje se odvija kratkodjelujućim lijekovima (npr. esmolol). Nadalje, ako se radi o neurotermiji, navedeno se tretira hlađenjem. Ukoliko simptomi traju i dalje, potrebno je upotrijebiti ciproheptadin. Ciproheptadin se konzumira oralnim putem. Osim ciproheptadina, učinkoviti mogu biti i drugi lijekovi poput olanzapina i klorpromazina. Dakako, ne upotrebljavaju se zbog mogućih nuspojava koje mogu uzrokovati [11].

2.5. METODE KARAKTERIZACIJE SEROTONINA

Jedna od češćih metoda koja se upotrebljava za karakterizaciju serotonina je kromatografska metoda, točnije maseni spektrometar za tekućinsku kromatografiju (HPLC/MS, *high pressure liquid chromatography- tandem mass spectrometry*). HPLC/MS omogućuje odjeljivanje komponenata smjese i njihovu detekciju koja se temelji na omjeru mase i naboja čestica. Prednost u odnosu na druge metode je mogućnost praćenja analiza u isto vrijeme upotrebom dvaju detektora: DAD i spektrometra mase. Prednosti HPLC/MS metode za karakterizaciju serotonina su visoka osjetljivost, specifičnost, te selektivnost. Najčešće se primjenjuje u području medicine i biokemije za mjerenje serotonina u krvnoj plazmi bogatoj trombocitima. Za kvantitativnu analizu serotonina pomoću HPLC/MS metode, procijenjeni su sljedeći parametri: relativna točnost, preciznost i kalibracijska krivulja. Nadalje, HPLC/MS metoda je složena i skupa. Iz tog razloga, za karakterizaciju serotonina, sve češće se upotrebljavaju elektrokemijske metode. Osim što je osjetljiva, selektivna, ima mogućnost analize velikog broja uzoraka u kratkom vremenu, jednostavna je i za upotrebu. U ovom radu su korištene elektrokemijske metode za karakterizaciju serotonina (ciklička i diferencijalna pulsna voltometrija) [12-15].

2.6. ELEKTROKEMIJSKE METODE

Elektrokemija je dio fizikalne kemije koja se bavi proučavanjem povezanosti električnih pojava i kemijskih reakcija. Mjerenje potencijala, struje ili naboja za određivanje koncentracije analita omogućavaju elektrokemijske metode. Elektrokemijski članak sastoji se od dvije elektrode (radne i referentne elektrode), te od otopine elektrolita. Radna elektroda je ona koja je osjetljiva na analit i na kraju elektrokemijske reakcije daje odziv, a referentna ima stalan potencijal. Najčešća referentna elektroda sastoji se od polućelije Ag/AgCl, a elektrolitna otopina je zasićena otopina kalijevog klorida i srebrovog (I) klorida. Elektrode se odabiru na temelju više faktora: na temelju pozadinske struje u području potencijala, redoks potencijal ispitivane tvari, selektivnosti,

preciznosti, cijene, i sl. Elektrokemijske metode su potenciometrija, voltometrija, konduktometrija, kulometrija, te dielektrometrija [16-19].

2.6.1. POTENCIOMETRIJA

Potenciometrija je vrsta elektrokemijske metode koja služi za mjerenje razlike električnog potencijala u elektrokemijskoj ćeliji. Za potenciometrijsko mjerenje se koriste indikatorska i referentna elektroda, te otopina elektrolita. Obje elektrode su uronjene u otopinu i spojene na potenciometar koji mjeri razliku potencijala između dvije elektrode. Ta razlika potencijala se naziva elektromotorna sila (EMF). Indikatorska elektroda koja se upotrebljava mora biti ponovljiva, selektivna i imati koristan vijek trajanja. Isto tako, treba brzo reagirati na promjene u koncentraciji iona i mora reagirati i u prisutnosti drugih iona koji se nalaze u matrici uzorka. Većina indikatorskih elektroda koja se upotrebljava u potenciometriji daje visoko selektivan odziv na ione analita. Za razliku od indikatorske, referentna elektroda ima stalan potencijal i ne ovisi o koncentraciji analita, a jedan od bitnih faktora je da mora biti jednostavna za upotrebu. Najčešća referentna elektroda koja se upotrebljava u potenciometriji je standardna vodikova elektroda [20,21].

Potenciometrijska mjerenja temelje se na Nernstovoj jednadžbi. Nernstova jednadžba vrijedi samo u termodinamičkim uvjetima. Ona povezuje potencijal s koncentracijom elektroaktivnih vrsta. U potenciometriji je potrebno razmotriti redoks proces koji se odvija na jednoj elektrodi iako su za elektrokemijsku ćeliju značajne dvije elektrode. Nernstova jednadžba se piše kao:

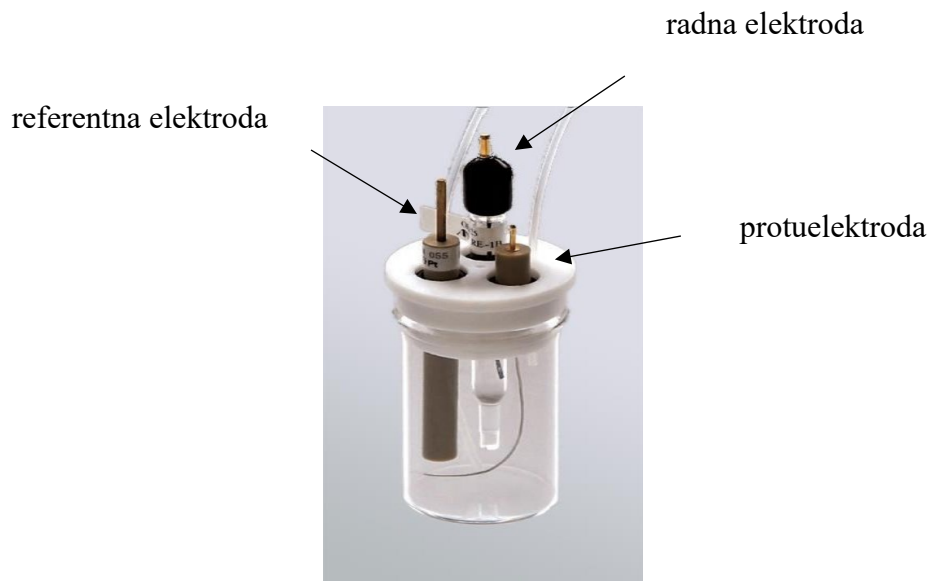
$$E = E^{\circ} - \frac{RT}{zF} \ln Q \quad (1)$$

gdje je E elektrodni potencijal redoks sustava, E° standardni elektrodni potencijal redoks sustava, R univerzalna plinska konstanta, T je termodinamička temperatura u kelvinima, z je broj izmijenjenih elektrona, F je Faradeyeva konstanta, a Q je reakcijski kvocijent [22].

2.6.2. VOLTAMETRIJA

Voltometrija je skupina elektroanalitičkih metoda u kojoj se napon primjenjuje na radnu elektrodu kao funkcija vremena, te se mjeri struja koja nastaje u sustavu. Isto kao i u potenciometriji, instrument kojim se mjeri struja je potenciostat, a elektrode koje se upotrebljavaju su radna i referentna elektroda (Ag/AgCl). Uređaj koji služi za kontroliranje potencijala radne i referentne elektrode je potenciostat koji mjeri struju koja teče između radne elektrode i protuelektrode (signal odziva) a kontrolira potencijal između radne i referentne elektrode (signal pobude). Ukoliko se radi o redukciji analita, struja koja nastaje se naziva katodna struja, a ukoliko dođe do oksidacije, struja koja nastaje naziva se anodna struja. U voltametrijama su se najčešće upotrebljavale živine elektrode. Jedna od njezinih prednosti je dobro otapanje metala u živi tvoreći amalgame što omogućava uspješnije mjerenje niskih koncentracija analita. Živine elektrode se danas vrlo slabo upotrebljavaju zbog njihove toksičnosti, pa su zamijenjene elektrodama od staklenog ugljika, zlata ili platine (protuelektroda).

Za mjerenja se upotrebljavaju radna, referentna i protuelektroda. Mjerenja se u voltametrijama provode u troelektrodnoj elektrokemijskoj ćeliji koja se sastoji od 3 elektrode uronjene u otopinu analita. Uvodi se inertni plin (dušik ili argon) kako bi se stvorila inertna atmosfera. Na radnoj elektrodi se potencijal održava unutar zadanih vrijednosti. Njezina površina je vrlo mala, te je sklona polarizaciji, dok referentna elektroda ima stalan potencijal. Protuelektroda pak, omogućava tok struje od izvora kroz otopinu pa sve do mikroelektrode (radne elektrode). Voltometrijske metode se dijele na više vrsta, a one koje se najviše upotrebljavaju su ciklička voltometrija, diferencijalna pulsna voltometrija, pravokutnovalna i *stripping* voltometrija. Na slici 4 shematski je prikazana troelektrodna elektrokemijska ćelija koja se upotrebljava u voltametrijama [23,24].



Slika 4. Shematski prikaz troelektrodne elektrokemijske ćelije u voltametriji.

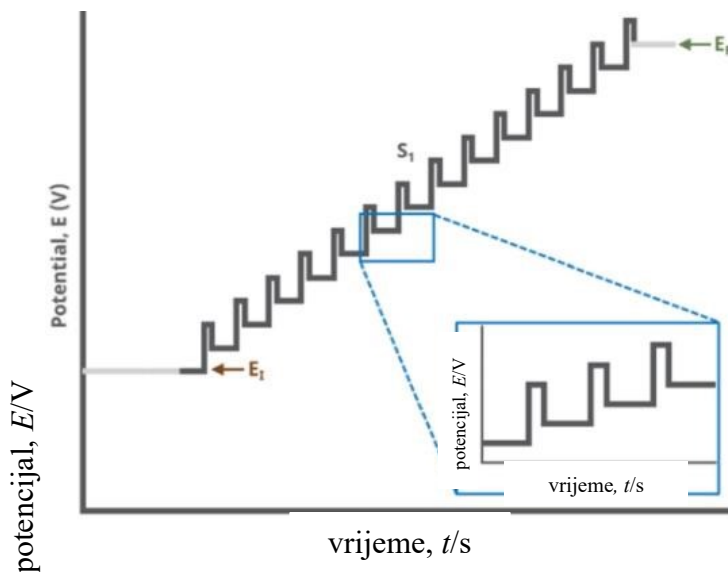
2.6.3. CIKLIČKA VOLTAMETRIJA

Ciklička voltametrija pripada skupini elektroanalitičkih tehnika mjerenja u kojima je signal pobude linearno rastući potencijal koji raste do određene vrijednosti i nakon toga se vraća na početnu vrijednost potencijala. Signal odziva je struja [25].

Promjena potencijala omogućava određivanje je li produkt elektronskog prijelaza stabilan, odnosno jesu li reakcijski međuprodukt i završni produkt elektroaktivni. Parametri koji su značajni za cikličku voltametriju su brzina promjene potencijala (v), granice potencijala (E_1 , E_2 , E_3), te smjer promjene potencijala. Eksperiment najčešće počinje na potencijalu na kojem nema elektrodne reakcije, a zatim se pomiče prema pozitivnim vrijednostima gdje se proučava oksidacija ili prema negativnim vrijednostima gdje se proučava redukcija. Koliko će reakcija trajati, ovisi o brzini promjene potencijala, a ona se kreće u području od 25 do 500 mV/s [25].

2.6.4. DIFERENCIJALNA PULSNA VOLTAMETRIJA

Diferencijalna pulsna voltametrija je tehnika koja služi za mjerenje razlike (diferencijala) u struji ćelije koja je uzrokovana naponskim impulsom. Osnovni potencijal se povećava između impulsa s jednakim inkrementima. Struja se mjeri neposredno prije primjene naponskog impulsa i na kraju impulsa, stoga je signal odziva razlika jakosti struja prije, te nakon naponskog impulsa kao funkcija potencijala. Signal pobude je niz kratkotrajnih pulseva, a signal odziva je proporcionalan koncentraciji reaktanata (signal pobude je prikazan na slici 5). Uzorci za mjerenje se uzimaju tijekom određenog vremenskog perioda sa ciljem da se utvrdi odnos potencijala (E), struje (I) i vremena (t) [26,27].



Slika 5. Signal pobude u diferencijalnoj pulsnoj voltametriji [25].

