

# Potenciometrijsko određivanje tiabendazola

---

**Bubnjar, Karlo**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2021**

*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:182:185282>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-28**

*Repository / Repozitorij:*

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



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Diplomski sveučilišni studij Kemija; istraživački smjer

Karlo Bubnjar

**Potenciometrijsko određivanje tiabendazola**

Diplomski rad

Osijek, 2021.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Diplomski sveučilišni studij Kemija; istraživački smjer

Karlo Bubnjar

**Potenciometrijsko određivanje tiabendazola**

Diplomski rad

Mentorica: izv. prof. dr. sc. Mirela Samardžić

Komentor: doc. dr. sc. Aleksandar Sečenji

Osijek, 2021.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Diplomski sveučilišni studij Kemija; istraživački smjer

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Kemija

## POTENCIOMETRIJSKO ODREĐIVANJE TIABENDAZOLA

Karlo Bubnjar

**Rad je izrađen na:** Odjelu za kemiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

**Mentor:** Izv. dr. sc. Mirela Samardžić

**Komentor:** Doc. dr. sc. Aleksandar Sečenji

### Sažetak

Tiabendazol (TBZ) je antifungalno sredstvo koje se najčešće koristi kao fungicid u voću i povrću. Budući da je potencijalno toksičan kada se unosi putem hrane, vrlo je bitno razviti nove metode za njegovo određivanje. Cilj ovog rada je bio razviti potenciometrijski senzor za određivanje TBZ-a koristeći ionski par TBZ-a i 5-sulfosalicilatnog aniona kao senzorski materijal. Metode koje su korištene za njegovo određivanje su bile direktna potenciometrija i Granova metoda. Senzorski materijal je inkorporiran u tekuću membranu ionsko selektivne elektrode (ISE). Prilikom optimizacije membrane, variran je postotak senzorskog materijala i vrsta plastifikatora. Najboljom se pokazala kombinacija 1 % senzorskog materijala i dibutil sebakata (DS-a) kao plastifikatora. Senzor je pokazao super Nernstovski nagib, široko mjerno područje i nisku granicu detekcije. Vrijeme odziva je bilo nekoliko sekundi, a mjerno pH područje od 2 do 4. Pokazao je dobru selektivnost prema TBZ-u. Svi parametri su doveli do brzog i točnog određivanja TBZ-a u realnim uzorcima.

**Diplomski rad obuhvaća:** 45 stranica, 20 slika, 7 tablica, 26 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** tiabendazol / potenciometrijski senzor / ionsko selektivna elektroda / direktna potenciometrija / Granova metoda

**Rad prihvaćen:**

### Stručno povjerenstvo za ocjenu:

1. doc. dr. sc. Marija Jozanović, predsjednica povjerenstva
2. izv. prof. dr. sc. Mirela Samardžić, mentorica i članica
3. doc. dr. sc. Aleksandar Sečenji, komentor i član
4. doc. dr. sc. Brunislav Matasović, zamjena člana

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

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek**

**Department of Chemistry**

**Graduate University Study of Chemistry; Research study**

**Scientific Area: Natural Sciences**

**Field: Chemistry**

## **POTENTIOMETRIC DETECTION OF THIABENDAZOLE**

**Karlo Bubnjar**

**Thesis completed at:** Department of Chemistry, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

**Supervisor:** Mirela Samardžić, PhD, associate prof.

**Cosupervisor:** Aleksandar Sečenji, PhD, assistant prof.

### **Abstract**

Thiabendazole (TBZ) is an antifungal agent that is mostly used as a fungicide in fruits and vegetables. Since it is potentially toxic and harmful when obtained through food, it is important to develop new methods for TBZ determination. The aim of this study was to develop potentiometric sensor for determination of TBZ using an ionic pair of TBZ and 5-sulfosalicylate anion as a sensor material. The methods that were used for sensor characterization and TBZ determination were direct potentiometry and the Gran method. The sensor material was incorporated in a liquid membrane of an ion-selective electrode. During the optimization of the membrane, the percentage of the sensor material and different plasticizers were varied. The chosen sensor with dibutyl sebacate as plasticizer and 1% of sensor material in the membrane showed the best results. The sensor showed a super-Nernstian slope, a wide measuring range, and a low limit of detection. The response time of the sensor was only a few seconds, and pH working range was between 2 and 4. It had a good selectivity towards TBZ. All these parameters led to fast and accurate determination of TBZ in real samples.

**Thesis includes:** 45 pages, 20 figures, 7 tables, 26 references

**Original in:** Croatian language

**Keywords:** thiabendazole / potentiometric sensor / ion-selective electrode / direct potentiometry / Gran method

**Thesis accepted:**

**Reviewers:**

1. Marija Jozanović, PhD, assist. prof., chair
2. Mirela Samardžić, PhD, assoc. prof., supervisor and member
3. Aleksandar Sečenji, PhD, assist. prof., cosupervisor and member
4. Brunislav Matasović, PhD, assist. prof., alternate member

**Thesis deposited:** at the Library of Department of Chemistry, Franje Kuhača 20, 31 000 Osijek

# Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. Tiabendazol .....	2
2.1.1. Kemijska struktura tiabendazola .....	2
2.1.2. Sinteza tiabendazola .....	3
2.1.3. Antihelmintička i antifungicidna svojstva tiabendazola.....	5
2.1.4. Toksičnost tiabendazola .....	6
2.2. Potencimetrija.....	8
2.2.1. Direktna potencimetrija .....	9
2.2.2. Granova metoda.....	10
2.2.3. Referentne elektrode.....	11
2.2.4. Indikatorske elektrode .....	15
2.2.5. Osobine potencimetrijskih senzora.....	19
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	23
3.1. Reagensi i materijali.....	23
3.2. Priprema otopine tiabendazola .....	24
3.3. Priprema ionskog para TBZ-SAL .....	24
3.4. Priprema i kondicioniranje senzora .....	25
3.5. Aparatura.....	25
3.6. Postupak mjerenja .....	26
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	28
4.1. Optimizacija membrane .....	28
4.1.1. Odabir plastifikatora .....	28
4.1.2. Optimizacija senzorskog materijala.....	30
4.2. Dinamički odziv .....	32
4.3. Tijek signala i vijek trajanja senzora.....	34
4.4. Utjecaj pH .....	34
4.5. Selektivnost .....	35

4.6. Određivanje tiabendazola u čistim i realnim sustavima.....	36
5. ZAKLJUČAK.....	41
6. LITERATURA.....	42
7. ŽIVOTOPIS.....	44

## 1. UVOD

Tiabendazol (TBZ) je derivat benzimidazola koji se najčešće koristi kao antihelminetik i antifungicid. TBZ se također koristi kao aditiv u hrani (E-233) u SAD-u za sprječavanje razvoja plijesni, protiv truljenja i za poboljšanje vizualnog izgleda hrane, dok je u Europskoj uniji (EU) zabranjen. Zbog njegove široke upotrebe, može se pronaći u voću i povrću kao i u njihovim proizvodima. Iako točan mehanizam njegovog djelovanja kao antifungicida nije otkriven, smatra se da inhibira sustav prijenosa elektrona u gljivicama čime dolazi do inhibicije i ostalih metaboličkih funkcija kao što su stanično disanje i Krebsov ciklus. TBZ je hidrofobna molekula koja sadrži dušik sa slobodnim elektronskim parom tako da je topljiv u kiselim medijima. Zbog ovih činjenica, praćenje TBZ-a je bitno kako bi se osigurala sigurnost i kvaliteta hrane. U većim koncentracijama je toksičan za ljude i životinje pa ga je potrebno pratiti u okolišu.

Za određivanje TBZ-a najviše se koriste kromatografske, spektroskopske i elektroanalitičke metode. Iako su kromatografske metode najčešće korištene, pokušavaju se naći druge metode koje ne zahtijevaju tako dugu pripremu uzoraka, vrijeme analize i toksična organska otapala. Zbog toga se TBZ sve češće određuje elektroanalitičkim metodama među kojima je i potenciometrija. Ona predstavlja dobru alternativu ostalim metodama zbog kraćeg vremena analize, jednostavnosti i jeftinije instrumentacije.

Cilj ovog diplomskog rada je bio razviti potenciometrijski senzor za određivanje TBZ-a. Prvo se vršila optimizacija membrane kako bi se razvio senzor sa što boljim svojstvima. Zatim je provedena karakterizacija novog senzora. Na kraju, TBZ se određivao u realnim uzorcima direktnom potenciometrijom i Granovom metodom.



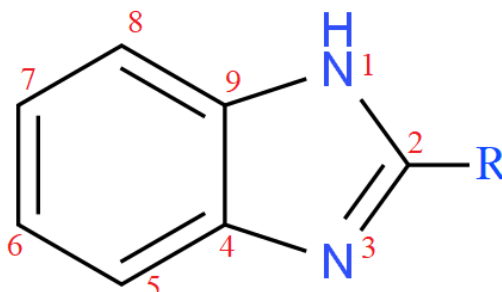
## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Tiabendazol

TBZ je bijela kristalna tvar bez mirisa i okusa, molekulske mase 201,25 g/mol. Slabo je topljiv u vodi (50 mg/L), no topljivost mu se povećava snižavanjem pH pa je tako najbolje topljiv pri pH 2,2. Gustoća mu je 1,103 g/mL, temperatura tališta 300 °C, dok sublimira pri temperaturi od 310 °C. Neki od sinonima kojima se naziva su arbotekt, trezaderm, mertekt, teko, mintezol i tetusim. U prošlosti je najčešće korišten kao antihelmintik, no zamijenjen je drugim lijekovima te se danas češće koristi kao antifungicid i konzervans [1].

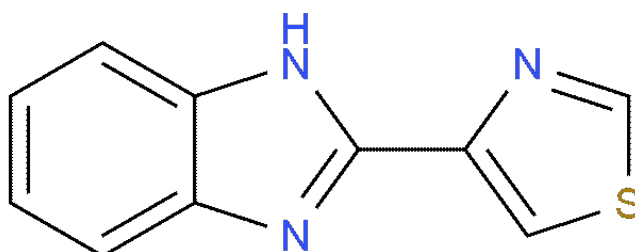
#### 2.1.1. Kemijska struktura tiabendazola

TBZ je heterociklički aromatski organski spoj koji se ubraja u skupinu benzimidazola. Kao što je vidljivo na slici 1, benzimidazol u svojoj strukturi sadrži benzenski i imidazolni prsten. Benzimidazol se najčešće sintetizira kondenzacijom *o*-fenilenediamina s mravljom kiselinom kao katalizatorom. Benzenski i imidazolni prsten se skupno nazivaju benzimidazolnim prstenom koji je zajednički svim derivatima benzimidazola. Najčešće mjesto na koje se veže substituent je C-2 atom što je slučaj i kod TBZ-a [2].



Slika 1. Strukturna formula benzimidazola [2].

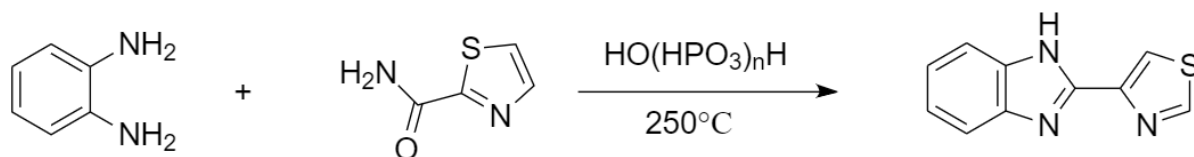
TBZ uz benzimidazolni prsten u svojoj strukturi sadrži i tiazolni prsten. To je naziv za peteročlani prsten koji umjesto dva ugljikova atoma sadrži jedan atom dušika i jedan atom sumpora. IUPAC naziv tiabendazola je 4-(1*H*-benzimidazol-2-il)-1,3-tiazol, a molekulska formula mu je C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>S. Strukturna formula TBZ-a je prikazana na slici 2.



Slika 2. Strukturna formula TBZ-a [3].

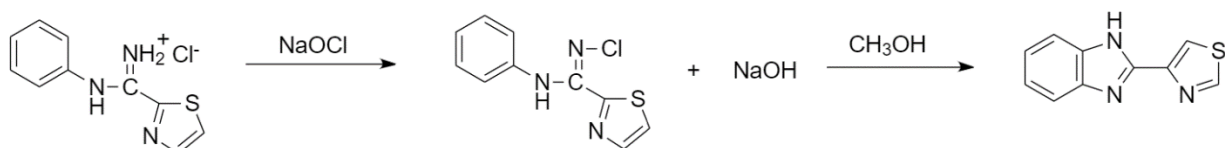
### 2.1.2. Sinteza tiabendazola

Prvu sintezu TBZ-a u laboratoriju su izveli Brown i sur. 1961. godine. Otkrili su da sintetizirani spoj djeluje protiv gastrointestinalnih parazita u domaćim životinjama na način da interferira metabolizam tih parazita te se njegovom primjenom ti paraziti mogu ukloniti iz životinja. Proučavanjem njegove strukture imenovan je TBZ-om. Sintetiziran je pomoću 4-tiazol-karboksiamida i *o*-fenilenediamina uz polifosforu kiselinu kao katalizator (slika 3). Reakcija se naziva heterociklizacija jer u njoj dvije amino skupine iz *o*-fenilenediamina cikliziraju. Reakcija se provodila na 250 °C tri sata. Dobiveno je iskorištenje od 64 %, a TBZ je imao temperaturu tališta 304-305 °C [4].



