Voltametrijska detekcija arsena u uzorcima vode iz arteških bunara

Kajinić, Žana

Master's thesis / Diplomski rad

2019

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:998713

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Department of Chemistry, Osijek



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Odjel za kemiju
Diplomski studij kemije

Žana Kajinić

Voltametrijska detekcija arsena u uzorcima vode iz arteških bunara

Diplomski rad

Mentorica: doc.dr.sc. Martina Medvidović-Kosanović
Neposredna voditeljica: dr. sc. Anamarija Stanković

Osijek, 2019.

Ovaj rad prezentiran je na 5.Simpoziju studenata kemičara, 2nd Young Scientist Days i 7th Regional Symposium on Electrochemistry - South East Europe

Zahvale

Prvenstveno se zahvaljujem svojoj mentorici doc.dr.sc. Martini Medvidović-Kosanović i neposrednoj voditeljici dr.sc. Anamariji Stanković na mnogobrojnim savjetima, podršci i strpljenju, kako prilikom rada u laboratoriju tako i prilikom pisanja samog diplomskog rada. Bilo mi je veliko zadovoljstvo raditi s Vama.

Najveća zahvalnost ide mojim roditeljima koji su u svim trenutcima, onim sretnim i malo manje sretnim, bili uz mene, pružali mi ljubav i podršku kako to samo najbolji roditelji znaju. Hvala Vam na svemu što ste mi omogućili kroz život i što ste imali strpljenja i kada sam bila nemoguća. Zbog Vas sam danas ovdje gdje jesam.

Veliko hvala mojim bakama, djedu i ujaku na bezuvjetnoj podršci i ljubavi. Od malena ste uz mene, učinili ste mi djetinjstvo prekrasnim, i mislim da je najbolje zahvala koju Vam mogu dati to što sam danas ovdje. Sretna sam što vas imam.

Hvala mom dečku Marku koji je bez i jednog prigovora podnosio moje svakodnevno žaljenje kako mi se ništa ne da,kako mi se ne da pisati diplomski rad i kako mi ne ide, vjerujem da nije bilo lako to slušati svaki dan. Hvala ti na strpljenju i ljubavi.

Hvala mojoj najdražoj kolegici Antoniji, s njom je svaki ispit, seminar i prezentacija bila kao od šale. Zajedno smo došle na upis, zajedno i odlazimo s ovog fakulteta, ali znam da imam prijateljicu za cijeli život.

Hvala mojoj kolegici i prijateljici Silviji koja je uvijek bila dostupna za sva moja pitanja i koja mi je toliko puta pomogla i nikada nije rekla da joj je išta teško. Hvala za sve one kave koje su trajale nekoliko sati i one razgovore gdje smo se smijale do suza

Hvala mojoj kumi Ivoni, prijateljici Ani te cimerici Hani koje su svim u trenutcima bile uz mene, koje su srednjoškolske i studentske dane učinile nezaboravnima. Znam da je to prijateljstvo za cijeli život i da nas ni udaljenost neće razdvojiti kao što nas nije nikada ni razdvojila. Bez Vas ništa ne bi bilo isto.

Hvala kolegicama i prijateljicama Matei i Mariji koje su ostavile veliki trag u mojim studentskim danima kojih se uvijek rado prisjećamo i iznova ih prepričavamo.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA **Diplomski rad**

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Odjel za kemiju
Diplomski studij kemije
Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Kemija

VOLTAMETRIJSKA DETEKCIJA ARSENA U UZORCIMA VODE IZ ARTEŠKIH BUNARA

Žana Kajinić

Rad je izrađen na: Odjelu za kemiju
Mentor: Doc. dr. sc. Martina Medvidović-Kosanović

Sažetak

U ovom radu ispitivana su elektrokemijska svojstva arsenitnih (As^{3+}) iona u standardnim otopinama arsenitnih iona te u uzorcima bunarske vode iz arteških bunara u fosfatnom puferu pH = 7. Cilj rada bila je elektrokemijska detekcija arsena u modelnim sustavima te uzorcima bunarske vode pomoću nemodificirane i modificirane elektrode od staklastog ugljika. Razlike između površine nemodificirane i modificirane elektrode od staklastog ugljika utvrđene su elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom. Za detekciju arsena korištene su dvije voltametrijske metode, ciklička i diferencijalna pulsna voltametrija. Za voltametrijska mjerenja koristio se troelektrodni sustav s radnom elektrodom od staklastog ugljika, referentnom Ag/AgCl elektrodom te protuelektrodom platinskom žicom. Mjerenja su provedena u otopini fosfatnog pufera (pH = 7), uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = $1 \cdot 10^{-3}$ mol dm^{-3}) te u uzorcima bunarske vode s modificiranom elektrodom od staklastog ugljika. U svim uzorcima bunarske vode uzorkovanim tijekom 9. i 10. mjeseca utvrđena je prisutnost arsena što je dodatno potvrđeno porastom strujnih vrhova dodatkom As^{3+} iona u ispitivani uzorak. Nakon modifikacije elektrode od staklastog ugljika, arsen se mogao kvalitativno detektirati i cikličkom i diferencijalnom pulsnom voltametrijom prilikom čega se prednost daje diferencijalnoj pulsnoj voltametriji zbog izraženijih oksidacijskih strujnih vrhova.

Diplomski rad obuhvaća: *74 stranice, 41 sliku, 4 tablice, 39 literaturnih navoda*
Jezik izvornika: hrvatski
Ključne riječi: arsen/ arteški bunari/ elektroda od staklastog ugljika/ ciklička voltametrija/ diferencijalna pulsna voltametrija/ modificirana elektroda

Rad je prihvaćen:
Stručno povjerenstvo za ocjenu:
1. Doc. dr. sc. Tomislav Balić
2. Doc. dr. sc. Martina Medvidović-Kosanović
3. Doc. dr. sc. Elvira Kovač-Andrić

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

BASIC DOCUMENTATION CARD **Diploma Thesis**

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

VOLTAMETRIC DETECTION OF ARSENIC IN ARTESIAN WATER SAMPLES

Žana Kajinić

Thesis completed at: Department of Chemistry
Supervisor: Assist. Prof. Martina Medvidović-Kosanović

Abstract

In this study, we have investigated the electrochemical properties of arsenic (As^{3+}) ions in standard solutions of arsenic ions and in samples of well water from the artesian wells in phosphate buffer pH = 7. The goal of the study was the electrochemical detection of arsenic in the model systems, and well water samples using unmodified and modified glassy carbon electrodes. Differences between the surface of unmodified and modified glassy carbon electrodes were determined by electrochemical impedance spectroscopy. For the detection of arsenic, two voltammetric methods were used, cyclic and differential pulse voltammetry. For voltammetric measurements, a three-electrode system with a working glassy carbon electrode, a reference Ag / AgCl electrode and a platinum counter electrode were used. The measurements were performed in a phosphate buffer solution (pH = 7), with the addition of As^{3+} ion (c (As^{3+}) =1 · 10^{-3} mol dm^{-3}) and in samples of well water with a modified glassy carbon electrode. In all samples of well water taken during the September and October, the presence of arsenic was found and additionally confirmed by the increase of oxidation and reduction peaks with the addition of As^{3+} ions in tested samples. After modification of the glassy carbon electrode, arsenic could be qualitatively detected by cyclic and differential pulse voltammetry with the advantage on differential pulse voltammetry because of the more pronounced oxidation peak currents.

Thesis includes: *74 pages, 41 figures, 4 tables, 39 references*
Original in: Croatian
Keywords: arsenic/ groundwater/ glassy carbon electrode/ cyclic voltammetry/ differential pulse voltammetry/ modified electrode

Thesis accepted:
Reviewers:
1. Assist. Prof. Tomislav Balić
2. Assist. Prof. Martina Medvidović-Kosanović
3. Assist. Prof. Elvira Kovač-Andrić

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

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. LITERATURNI PREGLED 2
2.1. Voda 2
2.1.1. Važnost vode za ljudski organizam 2
2.1.2. Analiza vode 4
2.1.2.1. Način uzimanja uzorka bunarske vode za analizu 4
2.1.3. Vodocrpilište Vinogradi 5
2.2. Arsen 7
2.2.1. Svojstva i upotreba arsena 7
2.2.2. Dobivanje arsena 8
2.2.3. Spojevi arsena 8
2.2.4. Prisutnost arsena u okolišu 11
2.2.5. Arsen u vodi za piće 12
2.2.5.1. Arsen u vodi Istočne Hrvatske 13
2.2.6. Toksičnost arsena 14
2.2.7. Utjecaj arsena na ljudski organizam 16
2.2.7.1. Učinci na kožu 16
2.2.7.2. Učinci na kardiovaskularni sustav 17
2.2.7.3. Učinci na respiratorni sustav 18
2.2.7.4. Učinci na gastrointestinalni sustav 19
2.2.7.5. Učinci na živčani sustav 19
2.2.7.6. Pojava raka 20
2.3. Metode detekcije arsena 20
2.3.1. Laboratorijske metode 20
2.3.1.1. Spektrometrijska metoda sa srebrovim dietilditiokarbamatom i borhidridom 21
2.3.1.2. Spektrometrijska metoda sa srebrovim dietilditiokarbamatom i elementarnim cinkom 21
2.3.1.3. Atomska apsorpcijska spektrometrijska metoda s borhidridom 21
2.3.2. Kolorimetrijske metode za detekciju arsena 22
2.3.3. Elektroforetske metode za detekciju arsena 23
2.3.4. Elektroanalitičke metode 24
2.3.5. Elektrokemijske metode detekcije arsena 29
2.4. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija (EIS) 29
2.4.1. Mjerenje impedancije 30
2.4.2. Princip metode elektrokemijske impedancijske spektroskopije 31
3. EKSPERIMENTALNI DIO 33

3.1. Uzorkovanje bunarske vode sa vodocrpilišta Vinogradi 33
3.2. Kemikalije i priprava otopina 33
3.3. Elektrokemijska ćelija 36
3.3.1. Radna elektroda 37
3.3.1.1. Modifikacija elektrode od staklastog ugljika 37
3.3.2. Referentna elektroda 38
3.3.3. Protuelektroda 39
3.4. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija (EIS) 39
3.5. Eksperimentalne tehnike i uvjeti mjerenja 40
3.5.1. Ciklička voltametrija 40
3.5.2. Diferencijalna pulsna voltametrija 40
3.5.3. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija 40
4. REZULTATI I RASPRAVA 41
4.1. Ciklička voltametrija 41
4.1.1. Modifikacija površine elektrode od staklastog ugljika 42
4.2. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija 43
4.3. Utjecaj brzine polarizacije elektrode 44
4.4. Utjecaj koncentracije 45
4.5. Detekcija arsena u uzorcima bunarske vode 45
4.5.1. Bunar 4 46
4.5.2. Bunar 7 47
4.5.3. Bunar 9 48
4.5.4. Bunar 15 49
4.5.5. Bunar 17 50
4.5.6. Bunar 18 51
4.6. Diferencijalna pulsna voltametrija 52
4.7. Utjecaj koncentracije 53
4.8. Detekcija arsena u realnim uzorcima 55
4.8.1. Bunar 4 56
4.8.2. Bunar 7 57
4.8.3. Bunar 9 58
4.8.4. Bunar 15 59
4.8.5. Bunar 17 60
4.8.6. Bunar 18 61
5. Metodička obrada nastavne jedinice „Oksidacija i redukcija“ 62
6. ZAKLJUČAK 71
7. LITERATURA 72

1. UVOD

Cilj ovog rada je elektrokemijska detekcija arsena u modelnim sustavima te uzorcima bunarske vode uporabom nemodificiranom i modificiranom elektrodom od staklastog ugljika. Mjerenja su prvo provedena nemodificiranom elektrodom od staklastog ugljika nakon čega je uslijedila njena modifikacija.

U eksperimentalnom dijelu rada korištene su dvije voltametrijske metode: ciklička voltametrija i diferencijalna pulsna voltametrija te elektrokemijska impedancijska spektroskopija (EIS).

U prvom dijelu rada naglašena je važnost vode za normalno funkcioniranje ljudskog organizma, toksičnost arsena te sam problem prisutnosti arsena u vodi Istočne Slavonije. Također su opisane i korištene metode za detekciju arsena, ciklička i diferencijalna pulsna voltametrija.

U drugom dijelu rada su navedene korištene kemikalije te materijali i metode. Također su dani uvjeti pri kojima su se izvodila elektrokemijska mjerenja, navedeni su rezultati u obliku grafičkog prikaza te su dana njihova objašnjenja.

Na samom kraju rada slijedi metodički dio gdje se nalazi priprema i radni listić za ponavljanje, za nastavnu jedinicu pod nazivom Oksidacija i redukcija.

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Voda

Cjelokupan život na Zemlji ovisi o raspoloživim količinama vode. Već kod starih naroda voda je bila jedan od četiri temeljna elementa života pa su i sve velike civilizacije nastale u područjima s količinom vode dostatnom za život. Voda je temelj ne samo gospodarskog i društvenog razvoja već i opstanka ljudi u pojedinim područjima. Dugi niz godina je kakvoća vode, posebice podzemne vode, bila dovoljna za višestruku primjenu. Povećanjem broja stanovnika, razvojem industrije te povećanjem proizvodnje hrane povećale su se i količine otpadnih tvari koje se, izravno ili neizravno, otpuštaju u prirodne vodene sustave i time ih zagađuju. Tu su veliku ulogu odigrale kemijske industrije čijim su se razvojem, polovicom 20. stoljeća, pojavile umjetne tvari i spojevi kojih nikada nije bilo u prirodi pa ih zbog toga nije lako ni razgraditi. Takvi spojevi, umjetne i otrovne tvari, dovele su do toga da se voda mora koristiti s povećanim oprezom. Pri tome se posebice misli na vodu za piće, kuhanje i osobnu higijenu [1].

2.1.1. Važnost vode za ljudski organizam

„Kada izvor presuši, tek onda znamo vrijednost vode.“ Voda je ključni čimbenik ljudskog postojanja te se smatra najzdravijim pićem. Zastupljenost vode u organizmu ovisi o starosti čovjeka, ali u prosjeku čini 65 % do 70 % mase odraslog čovjeka. Različite stanice sadrže i različite količine vode pa tako, primjerice, mišićne stanice čini 70 % do 75 % vode, a masne stanice se sastoje od 10 % do 15 % vode. Ljudsko tijelo ne može normalno funkcionirati ukoliko unos vode u organizam nije adekvatan [2]. Čak i slaba dehidracija može naštetiti organizmu i ljudskom zdravlju [3]. Tjelesne funkcije poput respiracije, probave, tjelesne temperature, metabolizma, mogu se odvijati isključivo uz prisutnost vode. Ona također prenosi hranjive tvari (bjelančevine, šećere, minerale i vitamine) do organa kojima su potrebni [2]. Voda također spriječava i nastajanje bubrežnog kamenca budući da razrjeđuje soli i minerale u mokraći. Važno je znati da se bubrežni kamenac ne može stvarati u razrijeđenom urinu stoga je vrlo važno piti dosta tekućine. Još jedan od glavnih razloga zašto je potrebno svakodnevno konzumirati veće količine vode je povećanje mišićne mase. To je jednostavan i učinkovit način kako povećati mišićnu masu ali i kako spriječiti grčenje mišića te povećati njihovu izdržljivost. Istraživanja o tome koliko je idealno konzumirati vode

dnevno pokazala su da za svaki kilogram tjelesne težine treba konzumirati 0,6 ml vode. Osim što je neophodna za život i zdravlje ljudi, voda također pomaže u očuvanju mladolikog izgleda te utječe na tjelesnu težinu. Voda pomaže u izlučivanju štetnih toksina iz ljudskog tijela, hidratizira kožu, spriječava njeno isušivanje i njeguje očuvani izgled kože. Važno je koži omogućiti dovoljnu količinu vode kako bi bila sjajna i elastična. Ukoliko je koža suha i nije hidratizirana bore će više doći do izražaja. Voda također pomaže i u očuvanju vitke linije tijela. Ona ubrzava metabolizam i spriječava preveliki unos hrane tijekom obroka. Prije svakog obroka dovoljno je popiti jednu čašu vode čime se smanjuje glad i unose se manje količine hrane. Ono što je važno naglasiti je da voda ima veliki učinak na metabolizam, posebice ukoliko se radi o hladnoj vodi. Ljudsko tijelo mora potrošiti više energije kako bi zagrijalo vodu, a to ujedno znači i brže sagorijevanje kalorija. Osim što ima veliki utjecaj na izgled, voda također utječe i na psihičko stanje ljudi. Drugim riječima, smanjuje stres i podiže energiju ukoliko se osjeća umor ili iscrpljenost. Ukoliko organizmu nedostaje vode mozak će, kao i svi ostali organi, biti izložen većim naporima i to će dovesti do stresa. Prema istraživanjima, ukoliko ljudskom tijelu nedostaje samo pola litre vode povećava se razina kortizola, hormona koji dovodi do stresa. Dehidracija je jedan od glavnih razloga koji stvara osjećaj umora i iscrpljenosti. Osim što pomaže u prijenosu hranjivih tvari, važna funkcija vode je i prijenos kisika do svih stanica u ljudskom tijelu. Također, uslijed nedostatka vode odnosno dehidracije, srce otežano pumpa krv kroz tijelo [3].

Sve ovdje navedeno je dovoljan razlog zbog kojega bi ljudi trebali paziti na dnevni unos vode no postavlja se pitanje kako znati je li unesena dovoljna količina vode u organizam. Kako čovjek stari osjetilo žeđi se smanjuje. Postoje određeni simptomi koji ukazuju na dehidraciju, a to su: glavobolja, umor, grčevi u udovima, povećana tjelesna temperatura, smanjeno znojenje, suha usta i jezik s gustom slinom, nedostatak koncentracije, mučnina te povraćanje. Dnevni unos tekućine mora biti veći od količine izlučene urinom, stoga je važno obratiti pažnju i na boju urina. Mokraća bi trebala biti svijetla, gotovo čista, bez mirisa. Ukoliko se radi o tamnožutoj mokraći to je siguran pokazatelj da je potrebno unositi veće količine vode u organizam. Preporučena dnevna količina vode koja bi se trebala unositi u organizam iznosi 1,5 L – 2,5 L, odnosno 10 čaša vode za žene i 12 čaša vode za muškarce. Vodu treba piti u manjim količinama tijekom cijelog dana jer u trenutku kada se osjeti žeđ već je nastupila dehidracija. [2].

2.1.2. Analiza vode

Kakvoća vode postala je bitan pokazatelj kao i količina vode pa je danas vrlo važno utvrditi, ne samo s kolikom količinom vode se raspolaže, već i kakva je njezina kvaliteta [1]. Upravo iz tog razloga je potrebno provoditi svakodnevnu analizu vode za piće.

Prirodnim vodama pripadaju: atmosferska, izvorska, bunarska, riječna, jezerska i morska voda. Najčistija prirodna voda je atmosferska voda koja sadrži otopljene plinove iz zraka: kisik, dušik, ugljikov dioksid, amonijak, a ukoliko se nalazi u industrijskim područjima sadrži još i sumporov dioksid, sumporovodik, čađu i prašinu. Kisele vode imaju veliki udio bikarbonata i slobodnog ugljikovog dioksida. Riječne vode su siromašnije otopljenim tvarima zbog njihovog taloženja sa sastojcima riječnog korita te zbog kretanja.

Analiza vode podrazumijeva određivanje organoleptičkih, fizikalno-kemijskih, mikrobioloških te drugih svojstava vode, radi utvrđivanja njezine zdravstvene ispravnosti.

Organoleptička svojstva podrazumijevaju određivanje boje, mutnoće i mirisa. Fizikalno-kemijska svojstva obuhvaćaju: određivanje temperature, koncentraciju H^+ iona, ukupni suhi ostatak, ukupnu tvrdoću, otopljeni kisik, slobodni ugljikov dioksid, slobodni rezidualni klor i azbest. Mikrobiološka svojstva podrazumijevaju određivanje broja patogenih i drugih vrsta mikroorganizama. Osim navedenoga, ispitivati se također mogu i mnogi drugi sastojci vode ovisno o njenoj namjeni. Prema namjeni vode razlikuju se: voda za piće, voda za pripravu piva i sokova, voda za napajanje kotlova, hlađenje i slično [4].

2.1.2.1. Način uzimanja uzorka bunarske vode za analizu

Za uzimanje uzoraka vode za određivanje organoleptičkih i fizikalno-kemijskih svojstava postoji propisani postupak. Uzorak vode uzima se u čistu staklenu ili plastičnu bocu u količini koja je dovoljna da se izvrši analiza. Bocu, u koju se uzima uzorak vode, potrebno je prethodno dva do tri puta isprati vodom od koje se uzima uzorak. Prilikom uzimanja uzorka, svaku bocu u kojoj se nalazi uzorak vode potrebno je označiti etiketom na kojoj se nalaze svi važni podaci (vrsta vode, mjesto i vrijeme uzimanja uzorka vode, temperatura vode te temperatura zraka na mjestu uzimanja vode).

Prilikom uzimanja vode iz bunarskih pumpi, slavinu najprije treba politi etanolom i zapaliti kako bi se uklonile sve eventualne nečistoće i prljavštine koje bi mogle dospjeti u bocu u koju se skuplja voda za analizu. Voda teče 3 do 5 minuta kako bi otekla ona količina vode sadržana u cijevi. Prilikom prikupljanja uzoraka vode provode se fizikalno-kemijske

analize vode odmah na terenu, poput temperature (^{0}C), pH i koncentracije otopljenog kisika (mg/l). Za mjerenje koncentracije otopljenog kisika koristi se oksimetar, dok se za određivanje pH vrijednosti koristi pH metar [4].

2.1.3. Vodocrpilište *Vinogradi*

Osijek se nalazi u istočnom dijelu Republike Hrvatske. Grad se opskrbljuje vodom za piće koja se dobiva preradom podzemne vode koja se crpi na vodocrpilištu Vinogradi. Vodocrpilište se nalazi zapadno od Osijeka i obuhvaća 18 bunara. Na poljoprivrednom zemljištu prve zaštitne zone bunara, zasađena su mlada stabla hrasta što bi trebalo pridonijeti zaštiti podzemnih voda budući da se na ovaj način spriječava korištenje umjetnih gnojiva u poljoprivredi. Vodocrpilište obuhvaća vodonosne slojeve u dubinskom intervalu od 40 m do 176 m. Vodonosni slojevi su izgrađeni od sitno do srednjezrnatog jednoličnog pijeska dok su polupropusni međuslojevi izgrađeni od gline i praha. Ukupna debljina slojeva zahvaćenih bunarima na crpilištu Vinogradi kreće se od 56,8 m do 78,7 m. Napajanje podzemnih voda odvija se infiltracijom padalina čiji je iznos procijenjen u rasponu od 12 % do 19 % godišnjih padalina kroz razdoblje od 1985. do 1987. godine. Eksploatacijski bunari na području vodocrpilišta Vinogradi izgrađeni su u razdoblju od 1980. do 1986. godine. Bunar B-1 izgrađen je 1980. godine dok su bunari B-2 do B-15 izgrađeni u razdoblju od listopada 1982. godine do listopada 1983. godine. 1984. godine svih 15 bunara je uključeno u pogon. S vremenom se pokazala potreba za povećanjem crpnih količina pa se naknadno proširilo vodocrpilište za još tri bunara, B-16, B-17 i B-18. Posljednja tri bunara su izgrađena krajem 1986.godine. Njihova prosječna dubina iznosi 143 m. Točna dubina svakog pojedinog bunara navedena je u Tablici 1. Crpna količina svih bunara standardizirana je na 40 L/s [5].

Tablica 1. Prikaz bunara i njihove dubine (*h*) na području vodocrpilišta Vinogradi [5].

Bunari	*h* / m
B-1	128
B-2	160
B-3	160
B-4	155
B-5	164
B-6	167
B-7	167
B-8	159
B-9	159
B-10	157
B-11	121
B-12	117
B-13	111
B-14	177
B-15	110
B-16	155
B-17	155
B-18	130

Kontrolu kvalitete vode u Osijeku provodi Vodovod-Osijek d.o.o., odnosno RJ Laboratorij vodoopskrbe. U Vodovodu Osijek se provodi kontrola: neprerađene vode s vodocrpilišta Vinogradi i piezometara, vode prije i poslije postupka prerade, kontrola kvalitete vode unutar vodoopskrbne mreže grada i prigradskih naselja [5]. Prema Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti vode za piće (NN 47/08), koji je u suglasnosti s istovrsnim pravilnicima zemalja Europske unije, zdravstveno ispravnom vodom za piće se smatra voda koja:

- ne sadrži mikroorganizme, parazite i njihove razvojne oblike u količinama koje predstavljaju opasnost za ljudsko zdravlje
- ne sadrži tvari u koncentracijama koje same ili zajedno s drugim tvarima predstavljaju opasnost za zdravlje ljudi
- ne prelazi maksimalne vrijednosti pojedinih pokazatelja, odnosno njihove maksimalno dopuštene koncentracije (MDK) [6].

