

# Voltametrijska karakterizacija nekih polifenola iz dunje

---

**Mlinac, Magdalena**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

*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:109:620758>

*Rights / Prava:* [Attribution-ShareAlike 4.0 International / Imenovanje-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-03-13**

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

MAGDALENA MLINAC

VOLTAMETRIJSKA KARAKTERIZACIJA NEKIH POLIFENOLA  
IZ DUNJE

DIPLOMSKI RAD

OSIJEK, SVIBANJ 2023.

## 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 20, 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 2021./2022. održanoj 27. svibnja 2022.

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

### VOLTAMETRIJSKA KARAKTERIZACIJA NEKIH POLIFENOLA IZ DUNJE

*Magdalena Mlinac, 0113140135*

#### Sažetak:

Dunja (lat. *Cydonia oblonga* Mill.) pripada porodici ruža (*Rosaceae*) i predstavlja izvor fenola, flavonoida, karotenoida, organskih kiselina, tanina, vitamina. Plod, meso i sjemenke dunje uporabljavaju se u medicini, kulinarstvu i prehrambenoj industriji. Polifenolni spojevi iz dunje su elektroaktivne tvari te su pogodni za analizu primjenom voltametrijskih tehnika. Voltametrijske tehnike ubrajaju se u elektrokemijske tehnike. Cilj diplomskog rada je bio ispitati utjecaj elektrokemijskih parametara (pH, brzinu polarizacije, pobudni signal, koncentraciju) na polifenole iz ekstrakta dunje na dvije različite vrste radnih elektroda, dijamantna elektroda s primjesama bora i elektroda od staklastog ugljika te utjecaj dvije različite vrste inertnog elektrolita, Britton-Robinson i fosfatni pufer primjenom cikličke i pravokutnovalne voltametrije. Rezultati istraživanja pokazali su da obje vrste elektroda i svi primijenjeni osnovni elektroliti kao i primijenjene elektrokemijske tehnike su pogodni za elektrokemijsku karakterizaciju polifenolnih spojeva i vitamina C u uzorku dunje.

**Ključne riječi:** dunja, polifenoli, dijamantna elektroda s primjesama bora, elektroda od staklastog ugljika, voltametrija

**Rad sadrži:** 46stranica  
33 slika  
4 tablica  
0 priloga  
28 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** Hrvatski

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

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

**Datum obrane:** 16. svibnja 2023.

**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

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek  
Faculty of Food Technology Osijek  
Department of Applied Chemistry and Ecology  
Subdepartment of Applied Chemistry, Biochemistry and Instrumental Methods  
Franje Kuhača 20, 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, 2022.

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

### Voltammetry Characterization of Some Polyphenols from Quince

*Magdalena Mlinac, 0113140135*

#### Summary:

Quince (lat. *Cydonia oblonga* Mill.) belongs to the family *Rosaceae* and is a source of phenols, flavonoids, carotenoids, organic acids, tannins, and vitamins. Quince fruit, meat and seeds are used in medicine, cooking and the food industry. Polyphenolic compounds from quince are electroactive substances and are suitable for analysis using voltammetric techniques. Voltammetric techniques are included in electrochemical techniques. The aim of the thesis was to examine the influence of electrochemical parameters (pH, polarization speed, excitation signal, concentration) on polyphenols from quince extract on two different types of working electrodes, a boron-doped diamond electrode and a glassy carbon electrode, and the influence of two different types of inert electrolyte, Britton-Robinson and phosphate buffer using cyclic and square wave voltammetry. The research results showed that both types of electrodes and all applied basic electrolytes as well as applied electrochemical techniques are suitable for the electrochemical characterization of polyphenolic compounds and vitamin C in the quince sample.

**Key words:** quince, polyphenols, boron-doped diamond electrode, glassy carbon electrode, voltammetry

**Thesis contains:** 46 pages  
33 figures  
4 tables  
0 supplements  
28 references

**Original in:** Croatian

#### Defense committee:

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. <i>Valentina Bušić</i> , PhD, assistant prof. | chair person |
| 2. <i>Ivana Tomac</i> , PhD, assistant prof.     | supervisor   |
| 3. <i>Lidija Jakobek Barron</i> , PhD, prof.     | member       |
| 4. <i>Ivica Strelec</i> , PhD, prof.             | stand-in     |

**Defense date:** May 16, 2023

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

# Sadržaj

1. UVOD .....	7
2. TEORIJSKI DIO .....	9
2.1. Dunja ( <i>Cydonia oblonga</i> ) .....	10
2.2. Voltametrijia .....	11
2.2.1. Ciklička voltametrijia .....	12
2.2.2. Pravokutnovalna voltametrijia .....	14
2.2.3. Diferencijalna pulsna voltametrijia .....	15
2.3. Polifenolni spojevi .....	15
2.3.1. Rutin .....	16
2.4. Vitamin C .....	17
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	19
3.1. ZADATAK .....	20
3.2. MATERIJALI I METODE .....	20
3.2.1. Priprava uzorka .....	20
3.2.2. Priprema otopina .....	21
3.2.3. Voltometrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju rutina i vitamina C iz dunje na elektrodi od staklastog ugljika .....	21
3.2.4. Voltometrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju rutina i vitamina C iz dunje na dijamantnoj elektrodi s primjesama bora .....	22
4. REZULTATI .....	24
4.1. Voltometrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju vitamina C i rutina iz dunje na elektrodi od staklastog ugljika .....	25
4.1.1. Voltometrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju vitamina C iz dunje na elektrodi od staklastog ugljika .....	25
4.1.2. Voltometrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju rutina iz dunje na elektrodi od staklastog ugljika .....	29
4.2. Voltometrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju rutina i vitamina C iz dunje na dijamantnoj elektrodi s primjesama bora .....	34
4.2.1. Voltometrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju vitamina C iz dunje na dijamantnoj elektrodi s primjesama bora .....	34
4.2.2. Voltometrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju rutina iz dunje na dijamantnoj elektrodi s primjesama bora .....	37
5. RASPRAVA .....	39
5.1. Voltometrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizacije vitamina C iz dunje na elektrodi od staklastog ugljika i dijamantnoj elektrodi s primjesama bora .....	40
5.2. Voltometrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju rutina iz dunje na elektrodi od	

staklastog ugljika i dijamantnoj elektrodi s primjesama bora .....	42
6. ZAKLJUČAK .....	44
7. LITERATURA .....	46

*Dragim roditeljima, baki i djedu, za безусловnu ljubav, podršku i strpljenje tokom studiranja, veliko hvala, jer bez Vas ovo ne bi bilo moguće....*

*Dragim prijateljima, Valentinu i Leonardi, mojoj Ivoni i ostalima, hvala što ste stajali uz mene u svakom trenutku i gurali me naprijed.*

*Dragoj mentorici, hvala Vam na idejama, podršci, savjetu, na svemu što ste me naučili i razumijevanju.*

*Za kraj, mom Filipu, hvala ti za slušanje, razumijevanje, pomoć, motivaciju i pruženu ljubav, uz tebe je sve bilo lakše.*

## **1. UVOD**



Polifenoli su skupina spojeva koji se najčešće pronalaze u sastavu namirnica biljnog podrijetla. Širok spektar pozitivnog djelovanja učinio ih je jednim od najproučavanijih spojeva u zadnjem desetljeću. Postoji nekoliko tisuća poznatih polifenolnih spojeva koji su zaslužni za okus, aromu i boju voća, povrća, kave, žitarica, vina i slično (Scalebert i sur.,2005).

Metode identifikacije i kvantifikacije polifenola koje se primjenjuju su od spektroskopskih do elektrokemijskih. Od elektrokemijskih tehnika ističe se voltometrija. Voltometrijske metode temelje se na mjerenju strujnog odziva koji se detektira na radnoj elektrodi (Avelino i sur.,2017). Najčešća metoda kojom se započinje elektrokemijska analiza je ciklička voltometrija (CV). Odziv signala na uređaju se očitava kao grafički prikaz koji se naziva voltamogram. Iz voltamograma se očitavaju visine pikova i jačina struje na kojoj se pikovi prikazuju. Pravokutnovalna voltometrija (SWV) je tehnika koja u nekoliko sekundi daje rezultate analize i zbog svoje brzine je učinkovita i široko korištena metoda detekcije (Wang, 2000). Za kvantitativnu analizu najčešće se primjenjuje diferencijalno pulsna voltometrija (DPV). DPV tehnika vrlo je osjetljiva što je čini pogodnom za detekciju niskih koncentracija analita (Nigović i Bahetić, 2007).

U sastavu namirnica biljnog porijekla nalaze se i vitamini i minerali. Jedan od značajnih vitamina je vitamin C, a nužan je za normalno funkcioniranje ljudskog organizma (Perčić, 2017).

Plod dunje kada dosegne zrelost je žute boje, čvrste kože, oporog okusa i karakterističnog mirisa. Značajan je izvor minerala (kalija, fosfora, magnezija, cinka, bakra, željeza i kalcija). Također sadrži organske kiseline među kojima se prema sadržaju ističu askorbinska, jabučna i limunska kiselina. Značajan je izvor vlakana te polifenola. Prema sadržaju najzastupljenija skupina polifenola u plodu dunje su flavonoidi (Darvishi, 2021; Silva i sur.,2004; Al-Snafi, 2016). Prema istraživanju grupe autora, Rather i suradnici (2020), plod dunje sadrži značajnu količinu kvercetina, rutina, klorogenskih kiselina te askorbinsku i jabučnu kiselinu.

Cilj ovog diplomskog rada je bio ispitati utjecaj elektrokemijskih parametara (pH, brzine polarizacije, pobudni signal, koncentracije) na neke od polifenola iz ekstrakta dunje na dvije različite vrste radnih elektroda, dijamantna elektroda s primjesama bora i elektroda od staklastog ugljika te utjecaj na dvije različite vrste inertnog elektrolita, Britton-Robinson i fosfatni pufer.

## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. Dunja (*Cydonia oblonga*)

Dunja (**Slika 1**) je biljka iz porodice *Rosacea* i raste kao listopadno manje stablo. Plodovi su veliki, asimetričnog oblika i karakterističnog mirisa s puno sjemenki (Darvishi, 2021;Silva i sur.,2004). Listovi dunje su ovalni i duguljasti, dugi do 10 cm, a cvjeta pojedinačnim cvjetovima u travnju ili svibnju cvjetovima promjera do 5 cm (Al-Snafi, 2016). Kora dunje prekrivena je dlačicama koje nestaju sazrijevanjem ploda (Silva i sur., 2004).



**Slika 1** Dunja (*Cydonia oblonga*) (Web 1)

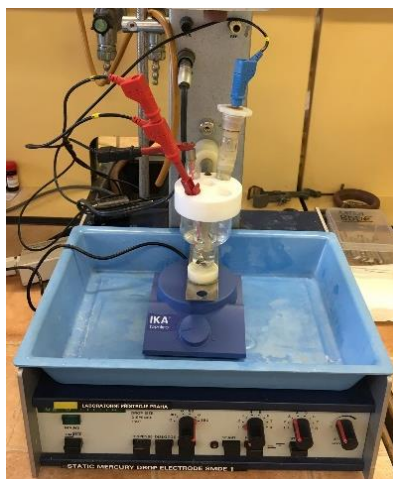
**Tablica 1** Nutritivni sastav plodova dunje u 100g svježe mase (Al-Snafi, 2016)

Energija	176 kj
Proteini	0,6 g
Kiseline	0,9 g
Ugljikohidrati	9,1 g
Voda	86,9 g
Pepeo	0,6 g
Vlakna	1,9 g

U tradicionalnoj medicini koristili su se listovi, plodovi i sjemenke dunje. Nutritivni sastav dunje prikazan je u **Tablici 1** te je iz tog razloga njezina primjena u tradicionalnoj medicini. Pripravci na osnovi dunje su korišteni za zacjeljivanje rana, kao antiseptici, adstrigensi, protuupalna sredstva, sredstva za sprečavanje kašlja i slično. Od dunje se u kućanstvima izrađuju razne marmelade, džemovi i kompoti, dok sirova nije preporučena za konzumaciju zbog trpkog okusa koji se može pripisati sadržaju terpena. Blagotvorni učinci dunje pripisuju se sadržaju minerala natrija, kalija, kalcija, magnezija, željeza i mnogih drugih. Također, bogata je vitaminima od kojih su najvažniji retinol, karoten, riboflavin, niacin, veće količine askorbinske kiseline (13mg/100g) te fenola i flavonoida. Analizom fenolnih spojeva listova dunje izolirano je devet različitih fenolnih spojeva, od kojih klorogenska kiselina predstavlja glavni spoj, a odmah nakon nje je kvercetin-3-rutinozid (Al-Snafi, 2016). Zbog svog mogućeg antioksidativnog djelovanja mogu vezati slobodne radikale stoga se koriste u terapijske svrhe (Sonmez i sur.,2022).

