



Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Nikolina Peranić

Studentica 4. godine Diplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

**KARAKTERIZACIJA OKSIDACIJE KVERCETINA
VODIKOVIM PEROKSIDOM KATALIZIRANE
ŽELJEZOVIM IONIMA**

Viši praktikum fizikalne kemije 1

Voditelji: prof. dr. sc. Vladislav Tomišić
dr. sc. Suzana Šegota
Anja Sadžak, mag. chem.

Zagreb, 2019. godina

SADRŽAJ

1. UVOD	2
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. Lipidna peroksidacija	3
2.2. Flavonoidi	5
2.3. Kvercetin	6
3. EKSPERIMENTALNI DIO I REZULTATI	7
3.1. Materijali	7
3.2. Uvjeti snimanja	7
3.3. Stabilnost kvercetina	8
3.4. Reakcija kvercetina, vodikovog peroksida i željezovog(II) iona u EtOH i EtOH/PBS	13
3.5. Titracija željezovih soli kvercetinom	17
3.6. Titracija kvercetina željezovim(III) ionom	18
3.7. Titracija kvercetina željezovim(II) ionom	22
4. ZAKLJUČAK	24
5. LITERATURA	25

1. UVOD

Lipidna peroksidacija lančana je reakcija slobodnih radikala uslijed koje dolazi do oštećenja stanice. Često se odvija kao posljedica oksidativnog stresa odnosno povećanog nastajanja radikalnih vrsta i može promijeniti fizikalno-kemijska svojstva fosfolipidnih dvosloja membrane, što rezultira staničnim poremećajem.

Flavonoidi su skupina spojeva antioksidativnog i antikancerogenog djelovanja koji stabiliziraju reaktivne vrste i uklanjaju ih iz stanice. Najčešći izvori flavonoida su voće, povrće, čajevi i vino.

Cilj ove vježbe bio je ispitati reakciju kvercetina s željezovim(II) ionom i vodikovim peroksidom.

2. TEORIJSKI DIO

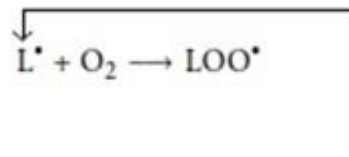
2.1. Lipidna peroksidacija

Tijekom oksidativne fosforilacije u tijelu mogu nastati reaktivne kisikove vrste koje uzrokuju stanje oksidativnog stresa stanice. Najčešće reaktivne kisikove vrste su peroksidni, superoksidni i hidroksilni radikali. U stanju oksidativnog stresa dolazi do reakcije lipidne peroksidacije koja je jedna od najvažnijih reakcija slobodnih radikala. Polinezasićene masne kiseline, prisutne u neuronskim mrežama, podložne su takvoj reakciji budući da imaju velik broj dvostrukih veza u alifatskom dijelu molekule međusobno povezanih metilenskim skupinama koje posjeduju vrlo reaktivne vodikove atome. Lipidna peroksidacija je lančana reakcija, te se mehanizam sastoji od inicijacije, propagacije i terminacije (slika 1). Tijekom inicijacije, molekula lipida reagira s reaktivnom kisikovom vrstom i nastaje radikal molekule lipida. U propagaciji radikal lipida reagira s molekularnim kisikom te nastaje superoksidni radikal molekule lipida, koji može reagirati sa drugom molekulom lipida. Reakcija lipidne peroksidacije završava inicijacijom u kojoj dva radikala lipida reagiraju i nastaje dimer lipida koji nije reaktivna vrsta. Konačni produkti lipidne peroksidacije često su različiti, vrlo reaktivni elektrofilni aldehidi koji utječu na važne signalne puteve stanice odgovorne za mnoge neurodegenerativne i patogene bolesti.

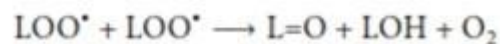
Inicijacija:



Propagacija:



Terminacija:



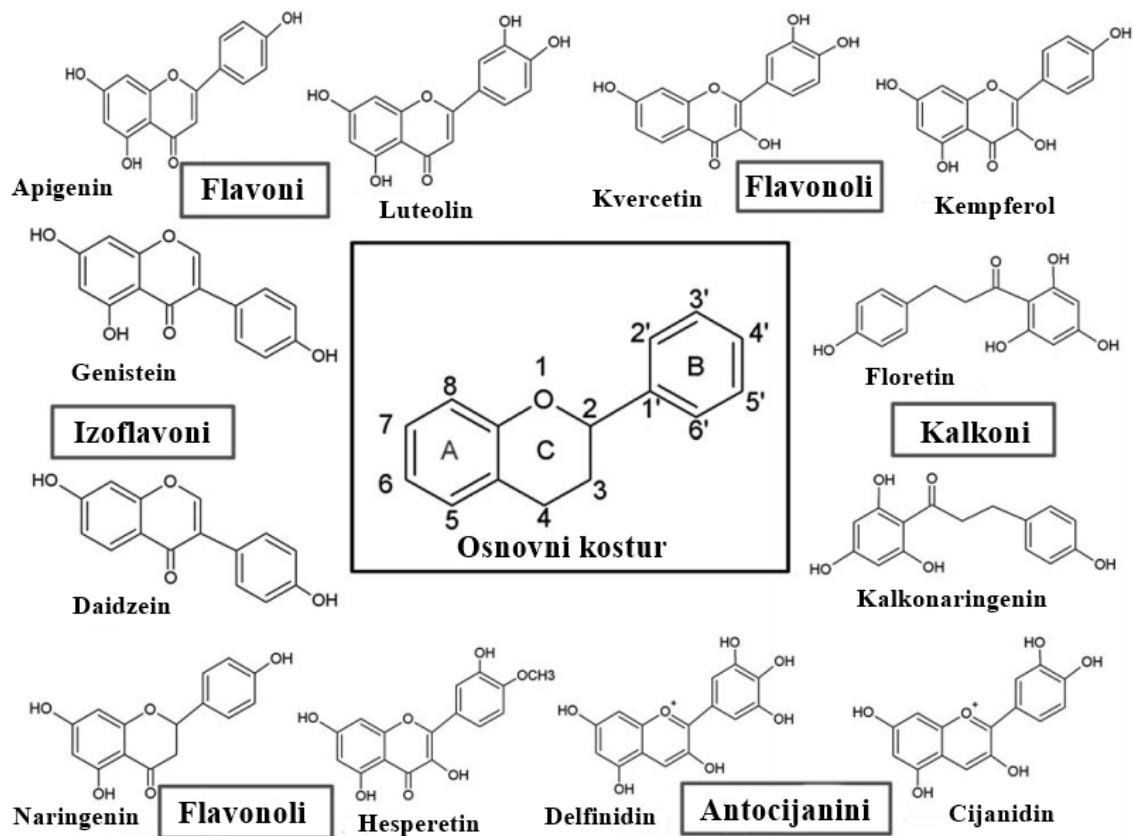
Slika 1. Mehanizam lipidne peroksidacije (preuzeto i prilagođeno iz ref 2).

Lipidna peroksidacija najčešće se inducira Fentonovom reakcijom. Fentonova reakcija je reakcija željezovog(II) iona s vodikovim peroksidom u kojoj nastaje radikal OH^{\bullet} prema sljedećoj jednadžbi kemijske reakcije : $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^{\bullet} + \text{OH}^-$. Nastali hidroksilni radikal potreban je za inicijaciju reakcije lipidne peroksidacije.

Kao obranu od lipidne peroksidacije, stanica koristi enzimske i neenzimske mehanizme djelovanja. U enzimске mehanizme djelovanja ubraja se kataliza enzima poput superoksid-dismutaze koja eliminira superoksidni radikal, glutation-peroksidaze koja uklanja peroksidne vrste i katalaze koja katalizira raspad vodikovog peroksida. Neenzimske mehanizme obrane od lipidne peroksidacije čine antioksidansi. Najzastupljenija skupina antioksidansa su flavonoidi, prirodni spojevi različitih fenolnih struktura.