Bunarska voda s vodocrpilišta Vinogradi ne zadovoljava standarde zdravstvene ispravnosti vode za piće zbog povišene koncentracije organskih tvari, željeza, mangana, amonijaka i arsena. Poseban problem ove bunarske vode je arsen [7].

2.2. Arsen

Arsen je kemijski element koji pripada 15. skupini periodnog sustava elemenata koja se još naziva dušikova skupina. U ovoj skupini elemenata potpuno se mijenjaju osobine njihovih elementarnih tvari, od izrazito nemetalnih do metalnih. Arsen se svrstava u polumetale te ovisno o spoju u kojem se nalazi može pokazivati svojstva metala odnosno nemetala [8]. Atomski broj arsena je 33 dok zajednička elektronska konfiguracija izoliranih atoma elemenata 15. skupine glasi ns^2np^3 [9]. Poznat je kao vrlo toksičan element koji potječe još iz antičkog doba. U čistom obliku prvi ga je izolirao Albertus Magnus davne 1250. godine, iako su prema starim zapisima prije njega to učinili kineski i arapski narodni liječnici. Naziv arsen potječe od grčke riječi *arsenikón* što znači arsenov blistavac odnosno auripigment (kemijska formula As_2S_3) [7].

2.2.1. Svojstva i upotreba arsena

Arsen se javlja u dvije alotropske modifikacije, nestabilna žuta i stabilna siva alotropska modifikacija. Nestabilnoj žutoj alotropskoj modifikaciji odgovara struktura molekule arsena, As_4, dok stabilnu sivu alotropsku modifikaciju karakterizira slojevita struktura.

Žuta alotropska modifikacija nastaje naglim hlađenjem arsenovih para. Tako nastali arsen je mekan poput voska te ne provodi električnu struju. Već pri običnoj temperaturi, pod utjecajem svjetlosti, brzo i lako prelazi u stabilnu sivu alotropsku modifikaciju. Zbog izuzetno lakog prijelaza iz nestabilne žute u stabilnu sivu modifikaciju, prilikom dobivanja elementarnog arsena izravno se dobiva siva alotropska modifikacija koju karakterizira čelična siva boja i metalni sjaj. Elementarni arsen nema značajniju primjenu osim što se dodaje olovu prilikom izrade sačme. Na taj način olovo postaje tvrđe, a prilikom hlađenja stvaraju se zrnca pravilnijeg oblika [8]. Legure olova s dodatkom 0,3 %- 0,5 % arsena koriste se za izradu meke sačme, a s dodatkom 2 % arsena za tvrđu sačmu. Osim toga, mala koncentracija arsena poboljšava termička svojstva bakra i njegovu otpornost na koroziju. Legura arsen - bakar (99,65 % Cu, 0,025 % P, 0,30 % As) se upotrebljava za izradu bojlera, radijatora, izmjenjivača topline i cijevi za kondenzaciju. Visoko pročišćeni arsen također ima primjenu u poluvodičkoj tehnologiji gdje se koristi sa silicijem i germanijem. Najviše se koristi kao galijev arsenid (GaAs) koji ima sposobnost pretvaranja električne struje u lasersku svjetlost te se kao takav koristi za proizvodnju lasera, dioda i tranzistora. Galijev arsenid se dobiva

reakcijom vodika i arsenovih para s galijevim oksidom (Ga_2O_3) pri temperaturi od 600 ^{0}C. Arsen se, također, upotrebljava u brončanju i pirotehnici [10].

Spojevi arsena, poput arsenovog (III) oksida i arsenovog (III) sulfida, upotrebljavaju se u industriji kože i krzna te u staklarskoj i farmaceutskoj industriji. Najvažnija upotreba arsena je u poljoprivredi gdje se koristi kao sredstvo za zaštitu bilja u borbi protiv biljnih štetočina [8].

2.2.2. Dobivanje arsena

Arsen u prirodi dolazi uglavnom u obliku sulfida. Među najvažnije se ubrajaju *arsenopirit*, FeAsS, koji je zapravo $FeAs_2 \cdot FeS_2$, zatim *realgar ili crveni arsenov blistavac*, As_4S_4 te *auripigment ili žuti arsenov blistavac*, As_2S_3. U skupinu oksidnih ruda ubraja se *arsenolit*, As_4O_6, koji je izrazito rijedak [8].

Jedan od načina dobivanja elementarnog arsena je termičko razlaganje arsenopirita, što je prikazano u kemijskoj jednadžbi (1):

$$4\ FeAsS(s) \rightarrow 4\ FeS(s) + As_4(g) \quad \textbf{(1)}$$

Iz sulfidnih ruda arsen se također dobiva i prženjem sulfida, pri čemu oni prelaze u oksid što je vidljivo u kemijskoj jednadžbi (2), a zatim se oksid reducira s ugljikom što prikazuje jednadžba (3):

$$2\ As_2S_3(s) + 9\ O_2(g) \rightarrow As_4O_6(g) + 6\ SO_2(g) \quad \textbf{(2)}$$

$$As_4O_6(s) + 6\ C(s) \rightarrow As_4(g) + 6\ CO_2(g) \quad \textbf{(3)}$$

Prženjem dobiveni As_4O_6 je plinovit, ali hlađenjem očvrsne te se na taj način odvaja od SO_2. Isti slučaj je i kod smjese plinovitih As_4 i CO_2, gdje se hlađenjem As_4 prevodi u čvrsto stanje i na taj se način odvaja od CO_2. Izuzetno velike količine arsena, posebice u SAD-u, dobivaju se prženjem bakrovih ruda, što znači da se arsen odvaja hlađenjem kako je ovdje i navedeno [8].

2.2.3. Spojevi arsena

Arsen je u prirodi gotovo nemoguće pronaći u elementarnom obliku već je rasprostranjen u spojevima, posebice sulfidima. Javlja se u tri oksidacijska stanja, +3, -3 te +5 [8]. Arsen s kisikom, klorom i sumporom stvara vrlo toksične anorganske spojeve, dok s ugljikom i vodikom stvara organske spojeve koji su manje toksični. Zbog svoje široke primjene u industriji i poljoprivredi, arsen i njegovi spojevi predstavljaju veliku toksikološku opasnost za čitavi ekosustav budući da su na taj način prisutni u tlu, vodi i zraku. Upravo iz

tog razloga radi se na zabrani uporabe arsena i njegovih spojeva ili bar na smanjenju njihove uporabe [9].

Arsen sa stupnjem oksidacije -3 prisutan je u arsinu, AsH_3 te arsenidima. Arsin je otrovan plin mirisa na češnjak te jedan od najjačih anorganskih otrova koji se najčešće dobiva redukcijom topljivih spojeva arsena s nekim jakim redukcijskim sredstvom poput cinka u kiselom mediju što je prikazano u kemijskoj jednadžbi (4) :

$$H_3AsO_3 + 3\ Zn(s) + 6\ H^+ \rightarrow AsH_3(g) + 3\ Zn^{2+} + 3\ H_2O \qquad \textbf{(4)}$$

Pri sobnoj temperaturi se raspada sporo, ali zagrijavanjem do 200 ^{0}C raspad se ubrzava što je vidljivo iz kemijske jednadžbe (5) :

$$4\ AsH_3(g) \rightarrow As_4(g) + 6\ H_2(g) \qquad \textbf{(5)}$$

Dvije gore navedene jednadžbe, (4) i (5), predstavljaju osnovne metode za dokazivanje arsena (Marshova proba). Arsin je izrazito jako redukcijsko sredstvo što znači da iz otopina soli može izlučiti metal (Gutzeitova proba) što je prikazano u kemijskoj jednadžbi (6) :

$$AsH_3 + 6\ Ag^+ + 3\ H_2O \rightarrow H_3AsO_3 + 6\ Ag(s) + 6H^+ \qquad \textbf{(6)}$$

Iako je AsH_3 jedini poznati spoj arsena s vodikom, postoji još niz organskih derivata diarsina, $H_2As - AsH_2$, poznatih kao kakodil-spojevi [8]. Arsin nema praktičnu primjenu, ali je vrlo važan u industrijskoj toksikologiji jer pri obradi legura, koje sadrže arsen, kiselinama može nastati arsenovodik i izazvati trovanje organizma. Maksimalna koncentracija arsenovodika u zraku ne bi smjela prijeći 50 ppm [9].

Velika skupina arsenovih spojeva, arsen(III) halogenidi, oksidi, arsenitna kiselina i njezine soli te arsenov(III) sulfid, sadrže u sebi arsen u +3 oksidacijskom stanju.

Arsenov(III) klorid, $AsCl_3$, je bezbojna, uljasta i vrlo otrovna tekućina koja se dobiva izravnom sintezom između klora i arsena. S vodom hidrolizira poput fosforovog(III) klorida što je prikazano u kemijskoj jednadžbi (7), no ne radi se o spontanom procesu:

$$AsCl_3(g) + 3\ H_2O \rightarrow H_2AsO_3 + 3\ H^+ + 3\ Cl^- \qquad \textbf{(7)}$$

Ovdje se radi o reverzibilnoj reakciji što znači da se arsenitna kiselina, odnosno arsenov(III) oksid, otapa u klorovodičnoj kiselini pri čemu nastaje arsenov(III) klorid [8]. Arsenov(III) klorid se upotrebljava za halogeniranje u organskim sintezama i za proizvodnju bojnih otrova, primjerice luizita [9]. Arsen stvara i ostala tri trihalogenida. Arsenov(III) fluorid je pri sobnoj

temperaturi tekućina, arsenov(III) bromid je čvrsta tvar s niskim talištem (θ_t = 31 ^{0}C), a arsenov(III) jodid stvara crvenosmeđe kristale. Zajednička karakteristika svih arsenovih trihalogenida je piramidalna struktura te da su to sve kovalentni spojevi [8].

Arsenov(III) oksid, As_4O_6, dolazi u dvije modifikacije, a dobiva se izgaranjem arsena u aerobnim uvjetima što je opisano kemijskom jednadžbom (8) ili prženjem arsenovih sulfidnih ruda:

$$4\ FeAsS(s) + 10\ O_2(g) \rightarrow As_4O_6(g) + 2\ Fe_2O_3(s) + 4\ SO_2(g) \qquad \textbf{(8)}$$

Tako dobiveni arsenov(III) oksid je potrebno pročišćavati sublimacijom [8]. To je bijeli prah bez mirisa, izrazito otrovan, koji se upotrebljava za uništavanje miševa i štakora. Također se upotrebljava za uništavanje korova, za obradu kože, drva te preparaciju životinja. Smrtonosna doza za čovjeka iznosi od 0,1 g do 0,15 g [9].

Arsenitna kiselina, H_3AsO_3, nije poznata u čistom stanju već samo u vodenim otopinama. Ona je izrazito slaba kiselina čija prva konstanta disocijacije (K_1) iznosi $2{,}4 \cdot 10^{-10}$ mol dm^{-3}. Arsenitna kiselina je triprotonska kiselina pa se iz nje mogu izvesti tri vrste soli: dihidrogenarseniti, hidrogenarseniti i normalni arseniti. Osim kiselih svojstava, arsenitna kiselina pokazuje i slabije izražena bazična svojstva, uz prisutnost jakih kiselina te se zbog toga može napisati i u obliku $As(OH)_3$ [8].

Arsenov(V) sulfid, As_4S_4, se prvenstveno upotrebljava za odstranjivanje dlaka u kožarstvu te u pirotehnici za dobivanje bijele bengalske vatre. Poznat je kao mineral realgar. U As_4S_4 stupanj oksidacije arsena iznosi +2 [9].

Samo jedan sulfid arsena pripada stupnju oksidacije +3, a to je arsenov(III) sulfid, As_2S_3. To je mineralni pigment u obliku zlatnožutih listića. Poput gore navedenog As_4S_4, također se upotrebljava u kožarstvu za skidanje dlaka te u pirotehnici za dobivanje žute boje [9]. As_2S_3 se dobiva kao žuti talog uvođenjem H_2S u zakiseljenu otopinu arsenitne kiseline što je prikazano u kemijskoj jednadžbi (9):

$$2\ As(OH)^{2+} + 3\ H_2S(g) \rightarrow As_2S_3(s) + 4\ H^+ + 2\ H_2O \qquad \textbf{(9)}$$

As_2S_3 rado stvara koloide koji mogu koagulirati dodatkom H^+ ili drugih pozitivno nabijenih iona. Topljiv je u vrućoj nitratnoj kiselini dok se u klorovodičnoj kiselini ne otapa [8].

Stupanj oksidacije arsena u arsenovom(V) oksidu, As_2O_5, iznosi +5. Zbog izrazite termičke nestabilnosti ne može se dobiti izgaranjem arsena ili arsenovog(III) oksida sa

zrakom budući da bi potpuno disocirao u arsenov(III) oksid i kisik. As_2O_5 se dobiva dehidratacijom arsenitne kiseline zagrijavanjem do 300 ^0C što je opisano kemijskom jednadžbom (10):

$$2\ H_3AsO_4 \rightarrow As_2O_5(s) + 3\ H_2O \qquad \textbf{(10)}$$

Budući da se radi o reverzibilnoj reakciji, povratnom reakcijom, odnosno otapanjem As_2O_5 u vodi nastaje arsenatna kiselina.

Arsenatna kiselina, H_3AsO_4, drugog naziva arsenska kiselina, može se dobiti samo oksidacijom arsenovih(III)-spojeva, najčešće oksidacijom oksida s koncentriranom dušičnom kiselinom što je prikazano u kemijskoj jednadžbi (11) :

$$As_4O_6(s) + 8\ HNO_3 + 2\ H_2O \rightarrow 4\ H_3AsO_4 + 8\ NO_2(g) \qquad \textbf{(11)}$$

Razlog tome je nemogućnost dobivanja As_2O_5 iz arsenovih spojeva s nižim stupnjem oksidacije. Arsenatna kiselina je slaba triprotonska kiselina koja daje tri niza soli: dihidrogenarsenate, hidrogenarsenate i normalne arsenate. S obzirom na topljivost, arsenati su slični fosfatima. Olovni (II) arsenat i kalcijev arsenat se upotrebljavaju kao insekticidi [9].

2.2.4. Prisutnost arsena u okolišu

Prisutnost arsena u okolišu, što podrazumijeva njegovu prisutnost u vodi, tlu i zraku, danas se smatra globalnim problemom. Problem onečišćenja prirode i okoliša općenito je izražen u posljednjih nekoliko desetljeća. S razvojem industrije i proizvodnje raste i količina otpadnih tvari koje su štetne i toksične, kako za čovjeka tako i za čitavu prirodu. Arsen je u velikoj količini zastupljen u zemljinoj kori, točnije, on je 20. element po zastupljenosti s prosječnom koncentracijom koja iznosi 3,4 mg kg^{-1}. Arsen se u prirodi najčešće nalazi u obliku minerala od kojih su najzastupljeniji arsenopirit (FeAsS), realgar (As_4S_4) te orpiment (As_2S_3). Čisti arsen je prava rijetkost u prirodi iako se u mikrokristalnim strukturama može pronaći u Sibiru, Njemačkoj, Francuskoj, Italiji, Rumunjskoj i SAD-u. Arsen prisutan u okolišu može biti prirodnog ili antropogenog podrijetla. Arsen antropogenog podrijetla je daleko veća prijetnja okolišu jer ima izraženiji toksični učinak od arsena prirodnog porijekla. Najčešće korišteni antropogeni izvori arsena su proizvodi na bazi arsena u farmaceutskoj industriji i industriji stakla, sredstva za zaštitu drveća, sredstva protiv nametnika na životinjama, za obradu kože, za proizvodnju legura te agrokemikalije na bazi arsena. Visoke koncentracije arsena također mogu biti prisutne u zraku u blizini tvornica i industrija, posebice u blizini talionica obojenih metala, elektrana na ugljik te spalionica otpada. Bilo da

je arsen prirodnog ili antropogenog podrijetla, u tlu se nalazi u relativno stabilnom stanju tvoreći netopljive komplekse sa oksidima željeza, mangana i aluminija [11,12].

U prirodnim vodama arsen je prisutan u anorganskom obliku kao oksidiran trovalentni arsenit, As(III) i peterovalentni arsenat, As(V). pH vrijednost i redoks potencijal vode utječu na to u kojem će oksidacijskom stanju arsen biti prisutan u vodi. Pri pH vrijednostima manjim od 6,9 prevladava $H_2AsO_4^-$, dok se pri višim pH vrijednostima pojavljuje u obliku $HAsO_4^{2-}$. Pri pH vrijednostima manjim od 9,2 prevladava neutralni arsenit (H_3AsO_3) [13]. Arsen u prirodnim vodama može stupati u brojne reakcije kao što su oksidacijsko-redukcijski procesi, vezanje za različite organske i anorganske ligande, taloženje i biotransformacija. Najveći dio arsena će se ipak vezati na čestice sedimenta. Arsen ispušten u atmosferu naposlijetku ponovno završi u vodi ili tlu. Kada se ispusti u zrak procesom izgaranja, javlja se u formi vrlo topljivih oksida te ovisno o jačini i smjeru vjetra prenosi se na određene udaljenosti od mjesta ispuštanja, gdje mokrim i suhim taloženjem dospijeva u tlo i površinske vode. Postoje dopuštene koncentracije arsena budući da je on prirodni sastojak zemljine kore. Prirodna razina arsena u tlu obično iznosi od 1 mg kg^{-1} do 40 mg kg^{-1} s tim da se znatno veće koncentracije mogu pojaviti u rudarskim područjima, u blizini odlagališta i spalionica otpada te na područjima koja su tretirana raznim insekticidima koji sadrže arsen. Koncentracije u vodi su < 10 μg L^{-1} dok su veće vrijednosti uočene u vodama koje su onečišćene arsenom antropogenog podrijetla. Koncentracije arsena u područjima sa smanjenom ljudskom djelatnošću, dakle gdje ne postoji velika mogućnost onečišćenja, iznosi od 1 ng m^{-3} do 3 ng m^{-3}, dok se u urbanijim područjima te koncentracije kreću od 20 ng m^{-3} do 100 ng m^{-3} [11]. Godišnje se proizvede preko 100 000 t arsena [13]. Problem prisutnosti arsena u okolišu, odnosno podzemnim vodama, prisutan je i u Republici Hrvatskoj [11].

2.2.5. Arsen u vodi za piće

Uzimajući u obzir činjenicu da je arsen prisutan u vodi, tlu i zraku, ljudska populacija nikako ne može izbjeći izloženost arsenu i njegov štetan utjecaj. Od svih tih izvora, arsen u vodi za piće ipak ima najveći utjecaj na zdravlje ljudi budući da se voda svakodnevno konzumira. Voda za piće uzima se iz raznih izvora, ovisno o lokalitetu: atmosferska ili oborinska voda, površinska voda (rijeke, jezera, mora) te podzemna voda (izvori, bunari). U podzemnim vodama kao posljedica geološkog sastava tla često se pojavljuje arsen. Koncentracije arsena pronađene u podzemnim vodama u nekim dijelovima svijeta uvelike prelaze dopuštene koncentracije [14]. Najveća dopuštena koncentracija arsena u vodi za piće iznosi 10 μg/L. Prema procjenama Svjetske zdravstvene organizacije (eng. *World Health*

Organization, WHO) maksimalna dopuštena koncentracija arsena u pitkoj vodi Bangladeša iznosi 50 μg/L. Ondje je svakodnevno 50 milijuna ljudi izloženo trovanju arsenom prilikom konzumacije vode [15]. Istraživanje provedeno 1997. godine na 32 651 uzoraka vode iz pitkih bunara je pokazalo da je 62 % ispitivanih uzoraka imalo koncentraciju arsena veću od 100 μg/L [11]. Nema samo Bangladeš ovaj problem, povećane koncentracije arsena uočene su i na području Zapadnog Bengala u Indiji. Ondje su zapažene maksimalne koncentracije arsena u pitkoj vodi koje su iznosile 3400 μg/L [16]. Od ispitivanih uzoraka više od 80 % njih je imalo koncentraciju arsena veću od 500 μg/L [11]. Nadalje, u regiji Lagunera, u pojedinim selima u Meksiku također su uočene zabrinjavajuće visoke koncentracije arsena u vodi za piće koje iznose 300 μg/L [17]. Na osnovu analize 73 uzorka vode koncentracije arsena bile su u rasponu od 7 μg/L do 740 μg/L [11]. Osim Meksika, problem povećane koncentracije arsena u pitkoj vodi imaju i druge zemlje srednje i južne Amerike poput Čilea i Argentine. U nekim dijelovima SAD-a su također zapažene izrazito visoke koncentracije arsena . 2004. godine je utvrđeno da čak 11 % bunara u Kini, koji se koriste u vodoopskrbi, ne zadovoljavaju propisani standard od 50 μg/L. Najkritičnija situacija je bila na području pokrajine Shanxi, gdje je 52 % ispitivanih uzoraka prelazilo dopuštenu koncentraciju arsena u pitkoj vodi. Prirodno povišene koncentracije arsena karakteristične su i za pojedine dijelove Rumunjske, Mađarske, Srbije, Slovačke, ali i Hrvatske [7].

2.2.5.1. Arsen u vodi Istočne Hrvatske

Povećane koncentracije arsena, koje su iznosile preko 300 μg/L, uočene su i u Hrvatskoj pri analizi uzoraka vodoopskrbnih sustava Istočne Slavonije. Istraživanja provedena na podzemnim vodama u Istočnoj Hrvatskoj utvrdila su njegovu rasprostranjenost kao i oblik u kojem se pojavljuje [18]. Prisustvo arsena daleko iznad dozvoljene koncentracije detektirano je u „sirovoj“ neprerađenoj vodi svih bunara na vodocrpilištu Vinogradi [7]. Srednja vrijednost koncentracije arsena u neprerađenoj vodi iznosila je 239 μg As/L, minimalna koncentracija iznosila je 145 μg As/L dok je maksimalna koncentracija iznosila 358 μg As/L. Također je uočena i povezanost dubine bunara i koncentracije ukupnog arsena. Plići bunari sadrže nižu koncentraciju arsena [18]. Najniže koncentracije arsena zabilježene su u bunarima B1 i B15. Sukladno tome, u bunarima veće dubine zabilježene su veće koncentracije arsena. Najveće koncentracije arsena detektirane su u bunarima B3 i B8 čije dubine, prema Tablici 1., iznose 160 m i 159 m [5,7]. Bunari s dubinama između 110 m i 150 m imaju niže koncentracije arsena, a u bunarima s dubinom većom od 150 m zabilježene su znatno veće koncentracije arsena. Dominantan oblik arsena prisutan u podzemnoj vodi je As^{3+}

[18]. Usporedbom vrijednosti ukupnog arsena i vrijednosti As^{3+} u bunarima na vodocrpilištu Vinogradi uočeno je da As^{3+} čini 94,44 % koncentracije ukupnog arsena. Ukoliko je bunar neko određeno vrijeme bio „van funkcije“ zbog smanjene izdašnosti ili tehničkih prepreka, te nakon ponovnog pokretanja u rad, koncentracija ukupnog arsena se smanji, ali nakon određenog vremena se ponovno vraća na uobičajenu vrijednost koncentracije koja je svojstvena za taj bunar.

Prisutnost arsena u podzemnim vodama Istočne Hrvatske prvenstveno je posljedica ljudskog utjecaja, primjerice, korištenja pesticida na bazi arsena. Osim toga, postoje brojni drugi čimbenici uz koje je vezana prisutnost arsena na ovom području. Jedan od razloga je i fluvijalni transport arsena i njegova adsorpcija na površini amorfnih željezovih oksida. Također, prisutnost arsena vezana je i uz otpuštanje arsena, željeza i drugih metala u gornjim dijelovima izvorišnih predjela trošenjem primarnih minerala kao što su arsenopirit, mnogi drugi sulfidi i silikati koji sadrže arsen. Otpuštanje arsena može biti potaknuto i redukcijom As^{5+} u As^{3+} izazvano bilo kojom mikrobiološkom aktivnošću ili abiotičkim reakcijama [18].

Nadalje, laboratorijskom analizom sirove, neprerađene vode s vodocrpilišta Vinogradi utvrđeno je da ona, osim za arsen, također prelazi i dozvoljene koncentracije za amonijak, mangan, željezo i organske tvari. Za uklanjanje arsena iz vode za piće u „Vodovod-Osijek“ koristi se metoda koagulacijske-flokulacije s filtracijom [7].