## 2.2. Voltametrij

Voltametrij je elektrokemijska metoda koja daje informaciju o ispitivanom analitu mjerenjem jakosti električne struje ( $I$ ) u ovisnosti o potencijalu ( $E$ ). Tehnika uključuje korištenje elektrokemijske ćelije s tri elektrode: radne, pomoćne i referentne elektrode (Avelino i sur.,2017). Sve tri elektrode uronjene su u tekući medij koji se naziva elektrolit. Elektrolit poboljšava provodljivost i izmjenom pH vrijednosti postiže se specifičnost reakcije te se bolje razdvajaju susjedni signali. Radna elektroda može biti napravljena od materijala kao što su zlato, srebro, staklasti ugljik, živa, grafit i ugljikove nanočestice. Na radnoj elektrodi se odvija redoks proces. Pomoćna elektroda je protuelektroda koja omogućuje prolazak struje kroz elektrokemijsku ćeliju. Referentna elektroda mjeri potencijal radne elektrode u odnosu na potencijal referentne elektrode. Može biti napravljena od materijala kao što su kalomel i srebro/srebro klorid (Piljac, 2010). Primjer izgleda jednog troelektrodnog sustava uronjenog u elektrolit prikazan je na **Slici 2**.

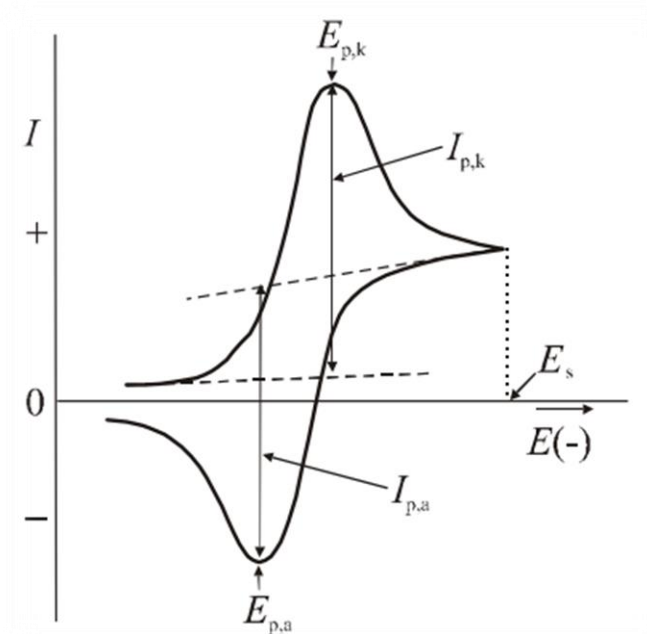


**Slika 2** Elektrokemijska ćelija

### 2.2.1. Ciklička voltametrij

Ciklička voltametrij (engl. *Cyclic Voltammetry*, CV) najraširenija je tehnika za određivanje kvalitativne informacije o elektrokemijskim procesima. Brzo pruža značajne informacije o procesima koji se odvijaju na površini radne elektrode kao što su nastanak oksidacijskih/redukcijskih produkata elektrokemijske reakcije, kinetika prijenosa elektrona, mehanizam redoks reakcije i slično. Zbog svoje brzine i jednostavnosti ciklička voltametrij se najčešće koristi kao tehnika prvog izbora za neku elektroaktivnu tvar (Wang, 2000). Temelji se na brznoj polarizaciji pri čemu je smjer polarizacije napona struje obrnut, dok se potencijal radne elektrode mijenja konstantnom brzinom u voltima po sekundi ( $V s^{-1}$ ). Također, mjeri se i protok struje u odnosu na proteklo vrijeme. Mjerni parametri cikličke voltametrije su anodni i katodni potencijal pika ( $E_{p,a}$  i  $E_{p,k}$ ) te anodni i katodni pik struje ( $I_{p,a}$  i  $I_{p,k}$ ) (Farghaly i sur., 2014).

Prikaz odziva signala cikličke voltametrije grafički se prikazuje kao ciklički voltamogram (**Slika 3**).



**Slika 3** Ciklički voltamogram (Piljac, 2010.)

Razlika potencijala katodnog (redukcijskog) i anodnog (oksidacijskog) pika reverzibilnog procesa prikazana je **Jednadžbom 1**:

$$E_{p,k} - E_{p,a} = \frac{57}{z} [mV] \quad (1)$$

**Jednadžbom 2** prikazan je način izračunavanja odnosa struja katodnog i anodnog pika:

$$\frac{I_{p,k}}{I_{p,a}} = 1 \quad (2)$$

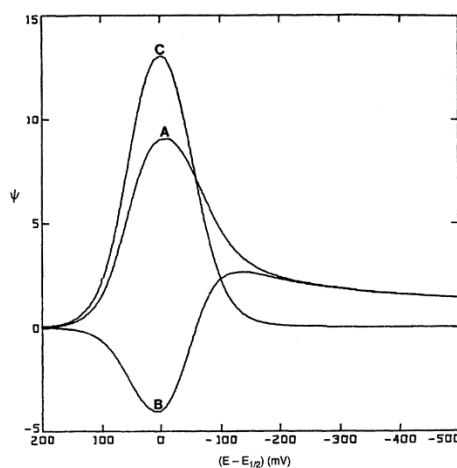
Slijedeći eksperimentalni parametri služe kao kriteriji za utvrđivanje reverzibilnosti procesa:

- katodni ( $E_{p,k}$ ) i anodni ( $E_{p,a}$ ) pikovi ne ovise o brzini promjene potencijala ( $v$ ),
- razlika katodnog ( $E_{p,k}$ ) i anodnog ( $E_{p,a}$ ) pika je  $57/z$  mV, kod 25 C i ne ovisi o  $v$ ,
- omjer struje pikova ( $I_{p,k}/I_{p,a}$ ) je 1 i ne ovisi o  $v$ , i
- $I_p/v^{1/2}$  je konstantan i ne ovisi o  $v$  (Piljac, 2010).

Odsustvo katodnog odnosno anodnog pika govori da je sustav ireverzibilan.

## 2.2.2. Pravokutnovalna voltametrija

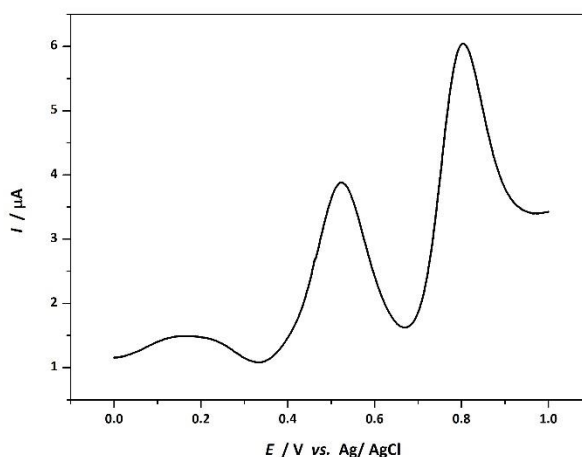
Velika brzina polarizacije je upravo najveća prednost pravokutnovalne voltametrije (engl. *Square-Wave Voltammetry*, SWV). Brza promjena potencijala pri primjeni pravokutnovalne voltametrije omogućuje različita frekvencija koja se može izmjenjivati od 1 do 100 ciklusa u sekundi. Ovom se metodom skraćuje vrijeme analize te se vrlo brzo dobije (u samo nekoliko sekundi) voltamogram. Početni signal se dobiva kao rezultat niza pravokutnovalnih pulseva, odnosno kada se ti isti pulsevi dodaju na stepeničasti signal potencijala. Mjerenje struje se odvija dva puta u toku svakog ciklusa, prvi puta pri polaznom puls u te drugi put na krajnjem puls obrnutog smjera. Polazni puls proizvodi katodnu struju, a povratni puls stvara anodnu struju. Koncentracijska razlika analita (katodna i anodna struja) je upravo razlika tih struja u otopini (Wang, 2000). Grafički prikaz odziva pravokutnovalne voltametrije je pravokutnovalni voltamogram (**Slika 4**).



**Slika 4** SWV voltamogram (Wang, 2000)

### 2.2.3. Diferencijalna pulsna voltametrija

Diferencijalna pulsna voltametrija (engl. *Differential Pulse Voltammetry*, DPV) najučinkovitija je tehnika za kvantitativno određivanje organskih i anorganskih specija. Signal pobude mjeri se dvaput. Prvo mjerenje se provodi neposredno prije primjene pulsa, a drugo mjerenje na kraju pulsa. Razlika između dvije struje prikazuje se kao funkcija potencijala (Wang, 2000). Voltamogram diferencijano pulsne voltametrijе prikazuje jasno izražene pikove (**Slika 4**) što tehniku čini pogodnom za analitičke svrhe, a visine strujnih pikova direktno su proporcionalne količini analita u ispitivanom uzorku. Tehnika je zbog niske granice detekcije (eng. *limit of detection*, *LOD*) koja iznosi oko  $10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup> dovoljno osjetljiva za analizu realnih uzoraka (Nigović i Behetić, 2007).



**Slika 5** Diferencijalno pulsni voltamogram

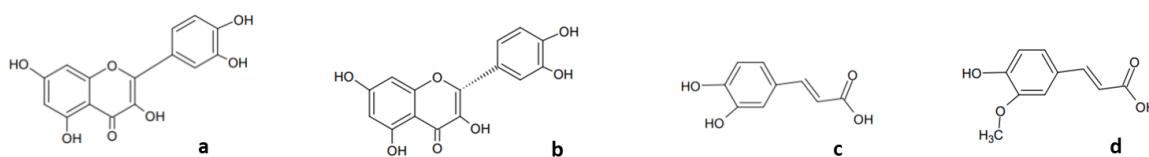
### 2.3. Polifenolni spojevi

Polifenolni spojevi predstavljaju kompleksnu grupu spojeva. Oni su sekundarni metaboliti biljaka te se ubrajaju u skupinu fitokemikalija. Stoga su izvori polifenolnih spojeva biljke i njihovi proizvodi (voće, povrće, žitarice, čaj, kava, bezalkoholni i alkoholni napitci i slično). Odgovorni su za senzorska svojstva voća, a tijekom tehnološke obrade biljke mogu uzrokovati obezbojenja ili zamućenja medija. Takve promjene posljedica su mogućeg stvaranja kompleksa polifenola s metalnim ionima i proteinima (Belitz i sur., 2009).

Do danas je poznato i izolirano nekoliko stotina polifenolnih spojeva (Bravo, 1998), a dijele se na tri skupine fenolne kiseline, flavonoide i ostale. U fenolne kiseline ubrajaju se hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline. Zatim, u flavonoide se ubrajaju flavonoli,



flavanoli, flavoni, antocijanini i flavanoni. U skupinu ostali ubrajaju se stilbeni (Tsao, 2010).

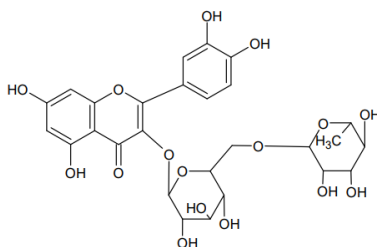


**Slika 6** Kemijske strukture nekih polifenola: a) kvercetin, b) (+)- katehin, c) kafeinska kiselina i d) ferulična kiselina (Tsao, 2010)

Polifenoli posjeduju moguću antioksidativnu aktivnost koja potpomaže funkciju vitamina i enzima koji sudjeluju u borbi protiv oksidativnog stresa (Tsao, 2010). Mehanizmom vezanja slobodnih radikala može se objasniti antioksidacijska aktivnost polifenola. Fenolne komponente ponašaju se kao akceptori slobodnih radikala, ometaju oksidaciju lipida i drugih molekula doniranjem atoma vodika radikalima. Tada nastaju intermedijeri reakcije koji zbog svoje rezonancije nisu toliko reaktivni i zbog toga nova lančana reakcija ne može započeti (Dai i Mumper, 2010). Stoga, polifenoli, vjerojatno, mogu imati pozitivan utjecaj na širok spektar bolesti kao što su bolesti kardiovaskularnog sustava, neurodegenerativne bolesti i dijabetes (Scalebert i sur., 2005).

### 2.3.1. Rutin

Rutin (3', 4', 5', 7'-tetrahidroksiflavon- 3 $\beta$ -D-rutinozid; kvercetin-3-O-rutinozid) se ubraja u skupinu flavonoida. Smatra se jednim od najviše bioaktivnih flavonoida te je poznat kao i vitamin P. Kemijska struktura rutina prikazana je na **Slici 7**. Žute je boje, djelomično topljiv u vodi, a lako topljiv u organskim otapalima poput metanola.



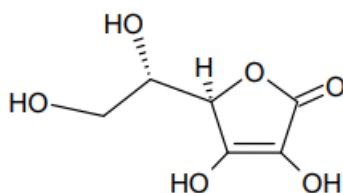
**Slika 7** Rutin (Ghica i Brett, 2005)

Biološka aktivnost flavonoida, vjeruje se da je povezana s njihovom mogućnosti sprječavanja oksidativnih procesa koji uključuju reaktivne spojeve kisika kao što su slobodni radikali (Nagles i Garcia-Beltran, 2016). Svi flavonoidi, pa tako i rutin, su elektroaktivne specije te su zbog mogućnosti oksidacije i redukcije pogodni za elektrokemijska istraživanja (Ghica i Brett, 2005). Neka istraživanja pokazala su da rutin može posjedovati fiziološke aktivnosti kao što su antiupalno, antitumorsko i antibakterijsko djelovanje (Al-Snafi, 2016).

