

Elektrokemijsko istraživanje stabilnosti modela rutin - β-glukan

Glavina, Paula

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:023895>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-22**

REPOZITORIJ

PTF OS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

Paula Glavina

**Elektrokemijsko istraživanje stabilnosti
modela rutin— β -glukan**

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan, 2021.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za primijenjenu kemiju i ekologiju
Katedra za primijenjenu kemiju i instrumentalne metode
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Nastavni predmet: Fizikalna kemija

Tema rada: je prihvaćena na VIII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2020./2021. održanoj 27. svibnja 2021.

Mentor: doc. dr. sc. *Ivana Tomac*

Komentor: prof. dr. sc. *Lidija Jakobek Barron*

Elektrokemijsko istraživanje stabilnosti modela rutin— β -glukan

Paula Glavina, 0011161333

Sažetak: Elektrokemijske tehnike karakterizira visoka osjetljivost, selektivnost, niska granica detekcije i granica kvantifikacije te su zbog toga prikladne za analizu različitih vrsta uzoraka. Cilj ovog diplomskog rada je primijeniti dvije elektrokemijske tehnike, cikličku i pravokutnovalnu voltametriju za karakterizaciju elektrokemijske oksidacije rutina te cikličku voltametriju kao tehnike za elektrokemijsko istraživanje stabilnosti modela rutin— β -glukan. Za elektrokemijsko istraživanje rutina i modela rutin— β -glukan koristila se standardna troelektrodna ćelija i inertni puferi različite pH vrijednosti, dok se stabilnost modela pratila kroz određeni vremenski period. Rutin je izabran kao jedan od predstavnika polifenolnih spojeva, flavonoida široko rasprostranjenih u biljkama te β -glukan kao jedan od predstavnika prehrambenih vlakana. Rezultati su pokazali da je elektrokemijska oksidacija rutina reverzibilna te da na ponašanje ispitano modela utječu pH otopine i vrijeme istraživanja.

Ključne riječi: rutin, β -glukan, ciklička voltametrija, pravokutnovalna voltametrija

Rad sadrži: 46 stranica
27 slika
2 tablica
24 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- | | |
|---|---------------|
| 1. izv. prof. dr. sc. <i>Maja Molnar</i> | predsjednik |
| 2. doc. dr. sc. <i>Ivana Tomac</i> | član-mentor |
| 3. prof. dr. sc. <i>Lidija Jakobek Barron</i> | član-komentor |
| 4. prof. dr. sc. <i>Ivica Strelec</i> | zamjena člana |

Datum obrane: 23. rujna 2021.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Applied Chemistry and Ecology
Subdepartment of Applied Chemistry and Instrumental Methods
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program Food engineering

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Physical Chemistry

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. 8 held on May 27, 2021.

Mentor: *Ivana Tomac*, PhD, assistant prof.

Co-mentor: *Lidija Jakobek Barron*, PhD, prof.

Electrochemical investigation of rutin— β -glucan model stability

Paula Glavina, 0011161333

Summary: Electrochemical techniques are characterized by high sensitivity, selectivity, low limit of detection and limit of quantification and are therefore suitable for the analysis of different types of samples. The aim of this work was to apply two electrochemical techniques, cyclic and square-wave voltammetry to characterize the electrochemical oxidation of rutin and cyclic voltammetry as techniques for electrochemical investigation of the stability of the rutin— β -glucan model. For electrochemical investigation of rutin and rutin— β -glucan model, a standard three-electrode cell and inert buffers of different pH values were used, while the stability of the model was monitored over a time period. Rutin was chosen as one of the representatives of polyphenolic compounds, flavonoids widely distributed in plants and β -glucan as one of the representatives of dietary fibre. The results showed that the electrochemical oxidation of rutin was reversible so that the behaviour of the investigated model was influenced by the pH of the solution and the time of the study.

Key words: rutin, β -glucan, cyclic voltammetry, square wave voltammetry

Thesis contains: 46 pages
27 figures
2 tables
24 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|--|---------------|
| 1. <i>Maja Molnar</i> , PhD, associate prof. | chair person |
| 2. <i>Ivana Tomac</i> , PhD, assistant prof. | supervisor |
| 3. <i>Lidija Jakobek Barron</i> , PhD, prof. | co-supervisor |
| 4. <i>Ivica Strelec</i> , PhD, prof. | stand-in |

Defense date: September 23, 2021

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Ovaj diplomski rad je financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom

IP-2016-06-6777.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. Elektrokemijske metode	4
2.1.1. Ciklička voltometrija	4
2.1.2. Pravokutnovalna voltometrija	7
2.2. Polifenolni spojevi	8
2.2.1. Rutin	10
2.3. Beta gluklan (β-glukan)	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO	15
3.1. Zadatak rada	15
3.2. Materijali i metode	15
3.2.1. Kemikalije i priprema otopina	15
3.2.2. Ciklička voltometrija i pravokutnovalna voltometrija	16
4. REZULTATI	19
4.1. Elektrokemijska karakterizacija rutina cikličkom voltametrijom (CV)	20
4.2. Elektrokemijska karakterizacija rutina pravokutnovalnom voltametrijom (SWV)	26
4.3. Elektrokemijska karakterizacija modela rutin—β-glukan cikličkom voltametrijom	35
5. RASPRAVA	38
5.1. Elektrokemijska karakterizacija rutina cikličkom voltametrijom (CV)	39
5.2. Elektrokemijska karakterizacija rutina pravokutnovalnom voltametrijom (SWV)	40
5.3. Elektrokemijska karakterizacija modela rutin—β-glukan cikličkom voltametrijom (CV)	40
6. ZAKLJUČAK	42
7. LITERATURA	44

1. UVOD

Polifenoli su sekundarni biljni metaboliti koji osim što sudjeluju u hormonskoj regulaciji rasta biljaka, zaštiti od mikroorganizama, imaju moguće blagotvorno djelovanje na ljudsko zdravlje. Osnovna struktura svih polifenola je aromatski prsten na koji je vezana jedna ili više hidroksilnih skupina. Ovisno o broju prstenova koje sadrže polifenoli mogu se podijeliti u različite skupine. Fenolne kiseline, flavonoidi, stilbeni i lignani predstavljaju osnovu raspodjelu polifenola. Rutin se ubraja u najveću skupinu polifenola, flavonoide. Najčešće se nalazi u biljkama. Zbog svoje karakteristične kemijske strukture, lako oksidira te je stoga elektroaktivna vrsta. Razvijene su različite metode karakterizacije odnosno identifikacije i kvantifikacije rutina u različitim uzorcima kao što su kromatografske, elektroforeza, spektroskopske i slično. Danas se sve više primjenjuju elektrokemijske metode, a rutin je spoj koji je elektroaktivan te je pogodan za elektrokemijske analize. Najčešće se primjenjuju ciklička, diferencijalno pulsna, pravokutnovalna voltometrija te *stripping* metode.

Ciklička voltometrija je elektrokemijska metoda koja se primjenjuje za proučavanje kinetike i mehanizama redoks reakcija. Karakterizira je potencijal radne elektrode koji se linearno mijenja te u trenutku kada dosegne određenu vrijednost, mijenja se smjer promjene potencijala, prilikom čega se mjeri struja koja protječe kroz ćeliju. Prikaz cikličke voltometrije je u vidu cikličkog voltamograma.

Pravokutnovalnu voltometriju karakterizira velika brzina, odnosno ekstremno brze promjene potencijala. Kada se niz pravokutnovalnih pulseva doda na stepeničasti signal potencijala dobije se signal pobude. Tijekom svakog ciklusa struja se mjeri dva puta te se dobije pravokutnovalni voltamogram. Pravokutnovalni voltamogram karakterizira ukupna struja koja se može razdvojiti na anodnu i katodnu komponentu ukupne struje.

β -glukan je prirodni polimer D-glukoze, dugolančani polisaharid koji se nalazi u staničnim stjenkama kvasca, gljivama, žitaricama i algama. β -glukani kao prehrambena vlakna imaju široku primjenu u medicini, prehrambenoj, ali i raznim drugim industrijama. Iako postoje mnoge razlike između prehrambenih vlakana i polifenola, njihova interakcija je potencijalno korisna za poboljšanje svojstava prehrambenih proizvoda.

Zadatak ovog diplomskog rada je bio primijeniti dvije elektrokemijske tehnike, cikličku i pravokutnovalnu voltometriju za karakterizaciju elektrokemijske oksidacije rutina te cikličku voltometriju kao tehnike za elektrokemijsko istraživanje stabilnosti modela rutin— β -glukan.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Elektrokemijske metode

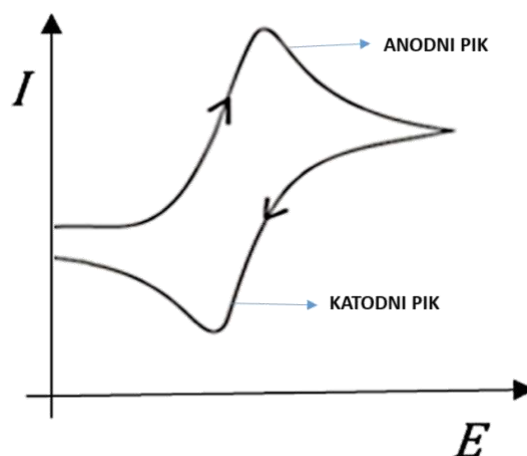
Elektrokemijske (elektroanalitičke) metode su skupina analitičkih tehnika koje imaju primjenu u različitim industrijama kao što su farmaceutska, kemijska, prehrambena industrija i slično. Važna svojstva ovih analitičkih metoda su preciznost, visoka osjetljivost, točnost i selektivnost. Pružaju brze analize uz primjenu relativno jeftinih instrumenata (Farghaly i sur., 2014.). Željeni podatak (npr. aktivitet, koncentracija) o određivanoj molekulskoj vrsti dobiva se na temelju međusobno razmjernih električnih veličina, pomoću električne struje, električnog napona, električnog naboja ili električnog otpora (Skoog i sur., 1999.).

Razlikuje se više vrsta elektroanalitičkih metoda, ali sve metode imaju zajedničko obilježje. Pri provedbi elektroanalitičkog postupka u elektrokemijskoj se ćeliji uvijek nalazi radna elektroda na čijoj se površini odvija sama elektrokemijska reakcija, a kao posljedica te elektrokemijske reakcije javlja se analogna električna veličina, odzivni signal. Mjerenjem odzivnog signala dobiva se željeni analitički ili drugi podatak o ispitivanoj otopini. Osim na radnoj elektrodi, odzivni signal može nastati pod utjecajem prisile izvana, odnosno pod utjecajem signala pobude koji se dovodi na radnu elektrodu elektrokemijske ćelije. Signali pobude mogu biti električne veličine, kemijske veličine, elektromagnetsko zračenje i promjena temperature. Danas se najčešće primjenjuju elektrokemijske ćelije s tri elektrode odnosno tro-elektrodna ćelija gdje se uz radnu elektrodu nalaze i pomoćna elektroda, pomoću koje se ostvaruje tok električne struje kroz ćeliju, te treća, referentna elektroda kroz koju struja elektrolize ne teče već ima ulogu samo za regulaciju signala pobude ili za mjerenje signala odaziva (Piljac, 2010.).

2.1.1. Ciklička voltometrija

Ciklička voltometrija (*engl. Cyclic Voltammetry, CV*) postala je važna i široko korištena u mnogim područjima elektroanalitičke kemije. Rijetko se koristi za kvantitativno određivanje, ali se često primjenjuje za proučavanje kinetike i mehanizma redoks reakcija, dobivanje više informacija o kemijskim reakcijama koje se zbivaju na površini radne elektrode te za dobivanje informacija o stabilnosti reakcijskih produkata. Ciklična voltometrija je tehnika brze polarizacije, odnosno pronalaska napona (signala pobude) pri čemu je smjer polarizacije napona obrnut, potencijal radne elektrode mijenja se konstantnom brzinom u voltima po sekundi ($V s^{-1}$) te se mjeri protok struje u odnosu na proteklo vrijeme (Farghaly i sur., 2014.). Budući da je brzina promjene potencijala (*engl. sweep rate, scan rate*) konstantna, proteklo vrijeme se može prevesti u potencijal te se rezultati prikazuju kao graf ovisnosti jakosti struje o primijenjenom potencijalu,

grafički prikaz odziva cikličke voltametrije naziva se ciklički voltamogram. Na **Slici 1** prikazan je karakterističan oblik signala odziva cikličke voltametrije s katodnim (redukcijskim) i anodnim (oksidacijskim) vrhom.



