

UTICAJ RUTINA IZ EKSTRAKATA LISTA, CVIJETA I PLODA MALINE (*Rubus idaeus* L.) NA KOROZIJU BAKRA U 3% NaCl

INFLUENCE OF THE RUTIN FROM EXTRACT OF LEAVES, FLOWERS AND FRUITS OF RASPBERRY (*Rubus idaeus* L.) ON THE CORROSION OF COPPER IN 3% NaCl

Dejana Kasapović, viši asistent, Farzet Bikić, redovni profesor
Univerzitet u Zenici, Metalurško-tehnološki fakultet u Zenici

REZIME

Istraživanje predstavljeno u ovom radu fokusirano je na ekstrakte lista, cvijeta i ploda maline (*Rubus idaeus* L.) kao ekološki prihvatljive inhibitore korozije bakra u 3% NaCl. Rutin je identifikovan tečnom hromatografijom visoke rezolucije na obrnutim fazama na HPLC-u sa UV/Vis detektorom. Analiza rutina je provedena u etanolnim ekstraktima lista, cvijeta i ploda maline (*Rubus idaeus* L.) sorte Polka sa lokaliteta Moševac kod Maglaja, koji su dobiveni metodom ultrazvučne ekstrakcije. Rutin je određen u svim analiziranim uzorcima maline sorte Polka. Najveća koncentracija rutina određena je u ekstraktu cvijeta maline ($29,88 \pm 21,22 \mu\text{g/mL}$), a najmanja u ekstraktu ploda maline ($0,59 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$). Analizom UV/VIS spektrofotometrijom, na uređaju UV-VIS spektrofotometaru, pronađeno je da ekstrakti lista, cvijeta i ploda maline sadrže značajan sadržaj ukupnih fenola. Radi poređenja, ispitan je uticaj standardne otopine rutina na koroziju bakra u 3% NaCl. Rezultati dobiveni metodom Tafelove ekstrapolacije dokazuju da se brzina korozije bakra smanjuje u prisustvu ispitivanih ekstrakta i u prisustvu standardne otopine rutina. Provedena ispitivanja dokazuju da se u agresivnom mediju, kao što je 3% NaCl, u svrhu zaštite bakra od korozije može koristiti standardna otopina rutina kao i ekstrakti lista, cvijeta i ploda maline sorte Polka, koji su dobiveni metodom ultrazvučne ekstrakcije sa lokaliteta Moševac kod Maglaja.

Ključne riječi: rutin, ekstrakti maline, ultrazvučna ekstrakcija, korozija, bakar

ABSTRACT

The research presented in this paper is focused on extracts of leaves, flowers and fruits of raspberry (*Rubus idaeus* L.) as an environmentally friendly corrosion inhibitors for copper in 3% NaCl. Rutin was identified by applying reverse-phase high-resolution liquid chromatography on reverse phases on Shimadzu Prominence Modular HPLC with UV/Vis detector. The analysis of rutin was performed in ethanolic extracts of leaves, flowers and fruits of raspberry (*Rubus idaeus* L.) Polka from the Moševac site near Maglaj, obtained by the ultrasonic extraction methods. Rutin was determined in all analyzed samples of Polka raspberry. The highest rutin concentration was determined in the extract of Polka raspberry flower ($29,88 \pm 21,22 \mu\text{g/mL}$), and the smallest in the Polka raspberry fruit ($0,59 \pm 0,07 \mu\text{g/mL}$). Analysis by UV/VIS spectrophotometry, using a UV-VIS spectrophotometer, found that extracts of leaves, flowers and fruits of raspberry contain a significant content of total phenols. For comparison, the effect of standard rutin solution on copper corrosion in 3% NaCl was investigated. Results obtained by the method of Tafel extrapolation prove that the corrosion rate decreases in the presence of tested extracts and in the presence of a standard solution of rutin. The results of the conducted tests prove that in an aggressive medium, such as 3% NaCl solution, for the purpose of protecting copper from corrosion, a standard solution of rutin can be used, as well as extracts of leaves, flowers and fruits of the raspberry variety Polka, which were obtained by the method of ultrasonic extraction from the site of Moševac near Maglaj.