Prema sadržaju rutina značajnu količinu se može naći u heljdi, jabukama, luku, narančama te u raznim biljnim čajevima. Rutin se smatra aktivatorom vitamina C (Abualhasan i sur., 2017).

## 2.4. Vitamin C

Otkriće i važnost vitamin C u prehrani povezuje se s kapetanom Jamesom Cookom i njegovim mornarima koji su zbog nedovoljnog unosa vitamina C razvili bolest skorbut (Cuppige, 1994). L-askorbinska kiselina je poznatija pod nazivom vitamin C (**Slika 8**).



**Slika 8** L-askorbinska kiselina

Jedan od najvažnijih vitamina u ljudskoj prehrani je vitamin C, a izvori vitamina C su povrće, voće i drugi biljni izvori. Najčešće je vitamin C zastupljen u biljnom tkivu, a utječe na rast, raznolikost i metabolizam biljke. Također, uloga vitamina C u biljkama je sprečavanje oštećenja uzrokovanih oksidativnim stresom. Neke studije su pokazale da zeleni listovi biljaka mogu sadržavati jednaku količinu vitamina C kao i klorofila, a što pak ovisi o sezonskim promjenama (Foyer, 2018).

Vitamin C je topljiv u vodi te se zbog svoje topljivosti ne može se zadržati u organizmu i potrebno ga je svakodnevno unositi u preporučenim dozama koje se razlikuju ovisno o dobi i spolu. Dokazano je da pušači u odnosu na nepušače trebaju unositi veće količine vitamina C (**Tablica 2**).

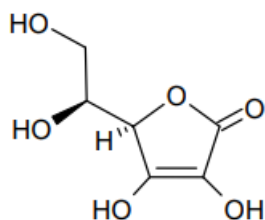
**Tablica 2** Preporučeni dnevni unos vitamina C (Web 2)

Dob	RDA (mg/dan)
0-6mj.	40*
7-12mj.	50*
1-3god.	15
4-8god.	25
9-13god.	45
14-18god.	65 (žene)/ 75 (muškarci)
19+god.	75 (žene)/ 90 (muškarci)
Trudnice	85
Dojilje	120
Pušači	+35 mg/dan u usporedbi s nepušačima

\*AI=adekvatni unos

Redovan unos vitamina C omogućuje normalno funkcioniranje imunološkog sustava, potpomaže zarastanju rana, sintezu kolagena i apsorpciju minerala. Vitamin C ima određenu antioksidacijsku aktivnost te može imati antiteratogena, antitumorska, antiinflamatorna i imunomodulacijska svojstva (Hemilä, 2017).

Budući da je vitamin C osjetljiv na svjetlost, lako oksidira u 3-keto oblik (**Slika 9**).



**Slika 9** Dehidroaskorbinska kiselina

Upravo zbog mogućnosti lake oksidacije, vitamin C se smatra elektroaktivnom specijom te je pogodan za elektrokemijska istraživanja (Suliborska i sur., 2019).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskog rada je bio:

- ispitati utjecaj elektrokemijskih parametara:
  - utjecaj pH osnovnog elektrolita, Britton-Robinson i fosfatnog pufera,
  - utjecaj brzine polarizacije,
  - utjecaj pobudnog signala i
  - utjecaj koncentracije na elektrokemijsku oksidaciju polifenola iz ekstrakta dunje primjenom dijamantne radne elektrode s primjesama bora i radne elektrode od staklastog ugljika uz cikličku, diferencijalnu pulsnu i pravokutnovalnu voltametriju.

### 3.2. MATERIJALI I METODE

#### 3.2.1. Priprava uzorka

Uzorci dunje korišteni u ovome radu su nabavljeni od lokalnog Obiteljskog poljoprivrednog gospodarstva (**Slika 10**).



**Slika 10** Plod dunje korišten za analizu

Prije analize dunje su oprane, razrezane na dijelove te očišćene od koštica i peteljke. Kora i meso dunje su usitnjeni pomoću štapnog miksera i čuvani na temperaturi od - 18 °C do analize.

Provedena je ekstrakcija polifenola iz uzoraka dunje metodom ekstrakcije potpomognute ultrazvukom prema Jakobek i suradnicima (2015) uz modifikaciju. Odvagano je oko 2,5 g uzorka dunje. Uzorcima je dodan 80% metanol da bi se ekstrahirali polifenoli. Ovako pripremljeni uzorci su se podvrgli na 15 minuta djelovanju ultrazvuka u ultrazvučnoj kupelji (Bandelin Sonorex RK 100, Njemačka) te su se centrifugirali 5 minuta u centrifugi pri 10 000 okretaja. Nakon centrifugiranja, ekstrakti polifenola su se izdvojili od ostatka. Ekstrakcija je

provedena u tri probe. Za provedbu elektrokemijske karakterizacije polifenola određeni volumen polifenolnog ekstrakta se razrijedio s pufer otopinama do ukupnog volumena od 70 mL.

### **3.2.2. Priprema otopina**

#### ***Standardi rutina i vitamina C***

Pripremile su se otopine standarda rutina i vitamina C koncentracije,  $c = 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  u 100% metanolu odnosno ultračistoj vodi. Radne koncentracije pripremile su se razrjeđivanjem u odgovarajućoj pH vrijednosti elektrolita. Standardne otopine rutina čuvane su zaštićena od svjetla u hladnjaku na 4 °C do analize, a standardna otopina vitamina C pripremala se neposredno prije analize.

#### ***Osnovni elektrolit za elektrokemijsku karakterizaciju rutina i vitamina C***

Otopina 0,1 mol L<sup>-1</sup> fosfatnog pufera (PBS) predstavljala je otopinu osnovnog elektrolita za elektrokemijsku analizu rutina primjenom obje voltametrijske tehnike. Pripremljena je u koncentraciji od 0,1 mol L<sup>-1</sup> pri pH vrijednostima 5, 6, 7,5, 8 i 9. Nadalje, otopina 0,1 mol L<sup>-1</sup> KCl je predstavljala osnovni elektrolit za elektrokemijsku analizu vitamina C. Za pripremu oba osnovna elektrolita, 0,1 mol L<sup>-1</sup> PBS i 0,1 mol L<sup>-1</sup> KCl, koristila se ultračista voda vodljivosti manje od 0,1 μS cm<sup>-1</sup>.

0,1 mol L<sup>-1</sup> Britton-Robinson (BRBS) pufer se koristio za elektrokemijsku analizu rutina i vitamina C u rasponu pH od 2 do 12 za troelektrodni sustav kod kojeg je radna elektroda bila dijamantna elektroda uz primjesu bora.

### **3.2.3. Voltametrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju rutina i vitamina C iz dunje na elektrodi od staklastog ugljika**

Prvi dio elektrokemijske karakterizacije rutina i vitamina C provedena je u staklenoj elektrokemijskoj ćeliji troelektrodnog tipa volumena 100 mL (Methrohm, Švicarska) na elektrodi od staklastog ugljika kao radnoj elektrodi uz Ag/AgCl referentnu elektrodu i pomoćnu Pt elektrodu. Ciklička i pravokutnovalna voltometrija provedene su pomoću uređaja potencijostat μAutolab uz primjenu GPES (General Purpose Electrochemical System) programske podrške, verzija 4.9.005. (Eco Chemie B. V., Utrecht, Nizozemska) koji je ujedno poslužio za prikupljanje i analizu elektrokemijskih podataka. Eksperimentalni uvjeti cikličke i pravokutnovalne voltetrije prikazani su u **Tablici 3**.

**Tablica 3** Eksperimentalni uvjeti cikličke i pravokutnovalne voltametrije

Rutin				Vitamin C			
CV		SWV		CV		SWV	
Osnovni elektrolit		0,1 mol L <sup>-1</sup> PBS pH 7,5		Osnovni elektrolit		0,1 mol L <sup>-1</sup> KCl	
Parametar	Vrijednost	Parametar	Vrijednost	Parametar	Vrijednost	Parametar	Vrijednost
Brzina polarizacije	100 mV s <sup>-1</sup>	Amplituda	50 mV	Brzina polarizacije	50 mV	Amplituda	50 mV
Korak potencijala	2 mV	Korak potencijala	2 mV	Korak potencijala	5 mV	Korak potencijala	2 mV
		Frekvencija	50 Hz			Frekvencija	50 Hz

Prije provođenja cikličke i pravokutnovalne voltametrije, radna elektroda od staklastog ugljika se mehanički i elektrokemijski polirala s ciljem reproducibilnosti rezultata pomoću praha aluminijevog oksida (promjer čestica 0,05  $\mu\text{m}$ ) uz dodatak ultračiste vode, te je isprana ultračistom vodom i uronjena u elektrokemijsku ćeliju u kojoj se nalazilo 70 mL otopine pripadajućeg elektrolita ovisno o elektroaktivnoj tvari. Zatim je provedeno nekoliko ciklusa elektrokemijskog poliranja elektrode primjenom cikličke voltametrije (CV) u rasponu potencijala od -0,2 V do 1,0 V pri brzini polarizacije od 100 mV s<sup>-1</sup>.

### 3.2.4. Voltametrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju rutina i vitamina C iz dunje na dijamantnoj elektrodi s primjesama bora

Ciklička, diferencijalna pulsna i pravokutnovalna voltametrija elektrokemijske karakterizacije rutina i vitamina C provedena je u standardnoj staklenoj troelektrodnoj ćeliji volumena 20 mL pomoću dijamantne elektrode s primjesama bora kao radne elektrode, Ag/AgCl kao referentne i Pt kao pomoćne elektrode. Elektrokemijske tehnike provedene su na instrumentu potenciostatu/galvanostatu Autolab PGSTAT-100 uz korištenje programske podrške GPES verzija 4.9.005 (Eco Chemie BV, Nizozemska). Prije provođenja elektrokemijske karakterizacije rutina i vitamina C na dijamantnoj elektrodi s primjesama bora elektroda je mehanički polirana pomoću praha aluminijevog oksida (promjer čestica 0,05  $\mu\text{m}$ ) uz dodatak ultračiste vode, te je isprana ultračistom vodom i elektrokemijski uranjanjem u elektrokemijsku

ćeliju u kojoj se nalazilo 10 mL otopine pripadajućeg elektrolita.

**Tablica 4** Eksperimentalni uvjeti cikličke, pravokutnovalne i diferencijalno pulsne voltametrije

Rutin				Vitamin C			
CV		DPV		CV		SWV	
Osnovni elektrolit		0,1 mol L <sup>-1</sup> BRBS pH=2		Osnovni elektrolit		0,1 mol L <sup>-1</sup> BRBS pH=6	
Parametar	Vrijednost	Parametar	Vrijednost	Parametar	Vrijednost	Parametar	Vrijednost
Brzina polarizacije	100 mV s <sup>-1</sup>	Amplituda	100 mV	Brzina polarizacije	100 mV s <sup>-1</sup>	Amplituda	60 mV
Korak potencijala	2 mV	Korak potencijala	5 mV	Korak potencijala	2 mV	Korak potencijala	5 mV
						Frekvencija	10 Hz

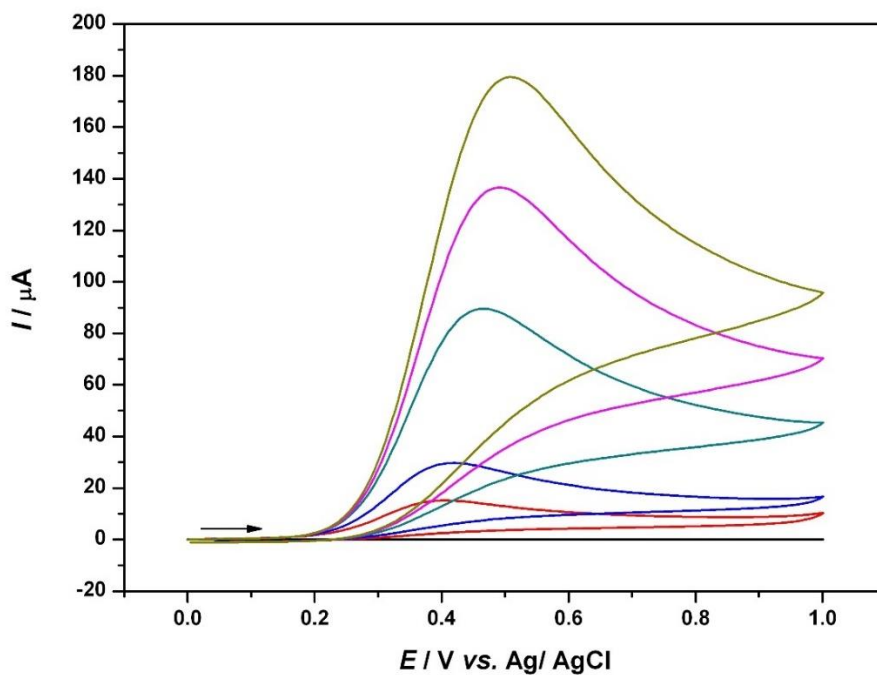
Elektrokemijska analiza standarda rutina, vitamina C i uzorka dunje primjenom sva tri elektrolita i elektroda je ponovljena u najmanje tri ponavljanja.