Slika 1. Signal odziva kod cikličke voltametrije (Piljac, 2010)

Princip rada se sastoji od signala pobude koji neprestano mijenja smjer, najprije, kroz određeno vrijeme, linearno raste do određene vrijednosti napona te kada se postigne izabrana vrijednost potencijala, promjeni se smjer posmika potencijala. Pri povratnom posmiku potencijala razvija se oksidacija produkta elektrodne reakcije redukcije, a u signalu odziva nastaje anodni (oksidacijski) vrh.

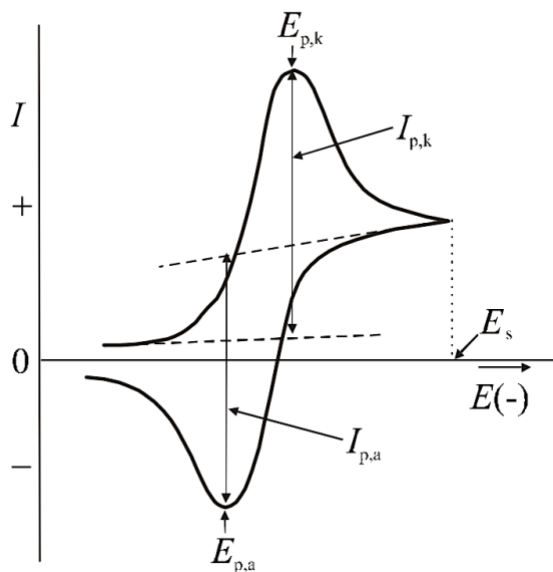
Ciklički voltamogram karakteriziraju eksperimentalne veličine, a to su omjer visine polaznog i povratnog pika i razlika potencijala vrhova katodnog i anodnog pika. Za reverzibilni elektrodni proces, odnos visine katodnog i anodnog pika cikličkog voltamograma, tj. omjer struja vrha pikova prikazan je **Jednadžbom 1**:

$$\frac{I_{p,k}}{I_{p,a}} = 1 \quad (1)$$

Svako odstupanje omjera struje vrha katodnog i anodnog pika od jedinice ukazuje na to da elektrodni proces nije reverzibilan. **Jednadžbom 2** prikazana je razlika potencijala vrha katodnog ($E_{p,k}$) i anodnog ($E_{p,a}$) pika za reverzibilni elektrodni proces:

$$E_{p,k} - E_{p,a} = \frac{57}{z} [mV] \quad (2)$$

Način obrade cikličkog voltamograma i mjerenje visine katodnog i anodnog pika pokazan je na **Slici 2.**



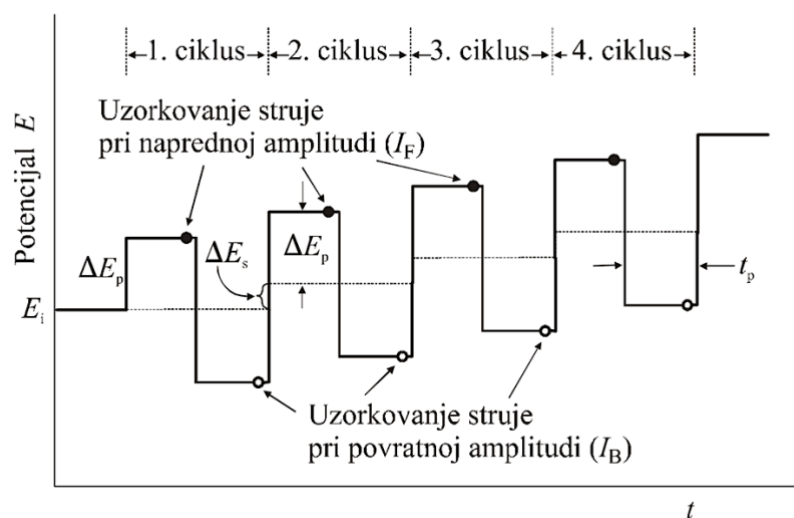
Slika 2. Ciklički voltamogram s označenim potencijalima i strujama anodnog ($E_{p,a}$; $I_{p,a}$) i katodnog ($E_{p,k}$; $I_{p,k}$) strujnog vrha (Piljac, 2010.)

Ciklički voltamogram je karakteriziran sljedećim eksperimentalnim parametrima koji služe kao prosudbeni kriteriji reverzibilnosti elektrodnoga procesa:

- $E_{p,k}$ i $E_{p,a}$ ne ovise o brzini promjene potencijala (v),
- $E_{p,k} - E_{p,a} = 57/z$ mV, kod 25°C , ne ovisi o v ,
- $I_{p,k} / I_{p,a} = 1$, ne ovisi o v i
- $I_p / v^{1/2}$ je konstantan, ne ovisi o v (Piljac, 2010.)

2.1.2. Pravokutnovalna voltametrija

Pravokutnovalna voltametrija (*engl. Square Wave Voltammetry, SWV*) je tehnika koju karakterizira velika brzina polarizacije. Promjene potencijala su vrlo brze zahvaljujući frekvencijama koje mogu varirati od 1 do 100 ciklusa u sekundi i time se vrijeme analize skraćuje. Tako cijeli voltamogram može biti snimljen za nekoliko sekundi (Nigović i Behetić, 2007.). Oblik naponskog signala pobude, koji se primjenjuje na radnu elektrodu, može se predočiti kao stepenasto rastući napon (E_i) na koji je superponiran izmjenični pravokutni puls (ΔE_p). Nakon svakog ciklusa napon raste za vrijednost ΔE_s . Na **Slici 3** vidljiv je prikaz signala pobude pravokutnovalne voltametrije.



Slika 3. Signal pobude pravokutnovalne voltametrije (Piljac, 2010.)

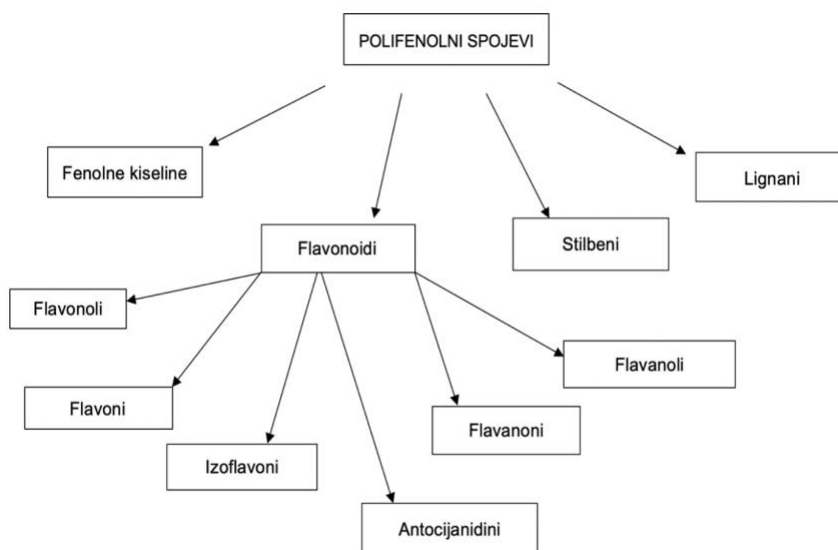
Kod opisane tehnike struja se mjeri dva puta tijekom jednog ciklusa, odnosno na kraju trajanja izmjeničnog pravokutnog pulsa. Značajna prednost pravokutnovalne voltametrije u odnosu na ostale tehnike voltametrije je da se ovom metodom, tijekom polariziranja, može istražiti reverzibilni karakter mehanizma prijenosa elektrona. Iz struje vrha može se odrediti broj razmijenjenih elektrona u elektrodnoj reakciji. S obzirom da se struja odziva može mjeriti neovisno, pri pozitivnom i negativnom pulsu, istodobno se mogu dobiti vrhovi koji odgovaraju oksidaciji ili redukciji elektroaktivnih vrsta na površini elektrode (Ghica i Brett, 2004.). Polazni puls proizvodi katodnu struju dok povratni puls stvara anodnu struju, a razlika tih struja razmjerna je koncentraciji analita u otopini te se potencijal maksimuma može upotrijebiti za identifikaciju analita, ali i kvantifikaciju analita (Nigović i Behetić, 2007.).

2.2. Polifenolni spojevi

Polifenolni spojevi, odnosno polifenoli su sekundarni biljni metaboliti koji se mogu pronaći u voću, povrću, žitaricama i pićima. Kao biljni metaboliti sudjeluju u hormonskoj regulaciji rasta biljaka, štite ih od infekcija mikroorganizmima (antibiotsko djelovanje), pridonose pigmentaciji biljaka, sudjeluju u obrani od ultraljubičastog zračenja, ali i privlače oprašivače. U hrani, polifenoli mogu pridonijeti gorčini, trpkosti, mirisu, boji i okusu te oksidacijskoj stabilnosti. Upravo su polifenoli i drugi fenolni spojevi u hrani postali predmet sve većeg znanstvenog interesa zbog njihovih mogućih blagotvornih učinaka na ljudsko zdravlje. Krajem 20. stoljeća brojne epidemiološke studije sugerirale su da dugotrajna prehrana bogata biljnim polifenolima vjerojatno ima mogući zaštitni terapijski učinak na različite bolesti. Također, epidemiološka istraživanja su pokazala da namirnice koje sadrže polifenolne spojeve imaju vjerojatni pozitivan učinak na ljudsko zdravlje kao što je antiupalno djelovanje (Pandey i Rizvi, 2009.; Del Rio i sur., 2013.).

U različitim biljnim vrstama pronađeno je više od 8000 polifenolnih spojeva. Svi biljni fenolni spojevi nastaju iz uobičajenog intermedijera, fenilalanina ili bliskog preteče, šikimske kiseline. Iako se radi o vrlo heterogenoj skupini spojeva, osnovna struktura svih polifenola je aromatski prsten na koji je vezan jedan ili više hidroksiliranih supstituenata. Ovisno o broju prstenova koje sadrže i na temelju strukturnih elemenata koji te prstenove povezuju, mogu se svrstati u različite skupine, stoga osim jednostavnih fenolnih molekula (C_6) također postoje i kompleksniji spojevi ($C_6-C_3-C_6$)_n.

Na **Slici 4** prikazana je osnovna podjela polifenola (Pandey i Rizvi, 2009.; Berend i Grabarić, 2008.).



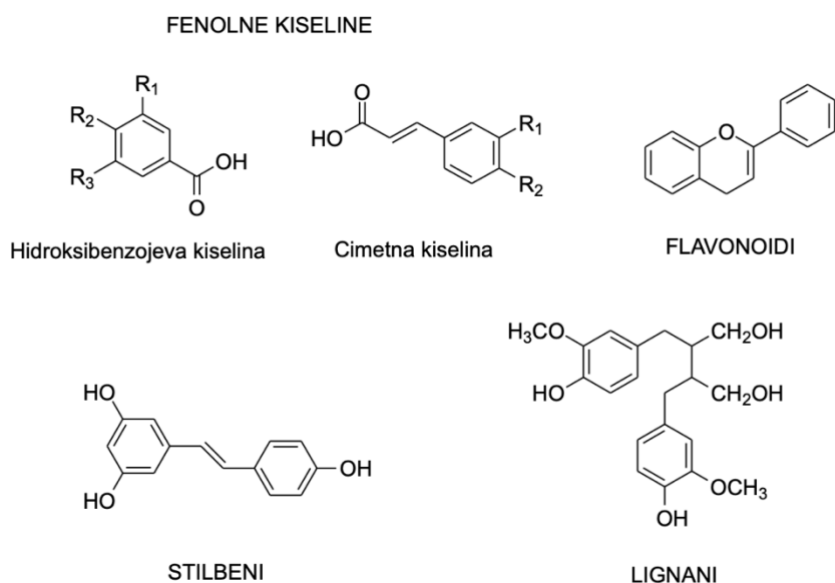
Slika 4. Podjela polifenolnih spojeva (Del Rio i sur., 2013.)

Fenolne kiseline u hrani se mogu pronaći u izobilju, najjednostavniji su polifenolni spoj koji se sastoji od aromatskog prstena koji ima najmanje jednu hidroksilnu skupinu. Dije se na dvije vrste: derivati hidroksibenzojeve kiseline i derivati hidroksicimetne kiseline.