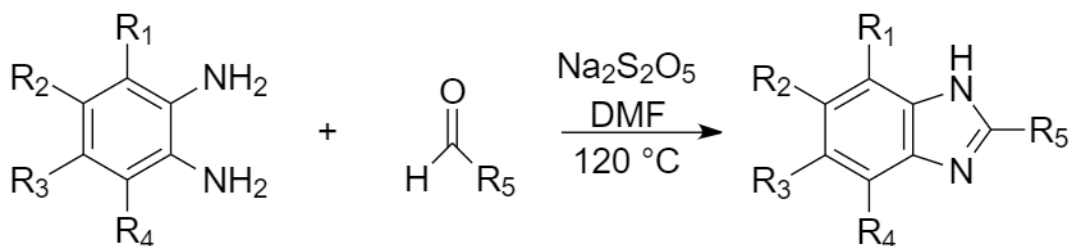
Slika 3. Sinteza TBZ-a iz *o*-fenilendiamina i 4-tiazolkarboksamida [4].

Nakon što je TBZ sintetiziran po prvi puta, Američka agencija za hranu i lijekove (engl. *Food and drug administration*, FDA) ga je vrlo brzo stavila na listu dozvoljenih lijekova. To je potaknulo mnoge farmaceutske tvrtke da razviju sintezu koja će imati veće iskorištenje i bolje reakcijske uvjete. Tako su Grenda i sur. [5] proveli drugi način sinteze. Zato što su *N*-arilamidini bili dostupni reakcijom aromatskih amina s nitrilima, došlo se do zaključka kako bi oni mogli biti odlični prekursori u sintezi benzimidazola pa tako i TBZ-a. *N*-arilamidini su spojevi koji u svojoj strukturi sadrže imino i amino skupinu u alkilnom lancu vezanom na benzenski prsten. TBZ je iz *N*-arilamidin hidroklorida sintetiziran u dva reakcijska koraka (slika 4). U prvom koraku, *N*-fenil-4-tiazol-karboksiamidin je tretiran s natrijevim hipokloritom pri čemu je nastao kristalni produkt *N*-kloroamidin. Zatim su kristali *N*-kloroamidina refluksirani zajedno s otopinom natrijevog hidroksida i metanola pri čemu je TBZ sintetiziran s 98 % iskorištenjem.



Slika 4. Sinteza TBZ-a iz *N*-arilamidinhidroklorida [5].

Zhang i sur. [6] su razvili sintezu mnogobrojnih derivata TBZ-a kako bi proučavali njihovo djelovanje kao antiangiogenetika u liječenju raka. Sintetizirana su 24 derivata TBZ-a kondenzacijom *o*-fenilendiamina s tiazol-4-aldehidom, uz natrijev piro-sulfat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) kao katalizator i pri temperaturi od 120 °C. Kao otapalo je korišten dimetilformamid (DMF). Kako bi se sintetizirao velik broj derivata, korištene su iste polazne sirovine s različitim supstituentima koji su na općenitoj reakciji sinteze prikazani slovom R (slika 5).



Slika 5. Sinteza supstituiranih derivata TBZ-a iz *o*-fenilendiamina i tiazol-4-aldehida [6].

### 2.1.3. Antihelmintička i antifungicidna svojstva tiabendazola

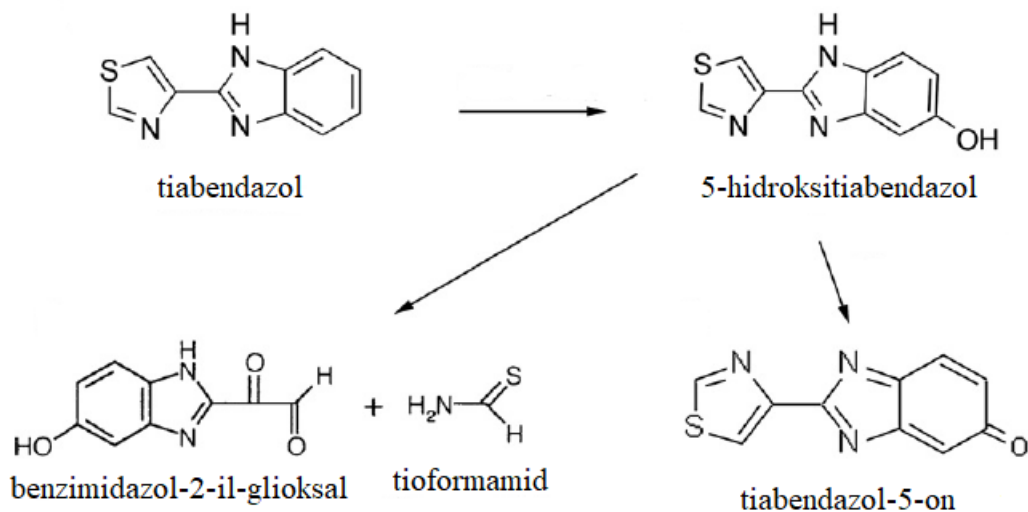
Kao što je ranije spomenuto, prvu sintezu TBZ-a su proveli Brown i sur. [4] otkrivši da djeluje kao antihelmintik. Antihelmintik je sredstvo koje se koristi protiv glista i trakavica, odnosno svih crijevnih nametnika kod ljudi i životinja. Prema vrsti parazita na koju djeluju dijele se na tri skupine, pa se tako razlikuju antihelmintici koji djeluju na trematode (trematoitici), antihelmintici koji djeluju na cestode (cestoitici) i antihelmintici koji djeluju na nematode (nematoitici). Svjetska zdravstvena organizacija procjenjuje da oko 2 milijarde ljudi boluje od parazitskih infekcija, a zaražene su i brojne životinje. To značajno utječe na zdravlje ljudi i kvalitetu mesa čime su naročito pogođene zemlje u razvoju [7]. Sintezom TBZ-a 1961. godine, velik broj derivata benzimidazola se počeo koristiti kao antihelmintik. Antihelmintička učinkovitost TBZ-a je posljedica njegove sposobnosti da kompromitira citoskelet helminta interakcijom s  $\beta$ -tubulinom. Štetno djeluje na jajne stanice parazita i uzrokuje poremećaje u procesima koji zahtijevaju integrirane mikrotubule. Na taj način se sprječava reprodukcija helminta i ograničava njihovo kretanje živim organizmom [8]. TBZ također inhibira mitohondrijski enzim fumarat reduktazu specifičan za helminte. Time inhibira ciklus limunske kiseline, stanično disanje i proizvodnju adenozin trifosfata (ATP-a), što u konačnici dovodi do smrti helminta. Helminti protiv kojih se koristi su *Giardia lamblia*, *Strongyloides stercoralis*, *Trichuris trichiura*, *Trichinella spiralis*, *Toxocara canis*, *Ancylostoma duodenale*, *Dracunculus medinensis*, *Capillaria philippinensis* i *Caenorhabditis elegans* [9].

TBZ se također koristi kao fungicid. Fungicidi su biocidni kemijski spojevi koji se koriste za ubijanje parazitskih gljiva ili njihovih spora. Koristi se kao konzervans u voću i povrću za sprječavanje truljenja na način da uklanja gljivice i plijesni. Nanosi se u tankom sloju na površinu voća i povrća špricanjem ili direktnim uranjanjem u otopinu TBZ-a. Pokazao se učinkovitim u suzbijanju velikog broja bolesti koje pogađaju voće, povrće, orašaste plodove i žitarice. Također se može koristiti za tretiranje sjemena kako bi se otpočetak kontrolirao rast i razvoj ranije navedenih gljivica. Nedjelotvoran je protiv bakterija, kvasaca i aktinomikoza [10]. Allen i Gottlieb [11] su dokazali da su rodovi gljivica *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium* izrazito osjetljivi na TBZ. Ispitali su utjecaj TBZ-a na gljivicu *Penicillium atrovenetum* i pokazali da TBZ inhibira prijenos elektrona što ima posljedice na stanično disanje i Krebsov ciklus. TBZ reducira djelovanje enzima nikotinamid adenin dinukleotid

fosfat (NADP<sup>+</sup>) oksidaze, sukcinil oksidaze, NAD-citokrom c reduktaze i sukcinil-citokrom c reduktaze (SCR). Koncentracija TBZ-a koja u potpunosti inhibira rast gljivice je 10 µg/mL. Smanjena aktivnost enzima gljivice dovodi do inhibicije sinteze lipida, proteina, nukleinskih kiselina i ugljikohidrata.

#### **2.1.4. Toksičnost tiabendazola**

TBZ ne hidrolizira i ne metabolizira se u tlu. Slabo je topljiv u vodi tako da se rijetko može detektirati u podzemnim vodama. Isparavanjem u atmosferu se brzo fotokemijski razgrađuje uz pomoć hidroksilnih radikala. No, unošenje TBZ-a u većim koncentracijama putem hrane može dovesti do ozbiljnih posljedica zbog njegovih toksičnih metabolita. TBZ se brzo metabolizira i postiže maksimalnu koncentraciju u serumu 1-2 sata nakon unošenja. 40 % metabolita se izlučuje nakon prva četiri sata, a 80 % nakon 24 sata. Djelovanjem citokroma P-450, TBZ se razgrađuje na njegov glavni metabolit 5-hidroksitiabendazol. Dokazano je da on nije toksičan, no njegovom razgradnjom uz benzimidazol-2-il-glioksal i tiabendazol-5-on, nastaje nefrotoksični produkt tioformamid (slika 6) [12]. Mizutani i sur. [13] su otkrili da je tioformamid nefrotoksičan (oštećuje bubrege) kod mužjaka miševa. Bolest je uzrokovala tubularnu nekrozu, povećanje relativne težine bubrega i koncentracije dušika u serumu te smanjenje koncentracije glutaciona u bubrezima. Ove značajke nefrotoksičnosti bile su vrlo slične onima prijavljenima za TBZ i druge nefrotoksične tiazole. Njihovo istraživanje je pokazalo da je tioformamid, kao metabolit cijepanja prstena TBZ-a, odgovoran za njegovu toksičnost.



Slika 6. Metabolizam TBZ-a [12].

TBZ ima nisku akutnu toksičnost oralno i dermalno te ne nadražuje oči. Postoji zanemariv rizik od izlaganja udisanjem para ili aerosola tijekom upotrebe TBZ-a budući da ima nizak potencijal za isparavanje ili raspršivanje. Jedini organi na kojima su zapaženi akutni i kronični učinci TBZ-a na životinje i ljude su jetra i štitnjača. TBZ može djelovati akutno ako se apsorbira u većim koncentracijama u kratkom vremenskom periodu. Uzrokuje mučninu, povraćanje, slabost i pospanost. Apsorpcijom u manjim koncentracijama tijekom dužeg vremenskog perioda djeluje toksično na jetru i štitnjaču. Minimalna dnevna doza toksična za jetru životinja je bila 10 mg po kilogramu životinje, a minimalna dnevna doza koja je izazvala blagu anemiju i bila toksična za štitnjaču životinja je bila 100 mg po kilogramu životinje. Minimalna dnevna doza koja je bila toksična za ljude je iznosila 25 mg po kilogramu čovjeka, a izazvala je bolest jetre sa simptomima kao što su mučnina i osip [14]. Također je ispitan utjecaj TBZ-a na skotnim miševima, zečevima i štakorima te je otkriveno da je teratogen. TBZ je uzrokovao teške malformacije koštanog sustava fetusa, smanjenje tjelesne težine majke i fetusa te nerazvijenu podjezičnu kost. Minimalna dnevna doza koja je izazvala teratogenost je iznosila 24 mg po kilogramu životinje. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji, dozvoljena dnevna doza TBZ-a je 0,3 mg po kilogramu mase čovjeka [15].

EU je 30. siječnja 2017. godine donijela uredbu o produljenju odobrenja TBZ-a kao pesticida do 31. ožujka 2032. godine. U uredbi je napomenuto kako sve države članice EU

trebaju obratiti pozornost na zaštitu korisnika sredstava i potrošača, zaštitu podzemnih voda i kontrolu otpadnih voda iz posliježetvene uporabe [16]. Iako je u Australiji i EU zabranjeno korištenje TBZ-a kao aditiva u hrani, on se još uvijek koristi kao konzervans (E-233) u SAD-u i drugim državama. Njime se špricaju gljive, banane, kruške, naranče, limuni i krumpiri te se u nekim slučajevima dodaje u meso i mlijeko. Ove namirnice se uvoze u EU i nalaze na hrvatskom tržištu. Zbog toga je potrebno pratiti i određivati TBZ u tim namirnicama jer može biti toksičan za jetru i štitnjaču te je potencijalno kancerogen [17]. Dozvoljeni sadržaj TBZ-a u voću je 3-6 miligrama po kilogramu voća [18].

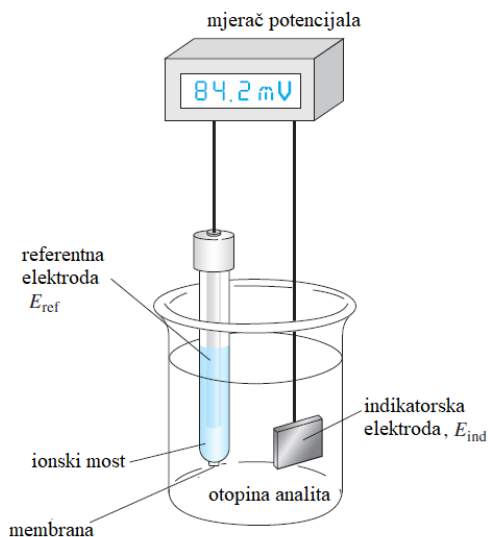
## 2.2. Potencimetrija

Potencimetrija je elektroanalitička metoda koja mjeri razliku potencijala u elektrokemijskoj ćeliji bez izvora električne struje. Kroz ćeliju može teći određena količina struje, ali je ona zanemariva i ne utječe na ravnotežu kemijske reakcije. U prošlosti, potencimetrija se najčešće koristila za određivanje završne točke titracije. U novijoj povijesti se koncentracije iona direktno mjere preko potencijala ion-selektivnih elektroda. Ove elektrode nisu toliko osjetljive na interferente te pružaju brzu i pogodnu detekciju kationa i aniona. Danas je potencimetrija jedna od najkorištenijih elektroanalitičkih metoda. Koristi se gotovo u svim sferama kemije, medicine i zaštite okoliša. Neke od njezinih primjena su određivanje pH u prehrambenim proizvodima, određivanje koncentracije plinova u krvi i detekcija zagađivača u okolišu [19].

