

# Elektrokemijska karakterizacija i određivanje vitamina E

---

**Danković, Valentina**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2023**

*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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:757929>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-19**

*Repository / Repozitorij:*

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



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Diplomski studij kemije

**Valentina Danković**

**ELEKTROKEMIJSKA KARAKTERIZACIJA I ODREĐIVANJE VITAMINA E**

Diplomski rad

Osijek, 2023.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Diplomski studij kemije

**Valentina Danković**

**ELEKTROKEMIJSKA KARAKTERIZACIJA I ODREĐIVANJE VITAMINA E**

Diplomski rad

Mentor: izv. prof. dr. sc. Martina Medvidović-Kosanović

Komentor: doc. dr. sc. Olivera Galović

Neposredni voditelj: Dominik Goman, mag. chem.

Osijek, 2023

*Ovaj rad prezentiran je na 14<sup>th</sup> International Scientific and Professional Conference  
WITH FOOD TO HEALTH, 14-15. rujna 2023.*

## *Zahvala*

*Najprije želim izraziti svoju iskrenu zahvalnost mentorici, izv. prof. dr. sc. Martini Medvidović-Kosanović, komentorici doc. dr. sc. Oliveri Galović te neposrednom voditelju mag. chem. Dominiku Gomanu na vodstvu, savjetima i pomoći pri izradi ovog diplomskog rada.*

*Hvala mojoj obitelji i mojim prijateljicama i kolegama na podršci i najljepšim uspomnama.*

*Na kraju, želim se posebno zahvaliti svojim roditeljima na beskrajnoj podršci, tijekom cijelog mog školovanja. Hvala im na svemu što su mi omogućili.*

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Odjel za kemiju  
Diplomski studij kemije  
Znanstveno područje: Prirodne znanosti  
Znanstveno polje: Kemija

## ELEKTROKEMIJSKA KARAKTERIZACIJA I ODREĐIVANJE VITAMINA E

Valentina Danković

**Rad je izrađen na:** Odjelu za kemiju

**Mentor:** Izv. prof. dr. sc. Martina Medvidović-Kosanović

### Sažetak

U ovom radu su ispitivana elektrokemijska svojstva  $\alpha$ -tokoferola, uporabom cikličke i diferencijalne pulsne voltametrije. Cilj rada bio je ispitati topljivost  $\alpha$ -tokoferola u različitim otapalima, utjecaj pH, brzine polarizacije i koncentracije na njegova oksido-redukcijska svojstva, istražiti moguću adsorpciju  $\alpha$ -tokoferola na površinu radne elektrode te odrediti  $\alpha$ -tokoferol u realnim uzorcima pomoću HPLC metode. Prilikom ispitivanja topljivosti  $\alpha$ -tokoferola najbolja se pokazala smjesa etanola i vode u omjeru 70:30. U cikličkom voltamogramu  $\alpha$ -tokoferola uočen je anodni strujni vrh pri potencijalu,  $E_{p,a} = 0,175$  V koji se odnosi na ireverzibilnu oksidaciju  $\alpha$ -tokoferola. Utvrđeno je da je oksidacija  $\alpha$ -tokoferola difuzijski kontroliran proces jer je dobivena linearna ovisnost struje oksidacijskog strujnog vrha ( $I_{p,a}$ ) o drugom korijenu brzine polarizacije elektrode ( $v^{1/2}$ ) te je nagib pravca  $\log I_{p,a}$  vs  $\log v$  iznosio oko 0,5. U diferencijalnom pulsnom voltamogramu  $\alpha$ -tokoferola je također detektiran jedan oksidacijski strujni vrh pri potencijalu,  $E_{p,a} = 0,070$  V, koji je linearno rastao s povećanjem masene koncentracije  $\alpha$ -tokoferola u koncentracijskom području od  $0,43 \text{ mg dm}^{-3}$  do  $70,41 \text{ mg dm}^{-3}$ . Tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti ispitivan je sadržaj  $\alpha$ -tokoferola u realnim uzorcima te stabilnost otopina i najbolji omjer suhe tvari i smjese za ekstrakciju. Za ekstrakciju  $\alpha$ -tokoferola iz praškastog dodatka prehrani kao najbolji omjer utvrđen je 1:1,25, dok je za peršin i kelj najbolji omjer bio 1:50. Da bi se utvrdila ponovljivost mjerenja napravljena su tri uzorka ekstrakta peršina u omjeru 1:50, uzorci su ostavljeni 1h na tamnom i zatim pripremljeni na isti način kao i prethodni. Svaki uzorak injektiran je dva puta Srednja vrijednost rezultata mjerenja za prvo injektiranje je  $0,833 \text{ mg}/100\text{g}$ , dok za drugo injektiranje srednja vrijednost iznosi  $0,823 \text{ mg}/100\text{g}$ . Standardna devijacija rezultata dobivenih za prvo injektiranje iznosi 0,020, a za drugo 0,019. Relativno standardno odstupanje za rezultate dobivene za prvo injektiranje je 2,425%, a za drugo 2,299%. Interval pouzdanosti metode je za prvo injektiranje uzorka  $\pm 0,023$ , a za drugo 0,021.

**Diplomski rad obuhvaća:** 43 stranice, 25 slika, 9 tablica, 21 literaturni navod.

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:**  $\alpha$ -tokoferol / ciklička voltametrija / diferencijalna pulsna voltametrija/ HPLC/Vitamin E

**Rad je prihvaćen:** 16.10.2023.

**Stručno povjerenstvo za ocjenu:**

1. Izv. prof. dr. sc. Martina Šrajer Gajdošik, predsjednica i članica
2. Izv. prof. dr. sc. Martina Medvidović-Kosanović, mentorica i članica
3. Doc. dr. sc. Olivera Galović, komentorka i članica
4. Izv. prof. dr. sc. Tomislav Balić, zamjena člana

**Rad je pohranjen:** u Knjižnici Odjela za kemiju, Franje Kuhača 20, Osijek.

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek  
Department of Chemistry  
Graduate Study of Chemistry  
Scientific Area: Natural Sciences  
Scientific Field: Chemistry

## ELECTROCHEMICAL CHARACTERIZATION AND DETECTION OF VITAMIN E IN REAL SAMPLES

Valentina Danković

**Thesis completed at** Department of Chemistry  
**Supervisor:** Assoc. Prof. Martina Medvidović-Kosanović, PhD

### Abstract

In this paper, the electrochemical properties of  $\alpha$ -tocopherol were investigated by using cyclic and differential pulse voltammetry. The aim of the work was to examine the solubility of  $\alpha$ -tocopherol in different solvents, the influence of pH, scan rate and concentration on its oxido-reduction properties, to investigate the possible adsorption of  $\alpha$ -tocopherol on the surface of the working electrode, and to determine  $\alpha$ -tocopherol in real samples using the HPLC method. When testing the solubility of  $\alpha$ -tocopherol, the mixture of ethanol and water in a ratio of 70:30 proved to be the best. In the cyclic voltammogram of  $\alpha$ -tocopherol, an anodic peak current was observed at the potential,  $E_{p,a} = 0,175$  V, which corresponds to the irreversible oxidation of  $\alpha$ -tocopherol. It was determined that the oxidation of  $\alpha$ -tocopherol is a diffusion-controlled process, because a linear dependence of the oxidation peak current ( $I_{p,a}$ ) vs the square root of scan rate ( $v^{1/2}$ ) was obtained, and the slope of the line  $\log I_{p,a}$  vs  $\log v$  was around 0,5. One oxidation peak current was also detected in the differential pulse voltammogram of  $\alpha$ -tocopherol at the potential,  $E_{p,a} = 0,070$  V, which increased linearly with the increase of mass concentration of  $\alpha$ -tocopherol in the concentration range from 0,43 mg dm<sup>-3</sup> to 70,41 mg dm<sup>-3</sup>. The content of  $\alpha$ -tocopherol in real samples, the solutions stability, and the best ratio of dry matter to the extraction mixture were examined by high-performance liquid chromatography. For the extraction of  $\alpha$ -tocopherol from the powdered food supplement, the best ratio was 1:1,25, while for parsley and kale the best ratio was 1:50. In order to determine the repeatability of the measurements, three samples of parsley extract were made in a ratio of 1:50, the samples were left for 1 hour in the dark and then prepared in the same way as the previous one. Each sample was injected twice. The mean value of the measurement results for the first injection is 0,833 mg/100g, while for the second injection the mean value is 0,823 mg/100g. The standard deviation of the results obtained for the first injection is 0,020, and for the second 0,019. The relative standard deviation for the results obtained for the first injection is 2,425% and for the second injection 2,299%. The confidence interval of the method is  $\pm 0.023$  for the first injection of the sample, and 0,021 for the second.

**Thesis includes:** 43 pages, 25 figures, 9 tables, 21 references.

**Original in:** Croatian

**Keywords:**  $\alpha$ -tocopherol/cyclic voltammetry/differential pulse voltammetry/HPLC/Vitamin E

**Thesis accepted:** 16.10.2023.

**Reviewers:**

1. Martina Šrajcer Gajdošik, Ph.D., Associate professor
2. Martina Medvidović-Kosanović, Ph.D., Associate professor
3. Olivera Galović, Ph.D., Assistant professor
4. Tomislav Balić, Ph.D. Associate professor

**Thesis deposited:** at the Library of Department of Chemistry, Franje Kuhača 20, Osijek

## SADRŽAJ:

1. UVOD.....	1
2. LITERATURNI PREGLED.....	2
2.1. Vitamini.....	2
2.1.1. Vitamin E .....	3
2.1.1.1. Građa vitamina E .....	4
2.1.1.2. Sadržaj vitamina E u hrani i preporučene dnevne doze.....	5
2.1.1.3. Uloga vitamina E .....	6
2.1.1.4. Međudjelovanja s drugim vitaminima .....	7
2.1.1.5. Nedostatak vitamina E .....	7
2.1.1.6. Mehanizam djelovanja.....	8
2.2. Elektrokemija.....	9
2.2.1.1. Ciklička voltometrija.....	11
2.2.1.2. Diferencijalna pulsna voltometrija.....	12
2.3. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti .....	13
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	16
3.1. Popis kemikalija:.....	16
3.2. Voltometrija.....	17
3.2.1. Priprema otopina za elektrokemijska mjerenja.....	17
3.2.2. Elektrokemijska ćelija.....	18
3.3. Kalibracija tekućinskog kromatografa visoke djelotvornosti .....	20
3.4. Priprema realnih uzoraka za tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti.....	20
3.5. Ponovljivost mjerenja .....	21
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	22
4.1. Ispitivanje topljivosti $\alpha$ -tokoferola.....	22



4.2. Stabilnost otopine.....	25
4.3. Ciklička voltometrija.....	26
4.3.1. Utjecaj brzine polarizacije .....	27
4.4. Diferencijalna pulsna voltometrija.....	30
4.4.1. Utjecaj koncentracije analita.....	31
4.5. Analiza realnih uzoraka tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti .....	33
4.5.1. Usporedba rezultata dobivenih ekstrakcijom različitih omjera suhe tvari i ekstrakcijske smjese.....	33
4.5.1.1. Dodatak prehrani s vitaminom E .....	34
4.5.1.2. Peršin.....	34
4.5.1.3. Kelj.....	35
4.5.2. Usporedba rezultata ispitivanja stabilnosti uzoraka za peršin i kelj .....	36
4.5.2.1. Peršin.....	36
4.5.2.2. Kelj.....	37
4.5.3. Ponovljivost mjerenja .....	37
4.5.4. Rezultati mjerenja realnih uzoraka .....	38
5. ZAKLJUČAK.....	40
6. LITERATURA .....	41
7. ŽIVOTOPIS.....	43

## 1. UVOD

Vitamini su esencijalni mikronutrijenti potrebni za normalno funkcioniranje živih organizama. Postoje vitamini topljivi u vodi i vitamini topljivi u mastima. Vitamin E pripada skupini vitamina topljivih u mastima. Čini ga skupina od ukupno osam vitamina; tokoferola i tokotrienola. Od njih je biološki najaktivniji oblik  $\alpha$ -tokoferol koji se preferirano apsorbira i zadržava u tijelu zahvaljujući jetri koja razlikuje oblike vitamina E i preferirano izlučuje  $\alpha$ -tokoferol u plazmu. Vitamin E je antioksidans koji ima važnu ulogu u staničnom disanju. Na sobnoj temperaturi nalazi se u obliku viskoznog ulja, a dobro je topljiv u mastima. Prisutan je u hrani koja sadrži masnoće, i budući da svojstvo vitamina topljivog u mastima omogućava njegovo pohranjivanje u masnim tkivima životinja i ljudi, ne mora se konzumirati svaki dan. Od namirnica najbolji izvor vitamina E su biljna ulja. Nalazi se u raznim namirnicama kao što su orašasti plodovi i sjemenke koje sadrže velike količine  $\alpha$ -tokoferola, a značajne količine su također dostupne u zelenom lisnatom povrću i obogaćenim žitaricama. Cilj rada bio je ispitati elektrokemijska svojstva  $\alpha$ -tokoferola, pronaći najbolje otapalo (etanol i voda) te ispitati utjecaj brzine polarizacije elektrode i koncentracije na potencijal i struju oksidacijskog strujnog vrha. Uz to cilj je bio detektirati i kvantitativno odrediti  $\alpha$ -tokoferol u realnim uzorcima uz pomoć HPLC tehnike.

## 2. LITERATURNI PREGLED

### 2.1. Vitamini

Vitamini su prirodne tvari koje se nalaze u hrani i važni su za rast i očuvanje zdravlja ljudi i životinja. [1] Čine skupinu organskih molekula koje su esencijalni mikronutrijenti potrebni za normalno funkcioniranje organizama. Vitamine naše tijelo ne sintetizira, stoga ih moramo unositi putem hrane. Naziv "vitamin" prvi je koristio poljski biokemičar Casimir Funk 1912. godine. Hrana je tada bila jedini izvor vitamina što je rezultiralo bolestima zbog nedostatka vitamina kod mnogih ljudi koji si nisu mogli priuštiti nutritivno vrijednu hranu. Zbog toga su komercijalno proizvedene vitaminske tablete i dodaci prehrani koji su spriječili nedostatak vitamina među općom populacijom. Također započelo se s dodavanjem vitamina u hranu kao što su brašno i mlijeko, što se naziva obogaćivanjem hrane. Postoji 13 esencijalnih vitamina potrebnih ljudskom tijelu u malim količinama za pravilno funkcioniranje. [2] Vitamin A (retinoična kiselina) je neophodan za zdravlje očiju, a njegov nedostatak može uzrokovati noćno sljepilo i keratomalaciju, što uzrokuje da prozirni prednji sloj oka postane suh i zamućen. Vitamin C (askorbinska kiselina) u ljudskom tijelu doprinosi proizvodnji kolagena, zacjeljivanju rana i stvaranju kostiju. Također jača krvne žile, podržava imunološki sustav, pomaže tijelu apsorbirati željezo i djeluje kao antioksidans. Vitamin D (kalciferol) je neophodan za zdravu mineralizaciju kostiju, a njegov nedostatak može uzrokovati rahitis i osteomalaciju ili omekšavanje kostiju. Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) ima antioksidativno djelovanje koje pomaže u sprječavanju oksidativnog stresa, problema koji povećava rizik od raširenih upala i raznih bolesti. Vitamin K (filokinon, menadion) neophodan je za zgrušavanje krvi, a njegove niske razine mogu uzrokovati neuobičajenu osjetljivost na krvarenje ili krvareću dijatezu. Vitamin B1 (tiamin) je neophodan za proizvodnju raznih enzima koji pomažu u razgradnji šećera u krvi. Vitamin B2 (riboflavin) je važan za rast i razvoj tjelesnih stanica i pomaže u metabolizmu hrane. Vitamin B3 (niacin) je potreban tijelu za pravilan rast i funkciju stanica. Vitamin B5 (pantotenska kiselina) važan je za proizvodnju energije i hormona. Vitamin B6 (piridoksin) je od velike važnosti za stvaranje crvenih krvnih stanica stoga niske razine mogu dovesti do anemije i periferne neuropatije. Vitamin B7 (biotin) omogućuje tijelu da metabolizira proteine, masti i ugljikohidrate. Također pridonosi keratinu, strukturnom proteinu

u koži, kosi i noktima. Vitamin B9 (folna kiselina) je neophodan za stvaranje DNK i RNK. Vitamin B12 (kobalamin) ima važnu ulogu u očuvanje zdravlja živčanog sustava. [3]

