

Određivanje konstante disocijacije površinski samoformiranih alkantiola terminiranih karboksilnim ili aminskim skupinama elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom

Beriša, Arben

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:491123>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Arben Beriša

ZAVRŠNI RAD

ZAGREB, rujan 2016

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Arben Beriša

**Određivanje konstante disocijacije površinski
samoformiranih alkantiola terminiranih karboksilnim ili
aminskim skupinama elektrokemijskom impedancijskom
spektroskopijom**

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: Izv. prof. dr. sc. Stjepan Milardović

Članovi ispitnog povjerenstva:

Doc. dr. sc. Marijana Kraljić Roković

Dr. sc. Lidija Furač, viši predavač

ZAGREB, rujan 2016

Sažetak

Ispitivanje samoformirajućih monoslojeva (SAM-ova) na površini zlatne elektrode provedeno je dvjema metodama: cikličkom voltametrijom i elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom. Za tu svrhu korišteni su sljedeći tioli: cisteamin, *n*-acetilcistein i *L*-cistein. Osim karakteristične sulfhidrilne skupine koje sadrže navedeni tioli, sadrže i druge funkcionalne skupine (karboksilne i/ili aminske) koji ioniziraju pri različitim pH vrijednostima što najviše ovisi o samoj strukturi tiola.

Kako bi odredili odgovarajuće pK_a vrijednosti za svaki od tiola pripremljeni su Britton-Robinsonovi puferi u širokom području različitih pH vrijednosti (1,834-10,416). Kao redoks par kojim se prate interakcije samoformirajućih slojeva korišten je heksacianoferatni redoks par, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$. Cikličkom voltametrijom ispitivana je uspješnost formiranja alkantiolnih monoslojeva na površini zlatne elektrode, te su za tu svrhu korišteni acetatni (pH = 4,50) i amonijačni pufer (pH = 8,50). Praćenjem strujnog odziva moglo se zaključiti je li uspješno modificirana zlatna elektroda odgovarajućim tiolom. Promjena otpora prijelazu naboja praćena je elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom. Uočeno je da povećanjem pH vrijednosti pufera raste otpor prijelazu naboja što ukazuje na to da se tioli počinju deprotonirati pa tako dolazi do jačih odbijanja s heksacianoferatnim redoks parom što ima za posljedicu povećanje otpora prijelazu naboja.

Ključne riječi: SAM, cisteamin, *n*-acetilcistein, *L*-cistein, pK_a , puferi, ciklička voltometrija, elektrokemijska impedancijska spektroskopija

Abstract

Assaying self-assembled monolayers (SAM's) on the surface of gold electrodes were carried out by two methods: cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy. For this purpose the following thiols have been used: cysteamine, *n*-acetylcysteine and *L*-cysteine. In addition, the sulfhydryl containing thiols, also incorporate other functional groups (carboxyl and/or amine), which are ionized at different pH values depending mostly on the structure of the thiol.

To determine the appropriate pK_a values for each of the thiol Britton-Robinson buffers have been prepared within a wide range of different pH values (from 1,834 to 10,416). Hexacyanoferrate ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-} / \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$) has been used as a redox probe in aim to follow interaction of tested SAM's. Cyclic voltammetry was investigated to characterize the alkantiole monolayer formation on the gold electrode surface, and for this purpose acetate (pH = 4,50) and ammonium buffer (pH = 8,50) are used. Conclusion about successfully modified gold electrode was made by monitoring the current response change. Charge transition resistance has been monitored by electrochemical impedance spectroscopy. It has been observed that by enlarging the pH increases resistance charge which indicates that the thiols became deprotonated which cause strong rejection by hexacyanoferrate redox pair.

Keywords: SAM, cysteamine, *n*-acetylcysteine, *L*-cysteine, pK_a , buffers, cyclic voltammetry, electrochemical impedance spectroscopy

Sadržaj

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	2
2.1. Kiseline i baze	2
2.1.1. Arrheniusova teorija kiselina i baza	2
2.1.2. Brønsted-Lowryeva teorija kiselina i baza	3
2.1.3. Lewisove kiseline i baze	4
2.1.4. Ionski produkt vode	5
2.1.5. Jakost kiselina i baza	5
2.1.6. Puferske otopine	6
2.2. Elektrokemijski procesi i elektroanalitičke tehnike	8
2.2.1. Teorija elektrokemijskog dvosloja	8
2.2.2. Mehanizam odvijanja elektrodnih procesa	10
2.2.3. Elektrokemijska reakcijska kinetika	11
2.2.4. Ciklička voltametrijia	13
2.2.5. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija	16
2.3. Površinski samoformirajući monoslojevi	22
2.3.1. Definicija i priprema	22
2.3.2. Strukturna obilježja	24
2.3.3. Tiolni samoformirajući monoslojevi na površini zlata	25
2.3.4. Kemisorpcija cisteamina na površini zlatne elektrode	26
2.3.5. Kemisorpcija <i>L</i> -cisteina na površini zlatne elektrode	27
2.3.6. Kemisorpcija <i>n</i> -acetilcisteina na površini zlatne elektrode	28
3. EKSPERIMENTALNI DIO	29
3.1. Kemikalije	29
3.3. Priprema otopina poznatih koncentracija	31
3.4. Priprema zlatne elektrode	32
4. REZULTATI I RASPRAVA	33
4.1. Karakterizacija zlatne elektrode	33
4.2. Karakterizacija zlatne elektrode modificirane s CSA	35
4.3. Karakterizacija zlatne elektrode modificirane s NAC	41
4.4. Karakterizacija zlatne elektrode modificirane s CYS	45
4.5. Analiza impedancijskih spektara	48

5. ZAKLJUČAK	50
6. LITERATURA	51
7. ŽIVOTOPIS	53

1. UVOD

Godine 1946. W. C. Bigelow primijetio je da se molekule heksadekana mogu adsorbirati na površinu platine kao i na staklenim površinama. Ustanovljeno je da dugolančani alkilni lanci adsorpcijom na različite površine mogu smanjiti hrapavost površine. Međutim, takvi tanki filmovi organskih molekula na različitim anorganskim supstratima privukli su značajnu pozornost tek posljednjih 30 godina. Zbog svoje svestranosti i strukture nalaze široku primjenu kao premazi za zaštitu od korozije, u optoelektronici, te za razvoj različitih kemijskih i elektrokemijskih senzora. Glavna karakteristika takvih tankih samoformirajućih filmova organskih molekula jeste mogućnost dobivanja željenih svojstava površina adsorpcijom određenih funkcionalnih skupina na odgovarajući supstrat. Najpoznatiji primjeri samoformirajućih monoslojeva opisani u literaturi su: tiolni monoslojevi na površini zlata, alkil-triklorsilani na hidroksiliranim površinama i alkil-fosfonati na površini cirkonija^[1].

Ovaj rad bavi se proučavanjem površinski samoformiranih alkantiola na površini zlata. Osim karakteristične sulfhidrilne funkcionalne skupine, neki od tiola sadrže karboksilne, odnosno aminske skupine. Cikličkom voltametrijom pratili smo formiranje tiola na površini zlatne elektrode tako što smo uočavali promjene strujnog odziva u kiselom (acetatnom puferu) i lužnatom (amonijačnom puferu) mediju. Za praćenje strujnih odziva korišten je heksacianoferatni redoks par. Elektrostatske interakcije između redoks para i nabijene površine rezultirale su promjenama u strujnom odzivu. Ako dolazi do privlačenja redoks para s tiolom modificiranom površinom zlata dolazi do povećanja strujnog odziva, odnosno do smanjenja strujnog odziva ukoliko je površina dovoljno negativno nabijena. Elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom pratila se promjena otpora prijelazu naboja ispitivanih tiola pri različitim pH vrijednostima. Iz ovisnosti otpora prijenosa naboja o pH vrijednosti određene su pK_a vrijednosti površinski vezanih tiola.

2. OPĆI DIO

2.1. Kiseline i baze

Prva saznanja o kiselinama i bazama datiraju još iz antičkog doba kada su ljudi smatrali da su kiseline tvari koje ubrzavaju koroziju metala i otapaju neke stijene, dok su baze sve tvari koji poništavaju djelovanje kiselina. Krajem 18. stoljeća francuski kemičar Antonie Laurent Lavoisier pokušao je preciznije definirati kiseline i baze s obzirom na njihovu strukturu. Pretpostavio je da su svi kemijski spojevi koji sadrže kisik kiseline, no nedugo nakon toga otkrilo se da postoje i drugi spojevi koji ne sadrže kisik, a također pokazuju svojstva kiselina. Tek krajem 19. stoljeća razvijaju se prve teorije o kiselinama i bazama kakve danas poznajemo, među kojima su: Arrheniusova teorija, Brønsted-Lowryeva i Lewisova teorija kiselina i baza^[2].

Pojmovi kiselosti i bazičnosti otopina važni su za razumijevanje formiranja SAM-ova na površini zlatne elektrode jer se promjenom pH vrijednosti medija može znatno mijenjati površinski naboj modificirane površine.

2.1.1. Arrheniusova teorija kiselina i baza

Švedski kemičar Svante August Arrhenius kiseline, HA, definira kao tvari koje disocijacijom u vodi daju hidronijev ion, H⁺ i kiselinski ostatak, A⁻:



Nastali hidronijev ion, H⁺, nije stabilan u vodenim otopinama, pa se veže na slobodne elektronske parove molekule vode, pri čemu nastaje stabilan oksonijev ion, H₃O⁺:



Sukladno tome baze, BOH, definira kao tvari koje disocijacijom u vodenim otopinama daju hidroksidni ion, OH⁻:

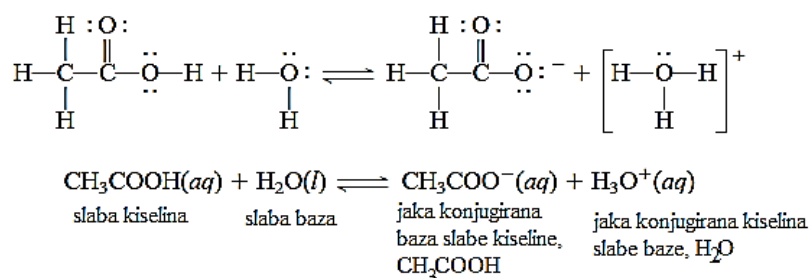


Međutim, ova teorija nije uvijek pravovaljana^[3]. Naime, disocijacijom vode nastali oksonijev i hidroksidni ion uzrokuju elektroneutralnost vode što nije u skladu s

Arrheniusovom teorijom. S druge strane Arrheniusova teorija ne objašnjava bazična svojstva amonijaka jer baze definira isključivo kao otopine hidroksida kao što su primjerice NaOH odnosno Ca(OH)₂. Danski kemičar Johannes Brønsted i engleski znanstvenik Thomas Lowry nadopunili su Arrheniusovu teoriju te tako proširili poimanje kiselina i baza.

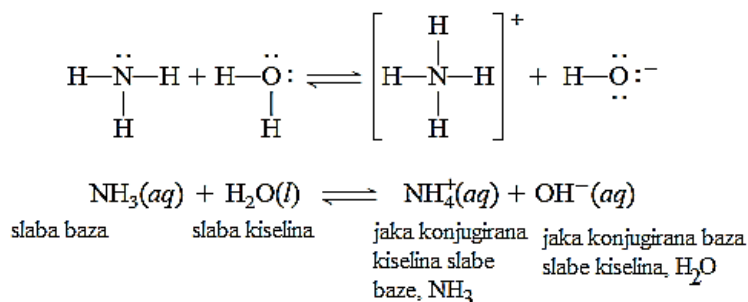
2.1.2. Brønsted-Lowryeva teorija kiselina i baza

Brønsted i Lowry definiraju kiseline (slika 1) kao tvari koje doniraju protone uz prisustvo baze koja prima te protone. Što je kiselina jača ona lakše otpušta protone, pa je njezina konjugirana baza slabija.



Slika 1. Ponašanje etanske (octene) kiseline prema Brønsted-Lowryevoj teoriji. Kako je etanska kiselina proton donor, voda se ponaša kao baza primajući protone od strane etanske kiseline. Nastali acetatni ion i etanska kiselina čine par konjugirana baza/kiselina^[3].

Brønstedove baze (slika 2) su tvari koje mogu primiti proton, odnosno sve molekulske vrste koje nastaju otcjepljenjem protona od kiseline. Kako baza veže proton, tj. nukleus vodikova atoma, kažemo da je baza nukleofilna čestica. Tako je svaka kiselina elektrofilna čestica jer se veže na slobodne elektronske parove baze.



Slika 2. Ponašanje amonijaka kao slabe baze prema Brønstedu^[3].

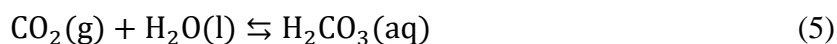
2.1.3. Lewisove kiseline i baze

Gilbert Newton Lewis baze opisuje kao sve molekulske ili ionske vrste koje imaju prisutne slobodne elektronske parove, a kiseline kao elektron akceptore koji mogu primiti nevezne elektronske parove baze (slika 3).

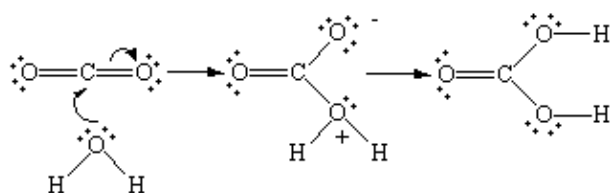


Slika 3. Lewisove kiseline i baze.

Primjenom Lewisove teorije možemo objasniti topljivost ugljikovog(IV) oksida u vodi pri čemu dolazi do nastanka ugljične kiseline, H_2CO_3 :



U toj reakciji voda djeluje kao elektron donor (Lewisova baza), dok se CO_2 ponaša kao elektron acceptor (Lewisova kiselina). Najprije dolazi do pucanja dvostruke $\text{C}=\text{O}$ veze molekule ugljikovog(IV) oksida, kako bi se jednostrukom vezom ugljikov atom ugljične kiseline vezao na molekulu vode, pri čemu atom kisika u vodi postaje pozitivno nabijen. Kako bi se postigla elektroneutralnost H_2CO_3^+ , vodikov atom molekule vode veže se na negativno nabijen atom kisika ugljične kiseline kako je prikazano na slici 4^[4].



Slika 4. Topljivost ugljikovog dioksida u vodi tumačeno na temelju Lewisove teorije kiseline i baza.

Glavna prednost ove teorije, u odnosu na prehodno opisane, je što dodatno proširuje broj kiselina i baza. Tako kiselinama možemo smatrati sve metalne ione, odnosno sve katione i sve molekulske vrste koje nemaju slobodan elektronski par (BF_3 , AlCl_3), a bazama možemo smatrati sve anione i molekulske vrste koje imaju slobodne elektronske parove (NH_3 , H_2O , purinske i pirimidinske baze itd.).

2.1.4. Ionski produkt vode

Iz navedenih teorija kiselina i baza možemo zaključiti da voda zapravo može djelovati i kao kiselina i kao baza. Prema kiselinama djeluje kao baza, dok prema bazama djeluje kao kiselina. Takve tvari koje mogu djelovati kao kiselina i kao baza nazivamo amfolitima. Autoprotolizu vode možemo prikazati sljedećom jednadžbom kemijske reakcije^[3]:



Konstanta ravnoteže koja opisuje reakciju autoprotolize vode nazivamo konstantom ionskog produkta vode:

$$K_w = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]^2} \quad (7)$$

Kako se voda uvijek nalazi u velikom suvišku njezina je koncentracija nepromjenjiva, stoga je možemo zanemariti u izrazu za konstantu ravnoteže. Pri 25°C i pri pH = 7 koncentracije oksonijevog i hidroksidnog iona su jednake i iznose $10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$, stoga konstanta ionskog produkta vode pri tim uvjetima iznosi, $K_w = 10^{-14} \text{ mol}^2 \text{ dm}^{-6}$:

$$K_w = [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-] = [10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}] \cdot [10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}] = 10^{-14} \text{ mol}^2 \text{ dm}^{-6} \quad (8)$$

Pomoću tog izraza možemo iz poznate koncentracije oksonijevog iona izračunati koncentraciju hidroksidnog iona. Logaritmiranjem izraza za konstantu ionskog produkta vode dobivamo izraze za računanje pH, odnosno pOH što ne predstavlja ništa drugo nego logaritamsku vrijednost koncentracije oksonijevog, odnosno hidroksidnog iona.

$$K_w = [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-] = 10^{-14} \text{ mol}^2 \text{ dm}^{-6} \quad (9)$$

$$\text{p}K_w = \text{pH} + \text{pOH} = 14 \quad (10)$$

2.1.5. Jakost kiselina i baza

Jaku kiselinu definiramo kao tvar koja u vodenoj otopini u potpunosti disocira na H^+ ione, dok slabe kiseline ne disociraju u potpunosti jer je uvijek prisutna određena koncentracija nedisocirane kiseline, HA. Slično je i s bazama, jaka baza je ona koja u potpunosti disocira na hidroksidne ione, OH^- . Neka je kiselina, HA kako slijedi:



Ako je kiselina jaka ravnoteža je pomaknuta skroz udesno, dok se kod slabih kiselina uvijek uspostavlja ravnoteža između disociranog H^+ i nedisocirane molekule kiseline HA, što definiramo odgovarajućom konstantom ravnoteže kiseline, K_a :

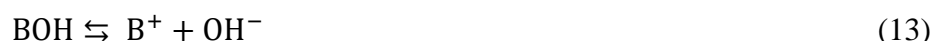
$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} \quad (12)$$

Jake kiseline, kao što su npr. sumporna, H_2SO_4 , dušična, HNO_3 , perklorina, $HClO_4$, imaju vrijednosti konstante ravnoteže veće od 1, $K_a > 1$, te su u potpunosti disocirane. Kiseline čije su vrijednosti konstante ravnoteže manje od 1, $K_a < 1$, su slabe kiseline kao npr: fluorovodična kiselina, HF, dušikasta kiselina, HNO_2 , te ugljična kiselina, H_2CO_3 . U literaturi se najčešće vrijednosti konstante ravnoteže kiseline (tablica 1) izražavaju kao logaritamske vrijednosti, $pK_a = -\log K_a$, pa tako jake kiseline imaju vrijednosti pK_a manje od 0.

