



Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Σχολή Χημικών Μηχανικών

Ακαδημαϊκό Έτος: 2022-2023

Τομέας Ι: Χημικών Επιστημών

Εργαστήριο Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας

## Διπλωματική Εργασία

Διερεύνηση της δυνατότητας βολταμετρικού προσδιορισμού της Μετρονιδαζόλης με τη χρήση Ni-Fe/LDH τροποποιημένου ηλεκτροδίου υαλώδους άνθρακα

Τσολάκης Λοΐζος

Επιβλέπων Καθηγητής

Τσόπελας Φώτιος, Επίκουρος Καθηγητής Ε.Μ.Π

# ΑΘΗΝΑ 2023

## Περιεχόμενα

Πρόλογος.....	3
Περίληψη .....	4
Abstract .....	Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.
1. Θεωρητικό Μέρος.....	7
1.1 Γενικά για τα Αντιβιοτικά.....	7
1.1.1 Η Μετρονιδαζόλη (MTZ) .....	7
1.1.2 Τοξικότητα MTZ και επιπτώσεις στον άνθρωπο και το περιβάλλον .....	10
1.1.3 Τεχνικές Ανίχνευσης της Μετρονιδαζόλης.....	10
1.2 Γενικά για την Ηλεκτροχημεία .....	11
1.2.1 Τεχνικές Βολταμετρίας και θεωρητικές προσεγγίσεις.....	12
1.2.2 Κυκλική Βολταμετρία (Cyclic Voltammetry – CV).....	13
1.2.3 Ηλεκτρόδια .....	17
1.2.4 Ο Διαλύτης.....	24
1.2.5 Υποστηρικτικοί Ηλεκτρολύτες.....	25
1.2.6 Οργανολογία .....	25
1.3 Τροποποίηση Ηλεκτροδίου.....	26
2. Πειραματικό Μέρος .....	28
2.1 Σκοπός .....	28
2.2 Αντιδραστήρια.....	28
2.3 Οργανολογία .....	28
2.4 Πειραματική Διαδικασία.....	30
2.4.1 Προετοιμασία και τροποποίηση GCE.....	30
2.4.2 Παρασκευή του ηλεκτρολύτη και ρύθμιση του pH .....	30
2.4.3 Παρασκευή διαλυμάτων μετρονιδαζόλης (MTZ) .....	30
2.4.4 Διαδικασία που ακολουθήθηκε.....	30
3. Αποτελέσματα και Ανάλυση αποτελεσμάτων.....	31
4. Συμπεράσματα.....	46
5. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα .....	47
Βιβλιογραφία .....	48

## Πρόλογος

Η διπλωματική μου εργασία με τίτλο «Διερεύνηση της δυνατότητας βολταμετρικού προσδιορισμού της Μετρονιδαζόλης με τη χρήση Ni-Fe/- LDH τροποποιημένου ηλεκτροδίου υαλώδους άνθρακα» εκπονήθηκε στη Σχολή Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου (Ε.Μ.Π) κατά τη διάρκεια του ακαδημαϊκού έτους 2022 – 2023, υπό την επίβλεψη του καθηγητή κ. Τσόπελα Φώτιου.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κύριο Τσόπελα Φώτιο για την ευκαιρία αλλά και το χρόνο που μου έδωσε να ασχοληθώ με το συγκεκριμένο θέμα όπως επίσης και για τις απίστευτες γνώσεις που έλαβα κατά την διάρκεια της ερευνητικής και συγγραφικής περιόδου της διπλωματικής μου εργασίας. Ακόμα, θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για την υπομονή που έδειξε όλο αυτό το διάστημα.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Δρ. Τσακανίκα Λαμπρινή – Αρετή, για τις χρήσιμες υποδείξεις της και τη βοήθεια που μου παρείχε κατά τη διάρκεια της όλης πειραματικής διαδικασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια και τους φίλους μου που ήταν πλάι μου κατά τη διάρκεια των φοιτητικών μου χρόνων.

## Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια η εκτεταμένη χρήση αντιβιοτικών φαρμάκων έχει οδηγήσει σε μεγάλα προβλήματα στον άνθρωπο και στο περιβάλλον, γι' αυτό η Ε.Ε έχει υιοθετήσει αυστηρούς κανονισμούς με σκοπό να ελέγξει την ανεξέλεγκτή τους χρήση. Για τον έλεγχο αυτό, προτεινόμενη τεχνική είναι αυτή της υγρής χρωματογραφίας. Στη παρούσα διπλωματική εξετάζεται ένας νέος τρόπος ανίχνευσης για ένα από αυτά τα αντιβιοτικά, την Μετρονιδαζόλη, με τη χρήση κυκλικής βολταμετρίας.

Γενικά, οι βολταμετρικές μέθοδοι είναι πολύ πιο γρήγορες, εύκολες και φθηνές συγκριτικά με άλλες μεθόδους που χρησιμοποιούνται για τέτοιου είδους αναλύσεις. Αυτός είναι και ο λόγος που επιλέχθηκε η συγκεκριμένη τεχνική για τη συγκεκριμένη εργασία.

Βασικοί πυλώνες για την εκτέλεση μια κυκλικής βολταμετρικής ανάλυσης είναι τα τρία ηλεκτρόδια που απαρτίζουν το σύστημα (εργασίας, αναφοράς, βοηθητικό). Το βασικότερο απ' όλα αυτά είναι το ηλεκτρόδιο εργασίας. Υπάρχουν πολλά είδη ηλεκτροδίων εργασίας που βρίσκουν εφαρμογή ανάλογα με το προς ανάλυση δείγμα. Στη περίπτωση που εξετάζεται γίνεται χρήση ενός ηλεκτροδίου υαλώδους άνθρακα. Ένα από τα θετικά αυτών των ηλεκτροδίων είναι οι πολλές τροποποιήσεις που μπορούν να λάβουν ώστε να αυξηθεί η ευαισθησία τους. Μια από αυτές είναι και η τροποποίηση με τη μέθοδο των Διπλών Υδροξειδίων Φυλλόμορφης Δομής (LDHs - Layered Double Hydroxides), όπου ουσιαστικά σχηματίζεται ένα λεπτό φιλμ στην επιφάνειά του.

Μελετήθηκαν τρόποι καθαρισμού του ηλεκτροδίου και πως αυτοί επηρεάζουν τις μετρήσεις, με πιο αποτελεσματική μέθοδο τον καθαρισμό με διάλυμα θειικού οξέος.

Τα πειράματα που διενεργήθηκαν τόσο σε απλά υδατικά διαλύματα μετρονιδαζόλης, όσο και σε διάλυμα εμπορικού σκευάσματος αλλά και σε δείγμα βιολογικού μελιού έχουν δώσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα για τη χρήση της μεθόδου αυτής. Η επεξεργασία των δεδομένων, απέδειξε ότι η μέθοδος μπορεί να εφαρμοστεί σε πραγματικά δείγματα αφού έχει χαμηλά όρια ανίχνευσης και όρια ποσοτικοποίησης.

Γενικότερα, επιβεβαιώθηκε, η δυνατότητα για ανίχνευση μικρών συγκεντρώσεων, η ταχύτητα που διαθέτει και η ευκολία στην εκτέλεση των πειραμάτων. Τέλος, η συγκεκριμένη μέθοδος μπορεί να αναπτυχθεί, είτε σε συνδυασμό με άλλες αναλυτικές μεθόδους είτε να γίνει μια προσπάθεια σμίκρυνσης του οργάνου ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί και εκτός του εργαστηριακού χώρου.

**Λέξεις – Κλειδιά:** Μετρονιδαζόλη, Κυκλική Βολταμετρία, μέθοδος Διπλών Υδροξειδίων Φυλλόμορφης Δομής, ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα

## Investigation of the possibility of voltammetric determination of Metronidazole using Ni-Fe/LDH modified glassy carbon electrode

In the recent years, the extensive use of antibiotic drugs has led to major problems for both humans and the environment. That's why EU has adopted strict regulations to control their uncontrolled usage. The proposed technique for implementing these controls is that of high-pressure liquid chromatography. In this paper, a new detection method of one of those antibiotics, Metronidazole, is examined using cyclic voltammetry.

In general, voltammetric methods are faster, cheaper and easier to perform than the other methods that are used for this type of analysis. This is also the reason why this particular technique was chosen for this particular work.

Basic pillars for performing a cyclic voltammetric analysis are the three electrodes that make up the system (working, reference, counter). The most important of these is the working electrode. There are many types of working electrodes that find applications depending on the sample to be analyzed. In the case under consideration, a glassy carbon electrode is used. One of the positives of these electrodes is the many modifications they can receive to increase their sensitivity. One of them is the modification using the method of Layered Double Hydroxides (LDHs), where a thin film is essentially formed on its surface.

Methods of cleaning the electrode and how they affect the measurements were studied, with the most effective method being cleaning with sulfuric acid solution.

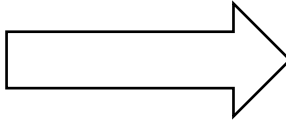
The experiments were carried out both in aqueous solutions of metronidazole, as well as in a solution of a commercial drug and also in a sample of organic honey, have given encouraging results for the usage of this method. The occurred data, showed that the method can be applied to real samples due to the low limits of detection and limits of quantification.

Generally, the ability to detect small concentrations, the speed it has and the ease of performing the experiments were confirmed. Finally, the specific method can be developed, either in combination with other analytical methods or an attempt can be named to miniaturize the instrument so that it can be used outside the laboratory.

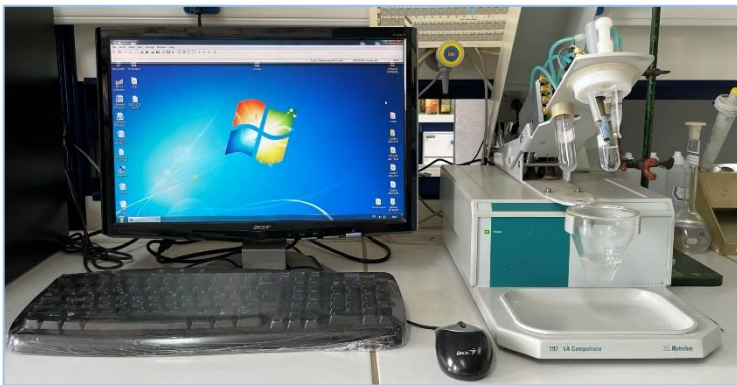
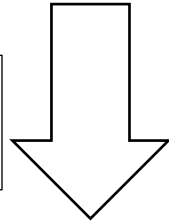
**Key Words:** Metronidazole, Cyclic Voltammetry, method of Layered Double Hydroxides, glassy carbon electrode



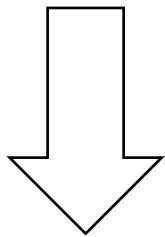
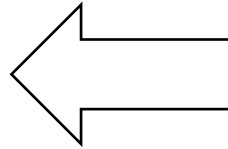
Προσθήκη MTZ σε βιολογικό μέλι



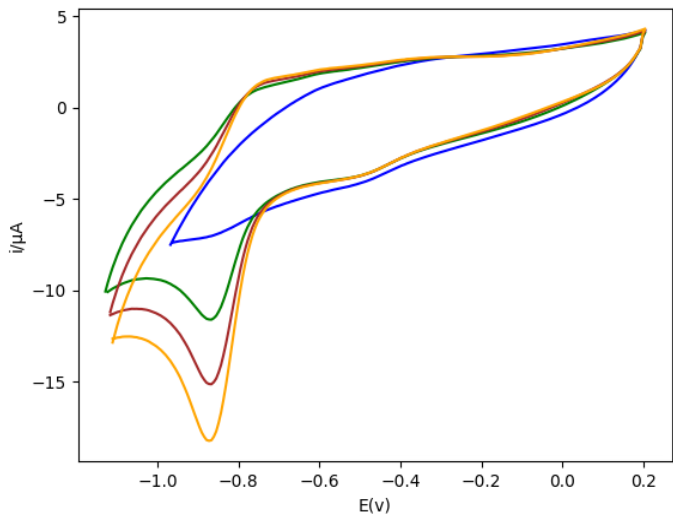
Διαλυτοποίηση σε υπερκάθαρο νερό



Ανάλυση με τη μέθοδο κυκλικής βολταμετρίας



Chemometrics



# 1. Θεωρητικό Μέρος

## 1.1 Γενικά για τα Αντιβιοτικά

Η ανακάλυψη, η μαζική παραγωγή και η χρήση των αντιβιοτικών αποτέλεσε ένα ιστορικό γεγονός της ιατρικής. Ήδη η χρήση μικροβίων που παράγουν αντιβιοτικά είναι γνωστή εδώ και χιλιετίες με κυριότερο παράδειγμα τα καταπλάσματα μουχλιασμένου ψωμιού που χρησιμοποιούνταν για τη θεραπεία ανοιχτών πληγών σε Ελλάδα, Κίνα και Αίγυπτο. Ως αντιβιοτικό ορίζεται οποιαδήποτε χημική ουσία που παράγεται από μικροοργανισμούς και έχει την ικανότητα να αναστέλλει ή και να καταστρέφει βακτήρια και άλλους μικροοργανισμούς. Ο όρος «αντιβιοτικό» ορίστηκε πρώτη φορά από τον βραβευμένο με Νόμπελ Ιατρικής, βιοχημικό και μικροβιολόγο, Selman Abraham Waksman[1]. Με την πάροδο των χρόνων και την γενικότερη ανάπτυξη στον φαρμακευτικό τομέα ο όρος «αντιβιοτικό» έλαβε επιπλέον έννοιες όπως:

**(α)** Οποιαδήποτε οργανική χημική ουσία φυσικής, συνθετικής ή ημισυνθετικής προέλευσης που είτε αναστέλλει ή σκοτώνει παθογόνα βακτήρια

**(β)** Οποιαδήποτε αντιμικροβιακή ουσία

Το πρώτο αντιβιοτικό που αναπτύχθηκε ήταν αρφαιναμίνη (salvarsan) το 1910[2].

### 1.1.1 Η Μετρονιδαζόλη (MTZ)

Αναπτύχθηκε από την γαλλική φαρμακευτική εταιρία Rhône-Poulenc τη δεκαετία του 1950. Πρόκειται για ένα συνθετικό αντιβιοτικό που παράγεται από την αζομυκίνη, μια νιτροϊμιδαζόλη που προέρχεται από τα γένη Actinobacteria και Proteobacteria. Χορηγήθηκε για πρώτη φορά το 1959 για τη θεραπεία της τριχομονάσης, μιας λοίμωξης που προκαλείται από τα πρωτόζωα *Trichomonas Vaginalis*, που μέχρι πριν 20 χρόνια θεωρούσαν ότι προκαλούσε περισσότερη ταλαιπωρία από τον καρκίνο.

Η μετρονιδαζόλη και οι συγγενείς νιτροϊμιδαζόλες, είναι δραστικές in vitro εναντίον ευρείας ποικιλίας αναερόβιων πρωτοζωικών παρασίτων και αναερόβιων βακτηρίων. Η MTZ είναι κλινικά δραστική στην τριχομονάδωση, την αμοιβάδωση και τη γιαρδίαση, και σε ποικιλία λοιμώξεων, που προκαλούνται από υποχρεωτικής αναερόβια βακτήρια, περιλαμβανομένων των *Bacteroides*, του *Clostridium* και των μικροαερόφιλων βακτηρίων, όπως τα είδη *Helicobacter* και *Campylobacter*. Η MTZ παρουσιάζει αντιβακτηριδιακή δραστηριότητα έναντι όλων των αναερόβιων κόκκων και των αναερόβιων Gram αρνητικών βακτηρίων, συμπεριλαμβανομένων του *Bacteroides spp* και των αναερόβιων σπορογόνων Gram θετικών βακίλων.

Η MTZ είναι ένα προφάρμακο, το οποίο απαιτεί αναγωγική ενεργοποίηση της ομάδας αζώτου από τους ευπαθείς οργανισμούς. Σε αντίθεση με τους αερόβιους συγγενείς τους, τα αναερόβια και μικροαερόφιλα παθογόνα, περιέχουν συστατικά μεταφοράς ηλεκτρονίων που έχουν μια αρκετά αρνητική οξειδοαναγωγική δυνατότητα να παρέχουν ηλεκτρόνια προς τη MTZ. Η ηλεκτρονική μεταφορά σχηματίζει μια υψηλώς αντιδραστική ρίζα ανιόντος αζώτου, η οποία θανατώνει τους ευαίσθητους οργανισμούς, μηχανισμούς διαμορφωμένους μέσω της ρίζας που στοχεύουν στο DNA. Η MTZ ανακυκλώνεται καταλυτικά. Η απώλεια του δραστικού ηλεκτρονίου του μεταβολίτη, αναγεννά τη μητρική ουσία. Αυξανόμενα επίπεδα οξυγόνου αναστέλλουν την κυτταροτοξικότητα, που προκαλείται από τη MTZ επειδή το οξυγόνο την συναγωνίζεται για τη δημιουργία ηλεκτρονίων μέσω ενεργειακού

μεταβολισμού. Έτσι, το οξυγόνο μπορεί αφενός μεν να ελαττώσει την αναγωγική ενεργοποίηση της MTZ, αφετέρου δε να αυξήσει την ανακύκλωση του ενεργοποιημένου φαρμάκου. Οι αναερόβιοι και μικροαερόφιλοι οργανισμοί, που είναι ευαίσθητοι στη MTZ, αντλούν ενέργεια από την οξειδωτική ζύμωση κετοοξέων όπως το πυροσταφυλικό οξύ. Η πυροσταφυλική αποκαρβοξυλίωση, που καταλύεται από την οξειδοαναγωγή πυροσταφυλικού-φερρεδοξίνης παράγει ηλεκτρόνια, τα οποία ανάγουν την φερρεδοξίνη η οποία στη συνέχεια δίδει καταλυτικά ηλεκτρόνια σε βιολογικούς αποδέκτες ηλεκτρονίων ή στη MTZ.

Κλινική ανθεκτικότητα προς τη μετρονιδαζόλη έχει αρκούντως τεκμηριωθεί για την *Trichomonas vaginalis*, την *Gardia lamblia* και μια ποικιλία αναερόβιων και μικροαερόφιλων βακτηρίων. Η ανθεκτικότητα σχετίζεται με πλημμελείς ικανότητες κάθαρσης του οξυγόνου, οδηγώντας σε υψηλότερες τοπικές συγκεντρώσεις οξυγόνου, μειωμένη ενεργοποίηση της MTZ και σε μάταιη ανακύκλωση του ενεργοποιημένου φαρμάκου. Άλλα ανθεκτικά στελέχη έχουν χαμηλωμένα αλλά ανιχνεύσιμα επίπεδα της οξειδοαναγωγής πυροσταφυλικού-φερρεδοξίνης και της φερρεδοξίνης, εξηγώντας πιθανότατα το γιατί είναι ακόμα σε θέση να ανταποκρίνονται προς τα υψηλότερα επίπεδα του φαρμάκου. Στην περίπτωση των *Bacteroides* spp η ανθεκτικότητα προς τη MTZ συνδέεται με μια οικογένεια γονιδίων ανθεκτικότητας προς τη νιτροϊμιδαζόλη που μπορούν να κωδικοποιήσουν χρωμοσωμιακά ή επισωματικά.

Διατίθενται σκευάσματα MTZ για χρήση από του στόματος, ενδοφλέβια, ενδοκολπική και τοπική χορήγηση. Συνήθως απορροφάται πλήρως μετά από του στόματος λήψη, και κατανέμεται σε ένα όγκο περίπου όσο το συνολικό νερό του σώματος. Λιγότερο από 20% του φαρμάκου είναι συνδεδεμένο με τις πρωτεΐνες του πλάσματος. Υπάρχει μια γραμμική συσχέτιση μεταξύ της δόσης και της συγκέντρωσης στο πλάσμα, όσον αφορά δόσεις 200-2000mg. Η επανάληψη των δόσεων κάθε 6 με 8 ώρες καταλήγει σε μερική ρύθμιση του φαρμάκου. Ο χρόνος ημιζωής της στο πλάσμα είναι περίπου 8 ώρες. Με εξαίρεση τον πλακούντα, η MTZ διεισδύει στους σωματικούς ιστούς και τα υγρά, περιλαμβανομένων των κολπικών εκκρίσεων, του σπερματικού υγρού, του σιέλου, του μητρικού γάλακτος και του εγκεφαλονωτιαίου υγρού. Μετά από μια από του στόματος δόση 75% της ληφθείσης MTZ απομακρύνεται δια των ούρων κυρίως υπό τη μορφή μεταβολιτών και μόνο περίπου το 10% απαντάται ως αμετάβλητο φάρμακο. Σχηματίζονται δύο κύριοι μεταβολίτες. Ο υδροξυμεταβολίτης έχει ένα μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής (περίπου 12 ώρες), και περιέχει σχεδόν το 50% της αντιτριχομοναδικής δραστηριότητας της MTZ. Παρατηρείται επίσης και γλυκουρονιδίωση. Μικρές ποσότητες αναχθέντων μεταβολιτών, περιλαμβανομένων προϊόντων διάσπασης το δακτυλίου, σχηματίζονται από την εντερική χλωρίδα. Τα ούρα μερικών ασθενών πιθανόν να λάβουν μια ερυθρωπή χροιά λόγω των χρωστικών που προέρχονται από το φάρμακο. Ο οξειδωτικός μεταβολισμός της MTZ επάγεται από την φαινοβαρβιτάλη, την πρεδνιζόνη, τη ριφαμπίνη και ενδεχομένως την αιθανόλη και αναστέλλεται από τη σιμετιδίνη.

Η MTZ θεραπεύει τις λοιμώξεις του γεννητικού συστήματος από *T.vaginalis* σε ποσοστό >90% των περιπτώσεων. Το προτιμώμενο σχήμα είναι 2 γραμμάρια MTZ ως μια εφάπαξ από του στόματος δόση, τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες. Όταν απαιτούνται επαναλαμβανόμενες αγωγές ή υψηλότερες δόσεις του φαρμάκου, για μη θεραπευόμενες ή υποτροπιάζουσες λοιμώξεις, συνιστάται η παρεμβολή



μεσοδιαστημάτων 4-6 εβδομάδων μεταξύ των αγωγών. Πρέπει να διενεργείται μέτρηση του αριθμού των λευκοκυττάρων πριν, κατά τη διάρκεια και μετά από κάθε θεραπευτική αγωγή. Οι θεραπευτικές αποτυχίες, λόγω ανθεκτικών προς τη MTZ στελεχών *T.vaginalis* είναι όλο και περισσότερο συχνές. Οι περισσότερες από αυτές τις περιπτώσεις μπορούν να θεραπευτούν επιτυχώς με χορήγηση μιας δεύτερης δόσης 2 γραμμαρίων στον ασθενή και το σεξουαλικό σύντροφο. Επιπλέον της από του στόματος θεραπείας, η χρήση τοπικού τζελ που περιέχει 0,75% MTZ ή κολπικού υποθέτου 500-1000mg μπορεί να αποδειχτεί ωφέλιμη στις ανθεκτικές περιπτώσεις.

Η MTZ είναι το φάρμακο εκλογής για όλες τις συμπτωματικές λοιμώξεις της αμοιβάδωσης, περιλαμβανομένων της αμοιβαδικής κολίτιδας και του ηπατικού αποστήματος. Η συνιστώμενη δόση είναι 500-750mg MTZ λαμβανόμενα από του στόματος τρεις φορές ημερησίως για 7-10 ημέρες.

Αν και αποτελεσματική για τη θεραπεία της γιαρδιάσης, η μετρονιδαζόλη δεν έχει ακόμα εγκριθεί στις ΗΠΑ για τη θεραπεία αυτής της λοίμωξης.

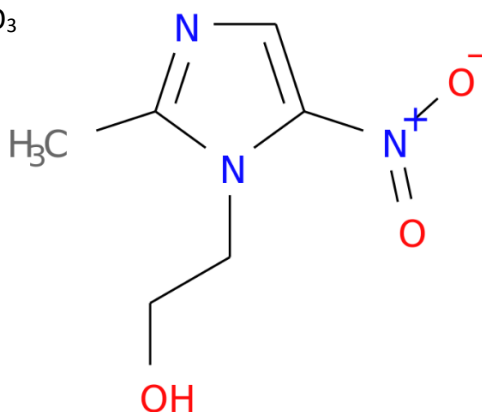
Η MTZ είναι ένα σχετικά φθινό και πολλαπλών χρήσεων φάρμακο, το οποίο δίδεται επίσης σε συνδυασμό με άλλα αντιμικροβιακά φάρμακα για τη θεραπεία πολυμικροβιακών λοιμώξεων. Η MTZ επιτυγχάνει κλινικώς δραστικά επίπεδα στα οστά, στις αρθρώσεις και στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ). Η MTZ μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί ως μέρος της προφύλαξης από μετεγχειρητικές μικτές βακτηριακές λοιμώξεις. Χρησιμοποιείται ακόμη σαν εναλλακτική θεραπεία της ψευδομεμβρανώδους κολίτιδας που προκαλείται από το *Clostridium difficile*. [3][4][5].