2.2. Flavonoidi

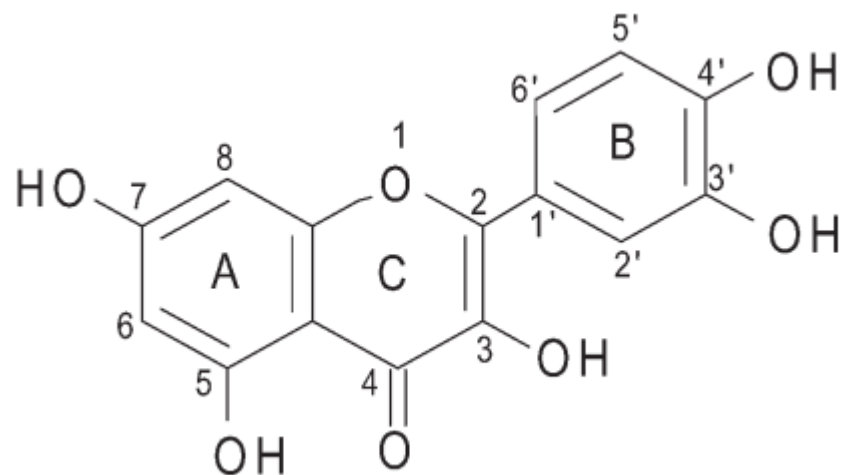
Flavonoidi su polifenolni spojevi koje izrazito važnim u stanici čini njihovo antioksidativno i antikancerogeno djelovanje. Zahvaljujući takvom djelovanju, flavonoidi imaju široku primjenu u medicini, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji. Neki od prirodnih izvora ovih spojeva su voće, povrće, čaj i vino. Svi pripadnici ove skupine spojeva imaju isti osnovni kostur a dijele se u podskupine na temelju dodatnih funkcionalnih skupina. Podjela flavonoida prikazana je na slici 2.



Slika 2. Podjela flavonoida (preuzeto i prilagođeno iz ref 3).

2.3. Kvercetin

S obzirom na podjelu flavonoida prikazanu na Slici 2, kvercetin spada u podskupinu flavonola. Kvercetin ili 3,5,7,3',4'-pentahidroksiflavon je najvažniji član te podskupine spojeva. Njegova nestabilnost u biološkim sustavima uzrokuje brzu ragrađnju i nastajanje mnogih potencijalno biološki aktivnih produkata. Zahvaljujući fenolnoj strukturi, kvercetin ima izraženo antioksidativno djelovanje odnosno hidroksilne skupine mogu donirati vodikov atom radikalima čineći ih tako inaktivnim. Žute je boje, slabe topljivosti u vodi, a dobre u alkoholima. Struktura kvercetina prikazana je na slici 3.



Slika 3. Struktura kvercetina (preuzeto iz ref 4).

3. EKSPERIMENTALNI DIO I REZULTATI

3.1. Materijali

Korištene su sljedeće kemikalije:

Kvercetin, prah, Sigma Aldrich

Fosfatni pufer, tableta, Sigma Aldrich

Vodikov peroksid, 30-%, Kemika

Željezo(II) klorid tetrahidrat, Alfa Aesar

Željezo(III) klorid heksahidrat, Alfa Aesar

Etanol, 96 %, p.a.

Redestilirana voda

Tableta fosfatnog pufera (PBS) otapana je u 200 mililitara redestilirane vode.

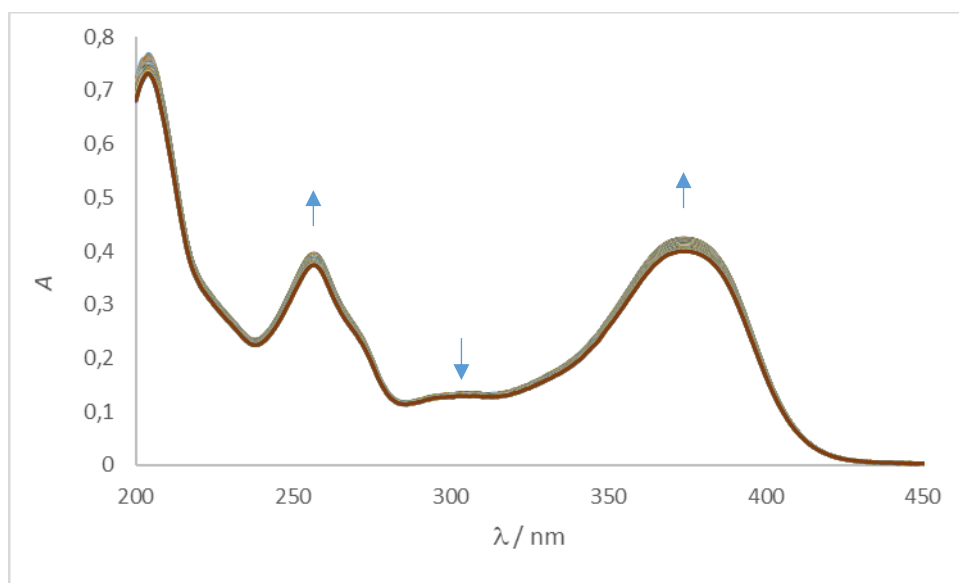
Smjesa otapala EtOH/PBS pripremljena je u omjeru 50:50, kao i smjesa otapala HCl/EtOH.

3.2. Uvjeti snimanja

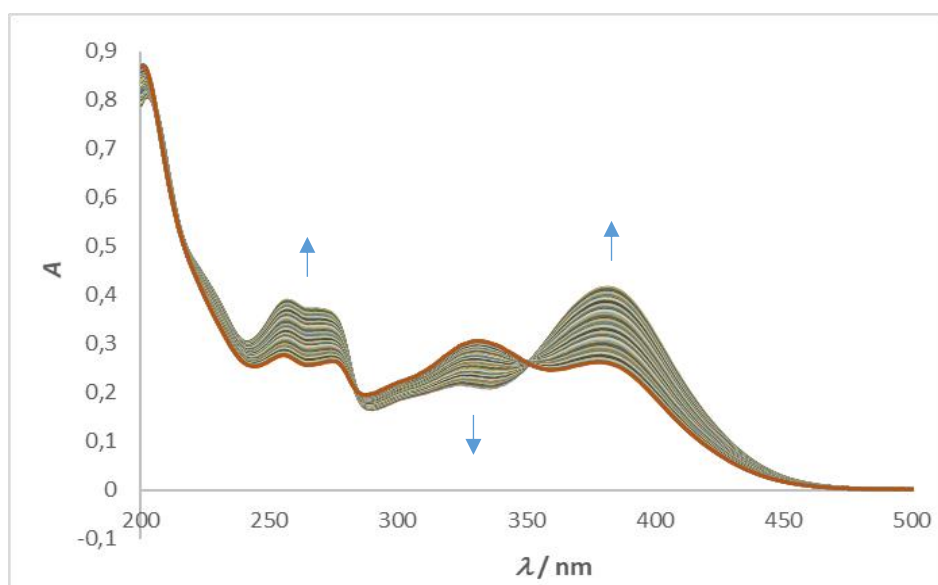
Eksperimenti su provedeni na uređajima *Cary 5* UV-Vis spektrofotometru i *Cary 50* UV-Vis spektrofotometru. Raspon valnih duljina snimanja svim eksperimentima bio je od 200 do 800 nanometara. Ispitivanje stabilnosti kvercetina pod utjecajem UV-Vis zračenja provedeno je 20 sati, s time da je spektar sniman svakih 6 minuta. U istim uvjetima provedeno je ispitivanje reakcije kvercetina, željezo(II) klorida tetrahidrata i vodikova peroksida. Titracija je provedena snimanjem spektra nakon svakog dodatka titranta.