Vitamine možemo svrstati u dvije skupine. Prvu skupinu čine oni vitamini koji su topljivi u mastima, a drugu skupinu čine vitamini topljivi u vodi. Vitamini B skupine i vitamin C su vitamini topljivi u vodi i izlučuju se iz tijela putem urina. Budući da se ne pohranjuju u našim tijelima, treba ih unositi svakodnevno. Vitamini topljivi u mastima su: vitamin A, vitamin D, vitamin E i vitamin K. Vitamini topljivi u mastima hidrofobni su spojevi koji su pohranjeni u masnom tkivu našeg tijela i topljivi su samo u prisutnosti prehranbenih masti. Kada se unese vitamin topljiv u mastima, probavlja ga želučana kiselina i dalje se probavlja u tankom crijevu gdje žuč proizvedena iz jetre apsorbira vitamin topljiv u mastima, a hranjivu tvar apsorbira stijenka tankog crijeva. Tada ti vitamini putuju u krvotok ili ponekad djeluju kao prijenosnici proteina. [2]

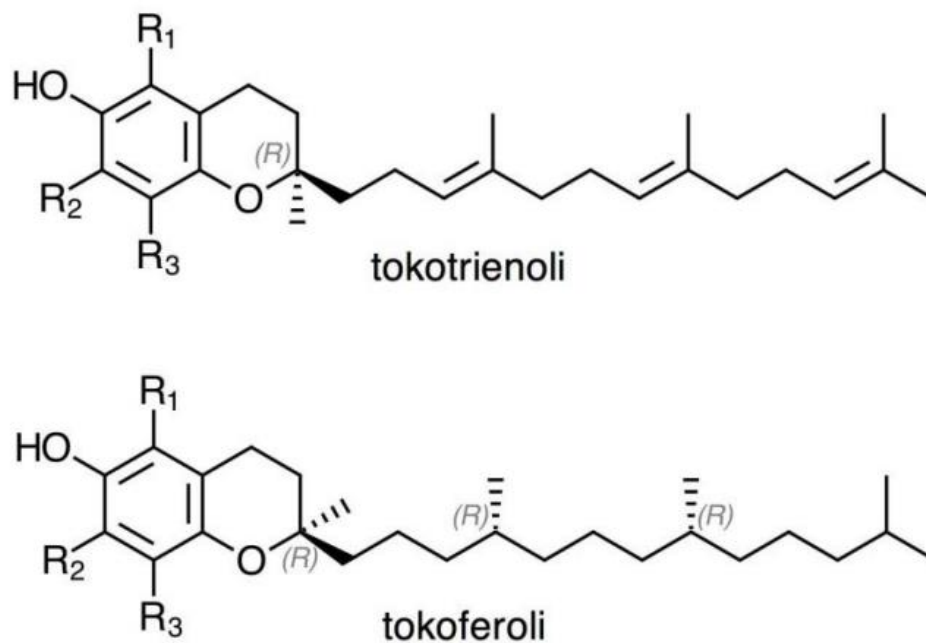
#### 2.1.1. Vitamin E

Vitamin E je antioksidans koji ima važnu ulogu u staničnom disanju, pri sobnoj temperaturi je viskozno ulje i ubraja se u skupinu vitamina topljivih u mastima. [4] 1922. godine otkrili su ga Evans i Bishop kao esencijalni mikronutrijent za reprodukciju štakora. 1950. ponovno ga je opisao Klaus Schwarz kao stanični antioksidans pod nazivom antisterilitetni vitamin ili faktor "X". Zajednički je naziv za spojeve:  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -tokoferol,  $\gamma$ -tokoferol,  $\delta$ -tokoferol,  $\alpha$ -tokotrienol,  $\beta$ -tokotrienol,  $\gamma$ -tokotrienol i  $\delta$ -tokotrienol. Pojam "tokoferol" označava metil-supstituirane derivate tokola i nije sinonim za pojam "vitamin E". Sve ih sintetiziraju biljke iz homogentizinske kiseline. Od tokoferola,  $\alpha$ -tokoferol i  $\gamma$ -tokoferol nalaze se u serumu i crvenim krvnim stanicama, a  $\alpha$ -tokoferol je prisutan u najvećoj koncentraciji.  $\beta$ -tokoferol i  $\delta$ -tokoferol nalaze se u plazmi samo u malim koncentracijama. Preferencijalna distribucija  $\alpha$ -tokoferola kod ljudi u odnosu na druge oblike tokoferola proizlazi iz bržeg metabolizma drugih oblika i iz proteina za prijenos  $\alpha$ -tokoferola ( $\alpha$ -TTP).  $\alpha$ -tokoferol se također nakuplja u tkivima izvan jetre, posebno na mjestima gdje je proizvodnja slobodnih radikala najveća, kao što su membrane mitohondrija i endoplazmatski retikulum u srcu i u plućima. [5]

### 2.1.1.1. Građa vitamina E

Prirodni tokokromanoli sastoje se od dva homologna niza: tokoferola sa zasićenim bočnim lancem i tokotrienola s nezasićenim bočnim lancem. Tokoferoli i tokotrienoli imaju istu osnovnu kemijsku strukturu, koju karakterizira dugi izoprenoidni bočni lanac pričvršćen na poziciji 2,6-kromanolnog prstena. Tokotrienoli se razlikuju od tokoferola po tome što posjeduju farnezilni, a ne zasićeni izoprenoidni C16 bočni lanac. Na Slici 1. su prikazane strukture tokoferola i tokotrienola. Prirodni tokoferoli pojavljuju se u RRR-konfiguraciji, dok sintetski oblik sadrži osam različitih stereoizomera i naziva se all-rac- $\alpha$ -tokoferol. Tokotrienoli posjeduju samo kiralni stereocentar na C-2, a tokotrienoli koji se pojavljuju u prirodi posjeduju isključivo konfiguraciju 2R,3'E,7'E. Receptori i enzimi u tijelu visoko su stereoselektivni i međusobno djeluju isključivo s jednim od enantiomera kiralne molekule u procesu koji se naziva kiralno prepoznavanje. Kao rezultat toga, samo jedan enantiomer ima željeni učinak na tijelo, dok drugi mogu imati ili nikakav učinak ili imati negativan učinak. Izoforme vitamina E nisu međusobno konvertibilne unutar ljudskog tijela.

[5]



Slika 1. Prikaz strukture tokotrienola i tokoferola. [6]

Apsorpcija  $\alpha$ -tokoferola događa se u tankom crijevu uz prisutnost žuči. Apsorpcija nije selektivna i tijekom nje se svi oblici izlučuju u česticama hilomikrona sa triacilglicerolom i kolesterolom. Jedan dio vitamina E tako vezanog u hilomikronim veže se u masna tkiva uz lipoprotein lipazu. [7]

#### 2.1.1.2. Sadržaj vitamina E u hrani i preporučene dnevne doze

Vitamin E prisutan je u hrani koja sadrži masnoće i, budući da svojstvo vitamina topljivog u mastima omogućuje njegovo pohranjivanje u masnim tkivima životinja i ljudi, ne mora se konzumirati svaki dan. Od namirnica najbolji izvor vitamina E su biljna ulja. Orašasti plodovi i sjemenke koje također sadrže velike količine  $\alpha$ -tokoferola, a značajne količine su dostupne i u zelenom lisnatom povrću te u obogaćenim žitaricama. [5] U Tablici 1. prikazan je sadržaj vitamina E u nekim namirnicama.

Tablica 1. Sadržaj vitamin E u hrani. [8]

Namirnica	Sadržaj vitamina E u 100g
Sjemenke suncokreta	26,1 mg
Bademi	25,6 mg
Maslinovo ulje	14,4 mg
Pastrva	2,8 mg
Avokado	2,1 mg
Špinat	2,1 mg
Kivi	1,5 mg
Muškatna bundeva	1,3 mg

Kada se dobiva samo iz hrane, vitamin E nema dokumentiranih dokaza o toksičnosti. Međutim, pronađeni su dokazi o prooksidativnom oštećenju povezani s dodacima prehrani, ali obično samo

pri vrlo visokim dozama (na primjer >1000 mg/dan). Preporučeni unos  $\alpha$ -tokoferola u prehrani (RDA (eng. *Recommended Dietary Allowances*)) prikazan je u Tablici 2. [5]

Tablica 2. Preporučeni unos  $\alpha$ -tokoferola u prehrani (RDA). [5]

Dob	Preporučeni dnevni unos u mg	
	Muškarci	Žene
0-6 mjeseci	4	4
7-12 mjeseci	5	5
1-3 godine	6	6
4-8 godina	7	7
9-13 godina	11	11
>14 godina	15	15
U trudnoći		15
Tijekom dojenja		19

### 2.1.1.3. Uloga vitamina E

Njegova najvažnija uloga je inhibicija lančane reakcije slobodnih radikala u lipidnoj peroksidaciji. [7] Vitamin E pomaže čvršćem pakiranju membrane i zaslužan je za veću stabilnost stanice. Godine 2011. Howard je sa suradnicima pokazao da je vitamin E neophodan za održavanje odgovarajuće homeostaze skeletnih mišića i da dodatak uzgojenih miocita s  $\alpha$ -tokoferolom potiče popravak plazmatske membrane. To se događa jer su membranski fosfolipidi istaknute mete oksidansa, a vitamin E učinkovito sprječava peroksidaciju lipida. Suprotno tome, bez dodatka  $\alpha$ -tokoferola, izlaganje uzgojenih stanica oksidansima izrazito inhibira popravak. Usporedna mjerenja pokazala su da se antioksidans mora povezati s membranama kako bi se inhibirao popravak, a upravo to čini  $\alpha$ -tokoferol. Stoga vitamin E potiče popravak membrane sprječavajući stvaranje oksidiranih fosfolipida koji bi teoretski mogli ometati popravak. Utvrđeno je da povećanje koncentracije  $\alpha$ -tokoferola u endotelnim stanicama inhibira agregaciju trombocita i

oslobađa prostaciklin iz endotela. Pokazalo se da je prirodni RRR-konfiguracijski oblik  $\alpha$ -tokoferola dvostruko snažniji od ostalih racemičnih (sintetskih)  $\alpha$ -tokoferola u inhibiciji aktivnosti protein kinaze C.[5] Osim svoje aktivnosti kao antioksidansa, vitamin E ima i imunološku funkciju kao što je ponajprije pokazano u *in vitro* studijama stanica, važan je za staničnu signalizaciju, regulaciju ekspresije gena i druge metaboličke procese. Također  $\alpha$ -tokoferol inhibira aktivnost protein kinaze C, enzima uključenog u staničnu proliferaciju i diferencijaciju glatkih mišićnih stanica, trombocita i monocita. Endotelne stanice pune vitamina E koje oblažu unutarnju površinu krvnih žila bolje se odupiru komponentama krvnih stanica koje se lijepe na tu površinu. Vitamin E također povećava ekspresiju dvaju enzima koji suzbijaju metabolizam arahidonske kiseline, čime se povećava otpuštanje prostaciklina iz endotela, koji zauzvrat širi krvne žile i inhibira agregaciju trombocita. [9]

#### 2.1.1.4. Međudjelovanja s drugim vitaminima

Adekvatan unos vitamina E u velikoj mjeri ovisi o unosu vitamina C, vitamina B3, selena i glutaciona. Da bi prehrana bogata vitaminom E imala učinak moraju biti osigurane i navedene hranjive tvari. Utvrđeno je da je kooperativna interakcija između vitamina C i vitamina E prilično vjerojatna, dok je interakcija između vitamina C i  $\beta$ -karotena malo vjerojatna, ali može postojati između vitamina E i  $\beta$ -karotena. Međudjelovanja su također pronađena između tiola, tokoferola i drugih spojeva koji povećavaju učinkovitost staničnih antioksidativnih obrambenih sustava. [5]

#### 2.1.1.5. Nedostatak vitamina E

Nedostatak vitamina E je rijedak i očiti simptomi nedostatka nisu pronađeni kod zdravih ljudi koji unose malo vitamina E iz prehrane. Prijevremeno rođene bebe vrlo niske porođajne težine (<1500 g) mogu imati manjak vitamina E. Suplementacija vitamina E kod ove dojenčadi može smanjiti rizik od nekih komplikacija, poput onih koje zahvaćaju mrežnicu. Budući da je probavnom traktu potrebna masnoća za apsorpciju vitamina E, ljudi s poremećajima malapsorpcije masti imaju veću vjerojatnost da će postati manjkavi nego ljudi bez takvih poremećaja. Simptomi nedostatka



uključuju perifernu neuropatiju, ataksiju, skeletnu miopatiju, retinopatiju i oštećenje imunološkog odgovora. Nekim osobama s abetalipoproteinemijom, rijetkim nasljednim poremećajem koji rezultira slabom apsorpcijom masti iz hrane, potrebne su ogromne doze dodatnog vitamina E (približno 100 mg/kg ili 5-10 g/dan). Nedostatak vitamina E kao sekundarna abetalipoproteinemija uzrokuje probleme kao što su slab prijenos živčanih impulsa, slabost mišića i degeneracija retine koja dovodi do sljepoće. Ataksija i nedostatak vitamina E je još jedan rijedak, nasljedni poremećaj u kojem je jetreni  $\alpha$ -tokoferol prijenosni protein neispravan ili ga nema. Osobe s tim poremećajem imaju toliko ozbiljan nedostatak vitamina E da razvijaju oštećenje živaca i gube sposobnost hodanja osim ako ne uzimaju velike doze dodatnog vitamina E. [9]

#### 2.1.1.6. Mehanizam djelovanja

Vitamin E je snažan antioksidans koji prekida lanac i inhibira proizvodnju molekula reaktivnih kisikovih spojeva kada masnoća prolazi kroz oksidaciju i tijekom širenja reakcija slobodnih radikala. Prvenstveno se nalazi u membranama stanica i organela gdje može pokazati svoj maksimalni zaštitni učinak, čak i kada njegov omjer koncentracije može biti samo jedna molekula na svakih 2000 fosfolipidnih molekula. Djeluje kao prva linija obrane protiv peroksidacije lipida, štiteći stanične membrane od napada slobodnih radikala. Istraživanja su pokazala da mješavina tokoferola ima jači inhibitori učinak na peroksidaciju lipida izazvanu u ljudskim eritrocitima u usporedbi sa samim  $\alpha$ -tokoferolom. Zbog svoje aktivnosti hvatanja peroksilnih radikala, također štiti višestruko nezasićene masne kiseline prisutne u membranskim fosfolipidima i u lipoproteinima plazme. Nastali tokoferoksilni radikali mogu: oksidirati druge lipide; provoditi daljnju oksidaciju stvarajući tokoferil kinone; formirati nereaktivne dimere tokoferola reakcijom s drugim tokoferoksilnim radikalom, ili biti reducirani drugim antioksidansima u tokoferol. Utvrđeno je da  $\alpha$ -tokoferol uglavnom inhibira stvaranje novih slobodnih radikala, dok  $\gamma$ -tokoferol hvata i neutralizira postojeće slobodne radikale. Oksidacija je povezana s brojnim mogućim stanjima i bolestima uključujući: rak, starenje, artritis i kataraktu. Stoga bi vitamin E mogao spriječiti ili odgoditi kronične bolesti povezane s molekulama reaktivnih kisikovih vrsta. [5]

