

Određivanje stabilnosti modela klorogenska kiselina - β -glukan primjenom cikličke i pravokutnovalne voltametrije

Gjerek, Anela

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:109:680832>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-31**

REPOZITORIJ

PTFS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Anela Gjerek

Određivanje stabilnosti modela klorogenska kiselina- β -glukan primjenom cikličke i pravokutnovalne voltametrije

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, biokemiju 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 IX. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2020./2021. održanoj 24. lipnja 2021.

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

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

Određivanje stabilnosti modela klorogenska kiselina- β -glukan primjenom cikličke i pravokutnovalne voltametrije

Anela Gjerek, 0113141494

Sažetak:

Ciklička voltametrija i pravokutnovalna voltametrija su elektrokemijske tehnike koje se najčešće primjenjuju za elektrokemijsku oksidaciju različitih uzoraka jer daju informacije o mehanizmu reakcije koja se odvija na površini radne elektrode te o reverzibilnosti, ireverzibilnosti i kvazireverzibilnosti elektrokemijskog procesa. Ove voltametrijske tehnike su brze, jednostavne, precizne, osjetljive te su pogodne za kvalitativnu i kvantitativnu analizu različitih uzoraka. Mjerenje se odvija u troelektrodnoj ćeliji u prisustvu inertnog elektrolita. Za elektrokemijsku analizu odabrana je klorogenska kiselina koja se ubraja u hidroksicimetne kiseline i zastupljena je u biljkama te je β -glukan odabran kao jedan od predstavnika prehrambenih vlakana. Zadatak ovog diplomskog rada je ispitati elektrokemijsko ponašanje modela klorogenska kiselina— β -glukan pri različitim pH vrijednostima inertnog elektrolita i u određenom vremenskom periodu da bi se odredila stabilnost ovog modela. Također će se provesti i elektrokemijska oksidacija klorogenske kiseline. Rezultati elektrokemijske oksidacije klorogenske kiseline su pokazali da se na površini radne elektrode odvija reverzibilni proces kontroliran difuzijom dok na rezultate ispitivanog modela utječu pH i vremenski period ispitivanja.

Ključne riječi: klorogenska kiselina, β -glukan, ciklička voltametrija, pravokutnovalna voltametrija

Rad sadrži: 38 stranica
27 slika
2 tablice
30 literaturne reference

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: 28. rujna 2021.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Applied Chemistry and Ecology
Subdepartment of Applied Chemistry, Biochemistry 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. 9 held on June 24, 2021.

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

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

Determination of Chlorogenic Acid- β -Glucan Model Stability Using Cyclic and Square-Wave Voltammetry

Anela Gjerek, 0113141494

Summary:

Cyclic voltammetry and square-wave voltammetry are electrochemical techniques most commonly used for electrochemical oxidation of various samples because they provide information on the reaction mechanism that takes place on the working electrode surface and the reversibility, irreversibility and quasi-reversibility of the electrochemical process. These voltammetric techniques are fast, simple, precise, sensitive and are suitable for qualitative and quantitative analysis of different samples. The measurement takes place in a three-electrode cell in the presence of an inert electrolyte. For electrochemical analysis, chlorogenic acid, which is a hydroxycinnamic acid and is present in plants, was selected, and β -glucan was selected as one of the representatives of dietary fibre. The aim of this work is to examine the electrochemical behaviour of the chlorogenic acid— β -glucan model in different pH values of the inert electrolyte and different periods to determine the stability of this model. Electrochemical oxidation of chlorogenic acid will also be performed. The results of electrochemical oxidation of chlorogenic acid showed that a reversible diffusion-controlled process takes place on the surface of the working electrode, while the results of the tested model are influenced by the pH and time period of the investigation.

Key words: chlorogenic acid, β -glucan, cyclic voltammetry, square-wave voltammetry

Thesis contains: 38 pages
27 figures
2 tables
30 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 28, 2021

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

Ovaj diplomski rad je financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom

IP-2016-06-6777.

Zahvaljujem svojoj obitelji, roditeljima Tamari i Alenu koji su mi omogućili studiranje i sestri Luciji što su uvijek bili uz mene, vjerovali u mene i davali podršku kad je bilo teško. Hvala vam na svakom savjetu, podršci i riječima potpore koji su me gurali dalje.

Hvala mojim prijateljima koji iako su bili daleko od mene, uvijek su bili tu kad je trebalo. Također, hvala mojim kolegama, posebno Andriji i Kristini, na međusobnoj podršci i pomoći tijekom učenja i studiranja, s vama je sve bilo puno lakše. Hvala vam svima što ste vjerovali u mene i bili mi ogromna podrška kroz cijelo studiranje.

Na kraju, iskreno i veliko hvala mojoj mentorici dr.sc. Ivani Tomac na savjetima, razumijevanju, podršci, pomoći i prenesenom znanju tijekom izrade i pisanja ovog diplomskog rada.

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	TEORIJSKI DIO	3
2.1.	HIDROKSICIMETNE KISELINE	4
2.1.1.	KLOGENSKKE KISELINE	6
2.2.	PREHRAMBENA VLAKNA	7
2.2.1.	β -GLUKAN	7
2.3.	METODE ZA ODREĐIVANJE POLIFENOLNIH SPOJEVA	8
2.3.1.	Elektrokemijske metode	8
3.	EKSPERIMENTALNI DIO	12
3.1.	ZADATAK RADA	13
3.2.	MATERIJALI.....	13
3.2.1.	Kemikalije i priprema otopina.....	13
4.	REZULTATI.....	16
4.1.	Ciklička voltometrija klorogenske kiseline	17
4.2.	Pravokutnovalna voltometrija klorogenske kiseline	20
4.3.	Ciklička voltometrija modela klorogenska kiselina— β -glukan.....	24
5.	RASPRAVA.....	27
5.1.	Ciklička voltometrija klorogenske kiseline	28
5.2.	Pravokutnovalna voltometrija klorogenske kiseline	30
5.3.	Ciklička voltometrija modela klorogenska kiselina— β -glukan.....	31
6.	ZAKLJUČAK	32
7.	LITERATURA	35

1. UVOD

Polifenoli su sekundarni metaboliti biljaka. Prema kemijskoj strukturi razlikuju se s obzirom na prisutnost jednog ili više hidroksiliranih benzenskih prstenova te se mogu podijeliti na fenolne kiseline, flavonoide, stilbene i lignane. Polifenoli u biljkama djeluju kao signalne molekule, sudjeluju u hormonskoj regulaciji rasta biljaka, štite biljku od infekcija mikroorganizmima, djeluju kao zaštitni agensi od UV zračenja, pridonose pigmentaciji biljaka i slično (Berend i Grabarić, 2008). Epidemiološka istraživanja autora Minussi i suradnika (2003.) te Higdon i suradnika (2003.) su pokazala da neki polifenoli iz biljaka imaju vjerojatno pozitivan učinak na zdravlje ljudi kao što je protuupalni učinak.

Klorogenska kiselina ubraja se u skupinu fenolnih kiselina odnosno u hidroksicimetne kiseline (Namazian i Zare, 2005). Predstavlja ester kafeinske i kina kiseline (Gil i Wianowska, 2017). Epidemiološke studije pokazale su mogući pozitivan utjecaj unosa izvora klorogenske kiseline na ljudski organizam te je kao dodatak svoju primjenu našla u farmaciji (dodaci prehrani, kozmetika) i prehrambenoj industriji (Gil i Wianowska, 2017). Izvori klorogenske kiseline su različito voće, povrće i biljke među kojima prema sadržaju se ističe kava (Veljkovic i sur., 2018).

Danas su prisutne različite tehnike identifikacije i kvantifikacije klorogenske kiseline iz uzoraka biljaka i hrane, a ističu se kromatografija, spektroskopija i elektrokemijske metode.

β -glukan je dugolančani polisaharid koji se prirodno nalazi i izolira iz stanične stijenke kvasca (*Saccharomyces cerevisiae*), žitarica (zob, ječam), gljiva (reishi, shiitake i maitake) i nekih vrsta algi. Razlikuju se dva oblika glukana, netopivi oblik izoliran je iz kvasca, dok je topivi (1,3-1,4- β -glukan) izoliran iz gljiva (shiitake, reishi, maitake) i žitarica (zob i ječam). U prehrambenoj industriji se koriste kao aditivi za hranu u proizvodima kao što su preljevi za salate, smrznuti deserti, kiselo vrhnje i sirni namazi (Petravić-Tominac i sur., 2010).

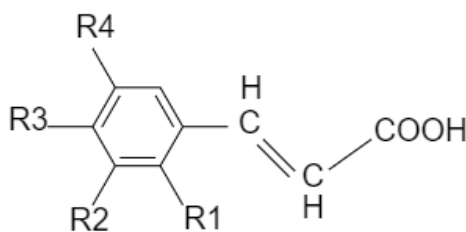
Zadatak ovog diplomskog rada je ispitati elektrokemijsko ponašanje modela klorogenska kiselina— β -glukan u različitim pH vrijednostima inertnog elektrolita i u određenom vremenskom periodu da bi se odredila stabilnost ovog modela te provesti elektrokemijsku oksidaciju klorogenske kiseline. Klorogenska kiselina je izabrana kao jedna od predstavnica hidroksicimetnih kiselina, a β -glukan kao jedan od predstavnika prehrambenih vlakana.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. HIDROKSICIMETNE KISELINE

Fenolne kiseline dijele se na derivate hidroksicimetne i derivate hidroksibenzojeve kiseline. Rasprostranjene su u voću i povrću, a njihov sadržaj je različit. Eksperimentalna i epidemiološka istraživanja pokazala su mogući zaštitni utjecaj unosa fenolnih kiselina na ljudski organizam (Lafay i Gil-Izquierdo, 2008).

Kemijska struktura hidroksicimetnih kiselina prikazana je na **Slici 1**. Hidroksicimetne kiseline nalaze se u listovima čaja, kavi, crnom vinu, povrću i cjelovitim žitaricama (Teixeira i sur., 2013).



