

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
TEKSTILNO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

Mislav Majdak

**KEMIJSKA ANALIZA ANTIMIKROBNE PREVLAKE NA
BIORAZGRADIVIM POLIMERIMA METODOM TANKOSLOJNE
KROMATOLOGRAFIJE**

Zagreb, rujan 2020.

Ovaj rad je izrađen na Zavodu za primijenjenu kemiju pod vodstvom izv. prof. dr. dr. sc. Ive Rezić kojeg je financirala Hrvatska zaklada za znanost. Predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2019/2020.

Ovaj rad financiran je zahvaljujući projektu „Antibakterijska prevlaka za biorazgradive medicinske materijale“ (IP-2019-04-1381)“ voditeljice izv. prof. dr. dr. sc. Ive Rezić kojeg je financirala Hrvatska zaklada za znanost.

Neki potrošni materijali (gotove pripremljene podloge za tankoslojnu kromatografiju), dobiveni su zahvaljujući donaciji je koja je pristigla s Instituta Ruđer Bošković Laboratoriju za analizu elemenata u tragovima i nanočestica, voditeljice izv. prof. dr. dr. sc. Ive Rezić koji djeluje na Sveučilištu u Zagrebu Tekstilno-tehnološkom fakultetu na lokaciji Prilaz baruna Filipovića 28a, 10000 Zagreb.

Popis kratica

TK Tankoslojna kromatografija (*eng.* Thin-layer chromatography)

PLA Polilaktid

Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Tankoslojna Kromatografija	2
2.1. Nanošenje uzoraka u tankoslojnoj kromatografiji	2
2.2. Postupak razvijanja	3
2.3. Faktor zaostajanja, R_F vrijednost i Faktor razlučivanja, R_S vrijednost.....	4
2.4. Nepokretna faza.....	5
2.5. Pokretna faza	5
3. Biorazgradivi polimeri	6
3.1. Sintaza mliječne kiseline	7
3.2. Polimerizacija homopolimera i kopolimera polilaktida	8
3.3. Biorazgradljivost polilaktida	9
3.4. Upotreba PLA	10
4. Aditivna tehnologija	10
4.1. Materijali za primjenu u aditivnoj tehnologiji.....	11
4.2 Primjena aditivne tehnologije.....	12
5. Cilj rada	15
6. Metodika rada.....	15
6.1. Tankoslojna kromatografija	15
6.2. 3D tisak	21
7. Rezultati	25
7.1. Rezultati preliminarnog ispitivanja.	26
7.2. Rezultati ispitivanja 60 metalnih standarda	28
7.3. Rezultati ispitivanja različitih smjesa razvijачa u svrhu optimizacije.....	41
7.4. Rezultati ispitivanja sadržaja metalnih iona u tri realna uzorka vodenih otopina.....	63
7.5. Rezultati 3D tiska	63
7.6. Popis korištenih smjesa razvijачa.....	65

8. Rasprava rezultata	66
8.1. Rezultati preliminarnog ispitivanja metodom tankoslojne kromatografije.....	66
8.2. Rezultati ispitivanja standardnih otopina metalnih iona	66
8.3. Optimizacija kromatografskog sustava za razdvajanje metalnih iona	67
8.4. Rezultati određivanja sadržaja metalnih iona u realnim uzorcima	67
8.5. Rezultati 3D tiska	68
9. Zaključak	69
10. Literatura	70
Sažetak	73
Abstract	74

1. Uvod

Kromatografija je fizikalna metoda separacije u kojoj se između dviju faza, pokretne i nepokretne faze ispitivani sastojci gibaju i zahvaljujući raznim fizikalno-kemijskim procesima razdjeljuju iz smjese. Uzorci koji se ispituju ovom metodom u dinamičkoj su ravnoteži s pokretnom i nepokretnom fazom, pri čemu narušavanjem ravnoteže dolazi do putovanja ispitivanih spojeva.

Kromatografske metode mogu se podijeliti na temelju sastava pokretne faze, na temelju prirode ravnoteže između pokretne i nepokretne faze, te na temelju nepokretne faze. Prema prirodi ravnoteže, kromatografske metode dijelimo na razdjelnu, adsorpcijsku, afinitetnu, te kromatografiju isključenjem [1].

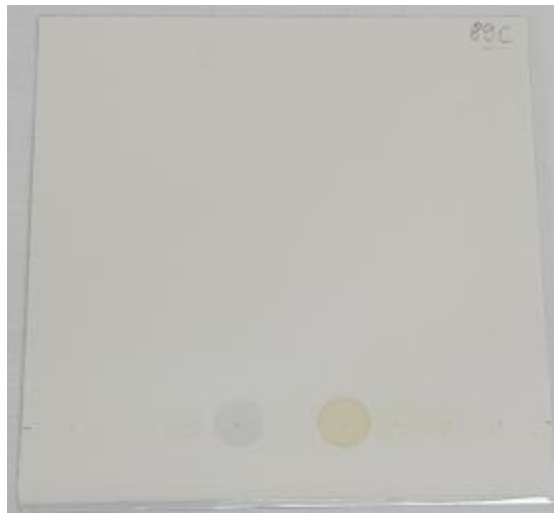
Prema sastavu pokretne faze, kromatografske metode dijelimo na plinsku kromatografiju (pokretna faza je inertni plin), tekućinska kromatografija (pokretna faza je kapljevina male viskoznosti), fluidna kromatografija pri superkritičnim uvjetima (pokretna faza je gusti plin iznad svoje kritične temperature i tlaka). Prema nepokretnim fazama, kromatografske metode možemo podijeliti na kolonsku kromatografiju; kromatografska metoda u kojoj je nepokretna faza gusto pakirana u kromatografskom stupcu, te na plošnu kromatografiju; kromatografske metode u kojima je nepokretna faza tanki homogeni sloj nanesen na podlogu.

Tankoslojna kromatografija je kromatografska metoda koja uz kromatografiju na papiru spada pod plošnu kromatografiju [1]. Zbog povoljne cijene, lakoće izvedbe analize, brzine ispitivanja, upotrebe uzoraka bez prethodnih priprema, te širokog izbora pokretnih i nepokretnih faza, tankoslojna kromatografija, kao metoda analize se pokazala vjerodostojnom metodom analize [2, 3]. U ovom dijelu rada objašnjena će biti tankoslojna kromatografija, odnosno uloga pokretne i nepokretne faze, nanošenje uzoraka, te sam postupak razvijanja.

2. Tankoslojna Kromatografija

2.1. Nanošenje uzoraka u tankoslojnoj kromatografiji

Tankoslojna kromatografija je metoda separacije u kojoj se ispitivani uzorci nanose na nepokretnu fazu kao točke ili linije na startu, te samo nanošenje može biti ručno izvedeno, pomoću mikrokapilara čiji volumeni variraju od 0,5 do 1 μL [5], ili pomoću poluautomatskih i automatskih uređaja. Pomoću mikrokapilara naime, moguće je samo nanositi uzorke kao točke, no kako prof. dr. sc. Kaštelan-Macan i suradnici navode [4], metoda nanošenja uzoraka kao točke ima svoje mane. Iako je moguće ovom metodom ispitivati veliki broj uzoraka, najveća mana je pojava prezasićenosti kromatografskog sloja što uzrokuje pojavu "repova", odnosno dolazi do širenja mrlja, što bitno utječe na identifikaciju sastojaka. Kako bi se izbjegli navedeni nedostaci vezani uz nanošenje uzoraka kao točke, koristi se nanošenje uzoraka kao vrpce, odnosno linije, pri čemu se omogućava bolja razlučenost mrlja.



Slika 1. Kromatografska pločica s uzorcima nanesenim kao točke

Automatski i poluautomatski uređaji poput Linomat 5, Camag, ATS 4 (Automatski uređaj za nanošenje uređaja), Camag, AS 30, . Desaga, koriste se kako Kaštelan-Macan i suradnici [4], te Spangenberg i suradnici navode [5], za smanjenje oštećenja sloja sorbensa, te što preciznije nanošenje uz veliko smanjenje sustavne pogreške [4, 5].



Slika 2. Linomat 5 (lijevo), AS 30 (sredina), ATS 4 (desno) [5].

2.2. Postupak razvijanja

Razvijanje ili kromatografiranje je postupak u kojemu dolazi do separacije, odnosno migracije ispitivanih uzoraka između dviju faza. Sam postupak se odvija u kromatografskim komorama i uređajima za razvijanje. Kromatografske komore su staklene posude koje se mogu podijeliti u dvije supine; klasične komore s ravnim i podijeljenim dnom, te male ili sendvič komore. Pri korištenju klasičnih komora, mora se obratiti pažnja na zasićenost. Kaštelan-Macan i suradnici [4], te Spangenberg i suradnici [6] navode da, je zasićenje klasičnih komora potrebno kako bi se izbjeglo nejednoliko otparavanje otapala s površine, odnosno kako bi se izbjegao rubni učinak, te nastajanje dvostruke fronte. No s zasićenjem može doći do smanjenja razlučenja tijekom razvijanja.



Slika 3. Komore za razvijanje s podijeljenim dnom [6].

Pomoću uređaja za razvijanje, moguće je višestruko razvijanje, razvijanje s više razvijaača, pogotovo za optimizaciju razvijaača, te za ubrzavanje razvijanja [4-6].

2.3. Faktor zaostajanja, R_F vrijednost i Faktor razlučivanja, R_S vrijednost

R_F vrijednost je "temeljni parametar koji se koristi za karakterizaciju položaja zone uzorka", odnosno predstavlja omjer udaljenosti koju prijeđe uzorak i udaljenost koju prijeđe pokretna faza.

$$R_F = \frac{X}{Y}$$

- X - udaljenost koju prijeđe uzorak od starta
- Y - udaljenost koju prijeđe pokretna faza od starta

R_F vrijednost bi radi što bolje identifikacije morala biti jednaka nakon ponavljanja ispitivanja, no zbog različitih uvjeta koji utječu na razvijanje, ponovljivost je upitna. R_S vrijednost je "stupanj razlučivanja dviju susjednih zona ili kromatografskih krivulja," odnosno omjer razmaka između dviju zona [7].

$$R_S = \frac{R_{F1} - R_{F2}}{0,5 \times (w_1 + w_2)}$$

- R_F - Faktor zaostajanja ispitivanog uzorka
- w - Širina mrlje.

2.4. Nepokretna faza

U tankoslojnoj kromatografiji, nepokretna faza sastoji se od sloja sorbensa nanesenog na inertnu podlogu, poput stakla ili plastike. Kako je prije navedeno, nepokretna faza je s pokretnom fazom te ispitivanim uzorcima u dinamičkoj ravnoteži, te narušavanjem te ravnoteže, dolazi do putovanja ispitivanih spojeva između pokretne i nepokretne faze, s adsorpcijom na površini sorbensa.

Sorbensi koji se koriste se dijele s obzirom na kemijsku strukturu i polarnost na:

- polarne anorganske sorbense, čiji su glavni predstavnici silikagel, aluminijev oksid i magnezijev silikat.
- nepolarne anorganske sorbense, čiji su glavni predstavnici ugljen i grafit.
- polarne vezane faze, kao što su aminopropil, cijanopropil i diol.
- nepolarne vezane faze, kao što su alkan, C₈ i C₁₈ ugljikovodici.
- polarne organske sorbense, čiji su glavni predstavnici celuloza, hitin i poliamid.

Sorbensi koji se najčešće koriste su silikagel, aluminijev oksid, celuloza, poliamidi i polimerni ionski izmjenjivači. Kromatografske pločice koje sadrže prirodnu i mikrokristaličnu celulozu koriste se za razdvajanje polarnih spojeva. Važno je napomenuti da pomoću celuloznih kromatografskih pločica se brže provodi razvijanje s većom osjetljivošću. Silikagel, s druge strane je sorbens koji se često koristi za separaciju ispitivanih svojstava, te njegova adsorpcijska svojstva ovise o broju, položaju i međusobnom odnosu hidroksilnih skupina koje se nalaze na površini silikagela [8].

2.5. Pokretna faza

Pokretna faza ili razvijatelj je sustav otapala koji zajedno s nepokretnom fazom i ispitivanim uzorkom čini kromatografski proces. Priroda veze između ispitivanog uzorka, razvijatelja i nepokretne faze je zaslužna za odvijanje procesa, odnosno na separaciju.

Ovisno o sposobnosti tvorbi vodikovih veza, otapala se dijele na:

- tekućine čije su molekule međusobno povezane višestrukim vodikovim vezama, njihovi najznačajniji predstavnici su voda, glicerol, aminoalkoholi, etilenglikoli.
- tekućine čije su molekule povezane vodikovim vezom i koje mogu tvoriti vodikovu vezu s molekulama ispitivanog spoja, čiji predstavnici su alkoholi, fenoli i amini.
- tekućine čije molekule sadržavaju atome kisika koji mogu imati udjela u vodikovoj vezi, ali ne sadržavaju atome vodika, njihovi predstavnici su ketoni, esteri i aldehidi.
- tekućine čije molekule sadržavaju atom vodika koji može tvoriti vodikovu vezu, ali ne sadržava odgovarajuće atome koji bi mogli imati udjela u vezi, poput kloroforma i diklormetana.
- ostale tekućine čije molekule mogu tvoriti vodikovu vezu.

Snyder i Soczewiński su postavili model koji govori o kompeticijskoj sorpciji između molekula uzorka i molekula razvijaača na površini otapala. Naime, molekule otapala i molekule uzorka imaju afinitet prema sorbensu, te pri razvijanju molekule se izmjenjuju. Ako dođe do vezanja molekula otapala na sorbens, molekule uzorka će se teško vezati na sorbens, te će biti nošene s razvijaačem do fronte pri čemu će njihova R_F vrijednost iznositi 1. Pojava nošenja i onemogućavanja vezanja molekula uzorka naziva se istiskivanje. Isto tako u ovom modelu dan je pojam jakosti otapala, koja se može definirati polarnošću otapala. Pri čemu optimalne R_F vrijednosti se dobivaju kombiniranjem udjela slabog i jakog otapala [8].

3. Biorazgradivi polimeri

Prema europskoj normi EN 13432:2000, biorazgradivi polimeri, odnosno proizvodi izrađeni od biorazgradivih polimera moraju imati svojstva biorazgradnje i kompostiranja, odnosno u navedenoj normi dani su zahtjevi koje materijal mora ispuniti kako bi ispunio uvjete biorazgradnje i kompostiranja, pri čemu samom biorazgradnjom materijala nastaje ugljikov dioksid i biomasa, bez negativnih utjecaja na okoliš [9]. S tom spoznajom možemo reći da su biorazgradivi polimeri, polimeri čije tvorevine ispunjavaju uvjete održivog razvoja, odnosno razvoja koji izlazi u susret potrebama današnjih generacija, bez ugrožavanja potreba budućih generacija. Luckachan i Pillai [10] su naveli da sama biorazgradnja se odvija u dva koraka. Prvi, u kojemu dolazi do degradacije dugih makromolekulnih lanaca u kratke lance, pri čemu endo- i egzo-

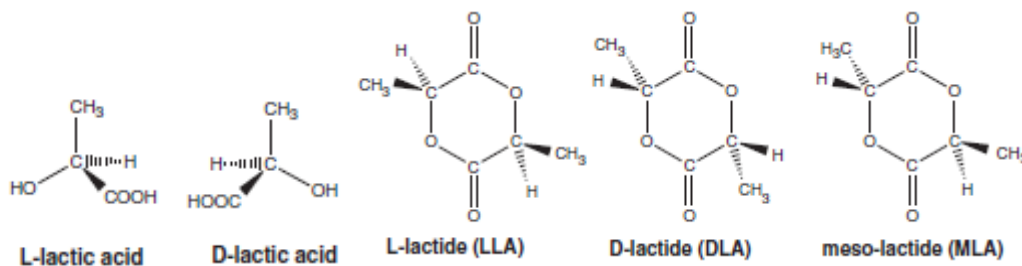
enzimi cijepaju lance. Dok u drugom koraku, nastali oligomeri bivaju probavljeni od strane enzima pri čemu nastaju plinovi i soli [10]. Avérous i Pollet navode da je upotreba biorazgradivih polimera rastući trend, trend čiji razvoj raste svake godine za 10 do 20%, te se zaključili da je upotreba takvih polimera veliki doprinos održivom razvoju [11]. Kroz ovo poglavlje opisati će se upotreba polilaktida, jednog od takvih polimera, za medicinske svrhe, dobivanje, te mogućnost biorazgradnje i različite modifikacije kojima se pospešuje mogućnost biorazgradnje.

3.1. Sinteza mliječne kiseline

Polilaktid je polimer dobiven iz prirodnih sirovina, poput kukuruza i krumpira. Monomer navedenog polimera je mliječna kiselina (2-hidroksipropionska kiselina), koja se dobiva bakterijskom fermentacijom ugljikohidrata poput glukoze, ili kemijskom sintezom za koju Castro-Aguirre i suradnici navode da je ekonomski nepovoljna [12]. Tsuji [13] je objasnio sam postupak sinteze monomera, te samim time homopolimera. Naime kao što je bilo navedeno, bakterijskom fermentacijom ugljikohidrata pomoću raznih sorti bakterija *Lactobacillus*, poput *L. delbrueckii*, *L. amylophilus*, *L. bulgaricus*, *L. leichmannii*, u kiselim uvjetima (pH 5,4 do 6,4), pri niskim temperaturama (38 do 42 °C) [12,13]. Navedene bakterije i sam postupak fermentacije imaju veliki utjecaj na svojstva dobivenog polimera, te samim time na svojstva krajnjeg proizvoda. Cilj sinteze je dobiti monomer s malim udjelom primjesa poput, organskih kiselina, alkohola, amino kiselina, proteina, kako bi se dobio PLA što veće molekulne mase. Monomeri mliječne kiseline dolaze u tri forme koje nastaju ciklizacijom L-laktida i D-laktida, L-laktid (LLA), D-laktid (DLA), te M-laktid (MLA). L-laktid se sastoji od dviju L-laktilnih jedinica, D-laktid se sastoji od dviju D-laktilnih jedinica, dok M-laktid ili mezo-laktid se sastoji od jedne L-laktilne i jedne D-laktilne jedinice. Strukturne formule navedenih monomera prikazani su na slici 4. Osim navedenih formi, postoji i smjesa, odnosno racemična smjesa LLA i DLA omjera 1:1, koja za razliku od navedenih formi, kako je prikazano u tablici 1., ima znatno višu temperaturu taljenja.

Tablica 1. Temperature taljenja formi i smjesa mliječne kiseline [13].

	LLA	DLA	MLA	Racemična smjesa LLA/DLA
Temperatura taljenja [°C]	95 - 99	95 - 99	53 - 54	124



Slika.4. Strukturne formule monomera mliječne kiseline [13].