Key words: rutin, extracts of raspberry, ultrasonic extraction, corrosion, copper

1. UVOD

Malina je višegodišnja, žbunasta, listopadna biljka iz porodice Rosaceae, iz roda *Rubus*. Sastoji se iz nadzemnih (list, cvijet, sjeme i plod) i podzemnih (korjen) organa. Malina Polka je jedna od najboljih sorti malina. To je stalnorađajuća malina, novija je sorta maline, porijeklom iz Poljske, a nastala je križanjem sorata: *Autumn Bliss*, *Lloyd George* i vrste *Rubus crataegifolius*, predstavljena je 2001. godine, a u zvanične registre upisana 2003. godine. Zbog vrlo prijatne arome i ukusa, velike biološke, a male energetske vrijednosti, malina je izuzetno pogodna sirovina, kako za domaću, tako i za industrijsku preradu [1].

U novije vrijeme, upotreba sintetskih antioksidanata se u prehrambenoj industriji napušta iz toksikoloških razloga, a interes za primjenu prirodnih antioksidanata stalno raste. Mnoge naučno-istraživačke studije ukazuju na veću efikasnost i zdravstvenu bezbjednost prirodnih antioksidanata, izolovanih iz biljaka (fitonutrijenti) [2]. Biljni ekstrakti sadrže velik broj organskih spojeva, a jedan od mnogih su fenolni spojevi. U cilju očuvanja životne sredine razvoj novih ekološki prihvatljivih inhibitora korozije usmjereno je ka prirodnim biološkim, netoksičnim, biorazgradivim molekulama, koje se mogu dobiti iz biljnih ekstrakta [3].

Prirodni antioksidansi su pristupačna, dostupna i obnovljiva jedinjenja dobijena ekstrakcijom iz biljnog materijala ili sintetizovana. Istraživanja su pokazala da se mnoga od ovih jedinjenja mogu koristiti kao efikasni inhibitori korozije bakra. Bakar je metal koji zbog svojih dobrih osobina ima veoma široku primjenu. Relativno je otporan na utjecaj atmosfere i mnogih hemikalija, međutim, poznato je da u agresivnim sredinama podliježe koroziji. Upotreba inhibitora korozije bakra je u ovim slučajevima neophodna zato što se ne može očekivati stvaranje zaštitnog pasivnog sloja [4].

Rutin je jedan od najaktivnijih bioloških flavonoida poznat i kao vitamin P. Rutin se smatra aktivirajućim faktorom za vitamin C. Ime rutin potječe od biljke *Ruta graveolens* u kojoj prema sadržaju polifenola, prevladava. Rutin je flavonoid koji se nalazi u agrumima, heljdi, jabukama, zelenom čaju, mrkvi, grožđu, listu lipe i eukaliptusa te u različitom bobičastom voću [5].

2. EKSPERIMENTALNI DIO

Listovi, cvijetovi i plodovi maline sorte Polka (*Rubus idaeus* L.) prikupljeni su sa lokaliteta Moševac kod Maglaja u Bosni i Hercegovini. Mjesto Moševac kod Maglaja udaljeno je od industrijskih postrojenja i nalazi se na nadmorskoj visini 169 metara.

2.1. Dobivanje ekstrakata listova, cvijetova i plodova maline i uzorka za HPLC-analizu

Ekstrakcije su izvođene u ultrazvučnom kupatilu pod definisanim uslovima: frekvencija (20–40 kHz), snaga (250–500 W), temperatura (40°C) i vrijeme izvođenja ekstrakcije (30 min) [6]. Kao otapalo korišten je 96% etanol. Nakon tretmana, ekstrakti su profiltrirani i upareni do suha. Ekstrakti dobijeni na ovaj način su čuvani u tamnim bočicama, u frižideru na temperaturi od +4 °C. Sadržaj ukupnih fenola je određen spektrofotometrijski, na uređaju UV–VIS spektrofotometar, PerkinElmer, Lambda 650, po Folin-Ciocalteu metodi.

Suhi ekstrakti lista, cvijeta i ploda (oko 0,5 g), dobiveni metodom ultrazvučne ekstrakcije, su otapani u 50 % metanolu u ultrazvučnom kupatilu. Nakon toga profiltrirani da se uklone nečistoće, prebačeni u vijale i analizirani metodom tečne hromatografije.