2.2.6. Toksičnost arsena

Toksičnost arsena poznata je još iz antičkog doba. U prošlosti se arsen koristio za eliminaciju političkih protivnika. Prvenstveno su ga koristile vladajuće klase te je zbog toga, ali i zbog svoje učinkovitosti i diskretnosti, prozvan Kraljem otrova ili Otrov za kraljeve [18]. Arsenov(III) oksid , odnosno „bijeli arsen“, se upotrebljavao za samoubojstva, ali i kao kriminalni otrov za ubijanje u borbi za vlast. To je bio bijeli prah, bez mirisa i okusa, nije umanjivao apetit te je bio smrtonosan u malim dozama. Zbog svog izgleda vrlo lako se mogao pomiješati sa šećerom. Njegovo je djelovanje bilo kumulativno što je omogućilo trovaču da oslabi žrtvu malim dozama tijekom dužeg vremenskog razdoblja. Simptomi koji su se javljali nakon trovanja arsenom bili su slični simptomima nekih prirodnih bolesti stoga se vrlo rijetko utvrdio pravi uzrok smrti. Povećano trovanje arsenom zabilježeno je krajem 19. i u prvoj polovici 20. stoljeća te je vezano uz preparat Mišomor koji je rađen na bazi arsena. Mišomor je također bio popularan proizvod i u Hrvatskoj. Da se radilo o arsenu dokazano je u istraživanjima, posebice u kostima mrtvih te je zbog toga u potpunosti povučen s tržišta

krajem 20.stoljeća i od tada nema poznatih slučajeva trovanja arsenom u našoj zemlji. Arsenov spoj imena levisit (dikloro(2-klorvinil)arsin) korišten je kao kemijsko oružje u Prvom svjetskom ratu. Na koži je stvarao bolne i neugodne plikove, a udisanje njegovih para vodilo je oštećenju pluća. Talište mu je pri 170 ^{0}C, ali je dovoljno hlapiv da stvara smrtonosne pare. Levisit je dobio ime po američkom kemičaru Lewisu koji ga je razvio. Ubijanje arsenom uvelike se proširilo nakon što se počeo dodavati otopljenom olovu da bi povećao otpornost metka.

Osim namjernog trovanja arsenom postoje i slučajevi slučajnog trovanja. Tragovi arsena bili su prisutni u mnogim proizvodima poput dječjih knjiga, kartonskih kutija, raznih naljepnica, omota slatkiša, umjetnog cvijeća, ukrasa od kože, dječjih igračaka, zidnih tapeta, boja za zidove itd. Radilo se o malim količinama, ali je ipak veliki dio proizvoda bio povučen sa tržišta [12].

Toksičnost arsena ovisi o obliku u kojem se arsen nalazi. Arsenit (As^{3+}) je toksičniji od arsenata (As^{5+}) (Slika 1), a organski spojevi arsena su manje toksični od anorganskih [7].



Slika 1. Molekulske formule arsenita i arsenata [7].

U Tablici 2 su navedeni najtoksičniji spojevi arsena i njihove smrtonosne doze. Dugotrajna izloženost arsenu i njegovim spojevima može izazvati brojne probleme u ljudskom organizmu, poput kardiovaskularnih bolesti, poremećaja respiratornog trakta i poremećaja živčanog sustava [7].

Tablica 2. Toksični spojevi arsena i njihove smrtonosne doze [7].

SPOJ	SMRTONOSNA DOZA/ (mg/kg) osim za AsH_3/mg/m^3	VRIJEME/h osim za AsH_3/min
Arsin, AsH_3 (g)	250	30
Arsenov (III) oksid, As_2O_3	34,5	< 48
Natrijev arsenit, $NaAsO_2$	4,5	< 48
Natrijev arsenat, $NaAsO_4$	14	< 48
MMAA*	1800	< 48
DMAA*	1200	< 48
TMA*	8000	< 48
*MMAA=monometilarsenatna kiselina, DMAA=dimetilarsenatna kiselina, TMA=trimetilarsin		

2.2.7. Utjecaj arsena na ljudski organizam

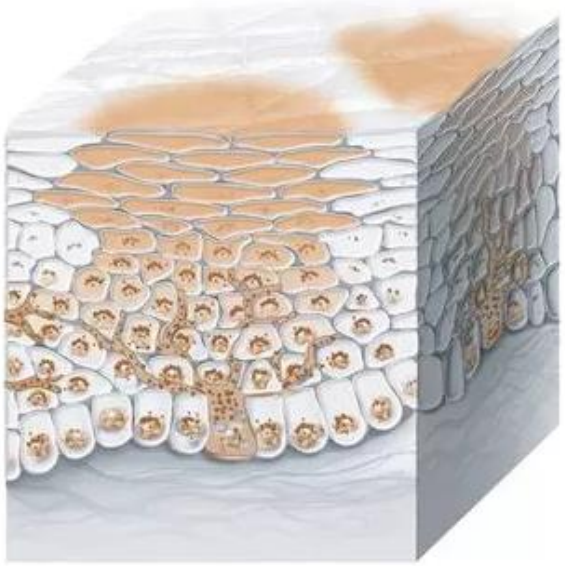
Najčešći način unosa arsena u organizam u općoj populaciji je oralnim putem preko kontaminirane hrane ili vode za piće [11]. Višegodišnja konzumacija vode za piće koja sadrži povišene koncentracije arsena značajno povećava rizik od pojave karcinoma kože i tumora mokraćnog mjehura, bubrega, jetre i pluća. Uz konzumaciju 2 L vode dnevno s koncentracijom arsena od 0,5 μg/L rizik nastajanja karcinoma je u omjeru 1:10 000. Povećanjem koncentracije na 5 μg/L omjer bi iznosio 1:1000, a za koncentraciju arsena od 50 μg/L iznosio bi 1:100.

Unošenjem arsena u tijelo putem vode za piće, on se apsorbira u probavni trakt i krvlju raznosi do organa u tijelu. Najveće koncentracije arsena nađene su u noktima i kosi [7].

2.2.7.1. Učinci na kožu

Jedna od posljedica kronične oralne izloženosti nižim koncentracijama anorganskih spojeva arsena je razvoj kožnih lezija kao što je hiperkeratinizacija kože koja se najčešće javlja na dlanovima i stopalima, pojava bradavica na koži te hiperpigmentacija kože [7]. Hiperpigmentacija (Slika 2) je pojam koji opisuje područja neujednačene pigmentacije na koži. Pojavljuje se u obliku tamnih mrlja koje kožu čine neujednačenom. Područja neujednačene kože poznata su kao staračke pjege ili mrlje od sunca [19]. Mjestimično se mogu pojaviti mjesta na koži s potpunim nedostatkom pigmenta. Najniža potvrđena

koncentracija arsena koja je izazvala kožne lezije prilikom kronične izloženosti iznosila je svega 0,115 μg/L [11].



Slika 2. Prikaz hiperpigmentacije kože [19].

2.2.7.2. Učinci na kardiovaskularni sustav

Utvrđeni su brojni učinci arsena na kardiovaskularni sustav, a uključuju utjecaj na depolarizaciju miokarda, srčanu aritmiju i ishemijsku bolest srca [11]. Koronarna ili ishemička bolest srca je karakterizirana većim ili manjim aterosklerotskim plakovima (naslagama) i suženjima unutar šupljine srčanih (koronarnih) arterija koji dovode do smanjenja ili potpunog prekida prokrvljenosti pojedinih dijelova srčanog mišića u području tako promijenjenih arterija. Posljedica začepljenja koronarnih arterija je srčani udar. Jaka neprolazna bol u prsima uvijek pobuđuje sumnju na srčani udar, međutim, ishemija srca može biti „nijema“ bolest. Ona može biti prisutna, ali bez ikakvih simptoma. Može se dijagnosticirati samo u trenutku trajanja ili kao trajno prisutne ožiljne promjene na temelju karakterističnih promjena uočenih na elektrokardiogramu (EKG). [20].

Učinci arsena na kardiovaskularni sustav utvrđeni su kako nakon akutne tako i nakon kronične izloženosti anorganskim spojevima arsena prisutnim u okolišu te kao nuspojava nakon intravenozne terapije akutne promijelocitne leukemije arsenovim (III) oksidom [11].

Kronična izloženost anorganskom arsenu rezultira toksičnim djelovanjem na krvožilni sustav. Najznačajniji toksični učinak je pojava bolesti crnih stopala (*eng*. Blackfoot desease). Ova bolest obilježena je progresivnim gubitkom cirkulacije u rukama i nogama što u

konačnici dovodi do pojave nekroze i gangrene [11]. Nekroza je konačno, nepovratno stanje, odnosno odumiranje stanica, staničnih skupina , dijelova tkiva ili cijelog organa. Uzrok nekroze je prekid krvnog optoka (dopreme kisika) u određenom području, primjerice zbog začepljenja pripadne arterije. Ako nekroza zahvati tkiva koja su neophodna za život, nastupa smrt [21]. Gangrena je naziv za odumiranje tkiva i posljedičnu infekciju bakterijama. Ona može zahvatiti bilo koji dio organizma, a najčešće su to donji ekstremiteti, nos, crijeva i pluća. Ukoliko dođe do ozlijede krvnih žila ili zastoja krvi, tkiva više nemaju tvari neophodne za život te nastupa njihovo odumiranje ili nekroza. S obzirom da na koži žive mnoge bakterije, ozlijeđena koža je savršena za njihov prodor i razmnožavanje. Prodorom bakterija razvija se infektivna gangrena (Slika 3) [22]. To je endemska bolest koja se prvenstveno javlja na području Tajvana gdje je populacija izložena visokim koncentracija arsena u vodi za piće, između 170 μg/L i 800 μg/L.

Osim nekroze i gangrene, uslijed povećane koncentracije arsena u vodi za piće javlja se još niz bolesti poput Raynaudovog sindroma, cijanoze prstiju ruku i nogu, povišenog krvnog tlaka, zadebljanja te vaskularne okluzije krvnih žila [11].



Slika 3. Pojava gangrene kao posljedice izloženosti visokim koncentracijama toksičnog arsena [22].

2.2.7.3. Učinci na respiratorni sustav

Ponovljenim oralnim unosom arsena u koncentracijama od 0,03 mg kg^{-1} dan^{-1} do 0,05 mg kg^{-1} dan^{-1} javljaju se simptomi poput kašlja, upale nosne sluznice i upale grla. Ozbiljnije respiratorne smetnje poput bronhitisa, bronhiektazije i bronhopneumonije zabilježene su kod bolesnika kronično izloženih arsenu kao i u slučaju kroničnog trovanja arsenom [11].

Bronhiektazija je nepovratno proširenje dijelova bronha kao posljedica oštećenja bronhalne stijenke. Kod bronhiektazije su područja bronhalne stijenke razorena i kronično upaljena, stanice s trepetljikama oštećene ili uništene, a stvaranje sluzi se povećava. Gubi se normalna napetost stijenki, zahvaćeno područje postaje mlohavo i prošireno, a također mogu nastati izbočine ili vrećice koje su slične balonima. Povećana sluz pomaže rastu bakterija, često začepljuje bronh i dovodi do nakupljanja zaraznih lučevina i daljnjeg oštećenja bronhalne stjenke. Upala se može proširiti i na male dišne vrećice (alveole) i dovesti do bronhopneumonije, stvaranja ožiljkastog tkiva i gubitka plućne funkcije. Takvo začepljenje dišnih puteva može dovesti do nenormalno niskih razina kisika u krvi i kobnih posljedica [23].

2.2.7.4. Učinci na gastrointestinalni sustav

Akutna i kronična izloženost anorganskim spojevima arsena rezultira nadražujućim učinkom na tkiva gastrointestinalnog sustava [11]. Gastrointestinalni sustav obuhvaća usta, jednjak, želudac, gušteraču, žuč, jetru i crijeva. On predstavlja najvažniju granicu između organa i vanjskog svijeta. Taj dio tijela je zapravo najveći endokrini organ putem kojeg se organizam opskrbljuje energijom i svime što je potrebno za normalno funkcioniranje ljudskog organizma [24]. Akutno izlaganje visokim koncentracijama anorganskog arsena dovodi do pojave mučnina, povraćanja, proljeva te boli u trbuhu. Istraživanja nisu pokazala kolika je najniža akutna doza koja bi izazvala navedene simptome. Kronična oralna doza od 0,01 mg kg^{-1} dan^{-1} rezultirala je pojavom sličnih simptoma. Nakon prestanka i akutne i kronične izloženosti anorganskom arsenu navedeni simptomi postepeno nestaju [11].

2.2.7.5. Učinci na živčani sustav

Unos povećane koncentracije anorganskog arsena, ingestijom ili inhalacijom, dovodi do pojave periferne neuropatije [11]. Periferna neuropatija je loša funkcija perifernih živaca. Može prekinuti osjet, mišićnu aktivnost ili funkciju unutarnjih organa. Simptomi se mogu pojaviti pojedinačno ili u kombinaciji. U različitim dijelovima tijela mogu se razviti bol, neosjetljivost, trnci, oteknuće i crvenilo. Učinci mogu nastati nakon oštećenja pojedinog živca (mononeuropatija), dva i više živaca (višestruka mononeuropatija) ili istodobno mnogih živaca po tijelu (polineuropatija) [25]. Nakon profesionalne izloženosti anorganskom arsenu u pogonima za proizvodnju pesticida i talionicama obojenih metala, uočena je povećana incidencija različitih neuroloških promjena kod izloženih radnika. Jedna od provedenih studija je pokazala da se navedeni učinci mogu pojaviti nakon 28 godina profesionalne izloženosti

arsenu u radnoj atmosferi u koncentraciji od 0,31 mg m^{-3}. U slučaju akutne izloženosti ljudi visokim oralnim dozama anorganskog arsena toksični učinci uključuju pojavu glavobolje, pospanosti, mentalne konfuzije, halucinacije, a naposlijetku može završiti i komom. Nakon kronične izloženosti određenim dozama anorganskog arsena uočena je pojava periferne neuropatije. Nakon prestanka izloženosti arsenu, simptomi su i dalje prisutni, ali nisu toliko izraženi. Općenito, oporavak teče prilično sporo [11].

2.2.7.6. Pojava raka

Na temelju istraživanja provedenih na ljudima uočena je povezanost između pojave raka i unosa arsena u organizam, bilo ingestijom ili inhalacijom. Povećani rizik od pojave raka pluća imali su radnici u rudnicima i talionicama bakra koji su bili izloženi utjecaju arsenita te zaposlenici kemijskih industrija. Osim radnika, povećani rizik od dobivanja raka imali su stanovnici koji su živjeli u blizini talionica i kemijskih industrija budući da su izloženi arsenu koji se nalazio u zraku. Osim raka pluća, uslijed izloženosti arsenu postoji mogućnost dobivanja raka kože te raka mokraćnog mjehura [11].

Prisutnost arsena u vodi za piće je jedan od najvećih javnozdravstvenih problema u svijetu i zbog toga je nužno razvijati metode za detekciju arsena kako bi se spriječila njegova konzumacija, a samim time i toksično djelovanje na organizam [18].

2.3. Metode detekcije arsena

Postoje brojne metode za detekciju arsena u vodi za piće, danas se radi na njihovom unaprjeđenju i stvaranju novih, jednostavnijih i isplativijih metoda od postojećih.

2.3.1. Laboratorijske metode

Laboratorijske tehnike koje se koriste za detekciju arsena uključuju: atomsku spektroskopiju, masenu spektrometriju, neutronsku analizu, elektroforezu, kromatografiju, potenciometriju i voltametriju. Većina prihvaćenih laboratorijskih metoda ima određenu granicu detekcije unutar koje može detektirati arsen, a ona iznosi od 1 μg/L, odnosno 1 ppb. Sve navedene tehnike mogu točno provesti visokopropusne analize uzoraka s dobrom reproducibilnošću. Nedostatak ovih tehnika su veliki troškovi koji obuhvaćaju troškove održavanja, troškove materijala i visoko obučenih tehničara. Konkretno, atomska apsorpcijska spektroskopija (eng. *Atomic Absorption Spectroscopy*, AAS), masena spektrometrija (eng. *Mass Spectrometry*, MS) i atomska fluorescentna spektroskopija (eng. *Atomic Fluorescence Spectroscopy*, AFS) su jedne od najpouzdaniji metoda za točno određivanje koncentracije

arsena, no zbog visokih troškova održavanja nisu poželjne za svakodnevno rutinsko praćenje koncentracije arsena u gradovima [26].

2.3.1.1. Spektrometrijska metoda sa srebrovim dietilditiokarbamatom i borhidridom

Ovom metodom se arsenit, koji ima trovalentni arsen, reducira otopinom borhidrida u arsin (AsH_3) u području pH = 6. Nastali arsin pod utjecajem struje dušika prelazi iz redukcijske boce u ispirač plinova gdje se nalazi staklena vuna impregnirana otopinom olovnog acetata, a nakon toga u apsorpcijsku cijev koja sadrži srebrov dietilditiokarbamat i morfolin otopljen u kloroformu. Pri tome se razvija crvena boja čiji se intenzitet apsorpcije mjeri na 520 nm. Granica detekcije za arsen iznosi 1 μg/L [14].

2.3.1.2. Spektrometrijska metoda sa srebrovim dietilditiokarbamatom i elementarnim cinkom

Nakon redukcije u arsen(III) te redukcije s nascentnim vodikom u kiseloj otopini nastaje plinoviti arsin koji se apsorbira u otopini srebrovog dietilditiokarbamata u kloroformu ili piridinu. Apsorpcija dobivenog crveno-ljubičastog kompleksa mjeri se spektrometrijski na valnoj duljini od 540 nm. Ovom metodom je moguće detektirati arsen u koncentracijama od 1 μg/L do 100 μg/L. Za detekciju većih koncentracija potrebno je razrijediti uzorak [14].

2.3.1.3. Atomska apsorpcijska spektrometrijska metoda s borhidridom

Nakon oksidacije kiselinom anorganskih i organskih spojeva arsena u arsen(V) radi se kvantitativna redukcija As(V) u As(III) pomoću kalijeva jodida ili kositrovog(II) klorida te pomoću cinka i kloridne kiseline u plinoviti arsin. Također je moguća i pretvorba arsena u arsin pomoću natrijevog borhidrida u otopini kloridne kiseline. Nastali arsin se odstranjuje iz otopine aeracijom s dušikom u vodikov plamen, gdje se određuje apsorpcijom na 193,7 nm. Ovom metodom je moguće odrediti arsen u koncentraciji od 1 μg/L do 100 μg/L. Za detekciju većih koncentracija potrebno je razrijediti uzorak kao što je to slučaj kod prethodno opisane metode [14].

2.3.2. Kolorimetrijske metode za detekciju arsena

Devedesetih godina prošlog stoljeća u Bangladešu se pojavila epidemija trovanja arsenom kao posljedica raširene upotrebe bušotina koje su sadržavale vodu kontaminiranu visokim koncentracijama arsena. Konzumacija takve vode izazivala je niz bolesti te su organizacije poput WHO i Fonda Ujedinjenih naroda za djecu (eng. *United Nations International Children's Emergency Found, UNICEF)* odlučile suzbiti taj problem. Rješenje su pronašli u jeftinim prijenosnim terenskim kompletima za detekciju arsena. Nakon ispitivanja, bušotine s vodom u kojima je koncentracija arsena ispod 50 μg/L bile su označene zelenom bojom, dok su bušotine s koncentracijama arsena iznad 50 μg/L bile označene crvenom bojom što označava da su one nesigurne za korištenje. Svi terenski kompleti su radili na istom principu. Sav prisutan arsen se najprije reducirao u visoko toksični arsin nakon čega je on reagirao sa živinim bromidom na papiru kako bi se potaknula promjena boje. Ovisno o koncentraciji, boja na papiru je varirala od svjetlo žute do tamno žute.

Za detekciju arsena na terenu poželjne su kolorimetrijske metode. Kao i kod tradicionalnih terenskih kompleta detekcija se može provesti ljudskim okom (npr. digitalne slike). Prednost kolorimetrijskih metoda je ta da je većina digitalnih uređaja za detekciju lako penosiva poput fotoaparata, UV-VIS spektrometara ili pametnih telefona koji se također mogu koristiti kao digitalni detektori.

Jedna od korištenih kolorimetrijskih metoda za detekciju arsena je molibden plavo ispitivanje. Ovaj test se temelji na reakciji arsenata i molibdena. Jedina prepreka ovoj metodi je interferencija fosfata i silikata koji se „natječu“ s arsenom u reakciji s molibdenom. Budući da su koncentracije fosfata i silikata u prirodnim vodama mnogo veće od koncentracije arsena, prije same detekcije arsena potrebno ih je ukloniti. Jedan od načina uklanjanja fosfata i silikata je spajanje molibden plave reakcije s injektiranjem pervaporacijskog protoka (eng. *Prevaporation Flow Injection,* PFI) uzorka arsena. PFI se koristi za selektivno uklanjanje arsena iz otopine u obliku plina arsina za analizu, dok fosfati i silikati nisu isparavani i zbog toga zaostaju u otopini. PFI nije prikladan za terensku detekciju arsena jer sadrži veliki broj instrumenata, zahtjeva visoke temperature radi isparavanja arsena te složene korake uzorkovanja.

Sljedeća kolorimetrijska tehnika za detekciju arsena temelji se na izravnoj interakciji između arsena i kationske organske boje metilen plave. U reakciji s plinom arsinom otopina boje metilen plavo postaje bezbojna. Interakcija između arsena i metilen plave može se

olakšati pomoću kompleksa As(V)-salicilne kiseline. Negativni ionski kompleks veže metilensko plavilo i može se kvantitativno ekstrahirati pomoću toluena, dok nevezana boja ostaje u otopini. Intenzitet plave boje toluenskog ekstrakta je u korelaciji s koncentracijom arsena prisutnog u početnoj otopini.

Za razliku od uobičajenih terenskih metoda detekcije arsena, u prethodno opisanim metodama (molibden plavo i metilen plavo) plin arsin koji se razvija ostaje u otopini tijekom cijele analize čime se smanjuje izloženost tehničara otrovnom plinu.

Metode utemeljenje na papiru korištene su za analitičke detekcije tisućama godina. Prvi zabilježeni slučaj kolorimetrijske detekcije na papiru bio je još u 1. stoljeću poslije Krista kada je Plinije Stariji koristio papirus za procjenu Tyrian ljubičaste boje u puževima. Mikrofluidni papirni analitički uređaj (eng. *Microfluidic papir-based analytical devices,* μPAD-s) je metoda koja je vrlo popularna danas iz više razloga; jednostavna je, lako prenosiva i isplativa [26].

2.3.3. Elektroforetske metode za detekciju arsena

Elektroforeza je kretanje čestica u otopini pod utjecajem električnog polja. Iako se najčešće koristi za odvajanje i pročišćavanje bioloških spojeva poput nukleinskih kiselina i proteina, elektroforeza se također može koristiti za odvajanje bilo koje nabijene vrste u otopini. Devedesetih godina prošlog stoljeća došlo se do zaključka da je povezivanje elektroforeze s mikrofluidima korisno iz više razloga. Mikrofluidički tokovi omogućuju lako rukovanje malim volumenima, dok mikrofluidno odvajanje čipova izbjegava potrebu za dugim, zamršenim žicama elektroda. Elektroforetske metode za detekciju arsena, povezane s mikrofluidima, su kapilarna elektroforeza i izotahoforeza [26].

Kapilarna elektroforeza (eng. *Capillary Electrophoresis*, CE) je analitička tehnika razdvajanja koja se prvi puta javlja 1981. godine. Za njen razvoj su zaslužni Lukacs i Jorgenson [27]. U početku se kapilarna elektroforeza koristila isključivo za razdvajanje smjese peptida i proteina. Kasnije je osmišljen CE sustav za detekciju arsena s nizvodnom AFS detekcijom (eng. *Atomic Fluorescence Spectroscopy*, AFS). Cjelokupni sustav se sastoji od mikročipa, sučelja s dizajnom „tube-in- tube“ koje smanjuje otpor protoka uz održavanje CE razdvajanja te atomske fluorescentne spektroskopije. Odvajanje As(III) / As(V) u ovom sustavu se odvija unutar jedne minute. Iako ovaj sustav nije prilagođen za detekciju arsena na terenu zbog AFS, može detektirati arsen već pri malim koncentracijama.

Izotahoforeza (eng. *Isotachophoresis,* ITP) je elektroforetska tehnika u kojoj se analiti razdvajaju na temelju ionske pokretljivosti. Pod utjecajem električnog polja različite vrste prisutne u uzorku će se kretati različitim brzinama pri čemu će se razdvajati u tzv. čepove, prilikom čega će duljina svakog čepa označavati količinu svake prisutne vrste u uzorku. Uobičajena metoda određivanja koncentracije arsena putem izotahoforeze je mjerenje vodljivosti. Međutim, ova metoda trpi zbog smetnji koje stvaraju nitrati, fosfati i karbonati prisutni u vodi [26].