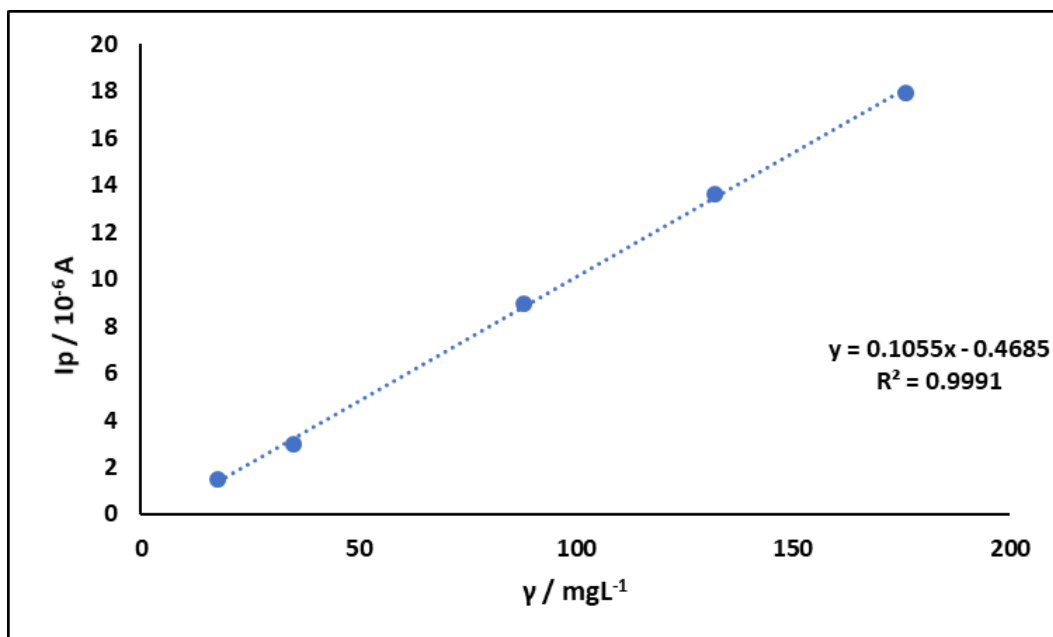
## **4. REZULTATI**

#### 4.1. Voltametrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju vitamina C i rutina iz dunje na elektrodi od staklastog ugljika

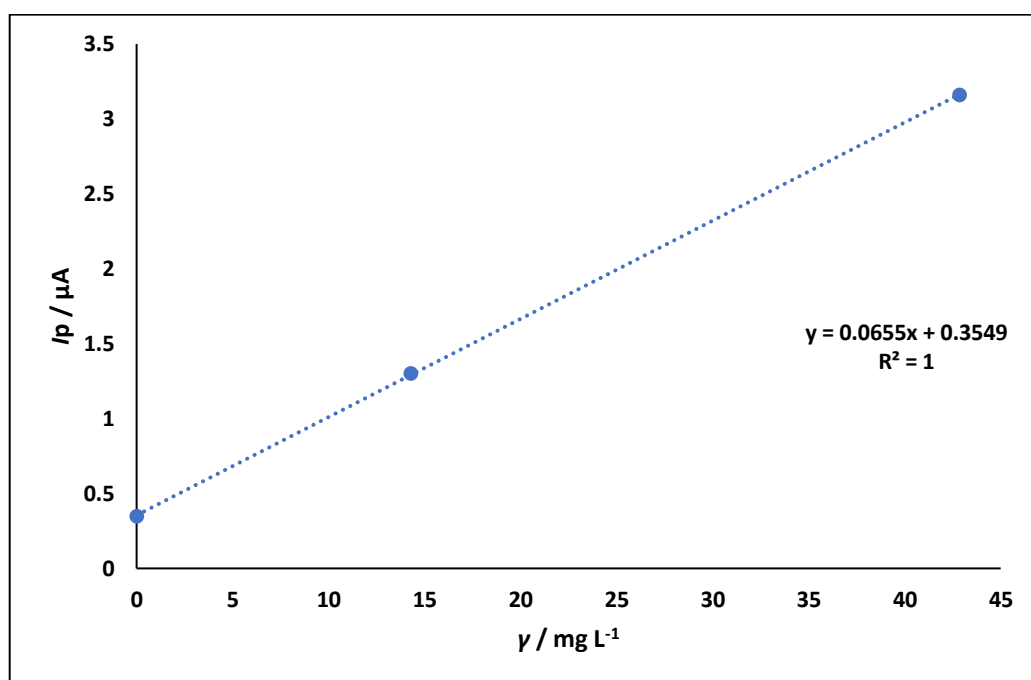
##### 4.1.1. Voltametrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju vitamina C iz dunje na elektrodi od staklastog ugljika



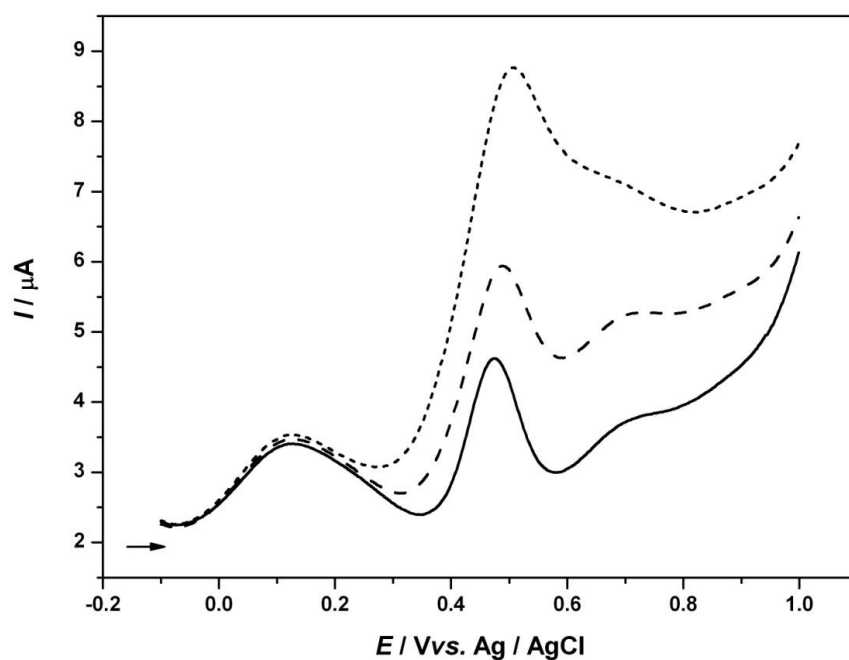
**Slika 11** Ciklički voltamogrami vitamina C ( $\gamma = 10 - 176 \text{ mg L}^{-1}$ ) dobiveni prema eksperimentalnim uvjetima iz **Tablice 3**



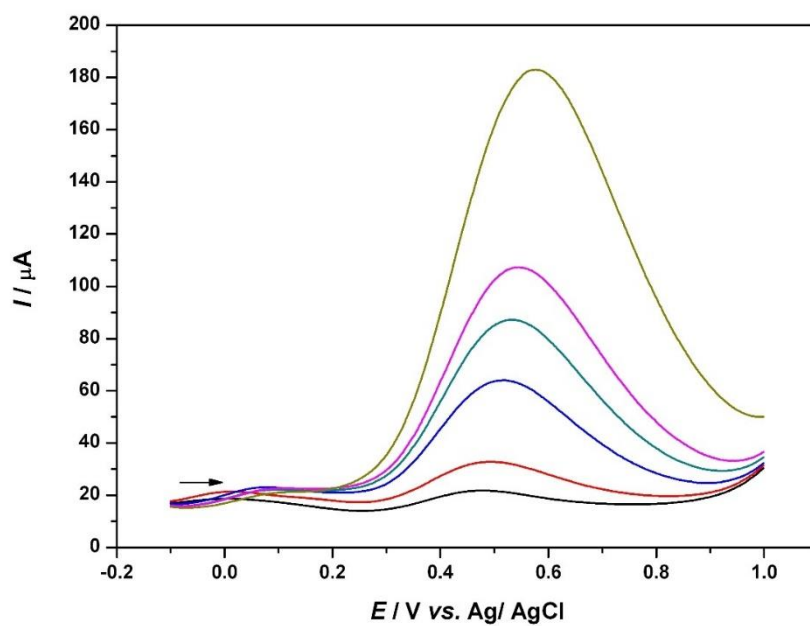
**Slika 12** Kalibracijska krivulja vitamina C dobivena cikličkom voltametrijom prema eksperimentalnim uvjetima iz **Tablice 3**



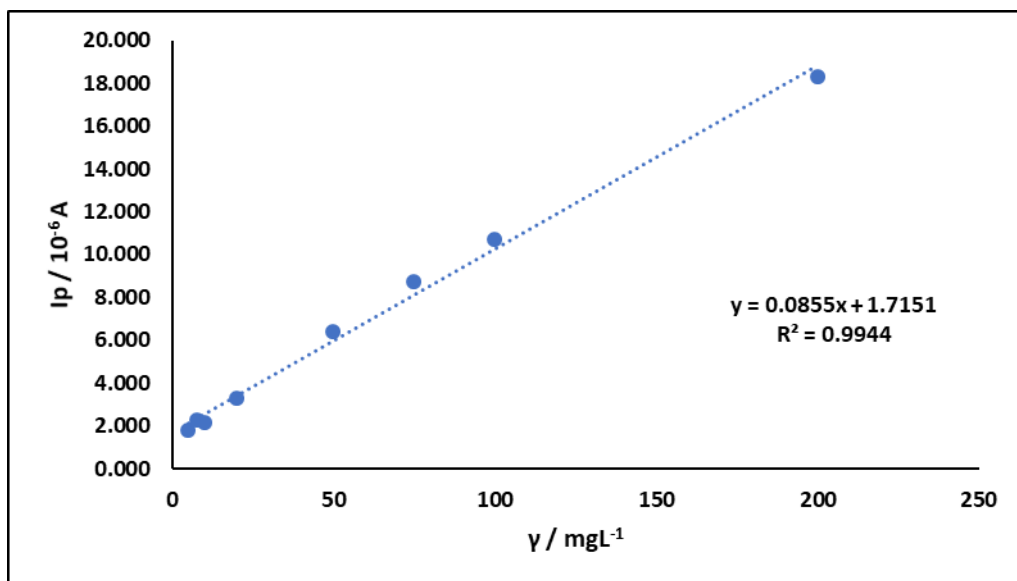
**Slika 13** Određivanje vitamina C u uzorku dunje (DF=5) primjenom standardne adicije i cikličke voltametrije prema uvjetima iz **Tablice 3**



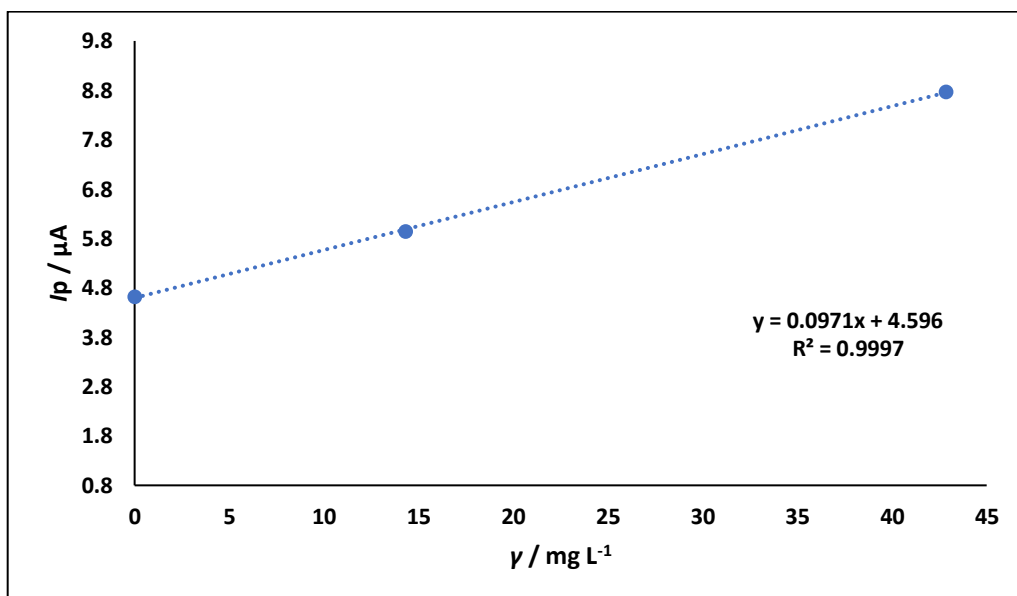
**Slika 14** Pravokutnovalni voltamogrami vitamina C u uzorku dunje (DF=10) dobiveni standardnom adicijom (- - - - 14 mg L<sup>-1</sup>, ---- 42 mg L<sup>-1</sup> i — 0 mg L<sup>-1</sup>) uz eksperimentalne uvjete iz **Tablice 3**