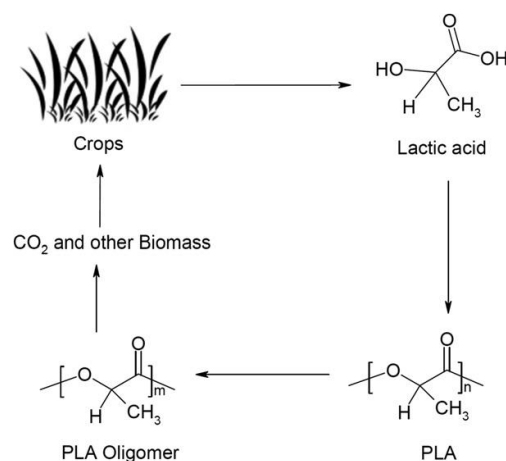
3.2. Polimerizacija homopolimera i kopolimera polilaktida

Homopolimeri PLA nastaju polimerizacijom u dva postupka. To su, postupak polimerizacije polikondenzacijom mliječne kiseline, i polimerizacija s otvaranjem prstena laktida (3,6-dimetil-1,4-dioksan-2,5-dian). Pri polimerizaciji, pogotovo ako se koristi polimerizacija otvaranjem prstena laktida, koriste se katalizatori poput kositrovog (II) klorid, kositrovog (IV) klorid, kositrova (II) bis-2-etilheksaonska kiselina. Upotrebom navedenih katalizatora povećava se molekularna masa PLA taline dobivene polikondenzacijom na 1×10^5 , dok molekularna masa PLA taline dobivene polimerizacijom otvaranjem prstena na 1×10^6 . Osim niske molekularne mase, polikondenzacijom dobiva se PLA vlakno koje je krhko, te bez dodatnih obrada nije prihvatljivo za upotrebu u tekstilne svrhe [13,14]. Inkinen i suradnici, naveli su da različite nečistoće imaju veliki utjecaj na molekularnu masu PLA, te polimerizaciju PLA. Nečistoće poput organskih kiselina, alkohola, amino kiselina, proteina, butanola, butil laktata, zaostalih iz procesa fermentacije ugljikohidrata za dobivanje mliječne kiseline, utječu na termičku degradaciju PLA, te na samu polimerizaciju [13-15]. Kako bi se uklonile navedene nečistoće, koriste se postupci pročišćavanja, od kojih je rekristalizacija najznačajnija. Rekristalizacija se provodi pomoću otapala, poput toluena i etil acetata, pri čemu je važno provesti sušenje kako bi se uklonile zaostala otapala koja mogu imati negativan utjecaj na daljnje odvijanje procesa polimerizacije [15]. Kako bi se postigla određena svojstva, poput poboljšane biorazgradljivosti, ili poboljšala upotreba za biomedicinske svrhe, tijekom polimerizacije makromolekulama polilaktida dodaju se komonomeri. Neki od tih polimernih molekula kako navode

Nampoothiri i suradnici poput škroba pomažu u biorazgradljivosti PLA, no uz smanjenje mehaničkih svojstava i povećanja krtosti PLA materijala [16]. Cheng i suradnici [17] su u svome radu ispitivali upotrebu kopolimera polilaktida i glikolne kiseline. Nacjeppljivanjem glikolne kiseline na glavni lanac polilaktida, postiže se bolja biorazgradljivost, u odnosu na obični polilaktid [17].

3.3. Biorazgradljivost polilaktida

Polilaktid kao i ostali alifatski poliesteri poput poli ϵ -kaprolaktona i polihidroksibutirata je biorazgradljiv u ljudskom tijelu i u prirodi, no zbog visoke kristaliničnosti i molekulne mase polimernih molekula, biorazgradljivost je spora [18,19]. Prema prethodno opisanom, biorazgradljivost polilaktida se ubrzava nacjeppljivanjem različitih komonomera na glavni polimerni lanac. Pošto je PLA netopiv u vodi, do razgradnje esterskih skupina, te samim time nastajanja oligomera može doći samo enzimatskom obradom, obradom s kiselinama i lužinama, pri čemu razgradnjom nastaje CO_2 i biomasa, kako je prikazano na slici 5. [20]. Kako su Tsuji i suradnici naveli u svome radu, enzimatskom obradom s proteinazom K dolazi do značajne razgradnje polimernog lanca PLA, pogotovo ako je materijal od PLA prethodno bio obrađen lužinom. Kao i Tsuji i suradnici, Luzi i suradnici [21] su dokazali da proteinaza K je prikladno sredstvo za razgradnju PLA vlakana. Naime korištenjem, navedenog enzima u vremenu od 24 sata dolazi do smanjenja mase PLA vlakana za $88,3 \pm 1,4 \%$ [20,21]. Lee i suradnici su dokazali da osim proteinaze K, lipaze, esteraze i alkalaze mogu razgraditi PLA [21].



Slika 5. Životni vijek PLA [20].

3.4. Upotreba PLA

Primjena PLA za medicinske svrhe seže kroz povijest sve do ranih 80-ih godina prošlog stoljeća, naime kako bi razni lijekovi imali što bolji utjecaj mogu biti izravno uneseni u organizam pomoću polimera koji imaju svojstvo prijenosa lijekova, u tu svrhu PLA i njegovi kopolimeri su bili detaljno istraženi, te su se pokazali prikladnim za tu namjenu. PLA se isto tako pokazao dobrom zamjenom za metalne implantate, poput šipki, vijaka i mrežica (eng. *scaffold*) koji se koriste za fiksiranje kostiju, te pomoć u zacjeljivanju oštećenog tkiva. Zahvaljujući biorazgradnji, šipke i vijke od PLA nije potrebno ukloniti operacijom kao konvencionalne metalna pomagala, te pokazuju dobru kompatibilnost s ljudskim tijelom [20-22,23]. PLA je u novije vrijeme isto tako kako su Tyler i suradnici naveli, pronašli veliku ulogu u rekonstrukcijskoj kirurgiji. Naime zbog dobre biokompatibilnosti, PLA se koristi kao kirurški konac, te za presađivanje kože [23].



Slika 6. Medicinska pomagala izrađena od PLA [22]

4. Aditivna tehnologija

Aditivna tehnologija, još poznata kao 3D tisak je metoda koja se najčešće koristi za brzu izradu prototipa koji predstavlja krajnji proizvod prije stavljanja na tržište [24]. Sam postupak se temelji na slaganju slojeva gradbene sirovine u objekte željenih dimenzija i geometrije [25,26]. Trenutno na tržištu je prisutno samo nekoliko metoda proizvodnje: stereolitografija, taložno očvršćivanje, obrada lamina i lasersko sinteriranje. Od svih navedenih tehnologija, taložno očvršćivanje je zbog isplativosti, velikog iskorištenja sirovine, te lakoće rukovanja, najraširenija i najpristupačnija metoda na tržištu. No ona ima i nedostatke, poput smanjene glatkoće zbog minimalne širine mlaznice kako Wong i Hernandez, te malenog izbora sirovina kako Ning i suradnici navode [24-27]. No ova metoda s godinama se sve više razvija i istražuje.

Naime kako su Ning i suradnici naveli, upotreba novih materijala, te implementacija vlakana se sve više istražuje kako bi se povećala mehanička svojstva tiskane tvorevine [27]. Kako bi se sam postupak 3D tiska izvršio, važno je obratiti pažnju na dizajniranje i tiskanje. Dizajniranje se provodi pomoću CAD programa za modeliranje ili računalnim skeniranjem. Nakon postupka dizajniranja, potrebno je nastalu datoteku prevesti u STL format te pomoću softwera printera zadati uvjete tiska ili dodatno dizajnirati kako bi se sam postupak mogao izvršiti. Nakon tiskanja, 3D objekt se uklanja s radne plohe i prolazi kroz završnu obradu, poput lijepljenja, bojanja itd. [28]. U ovome poglavlju opisani će biti upotreba različitih polimera za 3D tisak, te primjena aditivne tehnologije.

4.1. Materijali za primjenu u aditivnoj tehnologiji

Aditivna tehnologija nalazi sve veću primjenu u raznim granama industrije što će u kasnijem dijelu biti detaljnije objašnjeno. Kako bi primjena tehnologije obuhvatila široki spektar grana industrije, treba uzeti u obzir različite materijale koji se koriste za određene svrhe. Jedan od takvih primjera je kako je ranije bilo navedeno izrada kompozita, odnosno polimernih matrica s uloženim vlaknima. Tekinlap i suradnici [29] su ispitivali svojstva kompozita čija bi uloga bila nošenje mase, za izradu takvog kompozita koristili su ugljikova vlakna, kao ojačalo i kopolimer ABS-a kao matriks. Za izradu su koristili dvije metode proizvodnje kompozita, taložno očvršćivanje i kompresijsko prešanje. Taložno očvršćivanje se pokazalo lošom metodom, zbog povećanog udjela praznog prostora u kompozitu, slabog kvašenja između vlakana i matriksa, te smanjene duljine vlakana. Ako bi se riješili navedeni problemi, taložno očvršćivanje bi se moglo koristiti za izradu vlaknima ojačanih kompozita [29]. Osim polimernih materijala, mogu se koristiti metali; od kojih su najpoznatiji primjeri titanij, legure titanija i aluminijski, nehrđajući čelik, legure aluminijski, magnezij i silicij, zlato, srebro te platina. Osim metala, upotreba keramike se istražuje, no zbog pojave unutarnjeg puknuća keramike trenutno se istražuju alternativne metode [30]. Iako trend upotrebe aditivne tehnologije iz godine u godinu sve više raste, zbog ekološke osviještenosti, potrebno je okrenuti pažnju prema biorazgradivim polimerima. Pakkansen i suradnici [31] su ispitivali upotrebu biorazgradivih polimera za 3D tisak. Na temelju provedenog istraživanja su zaključili da je važno obratiti pažnju na degradaciju polimera tijekom upotrebe, čistoću polimera pri tiskanju, te same uvjete

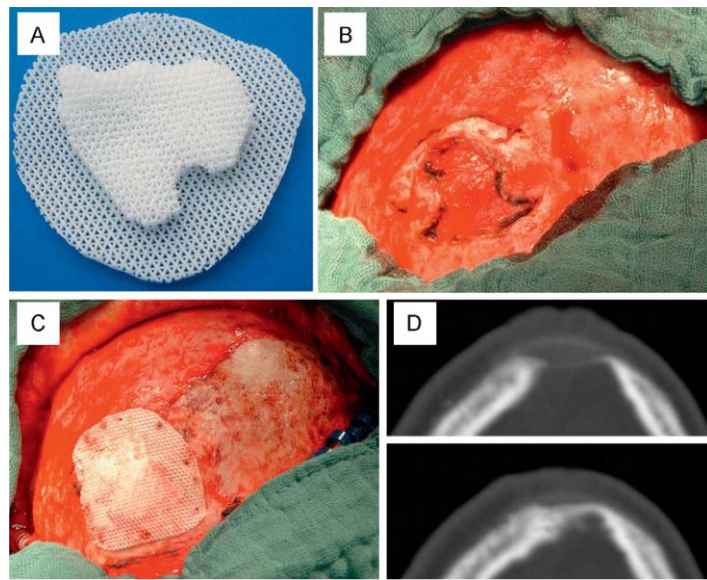
tiskanja, jer različiti polimeri različito reagiraju na vanjske uvjete poput vlage, izloženosti UV zrakama itd., što bitno utječe na uporabna svojstva finalnih proizvoda nakon tiskanja [31]. Jedan od primjera biorazgradivih polimera koji se mogu koristiti za 3D tisak je PLA. Sanchez i suradnici [32] su kao i Pakkansen i suradnici [31] ispitivali promjenu mehaničkih svojstva uzrokovanu degradacijom. Ispitivanje su provodili na materijalu koji je prošao kroz pet ciklusa recikliranja s 3D tiskom. Na temelju dobivenih rezultata su zaključili da se modul elastičnosti PLA nije mijenjao, prekidno produljenje se nakon pet ciklusa smanjilo za 10,63%, a molekularna masa za 46,91%. Na temelju dobivenih rezultata su zaključili da se primjenom aditivne tehnologije može uspješno provoditi recikliranje PLA [32].

4.2 Primjena aditivne tehnologije

Aditivna tehnologija s godinama nalazi sve veću potencijalnu primjenu te se sve više provode istraživanja za primjenu u elektronici, transportu, odnosno avio industriji, te medicini. Ako se razmotri primjena za medicinske svrhe, aditivna tehnologija će s vremenom imati široki spektar primjene [33]. Naime kako Mulford i suradnici [34] navode, primjena aditivne tehnologije u svrhu ortopedske kirurgije može revolucionizirati operacije, ali i edukaciju o anatomiji tijela. Pomoću aditivne tehnologije moguća je izrada implantanata po mjeri za dijelove tijela koji zbog različitih problema ne mogu biti zamijenjeni šablonskim implantantima. Na slici 6 je prikazana jedan od primjera implantant po mjeri [34].

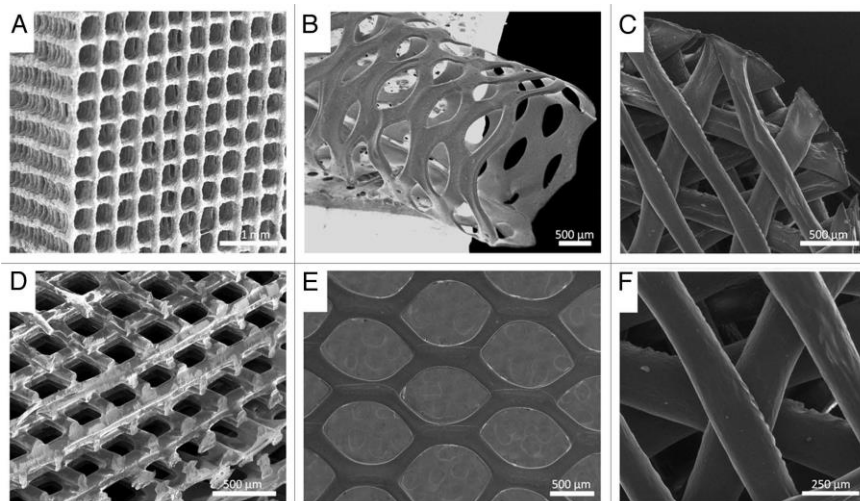
Slika 7. Implantant po mjeri [34].

Pomoću aditivne tehnologije isto tako revolucionizira se mogućnost obnove tkiva i organa. Jedan od takvih primjera je mrežica (eng. *scaffold*) izrađena od polikaprolaktona sa kalcijevim fosfatom, metodom taložnog očvršćivanja koja se koristila za popravak tkiva i kosti lubanjskog krova, *Calvaria*, odnosno vrha lubanje. Na slici 7, prikazana je operacija oštećenog tkiva s mrežicom (eng. *scaffold*), te konsolidacija kosti nakon šest mjeseci, snimana pomoću CT-a.



Slika 8. Operacija lubanjskog krova (slika B) s mrežicom (scaffold) (slika A), te CT snimke nakon operacije te nakon 6 mjeseci [35].

No Melchels i suradnici navode da je dug put prema usavršavanju aditivne tehnologije do te mjere da postane sastavna metoda za izradu umjetnih tkiva jer treba obratiti pažnju na što bolju manipulaciju materijala glede degradacije i sterilnosti [35]. U skladu s istim zaključkom, Serra i suradnici su istraživali upotrebu 3D tiskanih mrežica (eng. *scaffold*), različitih oblika, te zaključili da upotrebom takvih uzoraka, mrežica (eng. *scaffold*) izrađenih po mjeri moguće je znatno poboljšati zacjeljivanje tkiva, pri čemu kako navode, je važno obratiti pažnju na razvoj tehnologije koja bi ovisno o oštećenju mogla predvidjeti željeni oblik mrežice (eng. *scaffold*) [36].



Slika 9. Različiti oblici mrežica (eng. *scaffold*); A- ortogonalni, B- cjevasti heksagonalni plašt, C- ortogonalni, D-ortogonalni, E- heksagonalni plašt, F- dijagonalni [36].

5. Cilj rada

Interes ovoga rada je bio provođenje identifikacije metalnih iona i nanočestica poznatih po antimikrobnim svojstvima koji se koriste u tankim prevlakama na antimikrobnim biorazgradivim polimerima. Pomoću tankoslojne kromatografije provedena je identifikacija metalnih iona koji se sol-gel postupkom u obliku premaza naslojavaju na biorazgradive polimere PLA nakon 3D tiska.

Ispitivanje se provodilo kroz nekoliko koraka:

1. **Preliminarno ispitivanje:** Ovaj korak ispitivanja je bio isključivo vezan uz tankoslojnu kromatografiju, odnosno cilj ovog koraka je bio utvrditi uvjete kromatografskog sustava koji pokazuju najbolje rezultate razdvajanja metalnih iona. Odluka o izboru pločica se provodila postupkom vizualizacije
2. **Optimizacija:** Kao i prvi korak, optimizacija je korak vezan uz tankoslojnu kromatografiju. Naime, optimizacija je korak od velike važnosti pomoću kojega se utvrđuje optimalna smjesa razvijaača. Ovaj korak je osim uobičajenog jednodimenzijskog razvijanja uključivao i dvodimenzionalno razvijanje, te kao i u prvom koraku postupak vizualizacije.
3. **3D tisak:** 3D tisak je korak koji se koristio za otiskivanje polilaktida, koji služi kao supstrat na koji se metalne nanočestice mogu nanositi sol-gel postupkom.
4. **Identifikacija nanočestica naslojenih na supstrat tankoslojnom kromatografijom:** Završni korak, pomoću kojega se nepoznati uzorak analizira; te se uspoređuju rezultati dobiveni nakon kromatografske analize poznatih standardnih uzoraka metalnih iona i tri nepoznata uzorka – u svrhu identificiranja prisutnih metala iz nanočestica ili drugog porijekla.

6. Metodika rada

6.1. Tankoslojna kromatografija

Pribor:

- Mikrokapilare

- Automatska pipeta, Eppendorf
- Kromatografska komora s podijeljenim dnom, Camag
- Kromatografska komora s ravnim dnom, Camag
- Kromatografske pločice, Camag i MERCK
- UV kabinet
- Uzorci vode iz rijeka Save i Drave
- 60 standardnih otopina metalnih iona poznate koncentracije (srebro, aluminij, arsen, zlato, bor, barij, berilij, bizmut, brom, kalcij, kadmij, kobalt, krom, cezij, bakar, disprozij, europij, željezo, galij, gadolinij, germanij, hafnij, živa, holmij, indij, iridij, kalij, litij, lutecij, mangan, magnezij, molibden, natrij, niobij, neodimij, nikal, osmij, fosfor, olovo, paladij, platina, rubidij, renij, rodij, rutenij, sumpor, antimon, skandij, selenij, silicij, kositar, stroncij, tantal, telurij, torij, titanij, talij, uranij, vanadij, volfram)

Postupak ispitivanja:

Za postupak ispitivanja koristili smo 31 vrstu pločica, koje su bile donacija Instituta Ruđer Bošković. Same pločice se mogu podijeliti ovisno o tankom sloju sorbensa. Ti sorbensi su: celuloza, silikagel, poliamid i aluminijev oksid. U tablici 2 su navedene sve vrste pločica; uključujući nazive pločica, nazive proizvođača i šifri pločica, pri čemu je važno navesti da su pločice 19, 21, 22, 23 bile izrađene s hidrofobnim slojem. Korištene pločice isto tako su sadržavale i fluorescentna sredstva, koja prije svega pomažu u postupku vizualizacije pri valnoj duljini od 250 nm.