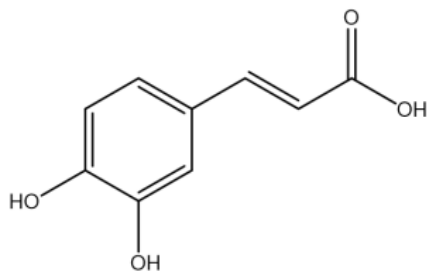
Slika 1 Kemijska struktura hidroksicimetne kiseline

Značajni predstavnici skupine hidroksicimetnih kiselina su *p*-kumarinska, kafeinska, ferulična, sinapična i klorogenska kiselina (Teixeira i sur., 2013).

S obzirom na to da su hidroksicimetne kiseline spojevi koji pokazuju elektroaktivno djelovanje, primjena elektrokemijskih tehnika može biti pogodna za proučavanje mehanizama reakcije oksidacije odnosno redukcije. Glavna strukturalna značajka odgovorna za potencijalno antioksidativno djelovanje derivata hidroksicimetne kiseline je broj i mjesto hidroksilnih skupina prisutnih u molekuli te potencijalno mogu zaustaviti nastanak slobodnih radikala (Teixeira i sur., 2013).

Kafeinska kiselina

Kafeinska kiselina (3,4-dihidroksicimetna kiselina) je organski spoj iz skupine hidroksicimetnih, fenolnih kiselina (**Slika 2**).

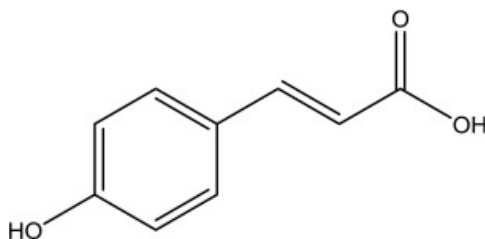


Slika 2 Kemijska struktura kafeinske kiseline

Prirodni izvori kafeinske kiseline su eukaliptus, slatkovodne paprati, gljive, kava, arganovo ulje, trave poput timjana, kadulje i metvice, začini poput cimeta, sjemenke suncokreta, crveno vino, sok od šljive, američka crna divlja trešnja, brusnice, ječam i raž, borovnice, jabuke, jabukovača i propolis. (Magnani i sur., 2014).

***p*-Kumarinska kiselina**

p-Kumarinska kiselina (**Slika 3**) je fenolni spoj koji se nalazi u gljivama, žitaricama (kukuruz, riža, zob i pšenica), voću (jabuke, kruške i grožđe) i povrću (mrkva, krumpir, grah, luk i rajčica) (Shenab i sur., 2019).

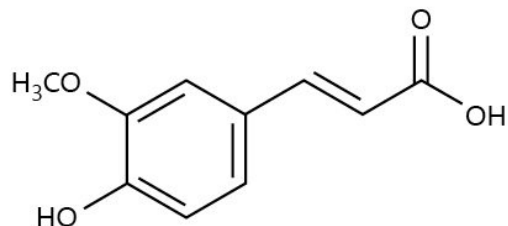


Slika 3 Kemijska struktura *p*-kumarinske kiseline

Ferulična kiselina

Ferulična kiselina (**Slika 4**) pripada skupini fenolnih kiselina i nalazi se u biljnim tkivima. Najčešće se nalazi u cjelovitim žitaricama, špinatu, peršinu, grožđu, rabarbari i sjemenkama žitarica, uglavnom pšenice, zobi, raži i ječma. Ferulična kiselina se lako apsorbira i ostaje u krvi dulje od bilo koje druge fenolne kiseline. Smatra se mogućim jakim antioksidansom, sportski je dodatak jer vjerojatno može neutralizirati slobodne radikale u mišićnom tkivu (ublažiti umor mišića). Upotrebljava se u farmaciji i prehrambenoj industriji. Također se primjenjuje u formulacijama za

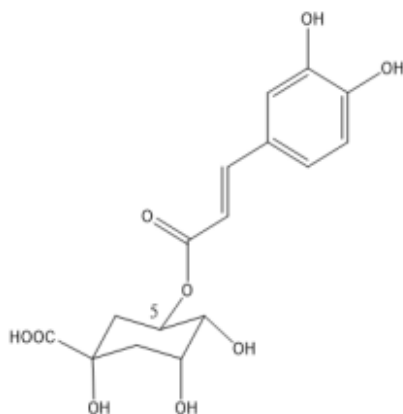
njegu kože kao fotozaštitno sredstvo (kreme za sunčanje) te za odgađanje procesa starenja kože (Zdunska i sur., 2018).



Slika 4 Kemijska struktura ferulične kiseline

2.1.1. KLOROGENSKE KISELINE

Klorogenske kiseline (*eng.* Chlorogenic acids, CGAs) su esteri hidroksicimetnih kiselina (najčešće kafeinske, ferulične i *p*-kumarinske kiselina) i kina kiselina (Gil i Wianowska, 2017). One su biološki važni fenolni spojevi prisutni u različitim biljnim vrstama. Najzastupljenija klorogenska kiselina (**Slika 5**) u biljnom materijalu je 5-*O*-kafeoilkina kiselina (5-CQA) (Vermerris i Nicholson, 2006).



Slika 5 Strukturna formula klorogenske kiseline, 5-*O*-kafeoilkina kiselina

Kemijsku strukturu klorogenskih kiselina čine jedna ili dvije kateholne skupine s dvije -OH skupine u *orto* položaju (Vermerris i Nicholson, 2006). Neki od izvora klorogenske kiseline su kava, zeleni čaj, voće i povrće. Do danas provedene su brojne epidemiološke studije u vezi utjecaja

klorogenskih kiselina na zdravlje, pa je tako jedna studija pretpostavila da bi klorogenske kiseline mogle biti od pomoći u borbi protiv pretilosti no potrebna su daljnja istraživanja (Thom, 2007). Nadalje, istraživano je moguće antioksidativno, antibakterijsko, protuupalno, neuroprotektivno, antivirusno djelovanje klorogenske kiseline na ljudski organizam (Naveed i sur., 2017). Klorogenska kiselina, dobivena iz ekstrakta zelene kave, pokazala je moguću učinkovitost u borbi protiv visokog krvnog tlaka (hipertenzija) i koristi se kao moguća prevencija u sprječavanju nekih drugih kroničnih bolesti (Higdon i Frei, 2006).

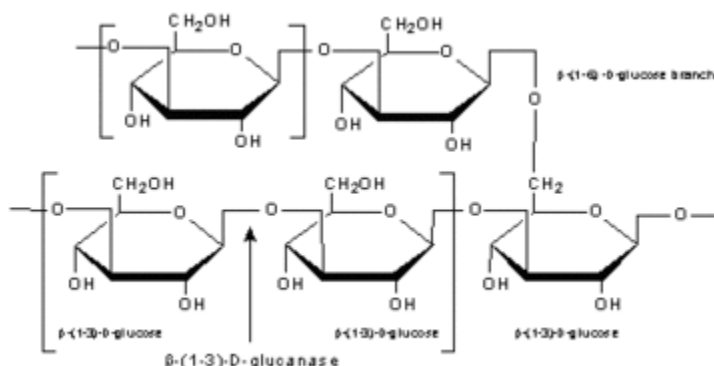
2.2. PREHRAMBENA VLAKNA

Prehrambena vlakna su jestivi dijelovi biljaka odnosno ugljikohidrati koji potpuno ili djelomično fermentiraju u debelom crijevu. Prehrambena vlakna uključuju polisaharide, oligosaharide, lignin. Mogu biti topljiva i netopljiva u vodi (De Vries, 2001). Topljiva vlakna su β -glukan, pektin, gume, biljni lijepak i ona fermentiraju. Netopljiva vlakna su celuloza, hemiceluloza, lignin i ona djelomično fermentiraju. Prehrana bogata vlaknima, poput žitarica, orašastih plodova, voća i povrća, ima mogućí pozitivan učinak na zdravlje (protiv nekih bolesti probavnog i krvožilnog sustava) (Othles i Ozgoz, 2014). Prehrambena vlakna se koriste u pekarskim proizvodima, napitcima, desertima, mesnim proizvodima i slično. Utjecaj različitih postupaka prerade (ekstruzija, konzerviranje, mljevenje, prženje) mijenja fizikalno-kemijska svojstva prehrambenih vlakana i poboljšava njihovu funkcionalnost. Prehrambena vlakna mogu se odrediti različitim instrumentalnim tehnikama, kao što su enzimске, gravimetrijske i enzimsko-kemijske metode (Dhingra i sur., 2012).

2.2.1. β -GLUKAN

β -glukan (**Slika 6**) je dugolančani polisaharid koji se prirodno nalazi i dobiva iz stanične stjenke kvasca (*Saccharomyces cerevisiae*), a nalazi se u žitaricama (zob, ječam), gljivama (reishi, shiitake

i maitake) i u nekim vrstama algi. Oznake 1,3 i 1,6 označavaju da su molekule glukoze međusobno povezane na ugljikovim atomima C1 i C3, odnosno C1 i C6 (Ahmad i sur., 2012).



Slika 6 Kemijska struktura β – glukana iz kvasca (WEB 1)

U prehrambenoj industriji se koristi kao aditiv za hranu u proizvodima kao što su preljevi za salate, smrznuti deserti, kiselo vrhnje i sirni namazi (Ahmad i sur., 2012).

2.3. METODE ZA ODREĐIVANJE POLIFENOLNIH SPOJEVA

Do danas su razvijene različite instrumentalne tehnike za određivanje odnosno identifikaciju i kvantifikaciju polifenolnih spojeva. Najčešće se u tu svrhu primjenjuju kromatografske tehnike odnosno tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), spektroskopske tehnike (spektrofotometrija, spektroskopija nuklearne magnetske rezonancije, masena spektrometrija), kapilarna elektroforeza te elektrokemijske tehnike (potencijometrija, voltometrija, *stripping* metode) (Ignat i sur., 2011.)

