

# Spektrofotometrijska studija sustava škrob-trijodid

---

**Karnaš, Maja**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2012**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:182:220112>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-10**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Preddiplomski studij kemije

Maja Karnaš

***Spektrofotometrijska studija sustava  
škrob-trijodid***

Završni rad

Mentor: prof. dr. sc. Milan Sak-Bosnar

Neposredni voditelj: dr. sc. Nikola Sakač

Osijek, 27. kolovoza 2012.

## SAŽETAK

### Spektrofotometrijska studija sustava škrob-trijodid

Škrob je polisaharid pohranjen u biljkama kao rezervna hrana. Po kemijskom sastavu on je smjesa dvaju polimera D-glukoze, amiloze i amilopektina.

Kada se otopini škroba doda otopina joda u kalijevom jodidu (otopina trijodida  $I_3^-$  ili Lugolova otopina) nastaje intenzivno modro ili, rjeđe, smeđe obojenje. To obojenje posljedica je nastajanja kompleksa škroba i trijodidnog iona. Koncentracija kompleksa, a samim time i koncentracija škroba može se odrediti spektrofotometrijski mjerenjem apsorbancije danog uzorka.

Omjer amiloze i amilopektina varira ovisno o vrsti škroba. Kompleks s trijodidom čine obje komponente škroba, amiloza tvori jaki tamnoplavi, a amilopektin slabi smeđi kompleks. U istraživanju je pokazano kako se apsorpcijski spektri amiloza – trijodid kompleksa mogu uzeti kao parametar za određivanje botaničkog porijekla škroba. Uočene su razlike između različitih vrsta škroba u samom intenzitetu obojenja pri nastanku kompleksa, apsorpcijskom maksimumu te pomaku apsorpcijskog maksimuma u odnosu na reprezentativni uzorak.

KLJUČNE RIJEČI: škrob, amiloza, trijodid, spektrofotometrija, botaničko porijeklo

## **ABSTRACT**

### **Spectrophotometric study of starch-triiodide system**

Starch is a polysaccharide stored in plants as a food reserve. According to its chemical composition it is a mixture of two D-glucose polymers, amylose and amylopectin.

When a solution of iodine in potassium iodide (triiodide solution  $I_3^-$  or Lugol solution) is added to a starch solution, intensive dark blue or, rarely, brown coloration appears. This coloration is a result of yielded starch-triiodide complex. Concentration of this complex and thus the concentration of starch can be determined spectrophotometrically by measuring the absorbance of the given sample.

Volume fraction of amylose and amylopectin varies depending on the starch type. Both starch components yield complex with triiodide, amylose yields strong dark blue and amylopectin weak brown complex. Therefore the absorption spectra of amylose-triiodide complex can be taken as a parameter for determination of botanical origin of starch, as presented in this research. Noted differences between various starch types are in the intensity of coloration due to complex formation, maximum wavelength of absorbance and the shift of maximum wavelength of absorbance when compared to representative sample.

**KEY WORDS:** starch, amylose, triiodide, spectrophotometry, botanical origin

## SADRŽAJ:

<b>SAŽETAK</b>	I
<b>ABSTRACT</b>	II
<b>1. Uvod</b>	1
<b>2. Opći dio</b>	3
2.1. Škrob	4
2.2. Amiloza	6
2.3. Amilopektin	7
2.4. Otopina kalijevog trijodida	7
2.5. Kompleks škrob – trijodid	8
2.6. UV-VIS spektroskopija	10
2.6.1. Spektrofotometar	11
2.6.2. Primjena UV-VIS spektrofotometrije u kvantitativnoj analizi	12
<b>3. Eksperimentalni dio</b>	15
3.1. Korištene kemikalije	16
3.2. Aparatura	17
3.3. Priprema otopina	17
3.4. Postupak	18
<b>4. Rezultati i rasprava</b>	19
4.1. Spektrofotometrijska studija kompleksa škrob – trijodid	20
4.2. Studija kompleksa trijodida s raznim vrstama škroba	21

4.3. Sorte unutar iste vrste škroba	25
<b>5. Zaključak</b>	27
<b>6. Literatura</b>	29

# ***1. UVOD***

---

Škrob je ugljikohidrat sastavljen od velikog broja glukoznih jedinica. Glavna funkcija škroba u biljkama je pričuva glukoze, tj. energije. Ovisno o načinu povezivanja glukoznih jedinica, škrob se sastoji od otprilike 20% amiloze i 80% amilopektina. Udio tih podjedinica različit je za svaku vrstu škroba.<sup>16</sup>

Najpoznatija reakcija za dokazivanje škroba je pomoću otopine trijodida ili Lugolove otopina. Trijodidni ion  $I_3^-$  nastaje otapanjem joda u kalijevom jodidu pri čemu nastaje žuta do narančasto crvena otopina. Ako je u uzorku prisutan škrob stvori se tamno plavo ili smeđe obojenje zbog nastalog kompleksa. Kompleks tvori amiloza u čiju se helikalnu strukturu ugrađuje trijodidni ion, ali ga može tvoriti i amilopektin.

Nastajanje kompleksa škroba i trijodida može se pratiti potenciometrijskim i spektrofotometrijskim mjerenjima. Kompleks je pogodan za spektrofotometrijska mjerenja jer je topljiv u vodi i daje jasnu promjenu boje. Prema Beer-Lambertovom zakonu u spektrofotometriji, apsorbancija uzorka proporcionalna je njegovoj koncentraciji u otopini.<sup>1</sup> Mjerenjem apsorbancije otopine kompleksa škroba i trijodida može se, dakle, lako izračunati koncentracija nastalog kompleksa. Istraživanje se zasniva na činjenici da pojedine vrste škrobova sadrže različit postotak amiloze i amilopektina (ovisno o botaničkom porijeklu) te da oni mogu imati različite stupnjeve polimerizacije. U skladu s time nastajati će i različite koncentracije stabilnijeg kompleksa amiloze i trijodidnog iona što će biti vidljivo u njihovim apsorpcijskim spektrima.

Cilj ovog istraživanja je spektrofotometrijski ispitati otopine kompleksa trijodida s amilozom iz različitih vrsta škrobova te pokazati da među njima postoje određene razlike koje se mogu iskoristiti pri određivanju botaničkog porijekla škroba.

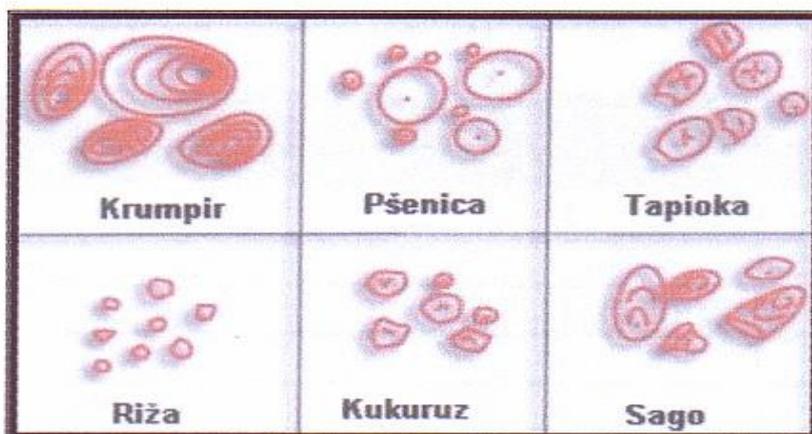
## ***2. OPĆI DIO***

---

## 2.1. ŠKROB

Škrob je ugljikohidrat opće formule  $(C_5H_{10}O_5)_n$ , biopolimer izgrađen od velikog broja molekula  $\alpha$ -D-glukoze koje su međusobno povezane  $\alpha$ -glikozidnim vezama. Proizvode ga sve zelene biljke u kojima služi kao skladište energije (glukoze), a pohranjen je u plastidima, najčešće kloroplastima i amiloplastima.<sup>9</sup> Kao i celuloza, produkt je asimilacije u biljkama te se nagomilava u korijenu, gomoljima, sjemenkama i stabljici. Analog škroba u životinjskom svijetu je glikogen. Škrob je količinski najzastupljeniji ugljikohidrat u prehrani čovjeka i domaćih životinja. Najviše ga se može naći u krumpiru, pšenici, kukuruzu, riži i nekim vrstama žitarica. Škrob nalazi brojne primjene u prehrambenoj industriji, a koristi se i u proizvodnji papira i ljepila, te u tekstilnoj industriji.