Tablica 2. Naziv korištenih pločica

OZNAKA PLOČICE	NAZIV PLOČICE	PROIZVOĐAČ	ŠIFRA
Pločica 1	Polygram Cel 300	Macherey-Nagel	209675
Pločica 2	Polygram Sil G/UV254	Macherey-Nagel	52355 (807154)
Pločica 3	Silikagel	MERCK	1.05626.0001
Pločica 4	Silikagel	MERCK	5738
Pločica 5	Polyamid 11 F254	MERCK	5557
Pločica 6	Silikagel	MERCK	5737
Pločica 7	Silikagel bez indikatora 60	MERCK	5641

Pločica 8	Silikagel	MERCK	1.05747
Pločica 9	Sil-G-25 HR	Macherey-Nagel	809033
Pločica 10	Silikagel	MERCK	1.05721.0001
Pločica 11	RP-18 modified silikagel	MERCK	1.15389
Pločica 12	Aluminum	MERCK	1.05713
Pločica 13	Silikagel 60 F254	MERCK	11798
Pločica 14	Cellulose	MERCK	5716
Pločica 15	HPTLC Li-Chrosphere	MERCK	1.15445.0001
Pločica 16	HPTLC RP-18 W	MERCK	14296
Pločica 17	Silikagel mit konzentration zone	MERCK	11846
Pločica 18	Cellulose F	MERCK	15036
Pločica 19	HPTLC RP-18 F254	MERCK	15498
Pločica 20	HPTLC	MERCK	1.15552.0001
Pločica 21	HPTLC	MERCK	1.05914
Pločica 22	HPTLC	MERCK	5914
Pločica 23	HPTLC RP18	MERCK	13274
Pločica 24	HPTLC 10X10	MERCK	1.13724
Pločica 25	Aluminium oxide F254 Type T	Macherey-Nagel	5727
Pločica 26	Celuloza F	KEMIKA	9461-4
Pločica 27	Cellulose - bez indikatora	KEMIKA	124
Pločica 28	Aluminium oxide F254 Type E	Macherey-Nagel	5713
Pločica 29	Silikagel bez indikatora	MERCK	11845
Pločica 30	Silikagel	MERCK	13728
Pločica 31	Silikagel NANO OC	MERCK	13749

Korak koji je prethodio samo nanošenje je bio izbor pločica, te obilježavanje pločice. Naime, od velike važnosti je da sama podloga, ali i sloj sorbensa nisu oštećeni, jer bilo kakvo oštećenje može dovesti do pojave turbulencije razvijaača i odbacivanja rezultata. Nakon izbora odgovarajućih pločica potrebno je bilo označiti pločice pomoću grafitne olovke, odnosno potrebno je bilo označiti granice i površinu na koju će se uzorci metalnih iona nanositi. Granice koje su se postavile su bile:

- Udaljenost od ruba koji je u dodiru sa smjesom razvijaača od 1,5 cm,
- udaljenost od bočnih rubova od 1,5 cm.

Na tako označenim pločicama, potrebno je bilo označiti površinu na koju su se metalni ioni nanosili. Razmak između svake površine ovisi isključivo o broju uzoraka koji se

nanose, no uvijek se teži što većem razmaku kako bi se smanjila mogućnost prezasićenja sloja.

Metalni ioni su se nanosili na unaprijed označene površine, ili "točke", pri čemu je važno napomenuti da se postupak nanošenja prvotno provodio pomoću mikrokapilara, koje su kasnije zbog neujednačenog volumena, kontaminacije te velike mogućnosti oštećenja sloja pri nanošenju bile zamijenjene s automatskom pipetom. Nanošenje se odvijalo subjektivno, odnosno uzorci metalnih iona su se nanosili dok nije došlo do zasićenja. Primjenom mikrokapilara potrebno je bilo pet puta nanijeti uzorak, dok primjenom automatske pipete samo jednom, kako bi se dobilo željeno zasićenje sloja. Tijekom nanošenja potrebno je koristiti sušilo za kosu. Uloga sušila za kosu je ukloniti vodu i pomoći u adsorpciji uzoraka na sloj, no sama primjena sušila za kosu je bila ograničena. Naime, kod već spomenutih hidrofobnih pločica, sušilo za kosu nije imalo svrhu, već je kod takvih pločica nanese uzorke potrebno ostaviti preko noći da se adsorbiraju na sloj. Za što bolji uvid, na slici 10 prikazane su pločica s hidrofobnim slojem i pločica koja ne sadrži hidrofobni sloj.



Slika 10. (Gornja slika) Pločica koja ne sadrži hidrofobni sloj i (Donja slika) pločica koja sadrži hidrofobni sloj.



Što se tiče metalnih iona, koristi se njih 60; prikazani su u tablici 3.

Tablica 3. Popis metalnih standarda


Broj	Naziv	Element	Broj	Naziv	Element	Broj	Naziv	Element	Broj	Naziv	Element
1	Srebro	Ag	17	Europij	Eu	33	Natrij	Na	49	Selenij	Se
2	Aluminij	Al	18	Željezo	Fe	34	Niobij	Nb	50	Silicij	Si
3	Arsen	As	19	Galij	Ga	35	Neodimij	Nd	51	Kositar	Sn
4	Zlato	Au	20	Gadolinij	Gd	36	Nikal	Ni	52	Stroncij	Sr
5	Bor	B	21	Germanij	Ge	37	Osmij	Os	53	Tantal	Ta
6	Barij	Ba	22	Hafnij	Hf	38	Fosfor	P	54	Telurij	Te
7	Berilij	Be	23	Živa	Hg	39	Olovo	Pb	55	Torij	Th
8	Bizmut	Bi	24	Holmij	Ho	40	Paladij	Pd	56	Titanij	Ti
9	Brom	Br	25	Indij	In	41	Platina	Pt	57	Talij	Tl
10	Kalcij	Ca	26	Iridij	Ir	42	Rubidij	Rb	58	Uranij	U
11	Kadmij	Cd	27	Kalij	K	43	Renij	Re	59	Vanadij	V
12	Kobalt	Co	28	Litij	Li	44	Rodij	Rh	60	Volfram	W
13	Krom	Cr	29	Lutecij	Lu	45	Rutenij	Ru			
14	Cezij	Cs	30	Mangan	Mn	46	Sumpor	S			
15	Bakar	Cu	31	Magnezij	Mg	47	Antimon	Sb			
16	Disprozij	Dy	32	Molibden	Mo	48	Skandij	Sc			

Pri razvijanju kromatografskih pločica koriste se hlapive kemikalije, u ovom slučaju klorovodična kiselina, acetonitril i destilirana voda, čije su osnovne karakteristike navedene u tablicama 4 i 5. Pošto su same kemikalije štetne, razvijanje je bilo potrebno provoditi u digestoru. U postupku razvijanja, koriste se kromatografske komore; s ravnim i s podijeljenim dnom, u koje su uzorci uranjanju nakon 20 minuta. Svrha prvotnog odležavanja razvijача u komorama je potreba za postizanjem određenog stupnja zasićenja komore s hlapivim komponentama, kako bi se izbjegla neravnomjernost fronte na pločicama.

Tablica 4. Osnovne karakteristike Acetonitrila

<p><u>C₂H₃N, Acetonitril</u></p> <p>M = 41,05 g/mol</p> <p>CAS: 75-05-8</p>	 
--	--

Tablica 5. Osnovne karakteristike Klorovodične kiseline

<p><u>HCl, klorovodična kiselina</u></p> <p>37 % AnalR NORMAPUR,</p> <p>M = 36,46 g/mol</p> <p>CAS: 7647-01-0</p>	
---	---

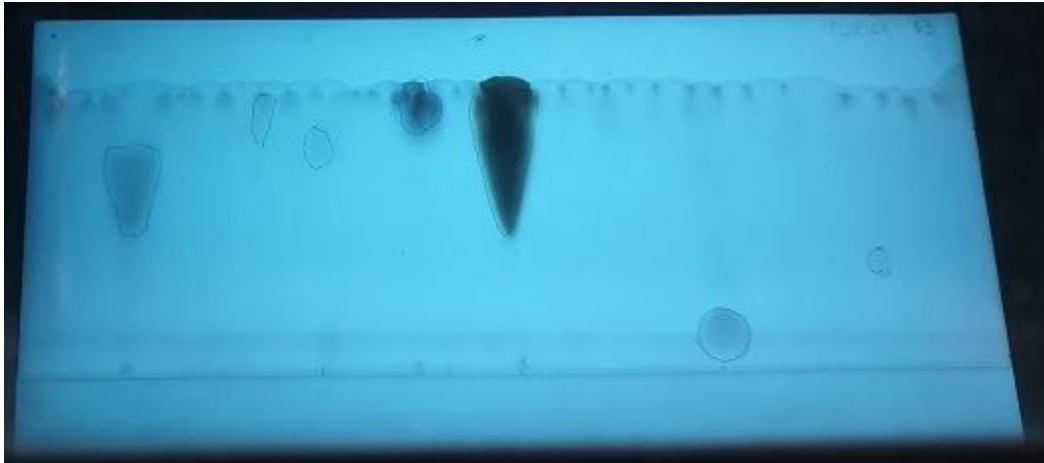
Nakon razvijanja, uzorke koji su zasićeni s hlapivim kemikalijama je potrebno osušiti na zraku, te potom pomoću sušila za kosu. Važno je napomenuti, da se uzorci tretiraju s parama amonijaka, NH_3 kako bi se poboljšala vidljivost mrlja golim okom.

Konačni korak koji slijedi je vizualizacija. Naime, određeni metalni ioni nisu vidljivi golim okom, i zbog tog razloga kromatografske pločice se obasjavaju s UV zrakama valne duljine od 250 nm. U tu svrhu se koristi UV kabinet, koja sadrži posebno staklo namijenjeno za zaštitu očiju. Za što bolji uvid u postupak vizualizacije, na slici 11 je prikazana UV kabinet s obasjanom kromatografskom pločicom.

Dok je pločica pod UV žaruljom, grafitnom olovkom se iscrtavaju obrisi mrlja. Tako iscrtanim mrljama se mjeri udaljenost od starta, odnosno početne točke pomoću ravnala. Iz dobivenih rezultata se mjeri R_F vrijednost svakog uzorka prema jednadžbi:

$$R_F = \frac{X}{Y}$$

- X - udaljenost koju prijeđe uzorak od starta
- Y - udaljenost koju prijeđe pokretna faza od starta



Slika 11. Kromatografska pločica obasjana s UV zrakama valne duljine 250 nm.

Postupak tankoslojne kromatografije se koristio za određivanje sadržaja teških metala kobalta, kroma i željeza u uzorcima vode iz rijeke Save, rijeke Drave te vodovodne vode. Ispitivanje se provodilo nanošenjem 2 μL uzoraka vode na kromatografske pločice, Celuloza F i HPTLC RP18. Osim čistih uzoraka vode, u svaki uzorak vode, volumena 10 μL „špikalo“ se 10 μL metalnih standarda kobalta, kroma i željeza.

6.2. 3D tisak

Pribor:

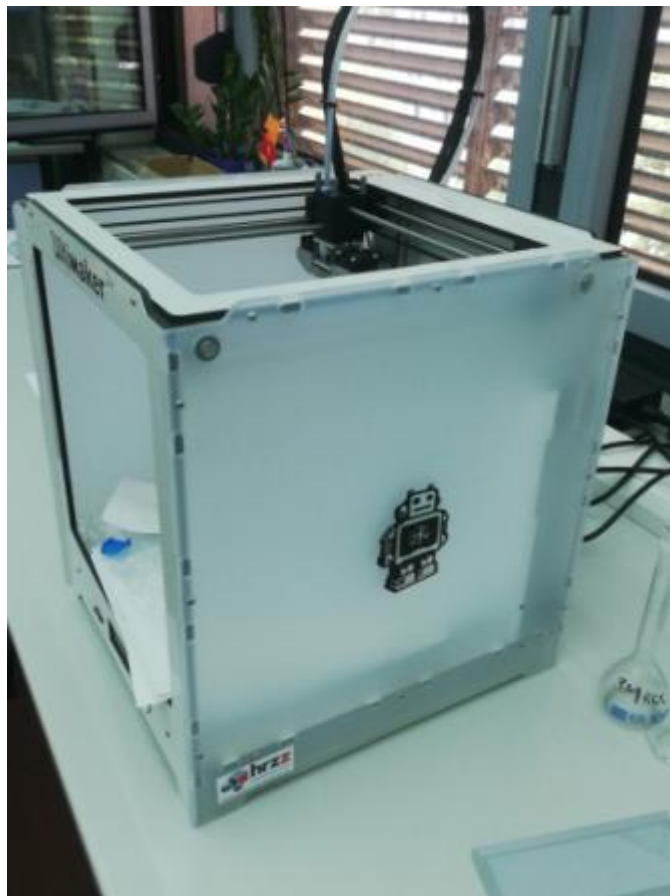
- 3D printer, Ultimaker 2+, Ultimaker (Utrecht Nizozemska)
- Laboratorijska špatula
- *Blender*, software za trodimenzionalno modeliranje
- *Ultimaker Cura*, CAD software za modeliranje i postavljanje parametara
- PLA polimer
- Skalpel

Postupak ispitivanja:

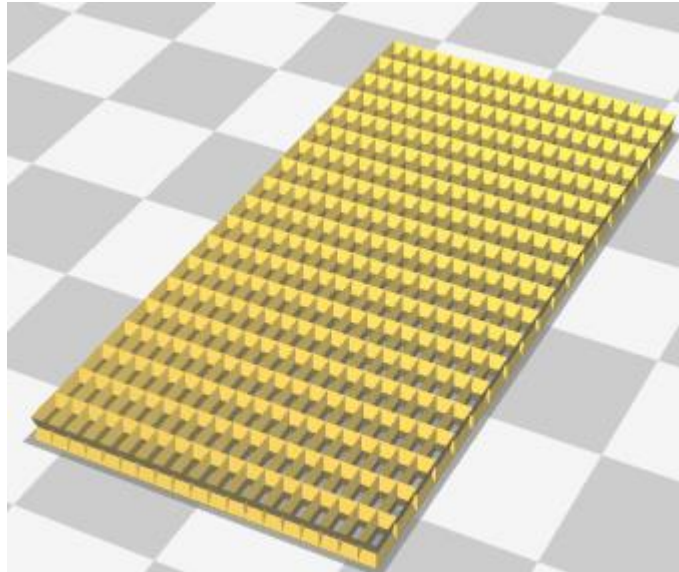
U svrhu dobivanja tiskane tvorevine koristi se 3D printer koji djeluje po principu taložnog očvršćivanja, odnosno 3D printer kroz zagrijanu mlaznicu nanosi termoplastični polimer, u ovome slučaju PLA koji se pomoću ventilatora hladi. Dakle, pomoću ove metode moguće je dobiti trodimenzionalni objekt željenog oblika, koji naravno uvelike ovisi o samim dimenzijama 3D printera (20x20 cm) i rezoluciji tiska.

Prije nego li se može započeti s postupkom tiska, potrebno je računalno modelirati objekt. U tu svrhu se koristi javno dostupni software Blender.

Tako modelirani trodimenzionalni objekt valja dodatno dizajnirati prema granicama samog printera, ali i parametrima printera. U tablici 6. dani su ulazni parametri tiska, dok na slici 13. je prikazana računalno dizajnirana pločica, dimenzija 24 x 50 x 2 mm.



Slika 12. Ultimaker 2+ 3D printer.



Slika 13. Prikaz računalno generiranog oblika pločice, dobiven obradom pomoću softwera Ultimaker Cura.

Tablica 6. Ulazni parametri tiska

Ulazni parametri	
Sirovina	PLA
Širina mlaznice	0,4 mm
Dimenzije	širina: 24 mm, duljina: 50 mm, visina: 2 mm
Visina slojeva	0,5 mm
Brzina tiskanja	40 mm/s
Temperatura	185 °C
Vrijeme tiska	21 min

Nakon postupka dizajniranja može se krenuti sa samim postupkom tiska. Prije svega je važno podlogu prekriti s ljepljivom kako se polimerna tvorevina tijekom tiska zbog naglih pokreta ne bi izobličila.

Po završetku tiska, tvorevina se hladi na temperaturu od približno 20 °C. te potom uklanja s podlog pomoću laboratorijske špatule. Pošto je tijekom tiska mlaznica

napravila potporni omotač, u svrhu ispitivanja potrebno je taj isti omotač ukloniti pomoću skalpela. Na slici 14. prikazan postupak rada 3D printera.



Slika 14. Postupak tiska pločice. Sa strane se nalazi potporni omotač koji je potrebno ukloniti.

7. Rezultati

7.1. Rezultati preliminarnog ispitivanja.

Tablica 7. Ispitivanje 31 pločice.