2.3.1. Elektrokemijske metode

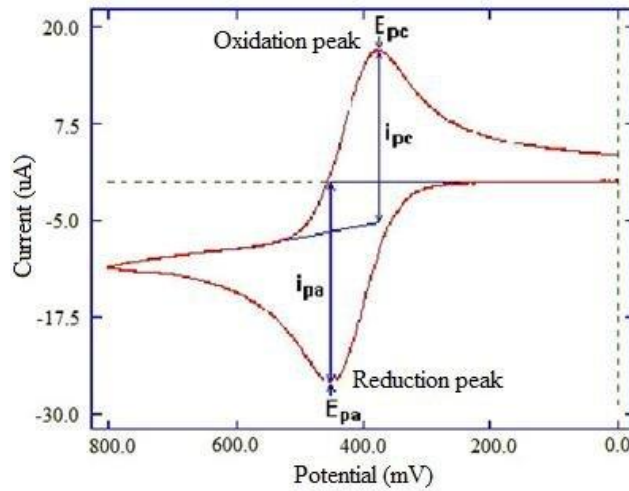
Elektrokemijske metode su instrumentalne tehnike čija je prednost osjetljivost, točnost, preciznost i selektivnost. Analiza je brza, a instrumenti relativno jeftini. Pojedine elektrokemijske metode temelje se na principu kontinuirane promjene primijenjenih potencijala u okolini elektroda-otopina i izmjerene struje (Farghaly i sur., 2014).

Elektrokemijske metode predstavljaju dobru usporednu metodu ostalim instrumentalnim tehnikama jer nema značajne i komplicirane pripreme uzoraka (razaranje organskih tvari i slično). Upravo zbog svojih prednosti: brzine, preciznosti, selektivnosti, osjetljivosti su često metode od izbora. Najčešće se koriste voltametrijske metode (ciklička, diferencijalna pulsna, pravokutnovalna), potenciometrijske i amperometrijske metode (Kilmartin, 2001.).

Elektrokemijska mjerenja provode se u elektrokemijskoj ćeliji sastavljenoj od posude koja sadrži otopinu koja je najčešće ionski vodič. S obzirom na protok električne struje, elektrokemijske metode se dijele na one kod kojih kroz elektrokemijsku ćeliju prolazi i ne prolazi električna struja. Metode kod kojih nema protoka električne struje, električni napon koji nastaje između elektroda uspostavlja se spontano odvijanjem elektrokemijskih reakcija na elektrodama. Elektrokemijske metode kod kojih postoji tok električne struje kroz elektrokemijsku ćeliju, a i vanjski električni krug zbog primjene napona iz vanjskog izvora, uzrokuje elektrokemijske reakcije na elektrodama odnosno reakcije oksidacije i redukcije. Mjerena fizikalna veličina je odziv sustava u ćeliji na vanjski signal pobude. Ako je signal pobude električni napon, kroz radnu će elektrodu prolaziti električna struja, čija jakost ovisi o obliku naponskog signala pobude, vrsti primijenjene elektrode i koncentraciji elektroaktivnih čestica. Prema tome, rezultirajuća fizikalna veličina, odnosno signal odziva je električna struja (Piljac, 2010).

Ciklička voltometrija

Ciklička voltometrija (CV) je metoda koja je najčešće korištena za određivanje svojstava i karakteristika elektrokemijskih procesa. Signal pobude je linearno promjenjivi potencijal, a signal odziva je jakost struje. Ovisno o informacijama koje se žele dobiti, može se koristiti jedan ili više ciklusa. Grafički prikaz odziva naziva se ciklički voltamogram (**Slika 7**).

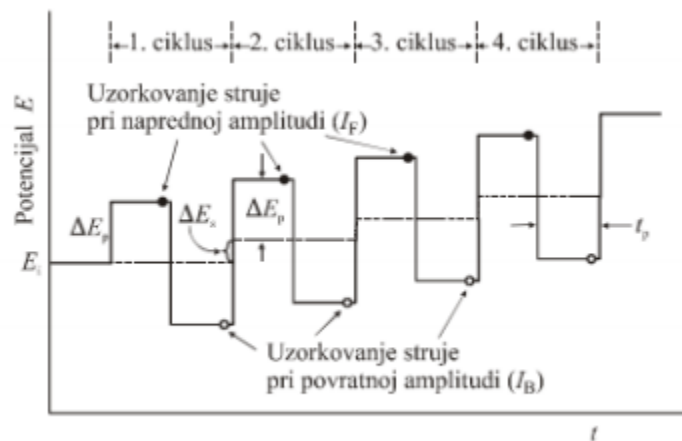


Slika 7 Ciklički voltamogram (WEB 2)

Iz snimljenih cikličkih voltamograma pri različitim brzinama posmika potencijala te iz snimanja voltametrijskih odziva uz ponavljani posmik potencijala brzo i jednostavno se dobiju parametri za utvrđivanje mehanizma elektrodne reakcije (Piljac, 2010).

Pravokutnovalna voltometrija

Pravokutnovalna voltometrija (SWV) je jedna od važnih instrumentalnih metoda. Signal pobude i vremena uzorkovanja struje u pravokutnovalnoj voltometriji je prikazan na **Slici 8**.



Slika 8 Prikaz signala pobude i vremena uzorkovanja struje u pravokutnovalnoj voltametriji
(Piljac, 2010.)

Glavna prednost ove metode je velika brzina polarizacije odnosno brzo snimanje pravokutnovalnih voltamograma te mogućnost razdvajanja ukupne struje na anodnu i katodnu komponentu struje (Brett i Oliveira Brett, 1994).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK RADA

Zadatak ovog diplomskog rada je bio ispitati elektrokemijsko ponašanje modela klorogenska kiselina — β -glukan u smislu:

- utjecaja višestruke uzastopne polarizacije,
- utjecaja brzine polarizacije
- promjene pH osnovnog elektrolita
- te utjecaja različitog vremenskog perioda primjenom elektrokemijskih tehnika cikličke voltometrije i pravokutnovalne voltometrije, a s ciljem određivanja stabilnosti modela.

3.2. MATERIJALI

3.2.1. Kemikalije i priprema otopina

Otopine koje su se koristile tijekom ovog diplomskog rada su klorogenska kiselina, β -glukan, ultračista voda, karbonatni pufer i fosfatni pufer.

Korištena je otopina fosfatnog pufera (PBS) koncentracije $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH vrijednosti 5,5 i 7,5. Otopina PBS pufera pripremljena je od natrijevog dihidrogenfosfata i dinatrijevog hidrogenfosfata. Za pripremu otopine PBS pufera korištena je ultračista voda (vodljivost vode $< 0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$).

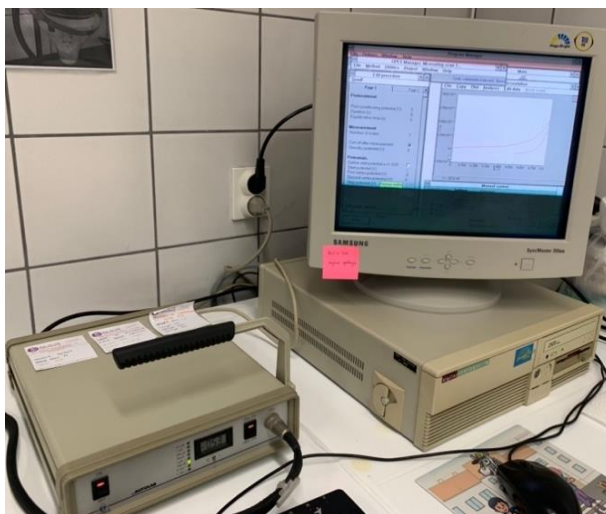
Također je korištena otopina karbonatnog pufera koncentracije $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH vrijednosti 10. Pripremljena je od natrijevog hidrogenkarbonata i dinatrijevog karbonata. Za pripremu otopine karbonatnog pufera korištena je ultračista voda (vodljivost vode $< 0,1 \mu\text{S cm}^{-1}$).

Model otopina pripremljena je od otopine klorogenske kiseline 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 i pravokutnovalna voltometrija

Voltometrijska mjerenja (SWV i CV) provedena su na uređaju potenciostat/galvanostat μ Autolab uz primjenu GPES (General Purpose Electrochemical System) programske podrške, verzija 4.9.005. (Eco Chemie B. V., Utrecht, Nizozemska), koji je služio za provođenje mjerenja te prikupljanje i analizu elektrokemijskih podataka. Elektrokemijska mjerenja provedena su 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.

Ciklička i pravokutnovalna voltometrija provodila se pomoću elektrokemijskog uređaja, potenciostata (**Slika 9**), a sastoji se od računala, potenciostata i elektrokemijske ćelije.



Slika 9 Potenciostat

Prije provođenja voltometrijskih mjerenja, radna elektroda od staklastog ugljika polirana je prahom aluminijevog oksida (promjer čestica $0,05 \mu\text{m}$) uz dodatak ultračiste vode te potom isprana ultračistom vodom te je uronjena u stacionarnu elektrokemijsku ćeliju u otopinu osnovnog elektrolita (PBS pufera). Neposredno prije SWV i CV mjerenja površina radne GCE elektrode dodatno je elektrokemijski polirana primjenom cikličke voltometrije (CV) višestrukom uzastopnom polarizacijom s ciljem postizanja reproducibilnih rezultata.

U **Tablici 1** prikazani su eksperimentalni uvjeti cikličke voltametrije (CV).

Tablica 1. Eksperimentalni uvjeti CV

Parametar	Iznos
Početni potencijal	0 V
Konačni potencijal	1 V
Korak potencijala, ΔE	0,02 V
Brzina polarizacije	0,1 V s ⁻¹

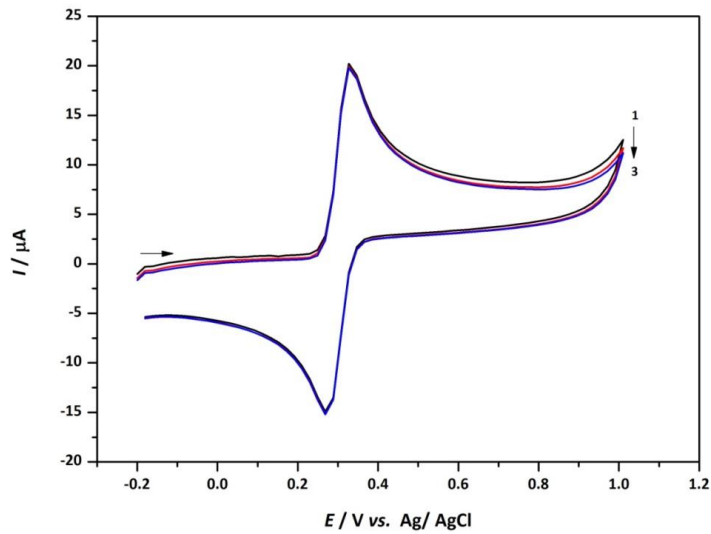
Eksperimentalni uvjeti pravokutnovalne voltametrije (SWV) prikazani su u **Tablici 2**.