Čisti škrob je bijeli ili blijedožuti prahu obliku sitnih zrnaca, bez okusa i mirisa na brašno. Netopljiv je u hladnoj vodi, alkoholu i eteru, dok se u vrućoj vodi otapa do određene granice kada dolazi do nastajanja guste koloidne otopine koja hlađenjem prelazi u čvrsti gel. Molekule škroba imaju mnogo hidroksilnih skupina pa se mogu međusobno povezivati vodikovim mostovima, pri čemu nastaje škrobno zrno.<sup>11</sup> Veličina škrobnih zrnaca varira ovisno o matičnoj biljci, škrobna zrnca riže su veličine svega 2  $\mu$ m, dok su krumpirova znatno veća, oko 100  $\mu$ m. Varira i oblik zrnaca pa tako postoje okrugla, ovalna i poligonalna zrnca (Slika 1.).



Slika 1. Oblik škrobnih zrnaca kod različitih biljaka<sup>15</sup>

Škrob je zbog svog sastava podložan hidrolizi. Kod hidrolize škroba kidaju se veze između pojedinih glukozičnih jedinica uz primanje vode. Može se provesti uz pomoć

anorganskih kiselina ili enzimima. Najpoznatiji enzimi koji sudjeluju u razgradnji škroba su amilaze. Ako je hidroliza djelomična nastati će mnoštvo produkata u obliku monosaharida, disaharida i oligosaharida kao što su glukoza, maltoza, maltotrioza i dekstrini. Potpunom hidrolizom škroba dobiva se samo glukoza.<sup>4</sup>

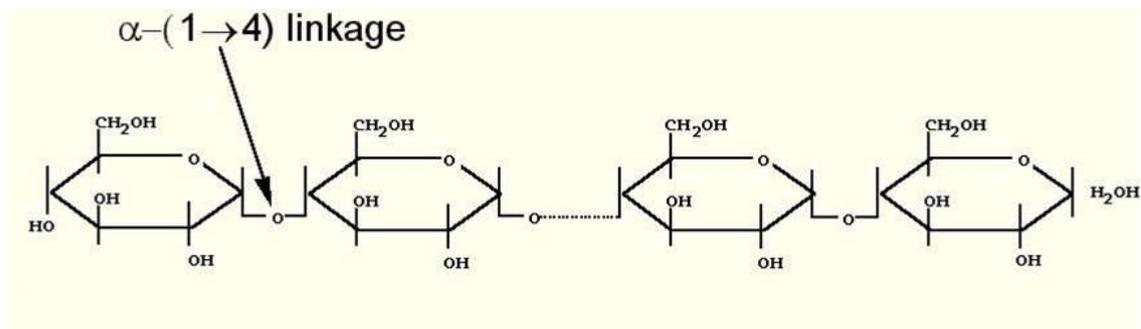
Raznim istraživanjima pokazalo se da škrob nije jedinstvena molekula. Ovisno o načinu povezivanja glukoznih jedinica, škrob se dijeli na dvije osnovne sastavnice, amilozu i amilopektin. Njihov omjer ovisi o porijeklu škroba (Tablica 1). Amiloza izgrađuje unutarnji dio škrobnog zrnca, dok amilopektin gradi vanjski dio što dovodi do nejednolike građe samog škrobnog zrnca. Unutarnji amilozni dio ima amorfnu, a vanjski amilopektinski dio kristaličnu građu. Osim amiloze i amilopektina škrob može sadržavati i lipide, fosfatne monoestere te različite minerale i proteine koji mogu značajno utjecati na njegova svojstva.<sup>4,8</sup>

*Tablica 1. Prosječni udio amiloze i amilopektina u različitim vrstama škrobnih zrnaca<sup>5,6</sup>*

VRSTA ŠKROBA	POSTOTAK AMILOZE	POSTOTAK AMILOPEKTINA
Kukuruzni	28	72
Krumpirov	21	79
Pšenični	28	72
Tapiokin	17	83
Voštani kukuruzni	0	100
Rižin	17	83
Ječmeni	28	72
Raženi	25	75

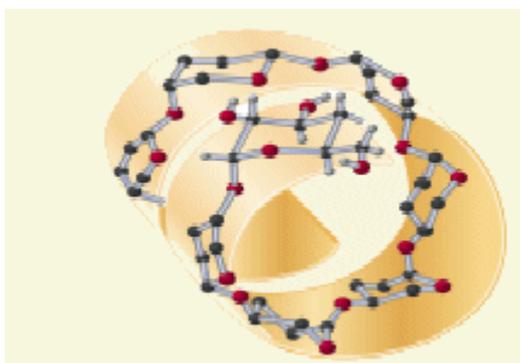
## 2.2. AMILOZA

Amiloza je nerazgranata komponenta škroba u kojoj su molekule  $\alpha$ -D-glukoze povezane  $\alpha$ -1,4-glikozidnom vezom (Slika 2.).



Slika 2. Struktura amiloze

Stupanj polimerizacije amiloze kreće se od 500 do 1500, ovisno o porijeklu. Međusobno povezane glukozne jedinice ne grade izduženu formaciju, već spiralno uvijeni lanac u obliku nepravilne lijeve uzvojnice (Slika 3.). U takvoj strukturi hidrofobni dio amiloze smješten je u unutrašnjost dok je hidrofilni dio okrenut prema van što omogućuje njenu topljivost u vodi. Hidrolizom amiloze dobije se D (+) – maltoza kao jedini disaharid i D (+) – glukoza kao jedini monosaharid.<sup>16</sup>

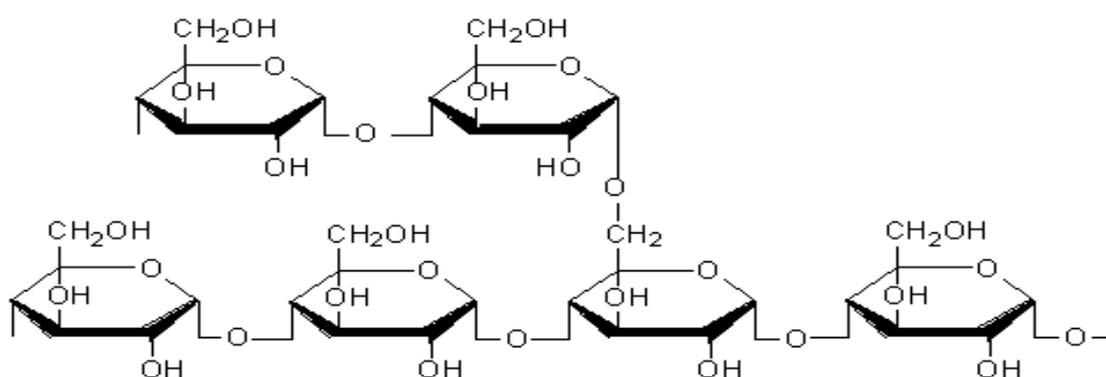


Slika 3. Prostorni prikaz uzvojnice amiloze<sup>10</sup>

Amiloza može imati i bočne lance čiji broj i stupanj polimerizacije raste s molekulskom masom amiloze. Otprilike četvrtina mase škrobnog zrnca otpada na amilozu iako molekula amiloze ima i do sto puta više od molekula amilopektina.

## 2.3. AMILOPEKTIN

Amilopektin je razgranata komponenta škroba. U njemu su molekule  $\alpha$ -D-glukoze povezane  $\alpha$ -1,4-glikozidnom vezom u lance, ali i  $\alpha$ -1,6-glikozidnom vezom na mjestima grananja (Slika 4.). Mjesta grananja nisu nasumična nego ih određuju posebni enzimi i ona se ponavljaju svakih 24 do 30 glukoznih jedinica. Na tim mjestima stvaraju se bočni ogranci kojih može biti i do 100 po jednoj molekuli, a svaki se sastoji od 20 do 25 glukoznih jedinica. Broj glukoznih jedinica po grani ovisi o vrsti, zrelosti i lokaciji škroba. U molekuli amilopektina tako može biti vezano do milijun jedinica glukoze, što ga čini jednom od najvećih molekula u prirodi.