Η μετρονιδαζόλη είναι γνωστή με την εμπορική ονομασία Flagyl.



Σχήμα 1.1: Εμπορική Συσκευασία Flagyl 500mg

**Χημικός Τύπος:**  $C_6H_9N_3O_3$



Σχήμα 1.2: Η χημική δομή της μετρονιδαζόλης[6]

### 1.1.2 Τοξικότητα MTZ και επιπτώσεις στον άνθρωπο και το περιβάλλον

Στο πρώτο συνέδριο μετρονιδαζόλης απαριθμήθηκαν οι παρενέργειες που σχετίζονται από την εκτεταμένη χρήση της από τον άνθρωπο. Αυτές είναι: ήπια ναυτία, κεφαλαλγία, ζάλη, ίλιγγος, άσχημη μεταλλική γεύση στο στόμα, τρίχωμα στη γλώσσα, πονοκέφαλος, ζάλη, υπνηλία, κατάθλιψη, παροδικά δερματικά εξανθήματα και αντίδραση δισουλφιδάμης στη συγχορήγηση με αλκοόλ, σκούρα ούρα ή και επιγαστρική δυσφορία[7]. Σπανιότερα μπορεί να εκδηλωθούν εγκεφαλοπάθεια, σπασμοί, αποσυντονισμός, αταξία, αιμωδίες ή παραισθησίες που επιβάλλουν την άμεση διακοπή του φαρμάκου. Κνίδωση, ερυθρότητα, κνησμός αποτελούν ενδείξεις ευαισθησίας προς το φάρμακο. Η MTZ θα πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή σε ασθενείς με υποκείμενο ενεργό νόσημα του ΚΝΣ λόγω της πιθανής νευροτοξικότητας. Το φάρμακο μπορεί να επισπεύσει την τοξικότητα του λιθίου, στους ασθενείς που λαμβάνουν υψηλές δόσεις. Πρέπει να χορηγείται με προσοχή στους ασθενείς με σοβαρή ηπατοπάθεια και να αποφεύγεται η χρήση της στο πρώτο τρίμηνο της κύησης. Το  $LOD_{50} = 5000 \text{ mg/Kg}$ .

Λαμβάνοντας υπόψη ότι ο κύριος σχεδιασμός των φαρμάκων είναι να επηρεάζουν βιολογικά συστήματα δεν αποτελεί έκπληξη ότι η εκτενής χρήση και απόρριψή τους οδηγεί σε δυσμενείς επιπτώσεις στο περιβάλλον. Επιπλέον, η ιδιότητα τους να διεισδύουν εύκολα στις βιομεμβράνες υποδηλώνει ότι φάρμακα με λιπόφιλες ιδιότητες μπορούν να συσσωρευτούν σε τροφικές αλυσίδες και υδατικά ιζήματα. Ίδια προβλήματα ενδεχομένως να δημιουργήσουν σε υδατικά περιβάλλοντα και από υδρόφιλα φάρμακα εξαιτίας της χαμηλής βιοδιασπασιμότητάς τους[8].

Λόγω της εκτεταμένης χρήσης της έχει εντοπιστεί ως περιβαλλοντικός ρύπος στο νερό. Παρόλο που ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) και η Ε.Ε δεν έχει ορίσει κάποιο συγκεκριμένο όριο, εντούτοις συγκεντρώσεις MTZ στο πόσιμο νερό ακόμα και της τάξης των  $\mu\text{g/L}$  έχουν προκαλέσει περιβαλλοντική ανησυχία. Η τοξικότητά αναλογεί στα επίπεδα συγκέντρωσης της και διαφέρει σε χλωρίδα και πανίδα. Η κύρια οδός της MTZ στο περιβάλλον αποτελούν τα νοσοκομειακά και φαρμακευτικά λύματα. Επίσης η MTZ βρίσκει χρήση και στην κτηνιατρική με αποτέλεσμα την παρουσία της σε λύματα από ιχθυοκαλλιέργειες και βιομηχανίες κρέατος καθώς και σε κόπρανα ζώων[9].

### 1.1.3 Τεχνικές Ανίχνευσης της Μετρονιδαζόλης

Οι επίσημες μέθοδοι προσδιορισμού της Μετρονιδαζόλης είναι αυτές τις τιτλοδότησης, της ποτενσιομετρίας και της υγρής χρωματογραφίας. Αναφορικά με την τιτλοδότηση, γίνεται με μη υδατικά διαλύματα χρησιμοποιώντας υπερχλωρικό οξύ ( $\text{HClO}_4$ ) ως τιτλοδοτούμενο και πράσινο του μαλαχίτη ως δείκτη για τον προσδιορισμό της μετρονιδαζόλης. Επίσης, βιβλιογραφικά έχουν αναφερθεί φασματοφωτομετρικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό της MTZ στο φάσμα του ορατού που περιλαμβάνουν αρχική μείωση με επεξεργασία με σκόνη ψευδαργύρου (Zn) και υδροχλωρικό οξύ (HCl), ακολουθούμενη από διαζώτωση και σύζευξη της προκύπτουσας αμίνης. Άλλες μέθοδοι που έχουν αναφερθεί είναι η ποσοτική φασματοσκοπία μαγνητικού συντονισμού καθώς και η ποσοτική NMR (Πυρηνικός μαγνητικός συντονισμός). Όλες αυτές οι μέθοδοι είναι λιγότερο ευαίσθητες, απαιτούν περίπλοκες διαδικασίες και έχουν υψηλό κόστος[10][11].

## 1.2 Γενικά για την Ηλεκτροχημεία

Ο όρος Ηλεκτροαναλυτική Χημεία περιλαμβάνει μια μεγάλη γκάμα ποιοτικών και ποσοτικών αναλυτικών τεχνικών, οι οποίες έχουν ως κοινό γνώρισμά τους ότι βασίζονται στις ηλεκτρικές ιδιότητες του διαλύματος ή του αναλύτη όταν αυτά με τη σειρά τους είναι τμήμα ενός ηλεκτροχημικού στοιχείου. Αρχή λειτουργίας τους είναι η μέτρηση του ρεύματος το οποίο διαρρέει το ηλεκτροχημικό στοιχείο όταν εφαρμόζεται δυναμικό καθορισμένης τιμής είτε η μέτρηση του δυναμικού ενός στοιχείου το οποίο διαρρέεται από ρεύμα καθορισμένης τιμής[12].

Ήταν το μακρινό 1801, όταν ο Άγγλος William Cruikshank[13], πραγματοποιώντας ηλεκτρόλυση υδατικών διαλυμάτων χαλκού πρότεινε τη δυνατότητα χρήσης ρεύματος ως παράμετρο για την ανάλυση μετάλλων[14]. Το 1830, ο Γάλλος Antoine César Becquerel[15] πρότεινε τη χρήση ανοδικής εναπόθεσης για την ανίχνευση των βαρέων μετάλλων μόλυβδου και μαγγανίου[16]. Σημαντικό, για την ευρύτερη ανάπτυξη αυτών των μεθόδων, αποτέλεσε και το έργο του Τσέχου χημικού Jaroslav Heyrovsky ο οποίος βραβεύθηκε με το Νόμπελ Χημείας το 1959 [16][17]. Αξίζουν επίσης να αναφερθούν για την συνεισφορά τους ο νόμος του Faraday, ο Sorensen με την κλίμακα pH καθώς επίσης και οι Haber και Klemensiewicz με τα υαλώδη ηλεκτρόδια, όπως και ο Ralph Adams με την εισαγωγή του ηλεκτροδίου πάστας άνθρακα [14][17].

Μερικά από τα πλεονεκτήματα των τεχνικών αυτών εν συγκρίσει με τις άλλες αναλυτικές τεχνικές είναι το χαμηλό τους κόστος, η εξειδίκευση που παρουσιάζουν ως προς τη συγκεκριμένη οξειδωτική κατάσταση ενός στοιχείου, τα χαμηλά όρια ανίχνευσης και η δυνατότητα αναλύσεων στο πεδίο (on field)[12].

Βολταμετρία είναι η μέθοδος που αναφέρεται στην μέτρηση του ρεύματος που προκύπτει από την εφαρμογή ενός δυναμικού. Εν αντιθέσει με τις ποτενσιομετρικές μεθόδους οι οποίες χρησιμοποιούν μόνο δύο ηλεκτρόδια, η βολταμετρία χρησιμοποιεί τρία (εργασίας, βοηθητικό και αναφοράς). Χρησιμοποιείται ευρέως από ανόργανους χημικούς, φυσικοχημικούς και βιοχημικούς.

Η βασική διαδικασία μιας ηλεκτροχημικής αντίδρασης είναι η μεταφορά ηλεκτρονίων μεταξύ της επιφάνειας του ηλεκτροδίου και των μορίων στην περιοχή διεπιφάνειας. Αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε σε διάλυμα είτε ακινητοποιημένα στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Η διαδικασία αυτή χαρακτηρίζεται από μια κινητική. Η κινητική αυτή επηρεάζεται από το υλικό της επιφάνειας του ηλεκτροδίου όπως και την τραχύτητα αυτής[18][19]. Γι' αυτόν το λόγο, εκτός από τα συμβατικά ηλεκτρόδια, τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί στην περιοχή της ηλεκτροχημείας και τα χημικά τροποποιημένα ηλεκτρόδια (CME – Chemically Modified Electrodes). Τα ηλεκτρόδια αυτά, τα οποία προκύπτουν από τη χημική τροποποίηση διάφορων αγώγιμων υποστρωμάτων[21], με τον σχεδιασμό τους βρίσκουν χρήση σε ένα ευρύ φάσμα ηλεκτροχημικών διεργασιών. Παραδείγματος χάριν στις κυψέλες καυσίμου (fuel cells) και στην ηλεκτρολυτική επιμετάλλωση (electroplating). Με την πάροδο των χρόνων αυξάνεται ολοένα και περισσότερο το ενδιαφέρον για τα τροποποιημένα ηλεκτρόδια, κυρίως στο πεδίο της βιολογικής και χημικής ανίχνευσης, καθώς παρέχουν τη δυνατότητα μιας επιφάνειας που παράγει επαναλήψιμα αποτελέσματα [20].

### 1.2.1 Τεχνικές Βολταμετρίας και Θεωρητικές Προσεγγίσεις

Υπάρχει μια ποικιλία όσων αφορά τις διάφορες τεχνικές βολταμετρίας αφού αποτελούν από τις πιο κοινές ηλεκτροχημικές μεθόδους. Ο τρόπος διαχωρισμού τους εμπίπτει στην λειτουργία που εφαρμόζεται στο ηλεκτρόδιο εργασίας για την οδήγηση της αντίδρασης καθώς και από το υλικό που χρησιμοποιείται σε αυτό[22].

#### 1.2.1.1 Αναδιαλυτική Βολταμετρία (Stripping Voltammetry -ASV)

Η αναδιαλυτική βολταμετρία είναι μια βολταμετρική τεχνική στην οποία χρησιμοποιούνται δύο στάδια: Το πρώτο στάδιο έχει να κάνει με την εναπόθεση της αναλυόμενης ουσίας από το διάλυμα επάνω στο ηλεκτρόδιο εργασίας. Στο στάδιο της εναπόθεσης, δημιουργείται στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας συγκέντρωση του αναλύτη πολύ μεγαλύτερη από τη συγκέντρωση του στην κύρια μάζα του διαλύματος, το ηλεκτρόδιο δηλαδή «εμπλουτίζεται» με την αναλυόμενη ουσία. Ως αποτέλεσμα του σταδίου εναπόθεσης, οι αναδιαλυτικές τεχνικές παράγουν χαμηλότερα όρια ανίχνευσης από όλες τις βολταμετρικές τεχνικές. Γενικά υπάρχουν δύο μέθοδοι εναπόθεσης, με ηλεκτρόλυση και με προσρόφηση. Η ηλεκτρόλυση συνοδεύεται από οξειδωση (ή αναγωγή) της υπό προσδιορισμό ουσίας στο ηλεκτρόδιο, ενώ στην εναπόθεση με προσρόφηση η υπό προσδιορισμό ουσία συμπλοκοποιείται με συμπλεκτικά αντιδραστήρια που προστίθενται στο διάλυμα. Στο δεύτερο στάδιο έχουμε τη βολταμετρική σάρωση, δηλαδή το σημείο κατά το οποίο επαναδιαλύεται το απόθεμα σαρώνοντας το δυναμικό είτε προς την καθοδική είτε προς την ανοδική κατεύθυνση οπότε έχουμε την καθοδική και την ανοδική αναδιαλυτική βολταμετρία αντίστοιχα. Η τεχνική της αναδιαλυτικής βολταμετρίας αναπτύχθηκε λόγω της ανάγκης ηλεκτροχημικού προσδιορισμού ουσιών με περιβαλλοντολογικό, κλινικό και βιομηχανικό ενδιαφέρον σε πολύ μικρές ποσότητες.

Τα χαρακτηριστικά που κάνουν την αναδιαλυτική βολταμετρία κατάλληλη μέθοδο για τέτοιες εφαρμογές είναι η μεγάλη ευαισθησία και τα χαμηλά όρια ανίχνευσης, η δυνατότητα πολυστοιχειακής ανάλυσης, ο φθηνός εξοπλισμός και η ταχύτητα ανάλυσης[23].

#### 1.2.1.2 Διαφορική Παλμική Βολταμετρία (DPV)

Χρησιμοποιείται για ποσοτική ανάλυση ή για τη μελέτη του μηχανισμού, της κινητικής και της θερμοδυναμικής μιας χημικής αντίδρασης. Προτάθηκε ως τεχνική από τους Barker και Gardner[24]. Χαρακτηρίζεται από την μεγάλη της ευαισθησία χάρη στον μικρό χρόνο παλμού και στη διαφορική του φύση. Παρέχει τη δυνατότητα ανάλυσης σε ppb (parts per billion-μέρη ανά δισεκατομμύριο) αλλά σε λειτουργία απογύμνωσης μπορεί να φτάσει σε ppt (parts per trillion-μέρη ανά τρισεκατομμύριο). Το ρεύμα μετράτε σε δύο σημεία από κάθε παλμό, λίγο πριν την εφαρμογή του παλμού και στο τέλος του παλμού. Η διαφορά μεταξύ των μετρήσεων του ρεύματος σε αυτά τα σημεία για κάθε παλμό προσδιορίζεται και καταγράφεται σε σχέση με το δυναμικό αναφοράς. Στις περιοχές γύρω από το δυναμικό οξειδοαναγωγής, η διαφορά στο ρεύμα φθάνει το μέγιστο και μειώνεται στο μηδέν καθώς το ρεύμα γίνεται ελεγχόμενο από τη διάχυση. Η απόκριση του ρεύματος είναι συνεπώς μια συμμετρική κορυφή[25].

### 1.2.1.3 Βολταμετρία Τετραγωνικού Παλμού (Square Wave Voltammetry – SQV)

Μεταξύ των διαφόρων τεχνικών βολταμετρίας, εξαιρετική ευελιξία βρίσκεται στη μέθοδο που ονομάζεται βολταμετρία τετραγωνικού παλμού, η οποία επινοήθηκε από τους Ramaley και Krause, και αναπτύχθηκε εκτενώς από τον Osteryoungs και τους συναδέλφους του. Είναι μια διαφορετική τεχνική στην οποία η πιθανή κυματομορφή, που αποτελείται από ένα συμμετρικό τετράγωνο κύμα σταθερού ύψους, υπερτίθεται σε ένα δυναμικό βάσης. Είναι η γραφική παράσταση της διαφοράς στο ρεύμα που μετράτε στον εμπρόσθιο ( $I_f$ ) και αντίστροφο κύκλο ( $I_r$ ), έναντι του μέσου δυναμικού κάθε κύκλου κυματομορφής. Στην τεχνική αυτή, η κορυφή του δυναμικού εμφανίζεται στο  $E_{1/2}$  του ζεύγους οξειδοαναγωγής επειδή η τρέχουσα συνάρτηση είναι συμμετρική γύρω από το δυναμικό. Πλεονεκτούν χάρη στην πολύ μεγάλη ευαισθησία τους καθώς επίσης και στον διαχωρισμό των κορυφών και την απόρριψη των ρευμάτων υποβάθρου[26].

### 1.2.1.4 Κυκλική Βολταμετρία Ταχείας Σάρωσης (Fast Scan Cyclic Voltammetry – FSCV)

Είναι μια τεχνική γραμμικής σάρωσης που βρίσκει εφαρμογές στα βιοϊατρικά πεδία όπως η νευροφυσιολογία καθώς και στο πεδίο της ψυχοαναλυτικής χημείας. Πραγματοποιείται με επαναλαμβανόμενες σαρώσεις ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Το διάγραμμα που προκύπτει παρέχει επιπλέον πληροφορίες αναφορικά με την αναλυόμενη ουσία. Πλεονεκτεί στην ταχύτητα καθώς οι σαρώσεις γίνονται κάθε 100ms, ωστόσο αυτό οδηγεί στο μειονέκτημα ότι μειώνει το λόγο του σήματος ως προς το θόρυβο[27].

### 1.2.1.5 Βολταμετρία Γραμμικής Σάρωσης (Linear Sweep Voltammetry – LSV)

Η βολταμετρία γραμμικής σάρωσης περιλαμβάνει την εφαρμογή μίας γραμμικής σάρωσης του δυναμικού στο ηλεκτρόδιο εργασίας (ηλεκτρόδιο υπό μελέτη) ενώ παρακολουθείται ταυτόχρονα το ρεύμα που ρέει στο κύκλωμα. Μια γεννήτρια σήματος παράγει μια σάρωση τάσης από την  $E_i$  στην  $E_f$  και ένας ποτενσιοστάτης εφαρμόζει αυτό το πιθανό κύμα στο υπό μελέτη ηλεκτρόδιο. Η κατεύθυνση της σάρωσης μπορεί να είναι 11 θετική ή και αρνητική. Δηλαδή, ο ρυθμός σάρωσης μπορεί να έχει οποιοδήποτε σταθερή τιμή:

$$\text{Ταχύτητα σάρωσης} = dE / dt$$

Αυτή η μέθοδος ανάλυσης χρησιμοποιείται συνήθως στην πολαρογραφία, όπου κάτω από καλά προσδιορισμένες συνθήκες, το ρεύμα που προέκυψε από μια διαδικασία οξειδοαναγωγής στο διάλυμα κατά τη διάρκεια της γραμμικής σάρωσης (LSV) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον ποσοτικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης των ηλεκτροενεργών συστατικών στο διάλυμα[27].

## 1.2.2 Κυκλική Βολταμετρία (Cyclic Voltammetry – CV)

Αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 1938 και περιεγράφηκε θεωρητικά από τον Randles[28]. Η κυκλική (ή τριγωνική) βολταμετρία είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική όταν μελετάται για πρώτη φορά ένα ηλεκτροχημικό σύστημα. Η ικανότητά της να παρέχει σημαντικές πληροφορίες σε μικρό χρονικό

διάστημα αναφορικά με τη θερμοδυναμική των οξειδοαναγωγικών διεργασιών, την κινητική των ετερογενών αντιδράσεων μεταφοράς ηλεκτρονίων και τις συζευγμένες χημικές αντιδράσεις ή διεργασίες προσρόφησης[29].

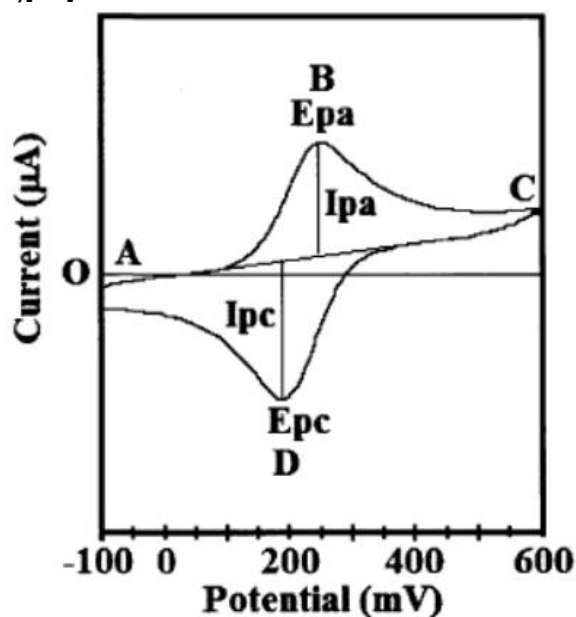
Θεωρητικά, οποιοδήποτε άτομο ή μόριο μπορεί να οξειδωθεί ή να αναχθεί εάν υπάρχει αρκετή ενέργεια διαθέσιμη. Ωστόσο, το φάσμα των ενεργειών που μπορούν να εφαρμοστούν περιορίζεται από τις πειραματικές συνθήκες. Επομένως, μπορούμε μόνο να λάβουμε υπόψη τα μόρια που είναι ηλεκτροχημικά ενεργά. Τα μόρια που έχουν μονά ζεύγη ηλεκτρονίων ή πολλαπλούς δεσμούς είναι ηλεκτροχημικά ενεργά. Ως εκ τούτου, υπάρχει ένα πολύ ευρύ φάσμα από ηλεκτροχημικά δραστικές οργανικές ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων σημαντικών κατηγοριών μορίων όπως φαρμακευτικά προϊόντα, βιοχημικά προϊόντα, ζιζανιοκτόνα, παρασιτοκτόνα, πρόσθετα τροφίμων, βαφές και εκρηκτικά.

Στην κυκλική βολταμετρία, ένα στοιχείο που υφίσταται μια αναγωγή κατά τη διάρκεια μιας καθοδικής πόλωσης του ηλεκτροδίου εργασίας σε ένα διάλυμα που δεν έχει αναδευτεί, επαναοξειδώνεται εφαρμόζοντας αντίστροφη (ανοδική) σάρωση. Η συσχέτιση των καθοδικών και ανοδικών ρευμάτων κορυφής και οι διαφορές μεταξύ των καθοδικών και ανοδικών κορυφών δυναμικού με τις τιμές σάρωσης τάσης έχουν μελετηθεί μαθηματικά για διαφορετικές ηλεκτροχημικές αντιδράσεις. Τα ποσοστά σάρωσης στην κυκλική βολταμετρία μπορούν να είναι περίπου ίδια όπως και στην βολταμετρία μίας σάρωσης.

Έχει αποδειχθεί πολύ δημοφιλής σαν τεχνική για ηλεκτροχημικές μελέτες νέων συστημάτων όπως και για θεμελιώδεις και διαγνωστικές μελέτες. Αποτελεί ένα ευαίσθητο εργαλείο για την απόκτηση πληροφοριών αναφορικά με τις περίπλοκες αντιδράσεις των ηλεκτροδίων[30].