Tablica 1. Vrijednosti pK_a za neke kiseline^[5,6]

Kiselina	Formula	pK_a
Fluorovodična	HF	3,17
Klorovodična	HCl	-8,00
Bromovodična	HBr	-9,00
Jodovodična	HI	-10,0
Jodna	HIO_3	0,80
Klorna	$HClO_3$	-1,00

Slično vrijedi i za baze. Jake baze su one čija je vrijednost konstante disocijacije baze, K_b , veća od 1, primjerice otopine hidroksida metala 1. i 2. skupine.



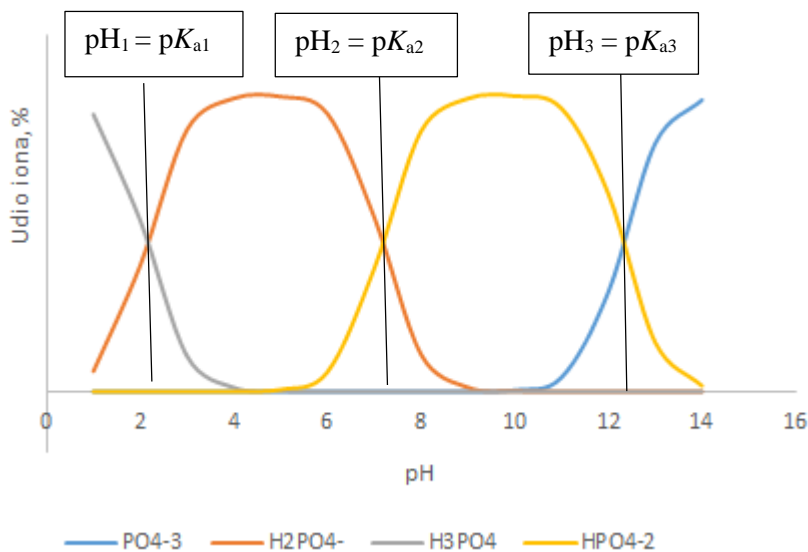
$$K_b = \frac{[B^+][OH^-]}{[BOH]} \quad (14)$$

Obratno, slabe baze, kao npr. amonijak, imaju pK_b vrijednosti veće od 0, $pK_b = -\log K_b$.

2.1.6. Puferske otopine

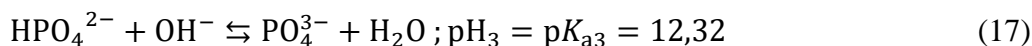
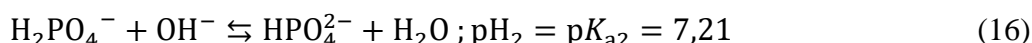
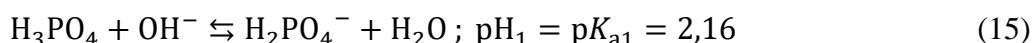
Puferi su otopine slabe kiseline i njihovih soli, odnosno slabe baze i njihovih soli. Tako se npr. acetatni pufer sastoji od octene kiseline i natrijevog acetata, a amonijačni pufer od otopine amonijaka i amonijevog klorida. Karakteristika slabe kiseline je da u vodenoj otopini slabo ionizira, što znači da se u ravnotežnom stanju kiselina nalazi pretežito u

neioniziranom obliku (proton donor) za razliku od soli koja je u pravilu potpuno disocirana. Upravo zbog potpune disocijacije, pufersku sol čine anioni koji djeluju kao bazna komponenta pufera (proton akceptor). Osnovna uloga puferskih otopina jeste da održavaju pH vrijednosti stalnom kako bi se spriječilo da se dodatkom jake kiseline ili jake baze pH vrijednost otopine značajno ne promijeni. Svaki puferski sustav ima područje djelovanja u kojem je najučinkovitiji. Područje djelovanja pufera određuje se iz titracijske krivulje kiseline s jakom bazom (slika 5).



Slika 5. Titracijska krivulja fosforne kiseline s jakom bazom obrađena u programu *Visaul Minteq 3.1*.

Titracija fosforne kiseline jakom bazom odvija se u tri stupnja^[7]:



Kada je polovica kiseline neutralizirana, koncentracije kiseline i konjugirane baze postaju jednake, odnosno pH postaje jednak $\text{p}K_a$. U točki ekvivalencije, kada je sva kiselina neutralizirana, konjugirana baza je jedina komponenta pufera. Puffer je najučinkovitiji kada sadržava obje komponente pufera u jednakoj količini, odnosno kada je pH jednak $\text{p}K_a$. Za puffer fosforna kiselina/dihidrogenfosfat to je pri $\text{p}K_a = 2,16$, odnosno za puferski sustav dihidrogenfosfat/hidrogenfosfat to je $\text{p}K_a = 7,21$ itd. Općenito se uzima da je područje djelovanja pufera $\text{p}K_a \pm 1$, pa je tako fosfatni puffer sustava hidrogenfosfat/fosfat djelotvoran

samo u području pH od 11,32 do 13,32. Za računanje pH vrijednosti puferskih otopina koristi se Henderson-Hasselbalchova jednadžba^[8]:

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (18)$$

Iz jednadžbe je vidljivo da pH pufera ovisi o vrijednosti konstante ionizacije slabe kiseline ili baze, kao i o odnosu koncentracija kisele i bazične komponente pufera u otopini. Kada je pH manje od $\text{p}K_a$ veća je koncentracija nedisocirane vrste u odnosu na koncentraciju disocirane vrste, odnosno ako je $\text{pH} > \text{p}K_a$ veća je koncentracija disocirane vrste^[9].

2.2. Elektrokemijski procesi i elektroanalitičke tehnike

Kako površinu zlatne elektrode želimo modificirati tiolima, potrebno je definirati osnovne pojmove koje se događaju na granici faza elektroda/elektrolit. U ovom poglavlju je objašnjeno što se događa prilikom uranjanja elektrode u otopinu elektrolita, te modeli s kojima opisujemo odgovarajuće fenomene na granici faza elektroda/elektrolit. Za praćenje elektrokemijskih procesa koje se odvijaju na spomenutoj granici faza, koriste se brojne elektroanalitičke tehnike kao što su: potenciometrija, konduktometrija, kulometrija, kronoamperometrija, kronokulometrija i dr. U ovom radu za praćenje modifikacije zlatne elektrode s odgovarajućim alkantiolima korištene su sljedeće elektroanalitičke tehnike: ciklička voltometrija i elektrokemijska impedancijska spektroskopija.

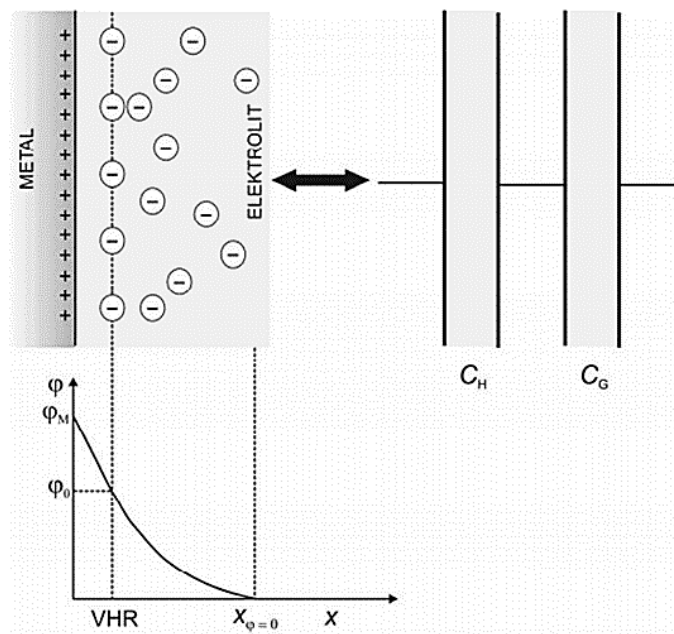
2.2.1. Teorija elektrokemijskog dvosloja

Uranjanjem elektrode u otopinu elektrolita dolazi do stvaranja elektrokemijskog dvosloja i uspostavljanja razlike potencijala između metala od kojeg je sačinjena elektroda i metalnih iona u otopini elektrolita. Takvo nastajanje elektrokemijskog dvosloja opisuju tri modela: Helmholtz-Perrinov, Gouy-Chamapneov i Sternov model. Helmholtz-Perrinov model pretpostavlja da će naboj na elektrodi privući nasumično raspoređene ione iz otopine koji će formirati sloj naboja suprotnog predznaka uz elektrodu. Takav elektrokemijski dvosloj sastoji se od dva sloja naboja, jedan uz površinu elektrode i jedan u masi otopine, između

kojih se potencijal mijenja linearno. Međutim, Helmholtzov model ne opisuje ovisnost kapaciteta dvosloja o potencijalu, koncentraciji elektrolita i temperaturi.

Gouy i Champan elektrokemijski dvosloj opisuju tako da se u elektrolitu formira sloj difuznog naboja, pri čemu se potencijal s udaljenošću od elektrode mijenja eksponencijalno.

Sternov model objedinjuje Helmholtzov i Gouy-Champaneov model elektrokemijskog dvosloja. Naime, dio naboja nalazi se fiksiran na vanjskoj Helmholtzovoj ravnini, a dio je difuzno raspoređen u otopini. Sternov model dvosloja prikazan je na slici 6. U Sternovom modelu, potencijal se mijenja linearno od elektrode do vanjske Helmholtzove ravnine (VHR), a zatim eksponencijalno pada prema nuli u masi otopine.



Slika 6. Sternov model elektrokemijskog dvosloja^[10].

Kapacitet dvosloja u ovom slučaju je analogan kapacitetu dva pločasta kondenzatora spojena u seriju. Ukupni kapacitet dvosloja jednak je:

$$\frac{1}{C} = \frac{1}{C_H} + \frac{1}{C_G} \quad (19)$$

C_H i C_G su Helmholtz-Perrinov i Gouy-Chapmanov kapacitet. Moguće je razmatrati dva granična slučaja. U vrlo razrijeđenim otopinama kapacitet difuznog dijela dvosloja puno je manji od kapaciteta Helmholtzovog dijela ($C_G \ll C_H$), pa je ukupni kapacitet dvosloja određen kapacitetom difuznog dijela. Nasuprot tome, u vrlo koncentriranim otopinama debljina difuznog dijela postaje mala. Kapacitet difuznog dijela, koji je utoliko veći ukoliko je

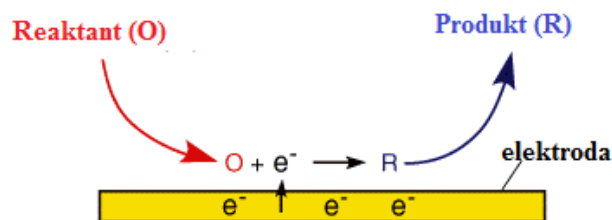
debljina dvosloja manja, Helmholtzov kapacitet ima dominantan utjecaj na ukupni kapacitet. Stoga su 1 mol dm^{-3} otopine soli posebno pogodne za ispitivanje krutog dijela dvosloja jer je kod njih utjecaj difuznog dijela zanemariv. Sternova teorija dvosloja pokazuje dobro slaganje s eksperimentom samo u nekim slučajevima, na primjer u koncentriranim otopinama elektrolita koji se specifično ne adsorbiraju, kao što su otopine $\text{NaF}^{[10]}$.

2.2.2. Mehanizam odvijanja elektrodnih procesa

Elektrodni procesi su kemijske reakcije kod kojih se kemijska promjena odvija putem prijelaza elektrona s elektrode na reaktant ili obrnuto s reaktanta na elektrodu. Elektrodnom reakcijom dolazi do promjene oksidacijskog stanja reaktanta pri čemu su elektrodne reakcije nalik redoks reakcijama koje se odvijaju u homogenoj otopini. Za razliku od homogenih redoks reakcija, elektrokemijske reakcije su tipične heterogene kemijske reakcije jer se odvijaju na samoj granici faza elektroda/elektrolit, pri čemu obuhvaćaju sve pojave karakteristične za heterogene procese. Prijelaz elektrona se odvija u vrlo tankom sloju elektrolita u kontaktu s elektrodom. Ovaj tanki sloj elektrolita se naziva međufaza i posjeduje svojstva različita od mase otopine. Osnovna karakteristika međufaze je da se u njoj javlja pad napona tj. javlja se razlika u električnim potencijalima između elektrode i elektrolita. Razlika u električnim potencijalima između elektrode i elektrolita se ne može eksperimentalno odrediti. Termodinamički proračuni, međutim, procjenjuju red veličine razlike potencijala od nekoliko volti što, uzimajući u obzir vrlo malu debljinu međufazne granice, rezultira u električnim poljima od nekoliko stotina kV m^{-1} pa čak i do MV m^{-1} . Ovako visoka električna polja na međufaznim granicama čvrsto/kapljevina utjecat će u značajnoj mjeri na reakciju prijelaza elektrona^[11].

Prilikom odvijanja elektrokemijske reakcije dolazi do smanjenja koncentracije reaktanata i povećanje koncentracije produkata u međufazi. Ta razlika u koncentraciji zapravo služi kao pokretačka sila za odvijanje elektrokemijske reakcije pri čemu dolazi do prijenosa tvari. Prema tome, tipična elektrokemijska reakcija sastoji se od tri stupnja (slika 7):

1. prijenos reaktanta do površine elektrode;
2. izmjena naboja;
3. prijenos produkta prema masi otopine.



Slika 7. Mehanizam odvijanja elektrokemijske reakcije^[12].

2.2.3. Elektrokemijska reakcijska kinetika

Općenito se elektrokemijska reakcija prikazuje jednačbom:



Kao što je prethodno navedeno elektrokemijski proces podrazumijeva dopremu reaktanata do površine elektrode, zatim slijedi izmjena naboja, a nastali produkt se odvodi tj difundira u masu otopine. Brzina odvijanja elektrokemijske reakcije općenito ovisi o površini elektrode, a opisuje se sljedećim izrazom^[11]:

$$v = \frac{dN_R}{A dt} = - \frac{dN_O}{A dt} = \frac{I}{AnF} = \frac{i}{nF} \quad (21)$$

v = brzina elektrokemijske reakcije ($\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$);

N = količina tvari oksidirane, odnosno reducirane vrste (mol);

A = površina elektrode (cm^2);

I = jakost struje (A)

i = gustoća struje (A cm^{-2});

F = Faradajeva konstanta ($96500 \text{ As mol}^{-1}$);

n = broj razmijenjenih elektrona.

Kinetiku elektrokemijske reakcije uglavnom definiraju dva čimbenika: brzina prijenosa naboja i brzina prijenosa tvari. Ukupna brzina elektrokemijskog procesa određena je brzinom najsporijeg stupnja u ukupnom reakcijskom mehanizmu. Ukoliko je izmjena naboja na granici faza najsporiji stupanj, govori se o reakciji pod aktivacijskom kontrolom, odnosno ukoliko je prijenos tvari do elektrode najsporiji stupanj, reakcija je pod difuzijskom kontrolom.

Kada je sustav pod aktivacijskom kontrolom kinetiku odvijanja elektrokemijske reakcije opisuje Butler-Volmerova jednačba. Gustoća struje izmjene, i_0 , govori o kinetici

reakcije prijelazu naboja. Prvi član u zagradi predstavlja parcijalnu anodnu struju, a drugi član u zagradi parcijalnu katodnu struju:

$$i = i_0 \left[e^{\left(\frac{(1-\alpha)nF(E-E_r)}{RT}\right)} - e^{\left(\frac{-\alpha nF(E-E_r)}{RT}\right)} \right] \quad (22)$$

i_0 = gustoća struje izmjene ($A\ cm^{-2}$);

R = opća plinska konstanta

α = koeficijent prijelaza;

($8,314\ JK^{-1}\ mol^{-1}$);

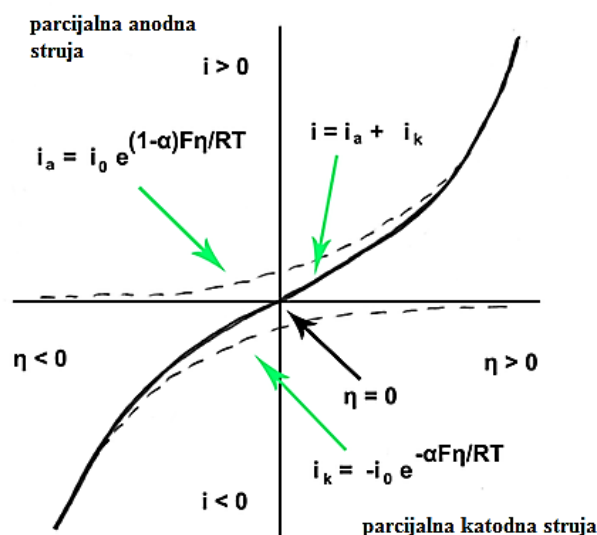
E = narinuti potencijal (V);

T = termodinamička temperatura (K);

E_r = ravnotežni potencijal (V);

n = broj razmijenjenih elektrona.

Butler-Volmerova jednadžba je temeljna jednadžba elektrokemijske kinetike koja daje ovisnost struje o potencijalu elektrode (slika 8). Da bi se prijelaz naboja odvijao određenom brzinom potencijal elektrode mora odstupati od ravnotežnog potencijala za iznos koji ovisi o veličini struje izmjene. Razlika potencijala elektrode kod kojeg teče struja i ravnotežnog potencijala elektrode ($E - E_r$) naziva se aktivacijski prenapon, η . Prenapon će biti veći od nule u slučaju anodnih reakcija, a manji od nule u slučaju katodnih reakcija^[11].



Slika 8. Struja-potencijal krivulja prema Butler-Volmerovoj jednadžbi elektrokemijske kinetike^[13].