Razlika potencijala se određuje uz pomoć voltmetra s velikom ulaznom impedancijom (pH-metra) ili potencimetra. Bez njih ne bi bilo moguće mjeriti potencijal s minimalnom količinom električne struje. Ako se radi o reverzibilnim kemijskim reakcijama u potencimetrijskoj ćeliji, može se odrediti promjena slobodne entalpije reakcije ili njena konstanta ravnoteže. No, kao što je ranije navedeno, najčešće se određuje aktivitet ili koncentracija ispitivanih kemijskih tvari [19].

Sustav za potencimetriju se sastoji od referente i indikatorske elektrode (slika 7). Potencijal referentne elektrode ( $E_{\text{ref}}$ ) je neovisan o aktivitetu ili koncentraciji iona u otopini, tj.

potenciometrijskoj ćeliji. Referentne elektrode koje se najčešće koriste su standardna vodikova elektroda, kalomelova elektroda i srebro/srebrov klorid elektroda. Potencijal indikatorske elektrode ovisi o aktivitetu analita. Postoje dva tipa indikatorskih elektroda, kovinske i selektivne. Kod kovinskih elektroda se razlika potencijala javlja zbog redoks reakcije na elektrodi, a kod selektivnih zbog prijelaza iona kroz međusloj membrane i ispitivane otopine [20].



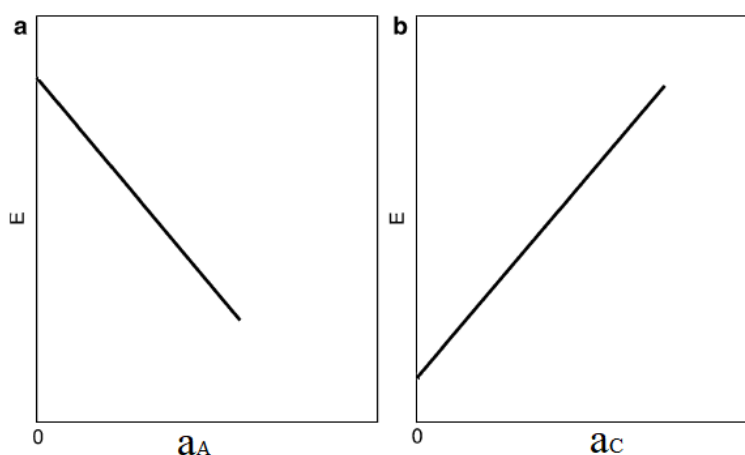
Slika 7. Sustav za potenciometriju [19].

### 2.2.1. Direktna potenciometrija

Direktna potenciometrija je jedna od dvije metode koje se koriste za potenciometrijska mjerenja. To je brza i pogodna metoda za određivanje aktiviteta ili koncentracije mnogobrojnih kationa i aniona. Temelji se na mjerenju razlike potencijala između indikatorske i referentne elektrode kada su obje uronjene u otopinu analita. Indikatorska elektroda mora biti osjetljiva na ispitivani analit kako bi se javila razlika potencijala. Velika prednost ove metode je nedestruktivnost što znači da je analit očuvan i može se dalje koristiti u analizi. Time je osigurana i ponovljivost mjerenja [19, 20]. Direktna potenciometrija se izvodi na način da se pripreme otopine različitih, ali poznatih koncentracija. Zatim se mjeri njihov potencijal i



konstruira kalibracijski pravac kojim se prikaže ovisnost potencijala o koncentraciji ili aktivitetu analita. Nakon toga se izmjeri potencijal u uzorku nepoznate koncentracije analita. Iz jednadžbe kalibracijskog pravca se može odrediti aktivitet ili koncentracija analita u uzorku nepoznate koncentracije. Kalibracijski pravac kationa i aniona je lako razlikovati. Ukoliko je nagib pravca negativan, radi se o anionu. To znači da s povećanjem koncentracije aniona vrijednost potencijala pada (slika 8.a). S druge strane, ako je nagib pravca pozitivan, radi se o kationu što znači da s povećanjem koncentracije kationa vrijednost potencijala raste (slika 8.b) [21].



Slika 8. Kalibracijski pravac u direktnoj potenciometriji: a. za anion, b. za kation [21].

### 2.2.2. Granova metoda

Metoda je razvijena od strane G. Grana, a temelji se na proširenju metode standardnih dodataka. U toj metodi se radi nekoliko dodataka (pet ili više). Izračunava se kemijska veličina koja je linearna funkcija aktiviteta iona koji se određuje. Granova metoda je izrazito pogodna za određivanje nepoznatih koncentracija analita jer skraćuje vrijeme analize. Sadrži neke aproksimacije kao što je velika vrijednost konstante ravnoteže. Time se pretpostavlja da se dodatkom određenog volumena titranta uklanja ista količina aktivne vrste. Također, Granova metoda zanemaruje utjecaj interferenata na potencijal sustava. Ukoliko se ne bi koristile

aproksimacije, krivulja više ne bi bila linearna i bilo bi potrebno koristiti složenije metode izračunavanja. Danas automatski titratori imaju ugrađene programe koji sami mogu obraditi rezultate mjerene Granovom metodom i dodatno ubrzati analizu [19].

### 2.2.3. Referentne elektrode

Kao što je ranije rečeno, referentna elektroda ima konstantnu i točno određenu vrijednost potencijala koja ne ovisi o aktivitetu ostalih iona u otopini. Mora biti robusna, laka za održavanje i neosjetljiva na vanjski napon i električnu struju. Referentne elektrode sadrže redoks sustave u kojima se lako može regulirati reducirani i oksidirani oblik. Sustav mora biti izrazito stabilan kako bi se ravnoteža oba redoks oblika lako i brzo uspostavila [19].

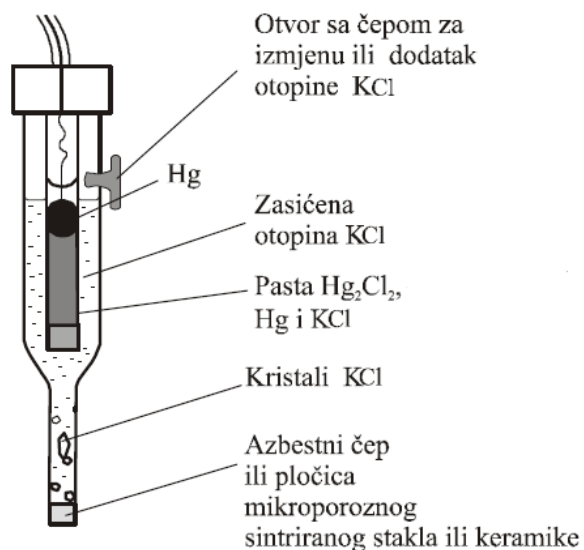
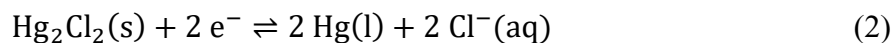
Tri vrste referentnih elektroda koje se najčešće koriste su kalomelova elektroda, elektroda srebro/srebrov klorid i standardna vodikova elektroda.

#### 2.2.3.1. Kalomelova elektroda

Kalomelova elektroda (slika 9) se sastoji od tekuće žive koja je u kontaktu s zasićenom otopinom živinog (I) klorida i otopinom kalijeva klorida poznate koncentracije. Drugi naziv za živin (I) klorid je kalomel pa otuda dolazi naziv kalomelove elektrode. Sama elektroda se izrađuje nanošenjem paste živina (I) klorida i kalijeva klorida na tanak sloj žive. Shematski prikaz kalomelove elektrode je prikazan jednadžbom (1) pri čemu  $c$  označuje množinsku koncentraciju kalijeva klorida u mol/L [20].



Kao što je vidljivo iz jednadžbe (2), potencijal kalomelove elektrode ovisi o konstantnoj i točno poznatoj koncentraciji kloridnih iona. Kod konstantne koncentracije  $\text{Cl}^-$  iona, konstantna je i koncentracija  $\text{Hg}_2^{2+}$  iona i potencijal elektrode. Standardni redukcijski potencijal ( $E^\circ$ ) kalomelove elektrode sa zasićenom otopinom KCl-a iznosi 0,244 V [19].



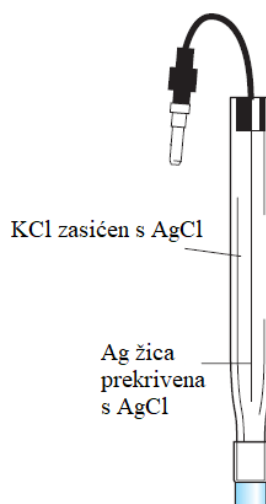
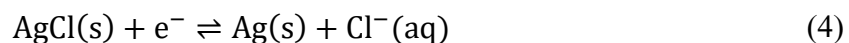
Slika 9. Zasićena kalomelova elektroda [20].

### 2.2.3.2. Srebro/srebrov klorid elektroda

Elektroda srebro/srebrov klorid (slika 10) je najčešće korištena referentna elektroda. Sastoji se od srebrove elektrode uronjene u otopinu kalijeva klorida zasićenu srebrovim kloridom. Zbog manjeg temperaturnog koeficijenta, češće se koristi u nevodenim otopinama od kalomelove elektrode. Sama elektroda se priređuje na način da se na površini srebrne žice koja je savijena u uzvojnici stvori sloj srebrovog klorida. Zatim se taj komad žice uroni u otopinu klorida koja je zasićena sa srebrovim kloridom. Shematski prikaz srebro/srebrov klorid elektrode je prikazan jednadžbom (3) pri čemu  $c$  označuje množinsku koncentraciju kalijeva klorida u mol/L [20].



Kao što je vidljivo iz jednadžbe (4), potencijal Ag/AgCl elektrode ovisi o konstantnoj i točno poznatoj koncentraciji kloridnih iona. Kod konstantne koncentracije Cl<sup>-</sup> iona, konstantna je i koncentracija Ag<sup>+</sup> iona i potencijal elektrode. Najčešće se za elektrodu koriste zasićena ili 3,5 mol/L otopina KCl-a. Standardni redukcijski potencijal ( $E^\circ$ ) Ag/AgCl elektrode sa zasićenom otopinom KCl-a iznosi 0,199 V [19].



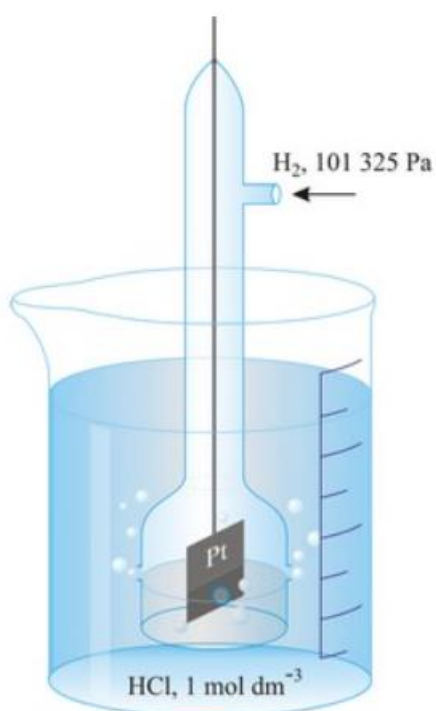
Slika 10. Zasićena srebro/srebrov klorid elektroda [19].

### 2.2.3.3. Standardna vodikova elektroda

Standardna vodikova elektroda (slika 11) je izabrana referentnom elektrodom međunarodnom konvencijom. Određeno je da je njen potencijal 0 V. Pomoću dogovorenog potencijala standardne vodikove elektrode (SVE), izračunati su potencijali svih ostalih elektroda. SVE se izrađuje na način da se platinska elektroda uroni u otopinu vodikovih iona (otopina kiseline konstantne koncentracije). Zatim se elementarni vodik uvodi u otopinu. Platinska elektroda djeluje kao katalizator i osigurava elektrokemijsku reverzibilnost sustava. Shematski prikaz SVE je prikazan jednadžbom (5) [19].



Kao što je vidljivo iz jednadžbe (6), potencijal SVE ovisi o konstantnoj i točno poznatoj koncentraciji vodikovih iona. Kod konstantne koncentracije  $\text{H}^+$  iona, konstantna je i koncentracija elementarnog vodika i potencijal elektrode. Standardni redukcijski potencijal ( $E^\circ$ ) SVE iznosi 0,000 V [19].



Slika 11. Standardna vodikova elektroda [22].

## 2.2.4. Indikatorske elektrode

Kao što je ranije rečeno, potencijal indikatorskih elektroda ovisi o aktivitetu iona analita u otopini. Indikatorske elektrode dijele se na kovinske i selektivne (membranske) elektrode. Potencijal indikatorske elektrode je dan Nernstovom jednačbom (7) [19]:

$$E = E^{\circ} + \frac{R \cdot T}{z \cdot F} \ln \frac{a_w}{a_m} \quad (7)$$

gdje je:  $E$  – elektrodni potencijal [V],  $E^{\circ}$  – standardni elektrodni potencijal [V],  $R$  – opća plinska konstanta, 8,314 [J/Kmol],  $T$  – termodinamička temperatura [K],  $z$  – naboj iona,  $F$  – Faradayeva konstanta, 96 500 C/mol,  $a_w$  - aktivitet iona analita u vodenoj otopini (w) [mol/L],  $a_m$  – aktivitet iona u membranskoj fazi [mol/L].