Slika 4. Struktura amilopektina

## 2.4. OTOPINA KALIJEVOG TRIJODIDA

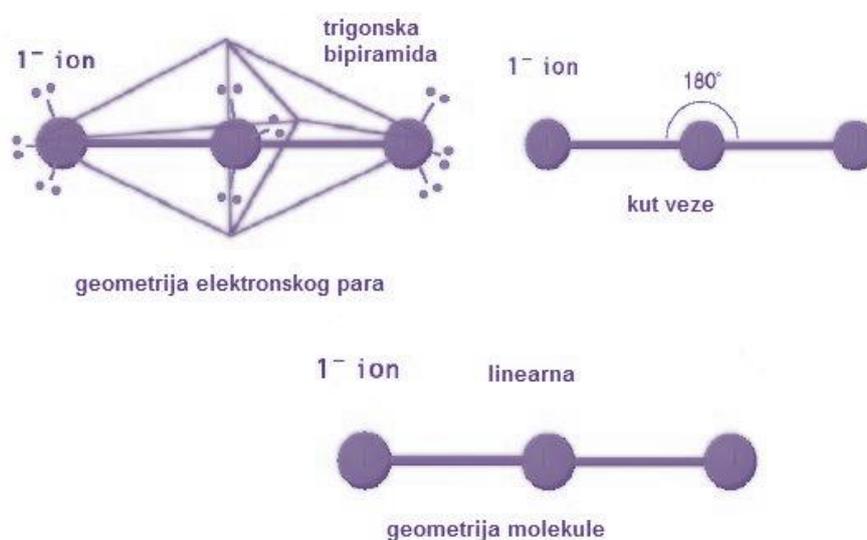
Jod je element 17. skupine periodnog sustava elemenata. Ime mu dolazi od grčke riječi *ioeides* za ljubičastu boju zbog karakteristične boje njegovih para. Pri sobnoj temperaturi je u čvrstom stanju, sjajne ljubičasto sive boje i karakterističnog mirisa. Zagrijavanjem lako sublimira zbog slabih intermolekulskih veza. Kao i ostali elementi te skupine, jod je iznimno reaktivan i u prirodi ga se najčešće nalazi u obliku soli jodida i jodata.<sup>3</sup>

Jod je u vodi slabo topljiv, a nastala otopina ima žutosmeđu boju zbog sposobnosti molekula vode da polariziraju jod pri čemu nastaje kompleks joda i vode. Njegova topljivost u vodi povećava se ako su u otopini prisutni i jodidni ioni. U takvoj otopini

stvaraju se trijodidni ioni  $I_3^-$ , što se vidi po promjeni boje iz žutosmeđe u crvenu. Otopina trijodida još se naziva i Lugolova otopina ili, jednostavnije, samo otopina joda. Nastajanje kompleksnog trijodidnog iona može se prikazati jednažbom (1):



Trijodidni ion ima linearnu strukturu zbog  $sp^3d$  hibridizacije centralnog atoma joda. On je okružen s tri nepodijeljena elektronska para u ekvatorijalnoj ravnini, tako da se preostala dva atoma joda smještaju na aksijalne položaje jer se time smanjuju steričke smetnje (Slika 5.).<sup>14</sup>

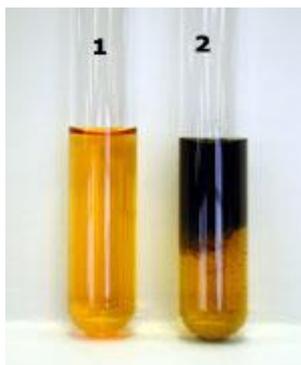


Slika 5. Struktura trijodidnog iona

Boja joda može se opaziti u otopini koja ga sadrži oko  $5 \times 10^{-6}$  moldm<sup>-3</sup>, što bi odgovaralo jednoj kapi joda na 100 mL otopine. Zbog tog svojstva često se koristi kao indikator, ili sam, ili u kombinaciji sa škrobom.

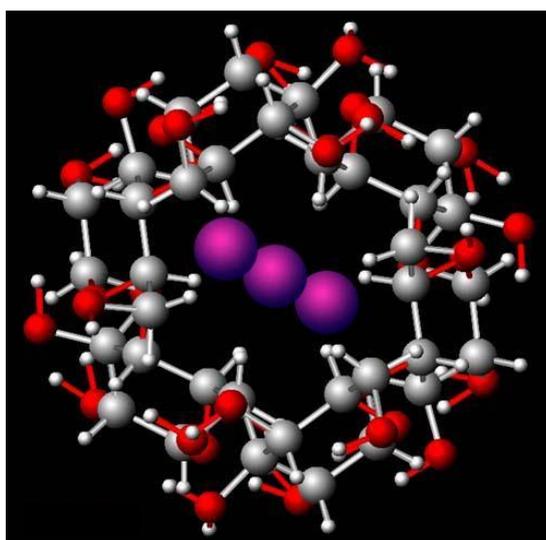
## 2.5. KOMPLEKS ŠKROB – TRIJODID

Reakciju između joda i škroba otkrili su još 1841. godine Colin i Claubry. Mnogi su se istraživači bavili reakcijom trijodida sa škrobom, pri čemu nastaje škrob-trijodidni kompleks. Sam škrob se sastoji od razgranatog amilopektina i nerazgranate, linearne amiloze. Samo amiloza stvara plavi kompleks sa jodom, pa je stoga taj kompleks najtočnije nazvati amiloza-jod kompleks (Slika 6.).



*Slika 6. Plavo obojenje nastalo dodavanjem otopine škroba u otopinu trijodida*

Analiza amiloze X-zrakama pokazuje da su lanci škroba u obliku heliksa spiralno spleteni, tako da unutar njih ima dovoljno mjesta da se smjesti molekula trijodida, pri čemu nastaje kompleks amiloza-trijodid odgovoran za plavu boju kompleksa (boja ovisi o vrsti i prirodi škroba) (Slika 7.).



*Slika 7. Struktura kompleksa amiloza – trijodid<sup>13</sup>*

Amilopektin s jodom stvara crveno obojenje, ali ta reakcija nije dovoljno reverzibilna, te je stoga nepoželjna. Topljivi škrob koji se upotrebljava kao indikator sadrži uglavnom amilozu iz koje je odstranjen amilopektin.<sup>7</sup>

Dokazano je da boja kompleksa ovisi o duljini nerazgranatog polisaharida. Smjesa dvaju različitih polisaharida pokazuje da svaka dodana komponenta dodatno doprinosi jačem efektu konačne boje. Rezultati su također ukazivali na to da lanci dugački od 4-6

glukoernih jedinica ne stvaraju komplekse s trijodidom. Lanci dugački od 8-12 jedinica daju crvenkasto obojenje, a oni od 30-35 jedinica plavo.

Škrob koji s trijodidnim ionom stvara plavi kompleks specifičan je indikator za redoks reakcije u kojima je jod oksidans ili reducens. No, pokazalo se da otopina škroba koja sadrži malu količinu trijodidnog ili jodidnog iona može djelovati i kao pravi redoks indikator. U prisutnosti suviška oksidirajućeg reagensa koncentracijski omjer joda i jodida je visok, što otopini daje plavu boju. U suvišku reducirajućeg reagensa prevladava jodidni ion, te nema plave boje. Zbog toga indikatorski sustav mijenja boju tijekom titracije mnogih reducirajućih reagenasa s različitim oksidirajućim reagensima od bezbojnog u tamno plavo. Promjena boje prilično je neovisna o kemijskom sastavu reaktanata, a ovisi samo o potencijalu sustava u točki ekvivalencije.

Kompleks škrob-trijodid spada se u komplekse s prijenosom naboja što je osobito važno za kvantitativne svrhe, jer dovodi do vrlo visokih vrijednosti molarnih apsorbivnosti ( $\epsilon_{\max} > 10000$ ). To omogućuje veliku osjetljivost pri određivanju ovog kompleksa spektrofotometrijskim metodama.