Tablica 2. Eksperimentalni uvjeti SWV

Parametar	Iznos
Početni potencijal	-0,2 V
Konačni potencijal	0,6 V
Korak potencijala, ΔE	0,002 V
Amplituda	0,05 V s ⁻¹
Frekvencija, f	50 Hz

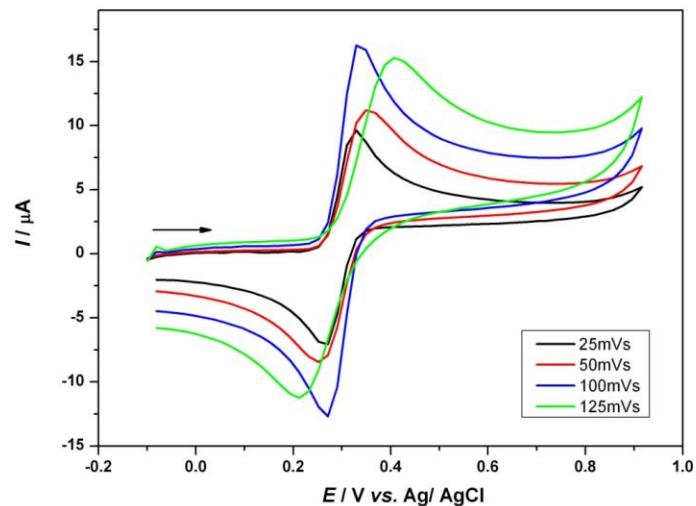
4. REZULTATI

4.1. Ciklička voltometrija klorogenske kiseline

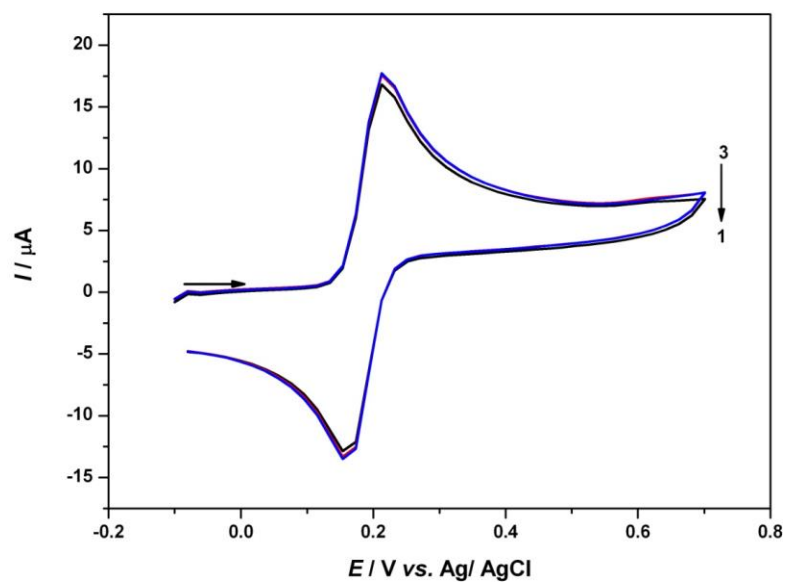


Slika 10 Ciklički voltamogram višestruke uzastopne polarizacije klorogenske kiseline (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu 0,1 M fosfatnom puferu pH 5,5, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1.**

1.

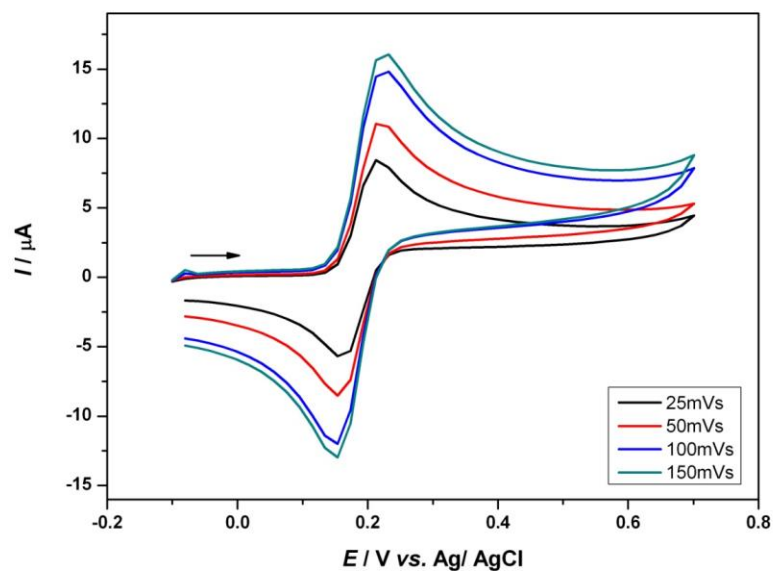


Slika 11 Ciklički voltamogram brzine polarizacije klorogenske kiseline (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu 0,1 M fosfatnom puferu pH 5,5, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1.**

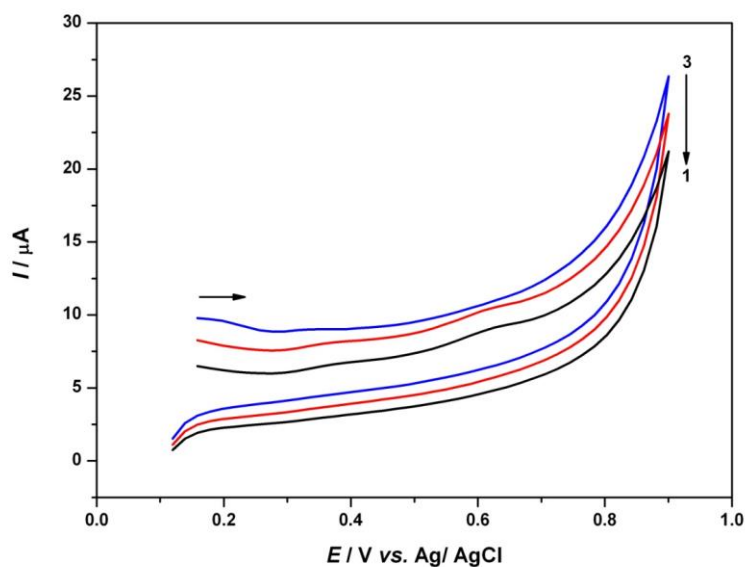


Slika 12 Ciklički voltamogram višestruke uzastopne polarizacije klorogenske kiseline (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu 0,1 M fosfatnom puferu pH 7,5, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1.**

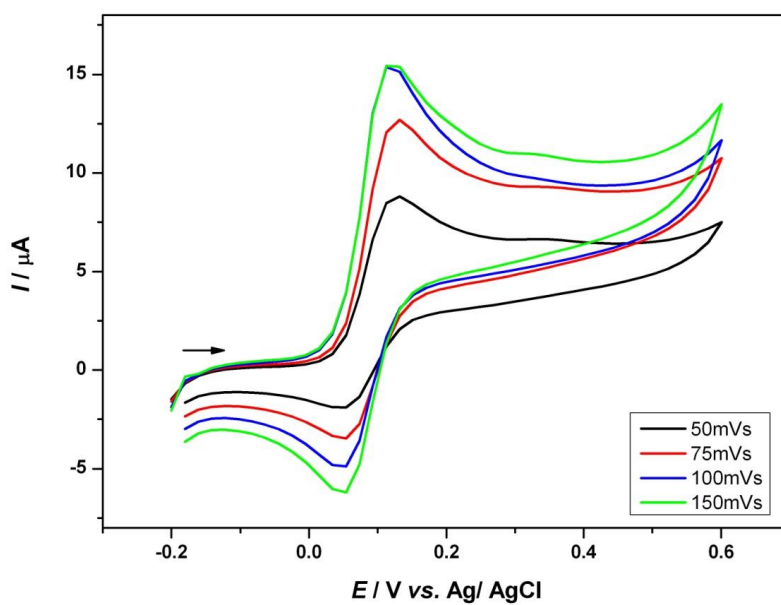
1.