**Slika 15** Pravokutnovalni voltamogrami vitamina C ( $\gamma = 5 - 200 \text{ mg L}^{-1}$ ) dobivena prema eksperimentalnim uvjetima iz **Tablice 3**

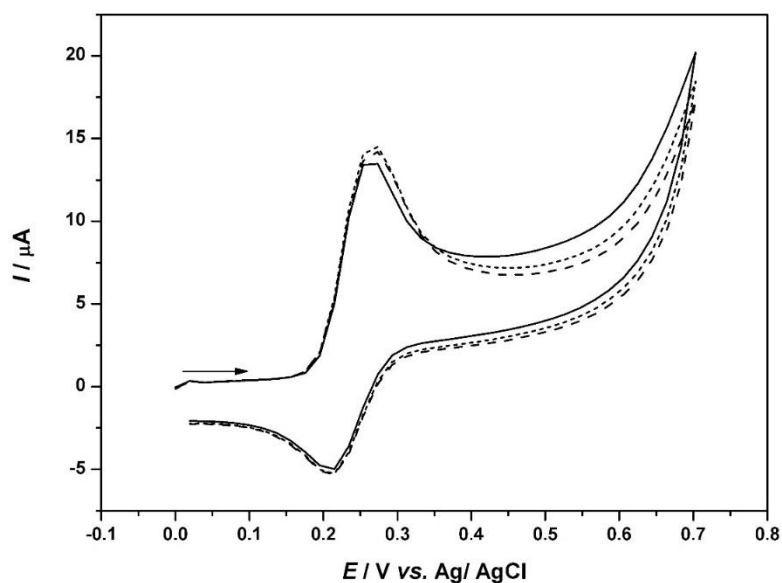


**Slika 16** Kalibracijska krivulja vitamina C dobivena pravokutnovalnom voltametrijom prema eksperimentalnim uvjetima iz **Tablice 3**

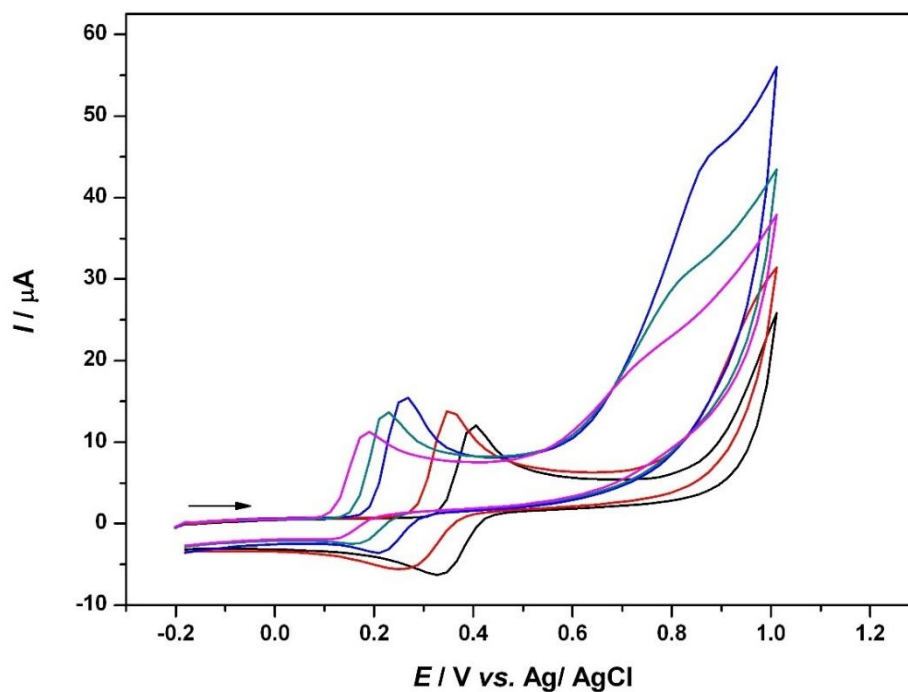


**Slika 17** Određivanje vitamina C u uzorku dunje (DF=7) primjenom standardne adicije i pravokutnovalne voltametrije prema uvjetima iz **Tablice 3**

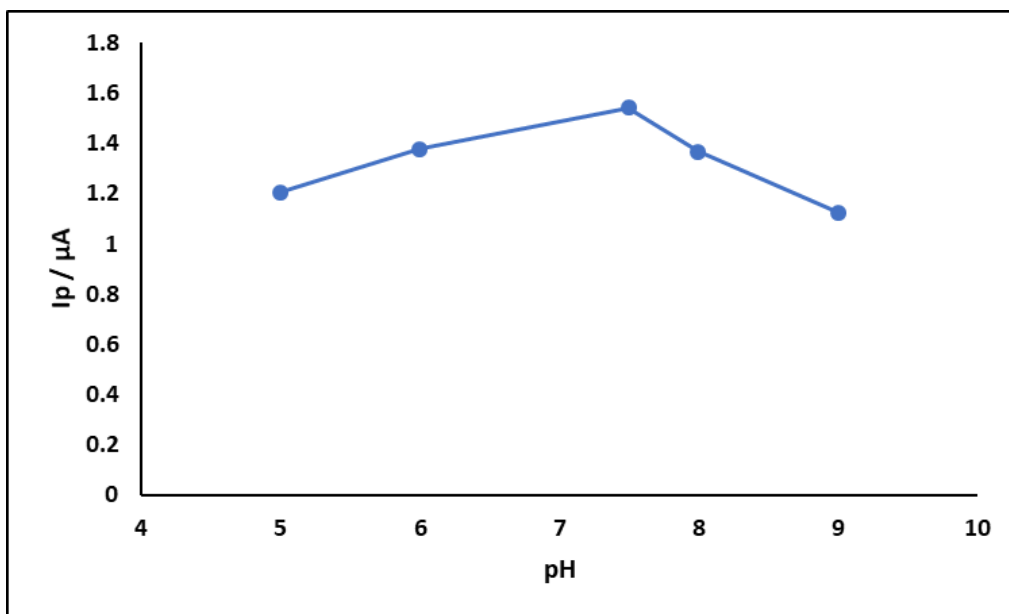
#### 4.1.2. Voltametrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju rutina iz dunje na elektrodi od staklastog ugljika



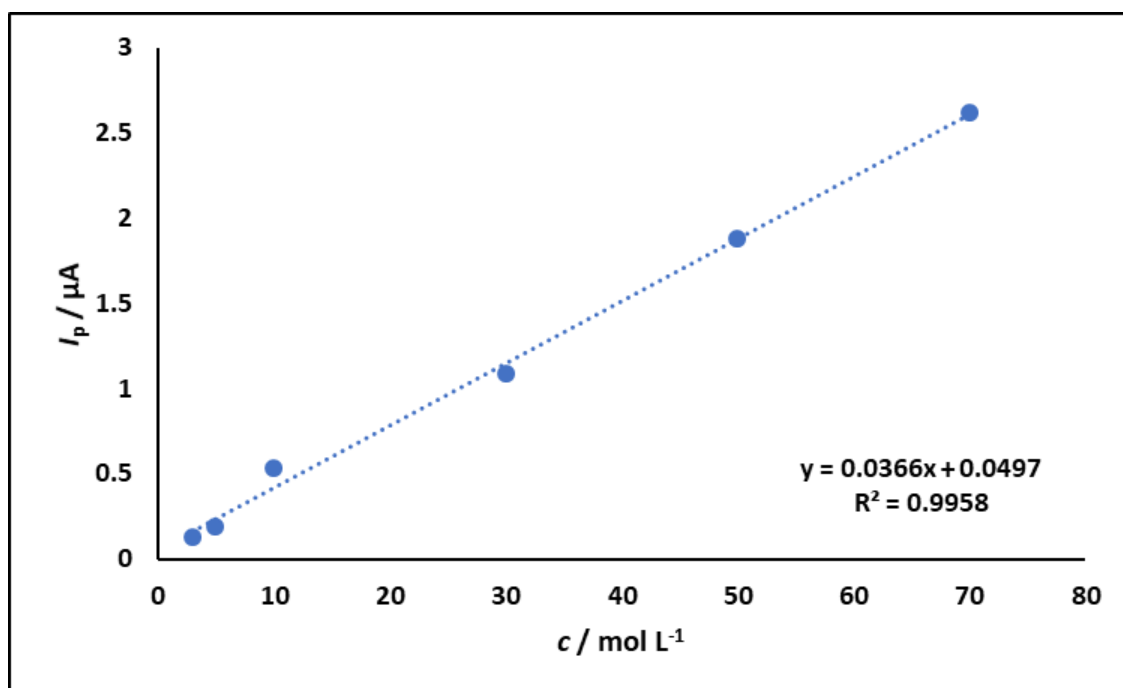
Slika 18 Ciklički voltamogrami rutina dobiveni prema eksperimentalnim uvjetima iz **Tablice 3**



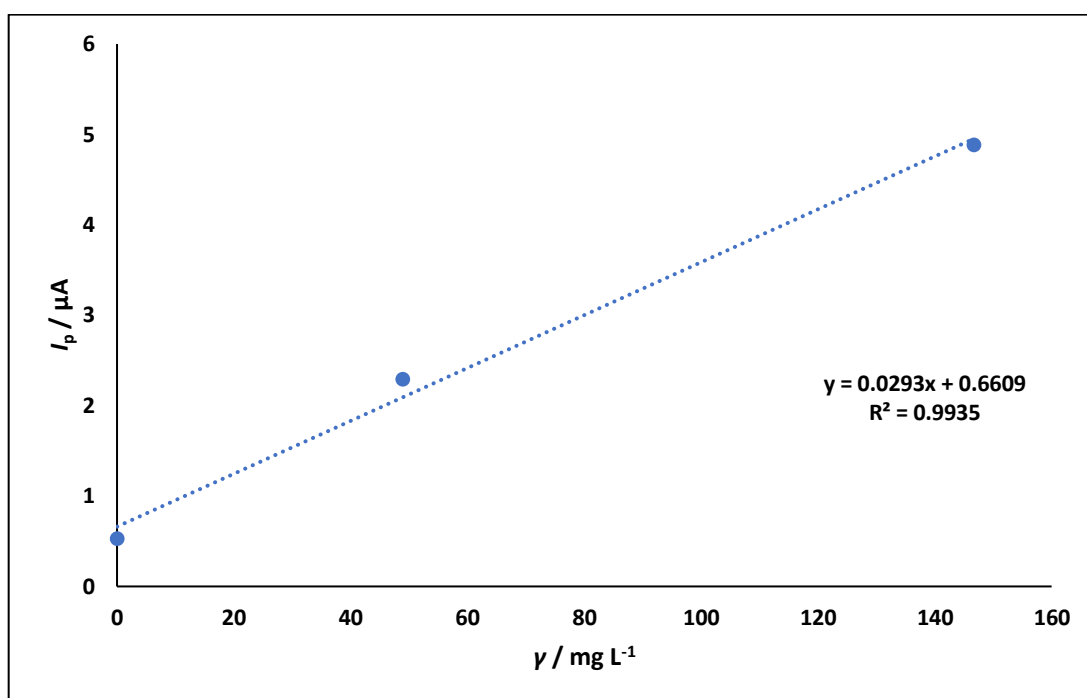
Slika 19 Ciklički voltamogrami rutina (pH 5 —, pH 6 —, pH 7,5 —, pH 8 —, pH 9 —) dobiveni prema eksperimentalnim uvjetima iz **Tablice 3**



**Slika 20** pH profil rutina dobiven cikličkom voltametrijom prema eksperimentalnim uvjetima iz **Tablice 3**

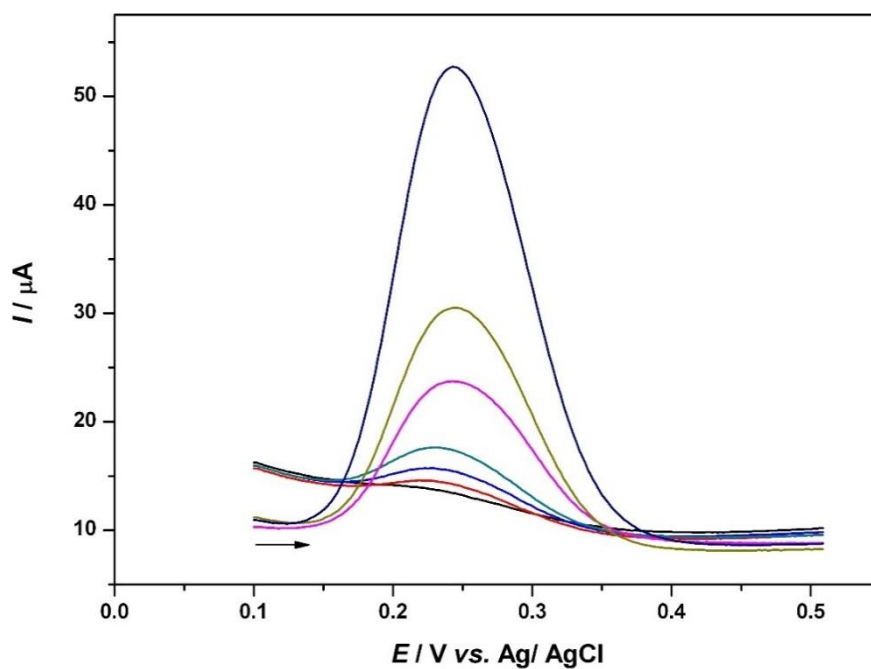


**Slika 21** Kalibracijska krivulja rutina dobivena cikličkom voltametrijom prema eksperimentalnim uvjetima iz **Tablice 3**