## 2.6. UV-VIS SPEKTROSKOPIJA

Spektroskopija je znanost koja proučava interakciju elektromagnetskog zračenja i tvari. Najčešće se dijeli prema spektralnom području, a to često ovisi o grani znanosti koja koristi dotičnu spektroskopiju.

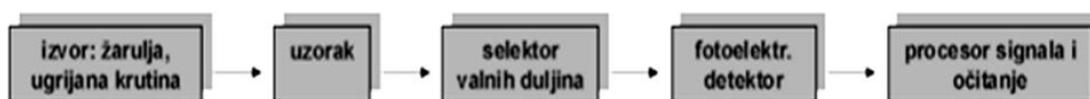
UV-VIS spektroskopija obuhvaća područje valnih duljina od 190 do 900 nm. Zračenje tih valnih duljina ima dovoljnu energiju za prijenos elektrona iz osnovnog stanja u pobuđeno, pri čemu se elektroni premještaju u višu orbitalu, a zračenje se apsorbira.

Apsorpcija ovisi o elektronskoj strukturi molekule. Pritom su za elektronsku apsorpciju najčešće odgovorne organske molekule s nezasićenim grupama zbog slabo vezanih elektrona u nezasićenim vezama. Takve skupine se nazivaju kromofori i apsorbiraju pri karakterističnim frekvencijama.<sup>2</sup>

Otapala koja se koriste za UV-VIS spektroskopiju su: etanol, heksan, H<sub>2</sub>O, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (ne apsorbiraju u UV-VIS području).

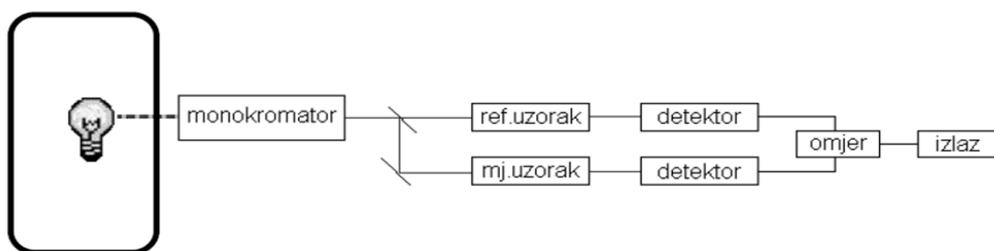
## 2.6.1. SPEKTROFOTOMETAR

Spektrofotometar se najčešće sastoji od pet osnovnih dijelova: stabilnog izvora zračenja, selektora valnih duljina koji omogućuje izdvajanje određenog valnog područja, jednog ili više spremnika za uzorke, detektora zračenja ili pretvornika energije u mjerljiv signal (najčešće električni) te procesora signala i uređaja za njegovo očitavanje (Slika 8.). Elektromagnetsko zračenje se iz izvora usmjerava na uzorak, koji može apsorbirati, raspršiti, ili reflektirati svjetlo. Ukoliko uzorak emitira zračenje, izvor zračenja je sam uzorak. Zračenje sa uzorka se vodi prema monokromatoru, koji propušta samo jednu valnu duljinu prema detektoru. Detektor primljeno zračenje pretvara u signal, koji se može zapisati kao spektar.



Slika 8. Shema spektrofotometra

Spektrofotometri mogu imati jedan ili dva snopa svjetlosti. Kod instrumenata s jednim snopom intenzitet propuštenog zračenja kroz analizirani uzorak se mjeri nakon što se slijepa proba izvadi iz držača. Kod instrumenata s dva snopa upadni snop se dijeli na dva prije prolaska kroz uzorak. Jedan služi kao referentni snop, a drugi prolazi kroz uzorak (Slika 9.).



Slika 9. Shema spektrofotometra s dva snopa svjetlosti

Kao vanjski izvor konstantnog zračenja koristi se volframova žarulja za vidljivo svjetlo i deuterijska (ili vodikova) lampa za UV svjetlo. Većina uređaja ima fotomultiplikatore kao detektore i rešetke za disperziju zračenja. Uzorak je smješten u prozirnoj posudi (kiveti) koja ja najčešće širine 1 cm i načinjena je od kvarca. Najčešće se mjere tekući uzorci (kao vodene otopine), iako se mogu mjeriti i kruti te plinoviti uzorci.

## 2.6.2. PRIMJENA UV-VIS SPEKTROFOTOMETRIJE U KVANTITATIVNOJ ANALIZI

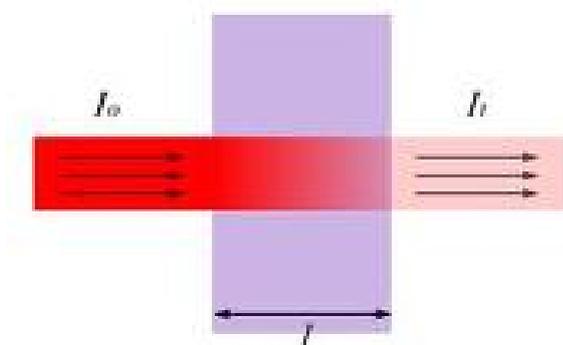
Apsorpcijska spektroskopija temeljena na ultraljubičastom i vidljivu zračenju jedna je od najčešće korištenih metoda u kvantitativnoj analitičkoj kemiji. Odlikuju ju široka primjenjivost, velika osjetljivost i selektivnost, jednostavnost i prihvatljiva točnost.

Velik broj anorganskih, organskih i biokemijskih vrsta apsorbira ili ultraljubičasto ili vidljivo zračenje, te su one prikladne za izravno kvantitativno određivanje. Mnoge vrste koje ne apsorbiraju određuju se nakon kemijske reakcije kojom se prevode u derivate koji apsorbiraju.<sup>1</sup>

Tipične detekcijske granice za apsorpcijsku spektroskopiju su u području od  $10^{-4}$  do  $10^{-5}$  M, iako se to područje različitim postupcima i modifikacijama često može proširiti do  $10^{-6}$ , pa čak i  $10^{-7}$  M. Relativna pogreška određivanja koncentracije obično iznosi između 1 i 5 %, a posebnim postupcima se može smanjiti na nekoliko desetinki postotaka.

UV-VIS spektroskopija je selektivna pa se često može pronaći valna duljina pri kojoj samo uzorak apsorbira, te je stoga nepotrebno obaviti prethodna odjeljivanja. Prilikom pojave preklapanja vrpca pomoću korekcija u dodatnim mjerenjima pri drugim valnim duljinama također se isključuje odjeljivanje.

Kod UV-VIS spektroskopije eksperimentalna mjerenja izvode se pomoću transmitancije  $T$  koja je definirana kao mjera količine neapsorbiranog zračenja (Slika 10.).<sup>12</sup>



Slika 10. Prigušenje snopa zračenja kao rezultat apsorpcije u otopini.

Spektrofotometar mjeri intenzitet propuštenog zračenja kroz analizirani uzorak ( $P$ ) te ga uspoređuje s intenzitetom ulaznog zračenja ( $P_0$ ), jednadžba (2):

$$T = P / P_0 \quad (2).$$

Apsorbancija je mjera količine apsorbiranog zračenja i nasuprot transmitanciji raste kako se prigušenje zrake povećava. Definiira se jednadžbom

$$A = -\log T = \log P / P_0 \quad (3)$$

Odnos intenziteta svjetlosti prije i poslije prolaza kroz uzorak definiira se Lambert-Beerovim zakonom apsorpcije elektromagnetskog zračenja, što pokazuje jednadžba (4):

$$\log P_0 / P = A = \alpha_\lambda \times b \times c \quad (4),$$

gdje je:  $A$  apsorbcija,  $b$  duljina puta zračenja kroz uzorak u cm (debljina sloja uzorka),  $c$  analitička koncentracija,  $\alpha_\lambda$  apsorbivnost, specifična za svaku tvar.<sup>1</sup>

Lambert-Beerov zakon pokazuje da je količina apsorbiranog zračenja proporcionalna koncentraciji analiziranog uzorka. Kada se koncentracija izražava u molovima po litri, a  $b$  u centimetrima, apsorbivnost se naziva molarnim apsorpcijskim koeficijentom ili ekstincijskim koeficijentom i označava simbolom  $\epsilon$ , pri čemu se  $\epsilon$  izražava u jedinici  $\text{Lcm}^{-1}\text{mol}^{-1}$ , jednadžba (5):

$$A = \epsilon_\lambda \times b \times c \quad (5).$$

Lambert-Beerov zakon je granični zakon jer uspješno opisuje ponašanje samo razrijeđenih otopina. Pri visokim koncentracijama (višim od 0.0100 M) smanjuju se prosječne udaljenosti među česticama vrsta koje apsorbiraju, pri čemu svaka čestica utječe na raspodjelu naboja susjedna čestice. Sličan učinak pojavljuje se u otopinama s visokom koncentracijom elektrolita. Odstupanja se pojavljuju i kao posljedica asocijacije, disocijacije ili reagiranja analita s otapalom, pri čemu nastaju produkti s apsorpcijskim značajkama različitim od analita. Također, ovaj zakon vrijedi samo kod primjene monokromatičnog izvora zračenja.