### 2.2.4.1. Kovinske elektrode

Potencijal kovinskih elektroda je posljedica odvijanja redoks reakcije na površini elektrode. Kovinske elektrode se mogu podijeliti na:

- 1) elektrode prvog reda
- 2) elektrode drugog reda
- 3) inertne redoks elektrode.

Kovinske elektrode prvog reda su elektrode izrađene od 100 % čistog metala uronjene u otopinu tog istog metala. Na površini elektrode se javlja ravnoteža između elektrode i otopine kationa metala što je i prikazano jednačbom (8). Budući da je aktivitet čistih metala jednak jedan, na potencijal elektrode utječe samo aktivitet otopine kationa metala. U kovinske elektrode prvog reda se ubrajaju elektrode žive, zlata, srebra, cinka, indija, kadmija i bakra [20].



Kovinske elektrode prvog reda se rijetko koriste u potenciometrijskim mjerenjima zbog loše selektivnosti i odziva. Elektrode često znaju biti selektivne za više od jednog metala pa je tako bakrova elektroda selektivnija za  $\text{Ag}^+$  ion nego za  $\text{Cu}^+$  ion. Također, mnoge elektrode su nestabilne u kiselom mediju i mogu se samo koristiti u neutralnom ili blago lužnatom mediju. Treći nedostatak je podložnost nekih metala oksidaciji. U tom slučaju je potrebno ukloniti kisik iz otopine kako bi se mogao izmjeriti potencijal [20].

Kovinske elektrode drugog reda se koriste za detekciju aniona kao što su bromidni, jodidni i kloridni, koji formiraju teško topive taloge ili stabilne komplekse s kationima metala od kojih su elektrode izrađene. Mogu se koristiti kao potenciometrijski senzori ili u taložnoj potenciometriji. Otopina mora biti zasićena samo na površini elektrode, a ne cijela kao što je slučaj kod ostalih elektroda. U ovaj tip elektroda se ubrajaju kalomelova elektroda i elektroda srebro/srebrov klorid [20].

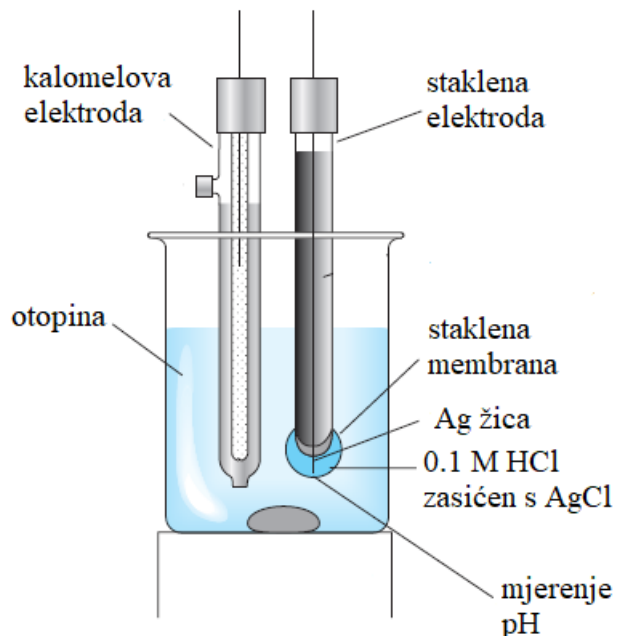
Treći tip kovinskih elektroda su inertne redoks elektrode. Kod ovih elektroda kao nosač elektrona drugog redoks sustava služi metal od kojeg je izrađena elektroda. Najčešće su to platina, paladij, ugljik i zlato.

#### **2.2.4.2. Ion-selektivne elektrode**

Ion-selektivne elektrode (ISE) su najčešće primijenjeni potenciometrijski senzori. Senzor je uređaj koji služi za detekciju i kvantifikaciju određenog svojstva tvari kao što je masa, aktivitet ili koncentracija. Kod potenciometrijskih senzora, ulazni signal je aktivitet analita, a izlazna veličina napon. Oni selektivno određuju analit u prisutnosti interferenata. Ukoliko je senzor kvalitetan, njegov potencijal ovisi o aktivitetu samo jedne kemijske vrste. Dio ISE koji je zadužen za selektivno određivanje analita je membrana. Tri najvažnija tipa ISE su staklena elektroda, ISE s čvrstom membranom i ISE s tekućom membranom [20].

Staklena elektroda je prva indikatorska elektroda koja je razvijena 1906. godine. Zapaženo je da je moguće mjeriti pH na tankoj staklenoj membrani koja razdvaja dvije otopine različitih koncentracija vodikovih iona. S vremenom su razvijene posebne vrste stakla

koje imaju dobru selektivnost prema vodikovim ionima. No, sam potencijal staklene elektrode nije mogao biti mjerljiv pa su razvijeni uređaji za mjerenje potencijala elektrode koji se nazivaju pH-metri. Staklena elektroda se može koristiti za mjerenje aktiviteta većine jednovalentnih kationa. Najčešće se koristi u kombinaciji s kalomelovom elektrodom (slika 12). Vrsta stakla koje se najčešće koristi za izradu staklene elektrode je *Corning 015* te se sastoji od 72 %  $\text{SiO}_2$ , 22 %  $\text{Na}_2\text{O}$  i 6 %  $\text{CaO}$  [19].



Slika 12. Kombinacija staklene i kalomelove elektrode [19].

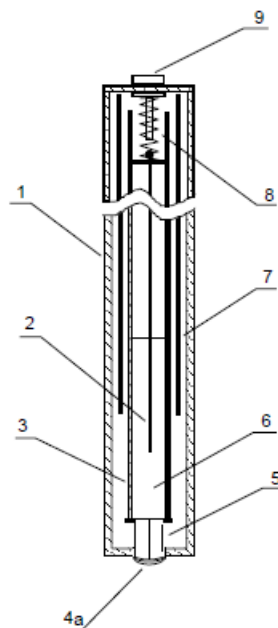
ISE s čvrstom membranom sadrže membranu od slabo topljive soli iona analita. Prva ISE s čvrstom membranom koja je izrađena je sadržavala rastaljeni  $\text{AgCl}$ . Sastoje se od smjese više kristalnih tvari od kojih je samo jedna kemijska vrsta elektrokemijski aktivna. Ovakve elektrode mogu se pripremiti da budu selektivne na sljedeće ione:  $\text{CN}^-$ ,  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{S}^{2-}$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$  i  $\text{Pb}^{2+}$ . Danas se za izradu čvrste membrane najčešće koriste  $\text{AgBr}$ ,  $\text{PbS}$ ,  $\text{CuS}$ ,  $\text{Ag}_2\text{S}$ ,  $\text{AgSCN}$ ,  $\text{CdS}$  i slične netopive soli gore navedenih iona. Čvrsta membrana se izrađuje u obliku monokristalne ili polikristalne prešane pločice. Membranska pločica se ugrađuje u plastični (PVC) ili stakleni nosač. Kontakt između otopine elektrolita i unutrašnje strane membrane se ostvaruje uranjanjem referentne elektrode [20].



ISE s tekućom membranom (slika 13) u membrani sadrže aktivnu komponentu otopljenu u hidrofobnom otapalu. Razlika potencijala se javlja na površini membrane i otopine. Aktivna tvar je glavni sastojak membrane, a može biti ionski spoj ili neutralna makromolekula koja tvori komplekse samo s točno određenim ionom. Zbog toga je prijelaz između faza omogućen samo onim ionima koji tvore komplekse s aktivnom tvari. Aktivna tvar se još naziva i ionofor te je njegov udio oko 1 %. Mehaničku stabilnost membrane osigurava inertni polimerni matriks. Najčešće se koristi poli(vinil klorid) (PVC) te čini oko 30 % membrane. Membrana sadrži i plastifikator koji povećava pokretljivost aktivne tvari te dielektričnost i elastičnost gela. Od ostalih pomoćnih sastojaka, najčešće se koriste hidrofobni modifikatori viskoznosti kao što je polisiloksan koji može povećati hidrofobnost i na taj način smanjuje prijelaz iona između dvije faze. Ukoliko sadrže pozitivno nabijenu aktivnu tvar, osjetljive su na promjenu aktiviteta aniona, a ako sadrže negativno nabijenu aktivnu tvar, osjetljive su na promjenu aktiviteta kationa. Elektroda se izrađuje na način da se sastojci membrane pomiješaju i izliju na podlogu. Nakon što iz membrane ispari otapalo, pričvrsti se se na kraj cijevastog plastičnog nosača. Na kraju se u cijev unutar elektrode ulije elektrolit [20].

Prilikom razvoja ISE, bitan dio je odabir plastifikatora koji utječe na kvalitetu membrane i čini PVC fleksibilnijim. Zbog svoje lipofilnosti određuje ionsku izmjenu preko membrane, topljivost ionofora, otpornost membrane i analitički signal. Lipofilna svojstva plastifikatora trebala bi biti slična onima ionofora koji se koristi unutar matrice senzorske membrane. Uobičajeni maseni omjer PVC-a i plastifikatora je 1:2, uz korištenje 1 % ionofora. Svojstva koja bi plastifikator trebao imati su netopljivost u vodi, sprječavanje istjecanja ionofora u analit, inertnost na ionsku izmjenu, povećanje stabilnosti na niskim temperaturama, mehanička otpornost te otpornost na oksidaciju i kristalizaciju. Kao plastifikatori se koriste razni organski spojevi, a najčešće su to aromatski esteri (ftalati). Plastifikator utječe na važna svojstva ISE kao što su selektivnost i vijek trajanja [23].

S obzirom na navedeno, optimiranjem sastava membrane ISE, a prvenstveno senzorskog materijala (aktivne tvari) i plastifikatora, moguće je razviti ISE s boljim analitičkim svojstvima, kao što su šire mjerno područje, niža granica detekcije, kraće vrijeme odziva, bolja selektivnost i veća točnost.



Slika 13. Ionsko-selektivna elektroda s tekućom membranom, 1 - tijelo elektrode, 2 – Ag | AgCl žica, 3 - tijelo unutarnje referentne elektrode, 4a - PVC membrana, 5 – nosač membrane (brtva), 6 - unutarnji elektrolit, 7 - čelični oklop, 8 – spoj s referentnom elektrodom, 9 – konektor [24].

### 2.2.5. Osobine potenciometrijskih senzora

Neke od prednosti potenciometrijskih senzora su mogućnost minijaturizacije, rad u širokom mjernom području, kompaktnost, dobro ponašanje u otopinama elektrolita, okolišna prihvatljivost i ušteda energije. Neka od njihovih važnijih svojstava su selektivnost, točnost, preciznost, mjerno područje, osjetljivost, granica detekcije, granica kvantifikacije, vrijeme odziva i radni vijek. Na rad potenciometrijskih senzora utječe i otopina u kojoj su uronjeni pa samim time i pH, temperatura te ionska jakost [25].

Selektivnost se smatra jednim od najvažnijih svojstava senzora jer određuje može li senzor određivati analit u prisutnosti interferenata. Dio senzora koji je odgovoran za selektivnost je element za prepoznavanje (receptor). Kod ISE je to ionofor u membrani. Kako bi membrana bila selektivna na analit, ionofor membrane se mora vezati na točno određenu aktivnu vrstu. Membrana ISE je osjetljiva na određeni analit i izaziva promjenu potencijala

indikatorske elektrode u odnosu na referentnu elektrodu. Promjena potencijala je proporcionalna logaritmu aktiviteta analita koji se određuje [25].

Točnost je mjera odstupanja eksperimentalno dobivenih rezultata od teorijskih vrijednosti. Pokazuje slaganje između prihvaćene (teorijske) i izmjerene vrijednosti. Točnost se izražava kao pogreška koja mora biti unutar  $\pm 5\%$  te kao iskorištenje [25]. Točnost se računa pomoću jednadžbe (9):

$$\% \text{ pogreške} = \frac{\text{izmjerena vrijednost} - \text{teorijska vrijednost}}{\text{teorijska vrijednost}} \quad (9)$$

dok se iskorištenje računa pomoću jednadžbe (10):

$$\% \text{ iskorištenja} = \frac{\text{izmjerena vrijednost}}{\text{teorijska vrijednost}} \cdot 100 \quad (10).$$

Preciznost se definira kao slaganje rezultata iz serije ponovljenih mjerenja koja su provedena na istom uzorku i pri istim uvjetima. Uzima u obzir slučajne pogreške koje moraju biti ispod određene razine. Ovisi o vrsti analize, koncentraciji analita i otopini uzorka. Iskazuje se kao ponovljivost (preciznost pri istim uvjetima), međupreciznost (preciznost pri različitim uvjetima, ali na istoj lokaciji) i obnovljivost (preciznost pri različitim uvjetima i lokacijama) [25]. Preciznost se matematički izražava kao:

- standardna devijacija ( $s$ ) – mjera raspršenja podataka, računa se pomoću jednadžbe (11):

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (11)$$

gdje je  $n$  broj mjerenja,  $x_i$  podatak mjerenja i  $\bar{x}$  srednja vrijednost

- relativna standardna devijacija (RSD) – omjer standardne devijacije ( $s$ ) i srednje vrijednosti ( $\bar{x}$ ), računa se pomoću jednadžbe (12):

$$\text{RSD} = \frac{s}{\bar{x}} \quad (12)$$

- koeficijent varijacije (CV) – vrijednost RSD-e u postotku, računa se pomoću jednadžbe (13):

$$CV = RSD \cdot 100 \quad (13).$$

Mjerno područje je područje unutar kojeg je promjena signala senzora u ovisnosti o određenom svojstvu analita (koncentracija ili aktivitet) linearna. Izražava se kao interval između minimalne i maksimalne vrijednosti svojstva analita unutar kojeg se analit može odrediti s određenom točnošću i preciznošću [25].