U diferencijalnoj pulsnoj voltametriji se upotrebljavaju radna elektroda, protuelektroda i referentna elektroda. Naponske impulse prenosi protuelektroda, a radna elektroda mjeri električnu struju. Nadalje, referentna elektroda kontrolira napon protuelektrode. Impulsi koje šalje radna elektroda se kreću u periodu od 10 mV/s do 100 mV/s. Postoji vrijeme mirovanja od 1s do 2 s jer se impuls vraća na inkrementalni osnovni napon. Diferencijalna pulsna voltametrija ima veliku

osjetljivost i točnost, stoga se često upotrebljava kao metoda kemijske analize u znanstvenim primjenama [26,27].

2.6.5. STRIPPING VOLTAMETRIJA

Stripping voltometrija je elektrokemijska tehnika koja daje informacije o prirodi i koncentraciji elektroaktivnih analita dobivanjem katodnih ili anodnih voltamograma. Voltamogrami nastaju polarizacijom elektrode. Anodna stripping voltometrija (ASV) je vrlo osjetljiva, stoga se koristi za analizu koncentracija metalnih vrsta u tragovima u otopini. ASV eksperiment sastoji se od tri koraka: taloženje, mirno vrijeme i linearno uklanjanje. Katodna stripping voltometrija (CSV) je suprotna anodnoj. Služi za otkrivanje vrsta zbog kojih nastaju teško topljive soli žive (sulfid, cijanid, tioli i drugi). Prednost CSV-a je to što nije ograničena na živine elektrode [28,29].

2.6.6. PRAVOKUTNOVALNA VOLTAMETRIJA

Pravokutnovalna voltometrija je elektrokemijska tehnika čiji je cilj karakterizacija redoks vrsta. Isto tako, pomoću pravokutnovalne voltetrije se mogu proučavati i termodinamika, te kinetika prijenosa naboja. Eksperimenti se provode u otopini elektrolita od nekoliko mililitara, a elektrode koje se koriste su radna, protuelektroda i referentna elektroda s površinom manjom od kvadratnog centimetra. Struja teče između radne elektrode i protuelektrode. Radna elektroda prenosi informacije isključivo od prijenosa naboja preko male radne elektrode i elektrolitskog sučelja. Elektrokemijske reakcije na protuelektrodi su nepoznate i ne utječu na ishod mjerenja [30].

Referentna elektroda koja se upotrebljava treba biti robusna i treba imati konstantan kemijski sastav. Konstantan kemijski sastav je potreban za kontrolu relativnog potencijala radne elektrode uz pomoć potencioštata. Razlika potencijala između otopine i radne elektrode je pokretačka sila za elektrokemijsku reakciju. Potenciostat u pravokutnovalnoj voltetriji funkcionira na način da je potencijal otopine elektrolita jednak potencijalu metalne faze referentne elektrode. Potenciostat treba biti povezan s potencijalnim generatorom valnog oblika [30].

2.6.7. KONDUKTOMETRIJA

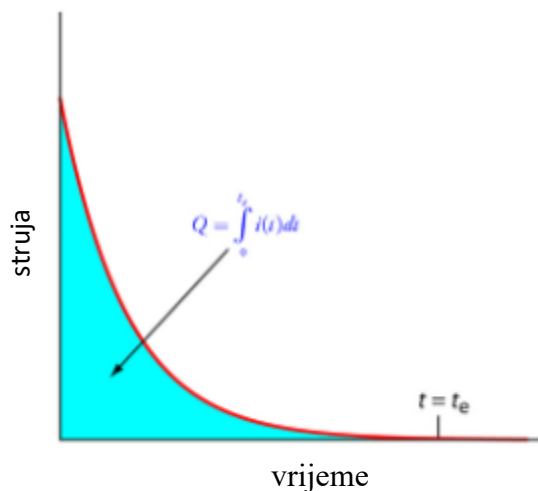
Konduktometrija je elektrokemijska metoda koja se upotrebljava za mjerenje električne vodljivosti otopine elektrolita u vodi ili drugom otapalu visoke relativne permitivnosti pomoću uređaja koji se zove konduktometar. Prilikom mjerenja dolazi do disocijacije elektrolita na ione. Temelji se na sposobnosti otopine elektrolita da provodi električnu struju. Električna vodljivost otopine elektrolita ovisi o vrsti iona (kationi, anioni), temperaturi, koncentraciji iona i o pokretljivosti iona. Za ovu metodu je značajno da kretanje iona stvara električnu vodljivost, a samo kretanje iona ovisi o koncentraciji iona. Električna vodljivost je u skladu s Ohmovim zakonom koji kaže da je jakost struje (I) koja prolazi kroz vodič izravno proporcionalna naponu (U) i obrnuto proporcionalna otporu (R). Konduktometrijska ćelija sastoji se od dvije metalne elektrode (napravljena od platine) uronjenih u otopinu koja se analizira. Platinaste elektrode su podložne polarizaciji, stoga se u konduktometriji za mjerenje može koristiti izmjenična struja koja sprječava polarizaciju [31,32].

2.6.8. KULOMETRIJA

Kulometrija je elektrokemijska metoda u kojoj se, tijekom pretvorbe analita, mjeri broj kulona na elektrodi. Kulometrija se još naziva i apsolutnom metodom jer joj nije potrebna kalibracija. Neki od prednosti, osim toga što joj kalibracija nije potrebna, je njezina jednostavnost i financijski je prihvatljiva. Kulometrija se često upotrebljavala sredinom dvadesetog stoljeća. Zamijenjena je diferencijalnom pulsnom voltametrijom i tekućinskom kromatografijom visoke učinkovitosti (HPLC) [33].

Za podešavanje potencijala se upotrebljava potenciostat s tri elektrode. Radna elektroda može biti cilindrična platinasta elektroda ili živina elektroda. Živina elektroda se koristi za određivanje analita koji zahtijevaju negativan potencijal. Njezin je nedostatak to što se vrlo lako oksidira, stoga nije pogodna za slučaj ukoliko se treba održavati pozitivan potencijal. U tom slučaju, najadekvatnija elektroda za korištenje je platinasta elektroda. Pomoćna elektroda je odvojena mostom od analitičke otopine sa ciljem da se spriječi da produkti elektrolize reagiraju s analitom jer u tom slučaju ometaju analizu. Nadalje, kao referentna elektroda se koristi zasićena kalomelova

ili Ag/AgCl elektroda. U kulometriji se koristi dodatna instrumentacija-sredstvo za određivanje ukupnog naboja. Jedna od metoda je praćenje struje kao funkcije vremena, te određivanje površine ispod krivulje kao što je vidljivo na slici 6. Ukupni naboj na kraju elektrolize se očitava izravno s digitalnog očitavanja [34].



Slika 6. Grafički prikaz grafa struje u ovisnosti o vremenu tijekom kulometrijske analize [34].

2.6.9. DIELEKTROMETRIJA

Dielektrometrija je elektrokemijska metoda koja se upotrebljava za mjerenje relativne permitivnosti otopine kao funkcije koncentracije. Mjerenja se vrše neposredno preko otpora otopine izmjeničnom strujom. Diljem svijeta prisutan je problem onečišćenja okoliša. Upravo zbog toga, potrebno je razviti robusne i neinvazivne metode ekološke kontrole uzoraka vode. Osmišljena je radiofizička metoda (tehnika dielektrokemije) dinamičke kontrole razine organskih onečišćujućih tvari u uzorcima voda pomoću dielektrokemijskih parametara. Metoda se temelji na preciznom mjerenju kompleksne permitivnosti (CP) vodenih otopina organskih tvari. Neke od prednosti tehnike dielektrokemije je dinamično mjerenje tekućina koje se proučavaju bez potrošnog materijala poput kemikalija što pruža značajan društveno-ekonomski učinak [35].

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. KEMIKALIJE I PRIPRAVA OTOPINA

Sve otopine u diplomskog radu su priređivane s ultra čistom vodom provodnosti manjom ili jednakom $0,055 \mu\text{S cm}^{-1}$. U tablici 2. su navedene, a na slici 7 su prikazane kemikalije koje su s koristile u diplomskog radu.

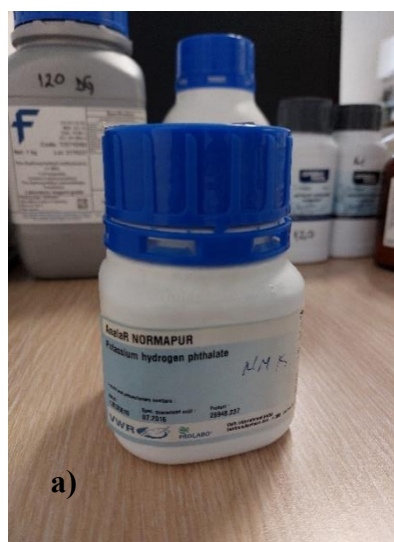
Tablica 2. Prikaz kemikalija koje su se koristile u diplomskom radu, te njihova molarna masa i formula.

| naziv kemikalija | molarna masa | formula |
|----------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|
| natrij hidrogenkarbonat | $84,01 \text{ g mol}^{-1}$ | NaHCO_3 |
| kalij hidrogenftalat | $204,22 \text{ g mol}^{-1}$ | $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$ |
| klorovodična kiselina | $36,46 \text{ g mol}^{-1}$ | HCl |
| natrijev hidroksid | $39,99 \text{ g mol}^{-1}$ | NaOH |
| etanol | $46,07 \text{ g mol}^{-1}$ | $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ |
| metanol | $32,04 \text{ g mol}^{-1}$ | CH_3OH |
| dimetil sulfoksid | $78,14 \text{ g mol}^{-1}$ | $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ |
| dimetil formamid | $73,09 \text{ g mol}^{-1}$ | $(\text{CH}_3)_2\text{NC(O)H}$ |
| octena kiselina | $60,05 \text{ g mol}^{-1}$ | CH_3COOH |
| natrijev dihidrogen fosfat | $119,98 \text{ g mol}^{-1}$ | NaH_2PO_4 |
| tris baza | $121,14 \text{ g mol}^{-1}$ | $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$ |

Puferi koji su se koristili u diplomskom radu su pripremljeni prema referenci 35. Otopine pufera su pripremljene u odmjernim tikvicama od 100 mL. U eksperimentu su se koristili puferi vrijednosti $\text{pH}=4$, $\text{pH}=5$, $\text{pH}=6$, $\text{pH}=7$, $\text{pH}=9$ i $\text{pH}=10$. U tablici 3 navedene su kemikalije i način pripreme pufera [36].

Tablica 3. Način pripreme pufera i korištene kemikalije.