Stilbeni su polifenolni spojevi koji nemaju karakterističnu strukturu polifenola, funkcionalna skupina im je 1,2-difeniletan. Najčešće proučavana vrsta stilbena je resveratrol koji se prirodno javlja u grožđu, ali i u proizvodima od grožđa kao i u crvenom vinu (Manach i sur., 2004.).

Lignani su bioaktivne polifenolne tvari koje se prirodno nalaze u biljkama (najviše koncentracije u sjemenkama sezama i lana, manje u žitaricama, voću i povrću) (Pandey i Rizvi, 2009.).

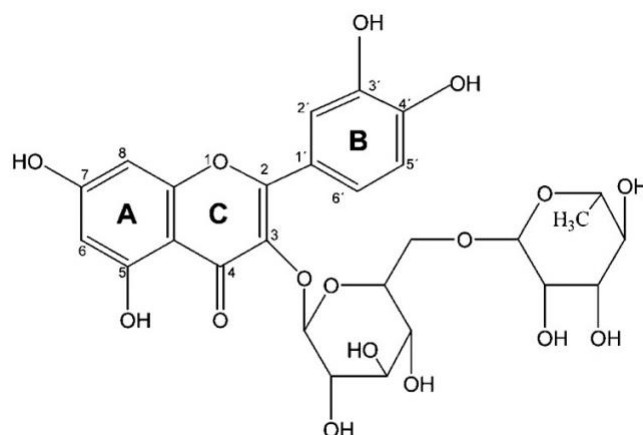
Flavonoidi čine najveću i najčešće istraživanu skupinu polifenola koji se nalaze u biljkama (koncentrirani u kori drveća, lišću, cvijeću, sjemenkama, koži voća). Osnovna struktura se sastoji od dva aromatska prstena povezana piranskim prstenom, tj. struktura tvori difenilpropanski kostur C_{15} ($C_6-C_3-C_6$). U prirodi su najčešće vezani s molekulama šećera te tako stvaraju glikozide, pri čemu je jedna ili više hidroksilnih skupina flavonoida vezana na molekulu šećera (Pandey i Rizvi, 2009.). Utječu na boju i okus hrane. Zahvaljujući njihovoj sposobnosti "hvatanja" elektrona slobodnog radikala, aktivacije antioksidacijskih enzima, inhibicije oksidaza i sposobnosti stvaranja kompleksa s metalnim ionima (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} i Zn^{2+}) pripisuje im se zaštitna uloga u biološkim sustavima (Kazazić, 2004.). Svi flavonoidi lako podliježu reakcijama oksidacije ili redukcije, odnosno elektroaktivni su te se mogu ispitati elektrokemijskim metodama (Ghica i Brett, 2004.). Na **Slici 5** prikazane su osnovne strukture navedenih polifenolnih spojeva.



Slika 5. Kemijske strukture osnovnih skupina polifenola

2.2.1. Rutin

Rutin (3', 4', 5, 7-tetrahidroksiflavon- 3 β -D-rutinozid) je flavon-3-ol, vrsta flavonoida, koji se nalazi u biljkama (naročito marakuja, heljda, jabuka i čaj). Uz naziv rutin, za ovaj flavon-3-ol koriste se i drugi nazivi kao što su rutozid, kvercetin-3-rutinozid i soforin. Sam naziv potječe od biljke *Ruta graveolens* (smrdljiva rutvica), zimzelenog polugrma koji također sadrži rutin. Prema kemijskoj strukturi, rutin je glikozid koji se sastoji od aglikona kvercetina na čijem je C-3 ugljikovom atomu C prstena vezan disaharid rutinozid (**Slika 6**) (Ganeshpurkar i Saluja, 2017.).



Slika 6. Kemijska struktura rutina (Ghica i Brett, 2004.)

Kao jedan od biološki najaktivnijih flavonoida, rutin je poznat kao i vitamin P, a također se smatra da je aktivirajući faktor za vitamin C (Ghica i Brett, 2004.).

U ljudskom organizmu rutin se veže na željezov(II) ion (Fe^{2+}), sprječavajući time da se Fe^{2+} veže na vodikov peroksid i stvori visoko reaktivni slobodni radikal koji može oštetiti stanice. Neka su istraživanja pokazala da rutin ima širok spektar fiziološkog djelovanja (antioksidacijsko, protuupalno, antibakterijsko djelovanje). Osim toga, povećava čvrstoću stjenki krvnih žila i regulira njihovu propusnost, stoga može smanjiti simptome mnogih drugih vaskularnih bolesti (Kang i sur., 2002.; Medvidović-Kosanović i sur., 2010.; Choi i sur., 1999.; Caltagirone i sur., 1997.; Hollmann i Katan, 1998.).

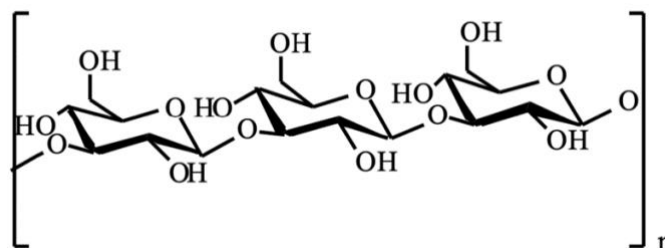
Najčešće se određivanje rutina provodi tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (*engl. High-performance liquid chromatography*, HPLC), kapilarnom elektroforezom i spektroskopijom. Zbog činjenice da je rutin elektroaktivan, elektrokemijske metode (ciklička voltometrija,

diferencijalna pulsna voltometrija, pravokutnovalna voltometrija) su pogodne za njegovu karakterizaciju.

Reakcija oksidacije flavonoida povezana je sa kemijskom strukturom u kojoj se nalazi nekoliko slobodnih fenolnih hidroksilnih skupina (*o*-fenolne hidroksilne skupine). Mehanizam elektrokemijske oksidacije rutina uključuje ionizaciju. Kod ionizacije se gubi proton s ciljem nastanka monoanionske vrste koja prati $1e^-/1H^+$ reakciju oksidacije za stvaranje radikal aniona. Zatim dolazi do druge reverzibilne $1e^-$ oksidacije pri čemu nastaje dehidrorutin koji se brzo protonira i dehidrira što dovodi do nastanka konačnog produkta prolazi 3',4'-dikinona. Flavonoidi posjeduju moguće antioksidacijsko djelovanje jer se u njihovoj kemijskoj strukturi nalaze hidroksilne skupine na aromatskom prstenu. Rutin sadrži četiri hidroksilne skupine, koje se mogu oksidirati na površini ugljikove elektrode (Kang i sur., 2002.; Ghica i Brett, 2005.).

2.3. Beta gluklan (β -glukan)

β -glukan je dugolančani polisaharid, prirodni polimer D-glukoze s (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4) i/ili (1 \rightarrow 6) glikozidnim vezama, a nalazi se u staničnim stjenkama kvasca, gljivama, žitaricama (zob, ječam) i algama (Wang i sur., 2014.). Dakle, ovi polisaharidi koje proizvode prokariotski i eukariotski organizmi podijeljeni su na nekoliko vrsta s obzirom na njihove strukturne značajke. β -(1,3)-D-glukani, koji se mogu dobiti iz žitarica, gljiva, morskih algi i kvasca i β -(1,3)(1,6)-D-glukani, čiji je jedan od važnih izvora stanična stjenka kvasca (*Saccharomyces cerevisiae*), najopsežnije su istraživani. β -(1,3)(1,4)-D-glukani pretežno su koncentrirani u staničnim stjenkama endosperma i aleuronskom sloju ječma, zobi, pšenice, sirka i drugih žitarica. Mogu biti linearne, razgranate, ali i cikličke strukture koje se lako proizvode u reaktoru (Laroche i Michaud, 2007.).



Slika 7. Kemijska struktura linearnog β -(1,3)-D-glukana (Laroche i Michaud, 2007.)

β -glukan ima široku primjenu u medicini, veterini, farmaceutskoj, kozmetičkoj i kemijskoj industriji, kao i u proizvodnji hrane i hrane za životinje (Petračić-Tominac i sur., 2010.). U prehrambenoj industriji, uz klasičnu primjenu polisaharida kao sredstva za zgušnjavanje, β -(1,3)-D-glukani imaju sve veću primjenu u proizvodnji jestivog filma i niskokalorične hrane. Istraživanja su se usredotočila na upotrebu topljivih dijetalnih vlakana, a posebice β -glukana iz žitarica, kao stabilizatora u proizvodnji proizvoda s niskim udjelom masti, poput preljeva za salatu, sladoleda, jogurta i sira. Smatra se da β -glukani imaju potencijalno pozitivan učinak na zdravlje, mogu utjecati na smanjenje razine kolesterola u krvi, doprinijeti imunološkom sustavu, djelovati antikancerogeno, a također mogu poboljšati otpornost ljudi na bakterije ili viruse (Laroche i Michaud, 2007.).

Različite tehnike se primjenjuju za analizu odnosno karakterizaciju β -glukana kao što su spektroskopske, enzimske i kromatografske (Wang i sur., 2014.).

Pojedina istraživanja prehrambenih vlakana i β -glukana pokazala su da mogu ulaziti u interakcije s drugim sastojcima hrane što ukazuje da je ta interakcija potencijalno korisna u poboljšanju bioaktivnih i tehnoloških svojstava proizvoda (Quirós-Sauceda i sur., 2014.). Najčešće veze koje se javljaju između polifenola i polisaharida su nekovalentne vodikove veze te su prisutne van der Waalsove sile i hidrofobne interakcije (Liu i sur., 2020.).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Zadatak rada

Zadatak ovog diplomskog rada bio je:

- primijeniti elektrokemijske tehnike cikličku i pravokutnovalnu voltamateriju za karakterizaciju rutina i modela rutin— β -glukan uz primjenu eksperimentalnih parametara brzine polarizacije, pH vrijednosti osnovnog pufera te frekvencije pobudnog stanja i
- određivanje stabilnosti modela rutin— β -glukan primjenom eksperimentalnih parametara promjene pH vrijednosti i vremenskog perioda istraživanja na izgled cikličkih voltamograma

3.2. Materijali i metode

3.2.1. Kemikalije i priprema otopina

U ovom diplomskom radu korištene su slijedeće kemikalije: rutin, β -glukan, metanol, fosfatne soli, karbonatne soli.

Pripremljena je stock otopina rutina u metanolu HPLC čistoće. Radna koncentracija rutina bila je 25 mg L^{-1} , a pripremljena je u pufer otopinama pH 5,5, 7,5 i 10.

Otopina $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ fosfatnog pufera pH 5,5 i 7,5 pripremljena je od natrijevog dihidrogenfosfata i dinatrijevog hidrogenfosfata i otopina $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ karbonatnog pufera pH 10 pripremljena je od natrijevog hidrogenkarbonata i dinatrijevog karbonata te su se koristile kao osnovni elektrolit za provođenje cikličke i pravokutnovalne voltametrije.

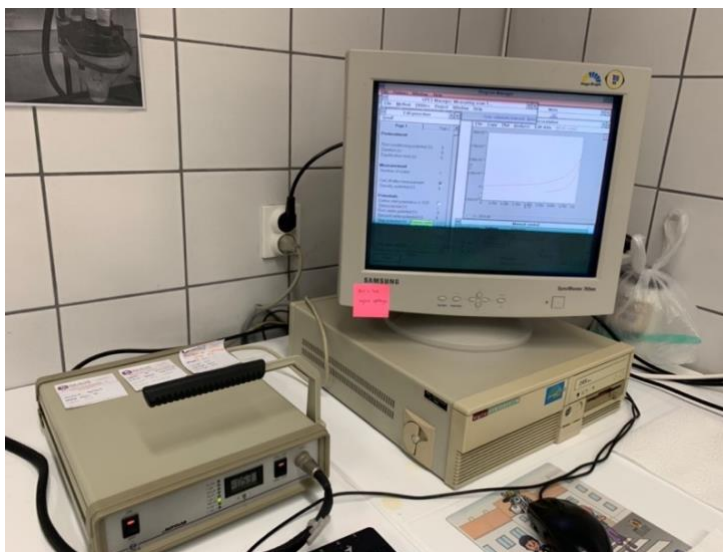
Za pripremu svih otopina pufera korištena je ultračista voda (vodljivost vode $< 0,1 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$).

Model otopina pripremljena je od otopine rutina masene koncentracije 25 mg L^{-1} i otopine β -glukana masene koncentracije 5 mg L^{-1} te je razrijeđena u odgovarajućim pufer otopinama pH vrijednosti 5,5, 7,5 i 10.