Slika 13 Ciklički voltamogram brzine polarizacije klorogenske kiseline (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu 0,1 M fosfatnom puferu pH 7,5, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1.**

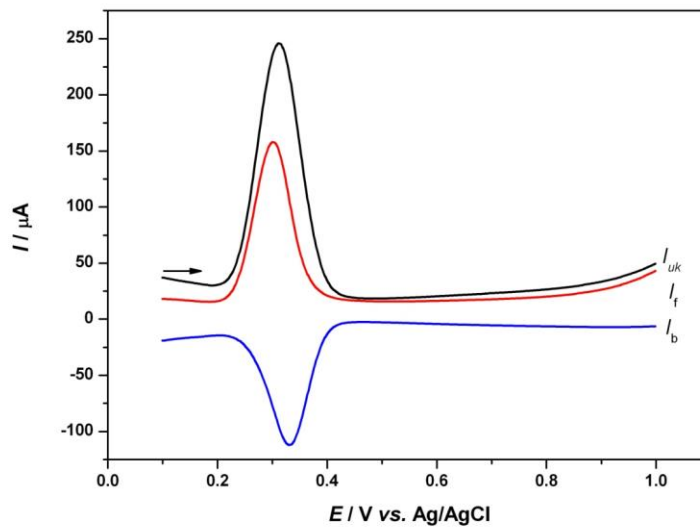


Slika 14 Ciklički voltamogram višestruke uzastopne polarizacije klorogenske kiseline (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu $0,1 \text{ M}$ karbonatnom puferu pH 10, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1.**

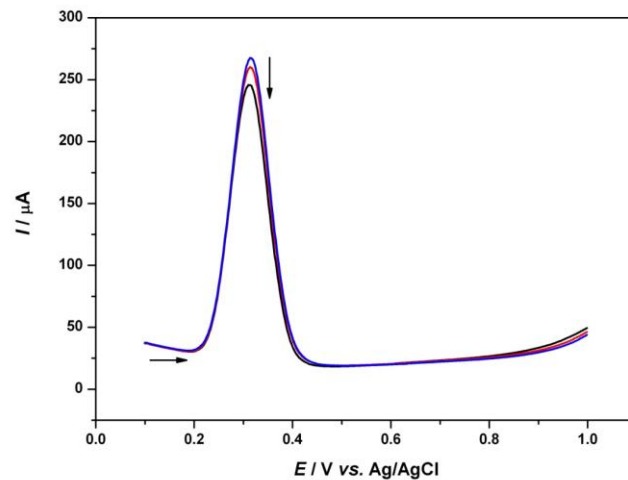


Slika 15 Ciklički voltamogram brzine polarizacije klorogenske kiseline (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu $0,1 \text{ M}$ karbonatnom puferu pH 10, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1.**

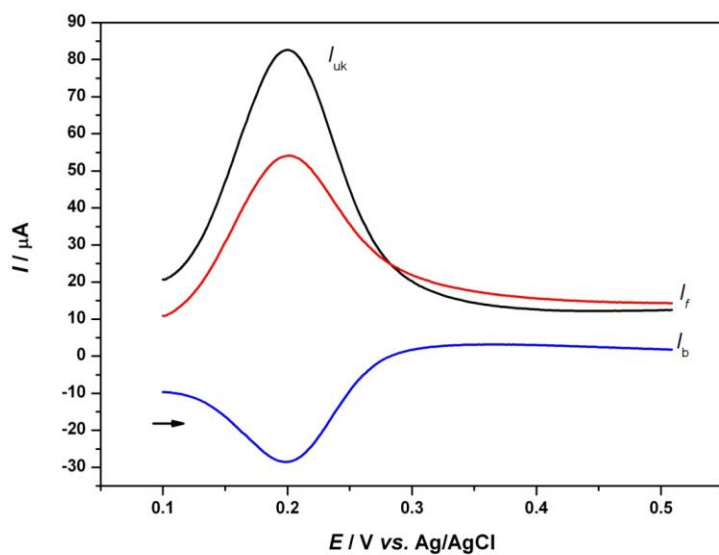
4.2. Pravokutnovalna voltimetrija klorogenske kiseline



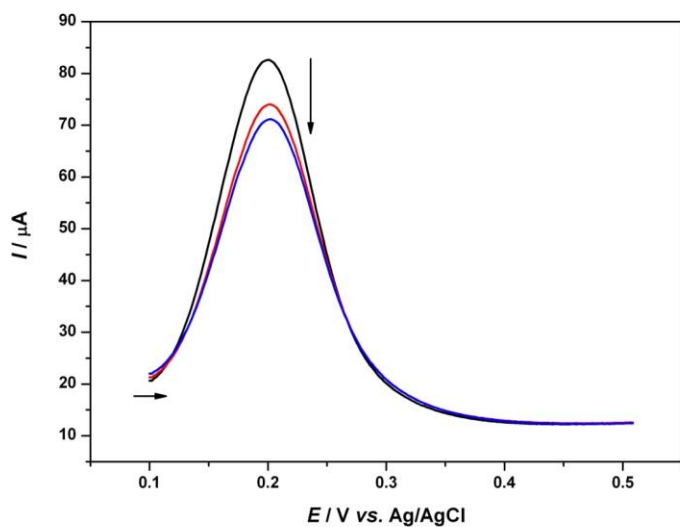
Slika 16 Pravokutnovalni voltamogram izgleda klorogenske kiseline (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu 0,1 M fosfatnom puferu pH 5,5, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 2**.



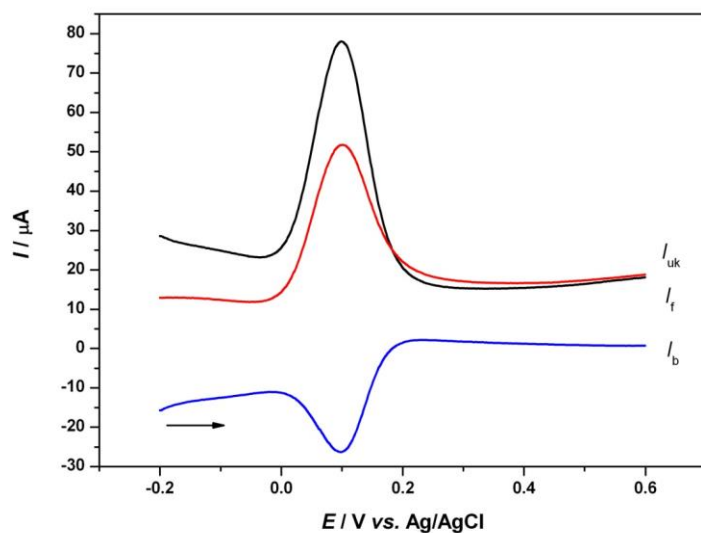
Slika 17 Pravokutnovalni voltamogram višestruke uzastopne polarizacije klorogenske kiseline (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu 0,1 M fosfatnom puferu pH 5,5, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 2**.



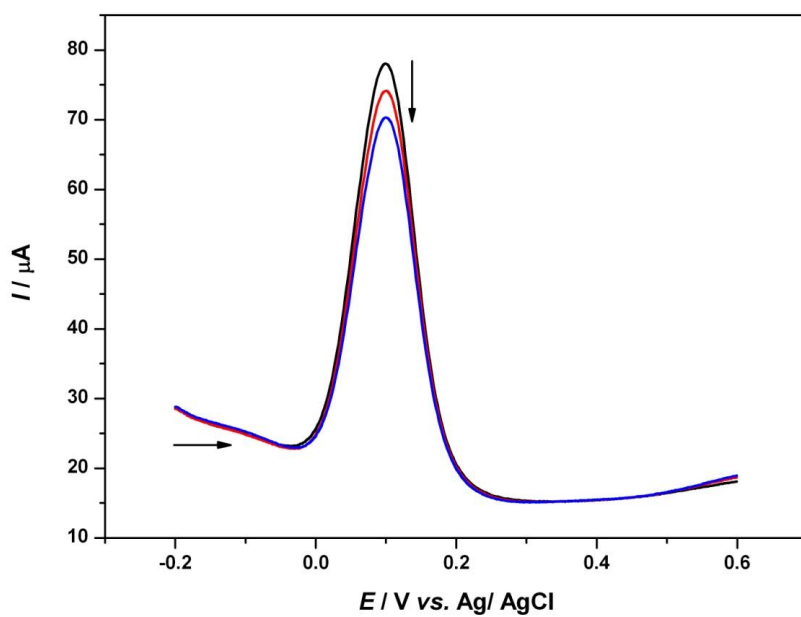
Slika 18 Pravokutnovalni voltamogram izgleda klorogenske kiseline (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu 0,1 M fosfatnom puferu pH 7,5, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 2**.



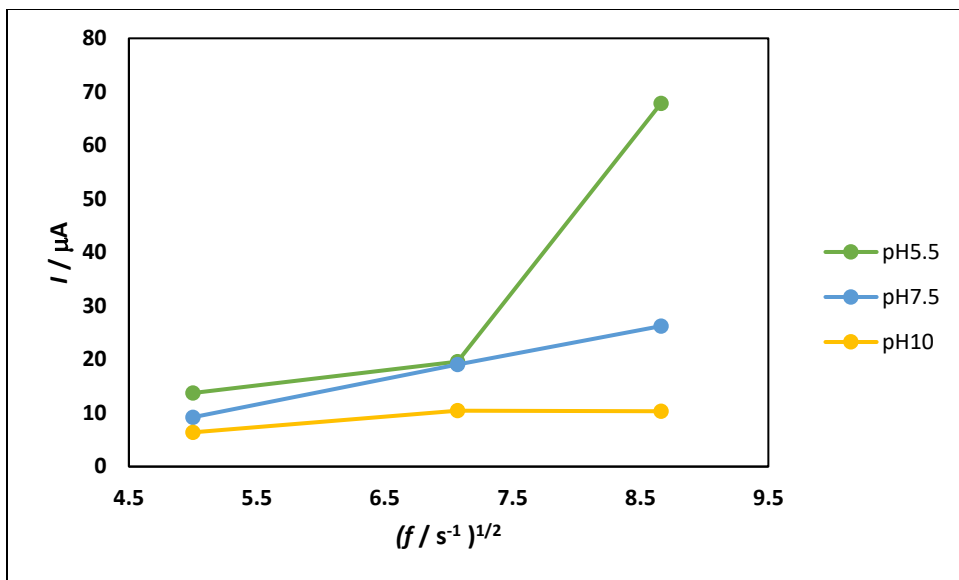
Slika 19 Pravokutnovalni voltamogram višestruke uzastopne polarizacije klorogenske kiseline (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu 0,1 M fosfatnom puferu pH 7,5, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 2**.