2.2. Analiza rutina pomoću RP-HPLC-UV/Vis tehnike

Analiza rutina u ekstraktima lista, cvijeta i ploda maline sorte Polka, izvršena je tečnom hromatografijom visoke rezolucije na obrnutim fazama na HPLC –u Shimadzu Prominence (modularni HPLC) sa UV/Vis detektorom. Analiza rutina izvršena je na Nucleosil C18 koloni (250 mm × 4,6 mm, veličina čestica 5 µm; Macherey-Nagel).

Kao mobilna faza korišćen je sistem otapala: A (1% mravlja kiselina) i B (acetonitril) pri protoku od 1 ml/min i primjenom slijedećeg linearnog gradijenta: 0–10 min od 10 do 25% A;

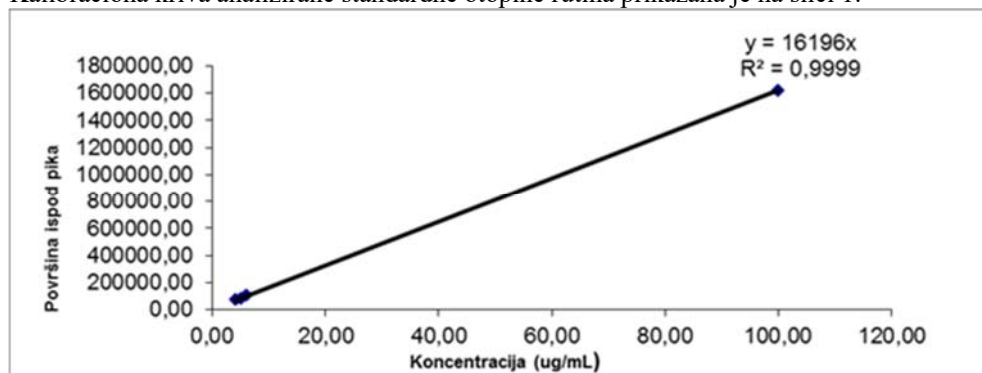
10–20 min linearan porast do 60% A, od 20 do 30 min linearan porast do 70% A. Kolona je uravnotežena na početne uslove, 10% A, 10 min uz dodatnih 5 min za stabilizaciju. Standard rutina je otapan u 50 % metanolu. Hromatogrami su snimljeni pri talasnoj dužini 360 nm za flavonoide (rutin). Na osnovu dobijenih hromatograma i kalibracionog dijagrama standardne otopine rutina izračunate su koncentracije rutina u ekstraktima ($\mu\text{g/mL}$) [7], [8].

Za HPLC analizu korišten je standard rutina različitih koncentracija prikazan u tabeli 1. [6], [7].

Tabela 1. Standardna otopina rutina različitih koncentracija za HPLC analizu

Standardna otopina	Koncentracija, $\mu\text{g/mL}$			
Rutin	4	5	60	100

Kalibraciona kriva analizirane standardne otopine rutina prikazana je na slici 1.



Slika 1. Kalibraciona kriva za rutin

Za ispitivanje uticaja ekstrakta lista, cvijeta, ploda maline (*Rubus idaeus* L.) i standardne otopine rutina kao inhibitora korozije bakra korišten je bakar čistoće 99,8%. Hemijski sastav bakra je ispitivan na Institutu "Kemal Kapetanović" u Zenici, Bosna i Hercegovina na uređaju Atomski Apsorpcioni Spektrometar PerkinElmer, AA 800.

Pri elektrohemijским ispitivanjima korozije DC–tehnikom, u ovom istraživanju upotrebljena je polarizacijska metoda Tafelove ekstrapolacije.

Za polarizacijska DC ispitivanja korišteni su uzorci dimenzija $d = 15 \text{ mm}$ i g od 1 do 2 mm.