OZNAKA PLOČICE	NAZIV PLOČICE	Rf																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
		Ag	Al	As	Au	Bi	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Hg	Mn	Ni	Pb	Sb	Si	Sn	Zn
Pločica 1	Polygram Cel 300	0,26	0	0	0,14	0	0,96	0,62	0,21	0,81	0,87	0	0,47	0,51	0,77	0,00	0,80	0,75	0
Pločica 2	Polygram Sil G/UV254	0,3	0	0	0	0,93	0,93	0,76	0,91	0,92	0,83	0	0,69	0	0	0	0	0	0
Pločica 3	Silikagel	0,70	0	0	1,0	0	0	0,52	0	0,72	0,87	0	0	0,55	0	0	0	0	0,75
Pločica 4	Silikagel	0,27	0	0	0,99	0	0	0	0	0	1,0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pločica 5	Polyamid 11 F254	0,94	0	0	0,13	0,44	0	0,56	0,55	0	0,63	0,19	0	0	0	0	0	0	0
Pločica 6	Silikagel	0,45	0,29	0	0,95	0	0	0,78	0,23	0,34	0,26	0	0,63	0,65	0	0	0	0	0
Pločica 7	Silikagel bez indikatora 60	0	0	0	1	0	0	0,8	0,84	0,88	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0
Pločica 8	Silikagel	0	0	0	0,45	0,00	0,00	0,84	0,92	0,95	0,58	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,89
Pločica 9	Sil-G-25 HR	0,39	0,00	0,00	0,61	0,00	0,00	0,58	1	0,63	0,62	0,00	0,55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,65
Pločica 10	Silikagel	0,17	0	0	0,47	0	0	0	0,30	0,37	0,33	0,20	0	0	0	0	0	0,38	0,30
Pločica 11	RP-18 modified silikagel	0,36	0	0	0	0,52	0,96	0,56	0,94	0,95	0,97	0,41	0,77	0	0	0	0	0	0
Pločica 12	Aluminum	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Pločica 13	Silikagel 60 F254	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Pločica 14	Cellulose	0,04	0	0	0	0	0,98	0,63	0,42	0,79	0	0	0	0,63	0	0,70	0	0	0
Pločica 15	HPTLC Li-Chrosphere	0,74	0	0	0	0,92	0	0,68	0	0,84	0,49	0	0,79	0	0	0,86	0,65	0	0
Pločica 16	HPTLC RP-18 W	0	0	0	0,37	0,93	0	0,96	0,94	0,93	0,47	0	0,84	0,88	0	0	0	0	0
Pločica 17	Silikagel mit konzentration zone	0	0	0	0	0	0	0,81	0,93	0,86	0,9	0	0	0	0	0	0	0	0

Pločica 18	Cellulose F	0,11	0	0	0	0	0	0,75	0,54	0,87	0,63	0	0,6	0,67	0,78	0	0	0	0,67
Pločica 19	HPTLC RP-18 F254	0	0	0	0,3	0,79	0	0,78	0,83	0,95	0,95	1,0	0,79	0,8	0,9	0,15	0,82	0,83	0,87
Pločica 20	HPTLC	0	0,89	0	0	0	0	0,81	0,86	0,94	0,86	0	0	0,84	0	0,95	0,89	0	0
Pločica 21	HPTLC	0,09	0,97	0,00	0,31	0,88	0	0,74	0,68	0,61	0,93	0	0	0,70	0	0,91	0,66	0,91	0
Pločica 22	HPTLC	0,1	0	0	0,30	0,98	0,94	0,92	0,84	0,88	0,68	0	0	0,65	0,65	0	0	0	0
Pločica 23	HPTLC RP18	0,1	0,80	0	0,20	0,90	0,75	0,79	0,88	0,89	0,6	0,81	0,28	0,79	0,63	0	0	0,14	0,24
Pločica 24	HPTLC 10X10	0,17	0	0	2	0,98	0,45	0,98	0,39	0,92	0,42	0,34	0,71	0	0	0,86	0	0	0,68
Pločica 25	Aluminium oxide F254 Type T	0	0	0	1	0	0	0,81	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pločica 26	Celuloza F	0,92	0,77	0	0	0,77	0	0,84	0,78	0,93	0,91	0,2	0,62	0,77	0,84	0	0	0,77	0
Pločica 27	Cellulose - bez indikatora	0,12	0,92	0,86	0,92	0	0	0,65	0,62	0,84	0,93	0	0,51	0,62	0,79	0	0	0,48	0
Pločica 28	Aluminium oxide F254 Type E	0,10	0	0	0	0	0	0	0	0,05	0,07	0	0	0	0	0	0	0	0
Pločica 29	Silikagel bez indikatora	0	0	0	0	0,79	0	0	0,80	0,86	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Pločica 30	Silikagel	0	0	0	0	0	0,7	0,75	0	0,75	0,93	0	0	0	0	0	0,92	0	0
Pločica 31	Silikagel NANO OC	0	0	0	0	0	0	0,78	0,91	0,84	0,84	0,82	0	0	0	0	0	0	0

7.2. Rezultati ispitivanja 60 metalnih standarda

Tablica 8. Ispitivanje 60 metalnih iona na pločici 1, Polygram Cel 300 Macherey-Nagel. (Pločice 32-39)

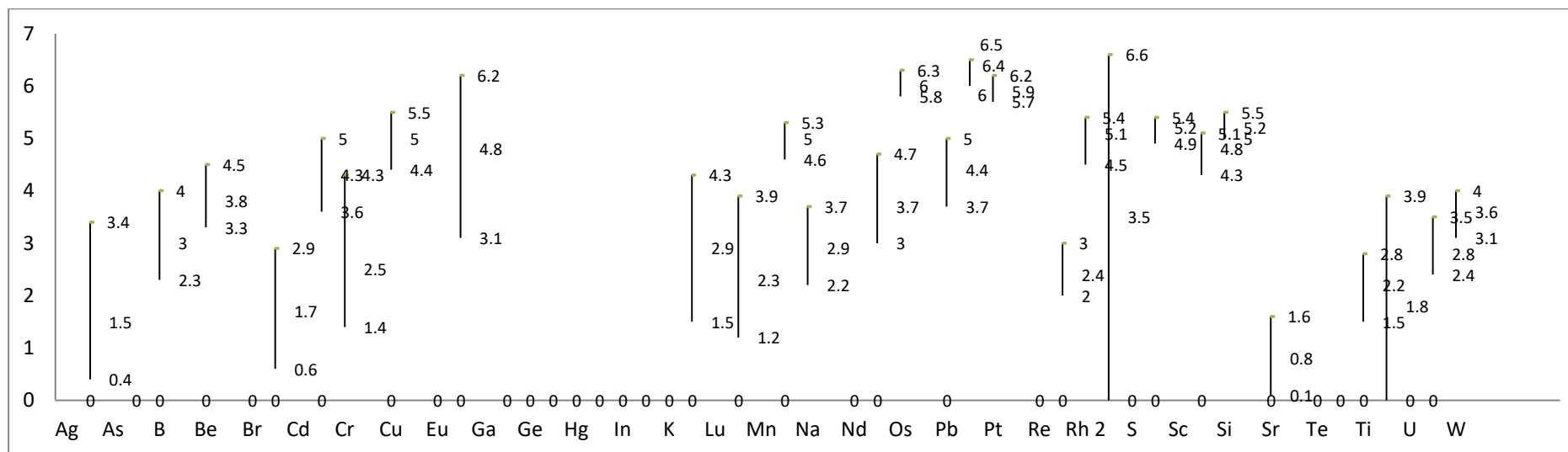
metal ⁻	x (fronta) [cm]	x (početak) [cm]	Rf (početak)	x (sredina) [cm]	Rf (sredina) [cm]	x (kraj) [cm]	Rf (kraj) [cm]	y (širina) [cm]	pločica
Ag	6,7	0	0	0	0	0	0	0	
Al	6,7	0,4	0,06	1,5	0,22	3,4	0,51	1,5	
As	6,7	0	0	0	0	0	0	0	
Au	6,7	0	0	0	0	0	0	0	32
B	6,7	2,3	0,34	3	0,45	4	0,60	1,1	
Ba	6,7	0	0	0	0	0	0	0	
Be	6,7	3,3	0,49	3,8	0,57	4,5	0,67	1,3	
Bi	6,7	0	0	0	0	0	0	0	
Br	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Ca	6,9	0,6	0,09	1,7	0,25	2,9	0,42	1,4	
Cd	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Co	6,9	3,6	0,52	4,3	0,62	5	0,72	1,4	33
Cr	6,9	1,4	0,20	2,5	0,36	4,3	0,62	1,2	
Cs	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Cu	6,9	4,4	0,64	5	0,72	5,5	0,80	1,5	
Dy	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Eu	6,8	0	0	0	0	0	0	0	
Fe	6,8	3,1	0,46	4,8	0,71	6,2	0,91	0,8	
Ga	6,8	0	0	0	0	0	0	0	
Gd	6,8	0	0	0	0	0	0	0	34
Ge	6,8	0	0	0	0	0	0	0	
Hf	6,8	0	0	0	0	0	0	0	
Hg	6,8	0	0	0	0	0	0	0	

Ho	6,8	0	0	0	0	0	0	0	
In	7	0	0	0	0	0	0	0	
Ir	7	0	0	0	0	0	0	0	
K	7	0	0	0	0	0	0	0	
Li	7	1,5	0,21	2,9	0,41	4,3	0,61	1,3	35
Lu	7	0	0	0	0	0	0	0	
Mg	7	1,2	0,17	2,3	0,33	3,9	0,56	1,3	
Mn	7	0	0	0	0	0	0	0	
Mo	7	4,6	0,66	5	0,71	5,3	0,76	1,6	

Tablica 8. (nastavak)

metal ⁻	x (fronta) [cm]	x (početak) [cm]	Rf (početak)	x (sredina) [cm]	Rf (sredina) [cm]	x (kraj) [cm]	Rf (kraj) [cm]	y (širina) [cm]	pločica
Na	6,7	2,2	0,33	2,9	0,43	3,7	0,55	1,4	
Nb	6,7	0	0	0	0	0	0	0	
Nd	6,7	0	0	0	0	0	0	0	
Ni	6,7	3	0,45	3,7	0,55	4,7	0,70	1	36
Os	6,7	5,8	0,87	6	0,90	6,3	0,94	1,5	
P	6,7	0	0	0	0	0	0	0	
Pb	6,7	3,7	0,55	4,4	0,66	5	0,75	1,5	
Pd	6,7	6	0,90	6,4	0,96	6,5	0,97	1,5	
Pt	6,6	5,7	0,86	5,9	0,89	6,2	0,94	1,3	
Rb	6,6	0	0	0	0	0	0	0	
Re	6,6	0	0	0	0	0	0	0	
Rh	6,6	2/4,5	0,30/0,68	2,4/5,1	0,36/0,77	3/5,4	0,45/0,82	1,1/1,3	37
Ru	6,6	0	0	3,5	0,53	6,6	1,00	1,7	
S	6,6	0	0	0	0	0	0	0	
Sb	6,6	4,9	0,74	5,2	0,79	5,4	0,82	1,2	

Sc	6,6	0	0	0	0	0	0	0	0	
Se	6,7	4,3	0,64	4,8	0,72	5,1	0,76	1,5		
Si	6,7	5	0,75	5,2	0,78	5,5	0,82	1,2		
Sn	6,7	0	0	0	0	0	0	0		
Sr	6,7	0,1	0,01	0,8	0,12	1,6	0,24	1,4	38	
Ta	6,7	0	0	0	0	0	0	0		
Te	6,7	0	0	0	0	0	0	0		
Th	6,7	0	0	0	0	0	0	0		
Ti	6,7	1,5	0,22	2,2	0,33	2,8	0,42	1,4		
Tl	6,8	0	0	1,8	0,26	3,9	0,57	1,3		
U	6,8	0	0	0	0	0	0	0		
V	6,8	2,4	0,35	2,8	0,41	3,5	0,51	1,4		
W	6,8	3,1	0,46	3,6	0,53	4	0,59	1,2	39	



Slika 15. Grafički prikaz raspodjele uzoraka metalnih iona na razvijenim kromatografskim pločicama 32 do 39

Tablica 9. Ispitivanje 60 metalnih iona na pločici 8, Silikagel DC 60 F254 MERCK (Pločice 40-47)

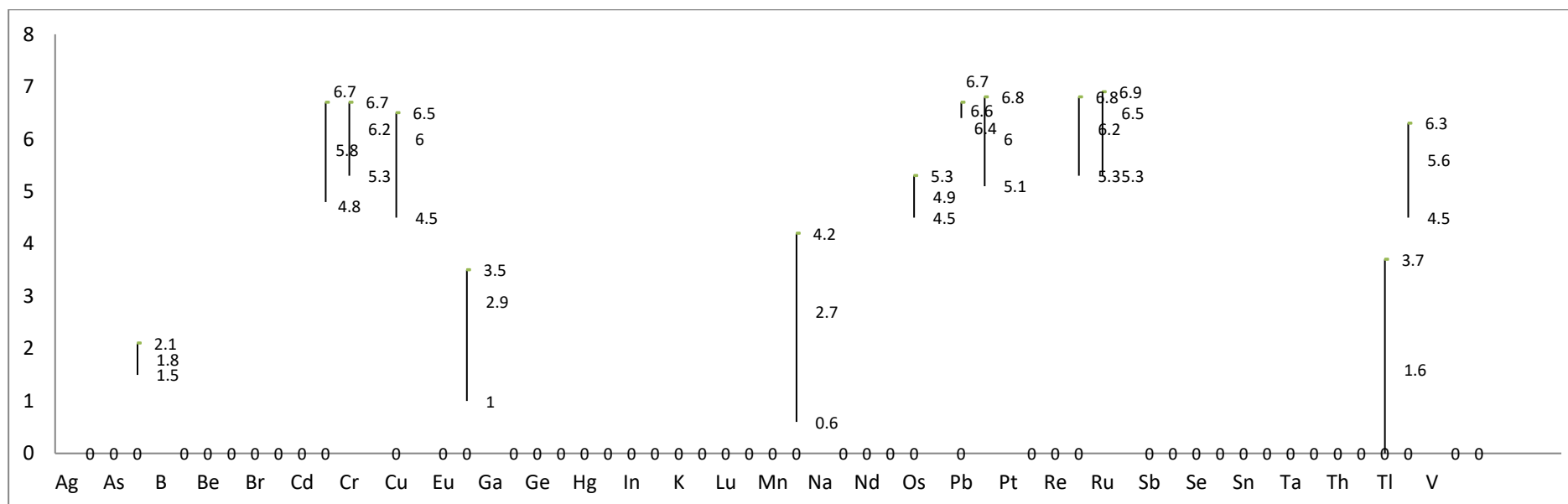
metal ⁻	x (fronta) [cm]	x (početak) [cm]	Rf (početak)	x (sredina) [cm]	Rf (sredina) [cm]	x (kraj) [cm]	Rf (kraj) [cm]	y (širina) [cm]	pločica
Ag	6,2	0	0	0	0	0	0	0	
Al	6,2	0	0	0	0	0	0	0	
As	6,2	0	0	0	0	0	0	0	
Au	6,2	1,5	0,24	1,8	0,29	2,1	0,34	1,5	40
B	6,2	0	0	0	0	0	0	0	
Ba	6,2	0	0	0	0	0	0	0	
Be	6,2	0	0	0	0	0	0	0	
Bi	6,2	0	0	0	0	0	0	0	
Br	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Ca	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Cd	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Co	6,9	4,8	0,70	5,8	0,84	6,7	0,97	1,4	41
Cr	6,9	5,3	0,77	6,2	0,90	6,7	0,97	1,2	
Cs	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Cu	6,9	4,5	0,65	6	0,87	6,5	0,94	1,4	
Dy	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Eu	6,5	0	0	0	0	0	0	0	
Fe	6,5	1	0,15	2,9	0,45	3,5	0,54	1,5	
Ga	6,5	0	0	0	0	0	0	0	
Gd	6,5	0	0	0	0	0	0	0	42
Ge	6,5	0	0	0	0	0	0	0	
Hf	6,5	0	0	0	0	0	0	0	
Hg	6,5	0	0	0	0	0	0	0	
Ho	6,5	0	0	0	0	0	0	0	
In	6,6	0	0	0	0	0	0	0	

Ir	6,6	0	0	0	0	0	0	0	
K	6,6	0	0	0	0	0	0	0	
Li	6,6	0	0	0	0	0	0	0	43
Lu	6,6	0	0	0	0	0	0	0	
Mg	6,6	0	0	0	0	0	0	0	
Mn	6,6	0	0	0	0	0	0	0	
Mo	6,6	0,6	0,09	2,7	0,41	4,2	0,64	1,1	

Tablica 9. (nastavak)

metal	x (fronta) [cm]	x (početak) [cm]	Rf (početak)	x (sredina) [cm]	Rf (sredina) [cm]	x (kraj) [cm]	Rf (kraj) [cm]	y (širina) [cm]	pločica
Na	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Nb	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Nd	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Ni	6,9	0	0	0	0	0	0	0	44
Os	6,9	4,5	0,65	4,9	0,71	5,3	0,77	1,3	
P	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Pb	6,9	6,4	0,93	6,6	0,96	6,7	0,97	1,1	
Pd	6,9	5,1	0,74	6	0,87	6,8	0,99	1,8	
Pt	7	0	0	0	0	0	0	0	
Rb	7	0	0	0	0	0	0	0	
Re	7	0	0	0	0	0	0	0	
Rh	7	5,3	0,76	6,2	0,89	6,8	0,97	0,4	45
Ru	7	5,3	0,76	6,5	0,93	6,9	0,99	2,3	
S	7	0	0	0	0	0	0	0	
Sb	7	0	0	0	0	0	0	0	
Sc	7	0	0	0	0	0	0	0	
Se	0	0	0	0	0	0	0	0	

Si	0	0	0	0	0	0	0	0	
Sn	0	0	0	0	0	0	0	0	
Sr	0	0	0	0	0	0	0	0	46
Ta	0	0	0	0	0	0	0	0	
Te	0	0	0	0	0	0	0	0	
Th	0	0	0	0	0	0	0	0	
Ti	0	0	0	0	0	0	0	0	
Tl	6,3	0	0	1,6	0,25	3,7	0,59	1,1	
U	6,3	4,5	0,71	5,6	0,89	6,3	1	2,1	
V	6,3	0	0	0	0	0	0	0	
W	6,3	0	0	0	0	0	0	0	47



Slika 16. Grafički prikaz raspodjele uzoraka metalnih iona na razvijenim kromatografskim pločicama 40 do 47

Tablica 10. Ispitivanje 60 metalnih iona na pločici 19, HPTLC RP-18 F254 MERCK (Pločice 48-55)

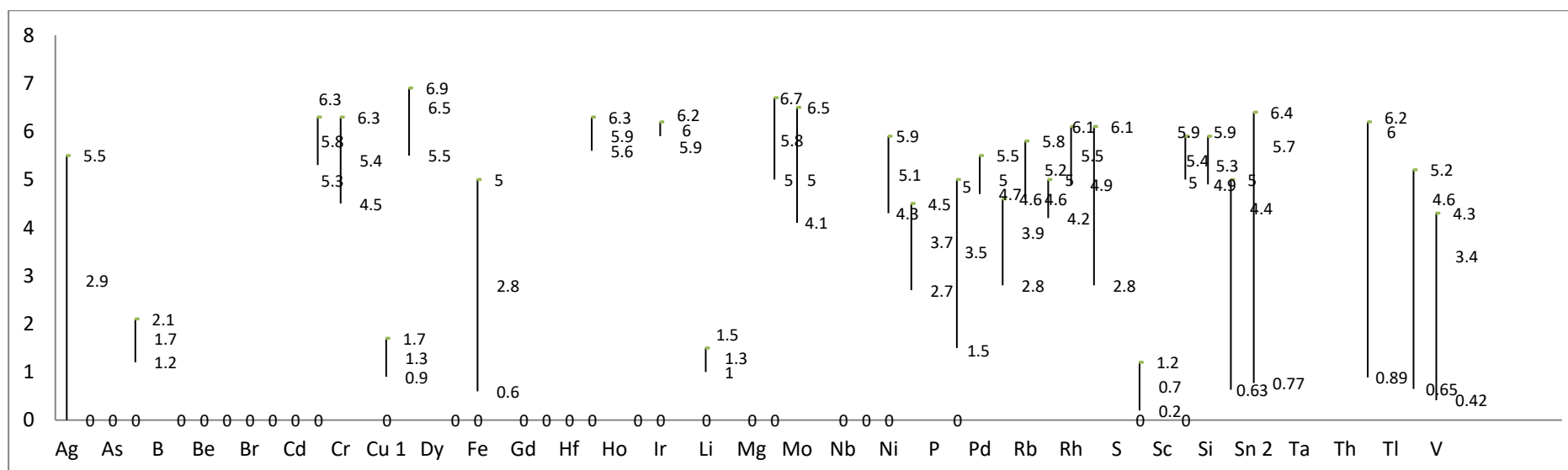
metal ⁻	x (fronta) [cm]	x (početak) [cm]	Rf (početak)	x (sredina) [cm]	Rf (sredina) [cm]	x (kraj) [cm]	Rf (kraj) [cm]	y (širina) [cm]	pločica
Ag	6,3	0	0	2,9	0,46	5,5	0,87	0,5	
Al	6,3	0	0	0	0	0	0	0	
As	6,3	0	0	0	0	0	0	0	
Au	6,3	1,2	0,19	1,7	0,27	2,1	0,33	1	48
B	6,3	0	0	0	0	0	0	0	
Ba	6,3	0	0	0	0	0	0	0	
Be	6,3	0	0	0	0	0	0	0	
Bi	6,3	0	0	0	0	0	0	0	
Br	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Ca	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Cd	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Co	6,9	5,3	0,77	5,8	0,84	6,3	0,12	1	49
Cr	6,9	4,5	0,65	5,4	0,78	6,3	0,91	0,9	
Cs	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Cu	6,9	0,9/5,5	0,13/0,80	1,3/6,5	0,19/0,94	1,7/6,9	0,25/1	0,7/3,5	
Dy	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Eu	7	0	0	0	0	0	0	0	
Fe	7	0,6	0,09	2,8	0,4	5	0,71	2	
Ga	7	0	0	0	0	0	0	0	
Gd	7	0	0	0	0	0	0	0	50
Ge	7	0	0	0	0	0	0	0	
Hf	7	0	0	0	0	0	0	0	
Hg	7	5,6	0,80	5,9	0,84	6,3	0,90	1,1	
Ho	7	0	0	0	0	0	0	0	
In	6,8	0	0	0	0	0	0	0	