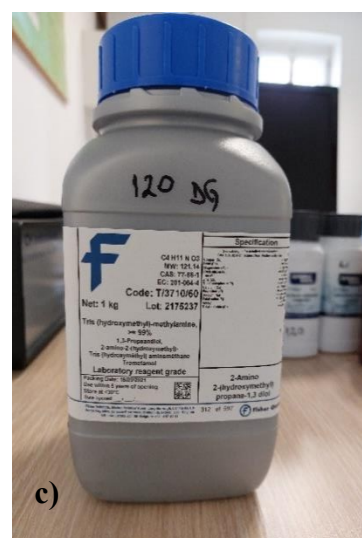
| pufer | |
|-------|---|
| pH=4 | Otopljeno je 4,0844 g kalijeveg hidrogen ftalata u 50 mL, pomiješano s 0,1 mL 0,1 mol dm ⁻³ HCl u odmjerneji tikvici od 100 mL. |
| pH=5 | Otopljeno je 4,0844 g kalijeveg hidrogen ftalata u 50 mL, pomiješano s 22,6 mL 0,1 mol dm ⁻³ NaOH u odmjerneji tikvici od 100 mL. |
| pH=6 | Otopljeno 2,3996 g natrijevog hidrogen ftalata u 50 mL, te pomiješano sa 5,6 mL 0,1 mol dm ⁻³ NaOH u odmjerneji tikvici od 100 mL. |
| pH=7 | Otopljeno je 2,3996 g natrijevog dihidrogen fosfata u 50 mL vode, te pomiješano s 29,1 mL 0,1 mol dm ⁻³ NaOH u odmjerneji tikvici od 100 mL. |
| pH=9 | Otopljeno je 2,4228 g tris baze u 50 mL ultra čiste vode u odmjerneji tikvici od 100 mL. |
| pH=10 | Otopljeno je 0,8401 g 0,1 mol dm ⁻³ NaHCO ₃ u 50 mL vode u odmjerneji tikvici od 100 mL. |



a)



b)



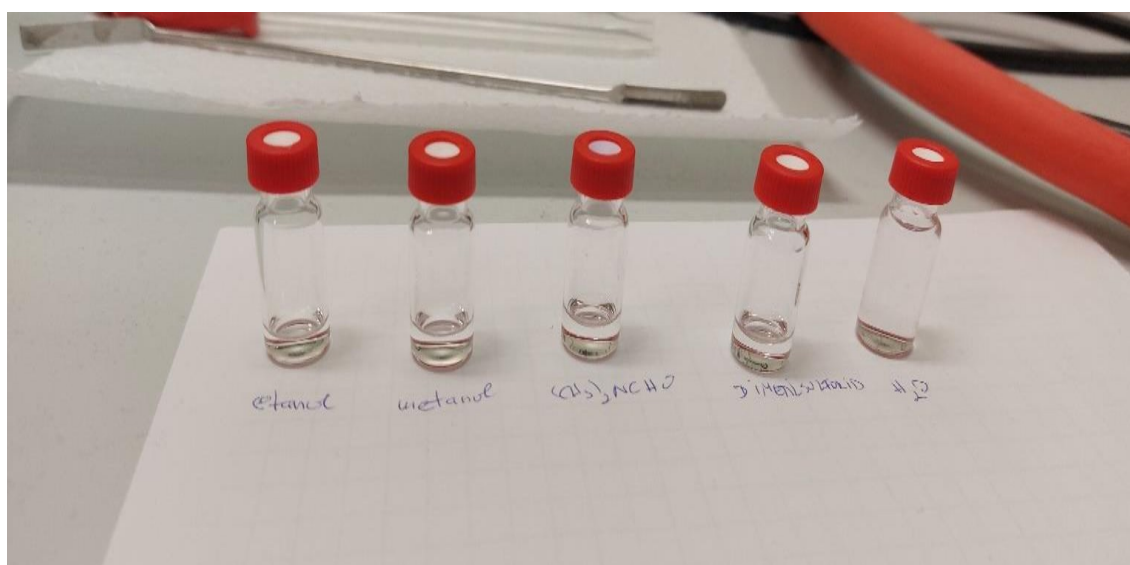
c)

Slika 7. Na slici su prikazane sljedeće korištene kemikalije: a) C₈H₅KO₄, b) NaHCO₃, c) Tris baza.

Koncentracija standardne otopine serotonina koja je korištena za elektrokemijska mjerenja iznosila je, $c=1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$. U eksperimentu su se koristile dvije standardne otopine serotonina-u etanolu i u vodi. Prva standardna otopina serotonina pripremljena je otapanjem $1,76 \cdot 10^{-3} \text{ g}$ serotonina u 10 mL etanola koristeći ultra čistu vodu, a druga standardna otopina je pripremljena također otapanjem $1,76 \cdot 10^{-3} \text{ g}$ serotonina u 10 mL vode. Otopina serotonina željene koncentracije ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) pripremljena je razrjeđivanjem standardne otopine serotonina otopinom pufera odgovarajuće pH vrijednosti neposredno prije mjerenja.

3.2. ISPITIVANJE TOPLJIVOSTI SEROTONINA

Topljivost serotonina ispitivala se u etanolu, metanolu, destiliranoj vodi, DMF i u DMSO (slika 8.). Topljivost serotonina bila je vrlo dobra u svim otapalima, osim u vodi, tj. u vodi se serotonin vrlo sporo otapao, ali topljivost je i u vodi postojana.



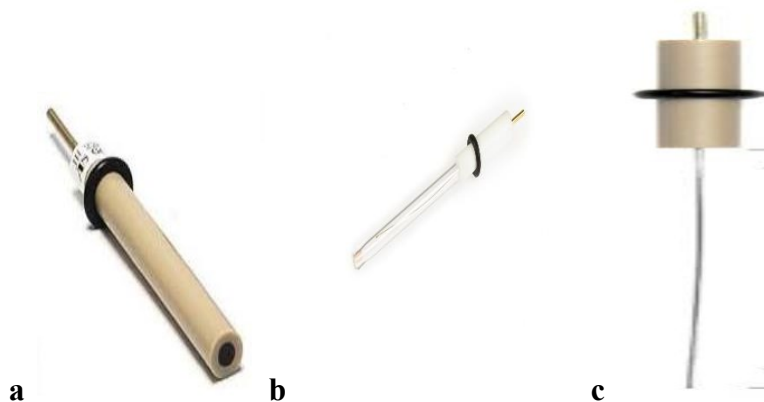
Slika 8. Ispitivanje topljivosti serotonina.

3.3. ELEKTROKEMIJSKA ĆELIJA

Mjerenja su izvedena u troelektrodnoj voltametrijskoj ćeliji (Slika 9.) pomoću PalmSens potencioštata/galvanostata. Za mjerenja su se koristile radna elektroda od staklastog ugljika, referentna elektroda (Ag/AgCl) i protuelektroda platinska žica (Slika 10.) Uloga referentne elektrode je da daje signal odziva, a pomoću protuelektrode je omogućen tok električne struje kroz platinsku žicu. Radna elektroda se polirala prije svakog mjerenja sa suspenzijom α -Al₂O₃. Sustav je propuhivan plinom argonom kako bi se stvorila inertna atmosfera. Standardna otopina serotonina pripravljena je neposredno prije mjerenja otapanjem $1,76 \cdot 10^{-3}$ g u 10 mL tekućine (etanola ili vode).



Slika 9. Prikaz troelektrodnog sustava u elektrokemijskoj ćeliji.



Slika 10. Na slici su prikazane sljedeće korištene elektrode: **a)** Elektroda od staklastog ugljika, **b)** Ag/AgCl elektroda, **c)** Platinska žica.

3.4. METODE

3.4.1. CIKLIČKA VOLTAMETRIJA

Ciklička voltametrija se u ovom diplomskom radu koristila za proučavanje elektrokemijskih svojstava serotonina (u vodenom mediju i u etanolu) i za proučavanje njezinog oksidacijskog mehanizma. Nadalje, pomoću cikličke voltametrije se proučavao i utjecaj brzine promjene potencijala na oksido-redukcijske strujne vrhove serotonina, a brzina polarizacije se kretala u rasponu od 50 mV/s do 300 mV/s. Isto tako, cikličkom voltametrijom je praćen utjecaj pH na potencijal i struju oksidacijskog strujnog vrha. Praćenjem utjecaja pH na potencijal i struju oksidacijskog strujnog vrha, utvrđeno je da oksidacija serotonina ovisi o pH.

3.4.2. DIFERENCIJALNA PULSNA VOLTAMETRIJA

Diferencijalna pulsna voltametrija se koristila za ispitivanje adsorpcije, te oksidacijskih svojstava serotonina. Reakcija se odvijala na površini elektrode od staklastog ugljika. Diferencijalni pulsni voltamogrami su snimljeni u vodenim otopinama serotonina, te u otopini serotonina i etanola u granicama potencijala od -0,4 V do 1 V (u otopini serotonina i etanola) i u granicama potencijala od -0,4 V do 0,16 V (u vodenoj otopini serotonina).

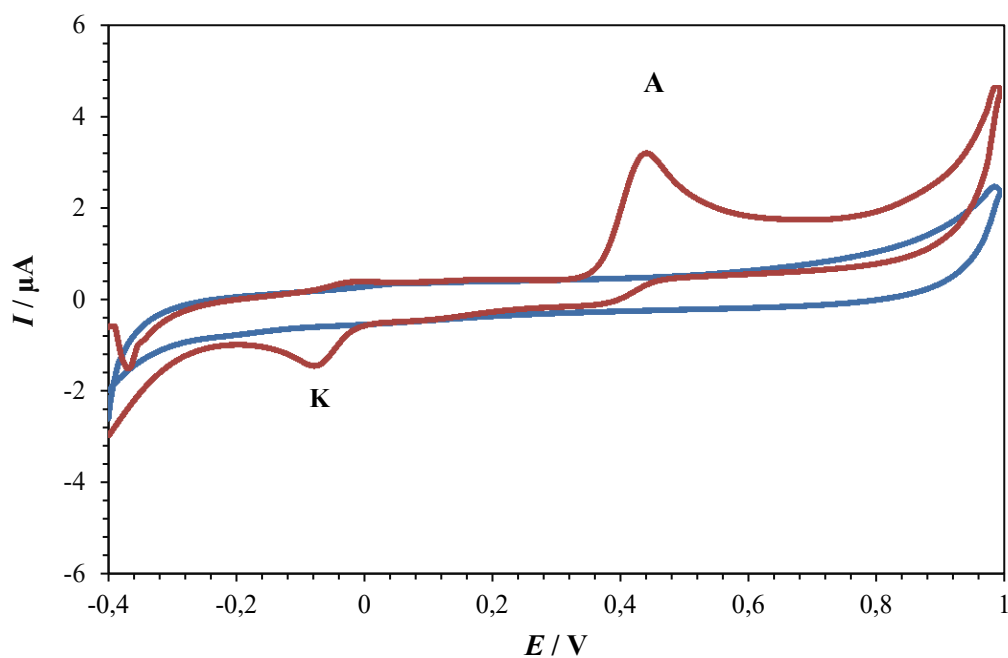
4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. CIKLIČKA VOLTAMETRIJA

4.1.1. Utjecaj brzine polarizacije elektrode

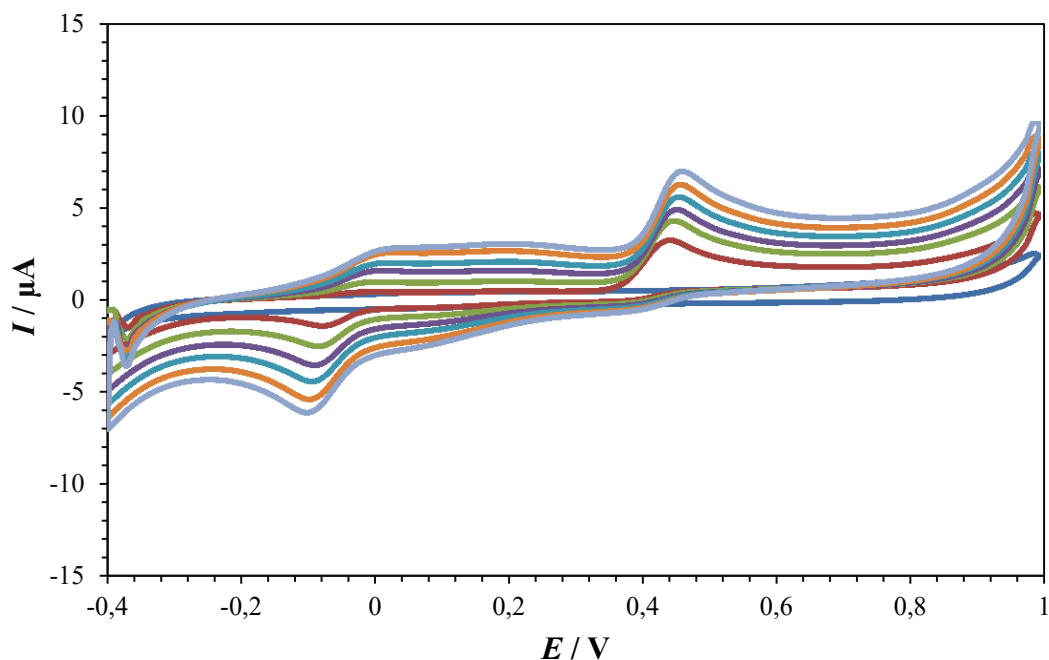
4.1.1.1. Alkoholna otopina serotonina

Cikličkom voltametrijom su proučavana elektrokemijska svojstva serotonina u rasponu potencijala od -0,40 V do 1 V koristeći elektrodu od staklastog ugljika pri $v=50$ mV/s. Na slici 11. prikazan je ciklički voltamogram blank otopine (pufer pH=5) i otopine serotonina u etanolu ($c=1 \cdot 10^{-4}$ mol dm⁻³). Detektiran je jedan anodni strujni vrh (A) pri potencijalu, $E_{p,a}=0,455$ V, koji se odnosi na oksidaciju OH i NH skupine serotonina i jedan katodni strujni vrh (K) pri potencijalu, $E_{p,k}=-0,07$ V. Anodni strujni vrh odgovara oksidaciji hidroksilne skupine u serotoninu, a katodni strujni vrh odgovara redukciji oksidacijskog produkta serotonina.