Osjetljivost je mjera promjene signala po jedinici promjene koncentracije analita. Na osjetljivost utječu receptor i pretvornik senzora. Povećava se uvođenjem dodatnih stupnjeva pojačavanja signala [25].

Granica detekcije (eng. *limit of detection*, LOD) označava najmanji iznos analita koji se može pouzdano mjeriti. Razlikuju se donja i gornja granica detekcije. Donja granica detekcije označava najmanju koncentraciju analita koja se može detektirati, ali ne i kvantitativno odrediti. Računa se pomoću jednadžbe (14) [25]:

$$LOD = \frac{3.3 \cdot s}{a} \quad (14)$$

gdje je:  $s$  standardna devijacija,  $a$  nagib kalibracijskog pravca.

Granica kvantifikacije (eng. *limit of quantification*, LOQ) označava najmanju koncentraciju analita koja se može odrediti s prihvatljivom razinom točnosti i preciznosti. Računa se pomoću jednadžbe (15) [25].

$$LOQ = \frac{10 \cdot s}{a} \quad (15)$$

Vrijeme odziva je vrijeme potrebno da se postigne 95 % maksimalne vrijednosti signala senzora u otopini nekog analita. Definira se kao vrijeme od kojeg je senzor uronjen u otopinu analita do vremena kada je potencijal jednak konačnom [25].

Radni vijek se određuje usporedbom signala na početku mjerenja i nakon određenog vremenskog perioda. Najčešće se definira kao vrijeme nakon kojeg se odziv senzora smanji za

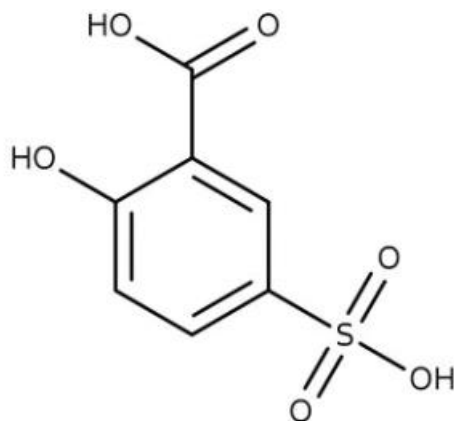
određeni postotak. Ovisi o uvjetima mjerenja, vrsti analita i stabilnosti elementa za prepoznavanje [25].

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. Reagensi i materijali

Za pripremu analita korišteni su TBZ (Acros Organics, Belgija), klorovodična kiselina (HCl,  $c = 1 \text{ mol/L}$ ) i destilirana voda.

Za pripremu tekuće membrane senzora korišteni su ionski par TBZ-a i 5-sulfosalicilne kiseline (SAL, Reanal, Mađarska), sumporna kiselina ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ , Kemika, Hrvatska), tetrahidrofuran (THF, Fischer Scientific, Velika Britanija), PVC (Fluka, Švicarska), *o*-nitrofenil oktil eter (*o*-NPOE, Fluka, Švicarska), bis(2-etil-heksil) sebakat (BEHS, Fluka, Švicarska), dibutil ftalat (DBP, Fluka, Švicarska), 2-nitrofenil eter (NPPE, Fluka, Švicarska), dibutil sebakat (DS, Fluka, Švicarska) i bis(2-etil-heksil) ftalat (DOP, Fluka, Švicarska). Struktura SAL je prikazana na slici 14.



Slika 14. Strukturna formula SAL [25].

Za regulaciju pH korištene su otopine natrijevog hidroksida (NaOH, T.T.T., Hrvatska) i klorovodične kiseline (HCl, Carlo Erba, Italija).

Za ispitivanje selektivnosti elektrode korištene su otopine 9 interferenata koncentracije  $1,0 \cdot 10^{-2}$  mol/L: amonijev nitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , Kemika, Hrvatska), natrijev klorid ( $\text{NaCl}$ , Sigma-Aldrich, SAD), kalcijev klorid ( $\text{CaCl}_2$ , Kemika, Hrvatska), magnezijev klorid ( $\text{MgCl}_2$ , Kemika, Hrvatska), L(+)-askorbinska kiselina ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ , GRAM-MOL, Hrvatska), bakrov klorid ( $\text{CuCl}_2$ , Merck, Njemačka), cinkov sulfat ( $\text{ZnSO}_4$ , Kemika, Hrvatska), litijev klorid ( $\text{LiCl}$ , Kemika, Hrvatska) i željezov (III) nitrat ( $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ , Kemika, Hrvatska) te otopine 2 interferenata koncentracije  $2,5 \cdot 10^{-4}$  mol/L: imazalil ( $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}$ , Sigma Aldrich, SAD) i 2-fenil fenol ( $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{OH}$ , Sigma Aldrich, SAD).

Kao realni uzorci su korištene kore naranče i limuna porijeklom iz Španjolske i kore banane porijeklom iz Ekvadora. Uzorci su kupljeni u lokalnoj trgovini.

### 3.2. Priprema otopine tiabendazola

Odvagano je 0,20125 g TBZ-a ( $M_r = 201,25$ ) i kvantitativno preneseno u odmjernu tikvicu od 500 mL. U tikvicu je dodano 250 mL ultračiste vode te je zatim postupno dodavano 800  $\mu\text{L}$  HCl ( $c = 1,0$  mol/L). Tikvica je nadopunjena gotovo do oznake i stavljena u ultrazvučnu kupelj kako bi se otopio sav TBZ. Na kraju je odmjerna tikvica nadopunjena s ultračistom vodom do oznake. Ovako pripremljena otopina TBZ-a ( $c = 2,0 \cdot 10^{-3}$  mol/L) korištena je kao osnovna otopina te je kasnije razrjeđivana po potrebi.

### 3.3. Priprema ionskog para TBZ-SAL

Za izradu ionskog para TBZ-SAL prvo je pripremljena vodena suspenzija TBZ-a. Tijekom snažnog miješanja, koncentrirana  $\text{H}_2\text{SO}_4$  je dodavana u otopinu sve dok nije nastala homogena otopina kao posljedica potpunog protoniranja TBZ-a. Zatim je pripremljena koncentrirana vodena otopina SAL koja je dodana u otopinu TBZ-a. Time je nastao teško topljivi talog bijele boje (TBZ kation i 5-sulfosalicilatni anion). Suvišak  $\text{H}_2\text{SO}_4$  i SAL je uklonjen ispiranjem deioniziranom vodom i filtracijom preko filter papira. Na kraju, talog je pokriven satnim staklom i osušen na sobnoj temperaturi.

### 3.4. Priprema i kondicioniranje senzora

Za pripremu tekuće membrane senzora korišteni su sljedeći reagensi: TBZ-SAL (0,00184 g, 1 % w/w; 0,005442 g, 3 % ili 0,00907 g, 5 %), PVC (0,05986 g, 33,0 % w/w; 0,05859 g, 32,3 % ili 0,05750 g, 31,7 %), plastifikator (*o*-NPOE (115 µL, 66,0 % w/w), BEHS (131 µL, 66,0 % w/w), DBP (115 µL, 66,0 % w/w), NPPE (97 µL, 66,0 % w/w), DS (128 µL, 66,0 % w/w; 125 µL, 64,6 % w/w; 123 µL, 63,3 % w/w) i DOP (122 µL, 66,0 % w/w)). Reagensi su otopljeni u 2 mL THF-a uz korištenje ultrazvučne kupelji. Membranska smjesa izlivena je u stakleni prsten promjera 24 mm, pričvršćen na staklenu ploču. Nakon isparavanja otapala (približno 24 sata), izrezani su membranski diskovi promjera 7 mm i ugrađeni u tijelo Philipsove elektrode IS-561 (Glasblaeserei Moeller, Zürich, Švicarska). Svaki put prije mjerenja, provedeno je kondicioniranje senzora u otopini TBZ-a ( $c = 1,0 \cdot 10^{-4}$  mol/L) dva puta po 15 minuta.

### 3.5. Aparatura

Za pripremu membrane senzora korištena je ultrazvučna kupelj (BADELIN RK-100, Njemačka). Za izvođenje potenciometrijskih mjerenja korišten je automatski univerzalni titrator (794 Basic Titrino) uz pripadajuću izmjenjivu jedinicu za doziranje (806 Exchange unit) i magnetsku miješalicu (728 Titration Stirrer). Uređaj je kontroliran programom vlastite izrade. Sva aparatura korištena za potenciometrijska mjerenja je proizvodnje Metrohm, Švicarska (slika 15).





Slika 15. Sustav za potenciometrijska mjerenja.

### 3.6. Postupak mjerenja

TBZ-SAL senzor je korišten kao indikatorska elektroda s otopinom natrijevog klorida ( $\text{NaCl}$ ,  $c = 3 \text{ mol/L}$ ) kao unutrašnjim elektrolitom.  $\text{Ag/AgCl}$  elektroda (Metrohm, Švicarska) je korištena kao referentna elektroda s otopinom kalijevog klorida ( $\text{KCl}$ ,  $c = 3 \text{ mol/L}$ ) kao unutrašnjim elektrolitom. Između mjerenja, elektroda je čuvana u destiliranoj vodi. Mjerenja su provedena na sobnoj temperaturi, uz miješanje magnetskom miješalicom, pri pH vrijednosti od 2,6 i bez podešavanja ionske jakosti. Za mjerenje odzivnih karakteristika senzora, volumen otopine je bio 20 mL, a za analizu realnih uzoraka 15 mL. Odzivne karakteristike su ispitane dodavanjem otopina TBZ-a dviju koncentracija ( $c = 2 \cdot 10^{-3}$  i  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol/L}$ ) u čašu s destiliranom vodom pomoću programa vlastite izrade. Svaki dan prije početka mjerenja, senzor je kondicioniran u otopini TBZ-a ( $c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol/L}$ ) i kalibriran kako bi se provjerilo njegovo stanje. Kako bi se ispitao utjecaj interferenata na odzivne karakteristike senzora, pripremljeno je 9 interferenata ( $c = 1,0 \cdot 10^{-2} \text{ mol/L}$ ), dok su imazalil i 2-fenilfenol pripremljeni

u nižoj koncentraciji ( $c = 2,5 \cdot 10^{-4}$  mol/L). Korištena je metoda stalne koncentracije interferenta pri čemu je odziv senzora na TBZ ispitan u 20 mL otopine svakog interferenta koristeći program vlastite izrade i otopinu TBZ-a koncentracije  $2 \cdot 10^{-3}$  mol/L.

Pri ispitivanju dinamičkog odziva senzora korištene su otopine TBZ-a dviju koncentracija ( $c = 2,0 \cdot 10^{-3}$  i  $5,0 \cdot 10^{-4}$  mol/L).

Kako bi se odredio utjecaj pH na odziv senzora, pH otopine TBZ-a ( $c = 2,0 \cdot 10^{-3}$  mol/L) je podešen koristeći NaOH i HCl ( $c = 1,0 \cdot 10^{-1}$  i  $1,0 \cdot 10^{-2}$  mol/L) u rasponu pH od 2 do 8.

Mjerenja u realnim sustavima su provedena koristeći kore banane, naranče i limuna ( $m = 100$  g). Kore su usitnjene u čaši i dodana je destilirana voda ( $V = 155, 151$  i  $300$  mL). Zatim je podešen pH i otopine su ostavljene stajati 24 h nakon čega su ofiltrirane preko gaze. Mjerenja su se zatim provodila metodom standardnih dodataka dodavanjem otopine TBZ-a poznate koncentracije ( $c = 2,0 \cdot 10^{-3}$  mol/L).

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Optimizacija membrane

Senzor za određivanje TBZ-a je pripremljen koristeći ionski par TBZ-a i SAL dobiven prema jednadžbi (16):



Izraz za konstantu produkta topljivosti ( $K_{sp}$ ) TBZ-SAL ionskog para je prikazan jednadžbom (17):

$$K_{sp} = a_{\text{TBZ}^+} \cdot a_{\text{SAL}^-} \quad (17)$$

gdje je  $a_{\text{TBZ}^+}$  aktivitet kationa TBZ-a, dok je  $a_{\text{SAL}^-}$  aktivitet aniona SAL.