Ir	6,8	5,9	0,87	6	0,88	6,2	0,91	0,6	
K	6,8	0	0	0	0	0	0	0	
Li	6,8	1	0,15	1,3	0,19	1,5	0,22	0,7	51
Lu	6,8	0	0	0	0	0	0	0	
Mg	6,8	0	0	0	0	0	0	0	
Mn	6,8	5	0,74	5,8	0,85	6,7	0,99	1,1	
Mo	6,8	4,1	0,60	5	0,74	6,5	0,96	1,5	

Tablica 10. (nastavak)

metal □	x (fronta) [cm]	x (početak) [cm]	Rf (početak)	x (sredina) [cm]	Rf (sredina) [cm]	x (kraj) [cm]	Rf (kraj) [cm]	y (širina) [cm]	pločica
Na	5,9	0	0	0	0	0	0	0	
Nb	5,9	0	0	0	0	0	0	0	
Nd	5,9	0	0	0	0	0	0	0	
Ni	5,9	4,3	0,73	5,1	0,86	5,9	1,00	0,7	52
Os	5,9	2,7	0,46	3,7	0,63	4,5	0,76	0,7	
P	5,9	0	0	0	0	0	0	0	
Pb	5,9	1,5	0,25	3,5	0,59	5	0,85	0,7	
Pd	5,9	4,7	0,80	5	0,85	5,5	0,93	1	
Pt	6,3	2,8	0,44	3,9	0,62	4,6	0,73	1	
Rb	6,3	4,6	0,73	5,2	0,83	5,8	0,92	0,4	
Re	6,3	4,2	0,67	4,6	0,73	5	0,79	0,6	
Rh	6,3	4,9	0,78	5,5	0,87	6,1	0,97	0,9	53
Ru	6,3	2,8	0,44	4,9	0,78	6,1	0,97	1,3	
S	6,3	0	0	0	0	0	0	0	
Sb	6,3	0,2	0,03	0,7	0,11	1,2	0,19	1,1	

Sc	6,3	0	0	0	0	0	0	0	0	
Se	6,5	5	0,77	5,4	0,83	5,9	0,91	1,2		
Si	6,5	4,9	0,83	5,3	0,90	5,9	0,91	0,5		
Sn	6,5	4,1/5	0,63/0,77	4,4/5,7	0,68/0,88	5/6,4	0,77/0,98	0,7/1		
Sr	6,5	0	0	0	0	0	0	0	54	
Ta	6,5	0	0	0	0	0	0	0		
Te	6,5	0	0	0	0	0	0	0		
Th	6,5	0	0	0	0	0	0	0		
Ti	6,5	5,8	0,89	6	0,92	6,2	0,95	0,5		
Tl	6,5	0	0	0	0	0	0	0		
U	6,5	4,2	0,65	4,6	0,71	5,2	0,8	0,7		
V	6,5	2,7	0,42	3,4	0,52	4,3	0,66	1,1		
W	6,5	0	0	0	0	0	0	0	55	



Slika 17. Grafički prikaz raspodjele uzorka metalnih iona na razvijenim kromatografskim pločicama 48 do 55

Tablica 11. Ispitivanje 60 metalnih iona na pločici 26, Celuloza F KEMIKA (Pločice 56-63)

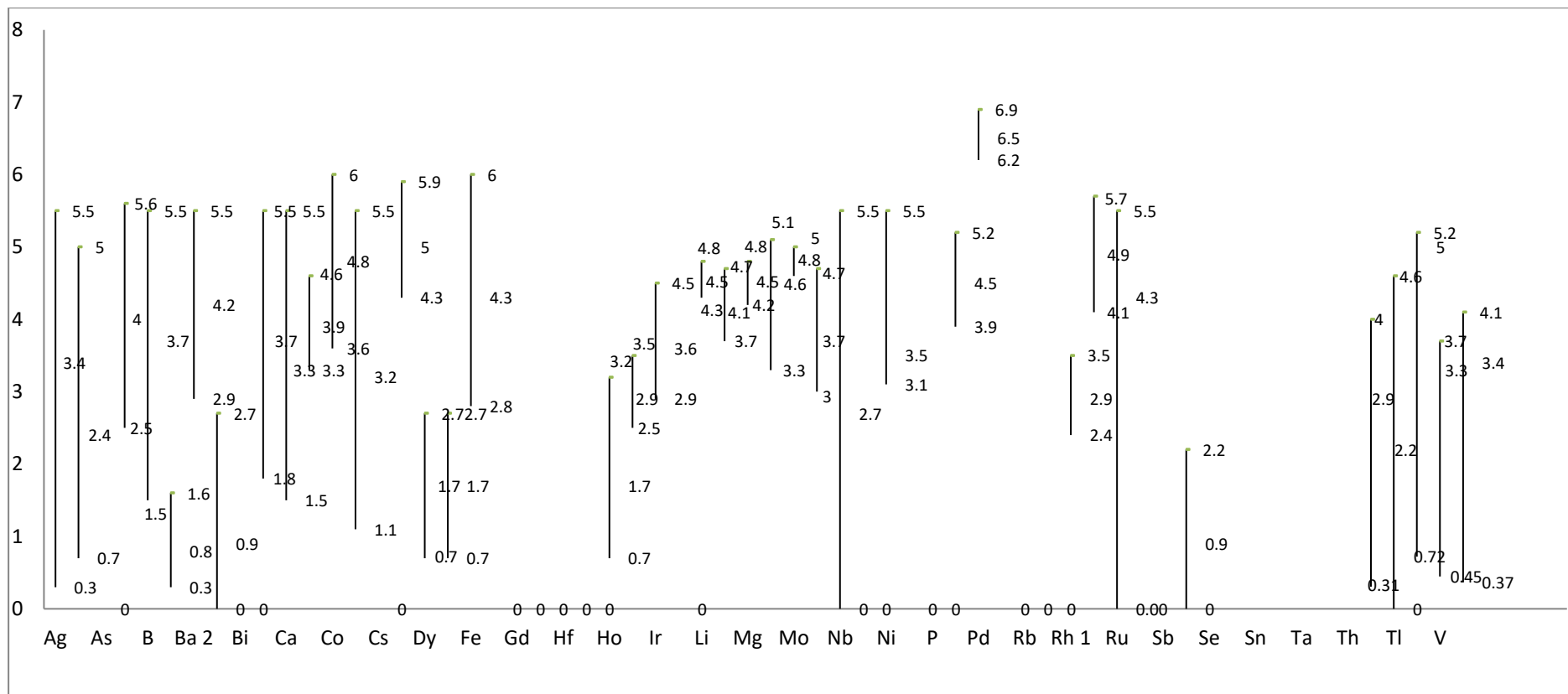
metal ⁻	x (fronta) [cm]	x (početak) [cm]	Rf (početak)	x (sredina) [cm]	Rf (sredina) [cm]	x (kraj) [cm]	Rf (kraj) [cm]	y (širina) [cm]	pločica
Ag	6,9	0,3	0,04	3,4	0,49	5,5	0,80	2	
Al	6,9	0,7	0,10	2,4	0,35	5	0,72	1,9	
As	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Au	6,9	2,5	0,36	4	0,58	5,6	0,81	2	56
B	6,9	1,5	0,22	3,7	0,54	5,5	0,80	2	
Ba	6,9	0,3/2,9	0,04/0,42	0,8/4,2	0,12/0,61	1,6/5,5	0,23/0,80	1,6/1,5	
Be	6,9	0	0	0,9	0,13	2,7	0,39	1,4	
Bi	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Br	6,7	1,8	0,27	3,7	0,54	5,5	0,81	0,4	
Ca	6,7	1,5	0,22	3,3	0,49	5,5	0,82	1,6	
Cd	6,7	3,3	0,49	3,9	0,58	4,6	0,69	1,2	
Co	6,7	3,6	0,54	4,8	0,72	6	0,90	2	57
Cr	6,7	1,1	0,16	3,2	0,48	5,5	0,82	1,5	
Cs	6,7	0	0	0	0	0	0	0	
Cu	6,7	4,3	0,64	5	0,75	5,9	0,88	2,3	
Dy	6,7	0,7	0,10	1,7	0,25	2,7	0,40	1,6	
Eu	7	0,7	0,10	1,7	0,24	2,7	0,39	1,6	
Fe	7	2,8	0,4	4,3	0,61	6	0,86	1	
Ga	7	0	0	0	0	0	0	0	
Gd	7	0	0	0	0	0	0	0	58

Ge	7	0	0	0	0	0	0	0	
Hf	7	0	0	0	0	0	0	0	
Hg	7	0	0	0	0	0	0	0	
Ho	7	0,7	0,1	1,7	0,24	3,2	0,46	1,8	
In	6,4	2,5	0,39	2,9	0,45	3,5	0,55	2,1	
Ir	6,4	2,9	0,45	3,6	0,56	4,5	0,70	1,7	
K	6,4	0	0	0	0	0	0	0	
Li	6,4	4,3	0,67	4,5	0,70	4,8	0,75	1,1	59
Lu	6,4	3,7	0,58	4,1	0,64	4,7	0,73	1,1	
Mg	6,4	4,2	0,66	4,5	0,70	4,8	0,75	0,7	
Mn	6,4	3,3	0,52	4,2	0,66	5,1	0,80	1,8	
Mo	6,4	4,6	0,72	4,8	0,75	5	0,78	1,7	

Tablica 11. (nastavak)

metal ⁻	x (fronta) [cm]	x (početak) [cm]	Rf (početak)	x (sredina) [cm]	Rf (sredina) [cm]	x (kraj) [cm]	Rf (kraj) [cm]	y (širina) [cm]	pločica
Na	6,9	3	0,43	3,7	0,54	4,7	0,68	1,5	
Nb	6,9	0	0,00	2,7	0,39	5,5	0,80	1,7	
Nd	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Ni	6,9	3,1	0,45	3,5	0,51	5,5	0,80	1,7	60
Os	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
P	6,9	0	0	0	0	0	0	0	
Pb	6,9	3,9	0,57	4,5	0,65	5,2	0,75	1,4	
Pd	6,9	6,2	0,90	6,5	0,94	6,9	1	1,5	
Pt	6,7	0	0	0	0	0	0	0	
Rb	6,7	0	0	0	0	0	0	0	
Re	6,7	0	0	0	0	0	0	0	
Rh	6,7	2,4/4,1	0,36/0,61	2,9/4,9	0,43/0,73	3,5/5,7	0,52/0,85	1,7/1,7	61

Ru	6,7	2,8	0,42	4,3	0,64	5,5	0,82	1,8	
S	6,7	0	0	0	0	0	0	0	
Sb	6,7	0	0	0	0	0	0	0	
Sc	6,7	0	0	0,9	0,13	2,2	0,33	1,5	
Se	6,2	0	0	0	0	0	0	0	
Si	6,2	0	0	0	0	0	0	0	
Sn	6,2	0	0	0	0	0	0	0	
Sr	6,2	0	0	0	0	0	0	0	62
Ta	6,2	0	0	0	0	0	0	0	
Te	6,2	0	0	0	0	0	0	0	
Th	6,2	0	0	0	0	0	0	0	
Ti	6,2	1,9	0,31	2,9	0,47	4	0,65	1,6	
Tl	6,5	0	0	2,2	0,34	4,6	0,71	1,4	
U	6,5	4,7	0,72	5	0,77	5,2	0,8	1,3	
V	6,5	2,9	0,45	3,3	0,51	3,7	0,57	1,5	
W	6,5	2,3	0,35	3,4	0,52	4,1	0,63	1,5	63



Slika 18. Grafički prikaz raspodjele uzoraka metalnih iona na razvijenim kromatografskim pločicama 56 do 63.

7.3. Rezultati ispitivanja različitih smjesa razvijaa u svrhu optimizacije.

Tablica 12 Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 23 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Ag					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	66	7,7	0	0	0	0	0	0
2	57,53718	19,9563	22,5119	72	7,3	0	0	2	0,27	3,70	0,51
3	69,4356	20,5644	10	73	7,5	0	0	0	0,00	0,00	0,00
4	80	10	10	74	7,3	0	0	2,2	0,30	4,20	0,58
5	57,5318	19,9563	22,5119	78	7,3	0	0	1,4	0,19	2,50	0,34
6	48,4362	21,5638	30	79	7,4	0	0	0	0,00	0,00	0,00
7	40	30	30	80	5,9	0	0	0	0,00	0,00	0,00
8	60,8	29,2	10	84	7	0	0	0	0,00	0,00	0,00
9	58,4708	25,1362	16,393	85	7,2	0	0	3	0,42	5,20	0,72
10	50,3729	30	19,6271	86	7	0	0	0	0,00	0,00	0,00
11	80	10	10	90	7,6	0	0	3,6	0,47	6,30	0,83
12	57,5318	19,9563	22,5119	91	7,1	5,9	0,83	6,3	0,89	6,70	0,94
13	65,3315	12,6269	22,0416	92	7,1	0	0	3	0,42	5,80	0,82
14	72,8775	10,6669	16,4555	96	7	0	0	2,4	0,34	4,40	0,63
15	60	10	30	97	7,4	0	0	0	0,00	0,00	0,00
16	50,3729	30	19,6271	98	7,5	0	0	0	0,00	0,00	0,00
17	72	23	25	99	7,4	0	0	0	0,00	0,00	0,00

Tablica 13. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 23 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Au					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	66	7,7	2,3	0,30	2,50	0,32	2,70	0,35
2	57,53718	19,9563	22,5119	72	7,3	1	0,14	1,30	0,18	1,70	0,23
3	69,4356	20,5644	10	73	7,5	2,4	0,32	2,80	0,37	3,10	0,41
4	80	10	10	74	7,3	4,8	0,66	4,90	0,67	5,10	0,70
5	57,5318	19,9563	22,5119	78	7,3	2	0,27	2,40	0,33	2,90	0,40
6	48,4362	21,5638	30	79	7,4	0,2	0,03	0,50	0,07	0,90	0,12
7	40	30	30	80	5,9	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8	60,8	29,2	10	84	7	1,1	0,16	1,50	0,21	1,80	0,26
9	58,4708	25,1362	16,393	85	7,2	0,8	0,11	1,20	0,17	1,50	0,21
10	50,3729	30	19,6271	86	7	0	0,00	0,70	0,10	1,20	0,17
11	80	10	10	90	7,6	4,6	0,61	4,80	0,63	5,10	0,67
12	57,5318	19,9563	22,5119	91	7,1	1	0,14	1,30	0,18	1,60	0,23
13	65,3315	12,6269	22,0416	92	7,1	2,4	0,34	2,70	0,38	3,00	0,42
14	72,8775	10,6669	16,4555	96	7	3,2	0,46	3,40	0,49	3,70	0,53
15	60	10	30	97	7,4	2,1	0,28	2,30	0,31	2,50	0,34
16	50,3729	30	19,6271	98	7,5	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
17	72	23	25	99	7,4	1,4	0,19	1,60	0,22	1,80	0,24

Tablica 14. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 23 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Co					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	66	7,7	6,4	0,83	7,10	0,92	7,50	0,97
2	57,53718	19,9563	22,5119	72	7,3	4,9	0,67	5,30	0,73	7,00	0,96
3	69,4356	20,5644	10	73	7,5	6,3	0,84	6,50	0,87	7,20	0,96
4	80	10	10	74	7,3	5,7	0,78	6,10	0,84	7,20	0,99
5	57,5318	19,9563	22,5119	78	7,3	6	0,82	6,50	0,89	7,00	0,96
6	48,4362	21,5638	30	79	7,4	5,9	0,80	6,50	0,88	7,20	0,97
7	40	30	30	80	5,9	4	0,68	4,50	0,76	5,00	0,85
8	60,8	29,2	10	84	7	6	0,86	6,40	0,91	6,80	0,97
9	58,4708	25,1362	16,393	85	7,2	6,2	0,86	6,60	0,92	6,90	0,96
10	50,3729	30	19,6271	86	7	6,3	0,90	6,70	0,96	7,00	1,00
11	80	10	10	90	7,6	5,8	0,76	6,70	0,88	7,40	0,97
12	57,5318	19,9563	22,5119	91	7,1	5,7	0,80	6,20	0,87	6,80	0,96
13	65,3315	12,6269	22,0416	92	7,1	5,2	0,73	5,80	0,82	6,60	0,93
14	72,8775	10,6669	16,4555	96	7	5	0,71	5,80	0,83	6,60	0,94
15	60	10	30	97	7,4	6,1	0,82	6,60	0,89	7,10	0,96
16	50,3729	30	19,6271	98	7,5	6,6	0,88	7,00	0,93	7,30	0,97
17	72	23	25	99	7,4	5,8	0,78	6,40	0,86	7,20	0,97

Tablica 15. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 23 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Cr					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	66	7,7	5,1	0,66	6,20	0,81	7,30	0,95
2	57,53718	19,9563	22,5119	72	7,3	5,6	0,77	6,30	0,86	7,10	0,97
3	69,4356	20,5644	10	73	7,5	5,1	0,68	5,50	0,73	6,00	0,80
4	80	10	10	74	7,3	4,5	0,62	4,70	0,64	6,60	0,90
5	57,5318	19,9563	22,5119	78	7,3	5,8	0,79	6,30	0,86	7,10	0,97
6	48,4362	21,5638	30	79	7,4	5,5	0,74	5,80	0,78	7,40	1,00
7	40	30	30	80	5,9	3,8	0,64	4,40	0,75	5,00	0,85
8	60,8	29,2	10	84	7	5,9	0,84	6,30	0,90	6,70	0,96
9	58,4708	25,1362	16,393	85	7,2	5,3	0,74	5,70	0,79	6,50	0,90
10	50,3729	30	19,6271	86	7	5,6	0,80	6,60	0,94	7,00	1,00
11	80	10	10	90	7,6	3,6	0,47	4,10	0,54	7,10	0,93
12	57,5318	19,9563	22,5119	91	7,1	5,5	0,77	6,30	0,89	7,10	1,00
13	65,3315	12,6269	22,0416	92	7,1	4,9	0,69	5,20	0,73	6,70	0,94
14	72,8775	10,6669	16,4555	96	7	3,8	0,54	4,10	0,59	6,30	0,90
15	60	10	30	97	7,4	6,1	0,82	6,50	0,88	7,00	0,95
16	50,3729	30	19,6271	98	7,5	5,7	0,76	6,20	0,83	7,50	1,00
17	72	23	25	99	7,4	5,5	0,74	6,50	0,88	7,40	1,00