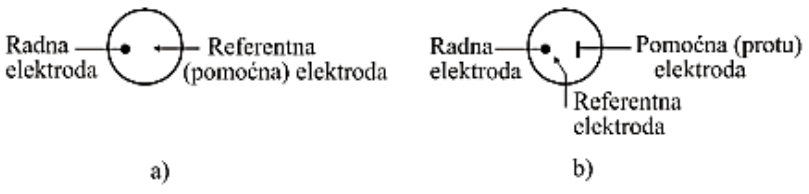
2.3.4. Elektroanalitičke metode

Općenito, analitička kemija predstavlja granu kemije koja se bavi razdvajanjem, identifikacijom i određivanjem komponenata u ispitivanom uzorku [28]. Sve elektroanalitičke metode imaju zajedničko obilježje. Pri provedbi elektroanalitičkog postupka uvijek se u elektrokemijskoj ćeliji nalazi radna ili indikatorska elektroda na kojoj se odvija elektrokemijska reakcija. Posljedica elektrokemijske reakcije jest analogna električna veličina odnosno odzivni signal. Mjerenjem signala odziva dobiva se željeni podatak o ispitivanoj otopini.

Odzivni signal nastaje na radnoj elektrodi kao posljedica prisutnosti neke molekulske vrste u otopini ili pod utjecajem prisile izvana, odnosno pod utjecajem signala pobude koji se dovodi na radnu elektrodu elektrokemijske ćelije. Uz radnu elektrodu elektrokemijska ćelija sadrži i pomoćnu elektrodu odnosno protuelektrodu.

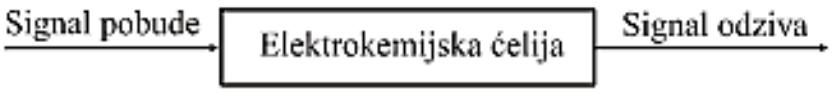
Osim protuelektrode, treća elektoda elektrokemijske ćelije naziva se referentna elektroda. Ona ima ulogu pomoćne elektrode putem koje se regulira pobudni signal ili mjeri odzivni signal.

Danas se najčešće primjenjuju elektrokemijske ćelije s tri elektrode (Slika 4) od kojih je jedna radna elektroda, druga referentna te treća protuelektroda. Referentna elektroda u troelektrodnoj elektrokemijskoj ćeliji služi samo za regulaciju signala pobude odnosno za mjerenje signala odziva [29].



Slika 4. Simboli elektrokemijskih ćelija: a) dvoelektrodna ćelija, b) troelektrodna ćelija [29].

Elektroanalitički postupak se može prikazati sljedećom shemom (Slika 5):



Slika 5. Shematski prikaz elektroanalitičkog postupka [29].

Signali pobude mogu biti različite električne veličine poput električnog napona, naboja ili struje kao i kemijske veličine poput promjene koncentracije određene molekulske vrste. Osim toga, signal pobude također može biti i temperatura.

Skupini elektroanalitičkih metoda pripadaju potenciometrija, voltametrija, amperometrijska titracija, elektrogravimetrija, kulometrija te konduktometrija. Temelj elektroanalitičkim mjerenja je elektrokemijska reakcija na radnoj ili indikatorskoj elektrodi [29].

Voltametrijske metode

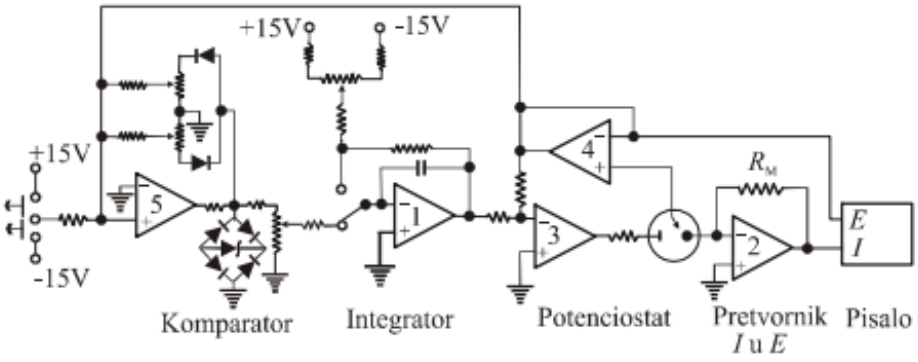
Voltametrijske metode pripadaju skupini elektroanalitičkih postupaka u kojima je signal pobude električni napon. Signal odziva je struja ćelije koja se mjeri kao funkcija narinutog napona. Sukladno tome je i nastao sam naziv „voltametrija“, kao skraćenica za volt-amper-metriju [29]. Ova skupina elektroanalitičkih postupaka počinje se razvijati otkrićem polarografije, 1922. godine, za koju je zaslužan češki kemičar Jaroslav Heyrovsky, dobitnik Nobelove nagrade 1959. godine [30].

Kada se na elektrodu uronjenu u neku otopinu, koja sadrži neku elektroaktivnu vrstu, narine određeni potencijal, ta se elektroda polarizira. U određenom trenutku doći će do oksidacije ili redukcije elektroaktivne vrste, točnije, kada potencijal elektrode dosegne vrijednost kod koje dolazi do prijelaza elektrona između elektrode i te elektroaktivne vrste. U tom trenutku kroz otopinu počinje teći struja čija jakost ovisi o koncentraciji elektroaktivne vrste u graničnom sloju uz površinu elektrode, ali i o koncentraciji te elektroaktivne vrste u otopini. Grafički prikaz signala odziva u voltametriji (voltamogram), za svaku pojedinu voltametrijsku tehniku, uvjetovan je oblikom naponske pobude i brzinom promjene potencijala [31].

Voltametrijske metode koje se najčešće primjenjuju su: ciklička voltametrija, diferencijalna pulsna voltametrija, pravokutna i *stripping* voltametrija, kao i različite vrste

polarografije koje se od voltametrijskih tehnika razlikuju po tome što radna mikroelektroda ima oblik kapajuće živine elektrode.

Voltametrijski uređaj (Slika 6) se sastoji od: komparatora, integratora, potenciostata, pretvornika struje u napon, računala i voltametrijskog članka. Uloga potenciostata je da automatski mijenja potencijal pomoćne elektrode, tako da razlika potencijala između radne i referentne elektrode ostaje na zadanoj (kontroliranoj) vrijednosti [30].



Slika 6. Shematski prikaz uređaja za voltametriju [30].

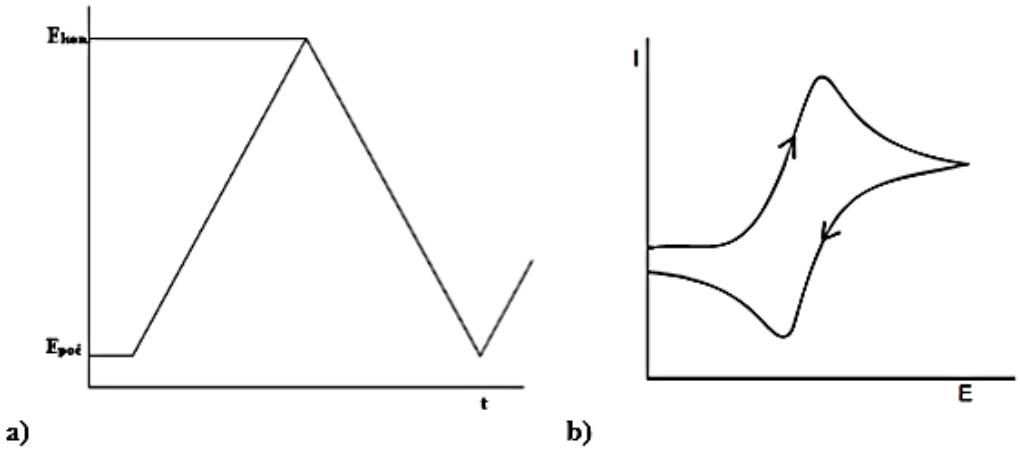
Voltametrijski članak se sastoji od 3 elektrode koje su uronjene u otopinu analita i viška elektrolita (koji ne reagira) tj. osnovnog elektrolita. Te tri elektrode su:

- radna elektroda - vrlo mala, sklona polarizaciji, potencijal se održava na poznatoj vrijednosti
- referentna elektroda - stalan potencijal koji se ne mijenja
- pomoćna elektroda (protuelektroda) - omogućuje tok struje od izvora kroz otopinu skroz do radne elektrode [28].

Ciklička voltametrija

Cikličku voltametriju (eng. *Cyclic Voltammetry,* CV) otkrili su 1938. godine Matheson i Nichols, a teorijski opisali Randles i Ševčik [29]. To je elektrokemijska tehnika koja se primjenjuje za istraživanje kinetike i mehanizama redoks-reakcija, određivanje redoks potencijala i broja izmijenjenih elektrona te za istraživanje adsorpcijskih procesa [30].

U cikličkoj voltametriji signal pobude neprestano mijenja smjer. Osnovni je princip da se potencijal radne elektrode linearno mijenja s vremenom od početnog potencijala, $E_{poč}$, do konačnog potencijala, E_{kon}, i natrag (Slika 7) [31].

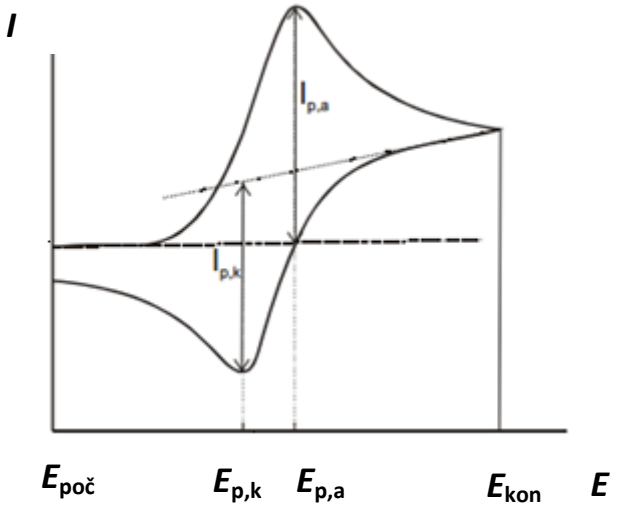


Slika 7. a) Signal pobude, b) signal odziva u cikličkoj voltametriji [31].

Signal odziva cikličke voltametrije ima karakterističan oblik s katodnim i anodnim vrhom. Grafički prikaz odziva cikličke voltametrije naziva se ciklički voltamogram [29]. Oblik cikličkog voltamograma ovisi o brzinama prijenosa elektrona, prijenosa tvari i kemijskim reakcijama koje prate redoks-reakcije [30].

Veličine koje karakteriziraju ciklički voltamogram (Slika 8) su [32]:

- potencijal i struja anodnog ($E_{p,a}$; $I_{p,a}$) i katodnog ($E_{p,k}$; $I_{p,k}$) strujnog vrha
- omjer struja oksidacijskog i redukcijskog strujnog vrha ($I_{p,a}$ / $I_{p,k}$)
- razlika potencijala anodnog i katodnog strujnog vrha ($\Delta E_p = E_{p,a} - E_{p,k}$)

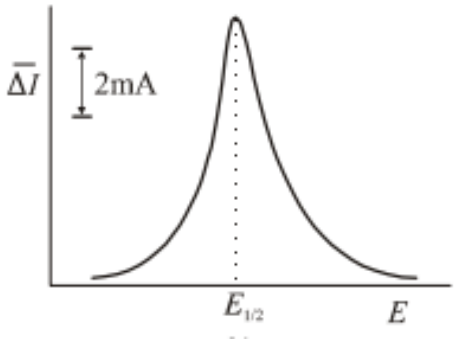


Slika 8. Ciklički voltamogram s označenim strujama i potencijalima anodnog ($E_{p,a}$; $I_{p,a}$) i katodnog ($E_{p,k}$; $I_{p,k}$) strujnog vrha [29].

Brzina promjene potencijala može se mijenjati u širokom opsegu pa se ovom tehnikom mogu ispitivati kako spore, tako i vrlo brze elektrodne reakcije [31].

Diferencijalna pulsna voltametrija

Naziv diferencijalne pulsne voltametrije (eng. *Differential Pulse Voltammetry*, DPV) potječe od činjenice da se mjeri razlika (diferencija) u struji ćelije, koja je uzrokovana naponskim impulsom. Kod ove metode, na radnoj elektrodi se primjenjuju pulsevi određene veličine, koji su dodani na linearni nagib. Signal odziva je razlika jakosti struja prije i nakon naponskog impulsa, kao funkcija potencijala. U području potencijala u kojem mala promjena potencijala radne elektrode izaziva mjerljivu razliku u struji ćelije, pojavit će se pulsno voltamogramski odziv (Slika 9) koji ima oblik vrha. Kod diferencijalne pulsne voltametrije signal pobude je niz kratkotrajnih pulseva, a signal odziva je proporcionalan koncentraciji reaktanata [31].



Slika 9. Prikaz diferencijalnog pulsnog voltamograma [29].

Diferencijalna pulsna voltametrija se može koristiti za određivanje vrlo niskih koncentracija elektroaktivnih komponenti u farmaceutskim uzorcima, tkivima i biološkim tekućinama. Granica detekcije iznosi 10^{-8} mol dm^{-3} [30].

Metoda je izrazito osjetljiva stoga zahtjeva visoki nivo čistoće, a to se odnosi na sve kemikalije i otopine koje se koriste kao osnovni elektroliti. Ukoliko se kao otapalo koristi voda, ona se pročišćava postupkom deionizacije. Osim vode, može se koristiti i veliki broj drugih otapala. Također se pomoću diferencijalne pulsne voltametrije može istodobno određivati veći broj različitih elektroaktivnih vrsta koje su istovremeno prisutne u ispitivanoj otopini. Od velike je važnosti izabrati odgovarajući osnovni elektrolit, jer se onda vrhovi odziva pojedinih elektroaktivnih vrsta prisutnih u ispitivanoj otopini mogu pravilno razlučiti i uspješno mjeriti prema osnovnoj zajedničkoj struji [31].

Nedostaci ove metode su identični nedostacima većine elektroanalitičkih metoda, a to su relativno dugo vrijeme trajanja mjerenja te neprikladnost za istraživanje složenijih sustava zbog nemogućnosti razlučivanja pripadajućih signala odziva [29].

2.3.5. Elektrokemijske metode detekcije arsena

Kroz dugi niz godina se pokazalo veliko zanimanje za razvoj elektrokemijskih tehnika kojima bi se detektirao arsen. Jedna od metoda je anodna „stripping" voltametrija (eng. *Anodic Stripping Voltametry,* ASV). Detekcija arsena pomoću ASV proučava se gotovo pola stoljeća, a sastoji se od dva opća koraka: prvi korak podrazumijeva prethodno koncentriranje arsena na površinu elektrode putem elektrodepozicije nakon čega se metalni sloj oksidira s površine pomoću anodnog linearnog potencijala.

„Screen-printed" elektroda (eng. *Screen Printed Electrode,* SPE) je još jedna obećavajuća metoda za elektrokemijsku detekciju arsena. Ona nadilazi probleme s kojima se suočava većina elektrokemijskih metoda za detekciju. Pri mjerenju arsena mnoge elektrokemijske tehnike trpe zbog interferencije neke druge vrste na površini elektrode. Kako bi se riješilo ovo pitanje i povećala selektivnost arsena, neke su skupine razvile sustave koji koriste enzime. U takvim sustavima elektroda mjeri aktivnost enzima, a to je u korelaciji s količinom arsena prisutnog u otopini. No postavlja se pitanje je li aktivnost enzima prava funkcija ukupnog arsena, što je ujedno i glavni nedostatak.

Tehnologija sintetski tiskane elektrode je jedno od rješenja za navedene probleme s kojima se suočavaju elektrokemijske metode za detekciju. Tehnologija sitotiska omogućuje reproducibilnu masovnu proizvodnju jeftinih senzora za jednokratnu upotrebu. SPE izrada nastavlja se tintnim ispisom elektrode na vrhu plastične ili keramičke podloge. Raznovrsnost ove metode proizlazi iz lakoće modifikacije tinte, koja određuje osjetljivost i selektivnost elektrode [26].

2.4. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija (EIS)

Impedancijska spektroskopija bilježi svoje početke još u 19. stoljeću kada je Heaviside, koji se smatra „ocem impedancije", definirao termine impedancije, admitancije i reaktancije. Međutim, prava primjena EIS započela je zapravo 40.-ih i 70.-ih godina 20. stoljeća kada su izumljena dva vrlo važna uređaja, a to su potenciostat i analizator frekvencijskog odgovora, FRA. Potenciostat je odigrao važnu ulogu s aspekta održavanja

konstante vrijednosti potencijala, dok je FRA bio taj koji je doveo EIS na sam vrh najmoćnijih elektrokemijskih tehnika [33].

Elektrokemijska impedancijska spektroskopija, EIS, je moćna i nedestruktivna tehnika *in situ*, koja se primjenjuje za karakterizaciju različitih elektrokemijskih sustava. Neka od područja u kojima se primjenuje EIS su: ispitivanja korozije i pasivizacije metala i legura, ionskih i elektronskih vodljivosti materijala, karakterizacija materijala uključujući kemijski modificirane materijale za elektrode u različitim elektrokemijskim uređajima (kao što su galvanski i gorivni članak, elektrokemijski kondenzatori, kemijski senzori, biosenzori itd.) kao i kontrola njihovog rada. EIS je danas jedna od najmoćnijih metoda u elektrokemiji koja se koristi za razvoj i istraživanje u gotovo svakom tehničkom sektoru, primjerice, prometu i infrastrukturi, baterijama, medicini itd. Razlog tome je u njenoj relativno jednostavnoj primjeni koja se sastoji od četiri stupnja:

1.) mjerenje impedancijskih spektara, IS-a,
2.) modeliranja,
3.) matematičkog prilagođavanja i
4.) ekstrakcije parametara [34].

2.4.1. Mjerenje impedancije

EIS se temelji na mjerenju odgovora sustava na pobudni signal. Koristi nisko-amplitudni sinusni pobudni (potencijalni) signal, a prati se odzivni sinusni (strujni) signal [34]. Na slici 10 nalazi se shematski prikaz mjerenja EIS-om:



Slika 10. Shematski prikaz mjerenja impedancije [34].

Mjerenje impedancije mora zadovoljavati sljedeće uvjete:

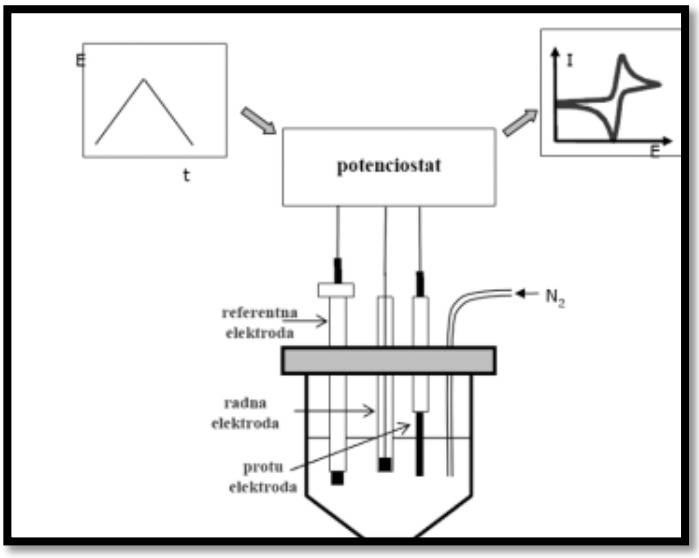
- LINEARNOST - relacija između pobudnog i odzivnog signala mora biti linearna;
- STABILNOST - uklanjanjem stimulansa, sustav se vraća u prvotno stanje;
- KAUZALNOST - sustav ne smije producirati odgovor prije primjene pobudnog signala [35].

Postoje dvije metode mjerenja impedancije, „single-sine“ tehnika i „multi-sine“ tehnika. Osnova obiju metoda je da se sinusni signal s malom amplitudom narine na elektrodu i mjeri se potencijal ili strujni odziv.

Rezultati mjerenja impedancije su impedancijski spektri, IS-i, koji se često prikazuju u kompleksnoj impedancijskoj ravnini. Dva načina prikazivanja impedancijskih spektara su: Nyquistov prikaz i Bodeov prikaz [36].

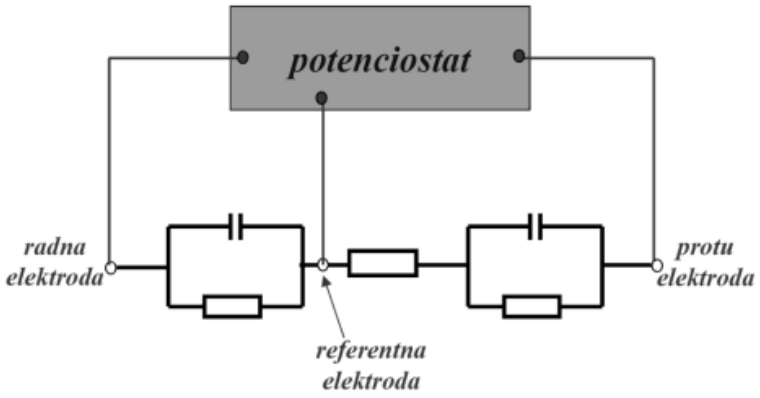
2.4.2. Princip metode elektrokemijske impedancijske spektroskopije

Osnovni princip metode je da se u troelektrodnom sustavu nameće naponska pobuda sinusoidnog oblika između referentne i radne elektrode, a prati se strujni odziv sustava, odnosno struja između radne i protuelektrode (Slika 11). Ulazna harmonička perturbacija potencijala je promjenjive frekvencije, najčešće od 1 mHz do 10 kHz. Kako su korozijski procesi inherentno nelinearni, a teorija izmjeničih struja je razvijena za linearne sustave, amplituda sinusoidnog signala ΔE mora biti veoma mala (ΔE < 10 mV), tako da je odaziv ispitivanog sustava linearan. Tijekom mjerenja elektroda može biti na korozijskom potencijalu ili polarizirana.



Slika 11. Prikaz troelektrodne elektrokemijske ćelije [36].

Potenciostat je uređaj za održavanje i kontrolu potencijala radne elektrode u elektrokemijskom članku u odnosu na referentnu elektrodu (Slika 12). Pomoću referentne elektrode mjeri se i održava potencijal radne elektrode. Struja prolazi između radne i protuelektrode [36].



Slika 12. Troelektrodni elektrokemijski sustav [36].

Prednosti EIS-a:

- mjerenja se provode u stacionarnim uvijetima
- mjerenja su jednostavna
- karakterizira svojstva i površina i mase svih materijala (vodiča, poluvodiča, ionskih medija, izolatora)
- može poslužiti za potvrđivanje mehanističkih modela
- daje dobre rezultate i u elektrolitima male vodljivosti
- nedestruktivna je [36].

Međutim, učinkovito korištenje ove metode je oteženo prvenstveno zbog nedostatka sveobuhvatnog objašnjenja tehnika, teorije, mjerenja i analize [34].

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Uzorkovanje bunarske vode sa vodocrpilišta Vinogradi

Tijekom 9. i 10. mjeseca 2018. godine prikupljeni su uzorci bunarske vode za detekciju arsena. Voda je uzorkovana iz bunara 4, 7, 9, 15, 17, 18. Uzorci bunarske vode skupljali su se u plastične boce od 500 mL na koje je napisan broj bunara (npr. bunar 4) i datum uzorkovanja. Prije samog uzorkovanja, slavina iz koje izlazi vode polije se etanolom i zapali kako bi se spriječilo da nečistoće sa slavine dospiju u plastičnu bocu. Analiza bunarske vode, odnosno detekcija arsena elektrokemijskim tehnikama, provedena je na Odjelu za kemiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

3.2. Kemikalije i priprava otopina

U radu su korištene sljedeće kemikalije:

- kalijev nitrat, KNO_3
- natrijev arsenit, $NaAsO_2$
- Crystal violet, $C_{25}N_3H_{30}Cl$
- kalijev tetrakloroaurat trihidrat, $KAuCl_4 \cdot 3\ H_2O$
- natrijev dihidrogen fosfat, NaH_2PO_4
- dinatrijev hidrogen fosfat, Na_2HPO_4
- kalijev klorid, KCl
- kalijev heksacijanoferat(II) trihidrat, $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3\ H_2O$
- kalijev heksacijanoferat(III), $K_3[Fe(CN)_6]$
- prah α-aluminijeva oksida, $\alpha\text{-}Al_2O_3$
- destilirana voda

Priprema osnovne otopine (Fe^{3+} / Fe^{2+})

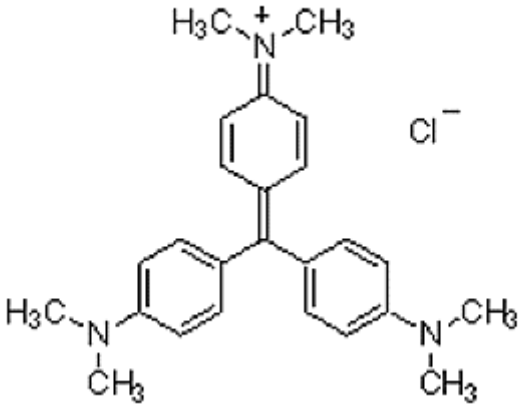
Za pripravu osnovne otopine, u kojoj su prvotno provedena mjerenja cikličkom i diferencijalnom pulsnom voltametrijom te elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom kako bi se utvrdila razlika između nemodificirane i modificirane elektrode od staklastog ugljika, potrebno je odvagati 0,7456 g krutog KCl (c = 0,1 mol dm^{-3}), 0,202 g krutog kalijevog heksacijanoferata(II) trihidrata (c = 0,5 mol dm^{-3}) te 0,211 g kalijevog heksacijoferata(III) (c = 0,5 mol dm^{-3}). Sva tri odvagana uzorka se kvantitativno prenesu u volumetrijsku tikvicu od 100 mL, otopi se u maloj količini destilirane vode te se nadopuni do oznake na tikvici.