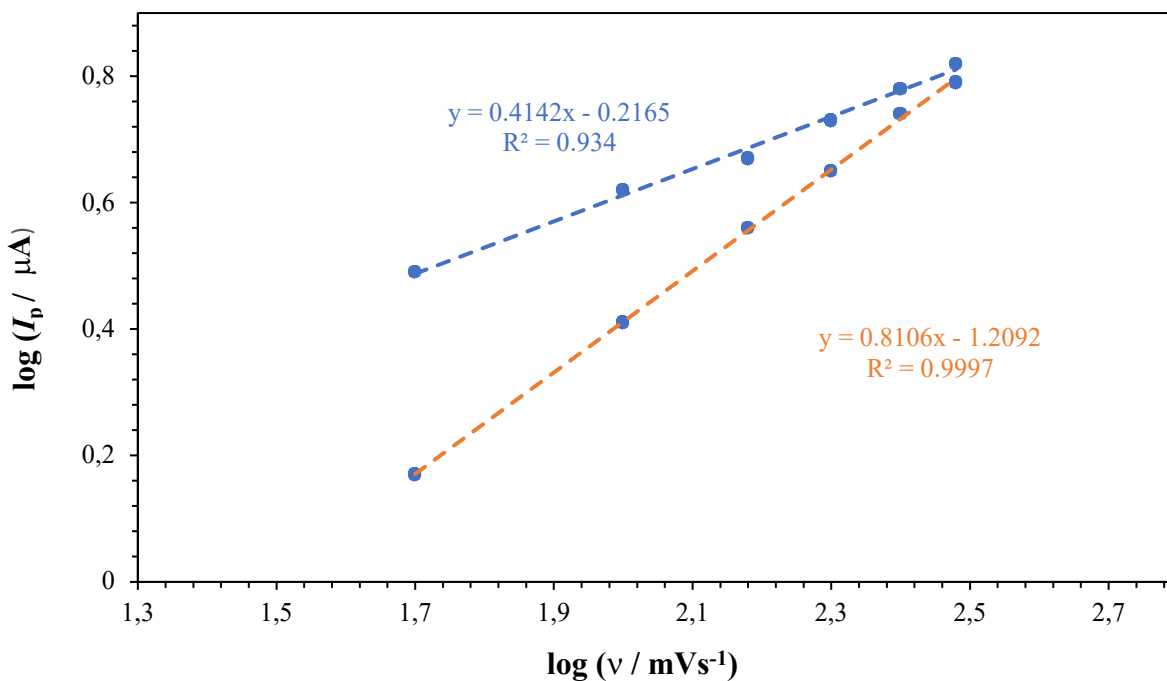
Slika 11. Ciklički voltamogrami blank otopine (pufer pH=5) (—) i otopine serotonina u etanolu (—) ($c=1 \cdot 10^{-4}$ mol dm⁻³), $v=50$ mV/s.

Na slici 12 prikazani su ciklički voltamogrami otopine serotonina u etanolu ($c=1 \cdot 10^{-4}$ mol dm⁻³) koji su snimljeni pri različitim brzinama polarizacije elektrode ($v=50, 100, 150, 200, 250$ i 300 mV/s). Iz navedenog je utvrđeno da s povećanjem brzine polarizacije elektrode raste struja oksidacijskog i redukcijskog strujnog vrha.



Slika 12. Ciklički voltamogrami blank otopine (pufer pH=5) (—) i otopine serotonina u etanolu ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) snimljeni pri različitim brzinama polarizacije elektrode ($v=50 \text{ mV/s}$ (—), 100 mV/s (—), 150 mV/s (—), 200 mV/s (—), 250 mV/s (—), 300 mV/s (—)).

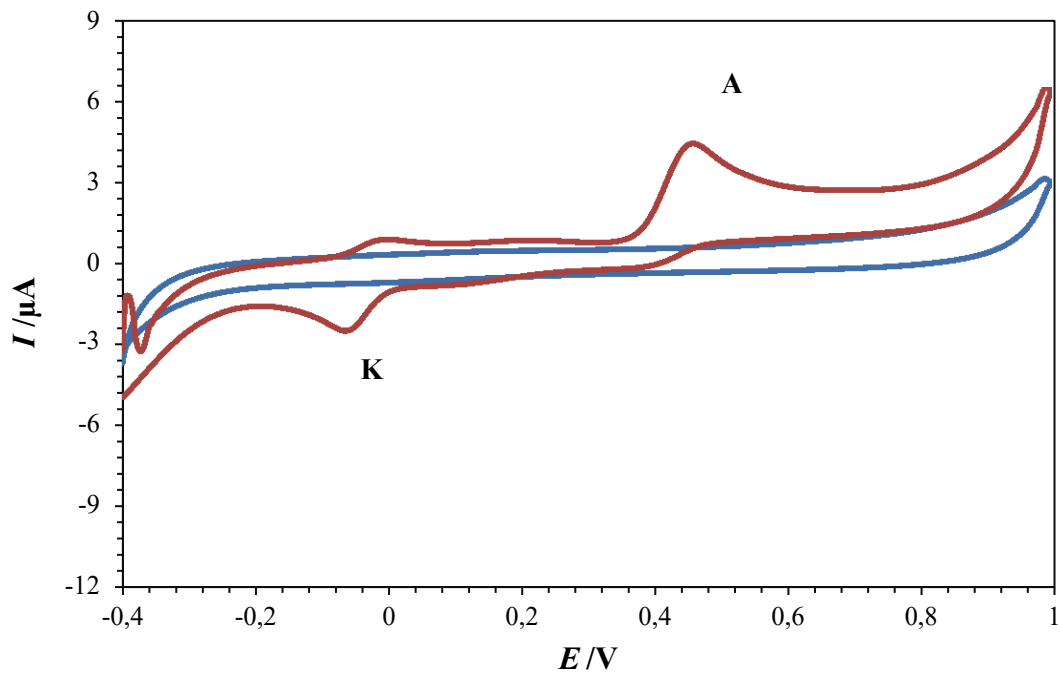
Grafički prikaz ovisnosti logaritma struje oksidacijskog ($\log(I_{p,a})$) i redukcijskog ($\log(I_{p,k})$) strujnog vrha o logaritmu brzine polarizacije elektrode ($\log(v)$) prikazuje linearnu ovisnost za anodni i katodni strujni vrh. Nagib pravca iznosi oko 0,5 za anodni strujni vrh što pokazuje da je proces oksidacije serotonina difuzijski kontroliran, dok je nagib pravca za redukcijski strujni vrh oko 0,8 što pokazuje da je proces redukcije serotonina pod miješanom adsorpcijskom i difuzijskom kontrolom (Slika 13)



Slika 13. Prikaz logaritma struje anodnog (●) i katodnog (●) strujnog vrha, $\log(I_p)$ kao funkcije logaritma brzine polarizacije elektrode, $\log(v)$.

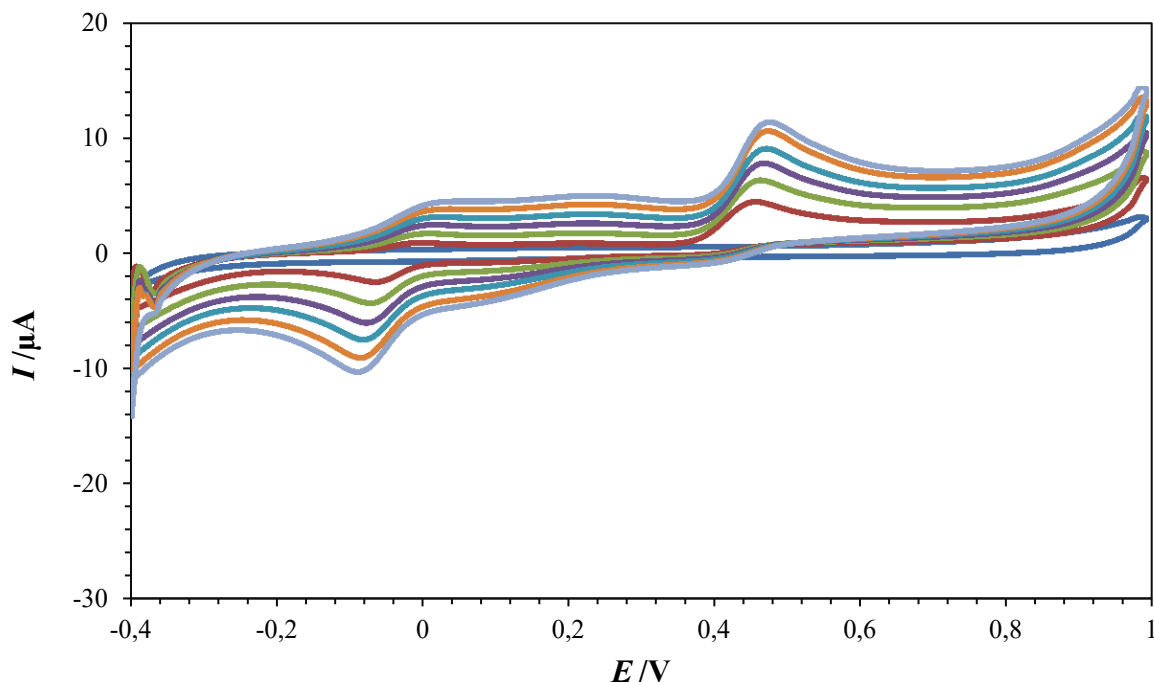
4.1.1.2. Vodena otopina serotonina

Cikličkom voltametrijom proučavana su elektrokemijska svojstva serotonina u rasponu potencijala od -0,40 V do 1 V koristeći elektrodu od staklastog ugljika pri $v=50$ mV/s. Na slici 14. prikazan je ciklički voltamogram blank otopine (pufer pH=5) i vodene otopine serotonina ($c=1 \cdot 10^{-4}$ mol dm^{-3}). Detektiran je jedan anodni strujni vrh (A) pri potencijalu, $E_{p,a}=0,46$ V koji se odnosi na oksidaciju OH i NH skupine serotonina i jedan katodni strujni vrh (K) pri potencijalu, $E_{p,k}=-0,06$ V koji se odnosi na redukciju oksidacijskog produkta serotonina. Anodni strujni vrh odgovara oksidaciji hidroksilne skupine u serotoninu, a katodni strujni vrh odgovara redukciji oksidacijskog produkta serotonina.



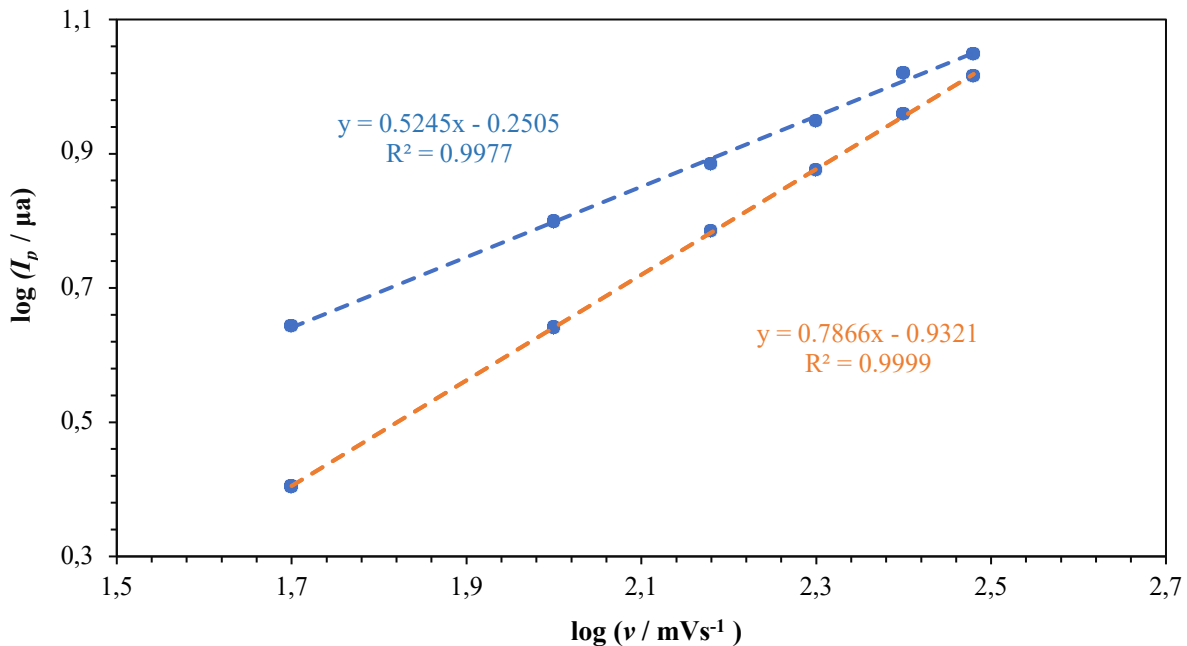
Slika 14. Ciklički voltamogrami blank otopine (pufer pH=5) (—) i vodene otopine serotonina (—) ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$), $\nu=50 \text{ mV/s}$.