Tablica 16. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 23 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Cu					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	66	7,7	6	0,78	6,80	0,88	7,30	0,95
2	57,53718	19,9563	22,5119	72	7,3	5,7	0,78	6,60	0,90	7,30	1,00
3	69,4356	20,5644	10	73	7,5	6	0,80	6,50	0,87	7,20	0,96
4	80	10	10	74	7,3	6	0,82	6,80	0,93	7,30	1,00
5	57,5318	19,9563	22,5119	78	7,3	5,8	0,79	6,40	0,88	7,00	0,96
6	48,4362	21,5638	30	79	7,4	5,9	0,80	6,50	0,88	7,40	1,00
7	40	30	30	80	5,9	4,4	0,75	5,10	0,86	5,70	0,97
8	60,8	29,2	10	84	7	6	0,86	6,50	0,93	7,00	1,00
9	58,4708	25,1362	16,393	85	7,2	6,1	0,85	6,70	0,93	7,20	1,00
10	50,3729	30	19,6271	86	7	6	0,86	6,50	0,93	7,20	1,03
11	80	10	10	90	7,6	6,1	0,80	6,80	0,89	7,40	0,97
12	57,5318	19,9563	22,5119	91	7,1	5,9	0,83	6,60	0,93	7,10	1,00
13	65,3315	12,6269	22,0416	92	7,1	5,9	0,83	6,40	0,90	7,10	1,00
14	72,8775	10,6669	16,4555	96	7	5,5	0,79	5,80	0,83	7,00	1,00
15	60	10	30	97	7,4	6	0,81	6,60	0,89	7,20	0,97
16	50,3729	30	19,6271	98	7,5	6,4	0,85	7,00	0,93	7,50	1,00
17	72	23	25	99	7,4	6,5	0,88	6,80	0,92	7,30	0,99

Tablica 17. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 23 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Fe					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	66	7,7	2,1	0,27	3,30	0,43	4,50	0,58
2	57,53718	19,9563	22,5119	72	7,3	0,4	0,05	2,10	0,29	3,20	0,44
3	69,4356	20,5644	10	73	7,5	2,1	0,28	3,50	0,47	4,50	0,60
4	80	10	10	74	7,3	4	0,55	5,20	0,71	5,70	0,78
5	57,5318	19,9563	22,5119	78	7,3	0,2	0,03	1,50	0,21	2,50	0,34
6	48,4362	21,5638	30	79	7,4	0,1	0,01	1,00	0,14	2,10	0,28
7	40	30	30	80	5,9	0	0,00	0,70	0,12	2,00	0,34
8	60,8	29,2	10	84	7	0,5	0,07	2,50	0,36	3,20	0,46
9	58,4708	25,1362	16,393	85	7,2	0,4	0,06	2,20	0,31	3,00	0,42
10	50,3729	30	19,6271	86	7	0,4	0,06	2,20	0,31	3,00	0,43
11	80	10	10	90	7,6	4,3	0,57	5,40	0,71	6,00	0,79
12	57,5318	19,9563	22,5119	91	7,1	0,3	0,04	1,80	0,25	2,60	0,37
13	65,3315	12,6269	22,0416	92	7,1	1,8	0,25	3,50	0,49	4,50	0,63
14	72,8775	10,6669	16,4555	96	7	2,8	0,40	4,50	0,64	5,30	0,76
15	60	10	30	97	7,4	1,4	0,19	2,70	0,36	4,10	0,55
16	50,3729	30	19,6271	98	7,5	0,1	0,01	1,30	0,17	2,10	0,28
17	72	23	25	99	7,4	0,9	0,12	2,00	0,27	3,10	0,42

Tablica 18. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 23 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Os					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	66	7,7	2,5	0,32	3,90	0,51	5,30	0,69
2	57,53718	19,9563	22,5119	72	7,3	3,6	0,49	4,30	0,59	5,00	0,68
3	69,4356	20,5644	10	73	7,5	3	0,40	4,20	0,56	5,50	0,73
4	80	10	10	74	7,3	5	0,68	5,30	0,73	5,60	0,77
5	57,5318	19,9563	22,5119	78	7,3	3,6	0,49	4,10	0,56	4,50	0,62
6	48,4362	21,5638	30	79	7,4	3,3	0,45	3,90	0,53	4,40	0,59
7	40	30	30	80	5,9	2,6	0,44	3,10	0,53	3,70	0,63
8	60,8	29,2	10	84	7	3,1	0,44	4,20	0,60	5,10	0,73
9	58,4708	25,1362	16,393	85	7,2	3,5	0,49	4,30	0,60	4,90	0,68
10	50,3729	30	19,6271	86	7	4	0,57	4,50	0,64	4,90	0,70
11	80	10	10	90	7,6	4,5	0,59	5,30	0,70	6,00	0,79
12	57,5318	19,9563	22,5119	91	7,1	3,9	0,55	4,30	0,61	4,80	0,68
13	65,3315	12,6269	22,0416	92	7,1	4,5	0,63	4,90	0,69	5,40	0,76
14	72,8775	10,6669	16,4555	96	7	4,2	0,60	4,70	0,67	5,20	0,74
15	60	10	30	97	7,4	4,7	0,64	5,00	0,68	5,20	0,70
16	50,3729	30	19,6271	98	7,5	4,1	0,55	4,60	0,61	5,10	0,68
17	72	23	25	99	7,4	3,9	0,53	4,50	0,61	5,00	0,68

Tablica 19. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 23 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Pd					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	66	7,7	5,6	0,73	6,00	0,78	6,30	0,82
2	57,53718	19,9563	22,5119	72	7,3	5,5	0,75	5,80	0,79	6,10	0,84
3	69,4356	20,5644	10	73	7,5	5,7	0,76	6,00	0,80	6,30	0,84
4	80	10	10	74	7,3	5,8	0,79	6,10	0,84	6,50	0,89
5	57,5318	19,9563	22,5119	78	7,3	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	48,4362	21,5638	30	79	7,4	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	40	30	30	80	5,9	3,4	0,58	3,80	0,64	4,30	0,73
8	60,8	29,2	10	84	7	5,5	0,79	5,80	0,83	6,20	0,89
9	58,4708	25,1362	16,393	85	7,2	5,2	0,72	5,70	0,79	6,10	0,85
10	50,3729	30	19,6271	86	7	5,3	0,76	5,80	0,83	6,30	0,90
11	80	10	10	90	7,6	6	0,79	6,20	0,82	6,50	0,86
12	57,5318	19,9563	22,5119	91	7,1	5	0,70	5,60	0,79	6,10	0,86
13	65,3315	12,6269	22,0416	92	7,1	5,4	0,76	5,80	0,82	6,20	0,87
14	72,8775	10,6669	16,4555	96	7	5,3	0,76	5,60	0,80	5,80	0,83
15	60	10	30	97	7,4	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
16	50,3729	30	19,6271	98	7,5	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
17	72	23	25	99	7,4	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tablica 20. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 23 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Pt					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	66	7,7	4,2	0,55	5,00	0,65	6,00	0,78
2	57,53718	19,9563	22,5119	72	7,3	4,3	0,59	5,00	0,68	5,30	0,73
3	69,4356	20,5644	10	73	7,5	4,3	0,57	5,10	0,68	6,00	0,80
4	80	10	10	74	7,3	5,2	0,71	5,50	0,75	5,90	0,81
5	57,5318	19,9563	22,5119	78	7,3	1,4	0,19	3,10	0,42	4,80	0,66
6	48,4362	21,5638	30	79	7,4	4	0,54	4,40	0,59	4,90	0,66
7	40	30	30	80	5,9	2,1	0,36	2,70	0,46	3,20	0,54
8	60,8	29,2	10	84	7	5	0,71	5,50	0,79	6,00	0,86
9	58,4708	25,1362	16,393	85	7,2	4,8	0,67	5,30	0,74	5,70	0,79
10	50,3729	30	19,6271	86	7	4,7	0,67	5,10	0,73	5,60	0,80
11	80	10	10	90	7,6	5,5	0,72	5,80	0,76	6,30	0,83
12	57,5318	19,9563	22,5119	91	7,1	4,4	0,62	5,10	0,72	5,80	0,82
13	65,3315	12,6269	22,0416	92	7,1	4,8	0,68	5,20	0,73	5,70	0,80
14	72,8775	10,6669	16,4555	96	7	4,6	0,66	5,20	0,74	5,70	0,81
15	60	10	30	97	7,4	4,5	0,61	5,20	0,70	5,90	0,80
16	50,3729	30	19,6271	98	7,5	4,9	0,65	5,50	0,73	6,20	0,83
17	72	23	25	99	7,4	5,1	0,69	5,50	0,74	6,00	0,81

Tablica 21. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 26 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Ag					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	70	6,9	0	0	0	0	0	0
2	57,53718	19,9563	22,5119	75	7,1	4,1	0,58	5,20	0,73	6,00	0,85
3	69,4356	20,5644	10	76	7,2	3,7	0,51	4,60	0,64	5,50	0,76
4	80	10	10	77	7,6	2	0,26	3,50	0,46	5,00	0,66
5	57,5318	19,9563	22,5119	81	6,5	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	48,4362	21,5638	30	82	7	3,4	0,49	4,50	0,64	5,50	0,79
7	40	30	30	83	6,3	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8	60,8	29,2	10	87	7,1	3,5	0,49	3,80	0,54	4,10	0,58
9	58,4708	25,1362	16,393	88	6,7	3,5	0,52	4,70	0,70	5,70	0,85
10	50,3729	30	19,6271	89	6,8	3,6	0,53	4,30	0,63	5,00	0,74
11	80	10	10	93	6,5	3,1	0,48	4,20	0,65	5,30	0,82
12	57,5318	19,9563	22,5119	94	6,8	3,4	0,50	4,50	0,66	5,70	0,84
13	65,3315	12,6269	22,0416	95	7	2,6	0,37	4,10	0,59	5,70	0,81
14	72,8775	10,6669	16,4555	100	7	2,5	0,36	4,30	0,61	6,00	0,86
15	60	10	30	101	6,7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
16	50,3729	30	19,6271	102	6,8	3,8	0,56	4,10	0,60	5,50	0,81
17	72	23	25	103	6,7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tablica 22. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 26 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Au					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	70	6,9	0	0	0	0	0	0
2	57,53718	19,9563	22,5119	75	7,1	5,7	0,80	5,80	0,82	6,00	0,85
3	69,4356	20,5644	10	76	7,2	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	80	10	10	77	7,6	7,3	0,96	7,50	0,99	7,60	1,00
5	57,5318	19,9563	22,5119	81	6,5	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	48,4362	21,5638	30	82	7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	40	30	30	83	6,3	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8	60,8	29,2	10	87	7,1	6,2	0,87	6,50	0,92	6,70	0,94
9	58,4708	25,1362	16,393	88	6,7	5	0,75	5,80	0,87	6,20	0,93
10	50,3729	30	19,6271	89	6,8	5,5	0,81	6,10	0,90	6,60	0,97
11	80	10	10	93	6,5	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	57,5318	19,9563	22,5119	94	6,8	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
13	65,3315	12,6269	22,0416	95	7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
14	72,8775	10,6669	16,4555	100	7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
15	60	10	30	101	6,7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
16	50,3729	30	19,6271	102	6,8	5,3	0,78	5,60	0,82	6,80	1,00
17	72	23	25	103	6,7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tablica 23. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 26 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Co					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	70	6,9	4,5	0,65	5,00	0,72	5,50	0,80
2	57,53718	19,9563	22,5119	75	7,1	5	0,70	5,50	0,77	6,20	0,87
3	69,4356	20,5644	10	76	7,2	4,2	0,58	4,60	0,64	5,00	0,69
4	80	10	10	77	7,6	2,6	0,34	3,70	0,49	4,90	0,64
5	57,5318	19,9563	22,5119	81	6,5	4,5	0,69	4,90	0,75	5,40	0,83
6	48,4362	21,5638	30	82	7	5,2	0,74	5,60	0,80	6,00	0,86
7	40	30	30	83	6,3	4,8	0,76	5,30	0,84	5,80	0,92
8	60,8	29,2	10	87	7,1	4,8	0,68	5,10	0,72	5,30	0,75
9	58,4708	25,1362	16,393	88	6,7	4,3	0,64	5,00	0,75	5,70	0,85
10	50,3729	30	19,6271	89	6,8	5	0,74	5,30	0,78	5,60	0,82
11	80	10	10	93	6,5	3,2	0,49	3,70	0,57	3,80	0,58
12	57,5318	19,9563	22,5119	94	6,8	4,5	0,66	5,00	0,74	5,90	0,87
13	65,3315	12,6269	22,0416	95	7	4,2	0,60	4,80	0,69	6,10	0,87
14	72,8775	10,6669	16,4555	100	7	2,8	0,40	4,30	0,61	6,00	0,86
15	60	10	30	101	6,7	4,7	0,70	5,10	0,76	5,70	0,85
16	50,3729	30	19,6271	102	6,8	5	0,74	5,50	0,81	6,00	0,88
17	72	23	25	103	6,7	4,7	0,70	5,10	0,76	6,10	0,91

Tablica 24. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 26 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Cr					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	70	6,9	0,5	0,07	1,70	0,25	3,30	0,48
2	57,53718	19,9563	22,5119	75	7,1	3	0,42	4,50	0,63	6,20	0,87
3	69,4356	20,5644	10	76	7,2	0,4	0,06	1,20	0,17	2,00	0,28
4	80	10	10	77	7,6	0,3	0,04	1,20	0,16	2,30	0,30
5	57,5318	19,9563	22,5119	81	6,5	2,7	0,42	4,00	0,62	5,40	0,83
6	48,4362	21,5638	30	82	7	4,1	0,59	4,70	0,67	5,80	0,83
7	40	30	30	83	6,3	3,9	0,62	4,90	0,78	5,90	0,94
8	60,8	29,2	10	87	7,1	1	0,14	2,10	0,30	3,20	0,45
9	58,4708	25,1362	16,393	88	6,7	1,4	0,21	3,00	0,45	4,80	0,72
10	50,3729	30	19,6271	89	6,8	2,9	0,43	3,80	0,56	5,00	0,74
11	80	10	10	93	6,5	0,4	0,06	1,60	0,25	2,60	0,40
12	57,5318	19,9563	22,5119	94	6,8	2,6	0,38	4,00	0,59	5,60	0,82
13	65,3315	12,6269	22,0416	95	7	2,2	0,31	3,80	0,54	5,60	0,80
14	72,8775	10,6669	16,4555	100	7	0,8	0,11	2,10	0,30	3,60	0,51
15	60	10	30	101	6,7	3,3	0,49	4,30	0,64	5,60	0,84
16	50,3729	30	19,6271	102	6,8	3,1	0,46	4,30	0,63	5,60	0,82
17	72	23	25	103	6,7	2,6	0,39	4,20	0,63	5,80	0,87

Tablica 25. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 26 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Cu					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	70	6,9	4,9	0,71	5,20	0,75	5,50	0,80
2	57,53718	19,9563	22,5119	75	7,1	5,1	0,72	5,90	0,83	6,50	0,92
3	69,4356	20,5644	10	76	7,2	5	0,69	5,20	0,72	5,50	0,76
4	80	10	10	77	7,6	4,2	0,55	4,50	0,59	4,80	0,63
5	57,5318	19,9563	22,5119	81	6,5	4,7	0,72	5,20	0,80	5,70	0,88
6	48,4362	21,5638	30	82	7	5	0,71	5,40	0,77	6,40	0,91
7	40	30	30	83	6,3	4,6	0,73	5,20	0,83	5,70	0,90
8	60,8	29,2	10	87	7,1	4,6	0,65	5,00	0,70	5,30	0,75
9	58,4708	25,1362	16,393	88	6,7	4,8	0,72	5,20	0,78	5,50	0,82
10	50,3729	30	19,6271	89	6,8	4,8	0,71	5,20	0,76	5,60	0,82
11	80	10	10	93	6,5	4,6	0,71	5,90	0,91	5,10	0,78
12	57,5318	19,9563	22,5119	94	6,8	4,9	0,72	5,40	0,79	6,00	0,88
13	65,3315	12,6269	22,0416	95	7	4,7	0,67	5,10	0,73	5,90	0,84
14	72,8775	10,6669	16,4555	100	7	4,7	0,67	5,20	0,74	5,60	0,80
15	60	10	30	101	6,7	4,6	0,69	5,10	0,76	5,80	0,87
16	50,3729	30	19,6271	102	6,8	3,9	0,57	5,70	0,84	6,20	0,91
17	72	23	25	103	6,7	5,2	0,78	5,60	0,84	6,40	0,96

Tablica 26. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 26 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Fe					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	70	6,9	4,5	0,65	5,50	0,80	6,50	0,94
2	57,53718	19,9563	22,5119	75	7,1	2,9	0,41	4,30	0,61	6,20	0,87
3	69,4356	20,5644	10	76	7,2	5,5	0,76	6,60	0,92	7,20	1,00
4	80	10	10	77	7,6	4,9	0,64	5,40	0,71	5,70	0,75
5	57,5318	19,9563	22,5119	81	6,5	2,2	0,34	3,70	0,57	5,60	0,86
6	48,4362	21,5638	30	82	7	3,8	0,54	4,90	0,70	5,70	0,81
7	40	30	30	83	6,3	3,3	0,52	4,50	0,71	6,00	0,95
8	60,8	29,2	10	87	7,1	6,3	0,89	6,70	0,94	7,10	1,00
9	58,4708	25,1362	16,393	88	6,7	2,7	0,40	4,20	0,63	5,50	0,82
10	50,3729	30	19,6271	89	6,8	2,3	0,34	3,70	0,54	5,30	0,78
11	80	10	10	93	6,5	5,1	0,78	5,50	0,85	5,80	0,89
12	57,5318	19,9563	22,5119	94	6,8	2,7	0,40	4,00	0,59	5,30	0,78
13	65,3315	12,6269	22,0416	95	7	3	0,43	4,20	0,60	5,60	0,80
14	72,8775	10,6669	16,4555	100	7	4,2	0,60	5,30	0,76	5,70	0,81
15	60	10	30	101	6,7	4	0,60	5,00	0,75	6,10	0,91
16	50,3729	30	19,6271	102	6,8	2,9	0,43	4,30	0,63	5,90	0,87
17	72	23	25	103	6,7	2,8	0,42	4,50	0,67	6,10	0,91

Tablica 27. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 26 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Os					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	70	6,9	0	0	0	0	0	0
2	57,53718	19,9563	22,5119	75	7,1	5,7	0,80	6,00	0,85	6,20	0,87
3	69,4356	20,5644	10	76	7,2	5,5	0,76	5,70	0,79	6,00	0,83
4	80	10	10	77	7,6	5,1	0,67	5,40	0,71	5,60	0,74
5	57,5318	19,9563	22,5119	81	6,5	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	48,4362	21,5638	30	82	7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	40	30	30	83	6,3	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8	60,8	29,2	10	87	7,1	5,3	0,75	5,70	0,80	6,10	0,86
9	58,4708	25,1362	16,393	88	6,7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10	50,3729	30	19,6271	89	6,8	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11	80	10	10	93	6,5	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	57,5318	19,9563	22,5119	94	6,8	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
13	65,3315	12,6269	22,0416	95	7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
14	72,8775	10,6669	16,4555	100	7	5,9	0,84	6,20	0,89	6,50	0,93
15	60	10	30	101	6,7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
16	50,3729	30	19,6271	102	6,8	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
17	72	23	25	103	6,7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tablica 28. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 26 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Pd					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	70	6,9	0	0	0	0	0	0
2	57,53718	19,9563	22,5119	75	7,1	0	0	0	0	0	0
3	69,4356	20,5644	10	76	7,2	6,3	0,88	6,60	0,92	6,90	0,96
4	80	10	10	77	7,6	6,9	0,91	7,10	0,93	7,30	0,96
5	57,5318	19,9563	22,5119	81	6,5	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	48,4362	21,5638	30	82	7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	40	30	30	83	6,3	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8	60,8	29,2	10	87	7,1	5	0,70	5,40	0,76	5,80	0,82
9	58,4708	25,1362	16,393	88	6,7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10	50,3729	30	19,6271	89	6,8	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11	80	10	10	93	6,5	5,8	0,89	5,90	0,91	6,10	0,94
12	57,5318	19,9563	22,5119	94	6,8	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
13	65,3315	12,6269	22,0416	95	7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
14	72,8775	10,6669	16,4555	100	7	6,7	0,96	6,80	0,97	7,00	1,00
15	60	10	30	101	6,7	3	0,45	3,80	0,57	4,80	0,72
16	50,3729	30	19,6271	102	6,8	3,6	0,53	4,50	0,66	5,60	0,82
17	72	23	25	103	6,7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tablica 29. Ispitivanje različitih smjesa razvijaa na pločici 26 u svrhu optimizacije