Mjerenja apsorbcije uglavnom se izvode pri valnoj duljini koja odgovara nekom apsorpcijskom maksimumu, jer je u toj točki promjena apsorbcije po jedinici koncentracije najveća. Apsorpcijska krivulja je relativno ravna u maksimumu, što

omogućuje dobru linearnost i manju mogućnost pogreške ako se ne postigne točna valna duljina na instrumentu.

Apsorpcijski spektri u UV-VIS području mogu se upotrijebiti i za utvrđivanje prisutnosti nekih skupina u spoju, u nekim slučajevima može se ustanoviti identitet spoja kao cjeline. No, pomoću UV-VIS spektara ne možemo dobiti mnogo podataka o strukturi analiziranih molekula, stoga se mnogo rjeđe koriste za kvalitativnu analizu.<sup>2</sup>

### ***3. EKSPERIMENTALNI DIO***

---

### 3.1. KORIŠTENE KEMIKALIJE

Prilikom izvođenja spektrofotometrijskih mjerenja korištene su slijedeće kemikalije:

- kalijev jodid, p.a. (Sigma –Aldrich)
- jod, p.a. (Kemika)
- natrijev acetat trihidrat, p.a. (Kemika)
- octena kiselina (Panreac)
- topljivi škrob, p.a. (Kemika)
- krumpirov škrob (Sigma)
- tapiokin škrob, 86,40% s.tv. (nativni)
- krumpirov škrob, 85,47% s.tv.
- kukuruzni škrob, 87,13% s.tv.
- ječmeni škrob, sorta *Barun*
- pšenični škrob, 87,60% s.tv.
- voštani kukuruzni škrob
- škrob raži, sorta *Eho Kurz* 85,50% s.tv.
- škrob raži, sorta *Conduct* 83,69% s.tv.
- škrob raži, sorta *Danovski* 84,97% s.tv.
- škrob raži, sorta *Octavia* 86,63% s.tv.
- pšenični škrob, sorta *Srpanjka* 83,66% s.tv
- pšenični škrob, sorta *Golubica* 81,54% s.tv.
- ječmeni škrob, sorta *Vanessa* 82,91% s.tv.
- rižin škrob
- deionizirana voda

## 3.2. APARATURA

Za snimanje spektara kompleksa u UV-VIS području korišten je AVANTES (AvaSpec-2048-2, Nizozemska) spektrofotometar u području od 190 do 1000 nm. Svi spektri snimljeni su uz upotrebu staklenih kiveta širine 1 cm. Program AVASoft software (Avantes) korišten je za prikupljanje i obradu dobivenih podataka.

Kivete su nakon svakog mjerenja ispirane deioniziranom vodom, a stranice kiveta su prije mjerenja prebrisane suhim papirom kako bi se otklonili otisci prstiju i masnoća koji bi ometali mjerenja.

## 3.3. PRIPREMA OTOPINA

### Priprema acetatnog pufera pH=6

U odmjernu tikvicu od 1 L doda se 13,608 g natrijevog acetata trihidrata i 3,90mL otopine octene kiseline  $c=1$  M te se nadopuni deioniziranom vodom do oznake. Tako pripremljena otopina koristi se za pripremanje otopina škroba.

### Priprema otopine trijodida ( $KI$ $3 \times 10^{-2}$ M, $I_2$ $3 \times 10^{-3}$ M)

Za pripremu 500 mL otopine potrebno je izvagati 2,49003 g kalijevog jodida i 0,38071 g joda (jod je potrebno brzo vagati zbog sublimacije). Kristali joda pomiješaju se s kalijevim jodidom i prebace u odmjernu tikvicu od 500 mL. Lađica se ispere s deioniziranom vodom te se doda još malo deionizirane vode. Odmjerna tikvica se dopuni vodom do oznake tek kada je sav jod otopljen, što se postiže snažnim miješanjem sadržaja u tikvici. Pripremljena otopina čuva se na hladnom i tamnom mjestu jer nije osobito stabilna zbog joda. Također ju ne treba ni dugo držati otvorenu jer će jod polako ishlapiti na zraku.

### Priprema otopine škroba 2 g/L

Za pripremu 100 mL otopine potrebno je izvagati 0,200 g škroba. Izvagani škrob prebaci se u odmjernu tikvicu od 100 mL i dopuni do oznake acetatnim puferom. Otopina se zagrijava uz stalno miješanje dok se sav škrob ne otopi. Otopina se zatim ohladi na sobnu temperaturu. Otopinu škroba treba uvijek pripravljati svježu jer se razgrađuje kroz nekoliko dana što utječe na njenu koncentraciju i svojstva.

### 3.4. POSTUPAK

Za spektrofotometrijska mjerenja priređeno je po pet serija otopina kompleksa škroba i trijodida različitih prema Tablici 2 u odmjernim tikvicama od 50 mL. Nakon dodavanja otopina škroba i trijodida tikvice su dopunjene deioniziranom vodom do oznake i promućkane.

*Tablica 2. Shema za priređivanje otopina škroba i trijodida*

Oznaka tikvice	0	1	2	3	4	5
Alikvoti otopine škroba	0,00 mL	0,25 mL	0,50 mL	0,75 mL	1,00 mL	1,25 mL
Alikvoti otopine trijodida	2,50 mL	2,50 mL	2,50 mL	2,50 mL	2,50 mL	2,50 mL

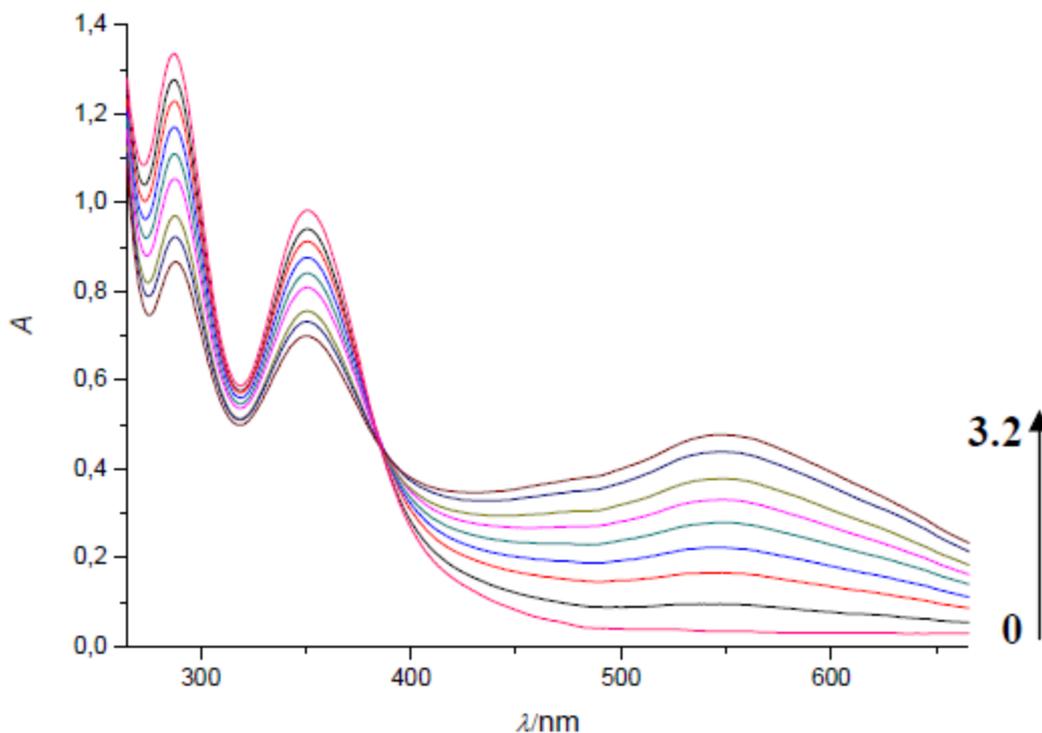
Na AVANTES (AvaSpec-2048-2) spektrofotometru snimljeni su apsorpcijski spektri priređenih otopina prema porastu količine škroba.