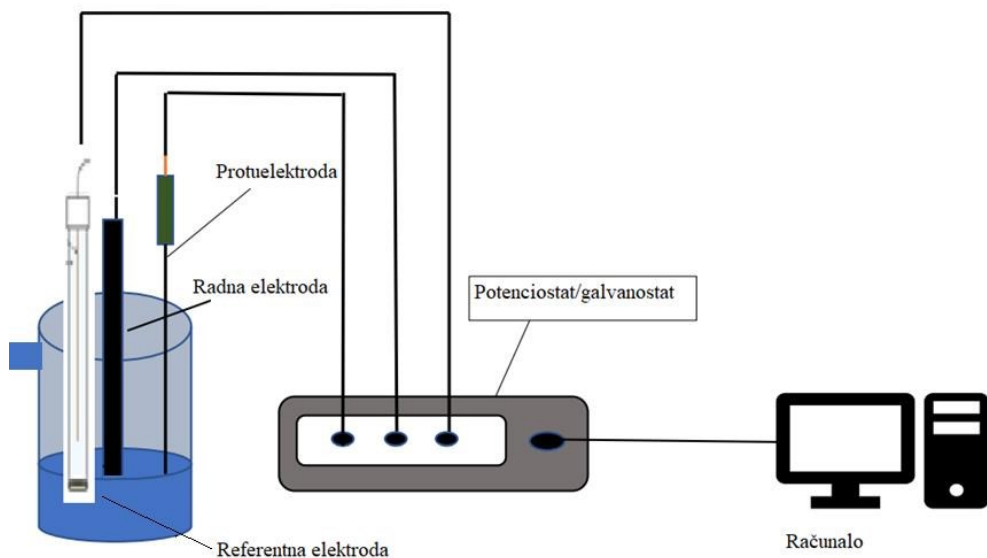
## 2.2. Elektrokemija

Elektrokemija je grana kemije zadužena za praćenje reakcija u kojima dolazi do prijenosa elektrona. Ona povezuje prijenos elektrona s kemijskim promjenama. U anorganskoj kemiji, nastala kemijska promjena je često posljedica oksidacije ili redukcije metalnog kompleksa. [10] Elektrokemija se bavi odnosom između elektriciteta i kemijske promjene. Mnoge kemijske reakcije koje se spontano odvijaju oslobađaju električnu energiju, a neke od tih reakcija koriste se u baterijama i gorivim ćelijama za proizvodnju električne energije. Nasuprot tome, električna struja može se koristiti za izazivanje mnogih kemijskih reakcija koje se ne odvijaju spontano. U procesu koji se naziva elektroliza, električna energija se pretvara izravno u kemijsku energiju, koja se pohranjuje u produktima reakcije. Ovaj se proces primjenjuje u rafiniranju metala, galvanizaciji i proizvodnji vodika i kisika iz vode. Prolaz elektriciteta kroz plin općenito uzrokuje kemijske promjene, a to čini zasebnu granu elektrokemije. [11]

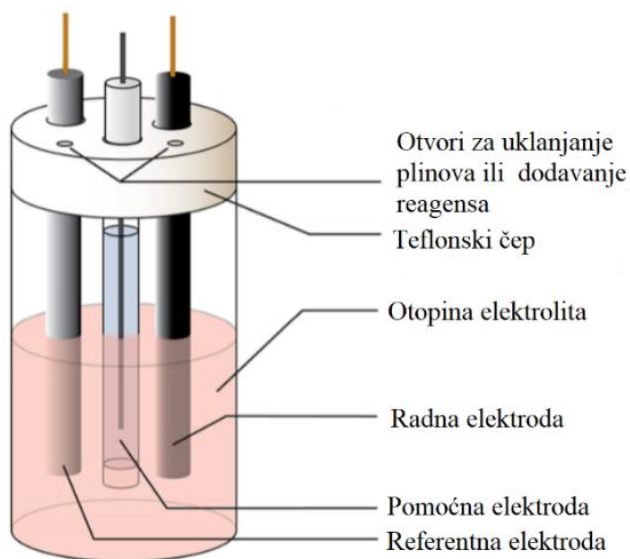
### 2.2.1. Voltometrija

Voltometrija se može koristiti i za kvalitativnu i za kvantitativnu analizu širokog spektra molekulskih te ionskih spojeva. [12] U voltometriji se informacije o analitu dobivaju mjerenjem struje dok se potencijal mijenja. Rezultat dolazi iz voltometrijskog eksperimenta u obliku voltamograma, koji je dijagram struje u odnosu na potencijal radne elektrode. Voltometrijska mjerenja istražuju reaktivnost polućelije analita. Oblik krivulja ovisi o brzini promjene potencijala i o tome miješa li se otopina ili miruje. Većina eksperimenata kontrolira potencijal elektrode u kontaktu s analitom dok se mjeri rezultirajuća struja. [13] Voltometrija se koristi u kvantitativnoj analizi za anorganske ili organske tvari u vodenom ili nevodenom mediju. Također se primjenjuje za ispitivanje kinetike, određivanje redoks potencijala i mehanizma redoks reakcija te za elektrokemijsku detekciju analita koji su razdijeljeni tijekom mjerenja u tekućinskoj kromatografiji visoke djelotvornosti (HPLC). [14] Voltometrijski sustav se sastoji od potenciostata, računala i od elektrokemijske ćelije. Potenciostat ima ulogu pružanja potencijala i mjerenja struje, a računalo pomoću odgovarajućeg programa prikazuje rezultate u obliku

voltamograma. Shematski prikaz sustava prikazan je na Slici 2. [15] Sustav u kojem se nalazi analit prilikom mjerenja metodom voltometrije naziva se elektrokemijska ćelija. Shematski je prikazana elektrokemijska ćelija na Slici 3. Sastoji se od posude sa čepom koji ima utore za radnu elektrodu, referentnu elektrodu i protuelektrodu.



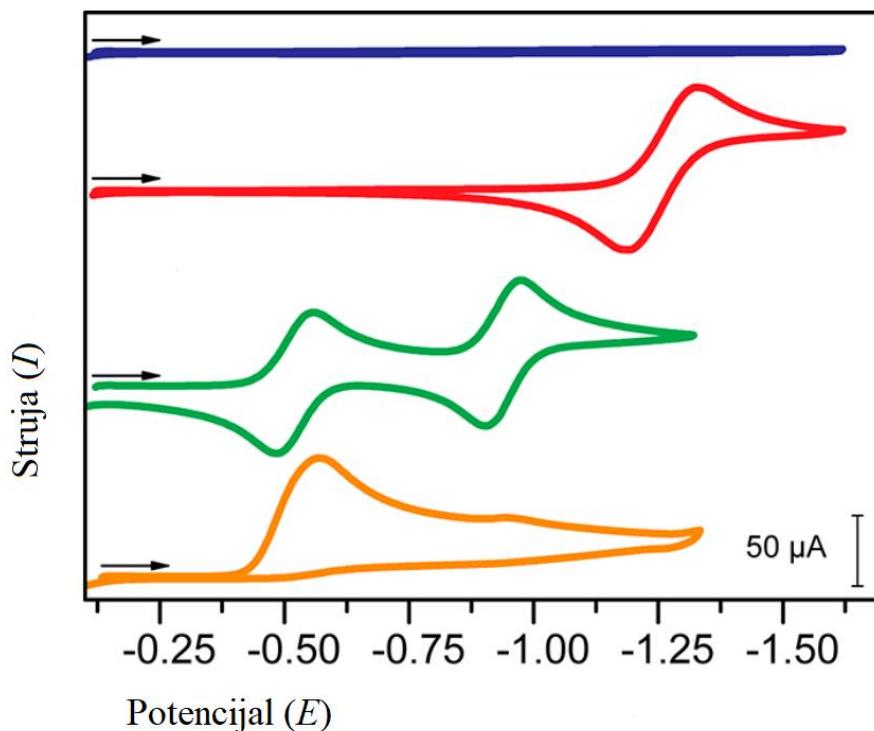
Slika 2. Voltametrijski sustav. [15]



Slika 3. Skica troelektrodne ćelije. [10]

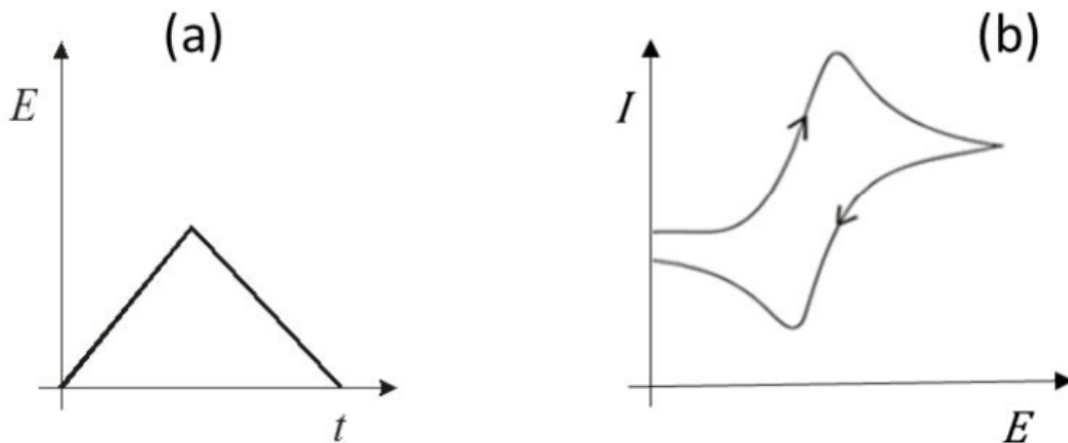
### 2.2.1.1. Ciklička voltometrija

Ciklička voltometrija (CV) je moćna i popularna elektrokemijska tehnika koja se obično koristi za istraživanje procesa oksidacije i redukcije molekularnih vrsta. Također je neprocjenjiva za proučavanje kemijskih reakcija pokrenutih prijenosom elektrona, što uključuje katalizu. Postupak mjerenja metodom cikličke voltetrije počinje dodavanjem otopine elektrolita u elektrokemijsku ćeliju, zajedno s referentnom otopinom i tri elektrode. Nakon toga uz pomoć potenciostata pušta se potencijal između radne i referentne elektrode. Kada potenciostat dosegne unaprijed postavljenu granicu, pomicat će se u suprotnom smjeru. Potenciostat ponavlja ovaj postupak više puta tijekom skeniranja i pritom bilježi promjenu struje između radne i referentne. Rezultat je karakterističan dijagram u obliku patke poznat kao ciklički voltamogram. Ciklička voltometrija je sofisticirana voltometrijska metoda. Tijekom skeniranja, analit ili gubi elektron (oksidacija) ili dobiva elektron (redukcija). To će ovisiti o smjeru rasta potencijala. [16] Voltamogrami ili ciklički voltamogrami (Slika 4.) na X-osi sadrže parametar koji je nametnut sustavu, u ovom slučaju primijenjeni potencijal ( $E$ ), dok je y-os prikazan odziv, odnosno rezultirajuća struja, ( $I$ ).



Slika 4. Ciklički voltamogrami. [10]

Potencijal radne elektrode mjeri se u odnosu na referentnu elektrodu koja održava konstantan potencijal. Najviše točke na voltamogramu nazivaju se sklopnim potencijalom i to je točka u kojoj je napon dovoljan da izazove oksidaciju ili redukciju analita. [10] Na slici 6. prikazani su signal pobude (Slika 5a) koji je linearno promjenljivi potencijal i signal odziva (Slika 5b), odnosno struja, koja se mjeri kao funkcija narinutog potencijala.

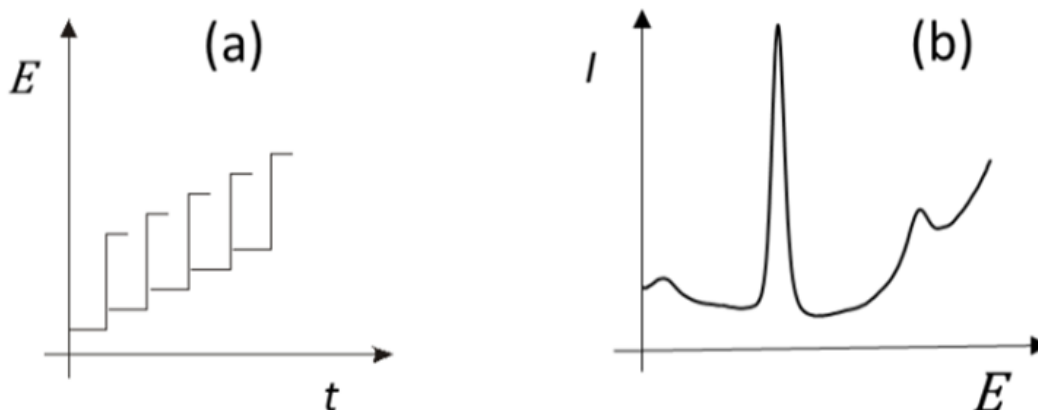


Slika 5. a) Signal pobude b) Signal odziva. [17]

#### 2.2.1.2. Diferencijalna pulsna voltametrija

Diferencijalna pulsna voltametrija naziv je dobila po tome što se mjeri diferencija koja nastaje u struji ćelije, a čiji je uzrok naponski impuls. Ona se temelji na primjeni pulseva određene veličine koji se primjenjuju na radnu elektrodu, a koji su dodani na linearni nagib. Mjeri se struja neposredno prije primjene pulsa te na samom završetku primjene te se zatim mjeri razlika kao funkcija potencijala. Signal pobude (Slika 6a) je niz kratkotrajnih pulseva. Signal odziva je proporcionalan koncentraciji reaktanata i ima oblik jasno izraženog vrha (Slika 6b). Zbog toga što diferencijalni pulsni voltamogrami imaju jasno izražene vrhove oni su pogodni za analitičke svrhe. Diferencijalna pulsna voltametrija je odlična metoda kada je potrebno odrediti vrlo niske

koncentracije elektroaktivnih komponenata u različitim uzorcima, tkivima i biološkim tekućinama. Granice osjetljivosti diferencijalni pulsne voltametrije su oko  $10^{-8}$  mol  $\text{dm}^{-3}$  i to uz uvjet da se koristi dobar i prikladan elektrolit. [18]

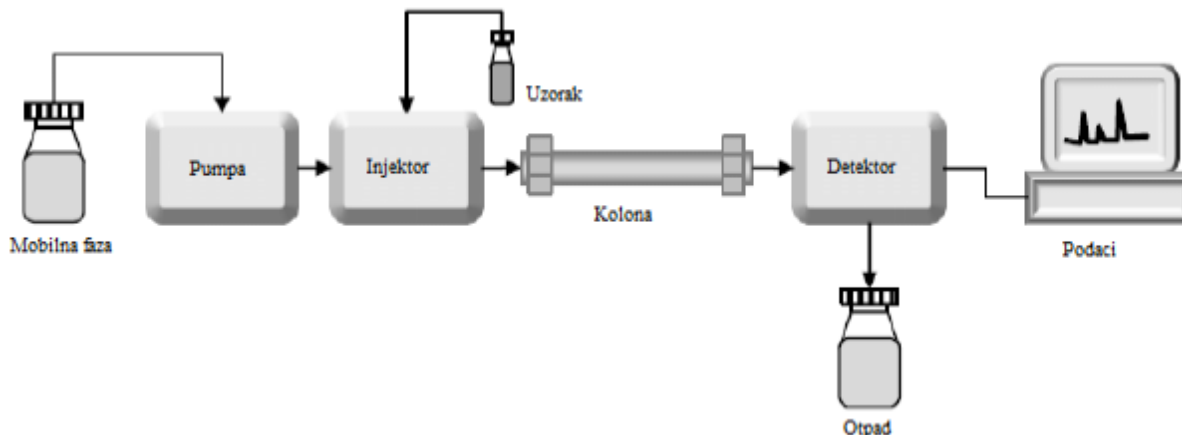


Slika 6. a) Signal pobude b) Signal odziva. [17]

### 2.3. Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti, poznata kao HPLC (engl. *High-performance liquid chromatography*) je analitička tehnika koja se koristi za odvajanje, identifikaciju ili kvantificiranje svake komponente u smjesi. Kod korištenja tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti mjerenje se provodi tako što mobilna faza nosi uzorak koji se injektira kroz kolonu gdje dolazi do razdvajanja. Sastojci smjese se odvajaju pomoću osnovnog principa kromatografije koja podrazumijeva odvajanje komponenata smjese koje su nošene mobilnom fazom, a razdvajaju se na stacionarnoj fazi, identificiraju se i kvantificiraju uz pomoć detektora koji mogu biti: UV/VIS detektori, fluorescentni, detektori indeksa loma, spektrometar masa, elektrokemijski, detektor raspršenja svjetla, amperometrijski itd. HPLC je stoga u osnovi vrlo poboljšan oblik tekućinske kromatografije na stupcu. Umjesto da se otapalo pusti da kapa kroz kolonu pod djelovanjem gravitacije, ono se tjera pod visokim tlakom do 400 atmosfera. HPLC uređaj se sastoji od pumpe,

injektora, pećnice, kolone, detektora te jedinice za obradu podataka. Shematski je prikazan jedan takav uređaj na slici 7. [19]