Οι σημαντικές παράμετροι ενός διαγράμματος κυκλικής βολταμετρίας είναι τα μεγέθη της κορυφής του ανοδικού ρεύματος ( $i_{pa}$ ), της κορυφής του καθοδικού ρεύματος ( $i_{pc}$ ), της κορυφής του δυναμικού της ανόδου ( $E_{pa}$ ) και της κορυφής του δυναμικού της καθόδου ( $E_{pc}$ ). Ένα τυπικό γράφημα του ρεύματος συναρτήσει της απόκρισης δυναμικού για ένα πείραμα κυκλικής βολταμετρίας παρουσιάζεται παρακάτω (**Σχήμα 1.3**). Στην αρχή του πειράματος, το κύριο μέρος του διαλύματος περιέχει μόνο την αναγμένη μορφή του ζευγαριού οξειδοαναγωγής (R) έτσι ώστε στα δυναμικά χαμηλότερα από το δυναμικό οξειδοαναγωγής, δηλ. το αρχικό δυναμικό, δεν υπάρχει καθαρή μετατροπή του R σε O, την οξειδωμένη μορφή (σημείο A). Όσο πλησιάζουμε το δυναμικό οξειδοαναγωγής, υπάρχει ένα καθαρό ανοδικό ρεύμα που αυξάνεται εκθετικά με το δυναμικό. Καθώς το R μετατρέπεται σε O, οι κλίσεις της συγκέντρωσης ρυθμίζονται τόσο για το R όσο και για το O, και άρα έχουμε διάχυση κάτω από αυτές τις κλίσεις συγκέντρωσης. Στην ανοδική κορυφή (σημείο B), το δυναμικό οξειδοαναγωγής είναι επαρκώς θετικό ώστε κάθε R που φθάνει στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου είναι στιγμιαία οξειδωμένο στο O. Επομένως, το ρεύμα εξαρτάται τώρα από το ρυθμό μάζας που μεταφέρεται στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου και έτσι η εξάρτηση χρόνου είναι  $qt$  με αποτέλεσμα μία ασύμμετρη μορφή κορυφής. Με την αντιστροφή της σάρωσης (σημείο C), το ρεύμα συνεχίζει μειώνεται με  $qt$  έως ότου το δυναμικό πλησιάσει το δυναμικό οξειδοαναγωγής. Σε αυτό το σημείο, συμβαίνει μια καθαρή αναγωγή του O έως το R, η οποία προκαλεί ένα καθοδικό ρεύμα το οποίο τελικά παράγει μια κορυφή απόκρισης (σημείο D). Εάν ένα σύστημα οξειδοαναγωγής παραμένει σε ισορροπία καθ' όλη τη σάρωση του δυναμικού, η ηλεκτροχημική αντίδραση λέγεται ότι είναι αναστρέψιμη. Με άλλα

λόγια, η ισορροπία απαιτεί να διατηρηθούν οι επιφανειακές συγκεντρώσεις του O και του R σε τιμές που απαιτούνται από την εξίσωση Nernst. Υπό αυτές τις συνθήκες, οι ακόλουθες παράμετροι χαρακτηρίζουν το κυκλικό βολταμογράφημα της διαδικασίας οξειδοαναγωγής. Ο διαχωρισμός των κορυφών δυναμικού ( $E_{pa} - E_{pc}$ ) ισούται με  $57/n$  mV για όλους τους ρυθμούς σάρωσης, όπου  $n$  είναι ο αριθμός των ισοδυνάμων ηλεκτρονίων που μεταφέρονται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας οξειδοαναγωγής. Η κατάσταση είναι πολύ διαφορετική όταν η αντίδραση οξειδοαναγωγής είναι μη αναστρέψιμη, όταν οι χημικές αντιδράσεις είναι συζευγμένες στη διαδικασία οξειδοαναγωγής ή όταν λαμβάνει χώρα προσρόφηση είτε αντιδραστηρίων είτε προϊόντων. Στην πραγματικότητα, είναι αυτές οι "μη ιδανικές" καταστάσεις οι οποίες συνήθως είναι μεγαλύτερου χημικού ενδιαφέροντος και για τις οποίες οι διαγνωστικές ιδιότητες της κυκλικής βολταμετρίας είναι ιδιαίτερα κατάλληλες[31].

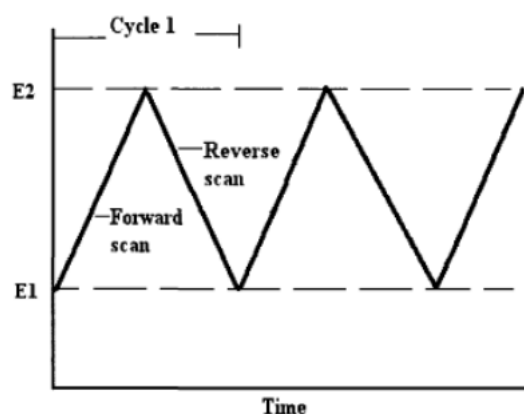


**Σχήμα 1.3:** Τυπικό γράφημα κυκλικής βολταμετρίας του ρεύματος με το δυναμικό[31]

#### 1.2.2.1 Αρχή Λειτουργίας Κυκλικής Βολταμετρίας

Η κυκλική βολταμετρία είναι μια τεχνική σάρωσης δυναμικού. Περιλαμβάνει τη σάρωση του δυναμικού του ηλεκτροδίου μεταξύ των ορίων  $E_1$  και  $E_2$  με ένα γνωστό ρυθμό σάρωσης. Αφού φτάσουμε το όριο  $E_2$ , η σάρωση αντιστρέφεται με κατεύθυνση το  $E_1$  για να επιτευχθεί μια κυκλική σάρωση. Η σάρωση κυκλικής βολταμετρίας είναι η γραφική παράσταση απεικόνιση του ρεύματος συναρτήσει του δυναμικού και υποδεικνύει το δυναμικό στο οποίο συμβαίνει η διαδικασία οξειδοαναγωγής. Ο άξονας του δυναμικού είναι επίσης ένας χρονικός άξονας που σχετίζεται με τον ρυθμό σάρωσης. Το σήμα διέγερσης για την κυκλική βολταμετρία είναι μια γραμμική σάρωση δυναμικού με τριγωνική κυματομορφή. Αυτό το τριγωνικό σήμα διέγερσης σαρώνει το δυναμικό ενός ηλεκτροδίου μεταξύ δύο τιμών, που ορισμένες φορές ονομάζεται δυναμικό μεταγωγής. Το ρεύμα που μετρείται κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας συχνά κανονικοποιείται στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου και αναφέρεται ως πυκνότητα ρεύματος. Η πυκνότητα ρεύματος τότε απεικονίζεται σε γράφημα συναρτήσει του εφαρμοζόμενου δυναμικού και το

αποτέλεσμα αναφέρεται ως κυκλικό βολταμογράφημα. Μία κορυφή στο μετρούμενο ρεύμα παρατηρείται σε ένα δυναμικό που είναι χαρακτηριστικό για οποιοδήποτε αντίδραση λαμβάνει χώρα στο ηλεκτρόδιο. Το πλάτος και το ύψος της κορυφής για μια συγκεκριμένη διαδικασία μπορεί να εξαρτάται από το ρυθμό σάρωσης, τη συγκέντρωση του ηλεκτρολύτη και το υλικό από το οποίο είναι φτιαγμένο το ηλεκτρόδιο. Για να διεξαχθεί μια διαδικασία οξειδωσης, εφαρμόζεται ένα θετικό δυναμικό και το ηλεκτροενεργό στοιχείο χάνει ένα ηλεκτρόνιο στο ηλεκτρόδιο που δημιουργεί μια ανοδική κορυφή ρεύματος ( $i_{pa}$ ), το οποίο συνήθως δίνει κορυφή οξειδωσης σε ένα δεδομένο δυναμικό ( $E_{pa}$ ). Καθοδικά ρεύματα ( $i_{pc}$ ) παρατηρούνται όταν το δυναμικό εφαρμόζεται στην αρνητική κατεύθυνση και οδηγεί σε μια διαδικασία αναγωγής, ουσιαστικά δίνοντας μια κορυφή αναγωγής σε ένα δεδομένο δυναμικό ( $E_{pc}$ ). Η κυκλική βολταμετρία συνήθως ξεκινά από ένα δυναμικό όπου τα είδη δεν είναι ηλεκτροενεργά[32].



**Σχήμα 1.4:** Μεταβολή του εφαρμοζόμενου δυναμικού ως συνάρτηση του χρόνου σε ένα πείραμα κυκλικής βολταμετρίας[32]

#### 1.2.2.2 Εφαρμογές της Κυκλικής Βολταμετρίας

Οι εφαρμογές των μεθόδων της κυκλικής βολταμετρίας ποικίλουν. Αναπτύχθηκαν με στόχο την ποιοτική και την ποσοτική ανάλυση. Για παράδειγμα, η χρήση τους για την αξιολόγηση των θερμοδυναμικών και των κινητικών παραμέτρων (πχ εντροπία, ελεύθερη ενέργεια Gibbs, αριθμός ανταλλαγής ηλεκτρονίων)[33].

Εκτεταμένη έρευνα σημειώνεται και στον συνδυασμό της CV με άλλες αναλυτικές τεχνικές μεγάλης εμβέλειας όπως η υγρή χρωματογραφία. Τα όργανα που χρησιμοποιούν οι διαβητικοί είναι ηλεκτρόδια επικαλυμμένα με ειδικά πολυμερή. Οι πρόσφατες εξελίξεις στις τεχνικές οργάνων υπόσχονται πρόσβαση σε πληροφορίες μοριακού επιπέδου σχετικά με τα ηλεκτροχημικά συστήματα. Εξέλιξη που ανοίγει σημαντικές νέες ευκαιρίες στη θεμελιώδη και εφαρμοσμένη επιστήμη.

Ο πρωταρχικός στόχος της ανάπτυξης αυτών των τεχνικών CV ήταν αναλυτικός, τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά. Καθώς το ρεύμα κορυφής είναι ανάλογο της συγκέντρωσης, αυτή η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση ενός αριθμού ανόργανων, οργανικών και οργανομεταλλικών ενώσεων.

Οι βιομηχανικές διεργασίες διάβρωσης παρακολουθούνται χρησιμοποιώντας ηλεκτρόδια περιστρεφόμενου δίσκου. Τα εκπληκτικά χαμηλά όρια ανίχνευσης χρησιμοποιούνται για την παρακολούθηση των επιπέδων μόλυβδου σε ροή αίματος.



Ηλεκτρόδια επικαλυμμένα με ειδικά πολυμερή βρίσκουν εφαρμογή ως ανιχνευτές γλυκόζης για διαβητικούς. Επιστρώσεις για αυτοκίνητα που δεν θα αλλάξουν σε εμφάνιση μετά από χρόνια χρήσης μπορούν να ανακαλυφθούν, μαζί με συστήματα απομάκρυνσης για ηλεκτρικά οχήματα και μεθόδους για την επιλεκτική απομάκρυνση των τοξικών υλικών[34].

### 1.2.3 Ηλεκτρόδια

Γενικά, ηλεκτρόδιο ονομάζεται οποιοσδήποτε ηλεκτρικός αγωγός χρησιμοποιείται έτσι ώστε να δημιουργεί ηλεκτρικό πεδίο ή ηλεκτρικό ρεύμα. Στην ηλεκτροχημεία, ηλεκτρόδιο ονομάζεται ο μεταλλικός αγωγός που είναι εμβαπτισμένος μέσα στο ηλεκτρολυτικό διάλυμα. Με την ανάπτυξη της ηλεκτροχημείας προέκυψε η ανάγκη για νέα ηλεκτρόδια και διατάξεις ηλεκτροδίων. Η συνηθέστερη διάταξη που επικρατεί σήμερα στα πλείστα αναλυτικά όργανα είναι αυτή που περιλαμβάνει το ηλεκτροχημικό κελί με τρία διαφορετικά ηλεκτρόδια τα οποία είναι:

- Ηλεκτρόδιο Εργασίας (Working Electrode – WE)
- Ηλεκτρόδιο Αναφοράς (Reference Electrode -RE)
- Βοηθητικό Ηλεκτρόδιο (Counter Electrode – CE)

#### 1.2.3.1 Ηλεκτρόδια Εργασίας

Το ηλεκτρόδιο εργασίας εκτελεί την ηλεκτροχημική ανάλυση που μας ενδιαφέρει. Έχουν διάφορες μορφές και σχήματα. Τα πλείστα έχουν μεγέθη χιλιοστομέτρων όμως υπάρχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον και για ηλεκτρόδια μικρότερων διαστάσεων. Ανεξαρτήτου μεγέθους, το ιδανικό ηλεκτρόδιο έχει μία πολύ καθαρή επιφάνεια με καλά καθορισμένη γεωμετρία που βρίσκεται σε άμεση επαφή με ένα ηλεκτροχημικό διάλυμα. Ως επί το πλείστον είναι μικροί επίπεδοι δίσκοι ενός αγώγιμου υλικού εφαρμοσμένη με πίεση σε ένα κύλινδρο αδρανούς υλικού. Για το αγωγή υλικό συχνά χρησιμοποιούνται μέταλλα όπως υδράργυρος(πλέον αποφεύγεται λόγω τοξικότητας), χρυσός ή λευκόχρυσος. Επίσης υπάρχουν και κάποια υπό μορφή άνθρακα, για παράδειγμα γραφιτική πάστα, υαλώδης άνθρακας ή διαμάντι. Αυτά είναι γνωστά ως στερεά ηλεκτρόδια. Μια ειδική κατηγορία που αναπτύσσετε ταχύτητα είναι και τα τροποποιημένα ηλεκτρόδια. Το χημικά αδρανές κάλυμμα που περιβάλλει το δίσκο είναι φτιαγμένο από Teflon, γυαλί ή Kel-F. Το γεγονός ότι η όποια αντίδραση συμβαίνει σε αυτή τη μικρή επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας προκύπτει η ανάγκη για τον καλό της καθαρισμό πριν από κάθε πείραμα. Για τον καθαρισμό αυτό υπάρχουν διάφορες τεχνικές ανάλογα με τον τύπο του ηλεκτροδίου. Πιο σύνηθες τεχνικές είναι ο μηχανικός καθαρισμός με σκόνη αλούμινας και στη συνέχεια έκπλυση με υπερήχους σε υπερκάθαρο νερό ή η πραγματοποίηση πολλών σαρώσεων CV σε ένα απλό ηλεκτρολύτη. Παρά τις δυσκολίες που προκύπτουν με τον έλεγχο της επιφάνειάς τους όσο αφορά για σκοπούς επαναληψιμότητας, αντ' αυτού είναι μηχανικά στερεά και έχουν μεγαλύτερο εύρος δυναμικού σάρωσης συγκριτικά με αυτά του υδραργύρου. Επίσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο σε ακίνητα διαλύματα όσο και σε ρέοντα[35].

#### 1.2.3.1.1 Ηλεκτρόδιο Υδραργύρου

Αυτό είναι το πιο δημοφιλές ηλεκτρόδιο, το οποίο χρησιμοποιεί τον υγρό υδράργυρο ως ηλεκτρόδιο εργασίας. Στην πιο κοινή περίπτωση, το ηλεκτρόδιο υδραργύρου που πέφτει, ο υδράργυρος αφήνεται να διοχετευθεί αργά μέσω ενός κατακόρυφου τριχοειδούς σωλήνα βυθισμένου στο ηλεκτροχημικό διάλυμα. Καθώς ο υδράργυρος εξέρχεται αργά από τον τριχοειδή σωλήνα, σχηματίζει μία μικρή σταγόνα με σχεδόν σφαιρικό σχήμα που έρχεται σε επαφή με το διάλυμα. Οι ηλεκτροδραστικοί αναλυτές στο διάλυμα υφίστανται αντιδράσεις οξειδωσης ή αναγωγής στην επιφάνεια της σταγόνας.

Αυτή η διαμόρφωση των ηλεκτροδίων έχει αρκετά πλεονεκτήματα, όπως ότι χρησιμοποιείται από πολύ παλιά αλλά και είναι μια επιφάνεια ηλεκτροδίων που μπορεί εύκολα να αναπαραχθεί. Πράγματι, στην περίπτωση που η επιφάνεια της σταγόνας υδραργύρου έχει μαζέψει ακαθαρσίες, η σταγόνα αφήνεται απλώς να πέσει στο δοκιμαστικό διάλυμα και αφήνεται να σχηματιστεί μια νέα σταγόνα στην έξοδο του τριχοειδούς σωλήνα. Σε υδατικά διαλύματα, το ηλεκτρόδιο υδραργύρου μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε περισσότερο αρνητικά δυναμικά απ' ό,τι άλλα μέταλλα χωρίς παρεμβολή από την αναγωγή του ιόντος υδρογόνου. Τέλος, το ηλεκτρόδιο υδραργύρου παίζει σημαντικό ρόλο στην αναδιαλυτική βολταμετρία - μια τεχνική η οποία βασίζεται στην προσυμπύκνωση ενός ή περισσοτέρων αναλυτών σε ηλεκτρόδιο υδραργύρου και στη συνέχεια στη χωριστή ηλεκτρόλυση κάθε επιμέρους αναλυόμενης ουσίας εκτός του ηλεκτροδίου[35].

#### 1.2.3.1.2 Ηλεκτρόδιο Χρυσού

Ο χρυσός αποτελεί ένα από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα μεταλλικά στερεά ηλεκτρόδια για ηλεκτροχημικούς και ηλεκτροαναλυτικούς σκοπούς. Αυτό οφείλεται στην υψηλή του καθαρότητα. Μειονεκτεί όμως ότι δεν είναι ηλεκτροχημικά αδρανές αφού μπορεί να υποστεί οξείδωση σε μικρά θετικά δυναμικά. Τα τελευταία χρόνια, τα ηλεκτρόδια χρυσού λαμβάνουν ιδιαίτερη προτίμηση εξαιτίας της δυνατότητάς τους στις εφαρμογές αναδιαλυτικής βολταμετρίας. Είναι καλύτερα για αναγωγή ιχνών. Δεν πρέπει όμως να χρησιμοποιούνται για αναγωγή παρουσία ηλεκτρολυτών που περιέχουν χλώριο για την αποφυγή δημιουργίας περίπλοκων χλωριδίων με το μέταλλο[36].

#### 1.2.3.1.3 Ηλεκτρόδιο Πλατίνας

Παρά το κόστος που σχετίζεται με αυτό το πολύτιμο μέταλλο, η πλατίνα είναι μια από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα υλικά για την κατασκευή ηλεκτροδίων εργασίας. Η πλατίνα έχει το πλεονέκτημα ότι είναι ένα εύκολα επεξεργάσιμο μέταλλο που είναι ηλεκτροχημικά αδρανές. Σε υδατικό διάλυμα, το ηλεκτρόδιο πλατίνας είναι μια καλή επιλογή κατά την εργασία με θετικά δυναμικά, αλλά σε αρνητικά δυναμικά, οι παρεμβολές από την αναγωγή των ιόντων υδρογόνου είναι ένα πρόβλημα. Σε συστήματα αυστηρά άνυδρων οργανικών διαλυτών, η πλατίνα είναι η καλύτερη και πιο δημοφιλής επιλογή για το υλικό του ηλεκτροδίου εργασίας λόγω του εύρους του δυναμικού τόσο στις θετικές όσο και στις αρνητικές τιμές.

Ηλεκτρόδια πλατίνας μεγάλης διαμέτρου κατασκευάζονται γενικά με συγκόλληση ενός παχύ δίσκου πλατίνας στο τέλος μιας ράβδου ορείχαλκου, κατεργασία των δίσκων πλατίνας και ορείχαλκου έτσι ώστε να είναι ομόκεντροι και στη συνέχεια τοποθέτηση Teflon γύρω από τους δίσκους. Η επιφάνεια του

λευκόχρυσου στη συνέχεια υπόκειται σε ένα φινίρισμα καθρέφτη χρησιμοποιώντας μια πάστα γυαλίσματος που περιέχει σωματίδια αλούμινας. Όπως συμβαίνει με όλα τα στερεά μεταλλικά ηλεκτρόδια, η επιφάνεια πρέπει να λειανείται περιστασιακά για την απομάκρυνση επιφανειακών μολυσματικών ουσιών που συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων.

Τα ηλεκτρόδια δίσκου πλατίνας μικρότερης διαμέτρου και τα μικροηλεκτρόδια πλατίνας συνήθως κατασκευάζονται χρησιμοποιώντας ένα περίβλημα καλωδίου πλατίνας, μικρού μήκους, σε μαλακό γυαλί. Η διάμετρος του προκύπτοντος δίσκου πλατίνας είναι ίδια με τη διάμετρο του χρησιμοποιούμενου σύρματος. Λόγω της σκληρότητας του γυάλινου περιβλήματος, αυτά τα ηλεκτρόδια συνήθως γυαλίζονται χρησιμοποιώντας πάστα γυαλίσματος που περιέχει σωματίδια διαμαντιού.

Από τα στερεά μεταλλικά ηλεκτρόδια, είναι σίγουρα το πιο δημοφιλές λόγω της δυνατότητας εφαρμογής σε ένα ευρύ φάσμα ηλεκτροχημικών συστημάτων, ανθεκτικό και μακράς διάρκειας. Το πρωταρχικό μειονέκτημα του είναι ότι έχει περιορισμένη χρήση σε αρνητικά δυναμικά σε υδατικά διαλύματα[37].

#### 1.2.3.1.4 Ηλεκτρόδια άνθρακα

Όπως προαναφέρθηκε, για την κατασκευή των ηλεκτροδίων αυτών χρησιμοποιούνται διάφορες μορφές άνθρακα. Ο Sir Humphrey Davy με την εφαρμογή των ηλεκτροδίων γραφίτη για την ηλεκτροχημική παραγωγή αλκαλίων άνοιξε το δρόμο για τη χρήση υλικών άνθρακα σε αναλυτική και βιομηχανική ηλεκτροχημεία αντίστοιχα. Μάλιστα, από τις αρχές της δεκαετίας του 1990 ηλεκτρόδια διαμαντιού εμπλουτισμένα με άνθρακα, φουλερένια, υαλώδους άνθρακα και πάστας άνθρακα έχουν αποδείξει ότι προσφέρουν ξεχωριστές ιδιότητες συγκριτικά με τα ηλεκτρόδια γραφίτη.

Η ποικιλομορφία που παρατηρείται έχει να κάνει με το γεγονός ότι ο άνθρακας ως υλικό χαρακτηρίζεται από τον πολυμορφισμό του, τη χημική σταθερότητα του και των ισχυρών δεσμών άνθρακα-άνθρακα που αναπτύσσονται εσωτερικά αλλά και μεταξύ του άνθρακα και της επιφάνειας. Συνήθως κατασκευάζονται από υαλώδη άνθρακα ή πυρολυτικό γραφίτη, τα οποία είναι αρκετά ακριβά υλικά και είναι πιο δύσκολα στην επεξεργασία απ' ό,τι η πλατίνα ή ο χρυσός. Τα ηλεκτρόδια αυτά χρησιμοποιούνται σε ένα αρκετά ευρύ πεδίο δυναμικού τόσο στις θετικές όσο και στις αρνητικές τιμές. Βασικό πλεονέκτημα έναντι των ηλεκτροδίων πλατίνας και χρυσού είναι η ικανότητα που έχουν να δουλεύουν σε πιο αρνητικά δυναμικά σε υδατικά ή μη διαλύματα. Βρίσκουν εφαρμογή στην παραγωγή μετάλλων, στα στηρίγματα καταλυτών και στην αποθήκευση ενέργειας (μπαταρίες, πυκνωτές)[38].

#### 1.2.3.1.5 Ηλεκτρόδιο Υαλώδους Άνθρακα (Glassy Carbon Electrode – GCE)

Πρόκειται για το ηλεκτρόδιο που χρησιμοποιήθηκε για την πραγματοποίηση των πειραμάτων αυτής της διπλωματικής εργασίας.

Το ηλεκτρόδιο αυτό έγινε με μια νέα μορφή άνθρακα γνωστή ως «υαλώδης» άνθρακας. Πρόκειται για ένα υλικό που κατασκευάστηκε στις αρχές της δεκαετίας του 1960 και αποτελεί το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο ηλεκτρόδιο άνθρακα σε ηλεκτροανάλυση από τη δεκαετία του 1980.

Ο GC παρασκευάζεται από ένα προ-μοντελοποιημένο πολυμερές σώμα ρητίνης σε αδρανή ατμόσφαιρα εφαρμόζοντας ένα ελεγχόμενο πρόγραμμα θερμοκρασίας (1000 με 3000 °C) υπό πίεση και έτσι επιτυγχάνεται αυξημένη ηλεκτρική

αγωγιμότητα. Η διαδικασία της θερμικής επεξεργασίας συχνά εφαρμόζεται για μέρες και προκαλεί απελευθέρωση ατόμων εκτός του άνθρακα, παράγοντας μια συζευγμένη γραφική μικροδομή. Σε αντίθεση με το γραφίτη, το GC ισοτροπική ηλεκτρική αγωγιμότητα και αξιοσημείωτες φυσικοχημικές ιδιότητες όπως υψηλή αντοχή σε χημική επίθεση. Γυαλίζεται μηχανικά και είναι εξαιρετικά αδιαπέραστο από υγρά και αέρια.