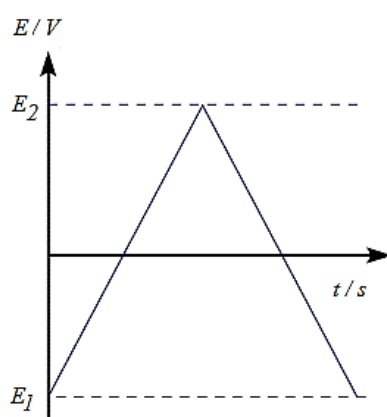
Ako je proces pod kontrolom difuzije onda je brzina prijenosa tvari najsporiji proces, dok je brzina prijenosa naboja najbrži proces. Takvi uvjeti se postižu uglavnom pri dovoljno visokim potencijalima kada brzina prijelaza naboja postane toliko veća od brzine prijenosa tvari da je koncentracija reaktanta na samoj površini elektrode gotovo jednaka nuli i tada se postiže maksimalna struja u elektrokemijskoj reakciji. Visina maksimalne struje ovisit će samo o brzini prijenosa tvari i naziva se granična struja jer ne ovisi o potencijalu elektrode^[11].

Postoje tri načina prijenosa tvari u otopinama:

1. konvekcija – prijenos tvari uslijed djelovanja mehaničke sile na otopinu (npr. miješanje);
2. difuzija – transport tvari iz područja više u područje niže koncentracije;
3. migracija – putovanje električki nabijenih čestica uslijed djelovanja električnog polja.

2.2.4. Ciklička voltametrija

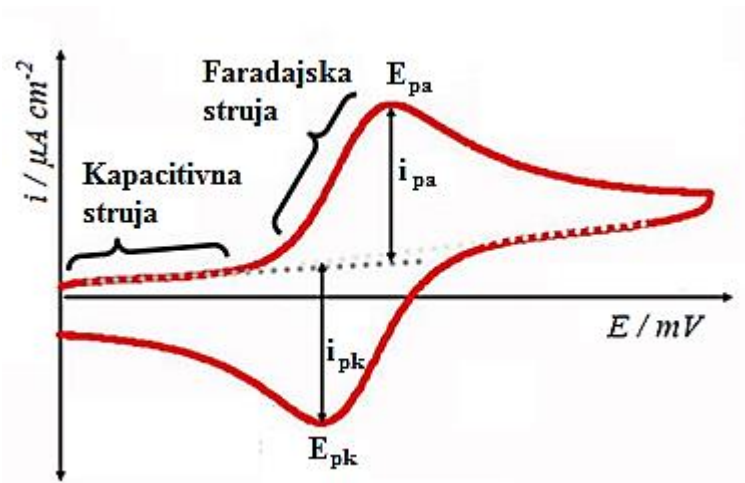
Ciklička voltametrija pripada skupini elektroanalitičkih tehnika mjerenja. Princip metode temelji se na linearnoj promjeni potencijala radne elektrode. Početni ciklus predstavlja promjenu potencijala od nekog početnog do nekog konačnog potencijala, a povratni ciklus od krajnjog prema početnom potencijalu. Na vremenskoj skali takav signal pobude ima karakterističan trokutasti oblik (slika 9).



Slika 9. Signal pobude u cikličkoj voltametriji^[14].

Kao rezultat ovakvog signala pobude na elektrodi se odvija elektrokemijska reakcija koju registriamo kao struja – potencijal krivulju (slika 10). Rezultirajuća odzivna krivulja

naziva se ciklički voltamogram. Karakteristične veličine su potencijali katodnog i anodnog strujnog vrha, (E_{pa} i E_{pk}), visine katodnog i anodnog strujnog vrha, (i_{pa} i i_{pk}), te razlika potencijala strujnih vrhova (ΔE_p).



Slika 10. Ciklički voltamogram.

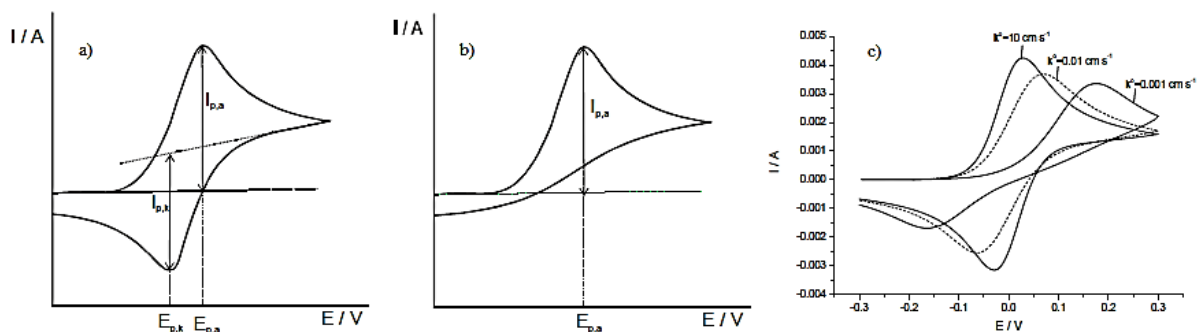
Visina strujnog odziva u cikličkoj voltametriji ovisi o^[15]:

1. koncentraciji elektroaktivne vrste u otopini;
2. broju razmijenjenih elektrona;
3. površini radne elektrode;
4. čimbenicima koji određuju brzinu difuzije odnosno koncentracijski gradijent, uz površinu elektrode.

Kapacitivna struja nastaje uslijed postojanja električnog dvosloja pri čemu dolazi do polariziranja elektrode, ali ne i do odvijanja elektrokemijske reakcije. Kod dovoljno visokih struja prevladava Faradajska struja koja nastaje uslijed izmjene naboja na granici faza elektroda/elektrolit, te dolazi do odvijanja elektrokemijske reakcije. Daljnjom polarizacijom radne elektrode raste parcijalna komponenta anodne struje, odnosno struja oksidacije sve dok se ne postigne maksimalna vrijednost, i_{pa} . Zatim slijedi smanjenje vrijednosti parcijalne anodne komponente struje, ali se i dalje odvija reakcija oksidacije sve dok ne dođemo u područje negativnih prenapona, kada se potencijal radne elektrode negativira, pri čemu parcijalna katodna komponenta struje tj. struja redukcije raste sve do vrijednosti katodnog strujnog vrha, i_{pk} . Radna elektroda se zatim lagano pozitivira do početne vrijednosti i prekida se elektrokemijska reakcija. Daljnim pozitiviranjem i negativiranjem radne elektrode može se napraviti sljedeći ciklus mjerenja cikličkom voltametrijom.

Procesi koji se odvijaju na elektrodi za vrijeme mjerenja cikličkom voltametrijom, mogu se prema brzini prijenosa naboja svrstati u tri skupine^[15,16]:

1. Reverzibilan proces – prijenos naboja je puno brži od difuzije, pa se na površini elektrode u svakom trenutku uspostavlja ravnoteža dana Nernstovom jednadžbom. Struja ovisi o dopremi reaktanta do površine elektrode. Važno je naglasiti da kod reverzibilnih procesa odziv cikličkog voltamograma ne ovisi o brzini promjene potencijala.
2. Ireverzibilan proces – prijenos naboja je jako spor u usporedbi s procesom difuzije. S obzirom da je izmjena naboja spora struja slijedi Butler-Volmerovu kinetiku. Kod ireverzibilnih procesa reakcija se provodi samo u jednom smjeru, te za razliku od reverzibilnih reakcija, nedostaje jedan od strujnih vrhova u cikličkom voltamogramu, najčešće katodni strujni vrh (slika 11).
3. Kvazireverzibilan proces – kod malih brzina promjena potencijala ponaša se kao reverzibilan proces, a porastom brzine promjene potencijala dolazi do odstupanja od reverzibilnog ponašanja. Izgled cikličkog voltamograma je identičan kao i kod reverzibilnih procesa, ali signal odziva ovisi o brzini promjene potencijala.



Slika 11. Strujni odziv za reverzibilan (a), ireverzibilan (b) i kvazireverzibilan (c) proces^[16].

Ciklička voltametrija najčešće se primjenjuje u istraživanju elektrokemijskih procesa i u analitičke svrhe. Te metode posebno su prikladne za utvrđivanje mehanizma elektrokemijskih reakcija i reakcija koje prate elektrokemijsku reakciju.

2.2.5. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija

Mjerenje elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom zasniva se na primjeni izmjenično promjenjivog potencijala male amplitude (5-10 mV), te širokog opsega frekvencija (1 mHz – 1 MHz). Kao odziv prati se amplituda te fazni pomak izmjenično promjenjive struje iste frekvencije. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija je nedestruktivna tehnika temeljena na izmjeničnoj struji (AC tehnika, engl. *alternating current*) koja omogućava prikupljanje velikog broja informacija o ispitivanom elektrokemijskom sustavu. Najčešće se koristi za istraživanje i karakterizaciju fenomena korozije, gorivnih članaka i baterija, premaza i vodljivih polimera, kemijskih modificiranih elektroda i adsorpcijskih filmova, a u novije vrijeme za istraživanje modifikacija elektroda temeljenih na SAM-ovima.

U odnosu na DC tehnike (eng. *direct current*) koje se temelje na istosmjernoj struji, elektrokemijska impedancijska spektroskopija omogućava proučavanje mehanizma reakcije i mjerenje u otopinama niske vodljivosti jer ne dolazi do stvaranja elektrokemijskog dvosloja, odnosno promjene stanja površine elektrode i njezine okoline kao što je to slučaj kod DC tehnika. Kod tehnika temeljenih na teoriji istosmjerne struje otpor je definiran Ohmovim zakonom:

$$R = \frac{E}{I} \quad (23)$$

E = napon (V),

R = omski otpor (Ω),

I = jakost struje (A)

Upotrebom Ohmovog zakona može se, uz pobudni potencijal i izmjerenu struju izračunati otpor ili odrediti bilo koju drugu veličinu ove jednadžbe ako su ostale dvije poznate. Dakle, u DC električnom krugu otpornik je jedini element koji zaustavlja, to jest sprječava protjecanje elektrona. U AC teoriji, gdje je frekvencija različita od nule, definiramo impedanciju, Z :

$$Z = \frac{E}{I} \quad (24)$$

E = napon (V),

Z = impedancija (Ω),

I = jakost struje (A)

Osim otpornika, u AC električnom krugu zavojnice i kondenzatori ometaju tok elektrona. U nekom elektrokemijskom sustavu, tok elektrona mogu spriječiti spora kinetika

elektrokemijske reakcije i difuzija, koji se mogu analogno razmatrati otpornicima, kondenzatorima i zavojnicama koji pružaju otpor protjecanju elektrona u AC krugu.

Na slici 12. prikazan je sinusoidalni val potencijala E primijenjen kroz neki krug i rezultirajući AC strujni val, I . U slučaju mreže čistih otpornika, ta dva vala ne bi bila pomaknuta, tj. bila bi točno u fazi, razlikujući se samo po amplitudi. Takav strujni sinusoidni val može se opisati jednadžbama:

$$I(t) = A \sin(\omega t + \theta) \quad (25)$$

$$E(t) = A \sin \omega t \quad (26)$$

$$\omega = 2\pi f \quad (27)$$

$I(t)$ = trenutačna struja (A),

ω = kutna frekvencija (rad s^{-1}),

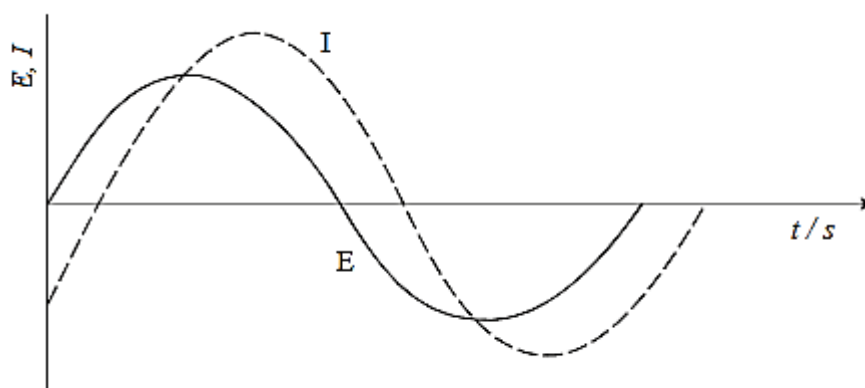
A = maksimalna amplituda,

f = frekvencija (s^{-1}),

t = vrijeme (s),

θ = fazni pomak (rad),

$E(t)$ = trenutačni potencijal (V).

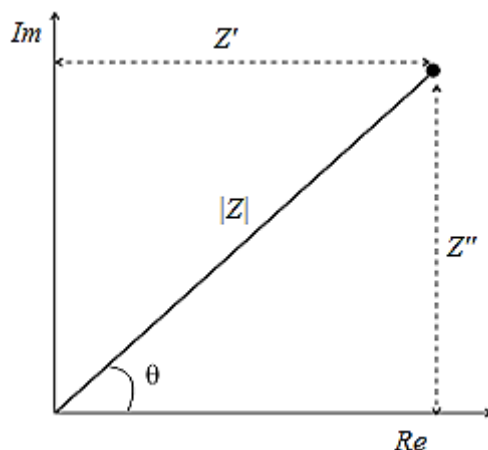


Slika 12. AC val za narinuti potencijal i rezultirajuću struju^[17].

Za pomnije tumačenje rezultirajuće krivlje (slika 12) primjenjuje se vektorska analiza (slika 13). Impedanciju možemo izraziti kao kompleksan broj gdje otpor predstavlja realnu komponentu, Z' , a kapacitet i induktivitet čine imaginarnu komponentu, Z'' . Izmjenična struja koja prolazi kroz otpornik nije pomaknuta u fazi u odnosu na napon tj. fazni kut je nula. Za

prolazak izmjenične struje kroz kondenzator, strujni val je pomaknut za $\frac{\pi}{2}$ (90°) u odnosu na naponski val. Kod zavojnice, strujno fazni pomak se razlikuje za $-\frac{\pi}{2}$ od napona.

Dakle, impedancija elektrokemijskog sustava je kompleksni broj koji možemo izraziti ili u polarnim ili u Kartezijevim koordinatama.



Slika 13. Vektorska analiza sinusoidalne krivulje za AC strujni val.

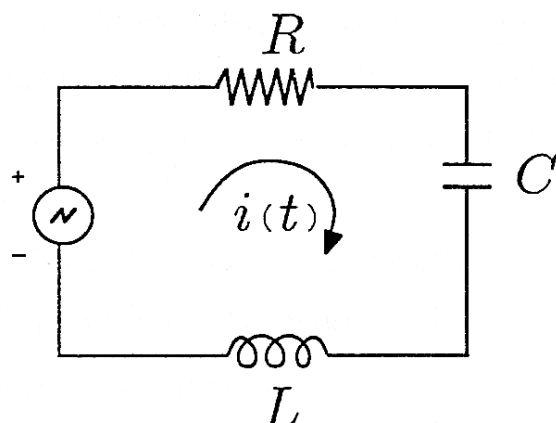
Iz vektorske analize možemo odrediti iznos ukupne impedancije kao i vrijednost faznog kuta. Ukupna vrijednost impedancije jednaka je apsolutnoj vrijednosti impedancije, $|Z|$, koja se može izračunati primjenom Pitagorinog poučka za pravokutan trokut, a fazni pomak se definira kao tangens kuta omjera impedancije imaginarne i realne komponente:

$$|Z| = \sqrt{Z' + Z''} \quad (28)$$

$$\tan \theta = \frac{Z''}{Z'} \quad (29)$$

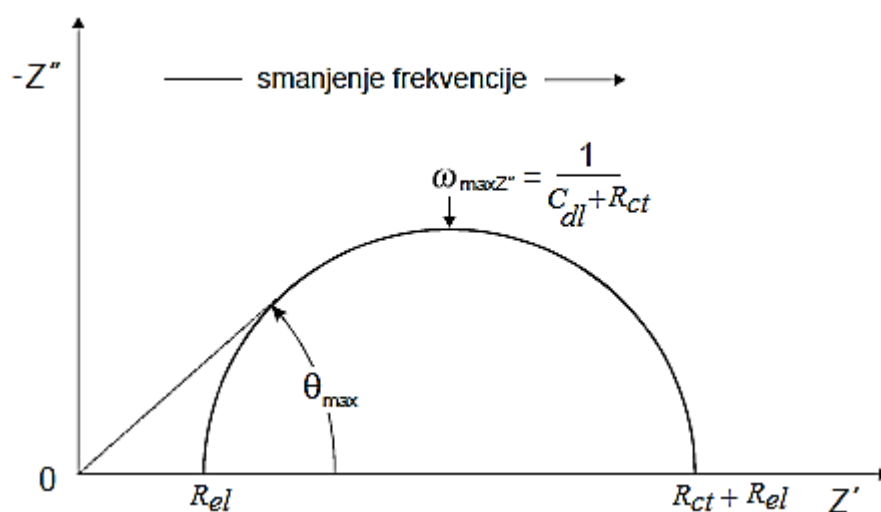
$$\theta = \arctan \left(\frac{Z''}{Z'} \right) \quad (30)$$

Analizu impedancijskih odziva provodimo pomoću ekvivalentnih krugova koji predstavljaju spoj različitih električnih elemenata povezanih serijski ili paralelno. Svaki elektrokemijski proces može se predočiti odgovarajućim ekvivalentnim krugom. Kao što je već navedeno neki općeniti AC strujni krug čine otpornik, R , kondenzator, C i zavojnica, L (slika 14). Svaki od tih elemenata pružaju određeni otpor. Ukupan otpor AC strujnog kruga definira impedanciju, Z .



Slika 14. Najjednostavniji RLC strujni krug^[18].

U elektrokemijskim ispitivanjima gotovo nikada ne susrećemo induktivni efekt pa ga nećemo dalje razmatrati. Podatke dobivene elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom najčešće prikazujemo Nyquistovim i Bodeovim dijagramom. Nyquistov prikaz (slika 15) predstavlja ovisnost imaginarne komponente, Z'' , u odnosu na realnu komponentu, Z' , za svaku izmjerenu frekvenciju.

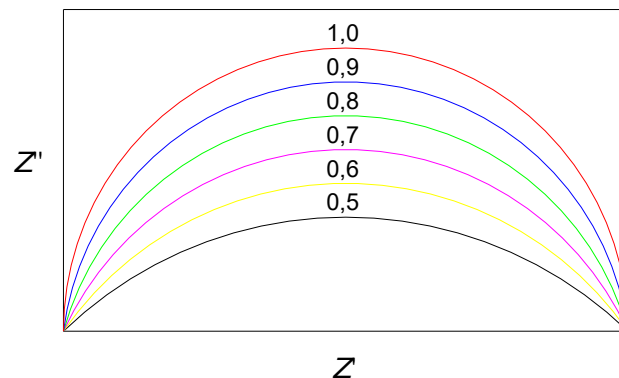


Slika 15. Nyquistov prikaz^[17].