3.2.2. Ciklička voltometrija i pravokutnovalna voltometrija

Voltometrijska mjerenja cikličke i pravokutnovalne voltetrije provedena su na uređaju potenciostat/galvanostat μ Autolab (**Slika 8**) uz primjenu GPES (General Purpose Electrochemical System) programske podrške, verzija 4.9.005. (Eco Chemie B. V., Utrecht, Nizozemska). Ovaj uređaj se koristio za provođenje elektrokemijskih mjerenja, za prikupljanje i analizu elektrokemijskih podataka. Ciklička i pravokutnovalna voltetrija provedena je u staklenoj stacionarnoj elektrokemijskoj ćeliji tro-elektrodnog tipa (Methrohm, Švicarska) volumena 100 mL, na radnoj elektrodi od staklastog ugljika (GCE), uz primjenu Ag/AgCl (KCl, $c = 3 \text{ mol L}^{-1}$) kao referentne elektrode i platinske elektrode kao pomoćne elektrode (**Slika 9**).

Prije provođenja voltetrijskih mjerenja, radna elektroda od staklastog ugljika polirana je prahom aluminijevog oksida (promjer čestica $0,05 \text{ }\mu\text{m}$) uz dodatak ultračiste vode te isprana ultračistom Milipore vodom. Neposredno prije SWV i CV mjerenja površina radne GCE elektrode dodatno je provedeno elektrokemijsko poliranje primjenom cikličke voltetrije višestrukom uzastopnom polarizacijom u širem rasponu potencijala od $-0,2 \text{ V}$ do $1,0 \text{ V}$, brzinom polarizacije od 100 mV s^{-1} s ciljem postizanja reproducibilnih rezultata elektrokemijskih mjerenja.



Slika 8. Potenciostat za provedbu elektrokemijskog istraživanja kompjutorski kontroliran



Slika 9. Tro-elektrodna ćelija za provedbu cikličke i pravokutnovalne voltametrije

Mjerni uvjeti primijenjeni na analizu cikličkom voltametrijom prikazani su u **Tablici 1**, dok su mjerni uvjeti za provođenje pravokutnovalne voltametrije prikazani **Tablicom 2**.

Tablica 1. Mjerni parametri cikličke voltametrije

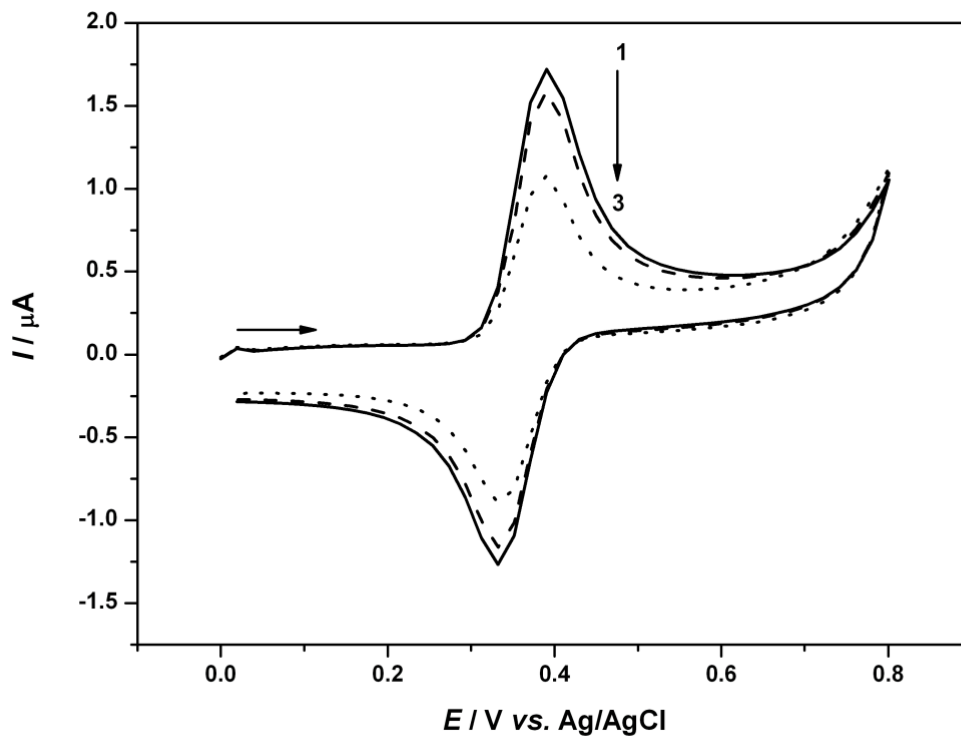
Parametar	Iznos
Početni potencijal (V)	0
Konačni potencijal (V)	0,8
Brzina polarizacije (V/s)	0,1
Korak potencijala (V)	0,02

Tablica 2. Mjerni parametri pravokutnovalne voltametrije

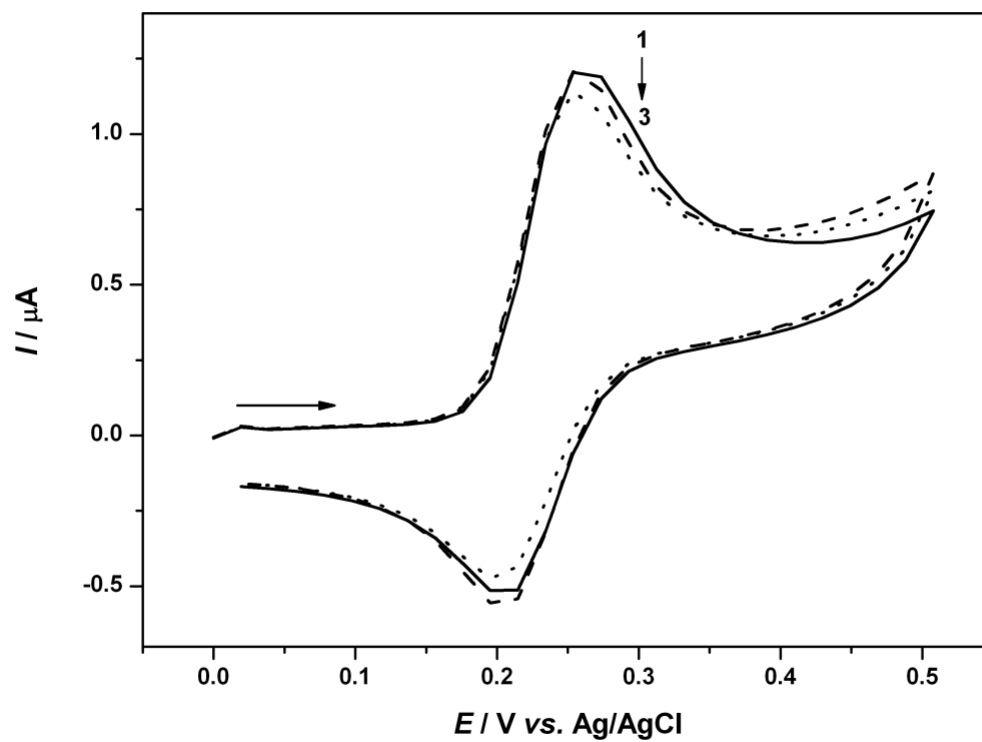
Parametar	Iznos
Početni potencijal (V)	-0,1
Konačni potencijal (V)	0,8
Amplituda (V/s)	0,05
Korak potencijala (V)	0,002
Frekvencija (Hz)	50

4. REZULTATI

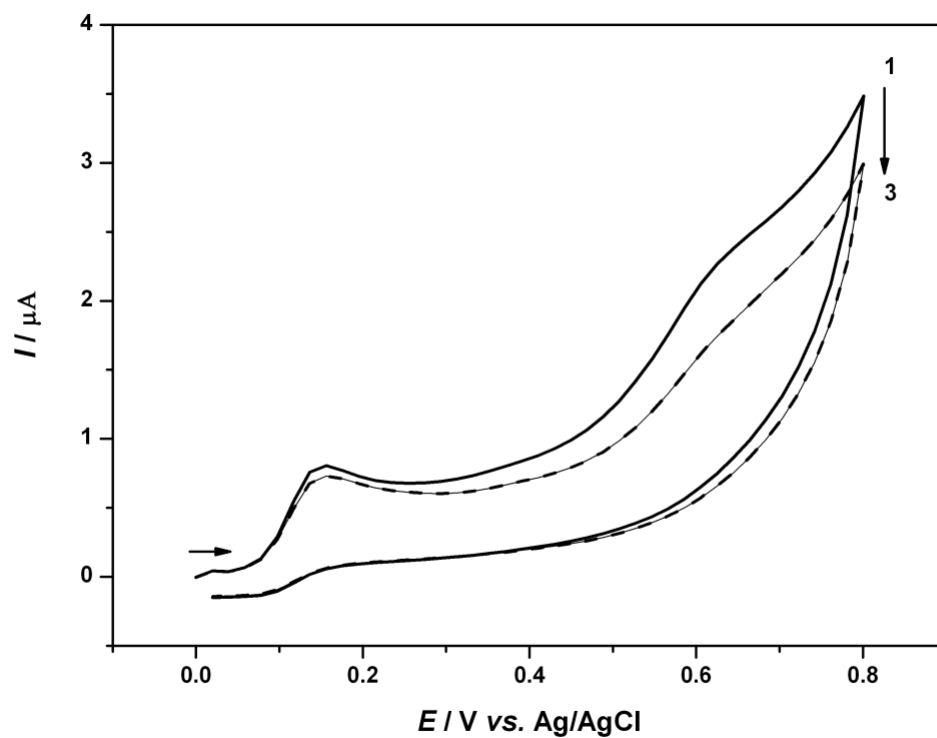
4.1. Elektrokemijska karakterizacija rutina cikličkom voltametrijom (CV)



Slika 10. Ciklički voltamogram višestruke uzastopne polarizacije rutina (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu $0,1 \text{ M}$ fosfatnom puferu pH 5,5, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1**.
(- prva polarizacija, - - - druga polarizacija, . . . treća polarizacija)

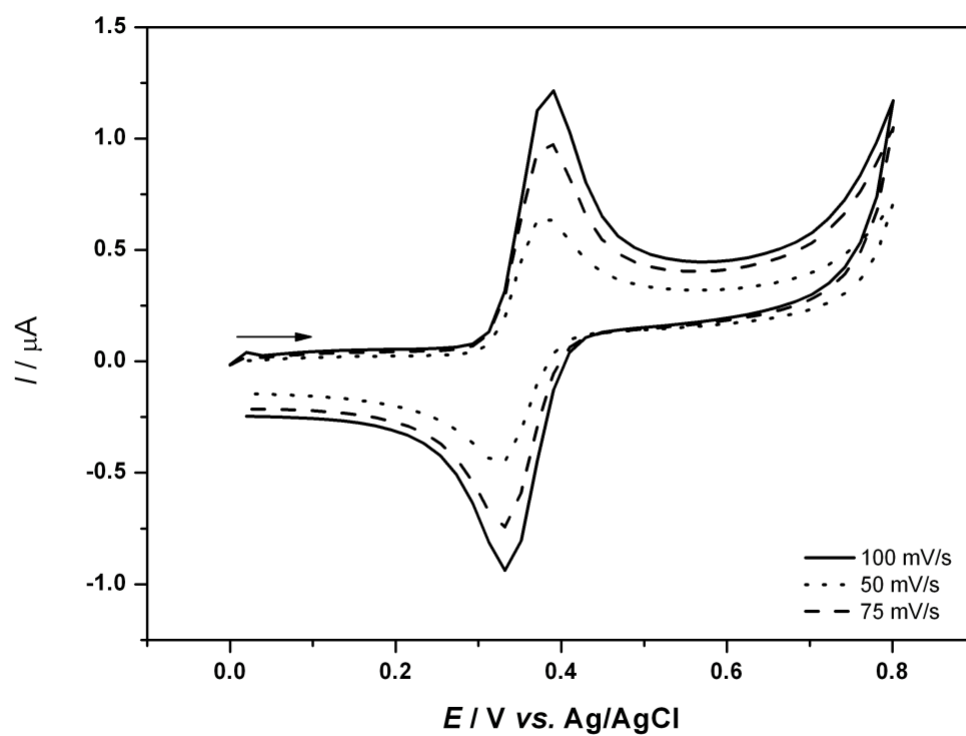


Slika 11. Ciklički voltamogram višestruke uzastopne polarizacije rutina (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu $0,1 \text{ M}$ fosfatnom puferu pH 7,5, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1**.
(- prva polarizacija, - - - druga polarizacija, . . . treća polarizacija)