Polarizacijska DC ispitivanja korozije bakra vršena su u korozionoj ćeliji na uređaju Potenciostat/Galvanostat, EG&G/PAR, model 263A-2, softverski paket PowerCORR®. Elektrohemijaska ćelija sadrži tri elektrode. Kao pomoćna elektroda koristi se karbon elektroda, a kao referentna zasićena kalomel elektroda (SCE) čiji je potencijal 0,2415 V. Radna elektroda je tijelo cilindričnog oblika (disk) i smještena je unutar prostora koji je napravljen od stakla i metala. Priprema i njegovanje uzoraka su urađeni prema standardu ASTM G5 [9].

3. REZULTATI I DISKUSIJA

3.1. Rezultati spektrofotometrijskog određivanja sadržaja ukupnih fenola i HPLC analize ekstrakata lista, cvijeta i ploda maline

Sadržaj ukupnih fenola je određen spektrofotometrijski, na uređaju UV–VIS spektrofotometar, PerkinElmer, Lambda 650 (slika 2), po Folin-Ciocalteu metodi. Rezultati analiza su prikazani u tabeli 2.



Slika 2. UV-VIS spektrofotometar, PerkinElmer, Lambda 650

Tabela 2. Sadržaj ukupnih fenola u ekstraktima lista, cvijeta i ploda maline sorte Polka

Biljni ekstrakt	Ukupni fenoli (mg GA/g ekstrakta)
ULPM	107,14±3,63
UCPM	148,99±9,02
UPPM	8,75±0,61

Značenje oznaka:

ULPM - list Polka Maglaj – ultrazvuk;

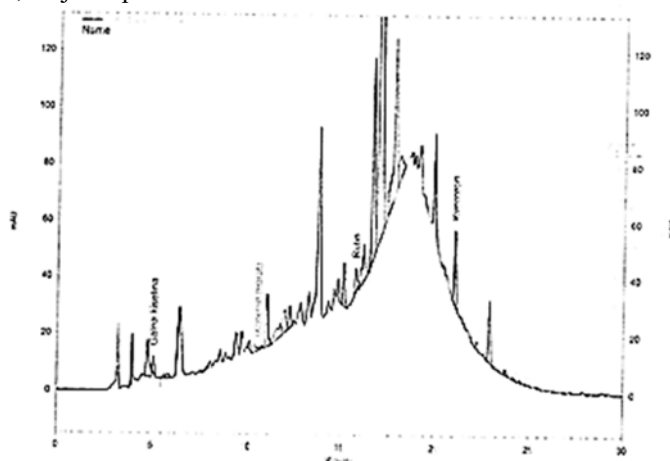
UCPM - cvijet Polka Maglaj – ultrazvuk,

UPPM - plod Polka Maglaj – ultrazvuk

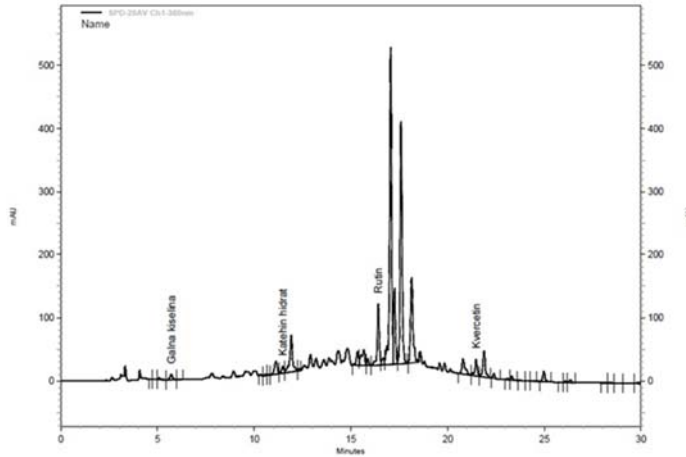
Svi eksperimenti su ponavljani tri puta. Vrijednosti su izražene kao srednja ± standardna devijacija.

Rezultati iz tabele 2 nedvojbeno pokazuju da ekstrakti lista, cvijeta i ploda maline (*Rubus idaeus* L.) sorte Polka sadrže značajne količine ukupnih fenola. Ekstrakt UCPM ima najveći sadržaj ukupnih fenola, 148,99±9,02 mg GA/g ekstrakta.