R_{el} predstavlja otpor elektrolita, odnosno otpor između radne i referentne elektrode, R_{ct} je otpor prijelazu naboja ili polarizacijski otpor, a vrijednost C_{dl} predstavlja kapacitet elektrokemijskog dvosloja na granici faza elektroda/elektrolit. Na visokim frekvencijama impedancija je uvjetovana otporom elektrolita i otporom prijelaza naboja, dok na niskim frekvencijama impedancija je uvjetovana čistim otporom.

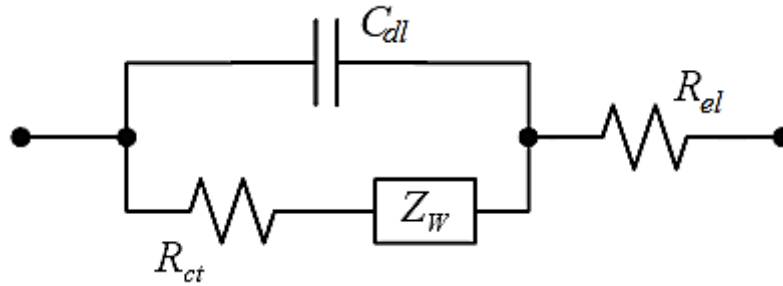
Dakle, pri najvišim i najnižim frekvencijama ponašanje ćelije određeno je otporima. Pri visokim frekvencijama imaginarne komponente vrlo su male, a fazni kut je blizu 0° . U srednjem frekvencijskom području, ćelija postaje više kapacitivna. Približavanjem ka području nižih frekvencija raste imaginarna komponenta, fazni kut približava se 90° i ponašanje ćelije postaje ovisno o frekvenciji. Nedostatak Nyquistovog dijagrama je u činjenici da nije vidljivo na kojoj frekvenciji je snimljena određena točka, te nije moguće očitati kapacitet niti ga izračunati bez poznavanja kutne frekvencije, ω .

U realnim sustavima dobiveni polukrugovi u Nyquistovom dijagramu mogu se nalaziti ispod apscise. Takve snižene polukrugove objašnjavamo prirodom ispitivanog sustava, odnosno smatra se da takvi odzivi nastaju zbog raspodjele naboja po elektrodi uslijed nehomogenosti površine (slika 16). Prema tome kondezator poprima vrijednost, C_{dl}^n , gdje n predstavlja faktor pokrivenosti površine, odnosno nehomogenost površine elektroda. Ako je $n = 1$ onda se sustav ponaša kao idealni kondenzator.



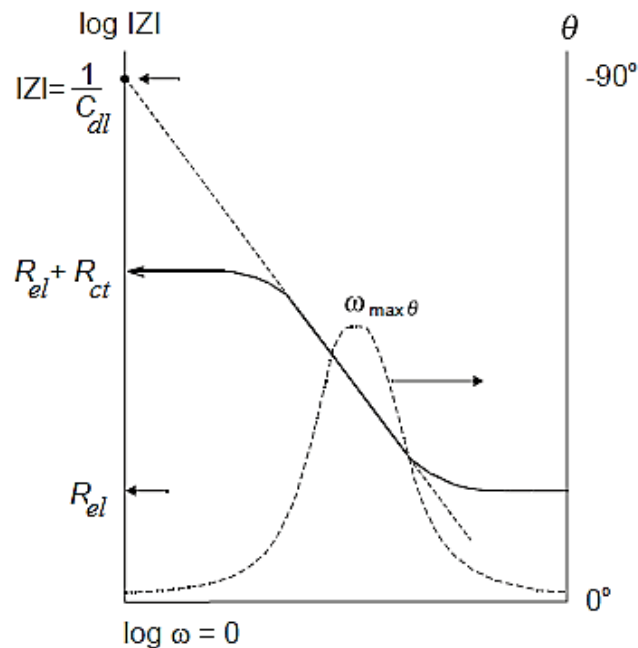
Slika 16. Nyquistov prikaz odziva sustava u ovisnosti o parametru n .

Utjecaj difuzije ionskih vrsta na elektrodi tj. impedanciju koju taj proces izaziva nazivamo Warburgovom impedancijom, Z_w . Vrijednost Warburgove impedancije ovisi o frekvenciji pobude. Pri višim se frekvencijama vrijednost smanjuje zbog male debljine difuzijskog sloja, dok se pri nižim frekvencijama ova vrijednost povećava. Ekvivalentan strujni krug elektrokemijskog sustava u kojoj je uključena Warburgova impedancija naziva se Randlesov strujni krug koji je prikazan na slici 17.



Slika 17. Randlesov strujni krug^[19].

Niz realnih sustava još je uvijek nedovoljno istražen, te se često ekvivalentni strujni krugovi i dobivene impedancijske jednadžbe poznatih sustava primjenjuju prilikom analize nepoznatih. Tada se često javlja problem identifikacije prave strukture ispitivanog sustava samo na osnovu eksperimentalnih podataka, jer različiti strujni krugovi mogu imati isti impedancijski spektar unutar određenog frekvencijskog područja. Za razliku od Nyquistovog prikaza, Bodeov prikaz (slika 18) omogućuje određivanje impedancije koja ovisi samo o kapacitetu elektrokemijskog dvosloja. Bodeovim prikazom opisuje se ovisnost ukupne, odnosno apsolutne impedancije o logaritamskoj vrijednosti kutne frekvencije.



Slika 18. Bodeov prikaz^[20].

2.3. Površinski samoformirajući monoslojevi

Sredina 20. stoljeća bila je vrlo značajna za razvoj površinski samoformirajućih monoslojeva (engl. self assembled layers, SAM-ove). Još 1940-ih godina grupa znanstvenika koje su predvodili W.C. Bigelow i W.A. Zisman proučavali su nekoliko spojeva koji mogu činiti monoslojeve na površini određenog supstrata. Jedan od prvih opisanim samoformirajućih monoslojeva bila je molekula heksadekana adsorbirana na površini platine. Velika prednost SAM-ova nad klasičnim supstratima je u činjenici da modificiranjem površine možemo poboljšati svojstva supstrata. Tako primjerice klasične ugljikove elektrode nisu dostatne za elektroanalizu velikog broja elektroanalitičkih vrsta radi nedovoljne selektivnosti, reproducibilnosti i nepotpunosti reakcije na površini elektrode što ima za posljedicu nestabilnost i slabu osjetljivost odziva prema većini ionskih, odnosno molekulskih vrsta^[21]. Stoga se za površinsku modifikaciju dodaju različiti spojevi koji ubrzavaju prijenos elektrona između elektrode i elektroaktivne tvari. Najčešće se za modifikaciju ugljikove elektrode koriste ftalocijanidi, ciklički ligandi ili organski medijatori, odnosno enzimi.

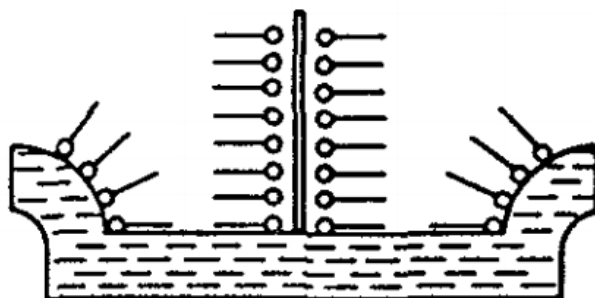
Do danas su istražene brojne vrste SAM-ova, među kojima su najpoznatiji tiolni samoformirajući monoslojevi na površini zlata, alkil triklorsilana na hidrosiliranim površinama, te alkil fosfonatni samoformirajući monoslojevi na površini cirkonija.

2.3.1. Definicija i priprema

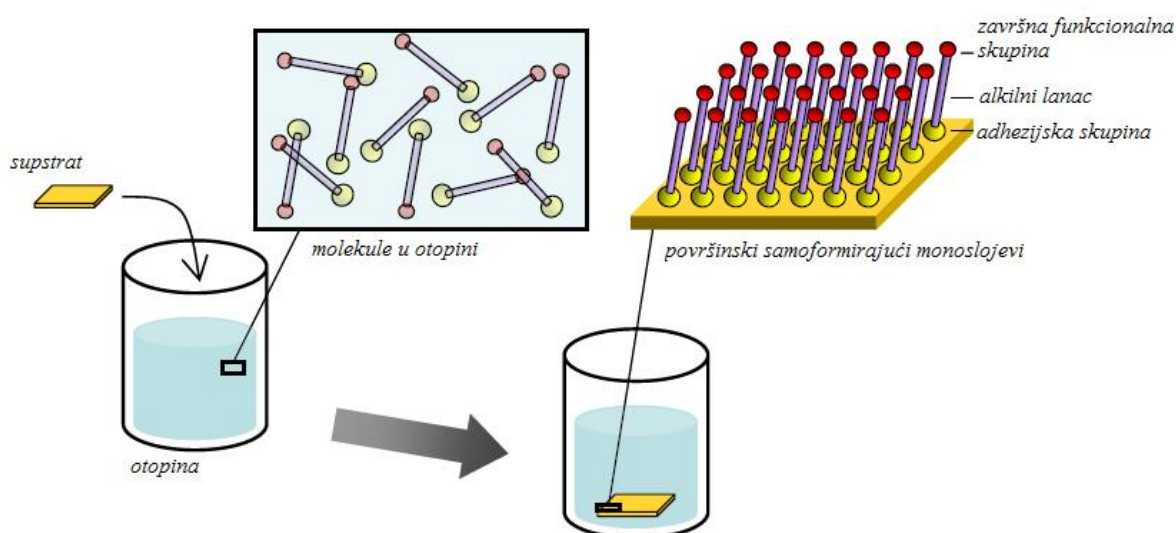
Samoformirajući monoslojevi su zapravo tanki organski slojevi, debljine nekoliko nanometara, a predstavljaju idealan sustav za modificiranje fizikalno-kemijskih svojstava površine elektrode i proučavanja međufaznih procesa. SAM-ovi omogućuju dizajniranje raznih poželjnih svojstava površine. Mogućnosti sinteze organskih molekula, gotovo bez ograničenja, sa željenom strukturom i funkcionalnošću uz sofisticiranu tehnologiju depozicije slojeva omogućavaju proizvodnju električnih, optičkih i biološki aktivnih komponenti na nanometarskoj skali. S takvim funkcionaliziranim površinama moguće je razvijati nove senzore, detektore i komponente elektroničkih sklopova.

Za razliku od klasičnih tankih organskih filmova koje su razvili Langmuir i Blodgett (slika 19), SAM-ovi nastaju spontanom kemisorpcijom organskih molekula iz razrijeđenih

otopina na površini supstrata (slika 20). Organske molekule se zatim spontano organiziraju u stabilan, dobro uređen, gusto pakiran monosloj. Langmuir-Blodgett slojevi nisu termički stabilni, te nisu kemijskim vezama adsorbirani na površini supstrata, stoga imaju tendenciju mijenjena fizikalno-kemijskih svojstava površine.



Slika 19. Prikaz Langmuir-Blodgett slojeva^[22].



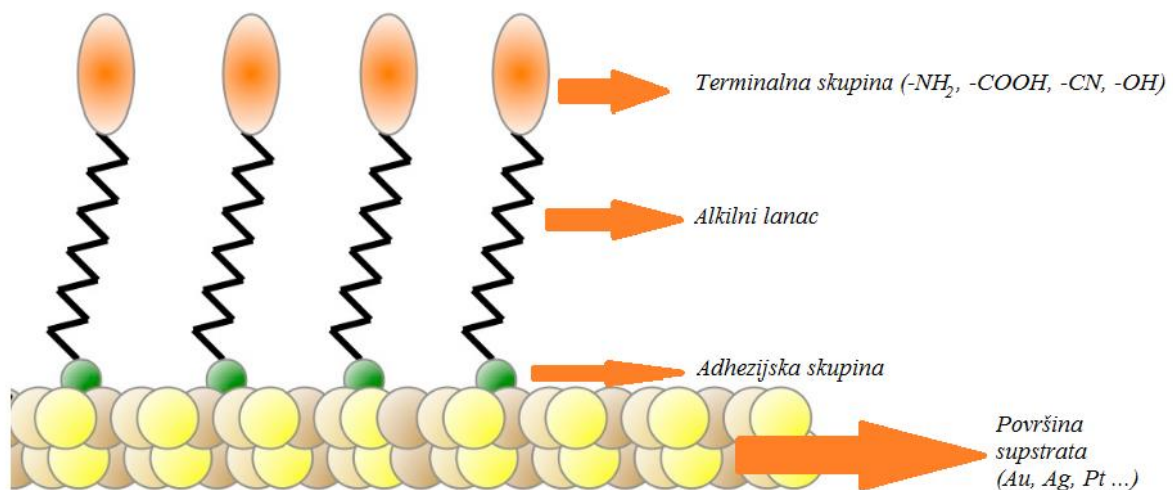
Slika 20. Shematski prikaz pripreme površinski samoformirajućih monoslojeva na površini supstrata^[23].

Nastajanje monoslojeva odvija se u dva stupnja: prvo dolazi do spontane kemisorpcije organskih molekula iz razrijeđene otopine na čvrsti supstrat koja se odvija u nekoliko minuta. Zatim slijedi drugi stupanj u kojem dolazi do spontane reorganizacije adsorbiranih molekula u gusto pakiran monosloj, što obično traje od nekoliko sati do nekoliko dana.

2.3.2. Strukturna obilježja

Općenito strukturalna obilježja samoformirajućih monoslojeva čine tri strukturalne podjedinice (slika 21):

1. Adhezijska skupina ili površinski aktivna „glava“ koja je kemijskom vezom imobilizirana na površini supstrata. Postoji nekoliko adhezijskih skupina koja se vežu na određene metale, metalne okside ili polumetale. Tako se primjerice organosilikati vežu na hidroksiliranim površinama pomoću Si-O veza, tioli se vežu na površinu zlata preko Au-S veze, a karboksilne kiseline se vežu na površini srebra pomoću $\text{COO}^- \text{Ag}^+$ ionske veze.
2. Okosnica, odnosno alkilni lanac koji povezuje adhezijsku skupinu s terminalnom skupinom. Ovaj dio SAM-a utječe na intermolekularne interakcije i orijentaciju molekula. Nadalje, alkilni lanac može osigurati dobro definiranu debljinu sloja kao i utjecati na električnu provodljivost.
3. Završna ili terminalna skupina koja određuje različita kemijska svojstva kao što su površinski naboj, hidrofilni odnosno hidrofobni karakter, reaktivnost i sl. SAM-ovi su najčešće terminirani karboksilnim, aminskim, hidroksilnim ili nitrilnim skupinama^[23].

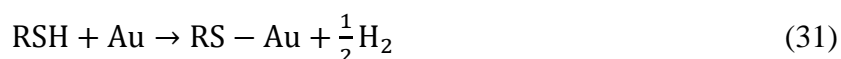


Slika 21. Strukturne podjedinice SAM-a^[24].

Možemo reći da je osnovna pokretačka sila za formiranje ovakvih filmova specifična interakcija između površinski aktivne „glave“ i površine supstrata. Te interakcije su vrlo jake, što čini samoformirajuće monoslojeve vrlo stabilnim.

2.3.3. Tiolni samoformirajući monoslojevi na površini zlata

Tiolni SAM-ovi na površini zlata su zapravo najviše istraživana skupina SAM-ova, a nastaju adsorpcijom alkantiola na površini zlata. Također, zlato se najčešće koristi kao supstrat jer dobro definira površinski samoformirajuće monoslojeve uz mogućnost jednostavne modifikacije. Prednosti zlata kao supstrata su: relativno laka nabava, inertnost i netoksičnost za živi organizam. Kemisorpcija alkantiola na površini zlata ostvaruje se kidanjem sulfidrilne veze pri čemu se dalje sulfidnom vezom alkantiol adsorbira na površini zlata, tvoreći iznimno jaku Au-S vezu koja osigurava stabilnost monosloja i veliku pokrivenost površine. Proces samoformiranja tiola, RSH, možemo predočiti kao reakciju redukcije vodika iz S-H veze uz istovremenu oksidaciju zlata što prikazuje jednačba^[25]:



Priprema samoformirajućih monoslojeva tiola na zlatu je popularna iz sljedećih razloga:

1. priprema SAM-ova je jednostavna, pouzdana i reproducibilna;
2. jednostavno se kontroliraju faktori koji utječu na gustoću površinskog sloja (funkcionalne skupine);
3. osiguravaju mogućnost proizvodnje različitih vrsta biosenzora.

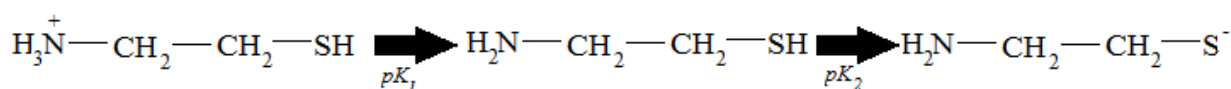
U ovom radu ispitivano je formiranje slojeva cisteamina, *L*-cisteina i *n*-acetilcisteina na površini zlatne elektrode. Svaka od navedenih molekula sadrži karakterističnu sulfhidrilnu, odnosno tiolnu funkcionalnu skupinu. Međutim, cisteamin kao terminalnu skupinu ima samo amino skupinu, dok su *L*-cistein i *n*-acetilcistein terminirani karboksilnim i aaminskim skupinama. *N*-acetilcistein, za razliku od *L*-cisteina, sadrži i acetilnu skupinu. Ciklički voltamogrami takvih modificiranih elektroda imaju otprilike od 5 do 30 % manji strujni odziv u odnosu na čistu zlatnu elektrodu i veću razliku potencijala vrhova vala, odnosno veći otpor prijelazu naboja u impedancijskom spektru.