Το GC μπορεί να παραχθεί σε τρεις βασικούς τύπους που ουσιαστικά έχουν την ίδια μικροδομή αλλά διαφορετική μακροδομή. Οι τύποι αυτοί είναι: (1) υαλώδες μονολιθικό στερεό, (2) δικτυωτό με αφρό και (3) σφαιρικό. Οι πιο συνηθισμένοι είναι ο υαλώδης και ο δικτυωτός άνθρακας.

Σαν υλικό, το GC είναι εξαιρετικά ανθεκτικό σε πολλές χημικές ουσίες, ειδικά όταν παρασκευάζεται σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες. Μόνο ισχυροί οξειδωτικοί παράγοντες όπως το οξυγόνο σε υψηλή θερμοκρασία ή τα θερμά τήγματα ή τα ισχυρά οξειδωτικά οξέα μπορούν να επιτεθούν στον υαλώδη άνθρακα. Αλλά ακόμη και υπό αυτές τις συνθήκες, είναι ίσως το πιο αδρανές υλικό με βάση τον άνθρακα. Σύμφωνα με τις γενικές προδιαγραφές, το GC είναι παρόμοιο με τον πολυκρυσταλλικό γραφίτη σε σύνθεση, συγκόλληση και αντοχή, αλλά διαφέρει σημαντικά σε πορώδες, χαμηλή πυκνότητα, υψηλή σκληρότητα, υψηλή αντοχή, καλή ηλεκτρική αγωγιμότητα και μηχανικές ιδιότητες, όλα λόγω της διαφοράς στη δομή.

Επίσης σαν υλικό αυτό έχει χαμηλό κόστος, παρουσιάζει ηλεκτροχημική αδράνεια σε ένα ευρύ παράθυρο δυναμικού, καλή ηλεκτρική αγωγιμότητα, υψηλή σκληρότητα και εύκολα τροποποιήσιμη επιφάνεια.



Σχήμα 1.5: Απεικόνιση ενός τυπικού ηλεκτροδίου

#### 1.2.3.1.6 Ηλεκτρόδιο Πάστας Άνθρακα (Carbon Paste Electrode – CPE)

Αυτά τα ηλεκτρόδια εισήχθησαν το 1958 για τον αναλυτικό προσδιορισμό φαρμάκων και έκτοτε έχουν αποκτήσει πολύ ευρείες εφαρμογές στην ηλεκτροανάλυση. Παρασκευάζονται με διασπορά σωματιδίων άνθρακα σε υγρό επικόλλησης, με καλό θετικό και αρνητικό εύρος δυναμικού. Η ηλεκτροδραστική επιφάνεια είναι πολύ παρόμοια με αυτή ενός μονοφασικού ηλεκτροδίου ίδιου μεγέθους.

Τα CPE είναι ένας τύπος σύνθετων ηλεκτροδίων άνθρακα, τα οποία όλα χρησιμοποιούν ηλεκτρικά αγώγιμη σκόνη σωματιδίων άνθρακα αναμεμειγμένη με μονωτικό συνδετικό υλικό.

Είναι από τα πιο απλά και εύκολα στην Παρασκευή ηλεκτρόδια με βάση τον άνθρακα, με ακρίβεια στις μετρήσεις ρεύματος, που ξεπερνιέται μόνο από ηλεκτρόδια ευγενών μετάλλων, και με μεγάλη επιφάνεια, σημαντική για την ηλεκτροανάλυση φαρμάκων.

#### 1.2.3.1.7 Ηλεκτρόδιο Γραφίτη (Graphite Electrode – GE)

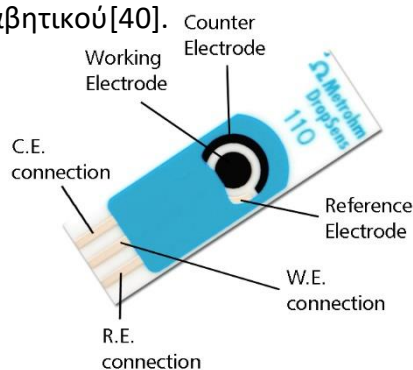
Ο γραφίτης είναι ένα από τα αλλότροπα του άνθρακα και παράγεται με διαφορετικά μεγέθη και ποσοστά κρυσταλλικού γραφίτη και κατά συνέπεια να έχει διαφορετική αγωγιμότητα και σταθερότητα. Πρόκειται για μια θερμοδυναμικά σταθερή στοιχειακή μορφή του άνθρακα, είναι ένα από τα πιο μαλακά ορυκτά που γνωρίζει ο άνθρωπος και είναι καλός αγωγός του ηλεκτρισμού.

Αν και τα ηλεκτρόδια με βάση τον γραφίτη δεν χρησιμοποιούνται τόσο ευρέως όσο ο υαλώδης άνθρακας, τα boron-doped diamond, τα πάστας άνθρακα ή νανοσωλήνων άνθρακα, έχουν χρησιμοποιηθεί για τον ηλεκτροανλυτικό προσδιορισμό φαρμάκων στις δοσολογικές τους μορφές και σε βιολογικά δείγματα[41].

#### 1.2.3.1.8 Ηλεκτρόδια Τυποποιημένου Πλέγματος (Screen Printed Electrodes – SPE)

Τα SPEs έχουν φέρει επανάσταση στον τομέα της αποκεντρωμένης ανάλυσης λόγω της ικανότητας τους να γεφυρώνουν το χάσμα μεταξύ εργαστηρίου και της επιτόπιας ανάλυσης. Συνήθως, τα SPE περιέχουν ένα αδρανές υπόστρωμα σε τρία συστήματα ηλεκτροδίων, δηλαδή στο ηλεκτρόδιο εργασίας (WE), στο ηλεκτρόδιο αναφοράς (RE) και το βοηθητικό ηλεκτρόδιο (CE), σε σύστημα τυπωμένο σε στερεό υπόστρωμα. Κατασκευάζονται με μια διαδικασία κατά την οποία μελάνι ή πάστα εφαρμόζεται στο υπόστρωμα πιέζοντάς το μέσα από ένα υφαντό διχτυωτό και περαιτέρω τυπωμένο στη συμπαγή επιφάνεια. Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που επηρεάζουν το σχεδιασμό ενός αποτελεσματικού SPE, συμπεριλαμβανομένων της σύνθεσης του μελανιού, τη θερμοκρασία σκλήρυνσης, τις μεθόδους προεπεξεργασίας και την τραχύτητα της επιφάνειας. SPEs με βάση, μελάνια άνθρακα, χρυσού, πλατίνας, ασημιού ή νανοσωλήνων άνθρακα αποτελούν καινοτομίες που κατασκευάζονται για ηλεκτροχημική ανάλυση σε περιβαλλοντικούς, κλινικούς ή αγροδιατροφικούς τομείς.

Πλεονεκτήματά τους, είναι ότι όλα τους είναι ειδικά σχεδιασμένα, για μια χρήση, με χαμηλό κόστος, για μικρού όγκου δείγματα. Είναι ιδανικά για ποιοτικούς ελέγχους ή για ερευνητικούς σκοπούς, καθώς επίσης και για τη διδασκαλία ηλεκτροχημείας. Πιο γνωστή εφαρμογή τους είναι η χρήση που γίνεται για τον προσδιορισμό σακχάρου στο αίμα ενός διαβητικού[40].



**Σχήμα 1.6:** SPE της Metrohm[39]

### 1.2.3.1.9 Τροποποιημένα Ηλεκτρόδια

Τα ηλεκτρόδια αυτά αποτελούν μια έντονα ερευνώμενη περιοχή της ηλεκτροχημείας. Ουσιαστικά, πρόκειται για ανάπτυξη ηλεκτροδίων με υλικά ύστερα από μια χημική τροποποίηση διαφόρων αγώγιμων υποστρωμάτων. Σκοπός τους είναι η κάλυψη ενός μεγάλου πεδίου εφαρμογών. Μερικές από αυτές τις χημικές τροποποιήσεις είναι η μη αντιστρεπτή προσρόφηση, η ομοιοπολική πρόσδεση και ο πολυμερισμός της επιφάνειας του ηλεκτροδίου. Τα ηλεκτρόδια αυτά απαντώνται σε πολλές εφαρμογές.

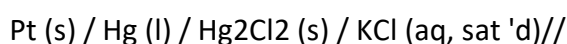
Ειδικότερα στις εφαρμογές ηλεκτροκατάλυσης, όπως τα στοιχεία καυσίμων και οι μπαταρίες, αφού κατέχουν την ικανότητα να ανάγουν το οξυγόνο προς νερό. Επιπλέον, βρίσκουν εφαρμογές στα έξυπνα παράθυρα και καθρέφτες. Έρευνες γίνονται για το αν μπορούν να βρουν χρήση και ως μοριακά ηλεκτρονικά εξαρτήματα[42].

### 1.2.3.2 Ηλεκτρόδιο Αναφοράς

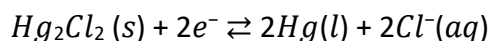
Ένα ηλεκτρόδιο αναφοράς έχει ένα καλά καθορισμένο και σταθερό δυναμικό ισορροπίας. Σκοπός του είναι να υπάρχει ως σημείο αναφοράς με το οποίο θα μετρηθεί το δυναμικό των άλλων ηλεκτροδίων στο κελί. Παρέχει δηλαδή το πρότυπο δυναμικό για μια ανάλυση. Στα πλείστα βιβλία τα δυναμικά μιας ημιαντίδρασης μετριούνται έναντι του ηλεκτροδίου αναφοράς «πρότυπου υδρογόνου» (Standard Hydrogen Electrode – SHE). Το ηλεκτρόδιο αυτό είναι ξεπερασμένο καθώς θεωρείτε δύσκολο στη χρήση του. Γι' αυτό αναπτύχθηκαν άλλα ηλεκτρόδια αναφοράς με τα δύο κυριότερα να είναι τα:

- Ηλεκτρόδιο Κορεσμένου Καλομέλανα (Saturated Calomel Electrode – SCE)
- Ηλεκτρόδιο Αργύρου/Χλωριούχου Αργύρου (Ag/AgCl)

Το SCE αποτελεί ένα από τα πιο διαθέσιμα ηλεκτρόδια αναφοράς για εργασία σε υδατικά διαλύματα. Είναι κατασκευασμένο από κατάλληλο κομμάτι γυαλιού το οποίο μπορεί να διατηρήσει μια μικρή ποσότητα υδραργύρου σε άμεση επαφή με στερεά πάστα καλομέλανος ( $Hg_2Cl_2$ ), ενώ ταυτόχρονα διατηρεί την πάστα σε επαφή με ένα κορεσμένο υδατικό διάλυμα χλωριούχου καλίου. Συμβολισμός του ηλεκτροδίου αυτού σε ένα ημικελί είναι:

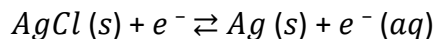


Η μισή αντίδραση που συμβαίνει στο εσωτερικό του SCE δίνεται παρακάτω.

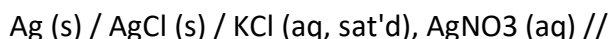


Στους 25 °C, το τυπικό δυναμικό για την μισή αντίδραση SCE είναι 0.2415V περισσότερο θετικό από το ηλεκτρόδιο αναφοράς SHE. Ένα δυναμικό που μετράτε με χρήση ενός SCE μπορεί να αναφέρεται έναντι του SHE απλά προσθέτοντας 0.2415V σε αυτό.

Ένα άλλο αρκετά χρήσιμο ηλεκτρόδιο είναι αυτό του Ag/AgCl. Και αυτό, όπως και το SCE είναι δημοφιλές για εργασία σε υδατικά συστήματα. Η ημίσεια αντίδραση για αυτό το ηλεκτρόδιο αναφοράς έχει ως εξής:



Το πραγματικό δυναμικό που λαμβάνεται από το Ag / AgCl εξαρτάται μόνο από τη δραστηριότητα του ανιόντος χλωρίου. Για να χρησιμεύσει ως αναφορά, η δράση του χλωρίου πρέπει να διατηρηθεί σταθερή. Για να επιτευχθεί αυτό, ένα ασημένιο σύρμα (επικαλυμμένο με ένα στρώμα χλωριούχου αργύρου) εμβαπτίζεται σε ένα εσωτερικό διάλυμα κορεσμένο με χλωριούχο κάλιο. Η συγκέντρωση ιόντων χλωρίου παραμένει σταθερή στο όριο κορεσμού. Ο σύντομος συμβολισμός για αυτό το μισό κελί δίνεται παρακάτω:



Η ηλεκτρική επαφή γίνεται με απευθείας σύνδεση με το ασημένιο σύρμα και το διάλυμα εσωτερικού ηλεκτροδίου τοποθετείται σε ιοντική επαφή με το διάλυμα μέσω γέφυρας άλατος[43][44].

### 1.2.3.3 Βοηθητικό Ηλεκτρόδιο

Σε συνηθισμένα κελιά δύο ηλεκτροδίων (ένα ηλεκτρόδιο εργασίας - ένα ηλεκτρόδιο αναφοράς) το ρεύμα υποχρεώνεται να ρέει διαμέσου του ηλεκτροδίου αναφοράς κάθε φορά που πραγματοποιείται μια μέτρηση. Εάν αρκετό ρεύμα ρέει μέσω ενός ηλεκτροδίου αναφοράς, η εσωτερική χημική του σύνθεση μπορεί να μεταβληθεί σημαντικά, προκαλώντας στο δυναμικό της να απομακρύνεται από την αναμενόμενη τιμή. Γι' αυτό είναι επιθυμητό να πραγματοποιούνται ηλεκτροχημικές μετρήσεις χωρίς το ρεύμα να ρέει μέσω του ηλεκτροδίου αναφοράς. Τη λύση σε αυτό το πρόβλημα ήρθε να δώσει το βοηθητικό ηλεκτρόδιο που βρίσκεται στους μοντέρνους ποτενσιοστάτες.

Το ρεύμα που μετράτε από τον ποτενσιοστάτη είναι στην πραγματικότητα το ρεύμα που ρέει από το ηλεκτρόδιο εργασίας προς το βοηθητικό ηλεκτρόδιο ώστε το σύστημα να ολοκληρωθεί και να μπορεί να θεωρηθεί ως ένα πλήρες κύκλωμα. Για να εξασφαλιστεί ότι οι κινητικές της αντίδρασης που λαμβάνει χώρα στο βοηθητικό ηλεκτρόδιο δεν αναστέλλουν αυτές που συμβαίνουν στο ηλεκτρόδιο εργασίας, η επιφάνεια του βοηθητικού είναι πολύ μεγαλύτερη από την επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας.

Το βοηθητικό ηλεκτρόδιο μπορεί να κατασκευαστεί από σχεδόν οποιοδήποτε υλικό χρησιμοποιώντας οποιαδήποτε επιθυμητή γεωμετρία. Οι επιλογές σχεδιασμού βασίζονται συνήθως στην εύρεση ενός υλικού που είναι χημικά αδρανές στο συγκεκριμένο διάλυμα που μελετάται και είναι γενικά καλή ιδέα για το βοηθητικό ηλεκτρόδιο να έχει μεγάλη επιφάνεια. Στις περισσότερες περιπτώσεις, χρησιμοποιείται ένα πηνίο από σύρμα πλατίνας, αλλά επίσης σύρμα από ανοξείδωτο χάλυβα, χαλκό ή αλουμίνιο μπορεί να λειτουργήσει σε μη διαβρωτικά διαλύματα όπου η παρεμπόδιση των μεταλλικών κατιόντων δεν αποτελεί πρόβλημα. Αν το ηλεκτροχημικό κελί είναι κατασκευασμένο από μέταλλο, τότε το ίδιο το κελί μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βοηθητικό ηλεκτρόδιο.

Κατά τη μελέτη μιας αντίδρασης, ηλεκτροχημικές διεργασίες θα συμβαίνουν επίσης και στο βοηθητικό ηλεκτρόδιο επειδή το ρεύμα ρέει διαμέσου του. Για παράδειγμα, αν το ηλεκτρόδιο εργασίας ανάγει κάτι, τότε το βοηθητικό ηλεκτρόδιο

πρέπει να οξειδώνει κάτι και αντίστροφα. Ως εκ τούτου πρέπει το βοηθητικό ηλεκτρόδιο πρέπει να είναι όσο το δυνατόν πιο αδρανές. Τα υποπροϊόντα που μπορεί να παράγονται στο βοηθητικό ηλεκτρόδιο, εάν αφεθεί να διαχυθούν στο ηλεκτρόδιο εργασίας, μπορεί να επηρεάσει τις πειραματικές μετρήσεις. Όταν αυτό είναι πρόβλημα, το βοηθητικό ηλεκτρόδιο τοποθετείται σε ένα ξεχωριστό μέρος που περιέχει διάλυμα ηλεκτρολύτη που βρίσκεται σε ιοντική επαφή με το κύριο διάλυμα μέσω υάλου. Στις περισσότερες περιπτώσεις, ωστόσο, μπορεί να τοποθετηθεί το βοηθητικό ηλεκτρόδιο μέσα στο διάλυμα μαζί με τα ηλεκτρόδια αναφοράς και εργασίας[45].

#### 1.2.4 Ο Διαλύτης

Ορισμένες φυσικοχημικές ιδιότητες πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την επιλογή ενός διαλύτη για ηλεκτροχημική εργασία. Ο διαλύτης που χρησιμοποιείται για μια ηλεκτροχημική διεργασία πρέπει να είναι ένα υγρό σε θερμοκρασία δωματίου, να έχει επαρκή διαλυτότητα για ιοντικές ώστε να επιτρέπει το σχηματισμό αγωγίμου ηλεκτρολύτη και να είναι σε θέση να διαλύσει την ουσία που μελετάται. Επίσης δεν πρέπει να υπόκειται σε οξείδωση ή αναγωγή στην περιοχή του δυναμικού μελέτης της οξειδοαναγωγικής διαδικασίας που μελετάτε.

Το ακετονιτρίλιο ( $C_2H_3N$ ) είναι ίσως ένας διαλύτης με αδρανείς ηλεκτροχημικές ιδιότητες. Έχει +3.0 V (vs.SCE (κορεσμένο ηλεκτρόδιο καλομέλανος)) ανοδικά και -3,0 V καθοδικά όρια. Ακόμα και αυτά τα όρια πιθανόν να καθορίζονται από την οξείδωση του ηλεκτρολύτη και την αναγωγή ακαθαρσιών του νερού. Εάν δεν υπάρχουν ακαθαρσίες, η ηχημεία ιοντικών ριζών μπορεί να μελετηθεί πολύ καλά. Ωστόσο, αυτός ο διαλύτης έχει πολύ κακή διαλυτότητα για ιοντικά είδη. Το διμέθυλο φορμαμίδιο (DMF) είναι ένας από τους απρωτικούς διαλύτες που έχουν πολύ ισχυρή διαλυτότητα ιοντικών ειδών. Έχει ένα καθοδικό όριο έως -0,3 V για τις ρίζες ανιόντων. Ως εκ τούτου, αυτός είναι ο διαλύτης που επιλέγεται για μελέτες σχετικά με τις ρίζες ανιόντων. Στις περιοχές θετικού δυναμικού άνω των +1,0 V, ο διαλύτης αποσυντίθεται.

Το χλωριούχο μεθυλένιο ( $CH_2Cl_2$ ) είναι ο διαλύτης που επιλέγεται για μελέτες οξείδωσης οργανικών στοιχείων. Είναι σταθερό έως +3.0 V όπως το ακετονιτρίλιο. Οι ηλεκτρολύτες είναι εύκολα διαλυτοί σε χλωριούχο μεθυλένιο σε σύγκριση με το ακετονιτρίλιο. Ακόμη και μεγάλα οργανικά μόρια και πολυμερή είναι διαλυτά σε αυτό το μέσο. Πάραυτα, σε αρνητικά δυναμικά -1.0 V, ο διαλύτης αποσυντίθεται. Ακόμη και εντελώς μη πολικοί διαλύτες όπως το βενζόλιο και άλλοι υδρογονάνθρακες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μελέτη της φάσης του διαλύματος καθώς και τις διεργασίες επιφάνειας. Μερικές λεπτομερείς συζητήσεις σχετικά με τους διαλύτες που χρησιμοποιούνται στην ηλεκτροχημεία είναι διαθέσιμες.

Ο φθηνότερος διαλύτης είναι το νερό, το οποίο διαθέτει πολλές φυσικοχημικές ιδιότητες. Μπορεί να διαλύσει τα ιοντικά συστατικά και να σχηματίσει εξαιρετικά αγωγίμα διαλύματα. Έχει εξαιρετική διαλυτική ικανότητα αφού μπορεί να διαλύσει τις πλείστες ενώσεις ενός ενόσιου ηλεκτροχημικού ενδιαφέροντος. Ένα από τα μειονεκτήματα της χρήσης του νερού ως διαλύτη είναι ότι ανάγεται ή οξειδώνεται σε  $H_2$  και  $O_2$  πολύ εύκολα. Ως εκ τούτου, διαθέτει μόνο περιοχή 2,0 V για τη μελέτη άλλων διαδικασιών. Επίσης, σχηματίζει εύκολα φιλμ οξειδίου σε στερεά ηλεκτρόδια επηρεάζοντας έτσι την αντιδραστικότητα και αναπαραγωγικότητα. Ακόμα, το νερό

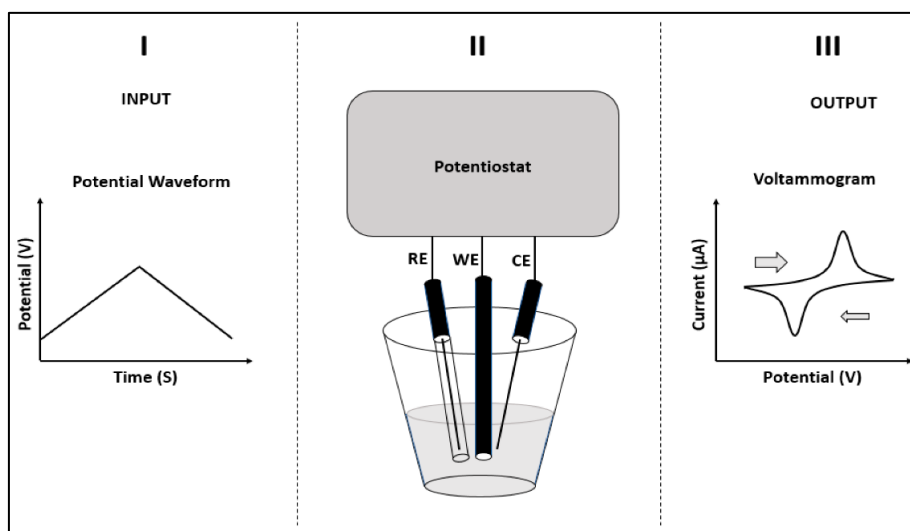


δεν μπορεί να διαλύσει οργανικά αντιδραστήρια. Αυτά τα ελαττώματα μπορούν να αντιμετωπιστούν με τη χρήση αλκοολικών διαλυτών[46].

### 1.2.5 Υποστηρικτικοί Ηλεκτρολύτες

Ένας υποστηρικτικός ηλεκτρολύτης ονομάζεται μια ιοντική ουσία που υπάρχει σε ένα διάλυμα για να εξασφαλίσει την αγωγιμότητά του. Ως εκ τούτου εξαλείφεται το ηλεκτρικό πεδίο από τον ηλεκτρολύτη. Είναι πολύ σημαντικό να συνειδητοποιήσουμε ότι μπορούν να επηρεάσουν τις ηλεκτροχημικές διαδικασίες με διάφορους τρόπους. Αυτοί οι ηλεκτρολύτες προσδίδουν αγωγιμότητα στον διαλύτη και επομένως, επιτρέπουν τη συνεχή ροή ρεύματος στο διάλυμα. Τα κυριότερα χαρακτηριστικά των ηλεκτρολυτών είναι ότι πρέπει να παραμείνουν ηλεκτροστατικά ενεργοί στην περιοχή δυναμικού που εξετάζεται, η συγκέντρωση του υποστηρικτικού ηλεκτρολύτη πρέπει να είναι πολύ υψηλή, ώστε να μην υπάρχει -κενός από φορτία- χώρος κοντά στην επιφάνεια και συνεπώς να μην επηρεάζεται η κινητική μεταφοράς φορτίου. Δεν πρέπει να προσροφηθούν στην επιφάνεια γιατί στην περίπτωση αυτή μπορούν να καταλύσουν ή να αναστείλουν άλλες αντιδράσεις. Δεν θα πρέπει να σχηματίζουν επίσης ζεύγη ιόντων με ρίζες ανιόντων που σχηματίζονται στη διαδικασία ηλεκτροδίων ούτε σύμπλοκα με τα αντιδραστήρια ή τα προϊόντα.