EXP	SASTAV RAZVIJAČA			Pločica	Fronta	Pt					
	ACN [%]	HCl [%]	H2O [%]			x (početak)	Rf (početak)	x (sredina)	Rf (sredina)	x (kraj)	Rf (kraj)
1	69,4356	20,5644	10	70	6,9	0	0	0	0	0	0
2	57,53718	19,9563	22,5119	75	7,1	0	0	0	0	0	0
3	69,4356	20,5644	10	76	7,2	5,4	0,75	5,50	0,76	5,70	0,79
4	80	10	10	77	7,6	5	0,66	5,30	0,70	5,50	0,72
5	57,5318	19,9563	22,5119	81	6,5	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6	48,4362	21,5638	30	82	7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7	40	30	30	83	6,3	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8	60,8	29,2	10	87	7,1	5,2	0,73	5,40	0,76	5,60	0,79
9	58,4708	25,1362	16,393	88	6,7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10	50,3729	30	19,6271	89	6,8	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
11	80	10	10	93	6,5	5,1	0,78	5,20	0,80	5,40	0,83
12	57,5318	19,9563	22,5119	94	6,8	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
13	65,3315	12,6269	22,0416	95	7	3,9	0,56	4,90	0,70	6,00	0,86
14	72,8775	10,6669	16,4555	100	7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
15	60	10	30	101	6,7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
16	50,3729	30	19,6271	102	6,8	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
17	72	23	25	103	6,7	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tablica 30. Rf vrijednosti Co, Cr, Cu i Fe, pločice 26

Pločica	Co	Cr	Cu	Fe
	Rf (sredina)	Rf (sredina)	Rf (sredina)	Rf (sredina)
70	0,72	0,25	0,75	0,80
75	0,77	0,63	0,83	0,61
76	0,64	0,17	0,72	0,92
77	0,49	0,16	0,59	0,71
81	0,75	0,62	0,80	0,57
82	0,80	0,67	0,77	0,70
83	0,84	0,78	0,83	0,71
87	0,72	0,30	0,70	0,94
88	0,75	0,45	0,78	0,63
89	0,78	0,56	0,76	0,54
93	0,57	0,25	0,91	0,85
94	0,74	0,59	0,79	0,59
95	0,69	0,54	0,73	0,60
100	0,61	0,30	0,74	0,76
101	0,76	0,64	0,76	0,75
102	0,81	0,63	0,84	0,63
103	0,76	0,63	0,84	0,67

Tablica 31. Širine uzoraka, Co, Cr, Cu i Fe s pločice 26

širine			
Co	Cr	Cu	Fe
0,8	1	0,9	0,6
1	0,9	1,2	0,7
1	0,8	1	0,3
1,1	1,1	1,5	1,1
0,9	1	1,2	0,7
0,8	1,1	0,9	0,8
1,1	1,1	0,9	1,1
1,3	1	1,5	1
1	0,9	1,3	0,8
0,8	1,1	1,6	0,9
1,2	1,2	1,6	1
1,1	1	1,3	0,7
1,1	1	1	0,4
1,1	1,3	1,6	0,6
0,8	0,9	0,8	1,2
1,3	1,1	0,4	0,7
1,2	1,1	1,2	1

Tablica 32. Raspoređene Rf vrijednosti

A	B	C	D
0,25	0,72	0,75	0,80
0,61	0,63	0,77	0,83
0,17	0,64	0,72	0,92
0,16	0,49	0,59	0,71
0,57	0,62	0,75	0,80
0,67	0,70	0,77	0,80
0,71	0,72	0,78	0,83
0,30	0,70	0,72	0,94
0,45	0,63	0,75	0,78
0,54	0,56	0,76	0,78
0,25	0,57	0,85	0,91
0,59	0,59	0,74	0,79
0,54	0,60	0,69	0,73
0,30	0,61	0,74	0,76
0,64	0,75	0,76	0,76
0,63	0,63	0,81	0,84
0,63	0,67	0,76	0,84

Tablica 33. Raspoređene širine

A	B	C	D
1	0,8	0,9	0,6
0,7	0,9	1	1,2
0,8	1	1	0,3
1,1	1,1	1,5	1,1
0,7	1	0,9	1,2
1,1	0,8	0,9	0,8
1,1	1,1	1,1	0,9
1	1,5	1,3	1
0,9	0,8	1	1,3
0,9	1,1	1,6	0,8
1,2	1,2	1	1,6
1	0,7	1,1	1,3
1	0,4	1,1	1
1,3	1,1	1,6	0,6
0,9	1,2	0,8	0,8
1,1	0,7	1,3	0,4
1,1	1	1,2	1,2

Tablica 34. Izračunate Rs vrijednosti

Rs vrijednosti			
A	B	C	D
0,531401	0,034101	0,057971	
0,035211	0,148258	0,051216	
0,524691	0,083333	0,299145	
0,299043	0,080972	0,091093	
0,054299	0,145749	0,043956	
0,030075	0,084034	0,033613	
0,003658	0,054062	0,047619	
0,326761	0,01006	0,195958	
0,210711	0,13267	0,025957	
0,014706	0,152505	0,012255	
0,269231	0,251748	0,047337	
0	0,163399	0,04902	
0,081633	0,114286	0,040816	
0,261905	0,095238	0,012987	
0,099502	0,014925	0	
0	0,176471	0,034602	
0,042644	0,081411	0,062189	

Tablica 35. Rf vrijednosti Co, Cr, Cu i Fe pločice 23

Pločica	Co	Cr	Cu	Fe
	Rf (sredina)	Rf (sredina)	Rf (sredina)	Rf (sredina)
66	0,92	0,81	0,88	0,43
72	0,73	0,86	0,90	0,29
73	0,87	0,73	0,87	0,47
74	0,84	0,64	0,93	0,71
78	0,89	0,86	0,88	0,21
79	0,88	0,78	0,88	0,14
80	0,76	0,75	0,86	0,12
84	0,91	0,90	0,93	0,36
85	0,92	0,79	0,93	0,31
86	0,96	0,94	0,93	0,31
90	0,88	0,54	0,89	0,71
91	0,87	0,89	0,93	0,25
92	0,82	0,73	0,90	0,49
96	0,83	0,59	0,83	0,64
97	0,89	0,88	0,89	0,36
98	0,93	0,83	0,93	0,17
99	0,86	0,88	0,92	0,27

Tablica 36.Širine uzoraka Co, Cr, Cu i Fe s pločice 23

širine			
Co	Cr	Cu	Fe
1,4	0,6	1,6	1,2
0,7	0,6	1,8	1,4
0,5	0,6	1,7	1,4
0,5	0,5	1,4	1,6
1	0,9	1,2	1,4
0,9	0,7	0,8	1,2
1	0,9	2	1,4
1	0,5	1,6	1,5
1	0,5	1,7	1,2
1	0,7	1,1	1,5
0,9	0,4	0,7	0,9
0,7	0,7	1,1	1,2
0,6	0,6	0,8	1
0,5	0,4	0,9	1,1
0,6	0,7	0,8	1,2
0,6	0,9	1,6	1,3
0,7	0,7	0,9	1,3

Tablica 37. Raspoređene Rf vrijednosti

A	B	C	D
0,43	0,81	0,88	0,92
0,29	0,73	0,86	0,90
0,47	0,73	0,87	0,87
0,64	0,71	0,84	0,93
0,21	0,86	0,88	0,89
0,14	0,78	0,88	0,88
0,12	0,75	0,76	0,86
0,36	0,90	0,91	0,93
0,31	0,79	0,92	0,93
0,31	0,93	0,94	0,96
0,54	0,71	0,88	0,89
0,25	0,87	0,89	0,93
0,49	0,73	0,82	0,90
0,59	0,64	0,83	0,83
0,36	0,88	0,89	0,89
0,17	0,83	0,93	0,93
0,27	0,86	0,88	0,92

Tablica 38. Raspoređene širine

A	B	C	D
1,2	0,6	1,6	1,4
1,4	0,7	0,6	1,8
1,4	0,6	1,7	0,5
0,5	1,6	0,5	1,4
1,4	0,9	1,2	1
1,2	0,7	0,8	0,9
1,4	0,9	1	2
1,5	0,5	1	1,6
1,2	0,5	1	1,7
1,5	1,1	0,7	1
0,4	0,9	0,9	0,7
1,2	0,7	0,7	1,1
1	0,6	0,6	0,8
0,4	1,1	0,5	0,9
1,2	0,7	0,6	0,8
1,3	0,9	0,6	1,6
1,3	0,7	0,7	0,9

Tablica 39. Izračunate Rs vrijednosti

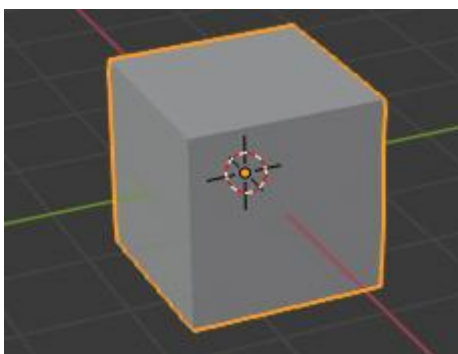
Rs vrijednosti			
A	B	C	D
0,41847	0,070838	0,025974	
0,417482	0,210748	0,034247	
0,266667	0,115942	0	
0,065232	0,117417	0,100937	
0,571769	0,013046	0,012453	
0,682788	0,126126	0	
0,545321	0,017841	0,067797	
0,542857	0,019048	0,010989	
0,571895	0,166667	0,010288	
0,472527	0,015873	0,016807	
0,263158	0,190058	0,016447	
0,652335	0,020121	0,046948	
0,299296	0,140845	0,120724	
0,07619	0,232143	0	
0,540541	0,02079	0	
0,593939	0,142222	0	
0,594595	0,019305	0,050676	

7.4. Rezultati ispitivanja sadržaja metalnih iona u tri realna uzorka vodenih otopina

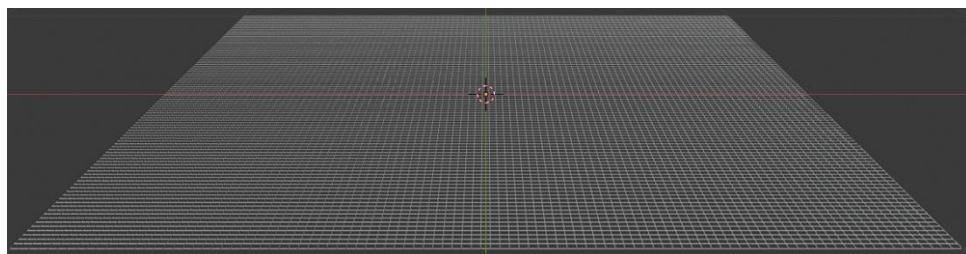
Tablica 40. Rezultati kvantitativnog određivanja sadržaja metala tri realna uzorka nakon „špikanja“ uzoraka s 2 mikrolitra standardnih otopina metalnih iona

Sadržaj kobalta:	$\mu\text{g/mL}$	Sadržaj Cr:	$\mu\text{g/mL}$	Sadržaj Fe:	$\mu\text{g/mL}$
Sava	0,75-0,94	Sava	0,82-1,13	Sava	0,56 - 0, 61
Drava	0,041-0,13	Drava	0,50 -1,37	Drava	0,58 -0,75
Zagreb, slavina	0,85-0,96	Zagreb, slavina	0,51 -1,08	Zagreb, slavina	0,61 - 0,84

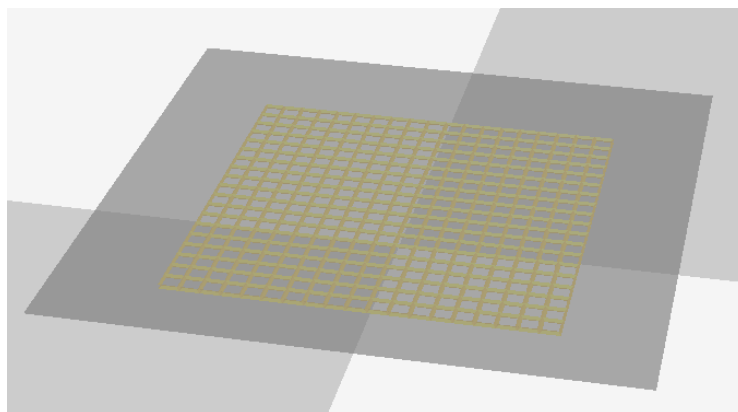
7.5. Rezultati 3D tiska



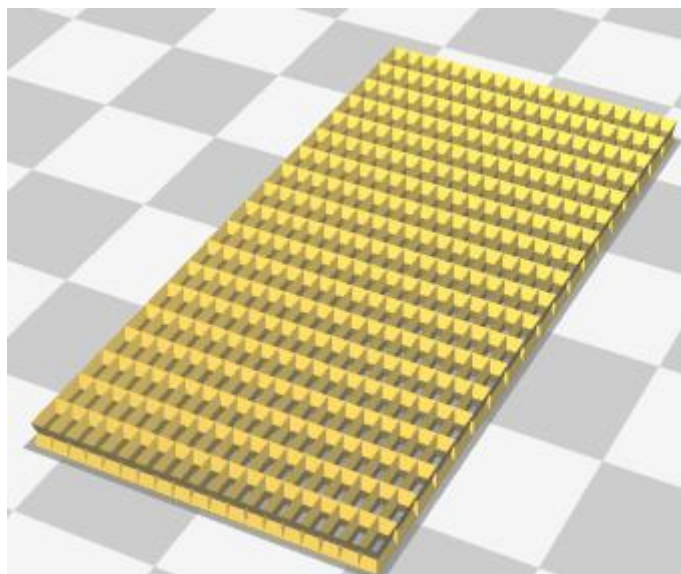
Slika 19. Početni model u software-u Blender



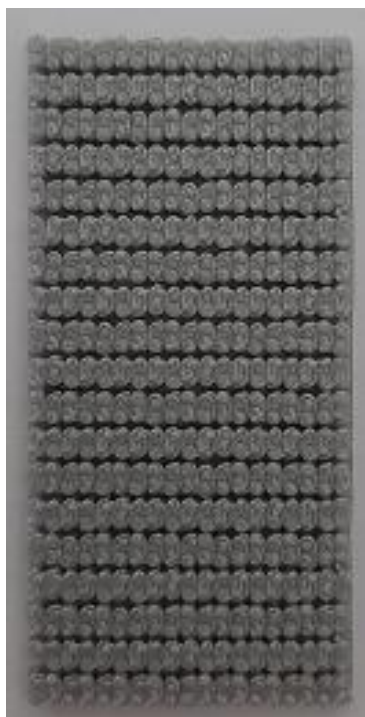
Slika 20. Mreža modelirana u software-u Blender.



Slika 21. Generirani model u software-u Cura.



Slika 22. Modelirani model mrežice prema željenim mjerama.



Slika 23. Tiskana pločica



Slika 24. Poprečni presjek pločice

7.6. Popis korištenih smjesa razvijaa

Tablica 41. Smjese acetonitrila, klorovodične kiseline i vode

ACN [%]	HCl [%]	H ₂ O [%]	V (ACN) [mL]	V (HCl) [mL]	V (H ₂ O) [mL]
69,4356	20,5644	10	16,664544	4,935456	2,4
57,53718	19,9563	22,5119	13,8089232	4,789512	5,402856
69,4356	20,5644	10	16,664544	4,935456	2,4
80	10	10	19,2	2,4	2,4
57,5318	19,9563	22,5119	13,807632	4,789512	5,402856
48,4362	21,5638	30	11,624688	5,175312	7,2
40	30	30	9,6	7,2	7,2
60,8	29,2	10	14,592	7,008	2,4
58,4708	25,1362	16,393	14,032992	6,032688	3,93432
50,3729	30	19,6271	12,089496	7,2	4,710504
80	10	10	19,2	2,4	2,4
57,5318	19,9563	22,5119	13,807632	4,789512	5,402856
65,3315	12,6269	22,0416	15,67956	3,030456	5,289984
72,8775	10,6669	16,4555	17,4906	2,560056	3,94932
60	10	30	14,4	2,4	7,2
50,3729	30	19,6271	12,089496	7,2	4,710504
60	19,17	20,83	14,4	4,6	5
60	20,83	19,17	14,4	5	4,6

Tablica 42. Smjese acetilacetona, butanola i trietilamina

Acetilaceton [%]	Butanol [%]	Trietilamin [%]	V(Acetilaceton) [mL]	V(Butanol) [mL]	V(Trietilamin) [mL]
60	30	10	14,4	7,2	2,4

8. Rasprava rezultata

8.1. Rezultati preliminarnog ispitivanja metodom tankoslojne kromatografije

Prvi korak, koji je bio od velike važnosti je bilo preliminarno ispitivanje pločica. Važnost preliminarnog ispitivanja je bilo u izboru kromatografskih pločica koje pokazuju najbolje rezultate razdvajanja metalnih iona, odnosno pločica koje se mogu koristiti u daljnjim ispitivanjima. U tablici 7. dani su rezultati ispitivanja kromatografskih pločica s nanesenim metalnim ionima srebra, aluminijska, arsena, zlata, bizmuta, kadmija, kobalta, kroma, bakra, željeza, žive, mangana, nikla, olova, antimona, silicija, kositra i cinka. Tijekom ispitivanja se koristila smjesa razvijaača ACN, HCl, H₂O, omjera 72: 25: 23. Najbolje rezultate razdvajanja su pokazale pločice 1 (Polygram Cel 300), 8 (Silikagel), 26 (Celuloza F) i hidrofobne pločice 19 (HPTLC RP-18 F254), 21 (HPTLC), 22 (HPTLC), 23 (HPTLC RP18); Što se tiče hidrofobnih pločica, sve pločice su pokazale slične rezultate.