Slika 7. Shematski prikaz HPLC uređaja. [19]

Razdvajanje se odvija u koloni za odvajanje između stacionarne i mobilne faze. Stacionarna faza je granulirani materijal s vrlo malim poroznim česticama u koloni za odvajanje. Mobilna faza je otapalo ili smjesa otapala koja se pod visokim tlakom tjera kroz kolonu za odvajanje. Preko ventila sa spojenom petljom za uzorkovanje, tj. male cijevi ili kapilare od nehrđajućeg čelika, uzorak se u mobilnu fazu može unositi pomoću automatskog uzorkivača (autosamplera) ili ručno pomoću šprice. Nakon toga, pojedinačne komponente uzorka migriraju kroz kolonu različitim brzinama jer se zadržavaju u različitim stupnjevima interakcija sa stacionarnom fazom. Nakon napuštanja kolone, pojedinačne komponente detektira odgovarajući detektor i prosljeđuje kao signal HPLC softveru na računalu. Na kraju mjerenja dobiva se kromatogram pomoću kojeg možemo identificirati komponente od kojih se sastoji uzorak koji se analizira. Pumpa HPLC uređaja je smještena u gornjem dijelu sustava i stvara protok mobilne faze iz spremnika otapala u sustav. Injektor se nalazi pored pumpe i služi za uvođenje uzoraka u protok mobilne faze. Razdvajanje komponenata se događa unutar kolone. Novije kolone često se pripremaju u kućištu od nehrđajućeg čelika, umjesto u staklenim kolonama. Pomoću detektora se promatra dobiveno odvajanje. Promjena u mobilnoj fazi detektirana detektorom je u obliku elektroničkog signala, te stoga još uvijek nije vidljiva ljudskim okom. U prošlosti popularno se koristio pisac s olovkom i

papirom. U današnje vrijeme koristi se računalni procesor podataka (integrator). Postoje različite vrste procesora podataka; od jednostavnog sustava koji se sastoji od ugrađenog pisača i programa za obradu teksta, do onih sa softverom koji je posebno dizajniran za tekućinsku kromatografiju, LC (eng. *Liquid chromatography*) sustav koji ne samo da prikuplja podatke, već i ima značajke kao što su prilagodba vrha, korekcija osnovne linije, automatski izračun koncentracije, određivanje molekularne težine itd. Mobilna faza koja se koristi za analizu može sadržavati plinove poput kisika, što se otkriva kao šum i uzrokuje nestabilnu osnovnu liniju. Otplinjač koristi posebne polimerne membranske cijevi za uklanjanje plinova. Brojne vrlo male pore na površini polimerne cijevi dopuštaju prolazak zraka, a istovremeno sprječavaju prolazak tekućine kroz pore. Na razdvajanje često uvelike utječe temperatura kolone. Kako bi se dobili ponovljivi rezultati, važno je održavati stalne temperaturne uvjete. Također za neke analize, kao što su šećeri i organske kiseline, bolje razlučivosti se mogu postići na povišenim temperaturama (50 do 80 °C). Stoga se kolone općenito drže unutar peći kolone (grijač kolone). [19]



### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. Popis kemikalija:

- $\alpha$ -tokoferol,  $C_{29}H_{50}O_2$
- destilirana voda
- ultračista voda
- litijev klorid,  $LiCl$
- Realni uzorci: peršin, kelj i praškasti dodatak prehrani s vitaminom E
- etanol,  $C_2H_5OH$
- metanol,  $CH_3OH$
- 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol,  $C_{15}H_{24}O$ , (BHT)



Slika 8. Peršin. [20]



Slika 9. Kelj. [21]

### 3.2. Voltometrija

Za ispitivanje elektrokemijskih svojstava i oksidacijskog mehanizma  $\alpha$ -tokoferola korištene su ciklička i diferencijalna pulsna voltometrija u granicama potencijala od  $-0,40$  V do  $1,00$  V. Za cikličku voltometriju mjerenja su provedena pri brzini polarizacije elektrode od  $v = 50$  mV/s do  $300$  mV/s. Diferencijalni pulsni voltamogrami snimljeni su uz brzinu polarizacije elektrode od  $5$  mV/s, visinu pulsa  $25$  mV, širinu pulsa  $70$  ms i *scan increment*  $5$  mV.

#### 3.2.1. Priprema otopina za elektrokemijska mjerenja

Standardne otopine LiCl ( $\gamma = 4,2$  g dm<sup>-3</sup>) i  $\alpha$ -tokoferola ( $\gamma = 430,71$  g dm<sup>-3</sup>) su pripremljene u ultračistoj vodi. U odmjernu tikvicu od  $50$  mL dodana je ultračista voda te  $0,21197$  g LiCl te je nadopunjeno ultračistom vodom do oznake na tikvici. Otopina LiCl korišten je kao inertni elektrolit prilikom voltometrijskih mjerenja u svim sustavima. Standardna otopina  $\alpha$ -tokoferola pripremljena je otapanjem  $21,5355$  g  $\alpha$ - tokoferola u  $50$  ml ultračiste vode. Prije svakog mjerenja,

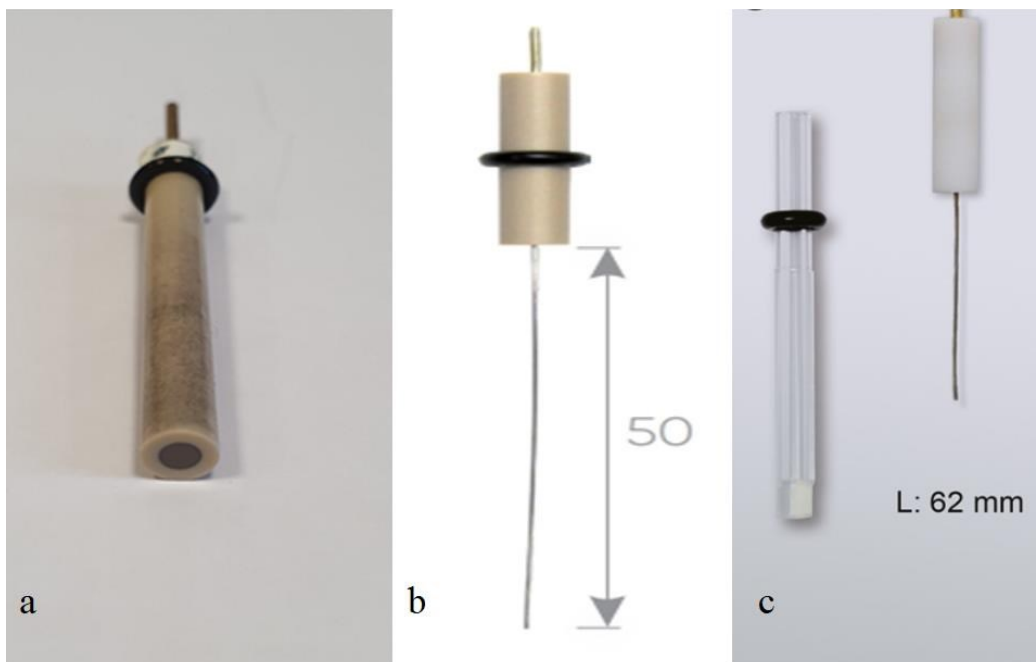
standardna otopina  $\alpha$ -tokoferola razrijeđena je do odgovarajuće koncentracije smjesom etanola i vode volumnog omjera (70:30).

### 3.2.2. Elektrokemijska ćelija

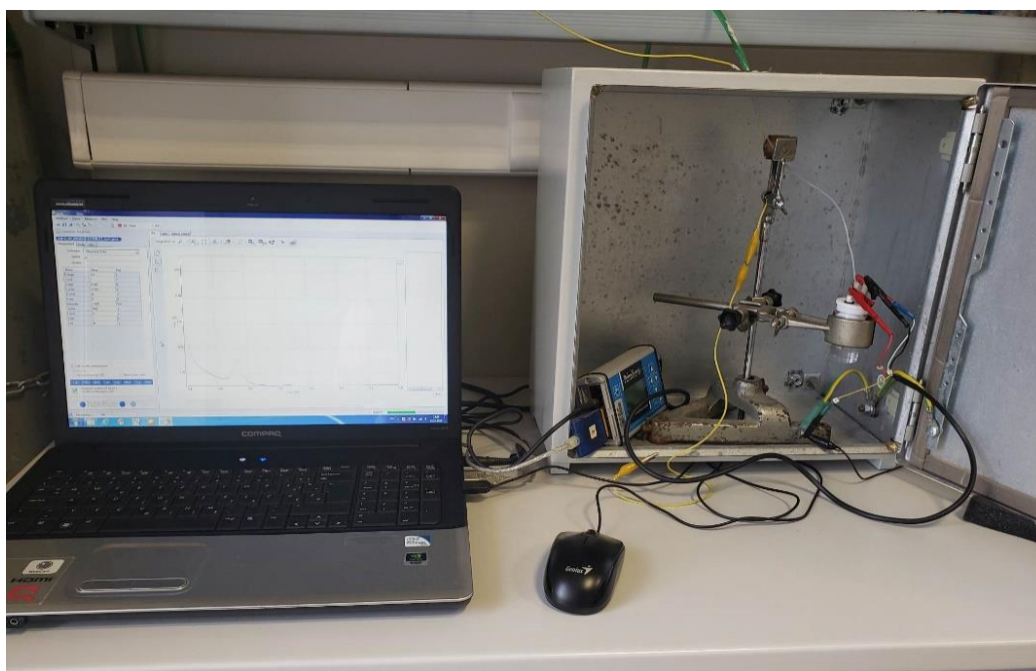
Elektrokemijska mjerenja provedena su u troelektrodnoj voltametrijskom ćeliji koja je prikazana na Slici 10., a koja je spojena na PalmSens potenciostat/galvanostat pri sobnoj temperaturi ( $\theta = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Kao referentna elektroda korištena je Ag/AgCl elektroda koja se koristi za nevodene medije, radna elektroda od staklastog ugljika, dok je kao protuelektroda korištena platinska žica. Elektrode su prikazane na Slici 11. Za obradu dobivenih podataka korišten je PSTrace računalni program. Cijeli sustav za voltametrijska mjerenja prikazan je na Slici 12. Radna elektroda je polirana suspenzijom  $\alpha$ -  $\text{Al}_2\text{O}_3$  prije svakoga mjerenja te je cijeli sustav propuhivan argonom visoke čistoće.



Slika 10. Troelektrodni sustav za voltametrijska mjerenja.



Slika 11. a) Elektroda od staklastog ugljika, b) Platinska žica, c) Ag/Ag<sup>+</sup> elektroda za nevodeni medij.



Slika 12. Aparatura za voltametrijska mjerenja.



Slika 13. Miješanje na vorteksu.

### 3.3. Kalibracija tekućinskog kromatografa visoke djelotvornosti

Pripremljen je niz standardnih otopina  $\alpha$ -tokoferola koncentracije 5 – 60 mg/L i konstruiran je kalibracijski dijagram. Dobivena vrijednost koeficijenta determinacije iznosila je  $R^2 = 0,9994$ .

### 3.4. Priprema realnih uzoraka za tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti

Uzorak peršina kupljen je u dehidriranom obliku, dok je kelj dehidriran u postupku pripreme uzorka. Realni uzorci suhog peršina i kelja najprije su usitnjeni, prosijali i potom vagani kao i uzorak dodatka prehrani. Uzorcima je zatim dodano 0,5 mL 0,2% BHT i odgovarajući volumen

metanola, ovisno o omjeru suhe tvari i ekstrakcijske smjese (za omjer 1:1,25 dodano je 0,16 mL metanola za omjer 1:20 dodano je 2 mL metanola, za omjer 1:30 dodano je 3,25 mL, za omjer 1:40 dodano je 4,5 mL, za omjer 1:50 dodano je 5,75 mL, za omjer 1:80 dodano je 9,50 mL, a za omjer 1:100 dodano je 12 mL metanola). Uzorci su promiješani na vortexu 30 s i ostavljeni su na tamnom mjestu tijekom 1 h. Zatim su uzorci centrifugirani tijekom 10 min pri 6000 rpm i profiltrirani kroz filtere za špricu s veličinom pora 0,20  $\mu\text{m}$ .

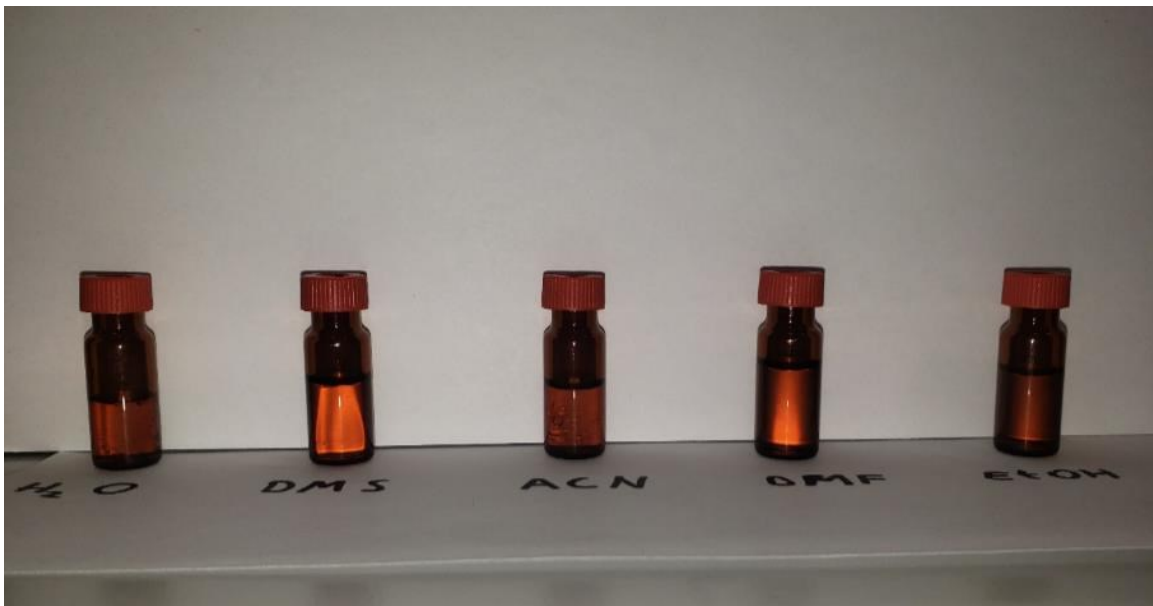
### 3.5. Ponovljivost mjerenja

Da bi se utvrdila ponovljivost mjerenja napravljena su tri uzorka ekstrakta peršina u omjeru 1:50, uzorci su ostavljeni 1 h na tamnom i zatim pripremljeni na isti način kao i prethodni. Svaki uzorak injektiran je dva puta.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

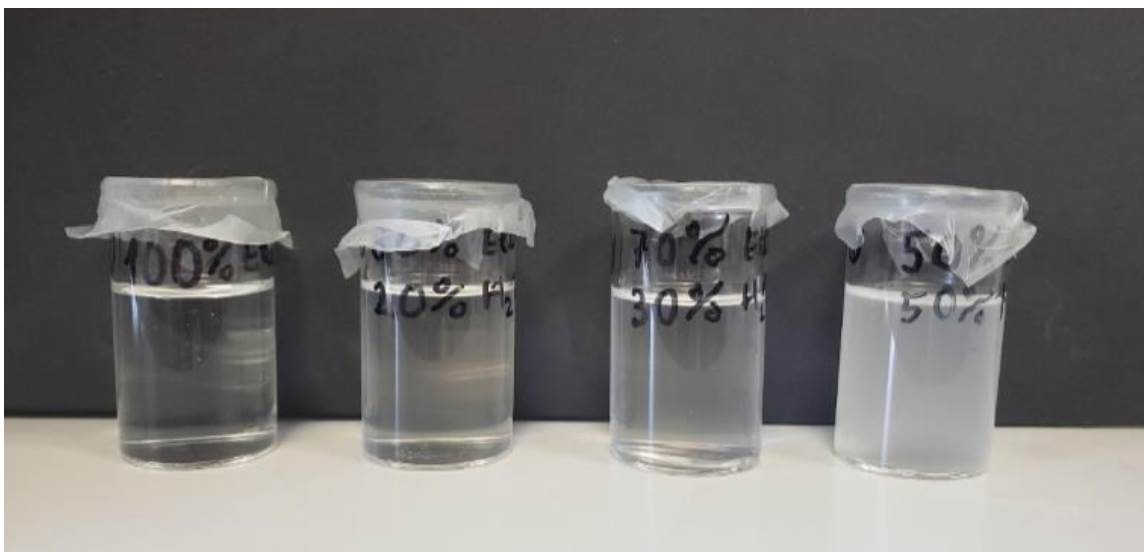
### 4.1. Ispitivanje topljivosti $\alpha$ -tokoferola

Ispitana je topljivost čistog  $\alpha$ -tokoferola u 5 različitih otapala. Na slici 14. su prikazane te otopine. Pokazalo se da  $\alpha$ -tokoferol nije topljiv u vodi, kao ni u dimetilformamidu (DMF-u). Dok je topljiv u dimetil sulfoksidu (DMSO-u), acetonitrilu (ACN-u) i u etanolu. Od ta tri otapala najbolje se pokazao etanol.