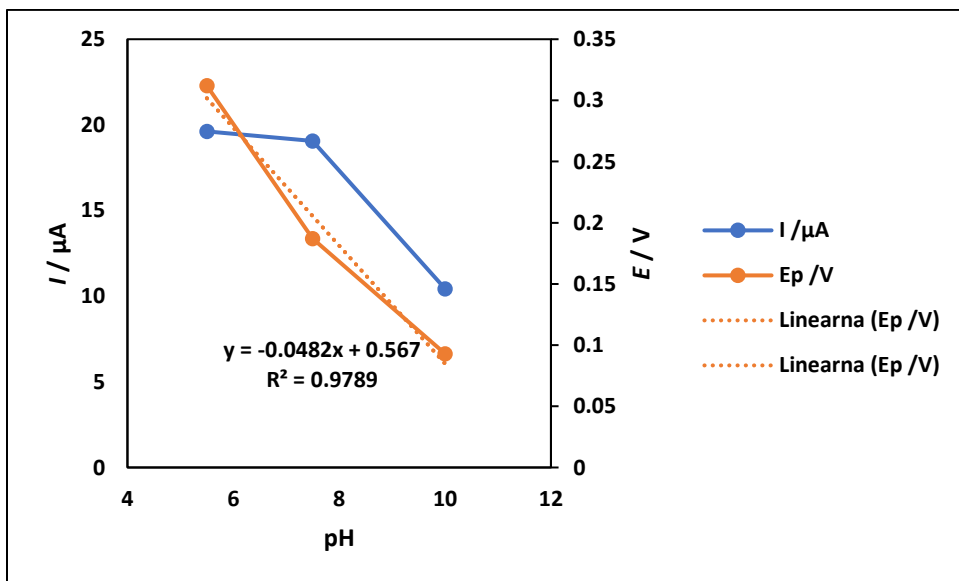
Slika 20 Pravokutnovalni voltamogram izgleda klorogenske kiseline (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu $0,1 \text{ M}$ karbonatnom puferu pH 10, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 2**.



Slika 21 Pravokutnovalni voltamogram višestruke uzastopne polarizacije klorogenske kiseline (25 mg L^{-1}) u osnovnom elektrolitu $0,1 \text{ M}$ karbonatnom puferu pH 10, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 2**.

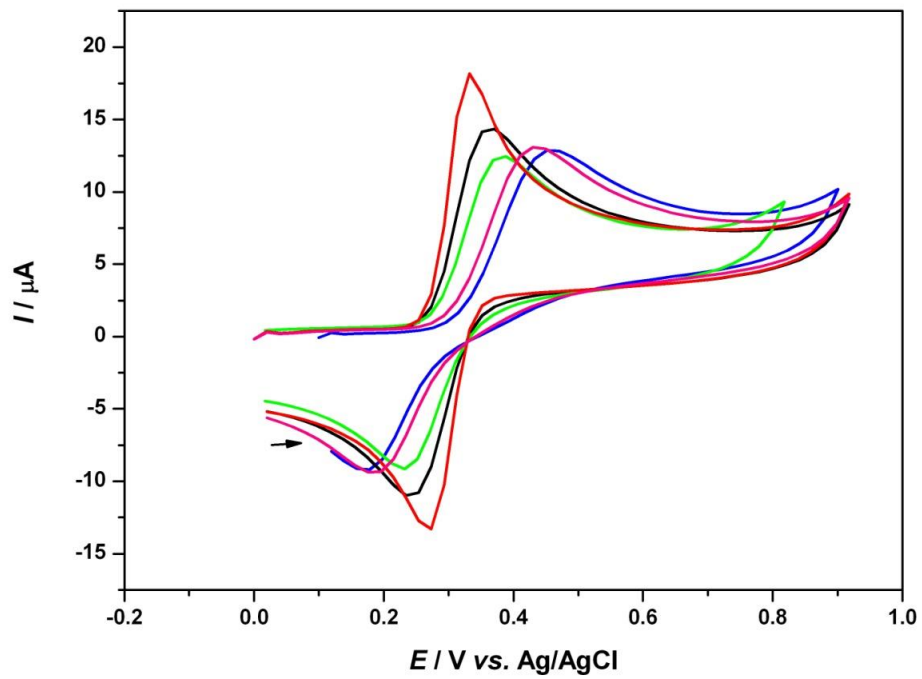


Slika 22 Grafički prikaz ovisnosti I_p i E_p o \sqrt{f} o prilikom pravokutnovalne voltometrije klorogenske kiseline (25 mg L^{-1}) u 0,1 M fosfatnim puferima pH 5,5 i pH 7, 5 te u 0,1 M karbonatnom puferu pH 10, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 2**.



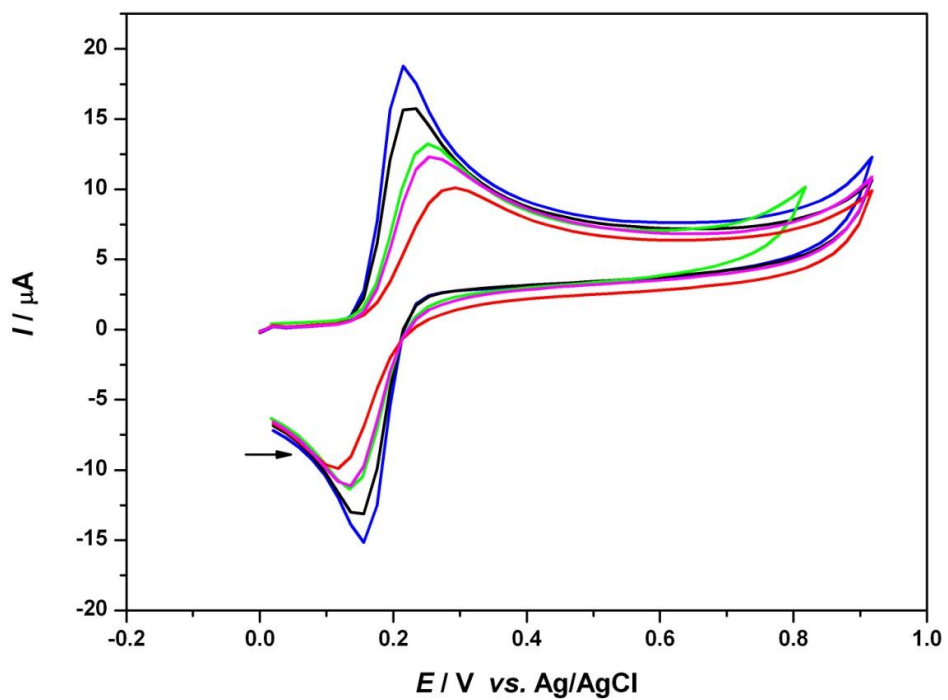
Slika 23 Grafički prikaz ovisnosti I_p i E_p o pH prilikom pravokutnovalne voltometrije klorogenske kiseline (25 mg L^{-1}) u 0,1 M fosfatnim puferima pH 5,5 i pH 7, 5 te u 0,1 M karbonatnom puferu pH 10, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 2**.

4.3. Ciklička voltimetrija modela klorogenska kiselina— β -glukan

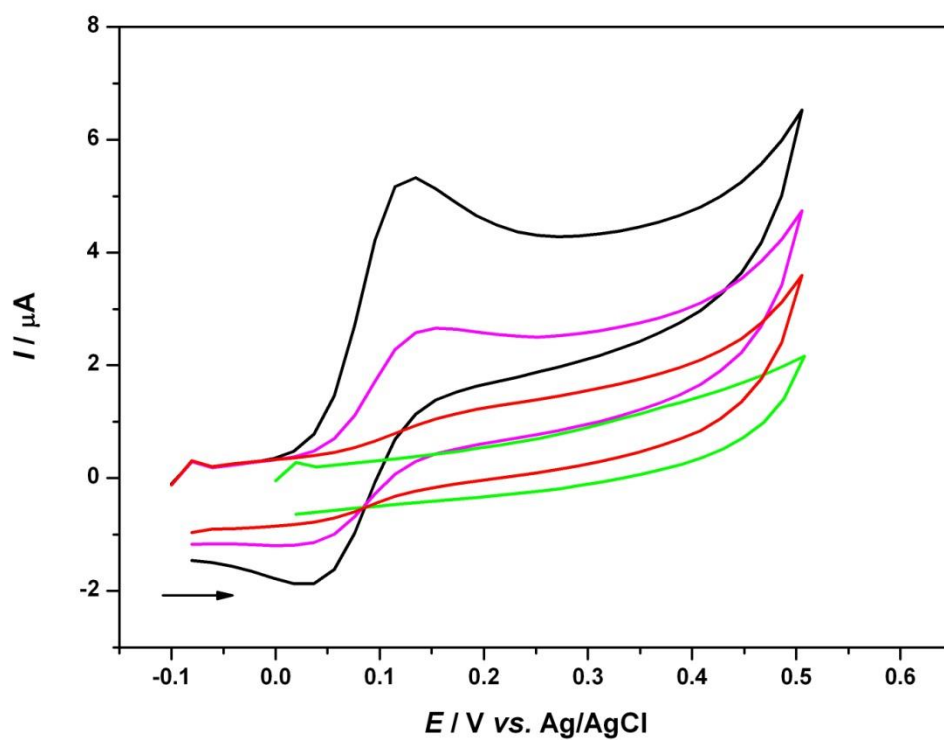


Slika 24 Ciklički voltamogram modela klorogenska kiselina (25 mg L^{-1})— β -glukan (5 mg L^{-1}) u $0,1 \text{ M}$ fosfatnom puferu pH 5,5 kroz vremenski period od 16 h, snimljen pri mjernim uvjetima iz

Tablice 1. (— 0h, — 1h, — 2h, — 5h, — 16h)



Slika 25 Ciklički voltamogram modela klorogenska kiselina (25 mg L^{-1})— β -glukan (5 mg L^{-1}) u $0,1 \text{ M}$ fosfatnom puferu pH 7,5 kroz vremenski period od 16 h, snimljen pri mjernim uvjetima iz **Tablice 1.** (— 0h, — 1h, — 2h, — 5h, — 16h)



Slika 26 Ciklički voltamogram modela klorogenska kiselina (25 mg L^{-1})— β -glukan (5 mg L^{-1}) u $0,1 \text{ M}$ karbonatnom puferu pH 10 kroz vremenski period od 16 h, snimljen pri mjernim uvjetima iz

Tablice 1. (— 0h, — 1h, — 2h, — 5h, — 16h)

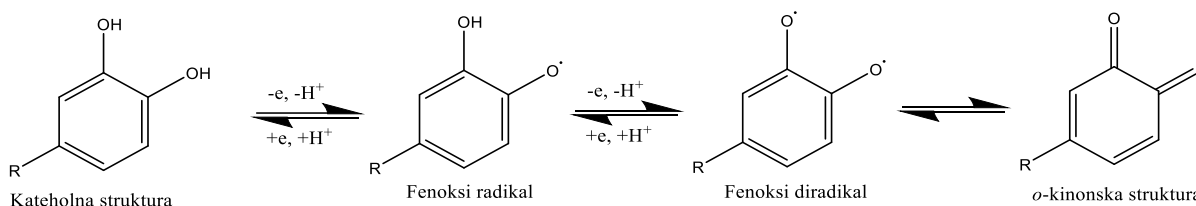
5. RASPRAVA

U ovom diplomskom radu provedeno je elektrokemijsko ispitivanje modela klorogenska kiselina— β -glukan s ciljem utvrđivanja elektrokemijskog ponašanja modela prema zadanim eksperimentalnim parametrima primjenom cikličke voltametrije. Da bi se ovo istraživanje provelo, učinjena je i elektrokemijska analiza klorogenske kiseline prema zadanim eksperimentalnim parametrima u smislu višestruke uzastopne polarizacije, frekvencije pobudnog signala i brzine polarizacije primjenom cikličke voltametrije i pravokutnovalne voltametrije.