3.3. Stabilnost kvercetina

Literaturno je poznato da je kvercetin (Q) nestabilan pod utjecajem ultraljubičastog (UV) zračenja, te je ispitana stabilnost kvercetina. Pripremljene su otopine kvercetina ($c(Q) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$) u dvama različitim otapalima, EtOH i smjesi otapala EtOH/PBS te su one podvrgnute utjecaju UV zračenja. Dobiveni rezultati prikazani su na slikama 4 i 5, a strelicama su označeni smjerovi vremenskih pomaka maksimuma.



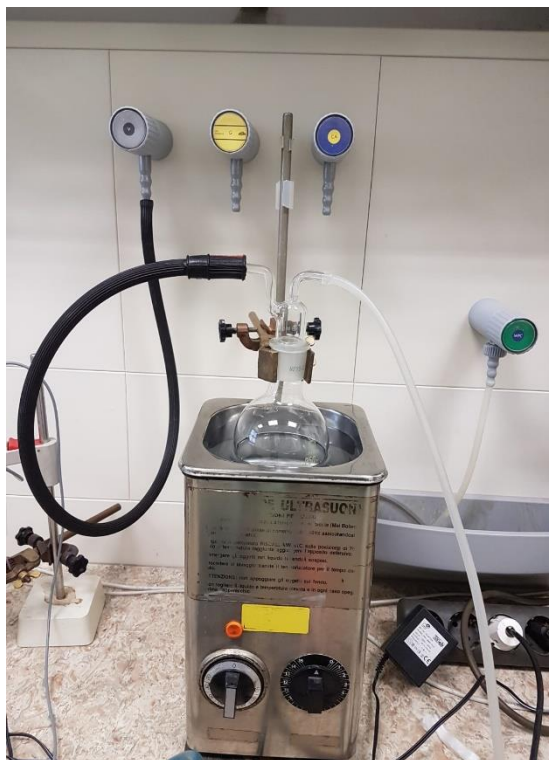
Slika 4. Stabilnost kvercetina u EtOH, $c(Q) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $\theta = 25^\circ\text{C}$, $l = 1 \text{ cm}$.



Slika 5. Stabilnost kvercetina u EtOH/PBS, $c(Q) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $\theta = 25^\circ\text{C}$, $l = 1 \text{ cm}$.

Iz dobivenih rezultata potvrđeno je kako se kvercetin doista raspada pod utjecajem UV zračenja, no reakcija raspada nije se odvila u potpunosti u promatranom vremenskom intervalu, odnosno nije poznat konačni produkt reakcije raspada. Iz slika 4 i 5 vidljivo je kako je stabilnost kvercetina u različitim otapalima bitno drugačija, odnosno u sustavu kvercetina i smjese otapala EtOH/PBS mogu se primjetiti izozbestičke točke koje su mnogo izraženije nego u slučaju raspada u etanolu gdje su gotovo neprimjetne. Izozbestičke točke označavaju prisutnost jednog ili više produkata nastalih utjecajem UV zračenja.

Kako bi se ispitala stabilnost kvercetina u inertnim uvjetima, kisik iz otapala (EtOH/PBS) uklonjen je metodom izmjene atmosfere potpomognute ultrazvukom. Navedena metoda sastoji se od pripreme otopine u inertnim uvjetima s otapalom iz kojeg je uklonjen kisik. Proces propuhivanja otapala i uzorka inertnim plinom sastojao se od uvođenja inertnog plina i vakumiranja kako bi se iz smjese uklonio kisik. Otapalo je podvrgnuto ultrazvuku u 10 ciklusa po 30 sekundi. Postupak propuhivanja otapala i pripreme otopine kvercetina prikazani su na slikama 6 i 7.



Slika 6. Propuhivanje otapala argonom.



Slika 7. Pripremanje otopine u inertnim uvjetima.

Uz pretpostavku da je reakcija raspada kvercetina (Q) prvog reda, mogu se napisati sljedeće jednačbe:

$$c(Q) = c_0 \cdot e^{-kt} \quad (1)$$

$$c(P) = c_0 \cdot (1 - e^{-kt}) \quad (2)$$

Ukupna apsorbanacija kvercetina i produkta može se opisati sljedećim jednačbama:

$$A = \varepsilon(Q) \cdot c(Q) + \varepsilon(P) \cdot c(P) \quad (3)$$

$$A = \varepsilon(Q) \cdot c_0 \cdot e^{-kt} + \varepsilon(P) \cdot c_0 \cdot (1 - e^{-kt}) \quad (4)$$

Uvrštavanjem izraza $e^{-kt} = 1 - kt$ koji vrijedi u slučaju malih vrijednosti k , dobije se sljedeća jednačba:

$$A = \varepsilon(Q) \cdot c_0 \cdot (1 - kt) + \varepsilon(P) \cdot kt \quad (5)$$

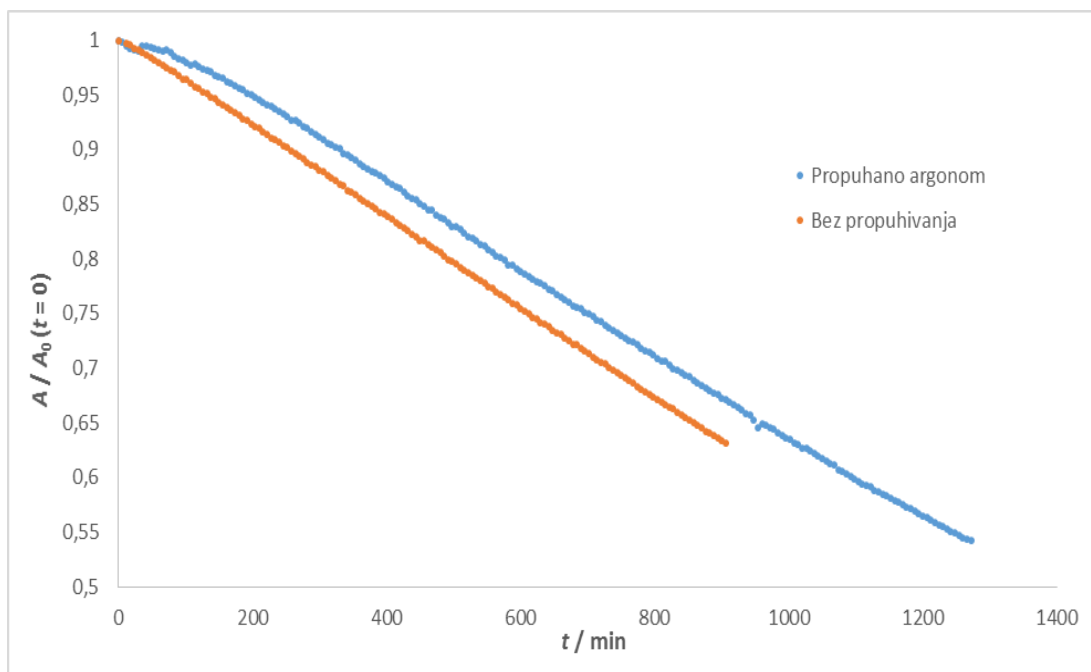
Ukoliko se jednačba 5 podijeli s apsorbanacijom u početnom trenutku dobiva se:

$$A = (\varepsilon(P) - \varepsilon(Q)) \cdot c_0 \cdot kt + \varepsilon(Q) \cdot c_0 \quad / A_0$$

$$\frac{A}{A_0} = \underbrace{\left(\frac{\varepsilon(P)}{\varepsilon(Q)} - 1 \right)}_{k'} \cdot kt \quad (6)$$

k'

Slika 8 je grafički prikaz jednačbe 6 dobiven na temelju snimljenih spektara.