8.2. Rezultati ispitivanja standardnih otopina metalnih iona

Na temelju dobivenih zaključaka iz prvog preliminarnog ispitivanja, potrebno je bilo ispitivanje 60 metalnih iona. Ti metalni ioni su dani u tablici 3. Svrha ispitivanja je bila kao i u prvom preliminarnom ispitivanju, odabrati nepokretne faze - pločice koje pokazuju najbolju sposobnost razdvajanja tih metalnih iona. Rezultati ispitivanja (R_F vrijednosti) su dani tablično, tj. u tablici 8. dani su rezultati ispitivanja 60 metalnih iona na pločici 1. U tablici 9, dani su rezultati ispitivanja 60 metalnih iona na pločici 8. U tablici 10. dani su rezultati ispitivanja 60 metalnih iona na pločici 19, dok u tablici 11. su dani rezultati ispitivanja 60 metalnih iona na pločici 26. Važno je napomenuti da se tijekom razvijanja koristila smjesa razvijaača ACN, HCl, H₂O, omjera 60: 20,83: 19,17, te smjesa razvijaača Acetilaceton, Butanol, Trietilamin, omjera 60: 30: 10, no zbog manjka kemikalija, daljnja ispitivanja su morala biti prekinuta. Kao što je ranije navedeno, cilj ispitivanja je bio izbor pločica koje pokazuju najbolju rezoluciju metalnih iona, što je veoma važno jer je određena rezolucija potrebna za identificiranje nepoznatih metalnih iona. U tu svrhu, izrađeni su bili histogrami koji nam daju uvid u

raspored metalnih iona, pogotovo srebra, zlata, kobalta, kroma, bakra, željeza, osmija, paladija i platine. Iz tih histograma, moglo se zaključiti da najbolje rezultate pokazuju pločica 26 i pločica 19.

8.3. Optimizacija kromatografskog sustava za razdvajanje metalnih iona

Sljedeći korak koji je veoma važan je postupak optimizacije kromatografskog sustava preko variranja otapala koji tvore razvijač. Svrha tog postupka je u pronalaženju optimalne smjese razvijača, pomoću koje se dobivaju najbolji rezultati. U tu svrhu koristio se računalni program koji na temelju dobivenih rezultata određuje najbolju smjesu razvijača. Pri ispitivanju na pločice 23 i 26 su se nanosili metalni ioni srebra, zlata, kobalta, kroma, bakra, željeza, osmija, paladija i platine (izbor tih metalnih iona je ovisio o histogramima). Dobiveni rezultati ispitivanja su prikazani tablično. U tablicama 12 do 20, dani su rezultati R_F vrijednosti i dimenzije metalnih iona nanesenih na pločicu HPTLC RP18, dok u tablicama 21 do 29 su dani rezultati R_F vrijednosti i dimenzije metalnih iona nanesenih na pločicu Celuloza F. No same R_F vrijednosti nisu dovoljne za optimizaciju. Naime, potrebno je izračunati R_S vrijednosti, koja nam daju uvid u samu širinu mrlja. Za izračunavanje R_S vrijednosti, potrebno je R_F vrijednosti sredina i širine mrlja kobalta, kroma, bakra i željeza rasporediti od najmanje do najveće, te potom prema jednadžbi (dana je u poglavlju teorijskog dijela, tankoslojna kromatografija) izračunati.

8.4. Rezultati određivanja sadržaja metalnih iona u realnim uzorcima

Primjena tankoslojne kromatografije u ovome radu nije bila samo usmjerena prema ispitivanju antimikrobnih prevlaka. Ona se isto tako koristila za ispitivanje sadržaja metalnih iona kobalta, kroma i željeza u realnim uzorcima. Cilj ispitivanja je prije svega bio utvrditi koncentracije navedenih metalnih iona u vodi, pri čemu su dobiveni rezultati koji su prikazani u tablici 40. Valja napomenuti kako sva tri uzorka nisu sadržavala metalne ione iznad granica kvantifikacije i granica detekcije, te su uzorci „špikani“ sa standardnim otopinama metala, nakon čega je konačni udio metalnih iona preračunat prema vrijednostima koje su izmjerene za čiste otopine standarda.

8.5. Rezultati 3D tiska

Pločice koje su dobivene 3D tiskom, kao što je vidljivo iz slika su niske rezolucije, što je uvjetovano samim printerom, dakle nažalost nije dobivena struktura mreže. Površina takvih pločica je bila neravnomjerna i samim time gruba, dok je poprečni presjek imao oblik „sendviča“. Tako tiskane pločice, spremne su dalje za obradu sol-gel postupkom u svrhu funkcionalizacije biorazgradivih polimera u antimikrobne materijale.

9. Zaključak

U ovom je radu metoda tankoslojne kromatografije primijenjena za analizu 60 različitih metalnih iona koji mogu biti prisutni u antimikrobnoj prevlaci na biorazgradivim polimerima. Svi su ispitivani uzorci bili pripremljeni u Laboratoriju za analizu elemenata u tragovima i nanočestica.

U ispitivanju se koristila metoda tankoslojne kromatografije. Testirano je 31 različita vrsta nepokretnih faza (od celuloze, silikagela, poliamida i aluminijevog oksida), te mnogobrojne pokretne faze koje su činili razni razvijajući smjesa anorganskih i organskih otapala (19 raznih smjesa otapala: acetonitril, acetyl acetone, butanol, trietilamin, etilendiaminotetraoctenakislina, klorovodična kiselina, voda i dr.).

Računalnom metodom dizajna eksperimenta optimiziran je sustav s obzirom na pokretnu i nepokretnu fazu. Optimalni sustav koji su detektirani svi metalni ioni sastojao se od silikagela kao nepokretne faze, dok je pokretnu činio razvijajući acetonitril: klorovodična kiselina: voda, volumena od 24 mL u volumnom omjeru 60,00: 19,17: 20,83. Detekcija uzoraka obavljena je pomoću UV kabineta te su prilikom detekcije određeni parametri razdvajanja (R_F , R_s i drugi) poznatih standardnih otopina metalnih iona, koji su zatim korišteni u detekciji analita kod nepoznatih uzoraka.

Biorazgradivi polimeri priređeni su metodom aditivne tehnologije – 3D tiska. Parametri tiska koji su bili zadani su željena dimenzije pločice, visina slojeva, dok su sirovina, širina mlaznice, brzina tiskanja, temperatura i vrijeme tiska bili predefimirani unutar granica printera.

Nova je metoda primijenjena u analizi tri različita realna uzorka koji su imali sadržaj metalnih iona ispod granica detekcije, te je stoga prije kvantificiranja provedena metoda dodavanja poznatog sadržaja standardnih metala u nepoznate uzorke. Na taj je način detektirano željezo, krom i kobalt u tri uzorka s vrlo visokom ponovljivošću i točnošću analize.

10. Literatura

- [1]. Kaštelan-Macan, M.; Medić-Šarić, M.; Turina, S.(2006.), Plošna kromatografija, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb., str. 7.
- [2]. Rezić. I; et al. (2007). Preliminary Testing for Surfactants Determination, *Kem. Ind.* **56** (11), str. 557–560
- [3]. Poole. F., C., (2003), Thin-layer chromatography: challenges and opportunities, *Journal of Chromatography A*, **1000**, 1-2, str. 963–984
- [4]. Kaštelan-Macan, M.; Medić-Šarić, M.; Turina, S.(2006.), Plošna kromatografija, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb., str. 108-113.
- [5]. Spangenberg, B.; Poole, F., C.; Weins, C.(2011.), Quantitative Thin-Layer Chromatography A Practical Survey, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg., str. 110-115.
- [6]. Spangenberg, B.; Poole, F., C.; Weins, C.(2011.), Quantitative Thin-Layer Chromatography A Practical Survey, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg., str. 120-123.
- [7]. Kaštelan-Macan, M.; Medić-Šarić, M.; Turina, S.(2006.), Plošna kromatografija, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb., str. 51-54.
- [8]. Kaštelan-Macan, M.; Medić-Šarić, M.; Turina, S.(2006.), Plošna kromatografija, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb., str. 62-65.
- [9]. Dostupno na: <https://ecozema.com/en/why/en13432/> . Pristupljeno: 02.03.2020.
- [10]. Luckachan, E., G.; Pillai, S., K., C. (2011), Biodegradable Polymers- A Review on Recent Trends and Emerging Perspectives, *J Polym Environ*, **19**, str. 637–676.
- [11]. Avérous L., Pollet E., (2012), Environmental Silicate Nano-Biocomposites. *Green Energy and Technology*. Springer, London, str. 13-39.
- [12]. Castro-Aguirre. E., et al. (2016), Poly(lactic acid) Mass production, processing, industrial applications, and end of life, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **107**, str. 333–366.
- [13]. Tsuji, H., (2014), Poly(lactic acid), Bio-based plastics : materials and applications, John Wiley & Sons, Ltd, Stephan Kabasci, ISBN: 978-1-119-99400-8, Chichester, West Sussex, str. 171-241.
- [14]. Pang, X., (2010), Polylactic acid (PLA): Research, development and industrialization, *Biotechnology Journal*, **5**, 11, str. 1125-1136.

- [15]. Inkinen, S., (2011), From Lactic Acid to Poly(lactic acid) (PLA): Characterization and Analysis of PLA and Its Precursors, *Biomacromolecules*, **12**, 3, str. 523–532.
- [16]. Nampoothiri, M., K., et al. (2010), An overview of the recent developments in polylactide (PLA) research, *Bioresource Technology*, **101**, 22, str. 8493–8501.
- [17]. Cheng, Y., et. al. (2009), Polylactic acid (PLA) synthesis and modifications: a review, *Front. Chem. China*, **4**,3, str. 259–264
- [10]. Doppalapudiah, S., et. al. (2014), Biodegradable polymers—an overview, *Polymers Advanced Technologies*, **25**, 5, str. 427-435. DOI: 10.1002/pat.3305
- [18]. Tsuji, H., et. al. (2007), New Strategy for controlling Biodegradability of Biodegradable Polyesters by Enzyme-Catalyzed Surface Grafting, *Macromol. Rapid Commun.*, **28**, 16, str. 1651–1656.
- [19]. Gupta, A.,P., Kumar, V., (2007), New emerging trends in synthetic biodegradable polymers – Polylactide: A critique, *European Polymer Journal*, **43**, 10, str. 4053–4074.
- [20]. Luzi, F., et. al.(2015), Study of disintegrability in compost and enzymatic degradation of PLA and PLA nanocomposites reinforced with cellulose nanocrystals extracted from *Posidonia Oceanica*, *Polymer Degradation and Stability*, **121**,str. 105-115.
- [21]. Lee, S., H., et. al., (2014), Biodegradation of Polylactic Acid (PLA) Fibers Using Different Enzymes, *Macromolecular Research*, **22**, 6, str. 657-663
- [22]. Davachi, S., M., Kaffashi, B.,(2015), POLYLACTIC ACID IN MEDICINE, *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, **54**, 9 str. 944–967., DOI: 10.1080/03602559.2014.979507
- [23]. Tyler, B., et al. (2016), Polylactic acid (PLA) controlled delivery carriers for biomedical applications , *Advanced Drug Delivery Reviews*, **107**, str. 163–175.
- [24]. Wong, K., V.; Hernandez, A., (2012), A Review of Additive Manufacturing, *ISRN Mechanical Engineering*, doi:10.5402/2012/208760, str: 1-10.
- [25]. Zhong, W.; et. al., (2001), Short fiber reinforced composites for fused deposition modeling, *Materials Science and Engineering*, **A301**, 2, str: 125-130.
- [26]. Sood, A., K.; et. al., (2009), Parametric appraisal of mechanical property of fused deposition modelling processed parts, *Materials and Design*, **31**, 1, str: 287-295.
- [27]. Ning, F.; et. al., (2015), Additive manufacturing of carbon fiber reinforced thermoplastic composites using fused deposition modeling, *Composites Part B*, **80**, str: 369-378.

- [28]. Gibson, I.; et. al., (2014), Additive Manufacturing Technologies, 3D Printing, Rapid Prototyping, and Direct Digital Manufacturing, 2. izd., Springer, New York.
- [29]. Tekinalp. H.; et. al., (2014), Highly oriented carbon fiber–polymer composites via additive manufacturing, *Composites Science and Technology*, **105**, 144-150.
- [30]. Bourell, D.; et. al., (2017), Materials for additive manufacturing, *CIRP Annals - Manufacturing Technology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cirp.2017.05.009>
- [31]. Pakkanen, J.; et.al., (2017), About the Use of Recycled or Biodegradable Filaments for Sustainability of 3D Printing State of the Art and Research Opportunities, *Sustainable Design and Manufacturing 2017, Smart Innovation, Systems and Technologies*, **68**, str:777-785, DOI 10.1007/978-3-319-57078-5_73
- [32]. Sanchez, Cruz, F., A.; et. al., (2015), Polymer Recycling and Additive Manufacturing in an open Source context: Optimization of processes and methods, *Annual International Solid Freeform Fabrication Symposium, ISSF*, str: 1591-1600
- [33]. Murr, E., L.,(2016), *Frontiers of 3D Printing/Additive Manufacturing: from Human Organs to Aircraft Fabrication*, *Journal of Materials Science & Technology* **32**, 10, str: 987-995.
- [34]. Mulford, S., J.; et. al., (2016), Three-dimensional printing in orthopaedic surgery: review of current and future applications, *ANZ J Surg*, doi: 10.1111/ans.13533, str:1-6.
- [35]. Melchels, P.,W.,F.; et. al., (2011), Additive manufacturing of tissues and organs, *Progress in Polymer Science*, **37**, 8, str:1079-1104
- [36]. Serra, T.; et. al., (2013), 3D printed PLA-based scaffolds-A versatile tool in regenerative medicine, *Organogenesis*, **9**, 4, str: 239-244.

Sažetak

Mislav Majdak

KEMIJSKA ANALIZA ANTIMIKROBNE PREVLAKE NA BIORAZGRADIVIM POLIMERIMA METODOM TANKOSLOJNE KROMATOGRAFIJE

Tankoslojna kromatografija (TK) učinkovita je, brza i jednostavna metoda analize metalnih iona koja se može lako primijeniti u analizi uzoraka raznih vrsta materijala. Danas ova metoda ima ogromnu primjenu u analizi povijesnih i suvremenih tekstilnih materijala te se koristi kako bi se identificirale i kvantificirale pojedine komponente u uzorku. U povijesnim uzorcima na oslikanim tekstilima TK metoda primjenjuje se najčešće u analizi voskova, smola, proteina i šećera, odnosno prirodnih veziva koji se često nalaze na povijesnim uzorcima. Za razliku od tih materijala, u suvremenim materijalima će se u premazima moći detektirati širok raspon drugih vrsta materijala koji uzorcima definiraju posebna uporabna svojstva. Takvi su materijali i antimikrobno aktivni biorazgradivi polimeri koji u vanjskom sloju sadrže prisutne nanočestice metala i metalnih oksida.

Biorazgradivi polimeri koji imaju antimikrobna svojstva imaju vrlo široku primjenu u medicini i medicinskim materijalima te se koriste od medicinskih tekstilnih materijala (posteljine i ručnika za bolnice) do potrošnih materijala poput zavoja, gaza, i obloga. Polimeri koji nisu proizvedeni tehnologijom dobivanja vlakana i ispredanjem, već drugim postupcima (poput aditivne tehnologije, odnosno 3D tiska) također mogu biti funkcionalizirani premazima s nanočesticama kako bi dobili antimikrobna svojstva. Ti se materijali stoga mogu koristiti kao kateteri, potrošni materijali, prevlake i vrećice.

U ovom je radu TK metoda primijenjena za analizu 60 različitih metalnih iona koji mogu biti prisutni u antimikrobnoj prevlaci uzoraka koji su pripremljeni u laboratoriju. Testirana je 31 različita vrsta nepokretnih faza (od celuloze, silikagela, poliamida i aluminijskog oksida), te mnogobrojne pokretne faze koje su činili razni razvijajući smjesa anorganskih i organskih otapala (acetoneitril, aceton, butanol, trietilamin, etilendiaminotetraoctenokislina, klorovodična kiselina, voda i dr.). Tijekom ispitivanja koristilo se 19 različitih smjesa razvijajuća.

Optimalni sustav koji su detektirani svi metalni ioni sastojao se od silikagela kao nepokretne faze, dok je pokretnu činio razvijatelj acetonitril: klorovodična kiselina: voda, volumena od 24 mL u volumnom omjeru 60,00: 19,17: 20,83. Detekcija uzoraka obavljena je pomoću UV kabineta te su prilikom detekcije određeni parametri razdvajanja (R_F , R_s i drugi) poznatih standardnih otopina metalnih iona, koji su zatim korišteni u detekciji analita kod nepoznatih uzoraka. Nova je metoda primijenjena u analizi vodenih otopina uzoraka koji su imali sadržaj metalnih iona ispod granica detekcije, te je stoga prije kvantificiranja provedena metoda dodavanja poznatog sadržaja standardnih metala u nepoznate uzorke. Na taj je način detektirano željezo, krom i kobalt u tri različita realna uzorka s vrlo visokom ponovljivošću i točnošću analize.

KLJUČNE RIJEČI: Tankoslojna kromatografija, aditivna tehnologija, PLA, metalni ioni

Abstract

Mislav Majdak

CHEMICAL ANALYSIS OF ANTIMICROBIAL COATING ON BIODEGRADABLE POLYMERS BY THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY

Thin layer chromatography (TLC) is an efficient, fast and simple method of metal ion analysis that can be easily applied in the analysis of samples of various types of materials. Today, this method has a huge application in the analysis of historical and contemporary textile materials and is used to identify and quantify individual components in a sample. In historical samples on painted textiles, the TLC method is most often used in the analysis of waxes, resins, proteins and sugars, i.e. natural binders that are often found on historical samples. Unlike those materials, in modern materials it is possible to detect a wide range of other types of materials in coatings, which define special usage properties in the samples. Such materials are for example antimicrobially active biodegradable polymers that contain nanoparticles of metals and metal oxides present in the outer layer.

Biodegradable polymers that have antimicrobial properties have a very wide application in medicine and medical materials and are often used as medical textiles (bedding and hospital towels) or consumables such as bandages, gauze, and wound dressings. Polymers that are not produced by fiber production and spinning technology, but by other processes (such as additive technology or 3D printing) can also be functionalized with nanoparticle coatings to obtain antimicrobial properties. These materials can therefore be used as catheters, consumables, coatings and bags.

In this work, the TLC method was applied to analyze 60 different metal ions in the antimicrobial coating of samples prepared in the laboratory. The stationary phases tested were 31 different preprepared cellulose and silica gel, polyamid and Al_2O_3 , and the mobile phase consisted of various developers containing mixtures of inorganic and organic solvents (such as acetonitrile, acetyl acetone, butanol, triethylamine, ethylenediaminetetraacetic acid, hydrochloric acid, water, etc.). During the experiment, 19 different solvent mixtures were used.

The optimal system that detected all metal ions consisted of silica gel as a stationary phase, while the mobile phase contained a solvent mixture of acetonitrile: hydrochloric acid: water, a volume of 24 mL in a volume ratio of 60.00: 19.17: 20.83. Sample detection was performed using a UV cabinet and during the detection the separation parameters (R_F , R_s and others) of known standard solutions of metal ions were determined, which were then used in the detection of analytes in an unknown samples. The new method was applied in the analysis of aqueous solutions of samples that had metal ion content below the detection limits, and therefore, before quantification, a method of adding a known standard metal content to unknown samples was performed. In this way, iron, chromium and cobalt were detected in three different real samples with very high repeatability and accuracy of the analysis.

KEYWORDS: Thin-layer chromatography, additive manufacturing, PLA, metal ions