5.1. Ciklička voltametrija klorogenske kiseline

Ciklički voltamogrami klorogenske kiseline (25 mg L^{-1}) prikazani su na **Slikama** od **10** do **15**. Klorogenska kiselina (25 mg L^{-1}) ispitana je u području pH vrijednosti od pH 5,5 do pH 10 u 0,1 M fosfatnom odnosno karbonatnom puferu, a prema eksperimentalnim uvjetima iz **Tablice 1**.

Mehanizam oksidacije klorogenske kiseline (**Slika 27**) je složen te se odvija u više koraka (Namazian i Zare, 2005; Yardim, 2012).



Slika 27 Mehanizam oksidacije klorogenskih kiselina

Iz **Slike 27** se uočava da se u prvom stupnju otpušta jedan elektron i jedan proton te nastaje nestabilan fenoksi radikal nakon čega dolazi do daljnjeg otpuštanja još jednog elektrona i protona i nastajanja? nestabilnog fenoksi diradikala koji se stabilizira nastajanjem o-kinonske strukture. Ovi stupnjevi predstavljaju reverzibilnu elektrokemijsku reakciju. Stoga, mehanizam elektrokemijske oksidacije klorogenskih kiselina se odvija reverzibilnim $2e^- - 2H^+$ mehanizmom i uključuje oksidaciju dvije $-OH$ skupine u o-položaju klorogenskih kiselina u o-kinonsku strukturu. Utjecaj višestruke uzastopne polarizacije klorogenske kiseline ispitan je tako da je provedena uzastopna polarizacija u istoj otopini bez zasebnog poliranja radne elektrode između polarizacija u 0,1 M fosfatnim puferima pH 5,5 i pH 7,5 te u 0,1 M karbonatnom puferu pH 10. Ciklički voltamogrami višestruke uzastopne polarizacije klorogenske kiseline prikazani su na **Slikama 10**,

12 i 14. Iz cikličkih voltamograma uočava se da tijekom druge i treće uzastopne polarizacije radne elektrode, oksidacijski strujni odziv opada te se vrijednosti struje anodnog pika (I_p) smanjuju. Stoga se pretpostavlja da elektrooksidacija klorogenske kiseline na površini radne elektrode vjerojatno stvara adsorpcijski sloj oksidacijskog produkta ili produkata. Odnosno, oksidacija klorogenske kiseline u drugoj i trećoj uzastopnoj polarizaciji na površini radne elektrode je otežana zbog difuzije molekula iz otopine na površinu radne elektrode koja se odvija kroz sloj adsorpcijskih produkata što je razlog smanjenja strujnog odziva i pomaka potencijala oksidacijskog pika prema pozitivnijim vrijednostima potencijala, jer je potrebna veća energija da bi došlo do oksidacije. Također, u području pH 5,5 i pH 7,5 jasno je izražen jedan oksidacijski i redukcijski pik na oko 0,38 V odnosno 0,22 V dok u pH 10 otežano se može uočiti oksidacijski pik dok se uočava odsustvo katodnog pika što je vjerojatno uzrok reakcija hidroksilacije ili dimerizacije na *o*-kinonskoj strukturi (Namazian i Zare, 2005).

Također, utjecaj pH vrijednosti otopina pufera, u rasponu pH vrijednosti od 5,5 do 10 na elektrokemijsko ponašanje klorogenske kiseline prikazan je na **Slikama 10, 12 i 14** te se uočava da je elektrodni potencijal oksidacijskog pika klorogenske kiseline dosegnuo maksimalnu vrijednost u pH 10, a najmanju u pH 7,5. Mogući razlog ovakvog ponašanja klorogenske kiseline u različitim pH vrijednostima otopine su tri moguća mjesta za disocijaciju, karboksilna skupina na cikloheksanskom prstenu i dvije –OH skupine u kateholnoj strukturi molekule klorogenske kiseline (Maegawa i sur., 2007). Nadalje, prema distribucijskom dijagramu klorogenske kiseline koji se kreira na osnovi pK_a vrijednostima, može se uočiti da pri pH vrijednosti 5,0-7,0 je prisutan uglavnom anion klorogenske kiseline, koji pri pH 7,0 čini oko 95% od svih vrsta? u otopini. Pri pH vrijednosti 8,0 prisutni su anioni CQA^- i CQA^{2-} . Anion klorogenske kiseline nastao je deprotonizacijom na cikloheksanskom prstenu (Janeiro i Brett, 2004).

Utjecaj brzine polarizacije od 25 do 150 $mV s^{-1}$ na cikličke voltamograme klorogenske kiseline prikazana je na **Slikama 11, 13 i 15** te se uočava linearni porast strujnog oksidacijskog pika porastom brzine polarizacije. Značajni pomak elektrodnog potencijala nije uočen kod pH 7,5 i 10 porastom brzine polarizacije dok kod pH 5,5 značajni pomak elektrodnog potencijala prema višim vrijednostima je uočen pri brzini od 125 $mV s^{-1}$.

5.2. Pravokutnovalna voltometrija klorogenske kiseline

S ciljem pojašnjenja mehanizma i elektrokemijskog ponašanja modela klorogenska kiselina— β -glukan provedena je pravokutnovalna voltometrija klorogenske kiseline i prikazana na **Slikama** od **16** do **23**, a prema eksperimentalnim uvjetima iz **Tablice 2**.

Na **Slikama 16, 18 i 20** prikazani su pravokutnovalni voltamogrami klorogenske kiseline u 0,1 M puferskim otopinama pH vrijednosti pH 5,5, 7,5 i 10. Iz pravokutnovalnih voltamograma uočava se jedan jasno izraženi oksidacijski pik ukupne struje pri potencijalu oko 0,330 V u pH 5,5, zatim na oko 0,200 V u pH 7,5 i u pH 10 na oko 0,100 V te se može primijetiti da porastom pH vrijednosti se elektrodni potencijal klorogenske kiseline pomiče prema manjim vrijednostima (Šeruga i Tomac, 2014). Nadalje, razdvajanjem ukupne struje na anodnu i katodnu struju uočava se u ispitanim pH vrijednostima prisustvo obje struje što govori da se na površini radne elektrode odvija reverzibilan elektrodni proces. Pomak potencijala anodne i katodne struje u odnosu na ukupnu struju je vrlo mali, nagib pravca na **Slici 23** na kojoj je prikazana ovisnost ukupne struje pika odnosno elektrodnog potencijala o pH, iznosi 56,7 mV što je vrlo blizu teorijske vrijednosti od 59 mV/pH, a govori o jednakoj izmjeni broja elektrona i protona na površini radne elektrode odnosno o dvoelektronskoj – dvoprotonskoj izmjeni (Brett i Oliveira Brett, 1993).

Utjecaj višestruke uzastopne polarizacije na pravokutnovalne voltamograme klorogenske kiseline prikazane na **Slikama 17, 19 i 21** pokazuju jednak utjecaj kao i kod cikličkih voltamograma klorogenske kiseline pri ispitanim pH vrijednostima (pH 5,5, 7,5 i 10).

Kinetika elektrokemijske reakcije na površini radne elektrode kod pravokutnovalne voltametrije može se pratiti preko promjene brzine polarizacije odnosno utjecajem frekvencije pobudnog signala koja je povezana s efektivnom brzinom polarizacije. Utjecaj frekvencije pobudnog signala na pravokutnovalne voltamograme klorogenske kiseline prikazan je na **Slici 22** te se uočava da povećanjem efektivne brzine polarizacije od 25 do 75 Hz raste i ukupna struja kao što je primijećeno i kod cikličke voltametrije. Te se na osnovi provedenih utjecaja pH vrijednosti otopine i frekvencije pobudnog signala može zaključiti da se elektrokemijska reakcija oksidacije klorogenske kiseline na površini radne elektrode odvija $2e^-2H^+$ mehanizmom kontroliranim difuzijom elektroaktivnih tvari iz otopine na radnu elektrodu.

5.3. Ciklička voltometrija modela klorogenska kiselina— β -glukan

Provedena je ciklička voltometrija na izgled cikličkih voltamograma modela klorogenska kiselina— β -glukan s ciljem praćenja elektrokemijske stabilnosti kroz vremenski period od 16h u pH 5,5, 7,5 i 10. Ciklički voltamogrami modela klorogenska kiselina— β -glukan prikazani su na **Slikama 24, 25 i 26**.