Priprema fosfatnog pufera (pH=7)

Za pripravu fosfatnog pufera, koji se koristi za slijepu probu odnosno „blank“ neposredno prije svakog mjerenja kako bi se utvrdilo stanje elektrode, potrebno je odvagati 11,998 g NaH_2PO_4 (c = 0,05 mol dm^{-3}) i 14,196 g Na_2HPO_4 (c = 0,05 mol dm^{-3}). Odvagani uzorci se kvantitativno prenesu u volumetrijsku tikvicu od 2 L, otope se u maloj količini destilirane vode, a zatim se nadopuni vodom do oznake na tikvici. pH-metrom je utvrđeno da je pH fosfatnog pufera pH = 7.

Priprema otopine Crystal Violet (CRV)

CRV (Slika 13) je dobro poznata organska boja koja se koristi kao pojačivač za krvave otiske prsta. Osim toga, primjenjuje se i kao kromofor za boju [37]. Za pripravu otopine Crystal Violet (c = $1 \cdot 10^{-2}$ mol dm^{-3}) potrebno je odvagati 0,101994 g CRV, kvantitativno prenijeti u volumetrijsku tikvicu od 25 mL, otopiti uzorak u maloj količini destilirane vode, a zatim nadopuniti destiliranom vodom do oznake na tikvici.



Slika 13. Prikaz strukture Crystal Violet [37].

Priprema otopine kalijevog tetrakloroaurata trihidrata, $KAuCl_4 \cdot 3\ H_2O$

Za pripremu otopine $KAuCl_4 \cdot 3\ H_2O$ (c = $1 \cdot 10^{-2}$ mol dm^{-3}) potrebno je odvagati 0,098974 g $KAuCl_4 \cdot 3\ H_2O$, kvantitativno prenijeti u volumetrijsku tikvicu od 25 mL, otopiti u maloj količini destilirane vode te nadopuniti destiliranom vodom do oznake na tikvici.

Priprema otopine za modifikaciju elektrode od staklastog ugljika

Za pripremu otopine za modifikaciju elektrode od staklastog ugljika (eng. *glassy carbon*, GC), u laboratorijsku čašu za uzorke, potrebno je pomoću mikropipeta otpipetirati

redom: 10,5 mL destilirane vode, 1,5 mL KNO_3 (c = 1 mol dm^{-3}), 1,5 mL $KAuCl_4 \cdot 3\ H_2O$ ($c = 1 \cdot 10^{-3}$ mol dm^{-3}) i 1,5 mL Crystal Violet ($c = 1 \cdot 10^{-2}$ mol dm^{-3}). Do upotrebe čašu s otopinom je potrebno prekriti parafilmom kako bi se spriječilo da nečistoće izvana dospiju u otopinu.

Priprema otopine arsenitnih (As^{3+}) iona

Za pripravu otopine As^{3+} ($c = 1 \cdot 10^{-2}$ mol dm^{-3}) potrebno je odvagati 0,25982 g $NaAsO_2$, odvagani uzorak kvantitativno prenijeti u volumetrijsku tikvicu od 200 mL te otopiti u maloj količini destilirane vode. Na kraju je potrebno nadopuniti destiliranom vodom do oznake na tikvici.

Priprema otopina različitih koncentracija As^{3+} iona

U Tablici 3 prikazan je postupak pripreme otopina za kalibracijski dijagram, odnosno, koliki je volumen otopine natrijevog arsenita (As^{3+} iona) potrebno dodati u 15 mL fosfatnog pufera (pH = 7) kako bi se dobile otopine arsenitnih iona koncentracija navedene u tablici.

Tablica 3. Postupak pripreme otopina arsenitnih (As^{3+} iona) različitih koncentracija.

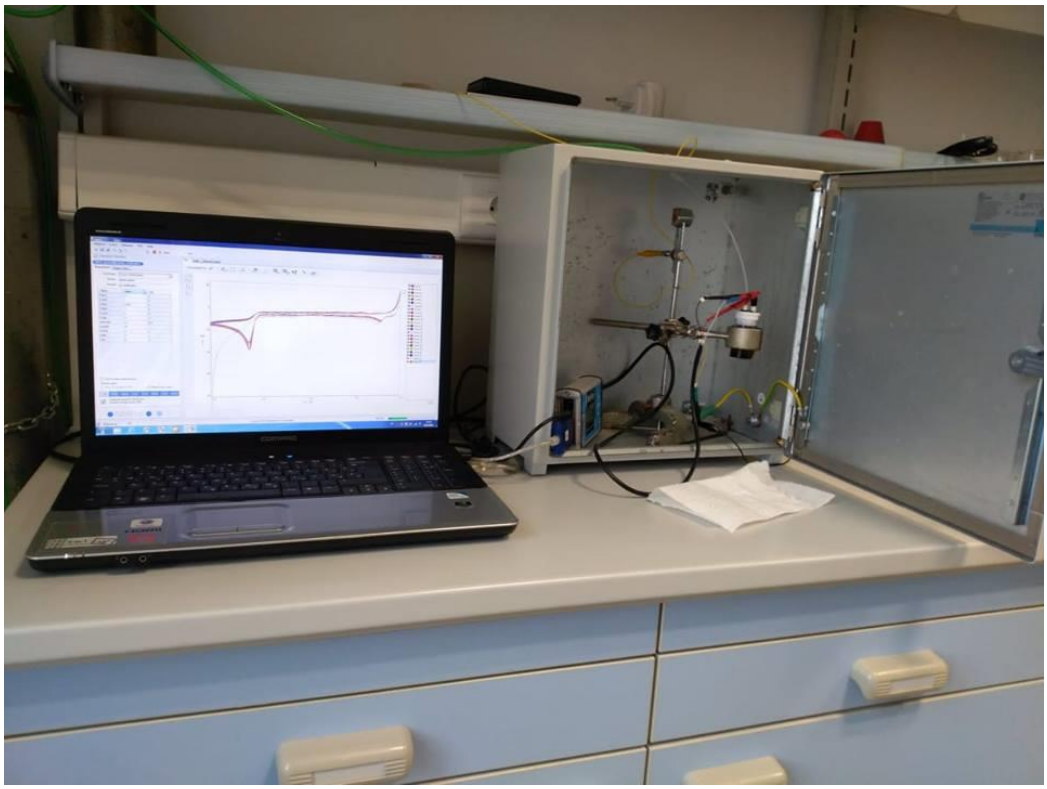
$10^6\ c$ (As^{3+}) / mol dm^{-3}	V (pufer, pH = 7) / ml	V (As^{3+}, $1 \cdot 10^{-3}$ mol dm^{-3}) / mL
2	14,97	0,03
4	14,94	0,06
6	14,91	0,09
8	14,88	0,12
10	14,85	0,15
14	14,79	0,21
18	14,73	0,27
22	14,67	0,33
26	14,61	0,39
30	14,55	0,45
34	14,49	0,51
38	14,43	0,57
40	14,40	0,60

Priprema uzoraka bunarske vode za voltametrijska mjerenja

Pomoću mikropipeta u laboratorijsku čašicu za uzorke potrebno je otpipetirati 1,5 mL fosfatnog pufera (pH = 7) te 13,5 mL uzorka bunarske vode prikupljenog na vodocrpilištu Vinogradi. Ukupni volumen je iznosio 15 mL. Za svaki od prikupljenih uzoraka vrijedi isti postupak. Na laboratorijske čaše s pripremljenim otopinama potrebno je navesti brojeve bunara (npr. 18, ukoliko se radi o bunaru broj 18) te ih prekriti parafilmom do upotrebe kako nečistoće iz zraka ne bi dospjele u otopinu. Nakon 2 provedena mjerenja, u navedenu otopinu se dodaje 90 µL As^{3+} te se provede treće mjerenje. Isto vrijedi za svaki uzorak bunarske vode.

3.3. Elektrokemijska ćelija

Mjerenja su provedena u Faradayevom kavezu (Slika 14) s potenciostatom PalmSens uz računalni program PSTrace 1.2. Elektrokemijska ćelija sastoji se od tri elektrode: radna elektroda, referentna elektroda te protuelektroda (Slika 15). Inertna atmosfera postignuta je propuhivanjem sustava argonom visoke čistoće Ar 5 (ϕ_{Ar} = 99,999%). Mjerenja su provedena pri sobnoj temperaturi.



Slika 14. Aparatura za voltametrijska mjerenja, PalmSens potenciostat/galvanostat u Faradayevom kavezu.



Slika 15. Elektrokemijska ćelija s troelektrodnim sustavom.

3.3.1. Radna elektroda

Kao radna elektroda korištena je elektroda od staklastog ugljika (eng. *glassy carbon*) (Slika 16). Prije svakog mjerenja površina radne elektrode je polirana suspenzijom α-Al_2O_3, veličine čestica 0,05 μm do zrcalnog sjaja te ispirana destiliranom vodom.

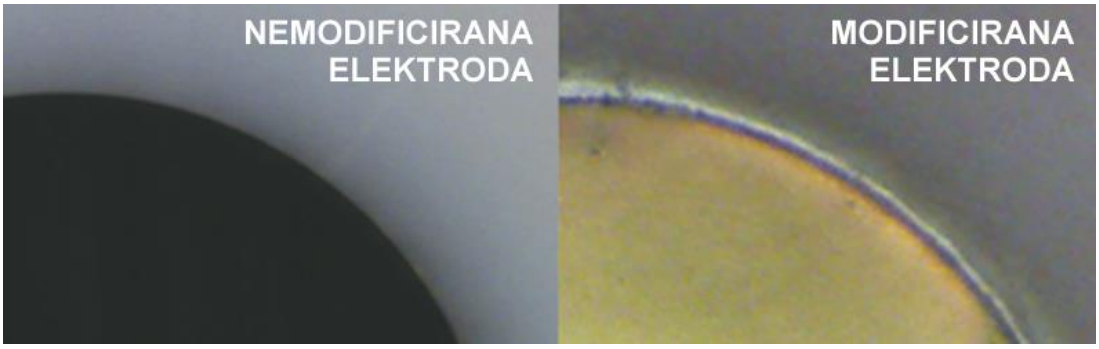


Slika 16. Elektroda od staklastog ugljika [38].

3.3.1.1. Modifikacija elektrode od staklastog ugljika

Elektrokemijska mjerenja su provedena prvo nemodificiranom elektrodom od staklastog ugljika nakon čega je uslijedila njena modifikacija (Slika 17). Prije same modifikacije, elektroda od staklastog ugljika se polira suspenzijom α-Al_2O_3 do zrcalnog sjaja te se ispere destiliranom vodom. Po potrebi se površina elektrode dodatno čisti u ultrazvučnoj kupelji. Modifikacija se provodi uzastupnom ciklizacijom (60 uzastopnih ciklizacija) u

prethodno priređenoj otopini za modifikaciju (vidi: 3.2.5) u području potencijala od -1 V do 1 V pri brzini polarizacije elektrode od 100 mV/s. Rezultat je elektrokemijska depozicija kompleksa nanočestica zlata i boje Crystal violet kao tanki sloj na površini elektrode od staklastog ugljika. Elektroda se nakon modifikacije ispere destiliranom vodom, osuši se na zraku i spremna je za uporabu.



Slika 17. Prikaz površine nemodificirane i modificirane elektrode od staklastog ugljika snimljene na svjetlosnom mikroskopu ELV 79852 (maksimalno uvećanje 500 puta).

3.3.2. Referentna elektroda

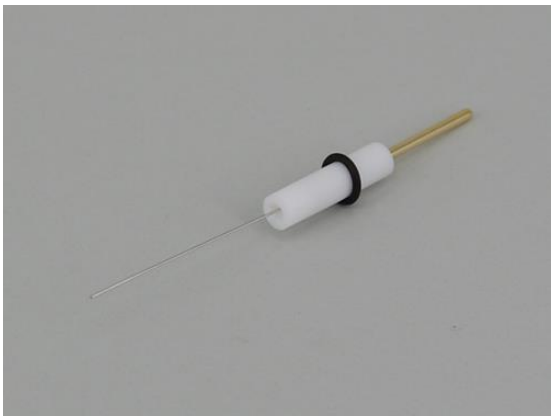
Kao referentna elektroda korištena je srebro/srebrov klorid elektroda (Slika 18). Srebro/srebrov klorid elektroda (Ag/AgCl) se priređuje na način da se srebrna elektroda, odnosno komadić srebrne žice kojoj je jedan kraj savijen u uzvojnicu, a na površini joj je anodnom oksidacijom u kloridnoj otopini stvoren teško topljivi sloj srebrovog klorida, uroni u kloridnu otopinu zasićenu s AgCl. Aktivitet Ag^+ iona, a samim time i potencijal elektrode reguliran je koncentracijom kloridnih iona u otopini. Najčešće se rabi Ag/AgCl elektroda sa zasićenom otopinom kalijevog klorida [29].



Slika 18. Ag/AgCl referentna elektroda [39].

3.3.3. Protuelektroda

Kao protuelektroda je korištena platinska žica čija je duljina 3 cm (Slika 19). Uz pomoć protuelektrode se ostvaruje tok električne struje kroz ćeliju te ona ne sudjeluje u elektrokemijskoj reakciji [29].



Slika 19. Protuelektroda platinska žica [32].

3.4. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija (EIS)

EIS mjerenja su provedena korištenjem uređaja CH Instruments Electrochemical Analyser (Slika 20) uz program CHI640e. Uređaj je povezan s troelektrodnom elektrokemijskom ćelijom koja se također sastoji od radne elektrode od staklastog ugljika, referentne Ag/AgCl elektrode i protuelektrode. Mjerenja su provedena pri sobnoj temperaturi.



Slika 20. CH Instruments Electrochemical Analyser povezan s troelektrodnom elektrokemijskom ćelijom.

3.5. Eksperimentalne tehnike i uvjeti mjerenja

3.5.1. Ciklička voltametrija

Pomoću cikličke voltametrije proučavaju se redoks procesi uzorka pri čemu se mjeri jakost struje u ovisnosti o dovedenom potencijalu koji se zatim mijenja u vremenu od početne do konačne vrijednosti i ponovno vraća na početnu vrijednost. Ciklički voltamogrami snimljeni su na elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera i uzorka bunarske vode u području potencijala od -1 V do 1 V pri brzini polarizacije elektrode od 100 mV/s. Mjerenja su prvo provedena s nemodificiranom elektrodom od staklastog ugljika nakon čega je uslijedila njena modifikacija.

3.5.2. Diferencijalna pulsna voltametrija

Pomoću diferencijalne pulsne voltametrije se dobiju izraženiji oksidacijski strujni vrhovi. Princip rada se temelji na tome da se na elektrodu od staklastog ugljika primjenjuju pulsevi određene veličine koji su dodani na linearno rastući potencijal. Diferencijalni pulsni voltamogrami su snimljeni u otopini fosfatnog pufera i uzorka bunarske vode u području potencijala od -1 V do 1 V, pri brzini polarizacije elektrode od 5 mV/s. Širina pulsa iznosila je 70 s, visina pulsa 25 mV, a korak potencijala 5 mV. Mjerenja su prvo provedena s nemodificiranom elektrodom od staklastog ugljika nakon čega je uslijedila njena modifikacija.

3.5.3. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija

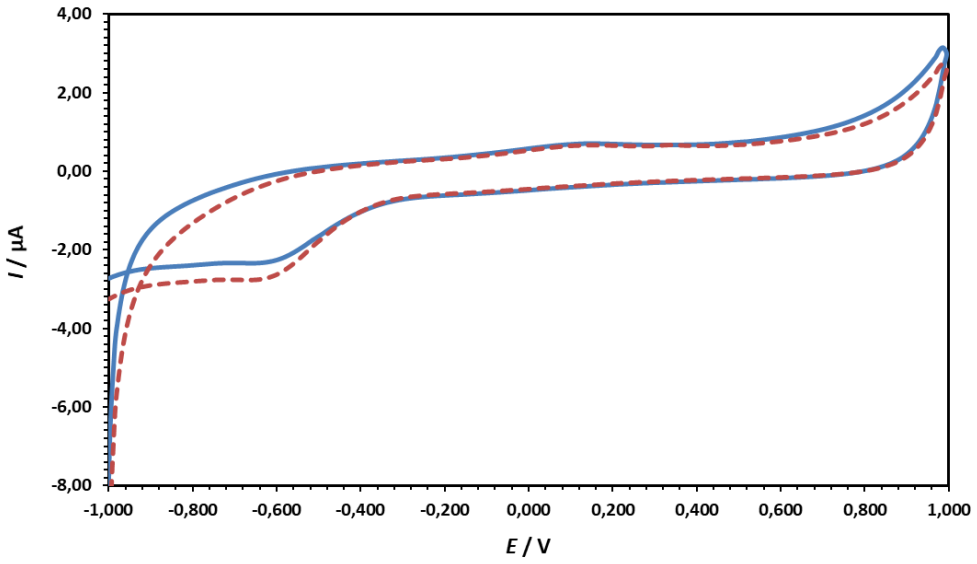
Prilikom mjerenja primijenjen je sinusni pobudni signal amplitude 10 mV (0,01 V). Mjerenja su izvršena u području frekvencije od $5 \cdot 10^{4}$ Hz do $1 \cdot 10^{-2}$ Hz. Prije svakog mjerenja određen je potencijal otvorenog kruga (E_{oc}) radne elektrode.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Mjerenja su provedena cikličkom i diferencijalnom pulsnom voltametrijom, najprije s nemodificiranom elektrodom od staklastog ugljika nakon čega je uslijedila njena modifikacija. Razlika između nemodificirane i modificirane elektrode od staklastog ugljika se utvrdila elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom. Cilj istraživanja bila je elektrokemijska detekcija As^{3+} iona u modelnim sustavima te u realnim uzorcima, odnosno bunarskoj vodi.

4.1. Ciklička voltametrija

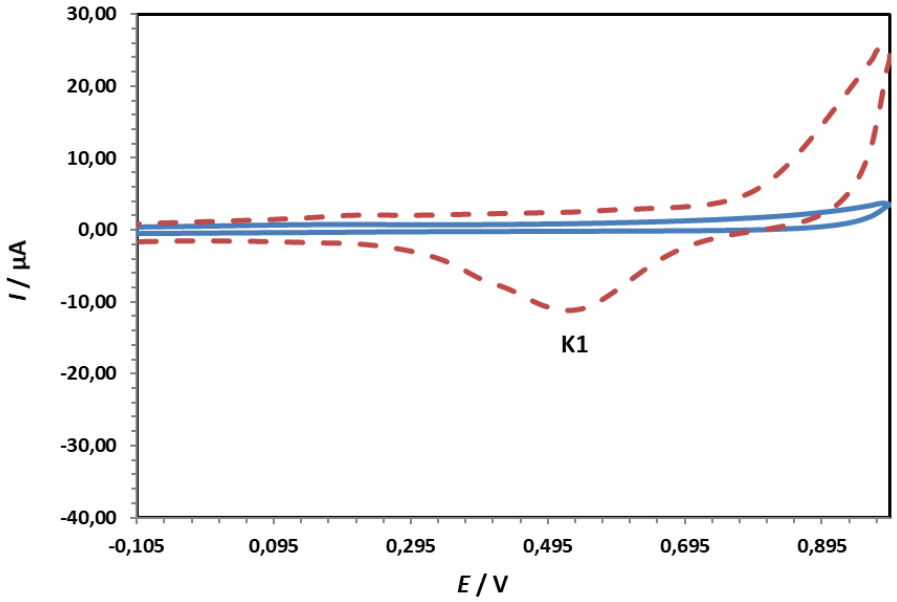
Na slici 21 prikazan je ciklički voltamogram snimljen na nemodificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = $1 \cdot 10^{-3}$ mol dm^{-3}) pri brzini polarizacije elektrode od 100 mV/s. Ciklički voltamogram ne pokazuje oksido-redukcijske strujne vrhove što ukazuje na činjenicu da se As^{3+} ioni ne mogu detektirati cikličkom voltametrijom pomoću nemodificirane elektrode od staklastog ugljika.



Slika 21. Ciklički voltamogram snimljen na nemodificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = $1 \cdot 10^{-3}$ mol dm^{-3}); brzina polarizacije elektrode iznosi 100 mV/s; (---) fosfatni pufer (pH = 7), (---) otopina fosfatnog pufera (pH = 7) uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = $1 \cdot 10^{-3}$ mol dm^{-3}).

4.1.1. Modifikacija površine elektrode od staklastog ugljika

Na slici 22 prikazana je usporedba između nemodificirane i modificirane elektrode od staklastog ugljika. Najprije je snimljen ciklički voltamogram s nemodificiranom elektrodom od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) nakon čega je uslijedila njena modifikacija, te je snimljen ciklički voltamogram za modificiranu elektrodu od staklastog ugljika u istoj otopini pufera. Ciklički voltamogram za nemodificiranu elektrodu od staklastog ugljika ne pokazuje nikakav oksido-redukcijski strujni vrh. Suprotno tome, ciklički voltamogram snimljen na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika pokazuje jedan redukcijski strujni vrh pri potencijalu $E_{p,K1}$=0,525 V (K1) što ukazuje na činjenicu da je uspješno modificirana površina radne elektrode. Na površini modificirane elektrode od staklastog ugljika stvara se film nanočestica zlata i boje Crystal Violet (CRV) koji omogućava detekciju As^{3+} iona.

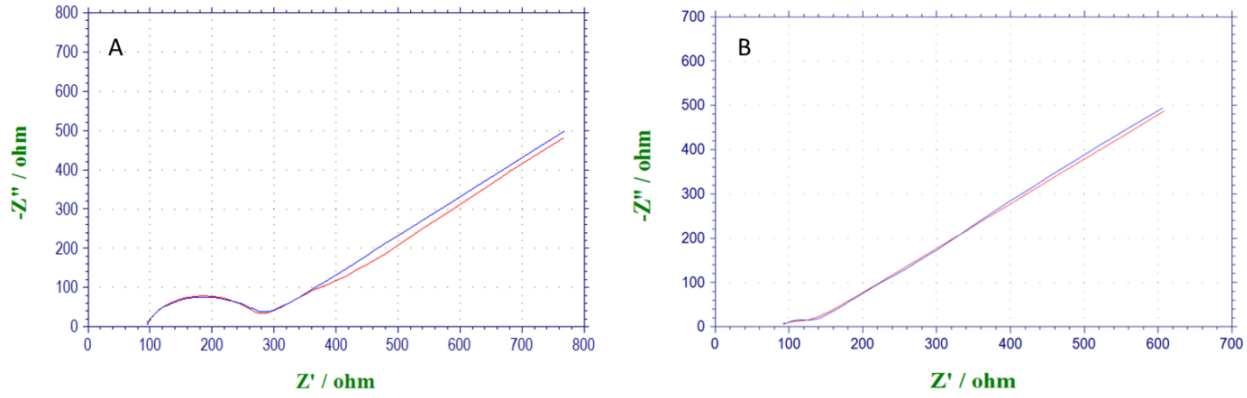


Slika 22. Usporedba cikličkih voltamograma nemodificirane i modificirane elektrode od staklastog ugljika. (---) ciklički voltamogram snimljen na nemodificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) pri brzini polarizacije elektrode od 100 mV/s, (---) ciklički voltamogram snimljen na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7), brzina polarizacije elektrode iznosi 100 mV/s.