Na slici 15 prikazani su ciklički voltamogrami vodene otopine serotonina ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) koji su snimljeni pri različitim brzinama polarizacije elektrode ($\nu=50, 100, 150, 200, 250$ i 300 mV/s). Iz navedenog je utvrđeno da s povećanjem brzine polarizacije elektrode raste struja oksidacijskog i redukcijskog strujnog vrha.



Slika 15. Ciklički voltamogrami blank otopine (pufer pH=5) (—) i vodene otopine serotoninina ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) snimljeni pri različitim brzinama polarizacije elektrode ($v=50 \text{ mV/s}$ (—), $v=100 \text{ mV/s}$ (—), $v=150 \text{ mV/s}$ (—), $v=200 \text{ mV/s}$ (—), $v=250 \text{ mV/s}$ (—), $v=300 \text{ mV/s}$ (—)).

Grafički prikaz ovisnosti logaritma struje oksidacijskog strujnog vrha ($\log(I_{p,a})$) i redukcijskog ($\log I_{p,k}$) o logaritmu brzine ($\log(v)$) polarizacije elektrode prikazuje linearnu ovisnost za anodni i katodni strujni vrh. Nagib pravca iznosi oko 0,5 za anodni strujni vrh što pokazuje da je proces oksidacije serotoninina difuzijski kontroliran, dok je nagib pravca za redukcijski strujni vrh oko 0,8 što pokazuje da je proces redukcije serotoninina pod miješanom adsorpcijskom i difuzijskom kontrolom što je vidljivo na slici 16.

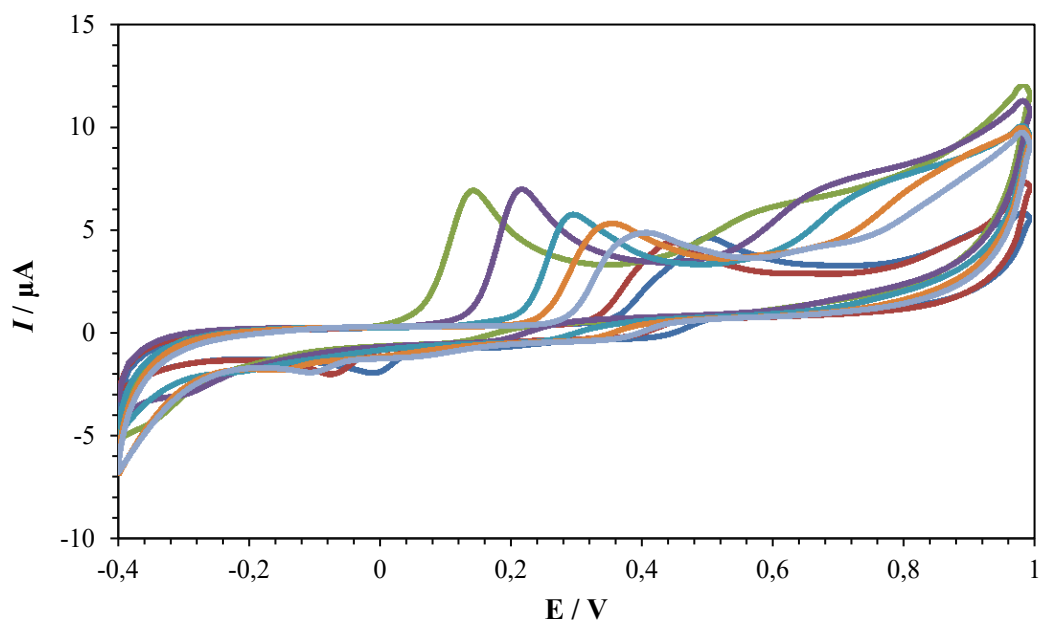


Slika 16. Struja anodnog (●) i katodnog (●) strujnog vrha, $\log(I_{p,a})$ kao funkcija logaritma brzine polarizacije elektrode, $\log(v)$.

4.1.2. Utjecaj pH

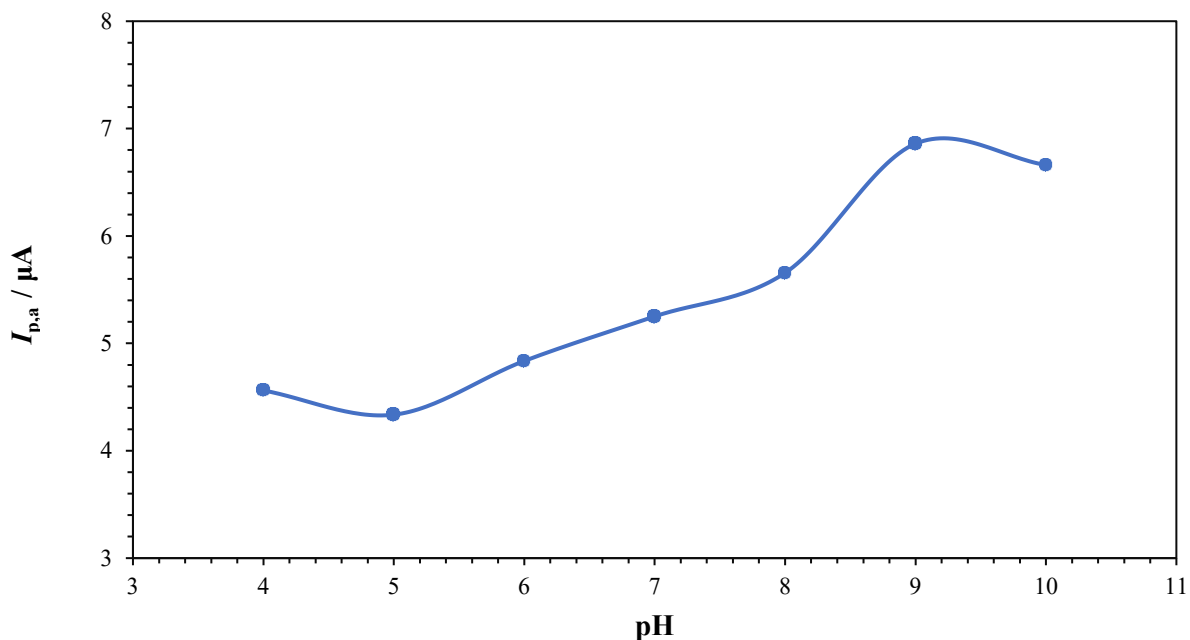
4.1.2.1. Alkoholna otopina serotonina

Ciklički pulsni voltamogrami alkoholne otopine serotonina ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) su snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika u puferima pH=6-10. Na slici 17 može se uočiti da se vrijednosti oksidacijskog strujnog vrha s povećanjem pH vrijednosti pomiču prema negativnijim vrijednostima.



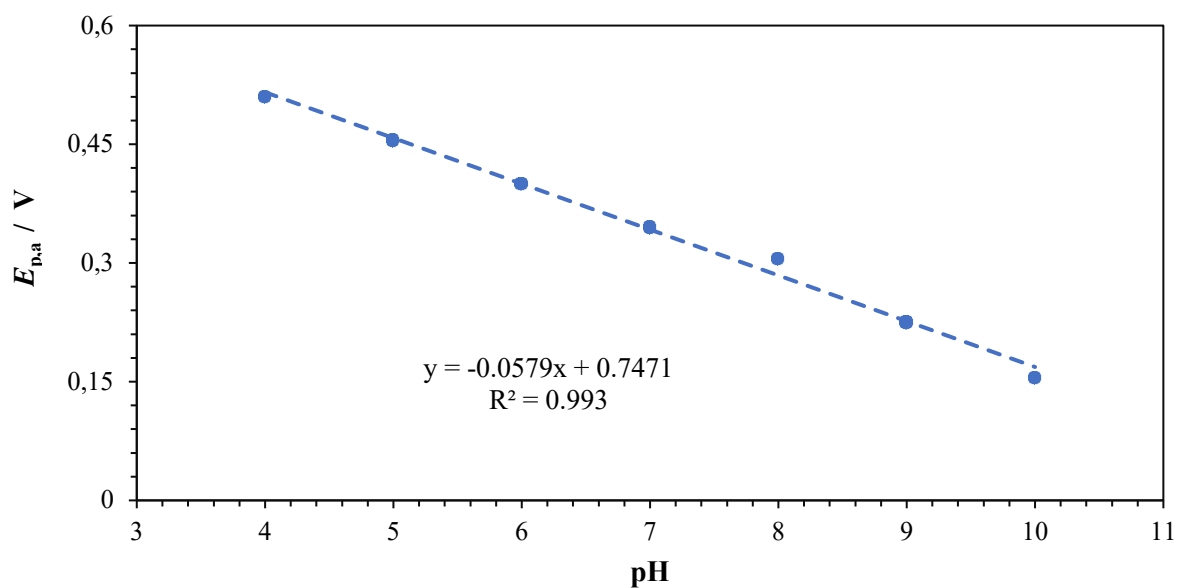
Slika 17. Ciklički pulsni voltamogrami alkoholne otopine serotonina ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika kao funkcija promjene pH vrijednosti (pH=4 (—), 5 (—), 6 (—), 7 (—), 8 (—), 9 (—) i 10 (—)).

Ovisnost struje oksidacijskog strujnog vrha o pH vrijednosti ispitivanih alkoholnih otopina serotonina prikazana je na slici 18. Najviši strujni vrh serotonina je detektiran pri pH=9 dok se visina oksidacijskog strujnog vrha smanjivala u lužnatom i kiselom mediju.



Slika 18. Grafički prikaz ovisnosti struje oksidacijskog strujnog vrha, $I_{p,a}$ o pH vrijednosti ispitivanih alkoholnih otopina serotonina ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$).

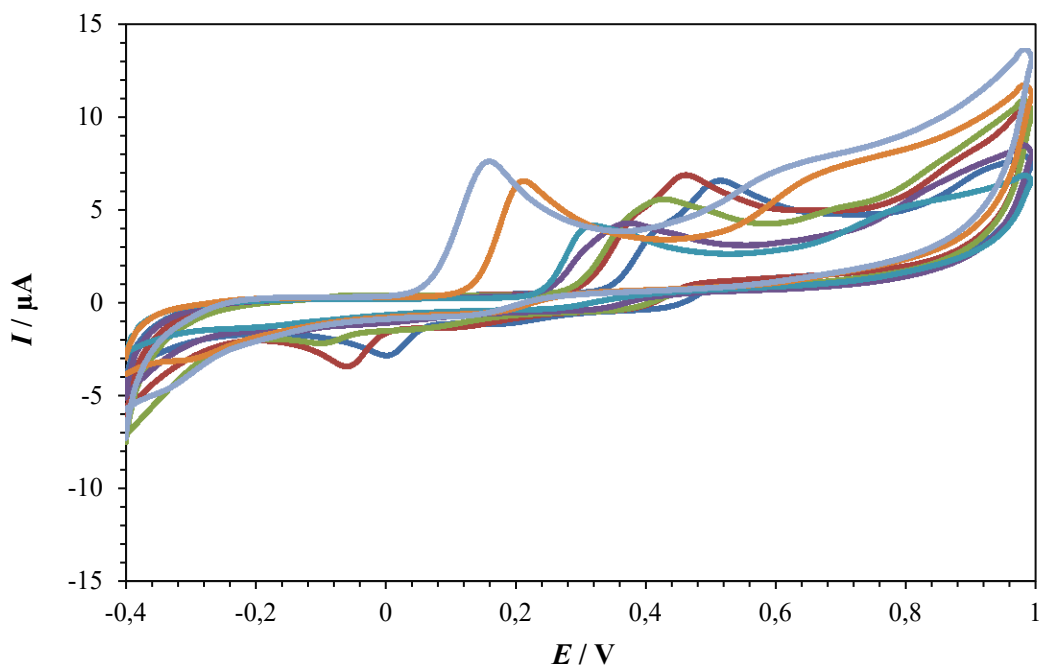
Na slici 19 je prikazana ovisnost potencijala oksidacijskog strujnog vrha o pH vrijednosti. Na navedenoj slici se može uočiti da potencijal anodnog strujnog vrha linearno opada s povećanjem pH vrijednosti u pH području od pH=4 do pH=10. Nagib pravca iznosi 57,9 mV što je blizu Nernstovskom nagibu. Navedeno ukazuje na oksidacijski mehanizam koji uključuje izmjenu istog broja elektrona i protona.