Τα  $H_2SO_4$ ,  $HClO_4$  και  $HCl$  χρησιμοποιούνται συνήθως για μελέτες σε όξινα υδατικά διαλύματα και  $NaOH$  ή  $KOH$  χρησιμοποιούνται για αλκαλικά μέσα. Σε ουδέτερη περιοχή, εάν το ρυθμιστικό διάλυμα είναι σημαντικό, χρησιμοποιούνται οξικά, κιτρικά και φωσφορικά ρυθμιστικά. Το ρυθμιστικό B-R (Britton–Robinson buffer) χρησιμοποιείται σε ένα ευρύ φάσμα pH (2-12). Εάν η διαδικασία οξειδοαναγωγής δεν συνεπάγεται αντιδράσεις οξέος-βάσης, δεν απαιτείται ρυθμιστικό διάλυμα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιοσδήποτε ηλεκτρολύτης[47].



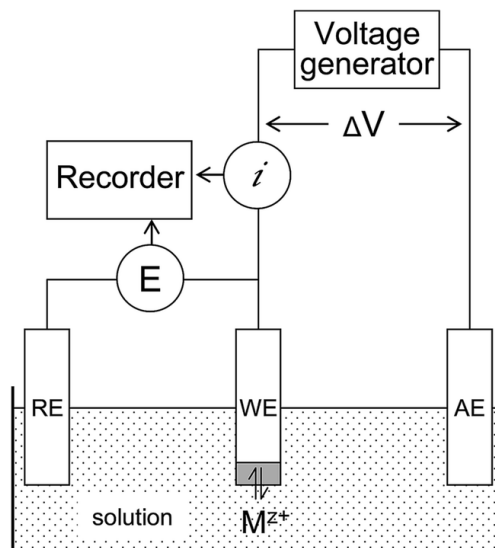
Σχήμα 1.7: Διαδικασία εκτέλεσης μιας εφαρμογής κυκλικής βολταμετρίας

### 1.2.6 Οργανολογία

Μια σύγχρονη συσκευή που εκτελεί βολταμμετρικές μετρήσεις αποτελείται από:

1. Μια γεννήτρια δυναμικού
2. Τρία ηλεκτρόδια (εργασίας, βοηθητικό, αναφοράς)

3. Μια κυψέλη ηλεκτρόλυσης
4. Ένα ποτενσιοστάτη
5. Ένα μετατροπέα ρεύματος σε τάση
6. Ένα σύστημα απόκτησης δεδομένων [48]



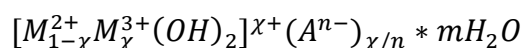
Σχήμα 1.6: Διάγραμμα μια συσκευής βολταμετρίας[46]

### 1.3 Τροποποίηση Ηλεκτροδίου

Ο κύριος στόχος της διπλωματικής αυτής είναι ο προσδιορισμός του αντιβιοτικού μετρονιδαζόλη (MTZ) με τη χρήση κυκλικής βολταμετρίας και την τροποποίηση ενός ηλεκτροδίου υαλώδους άνθρακα.

Η τροποποίηση του ηλεκτροδίου γίνεται με τη μέθοδο των Διπλών Υδροξειδίων Φυλλόμορφης Δομής (LDHs - Layered Double Hydroxides). Τα LDHs θεωρούνται πολλά υποσχόμενα υλικά λόγω της υψηλής χημικής τους προσαρμοστικότητας που συνδέεται με την υψηλή εναλλακτική τους ικανότητα, αλλά και των σαφώς καθορισμένων κοιλοτήτων και επιφανειών τους. Τα LDHs ανήκουν σε μια κατηγορία διδιάστατων νανοδομημένων ανιονικών αργίλων. Αν και υπάρχουν ως φυσικά ορυκτά, η διαδικασία σύνθεσής τους είναι σχετικά εύκολη και οικονομική. Η δομή τους μπορεί να περιγραφεί σαν αυτή του μπρουκίτη (brucite,  $Mg(OH)_2$ ), όπου ένα τμήμα των δισθενών κατιόντων που συντάσσονται οκταεδρικά με ομάδες υδροξυλίων OH έχουν μερικώς υποκατασταθεί από τρισθενή κατιόντα δίνοντας θετικό φορτίο στα φύλλα.

Η δομή των LDHs περιγράφεται από τη γενική σχέση:



όπου τα  $M^{2+}$ ,  $M^{3+}$  είναι μεταλλοκατιόντα,  $A^{n-}$  το ανιόν που βρίσκεται μαζί με μόρια νερού  $H_2O$  στο μεσόστρωμα και  $\chi$  ο στοιχειομετρικός συντελεστής που ισούται με το λόγο:

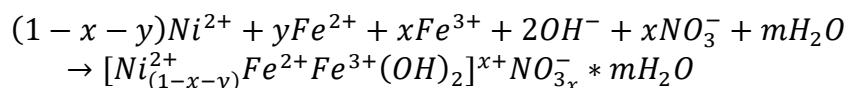
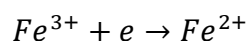
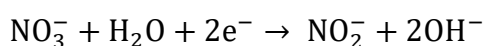
$$\frac{M^{3+}}{M^{2+} + M^{3+}}$$

Σημαντικοί παράγοντες για τη δομή και τη σύσταση των LDHs είναι α) το είδος των δισθενών και τρισθενών μεταλλικών ιόντων, β) τα ανταλλάξιμα ανιόντα του μεσοστρώματος, γ) η κατανομή των 13 διαφορετικών μεταλλικών ιόντων και δ) ο τρόπος που στοιβάζονται τα φύλλα των υδροξειδίων. Εξαιτίας της ποικιλίας των παρακάτω παραγόντων προκύπτει ένα μεγάλο φάσμα υλικών με διαφορετικές ιδιότητες[49].

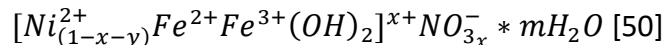
Στην παρούσα εργασία συντέθηκε το Ni/Fe-LDH μέσω της μεθόδου ηλεκτροαπόθεσης σε ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα.

Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν οι ενώσεις νιτρικός σίδηρος ( $Fe(NO_3)_2$ ), νιτρικό νικέλιο ( $Ni(NO_3)_2$ ) και νιτρικό κάλιο ( $KNO_3$ ).

Στην επιφάνεια του τροποποιημένου ηλεκτροδίου συμβαίνουν οι εξής αντιδράσεις:



Υποθέτοντας ότι ο τύπος του Ni/Fe-LDH εκφράζεται ως:



## 2. Πειραματικό Μέρος

### 2.1 Σκοπός

Η ανίχνευση του αντιβιοτικού Μετρονιδαζόλη (MTZ) μέσω κυκλικής βολταμετρίας και τη χρήση τροποποιημένου ηλεκτροδίου υαλώδους άνθρακα (GCE) με τη μέθοδο Διπλών Υδροξειδίων Φυλλόμορφης Δομής Νικελίου/Σιδήρου (Ni/Fe-LDH) σε υδατικά διαλύματα.

### 2.2 Αντιδραστήρια

Για την εκτέλεση των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθες ενώσεις:

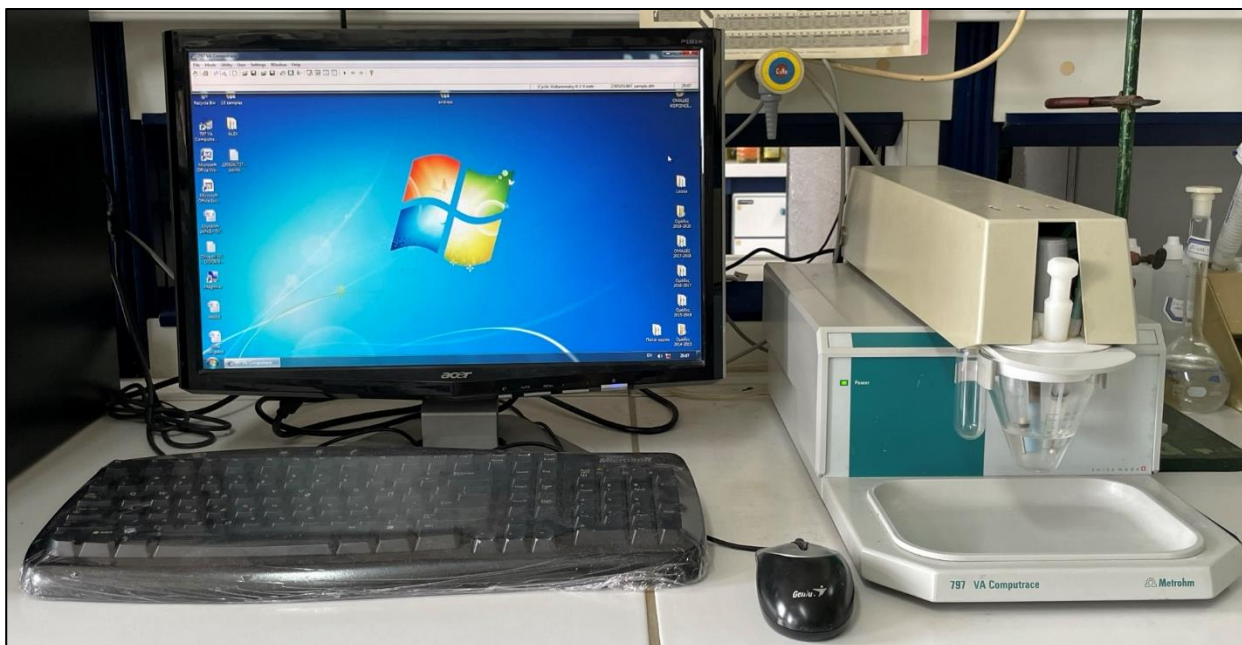
- Μετρονιδαζόλη (CHEMCO)
- $H_2SO_4$  (FERAK)
- NaOH (Fluka Analytical)
- $KNO_3$  (MERCK)
- $Fe(NO_3)_2$  (MERCK)
- $Ni(NO_3)_2$  (MERCK)
- $H_3BO_3$  (FERAK)
- $H_3PO_4$  (Riedel-de Haën)
- $CH_3COOH$  (SIGMA-ALDRICH)
- Νερό Υψηλής Καθαρότητας (High Purity Water)

### 2.3 Οργανολογία

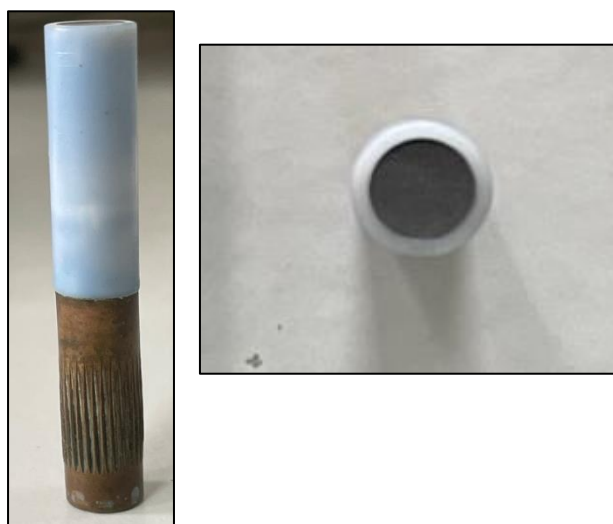
Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε βολταρογράφος (797 VA Computance - Metrohm)

- Ηλεκτρόδιο Εργασίας (Metrohm)
- Ηλεκτρόδιο Αναφοράς Ag/AgCl
- Βοηθητικό Ηλεκτρόδιο

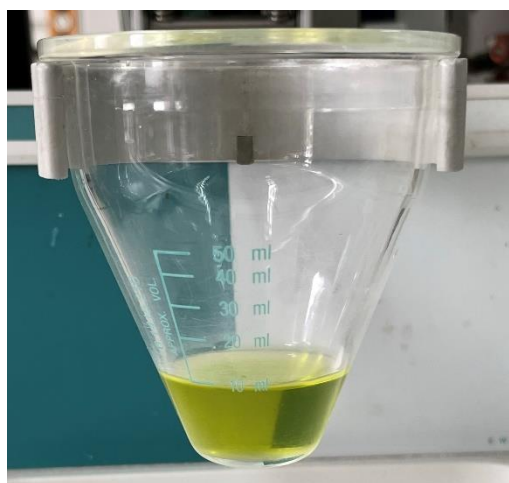
Η ζύγιση των επιμέρους αντιδραστηρίων για την παρασκευή των διαλυμάτων πραγματοποιήθηκε σε ζυγό ακριβείας 3 δεκαδικών ψηφίων (Ohaus), η ρύθμιση του pH έγινε με τη χρήση πεχαμέτρου (MP125, Mettler Toledo).



**Εικόνα 2.1:** Σύστημα πολαρογραφίας του Εργαστηρίου Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας που χρησιμοποιήθηκε για τις μετρήσεις της παρούσας διπλωματικής εργασίας



**Εικόνα 2.2:** Το Ηλεκτρόδιο Γαλώδους Άνθρακα (GCE) που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα



**Εικόνα 2.3:** Το διάλυμα Ni/Fe με το οποίο έγινε η τροποποίηση του GCE μέσα στην κυψελίδα του οργάνου

## 2.4 Πειραματική Διαδικασία

### 2.4.1 Προετοιμασία και τροποποίηση GCE

Ο καθαρισμός του ηλεκτροδίου έγινε με τη χρήση κυκλικής βολταμετρίας σε διάλυμα θειικού οξέος 0.1M, για 20 κύκλους, με ρυθμό σάρωσης 0.1 V/s.

Το διάλυμα για την τροποποίηση του GCE έγινε με τη διαλυτοποίηση 3,486gr  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ , 2,699gr  $\text{Fe}(\text{NO}_3)_2$  και 1,517gr  $\text{KNO}_3$ , σε 100 mL υπερκάθαρου νερού. Η διάλυση έγινε με τη χρήση μαγνητικού αναδευτήρα. Το pH του διαλύματος αυτού είναι περίπου 3.

Η τροποποίηση του ηλεκτροδίου έγινε με την τεχνική της διαφορικής παλμικής βολταμετρίας με χρόνο εναπόθεσης 180s, δυναμικό εναπόθεσης -0.9V και ρυθμό σάρωσης 0.0198V/s.

### 2.4.2 Παρασκευή του ηλεκτρολύτη και ρύθμιση του pH

Ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε το Britton- Robinson (B – R) buffer (0.1M). Για την παρασκευή του απαιτήθηκαν 0,6163gr βορικού οξέος, 2,30 mL οξικού οξέος και 2.70mL φωσφορικού οξέος. Η ρύθμιση του pH του ηλεκτρολύτη γίνεται με τη σταδιακή προσθήκη υδροξειδίου του νατρίου ( $\text{NaOH}$ ). Το επιθυμητό pH είναι 11.5.

### 2.4.3 Παρασκευή διαλυμάτων μετρονιδαζόλης (MTZ)

Για τους σκοπούς του πειράματος, παρασκευάστηκαν 6 διαφορετικά υδατικά διαλύματα MTZ, με σκοπό τον έλεγχο της γραμμικότητας της μεθόδου. Οι συγκεντρώσεις των διαλυμάτων ήταν 1.3mM, 1mM, 0.7mM, 0.4 mM, 0.2mM και 0.1mM.

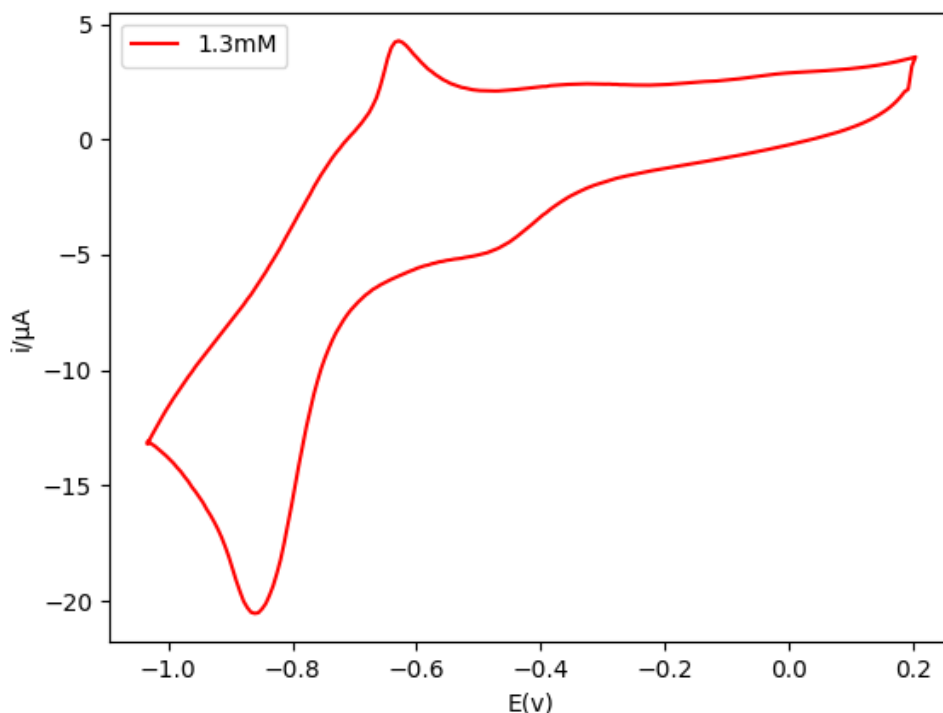
Η ανίχνευση της έγινε με τη χρήση κυκλικής βολταμετρίας με αρχικό δυναμικό -1.2V, τελικό δυναμικό 1.4V και ρυθμό σάρωσης 0.05V/s.

### 2.4.4 Διαδικασία που ακολουθήθηκε

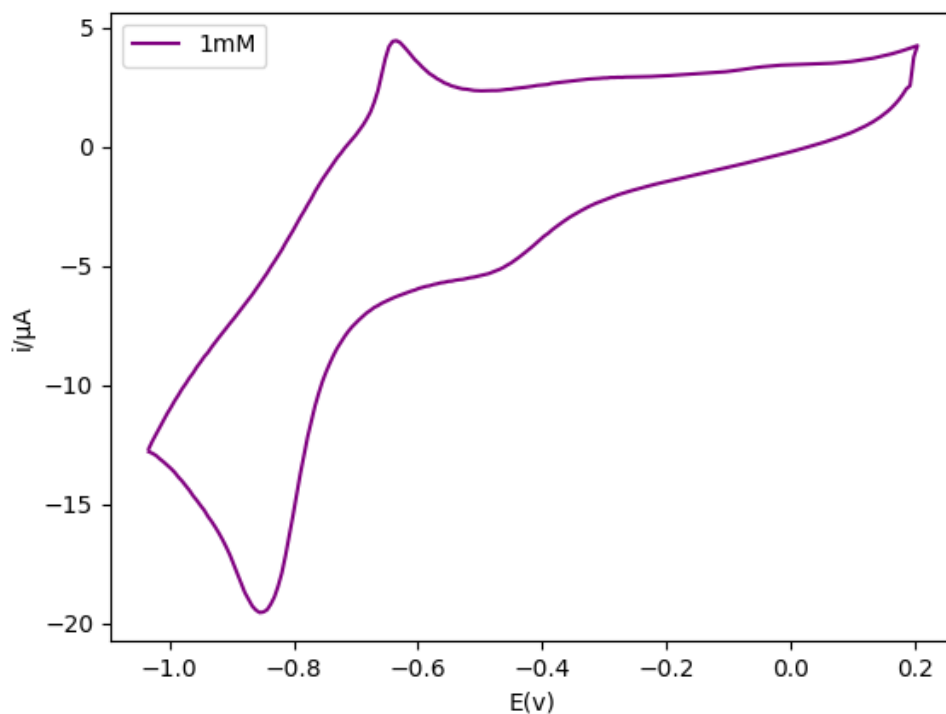
Αρχικά έγινε ο καθαρισμός του ηλεκτροδίου, με τη μέθοδο που προαναφέρθηκε, με 10mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.1M. Έπειτα γίνεται έκπλυση του ηλεκτροδίου με υπερκάθαρο νερό. Στη συνέχεια γίνεται η τροποποίηση του καθαρισμένου πλέον ηλεκτροδίου υαλώδους άνθρακα με 10mL από τα διάλυμα που προαναφέρθηκε. Με την πάροδο της τροποποίησης γίνεται ξανά έκπλυση του ηλεκτροδίου με υπερκάθαρο νερό. Με το τροποποιημένο ηλεκτρόδιο έτοιμο για ανάλυση, γίνεται προσθήκη στην κυψελίδα του οργάνου 5mL του προς ανάλυση διαλύματος MTZ και 5mL του ηλεκτρολύτη με ρυθμισμένο το pH του στο 11.5. Με το πέρας της ανάλυσης προκύπτει ένα βολταμογράφημα.

### 3. Αποτελέσματα και Ανάλυση αποτελεσμάτων

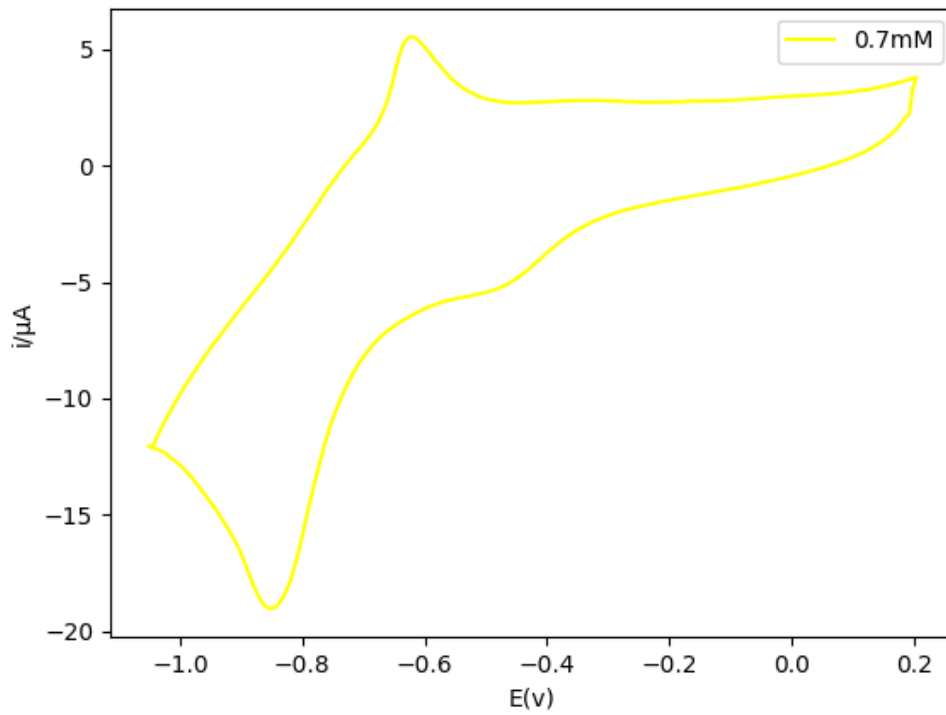
Ακολουθούν τα γραφήματα που προκύπτουν από την ανάλυση των 6 διαλυμάτων διαφορετικών συγκεντρώσεων MTZ ξεκινώντας από τη μεγαλύτερη. Από το όργανο προκύπτουν 2 γραφήματα, καθώς η μέθοδος είναι προγραμματισμένη να εκτελεί 2 κύκλους. Με την χρήση κώδικα στο Google Colab έγινε σύμπτυξη τους σε μια.