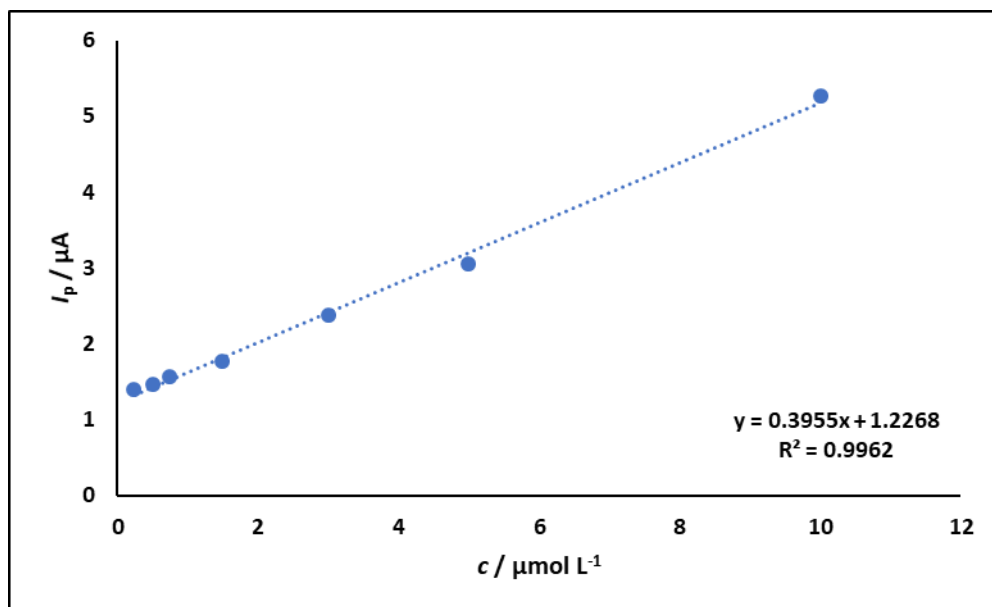


**Slika 22** Određivanje rutina u uzorku dunje (DF=7) primjenom standardne adicije i cikličke voltometrije prema uvjetima iz **Tablice 3**

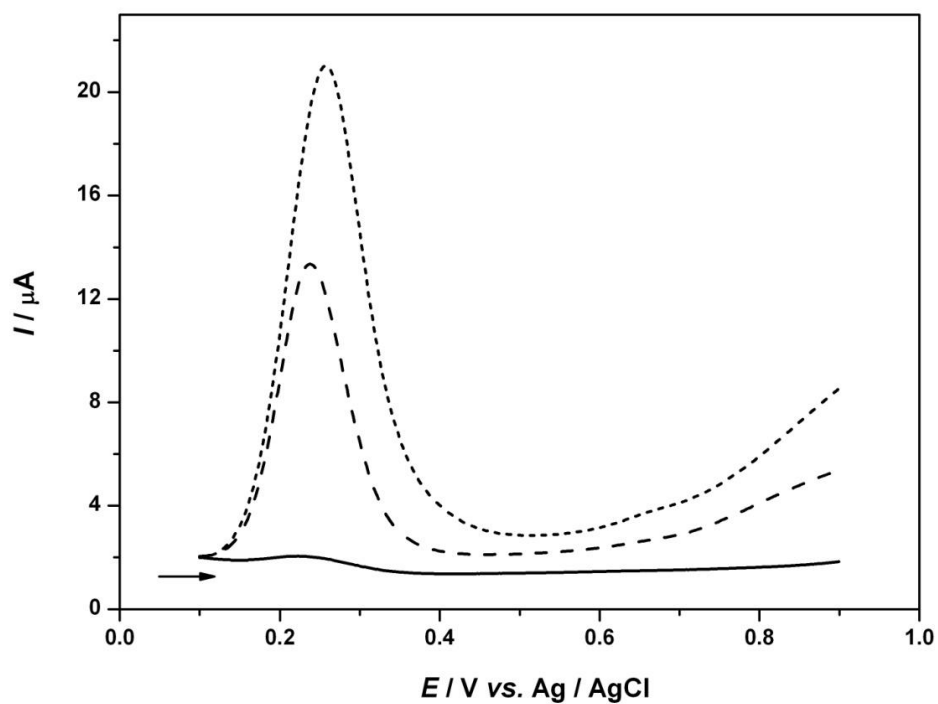




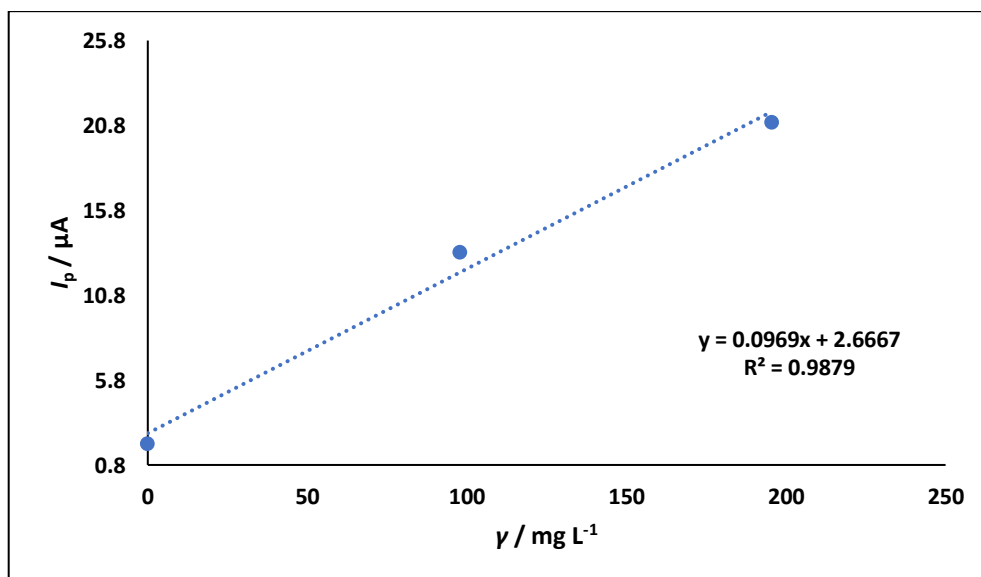
**Slika 23** Pravokutnovalni voltamogrami rutina ( $c = 0,25 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) dobiveni prema eksperimentalnim uvjetima iz **Tablice 3**



**Slika 24** Kalibracijska krivulja rutina dobivena pravokutnovalnom voltametrijom prema eksperimentalnim uvjetima iz **Tablice 3**



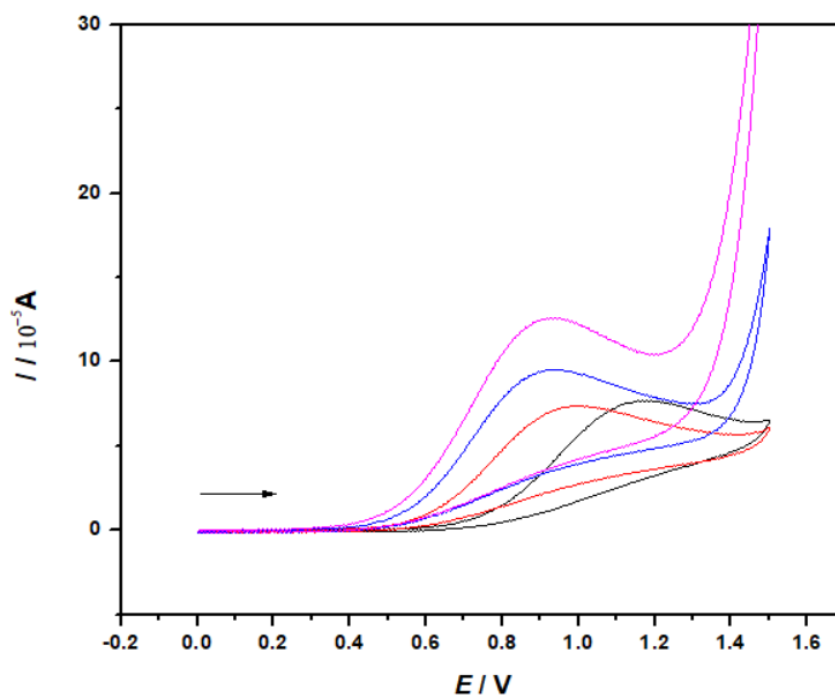
**Slika 25** Određivanje sadržaja rutina ( $—$   $0 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $- - -$   $100 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $----$   $200 \text{ mg L}^{-1}$ ) u uzorku dunje (DF=10) primjenom standardne adicije i pravokutnovalne voltametrije prema uvjetima iz **Tablice 3**



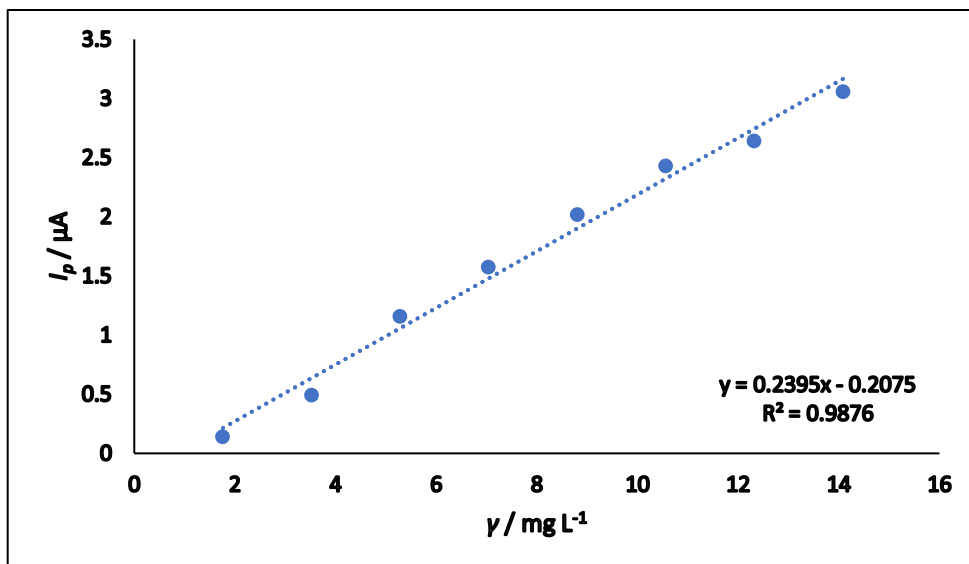
**Slika 26** Određivanje rutina u uzorku dunje (DF=23) primjenom standardne adicije i pravokutnovalne voltametrije prema uvjetima iz **Tablice 3**

## 4.2. Voltametrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju rutina i vitamina C iz dunje na dijamantnoj elektrodi s primjesama bora

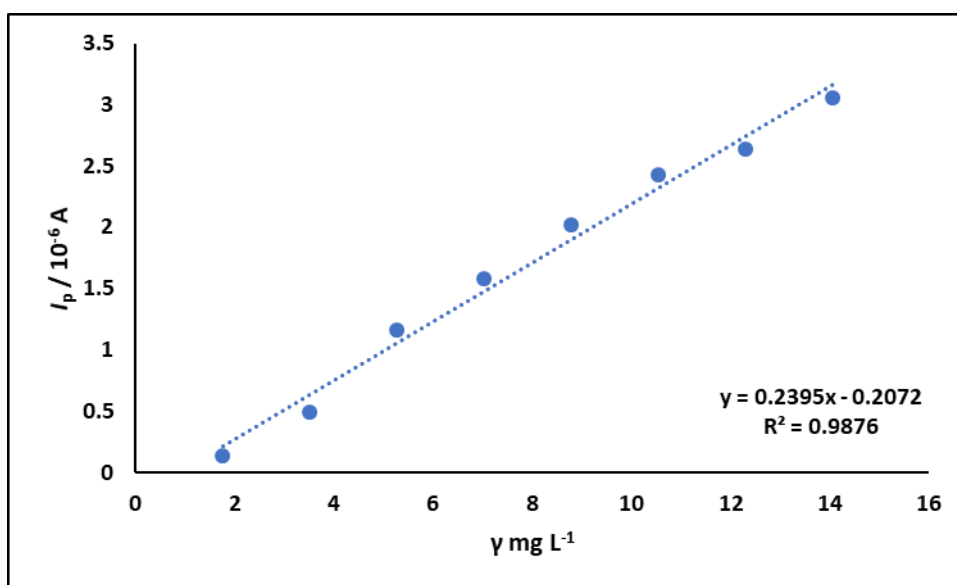
### 4.2.1. Voltametrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju vitamina C iz dunje na dijamantnoj elektrodi s primjesama bora