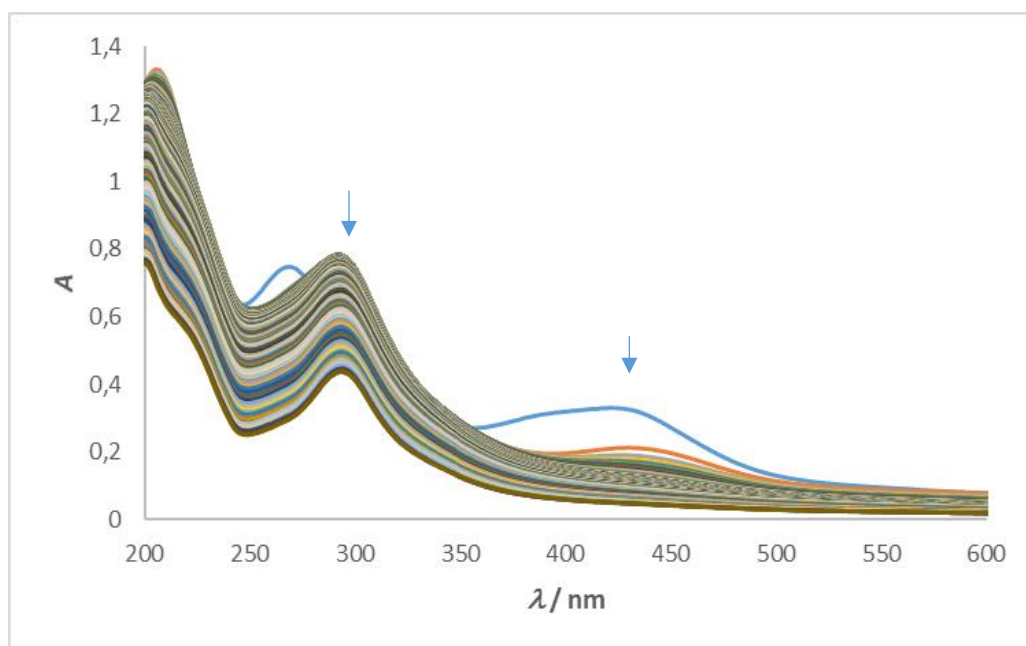


Slika 8. Kinetika raspada kvercetina u EtOH/PBS, $c(Q) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $\theta = 25^\circ\text{C}$ prije (plavo) i nakon propuhivanja argonom (narančasto).

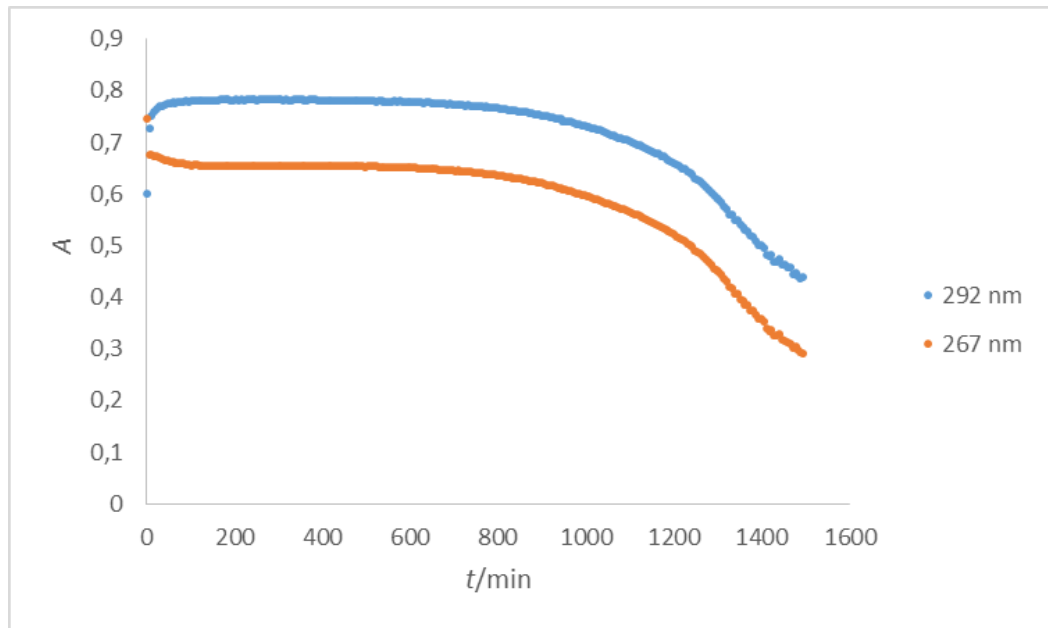
Izračunati koeficijent k' za propuhani sustav je $(-0.0003842 \pm 1.8\text{E-}06) \text{ s}^{-1}$, dok on za nepropuhani sustav iznosi $(-0.0004147 \pm 3.4\text{E-}07) \text{ s}^{-1}$. Iz dobivenih ovisnosti i izračunatih vrijednosti k' , možemo vidjeti kako postoji razlika prije i nakon propuhivanja argonom, odnosno raspad kvercetina u inertnim uvjetima je neznatno sporiji. Pretpostavlja se da bi se u pravim inertnim uvjetima raspad kvercetina značajnije usporio, no to nije bilo moguće postići u improviziranim eksperimentalnim uvjetima.

3.4. Reakcija kvercetina, vodikovog peroksida i željezovog(II) iona u EtOH i EtOH/PBS

Kako bi se lipidna peroksidacija kvantificirala, mora se okarakterizirati reakcija vodikovog peroksida, kvercetina i željezovoga(II) iona. Da bi se to postiglo, pripravljene su otopine sljedećih koncentracija: $c(Q) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ u EtOH te u smjesi otapala EtOH/PBS. Otopine su u kiveti pomiješane u sljedećim volumenima: $V(\text{kvercetin}) = 25 \text{ } \mu\text{L}$, $V(\text{H}_2\text{O}_2) = 25 \text{ } \mu\text{L}$, $V(\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}) = 250 \text{ } \mu\text{L}$ tako da je zadnja dodana otopina vodikova peroksida. Ostatak volumena kivete do 2,5 ml nadopunjen je otapalom u kojem se izvodi reakcija. Dobiveni rezultati prikazani su na slikama 9 i 11.

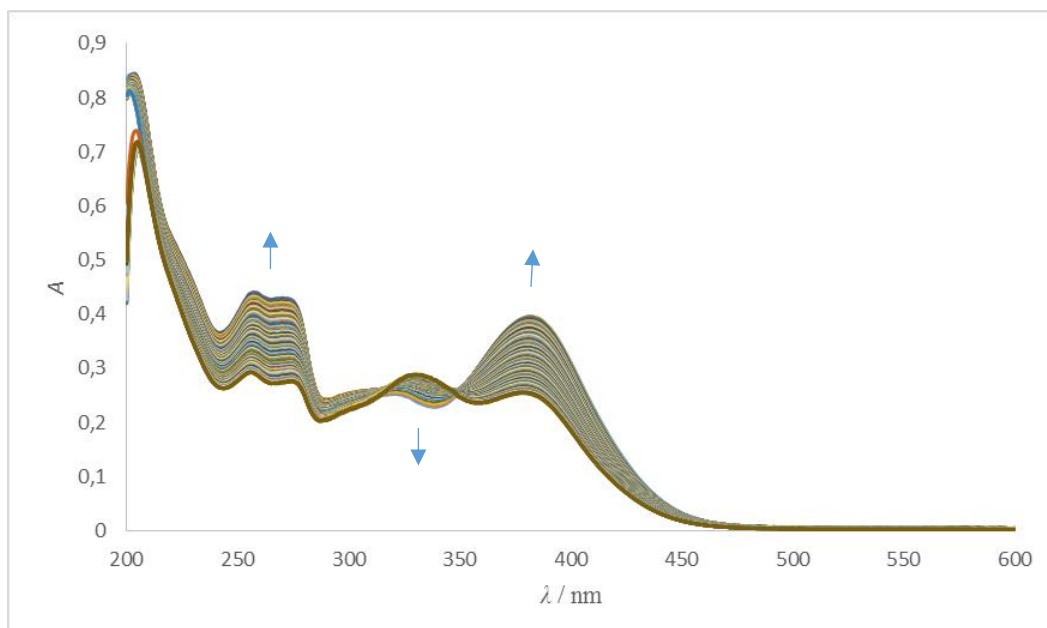


Slika 9. Kinetika reakcije kvercetina, vodikovog peroksida i željezovog(II) iona u EtOH, $c(Q) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $\theta = 25^\circ\text{C}$, $l = 1 \text{ cm}$.