Slika 14. Ispitivanje topljivosti  $\alpha$ -tokoferola u vodi, DMSO, ACN, DMF i etanolu.

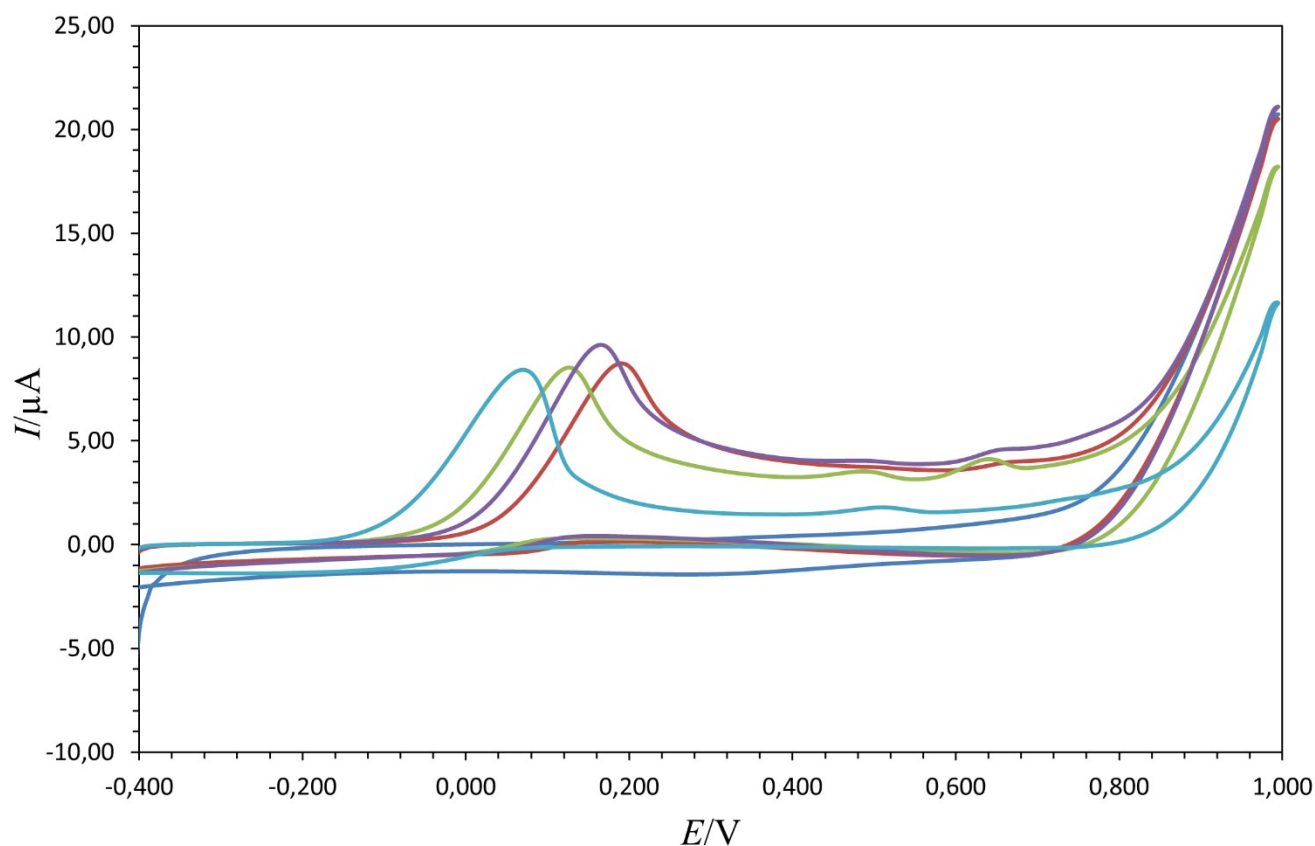
Zatim je ispitivana topljivost  $\alpha$ -tokoferola u različitim omjerima vode i etanola što je prikazano na Slici 15. Pokazalo se da je topljivost najbolja u smjesi vode i etanola u omjeru 30:70.



Slika 15. Ispitivanje topljivosti  $\alpha$ -tokoferola u čistom etanolu, smjesi etanola i vode u omjeru 80:20, smjesi etanola i vode u omjeru 70:30 te u smjesi etanola i vode u omjeru 50:50.

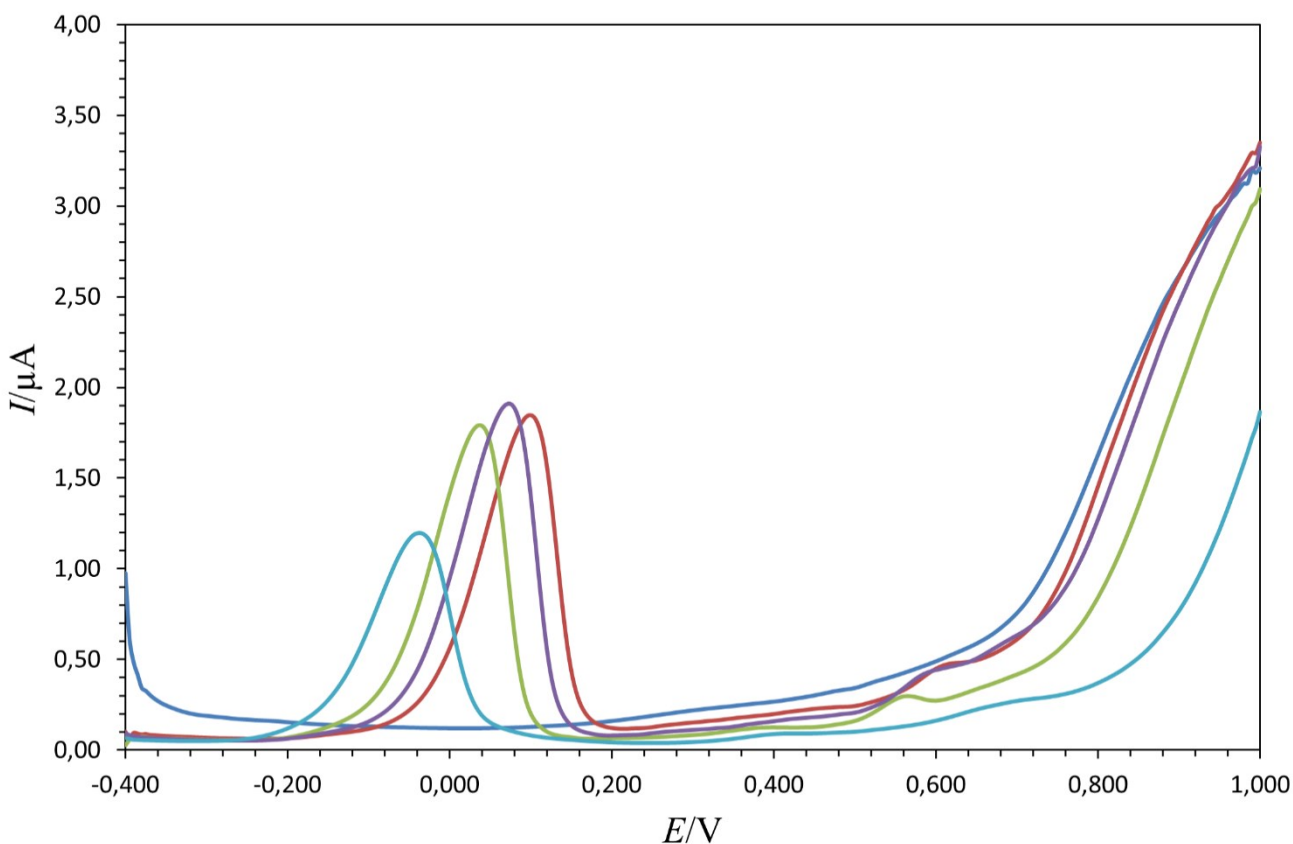
Ciklički voltamogram na Slici 16. prikazuje ovisnost jakosti struje o primijenjenom potencijalu za uzorke koji sadrže različit omjer vode i etanola u otopini. Ciklički voltamogrami otopina  $\alpha$ -tokoferola u čistom etanolu, čistoj vodi, smjesi etanola i vode u omjeru 80:20 te u smjesi etanola i vode u omjeru 70:30 pokazuju ovisnost izraženosti elektrokemijskih svojstava  $\alpha$ -tokoferola o omjeru etanola i vode.





Slika 16. Ciklički voltamogram ovisnosti jakosti struje o primijenjenom potencijalu za otopine  $\alpha$ -tokoferola ( $\gamma = 215,4 \text{ mg dm}^{-3}$ ) s različitim omjerom vode i etanola: čisti etanol (—), 50:50 (—), 70:30 (—) i 80:20 (—).

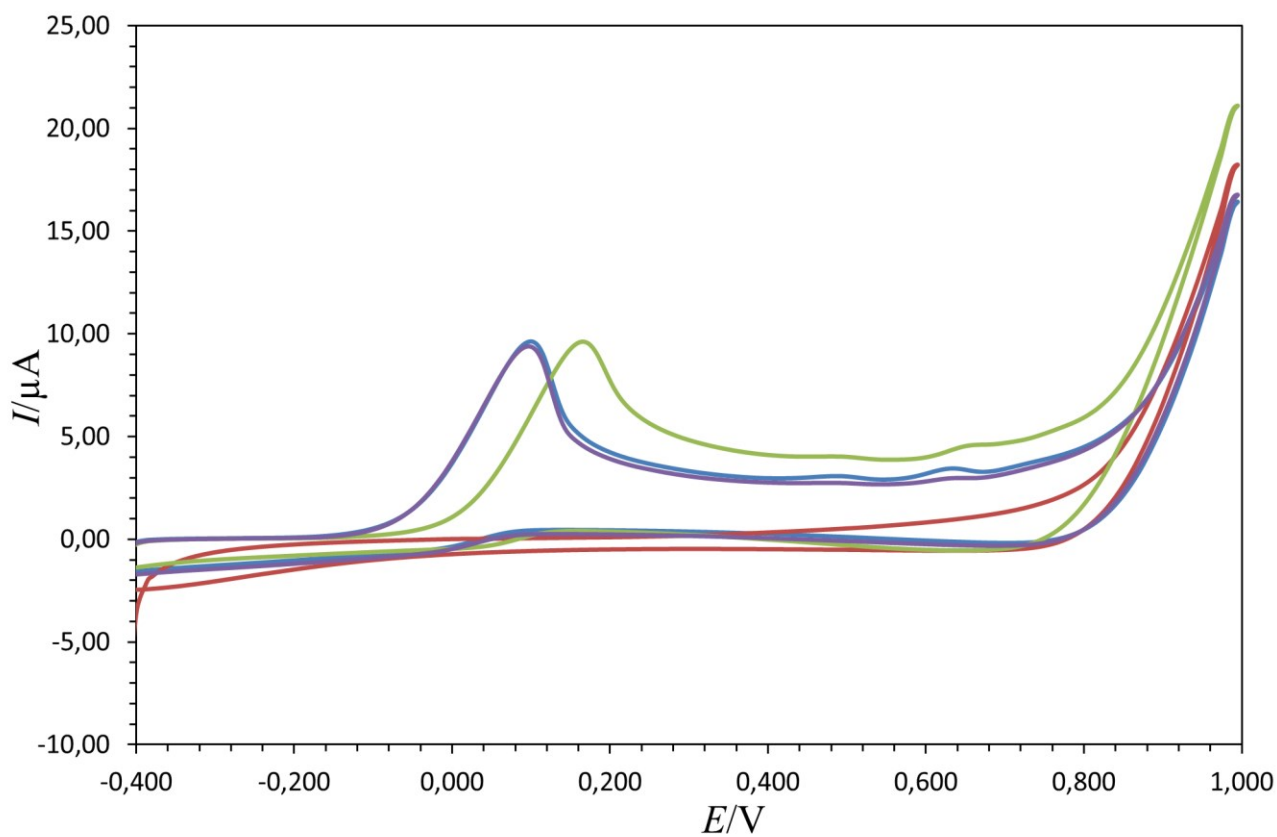
Na Slici 17. prikazani su diferencijalni pulsni voltamogrami za ispitivane uzorke. Diferencijalni pulsni voltamogrami otopina  $\alpha$ -tokoferola u čistom etanolu, smjesi etanola i vode u omjeru 50:50, smjesi etanola i vode u omjeru 80:20 te u smjesi etanola i vode u omjeru 70:30 pokazuju ovisnost oksidacijskog strujnog vrha  $\alpha$ -tokoferola o omjeru etanola i vode. Najviši oksidacijski strujni vrh vidljiv je na voltamogramu za otopinu analita u smjesi etanola i vode u omjeru 70:30.



Slika 17. Diferencijalni pulsni voltamogram ovisnosti jakosti struje o primijenjenom potencijalu za otopine  $\alpha$ -tokoferola ( $\gamma = 215,4 \text{ mg dm}^{-3}$ ) s različitim omjerom vode i etanola: čisti etanol (—), 50:50 (—), 70:30 (—) i 80:20 (—).