Slika 19. Grafički prikaz ovisnosti potencijala oksidacijskog strujnog vrha, $E_{p,a}$ o pH vrijednosti ispitivanih alkoholnih otopina serotonina ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$).

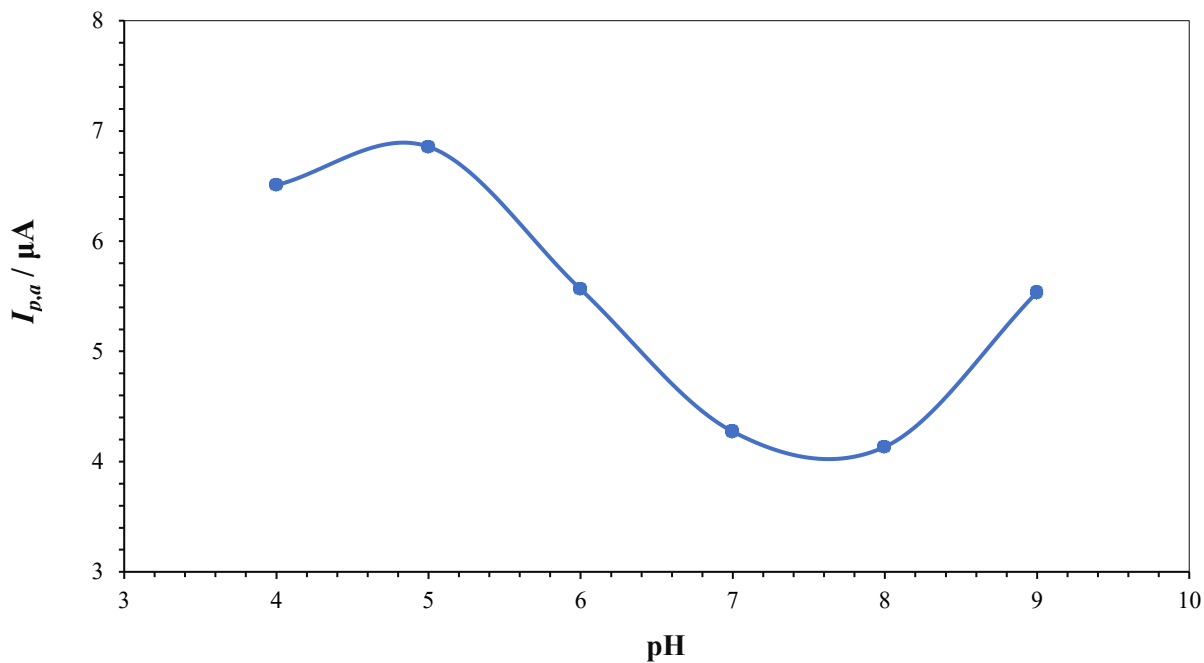
4.1.2.2. Vodena otopina serotonina

Ciklički voltamogrami vodenih otopina serotonina ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika u puferima pH=4-10 su prikazani na slici 20. Na slici se može uočiti da se vrijednosti oksidacijskog strujnog vrha s povećanjem pH vrijednosti pomiču prema negativnijim vrijednostima.



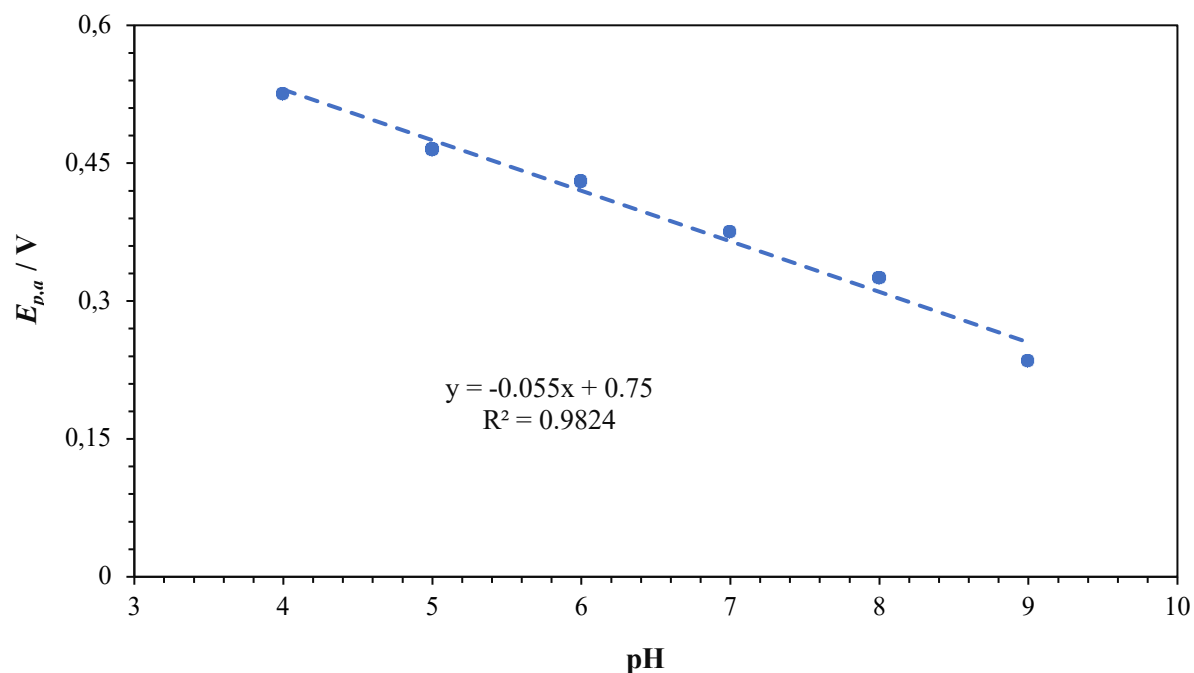
Slika 20. Ciklički pulsni voltamogrami vodene otopine serotonina ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika i kao funkcija promjene pH vrijednosti (pH=4 (—), pH=5 (—), pH=6 (—), pH=7 (—), pH=8 (—) pH=9 (—) i pH=10(—)).

Ovisnost struje oksidacijskog vrha o pH vrijednosti ispitivanih vodenih otopina serotonina prikazana je na slici 21. Najviši strujni vrh serotonina je detektiran pri pH=5 koristeći elektrodu od staklastog ugljika, dok se visina oksidacijskog strujnog vrha smanjivala u lužnatom i kiselom mediju.



Slika 21. Grafički prikaz ovisnosti struje oksidacijskog strujnog vrha, $I_{p,a}$ o pH vrijednosti ispitivanih vodenih otopina serotonina ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^3$).

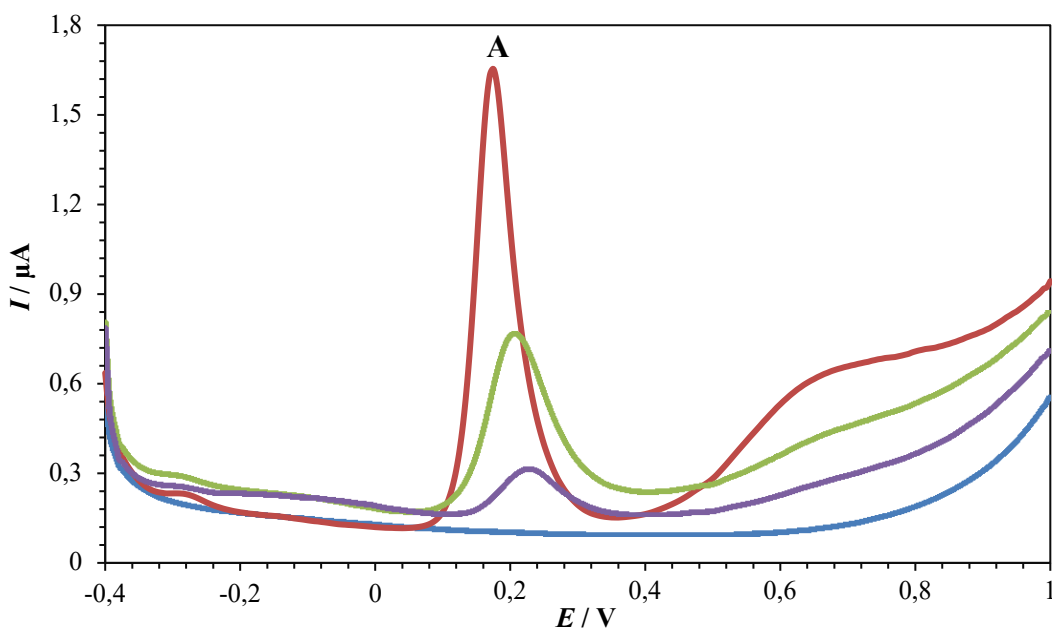
Na slici 22 je prikazana ovisnost potencijala oksidacijskog strujnog vrha o pH vrijednosti. Na navedenoj slici se može uočiti da potencijal anodnog strujnog vrha linearno opada s povećanjem pH vrijednosti. Nagib pravca iznosi 57,9 mV što je blizu Nernstovskom nagibu. Navedeno ukazuje na oksidacijski mehanizam koji uključuje izmjenu istog broja elektrona i protona.



Slika 22. Grafički prikaz ovisnosti potencijala oksidacijskog strujnog vrha, $E_{p,a}$ o pH vrijednosti ispitivanih vodenih otopina serotonina ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^3$).

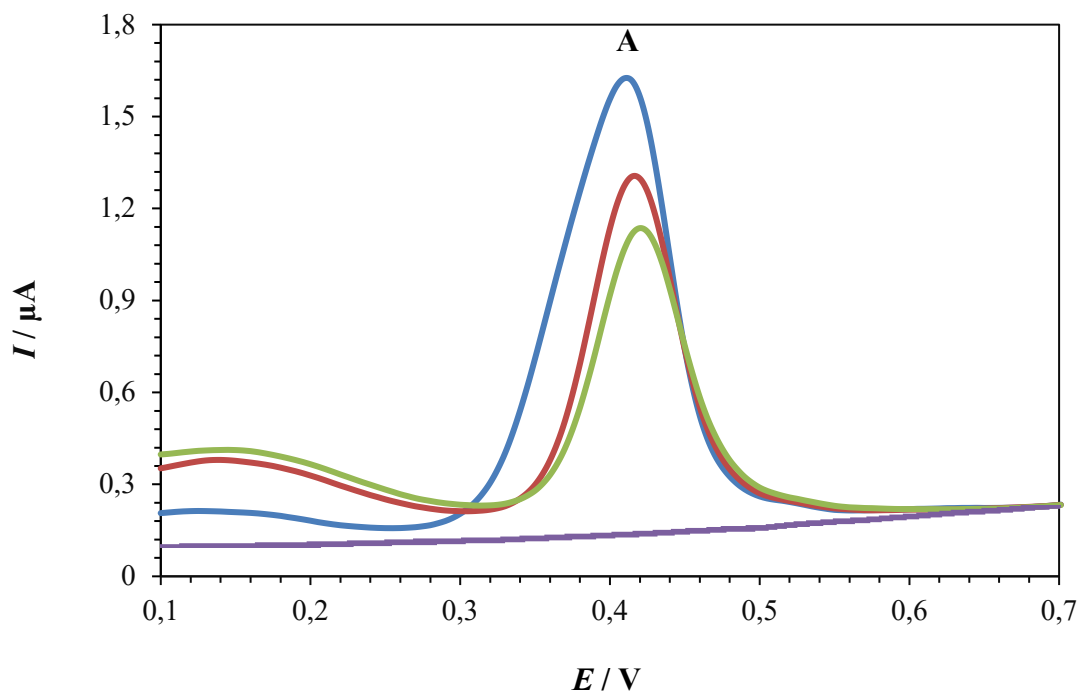
4.2. DIFERENCIJALNA PULSNA VOLTAMETRIJA

Na slici 23. prikazani su diferencijalni pulsni voltamogrami alkoholne otopine serotonina ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika u puferu pH=9. Na slici 23. je vidljiv jedan oksidacijski strujni vrh (A) pri potencijalu, $E_{p,a}=0,18 \text{ V}$, koji se odnosi na oksidaciju OH i NH skupine serotonina. Uzastopnim snimanjem voltamograma uočeno je da opada visina oksidacijskog strujnog vrha serotonina što ukazuje na adsorpciju oksidacijskog produkta serotonina na površinu elektrode od staklastog ugljika.