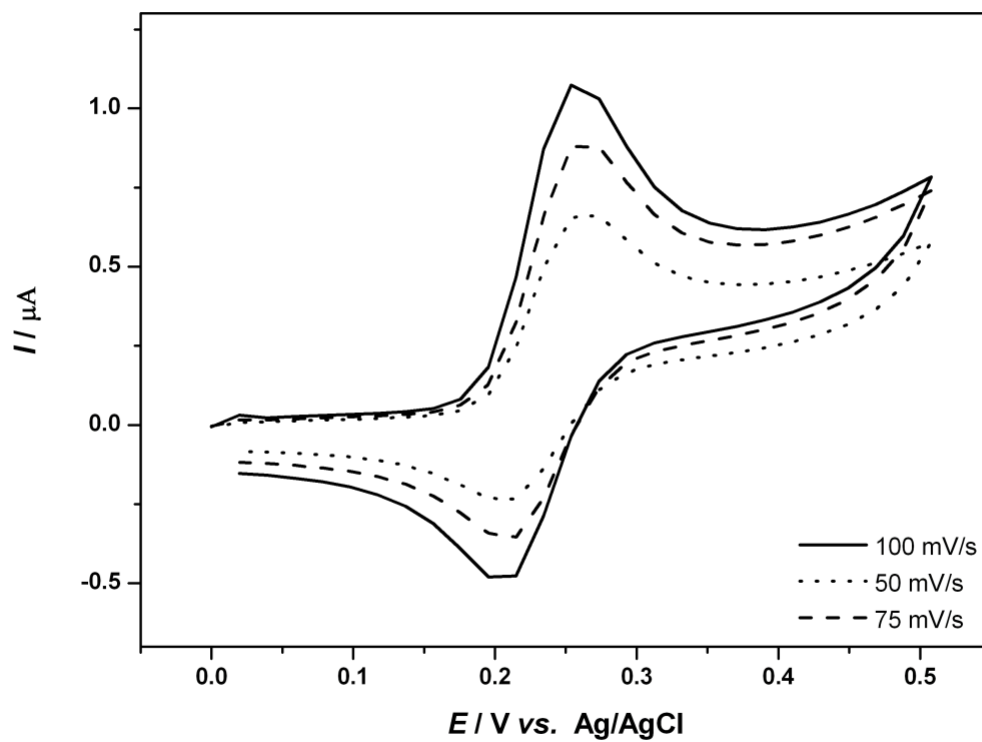


Slika 12. Ciklički voltamogram višestruke uzastopne polarizacije rutina (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu $0,1 \text{ M}$ karbonatnom puferu pH 10, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1**.

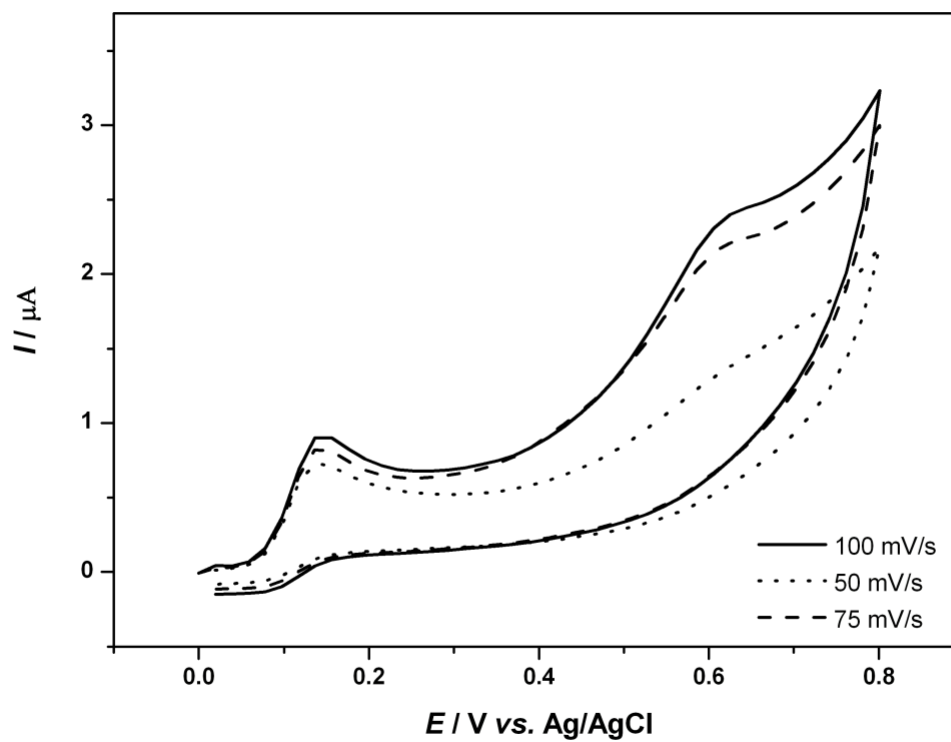
(- prva polarizacija, - - - druga polarizacija, · · · treća polarizacija)



Slika 13. Ciklički voltamogram brzine polarizacije rutina (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu $0,1 \text{ M}$ fosfatnom puferu pH 5,5, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1**.

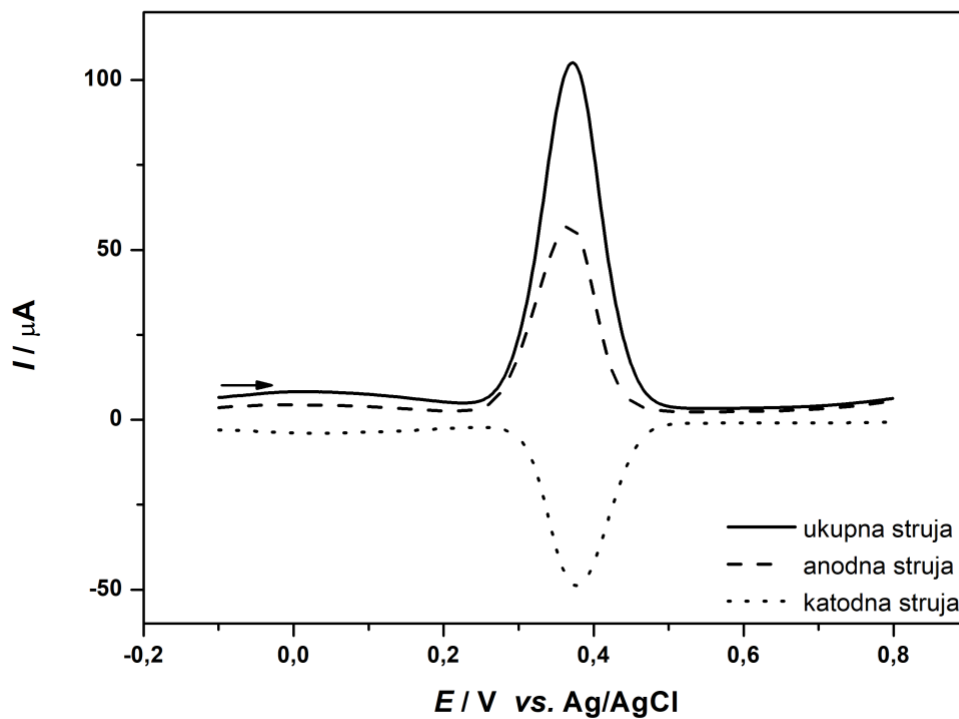


Slika 14. Ciklički voltamogram brzine polarizacije rutina (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu $0,1 \text{ M}$ fosfatnom puferu pH 7,5, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1**.

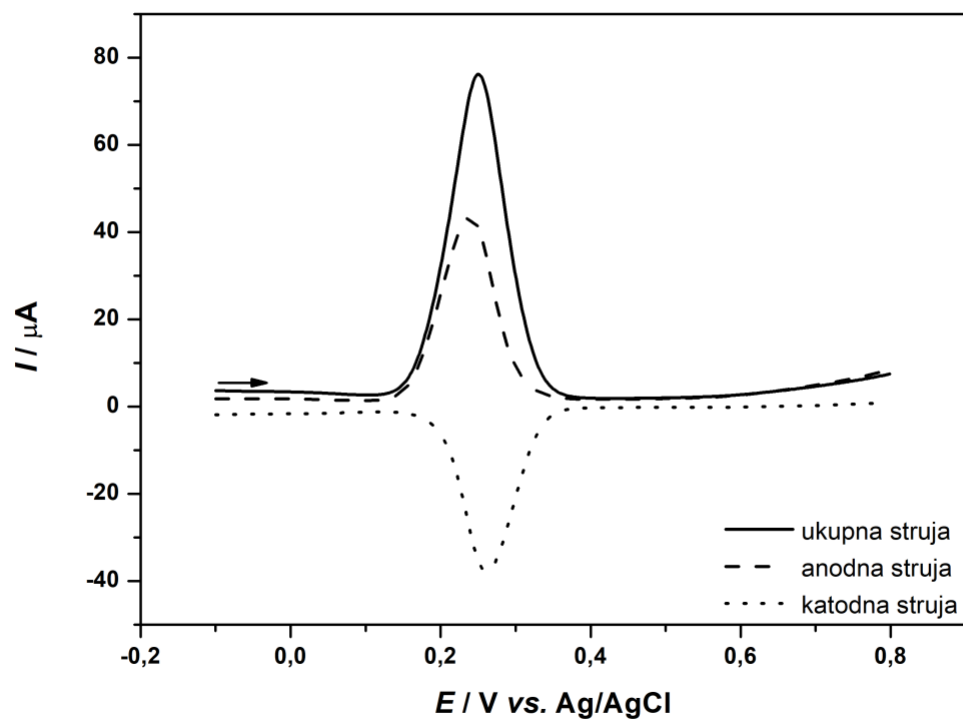


Slika 15. Ciklički voltamogram brzine polarizacije rutina (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu $0,1 \text{ M}$ karbonatnom puferu pH 10, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1.**

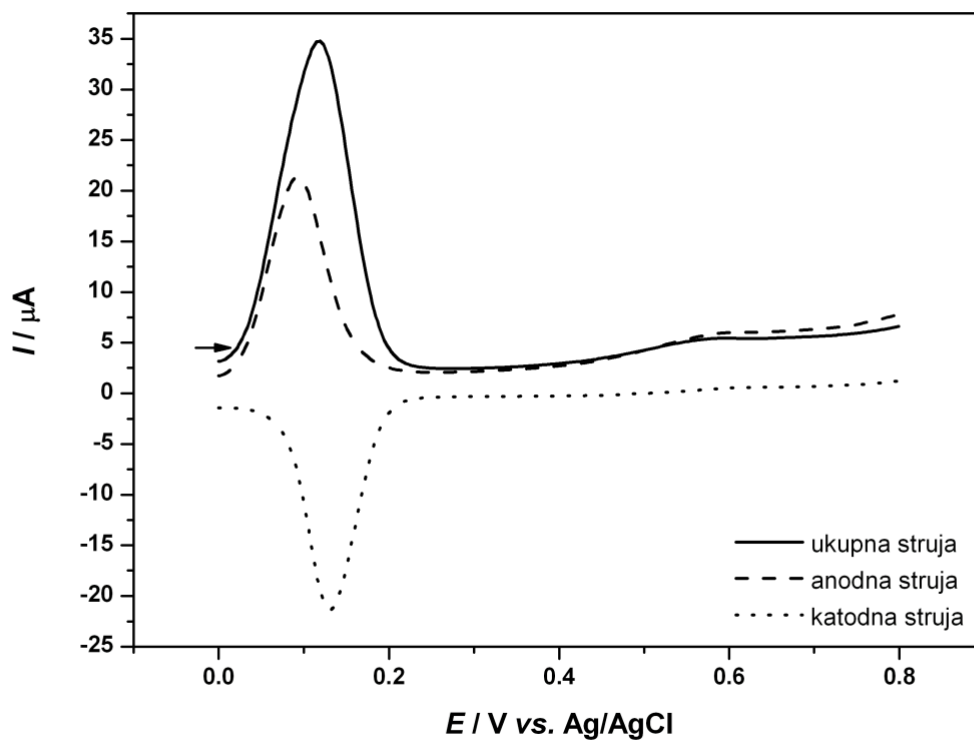
4.2. Elektrokemijska karakterizacija rutina pravokutnovalnom voltametrijom (SWV)