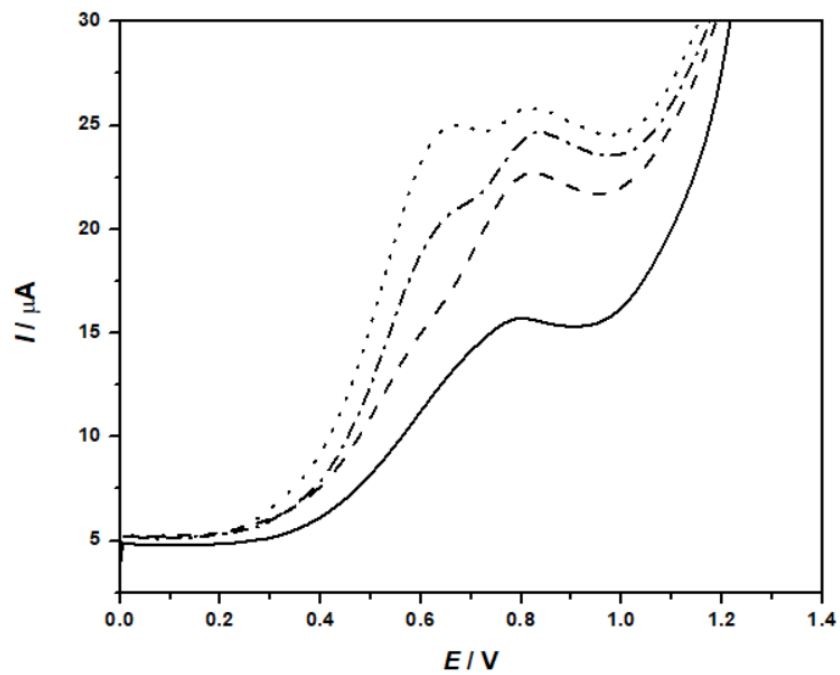
**Slika 27** Ciklički voltamogrami vitamina C koncentracije  $10^{-3}\text{M}$  (pH=2—, pH=4 —, pH=6 — i pH=8 —) dobiveni uz eksperimentalne uvjete iz **Tablice 4**



**Slika 28** Kalibracijska krivulja vitamina C dobivena cikličkom voltametrijom prema eksperimentalnim uvjetima iz **Tablice 4**

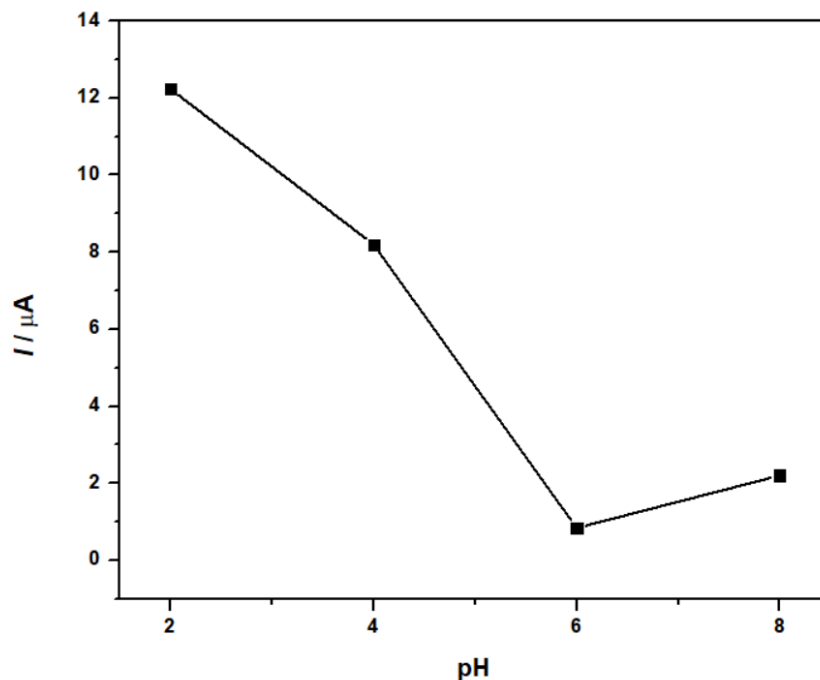


**Slika 29** Kalibracijska krivulja vitamina C dobivena pravokutnovalnom voltametrijom prema eksperimentalnim uvjetima iz **Tablice 4**

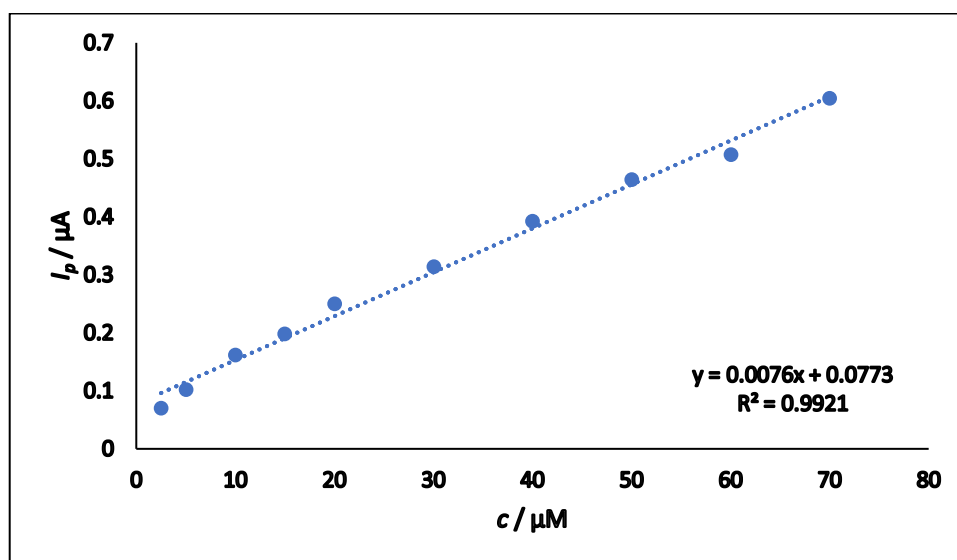


**Slika 30** Obogaćivanje ekstrakta dunje (DF=4) vitaminom C ( $\nu = \text{— } 0 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{- - - } 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{- · - · - } 2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ,  $\text{···· } 3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) tehnikom pravokutnovalne voltametrije uz eksperimentalne uvjete navedene u **Tablici 4**

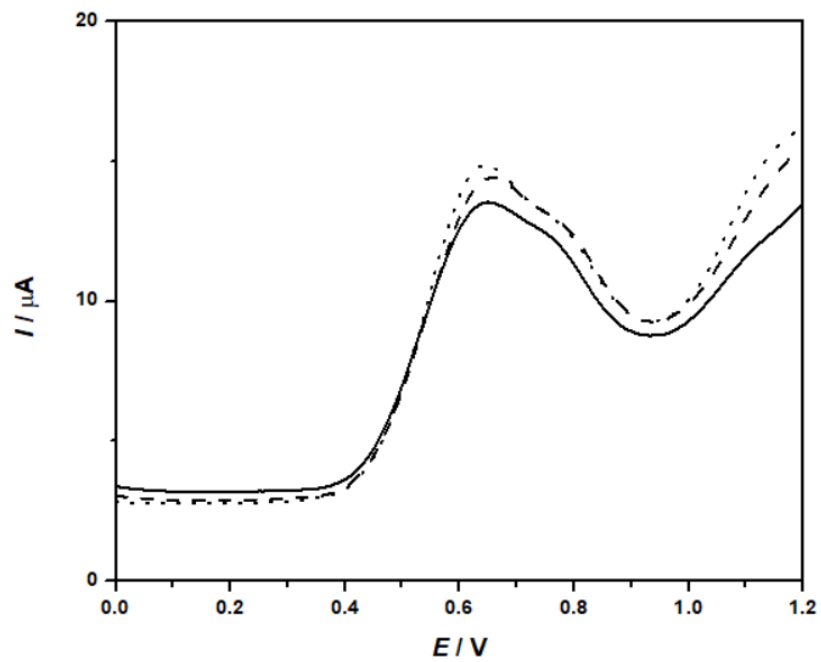
## 4.2.2 Voltametrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju rutina iz dunje na dijamantnoj elektrodi s primjesama bora



**Slika 31** pH profil rutina dobiven cikličkom voltametrijom prema eksperimentalnim uvjetima prikazanim u **Tablici 4**



**Slika 32** Kalibracijska krivulja rutina dobivena diferencijalnom pulsnom voltametrijom prema eksperimentalnim uvjetima iz **Tablice 4**



**Slika 33** Obogaćivanje uzorka ekstrakta dunje rutinom ( $\gamma = 0 \text{ mol L}^{-1}$ ,  
 ---  $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , - · -  $2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) diferencijalnom pulsnom volatometrijom uz uvjete  
 navedene u **Tablici 4**

## **5. RASPRAVA**



U ovom diplomskom radu ekstrahirani su polifenolni spoj rutin i vitamin C iz uzorka dunje. Za analizu rutina i vitamina C iz uzorka dunje provedena je elektrokemijska karakterizacija primjenom tri instrumentalne tehnike: ciklička, diferencijalna pulsna i pravokutnovalna voltometrija. Također je ispitan utjecaj elektrokemijskih parametara pojedine elektrokemijske tehnike na elektrokemijsku oksidaciju rutina i vitamina C iz uzorka dunje primjenom dvije različite radne elektrode: elektrode od staklastog ugljika i dijamantne elektrode s primjesama bora uronjenih u dva različita elektrolita: Britton-Robinson i fosfatni pufer.

## 5.1. Voltometrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizacije vitamina C iz dunje na elektrodi od staklastog ugljika i dijamantnoj elektrodi s primjesama bora

Općenite informacije o elektrokemijskoj aktivnosti i mogućem ponašanju nekog analita na površini radne elektrode dobiju se primjenom cikličke voltetrije. Ciklički voltamogrami vitamina C u rasponu masenih koncentracija od 10 do 176 mg L<sup>-1</sup> u 0,1 mol L<sup>-1</sup> KCl prikazani su na **Slici 11**, a prikazuju ireverzibilne oksidacijske pikove. Ireverzibilni oksidacijski pik pojavio se u rasponu potencijala od oko 0,35 V do oko 0,5 V koji odgovaraju elektrooksidaciji vitamina C u inertnom elektrolitu. U usporedbi s cikličkim voltamogramima vitamina C ( $\gamma = 1 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>) dobivenog u 0,1 mol L<sup>-1</sup> Britton-Robinson puferu pH 2-8 na površini radne dijamante elektrode s primjesom bora (**Slika 27**) uočavaju se elektrodni potencijali u više pozitivnijim vrijednostima od oko 0,8 V do oko 1,1 V ovisno o pH.

Također iz cikličkih voltamograma vitamina C na **Slici 11** uočava se kako povećanjem masene koncentracije analita strujni odziv raste dok se elektrodni potencijal pomiče prema više pozitivnim vrijednostima. Na osnovi cikličkih voltamograma različitih koncentracija vitamina C kreirana je kalibracijska krivulja prikazana na **Slici 12** s ciljem kvantificiranja sadržaja vitamina C u ekstraktu dunje. Kalibracijska krivulja prikazuje ovisnost strujnog odziva o masenoj koncentraciji. Iz kalibracijske krivulje uočava se linearnost u području masenih koncentracija od 10 do 176 mg L<sup>-1</sup>, zatim granica detekcije (LOD) iznosi 13,37 mg L<sup>-1</sup> i granica kvantifikacije (LOQ) 40,5 mg L<sup>-1</sup>. Također je kreirana kalibracijska krivulja za cikličke voltamograme vitamina C dobivenom elektrokemijskom oksidacijom na površini dijamantne elektrode s primjesama bora (**Slika 28**). Na **Slici 28** uočava se linearnost u području masenih koncentracija od 1,7 do 14 mg L<sup>-1</sup> (LOD = 3,8 mg L<sup>-1</sup> i LOQ = 11,5 mg L<sup>-1</sup>). Učinjena je kvantifikacija sadržaja prema obje kalibracijske krivulje te sadržaj vitamina C u ekstraktu dunje iznosi 75 mg L<sup>-1</sup> na površini radne elektrode od staklastog ugljika i 41 mg L<sup>-1</sup> na površini dijamantne elektrode s primjesama bora što je u skladu s literaturnim navodima (Rather i sur., 2020; Byczkiewicz i sur., 2021). Nadalje, ispitano je obogaćivanje ekstrakta dunje s poznatim masenim koncentracijama

vitamina C ( $14$  i  $42 \text{ mg L}^{-1}$ ) s ciljem potvrde prisustva vitamina C primjenom elektrode od staklastog ugljika (**Slika 13**) te je sadržaj vitamina C i ovom tehnikom kvantificiran te iznosi  $30 \text{ mg L}^{-1}$  (Rather i sur., 2020; Byczkiewicz i sur., 2021). Sadržaj vitamina C u ekstraktu dunje je niži primjenom tehnike standardne adicije u usporedbi s tehnikom kalibracijske krivulje zbog utjecaja matriksa na površinu radne elektrode te bi prema tome tehnika standardne adicije bila prihvatljivija za kvantifikaciju sadržaja vitamina C. Također, uočena razlika u sadržaju vitamina C u ekstraktu dunje primjenom obje elektrode je moguća zbog provođenja analiza u različitom pH području koje je bilo pogodno za vrstu elektrode, osnovnog elektrolita i prirodi uzorka.