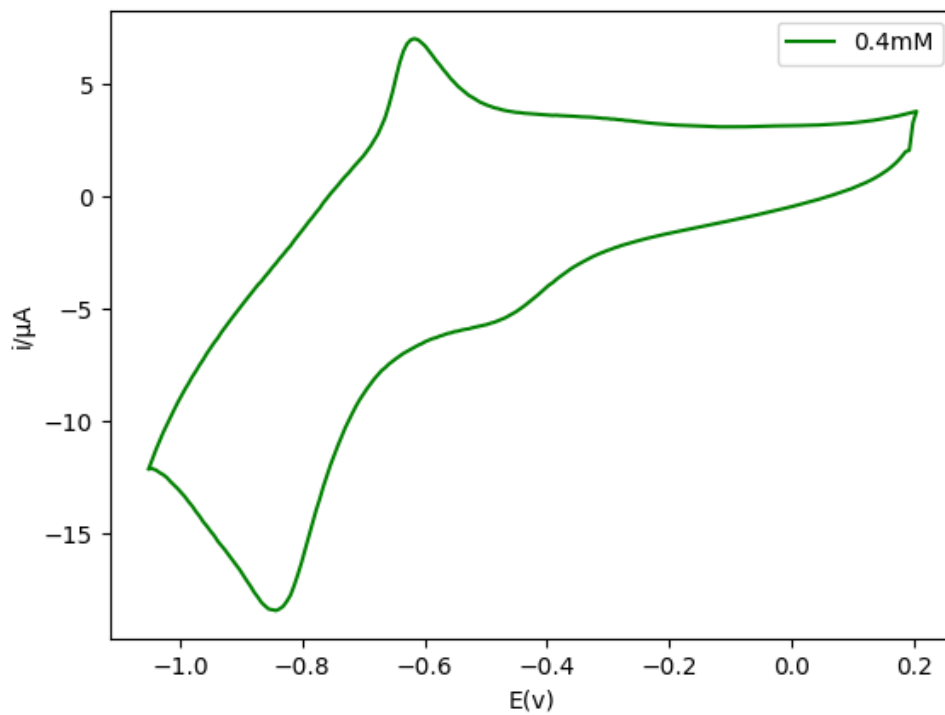
**Διάγραμμα 3.1:** Κυκλικό βολταμογράφημα συγκέντρωσης MTZ 1.3mM, δυναμικού συναρτήσεως της έντασης, με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο Ni/Fe-LDH



**Διάγραμμα 3.2:** Κυκλικό βολταμογράφημα συγκέντρωσης MTZ 1mM, δυναμικού συναρτήσεως της έντασης, με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο Ni/Fe-LDH

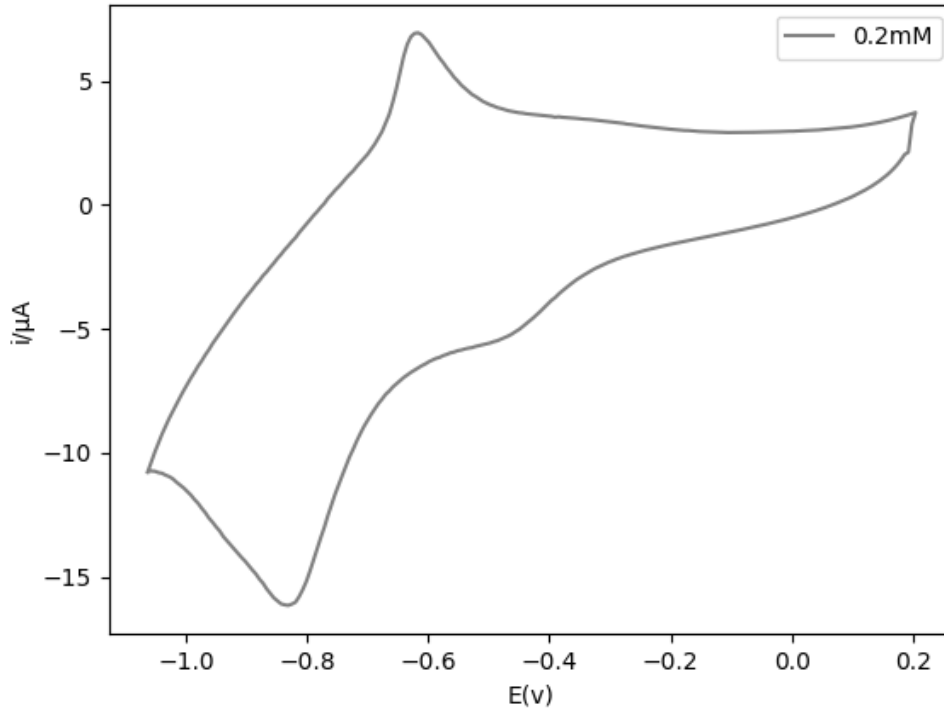


**Διάγραμμα 3.3:** Κυκλικό βολταμογράφημα συγκέντρωσης MTZ 0.7mM, δυναμικού συναρτήσεως της έντασης, με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο Ni/Fe-LDH

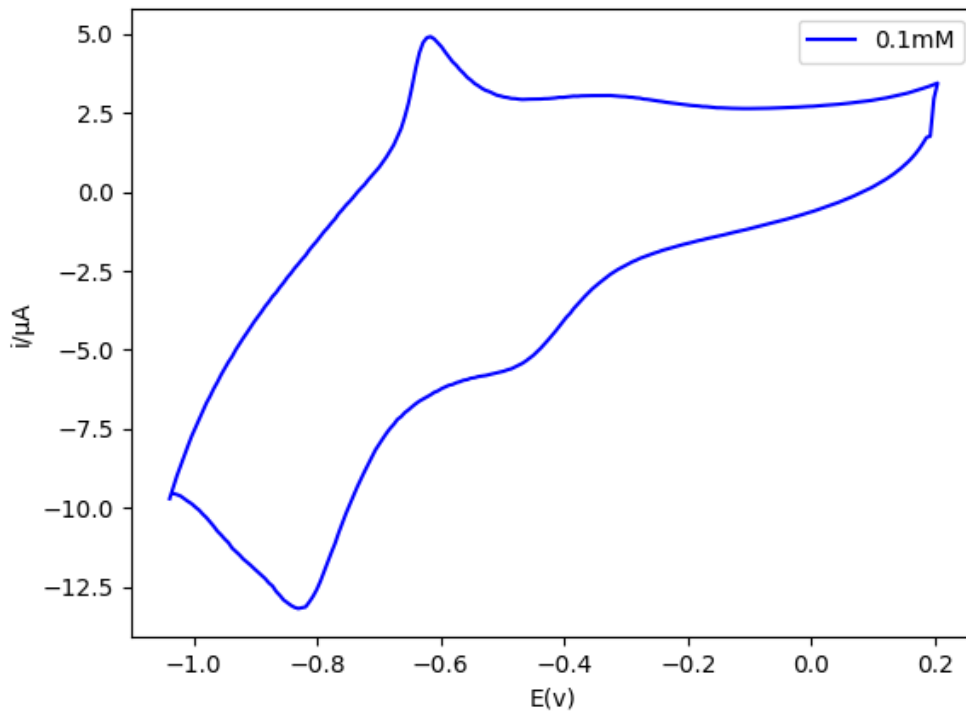


**Διάγραμμα 3.4:** Κυκλικό βολταμογράφημα συγκέντρωσης MTZ 0.4mM, δυναμικού συναρτήσεως της έντασης, με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο Ni/Fe-LDH

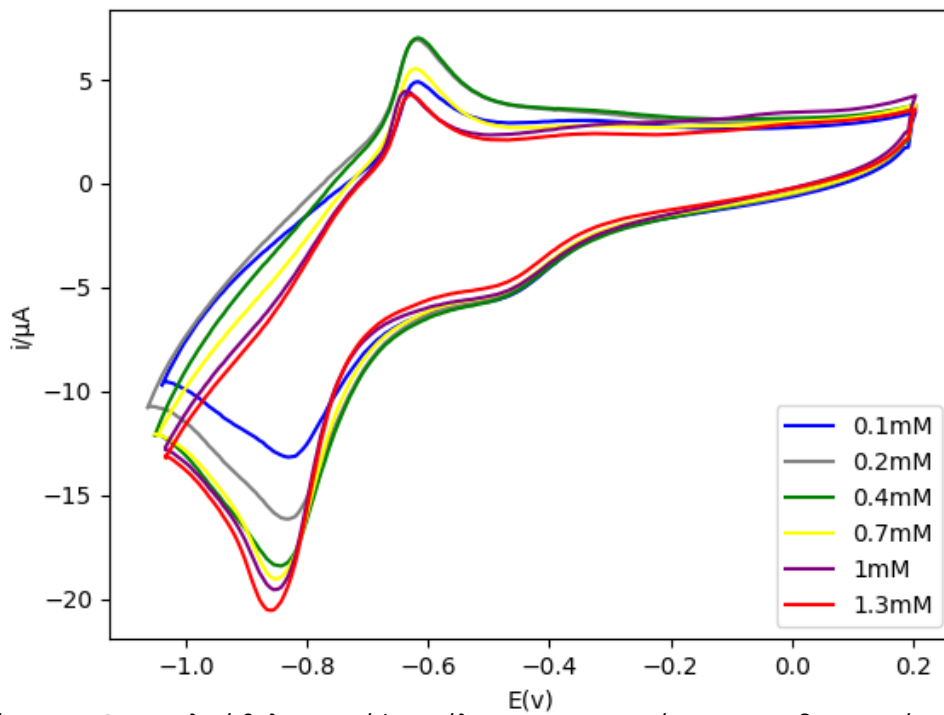




**Διάγραμμα 3.5:** Κυκλικό βολταμογράφημα συγκέντρωσης MTZ 0.2mM, δυναμικού συναρτήσεως της έντασης, με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο Ni/Fe-LDH



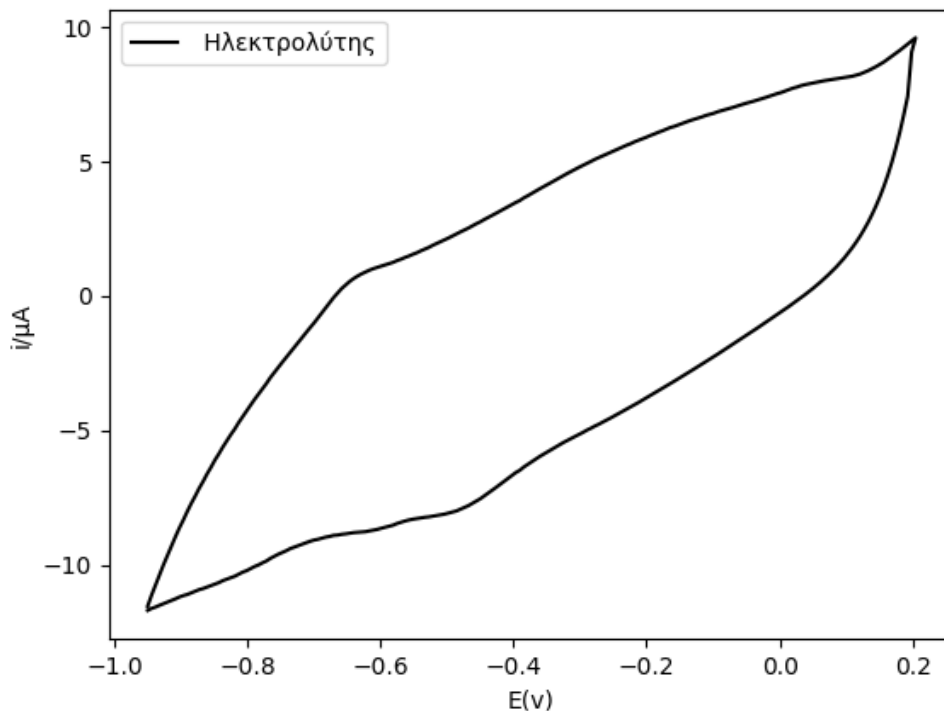
**Διάγραμμα 3.6:** Κυκλικό βολταμογράφημα συγκέντρωσης MTZ 0.1mM, δυναμικού συναρτήσεως της έντασης, με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο Ni/Fe-LDH



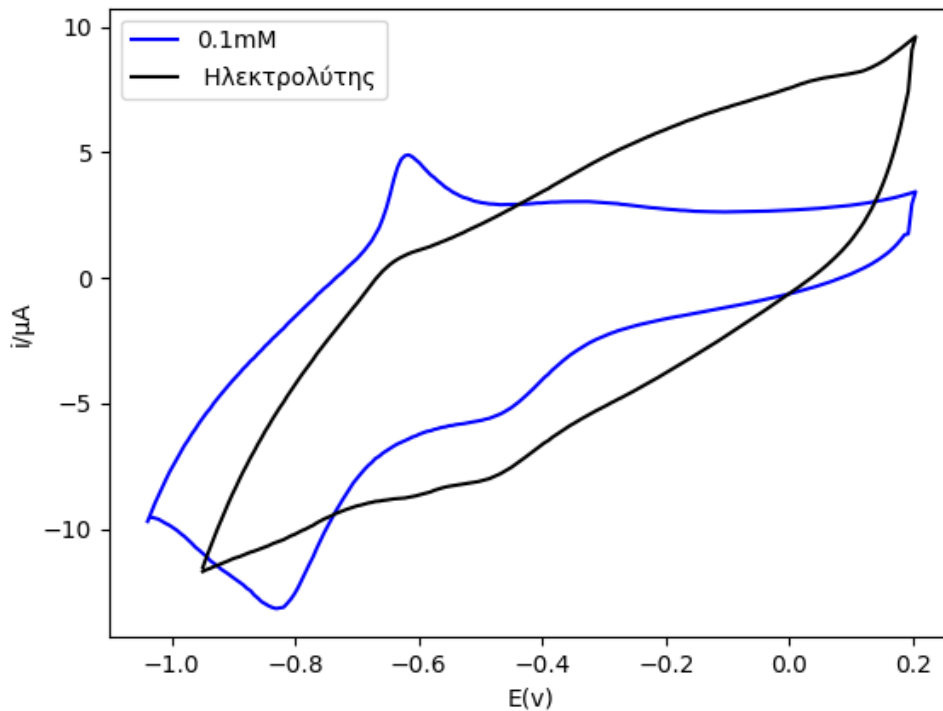
**Διάγραμμα 3.7:** Κυκλικό βολταμογράφημα όλων των συγκεντρώσεων MTZ, δυναμικού συναρτήσεως της έντασης, με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο Ni/Fe-LDH

Όπως είναι αναμενόμενο, παρατηρείται στα **Διαγράμματα 3.1 – 3.6**, αλλά και στο **Διάγραμμα 3.7**, ανάλογη μείωση στις κορυφές των βολταμογραφημάτων με τη μείωση της αναλυόμενης συγκέντρωσης MTZ. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι με την μείωση της διαλυμένης ουσίας μειώνεται και το δυναμικό συναρτήσεως της έντασης αφού υπάρχουν λιγότερα ιόντα για μεταφορά του ηλεκτρικού σήματος.

Στη συνέχεια έγινε έλεγχος εάν ο ηλεκτρολύτης δίνει τυχόν κορυφές στο επιλεγμένο δυναμικό σάρωσης προσδιορισμού της MTZ, πράγμα που θα οδηγούσε σε λανθασμένα αποτελέσματα και συμπεράσματα.



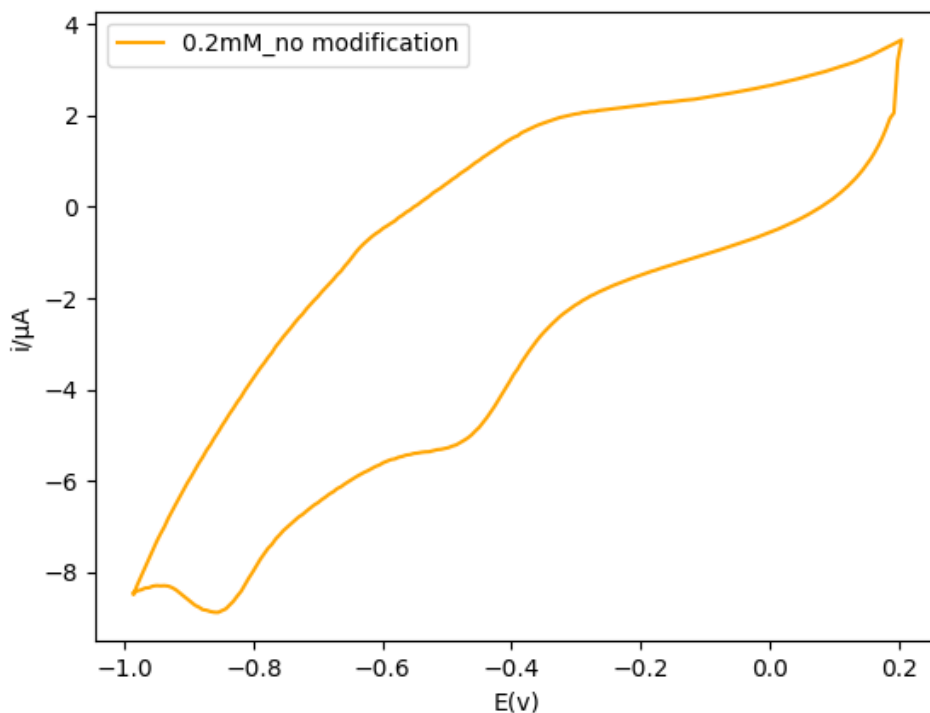
**Διάγραμμα 3.8:** Κυκλικό βολταμογράφημα του ηλεκτρολύτη, δυναμικού συναρτήσεως της έντασης, με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο Ni/Fe-LDH



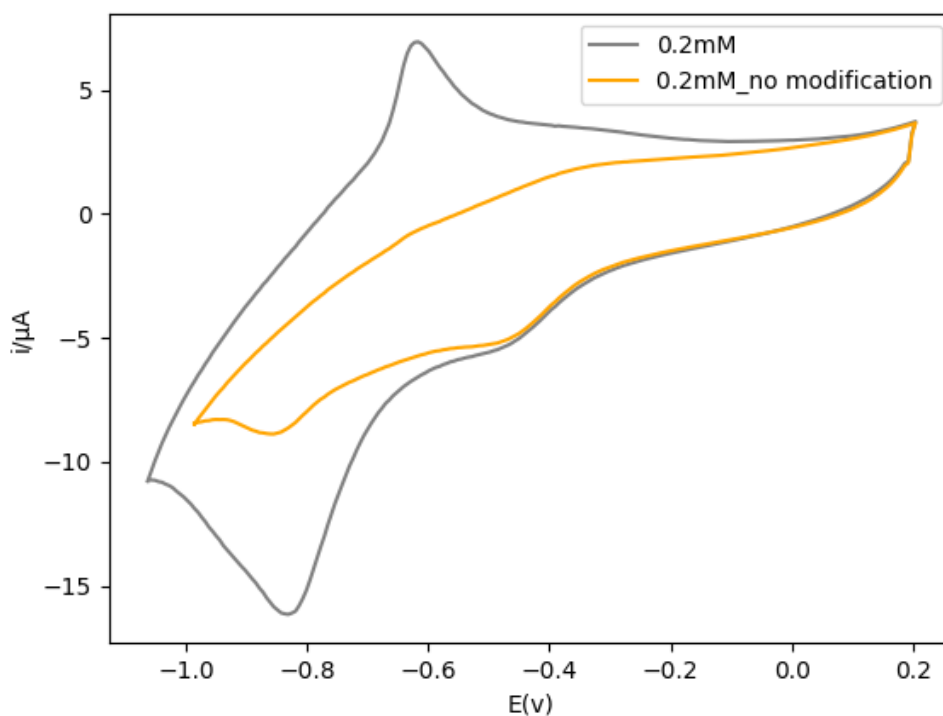
**Διάγραμμα 3.9:** Συγκριτικό κυκλικό βολταμογράφημα του ηλεκτρολύτη με αυτό της ανάλυσης MTZ συγκέντρωσης 0.1mM, δυναμικού συναρτήσει της έντασης, με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο Ni/Fe-LDH

Όπως ήταν αναμενόμενο, τα **Διαγράμματα 9.8** και **3.9**, υποδεικνύουν ότι η σάρωση του διαλύματος που περιείχε μόνο τον ηλεκτρολύτη με pH=11.5, στις ίδιες συνθήκες με όλες τις προηγούμενες σαρώσεις, δεν παρουσίασε καμία κορυφή. Αυτό ουσιαστικά σημαίνει ότι ο επιλεγμένος ηλεκτρολύτης, δηλαδή το Britton- Robinson (B – R) buffer δεν οξειδώνεται αλλά ούτε ανάγεται στο επιλεγμένο δυναμικό σάρωσης, -1.2V με 1.4V. Άρα είναι κατάλληλος για το σκοπό των αναλύσεων που πραγματοποιούνται.

Έγινε ένας ακόμα έλεγχος, αυτή τη φορά με το προσδιορισμό MTZ στο διάλυμα 0.2mM με τη χρήση ενός καθαρού, μη τροποποιημένου ηλεκτροδίου υαλώδους άνθρακα. Ο έλεγχος αυτός έγινε με σκοπό να διαφανεί αν όντως ένα μη τροποποιημένο ηλεκτρόδιο δεν έχει την απαραίτητη ευαισθησία για να ανιχνεύσει τη MTZ και να γίνει μια σύγκριση των γραφημάτων που λαμβάνονται μετά την ανάλυση με τα δύο ηλεκτρόδια.



**Διάγραμμα 3.10:** Κυκλικό βολταμογράφημα συγκέντρωσης MTZ 0.2mM, δυναμικού συναρτήσεως της έντασης, με απλό μη τροποποιημένο GCE



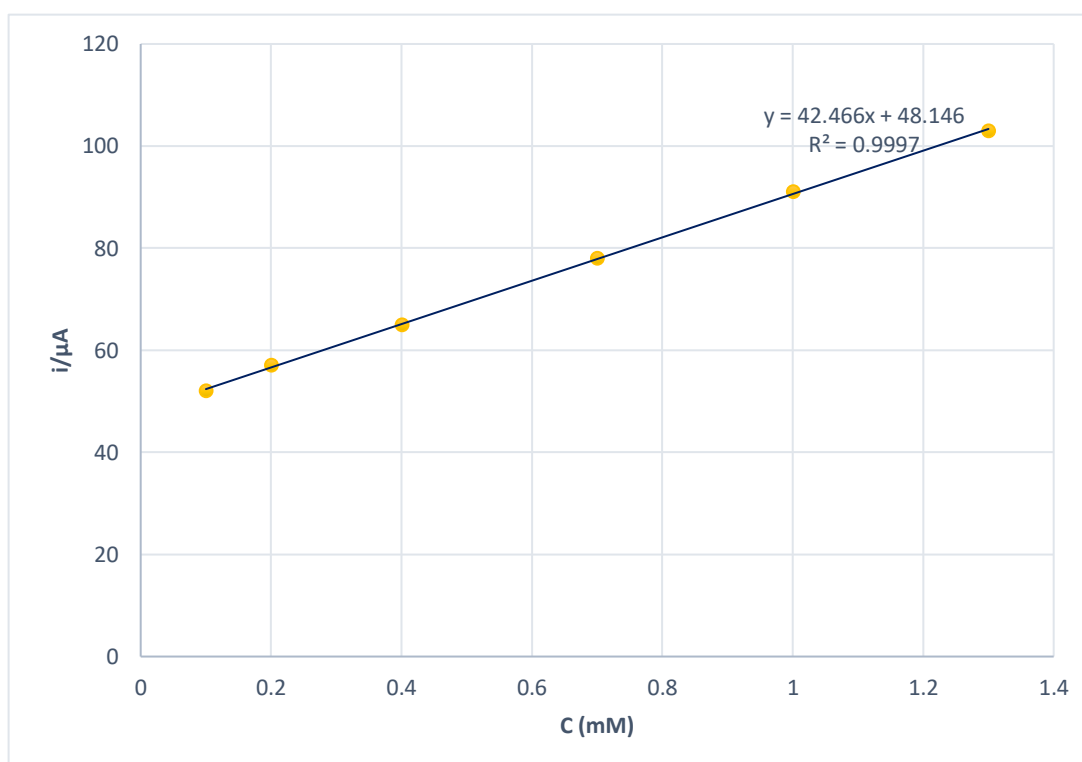
**Διάγραμμα 3.11:** Σύγκριση μεταξύ του κυκλικού βολταμογραφήματος συγκέντρωσης MTZ 0.2mM, δυναμικού συναρτήσεως της έντασης, με απλό μη τροποποιημένο GCE, με το βολταμογράφημα της ίδιας συγκέντρωσης με τη χρήση τροποποιημένου ηλεκτροδίου Ni/Fe-LDH

Μέσα από τα **Διαγράμματα 3.10** και **3.11**, φαίνεται η αύξηση της ευαισθησίας στην MTZ του τροποποιημένου ηλεκτροδίου εν αντιθέσει με του απλού. Το σημαντικότερο αποτέλεσμα αυτής της σύγκρισης, είναι η σιγουριά που παρέχει για τη δυνατότητα της συγκεκριμένης τεχνικής που εφαρμόστηκε.