## ***4. REZULTATI I RASPRAVA***

---

## 4.1. SPEKTROFOTOMETRIJSKA STUDIJA KOMPLEKSA ŠKROB-TRIJODID

Dodatkom škroba u otopinu kalijeva trijodida nastaje kompleks karakterističnog obojenja koji ima sposobnost apsorpcije zračenja. Apsorpcijski spektri nastalog kompleksa za različite koncentracije škroba prikazani su na Slici 11.

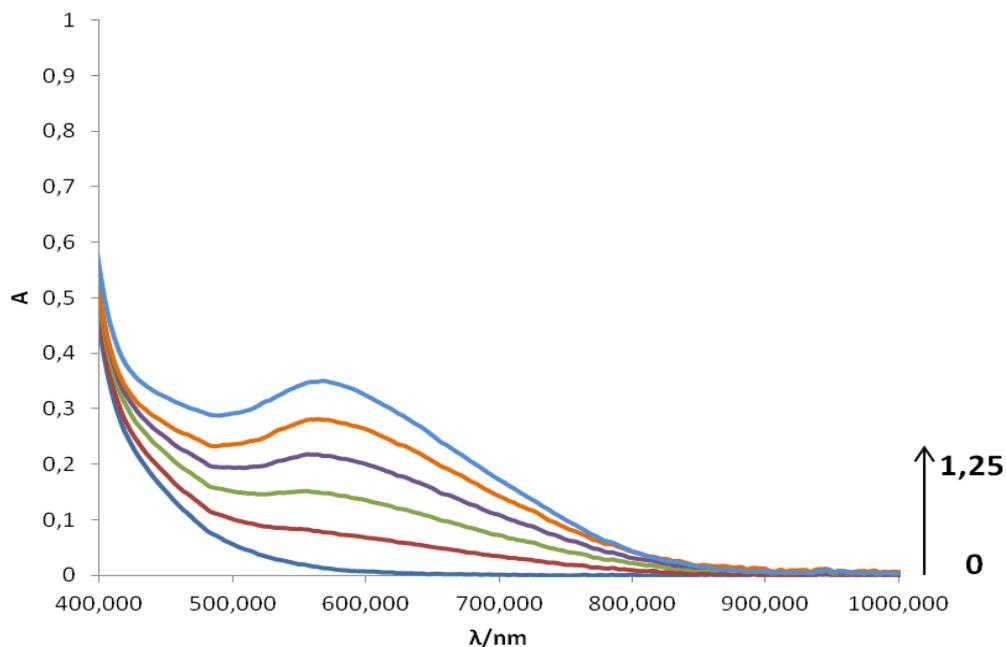


Slika 11. Spektar kompleksa škrob – trijodid za različite koncentracije škroba (brojevi u legendi označuju koncentracije škroba u mg/25 mL)

Na spektru su vidljiva tri apsorpcijska maksimuma, prva dva pri 288nm i 351nm su karakteristična za trijodid, dok se treći nalazi na 550nm i karakteristika je nastalog škrob-trijodid kompleksa. Posljednji maksimum se najčešće koristi za određivanje koncentracije škroba u otopini prema Lambert-Beerovom zakonu, iako se na isti način mogu koristiti i prva dva. Povećanjem koncentracije škroba raste apsorpcija na 550 nm kao posljedica nastajanja kompleksa škrob-trijodid. Istovremeno se smanjuje ona na 288 i 351 nm kao rezultat smanjivanja koncentracije trijodida koji se vezuje na škrob. Smanjenje koncentracije trijodida može se mjeriti na 288 i 351 nm, dok se nastajanje kompleksa škrob-trijodid može pratiti na 550 nm.

## 4.2. STUDIJA KOMPLEKSA TRIJODIDA S RAZNIM VRSTAMA ŠKROBA

U svrhu provjere hipoteze ovog istraživanja snimani su apsorpcijski spektri različitih vrsta škroba, kao što su kukuruzni, pšenični, krumpirov, tapiokin, raženi, ječmeni i rižin. Kao reprezentativni uzorak uzete su otopine kompleksa priređene s topljivim, pročišćenim škrobom iz Kemike (Slika 12.).



Slika 12. Apсорpcijski spektri reprezentativnog uzorka 2 g/L jedne serije mjerenja (brojevi u legendi označuju koncentracije škroba u mL/50 mL)

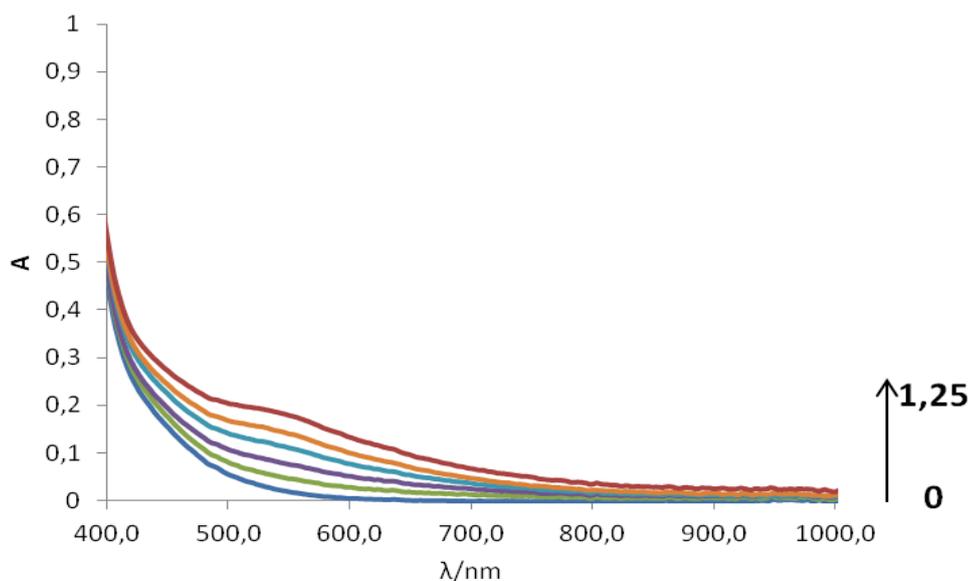
Apsorpcijski maksimum za nastali kompleks nalazi se na 564nm, s vrijednošću apsorpcije oko 0,35. Boje otopina mijenjale su se, sukladno s povećanjem koncentracije škroba, od svjetle plavo-zelene do tamnoplave boje. Podaci o apsorpcijama za svako mjerenje prikazani su u Tablici 3.