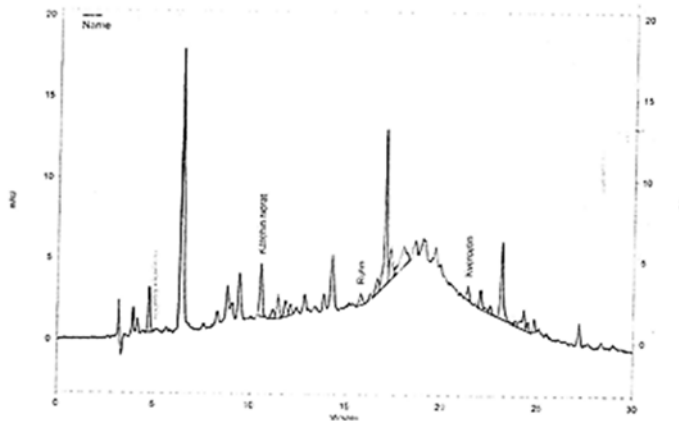
U cilju određivanja koncentracije rutina u testiranim ekstraktima lista, cvijeta i ploda maline sorte Polka korišćena je HPLC metoda. Rezultati HPLC analiza ovih ekstrakata prikazani su u tabeli 3., a na slikama 3. - 5. prikazani su HPLC hromatogrami za rutin detektovan u ekstraktima lista, cvijeta i ploda maline sorte Polka.



Slika 3. HPLC hromatogrami ekstrakta ULPM



Slika 4. HPLC hromatogrami ekstrakta UCPM



Slika 5. HPLC hromatogrami ekstrakta UPPM

Tabela 3. Rezultati HPLC analize ekstrakata lista, cvijeta i ploda maline sorte Polka za rutin

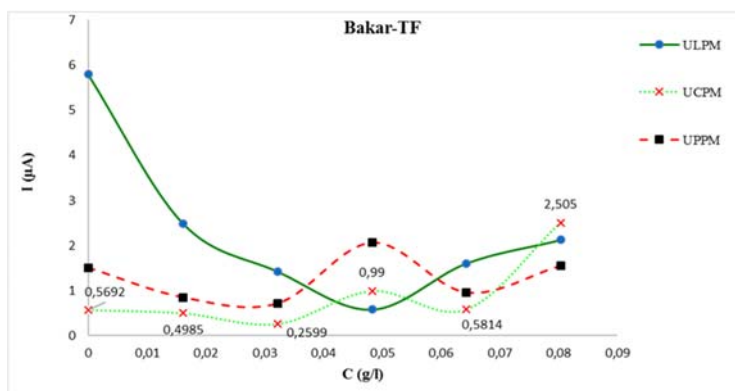
Biljni ekstrakti	RUTIN
	Koncentracija, $\mu\text{g/mL}$
ULPM	$3,77 \pm 0,06$
UCPM	$29,88 \pm 21,22$
UPPM	$0,59 \pm 0,07$

Na osnovu rezultata HPLC analize može se zaključiti da je sadržaj rutina najveći u ekstraktu cvijeta maline sorte Polka Maglaj, $29,88 \pm 21,22 \mu\text{g/mL}$.

3.2. Sumarni rezultati uticaja ekstrakta lista, cvijeta i ploda maline sorte Polke Maglaj, na korozione karakteristike bakra

Na slici 6. je prikazan sumarni dijagram uticaja ekstrakta lista, cvijeta i ploda maline sorte Polke Maglaj, na korozione karakteristike bakra u 3% NaCl bez i uz dodatak ekstrakta maline u

različitim koncentracijama, dobivene metodom Tafelove ekstrapolacije. U tabelama 4.,5. i 6. su prikazani korozivni parametri bakra u 3% NaCl, bez i uz dodatak ekstrakta maline, određeni metodom Tafelove ekstrapolacije.