Prema iznosu vrijednosti granice detekcije i granice kvantifikacije može se zaključiti da ciklička voltametrija elektrokemijske oksidacije vitamina C na površini dijamantne elektrode s primjesama bora je osjetljivija tehnika od tehnike na površini elektrode od staklastog ugljika. Nadalje, obje metode su se pokazale primjenjive za kvantifikacije sadržaja vitamina C u ekstraktu dunje.

Uz primjenu cikličke voltametrije primijenila se i pravokutnovalna voltametrija za elektrokemijsku oksidaciju vitamina C iz ekstrakta dunje pomoću obje vrste elektroda i elektrolita. Pravokutnovalni voltamogrami elektroksidacije vitamina C na elektrodi od staklastog ugljika prikazani su na **Slikama 14-17** te na dijamantnoj elektrodi s primjesama bora na **Slikama 29-30**. Na **Slici 14** prikazani su pravokutnovalni voltamogrami ekstrakta dunje s dodatkom vitamina C ( $\gamma = 14$  i  $42 \text{ mg L}^{-1}$ ) te se uočava porast strujnog odziva na elektrodnom potencijalu vitamina C ( $E$  oko  $0,45 \text{ V}$ ) dodatkom poznate masene koncentracije vitamina C i ovim se postupkom potvrdila prisutnost vitamina C u ekstraktu dunje. Zatim, na **Slici 15** prikazani su pravokutnovalni voltamogrami vitamina C masene koncentracije u rasponu od  $5$  do  $200 \text{ mg L}^{-1}$  s ciljem utjecaja različitih koncentracija na elektrokemijsku oksidaciju vitamina C te se uočava povećanje strujnog odziva i vrlo malog pomaka elektrodnog potencijala prema pozitivnijim vrijednosti uslijed porasta masene koncentracije vitamina C. Na osnovi pravokutnovalnih voltamograma vitamina C sa **Slike 15** kreirana je kalibracijska krivulja (**Slika 16**) i na **Slici 29** je prikazana kalibracijska krivulja vitamina C na dijamantnoj elektrodi s primjesama bora, a s ciljem kvantifikacije sadržaja vitamina C u uzorku. Na **Slici 16** uočava se linearnost u području koncentracija od  $5$ - $200 \text{ mg L}^{-1}$  uz granicu detekcije  $24 \text{ mg L}^{-1}$  i granicu kvantifikacije  $74 \text{ mg L}^{-1}$  dok na **Slici 29** se uočava linearnost u području masenih koncentracija od  $1$  do  $14 \text{ mg L}^{-1}$  te uz granicu detekcije  $3 \text{ mg L}^{-1}$  i granicu kvantifikacije  $11 \text{ mg L}^{-1}$ . Uz primjenu kalibracijske krivulje primijenila se i tehnika standardne adicije (**Slike 17 i 30**). Kvantificiran je sadržaj vitamina C u ekstraktu dunje koji je iznosio  $40 \text{ mg L}^{-1}$  (Rather i sur., 2020; Byczkiewicz i sur., 2021).

Iz izgleda voltamograma vitamina C u ekstraktu dunje primjenom obje elektrode i elektrolita uočava se da je mehanizam oksidacije vitamina C ireverzibilan (prisustvo samo oksidacijskog

strujnog odziva).

Primjećuje se kod obje voltametrijske tehnike utjecaj različite vrste elektrode i različite vrste elektrolita na elektrokemijsku oksidaciju vitamina C iz ekstrakta dunje te je uočeno da obje vrste elektroda i obje vrste elektrolita su pogodne za karakterizaciju vitamina C u ekstraktu dunje.

## **5.2. Voltametrijske tehnike za elektrokemijsku karakterizaciju rutina iz dunje na elektrodi od staklastog ugljika i dijamantnoj elektrodi s primjesama bora**

Prema sadržaju polifenola u plodu dunje, rutin je jedan od zastupljenih polifenola (Silva i sur., 2004; Ashraf i sur., 2016; Byczkiewics i sur., 2021). U ovom diplomskog radu primijenile su se ciklička, diferencijalna pulsna i pravokutnovalna voltametrija za elektrooksidaciju rutina u ekstraktu dunje (**Slike 18-33**) pod uvjetima iz **Tablice 3 i 4**.

Na **Slici 18** prikazan je ciklički voltamogram rutina ( $c = 3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ) na elektrodi od staklastog ugljika te se uočava da je sustav reverzibilan ( $\Delta E = 0,06 \text{ V}$ ). Također se uočava nastanak oksidacijskih produkata na površini radne elektrode jer se pri višestrukoj uzastopnoj polarizaciji strujni odziv smanjuje što ukazuje da je difuzija analita iz otopine prema površini radne elektrode otežana. Ispitan je utjecaj pH vrijednosti oba elektrolita na elektrooksidaciju rutina (**Slike 19, 20 i 31**) primjenom cikličke voltametrije. Iz **Slika 19, 20 i 31** uočava se da je za elektrodu od staklastog ugljika najpovoljniji pH 7, a za dijamantnu elektrodu s primjesama bora pH 2 te su te pH vrijednosti odabrane za daljnji tijek eksperimenta.

Za elektrokemijsku oksidaciju rutina u ekstraktu dunje primjenom cikličke voltametrije uz radnu elektrodu od staklastog ugljika ispitao se utjecaj različitih množinskih koncentracija i obogaćivanje uzorka (**Slika 21 i 22**). Na **Slici 21** uočava se linearnost u području množinskih koncentracija  $3 - 70 \mu\text{mol L}^{-1}$  uz granicu detekcije  $9 \mu\text{mol L}^{-1}$  i granice kvantifikacije  $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Također, na **Slici 23-26** prikazani su pravokutnovalni voltamogrami rutina na elektrodi od staklastog ugljika tehnikom kalibracijske krivulje i tehnikom standardne adicije (**Slika 25 i 26**). Na **Slici 23** prikazani su pravokutnovalni voltamogrami rutina te se uočava kako raste množinska koncentracija rutina, strujni odziv raste te pokazuje linearnost u području množinskih koncentracija  $0,25 - 10 \mu\text{mol L}^{-1}$  uz granicu detekcije  $41 \mu\text{mol L}^{-1}$  i granicu kvantifikacije  $124 \mu\text{mol L}^{-1}$  (**Slici 24**). Na **Slikama 32 i 33** prikazane su tehnike kalibracijske krivulje i standardne adicije na dijamantnoj elektrodi s primjesama bora za određivanje sadržaja rutina u ekstraktu dunje primjenom diferencijalne pulsne voltametrije. Iz kreirane kalibracijske krivulje uočava se linearnost u području ispitanih koncentracija s granicom detekcije  $12 \mu\text{mol L}^{-1}$  i za granicu kvantifikacije koja iznosi  $38 \mu\text{mol L}^{-1}$ . Prema tome, količina

rutina u ekstraktu dunje iznosi  $187 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

Na osnovi provedenog istraživanja može se uočiti da su voltametrijske tehnike (ciklička, diferencijalna pulsna i pravokutnovalna voltometrija) uz radne elektrode dijamantnu elektrodu s primjesama bora i elektrodu od staklastog ugljika kao i uz fosfatni pufer i Britton-Robinson pufer pogodne za karakterizaciju rutina u ekstraktu dunje.

## **6. ZAKLJUČAK**

Na osnovi rezultata dobivenih u ovom diplomskom radu može se zaključiti:

- elektrokemijska oksidacija vitamina C i rutina ovisna je o pH utjecaju osnovnog elektrolita,
- mehanizam elektrokemijske oksidacije vitamina C ireverzibilan je proces, dok je mehanizam elektrokemijske oksidacije rutina reverzibilan proces,
- opadanjem strujnog odaziva prilikom višestruke uzastopne polarizacije rutina ukazuje na mogućnost nastanka produkata oksidacije na površini radne elektrode,
- identifikacija vitamina C i rutina proveda se obogaćivanjem ekstrakta dunje te dokazala njihovu prisutnost u ekstraktu (porast oksidacijskih pikova na elektrodnom potencijalu standarda vitamina C i rutina) i
- sve tri provedene tehnike pokazale su se pogodnima za karakterizaciju (identifikaciju i kvantifikaciju) polifenola rutina i vitamina C uzorku ekstrakta dunje.

## **7. LITERATURA**

- Abualhasan MN, Mansour J, Jaradat N, Zaid AZ, Khadra I: Formulation and Development of a Validated UV-Spectrophotometric Analytical Method of Rutin Tablet. *International Scholarly Research Notices* 1-7, 2017.
- Al-Snafi A: The medical importance of *Cydonia oblonga*-A review: *IOSR Journal of Pharmacy* 6:87-99, 2016.
- Avelino KYPS, Silva R, da Silva Junior AG, Oliveira MDL, Andrade CAS: Smart applications of bionanosensors for BCR/ABL fusion gene detection in leukemia. *Journal of King Saud University – Science* 29:413–423, 2017.
- Ashraf MU, Muhammad G, Hussain MA, Bukhari SNA: *Cydonia oblonga* M., A Medicinal Plant Rich in Phytonutrients for Pharmaceuticals. *Frontiers in Pharmacology* 7:163, 2016.
- Belitz HD, Grosch W, Schieberle P: *Food Chemistry*. Springer, 2009.
- Bravo, L: Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56:317-333, 1998.
- Byczkiewicz S, Sz wajgier D, Kobus-Cisowska J, Szczepaniak O, Szulc P: Comparative examination of bioactive phytochemicals in quince (*Chaenomeles*) fruits and their in vitro antioxidant activity. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 33: 293-302, 2021.
- Cuppage FE: James Cook and the conquest of scurvy. Greenwood Press, Westport, 1994.
- Dai J, Mumper RJ: Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15:7313–7352, 2010.
- Darvishi E, Ehzari H, Shahlaei M, Behbood L, Arkan E: The electrochemical immunosensor for detection of prostatic specific antigen using quince seed mucilage-GNPs-SNPs as a green composite. *Bioelectrochemistry*, 2021.
- Farghaly OA, Abdel Hameed RS, Abu-Nawwas AH: Analytical application using modern electrochemical techniques. *International Journal of Electrochemical Science* 9:3287-3318, 2014.
- Foyer CH: Reactive oxygen species, oxidative signaling and the regulation of photosynthesis. *Botany* 154:134-142, 2018.
- Ghica ME, Brett AMO: Electrochemical Oxidation of Rutin. *Electroanalysis* 17:313-318, 2005.
- Hemilä H: Vitamin C and Infections. *Nutrients* 9, 339, 2017.
- Jakobek L, Boc M, Barron AR: Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Apples. *Food Analytical Methods* 8:2612–2625, 2015.
- Nagles E, García-Beltrán O: Determination of Rutin in Black Tea by Adsorption Voltammetry (AdV) in the Presence of Morin and Quercetin. *Food Analytical Methods* 9:3420–3427, 2016.
- Nigović B, Behetić S: Elektroanalitika u farmaciji. *Farmaceutski glasnik* 63:163-175, 2007.
- Perčić L: Antitumorsko djelovanje odabranih vitamina. *Diplomski rad*. Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb, 2017.



- Piljac I: *Senzori fizikalnih veličina i elektroanalitičke metode*. Media print, Zagreb, 2010.
- Rather GA, Bhat MY, Sana SS, Ali A, Gul MZ, Nanda A, Hassan M: *Quince u Antioxidants in Fruits: Properties and Health Benefits* 397-419, 2020.
- Scalbert A, Manach C, Morand C, Rémésy C, Jiménez L: Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 45:287–306, 2005.
- Silva BM, Andrade PB, Ferreres F, Seabra RM, Oliveira MB and Ferreira MA: Composition of quince (*Cydonia oblonga* Miller) seeds: phenolics, organic acids and free amino acids. *Natural Product Research* 19: 275-281, 2005.
- Sonmez F, Sahin Z: Comparative Study of Total Phenolic Content, Antioxidant Activities, and Polyphenol Oxidase Enzyme Inhibition of Quince Leaf, Peel, and Seed Extracts. *Erwerbs-Obstbau*, 2022.
- Suliborska K, Baranowska M, Bartoszek A, Chrzanowski W, Namieśnik J: Determination of Antioxidant Activity of Vitamin C by Voltammetric Methods. *Proceedings* 11:23, 2019.
- Tsao R: Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients* 2:1231-1246, 2010.
- Wang J: *Analytical electrochemistry (second edition)*. Wiley-VCH, New York, 2000.
- Web 1: <https://cdn.agroklub.com/upload/images/social/dunjaa-toppress.jpg> [24.02.2023]
- Web 2: <https://www.publichealthnotes.com/vitamin-c-sources-function-and-deficiency/> [24.02.2023]