4.2. Elektrokemijska impedancijska spektroskopija

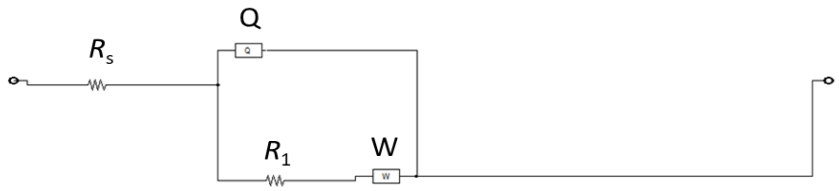
Nemodificiranom elektrodom od staklastog ugljika nije bilo moguće detektirati As^{3+} ione zbog čega ju je bilo potrebno modificirati. Elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom je utvrđeno da se modificirana elektroda razlikuje od nemodificirane elektrode od staklastog ugljika zbog filma nanočestica zlata i CRV-a koji se formira elektrodepozicijom na površini same elektrode.

Na slici 23 prikazani su eksperimentalno dobiveni i matematički modelirani impedancijski spektri snimljeni na nemodificiranoj (Slika 23A) i modificiranoj (Slika 23B) elektrodi od staklastog ugljika u otopini kalijevog heksacijanoferata(II) trihidrata (c = 5·10^{-3} mol dm^{-3}) i kalijevog heksacijanoferata(III) (c = 5·10^{-3} mol dm^{-3}) u kalijevom nitratu (I_c = 0,1 mol dm^{-3}). Iz slike je vidljivo da je impedancija veća za modificiranu elektrodu od staklastog ugljika u odnosu na nemodificiranu elektrodu te da je područje polukruga nemodificirane elektrode izraženije (R = 176 Ω) u odnosu na modificiranu elektrodu (R = 46 Ω). Na osnovu dobivenih podataka se može zaključiti da sloj Au-CRV na elektrodi od staklastog ugljika ima niži otpor prijenosu elektrona u odnosu na nemodificiranu elektrodu od staklastog ugljika.



Slika 23. Eksperimentalno dobiveni (---) i matematički modelirani (---) impedancijski spektar u otopini kalijevog heksacijanoferata(II) trihidrata (c = 5·10^{-3} mol dm^{-3}) i kalijevog heksacijanoferata(III) (c = 5·10^{-3} mol dm^{-3}) u kalijevom nitratu (I_c = 0,1 mol dm^{-3}) snimljen na A) nemodificiranoj i B) modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika pri potencijalu otvorenog kruga (E_{oc}) u području frekvencije od 5 · 10^{-4} Hz do 1· 10^{-2} Hz s amplitudom pobudnog signala 10 mV.

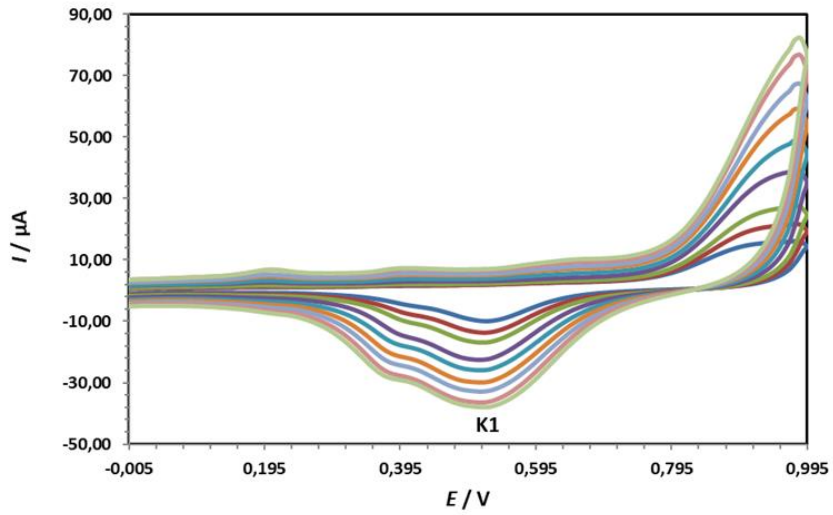
Slika 24 prikazuje model električnog ekvivalentnog strujnog kruga koji je pokazao najbolje slaganje sa eksperimentalno dobivenim impedancijskim spektrom nemodificirane i modificirane elektrode od staklastog ugljika.



Slika 24. Model strujnog kruga za nemodificiranu elektrodu od staklastog ugljika: R_s - otpor elektrode u otopini, R_1- otpor prijenosu naboja; *Q*- kapacitet dvosloja; *W*-Warburgov element koji se odnosi na proces difuzije.

4.3. Utjecaj brzine polarizacije elektrode

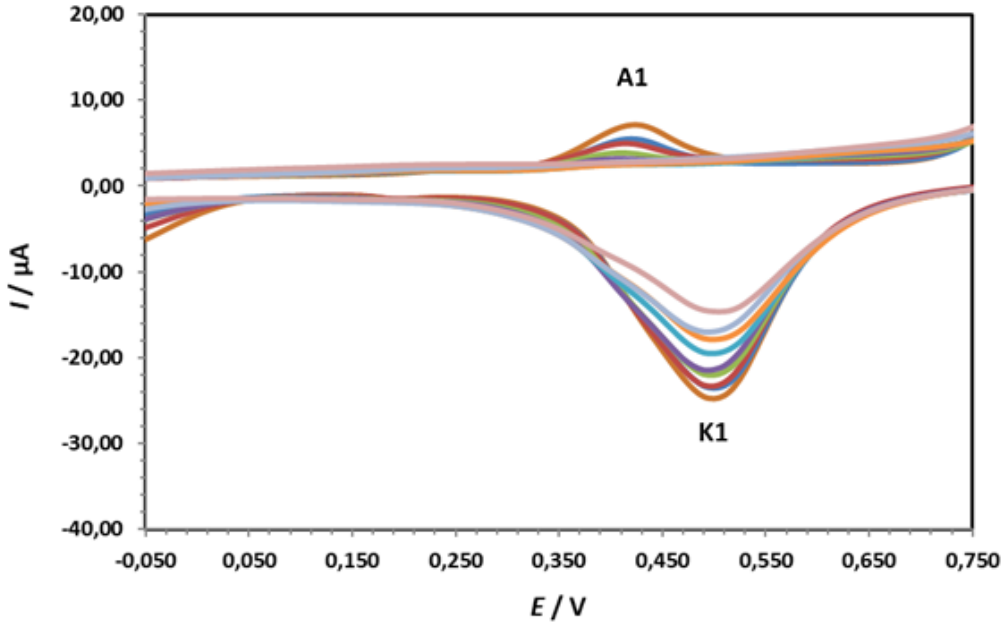
Slika 25 prikazuje cikličke voltamograme snimljene na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) pri različitim brzinama polarizacije elektrode. Iz slike je vidljivo da visina katodnog strujnog vrha (K1), pri potencijalu $E_{p,K1}$= 0,52 V, raste s povećanjem brzine polarizacije elektrode.



Slika 25. Ciklički voltamogrami snimljeni na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) pri različitim brzinama polarizacije elektrode; (---) 50 mV/s, (---) 75 mV/s, (---) 100 mV/s, (---) 150 mV/s, (---) 200 mV/s, (---) 250 mV/s, (---) 300 mV/s, (---) 350 mV/s, (---) 400 mV/s.

4.4. Utjecaj koncentracije

Na slici 26 prikazani su ciklički voltamogrami snimljeni na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) za različite koncentracije dodanog As^{3+} iona (c (As^{3+})= $2 \cdot 10^{-6}$ mol dm^{-3} do $22 \cdot 10^{-6}$ mol dm^{-3}) u otopinu fosfatnog pufera (pH = 7). Iz slike je vidljivo da povećanjem koncentracije As^{3+} iona u otopini raste visina redukcijskog strujnog vrha pri potencijalu $E_{p,K1}$= 0,50 V i oksidacijskog strujnog vrha pri potencijalu $E_{p,A1}$= 0,42 V.



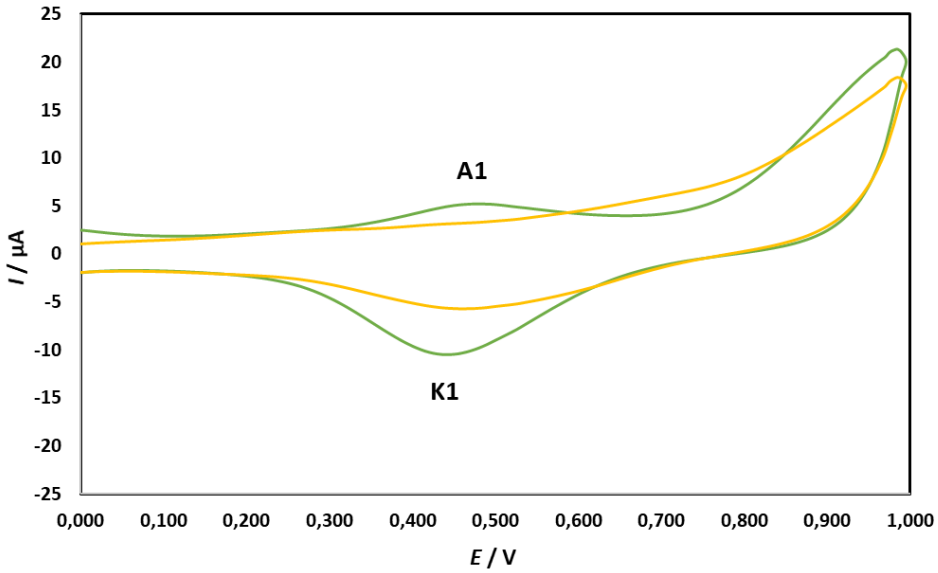
Slika 26. Ciklički voltamogrami snimljeni na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) za različite koncentracije As^{3+} iona ; (---) fosfatni pufer, (c (As^{3+})= 2 (---),4 (---), 6 (---), 8 (---), 10 (---), 14 (---), 18 (---), 22 (---) µmol dm^{-3}), brzina polarizacije elektrode 100 mV/s.

4.5. Detekcija arsena u uzorcima bunarske vode

Na slikama (27, 28, 29, 30, 31, 32) prikazani su ciklički voltamogrami snimljeni na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) i bunarske vode uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = $1 \cdot 10^{-3}$ mol dm^{-3}). Uzorci bunarske vode uzorkovani su u 9. i 10. mjesecu.

4.5.1. Bunar 4

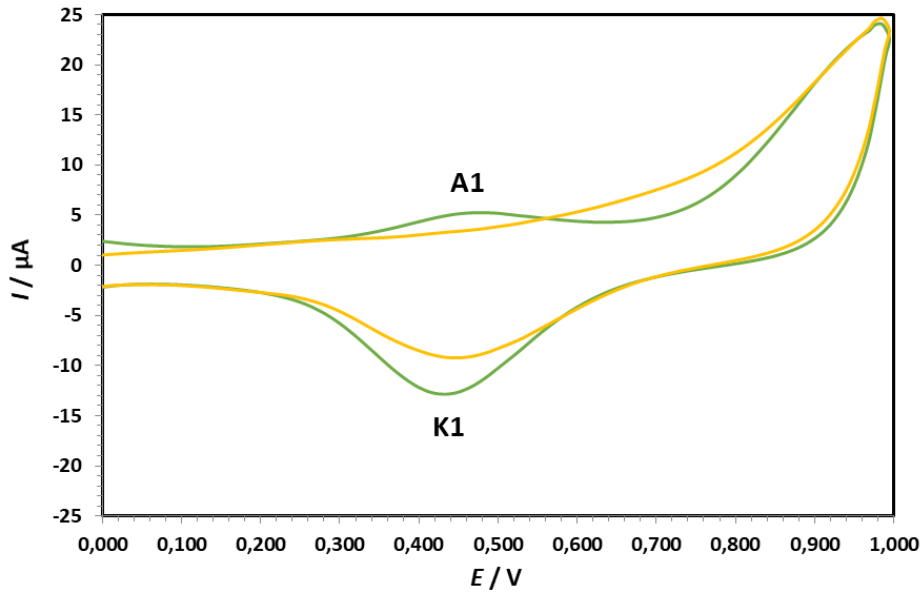
Na slici 27 prikazan je ciklički voltamogram uzorka bunarske vode iz bunara 4 u fofatnom puferu u kojem je vidljiv jedan redukcijski strujni vrh (K1) pri potencijalu $E_{p,K1}$= 0,43 V. Dodatkom 90 µL otopine As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 1 · 10^{-3} mol dm^{-3}) u cikličkom voltamogramu se pojavljuje oksidacijski strujni vrh (A1) pri potencijalu $E_{p,A1}$= 0,48 V te se povećava redukcijski strujni vrh (K1), što upućuje na prisustvo As^{3+} iona u ispitivanom uzorku.



Slika 27. Ciklički voltamogram uzorka bunarske vode iz bunara br. 4 snimljen na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) (---) i uzorka bunarske vode uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 6 · 10^{-6} mol dm^{-3}) (---), brzina polarizacije elektrode je 100 mV/s.

4.5.2. Bunar 7

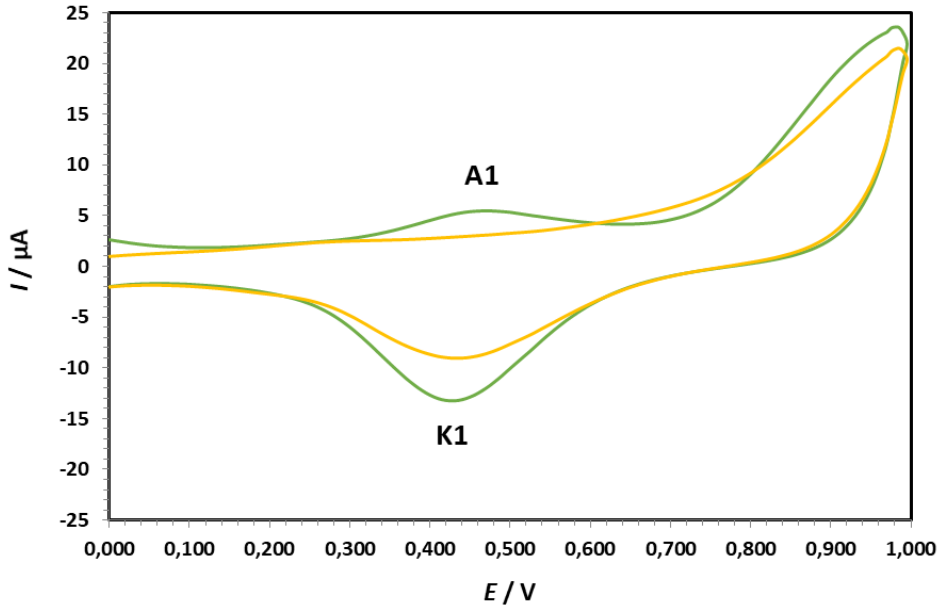
Na slici 28 prikazan je ciklički voltamogram uzorka bunarske vode iz bunara 7 u fofatnom puferu u kojem je vidljiv jedan redukcijski strujni vrh (K1) pri potencijalu $E_{p,K1}$= 0,43 V. Dodatkom 90 µL otopine As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 1 · 10^{-3} mol dm^{-3}) u cikličkom voltamogramu se pojavljuje oksidacijski strujni vrh (A1) pri potencijalu $E_{p,A1}$= 0,48 V te se povećava redukcijski strujni vrh (K1), što upućuje na prisustvo As^{3+} iona u ispitivanom uzorku.



Slika 28. Ciklički voltamogram uzorka bunarske vode iz bunara br. 7 snimljen na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) (---) i uzorka bunarske vode uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 6 · 10^{-6} mol dm^{-3}) (---), brzina polarizacije elektrode je 100 mV/s.

4.5.3. Bunar 9

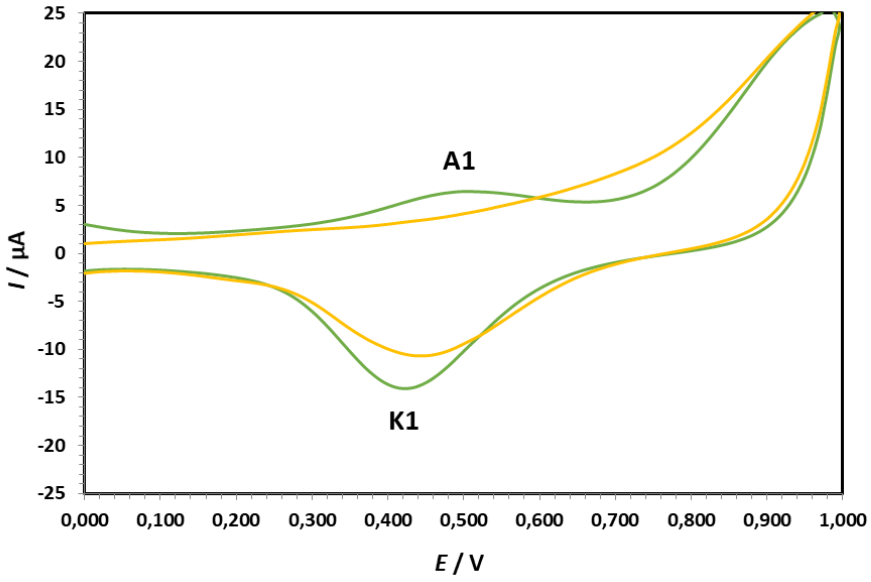
Na slici 29 prikazan je ciklički voltamogram uzorka bunarske vode iz bunara 9 u fofatnom puferu u kojem je vidljiv jedan redukcijski strujni vrh (K1) pri potencijalu $E_{p,K1}$= 0,43 V. Dodatkom 90 µL otopine As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 1 · 10^{-3} mol dm^{-3}) u cikličkom voltamogramu se pojavljuje oksidacijski strujni vrh (A1) pri potencijalu $E_{p,A1}$= 0,48 V te se povećava redukcijski strujni vrh (K1), što upućuje na prisustvo As^{3+} iona u ispitivanom uzorku.



Slika 29. Ciklički voltamogram uzorka bunarske vode iz bunara br. 9 snimljen na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) (---) i uzorka bunarske vode uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 6 · 10^{-6} mol dm^{-3}) (---), brzina polarizacije elektrode je 100 mV/s.

4.5.4. Bunar 15

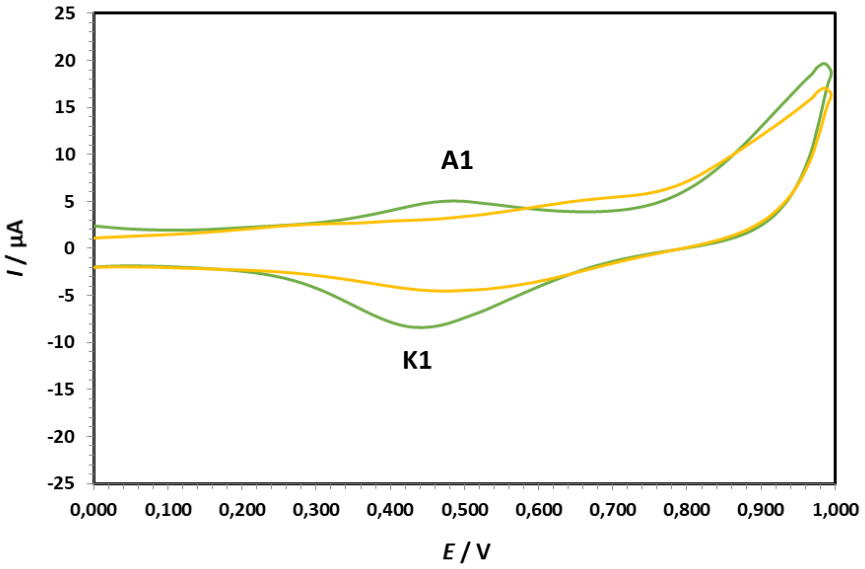
Na slici 30 prikazan je ciklički voltamogram uzorka bunarske vode iz bunara 9 u fofatnom puferu u kojem je vidljiv jedan redukcijski strujni vrh (K1) pri potencijalu $E_{p,K1}$= 0,43 V. Dodatkom 90 µL otopine As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 1 · 10^{-3} mol dm^{-3}) u cikličkom voltamogramu se pojavljuje oksidacijski strujni vrh (A1) pri potencijalu $E_{p,A1}$= 0,48 V te se povećava redukcijski strujni vrh (K1), što upućuje na prisustvo As^{3+} iona u ispitivanom uzorku.



Slika 30. Ciklički voltamogram uzorka bunarske vode iz bunara br. 15 snimljen na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) (---) i uzorka bunarske vode uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 6 · 10^{-6} mol dm^{-3}) (---), brzina polarizacije elektrode je 100 mV/s.

4.5.5. Bunar 17

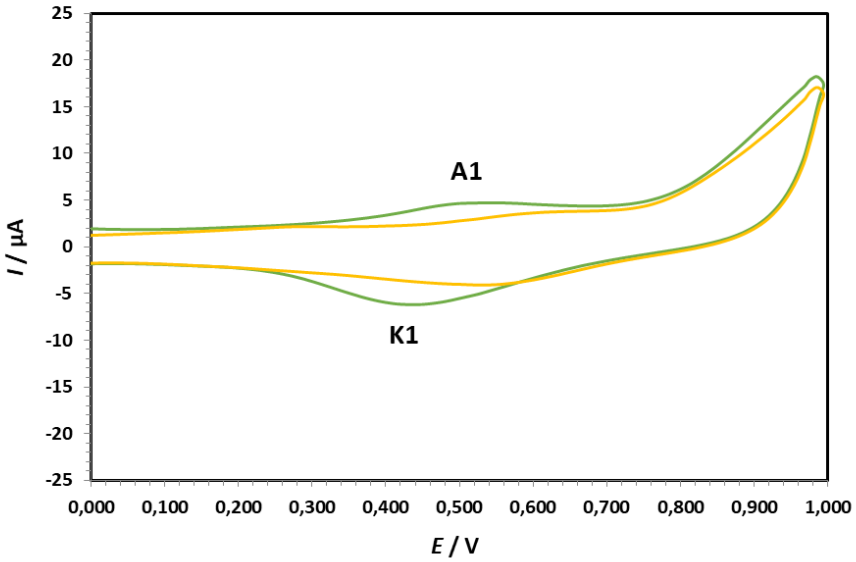
Na slici 31 prikazan je ciklički voltamogram uzorka bunarske vode iz bunara 17 u fofatnom puferu u kojem je vidljiv jedan redukcijski strujni vrh (K1) pri potencijalu $E_{p,K1}$= 0,43 V. Dodatkom 90 µL otopine As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 1 · 10^{-3} mol dm^{-3}) u cikličkom voltamogramu se pojavljuje oksidacijski strujni vrh (A1) pri potencijalu $E_{p,A1}$= 0,48 V te se povećava redukcijski strujni vrh (K1), što upućuje na prisustvo As^{3+} iona u ispitivanom uzorku.



Slika 31. Ciklički voltamogram uzorka bunarske vode iz bunara br. 17 snimljen na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) (---) i uzorka bunarske vode uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 6 · 10^{-6} mol dm^{-3}) (---), brzina polarizacije elektrode je 100 mV/s.

4.5.6. Bunar 18

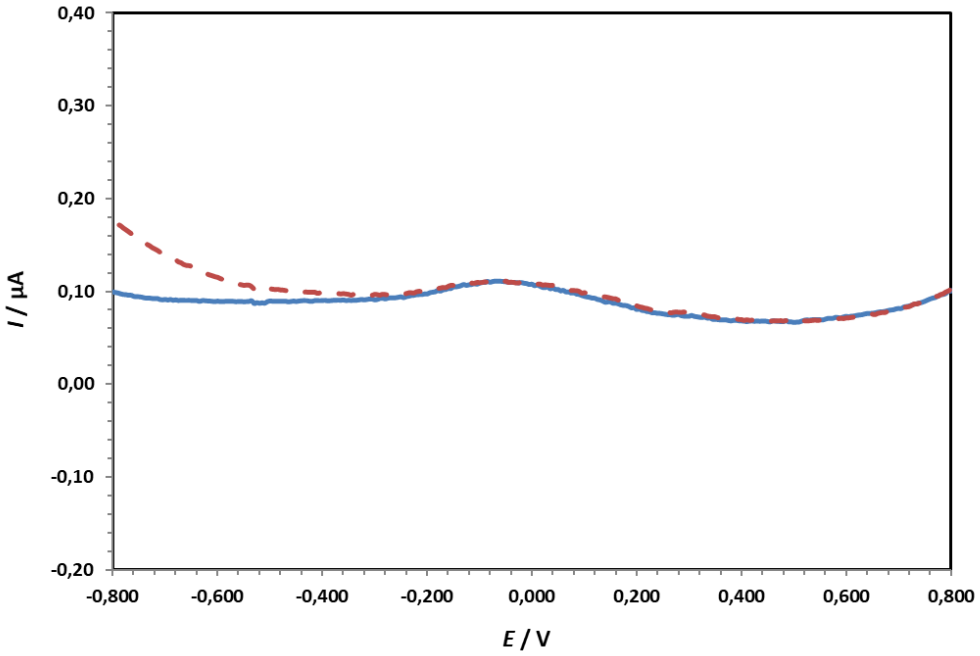
Na slici 32 prikazan je ciklički voltamogram uzorka bunarske vode iz bunara 17 u fofatnom puferu u kojem je vidljiv jedan redukcijski strujni vrh (K1) pri potencijalu $E_{p,K1}$= 0,43 V. Dodatkom 90 µL otopine As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 1 · 10^{-3} mol dm^{-3}) u cikličkom voltamogramu se pojavljuje oksidacijski strujni vrh (A1) pri potencijalu $E_{p,A1}$= 0,48 V te se povećava redukcijski strujni vrh (K1), što upućuje na prisustvo As^{3+} iona u ispitivanom uzorku.