#### 4.2. Stabilnost otopine

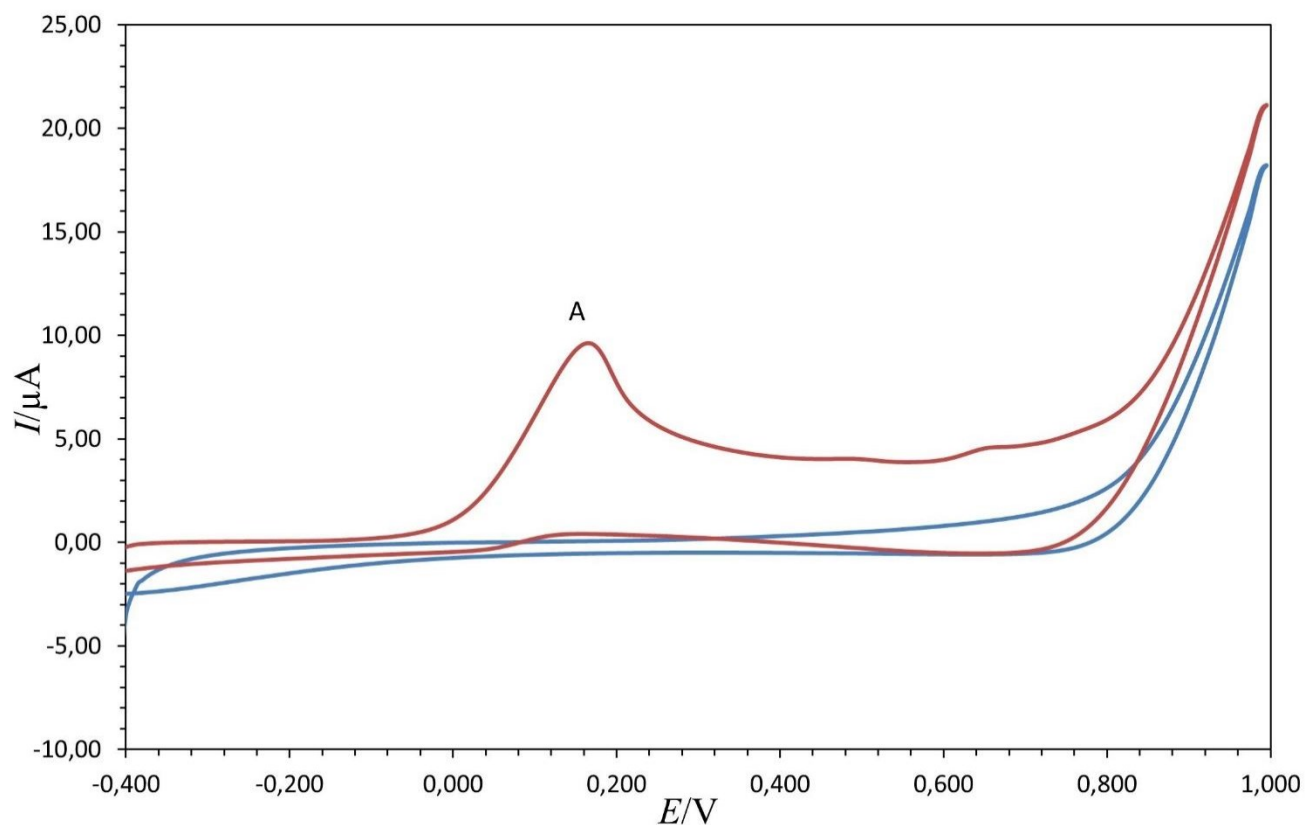
Na Slici 18. su prikazani ciklički voltamogrami svježe pripremljenih i odstajalih otopina  $\alpha$ -tokoferola snimljeni pri brzini polarizacije elektrode  $\nu = 50 \text{ mV/s}$ . Prvi uzorak je svježe pripremljena otopina, drugi uzorak je ista ta otopina nakon jednog dana, a treći uzorak je svježe pripremljena nova otopina. Od ispitivanih otopina najizraženiji oksidacijski strujni vrh dobiven je za svježe pripremljenu otopinu. Stoga se za mjerenja koristila svježe pripremljena otopina.



Slika 18. Ciklički voltamogrami koji prikazuju ovisnost jakosti struje o primijenjenom potencijalu za otopine  $\alpha$ -tokoferola ( $\gamma = 215,4 \text{ mg dm}^{-3}$ ) različitog vremena pripreme: svježe pripremljena otopina (—), ista ta otopina nakon jednog dana (—) i svježe pripremljena nova otopina (—).

#### 4.3. Ciklička voltometrija

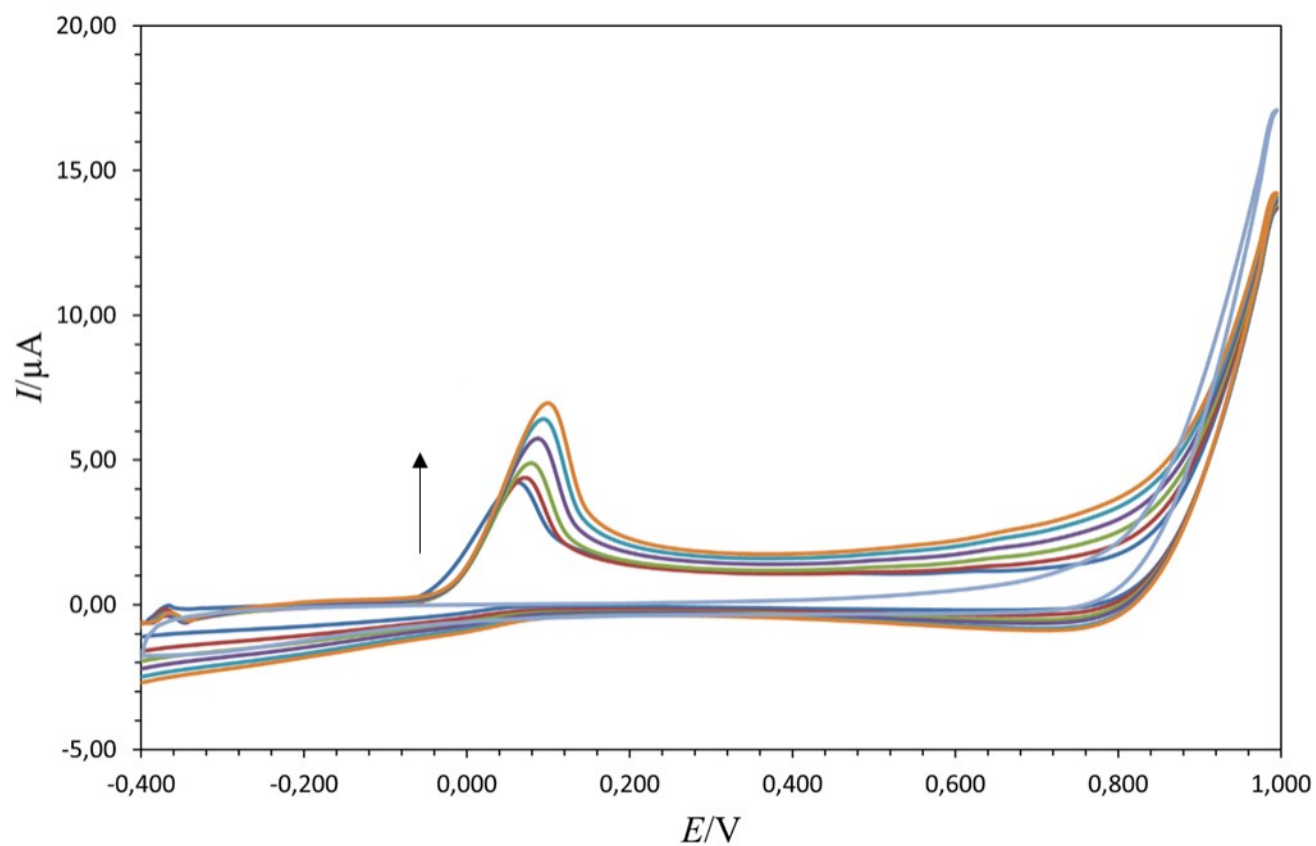
Cikličkom voltametrijom proučavana su svojstva  $\alpha$ -tokoferola. Na slici 19. prikazan je ciklički voltamogram  $\alpha$ -tokoferola u kojem je uočen anodni strujni vrh (A) pri potencijalu,  $E_{p,a} = 0,175 \text{ V}$ . Navedeni oksidacijski strujni vrh se odnosi na ireverzibilnu oksidaciju  $\alpha$ -tokoferola.



Slika 19. Ciklički voltamogrami blank otopine (—) i standardne otopine (—)  $\alpha$ -tokoferola ( $\gamma = 215,4 \text{ mg dm}^{-3}$ ) u smjesi etanola i vode omjera 70:30.

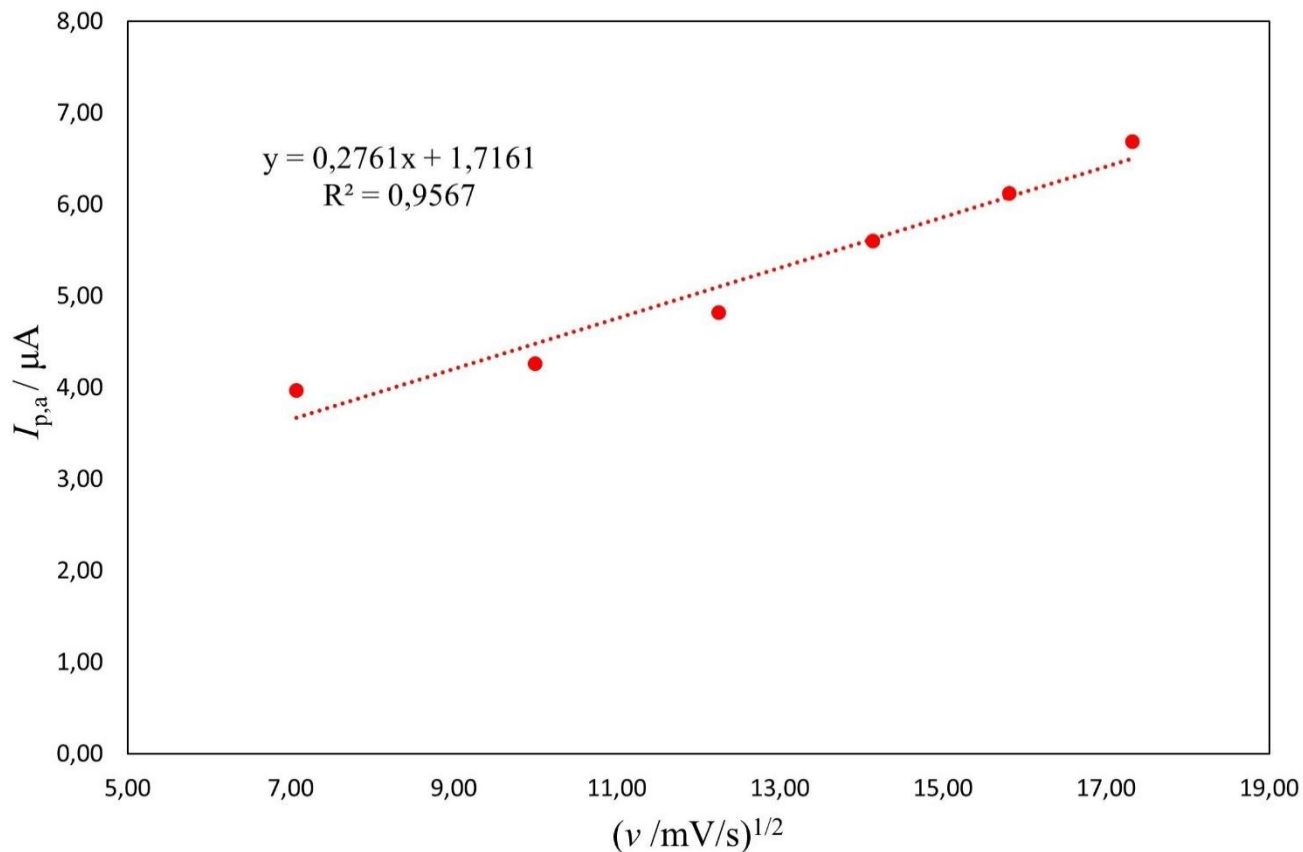
#### 4.3.1. Utjecaj brzine polarizacije

Na Slici 20. su prikazani ciklički voltamogrami  $\alpha$ -tokoferola snimljeni pri različitim brzinama polarizacije elektrode. Utvrđeno je da struja oksidacijskog strujnog vrha raste s povećanjem brzine polarizacije elektrode te se pomiče prema višim potencijalima (pozitivira se).



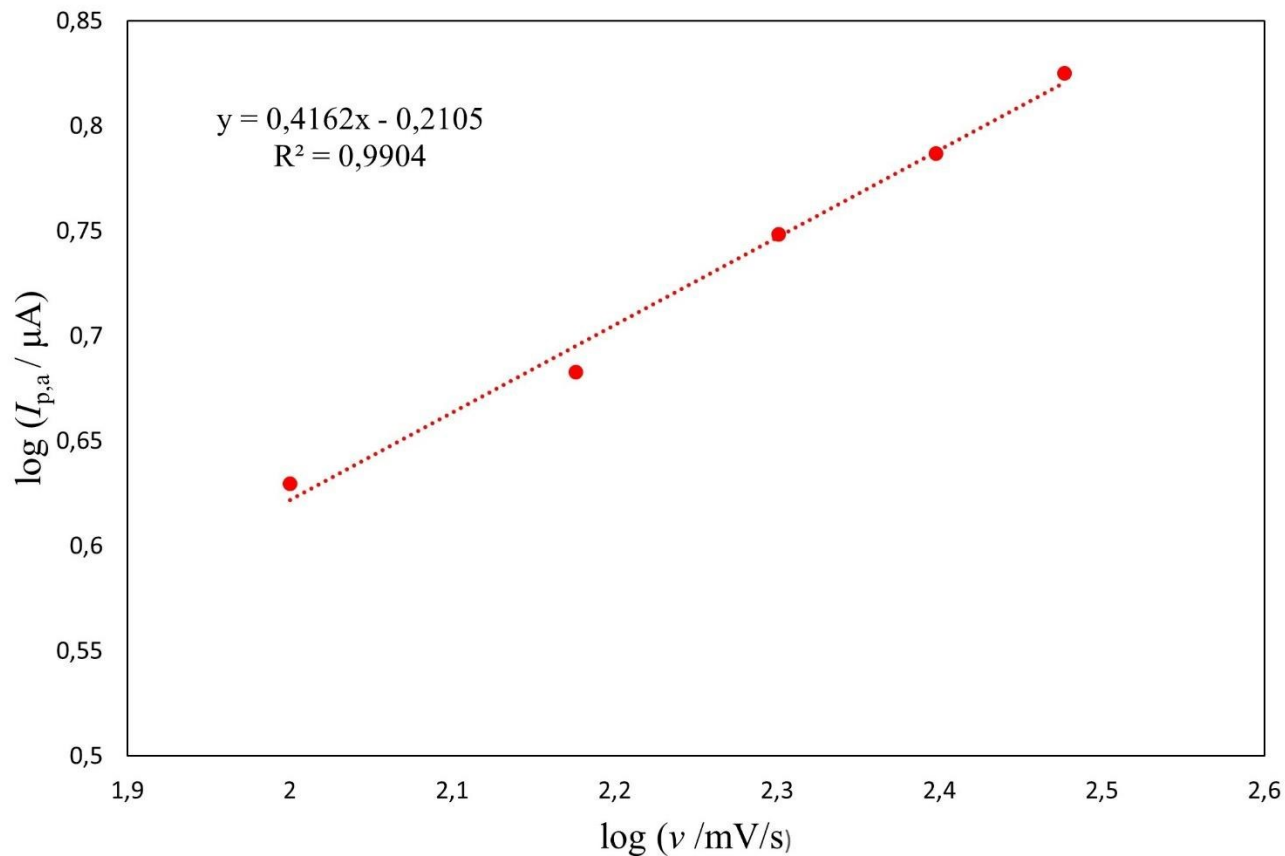
Slika 20. Ciklički voltamogrami  $\alpha$ -tokoferola ( $\gamma=215,4 \text{ mg dm}^{-3}$ ) koji prikazuju ovisnost jakosti struje o primijenjenom potencijalu pri različitim brzinama polarizacije radne elektrode. ( $\nu = 50 \text{ mV/s}$  (—),  $\nu = 100 \text{ mV/s}$  (—),  $\nu = 150 \text{ mV/s}$  (—),  $\nu = 200 \text{ mV/s}$  (—),  $\nu = 250 \text{ mV/s}$  (—),  $\nu = 300 \text{ mV/s}$  (—)).

Slika 21. prikazuje ovisnost struje oksidacijskog strujnog vrha ( $I_{p,a}$ ) o drugom korijenu brzine polarizacije te se može zaključiti da se radi o linearnoj ovisnosti što ukazuje na difuzijski kontrolirani proces.



Slika 21. Struja anodnog strujnog vrha ( $I_{p,a}$ ), kao funkcija drugog korijena brzine promjene potencijala ( $v^{1/2}$ ).