Vežanjem SAM-ova za površinu zlatne elektrode nastaju stabilni i dobro uređeni monoslojevi, no elektrokemijskim ispitivanjima cikličkom voltametrijom i elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom uočeno je da nije postignuta potpuna pokrivenost površine. Na dijelovima neprekrivene površine događaju se elektrodne reakcije koje su se pritom proučavale spomenutim elektrokemijskim tehnikama.

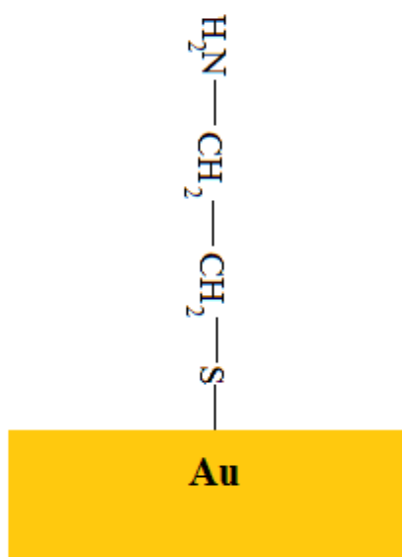
2.3.4. Kemisorpcija cisteamina na površini zlatne elektrode

Cisteamin je najjednostavniji predstavnik aminotiola. Nastaje spontanom degradacijom *L*-cisteina ili reakcijom sumporovodika s etilaminom. Na slobodnom tržištu dolazi u obliku soli kao tartarat ili hidroklorid, poznat pod trgovačkim imenom Cystagon. Koristi se za liječenje cistinurije, genetski nasljedne bolesti koja dovodi do pretjeranog izlučivanja cisteina u ljudskom organizmu pri čemu u bubrezima može doći do nastanka tzv. cisteinskog kamena^[26]. Također, cisteamin je neophodna preteča za sintezu koenzima A koji je odgovoran za metabolizam ugljikohidrata, masti i proteina.

Kako cisteamin u svojoj strukturi sadrži i amino i sulfhidrilnu funkcionalnu skupinu, moguća je ionizacija u tri stupnja. Pri niskim pH vrijednostima terminalna amino skupina biti će pozitivno nabijena, dok pri dovoljno visokom pH dolazi do ionizacije slufhidrilne funkcionalne skupine, a terminalna amino skupina postaje deprotonirana (slika 22). Cisteamin se na površinu zlatne elektrode veže preko sulfhidrilne funkcionalne skupine, kao što je prikazano na slici 23.



Slika 22. Ionizacija funkcionalnih skupina molekule cisteamina u ovisnosti o pH.

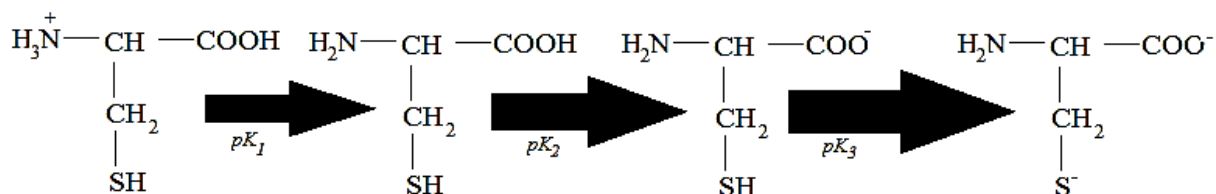


Slika 23. Kemisorpcija cisteamina na površini zlata.

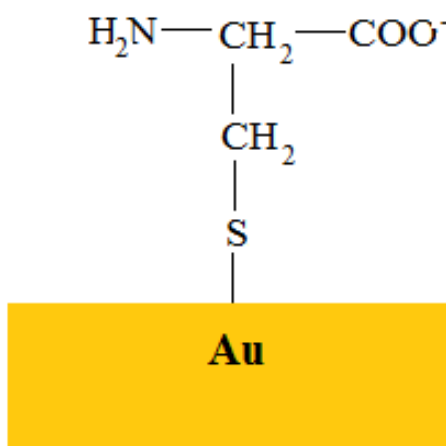
2.3.5. Kemisorpcija *L*-cisteina na površini zlatne elektrode

L-cistein je kemijski spoj koji spada u skupinu neesencijalnih aminokiselina^[27]. Međutim, kod osoba oboljelih od određenih metaboličkih bolesti (malapsorpcijski sindrom), dolazi do poremećaja u biosintezi *L*-cisteina, te se mora dodatno unositi u organizam visokoproteinskom prehranom poput jaja, mlijeka, piletine, brokule i dr. Kao i svaka aminokiselina sadrži karboksilnu i aminsku funkcionalnu skupinu, a u bočnom ogranku sadrži i sulfhidrilnu skupinu. Vrlo je važan u ljudskom organizmu jer tiolni pobočni lanci sudjeluju u enzimskim reakcijama, služeći kao nukleofil. Također, sulfhidrilna veza u molekuli cisteina je podložna oksidaciji pri čemu nastaje disulfidni derivat cistin koji ima važnu ulogu u stabilizaciji proteina zbog nastanka stabilnih disulfidnih mostova među pobočnim lancima.

Zbog posjedovanja aminske, karboksilne i sulfhidrilne funkcionalne skupine, *L*-cistein ionizira u četiri stupnja (slika 24). Kao i kod cisteamina, pH mora biti dovoljno lužnat kako bi se deprotonirala sulfhidrilna skupina, a aminska skupina postala neutralno nabijena. Također, dolazi i do deprotoniranja karboksilne terminalne skupine koja u konačnici postaje negativno nabijena, čime određuje površinski naboj tako modificirane zlatne elektrode (slika 25).



Slika 24. Ionizacija funkcionalnih skupina molekule *L*-cisteina u ovisnosti o pH.

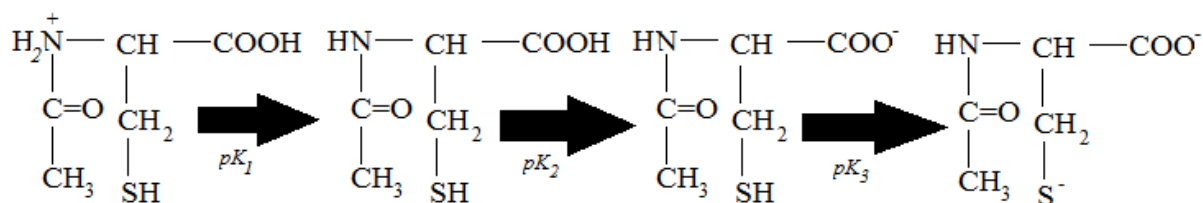


Slika 25. Kemisorpcija *L*-cisteina na površini zlata.

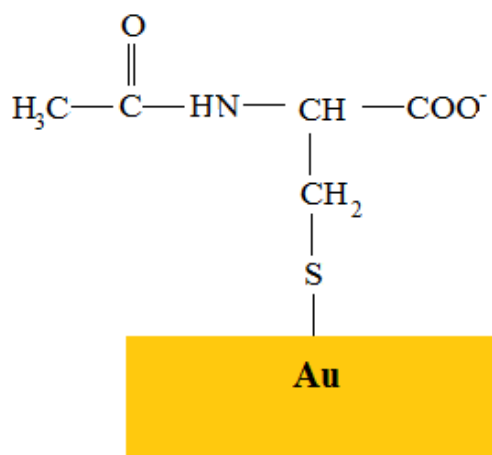
2.3.6. Kemisorpcija *n*-acetilcisteina na površini zlatne elektrode

N-acetilcistein je acetilni analog *L*-cisteina, gdje je acetilna skupina vezana za dušikov atom amino terminirajuće funkcionalne skupine. Posjeduje snažna antioksidativna svojstva, te je vrlo važan za zaštitu jetre. Također je preteča za sintezu glutationa koji je jedan od najjačih poznatih antioksidansa. *N*-acetilcistein jedan je od sekretolitika prve linije. Naime, razlaže disulfidne veze u sluzi pri čemu razrjeđuje gustu i ljepljivu bronhijalnu sluz te tako olakšava iskašljavanje. Time se primjenjuje kao lijek protiv bronhitisa, turbekuloze, upale pluća i sličnih dišnih oboljenja^[28].

Svaka od funkcionalnih skupina *n*-acetilcisteina posjeduje svojstvo ioniziranja pri različitim pH vrijednostima (slika 26). Kao i kod prethodnih tiola, *n*-acetilcistein također formira monoslojeve na površini zlata tek u lužnatom mediju. U konačnici, sulfidnom vezom se adsorbira na površini zlata (slika 27), a terminirajuća karboksilna skupina ostaje negativno nabijena pri čemu ostavlja mogućnost dodatnog vezanja nekih metalnih kationa na već samoformirajući monosloj.



Slika 26. Ionizacija funkcionalnih skupina molekule *n*-acetilcisteina u ovisnosti o pH.



Slika 27. Kemisorpcija *n*-acetilcisteina na površini zlata.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Kemikalije

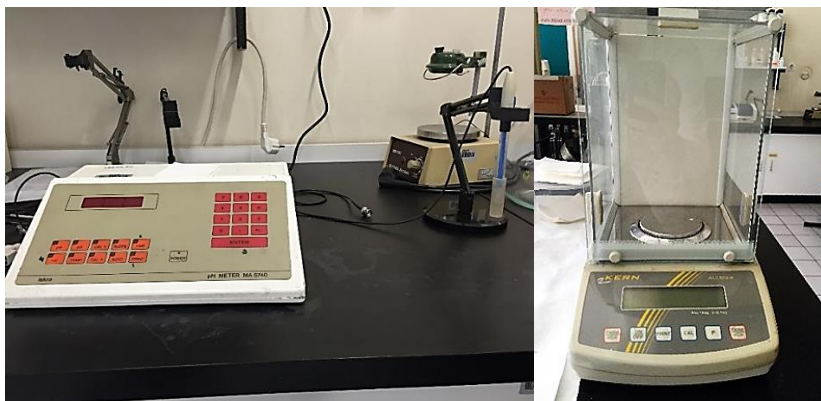
Popis kemikalija koje su uporabljene u eksperimentalnom radu.

- Kalijev heksacianoferat(II) trihidrat, *p.a.* čistoće, proizvođač: Kemika, Hrvatska
- Kalijev heksacianoferat(III), *p.a.* čistoće, proizvođač: Kemika, Hrvatska
- Cisteamonijev klorid, *p.a.* čistoće, proizvođač: Merc-Schunhardt, Njemačka
- *n*-acetilcistein, > 99% čistoće, proizvođač: Sigma-Aldrich, Kina
- *L*-cistein, *p.a.* čistoće, proizvođač: Merck KGaA, Njemačka
- Fosforna kiselina, $w = 85\%$, $\rho = 1,71 \text{ g cm}^{-3}$, proizvođač: T.T.T. Sveta Nedjelja, Hrvatska
- Ledena octena kiselina, $w = 90\%$, $\rho = 1,05 \text{ g cm}^{-3}$, proizvođač: Alkaloid, Makedonija
- Perklorna kiselina, $w = 71\%$, $\rho = 1,68 \text{ g cm}^{-3}$, proizvođač: Merck KGaA, Njemačka
- Borna kiselina, *p.a.* čistoće, proizvođač: Kemika, Hrvatska

Za pripremu odgovarajućih otopina korištena je dvostruko deionizirana voda iz *Millipore-MiliQ* sustava, električne provodnosti, $\kappa = 0,058 \text{ }\mu\text{S cm}^{-1}$.

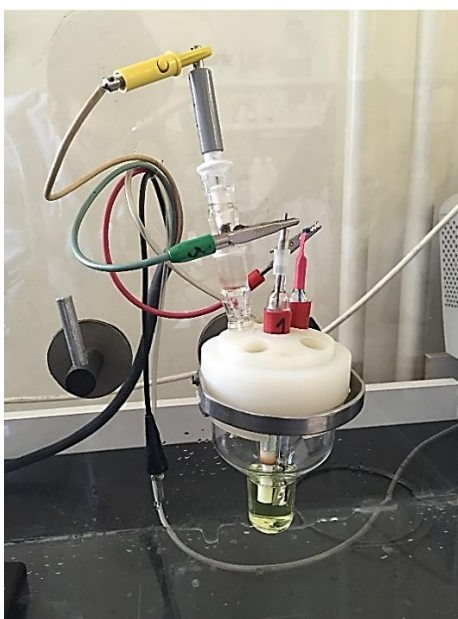
3.2. Instrumentacija

Za vaganje korištena je analitička vaga (Kern ALJ 120-4, Njemačka). Mjerenje pH otopina pufera provedeno je pH-metrom (slika 28) modela MA 5740 (Iskra, Slovenija).



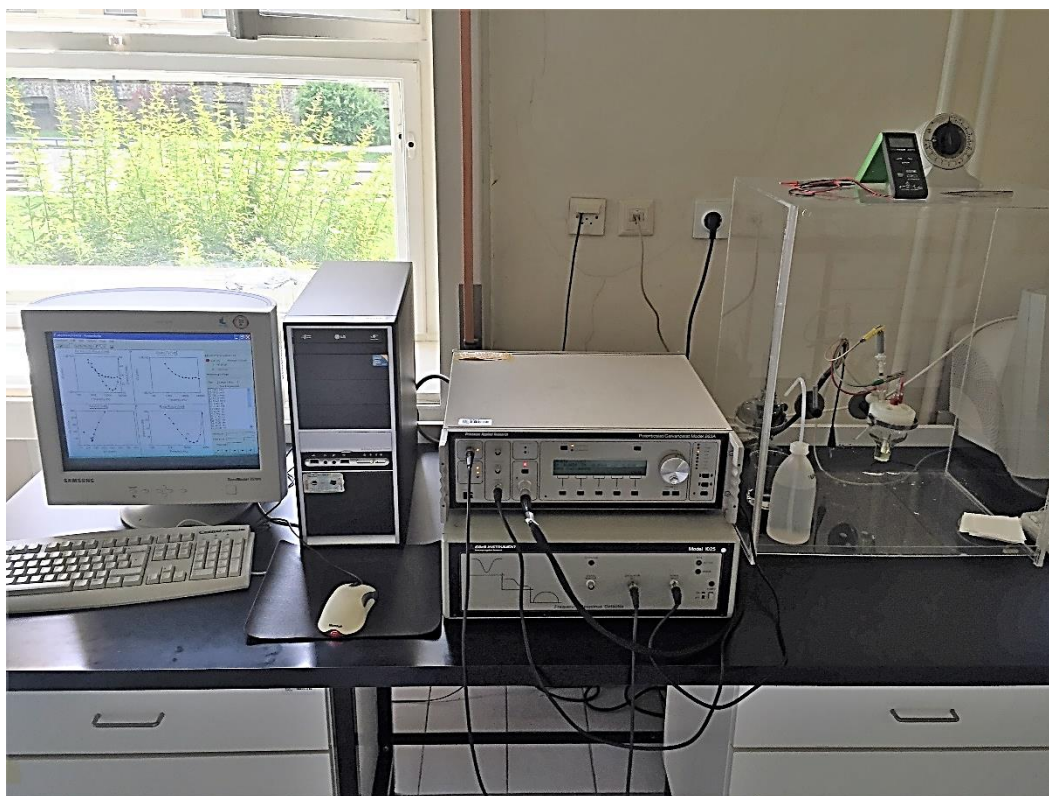
Slika 28. pH-metar za mjerenje pH puferских otopina (lijevo) i analitička vaga (desno).

Elektrokemijska ispitivanja provedena su pri sobnoj temperaturi, $t = 22 \pm 2^\circ\text{C}$ u troelektrodnoj elektrokemijskoj ćeliji koja se sastoji od radne elektrode, referentne elektrode i protuelektrode. Kao radna elektrode koristila se zlatna elektroda, $\text{Ag}|\text{AgCl}|3\text{M KCl}$, korištena je kao referentna elektroda, a elektroda od platinskog lima služila je kao protuelektroda (slika 29).



Slika 29. Elektrokemijska ćelija s troelektrodnim sustavom.

Za mjerenje cikličkom voltamterijom i elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom (slika 30) korišten je potenciostat (Princeton Applied Research (PAR), SAD) model 263A u sprezi s frekvencijskim faznim detektorom (PAR, SAD, model 1025) koji su spojeni na osobno računalo radi prikupljanja i modeliranja eksperimentalnih podataka.



Slika 30. Mjerni uređaj koji je korišten za mjerenje cikličkom voltametrijom i elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom.

3.3. Priprema otopina poznatih koncentracija

Briton-Robinsonovi puferi^[29] pripremljeni su u rasponu pH vrijednosti od 1,034 do 10,416 i to tako da je u odmjerne tikvici od 250,00 mL pomiješano 0,67 mL fosforne kiseline, 0,64 mL ledene octene kiseline i 0,6183 grama borne kiseline, te nadopunjeno do oznake *MiliQ* vodom. 25,00 mL tako pripremljene otopine preneseno je u nekoliko plastičnih bočica u kojima se dodatkom 5 mol dm^{-3} otopine NaOH provelo podešavanje željene pH vrijednosti puferske otopine uz kontrolu pH-metrom.

10 mmol dm^{-3} otopina $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ pripremljena je kvantitativnim prenošenjem 0,0423 grama $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3 \text{ H}_2\text{O}$ u odmjernu tikvicu volumena 10,00 mL. Radi sprječavanja oksidacije u kalijev heksacianoferat(III), korištena je tamna odmjerne tikvica.

10 mmol dm^{-3} otopina $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ pripremljena je otapanjem 0,0329 grama kalijeva heksacianoferata(III) u odmjerne tikvici volumena 10,00 mL.

Otopine heksacianoferata(II) i heksacianoferata(III) služile su kao redoks par u elektrokemijskim mjerenjima te su priređene svježe neposredno prije početka mjerenja.

Vodena otopina cisteamina (CSA) koncentracije 10 mmol dm^{-3} pripremljena je otapanjem 0,0114 grama cistamonijevog klorida u odmjerne tikvici volumena 10,00 mL.

10 mmol dm^{-3} otopina *n*-acetilcisteina (NAC) u vodi priređena je otapanjem 0,0163 grama *n*-acetilcisteina u odmjerne tikvici od 10,00 mL.

Otopina *L*-cisteina (CYS) koncentracije 10 mmol dm^{-3} priređena je u odmjerne tikvici, volumena 10,00 mL kvantitativnim prenošenjem odvage *L*-cisteina od 0,0121 grama.