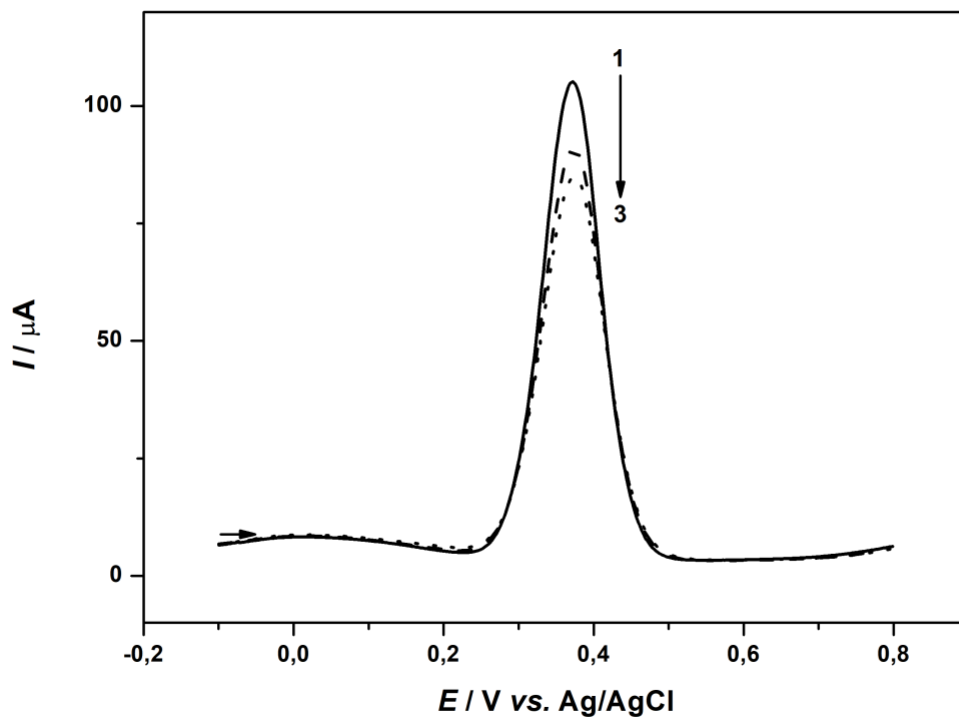
Slika 16. Pravokutnovalni voltamogram izgleda rutina (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu $0,1 \text{ M}$ fosfatnom puferu pH 5,5, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 2**.



Slika 17. Pravokutnovalni voltamogram izgleda rutina (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu $0,1 \text{ M}$ fosfatnom puferu pH 7,5, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 2.**

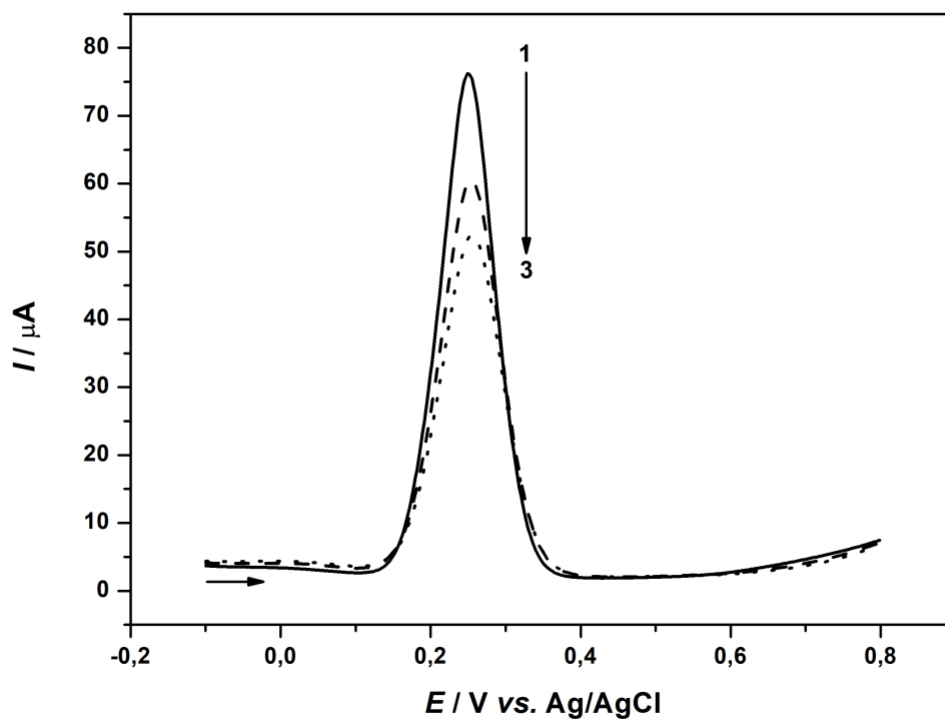


Slika 18. Pravokutnovalni voltamogram izgleda rutina (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu $0,1 \text{ M}$ karbonatnom puferu pH 10, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 2**.



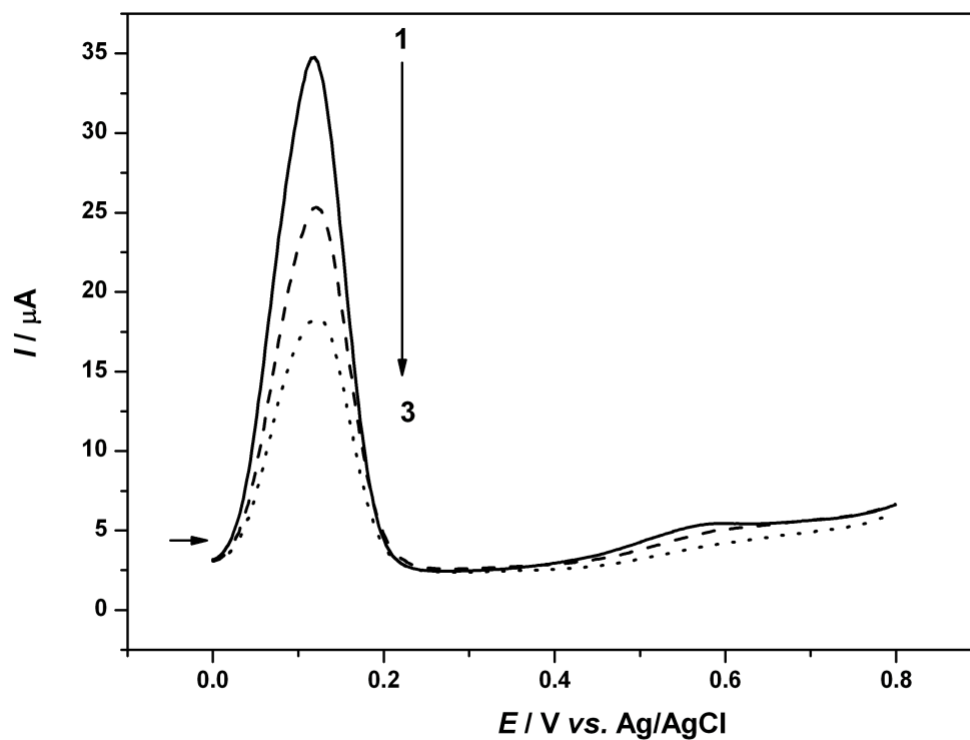
Slika 19. Pravokutnovalni voltamogram višestruke uzastopne polarizacije rutina (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu 0,1 M fosfatnom puferu pH 5,5, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 2**.

(- prva polarizacija, - - - druga polarizacija, · · · treća polarizacija)

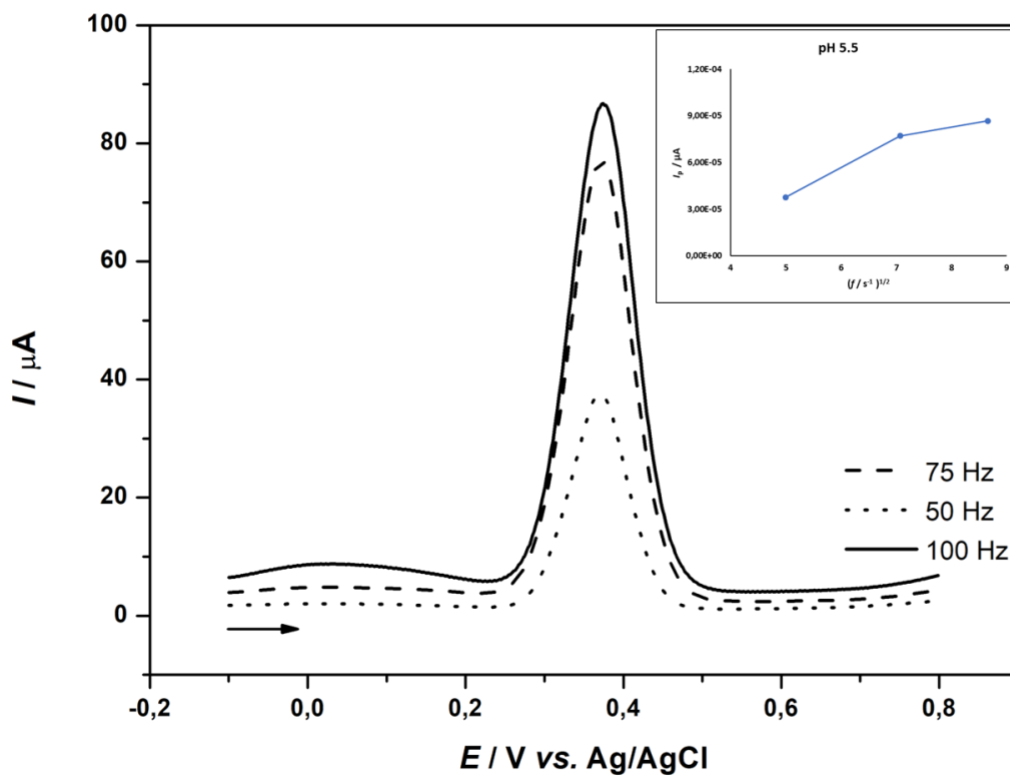


Slika 20. Pravokutnovalni voltamogram višestruke uzastopne polarizacije rutina (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu 0,1 M fosfatnom puferu pH 7,5, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 2**.

(- prva polarizacija, - - - druga polarizacija, · · · treća polarizacija)

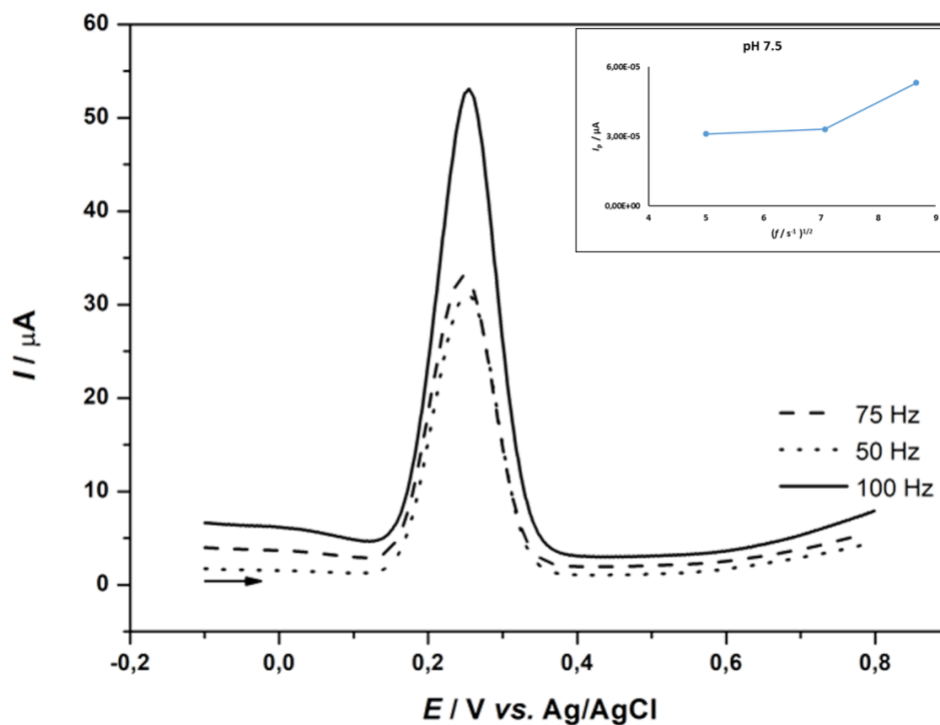


Slika 21. Pravokutnovalni voltamogram višestruke uzastopne polarizacije rutina (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu 0,1 M karbonatnom puferu pH 10, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 2.** (- prva polarizacija, - - - druga polarizacija, · · · treća polarizacija)