Slika 6. Korozivni parametri određeni metodom Tafelove ekstrapolacije bakra uz dodatak ekstrakta od lista, cvijeta i ploda maline u različitim koncentracijama

Tabela 4. Korozivni parametri određeni metodama Tafelove ekstrapolacije bakra u 3% otopini NaCl bez i uz dodatak ekstrakta lista Polke Maglaj u različitim koncentracijama

Koncentracija ekstrakta u ćeliji, g/L	Metoda Tafelove ekstrapolacije			
	E(mV)	I(µA)	bc(mV)	ba(mV)
0	-185,28	5,793	686,957	679,195
0,01612	-204,14	2,492	333,507	387,83
0,03221	-197,221	1,425	199,254	248,006
0,04828	-218,0	0,5799	98,353	94,864
0,06432	-220,087	1,603	230,641	291,226
0,08033	-236,831	2,123	280,318	349,466

Tabela 5. Korozivni parametri određeni metodama Tafelove ekstrapolacije bakra u 3% otopini NaCl bez i uz dodatak ekstrakta cvijeta Polke Maglaj u različitim koncentracijama

Koncentracija ekstrakta u ćeliji, g/L	Metoda Tafelove ekstrapolacije			
	E(mV)	I(µA)	bc(mV)	ba(mV)
0	-215,113	0,5692	220,122	239,943
0,01612	-247,754	0,4985	190,934	234,614
0,03221	-257,395	0,2599	79,757	81,024
0,04828	-263,09	0,9900	222,398	236,361
0,06432	-263,742	0,5814	119,353	142,24
0,08033	-254,996	2,505	403,443	496,813

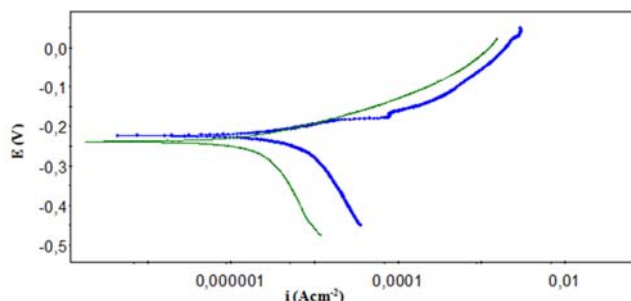
Tabela 6. Korozijski parametri određeni metodama Tafelove ekstrapolacije bakra u 3% otopini NaCl bez i uz dodatak ekstrakta ploda Polke Maglaj u različitim koncentracijama

Koncentracija ekstrakta u ćeliji, g/L	Metoda Tafelove ekstrapolacije			
	$E(mV)$	$I(\mu A)$	$\beta_c(mV)$	$\beta_a(mV)$
0	-262,528	1,509	264,263	75,418
0,01612	-252,471	0,8478	113,505	52,832
0,03221	-233,971	0,7104	144,37	46,03
0,04828	-287,028	2,066	157,064	79,654
0,06432	-237,682	0,9556	121,725	50,178
0,08033	-234,482	1,548	215,099	57,234

Metodom Tafelove ekstrapolacije najveće inhibitorno dejstvo bakra u 3% NaCl dao je ekstrakt UCPM maksimalne koncentracije zaštite **0,03221 g/L**, strujom korozije 0,2599 μA , koji je imao najveći sadržaj ukupnih fenola kao i rutina.

3.3. Rezultati uticaja standardne otopine rutina na korozione karakteristike bakra

Veliko zanimanje za rutin u različitim biljkama pokazuju mnogi znanstvenici, zbog njegovog antibakterijskog, antiviralnog, antiupalnog, antitumorskog djelovanja, što je doprinjelo i njegovom analizom u ekstraktima maline (*Rubus idaeus* L.) i proučavanja njegovog djelovanja na korozione karakteristike bakra u 3% NaCl. Ovim rezultatima povezat će se HPLC analiza ispitivanih ekstrakata sa ispitivanjima korozionih karakteristika bakra u 3% NaCl. Na slici 7. su prikazane polarizacijske krive bakra u 3% NaCl bez i uz dodatak standardne otopine rutina, u koncentraciji od 0,03221 g/L, dobivene metodom Tafelove ekstrapolacije.



Slika 7. Anodne i katodne krivulje polarizacije bakra u 3% otopini NaCl bez i uz dodatak standardne otopine rutina

■ 3% NaCl; ■ 3% NaCl+0,03221g/L

U tabeli 7. su prikazani korozioni parametri bakra u 3% NaCl, bez i uz dodatak standardne otopine rutina određeni metodom Tafelove ekstrapolacije.