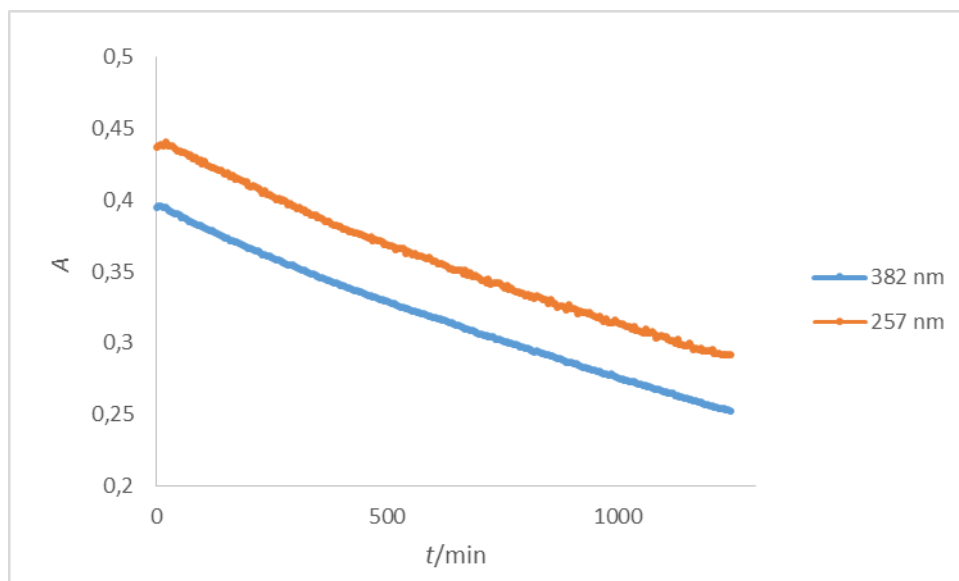
Slika 10. Kinetika reakcije kvercetina, vodikovog peroksida i željezovog(II) iona u EtOH, $c(Q) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $\theta = 25^\circ\text{C}$, $\lambda = 292 \text{ nm}$, $\lambda = 267 \text{ nm}$.

Iz rezultata prikazanih na slici 9 vidljivo je da se reakcija kvercetina, vodikovog peroksida i željezovog(II) iona odvija u barem dva koraka. Također je vidljivo da se prvi korak odvija brzo, i završava u prvih 6 minuta reakcije, a drugi korak je znatno sporiji. Na slici 10 prikazana je promjena apsorbancije u vremenu za dvije valne duljine: 267 nm i 292 nm. Iz takvog prikaza također su vidljiva dva koraka. Možemo primijetiti kako nakon sporijeg koraka potencijalno dolazi do još jednog bržeg koraka u reakciji, no taj nije zabilježen opsegom snimanja.



Slika 11. Kinetika reakcije kvercetina, vodikovog peroksida i željezovog(II) iona u EtOH/PBS, $c(Q) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $\theta = 25^\circ\text{C}$, $l = 1 \text{ cm}$.

Na slici 11 prikazana je kinetika reakcije kvercetina, vodikovog peroksida i željezovog(II) iona, u smjesi otapala EtOH/PBS. Usporedbom kinetike reakcije u dvama otapalima, odnosno usporedbom slika 9 i 11 možemo vidjeti kako reakcija u smjesi otapala EtOH/PBS nema prvi brzi korak kao reakcija u EtOH. Na temelju toga, može se zaključiti kako odabir otapala značajno utječe na tijek i mehanizam reakcije.

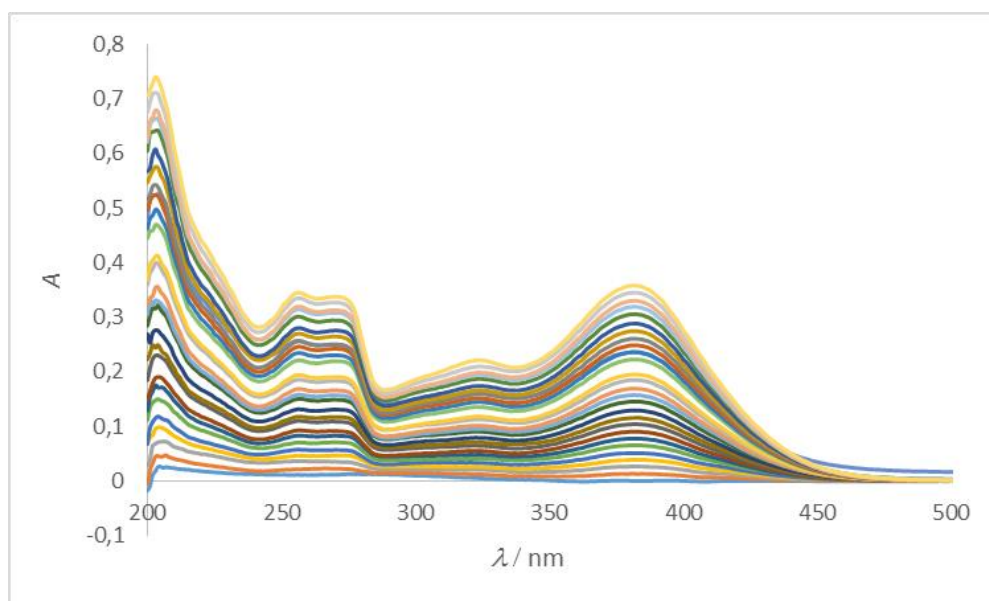


Slika 12. Kinetika reakcije kvercetina, vodikovog peroksida i željezovog(II) iona u EtOH/PBS, $c(Q) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$, $\theta = 25^\circ\text{C}$, $\lambda = 382 \text{ nm}$, $\lambda = 257 \text{ nm}$.

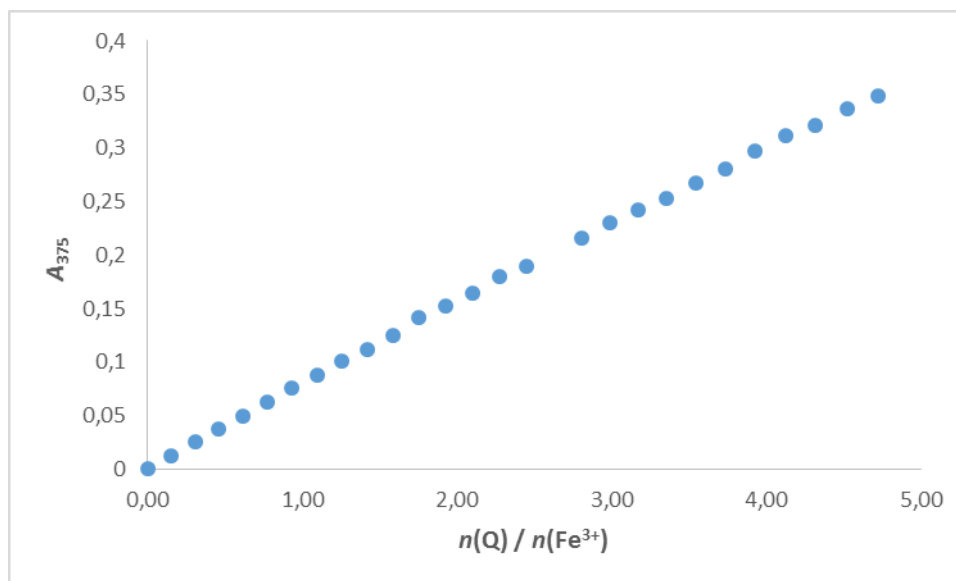
Na slici 12 prikazana je ovisnost apsorbancije o vremenu za valne duljine od 382 nm i 257 nm. Usporedbom slike 10 i slike 12 koje prikazuju istu ovisnost za različita otapala, također možemo zaključiti kako reakcija u smjesi otapala EtOH/PBS ima samo jedan korak.