3.4. Priprema zlatne elektrode

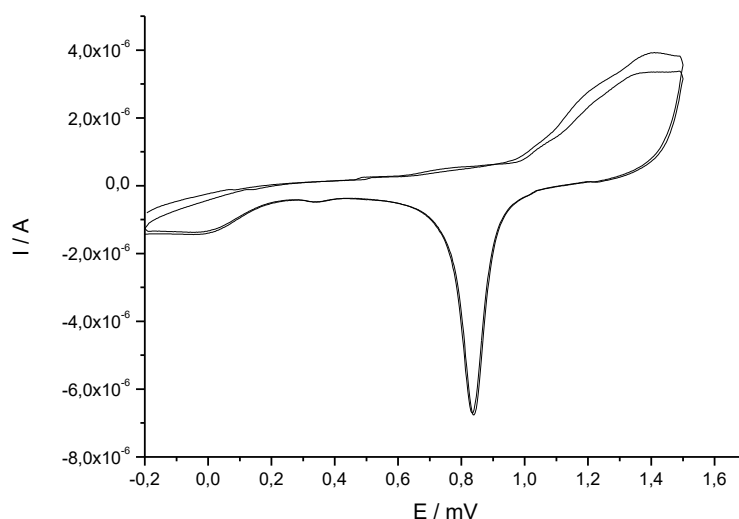
Neposredno prije početka mjerenja potrebno je mehanički, kemijski i elektrokemijski očistiti radnu (zlatnu) elektrodu. Mehaničko čišćenje elektrode podrazumijeva poliranje zlatne elektrode s korundom (Al_2O_3) promjera čestica $0,38 \mu\text{m}$ u trajanju od 15 minuta kako bi se postigao zrcalni površinski sjaj. Nakon mehaničkog čišćenja slijedi kemijsko čišćenje. Elektroda se najprije ispire s *MiliQ* vodom, a zatim slijedi namakanje elektrode u *piranja otopini* pripremljenoj mješanjem otopine vodikova peroksida ($w = 30\%$) i koncentrirane sumporne kiseline u volumnom omjeru 1:3, u trajanju od dvije minute. Naposljetku se izvodi elektrokemijsko čišćenje koje se provodi u otopini perklorne kiseline koncentracije, $c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$, u elektrokemijskoj ćeliji s troelektrodnim sustavom. Cikliziranjem se uklanja mogućnost postojanja sloja zlatnog(III) oksida (Au_2O_3) koji bi otežao formiranje alkantiolnih monoslojeva na površini zlatne elektrode. Cikliziranje je provedeno u području potencijala od $-0,200 \text{ V}$ do $+1,200 \text{ V}$ uz brzinu promjene potencijala od 50 mV s^{-1} . Elektrokemijsko čišćenje provedeno je u nekoliko ciklusa sve dok nije dobiven stabilan ciklički voltamogram.

Kako su testirani monoslojevi za tri različita spoja, CSA, NAC i CYS modificirana elektroda pripremana je močenjem zlatne elektrode 48 sati u otopini odgovarajućeg spoja. Na kraju mjerenja monosloj se mehanički skida poliranjem s korundom i ispire s *MiliQ* kako bi se elektroda pripremila za nanošenje novog monosloja.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Karakterizacija zlatne elektrode

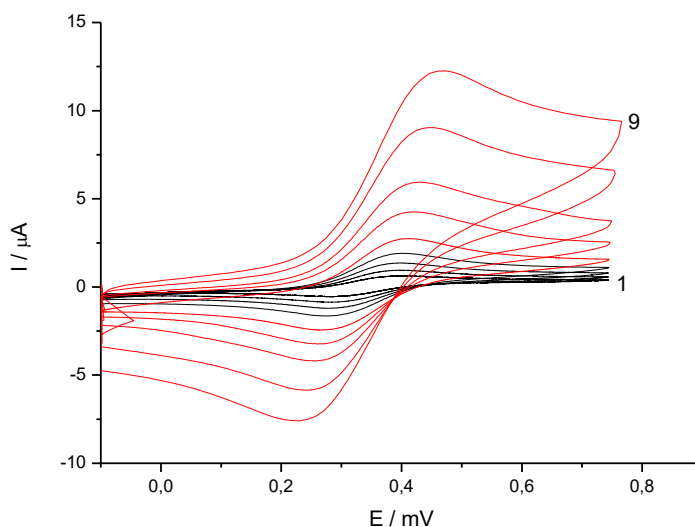
Na slici 31. prikazan je ciklički voltamogram zlatne elektrode u otopini perklorne kiseline koncentracije, $c = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}$. Uočljivi su anodni i katodni strujni valovi koji upućuju na oksidaciju zlata do zlatnog(III) oksida, a zatim njegovu redukciju do elementarnog zlata. Katodni strujni val na potencijalu od $\sim 830 \text{ mV}$ odgovara redukciji monosloja zlata. Takav katodni i anodni strujni val karakterističan je za zlatnu elektrodu poput otiska prsta (engl. *fingerprint* = otisak prsta). Stvarnu površinu zlatne elektrode možemo izračunati integriranjem katodnog vrha vala pretpostavljajući količinu naboja od $482 \mu\text{C cm}^{-2}$ koja je potrebna za redukciju monosloja zlata.



Slika 31. Čišćenje zlatne elektrode u $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ otopini perklorne kiseline uz brzinu promjene potencijala, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

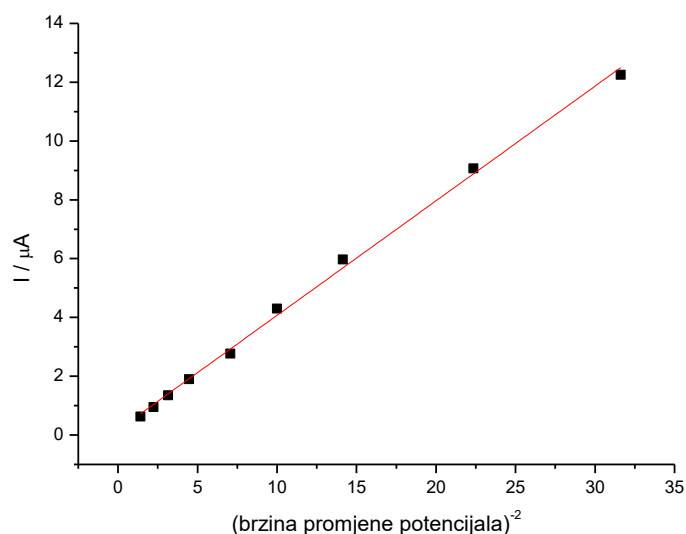
Slika 32. prikazuje cikličke voltamograme za različite brzine promjene potencijala ($v = 5, 10, 20, 30, 100, 200, 300, 500, 1000 \text{ mV s}^{-1}$) snimljene u otopini koja sadrži 8 mL fosfatnog pufera $\text{pH} = 7,01$ te po 1 mL 10 mM otopina kalijeva heksacianoferata(II) i kalijeva heksacianoferata(III). Uočava se da porastom brzine promjene potencijala raste anodni odnosno katodni strujni vrh. Porast struje povezan je s vremenom trajanja elektrolize. Kako se povećanjem brzine promjene potencijala smanjuje vrijeme trajanja elektrolitskog procesa

(bilo anodnog ili katodnog), koncentracija heksacianoferata(II) odnosno heksacianoferata(III) neposredno uz elektrodu se neznatno promjeni. Kod nižih vrijednosti brzina promjene potencijala trajanje elektrolize je duže te se značajno smanjuje koncentracija elektroaktivnih tvari neposredno uz elektrodu što rezultira i manjom strujnim odzivnom. Naime, doprema elektroaktivnih vrsta do površine elektrode kontrolirana je samo difuzijom iz mase otopine prema elektrodi.



Slika 32. Ciklički voltamogrami snimljeni pri različitim brzinama promjene potencijala. Kao elektrolit rabljena je otopina fosfatnog pufera pH = 7,01 te 10 mM otopine kalijeva heksacianoferata(II) i kalijeva heksacianoferata(III). Brzine promjene potencijala: 5 (1), 10, 20, 30, 100, 200, 300, 500, 1000 mV s^{-1} (9).

Iz odnosa vrijednosti vršnih anodnih strujnih valova o drugom korijenu primijenjenih brzina promjena potencijala može se zaključiti pod kojim se uvjetima se odvija elektrokemijski proces na elektrodama. Kada je ovisnost vrijednosti vršnih struja o drugom korjenu brzine promjene potencijala linearna tada kažemo da je proces kontroliran difuzijom (slika 33), odnosno brzina izmjene naboja je najbrži proces dok je prijenos mase (difuzija) najsporiji proces.



Slika 33. Ovisnost vršnih struja anodnog strujnog vala o drugom korijenu primijenjenih brzina promjena potencijala.

4.2. Karakterizacija zlatne elektrode modificirane s CSA

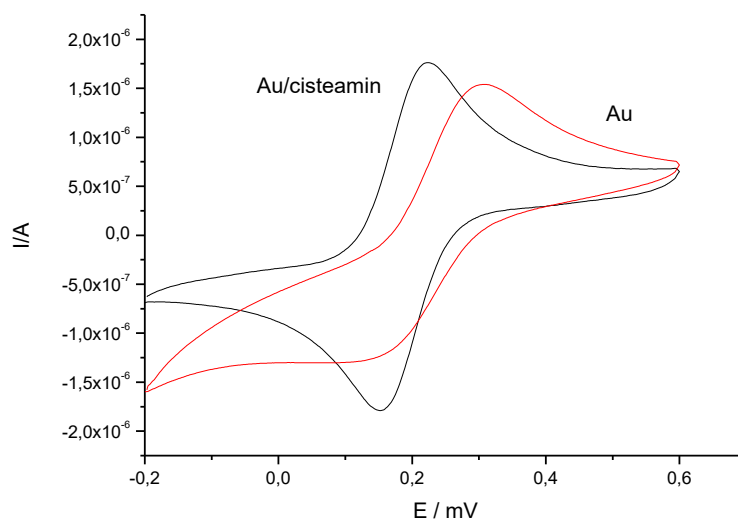
Istraživanje formiranja monosloja CSA na zlatnoj elektrodi provedeno je metodom cikličke voltametrije u 10 mmol dm⁻³ otopini kalijeva heksacianoferata(II) i kalijeva heksacianoferata(III). Otopine su pripravljene u acetatnom puferu (pH = 4,5) i amonijačnom puferu (pH = 8,5).

Jednadžba elektrokemijske reakcije na elektrodi prikazana je izrazom:

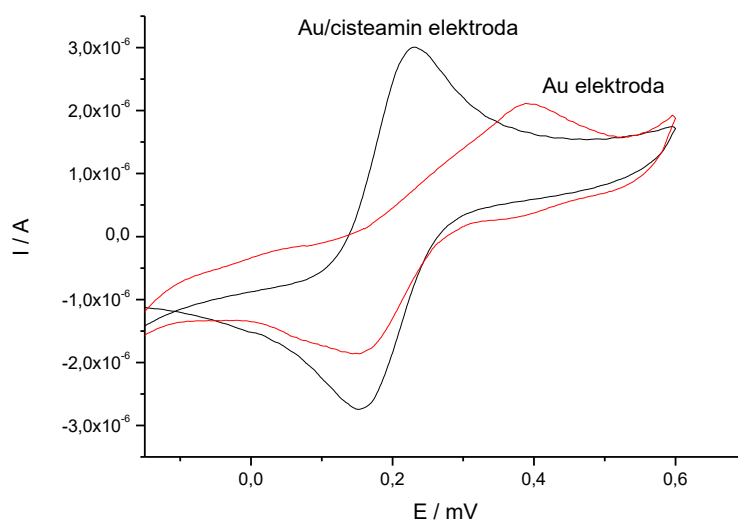


Ukoliko bi došlo do modificiranja površine Au elektrode slojem CSA strujni odziv takve elektrode pri niskoj vrijednosti pH trebao bi porasti poradi protoniranosti amino skupine cisteamina. Protoniranjem molekule kojom je modificirana zlatna elektroda povećava se količina pozitivnog naboja na površini elektrode. Povećanjem pozitivnog naboja na površini povećava se privlačna sila s negativno nabijenim redoks parom $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ u otopini. Iz slika 34 i 35. vidljiv je porast vrijednosti strujnog odziva za modificiranu elektrodu u odnosu na čistu Au-elektrodu za obje testirane puferske otopine, što upućuje na činjenicu da disocijacija amino skupine na cisteaminu počinje pri višim pH vrijednostima odnosno da će

očekivani pK_a biti na pH vrijednostima većim od 8,5. Također možemo zamijetiti i smanjenje razlike potencijala vrhova katodnog i anodnog vala izmjerenih primjenom modificirane elektrode. Dok je u kiselom mediju razlika potencijala vrhova vala za nemodificiranu elektrodu 240 mV, za modificiranu iznosi približno 62 mV, što je vrlo blizu idealnom Nernstovom odzivu od 59 mV/z. Gotovo identično ponašanje modificirane elektrode vidljivo je i u lužnatom mediju, dok je zlatna elektroda pokazala veću razliku potencijala anodnog i katodnog vala nego što je primijećeno u kiselom području.

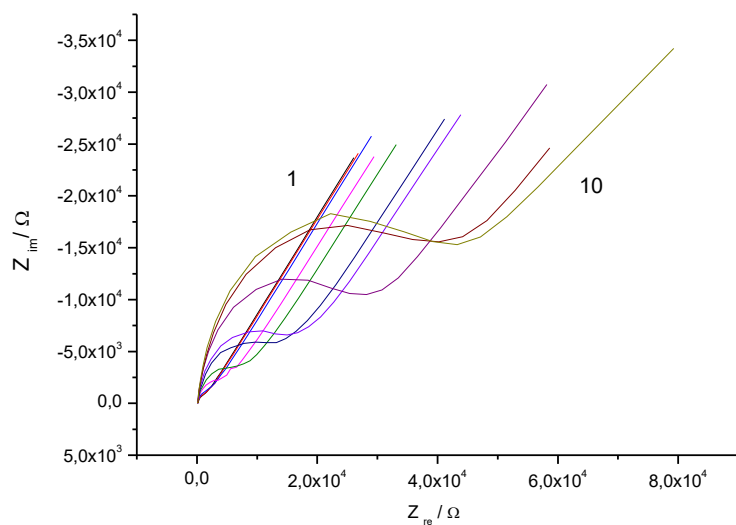


Slika 34. Au i Au/CSA elektroda u acetatnom puferu, $\text{pH} = 4,5$ uz 10 mmol dm^{-3} otopine $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ i $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, uz brzinu promjene potencijala, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

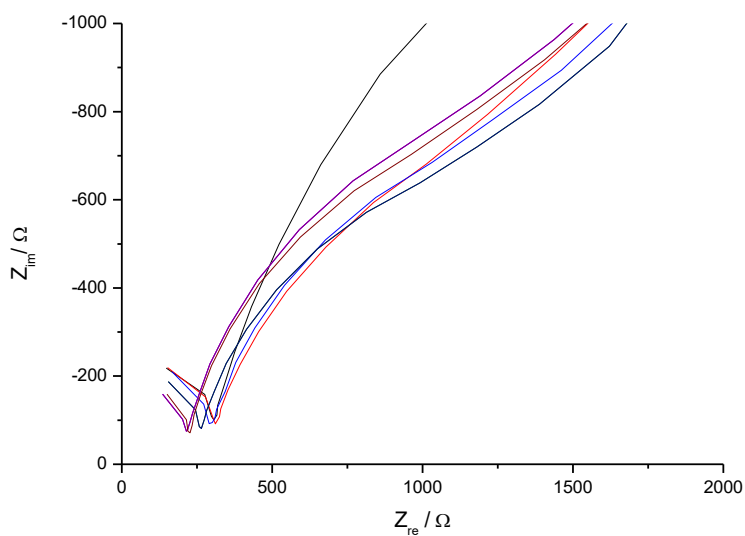


Slika 35. Au i Au/CSA elektroda u amonijačnom puferu, pH = 8,5 uz 10 mmol dm^{-3} otopine $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ i $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, uz brzinu promjene potencijala, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Određivanje pK_a vrijednosti cisteamina vezanog na površini zlatne elektrode provedena su mjerenjem metodom elektrokemijske impedancijske spektroskopije. Mjerenje je provedeno pri konstatnom potencijalu od 200 mV uz izmjenični pobudni signal od $\pm 5 \text{ mV}$ u frekvencijskom području od 100 kHz do 100 mHz. Na slikama 36. i 37. prikazan je Nyquistov prikaz određivanog sustava koji predstavlja ovisnost otpora imaginarne komponente, Z_{im} , prema otporu realne komponente, Z_{re} .



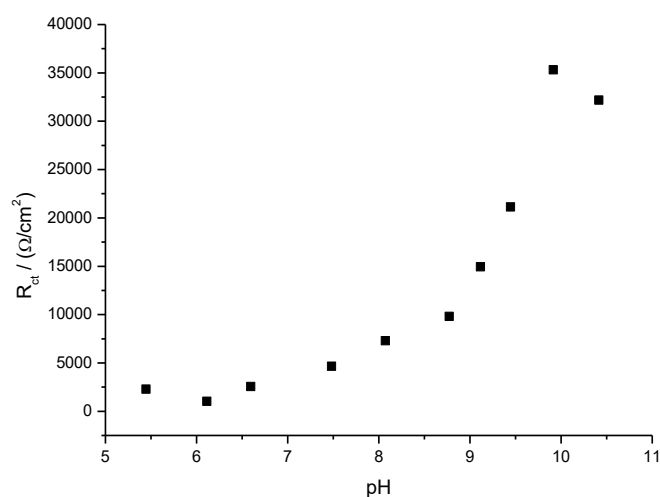
Slika 36. Nyquistov prikaz impedancije koje su snimljene u 10 mmol dm^{-3} otopinama $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ u rasponu pH vrijednosti od 5,446 (1) do 10,416 (10) za Au/CSA modificiranu elektrodu.