Zbog svoje topljivosti u organskim otapalima i netopljivosti u vodi, TBZ-SAL se može koristiti kao senzorski materijal u TBZ-selektivnim sensorima koji daju odziv na TBZ prema Nernstovoj jednadžbi prikazanoj jednadžbom (18):

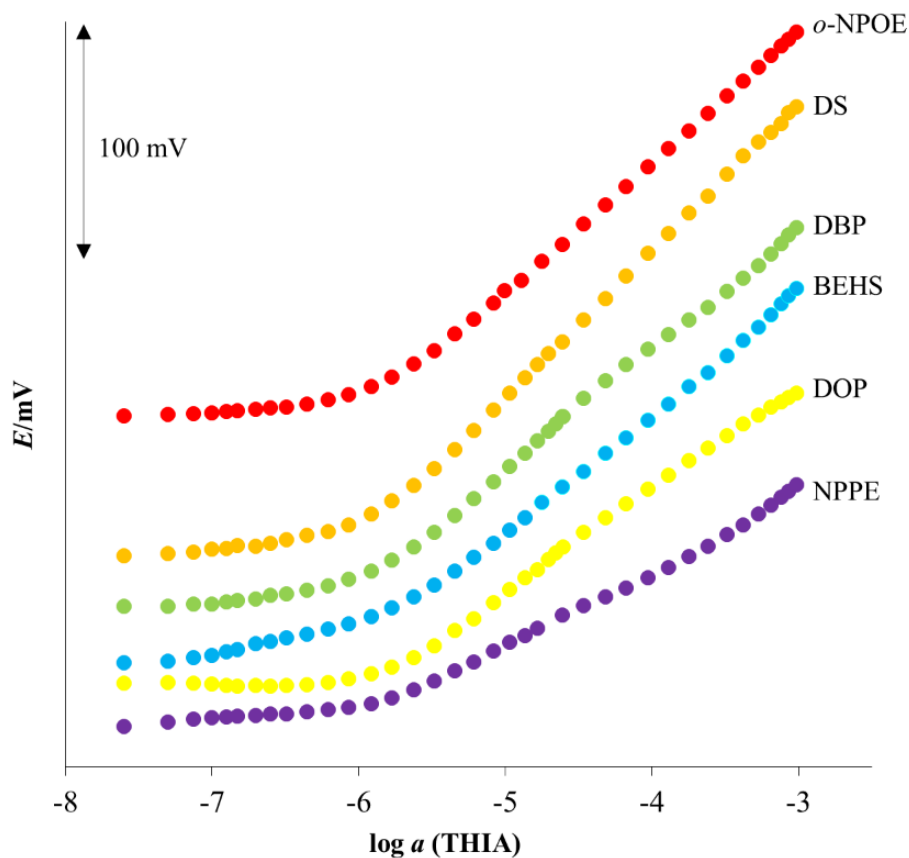
$$E = E^0 + S \cdot \log a_{\text{TBZ}^+} \quad (1)$$

gdje je:  $S$  – nagib kalibracijskog pravca, koji za TBZ kation iznosi 59,2 mV po dekadi aktiviteta pri 25 °C. Ovakav senzor može se koristiti za određivanje TBZ-a direktnom potencijometrijom.

#### 4.1.1. Odabir plastifikatora

Ispitan je utjecaj šest plastifikatora (o-NPOE, BEHS, DBP, NPPE, DS i DOP) na odzivne karakteristike TBZ-SAL senzora. Pri ovom istraživanju, maseni omjer PVC-a i plastifikatora je bio 1:2 uz 1 % senzorskog materijala. Odzivne karakteristike senzora na TBZ u vodi ispitane su u rasponu koncentracija od  $2,5 \cdot 10^{-8}$  mol/L do  $1,0 \cdot 10^{-3}$  mol/L. Odzivne

karakteristike šest TBZ-SAL senzora s različitim plastifikatorima na TBZ su prikazane na slici 16. Rezultati statističke obrade podataka dobiveni korištenjem linearne regresijske analize prikazani su u tablici 1. Iz podataka je vidljivo da su senzori sa svim plastifikatorima osim s DS-om imali sub-Nernstovski odziv na TBZ. Najmanji nagib je pokazao senzor s NPPE kao plastifikatorom (32,5 mV po dekadi aktiviteta), dok je senzor s DS-om kao plastifikatorom pokazao nagib najbliži Nernstovskom (62,2 mV po dekadi aktiviteta). Mjerno područje za sve senzore je bilo jednako ( $1,2 \cdot 10^{-6}$ – $1,0 \cdot 10^{-3}$  mol/L) osim za senzor s DS-om kao plastifikatorom ( $8,6 \cdot 10^{-7}$ – $1,0 \cdot 10^{-3}$  mol/L). Najniže granice detekcije izmjerene su koristeći senzore s BEHS-om ( $1,3 \cdot 10^{-7}$  mol/L) i DBP-om ( $2,5 \cdot 10^{-7}$  mol/L), ali njihove vrijednosti nagiba kalibracijskog pravca bile su sub-Nernstovske. NPPE je dao najlošije, dok je DS dao najbolje rezultate što je vidljivo iz vrijednosti nagiba i korelacijskog koeficijenta. Budući da je senzor s DS-om kao plastifikatorom pokazao najbolje rezultate, DS je odabran za daljnja mjerenja.



Slika 16. Odzivne karakteristike TBZ-SAL senzora s različitim plastifikatorima prema TBZ-u.

Tablica 1. Statistika odzivnih karakteristika TBZ-SAL senzora s različitim plastifikatorima prema TBZ-u<sup>a)</sup>.

Plastifikator	Nagib [mV / dekada aktiviteta]	Standardna pogreška	Korelacijski koeficijent [R <sup>2</sup> ]	Granica detekcije [mol/L]	Radno područje [mol/L]
<b>o-NPOE</b>	55,0 ± 0.8	1,6	0,9990	6,2·10 <sup>-7</sup>	1,2·10 <sup>-6</sup> – 1,0·10 <sup>-3</sup>
<b>BEHS</b>	50,5 ± 1.1	2,2	0,9978	1,3·10 <sup>-7</sup>	1,2·10 <sup>-6</sup> – 1,0·10 <sup>-3</sup>
<b>DBP</b>	51,6 ± 0.8	1,7	0,9986	2,5·10 <sup>-7</sup>	1,2·10 <sup>-6</sup> – 1,0·10 <sup>-3</sup>
<b>NPPE</b>	32,5 ± 1.0	2,0	0,9956	6,2·10 <sup>-7</sup>	1,2·10 <sup>-6</sup> – 1,0·10 <sup>-3</sup>
<b>DS</b>	62,2 ± 0.9	1,7	0,9990	3,2·10 <sup>-7</sup>	8,6·10 <sup>-7</sup> – 1,0·10 <sup>-3</sup>
<b>DOP</b>	44,1 ± 0.6	1,3	0,9989	8,6·10 <sup>-7</sup>	1,2·10 <sup>-6</sup> – 1,0·10 <sup>-3</sup>

a) prosjek 5 mjerenja ± interval pouzdanosti ( $p = 0.95$ )

#### 4.1.2. Optimizacija senzorskog materijala

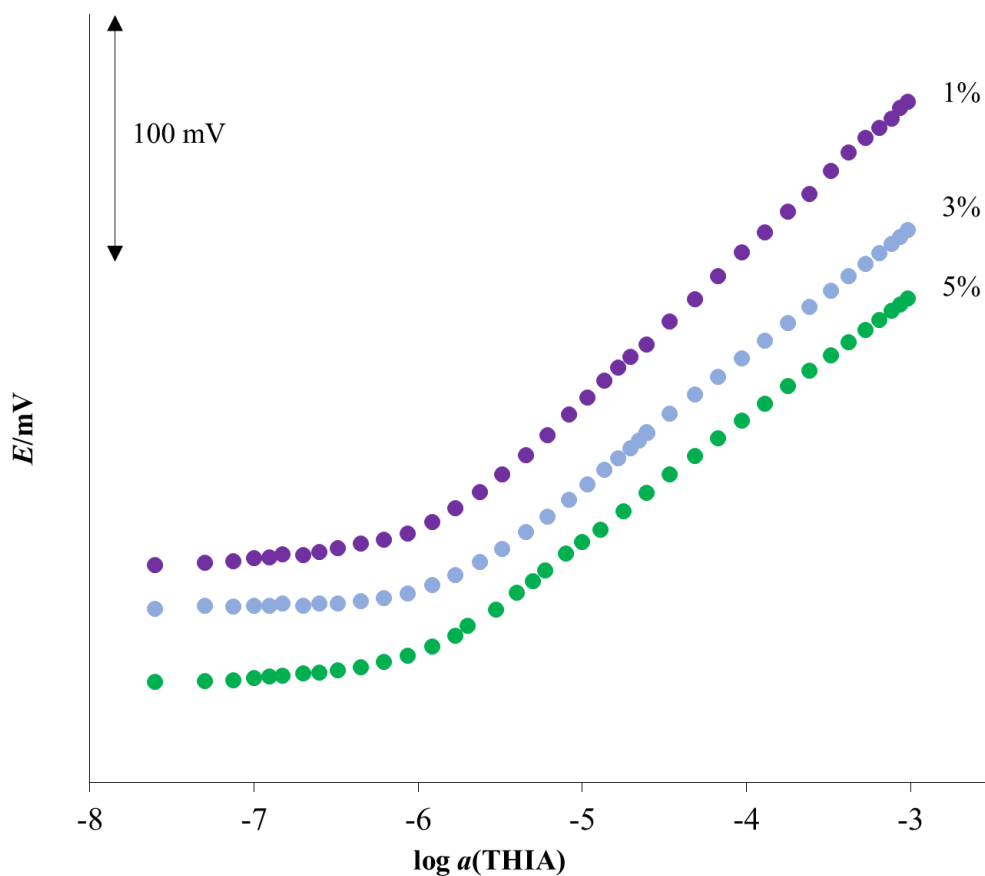
Kako bi se ispitaio utjecaj udjela senzorskog materijala u membrani na odziv senzora na TBZ, uspoređene su odzivne karakteristike triju senzora s različitim postotkom senzorskog materijala (1 %, 3 % i 5 %). Maseni omjer PVC-a i plastifikatora je u sva tri senzora bio isti (1:2). Sastav membrana je prikazan u tablici 2.

Tablica 2. Sastav PVC-membrana u tri TBZ-SAL senzora.

Membrana	Senzorski materijal (TBZ-SAL) [%]	Plastifikator (DS) [%]	PVC [%]
<b>1</b>	1	33,0	66,0
<b>2</b>	3	32,3	64,6
<b>3</b>	5	31,7	63,3

Odzivne karakteristike TBZ-SAL senzora s različitim postotkom senzorskog materijala su prikazane na slici 17. Rezultati statističke obrade su prikazani u tablici 3. Na temelju rezultata, vidljivo je da je najbolje odzivne karakteristike i nagib najbliži Nernstovskom (62,2

mV po dekadi aktiviteta) pokazala membrana 1 s 1 % senzorskog materijala. Senzor s tom membranom imao je i najnižu granicu detekcije TBZ-a ( $3,2 \cdot 10^{-7}$  mol/L). Senzori s većim udjelima senzorskog materijala pokazali su sub-Nernstovski odziv i višu granicu detekcije. Budući da je membrana 1 s 1 % senzorskog materijala dala najbolje rezultate, odabrana je za daljnja mjerenja.



Slika 17. Odzivne karakteristike TBZ-SAL senzora s različitim postotkom senzorskog materijala prema TBZ-u.

Tablica 3. Statistika odzivnih karakteristika TBZ-SAL senzora s različitim postotkom senzorskog materijala prema TBZ-u<sup>a)</sup>.

Postotak senzorskog materijala [%]	Nagib [mV / dekada aktiviteta]	Standardna pogreška	Korelacijski koeficijent [R <sup>2</sup> ]	Granica detekcije [mol/L]	Radno područje [mol/L]
1	62,2 ± 0,9	1,7	0,9990	3,2·10 <sup>-7</sup>	8,6·10 <sup>-7</sup> – 1,0·10 <sup>-3</sup>
3	53,5 ± 0,5	1,2	0,9994	6,2·10 <sup>-7</sup>	8,6·10 <sup>-7</sup> – 1,0·10 <sup>-3</sup>
5	51,1 ± 0,4	0,8	0,9997	6,2·10 <sup>-7</sup>	8,6·10 <sup>-7</sup> – 1,0·10 <sup>-3</sup>

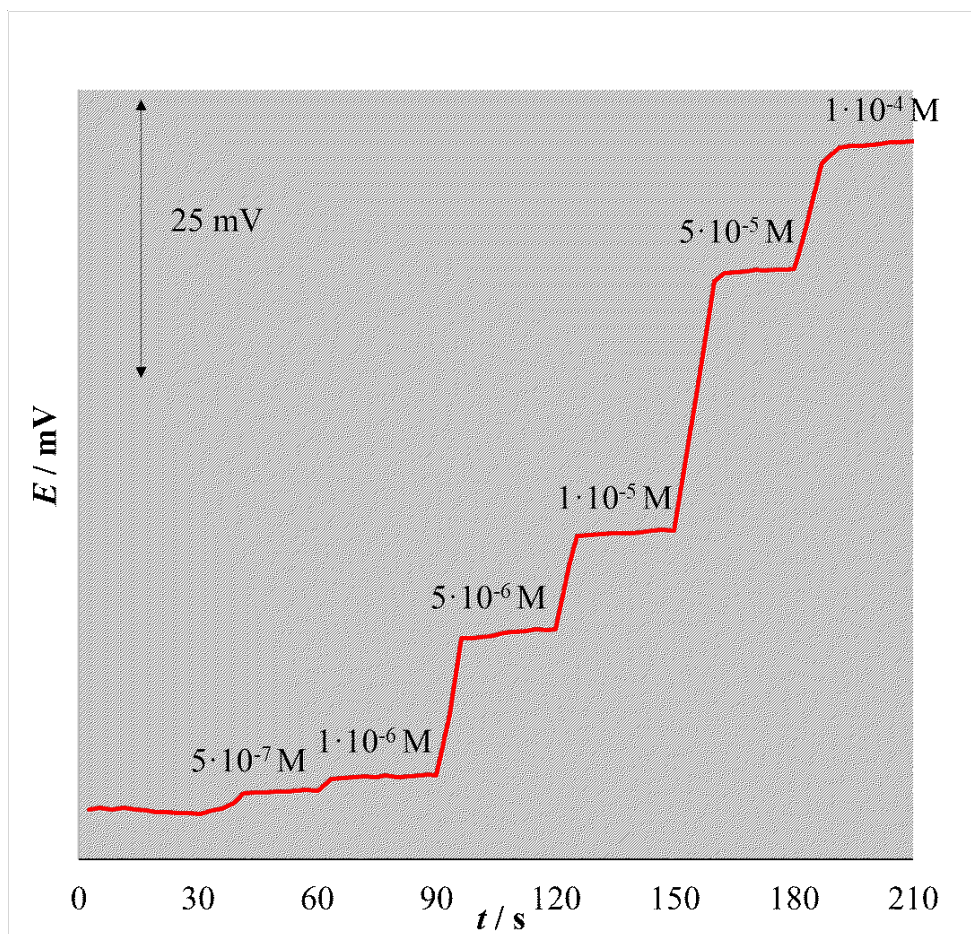
a) prosjek 5 mjerenja ± interval pouzdanosti ( $p = 0.95$ )

#### 4.2. Dinamički odziv

Za ispitivanje dinamičkog odziva TBZ-SAL senzora prema TBZ-u u vodi, korištene su dvije različite koncentracije TBZ-a ( $c = 2,0 \cdot 10^{-3}$  mol/L i  $5,0 \cdot 10^{-4}$  mol/L). Dinamički odziv je ispitan u koncentracijskom području od  $5 \cdot 10^{-7}$  mol/L do  $1 \cdot 10^{-4}$  mol/L. Potencijal se mjerio u 50 mL ultračiste vode i svakih 30 s se dodavao određeni volumen otopine TBZ-a kako bi se postigle željene koncentracije. Volumeni i koncentracije dodavanog TBZ-a i koncentracije TBZ-a u otopini nakon dodatka su prikazani u tablici 4. Rezultati mjerenja su prikazani na slici 18. Iz slike je vidljivo da je prosječno vrijeme odziva TBZ-SAL senzora bilo oko 8 sekundi što upućuje na brz odziv senzora prema TBZ-u.