Slika 32. Ciklički voltamogram uzorka bunarske vode iz bunara br. 18 snimljen na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) (---) i uzorka bunarske vode uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 6 · 10^{-6} mol dm^{-3}) (---), brzina polarizacije elektrode je 100 mV/s.

4.6. Diferencijalna pulsna voltametrija

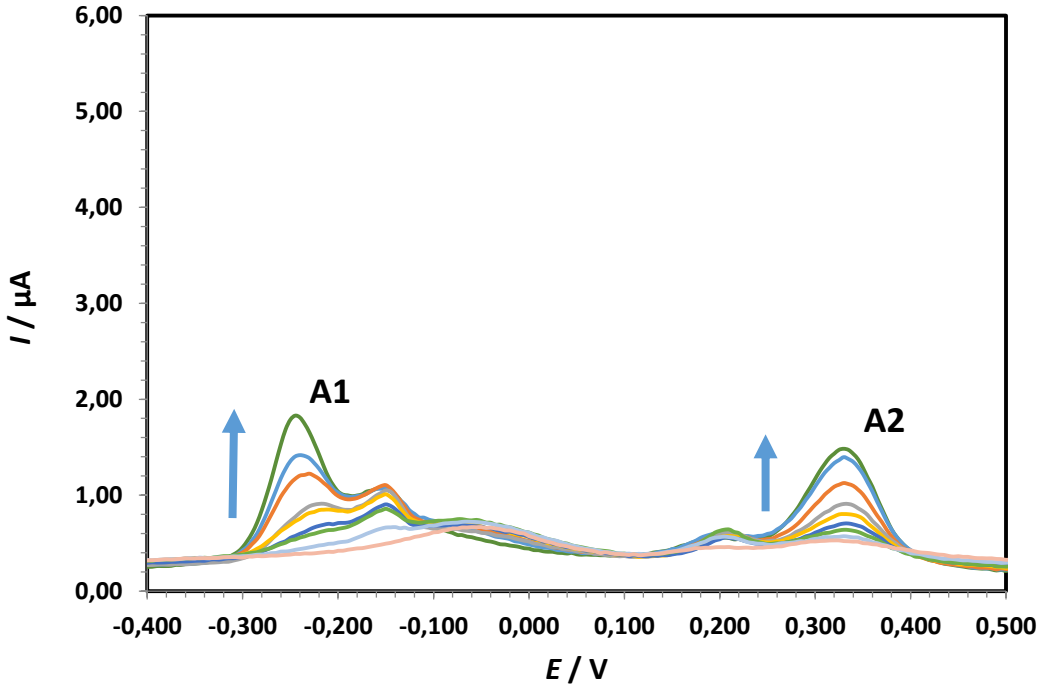
Na slici 33 prikazan je diferencijalni pulsni voltamogram snimljen na nemodificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 1 · 10^{-3} mol dm^{-3}) pri brzini polarizacije elektrode od 5 mV/s. Iz diferencijalnog pulsnog voltamograma je vidljivo da nema oksidacijskih strujnih vrhova arsena iz čega se može zaključiti da se As^{3+} ioni ne mogu detektirati pomoću nemodificirane elektrode od staklastog ugljika, zbog čega je nužna njena modifikacija.



Slika 33. Diferencijalni pulsni voltamogram snimljen u fosfatnom puferu pH = 7 (---) i u otopini As^{3+} iona (c = 1 · 10^{-3} mol dm^{-3}) u fosfatnom puferu pH = 7 (---) na nemodificiranoj elektrodi od staklastog ugljika. Brzina polarizacije elektrode iznosi 5mV/s.

4.7. Utjecaj koncentracije

Na slici 34 prikazani su diferencijalni pulsni voltamogrami otopina arsenitnih iona različitih konentracija (c (As^{3+})= 2 · 10^{-6} mol dm^{-3} do 22 · 10^{-6} mol dm^{-3}) snimljeni na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7). Na slici su vidljiva dva oksidacijska strujna vrha pri potencijalima, $E_{p,A1}$= -0,240 V (A1) i $E_{p,A2}$= 0,329 V (A2), pri čemu se drugi oksidacijski strujni vrh odnosi na oksidaciju As^{3+} iona. Iz slike je vidljivo da s porastom koncentracije arsenitnih iona rastu struje oba oksidacijska strujna vrha.



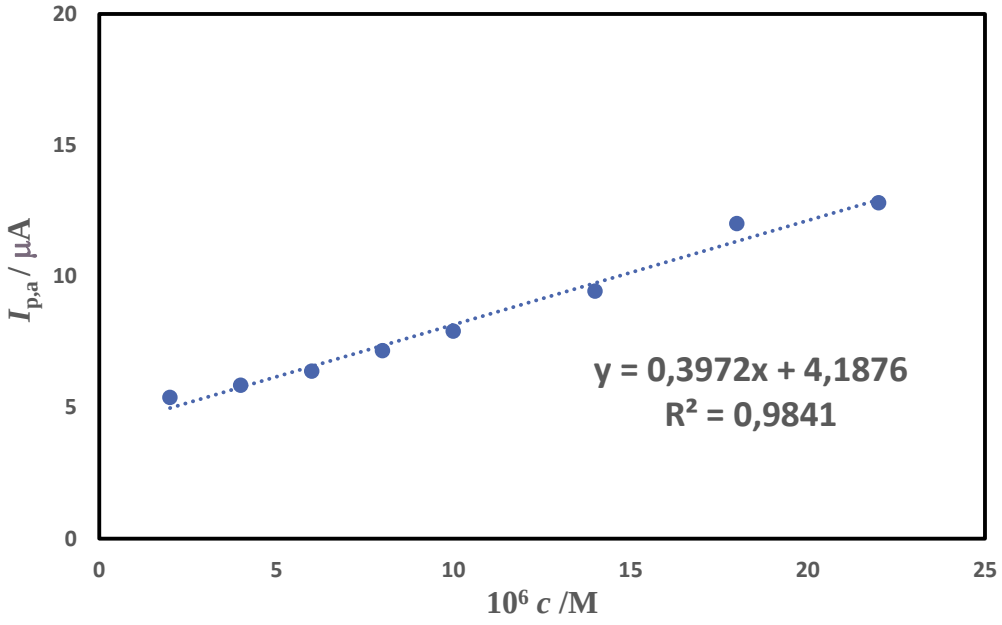
Slika 34. Diferencijalni pulsni voltamogrami snimljeni na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika za različite koncentracije As^{3+} iona; (---) pufer, (c (As^{3+})= 2 (---), 4 (---), 6 (---), 8 (---), 10 (---), 14 (---), 18 (---), 22 (---), brzina polarizacije elektrode je 5 mV/s.

Podaci za potencijal (E) i struju (I) drugog oksidacijskog strujnog vrha, očitani iz diferencijalnih pulsnih voltamograma prikazanih na slici 35 navedeni su u Tablici 4.

Tablica 4. . Vrijednosti potencijala ($E_{p,A2}$) i struje ($I_{p,A2}$) drugog oksidacijskog strujnog vrha As^{3+} iona kao funkcije koncentracije otopine As^{3+}.

$c\ (As^{3+})$ / mol dm^{-3}	$E_{p,A2}$ / V	$I_{p,A2}$ / µA
$2 \cdot 10^{-6}$	0,329	5,374
$4 \cdot 10^{-6}$	0,329	5,847
$6 \cdot 10^{-6}$	0,331	6,373
$8 \cdot 10^{-6}$	0,329	7,162
$10 \cdot 10^{-6}$	0,329	7,898
$14 \cdot 10^{-6}$	0,327	9,424
$18 \cdot 10^{-6}$	0,328	12,000
$22 \cdot 10^{-6}$	0,329	12,790

Iz Tablice 4 je jasno vidljivo da s porastom koncentracije As^{3+} iona raste visina oksidacijskog strujnog vrha ($I_{p,A2}$), dok se vrijednost oksidacijskog potencijala ($E_{p,A2}$) gotovo ne mijenja i ne ovisi o koncentraciji As^{3+} iona.



Slika 35. Prikaz ovisnosti struje drugog oksidacijskog strujnog vrha ($I_{p,A2}$) o koncentraciji As^{3+} iona.

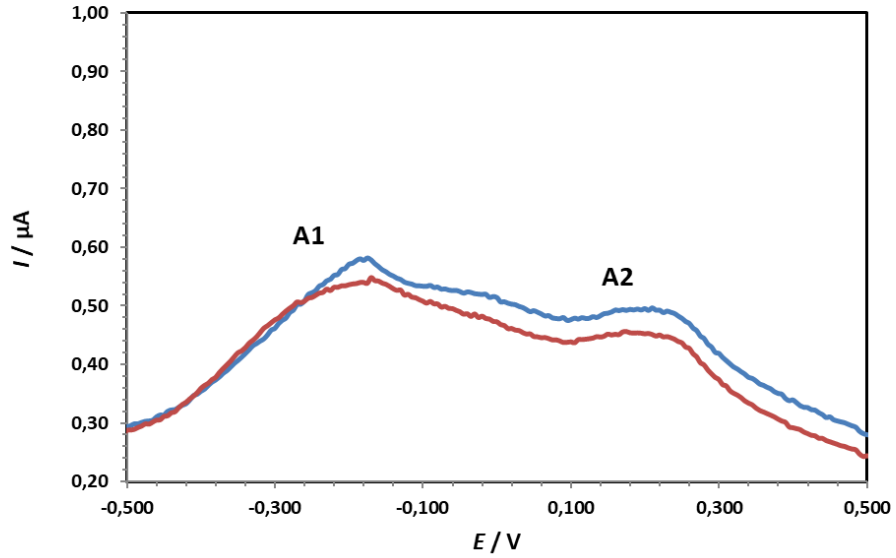
Iz slike 35 jasno je vidljivo da visina oksidacijskog strujnog vrha (A2) linearno ovisi o promjeni koncentracije As^{3+} iona u koncentracijskom području od 2 μmol dm^{-3} do 22 μmol dm^{-3}. Visina oksidacijskog strujnog vrha raste s povećanjem koncentracije As^{3+} iona. Dobivena je linearna regresijska jednadžba; $I = 0{,}3972\ c + 4{,}1876$; sa koeficijentom korelacije $R^2 = 0{,}9841$ (I = struja oksidacijskog strujnog vrha, c = koncentracija As^{3+} iona).

4.8. Detekcija arsena u realnim uzorcima

Na slikama (36, 37, 38, 39, 40, 41) prikazani su diferencijalni pulsni voltamogrami uzoraka bunarske vode prikupljenih u 9. i 10. mjesecu, snimljeni na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7). Nakon mjerenja u čistom uzorku vode, u uzorak su dodani arsenitni ioni (c (As^{3+}) = $6 \cdot 10^{-6}$ mol dm^{-3}) kako bi se potvrdilo prisustvo arsena u ispitivanim uzorcima.

4.8.1. Bunar 4

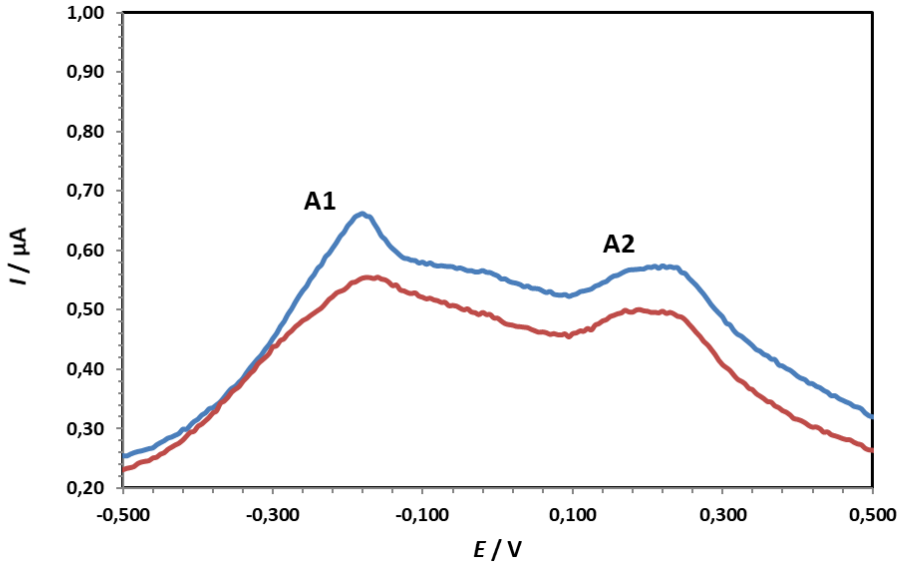
Na slici 36 prikazani su diferencijalni pulsni voltamogrami snimljeni u uzorku bunarske vode iz bunara 4. U diferencijalnim pulsnim voltamogramima su vidljiva dva oksidacijska strujna vrha pri potencijalu $E_{p,A1}$= -0,180 V (A1) i potencijalu $E_{p,A2}$= 0,240 V (A2). Dodatkom 90 μL otopine arsenitnih iona (c (As^{3+}) = 1 · 10^{-3} mol dm^{-3}) u ispitivani uzorak vode, povećava se visina oba oksidacijska strujna vrha, što upućuje na prisustvo arsena u ispitivanom uzorku.



Slika 36. Diferencijalni pulsni voltamogrami uzorka bunarske vode iz bunara br. 4 snimljeni na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) (---) i uzorka bunarske vode uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 6 · 10^{-6} mol dm^{-3}) (---), brzina polarizacije elektrode iznosi 5 mV/s.

4.8.2. Bunar 7

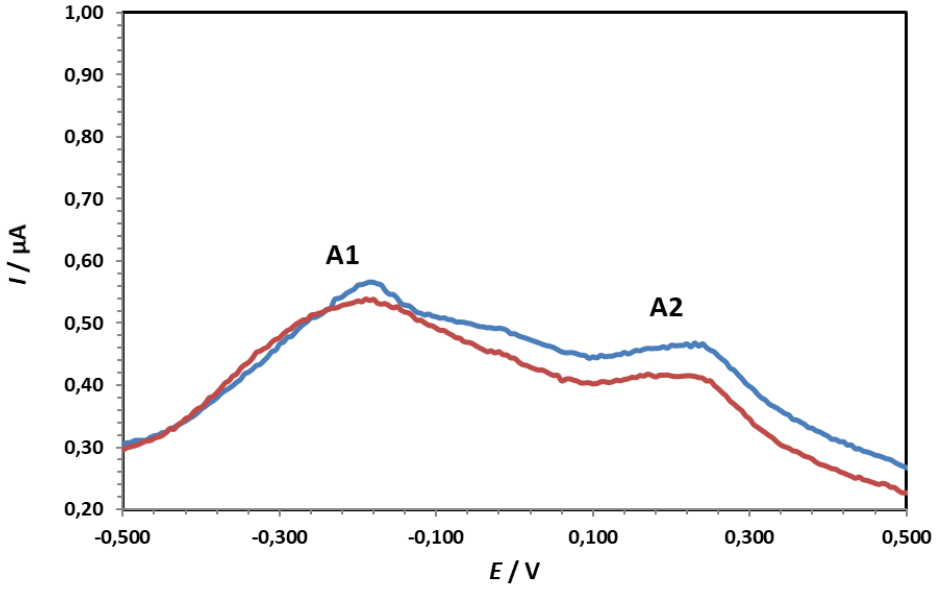
Na slici 37 prikazani su diferencijalni pulsni voltamogrami snimljeni u uzorku bunarske vode iz bunara 7. U diferencijalnim pulsnim voltamogramima su vidljiva dva oksidacijska strujna vrha pri potencijalu $E_{p,A1}$= -0,180 V (A1) i potencijalu $E_{p,A2}$= 0,240 V (A2). Dodatkom 90 μL otopine arsenitnih iona (c (As^{3+}) = 1 · 10^{-3} mol dm^{-3}) u ispitivani uzorak vode, povećava se visina oba oksidacijska strujna vrha, što upućuje na prisustvo arsena u ispitivanom uzorku.



Slika 37. Diferencijalni pulsni voltamogrami uzorka bunarske vode iz bunara br. 7 snimljeni na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) (---) i uzorka bunarske vode uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 6 · 10^{-6} mol dm^{-3}) (---), brzina polarizacije elektrode iznosi 5 mV/s.

4.8.3. Bunar 9

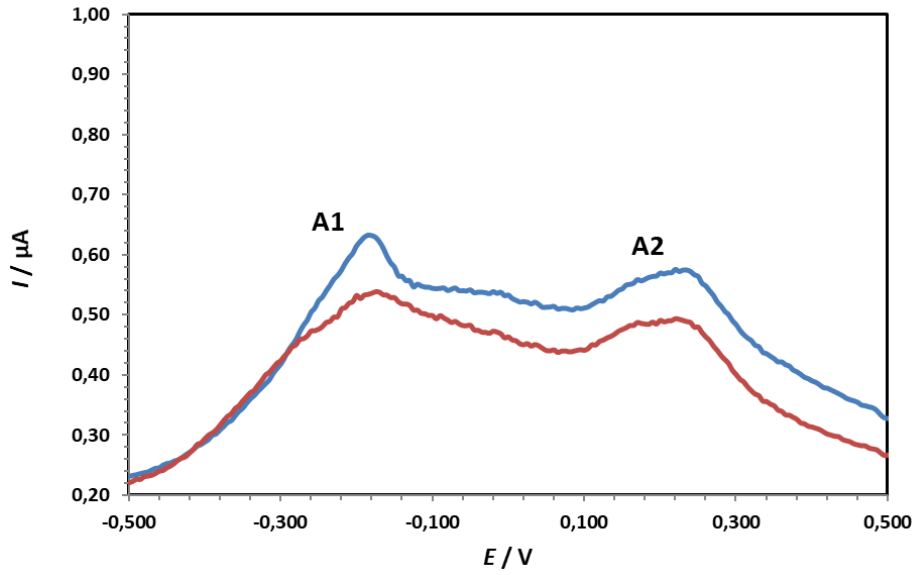
Na slici 38 prikazani su diferencijalni pulsni voltamogrami snimljeni u uzorku bunarske vode iz bunara 9. U diferencijalnim pulsnim voltamogramima su vidljiva dva oksidacijska strujna vrha pri potencijalu $E_{p,A1}$= -0,180 V (A1) i potencijalu $E_{p,A2}$= 0,240 V (A2). Dodatkom 90 μL otopine arsenitnih iona (c (As^{3+}) = 1 · 10^{-3} mol dm^{-3}) u ispitivani uzorak vode, povećava se visina oba oksidacijska strujna vrha, što upućuje na prisustvo arsena u ispitivanom uzorku.



Slika 38. Diferencijalni pulsni voltamogrami uzorka bunarske vode iz bunara br. 9 snimljeni na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) (---) i uzorka bunarske vode uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 6 · 10^{-6} mol dm^{-3}) (---), brzina polarizacije elektrode iznosi 5 mV/s.

4.8.4. Bunar 15

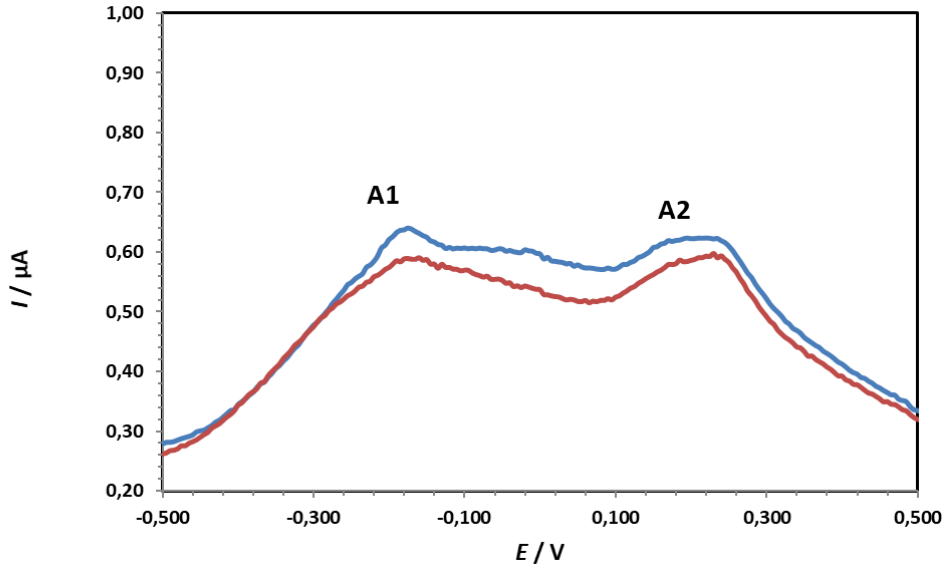
Na slici 39 prikazani su diferencijalni pulsni voltamogrami snimljeni u uzorku bunarske vode iz bunara 15. U diferencijalnim pulsnim voltamogramima su vidljiva dva oksidacijska strujna vrha pri potencijalu $E_{p,A1}$= -0,180 V (A1) i potencijalu $E_{p,A2}$= 0,240 V (A2). Dodatkom 90 μL otopine arsenitnih iona (c (As^{3+}) = 1 · 10^{-3} mol dm^{-3}) u ispitivani uzorak vode, povećava se visina oba oksidacijska strujna vrha, što upućuje na prisustvo arsena u ispitivanom uzorku.



Slika 39. Diferencijalni pulsni voltamogrami uzorka bunarske vode iz bunara br. 15 snimljeni na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) (---) i uzorka bunarske vode uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 6 · 10^{-6} mol dm^{-3}) (---), brzina polarizacije elektrode iznosi 5 mV/s.

4.8.5. Bunar 17

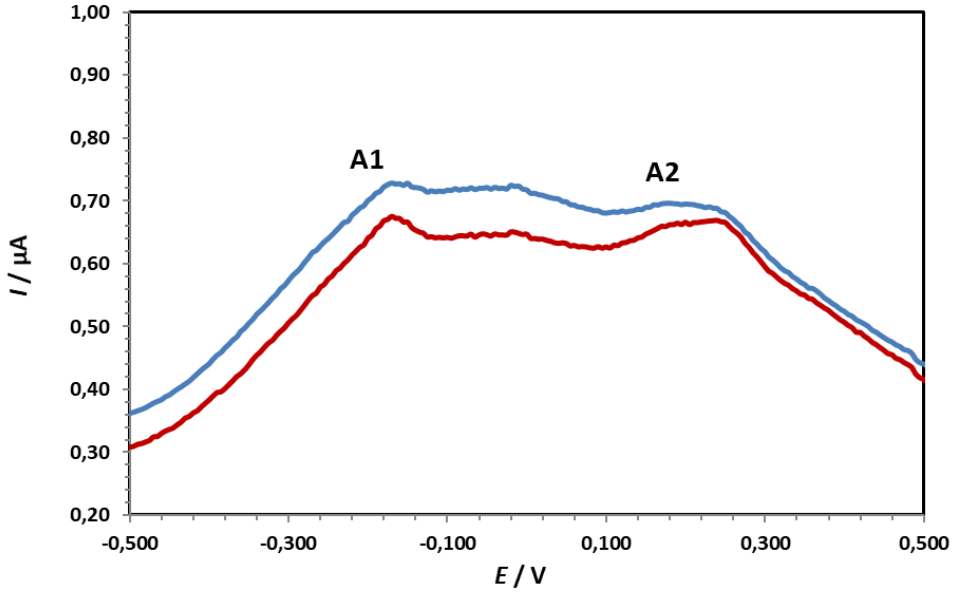
Na slici 40 prikazani su diferencijalni pulsni voltamogrami snimljeni u uzorku bunarske vode iz bunara 17. U diferencijalnim pulsnim voltamogramima su vidljiva dva oksidacijska strujna vrha pri potencijalu $E_{p,A1}$= -0,180 V (A1) i potencijalu $E_{p,A2}$= 0,240 V (A2). Dodatkom 90 μL otopine arsenitnih iona (c (As^{3+}) = 1 · 10^{-3} mol dm^{-3}) u ispitivani uzorak vode, povećava se visina oba oksidacijska strujna vrha, što upućuje na prisustvo arsena u ispitivanom uzorku.