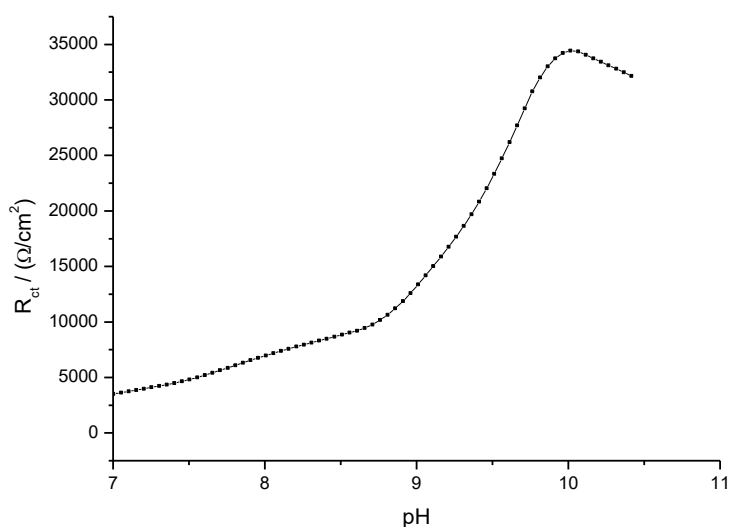
Slika 37. Nyquistov prikaz impedancije koje su snimljene u 10 mmol dm^{-3} otopinama $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ u rasponu pH vrijednosti manjim od 5,446.

Pri niskim pH vrijednostima kada je amino skupina u molekuli cisteamina u potpunosti protonirana, dolazi do elektrostatskih interakcija između pozitivno nabijenog CSA i negativno nabijenog redoks para $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$. Takvom ponašanju odgovaraju

niske vrijednosti impedancije, odnosno niske vrijednosti otpora prijelazu naboja. Povećanjem pH vrijednosti dolazi do deprotonacije amino skupine što se očituje povećanjem otpora prijelazu naboja što je u korelaciji sa što manjom elektrostatskom interakcijom CSA s ionskim parom $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$. Kada najviše dominiraju odbojne sile između CSA i negativno nabijenog redoks para $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ otpor prijelazu naboja bit će najveći. Naglo povećanje otpora prijelaza naboja kod visokog pH prikazano je na slici 38. koja grafički prikazuje promjenu otpora prijelaza naboja o pH. U kiselom području male su promjene u otporu prijelaza naboja jer su veliki doprinosi elektrostatskog privlačenja dok u području višeg pH deprotoniranje i negativiranje površine uzrokuju znatan porast otpora prijelazu naboja.

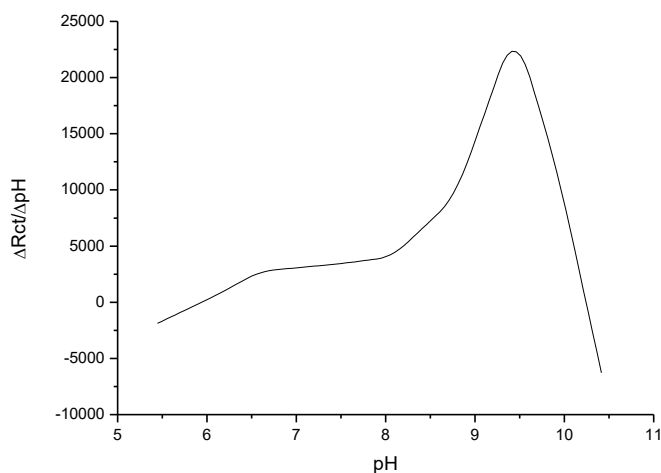


Slika 38. Ovisnost otpora prijelaza naboja o pH za Au/CSA modificiranu elektrodu.



Slika 39. Vrijednosti otpora prijelazu naboja u ovisnosti o pH za Au/CSA modificiranu elektrodu dobiveni interpolacijom pomoću računalnog programa *Origin*.

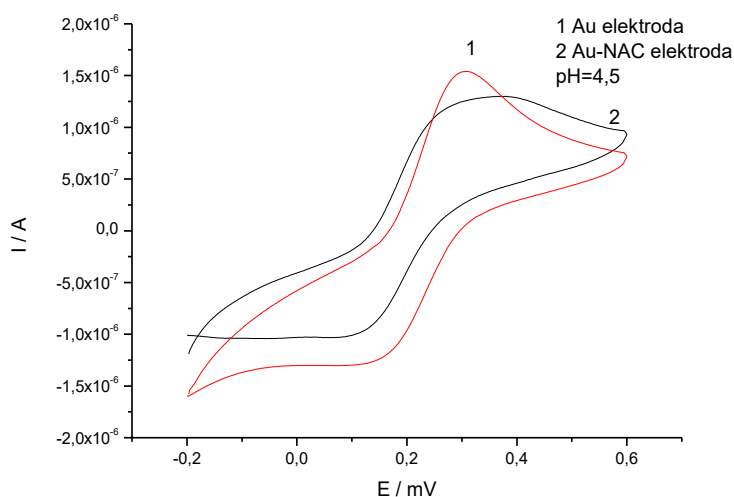
Primjenom računalnog programa *Origin* ostvarena je interpolacija većeg broja točaka između diskretnih izmjerenih vrijednosti na grafu otpora prijelaza naboja vs pH (Slika 39). Tek nakon toga izvedeno je deriviranje tako dobivene krivulje. Konstanta disocijacije, pK_a , CSA monosloja na površini zlatne elektrode određena je primjenom prve derivacije na graf funkcije R_{ct} vs. pH. Vrijednost pK_a je određena kao pH vrijednost pri kojoj krivulja postiže maksimum. Određena vrijednost $pK_a = 9,50$ vrlo je bliska pK_a vrijednosti cisteamina od 10,75 koja je izmjerena u otopini (slika 40).



Slika 40. Prva derivacija grafa funkcije R_{ct} vs pH za modificiranu Au/CSA elektrodu.

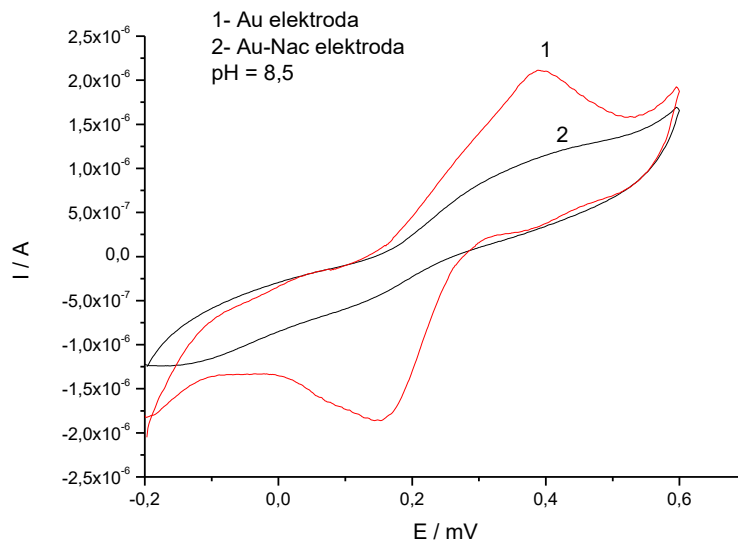
4.3. Karakterizacija zlatne elektrode modificirane s NAC

Ispitivanje formiranja sloja NAC na zlatnoj elektrodi u acetatnom i amonijačnom puferu metodom cikličke voltametrije provedeno je u području potencijala od -200 mV do 600 mV. NAC u svojoj strukturi sadrži jednu amino i jednu karboksilnu skupinu koja je pri nižim vrijednostima pH protonirana. Iz slike 41. vidi se da je pri pH 4,5 strujni odziv modificirane elektrode niži od strujnog odziva nemođificirane zlatne elektrode. Očito je to posljedica deprotoniranja spomenute funkcionalne skupine molekule NAC što ukazuje na njenu prisutnost na površini elektrode čime se potvrđuje i uspješnost modifikacije površine.



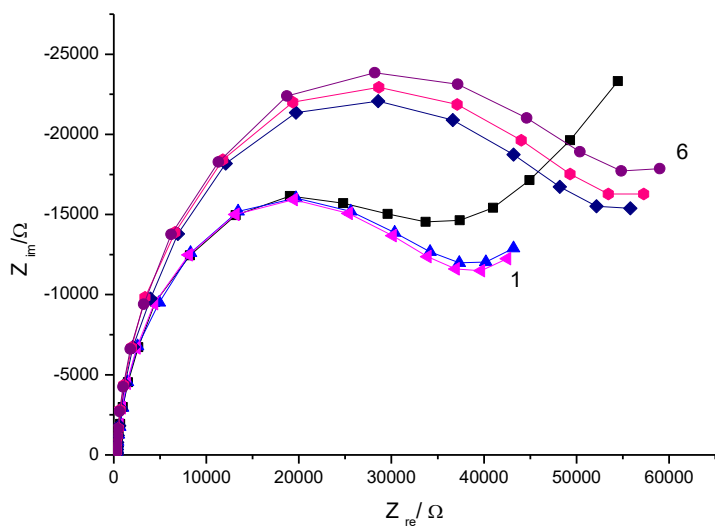
Slika 41. Au i Au/NAC elektroda u acetatnom puferu, pH = 4,5 uz 10 mmol dm⁻³ otopine [Fe(CN)₆]³⁻ i [Fe(CN)₆]⁴⁻, uz brzinu promjene potencijala, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$

Ciklički voltamogram Au/NAC elektrode u amonijačnom puferu ukazuje na znatno smanjeni strujni odziv u odnosu na čistu Au elektrodu. NAC se u potpunosti deprotonirao u lužnatom mediju što je povećalo iznos negativnog površinskog naboja. Velika elektrostatska odbijanja između redoks para [Fe(CN)₆]³⁻/ [Fe(CN)₆]⁴⁻ i deprotoniranog NAC uzrokuje smanjeni strujni odziv jer je došlo do povećanja otpora prijelaza naboja.

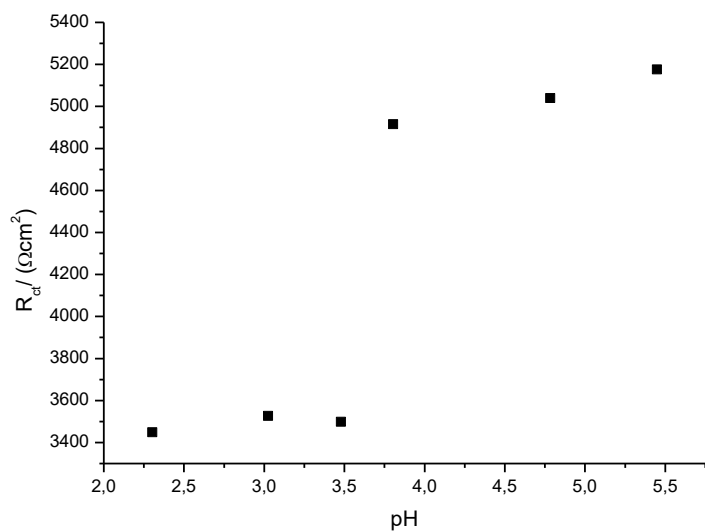


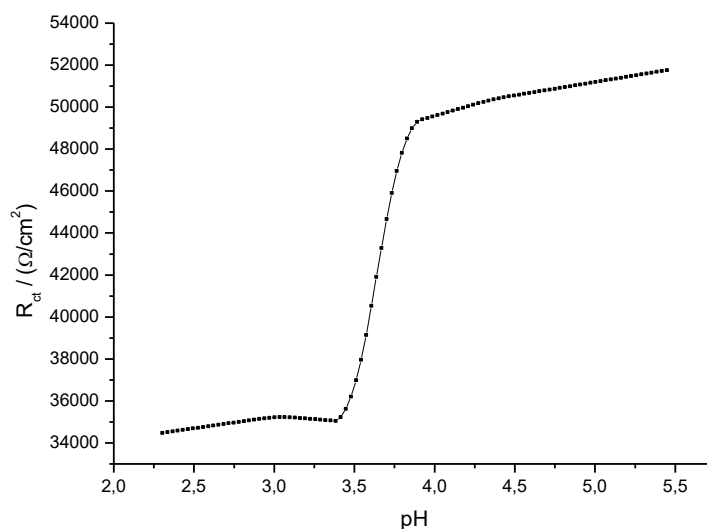
Slika 42. Au i Au/NAC elektroda u amonijačnom puferu, pH = 8,5 uz 10 mmol dm^{-3} otopine $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ i $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, snimljeno uz brzinu promjene potencijala, $\nu = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Određivanja pK_a vrijednosti NAC-a vezanog na površini zlatne elektrode provedena su mjerenjem metodom elektrokemijske impedancijske spektroskopije. Mjerenje je provedeno na potencijalu od 200 mV uz izmjenični pobudni signal od $\pm 5 \text{ mV}$ u frekvencijskom području od 100 kHz do 100 mHz. Na slici 43. prikazan je Nyquistov prikaz modifikacije zlatne elektrode s *n*-acetilcisteinom. Mjerenja provedena elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom potvrđuju činjenice iz priloženih cikličkih voltamograma. Kapacitivni polukrug koji ujedno predstavlja otpor prijelazu naboja (slika 43.) je veći što je NAC više deprotoniran, a to je karakteristično za više pH vrijednosti .



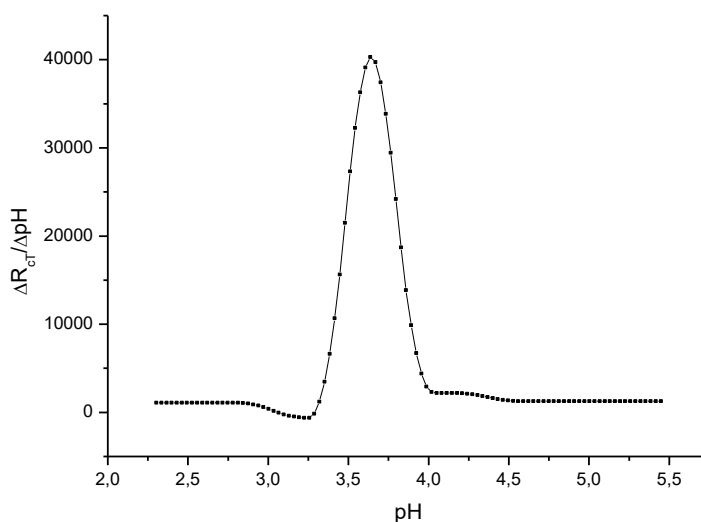
Slika 43. Nyquistov prikaz impedancija za Au/NAC elektrodu koje su snimljene u 10 mmol dm^{-3} otopinama $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ u rasponu pH vrijednosti od 2,303(1) do 5,446(6).





Slika 44. Ovisnost otpora prijalaza naboja o pH za Au/NAC modificiranu elektrodu

Kako bismo odredili pK_a vrijednost koja odgovara NAC-u na površini zlatne elektrode funkcionalnu ovisnost R_{ct} vs pH treba derivirati (slika 45). Deriviranje je provedeno nakon interpoliranja kako bi se dobilo više parova vrijednosti pogodnih za deriviranje.

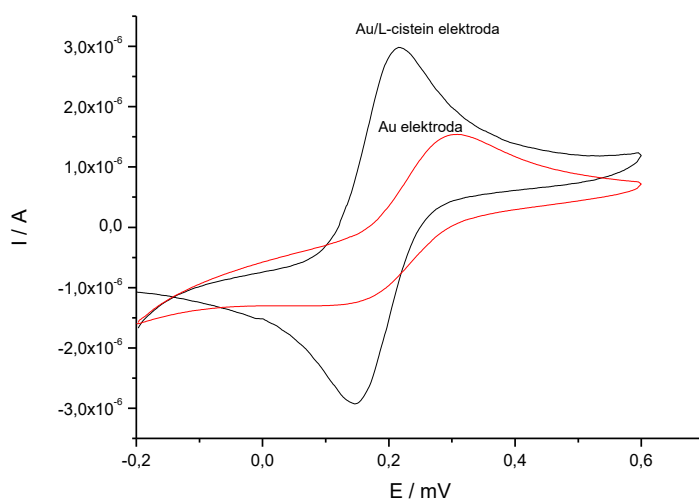


Slika 45. Prva derivacija grafa funkcije R_{ct} vs pH za modificiranu Au/NAC elektrodu

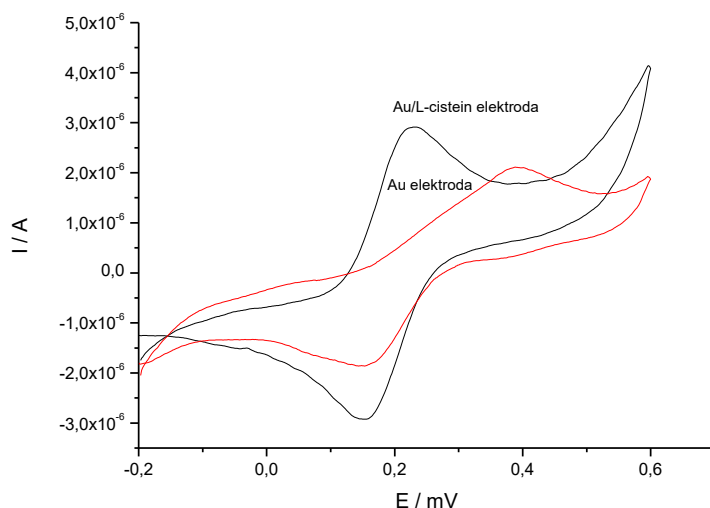
Izmjerena vrijednost $pK_a = 3,65$ prilično se dobro slaže s pK_a vrijednošću NAC-a koja je određena u otopini i iznosi 3,10.

4.4. Karakterizacija zlatne elektrode modificirane s CYS

Iz slike 46. vidi se da je pri pH 4,5 strujni odziv modificirane elektrode viši od strujnog odziva nemodificirane zlatne elektrode. U amonijačnom puferu, pH = 8,5, strujni odziv modificirane elektrode je nešto manji što je posljedica deprotoniranja amino terminalne funkcionalne skupine što nam potvrđuje uspješnost modifikacije površine (slika 47).