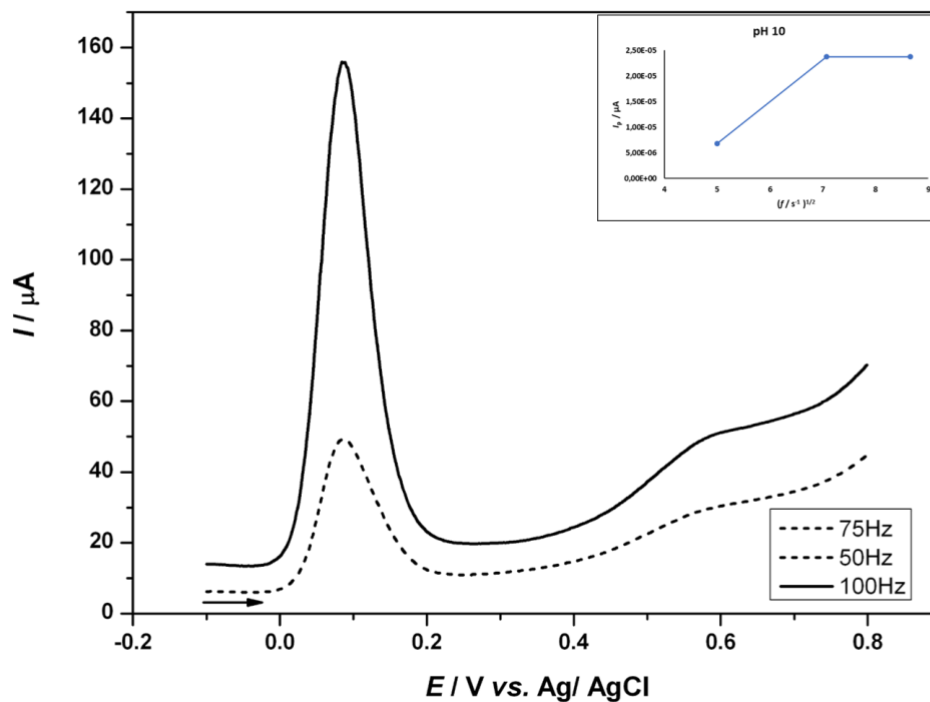
Slika 22. Pravokutnovalni voltamogram rutina (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu $0,1 \text{ M}$ fosfatnom puferu pH 5,5 pri različitim frekvencijama, snimljen prema mjernim uvjetima iz **Tablice**

2.



Slika 23. Pravokutnovalni voltamogram rutina (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu 0,1 M fosfatnom puferu pH 7,5 pri različitim frekvencijama, snimljen prema mjernim uvjetima iz **Tablice**

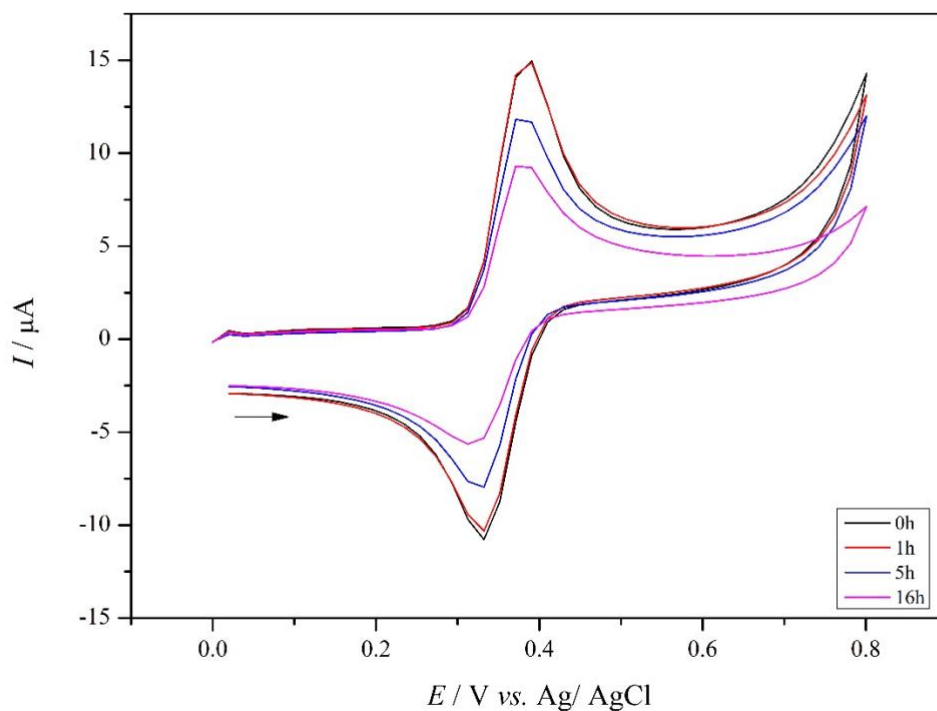
2.



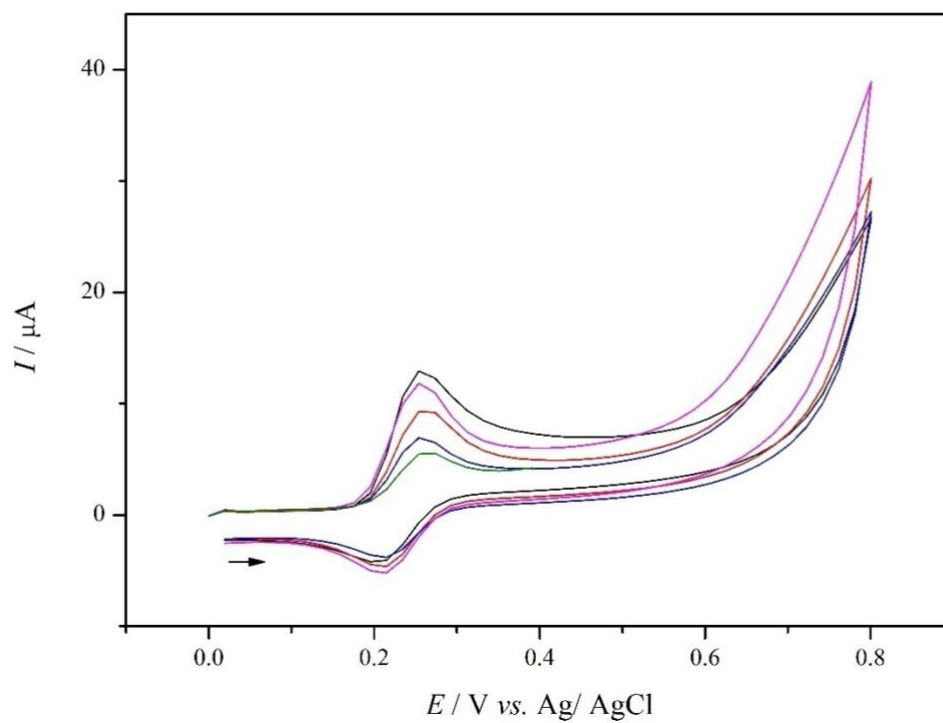
Slika 24. Pravokutnovalni voltamogram rutina (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu 0,1 M fosfatnom puferu pH 10 pri različitim frekvencijama, snimljen prema mjernim uvjetima iz **Tablice**

2.

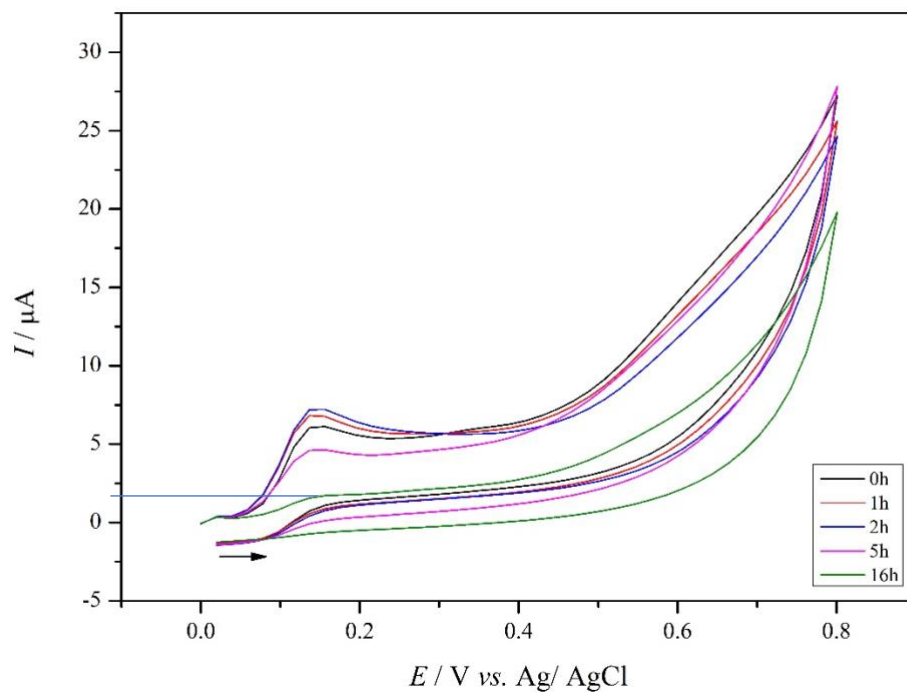
4.3. Elektrokemijska karakterizacija modela rutin— β -glukan cikličkom voltametrijom



Slika 25. Ciklički voltamogram modela rutin (25 mg L^{-1}) — β -glukan (5 mg L^{-1}) u $0,1 \text{ M}$ fosfatnom puferu pH 5,5 kroz vremenski period (0-16 sata), snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1**.



Slika 26. Ciklički voltamogram modela rutin (25 mg L^{-1}) — β -glukan (5 mg L^{-1}) u $0,1 \text{ M}$ fosfatnom puferu pH 7,5 kroz vremenski period (0-16 sata), snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1**.



Slika 27. Ciklički voltamogram modela rutin (25 mg L^{-1}) — β -glukan (5 mg L^{-1}) u $0,1 \text{ M}$ karbonatnom puferu pH 10 kroz vremenski period (0-16 sata), snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1.**

5. RASPRAVA

U ovom diplomskom radu provedeno je elektrokemijsko istraživanje stabilnosti modela rutin— β -glukan primjenom cikličke i pravokutnovalne voltametrije. Da bi se istražila stabilnost modela rutin— β -glukan provela se i elektrokemijska karakterizacija rutina primjenom istih tehnika voltametrije uz slijedeće eksperimentalne parametre: utjecaj brzine polarizacije, utjecaj promjene pH vrijednosti osnovnog pufera te frekvencije pobudnog signala.

5.1. Elektrokemijska karakterizacija rutina cikličkom voltametrijom (CV)

Na **Slikama 10-12** prikazani su ciklički voltamogrami višestruke uzastopne polarizacije rutina (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu $0,1 \text{ M}$ fosfatnom puferu pH 5,5 i pH 7,5 te u $0,1 \text{ M}$ karbonatnom puferu pH 10 pri mjernim parametrima prikazanim u **Tablici 1**. Iz cikličkih voltamograma višestruke uzastopne polarizacije rutina može se uočiti da u drugoj i trećoj uzastopnoj polarizaciji dolazi do opadanja strujnog odziva i neznatnog pomaka elektrodnog potencijala prema nižim vrijednostima jer vjerojatno dolazi do nastanka oksidacijskih produkata na površini radne elektrode te je otežana difuzija analita kroz otopinu do površine radne elektrode. U pH 5,5 i 7,5 može se uočiti jedan jasno izraženi oksidacijski i jedan jasno izraženi redukcijski pik što govori da je prisutan reverzibilni proces na površini radne elektrode. U pH 10 uočava se samo jedan jasno izraženi oksidacijski pik, dok nije primijećen redukcijski pik. Utjecaj pH otopine može se objasniti pomoću distribucijskog dijagrama rutina koji se kreira na temelju pK_a vrijednosti rutina te su promjene u molekuli rutina povezane sa strukturalnim transformacijama molekule rutina koja je do pH vrijednosti 6 neutralna molekula, a povećanjem pH vrijednosti molekula rutina prelazi u anionski oblik (Mielczarek, 2005).