Tablica 4. Volumeni ( $V$ ) i koncentracije ( $c_A$ ) dodavanog TBZ-a i koncentracije TBZ-a nakon dodatka ( $c_B$ ) pri određivanju dinamičkog odziva TBZ-SAL senzora.

TBZ		
$c_A$ (mol/L)	$V$ (mL)	$c_B$ (mol/L)
$5,0 \cdot 10^{-4}$	0,050	$5,0 \cdot 10^{-7}$
$5,0 \cdot 10^{-4}$	0,050	$1,0 \cdot 10^{-6}$
$2,0 \cdot 10^{-3}$	0,100	$5,0 \cdot 10^{-6}$
$2,0 \cdot 10^{-3}$	0,126	$1,0 \cdot 10^{-5}$
$2,0 \cdot 10^{-3}$	1,032	$5,0 \cdot 10^{-5}$
$2,0 \cdot 10^{-3}$	1,352	$1,0 \cdot 10^{-4}$



Slika 18. Dinamički odziv TBZ-SAL senzora prema TBZ-u.



### 4.3. Tijek signala i vijek trajanja senzora

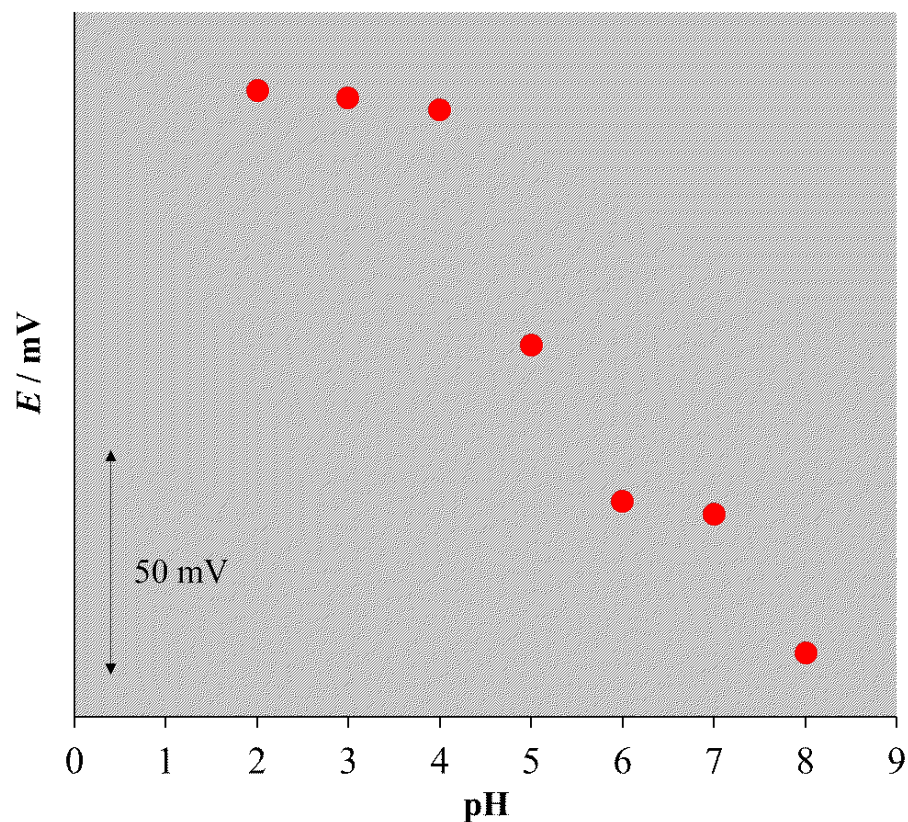
Tijek signala predstavlja promjenu potencijala senzora u vremenu koja ovisi o temperaturi, stabilnosti uređaja i drugim faktorima. Mjeren je u otopini TBZ-a ( $c = 2,0 \cdot 10^{-3}$  mol/L) pri 25 °C metodom linearne regresije. Pomoću nje je izračunat nagib pravca koji je jednak iznosu tijeka signala. Za TBZ-SAL senzor, tijek signala je definiran jednadžbom (19) i iznosio je 3,5 mV/sat.

$$E = 0,00204 \cdot t - 113,39 \quad (19)$$

Vijek trajanja senzora predstavlja vremenski period u kojem se senzor može koristiti bez značajnih promjena u odzivnim karakteristikama. Za TBZ-SAL senzor, vijek trajanja je otprilike mjesec dana uz svakodnevna mjerenja.

### 4.4. Utjecaj pH

Utjecaj pH na odziv TBZ-SAL senzora je istražen u otopini TBZ-a ( $c = 2 \cdot 10^{-3}$  mol/L) u rasponu pH od 2 do 8. Rezultati ovog mjerenja prikazani su na slici 19. Iz slike je vidljivo da je potencijal bio stabilan u pH rasponu od 2 do 4. Pri većim vrijednostima pH, zapažen je drastičan pad potencijala. Zbog ovih rezultata, sva mjerenja su provedena pri pH 2,6 koji se pokazao optimalnim za otapanje TBZ-a u vodi.



Slika 19. Utjecaj pH vrijednosti na odziv TBZ-SAL senzora u otopini TBZ-a ( $c = 2 \cdot 10^{-3}$  mol/L).

#### 4.5. Selektivnost

Potenciometrijski koeficijenti selektivnosti su određeni metodom stalne koncentracije interferenata. Potencijal je mjeren u otopini sa stalnim aktivitetom interferenta ( $c = 1,0 \cdot 10^{-2}$  mol/L ili  $2,5 \cdot 10^{-4}$  mol/L) i u promjenjivom koncentracijskom području TBZ-a od  $1,0 \cdot 10^{-6}$  mol/L do  $1,0 \cdot 10^{-3}$  mol/L ili od  $2,5 \cdot 10^{-8}$  mol/L do  $2,5 \cdot 10^{-5}$  mol/L. Koeficijenti selektivnosti su određeni prilagođavanjem Nikolskii-Eisenmanove jednadžbe (20) kako bi ona odgovarala eksperimentalno dobivenim podacima:

$$E = E^0 + \frac{2,303RT}{z_a F} \log [a_A + \sum_N^{B=1} K_{A,B}^{pot} a_B^{\frac{z_A}{z_B}}] \quad (20)$$

gdje je:  $K_{A,B}^{pot}$  koeficijent potenciometrijske selektivnosti,  $a_A$  i  $a_B$  su aktiviteti i  $z_A$  i  $z_B$  su naboji analita A i interferenta B.

Potenciometrijski koeficijenti selektivnosti pokazuju koliko puta aktivitet interferenta može biti veći od aktiviteta TBZ-a, a da nema utjecaja na potencijal senzora. Koeficijenti su određeni korištenjem programa *Solver* u Microsoft Excelu. Rezultati su prikazani u tablici 5 i pokazuju dobru selektivnost senzora prema TBZ-u. Kao mogući interferenti pokazali su se imazalil i 2-fenilfenol što je i očekivano s obzirom da su i oni antifungicidi.

Tablica 5. Potenciometrijski koeficijenti selektivnosti TBZ-SAL senzora

Interferent	$K_{ij}^{pot}$	Interferent	$K_{ij}^{pot}$
Amonij	$2,14 \cdot 10^{-4}$	Cink	$8,12 \cdot 10^{-5}$
Natrij	$1,19 \cdot 10^{-4}$	Litij	$1,87 \cdot 10^{-4}$
Kalcij	$1,41 \cdot 10^{-5}$	Željezo (III)	$2,77 \cdot 10^{-4}$
Magnezij	$3,31 \cdot 10^{-5}$	Imazalil	$1,51 \cdot 10^{-1}$
Askorbinska kiselina	$3,77 \cdot 10^{-5}$	2-fenilfenol	$2,16 \cdot 10^{-2}$
Bakar	$1,23 \cdot 10^{-3}$		

#### 4.6. Određivanje tiabendazola u čistim i realnim sustavima

Primjenjivost novog TBZ-SAL senzora za određivanje TBZ-a ispitana je u čistim i realnim sustavima. Pri ispitivanju čistih sustava, korišteno je pet otopina TBZ-a ( $c = 3,0 \cdot 10^{-4}$ ,  $1,0 \cdot 10^{-4}$ ,  $3,5 \cdot 10^{-5}$ ,  $1,0 \cdot 10^{-5}$  i  $3,0 \cdot 10^{-6}$  mol/L), dok je pri ispitivanju realnih sustava korišteno voće (limun, naranča i banana) kupljeno u lokalnoj trgovini. Kako bi se pripremile otopine, 100 g usitnjene kore stavljeno je u čašu i preliveno destiliranom vodom, pH je podešen na 2,6, a nakon 24 sata uzorci su filtrirani i provedena su mjerenja.

Čisti sustavi analizirani su direktnom potenciometrijom i Granovom metodom kako bi se provjerila točnost određivanja TBZ-a koristeći TBZ-SAL senzor. U mjerenjima direktnom

potenciometrijom, potencijal je mjereno u otopini TBZ-a. Koncentracija TBZ-a je izračunata iz jednadžbe kalibracijskog pravca koji prikazuje ovisnost potencijala o logaritmu aktiviteta TBZ-a. Za Granovu metodu, kao proširenje metode standardnog dodatka, 13 standardnih dodataka otopine TBZ-a ( $c = 2,0 \cdot 10^{-3}$  mol/L) dodano je u svaku otopinu i izmjereni su potencijali. Potencijal TBZ-a se može izračunati iz jednadžbe (21):

$$E = k + S \cdot \log c \quad (21)$$

gdje je:  $k$  – konstanta i  $c$  – koncentracija TBZ-a.

Preuređenjem jednadžbe (21) dobije se jednadžba (22):

$$c = 10^{\frac{E-k}{S}} = \frac{10^{\frac{E}{S}}}{10^{\frac{k}{S}}} \quad (2)$$

Koncentracija TBZ-a nakon svakog dodatka standarda se može izračunati pomoću jednadžbe (23):

$$C = \frac{c_X V_o + c_s V_s}{V_o + V_s} \quad (3)$$

gdje je:  $c_X$  - koncentracija TBZ-a prije dodatka standarda,  $V_o$  - volumen otopine prije dodatka standarda,  $c_s$  koncentracija standardne otopine i  $V_s$  volumen dodanog standarda.

Izjednačavanjem jednadžbi (22) i (23) dobije se jednadžba (24):

$$c = \frac{c_X V_o + c_s V_s}{V_o + V_s} = 10^{\frac{E-k}{S}} \quad (4)$$

Preuređivanjem jednadžbe (24), dobije se jednadžba (25):

$$10^{\frac{E}{S}}(V_o + V_s) = 10^{\frac{k}{S}}c_X V_o + 10^{\frac{k}{S}}c_s V_s \quad (5)$$

Kada se odziv senzora sa standardnim dodatkom podijeli s odzivom bez standardnog dodatka dobije se jednadžba (26), a preuređivanjem te jednadžbe dobije se konačna jednadžba (27):

$$\frac{10^{\frac{E_1-k}{s}}(V_o + V_s)}{10^{\frac{E_0-k}{s}} \cdot V_o} = \frac{c_X V_o + c_s V_s}{c_X V_o} \quad (6)$$

$$10^{\frac{E_1-E_0}{s}}(V_o + V_s) = V_o + \frac{1}{c_X} c_s V_s \quad (7).$$

Ovisnost  $10^{\frac{E_1-E_0}{s}}(V_o + V_s)$  prema  $c_s V_s$  rezultira linearnim pravcem kojem je odsječak na x-osi jednak negativnoj vrijednosti koncentracije TBZ-a u uzorku prije dodatka standarda. Odsječak na x-osi se računa prema jednadžbi (28):

$$x - \text{odsječak} = -\frac{b}{m} = -\frac{10^{\frac{k}{s}} c_X V_o}{10^{\frac{k}{s}}} = -c_X V_o \quad (28).$$

Koncentracija TBZ-a u originalnoj nepoznatoj otopini ( $C$ ) može se odrediti dijeljenjem s nepoznatom otopinom uzorka ( $V$ ), što je prikazano jednadžbom (29):

$$C = \frac{c_X V_o}{V} \quad (29).$$

Uzimajući u obzir volumen uzorka, lako se može izračunati koncentracija TBZ-a u uzorcima. Usporedba rezultata određivanja TBZ-a u čistim sustavima (otopine TBZ-a poznatih koncentracija) pomoću TBZ-SAL senzora, dobivenih direktnom potenciometrijom i Granovom metodom prikazana je u tablici 6. S obzirom na nisku koncentraciju TBZ-a u uzorcima i činjenicu da je direktna potenciometrija poznata kao metoda na koju lako utječu različiti čimbenici, rezultati dobiveni primjenom obje metode su prihvatljivi. Međutim, nešto bolji rezultati dobiveni su Granovom metodom, što je bilo i očekivano s obzirom da se Granova metoda temelji na metodi standardnog dodatka. U otopinama s nižim koncentracijama TBZ-a došlo je do većih odstupanja u točnosti što je također bilo očekivano. Na temelju dobivenih rezultata, Granova metoda je odabrana za određivanje TBZ-a u realnim uzorcima (kore voća).