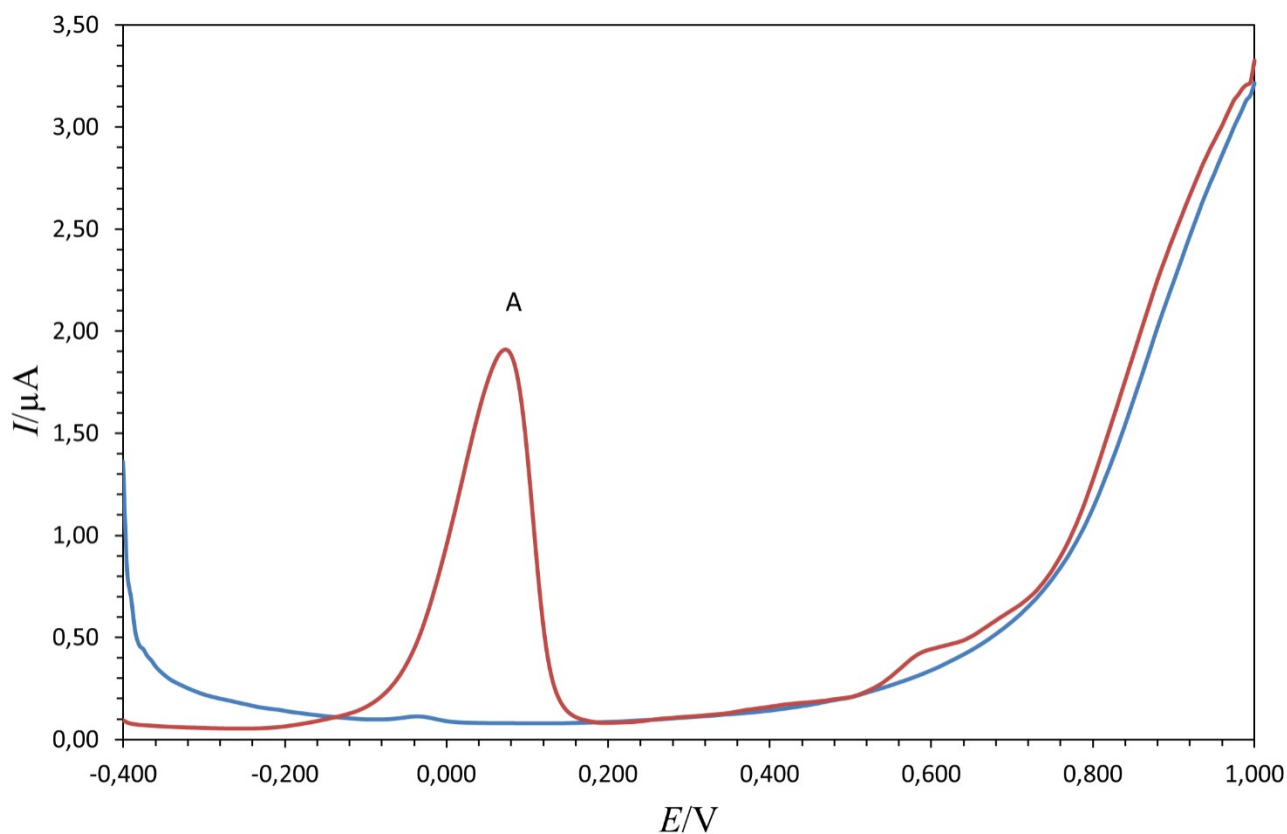
Na Slici 22. prikazana je grafički ovisnosti logaritma struje oksidacijskog strujnog vrha ( $I_{p,a}$ ) o logaritmu brzine polarizacije elektrode pokazuje linearnu ovisnost za anodni strujni vrh. Nagib pravca je oko 0,5 što dovodi do zaključka da je oksidacijski mehanizam  $\alpha$ -tokoferola difuzijski kontroliran proces.



Slika 22. Ovisnosti logaritma struje oksidacijskog strujnog vrha ( $\log I_{p,a}$ ) o logaritmu brzine polarizacije elektrode ( $\log v$ ).

#### 4.4. Diferencijalna pulsna voltametrija

Na Slici 23. prikazan je diferencijalni pulsni voltamogram  $\alpha$ -tokoferola koji je otopljen u smjesi etanola i vode u omjeru 70:30. Uočen je jedan oksidacijski strujni vrh (A) pri potencijalu,  $E_{p,a} = 0,070$  V koji se odnosi na oksidaciju  $\alpha$ -tokoferola.

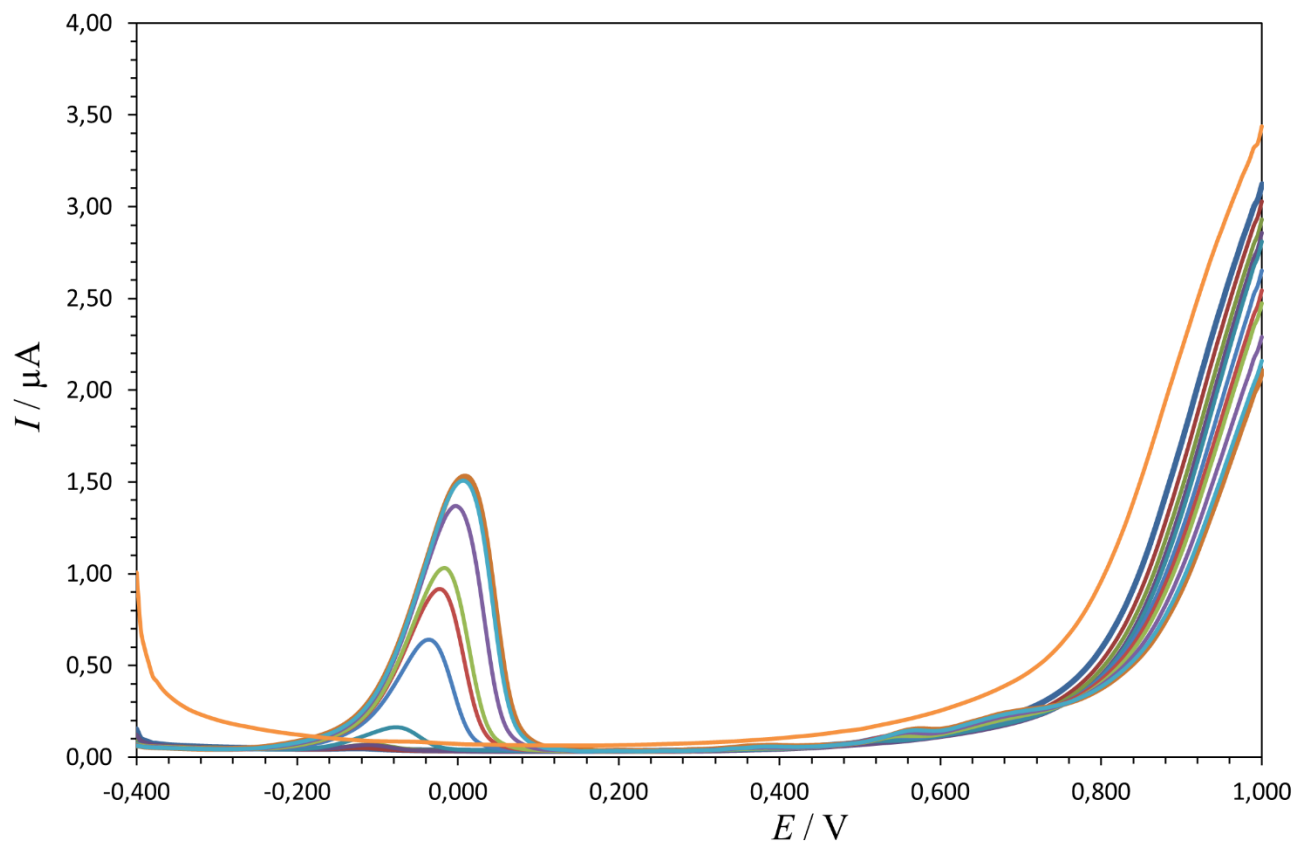


Slika 23. Diferencijalni pulsni voltamogram standardne otopine  $\alpha$ -tokoferola ( $\gamma = 215,4 \text{ mg dm}^{-3}$ ) (—) i blank otopine (—) snimljeni u smjesi etanola i vode u omjeru 70:30,  $v = 5 \text{ mV/s}$ .

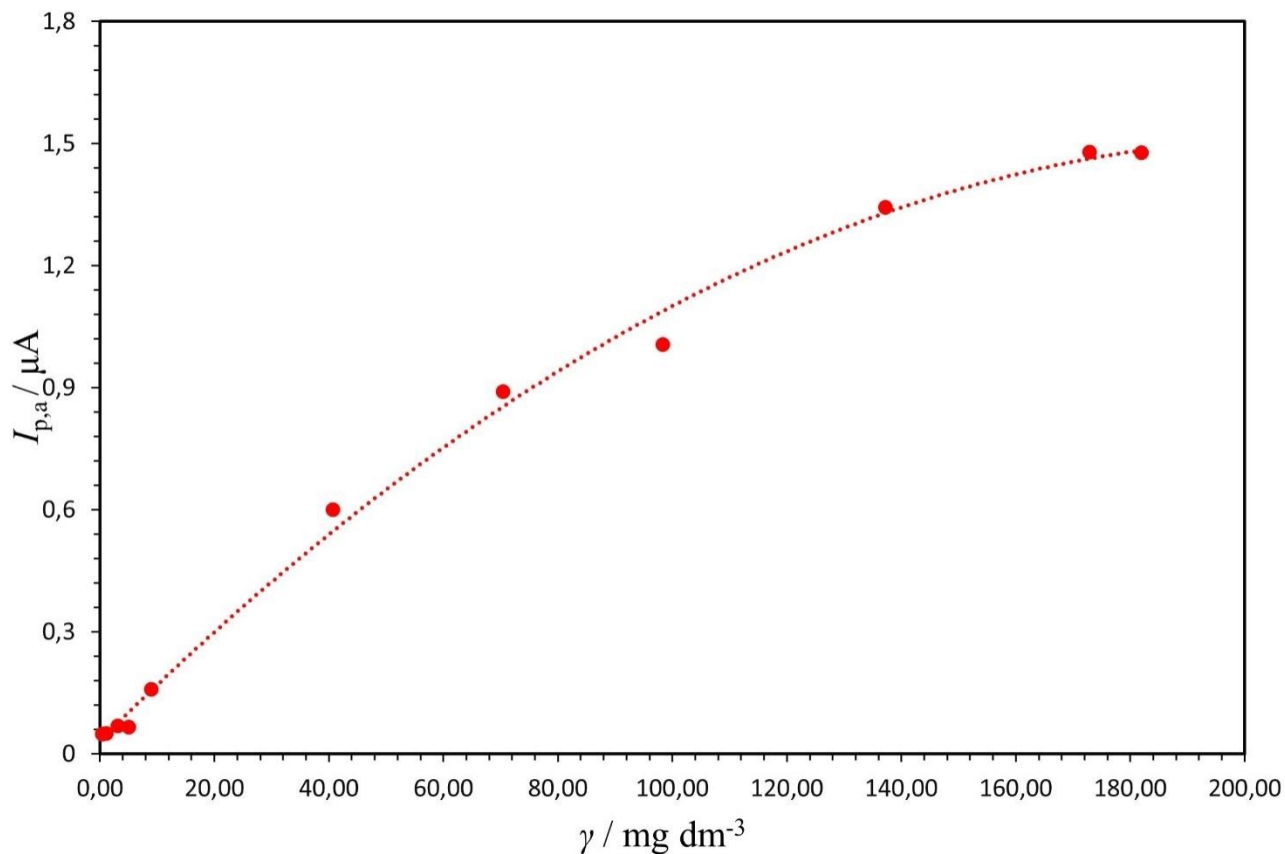
#### 4.4.1. Utjecaj koncentracije analita

Na slici 24. prikazan je diferencijalni pulsni voltamogram koji opisuje ovisnost struje oksidacijskog strujnog vrha,  $I_{p,a}$  o koncentraciji otopine  $\alpha$ -tokoferola. Mjerenja su provedena u granicama potencijala od  $-0,40 \text{ V}$  do  $1,00 \text{ V}$ . Utvrđeno je da je visina oksidacijskog strujnog vrha linearno ovisna o koncentraciji  $\alpha$ -tokoferola u otopini. Na slici 25. prikazan je i grafički prikaz ovisnosti  $I_{p,a}$  o koncentraciji  $\alpha$ -tokoferola. Iz njega se također može zaključiti da visina oksidacijskog strujnog vrha linearno raste s povećanjem koncentracije  $\alpha$ -tokoferola u otopini u koncentracijskom području od  $\gamma = 0,43 \text{ mg dm}^{-3}$  do  $\gamma = 70,41 \text{ mg dm}^{-3}$ .





Slika 24. Diferencijalni pulsni voltamogrami otopina  $\alpha$ -tokoferola različitih masenih koncentracija ( $\gamma = 0,43 \text{ mg dm}^{-3}$  (—), ( $\gamma = 1,10 \text{ mg dm}^{-3}$  (—), ( $\gamma = 3,09 \text{ mg dm}^{-3}$  (—),  $\gamma = 5,07 \text{ mg dm}^{-3}$  (—),  $\gamma = 9,02 \text{ mg dm}^{-3}$  (—),  $\gamma = 40,69 \text{ mg dm}^{-3}$  (—)  $\text{mg dm}^{-3}$ ,  $\gamma = 70,41 \text{ mg dm}^{-3}$  (—),  $\gamma = 98,33$  (—),  $\gamma = 137,21 \text{ mg dm}^{-3}$  (—),  $\gamma = 172,87 \text{ mg dm}^{-3}$  (—),  $\gamma = 181,89 \text{ mg dm}^{-3}$  (—) i blank otopine (—)).



Slika 25. Grafički prikaz ovisnosti struje oksidacijskog strujnog vrha ( $I_{p,a}$ ) o masenoj koncentraciji  $\alpha$ -tokoferola ( $\gamma$ ).

#### 4.5. Analiza realnih uzoraka tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti

##### 4.5.1. Usporedba rezultata dobivenih ekstrakcijom različitih omjera suhe tvari i ekstrakcijske smjese

Koncentracija  $\alpha$ -tokoferola određena je u uzorcima suhe tvari realnih uzoraka koji su ekstrahirani u različitim omjerima sa smjesom otapala koja se sastoji od BHT i metanola. U tablicama su prikazani rezultati dobiveni mjerenjem koncentracije  $\alpha$ -tokoferola u takvim otopinama.

#### 4.5.1.1. Dodatak prehrani s vitaminom E

U tablici 3. prikazani su rezultati usporedbe različitih omjera suhe tvari i ekstrakcijske smjese za uzorak koji je dodatak prehrani. Za slučaj kada je za ekstrakciju  $\alpha$ -tokoferola uzet omjer suhe tvari i smjese za ekstrakciju 1:20 prosječan rezultat iznosi 0,014 mg/100g, dok je za omjer suhe tvari i smjese za ekstrakciju 1:1,25 dobivena koncentracija  $\alpha$ -tokoferola u prosjeku iznosila 0,0060 mg/100g. Iako je izmjereni sadržaj  $\alpha$ -tokoferola u uzorcima s omjerom suha tvar: ekstrakcijska smjesa 1:20 veći kada je izražen u mg/100g, instrumentom se teško određivala koncentracija u mg/L pa je za daljnja mjerenja ovog uzorka uzet omjer 1:1,25.

Tablica 3. Usporedba rezultata dobivenih iz različitih omjera suhe tvari i smjese za ekstrakciju  $\alpha$ -tokoferola iz uzorka dodatka prehrani.

uzorak	vrijeme ekstrakcije		
	omjer suha tvar : ekstr. smjesa	1h	
dodatak prehrani	1:20	0,007	0,014
dodatak prehrani	1:1.25	0,049	0,006

#### 4.5.1.2. Peršin

Rezultati dobiveni za ekstrakciju  $\alpha$ -tokoferola iz peršina različitim omjerima suhe tvari i ekstrakcijske smjese prikazani su u Tablici 4. Kada je za ekstrakciju korišten omjer suhe tvari i smjese za ekstrakciju 1:30 rezultat iznosi 0,694 mg/100g, za omjer suhe tvari i smjese za ekstrakciju 1:40 dobivena koncentracija  $\alpha$ -tokoferola iznosi 0,696 mg/100g te je za omjer 1:50 0,695 mg/100g. Za sva tri slučaja rezultat je sličan pa je za daljnja mjerenja ovog uzorka uzet omjer 1:50.