Utjecaj puferne otopine pH 5,5 na izgled cikličkih voltamograma modela klorogenska kiselina— β -glukan prikazanih na **Slici 24** može se uočiti prisustvo jednog oksidacijskog strujnog odziva i jednog reduksijskog strujnog odziva u cijelom vremenskom periodu ispitivanja od 16 sati što govori da je prisutna reverzibilna elektrokemijska reakcija. Najviši strujni odziv modela klorogenska kiselina— β -glukan pri pH 5,5 uočava se u 5 satu ispitivanja čiji potencijal je na oko 0,300 V, a blizak je molekuli klorogenske kiseline (0,380 V) u istom pH mediju, a ujedno je najniži potencijal dok je najviši potencijal uočen na oko 0,420 V. Nadalje, strujni odziv i potencijal se mijenja tijekom cijelog vremenskog perioda ispitivanja, strujni odziv slijedom 0h < 2h < 16h < 1h < 5h, a potencijal obrnutim slijedom od strujnog odziva. Zatim, u pufernoj otopini pH 7,5 ciklički voltamogrami modela klorogenska kiselina— β -glukan prikazuju promjenu strujnog odziva slijedom 5h < 2h < 16h < 1h < 0h, a promjenu potencijala obrnutim slijedom, te se opaža da u pH 7,5 je strujni odziv modela klorogenska kiselina— β -glukan najviši, a u 5 satu ispitivanja najniži. Potencijal modela klorogenska kiselina— β -glukan je u rasponu od 0,180 V do 0,300 V što je blisko potencijalu klorogenske kiseline u istom pH mediju. Ispitan je utjecaj i puferne otopine pH 10 na izgled cikličkih voltamograma modela klorogenska kiselina— β -glukan te se uočava najviši strujni odziv u prvom satu ispitivanja, a najniži u 16h satu ispitivanja. Izgled cikličkog voltamograma modela klorogenska kiselina— β -glukan se uvelike razlikuje od početnog sata ispitivanja uslijed opadanja strujnog odziva gdje izraženi strujni odziv postaje jedva primjetan.

Na osnovi provedenog elektrokemijskog istraživanja modela klorogenska kiselina— β -glukan može se uočiti da na izgled cikličkih voltamograma utječu pH vrijednost otopine i vremenski period što je vjerojatno posljedica nastanka promjena u strukturi molekule modela klorogenska kiselina— β -glukan.

6. ZAKLJUČAK

Na osnovi ovog diplomskog rada može se zaključiti:

- elektrokemijska oksidacija klorogenske kiseline je otežana u drugoj i trećoj uzastopnoj polarizaciji tijekom cikličke voltametrije zbog difuzije molekula iz otopine na površinu radne elektrode što je utjecalo na smanjenje strujnog odziva i pomaka potencijala oksidacijskog pika prema pozitivnijim vrijednostima potencijala,
- uočava se linearni porast oksidacijskog pika porastom brzine polarizacije kod cikličkih voltamograma,
- iz pravokutnovalnih voltamograma uočava se jedan jasno izraženi oksidacijski pik ukupne struje pri potencijalu oko 0,330 V u pH 5,5, zatim na oko 0,200 V u pH 7,5 i u pH 10 na oko 0,100 V te se može primijetiti da porastom pH vrijednosti se elektrodni potencijal klorogenske kiseline pomiče prema manjim vrijednostima,
- mehanizam elektrokemijske oksidacije molekule klorogenske kiseline je reverzibilan elektrodni proces,
- utjecaj višestruke uzastopne polarizacije na pravokutnovalne voltamograme klorogenske kiseline pokazuje jednak utjecaj kao i kod cikličkih voltamograma klorogenske kiseline pri ispitanim pH vrijednostima (pH 5,5, 7,5 i 10).
- povećanjem efektivne brzine polarizacije od 25 do 75 Hz raste i ukupna struja kao što je primijećeno i kod cikličke voltametrije,
- kod utjecaja puferne otopine pH 5,5 na izgled cikličkih voltamograma modela klorogenska kiselina— β -glukan može se uočiti prisustvo jednog oksidacijskog strujnog odziva i jednog reduksijskog strujnog odziva u cijelom vremenskom periodu ispitivanja od 16 sati što govori da je prisutna reverzibilna elektrokemijska reakcija,
- najviši strujni odziv modela klorogenska kiselina— β -glukan pri pH 5,5 uočava se u 5 satu ispitivanja čiji potencijal je na oko 0,300 V, a blizak je molekuli klorogenske kiseline (0,380 V) u istom pH mediju,
- u pufernoj otopini pH 7,5 ciklički voltamogrami modela klorogenska kiselina— β -glukan prikazuju promjenu strujnog odziva slijedom 5h < 2h < 16h < 1h < 0h, a promjenu potencijala obrnutim slijedom, te se opaža da u pH 7,5 je strujni odziv modela klorogenska kiselina— β -glukan najviši, a u 5 satu ispitivanja najniži,

- u puferskoj otopini pH 10 ciklički voltamogrami modela klorogenska kiselina— β -glukan prikazuju najviši strujni odziv u prvom satu ispitivanja, a najniži u 16h satu ispitivanja. Izgled cikličkog voltamograma modela klorogenska kiselina— β -glukan se uvelike razlikuje od početnog sata ispitivanja uslijed opadanja strujnog odziva gdje izraženi strujni odziv postaje jedva primjetan i
- na izgled cikličkih voltamograma utječu pH vrijednost otopine i vremenski period što je vjerojatno posljedica nastanka promjena u strukturi molekule modela klorogenska kiselina— β -glukan.

7. LITERATURA

- Ahmad A, Anjum FM, Zahoor T, Nawaz H, Dilshad SMR: Beta Glucan: A Valuable Functional Ingredient in Foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 52:3, 201-212, 2012.
- Berend S, Grabarić Z: Određivanje polifenola u namirnicama metodom ubrizgavanja u protok. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* 59:205-212, 2008.
- Brett CMA, Oliveira Brett AM: *Electrochemistry: Principles, Methods and Applications*. Oxford University Press, Oxford, New York, Tokio, 1994.
- De Vries JW, Camire ME, Cho S, Craig S, Gordon D, Jones JM, Li B, Lineback D, Prosky L, Tunngland BC: The definition of dietary fiber. *Cereal Foods World* 46:112–129, 2001.
- Dhingra D, Michael M, Rajput H, Patil RT: Dietary fibre in foods: a review. *Journal of Food Science and Technology* 49:255-266, 2012.
- Farghaly OA, Hameed RSA, Abu-Nawwas AAH: Analytical Application Using Modern Electrochemical Techniques. *International Journal of Electrochemical Science* 9:3287-3318, 2014.
- Gil M, Wianowska D: Chlorogenic acids – their properties, occurrence and analysis. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska* 1:61-99, 2017.
- Higdon JV, Frei B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 43:89-143, 2003.
- Higdon JV, Frei B: Coffee and health: a review of recent human research. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 46:101-123, 2006.
- Ignat I, Volf I, Popa VI: A Critical Review of Methods for Characterization of Polyphenolic Compounds In Fruits and Vegetables. *Food Chemistry* 126:1821-1835, 2011.
- Janeiro P, Brett AM: Catechin electrochemical oxidation mechanisms. *Analytica Chimica Acta* 518:109-115, 2004.
- Kilmartin PA: Electrochemical detection of Natural Antioxidants: Principles and Protocols. *Antioxidants and Redox Signaling* 3:941-955, 2001.
- Lafay S, Gil-Izquierdo A: Bioavailability of phenolic acids. *Phytochemistry Reviews* 7:301, 2008.

- Maegawa Y, Sugino K, Sakurai H: Identification of free radical species derived from caffeic acid and related polyphenols. *Free Radical Research* 41:110-119, 2007.
- Magnani, C, Isaac, VLB, Correa MA, Salgado HRN: Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. *Analytical Methods* 6:3203, 2014.
- Minussi RC, Rossi M, Bologna L, Cordi L, Rotilio D, Pastore GM, Durán N. Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. *Food Chemistry* 82:409-16, 2003.
- Namazian M, Zare HR: Electrochemistry of chlorogenic acid: experimental and theoretical studies. *Electrochimica Acta* 50:4350-4355, 2005.
- Naveed M, Hejazi V, Abbas M, Kamboh AA, Khane GJ, Shumzaid M, Ahmad F, Babazadeh D, FangFang X, Modarresi-Ghazani F, WenHua L, XiaoHui Z: Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 97:67- 74, 2017.
- Othles S, Ozgoz S: Health effects of dietary fiber. *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria* 13:191-202, 2014.
- Petravić-Tominac V, Zechner-Krpan V, Grba S, Srećec S, Panjkota-Krbavčić I, Vidović I: 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.
- Shenab Y, Song X, Li L, Sun J, Jaiswal Y, Huang J, Liu C, Yang W, Williams L, Zhang H, Guan Y: Protective effects of p-coumaric acid against oxidant and hyperlipidemia-an in vitro and in vivo evaluation. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 111:579-587, 2019.
- Šeruga M, Tomac I: Electrochemical Behaviour of Some Chlorogenic Acids and Their Characterization in Coffee by Square-Wave Voltammetry. *International Journal of Electrochemical Science* 9:6134 – 6154, 2014.
- Teixeira J, Gaspar A, Garrido EM, Garrido J, Borges F: Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. *BioMed Research International* 2013:1-11, 2013.

Thom E: The Effect of Chlorogenic Acid Enriched Coffee on Glucose Absorption in Healthy Volunteers and Its Effect on Body Mass When Used Long-term in Overweight and Obese People. *The Journal of International Medical Research* 35:900-908, 2007.

Veljkovic E, Xia W, Phillips B, Wong ET, Ho J, Oviedo A, Hoeng J, Peitsch M: *Nicotine and Other Tobacco Compounds in Neurodegenerative and Psychiatric Diseases. Overview of Epidemiological Data on Smoking and Preclinical and Clinical Data on Nicotine*, Academic Press, London, 2018.

Yardim Y: Electrochemical Behaviour of Chlorogenic acid at a Boron-Doped Diamond Electrode and Estimation of the Antioxidant Capacity in the Coffee Samples Based on Its Oxidation Peak. *Journal of Food Science* 77:C408-C413, 2012.

Zdunska K, Dana A, Kolodziejczak A, Rotsztejn H: Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Possible Application. *Skin Pharmacology and Physiology* 31:332–336, 2018.

WEB 1: [yeast-beta-glucan-500x500.gif \(500x432\) \(imimg.com\)](#) (1. 9. 2021.)

WEB 2: [\(13\) \(PDF\) Synergistic study on electrochemically deposited thin film with a spectrum from micro to nano range structures \(researchgate.net\)](#) (1. 9. 2021.)