Tablica 3. Rezultati svih serija spektrofotometrijskog mjerenja kompleksa trijodida s reprezentativnim škrobom

V(škrob, 2%)/mL	A (564nm)				
	s1*	s2*	s3*	s4*	s5*
0,0mL	0,014	0,015	0,017	0,017	0,015
0,25mL	0,078	0,081	0,079	0,081	0,079
0,50mL	0,142	0,15	0,145	0,143	0,148
0,75mL	0,222	0,218	0,213	0,213	0,22
1,0mL	0,294	0,282	0,279	0,278	0,279
1,25mL	0,361	0,353	0,35	0,348	0,351

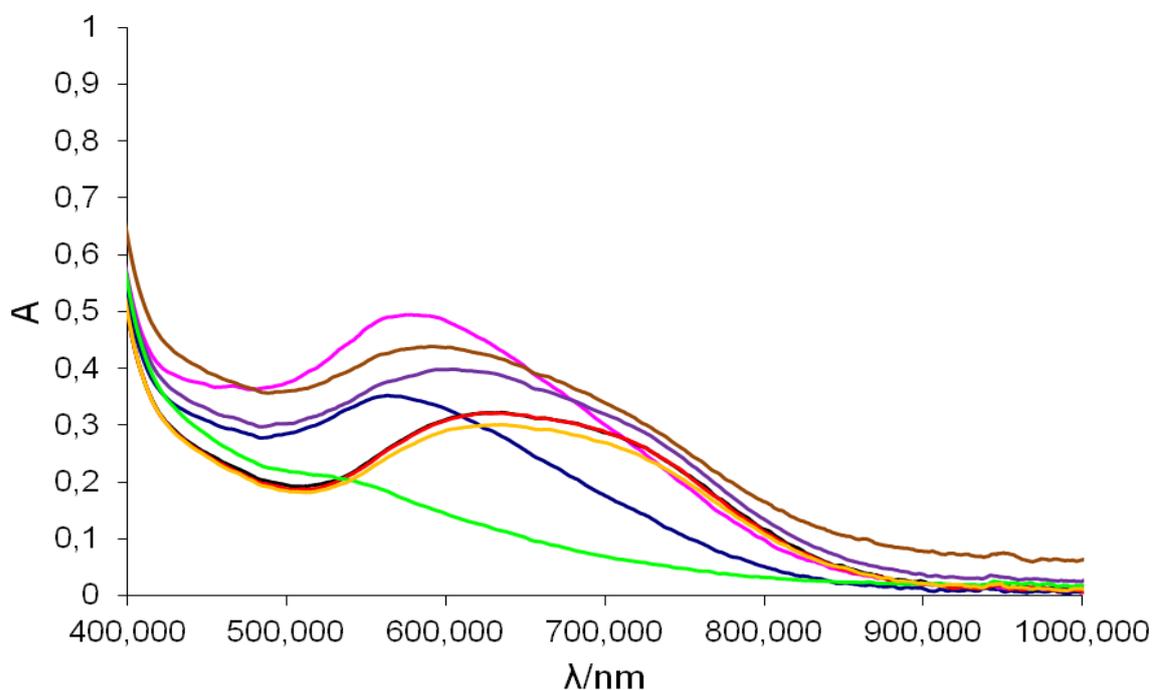
\*oznake serija mjerenja

Snimljeni su i spektri ostalih vrsta škrobova. Krumpirov škrob (Sigma) pokazao je najizraženiji apsorpcijski maksimum s vrijednošću apsorpcije blizu 0,5 za najvišu koncentraciju škroba. Voštani kukuruzni škrob ima najniži apsorpcijski maksimum, ali i apsorpciju budući da je amilozu u kompleksu s trijodidom većim dijelom zamijenio amilopektin, što se vidjelo i po crvenosmeđoj boji kompleksa. Apсорpcijski spektri jedne serije voštanog kukuruznog škroba prikazani su na Slici 13.



Slika 13. Apсорpcijski spektri jedne serije mjerenja za voštani kukuruzni škrob 2 g/L (brojevi u legendi označuju koncentracije škroba u mL/50 mL)

Apsorpcijski spektri za predstavnike svih vrsta škrobova za najvišu koncentraciju škroba prikazani su na Slici 14.



*Slika 14. Apsorpcijski spektri za komplekse trijodida sa svim vrstama škroba za najvišu koncentraciju škroba [boje: kemika-plava, ječam-crna, pšenica-žuta, krumpir-ružičasta, raž-crvena, riža-smeđa, tapioka-ljubičasta, kukuruz-zelena]*

Nakon snimanja spektara određeni su parametri prema kojima će se gledati sličnosti i razlike drugih vrsta škrobova u odnosu na reprezentativni škrob. To su valna duljina apsorpcijskog maksimuma, apsorbanacija kompleksa pri toj valnoj duljini te pomak valne duljine apsorpcijskog maksimuma u odnosu na reprezentativni škrob. Vrijednosti tih parametara za sve obrađene škrobove dane su u Tablici 4.

Tablica 4. Usporedba rezultata dobivenim spektrofotometrijskim mjerenjem svih korištenih škrobova s reprezentativnim škrobom

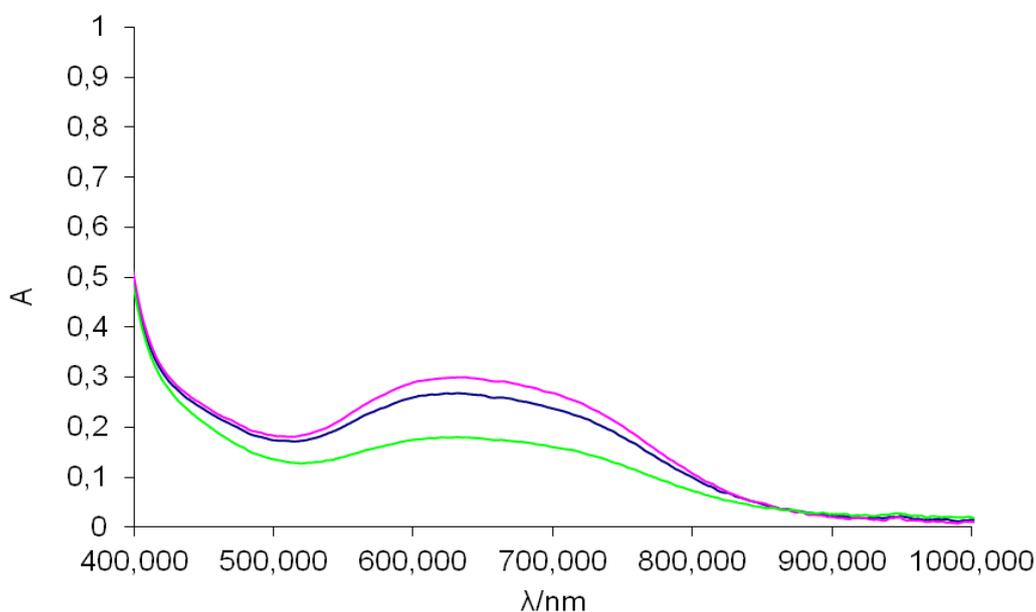
Vrsta škroba	$\lambda_{\max}/\text{nm}$	$A(\lambda_{\max})$ za $V(\text{škrob})=1,25 \text{ mL}$	$\Delta \lambda_{\max}/\text{nm}$
<b>Kemika (reprezentativni uzorak)</b>	564	0,337	0
<b>Ječam (sorta <i>Barun</i>)</b>	632	0,326	68
<b>Ječam (sorta <i>Vanessa</i>)</b>	623	0,246	59
<b>Krumpir (pročišćeni, Sigma)</b>	571	0,474	7
<b>Krumpir</b>	626	0,189	62
<b>Kukuruz</b>	620	0,199	56
<b>Kukuruz (pročišćeni)</b>	610	0,321	46
<b>Kukuruz (voštani škrob)</b>	520	0,155	44
<b>Tapioka</b>	600	0,398	36
<b>Raž (sorta <i>Eho Kurz</i>)</b>	630	0,310	66
<b>Raž (sorta <i>Conduct</i>)</b>	623	0,255	59
<b>Raž (sorta <i>Danovski</i>)</b>	635	0,318	71
<b>Raž (sorta <i>Octavia</i>)</b>	625	0,163	61
<b>Pšenica</b>	632	0,270	68
<b>Pšenica (sorta <i>Srpanjka</i>)</b>	630	0,197	66
<b>Pšenica (sorta <i>Golubica</i>)</b>	633	0,312	69
<b>Riža</b>	590	0,422	26

Dobiveni podaci pokazuju određene razlike, ali i sličnosti među vrstama škroba. Škrobovi pšenice, ječma, krumpira i raži imaju apsorpcijske maksimume na istom području od 623 do 635 nm, što odgovara podacima iz Tablice 1. prema kojoj imaju i sličan udio amiloze u škrobu te i sličan stupanj polimerizacije škroba. Također, intenzitet obojenja je za navedene vrste bio sličan, između maslinasto zelene za najnižu i tamnoplave za najvišu koncentraciju škroba. Tapioka i riža imaju nešto manje apsorpcijske

maksimume, ali i više vrijednosti apsorbancije te su stoga imali i najjače intenzitete obojenja.