Slika 40. Diferencijalni pulsni voltamogrami uzorka bunarske vode iz bunara br. 17 snimljeni na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) (---) i uzorka bunarske vode uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 6 · 10^{-6} mol dm^{-3}) (---), brzina polarizacije elektrode iznosi 5 mV/s.

4.8.6. Bunar 18

Na slici 41 prikazani su diferencijalni pulsni voltamogrami snimljeni u uzorku bunarske vode iz bunara 18. U diferencijalnim pulsnim voltamogramima su vidljiva dva oksidacijska strujna vrha pri potencijalu $E_{p,A1}$= -0,180 V (A1) i potencijalu $E_{p,A2}$= 0,240 V (A2). Dodatkom 90 µL otopine arsenitnih iona (c (As^{3+}) = 1 · 10^{-3} mol dm^{-3}) u ispitivani uzorak vode, povećava se visina oba oksidacijska strujna vrha, što upućuje na prisustvo arsena u ispitivanom uzorku.



Slika 41. Diferencijalni pulsni voltamogrami uzorka bunarske vode iz bunara br. 18 snimljeni na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika u otopini fosfatnog pufera (pH = 7) (---) i uzorka bunarske vode uz dodatak As^{3+} iona (c (As^{3+}) = 6 · 10^{-6} mol dm^{-3}) (---), brzina polarizacije elektrode iznosi 5 mV/s.

5. Metodička obrada nastavne jedinice „Oksidacija i redukcija“

Za obradu ove nastavne jedinice predviđen je jedan školski sat. Obrada i tijek nastavnog sata navedeni su u pripremi.

NASTAVNI PREDMET:	Kemija
RAZRED:	Prvi razred gimnazije
BROJ NASTAVNOG SATA:	
NASTAVNA CJELINA:	Reaktivnost elemenata
NASTAVNA JEDINICA:	Oksidacija i redukcija
CILJ NASTAVNE JEDINICE:	1. Uvesti pojam oksidacijskog broja. 2. Definirati pojmove: oksidacija, redukcija, redoks-reakcija. 3. Upoznati učenike s pisanjem reakcija oksidacije i redukcije.
KLJUČNI POJMOVI:	Oksidacija, redukcija, oksidacijski broj, oksidans, reducens
POTREBNO PREDZNANJE:	Poznavanje periodnog sustava elemenata, ionska veza
OBLIK RADA:	Frontalni, individualni, razgovor
NASTAVNA SREDSTVA I POMAGALA:	PowerPoint prezentacija, udžbenik, laptop i projektor, radni listić
NASTAVNE METODE:	Predavanje, razgovor
KORELACIJA GRADIVA:	Fizika, biologija, matematika
LITERATURA:	M. Sikirica, B. Korpar-Čolig: Kemija s vježbama 1, Školska knjiga d.d., Zagreb, 2000. 169.-171.

OČEKIVANA POSTIGNUĆA

- upoznati pojam oksidacijskog broja kao načina praćenja tijeka oksido-redukcijskih reakcija
- proučiti i uvažavati pravila za određivanje oksidacijskih brojeva te ih znati primijeniti na različitim primjerima u etapi uvježbavanja gradiva
- prepoznati oksido-redukcijske reakcije kao posljedicu prijenosa elektrona između sudionika reakcije
- razlikovati redukcijske od oksidacijskih reakcija
- razlikovati i definirati pojmove reducens, redukcijsko sredstvo, oksidans, oksidacijsko sredstvo

ETAPE NASTAVNOG SATA	Aktivnosti učitelja/nastavnika	Aktivnosti učenika	Sociološki oblici rada
Uvodni dio (5min)	– Ponoviti s učenicima stečeno znanje o nastajanju ionske veze 1. Koji elementi se povezuju ionskom vezom? Očekivani odgovor: Ionskom vezom povezuju se elementi lijeve strane periodnog sustava, metali, s elementima desne strane, nemetalima 2. Prikaži nastajanje ionske veze između natrija i klora! Očekivani odgovor: 2 Na(s) + Cl_2 → 2 NaCl(s) 3. Objasni jakost ionske veze u ovisnosti o elektronegativnosti elemenata! Očekivani odgovor: Ionska veza je jača što je razlika u elektronegativnosti elemenata veća. – Započeti razgovor s učenicima o brojnim oksido-redukcijskim reakcijama pri čemu je potrebno naglasiti da oksidacijsko-redukcijske reakcije predstavljaju jednu od najvećih skupina reakcija (navesti primjere poput hrđanja željeza, požara, eksplozija itd.)	– **prisjećanje** – **govorenje** – **odgovaranje na pitanja**	– **frontalni rad** – **razgovor**

Središnji dio (30min)	✓ ***Na primjeru izgaranja magnezija u kloru definirati pojam oksidacije i redukcije*** **$Mg \rightarrow Mg^{2+} + 2e^-$** Atom magnezija je otpustio dva elektrona i prešao u ion Mg^{2+} **$Cl_2 + 2e^- \rightarrow 2Cl^-$** Molekula klora je primila dva elektrona pa su nastala dva iona Cl^- Reakcija u kojoj neka molekula, atom ili iona gubi elektron zove se **reakcija oksidacije** (magnezij oksidirao u Mg^{2+} ion) Reakcija u kojoj neka molekula, atom ili ion prima elektrone, naziva se **reakcija redukcije** (klor se reducirao u ione Cl^-) ✓ ***Definirati oksidacijsko i redukcijsko sredstvo, odnosno oksidans i reducens te navesti primjere*** **Oksidacijsko sredstvo** se tijekom redoks-reakcije reducira,a **redukcijsko sredstvo** se oksidira. Broj elektrona što ih oslobađa redukcijsko sredstvo jednak je broju elektrona što ga prima oksidacijsko sredstvo. ***Navesti primjer*** Reakcija magnezija sa sumporom $Mg + S \rightarrow Mg^{2+} + S^{2-}$ Koji će element u kemijskoj reakciji biti oksidacijsko sredstvo ovisi o elektronegativnosti.	– **razgovor** – **uočavanje** – **slušanje** – **govorenje** – **zaključivanje**	– **frontalni i** – **individualni** – **rad** – **razgovor** – **pisanje**

	Mg- redukcijsko sredstvo **S- oksidacijsko sredstvo** ***Na temelju izrečene definicije i primjera pitati učenike što je u sljedećim primjerima oksidacijsko, a što redukcijsko sredstvo?*** **$Mg + Cl_2 \rightarrow Mg^{2+} + 2\ Cl^-$** očekivani odgovor: Magnezij je redukcijsko sredstvo, a klor oksidacijsko sredstvo. **$S + O_2 \rightarrow SO_2$** Očekivani odgovor: Kako je kisik elektronegativniji od sumpora on će biti oksidacijsko sredstvo, a sumpor će biti redukcijsko sredstvo. ✓ ***Uvesti pojam oksidacijskog broja, proučiti dogovorena pravila za određivanje oksidacijskog broja te navesti primjere*** – Kako bi se lakše odredilo koja se tvar oksidira, a koja reducira, dogovorom je uveden pojam **oksidacijski broj,** koji se naziva i stupanj oksidacije. – Svaki učenik dobije listić s dogovorenim pravilima za određivanje oksidacijskog broja koji je potrebno zalijepiti u bilježnicu te uz pomoć kojeg se rješavaju navedeni primjeri. Listić se nalazi na kraju pripreme. *Učenici dobivaju zadatak: Uz pomoć listića s dogovorenim pravilima za određivanje oksidacijskog broja, odredi oksidacijske brojeve prvih atoma u formulama sljedećih spojeva i iona: NH_3, $NH4^+$, SO_2, SO_3.* Očekivani odgovor: -3, -3, +4, +6		

	✓ ***Objasniti i ispisati parcijalne jednadžbe oksidacije i redukcije u zadanoj kemijskoj jednadžbi*** Na jednostavnom primjeru nastavnik objašnjava i piše reakcije oksidacije i redukcije *Što se događa kada se komad željeza uroni u otopinu srebrova nitrata?* **2 $AgNO_3$(aq) + Fe(s) → $Fe(NO_3)_2$ + 2 Ag(s)** Nastavnik objašnjava svaki korak prilikom čega uključuje učenike u razgovor **1.** Shemu napisati u ionskom obliku … Ag^+ +… NO_3^- + … Fe → … Fe^{2+} + … NO_3^- + …Ag **2.** Lijeva i desna strana sadrže NO^{3-} koji ne sudjeluje u redoks-reakciji … Ag^+ + … Fe → … Fe^{2+} + …Ag **3.** Primjenjujući pravila na osnovi kojih se određuju oksidacijski brojevi, iznad simbola svakog kemijskog elementa je potrebno označiti njegov oksidacijski broj **(1) (0) (2) (0)** …Ag^+ + … Fe → … Fe^{2+} + … Ag **4.** Ag^+ reducira do elementarnog srebra, a elementarno željezo oksidira do Fe^{2+} iona. **(1) (0)** **(redukcija) $Ag^+ + e^-$ → Ag** **(0) (2)** **(oksidacija) $Fe - 2e^-$ → Fe^{2+}**		

	5. Broj elektrona koji se utroši u reakciji redukcije mora biti jednak broju elektrona koji se utroše u reakciji oksidacije, stoga je gornju jednadžbu potrebno pomnožiti s 2 te nakon toga zbrojiti jednadžbe **$2\,Ag^+ + 2e^- \rightarrow 2\,Ag$** **$Fe - 2e^- \rightarrow Fe^{2+}$** _____ **$2Ag^+ + Fe \rightarrow Fe^{2+} + 2\,Ag$** – Nakon objašnjenog primjera nastavnik učenicima daje sljedeći zadatak : *Riješi i izjednači redoks jednadžbe na primjeru izgaranja magnezija u kloru!* **$Mg + Cl_2 \rightarrow MgCl_2$** Očekivani odgovor: **(0) (2)** **(oksidacija) $Mg \rightarrow Mg^{2+} + 2e^-$** **(0) (-1)** **(redukcija) $Cl_2 + 2e^- \rightarrow 2\,Cl^-$** **$Mg \rightarrow Mg^{2+} + 2e^-$** **$Cl_2 + 2e^- \rightarrow 2\,Cl^-$** _____ **$Mg + Cl^2 \rightarrow Mg^{2+} + 2\,Cl^-$**		
Završni dio (10min)	– Ponavljanje gradiva putem rješavanja zadataka na radnom listiću	– **pisanje**	– **individualni rad** – **pisanje**

PLAN UČENIČKOG ZAPISA

OKSIDACIJA I REDUKCIJA

$Mg \rightarrow Mg^{2+} + 2\ e^-$ **OKSIDACIJA- reakcija u kojoj neka molekula, atom ili iona gubi elektrone.**

$Cl_2 + 2\ e^- \rightarrow 2\ Cl^-$ **REDUKCIJA- reakcija u kojoj neka molekula, atom ili iona prima elektrone.**

OKSIDACIJSKO SREDSTVO- reducira se tijekom redoks-reakcije

REDUKCIJSKO SREDSTVO- oksidira se tijekom redoks-reakcije

$Mg + S \rightarrow Mg^{2+} + S^{2-}$



Jednadžbe redoks-reakcija

2 $AgNO_3\,(aq) + Fe\,(s) \rightarrow Fe(NO_3)_2\,(aq) + 2\,Ag\,(s)$

… Ag^+ + … NO_3^- + … Fe → … Fe^{2+} + … NO_3^- + …Ag

(1) (0) (2) (0)

… Ag^+ + … Fe → …Fe^{2+} + Ag

(1) (0)

(redukcija) $Ag^+ + e^- \rightarrow Ag$

(0) (2)

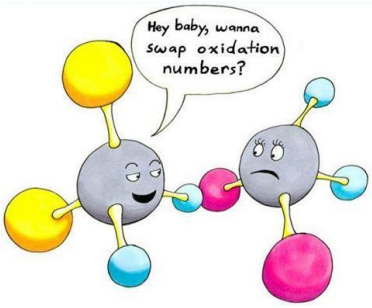
(oksidacija) $Fe - 2\ e^- \rightarrow Fe^{2+}$

$2\ Ag^+ + 2\ e^- \rightarrow 2\ Ag$

$Fe - 2\ e^- \rightarrow Fe^{2+}$

$2\ Ag + Fe \rightarrow Fe^{2+} + 2\ Ag$

PRAVILA ZA ODREĐIVANJE OKSIDACIJSKOG BROJA



1. **Oksidacijski broj svih elemenata u elementarnom stanju jednak je nuli.**

   Atomi klora u Cl_2, sumpora u S_8, bakra u metalnom bakru, svi oni imaju oksidacijski broj nula

2. **Oksidacijski broj kisika uvijek je jednak (-2) osim u peroksidima gdje je oksidacijski broj kisika (-1).**

   Primjeri: H_20 i BaO (oksidacijski broj kisika je –2), Na_2O_2 (oksidacijski broj kisika je –1)

3. **Oksidacijski broj vodika uvijek je jednak (1), osim u hidridima metala 1. i 2. skupine gdje je oksidacijski broj vodika (-1).**

   U hidridima elemenata 1. i 2. skupine vodik prima elektron, odnosno, postaje negativan ion te zbog toga ima oksidacijski broj (-1)

4. **Oksidacijski broj svih jednostavnih iona jednak je naboju iona.**

   U ionu Cl^- oksidacijski broj klora je (-1), u ionu Fe^{2+} oksidacijski broj željeza je (2)

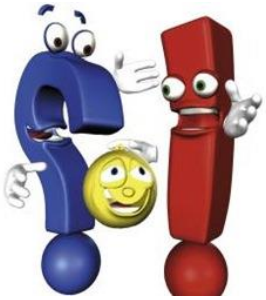
5. **Zbroj svih oksidacijskih brojeva u molekuli mora biti jednak nuli.**

6. **Zbroj svih oksidacijskih brojeva u složenim ionima mora biti jednak naboju iona**

7. **U spojevima s kovalentnom vezom oksidacijski broj nekog atoma jednak je zamišljenom naboju koji se javlja na tom atomu kada se zajednički elektronski parovi dodijele elektronegativnijem atomu.**

   U ugljikovom tetrakloridu, CCl_4, oksidacijski broj klora bit će (-1), a ugljika (4)

Radni listić za ponavljanje gradiva



Nastavna jedinica : Oksidacija i redukcija

Razred : Prvi razred gimnazije

Zadaci za ponavljanje gradiva

1. **Odredi oksidacijske brojeve prvih atoma u formulama sljedećih spojeva i iona:**

   a) CH_4, b) IF_7, c) SO_4^{2-}, d) HSO_4^-

Očekivani odgovor: a) 4, b) 7, c) 6, d) 1

2. **Koja je tvar oksidacijsko, a koja redukcijsko sredstvo, odnosno, koja se tvar oksidirala, a koja reducirala u reakcijama:**

   a) $S + O_2 \rightarrow SO_2$
   b) $2\ H_2SO_4 + Cu \rightarrow CuSO_4 + SO_2 + H_20$

Očekivani odgovor: a) oksidacijsko sredstvo: S **b) oksidacijsko sredstvo: H_2SO_4**

redukcijsko sredstvo: O_2 **redukcijsko sredstvo: Cu**

3. **Na osnovi elektronske konfiguracije atoma dušika odredi najmanju, odnosno najveću vrijednost oksidacijskog broja koja se može očekivati kod tog elementa. Obrazloži odgovor!**

Očekivani odgovor: Najmanji oksidacijski broj dušika je -3 jer njegovom atomu nedostaje 3 elektrona do elektronske konfiguracije plemenitog plina. Najveći oksidacijski broj je +5 jer ima 5 elektrona u valentnoj ljusci.

6. ZAKLJUČAK

Prisutnost arsena u okolišu, što podrazumijeva njegovu prisutnost u vodi, tlu i zraku, danas se smatra globalnim problemom. Unošenjem arsena u tijelo putem vode za piće, on se apsorbira u probavni trakt i krvlju raznosi do organa u tijelu. Povećane koncentracije arsena zabilježene su na području istočne Slavonije što je upravo glavni razlog ovog istraživanja, odnosno analize bunarske vode sa vodocrpilišta Vinogradi pokraj Osijeka, gdje su se nastojali detektirati As^{3+} ioni.

Za detekciju arsena korištene su dvije voltametrijske metode: ciklička voltametrija i diferencijalna pulsna voltametrija. Nemodificiranom elektrodom od staklastog ugljika nije bilo moguće detektirati arsen niti cikličkom niti diferencijalnom pulsnom voltametrijom, što potvrđuje izostanak oksido-redukcijskih strujnih vrhova. Stoga je elektroda od staklastog ugljika modificirana elektrodepozicijom nanočestica zlata i boje Crystal Violet te je na taj način omogućena detekcija As^{3+} iona.

Razlike između površine modificirane i nemodificrane elektrode od staklastog ugljika utvrđene su elektrokemijskom impedancijskom spektroskopijom. Na osnovu dobivenih podataka se može zaključiti da sloj Au-CRV na modificiranoj elektrodi od staklastog ugljika ima niži otpor prijenosu elektrona u odnosu na nemodificiranu elektrodu od staklastog ugljika.

U svim uzorcima bunarske vode uzorkovanim tijekom 9. i 10. mjeseca utvrđena je prisutnost arsena. Nakon modifikacije elektrode od staklastog ugljika, arsen se mogao kvalitativno detektirati i cikličkom i diferencijalnom pulsnom voltametrijom prilikom čega se prednost daje diferencijalnoj pulsnoj voltametriji zbog izraženijih oksidacijskih strujnih vrhova.

Visina oksidacijskog strujnog vrha arsena linearno ovisi o promjeni koncentracije As^{3+} iona, odnosno, raste s porastom koncentracije As^{3+} iona. Prilikom detekcije arsena u uzorcima bunarske vode, visine strujnih vrhova su rasle nakon dodatka As^{3+} iona u ispitivani uzorak, čime je potvrđeno prisustvo arsena u ispitivanim uzorcima.

7. LITERATURA

[1] S.Tedeschi, Zaštita vode, Hrvatsko društvo građevinskih inženjera, Zagreb, 1997.

[2]http://www.stampar.hr/sites/default/files/sluzbe/docs/2014/vaznost_pravilnog_unosa_tekucine_za_zdravlje.pdf (10.3. 2019.)

[3]https://www.centarzdravlja.hr/zdrav-zivot/zdravlje-opcenito/zasto-je-voda-vazna/?refresh=true (10.3.2019.)

[4] M. Habuda-Stanić, M. Kuleš, Analiza vode, Sveučilište J.J. Strossmayera, Prehrambeno-tehnološki fakultet, Osijek, 2000.

[5] J. Vešligaj-Turkalj, Ž. Romić, M. Jakopec, M. Habuda-Stanić, Fizikalno kemijska kvaliteta podzemnih voda s vodocrpilišta Vinogradi, Zbornik radova, Osijek, 2016, 289-298

[6] http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/339082.html (13.3.2019.)

[7] Ž. Romić, Arsen u podzemnoj vodi osječkog vodocrpilišta i oksidacija arsenita pri kondicioniranju vode, Doktorski rad, Sveučilište J.J.Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2009.

[8] I. Filipović, S. Lipanović, Opća i anorganska kemija II. dio, Školska knjiga, Zagreb, 1995.

[9] http://www.pse.pbf.hr/hrvatski/elementi/as/spojevi.html (14.3.2019.)

[10] https://www.britannica.com/science/arsenic (14.3.2019.)

[11] V. Oreščanin, Arsen u vodama – porijeklo. Toksični učinak i metode uklanjanja, Hrvatske vode 83 (2013), 7-16.

[12] http://www.ttf.unizg.hr/tedi/pdf/TEDI-5-5-86.pdf (16.3.2019.)

[13] M.Đ. Kukučka, N.M. Kukučka, Fizičko-hemijski sastav svetskih prirodnih voda, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2013.

[14] M. Habuda-Stanić, M. Kuleš, Arsen u vodi za piće, Kem. Ind. 51 (2002), 337-342.

[15] M. D. Masud Karim: Arsenic in Groundwater and Health Problems in Bangladesh.

Water Res. 34 (2000), 304-310.

[16] M.M. Rahman, M.K. Sengupta, S. Ahamed, U.K. Chowdhury, D. Lodh, A. Hossain, B. Das, N. Roy, K.C. Saha, S.K. Palit, D.Chakraborti: Policy and Practice-Arsenic contamination of groundwater and its health impact on residents in a village in West Bengal, India. Bulletin of the World Health Org. 83 (2005), 49-57.

[17] M. A. Armienta, R. Rodrigez, A. Aguayo, N. Ceniceros, G. Villasenor, O. Cruz: Arsenic Contamination of Ground Water at Zimapan, Mexico, Hydrol. J. 5 (1997), 39-46.

[18] S. Bašić, Procjena rizika štetnosti arsena prisutnog u vodi za piće na zdravlje ljudi na području Istočne Slavonije, Specijalistički rad, Institut Ruđer Bošković, Zagreb/Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, 2012.

[19] https://www.eucerin.hr/kozna-oboljenja/neujednacen-ten-koze/hiperpigmentacija (19.3.2019.)

[20] http://ordinacija.vecernji.hr/kolumna/koronarna-ili-ishemicka-bolest-srca/ (19.3.2019.)

[21] http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=43312 (19.3.2019.)

[22] https://www.krenizdravo.rtl.hr/zdravlje/bolesti-zdravlje/gangrena-uzroci-simptomi-i-lijecenje (20.3.2019.)

[23] http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-za-pacijente/bolesti-pluca-i-disnih-putova/bronhiektazije-i-atelektaza/bronhiektazije (20.3.2019.)

[24] http://www.herba.hr/probavni-sustav-snaga-imuniteta-z11 (20.3.2019.)

[25] http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-za-pacijente/bolesti-mozga-i-zivcanog-sustava/poremecaji-perifernih-zivaca/periferna-neuropatija (21.3.2019.)

[26] N. Yogarajh, S.S.H. Tsai, Detection of trace arsenic in drinking water; challenges and opportunities for microfluidics, Environ.Sci.: Water Res. Technol. 1 (2015), 426-447.

[27] J.R. Catai, G.J. de Jong, G.W. Samson, Capillary electrophoresis of biopharmaceuticals (W. Jiskoot, D.J.A. Crommelin), Methods for Structural Analysis of Protein Pharmaceticals, American Association of Pharmaceutical Scientists, Arlington, VA, USA, 2005, 331-337

[28] D.A. Skoog, D.M. West, F.J. Holler, Osnove analitičke kemije, Školska knjiga, Zagreb 1999.

[29] I. Piljac, Senzori fizikalnih veličina i elektroanalitičke metode, Mediaprint-Tiskara Hrastić d. o. o., Zagreb, 2010.

[30] I. Malenica, Nove elektrokemijske metode za određivanje ropirinola, Zagreb, 2012.

[31] M. Gavran, Ispitivanje oksido-redukcijskih svojstava ((1E)-1-N-{[4-(4-{[(E)-N-(2-aminofenil) karboksiimidoil] fenoksi} butoksi) fenil] metiliden} benzen -1, 2 -diamina uporabom cikličke voltametrije , Završni rad, Osijek, 2014.

[32] M. Medvidović-Kosanović, Elektrokemijska i antioksidacijska svojstva nekih prirodnih polifenola, Doktorska disertacija, PMF, Zagreb, 2011.

[33] D.D. Macdonald, Reflections on the history of electrochemical impedance spectroscopy, Electrochim. Acta 51 (2006), 1376-1388.

[34] K. Magdić, V. Horvat-Radošević, Uloga elektrokemijske impedancijske spektroskopije u karakterizaciji elektroda i uređaja za pretvorbu i skladištenje energije, Kem.Ind. 62 (2013), 81-91.

[35] E. Barsoukov, J.R. Macdonald, Impedance spectroscopy. Theory, experiment and applications, J. Wiley & Sons, New Jersey, 2005.

[36] K. Marušić, Elektrokemijska impedancijska spektroskopija i njezina primjena kod ispitivanja zaštite na patiniranoj bronci, Seminarski rad, FKIT, Zagreb, 2008.

[37] M. Rajkumar, S. Thiagarajan, S.-M. Chen, Environ.Sci.Technol 35 (2001), 4562.

[38]https://www.google.hr/search?biw=1366&bih=638&tbm=isch&sa=1&q=glassy+carbon+electrode&oq=glassy+carbon+el&gs_l=psy-ab.1.1.0i19k1l2.28141.32999.0.34605.17.17.0.0.0.0.218.2207.1j14j1.16.0....0...1.1.64.psy-ab..1.15.2102.0..0j0i67k1.WsZSRHYy0UA#imgrc=xRPSJwQLfZ5voM (10.4.2019.)

[39]https://www.google.hr/search?q=Ag+AgCl+elektroda&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjbuY27jKXWAhXIWhoKHYxZDIsQ_AUICigB&biw=1366&bih=638#imgdii=MUWE4H8kLxnkmM:&imgrc=IVJLnies7p6i_M (10.4.2019.)