Slika 23. Diferencijalni pulsni voltamogrami blank otopine (pufer pH=9) (—) i uzastopno snimljeni voltamogrami alkoholne otopine serotonina ($c=1 \cdot 10^{-4}$ mol dm⁻³) na elektrodi od staklastog ugljika, $v=5$ mV/s. 1. scan (—), 2. scan (—), 3. scan (—).

Na slici 24. prikazani su diferencijalni pulsni voltamogrami vodene otopine serotonina ($c=1 \cdot 10^{-4}$ mol dm⁻³) snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika u puferu pH=5. Na slici je vidljiv jedan oksidacijski strujni vrh (A) pri potencijalu, $E_{p,a}=0,41$ V, koji se odnosi na oksidaciju OH i NH skupine serotonina. Uzastopnim snimanjem voltamograma uočeno je da opada visina oksidacijskog strujnog vrha serotonina što ukazuje na adsorpciju oksidacijskog produkta serotonina na površinu elektrode od staklastog ugljika.



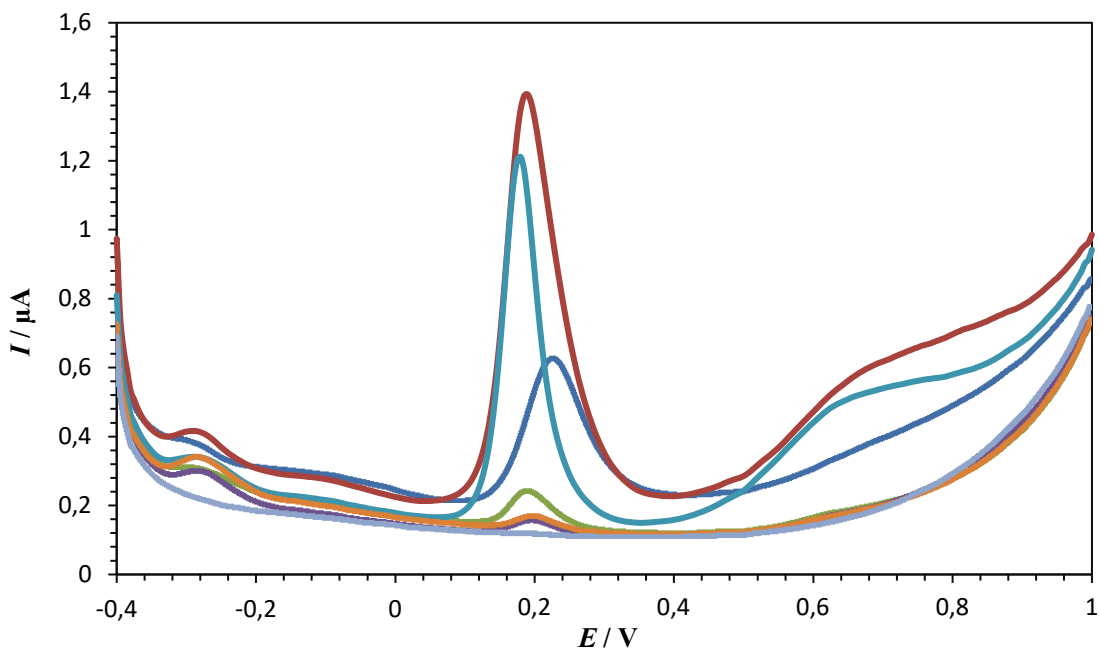
Slika 24. Diferencijalni pulsni voltamogrami blank otopine (pufer pH=5) (—) i uzastopno snimljene alkoholne otopine serotonina ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$) na elektrodi od staklastog ugljika, $v=5 \text{ mV/s}$. (1. scan (—), 2. scan (—), 3. scan (—)) na elektrodi od staklastog ugljika u puferu pH=5.

4.2.1. Utjecaj koncentracije serotonina

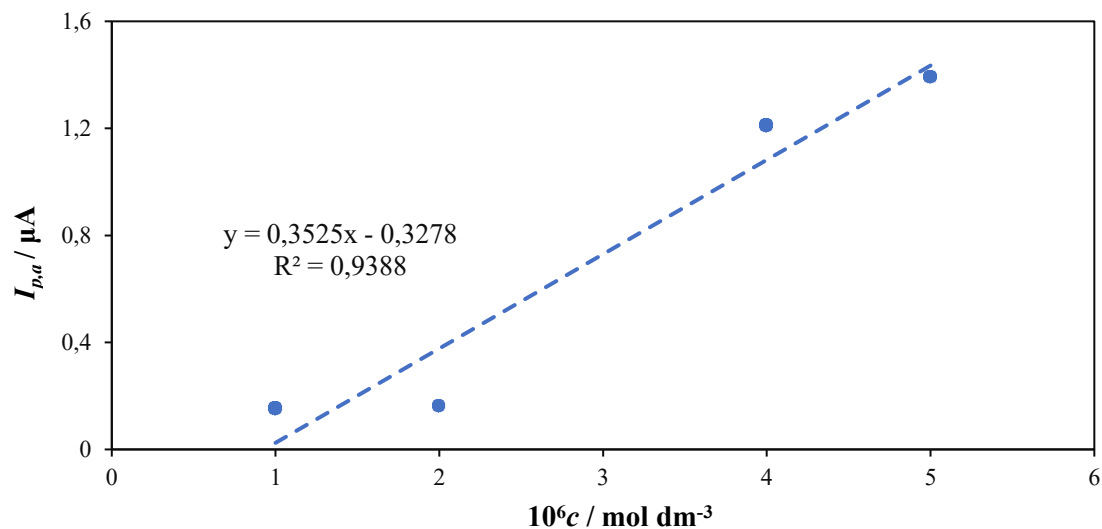
4.2.1.1. Alkoholna otopina serotonina

Diferencijalni pulsni voltamogrami snimljeni su u alkoholnim otopinama serotonina različitih koncentracija na elektrodi od staklastog ugljika u puferu pH=9 (Slika 25 a). Na slici se može uočiti da je najniža koncentracija koja se može detektirati iznosi $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$. Najniže detektirana granica koja se može detektirati naziva se granica detekcije. Utvrđeno je da struja oksidacijskog strujnog vrha raste s povećanjem koncentracije serotonina koji se ispituje. Nadalje, uočeno je da kod većih koncentracija ispitivane tvari (većih od $6,8 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) dolazi do odstupanja od linearnosti. Razlog odstupanja linearnosti su intenzivnije interakcije s molekulama koje su adsorbirane na površini radne elektrode, te difuzijska struja. Linearna ovisnost struje oksidacijskog

strujnog vrha o koncentraciji ispitivane tvari se može uočiti u rasponu koncentracija od $1 \cdot 10^{-6}$ mol dm^{-3} do $9,11 \cdot 10^{-4}$ mol dm^{-3} (Slika 25 b).



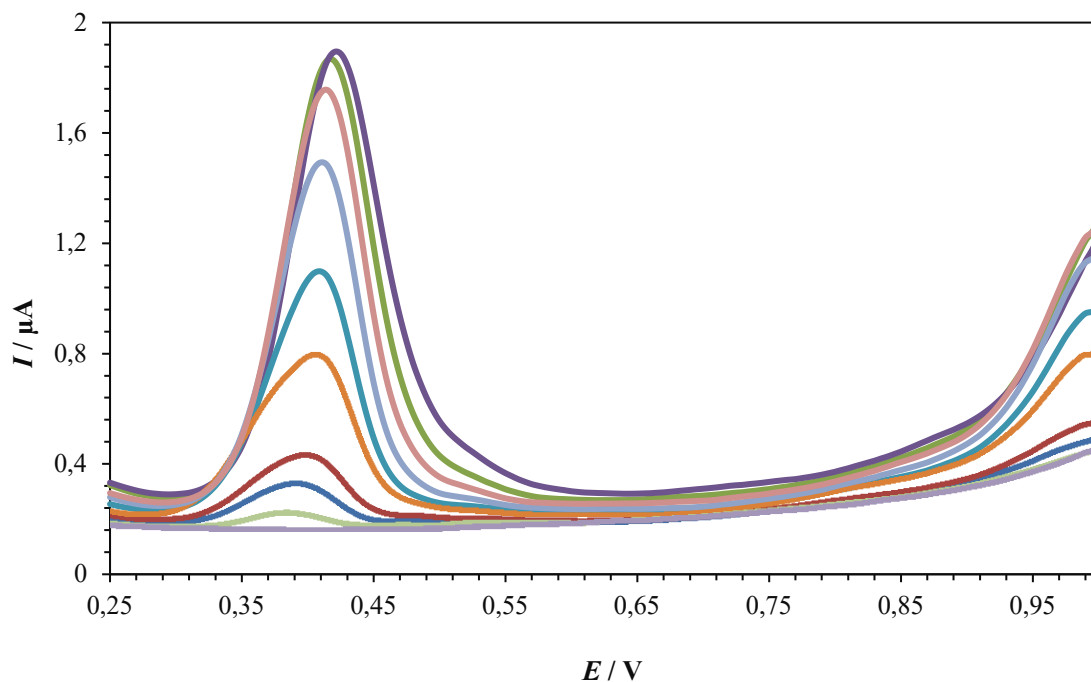
Slika 25. a) Diferencijalni pulsni voltamogrami blank otopine (pufer pH=9) (—) i alkoholnih otopina serotonina različitih koncentracija ($c=1 \cdot 10^{-6}$ (—), $5 \cdot 10^{-6}$ (—), $1 \cdot 10^{-5}$ (—), $5 \cdot 10^{-5}$ (—), $1 \cdot 10^{-4}$ (—), $1,4 \cdot 10^{-4}$ (—) mol dm^{-3}) snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika u puferu pH=9.



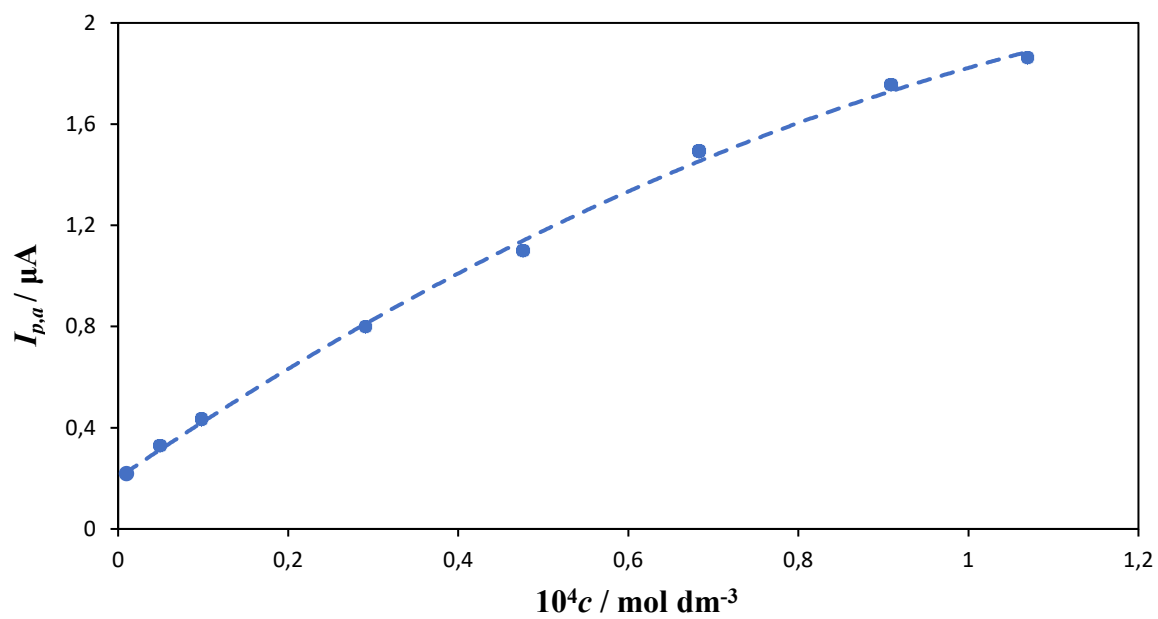
Slika 25. b) Prikaz ovisnosti struje anodnog strujnog vrha, $I_{p,a}$ serotonina kao funkcije koncentracije.