Tablica 6. Rezultati određivanja TBZ-a u čistim sustavima dobiveni direktnom potencijometrijom i Granovom metodom korištenjem TBZ-SAL senzora<sup>a)</sup>.

Dodan TBZ [mol/L]	Određen TBZ [mol/L]		Točnost [%]	
	Direktna potencijometrija	Granova metoda	Direktna potencijometrija	Granova metoda
$3,00 \cdot 10^{-4}$	$3,39 \cdot 10^{-4}$	$3,26 \cdot 10^{-4}$	113,0	108,7
$1,00 \cdot 10^{-4}$	$1,15 \cdot 10^{-4}$	$1,05 \cdot 10^{-4}$	115,0	105,0
$3,50 \cdot 10^{-5}$	$3,81 \cdot 10^{-5}$	$3,54 \cdot 10^{-5}$	108,9	101,1
$1,00 \cdot 10^{-5}$	$1,22 \cdot 10^{-5}$	$1,13 \cdot 10^{-5}$	122,0	113,0
$3,00 \cdot 10^{-6}$	$2,34 \cdot 10^{-6}$	$2,42 \cdot 10^{-6}$	78,0	80,7

a) prosjek 3 mjerenja

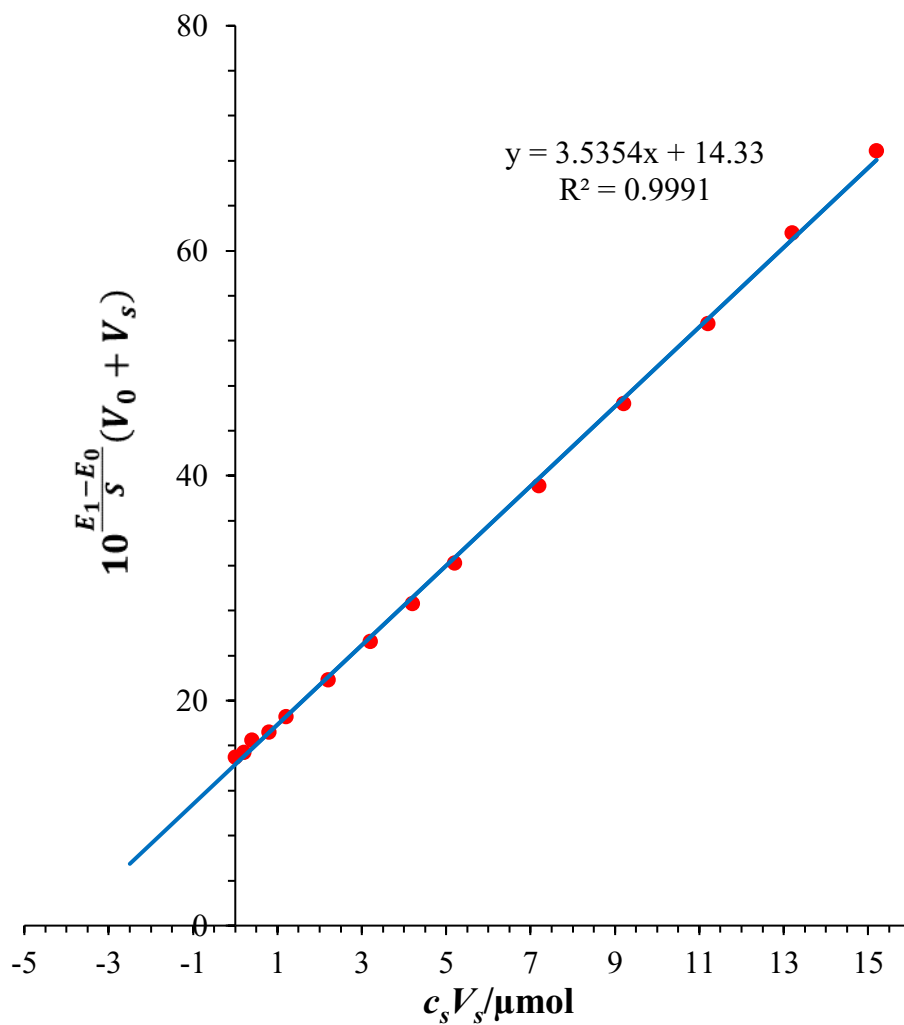
Nakon potvrde točnosti TBZ-SAL senzora, koncentracija TBZ-a u kori limuna, naranče i banane određena je gore opisanom Granovom metodom. Poznati dodatak TBZ-a ( $c = 2,0 \cdot 10^{-3}$  mol/L) korišten je za utvrđivanje utjecaja mogućih interferenata iz matriksa i točnosti određivanja TBZ-a. Rezultati ovih mjerenja prikazani su u tablici 7.

Tablica 7. Rezultati određivanja TBZ-a u realnim sustavima (kore voća) dobiveni Granovom metodom i korištenjem TBZ-SAL senzora<sup>a)</sup>.

Uzorak	Određen TBZ [mol/L]	Određen TBZ [mg/g kore]	Dodan TBZ [mol]	Određen TBZ [mol]	Točnost [%]
<b>Naranča</b>	$2,69 \cdot 10^{-4}$	0,084	$1,00 \cdot 10^{-5}$	$1,05 \cdot 10^{-5}$	105,3
<b>Limun</b>	$1,29 \cdot 10^{-4}$	0,039	$1,00 \cdot 10^{-5}$	$1,02 \cdot 10^{-5}$	102,4
<b>Banana</b>	$7,33 \cdot 10^{-5}$	0,044	$1,00 \cdot 10^{-5}$	$1,07 \cdot 10^{-5}$	107,0

a) prosjek 3 mjerenja

Rezultati potvrđuju točno određivanje TBZ-a u kompleksnom matriksu. Iako se TBZ može pronaći u realnim uzorcima u širokom rasponu koncentracija, dobivene koncentracije u voću kupljenom u lokalnim trgovinama pomoću TBZ-SAL senzora usporedive su s rezultatima koje su dobili Blazhnevskiy i sur. (2016) [18]. Primjer kalibracijskog pravca dobivenog određivanjem TBZ-a u narančinoj kori Granovom metodom prikazan je na slici 20.



Slika 20. Kalibracijski pravac dobiven određivanjem TBZ-a u narančinoj kori Granovom metodom.

## 5. ZAKLJUČAK

Pripremljeni su i uspoređeni TBZ-SAL senzori sa šest različitih plastifikatora i tri različita udjela senzorskog materijala. Senzor s DS-om kao plastifikatorom i 1 % senzorskog materijala je pokazao najbolje odzivne karakteristike i odabran je za daljnja ispitivanja. Imao je mjerno područje u rasponu od  $8,6 \cdot 10^{-7}$ - $1,0 \cdot 10^{-3}$  mol/L sa super-Nernstovskim nagibom (62,2 mV po dekadi aktiviteta). Vrijeme odziva senzora je bilo 8 sekundi, mjerno pH područje je bilo od 2 do 4 te je pokazao dobru selektivnost prema TBZ-u. Kao jedini interferenti pokazali su se imazalil i 2-fenilfenol. Na temelju svih ovih parametara, TBZ-SAL senzor je korišten za određivanje TBZ-a u realnim uzorcima (kore naranče, limuna i banane). Točnost senzora je uspoređena određivanjem TBZ-a u čistim otopinama korištenjem direktne potenciometrije i Granove metode. Budući da su bolji rezultati dobiveni Granovom metodom, ona je odabrana za određivanje TBZ-a u realnim uzorcima. Točnost određivanja TBZ-a u uzorcima kore voća dodatno je utvrđena metodom standardnog dodatka. Na temelju provedenih mjerenja, može se zaključiti da se novorazvijeni potenciometrijski TBZ-SAL senzor može uspješno koristiti za određivanje TBZ-a u realnim uzorcima pomoću Granove metode.



## 6. LITERATURA

- [1] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Thiabendazole> (16.11.2021.)
- [2] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/benzimidazole> (17.11.2021.)
- [3] <https://www.guidechem.com/dictionary/en/148-79-8.html> (16.11.2021.)
- [4] H. D. Brown, A. R. Matzuk, I. R. Ilves, L. H. Peterson, S. A. Harris, L. H. Sarett, J. R. Egerton, J. J. Yakstis, W. C. Campbell, A. C. Cuckler, *Journal of the American Chemical Society* **83** (1961) 1764-1765
- [5] V. Grenda, R. Jones, G. Gal, M. Sletzing, *The Journal of Organic Chemistry* **30** (1965) 259-261
- [6] C. Zhang, B. Zhong, S. Yang, L. Pan, S. Yu, Z. Li, S. Li, B. Su, X. Meng, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **23** (2015) 3774-3780
- [7] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK116072/> (21.11.2021.)
- [8] Q. A. McKellar, E. W. Scott, *The Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* **13** (1990) 223-247
- [9] R. Vardanyan, V. J. Hruby, *Synthesis of Essential Drugs*, 1<sup>st</sup> Edition, Elsevier, 2006.
- [10] H. J. Robinson, H. F. Phares, O. E. Graessle, *Ecotoxicology and Environmental Safety* **1** (1978) 471-476
- [11] P. M. Allen, D. Gottlieb, *Applied Microbiology* **20** (1970) 919-926
- [12] J. D. Jamieson, E. B. Smith, D. K. Dalvie, G. J. Stevens, G. M. Yanochko, *Toxicology in Vitro* **25** (2011) 1061-1066
- [13] T. Mizutani, K. Suzuki, M. Murakami, K. Yoshida, K. Nakanishi, *Research Communication in Molecular Pathology and Pharmacology* **1** (1996) 89-101
- [14] J. K. Aronson, *The International Encyclopedia of Adverse Drug Reactions and Interactions*, 15<sup>th</sup> Edition, Elsevier, 2006.
- [15] P. Wexler, *Encyclopedia of toxicology*, 3<sup>rd</sup> Edition, Elsevier, London, 2014.
- [16] <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017R0157&from=EN> (22.11.2021.)
- [17] <https://noshly.com/additive/233/preservative/233/#.YZq8GNDMJPY> (22.11.2021.)

- [18] M.Y. Blazheyevskiy, O.V. Volnyanska, V. Oksana, O.A. Brizitskiy, , O.A. Brizitskiy, V.I. Tkach, *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry* **5** (2016) 271-281
- [19] D. A. Skoog, F. J. Holler, *Fundamentals of analytical chemistry*, 9<sup>th</sup> Edition, Brooks/Cole, Belmont, 2014.
- [20] I. Piljac, *Senzori fizikalnih veličina i elektroanalitičke metode*, Zagreb, 2010.
- [21] W. Vonau, *Encyclopedia of Applied Electrochemistry*, **48** (2014) 1692-1697
- [22] <https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=standardna+vodikova+elektroda> (19.11.2021.)
- [23] M. Karnaš, N. Sakač, M. Jozanović, M. Tsakiri, M. Kopriva, E. Kovač-Andrić, M. Sak-Bosnar, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **12** (2017) 5921 – 5933
- [24] [https://www.fkit.unizg.hr/\\_download/repository/skripta-kemija-finalno.pdf](https://www.fkit.unizg.hr/_download/repository/skripta-kemija-finalno.pdf) (20.11.2021.)
- [25] M. Buzuk: *Razvoj senzora za određivanje ionskih vrsta u vodenom mediju*, Disertacija, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Zagreb, Zagreb, 2010.
- [26] <https://www.fishersci.pt/shop/products/5-sulfosalicylic-acid-dihydrate-99-acros-organics-2/p-193941> (02.12.2021.)

## 7. ŽIVOTOPIS

<b>Osobni podaci</b>	
Ime i prezime	<b>Karlo Bubnjar</b>
Datum i mjesto rođenja	26.11.1996., Zagreb
Adresa	Braće Radić 1
e-mail	<a href="mailto:karlo.bubnjar@gmail.com">karlo.bubnjar@gmail.com</a>
<b>Obrazovanje</b>	
2019.-2021.	<b>Diplomski sveučilišni studij kemije; istraživački smjer</b>  Sveučilište Josip Juraj Strossmayer u Osijeku, Odjel za kemiju, Ulica cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek
2016.-2019.	<b>Preddiplomski sveučilišni studij kemije</b>  Sveučilište Josip Juraj Strossmayer u Osijeku, Odjel za kemiju, Ulica cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek  Završni rad: Odabir titranta za potenciometrijsko određivanje

	<p>anionskih tenzida koristeći senzor s funkcionaliziranim ugljikovim nanocjevčicama</p> <p>Mentor: doc.dr.sc. Mirela Samardžić</p> <p>Neposredni voditelj: dr. sc. Mateja Budetić</p>
2011.-2015.	<b>Srednja škola Koprivnica, farmaceutski tehničar</b>
<b>Osobne vještine</b>	
Materinski jezik	Hrvatski jezik
Strani jezici	<p>Engleski jezik – aktivno u govoru i pismu</p> <p>Njemački jezik – pasivno u govoru i pismu</p>
Računalne vještine	MS Office sustav, ChemDraw