3.5. Titracija željezovih soli kvercetinom

Kako bi se ispitalo kompleksiranje željezovog(III) iona, koje nastaje oksidacijom željezovog(II) iona, provedena je titracija željezovog(III) iona kvercetinom. Pripremljene su otopine željezovog(III) iona, $c(\text{Fe}^{3+}) = 5 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$, i kvercetina, $c(\text{kvercetin}) = 2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ u smjesi otapala EtOH/PBS. Dobiveni rezultati prikazani su na slikama 13 i 14.



Slika 13. Spektrofotometrijska titracija željezovog(III) iona kvercetinom, $c(\text{Fe}^{3+}) = 5 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Q}) = 2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ u EtOH/PBS, $\theta = 25^\circ\text{C}$, $l = 1 \text{ cm}$.

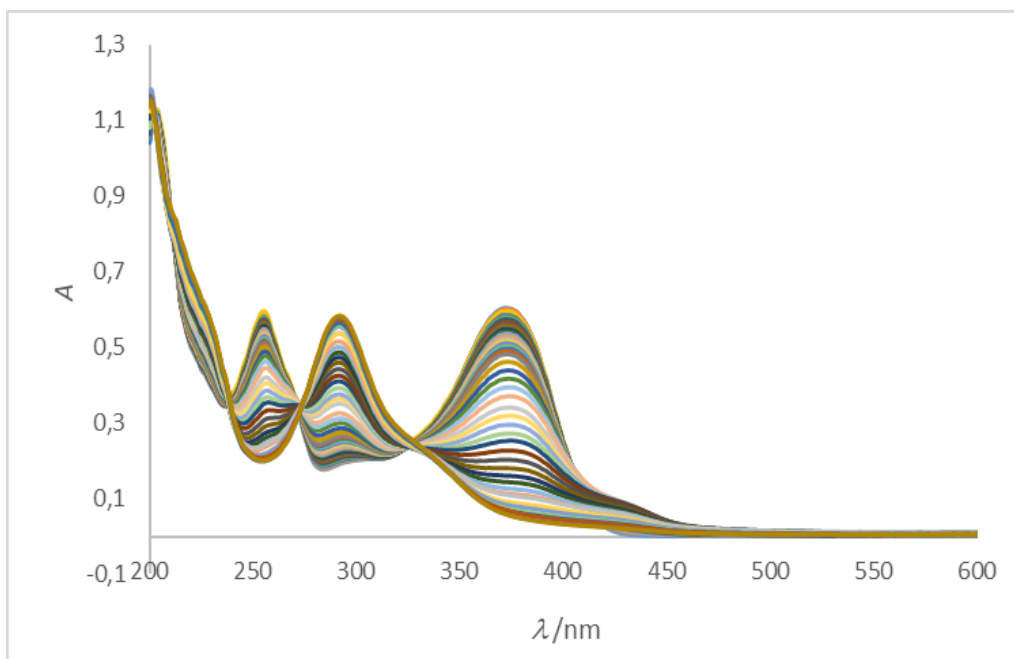


Slika 14. Spektrofotometrijska titracija željezovog(III) iona kvercetinom $c(Fe^{3+}) = 5 \cdot 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(Q) = 2,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ u EtOH/PBS, $\theta = 25^\circ\text{C}$, $\lambda = 375 \text{ nm}$.

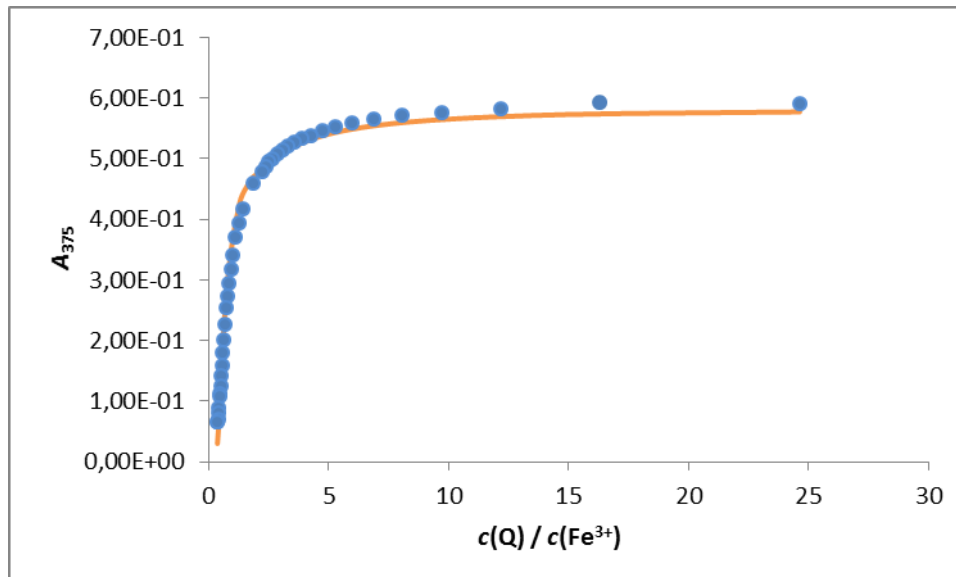
Iz slike 14. moglo bi se zaključiti kako na provedenim uvjetima ne dolazi do kompleksiranja željeza(III) i kvercetina, no to zasigurno nije slučaj. Mogući problem je kako titracija nije bila provedena do dovoljno velikih množinskih omjera. Bila bi pogodnija veća koncentracija otopine željezovog(III) iona, no u zadanoj otapalu nije moguće pripremiti željenu otopinu zbog nastajanja željezovog(III) hidroksida.

3.6. Titracija kvercetina željezovim(III) ionom

Budući da titracija u smjesi otapala EtOH/PBS nije pokazala da dolazi do stvaranja kompleksa, provedena je titracija kvercetina željezom(III) u kiselj smjesi otapala EtOH/HCl kako bi se mogla otapati veća količina željezova(III) klorida heksahidrata. Pripremljene su otopine željezovog(III) iona, $c(Fe^{3+}) = 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(Q) = 3 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, u EtOH/HCl, $c(HCl) = 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$. Dobiveni rezultati obrađeni su i prikazani na slikama 15 i 16.

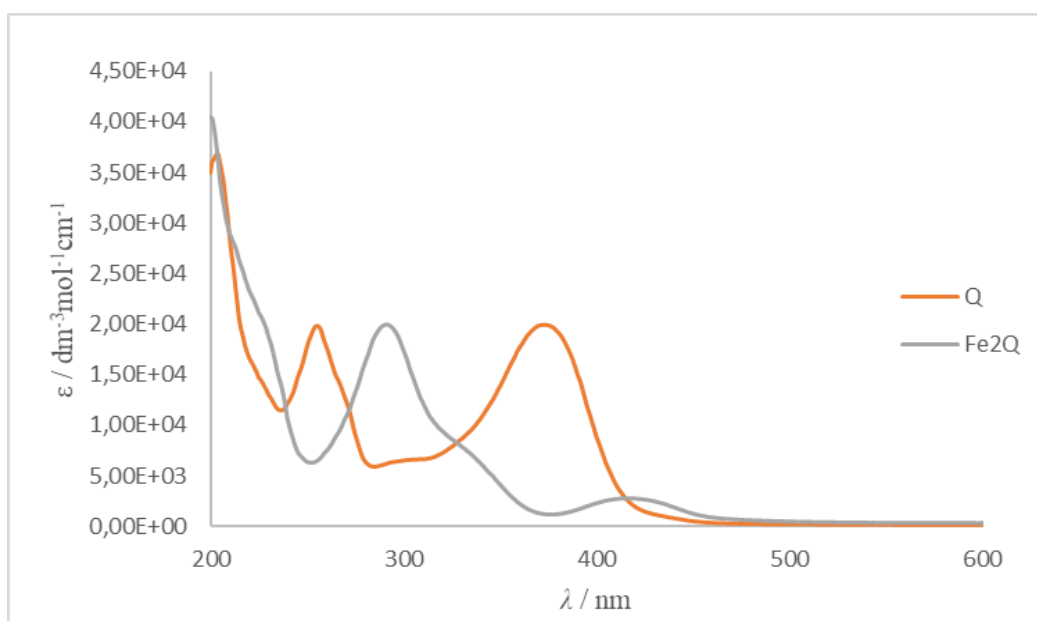


Slika 15. Spektrofotometrijska titracija željezovog(III) iona kvercetinom u HCl/EtOH, ($c(\text{HCl}) = 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$), $c(\text{Fe}^{3+}) = 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Q}) = 3 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $\theta = 25^\circ\text{C}$, $l = 1 \text{ cm}$.