4.2.1.2. Vodena otopina serotonina

Na slici 26. prikazani su diferencijalni pulsni voltamogrami snimljeni u vodenim otopinama serotonina različitih koncentracija na elektrodi od staklastog ugljika u puferu pH=5. Na slici 26. a se može uočiti da najniža koncentracija koja se može detektirati iznosi $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$. Utvrđeno je da struja oksidacijskog strujnog vrha raste s povećanjem koncentracije serotonina (Slika 26 b) koji se ispituje. Nadalje, uočeno je da kod većih koncentracija ispitivane tvari (većih od $4,8 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) dolazi do odstupanja od linearnosti. Razlog odstupanja linearnosti su intenzivnije interakcije s molekulama koje su adsorbirane na površini radne elektrode, te difuzijska struja.



Slika 26. a) Diferencijalni pulsni voltamogrami blank otopine (pufer pH=5) (—) i različitih koncentracija vodenih otopina serotonina ($c=1 \cdot 10^{-6}$ (—), $4,98 \cdot 10^{-6}$ (—), $9,91 \cdot 10^{-6}$ (—), $2,92 \cdot 10^{-5}$ (—), $4,77 \cdot 10^{-5}$ (—), $6,84 \cdot 10^{-5}$ (—), $9,10 \cdot 10^{-5}$ (—), $1,07 \cdot 10^{-4}$ (—), $1,23 \cdot 10^{-4}$ mol dm⁻³ (—)) snimljeni na elektrodi od staklastog ugljika u puferu pH=5.



Slika 26. b). Kalibracijski dijagram serotonina; struja anodnog strujnog vrha, $I_{p,a}$ kao linearna funkcija koncentracije serotonina.

5. ZAKLJUČAK

U ovom radu su istraživana elektrokemijska svojstva serotonina u alkoholnoj i u vodenoj otopini u pH području od pH=5 do pH=10. U radu se koristila elektroda od staklastog ugljika, a metode koje su se koristile su ciklička voltometrija i diferencijalna pulsna voltometrija. Ciklička voltometrija se koristila za proučavanje oksidacijskog mehanizma serotonina i utjecaja pH na oksido-redukcijske strujne vrhove serotonina, te praćenje utjecaja pH diferencijalna pulsna voltometrija za ispitivanje adsorpcije i koncentracije serotonina na potencijal i struju oksidacijskog strujnog vrha.

Cikličkom voltametrijom ispitivala se standardna otopina serotonina (alkoholna i vodena otopina) te su uočena dva strujna vrha: jedan oksidacijski i jedan redukcijski strujni vrh. Naime, oksidacijski strujni vrh odgovara oksidaciji OH i NH skupine serotonina, a redukcijski vrh odgovara redukciji oksidacijskog produkta serotonina. Nadalje, u radu je utvrđeno da potencijal i struja oksidacijskog strujnog vrha rastu s povećanjem brzine polarizacije elektrode. Isto tako, utvrđeno je da je struja anodnog strujnog vrha linearna funkcija drugog korijena brzine polarizacije elektrode, a nagib pravca $\log I_{p,a}$ vs $\log v$ iznosi oko 0,5 te iz navedenog proizlazi da je proces oksidacije serotonina difuzijski kontroliran. Nagib pravca $\log I_{p,k}$ vs $\log v$ za redukcijski strujni vrh iznosi oko 0,8 što pokazuje da je proces redukcije serotonina pod miješanom adsorpcijskom i difuzijskom kontrolom.

Diferencijalnom pulsnom voltametrijom je utvrđeno da sukcesivnim snimanjem voltamograma opada visina oksidacijskog strujnog vrha serotonina. Navedeno ukazuje na adsorpciju oksidacijskog produkta na površinu radne elektrode. Diferencijalnom pulsnom voltametrijom proučavani su utjecaj pH, te utjecaj koncentracije na potencijal i struju oksidacijskog strujnog vrha. Utvrđeno je da oksidacija ispitivanog serotonina ovisi o pH vrijednosti, te je optimalna vrijednost za oksidaciju serotonina u alkoholnoj otopini bila pri pH=9, a u vodenoj otopini pri pH=5. Pri navedenim pH vrijednostima detektirani su najviši oksidacijski strujni vrhovi serotonina koji su se smanjivali u kiselijoj i lužnatijoj sredini. Nadalje, diferencijalnom pulsnom voltametrijom je također utvrđeno da se visina oksidacijskog strujnog vrha povećava s povećanjem koncentracije serotonina. Linearna ovisnost visine oksidacijskog strujnog vrha o koncentraciji serotonina dobivena je u koncentracijskom području od $1 \cdot 10^{-6}$ mol dm⁻³ do $1 \cdot 10^{-4}$ mol dm⁻³ za alkoholnu

otopinu serotonina te od $1 \cdot 10^{-6}$ mol dm⁻³ do $9 \cdot 10^{-5}$ mol dm⁻³ za vodenu otopinu serotonina. Mjerenja su provedena u etanolu i vodi jer se u navedenim otapalima serotonin najbolje otapa. Mjerenja su se pokazala boljima u etanolu jer je serotonin bolje topljiv u etanolu, nego u vodi.

6. LITERATURA

- [1] <https://www.medicalnewstoday.com/articles/232248> (14.8.2023.)
- [2] <https://neuromedikus.com/serotonin-hormon-srece/> (4.10.2023.)
- [3] <https://www.verywellmind.com/what-is-serotonin-425327> (14.8.2023.)
- [4] G. Tyce, *J Cardiovasc Pharmacol.* **16** (1990), 1-7.
- [5] L. F. Mohammad-Zadeh, L. Moses, S. M. Gwaltney-Brant, *J vet Pharmacol Ther.* **31** (2008), 187-199.
- [6] M. Naeem, A. R. Chadeayne, J. A. Golena, D. R. Manke, *Acta Cryst.* **78** (2022), 365- 368.
- [7] <https://caam.tech/caamtech-solves-serotonin-crystal-structure/>
- [8] <https://www.webmd.com/depression/serotonin-syndrome-causes-symptoms-treatments>
(15.8.2023.)
- [9] H. Mitwally, M. O. Saad, D. Alkhiyami, A. M. Fahmi, S Mahmoud, E. A. Hmoud, R. E. Enany, H. Younis, S. Mohammed, P. A. Rouf, B. Thomas, M. A. Hail, *IJID Reg.* **5** (2022), 137- 140.
- [10] B. A. Baldo, M. A. Rose, *Br J Anaesth.* **124** (2020), 44- 62.
- [11] <https://www.hemed.hr/Default.aspx?sid=13> (16.8.2023.)
- [12] <https://www.irb.hr/Gospodarstvo/Usluge-i-ekspertize/Vezani-sustav-tekucinska-kromatografija-visokog-ucinka-spektrometrija-mase-hplc-ms-ms> (17.8.2023.)
- [13] I. P. Kema, E. G. de Vries, F. A. Muskiet, *J Chromatogr. Sci. Appl.* **747** (2000), 33- 48.

- [14] T. Brand, G. M. Anderson, *Clin Chem.* **10** (2011), 1376- 1386.
- [15] <https://www.safetyandhealthmagazine.com/articles/the-pros-and-cons-of-electrochemical-sensors-2> (17.8.2023.)
- [16] <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=17616> (18.8.2023.)
- [17] [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/AnalyticalChemistry_2.1\(Harvey\)/11%3A_Electrochemical_Methods/11.01%3A_Overview_of_Electrochemistry](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/AnalyticalChemistry_2.1(Harvey)/11%3A_Electrochemical_Methods/11.01%3A_Overview_of_Electrochemistry) (18.8.2023.)
- [18] [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Analytical_Chemistry\)/Analytical_Sciences_Digital_Library/In_Class_Activities/.Electrochemical_Methods_of_Analysis/02_Text/7%3A_Electrochemical_Analytical_Methods](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Analytical_Sciences_Digital_Library/In_Class_Activities/.Electrochemical_Methods_of_Analysis/02_Text/7%3A_Electrochemical_Analytical_Methods) (18.8.2023.)
- [19] P. Westbroek, G. Priniotakis, P. Kiekens, *Electrochemical methods*, Woodhead, Cambridge 2005.
- [20] <https://ceias.nau.edu/capstone/projects/CENE/2014/NitrateDetectionMethods/Web%20Pages/page%208.html> (18.8.2023.)
- [21] https://www.periodni.com/enig/potenciometrijski_senzori.html (18.8.2023.)
- [22] <https://study.com/learn/lesson/nernst-equation-calculation-examples.html> (18.8.2023.)
- [23] [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Analytical_Chemistry\)/Analytical_Sciences_Digital_Library/In_Class_Activities/Electrochemical_Methods_of_Analysis/02_Text/7%3A_Electrochemical_Analytical_Methods/7.5%3A_Voltammetric_Methods](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Analytical_Sciences_Digital_Library/In_Class_Activities/Electrochemical_Methods_of_Analysis/02_Text/7%3A_Electrochemical_Analytical_Methods/7.5%3A_Voltammetric_Methods) (19.8.2023.)
- [24] D. Jagner, A. Granelli, *Anal. Chim. Acta*, **83** (1976), 19- 26.
- [25] F. Scholz, A. M. Bond, R. G. Compton, D. A. Fiedler, G. Inzelt, H. Kahlert, Š. Komorsky-Lovrić, H. Lohse, M. Lovrić, F. Marken, A. Neudeck, U. Retter, F. Scholz, Z. Stojek, *Electroanalytical methods*, Springer, Heidelberg, 2010.
- [26] <https://resources.pcb.cadence.com/blog/2021-differential-pulse-voltammetry-explained> (20.8.2023.)
- [27] F. R. Simoes, M. G. Xavier, *Electrochemical sensors*, Elsevier, 2017.

- [28] Z. Galus, Fundamentals of electrochemical analysis, Polish scientific publishers, Varšava, 1994.
- [29] M. Metikoš- Huković, Elektrokemija, Zagreb, 2000.
- [30] V. Mirceski, S. Skrzypek, L. Stojanov, ChemTexts, 4(2018), 17–31.
- [31] <https://www.slideshare.net/ISFCPISFCollegeofPha/conductometry-102584868> (21.8.2023.)
- [32] <https://www.wikilectures.eu/w/Conductometry> (21.8.2023.)
- [33] P. C. Hauser, Coulometry, Springer, Basel, 2005.
- [34] https://chem.libretexts.org/Courses/Northeastern_University/11%3A_Electrochemical_Methods/11.3%3A_Coulometric_Methods (21.8.2023.)
- [35] <https://www.rsc.org/publishing/journals/prospect/ontology.asp?id=CMO:0002386&MSID=b708236c> (22.8.2023.)
- [36] D.R. Lide, CRC Handbook of chemistry and physics, CRC Press, Boca Raton, 1998.

7. ŽIVOTOPIS

Ivana Jelavić

Datum rođenja: 25. lipnja 1999.

Državljanstvo: hrvatsko

Spol: Žensko

KONTAKT

✉ ivana256.jelavic@gmail.com

☎ (+385) 955859622

OBRAZOVANJE I OSPOSOBLJAVANJE

01. LISTOPADA 2018. – 22. RUJNA 2021. Osijek, Hrvatska

● Sveučilišna prvostupnica kemije Odjel za kemiju

31. SIJEČNJA 2023. – 24. LIPNJA 2023. Osijek, Hrvatska

● položen program Pedagoško-psihološko-didaktičko-metodičke izobrazbe Filozofski fakultet Osijek

DODATNE INFORMACIJE

Konferencije i seminari

Osijek

● 14. kongres Hranom do zdravlja