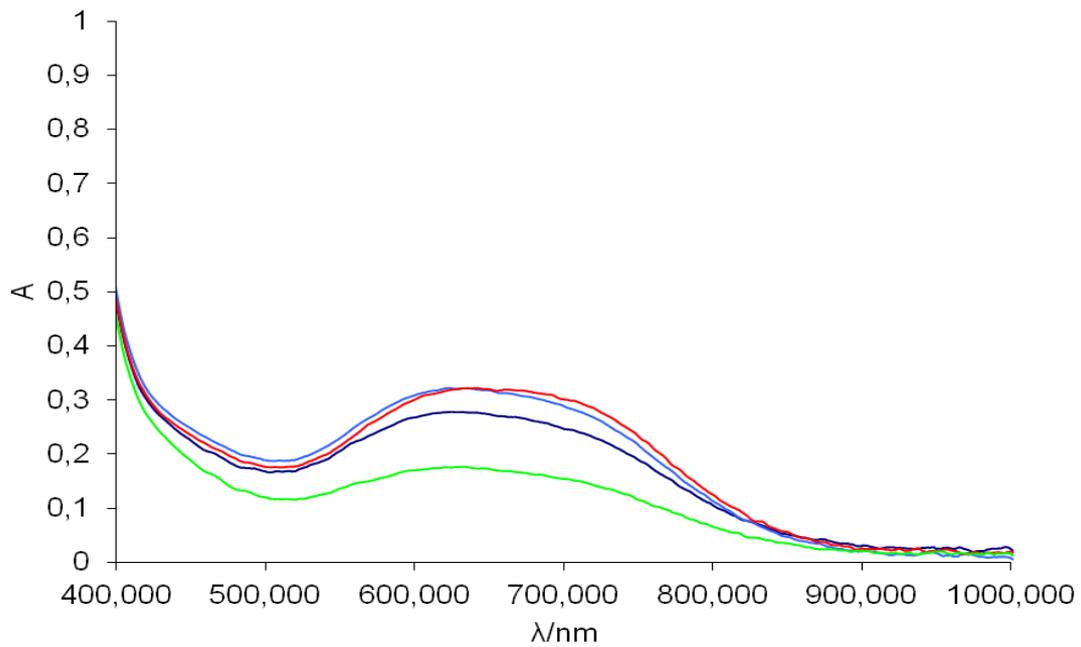
### 4.3. SORTE UNUTAR ISTE VRSTE ŠKROBA

Dobiveni podaci također pokazuju kako postoji velika sličnost između kompleksa trijodida i škrobova različitih sorti jedne vrste. Korišteni pšenični škrobovi imaju približno iste apsorpcijske maksimume koji se nalaze između 630 i 633 nm što pokazuje da su ti škrobovi slični po sastavu i duljini lanaca. Sorta *Srpanjka* ima niži udio amiloze u škrobu što je vidljivo na Slici 15 iz niže vrijednosti apsorbancije te iz slabijeg intenziteta obojenja od druge dvije sorte.



Slika 15. Apsorpcijski spektri triju sorti pšeničnih škrobova za najvišu koncentraciju škroba [boje: pšenica-plava, sorta Golubica-ružičasta, sorta Srpanjka-zelena]

Iste sličnosti primijećene su i kod sorti škroba raži, što je pokazano na Slici 16. Škrobovi sorti *Danovski*, *Eho Kurz* i *Conduct* imaju i sličan udio amiloze, dok je onaj kod sorte *Octavia* nešto niži. Apsorpcijski maksimumi nalaze se između 623 i 635 nm. Intenziteti obojenja također su bili slični, od maslinasto zelene za najmanju koncentraciju škroba, do tamnoplave za najvišu.



*Slika 16. Apsorpcijski spektri četiriju sorti škroba raži za najvišu koncentraciju škroba [boje: sorta Conduct-tamnoplava, sorta Danovski-plava, sorta Eho kurz-crvena, sorta Octavia-zelena]*

## ***5. ZAKLJUČAK***

---

U ovome radu izneseni su rezultati spektrofotometrijskih mjerenja kompleksa trijodida s različitim vrstama i sortama škrobova. Uspoređivanjem apsorpcijskih spektara tih kompleksa uočene su određene razlike, ali i sličnosti među njima. Određen je reprezentativni uzorak prema kojemu su promatrani ostali škrobovi.

Iz rezultata su vidljive razlike u položaju apsorpcijskog maksimuma za obrađene vrste škrobova. Škrobovi s većim udjelom amiloze u škrobu i većim stupnjem polimerizacije amiloze imali su veće apsorpcijske maksimume od onih s manjim udjelom amiloze i manjim stupnjem polimerizacije. Voštani kukuruzni škrob u kojem ima vrlo malo amiloze imao je najmanji apsorpcijski maksimum i najmanju vrijednost apsorbancije budući da je amilopektin, kojeg ima puno više, također stvorio kompleks s trijodidnim ionom što se vidjelo i po boji kompleksa.

Promatrajući različite sorte unutar iste vrste škroba uočene su određene sličnosti među njima. Apсорpcijski maksimumi su im na vrlo uskom intervalu valnih duljina što ukazuje na sličnost u svojstvima, prvenstveno duljini lanaca amiloze, tj. stupnju polimerizacije. Sličnost je vidljiva i u intenzitetu obojenja kompleksa s trijodidom.

Rezultati dobiveni spektrofotometrijskim mjerenjem mogli bi, zbog uočenih razlika među vrstama škrobova te sličnosti među pojedinim sortama, poslužiti kao jedan od parametara za određivanje botaničkog porijekla škroba.

## ***6. LITERATURA***

---

1. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, *Osnove analitičke kemije*, Školska knjiga, Zagreb, 1999.
2. P. W. Atkins, M. J. Clugston, *Načela fizikalne kemije*, Školska knjiga, Zagreb, 1996.
3. Filipović, S. Lipanović, *Opća i anorganska kemija*, Školska knjiga, Zagreb, 1995.
4. J. BeMiller, R. Whistler, *Starch: Chemistry and Technology, Third edition*, Elsevier, 2009.
5. A.C. Bertolini, *Starches, Characterization, Properties and Applications*, CRC Press, Boca Raton 2010.
6. G. M. A. Van Beynum, J. A. Roles, *Starch Conversion Technology*, Marcel Dekker INC, New York and Basel, 1985.
7. N. Sakač, m. Sak-Bosnar, M. Horvat, D. Madunić-Čaćić, A. Szechenyi, B. Kovacs, *Talanta* **83** (2011), 1606-1612
8. N. Singh, J. Singh, L. Kaur, N. Singh Sodhi, B. Singh Gill, *Food Chemistry* **81** (2003), 219-231
9. <http://waynesword.palomar.edu/images/starch2.jpg>
10. <http://www.demochem.de/D-Starch-e.htm>
11. <http://www.tehnologijahrane.com/hemijahrane/skrob>
12. <http://chemwiki.ucdavis.edu/@api/deki/files/13875/=transmittance.png?size=webview>
13. [http://www.chemistryland.com/CHM107Lab/Exp03\\_DetectOzone/OzoneLab/AmylAmyloseDoubleHelixEndViewW3.jpg](http://www.chemistryland.com/CHM107Lab/Exp03_DetectOzone/OzoneLab/AmylAmyloseDoubleHelixEndViewW3.jpg)
14. <http://www.elmhurst.edu/~chm/vchembook/images2/220i3.jpg>
15. <http://www.ptfos.hr/joomla/zpt/metodika/download/seminarski/skrob.pdf>
16. <http://eskola.chem.pmf.hr/odgovori/odgovor.php3?sif=770>