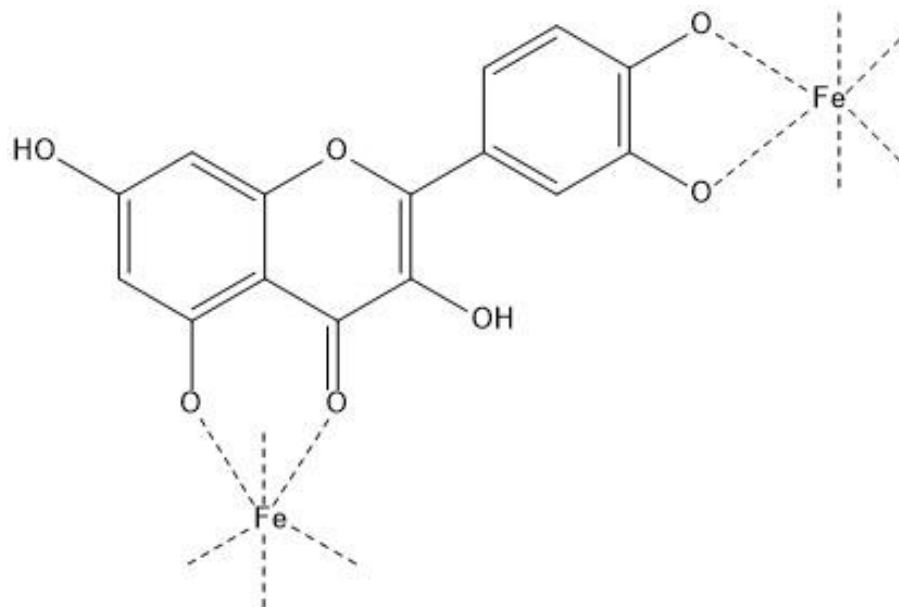


Slika 16. Spektrofotometrijska titracija željezovog(III) iona kvercetinom u HCl/EtOH ($c(\text{HCl}) = 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$), $c(\text{Fe}^{3+}) = 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Q}) = 3 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $\theta = 25^\circ\text{C}$.

Obradom podataka u programu *HypSpec* dobiveni su karakteristični spektri kvercetina i kompleksa željezovog(III) iona s kvercetinom te su prikazani na slici 17. Prema dobivenim podacima zaključeno je da nastaje kompleks željeza i kvercetina u omjeru $n(\text{Fe(III)}) : n(\text{Q}) = 2:1$. Za takav kompleks izračunata je konstanta stabilnosti, $\log K = 10,81 \pm 0,024$. Iz obrađenih podataka i pregleda literature predložena je moguća struktura kompleksa (slika 18). Vezanjem jednog iona Fe(III) bidentatno na položaje 4 i 5 nastaje šesteročlani prsten koji je stabilniji od peteročlanog koji bi nastao vezanjem Fe(III) na položaje 3 i 4. Također, drugi atom željeza vjerojatno se veže na kateholnu skupinu, što je također jako povoljno vezanje.



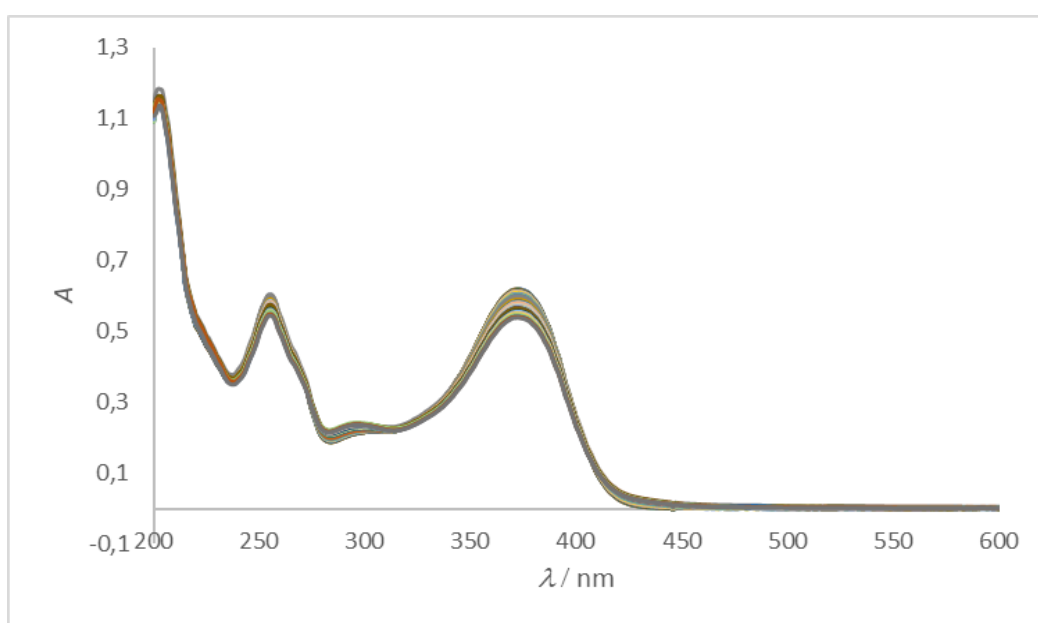
Slika 17. Karakteristični spektri kvercetina (Q) i kompleksa Fe₂Q.



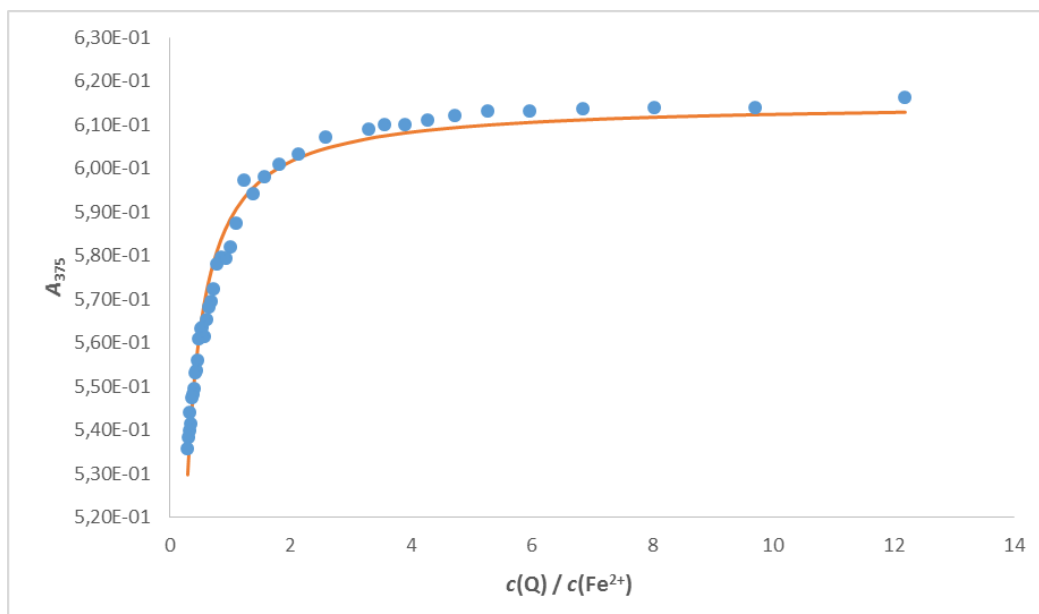
Slika 18. Pretpostavljena struktura kompleksa željezovog(III) iona i kvercetina u omjeru $n(\text{Fe(III)}) : n(\text{Q}) = 2:1$.