Tabela 7. Korozijski parametri određeni metodom Tafelove ekstrapolacije bakra u 3% otopini NaCl bez i uz dodatak standardne otopine rutina

Metalni materijal	Koncentracija standardne otopine rutina u ćeliji, g/L	$E(mV)$	$I(\mu A)$	$\beta_c(mV)$	$\beta_a(mV)$
Bakar	0	-224,841	11,70	566,312	103,312
	0,03221	-239,906	3,408	525,467	83,125

Ispitivana standardna otopina dovela je do sniženja brzine korozije bakra u 3% NaCl, pa se može zaključiti da komponenta rutin koja je detektovana HPLC analizom u ovim ekstraktima utiče između ostalog na smanjenje brzine korozije bakra u agresivnom mediju kao što je 3% otopini NaCl.

4. ZAKLJUČCI

Rezultati provedeni u ovom radu pokazuju da ekstrakti lista, cvijeta i ploda maline (*Rubus idaeus* L.) sorte Polka, sa lokaliteta Moševac kod Maglaja, sadrže značajne količine ukupnih fenola. Rezultati nedvojbeno pokazuju da je sadržaj ukupnih fenola i rutina najveći u ekstraktu cvijeta maline. Primjenom Tafelove metode dokazano je da ekstrakt cvijeta maline koncentracije 0,03221 g/L pruža najveću zaštitu bakru od opšte korozije u 3% NaCl. Standardna otopina rutina koncentracije 0,03221 g/L dovela je do sniženja brzine korozije bakra, tako da rutin koji je detektovan HPLC analizom u ovim ekstraktima utiče između ostalog na smanjenje brzine korozije bakra u agresivnom mediju kao što je 3 % NaCl.

5. LITERATURA

- [1] D. Kasapović, F. Bikić, Influence of the extraction method on the content of total phenols in extract of raspberry flower, 12. Naučno-stručni skup s međunarodnim učešćem "QUALITY 2021", Neum, B&H, 17. – 19. juni 2021.
- [2] R.A Moyer, K.E. Hummer, C.E. Finn, B. Frei, R.E. Wrolstad, Anthocyanins, Phenolics, and Antioxidant Capacity in Diverse Small Fruits, *Vaccinium, Rubus* and *Ribes*, J. Agric. Food Chem., 50, 519-525, 2002.
- [3] D. Kasapović, F. Korać, F. Bikić, Testing the effectiveness of raspberry flower extract as an inhibitor of copper's corrosion in 3% NaCl, ZASTITA MATERIJALA 63 (2022) broj 2
- [4] D. Kasapović, L. Klepo, J. Ostojić, F. Korać, Investigation of Inhibitory Effect of the *Rubus idaeus* L. Extract on Corrosion of Copper, Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina 2022, 59, 1-9
- [5] D. Kasapović, F. Bikić, Rutin analysis by high-resolution liquid chromatography on reverse phases in raspberry flower extract (*Rubus idaeus* L.), 14th Scientific/Research Symposium with International Participation „METALLIC AND NONMETALLIC MATERIALS“ B&H, 27th and 28th April 2023.
- [6] A. S. Milenković Anđelković, Ekstrakcija, karakterizacija, biološka aktivnost i potencijalna primena fenolnih jedinjenja iz plodova i lišća biljnih vrsta familija Rosaceae, Cornaceae i Grossulariaceae, [Doktorska disertacija], Univerzitet u Nišu, Prirodnomatemički fakultet, Niš, 2016.
- [7] M. Vinčić, Antioksidativna, antiproliferativna i antimikrobna aktivnost odabranih ekstrakata tropova bobičastog voća, [Doktorska disertacija], Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad, 2017.
- [8] D. Kasapović, F. Korać, F. Bikić, Gallic acid analysis by high-resolution liquid chromatography on reverse phases in raspberry flower extract (*Rubus idaeus* L.), Journal of Sustainable Technologies and Materials 1(2021), 30 – 35
- [9] ASTM G5-94, Standard Reference Test Method for Making Potentiostatic and Potenciodynamic Anodic Polarization Measurements.