Για τον έλεγχο της γραμμικότητας της μεθόδου μετρήθηκε το ύψος της κάτω καμπύλης σε κάθε μια από τις 6 συγκεντρώσεις. Έπειτα σχεδιάστηκε μια γραφική παράσταση συναρτήσει αυτής της διαφοράς με τη συγκέντρωση, με τη χρήση του Microsoft Excel.

Ύψος Κάτω Κορυφής	Συγκέντρωση
i/μΑ	C (mM)
52	0.1
57	0.2
65	0.4
78	0.7
91	1
103	1.3

**Πίνακας 3.1:** Το μέγεθος της κάθε κορυφής σε σχέση με την προς ανάλυση συγκέντρωση MTZ

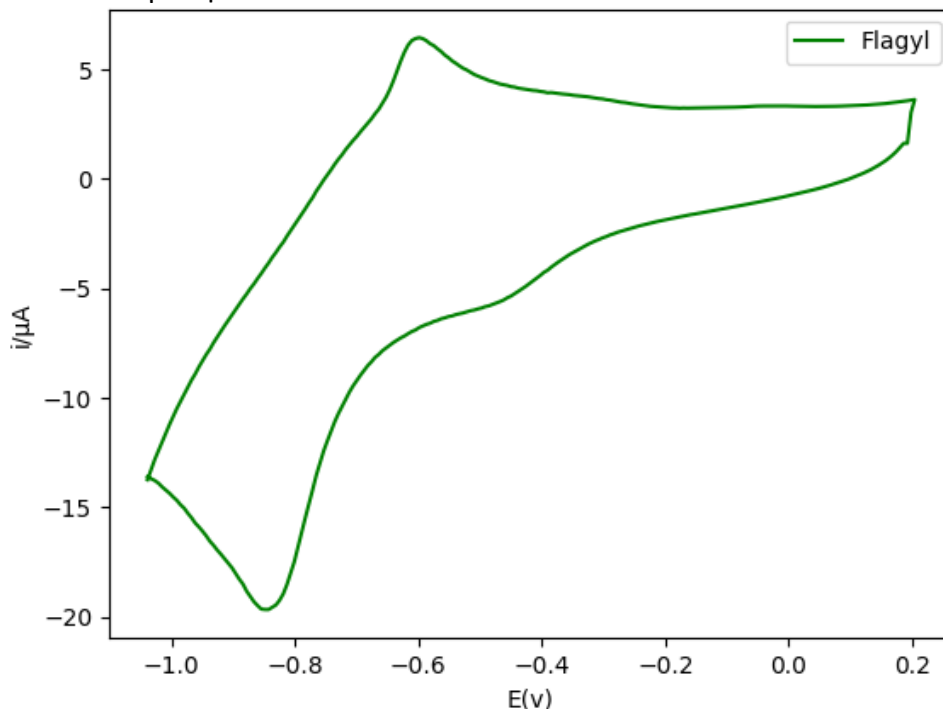


**Διάγραμμα 3.12:** Διάγραμμα βαθμονόμησης MTZ με την προτεινόμενη τεχνική κυκλικής βολταμετρίας που χρησιμοποιήθηκε

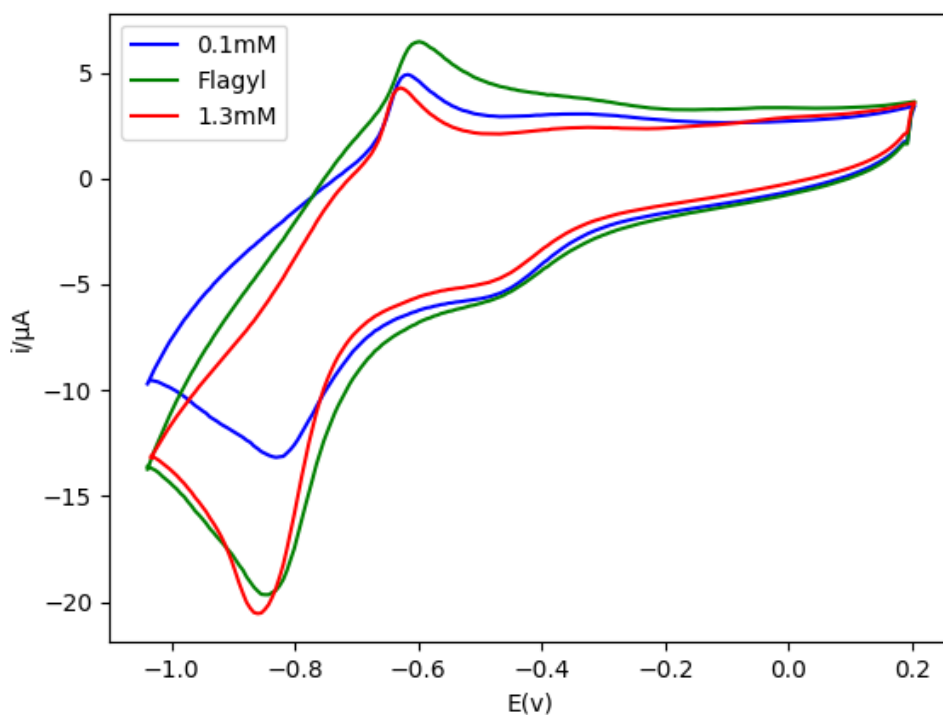
Από το **Διάγραμμα 3.12** φαίνεται ξεκάθαρα ότι η μέθοδος που εφαρμόστηκε, δηλαδή ο προσδιορισμός της MTZ με τη χρήση τροποποιημένου ηλεκτροδίου Ni/Fe-LDH, ακολουθεί μία γραμμική σχέση 1<sup>ου</sup> βαθμού με ένα αρκετά καλό συντελεστή προσδιορισμού,  $R^2$ , να ισούται με 0.9997.

Αυτό, δίνει τη δυνατότητα για εκτέλεση διαφόρων αναλύσεων για τον προσδιορισμό μιας άγνωστης συγκέντρωσης MTZ σε οποιοδήποτε υδατικό διάλυμα. Για να αξιολογηθεί η δυνατότητα εφαρμογής του τροποποιημένου ηλεκτροδίου Ni/Fe-LDH, έγινε ο προσδιορισμός της MTZ σε κάψουλες Flagyl 500mg.

Μέσα σε μια κάψουλα Flagyl, εμπεριέχονται περίπου 620mg “σκόνης”, εκ των οποίων τα 500mg είναι η δραστική ουσία MTZ. Από αυτά υπολογίστηκε μια ποσότητα 0,1075g και διαλύθηκε σε υπερκάθαρο νερό 150mL. Η συγκέντρωση του διαλύματος αυτού υπολογίστηκε στα  $6.28 \cdot 10^{-4}M$ .



**Διάγραμμα 3.13:** Κυκλικό βολταμογράφημα Flagyl, δυναμικού συναρτήσε της έντασης, με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο Ni/Fe-LDH



**Διάγραμμα 3.14:** Συγκριτικό κυκλικό βολταμογράφημα του Flagyl με αυτό που προκύπτει από την ανάλυση MTZ 0.1mM και 1.3mM, δυναμικού συναρτήσε της έντασης, με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο Ni/Fe-LDH

Το **Διάγραμμα 3.13** έχει την αναμενόμενη κυματομορφή αφού ως γνωστόν η μόνη δραστική ουσία που εμπεριέχεται στο Flagyl είναι MTZ. Αυτό, φαίνεται και πιο ξεκάθαρα στο **Διάγραμμα 3.14**, που γίνεται μια σύγκριση μεταξύ της αναλυόμενης ποσότητας του Flagyl και των ακραίων συγκεντρώσεων της MTZ που προ αναλύθηκαν.

Η διαφορά της “κάτω” κορυφής μετρήθηκε στις 74 i/μΑ  
Χρησιμοποιώντας την εξίσωση που προκύπτει από το **Διάγραμμα 3.12**

$$\psi = 42,812\chi + 48,09$$

Όπου  $\psi$  = η ένταση σε i/μΑ και  $\chi$  = η συγκέντρωση σε mM

Αντικαθιστώντας το  $\phi = 74$ , και λύνοντας ως προς  $\chi$ , προκύπτει ότι η συγκέντρωση του διαλύματος είναι  $6.08 \cdot 10^{-4}$  M. Παρατηρούμε δηλαδή μια απόκλιση της τάξης του 3%.

Με τη χρήση του Excel, υπολογίστηκε το όριο ανίχνευσης (LOD – Limit Of Detection) και το όριο ποσοτικοποίησης (LOQ – Limit Of Quantification) για βαθμό εμπιστοσύνης 95%, με τυπική απόκλιση  $SD = 0.673088$  και κλίση ευθείας  $\alpha = 42.466$ . Προκύπτει ότι:

- LOD = 0.05 mM
- LOQ = 0.15 mM

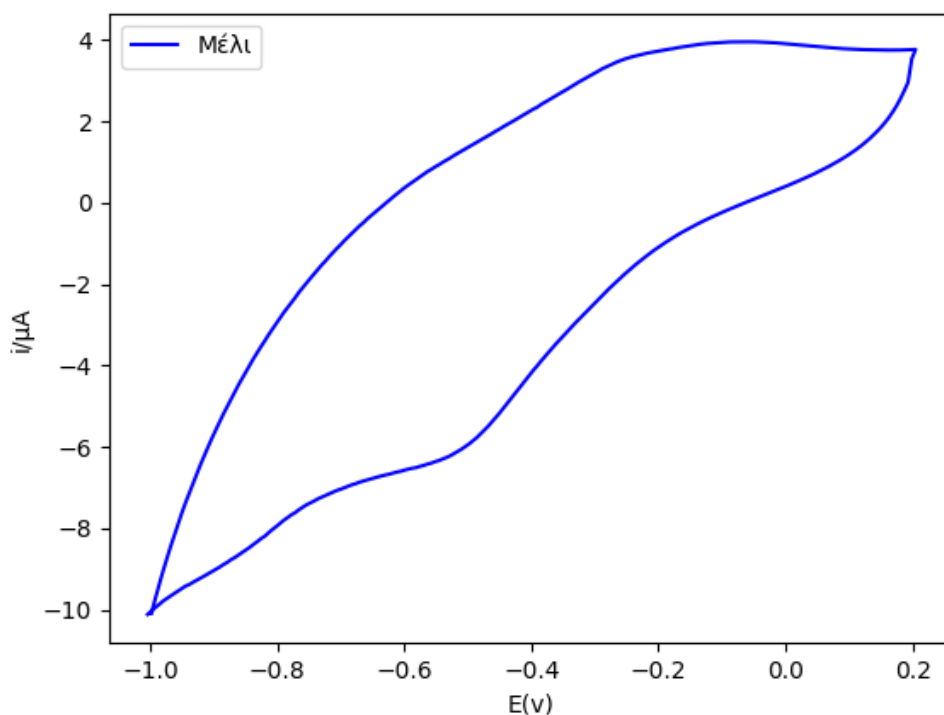
Φαίνεται ξεκάθαρα από το LOD ότι η μέθοδος έχει την ικανότητα να ανιχνεύσει πολύ μικρές συγκεντρώσεις, ακόμα και τις τάξεως των ppm. Το LOQ είναι σχεδόν ίδιο με την κατώτατη συγκέντρωση που έγινε για τον έλεγχο της μεθόδου, άρα αυτό σημαίνει ότι όλες οι μετρήσεις είχαν μια ασφάλεια.

Ένας άλλος έλεγχος που πραγματοποιήθηκε σε αυτή τη διπλωματική εργασία είναι με τη μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας MTZ σε μέλι και μετά έγινε η ανάκτησή της. Η μετρονιδαζόλη, σύμφωνα με τον Ε.Φ.Ε.Τ. δεν επιτρέπεται να υπάρχει στο μέλι γι' αυτό και παλαιότερα είχε προχωρήσει σε ανακλήσεις εμπορικών προϊόντων[51].

Αρχικά, προστέθηκαν 10mL διαλύματος MTZ 0.01M σε 4gr βιολογικού μελιού και έγινε μια καλή ανάδευση για όσο το δυνατόν καλύτερη διαλυτοποίηση του μελιού. Έπειτα, έγινε συμπλήρωση του διαλύματος με υπερκάθαρο νερό μέχρι τελικό όγκο 100mL. Γίνεται ξανά μια καλή ανάδευση. Λαμβάνονται 5mL από το νέο δ/μα και τοποθετούνται στην κυψελίδα προς ανάλυση μαζί με 5mL του ίδιου ηλεκτρολύτη με χρησιμοποιήθηκε στις προηγούμενες αναλύσεις.



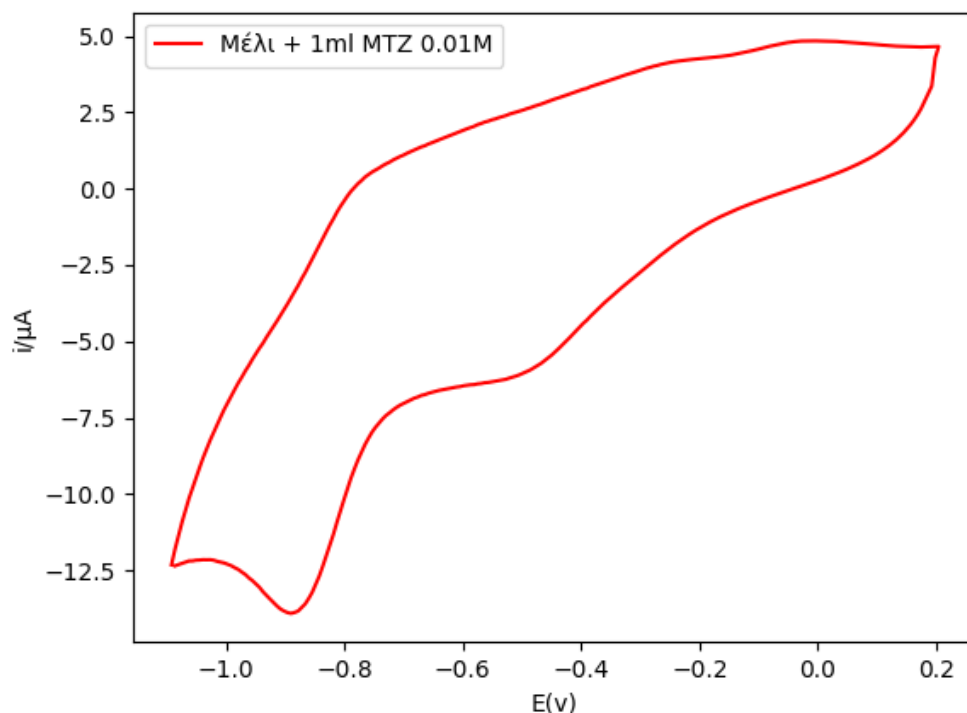
**Εικόνα 3.1:** Το βιολογικό μέλι που χρησιμοποιήθηκε



**Διάγραμμα 3.15:** Κυκλικό βολταμογράφημα μελιού, δυναμικού συναρτήσεως της έντασης, με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο Ni/Fe-LDH

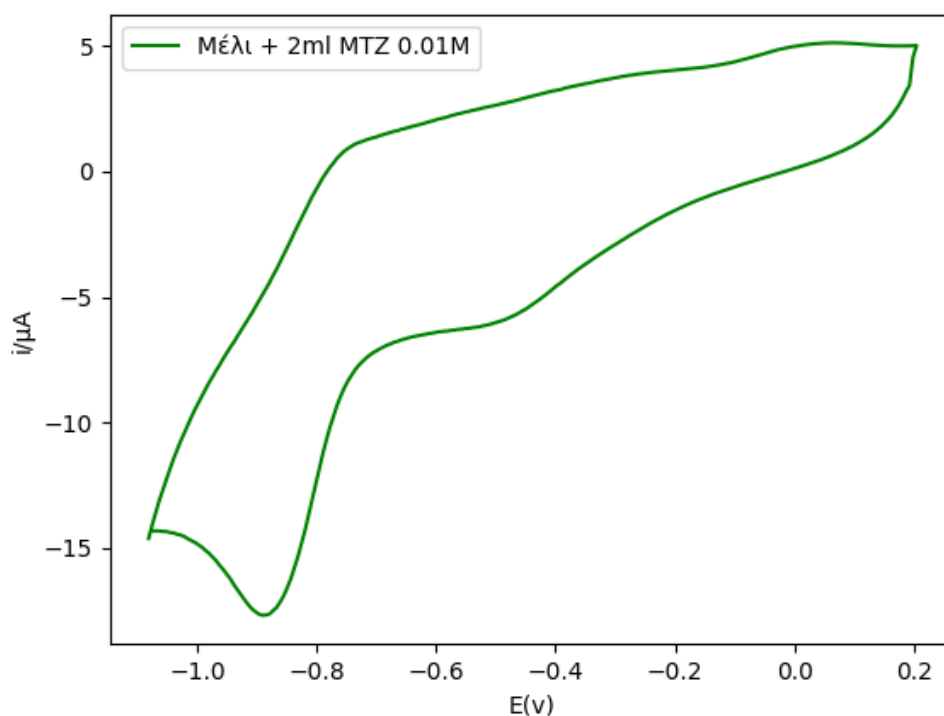


Έπειτα, γίνεται προσθήκη 1mL MTZ 0.01M απευθείας μέσα στην κυψελίδα που υπήρχε το προηγούμενο διάλυμα. Αρά τώρα στην κυψελίδα υπάρχουν 5mL δ/τος μελιού + 5mL ηλεκτρολύτη και 1mL δ/μα MTZ 0.01M.



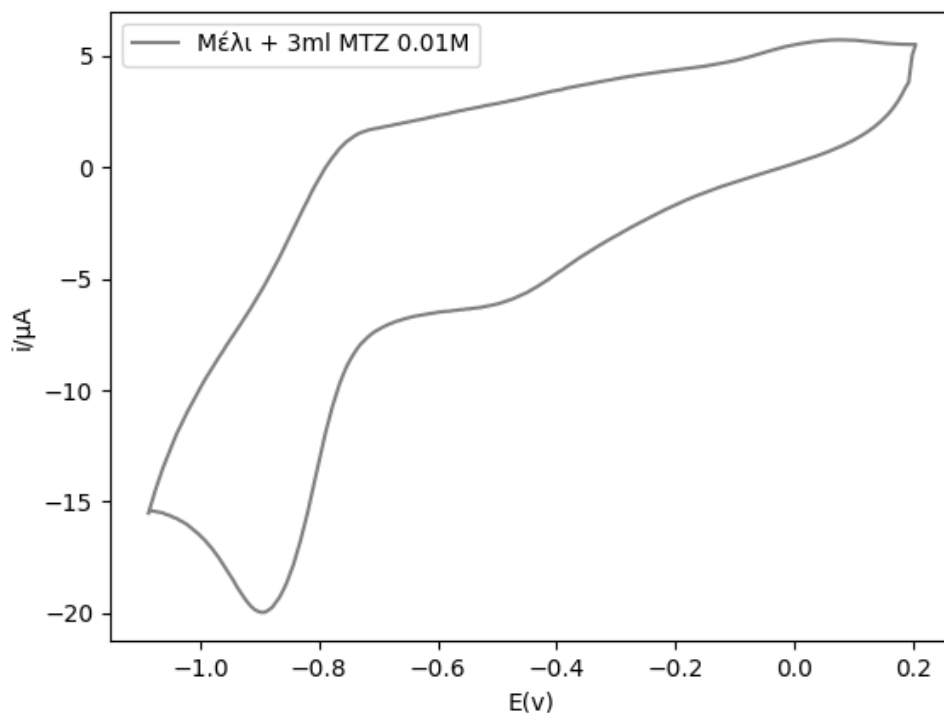
**Διάγραμμα 3.16:** Κυκλικό βολταμογράφημα 4mL μελιού μετά από προσθήκη 1mL δ/τος MTZ 0.01M, δυναμικού συναρτήσει της έντασης, με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο Ni/Fe-LDH

Γίνεται ακόμα μια προσθήκη 1mL MTZ 0.01M απευθείας μέσα στην κυψελίδα. Αρά τώρα στην κυψελίδα υπάρχουν 5mL δ/τος μελιού + 5mL ηλεκτρολύτη και 2mL δ/μα MTZ 0.01M.

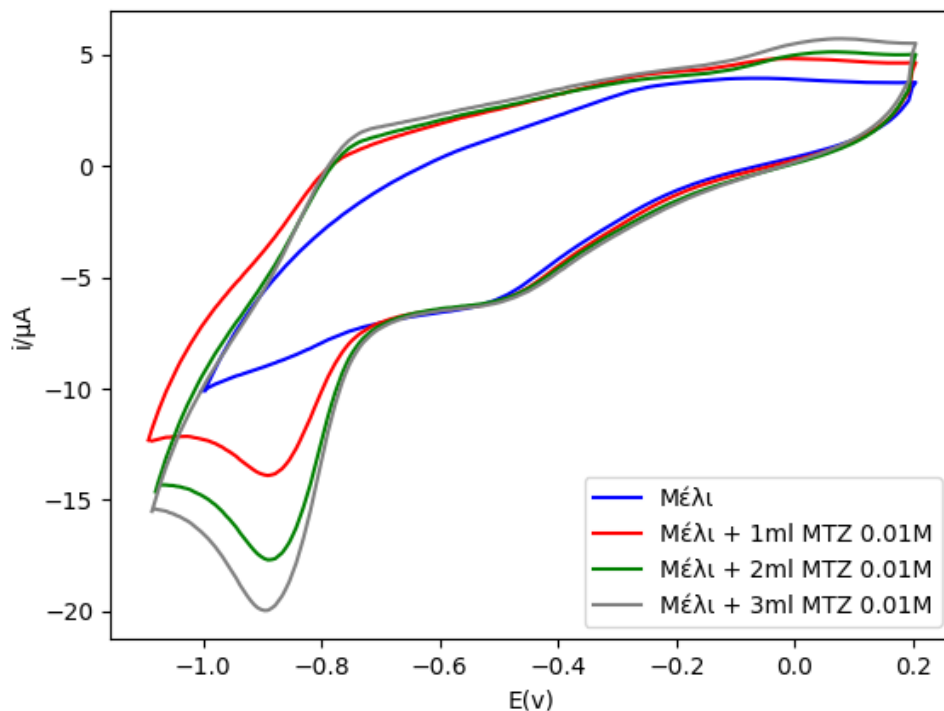


**Διάγραμμα 3.17:** Κυκλικό βολταμογράφημα 4mL μελιού μετά από προσθήκη 1mL δ/τος MTZ 0.01M (2mL συνολικά), δυναμικού συναρτήσει της έντασης, με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο Ni/Fe-LDH

Γίνεται για τελευταία φορά προσθήκη 1mL MTZ 0.01M στην κυψελίδα, όπου πλέον εμπεριέχονται 5mL δ/τος μελιού + 5mL ηλεκτρολύτη και 3mL δ/μα MTZ 0.01M.



**Διάγραμμα 3.18:** Κυκλικό βολταμογράφημα 4mL μελιού μετά από προσθήκη 1mL δ/τος MTZ 0.01M (3mL συνολικά), δυναμικού συναρτήσεως της έντασης, με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο Ni/Fe-LDH



**Διάγραμμα 3.19:** Συγκριτικό κυκλικό βολταμογράφημα με το πέρας της μεθόδου προσθήκης γνωστής ποσότητας, δυναμικού συναρτήσεως της έντασης, με τροποποιημένο ηλεκτρόδιο Ni/Fe-LDH

Όπως είναι λογικό, αλλά όπως υποδεικνύουν και τα **Διαγράμματα 3.15, 3.16, 3.17, 3.18 και 3.19**, με την αύξηση της MTZ στην κυψελίδα, αυξάνεται και το μέγεθος της κάτω κορυφής. Η μικρή μετατόπιση που παρατηρείτε προς τα αριστερά αλλά και η απουσία της πάνω κορυφής, συγκριτικά με τα υδατικά διαλύματα MTZ, οφείλεται στα αντιοξειδωτικά που εμπεριέχονται στο μέλι. Ακόμα, σε τυχόν ουσίες που δρουν παρεμποδιστικά για την ανάλυση οφείλεται το γεγονός ότι απουσιάζει η “επάνω” κορυφή.