Tablica 4. Usporedba rezultata dobivenih iz različitih omjera suhe tvari i smjese za ekstrakciju  $\alpha$ -tokoferola iz uzorka peršina.

uzorak	vrijeme ekstrakcije	1h	
	omjer suha tvar : ekstr. smjesa	rezultat (mg/L)	rezultat (mg/100g)
peršin	1:30	0,229	0,694
peršin	1:40	0,174	0,696
peršin	1:50	0,139	0,695

#### 4.5.1.3.Kelj

U Tablici 5. prikazana je usporedba rezultata dobivenih za mjerenje sadržaja  $\alpha$ -tokoferola u kelju različitim omjerima suhe tvari i ekstrakcijske smjese. Kada je za ekstrakciju korišten omjer suhe tvari i smjese za ekstrakciju 1:50 rezultat iznosi 0,125 mg/100g, za omjer suhe tvari i smjese za ekstrakciju 1:80 dobivena je koncentracija  $\alpha$ -tokoferola 0,120 mg/100g te je za omjer 1:100 iznosila 0,110 mg/100g. Iz rezultata se može zaključiti da je ekstrakcija  $\alpha$ -tokoferola najbolja bila za omjer 1:50 pa je za daljnja mjerenja ovog uzorka uzet taj omjer.

Tablica 5. Usporedba rezultata dobivenih iz različitih omjera suhe tvari i smjese za ekstrakciju  $\alpha$ -tokoferola iz uzorka kelja.

uzorak	vrijeme ekstrakcije	1h	
	omjer suha tvar : ekstr. smjesa	rezultat (mg/L)	rezultat (mg/100g)
kelj	1:50	0,025	0,125
kelj	1:80	0,015	0,120
kelj	1:100	0,011	0,110

#### 4.5.2. Usporedba rezultata ispitivanja stabilnosti uzoraka za peršin i kelj

##### 4.5.2.1. Peršin

U Tablici 6. prikazana je usporedba rezultata ispitivanja stabilnosti otopine uzorka peršina. Za omjer 1:30 za smjesu koja je ostavljena na tamnom 1h, kao i za smjesu koja je na tamnom ostavljena 2h rezultat 0,694 mg/100g . Za omjer 1:40 za smjesu koja je ostavljena 1 h rezultat iznosi 0,696 mg/100g dok je za isti omjer za smjesu koja je ostavljena 2h rezultat 0,680 mg/100g. Za omjer suhe tvari i smjese otapala 1:50 za otopinu koja je 1h ostavljena na tamnom rezultat iznosi 0,695 mg/100g, a za onu koja je ostavljena 2h iznosi 0,715 mg/100g. Time je pokazano da ostavljanje otopine uzorka u smjesi za ekstrakciju tijekom 2 h ne pridonosi znatno boljoj ekstrakciji  $\alpha$ -tokoferola. Uzorci su zatim uzeti iz otopina za ekstrakciju koji su pripremljeni 96 h ranije i čuvani u hladnjaku te nisu filtrirani. Uzorci su uzeti iz otopine na dan kada su analizirani te su filtrirani i pripremljeni kao i ostali uzorci i ostavljeni na tamnom. Dobiveni su rezultati za omjer 1:30 0,685 mg/100g za smjesu koja je na tamnom ostavljena 1h, dok je rezultat za smjesu koja je na tamnom ostavljena 2 h 0,673 mg/100g. Za omjer suhe tvari i ekstrakcijske smjese 1:40 rezultat iznosi 0,684 mg/100g kada je smjesa ostavljena na tamnom 1 h, dok je rezultat za jednak omjer za smjesu koja je na tamnom ostavljena 2 h 0,660 mg/100g. Za omjer 1:50 dobiven je rezultat 0,685 mg/100g za smjesu koja je na tamnom ostavljena 1h, a za smjesu jednakog omjera koja je na tamnom ostavljena 2 h rezultat iznosi 0,700 mg/100g. Time smo uvidjeli da se ekstrakcija ne poboljšava stajanjem ekstrakcijske smjese tijekom dužeg vremena bez filtriranja.

Tablica 6. Usporedba rezultata ispitivanja stabilnosti otopine uzorka peršina.

uzorak	vrijeme ekstrakcije	1 h	96 h	2 h	96 h
	omjer suha tvar : ekstr. smjesa	rezultat (mg/100g)		rezultat (mg/100g)	
peršin	1:30	0,694	0,685	0,694	0,673
peršin	1:40	0,696	0,684	0,680	0,660
peršin	1:50	0,695	0,685	0,715	0,700

#### 4.5.2.2. Kelj

U Tablici 7. prikazana je usporedba rezultata ispitivanja stabilnosti otopine uzorka kelja. Za omjer 1:50 za smjesu koja je ostavljena na tamnom 1h rezultat je 0,125 mg/100g. Za omjer 1:80 za smjesu koja je ostavljena 1 h rezultat iznosi 0,120 mg/100g. Za omjer suhe tvari i smjese otapala 1:100 za otopinu koja je 1h ostavljena na tamnom rezultat iznosi 0,110 mg/100g. Uzorci su ostavljeni 72 h te su na dan mjerenja pripremljeni za analizu. Rezultati pokazuju da je za omjer 1:50 rezultat 0,130 mg/100g. Za omjer 1:80 iznosi 0,112 mg/100g. Za omjer suhe tvari i smjese otapala 1:100 rezultat iznosi 0,110 mg/100g. Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da ostavljanjem otopine uzorka u smjesi za ekstrakciju tijekom 72 h ne pridonosi boljoj ekstrakciji  $\alpha$ -tokoferola iz kelja, štoviše kod uzorka gdje je omjer suhe tvari i ekstrakcijske smjese 1:80 koncentracija  $\alpha$ -tokoferola je smanjena.

Tablica 7. Usporedba rezultata ispitivanja stabilnosti otopine uzorka kelja.

uzorak	vrijeme ekstrakcije	1 h	72 h
	omjer suha tvar : ekstr. smjesa	rezultat (mg/100g)	
kelj	1:50	0,125	0,130
kelj	1:80	0,120	0,112
kelj	1:100	0,110	0,110

#### 4.5.3. Ponovljivost mjerenja

Rezultati ponovljivosti mjerenja prikazani su u Tablici 8. na primjeru rezultata za uzorak peršina. Srednja vrijednost rezultata mjerenja za prvo injektiranje je 0,833 mg/100g, dok za drugo injektiranje srednja vrijednost iznosi 0,823 mg/100g. Standardna devijacija rezultata dobivenih za prvo injektiranje iznosi 0,020, a za drugo 0,019. Relativno standardno odstupanje za rezultate dobivene za prvo injektiranje je 2,425%, a za drugo iznosi 2,299%. Interval pouzdanosti metode je za prvo injektiranje uzorka  $\pm 0,023$ , dok je za drugo 0,021.

Tablica 8. Preciznost metode na primjeru mjerenja za uzorak peršina.

uzorak	omjer suha tvar : ekstr. smjesa	rezultat (mg/100g)	
		1	2
peršin 1	1:50	0,845	0,845
peršin 2	1:50	0,845	0,815
peršin 3	1:50	0,810	0,810
<b>srednja vrijednost</b>		<b>0,833</b>	<b>0,823</b>
<b>SD</b>		0,020	0,019
<b>RSD (%)</b>		2,425	2,299
<b>interval pouzdanosti (±)</b>		0,023	0,021

#### 4.5.4. Rezultati mjerenja realnih uzoraka

Realni uzorci peršina, kelja i dodatka prehrani pripremljeni su na prethodno opisani način te su ostavljeni 1h na tamnom i zatim pripremljeni na isti način kao i prethodni. Svaki uzorak injektiran je dva puta uzastopno, a rezultati mjerenja prikazani su u Tablici 9. Rezultati mjerenja za uzorke peršina iznose 0,840 mg/100g, 0,830 mg/100g te 0,810 mg/100g. Srednja vrijednost tih rezultata iznosi 0,827 mg/100g. Standardna devijacija je 0,015, a relativno standardno odstupanje iznosi 1,848%. Interval pouzdanosti podataka za uzorak peršina iznosi  $\pm 0,012$ . Za uzorke kelja mjerenjima su dobiveni rezultati 0,145 mg/100g, 0,155 mg/100g te 0,150 mg/100g. Srednja vrijednost rezultata iznosi 0,150 mg/100g, a njihova standardna devijacija 0,005. Relativno standardno odstupanje je 3,333%, a interval pouzdanosti  $\pm 0,004$ . Rezultati mjerenja za uzorke praškastog dodatka prehrani iznose 0,006 mg/100g, 0,007 mg/100g te 0,008 mg/100g. Srednja vrijednost rezultata za te uzorke iznosi 0,007 mg/100g, a njihova standardna devijacija 0,001. Relativno standardno odstupanje navedenih rezultata iznosi 15,947, dok je interval pouzdanosti  $\pm 0,001$ .

Tablica 9. Rezultati mjerenja realnih uzoraka.

uzorak	peršin	kelj	praškasti dodatak
<b>omjer suha tvar : ekstr. smjesa</b>	1:50	1:50	1:1.25
<b>mg/100g</b>			
1	0,840	0,145	0,006
2	0,830	0,155	0,007
3	0,810	0,150	0,008
<b>srednja vrijednost</b>	<b>0,827</b>	<b>0,150</b>	<b>0,007</b>
<b>SD</b>	0,015	0,005	0,001
<b>RSD (%)</b>	1,848	3,333	15,947
<b>interval pouzdanosti (±)</b>	0,012	0,004	0,001



## 5. ZAKLJUČAK

U ovom radu ispitivana su elektrokemijska svojstva  $\alpha$ -tokoferola uz pomoć dvije elektrokemijske metode. Korištene su ciklička i diferencijalna pulsna voltometrija. Ciklička voltometrija korištena je za proučavanje oksidacijskog mehanizma  $\alpha$ -tokoferola, a diferencijalna pulsna voltometrija je korištena za praćenje utjecaja koncentracije na oksidacijski strujni vrh  $\alpha$ -tokoferola. HPLC metodom je  $\alpha$ -tokoferol kvantitativno određen u realnim uzorcima. Najprije je standardna otopina  $\alpha$ -tokoferola analizirana cikličkom voltametrijom te je određen oksidacijski strujni vrh, zatim je ispitan utjecaj brzine polarizacije te utjecaj starosti standardne otopine na oksidacijski strujni vrh. Zaključeno je da struja i potencijal oksidacijskog strujnog vrha rastu s povećanjem brzine polarizacije dok se struja oksidacijskog strujnog vrha malo smanjuje s vremenom stajanja otopine. Standardna otopina analizirana je i diferencijalnom pulsom voltametrijom te je određen oksidacijski strujni vrh i je zatim ispitan utjecaj koncentracije otapala na njegovu visinu te je uočena linearna ovisnost u području koncentracija od  $\gamma = 0,43 \text{ mg dm}^{-3}$  do  $\gamma = 70,41 \text{ mg dm}^{-3}$ . Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti korištena je za analizu realnih uzoraka. Rezultati mjerenja za uzorke peršina iznose  $0,840 \text{ mg/100g}$ ,  $0,830 \text{ mg/100g}$  te  $0,810 \text{ mg/100g}$ . Srednja vrijednost tih rezultata iznosi  $0,827 \text{ mg/100g}$ . Standardna devijacija je  $0,015$ , a relativno standardno odstupanje iznosi  $1,848\%$ . Interval pouzdanosti podataka za uzorak peršina iznosi  $\pm 0,012$ . Za uzorke kelja dobiveni su rezultati  $0,145 \text{ mg/100g}$ ,  $0,155 \text{ mg/100g}$  te  $0,150 \text{ mg/100g}$ . Srednja vrijednost rezultata iznosi  $0,150 \text{ mg/100g}$ , a njihova standardna devijacija  $0,005$ . Relativno standardno odstupanje je  $3,333\%$ , a interval pouzdanosti  $\pm 0,004$ . Rezultati mjerenja za uzorke praškastog dodatka prehrani iznose  $0,006 \text{ mg/100g}$ ,  $0,007 \text{ mg/100g}$  te  $0,008 \text{ mg/100g}$ . Njihova srednja vrijednost iznosi  $0,007 \text{ mg/100g}$ , a standardna devijacija  $0,001$ . Relativno standardno odstupanje navedenih rezultata iznosi  $15,947$ , dok je interval pouzdanosti  $\pm 0,001$ . Vitamin E ima nezamjenjivu ulogu ljudskom organizmu te je stoga vrijedno nastaviti istraživanja u tom području.

## 6. LITERATURA

- [1] <https://www.oxfordlearnersdictionaries.com/definition/english/vitamin> (28.5.2023.)
- [2] <https://thesciencenotes.com/vitamins-source-functions-classification-and-optimal-recommended-daily-intake/> (30.9..2023.)
- [3] <https://www.medicalnewstoday.com/articles/195878#supplements> (28.5.2023.)
- [4] R. Brigelios-Flohe, M.G. Traber, *The FASEB Journal*, 13, (1999.),1145-1155
- [5] S. Rizvi, S. T. Raza, F. Ahmed, A. Ahmad, S. Abbas, F. Mahdi, *Sultan Qaboos University Medical Journal*, (2014), 157-165
- [6] A. Rack, *Određivanje vitamina E*, Odjel za kemiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
- [7] M. Lovrić, K. Dukić, *Klinička primjena i značaj praćenja vrijednosti vitamina A i E u serumu*, Zbornik sveučilišta *Libertas*, 4, (2019)
- [8] <https://www.myfooddata.com/articles/vitamin-e-foods.php> (2.6.2023.)
- [9] <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminE-HealthProfessional/> (2.6.2023.)
- [10] N. Elgrishi, K. J. Rountree, B. D. McCarthy, E. S. Rountree, T. T. Eisenhart, J. L. Dempsey, *A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry*, *Journal of Chemical Education*, 95, (2018), 197–206
- [11] <https://www.britannica.com/science/electrochemistry> (8.6.2023.)
- [12] <https://www.britannica.com/science/chemical-analysis/Electroanalysis#ref621215> (8.6.2023.)
- [13] M. Soylak, E. Yilmaz, *New Generation Green Solvents for Separation and Preconcentration of Organic and Inorganic Species*, Elsevier Amsterdam, 2020.
- [14] A. Plasajec, (2022), *Elektrokemijska karakterizacija protokatehnične kiseline*, Diplomski rad, Odjel za kemiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
- [15] C. O. Chikere,(2020.), *Electrochemical determination of gallic acid in food matrices using novel material*, PhD, Robert Gordon University, Aberdeen
- [16] <https://www.ossila.com/pages/cyclic-voltammetry> (30.9.2023.)
- [17] T. Marčinko,(2017.), *Elektrokemijska karakterizacija rutina*, Diplomski rad, Odjel za kemiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
- [18] V. Sesar, (2015.), *Ispitivanje oksidacijskih svojstava kompleksa bakra sa Schiffovom bazom upotrebom diferencijalne pulsne voltametrije*, Završni rad, Odjel za kemiju, Sveučilište Josipa

Jurja Strossmayera u Osijeku

[19] <https://microbenotes.com/high-performance-liquid-chromatography-hplc/> (11.6.2023.)

[20] [https://www.medicalnewstoday.com/articles/266370#drug\\_interactions](https://www.medicalnewstoday.com/articles/266370#drug_interactions) (11.6.2023.)

[21] <https://www.healthkart.com/connect/what-is-kale-and-what-makes-it-a-superfood/>  
(25.8.2023.)

## 7. ŽIVOTOPIS

<b>Osobni podaci:</b>	
Ime i prezime	Valentina Danković
Datum i mjesto rođenja	28.04.1997., Slavonski Brod
e-mail	valentina.dankovic97@gmail.com
<b>Obrazovanje:</b>	
2021.-2023.	<b>Diplomski sveučilišni studij kemije; istraživački smjer,</b> Sveučilište Josip Juraj Strossmayer u Osijeku, Odjel za kemiju, Ulica cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek
2017.-2021.	<b>Preddiplomski sveučilišni studij kemije,</b> Sveučilište Josip Juraj Strossmayer u Osijeku, Odjel za kemiju, Ulica cara Hadrijana 8/A, 31000 Osijek Završni rad: Mjerenje površinske napetosti i gustoće elektroizolacijskih tekućina Mentorica: izv. prof. dr. sc. Martina Medvidović- Kosanović
2012.-2017.	Gimnazija „Matija Mesić“ , Slavonski Brod, Opća gimnazija
<b>Osobne vještine:</b>	
Engleski jezik	Aktivno u govoru i pismu
Njemački jezik	A2 razina
<b>Sudjelovanje na kongresima:</b>	
	2022. sudjelovanje na 2. međunarodnoj studentskoj Green konferenciji
	2023. sudjelovanje na 14. međunarodnom znanstveno-stručnom skupu Hranom do zdravlja