3.7. Titracija kvercetina željezovim(II) ionom

Ispitano je i kompleksiranje željezovog(II) iona s kvercetinom tako da je provedena titracija kvercetina željezovim(II) ionom. Pripremljene su otopine željezovog(II) iona i kvercetina, $c(\text{Fe}^{2+}) = 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Q}) = 3 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, u EtOH/HCl $c(\text{HCl}) = 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$. Dobiveni rezultati obrađeni su i prikazani na slikama 19 i 20.



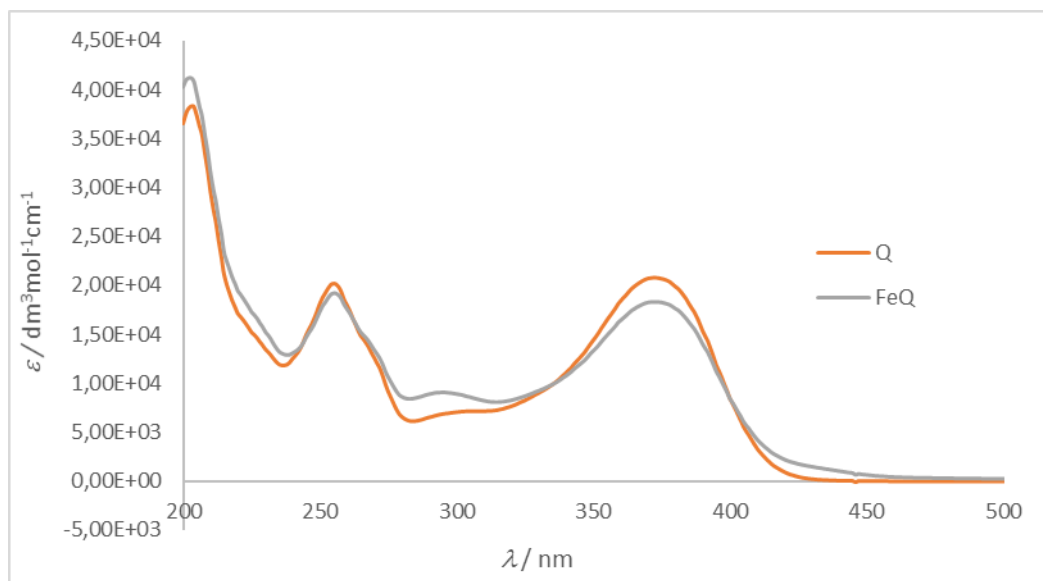
Slika 19. Spektrofotometrijska titracija kvercetina željezovim(II) ionom u HCl/EtOH ($c(\text{HCl}) = 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$), $c(\text{Fe}^{2+}) = 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Q}) = 3 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $\theta = 25^\circ\text{C}$, $l = 1 \text{ cm}$.



Slika 20. Spektrofotometrijska titracija kvercetina željezovim(II) ionom u HCl/EtOH ($c(\text{HCl}) = 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$), $c(\text{Fe}^{2+}) = 1,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$, $c(\text{Q}) = 3 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$, $\theta = 25^\circ\text{C}$, $\lambda = 375 \text{ nm}$.

Usporedbom dobivenih podataka iz titracija željezovog(II) i željezovog(III) iona, odnosno usporedbom slika 16 i 18, možemo primjetiti znatno lošije rezultate u slučaju titracije željezovim(II) ionom. To može upućivati na slabije vezanje željezovog(II) iona na kvercetin nego što je to u slučaju željezovog(III) iona.

Podaci iz titracije kvercetina željezovim(II) ionom također su obrađeni u programu *HypSpec* te su karakteristični spektri kvercetina i kompleksa kvercetina sa željezovim(II) ionom prikazani na slici 20. Iz dobivenih podataka zaključeno je kako nastaje kompleks željeza(II) i kvercetina u omjeru $n(\text{Fe(II)}) : n(\text{Q}) = 1:1$. Izračunata je konstanta nastajanja tog kompleksa, $\log K = 4,46 \pm 0,0116$.



Slika 21. Karakteristični spektri kvercetina (Q) i kompleksa kvercetina i željezovog(II) iona (FeQ).

4. ZAKLJUČAK

Provedbom opisanih eksperimenata potvrđeno je da se kvercetin raspada pod utjecajem ultraljubičastog (UV) zračenja. Ispitivanje stabilnosti kvercetina provedeno je u dvama različitim otapalima i dobiveni su znatno drugačiji rezultati. U slučaju smjese otapala EtOH/PBS primijećena je značajna promjena UV-Vis spektara koja upućuje na nastajanje novih vrsta u otopini. U slučaju kada su otapalo i uzorak propuhani inertnim plinom, odnosno u slučaju provođenja reakcije u inertnoj atmosferi, primijećeno je usporavanje reakcije raspada kvercetina, no dobiveni učinak je zanemariv za praktičnu primjenu. Moguće je da je to rezultat improviziranih uvjeta koji su korišteni u provedbi zadanog eksperimenta. Također, ispitana je reakcija željezovog(II) iona, kvercetina i vodikovog peroksida u istim dvama otapalima te je primijećena razlika. Kada se reakcija odvija u EtOH primijećena su dva koraka od kojih je jedan znatno brži i odvija se u prvih pet minuta reakcije, a drugi je znatno sporiji i odvija se u rasponu dvadaset sati. Provođenjem reakcije u smjesi otapala EtOH/PBS dobiveni rezultati nisu pokazali dva koraka kao u slučaju odvijanja reakcije u EtOH, već je zabilježen jedan spor korak. To ne isključuje činjenicu da se reakcija u smjesi otapala odvija u više koraka, jer postoji

mogućnost da oni nisu zabilježeni. Iz titracije kvercetina željezovim(III) ionom određena je moguća stehiometrija kompleksa i pretpostavljena je struktura takvog kompleksa. Predložena stehiometrija je $n(\text{Fe(III)}) : n(\text{Q}) = 2:1$, a izračunata konstanta nastajanja kompleksa iznosi $\log K = 10,81 \pm 0,024$. U slučaju željezovog(II) iona dobiveni su lošiji rezultati, što upućuje na slabije vezanje željezovog(II) iona na kvercetin nego što je to u slučaju željezovog(III) iona. Predložena stehiometrija kompleksa je $n(\text{Fe(II)}) : n(\text{Q}) = 1:1$, a izračunata konstanta nastajanja kompleksa iznosi $\log K = 4,46 \pm 0,0116$.

5. LITERATURA

1. B. Halliwell, S. Chirico, *Am. J. Clin. Nutr.*, **57** (1993) 715-724.
2. A. Oleszko et al., *BioMed. Res. Int.*, 2015 (2015)
3. A. Panche, A. Diwan, S. Chandra, *J. Nutr. Sci.*, **547** (2016)
4. T. Momić, J. Savić, U. Černigoj, P. Trebše, V. Vasić, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **72**, (2007) 1447-1460
5. S. Dall'Acqua, G. Miolo, G. Innocenti, S. Caffieri, *Molecules*, **17** (2012) 8898-8907
6. G. M. Escandar, L. F. Sala, *Can. J. Chem.*, **69** 1994 (1991) 1994-2001