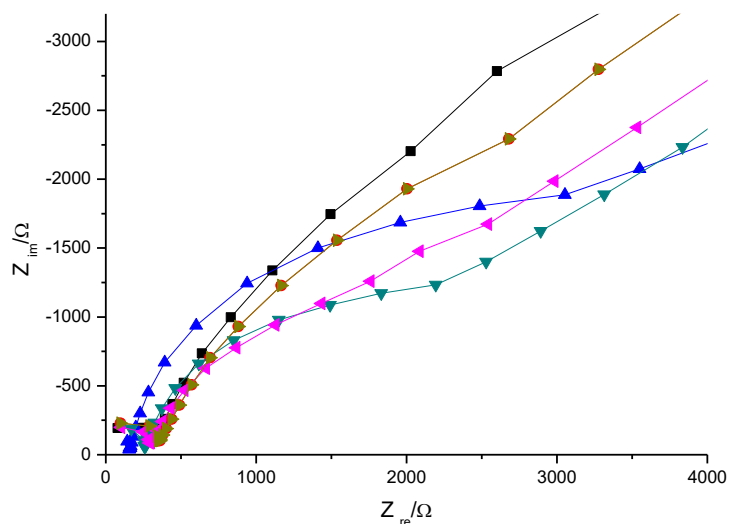


Slika 46. Ciklički voltamogrami za Au i Au/CYS elektrodu u kiselom puferu, pH = 4,5 uz 10 mmol dm⁻³ otopine [Fe(CN)₆]³⁻ i [Fe(CN)₆]⁴⁻. Brzina promjene potencijala, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

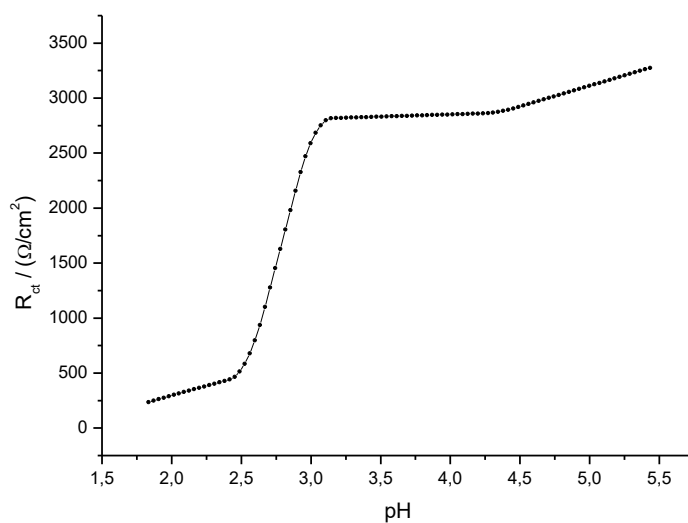
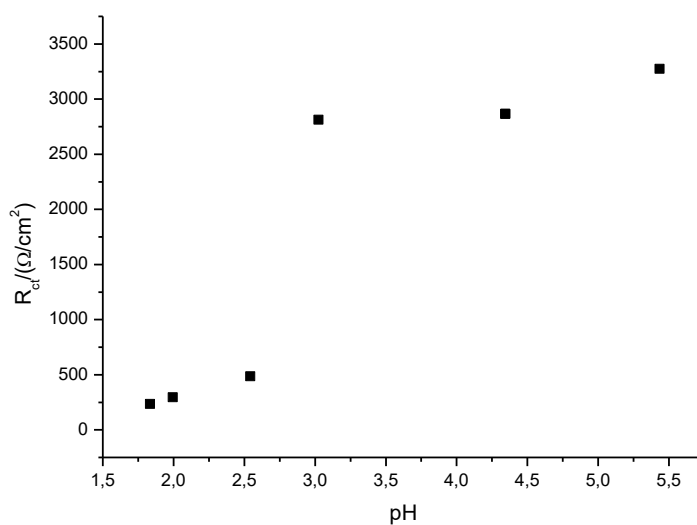


Slika 47. Ciklički voltamogrami za Au i Au/CYS elektrodu bazičnom puferu, pH = 8,5 uz 10 mmol dm⁻³ otopine [Fe(CN)₆]³⁻ i [Fe(CN)₆]⁴⁻. Brzina promjene potencijala, $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

Određivanje pK_a vrijednosti *L*-cisteina vezanog na površini zlatne elektrode provedena su mjerenjem metodom elektrokemijske impedancijske spektroskopije. Mjerenje je provedeno na potencijalu od 200 mV uz izmjenični pobudni signal od $\pm 5 \text{ mV}$ u frekvencijskom području od 100 kHz do 100 mHz. Na slici 48. prikazan je Nyquistov prikaz modifikacije zlatne elektrode s *L*-cisteinom.

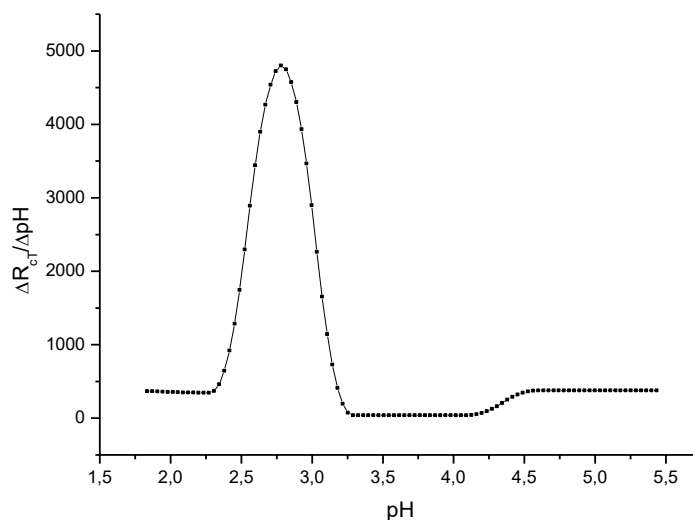


Slika 48. Nyquistov prikaz impedancije koje su snimljene u 10 mmol dm⁻³ otopinama [Fe(CN)₆]³⁻ / [Fe(CN)₆]⁴⁻ u rasponu pH vrijednosti od 1,834 do 5,446 za modificiranu Au/CYS elektrodu.



Slika 49. Ovisnost otpora prijelaza naboja o pH za Au/CYS modificiranu elektrodu.

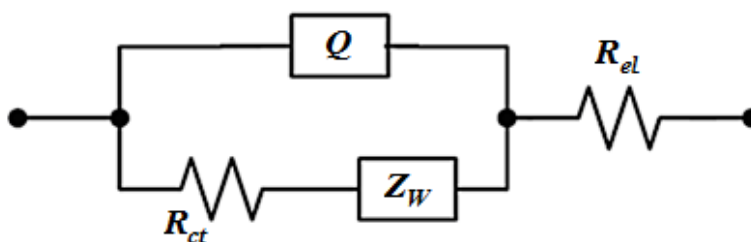
Iz priloženog grafa funkcionalne ovisnosti otpora prijelazu naboja o pH (slika 49) jasnije uočavamo porast otpora s pH. Kada je karboksilna i amino skupina u molekuli *L*-cisteina u potpunosti deprotonirana, promjena otpora prijelazu naboja o pH bit će sve manja. Prvom derivacijom te funkcionalne ovisnosti dobivamo graf (slika 50) iz kojega jasnije uočavamo vrijednost pH, odnosno pK_a , pri kojemu je *L*-cistein u obliku Zwitter iona na površinu Au elektrode, a ona iznosi, $pK_a = 2,75$.



Slika 50. Prva derivacija grafa funkcije R_{ct} vs pH za modificiranu Au/CYS elektrodu.

4.5. Analiza impedancijskih spektara

Analiza impedancijskih spektara provedena je nelinearnom metodom najmanjih kvadrata prema odabranom električnom ekvivalentnom krugu (slika 51). Odabrani Randlesov ekvivalentni strujni krug, koji dobro opisuje dobivene impedancijske spektre, sastoji se od serijski spojenog otpora prijelazu naboja, R_{ct} i Warburgovog elementa, Z_W . Warburgov element opisuje otpor difuziji redoks-para odnosno impedanciju koja je njome uzrokovana u paraleli s konstantno faznim elementom, Q . Q definira kapacitet dvosloja ili kapacitet SAM-a uz otpor elektrolita pri čemu sadrži faktor n , koji opisuje pokrivenost monoslojeva na površini zlatne elektrode, odnosno odstupanje kapaciteta dvosloja od idealnog ponašanja, otpora elektrolita, R_{el} , spojenog u seriji. Sva impedancijska mjerenja određena su s obzirom na geometrijsku površinu radne elektrode, $A = 1,000 \text{ cm}^2$.



Slika 51. Odabrani Randlesov ekvivalentni strujni krug.

Parametri određeni modelom Randlesovog, $R(Q(RW))$, ekvivalentnog strujnog kruga za sve ispitivane alkantiole dani su u tablici 2. Spojevi koji pri određenoj pH-vrijednosti znatno odstupaju od $R(Q(RW))$ modela strujnog kruga označene su sa zvjezdicom, *. Izuzetno niski otpori elektrolita odgovarajućih parametara *L*-cisteina ukazuju na pogrešku u određivanju.

Tablica 2. Parametri određeni modelom Randlesovog ekvivalentnog strujnog kruga, $R(Q(RW))$, dobiveni pomoću računalnog programa *ZsimpWin*.

Cisteamin				
pH	$R_{el} / \Omega \text{ cm}^{-2}$	$R_{ct} / \text{k}\Omega \text{ cm}^{-2}$	n	$Z_W / \mu\Omega \text{ s}^{-1/2}$
5,446	158,8	2,277	0,701	34,04
*6,113	170,7	1,023	1,000	33,82
6,595	142,3	2,560	0,795	32,63
7,480	138,4	4,644	0,840	35,50
8,073	137,1	7,297	0,854	34,37
8,774	175,6	10,26	0,876	31,19
9,115	130,8	14,93	0,885	30,83
9,446	116,7	25,86	0,895	27,69
9,914	180,1	37,78	0,878	19,15
10,416	137,3	39,48	0,901	23,49
N-acetilcistein				
pH	$R_{el} / \Omega \text{ cm}^{-2}$	$R_{ct} / \text{k}\Omega \text{ cm}^{-2}$	n	$Z_W / \mu\Omega \text{ s}^{-1/2}$
2,303	338,3	34,48	0,893	25,59
3,024	321,1	35,26	0,902	35,16
3,804	275,5	49,16	0,905	34,59
4,368	213,8	50,39	0,910	32,36
4,784	204,5	57,83	0,914	29,37
5,446	170,6	51,76	0,914	29,69
L-cistein				
pH	$R_{el} / \Omega \text{ cm}^{-2}$	$R_{ct} / \text{k}\Omega \text{ cm}^{-2}$	n	$Z_W / \mu\Omega \text{ s}^{-1/2}$
*1,834	10^{-7}	0,236	1	18,1
*1,995	10^{-7}	0,295	1	20,61
*2,543	10^{-7}	0,486	0,348	13,58
3,024	264,4	2,812	0,735	48,03
3,478	257,2	2,336	0,818	53,98
4,368	198,6	2,865	0,865	47,86
5,446	161,1	3,275	0,884	48,47

5. ZAKLJUČAK

Formiranje monosloja na površini zlatne elektrode provedeno je s tri različita alkantiola: cisteamin, *L*-cistein i *n*-acetilcistein. Elektrokemijskim tehnikama kao što su ciklička voltometrija i elektrokemijska impedancijska spektroskopija praćeno je formiranje monoslojeva navedenih alkantiola na površini zlatne elektrode. Ispitivanje formiranja monoslojeva je najprije provedeno metodom cikličke voltetrije uz acetatni (pH = 4,5) i amonijačni puffer (pH = 8,5). Elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom određene su pK_a vrijednosti za sve ispitivane alkantiolne tako što su ispitane vrijednosti otpora prijelazu naboja pri različitim pH vrijednostima. U ovisnosti o pH vrijednosti medija navedeni alkantioli su različito ionizirani. Do naglog porasta vrijednosti otporu prijelazu naboja dolazi kada je ispitivani spoj dovoljno deprotoniran, što se tumači odbijanjem s heksacianoferatnim redoks parom jer je u takvom sustavu otežan prijenos naboja. Prihvatljive vrijednosti su dobivene modeliranjem eksperimentalnih podataka korištenjem R(Q(RW)) ekvivalentnog strujnog kruga. Ispitivani sustav sadrži konstantno fazni element, Q , koji predstavlja kondenzator. Vrijednost n odstupa od 1 zbog nehomogenosti površine što ukazuje da nije postignuta potpuna pokrivenost površine zlatne elektrode s odgovarajućim monoslojevima. Dobivene pK_a za cisteamin, *L*-cistein i *n*-acetilcistein u skladu su s literaturnim podacima, a njihove su određene vrijednosti kako slijedi: 9,50, 3,65 i 2,75 što potvrđuje da je elektrokemijska impedancijska spektroskopija prihvatljiva metoda za istraživanje konstanti disocijacije samoformirajućih monoslojeva.

6. LITERATURA

- [1] Pranzetti, A., Switchable charged surfaces to regulate bacterial adhesion, University of Birmingham, 2013., str 9-29
- [2] Lesney, M., A Basic History of Acid – from Aristotle to Arnold, American Chemical Society, 2003., str 47-48
- [3] Chang, R., General Chemistry 5th edition, The McGraw-Hill Companies, New York, 2008., str 530-531
- [4] Bodner Research Web, The Lewis Definition of Acids and Bases
<http://chemed.chem.purdue.edu/genchem/topicreview/bp/ch11/lewis.php> (pristup 18.6.2016.)
- [5] Evan's pK_a table, pK_a's of Inorganic and Oxo-acids, Chem 206,
http://evans.rc.fas.harvard.edu/pdf/evans_pKa_table.pdf (pristup 18.6.2016.)
- [6] pK_a Data Compiled by R. Williams,
http://www.chem.wisc.edu/areas/reich/pkatable/pKa_compilation-1-Williams.pdf
(pristup 18.6.2016.)
- [7] Appendix C: Dissociation Constants and pK_a Values for Acids at 25°C,
<http://2012books.lardbucket.org/books/principles-of-general-chemistry-v1.0/s31-appendix-c-dissociation-consta.html> (pristup 18.6.2016.)
- [8] Mohan, C., Buffers a guide for the preparation and use of buffers in biological systems, Calbiochem, Darmstad, 2003., str 5-6
- [9] Pathare, B., Tambe, V., Patil, V., A Review on Various Analytical Methods Used in Determinatin of Dissociation Constant, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Borhadewai, 2014., str 26-27
- [10] Metikoš Huković, M., Praktikum iz elektrokemije, interna skripta, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, 2004., str 50-54
- [11] Mandić, Z., Kraljić Roković, M., Elektrodni procesi, nastavni tekst, Zavod za elektrokemiju, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, str 1-2, 9-10, 14-15
- [12] Deparment of Chemical Engineering and Biotechnology, University of Cambridge,
<http://www.ceb.cam.ac.uk/research/groups/rg-eme/teaching-notes/mass-transport>
(pristup 19.6.2016.)
- [13] Butler-Volmer-vergelijking, Wikiwand, <http://www.wikiwand.com/nl/Butler-Volmer-vergelijking> (pristup 20.6.2016.)
- [14] Andrienko, D., Cyclic Voltammetry, 2008., str 11-12

- [15] Piljac, I., Senzori fizikalnih veličina i elektroanalitičke metode, Media Print, Zagreb, 2010., str 393-394, 422-423
- [16] Kraljić Roković, M., Kemijsko tehnološke vježbe na Zavodu za elektrokemiju, nastavni tekst, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, 2016., str 1-2
- [17] Jukić, A., Osnove elektrokemijske impedancijske spektroskopije, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, 2001., str 3-4
- [18] Sinusoidal Steady State and the Series RLC Circuit, OpenStax CNX, <https://cnx.org/contents/6F3Uj-MV@6/Phasors-Sinusoidal-Steady-Stat> (pristup 27.6.2016.)
- [19] Science, Technology and Medicine open access publisher, INTECH open science, <http://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/cell-biometrics-based-on-bio-impedance-measurements> (pristup 27.6.2016.)
- [20] EG&G Princeton Applied Research, Application Note AC-1 and AC-2, Princeton, 1989.
- [21] Zhao, J., Luo, L., Yang, X., Wang, E., Dong, S., Determination of Surface pKa of SAM Using an Electrochemical Titration Method, WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 1999., str. 1108-1109
- [22] Olivera, O., Langmuir-Blodgett Films - Properties and Possible Applications, Brazilian Journal of Physics (**22**), Sao Paulo, 1992., str 62-63
- [23] Watcharinyanon, S., Structure of Self-Assembled Monolayers on Gold Studied by NEXAFS and Photoelectron Spectroscopy, Karlstad University Studies, Karlstad, 2008., str 5-6
- [24] Hara Hayashi Lab, Ultra thin films: from metal films to self-assembled monoalyers, http://www.echem.titech.ac.jp/~hara/?page_id=156 (pristup 7.7.2016.)
- [25] Varatharajan, S., Berchamns, S., Yegnaraman, V., Tailoring self-assembled monolayers at the electrochemical interface (**5**), Indian Academy of Sciences, Karaikudi, 2009., str 664-665
- [26] Besouw, M., Masereeuw, R., Levtchenko, E., Cysteamine: an old drug with new potential, Drug Discovery (**18**), Leuven, 2013., str 785-786
- [27] Karlson, P., Biokemija za studente kemije i medicine, Školska knjiga, Zagreb, 1989., str 22-23
- [28] Millea, P., *N*-Acetylcysteine: Multiple Clinical Applications, Mid-Atlantic Permanente Medical Group, Falls Church, 2009., str 265-268
- [29] Indian Standard, Methods for Preparation of Buffer Souldtions and Methods for Determination of pH, Bureau Of Indian Standards, New Delhi, 2005., str 5-6

7. ŽIVOTOPIS

ARBEN BERIŠA je rođen 24. kolovoza 1993. godine u Zagrebu gdje je završio osnovnu školu i srednju prirodoslovnu školu, smjer kemijski tehničar. Maturirao je 2012. godine i iste godine upisao Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu kao redoviti student na sveučilišnom preddiplomskom studiju Primijenjene kemije. Sudjelovao je u izvođenju vježbi na Zavodu za analitičku kemiju kao demonstrator u zimskom semestru akademske godine 2014./2015.