Ispitan je utjecaj brzine polarizacije na cikličke voltamograme rutina (25 mg L^{-1}) u $0,1 \text{ M}$ fosfatnom puferu pH 5,5 (**Slika 13**) i pH 7,5 (**Slika 14**) te u $0,1 \text{ M}$ karbonatnom puferu pH 10 (**Slika 15**) u rasponu od 50, 75 i 100 mV s^{-1} te se uočava da porastom brzine polarizacije raste strujni odziv, a elektrodni potencijal se nezamjetno mijenja prema pozitivnijim vrijednostima. U pH 10 uočava se jednak izgled cikličkog voltamograma rutina kao i kod višestruke uzastopne polarizacije, samo što se pri višim brzinama polarizacije razvija još jedan pik na potencijalu oko $0,600 \text{ V}$ što može biti razlog nastanka novih oksidacijskih spojeva na površini radne elektrode (Adam i sur., 2007.).

5.2. Elektrokemijska karakterizacija rutina pravokutnovalnom voltametrijom (SWV)

Pravokutnovalni voltamogrami rutina prikazani su na **Slikama 16–18** u puferским otopinama pH 5,5, 7,5 i 10 prema eksperimentalnim parametrima prikazanim u **Tablici 2**. Prema izgledu pravokutnovalnih voltamograma rutina u svim ispitanim pH vrijednostima otopine može se uočiti jedan jasno izraženi odziv ukupne struje na potencijalu oko 0,380 V, odnosno 0,280 V odnosno 0,180 V. Ukupna struja se može razdvojiti na anodnu i katodnu struju te pomak potencijala govori da je prisutna reverzibilna elektrokemijska reakcija na površini radne elektrode.

Zatim je ispitan utjecaj višestruke uzastopne polarizacije na pravokutnovalne voltamograme rutina u 0,1 M fosfatnom puferu pH 5,5 (**Slika 19**) i pH 7,5 (**Slika 20**) i 0,1 M karbonatnom puferu pH 10 (**Slika 21**) te se može uočiti da porastom pH vrijednosti otopine ukupna struja rutina smanjuje te se potencijal pomiče prema nižim vrijednostima. Također, utjecaj višestruke uzastopne polarizacije rutina u drugoj i trećoj polarizaciji pokazuje opadanje ukupnog strujnog odziva i neznatni pomak potencijala prema većim vrijednostima što govori o otežanoj difuziji elektroaktivnih tvari iz otopine prema površini radne elektrode te je stoga ukupni strujni odziv niži.

Nadalje, ispitan je utjecaj frekvencije pobudnog signala na pravokutnovalne voltamograme rutina prikazanih na **Slikama 22-24**. Pomoću ovog parametra može se pratiti proces kinetike elektrokemijske reakcije na površini radne elektrode. Utjecaj promjene brzine polarizacije odnosno utjecaj frekvencije pobudnog signala koji je povezana s efektivnom brzinom polarizacije praćen je u području od 50 do 100 Hz. Iz grafičkih prikaza može se uočiti da povećanjem frekvencije pobudnog signala dovodi do povećanja ukupnog strujnog odziva.

Stoga na osnovi provedenih elektrokemijskih ispitivanja rutina se može zaključiti da se na površini radne elektrode od staklastog ugljika odvija reverzibilna elektrokemijska reakcija putem $2e^-2H^+$ mehanizmom kontroliranim difuzijom elektroaktivnih tvari iz otopine na radnu elektrodu.

5.3. Elektrokemijska karakterizacija modela rutin— β -glukan cikličkom voltametrijom (CV)

Provedena je elektrokemijska karakterizacija modela modela rutin (25 mg L^{-1}) — β -glukan (5 mg L^{-1}) u različitim vrijednostima pH otopina (pH 5,5, 7,5 i 10) i kroz različiti vremenski period istraživanja (0, 1, 2, 5 i 16 sati) da bi se odredila elektrokemijska stabilnost ispitnog modela, a uz primjenu cikličke voltametrije pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1**.

Na **Slikama 25, 26 i 27** prikazani su ciklički voltamogrami modela rutin (25 mg L^{-1}) — β -glukan (5 mg L^{-1}) iz kojih se može uočiti prisustvo jednog oksidacijskog i jednog redukcijskog pika dok kod pH 10 se uočava samo jedan oksidacijski pik, a jednako je uočeno i kod molekule rutina. U usporedbi modela rutin (25 mg L^{-1}) — β -glukan (5 mg L^{-1}) s molekulom rutina može se uočiti da se potencijal modela i molekule rutina slažu odnosno da je primjetan neznatni pomak potencijala prema višim vrijednostima u odnosu na molekulu rutina što govori da kemijska struktura modela rutin (25 mg L^{-1}) — β -glukan (5 mg L^{-1}) utječe na elektrokemijsku reakciju na površini radne elektrode. No zbog mogućnosti razdvajanja ukupne struje modela rutin (25 mg L^{-1}) — β -glukan (5 mg L^{-1}) na anodnu i katodnu može se zaključiti da je proces reverzibilan osim u pH 10 kada je ireverzibilan.

Utjecaj vremena ispitivanja na cikličke voltamograme modela rutin (25 mg L^{-1}) — β -glukan (5 mg L^{-1}) pokazao je da je u sva tri ispitana pH, vrijednost ukupne struje najniža u šesnaestom satu ispitivanja vjerojatno zbog značajne promjene u kemijskoj strukturi modela rutin (25 mg L^{-1}) — β -glukan (5 mg L^{-1}).

6. ZAKLJUČAK

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Ciklički voltamogram višestruke uzastopne polarizacije rutina u 0,1 M fosfatnom puferu pH 5,5 i pH 7,5 karakterizira jedan anodni i jedan katodni strujni pik što ukazuje da je prisutan reverzibilni proces na površini radne elektrode, dok u pH 10 karakterizira samo prisustvo jendog anodnog strujnog pika.
- Ciklički voltamogrami višestruke uzastopne polarizacije rutina u svim ispitanim pH vrijednostima otopina prikazuju pad strujnog odziva pri drugoj i trećoj polarizaciji što ukazuje na nastanak oksidacijskih produkata na površini radne elektrode.
- Utjecaj brzine polarizacije na cikličke voltamograme rutina (25 mg L^{-1}) pri ispitivanim pH vrijednostima (pH 5,5, 7,5 i 10) ukazuje da porastom brzine polarizacije raste strujni odziv.
- Izgled pravokutnovalnih voltamograma rutina (25 mg L^{-1}) u svim ispitanim pH vrijednostima otopina prikazuje jedan jasno izraženi odziv ukupne struje.
- Utjecaj višestruke uzastopne polarizacije na pravokutnovalne voltamograme rutina (25 mg L^{-1}) pokazuje da porastom pH vrijednosti otopine ukupna struja rutina se smanjuje te se potencijal pomiče prema nižim vrijednostima što govori da se na površini radne elektrode nalazi sloj nastalih oksidacijskih produkata koji otežavaju difuziju elektroaktivnih tvari kroz otopinu do površine radne elektrode.
- Utjecaj frekvencije pobudnog signala na pravokutnovalne voltamograme rutina (25 mg L^{-1}) ukazuje da povećanjem frekvencije pobudnog signala dolazi do povećanja ukupnog strujnog odziva.
- Također, iz cikličkih voltamograma modela rutin (25 mg L^{-1}) — β -glukan (5 mg L^{-1}) može se uočiti jasno izraženi anodni i katodni strujni pik što ukazuje na reverzibilnost procesa, dok je pri pH 10, isto kao i kod molekule rutina, vidljiv samo jedan anodni strujni pik te je proces ireverzibilan.
- Vrijeme ispitivanja utječe na cikličke voltamograme modela rutin (25 mg L^{-1}) — β -glukan (5 mg L^{-1}) tako da je pri svim ispitivanim pH vrijednostima (pH 5,5, 7,5, 10) vrijednost ukupne struje najniža u šesnaestom satu.

7. LITERATURA

- Adam V, Mikelova R, Hubalek J, Hanustiak P, Beklova M, Hodek P, Horna A, Trnkova L, Stiborova M, Zeman L, Kizek R: Utilizing of square wave voltammetry to detect flavonoids in the presence of human urine. *Sensors* 7:2402-2418, 2007.
- Berend S, Grabarić Z: Određivanje polifenola u namirnicama metodom ubrizgavanja u protok. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* 59:205-212, 2008.
- Caltagirone D, Ranelletti FO, Rinelli A, Maggiano N, Colasante A, Musiani P, Aiello FB, Piantelli M: Interaction with Type II Estrogen Binding Sites and Antiproliferative Activity of Tamoxifen and Quercetin in Human Non-Small-Cell Lung Cancer. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 17:51-59, 1997.
- Choi SU, Kim KH, Choi EJ, Park SH, Lee CO, Jung NP, Yoon SK, Ryu SY: P-glycoprotein (Pgp) does not affect the cytotoxicity of flavonoids from *Sophora flavescens*, which also have no effects on Pgp action. *Anticancer Research* 19: 2035-2040, 1999.
- Del Rio D, Rodriguez-Mateos A, Spencer J.P.E, Tognolini M, Borges G, Crozier A: Dietary (poly)phenolics in human health: structures, bioavailability and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants and Redox Signaling* 18:1818-1892, 2013.
- Farghaly O. A, Abdel Hameed R. S, Abu-Nawwas A. H: Analytical application using modern electrochemical techniques. *International Journal of Electrochemical Science* 9:3287-3318, 2014.
- Ganeshpurkar A, Saluja A. K: The pharmacological potential of rutin. *Saudi Pharmaceutical Journal* 25:149-164, 2017.
- Ghica M. E, Oliveira Brett A. M: Electrochemical oxidation of rutin. *Electroanalysis* 17:313-318, 2004.
- Holmann PCH, Katan MB: Dietary Flavonoids: Intake, health effects and bioavailability. *Food and Chemical Toxicology* 37:937-942, 1999.
- Kang J, Lu X, Zeng H, Liu H, Lu B: Investigation on the electrochemistry of rutin and its analytical application. *Analytical Letters* 35: 677-686, 2002.
- Kazazić S. P: Antioksidacijska i antiradikalska aktivnost flavonoida. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* 55:279-290, 2004.
- Laroche C, Michaud P: New developments and prospective applications for β -(1,3) glucans. *Recent Patents on Biotechnology* 1:59-73, 2007.

- Liu X, Le Bourvellec C, Renard C: Interactions between cell wall polysaccharides and polyphenols: Effect of molecular internal structure. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 19:3574-3617, 2020.
- Macikova P, Halouzka V, Hrbac J, Bartak P, Skopalova J: Electrochemical behavior and determination of rutin on modified carbon paste electrodes. *The Scientific World Journal* 2012.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jimenez L: Polyphenols: Food source and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* 79:727-747, 2004.
- Medvidović-Kosanović M, Šeruga M, Jakobek L, Novak I: Electrochemical and antioxidant properties of rutin. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications* 75:547-561, 2010.
- Mielczarek C: Acid-base properties of selected flavonoid glycosides. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 25(2-3):273-279, 2005.
- Nigović B, Behetić S: Elektroanalitika u farmaciji. *Farmaceutski glasnik* 63:163-175, 2007.
- Pandey K. B, Rizvi S. I: Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2:270-278, 2009.
- Petravić-Tominac V, Zechner-Krpan V, Grba S, Srećec S, Panjkota-Krbavčić I, Vidović L: Biological effects of yeast β -glucans. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 75:149-158, 2010.
- Piljac I: *Senzori fizikalnih veličina i elektroanalitičke metode*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Media Print, Zagreb, 2010.
- Quirós-Sauceda A. E, Palafox-Carlos A, Sáyago-Ayerdi S. G, Ayala-Zavala J. F, Bello-Perez L. A, Álvarez-Parrilla E, de la Rosa L. A, González-Córdova A. F, González-Aguilar G. A: Dietary fiber and phenolic compounds as functional ingredients: interaction and possible effect after ingestion. *Food & Function Journal* 5:1063-1072, 2014.
- Skoog D.A, West D.M, Holler F.J: *Osnove analitičke kemije*. Školska knjiga, Zagreb, 1999.
- Wang B, Ji X, Zhao H, Wang N, Li X, Ni R, Liu Y: An amperometric β -glucan biosensor based on the immobilization of bi-enzyme on Prussian blue-chitosan and gold nanoparticles-chitosan nanocomposite films. *Biosensors and Bioelectronics* 55:113-119, 2014.