Συγκέντρωση	I/μΑ
10mL (δ/μα και ηλ/της)	14
+ 1mL MTZ 0.01M	29
+ 2mL MTZ 0.01M	60
+ 3mL MTZ 0.01M	85

**Πίνακας 3.2:** Το μέγεθος της κάθε κορυφής σε σχέση με την εκάστοτε προσθήκη

Ορίζεται η πρώτη συγκέντρωση ως  $C_x$ , άρα ο **Πίνακας 3.2** διαμορφώνεται κάπως έτσι:

Συγκέντρωση	I/μΑ
$C_x$	14
$\frac{10}{11}C_x + \frac{1}{11}0.01M$	29
$\frac{10}{12}C_x + \frac{2}{12}0.01M$	60
$\frac{10}{13}C_x + \frac{3}{13}0.01M$	85

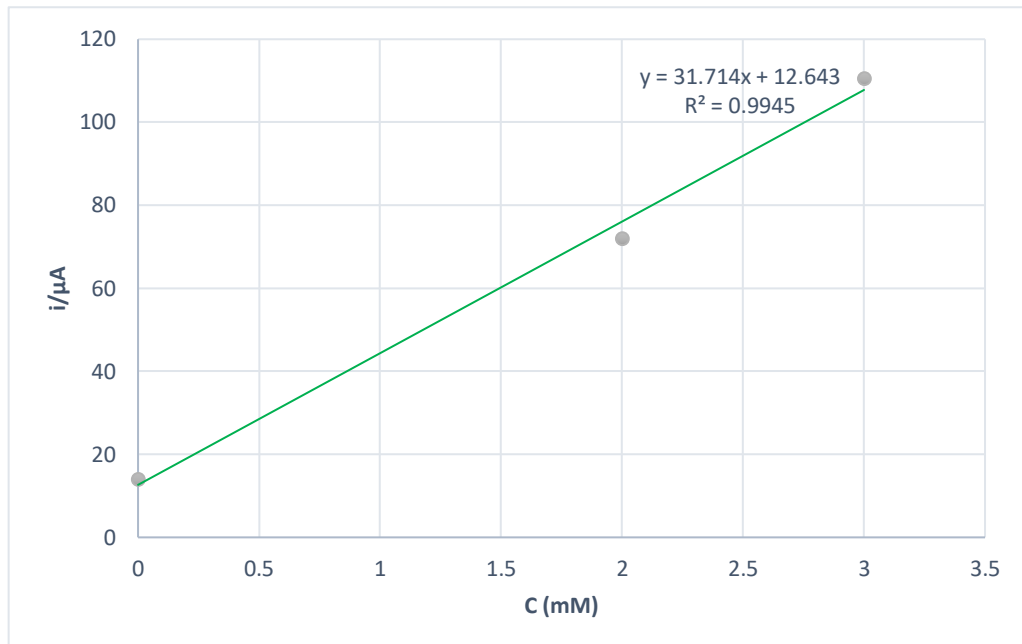
**Πίνακας 3.3:** Η μαθηματική έκφραση της συγκέντρωσης  $C_x$  σε σχέση με την εκάστοτε κορυφή

Απαλείφοντας τους παρονομαστές στην εκάστοτε σειρά του **Πίνακα 3.3** προκύπτει ο **Πίνακας 3.4:**

Συγκέντρωση	I/μΑ
$C_x$	14
$C_x + 1 * 10^{-3}$	31.9
$C_x + 2 * 10^{-3}$	72
$C_x + 3 * 10^{-3}$	110.5

**Πίνακας 3.4**

Με τα στοιχεία το **Πίνακα 3.4** καταστρώθηκε στο Excel το **Διάγραμμα 3.20**, απαλείφοντας όμως το πρώτο στοιχείο του πίνακα.



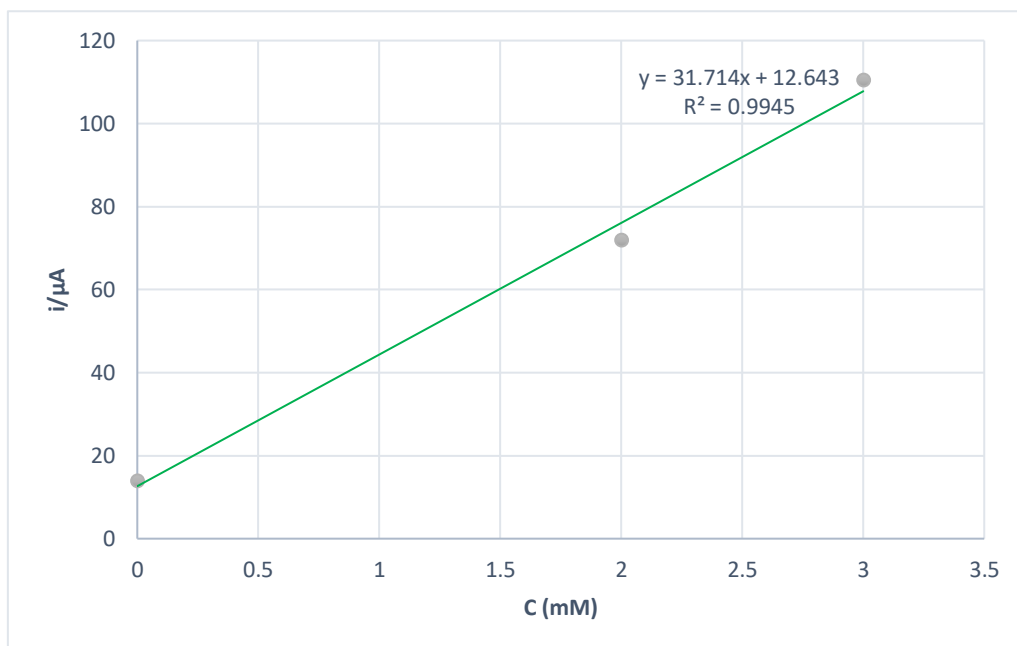
**Διάγραμμα 3.20:** Διάγραμμα βαθμονόμησης MTZ με τη μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας

Από το **Διάγραμμα 3.20** προκύπτει ότι η μέθοδος που εφαρμόστηκε έχει γραμμικότητα, με εξίσωση της ευθείας που ενώνει τα τρία σημεία είναι:

$$\psi = 39.3\chi - 7.1333$$

Με συντελεστή προσδιορισμού  $R^2 = 0.999$

Τώρα, σχεδιάζεται ένα νέο διάγραμμα, αυτή τη φορά κρατώντας το 1<sup>ο</sup> σημείο και απαλείφοντας το 2<sup>ο</sup> σημείο του **Πίνακα 3.4**.



**Διάγραμμα 3.21:** Διάγραμμα βαθμονόμησης MTZ με τη μέθοδο προσθήκης γνωστής ποσότητας

Από το **Διάγραμμα 3.21** προκύπτει ότι η εξίσωση της ευθείας που ενώνει τα τρία σημεία είναι:

$$\psi = 31.714\chi + 12.643$$

Με συντελεστή προσδιορισμού  $R^2 = 0.9945$

Λύνοντας ως προς  $\chi \rightarrow \chi = 0.3987 * 10^{-3} M$

Άρα στη κυψελίδα υπήρχαν  $0.7973 * 10^{-3} M$

→ Στα 100mL του δ/τος υπάρχουν  $0.7973 * 10^{-3} M$

Με την προσθήκη: 10mL MTZ 0.01M  $\rightarrow 1 * 10^{-4} mol$

Άρα με τη μέθοδο υπήρξε ανάκτηση της τάξης του **79.7%**

Υπολογίστηκαν και σ' αυτή τη περίπτωση τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης (LOD – LOQ), για βαθμό εμπιστοσύνης 95%, με τυπική απόκλιση  $SD = 13.71775$  και κλίση ευθείας  $\alpha = 32.96$

- LOD = 1.37mM
- LOQ = 4.16mM

Η αύξηση αυτή που παρατηρείτε σε σύγκριση με την πρώτη ανάλυση σε υδατικά διαλύματα οφείλεται και αυτή στις παρεμποδιστικές ουσίες, κυρίως αντιοξειδωτικές, που διαθέτει το μέλι. Αρά, για μεγαλύτερη ασφάλεια στις μετρήσεις πρέπει να προτεθεί μεγαλύτερη συγκέντρωση MTZ στη διαδικασία ανάκτησης.

#### 4. Συμπεράσματα

Σύμφωνα με τη μελέτη της παρούσας διπλωματικής εργασίας, ο μηχανισμός τροποποίησης ενός ηλεκτροδίου υαλώδους άνθρακα (GCE) με Ni/Fe εφαρμόζοντας τη μέθοδο των Διπλών Υδροξειδίων Φυλλόμορφης Δομής (LDHs - Layered Double Hydroxides) αποδείχθηκε αρκετά αξιόπιστος με καλά αποτελέσματα. Αυτό φαίνεται στον έλεγχο που έγινε στο Flagyl, αλλά και στη μέθοδο ανάκτησης γνωστής προσθήκης που εφαρμόστηκε, με ανάκτηση κοντά στο 80%. Ο έλεγχος στο μέλι έχει μεγάλη σημασία καθώς η παρουσία MTZ σε αυτό είναι απαγορευμένη.

Συγκριτικά με τη βιβλιογραφική έρευνα, η συνθήκες του πειράματος παρέμειναν ίδιες εκτός μιας βασικής. Αυτή, είναι ο χρόνος εναπόθεσης κατά την τροποποίηση του ηλεκτροδίου υαλώδους άνθρακα. Η βιβλιογραφία προτείνει ως χρόνο εναπόθεσης 90s ενώ στην τρέχουσα εργασία ο χρόνος ήταν 180s. Η διαφορά αυτή στο χρόνο οφείλεται ότι στην βιβλιογραφία τα πειράματα έγιναν με ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα διαμέτρου 2mm, ενώ το εργαστήριο διέθετε ένα GCE 6mm. Άρα, αυτό που είναι ξεκάθαρο είναι ότι αναλόγως του ηλεκτροδίου υαλώδους άνθρακα, αλλάζει και ο χρόνος εναπόθεσης. Αυτό είναι και το λογικό, αφού με την αύξηση της διαμέτρου ενός ηλεκτροδίου, αυξάνεται και η επιφάνεια που θα υποστεί τροποποίηση.

Μια άλλη διαφορά είναι η τεχνική με την οποία έγινε ο καθαρισμός του ηλεκτροδίου. Η προτεινόμενη τεχνική στην βιβλιογραφία είναι ο μηχανικός καθαρισμός με σκόνη αλούμινας. Γενικά στην ευρύτερη βιβλιογραφία κυριαρχούν τρεις μέθοδοι για τον καθαρισμό ενός ηλεκτροδίου υαλώδους άνθρακα. Η πρώτη είναι ο μηχανικός καθαρισμός με σκόνη αλούμινας, Η δεύτερη, είναι ο καθαρισμός σε λουτρό υπερήχων. Η τελευταία, η οποία είναι και η τεχνική που εφαρμόστηκε στη παρούσα εργασία, είναι ο καθαρισμός με τη χρήση κυκλικής βολταμετρίας σε αραιό διάλυμα θειικού οξέος. Με βάση τα πρωταρχικά πειράματα που έγιναν χρησιμοποιώντας και τις τρεις μεθόδους καθαρισμού, φάνηκε ότι η τελευταία δίνει καλύτερη επαναληψιμότητα στις μετέπειτα αναλύσεις.

Αξίζει να αναφερθεί ότι σαν μέθοδος είναι πολύ γρήγορη, με μέσο χρόνο για κάθε ανάλυση να είναι γύρω στα 25 λεπτά, εκ των οποίων τα 20 σπαταλούνται για τον καθαρισμό του ηλεκτροδίου. Αυτό αποτελεί και ένα από τα μεγαλύτερα πλεονεκτήματα της μεθόδου. Επίσης, είναι πολύ πιο απλή και μπορεί κάποιος να την χειρίζεται πιο εύκολα συγκριτικά με άλλες τεχνικές. Ειδικά η επιφάνεια εργασία που παρέχει ο κατασκευαστής είναι αρκετή εύκολη στη χρήση.

Τέλος, τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης είναι αρκετά ενθαρρυντικά, πράγμα που το ανέφερε σαν πλεονέκτημα η βιβλιογραφία. Το μόνο αρνητικό είναι ότι όσο αφορά το μέλι, με τις όποιες ουσίες διαθέτει, επηρεάζονται αυτά τα όρια. Κατά πάσα πιθανότητα, παρόμοια συμπεριφορά με τα όρια να υπάρξει και σε άλλες κατηγορίες τροφών.

Ένα άλλο αρνητικό, είναι ότι το GCE που χρησιμοποιήθηκε ήταν αρκετά ευαίσθητο σε ακαθαρσίες γι' αυτό απαιτείτε ο σωστός καθαρισμός του. Σε άλλη περίπτωση τα αποτελέσματα που δίνει είναι αρκετά εκτός του κανονικού.

## 5. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Με το πέρας της διπλωματικής εργασίας και με σκοπό την εξέλιξη της επιστήμης, διατυπώνονται κάποιες προτάσεις για μελλοντική έρευνα.

Αρχικά, προτείνεται εάν το ίδιο τροποποιημένο ηλεκτρόδιο μπορεί να ανιχνεύσει και άλλες φαρμακευτικές ουσίες πέραν της MTZ. Οι ουσίες, κυρίως αντιβιοτικά, αυτές, θα μπορούν είτε να βρίσκονται κι αυτές στα τρόφιμα όπως για παράδειγμα στο μέλι είτε σε οποιοδήποτε άλλο για το οποίο η Ε.Ε σε συνεργασία με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας έχουν θεσπίσει ανώτατα όρια. Επιπλέον, μια τέτοια τεχνική μπορεί να βρει καίρια χρήση στην πάταξη των νοθειών που αφορούν τα φάρμακα που διακινούνται στο εμπόριο.

Επίσης, το κυριότερο μέλημα για μια μελλοντική έρευνα, είναι να διαφανεί κατά πόσο μπορεί η να γίνει μια μείωση του μεγέθους του πολαρογράφου, έτσι ώστε να είναι δυνατή η μεταφορά του για τις αναλύσεις στο πεδίο.

Ενδιαφέρον θα παρουσίαζε και η επιλογή εάν μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την ανάλυση αυτή και άλλα ηλεκτρόδια. Για παράδειγμα, τα SPE, καθώς τα συγκεκριμένα δύσκολα επιδέχονται τροποποίηση αλλά έχουν μικρότερο κόστος από τα υπόλοιπα.

Επίσης, μια σύγκριση του GCE, με άλλα ηλεκτρόδια άνθρακα θα ήταν μια καλή βάση για μελλοντικές έρευνες. Δηλαδή, να γίνει μια μελέτη εάν μπορούν κι αυτά, όπως τα ηλεκτρόδια πάστας άνθρακα και γραφίτη, να τροποποιηθούν στον βαθμό που τροποποιείτε το GCE. Επιπλέον, μπορεί να πάει και ένα βήμα παραπέρα αναφορικά με το ηλεκτρόδιο γραφίτη με δοκιμές σε μύτες μολυβίων, που ως γνωστόν είναι φτιαγμένες από γραφίτη. Τυχόν θετικά αποτελέσματα μια τέτοιας έρευνας, θα άνοιγε το δρόμο για πολλές εφαρμογές που χρειάζονται ανάλυση στο πεδίο με πολύ χαμηλό κόστος.

Καταληκτικά, ακολουθώντας τις σύγχρονες τάσεις που επικρατούν στην αναλυτική χημεία, η συγκεκριμένη τεχνική της βολταμετρίας θα μπορούσε να συζευχθεί με άλλες αναλυτικές τεχνικές για μεγαλύτερη ακρίβεια αποτελεσμάτων, πιο ολοκληρωμένη άποψη σχετικά με τα συγκεκριμένα αντιβιοτικά και γενικά καλύτερες αναλύσεις. Μερικές από αυτές είναι η υγρή χρωματογραφία (HPLC) και η φασματογραφία μάζας (MS). Αυτές η μέθοδοι εκτός από την συνδυαστική δυνατότητα που προσφέρουν, μπορούν να λειτουργήσουν και ως επικύρωση για την επιλεγμένη μέθοδο που προτάθηκα στη διπλωματική.

## Βιβλιογραφία

- [1] Mohr, Kathrin I. "History of antibiotics research." *How to Overcome the Antibiotic Crisis: Facts, Challenges, Technologies and Future Perspectives* (2016): 237-272.
- [2] Hutchings, Matthew I., Andrew W. Truman, and Barrie Wilkinson. "Antibiotics: past, present and future." *Current opinion in microbiology* 51 (2019): 72-80.
- [3] Ceruelos, A. Hernández, et al. "Therapeutic uses of metronidazole and its side effects: an update." *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 23.1 (2019): 397-401.
- [4] Weir, Connor B., and Jacqueline K. Le. "Metronidazole." *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing, 2022.
- [5] Goldman, Peter. "Metronidazole." *New England Journal of Medicine* 303.21 (1980): 1212-1218.
- [6] "Metronidazole - Brand Name List from Drugs.Co". Drugs.Com, <https://www.drugs.com/ingredient/metronidazole.html>.
- [7] Roe, J. F. C. "A critical appraisal of the toxicology of metronidazole." *Metronidazole: Royal Society of Medicine International Congress and Symposium series*. No. 18. London: Royal Society of Medicine, 1979.
- [8] Lanzky, P. F., and B. Halting-Sørensen. "The toxic effect of the antibiotic metronidazole on aquatic organisms." *Chemosphere* 35.11 (1997): 2553-2561.
- [9] Ighalo, Joshua O., et al. "Mitigation of metronidazole (Flagyl) pollution in aqueous media by adsorption: a review." *Environmental Technology Reviews* 9.1 (2020): 137-148.
- [10] Siddappa, Kuruba, et al. "Spectrophotometric determination of metronidazole through Schiff's base system using vanillin and PDAB reagents in pharmaceutical preparations." *Eclética Química* 33 (2008): 41-46.
- [11] Thulasamma, P., and P. Venkateswarlu. "Spectrophotometric method for the determination of metronidazole in pharmaceutical pure and dosage forms." *Rasayan J. Chem* 2.4 (2009): 865-868.
- [12] Holler, F. James, Douglas A. Skoog, and Stanley R. Crouch. *Principles of Instrumental Analysis*, Cengage Learning. ISBN 978-0-495-01201-6, 2007: 712-713
- [13] Neild, Guy H. "William Cruickshank (FRS-1802): clinical chemist." *Nephrology Dialysis Transplantation* 11.9 (1996): 1885-1889.
- [14] Shah, Nasrullah, Muhammad Balal Arain, and Mustafa Soylak. "Historical background: Milestones in the field of development of analytical instrumentation." *New generation green solvents for separation and preconcentration of organic and inorganic species*. Elsevier, 2020. 45-73.
- [15] Antoine César Becquerel. *Nature* 17, 244–245 (1878).
- [16] Lubert, Karl-Heinz, and Kurt Kalcher. "History of electroanalytical methods." *Electroanalysis* 22.17-18 (2010): 1937-1946.
- [17] Jaroslav Heyrovsky – Biographical. NobelPrize.org. Nobel Prize Outreach AB 2023. Mon. 15 May 2023.
- [18] R.L.Mc Creery, K.K.Kline "Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry" 2nd edition (P.T.Kissinger, and W.R.Heineman, New York Eds), 1995.



- [19] R.L.Mc Creery, "Electroanalytical Chemistry" Vol.17 (Dekker, New York Eds),1991.
- [20] 3. R.L.Mc Creery, M.Callstrom, T.Neenan, D.Alsmeier, Y.Wang, Front. Chem., 2 (1990) 27
- [21] Holler, F. James, Douglas A. Skoog, and Stanley R. Crouch. 'Principles of Instrumental Analysis', Cengage Learning. ISBN 978-0-495-01201-6, 2007: 823
- [22] *Voltammetric Methods. Analytical Sciences Digital Library*, 9 June 2020, <https://chem.libretexts.org/@go/page/83731>.
- [23] Daniele, S. "VOLTAMMETRY| Anodic Stripping." (2005): 197-203.
- [24] D.B.Hibbert, "Introduction to Electrochemistry" (Macmillan, London Eds), 1993.
- [25] Ozkan, Sibel A., et al. "Electroanalytical method validation in pharmaceutical analysis and their applications." *Electroanalysis in Biomedical and Pharmaceutical Sciences: Voltammetry, Amperometry, Biosensors, Applications* (2015): 235-266.
- [26] Osteryoung, Janet G., and Robert A. Osteryoung. "Square wave voltammetry." *Analytical chemistry* 57.1 (1985): 101-110.
- [27] Venton, B. Jill, and R. Mark Wightman. "Psychoanalytical electrochemistry: dopamine and behavior." (2003): 414-A.
- [28] J.Randles, Trans. Far. Soc, 44 (1948) 327.
- [29] A.J.Bard, L.R.Faulkner, "Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications" (John Willey & Sons Eds), 1996.
- [30] R.S.Nicholson, I.Shain, Anal. Chem., 36 (1964) 706
- [31] J.J.V.Benschoten, J.Y.Lewis, W.R.Heineman, D.A.Roston, P.T.Kissinger, J. Chem. Educ, 60 {1983}772.
- [32] N. Κουλούμπη, "Ηλεκτροχημεία", Εκδόσεις Συμεών, Αθήνα 2005: 349-350
- [33] 5. A.W.Bott, Current Separations., 16 (1997) 61.
- [34] R.Samulson, J.J.O'dea, J.Osteryoung, Anal. Chem., 52 (1980) 2215.
- [35] Keyes, Tia E., and Robert J. Forster. "Spectroelectrochemistry." *Handbook of electrochemistry*. Elsevier, 2007. 591-635.
- [36] Angnes, Lúcio, et al. "Gold electrodes from recordable CDs." *Analytical chemistry* 72.21 (2000): 5503-5506.
- [37] Platinum Electrode: How Its Chemical Composition Affects Electrochemical Reactions. Analytical Sciences Digital Library, 9 June 2020, <https://chem.libretexts.org/@go/page/61017>.
- [38] McCreery, Richard L. "Advanced carbon electrode materials for molecular electrochemistry." *Chemical reviews* 108.7 (2008): 2646-2687.
- [39] Abdel-Aziz, Ali M., Hamdy H. Hassan, and Ibrahim HA Badr. "Activated Glassy Carbon Electrode as an Electrochemical Sensing Platform for the Determination of 4-Nitrophenol and Dopamine in Real Samples." *ACS omega* 7.38 (2022): 34127-34135.
- [40] Singh, Sima, Joseph Wang, and Stefano Cinti. "An overview on recent progress in screen-printed electroanalytical (bio) sensors." *ECS Sensors Plus* (2022).
- [41] [https://www.dropsens.com/en/screen\\_printed\\_electrodes\\_pag.html](https://www.dropsens.com/en/screen_printed_electrodes_pag.html)

- [42] Royce, W. *Techniques of Chemistry. Molecular Design of Electrode Surfaces*. Wiley, 1992.
- [43] Reference Electrodes. Analytical Sciences Digital Library, 9 June 2020, <https://chem.libretexts.org/@go/page/78002>.
- [44] 'A Guide to Reference Electrodes'. Sentek Limited, 1 July 2021, <https://www.sentek.co.uk/a-guide-to-reference-electrodes/>.
- [45] Graham, Daniel J. *Standard operating procedures for cyclic voltammetry*. Daniel J. Graham, 2018.
- [46] M.Noel, K.I.Vasu, "Cyclic Voltammetry and the Frontiers of Electrochemistry" 1\* eds. (Oxford & IBH Publishing Co.Pvt.Ltd. New Delhi Eds), 1990.
- [47] CIOBANU, M., JP WILBURN, and ML KRIM. "1-Fundamentals, Editor (s): Cynthia, G. Zoski, Handbook of Electrochemistry." (2007): 3-29.
- [48] Braungardt, C. B. "Evaluation of analytical instrumentation. Part XXVI: instrumentation for voltammetry." *Analytical Methods* 7.4 (2015): 1249-1260.
- [49] Wang, Qiang, and Dermot O'Hare. "Recent advances in the synthesis and application of layered double hydroxide (LDH) nanosheets." *Chemical reviews* 112.7 (2012): 4124-4155.
- [50] Nejati, Kamellia, and Karim Asadpour-Zeynali. "Electrochemical synthesis of nickel–iron layered double hydroxide: application as a novel modified electrode in electrocatalytic reduction of metronidazole." *Materials Science and Engineering: C* 35 (2014): 179-184.
- [51] <https://www.skai.gr/news/greece/anaklisi-partidas-meliou-apo-ton-efet>