Kinetika adsorpcije galne kiseline na ß-glukanu

Diklić, Andrijana

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:309168

Rights / Prava: Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Andrijana Diklić

KINETIKA ADSORPCIJE GALNE KISELINE NA β-GLUKANU

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan 2020.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za primijenjenu kemiju i ekologiju
Katedra za primijenjenu kemiju i instrumentalne metode
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski studij Prehrambeno inženjerstvo
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Fizikalna kemija
Tema rada je prihvaćena na VII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2019./2020. održanoj 29. svibnja 2020.
Mentor: prof. dr. sc. *Lidija Jakobek Barron*

Kinetika adsorpcije galne kiseline na β-glukanu

Andrijana Diklić, 0113013677

Sažetak:

Adsorpcija predstavlja proces vezanja molekula iz tekućine ili plina na površinu krute faze. Tijekom istraživanja adsorpcije provode se eksperimenti kojima se dobiju podaci o količini adsorbirane (q_e) i neadsorbirane tvari (c_e) u trenutku kada proces adsorpcije dođe u stanje ravnoteže. Ukoliko se proces adsorpcije provodi u različitim vremenskim intervalima, rezultati se mogu modelirati kinetičkim modelima pseudo-prvog i pseudo-drugog reda na osnovu kojih se određuje red reakcije i konstanta brzine reakcije. Procesom adsorpcije te kinetikom adsorpcije mogu se ispitati interakcije između molekula kao što su polifenoli i prehrambena vlakna. Cilj ovo rada bio je ispitati kinetiku adsorpcije galne kiseline na β-glukanu pri tri različita pH (1,5; 7,5 i 10) u različitim vremenskim intervalima te obraditi rezultate jednadžbama pseudo-prvog i pseudo-drugog reda. Dobiveni rezultati pokazali su da se galna kiselina adsorbira na β-glukan, a adsorpcijski kapacitet raste s povećanjem pH. Kemijska struktura galne kiseline na različitim pH vrijednostima utječe na adsorpciju. Adsorpcija je najbrža tijekom 1 h reakcije, a tijekom 5 h adsorpcija vjerojatno slijedi kinetiku pseudo-drugog reda.

Ključne riječi: adsorpcija, kinetika, galna kiseline, β-glukan, pH

Rad sadrži: 43 stranica
16 slika
2 tablica
0 priloga
29 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

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

1.	prof. dr. sc. *Ivica Strelec*	predsjednik
2.	prof. dr. sc. *Lidija Jakobek Barron*	član-mentor
3.	doc. dr. sc. *Valentina Bušić*	član
4.	dr. sc. *Ivana Tomac,* znan. sur.	zamjena člana

Datum obrane: 29. rujna 2020.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Applied Chemistry and Ecology
Subdepartment of Applied Chemistry and Instrumental Methods
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program	Food Engineering
Scientific area:	Biotechnical sciences
Scientific field:	Food technology
Course title:	Physical Chemistry
Thesis subject	was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VII. held on May 29. 2020.
Mentor:	Lidija Jakobek Barron, PhD, Full. Prof.

Kinetics of Gallic Acid Adsorption Onto β-glucan

Andrijana Diklić, 0113013677

Summary:

Adsorption is a process in which molecules from a liquid or gas bind to the surface of a solid phase. To study the adsorption process, experiments are performed to obtain the data of amount of adsorbed (q_e) and un-adsorbed compounds (c_e) at the moment when the adsorption reaches equilibrium. If the adsorption process is carried out at different time intervals, the results can be modeled with kinetic models of the pseudo-first and pseudo-second order, which enable the determination of the reaction order and the reaction rate constant. The interactions between molecules such as polyphenols and dietary fibers can be studied with the adsorption process and adsorption kinetics. The aim of this study was to examine the kinetics of adsorption of gallic acid onto β-glucan at three different pH values (1,5; 7,5 and 10) at different time intervals, and to model the results with pseudo-first and pseudo-second order equations. The obtained results showed that gallic acid adsorbed onto β-glucan, and adsorption capacity increased with the pH increase. Different chemical structure of gallic acid at different pH values affected adsorption. The adsorption was faster in the first 1 h, and after 5 h it probably followed pseudo-second order reaction.

Keywords: adsorption, kinetics, gallic acid, β-glucan

Thesis contains:
43 pages
16 figures
2 tables
0 supplements
29 references

Original in: Croatian

Defense committee:

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

Defense date: September 29, 2020

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Ovaj diplomski rad financiran je projektom Hrvatske zaklade za znanost HRZZ-IP-2016-06-6777

Sadržaj

1. UVOD 1

2. TEORIJSKI DIO 3

2.1. POLIFENOLI 4

2.1.1. Galna kiselina 4

2.2. PREHRAMBENA VLAKNA 6

2.2.1. β-glukan 6

2.3. ADSORPCIJA 7

2.4. KINETIKA PROCESA ADSORPCIJE 8

2.4.1. Kinetika procesa adsorpcije 9

2.5. INTERAKCIJE POLIFENOLA S PREHRAMBENIM VLAKNIMA 11

2.5.1. Interakcije galne kiseline i β-glukana 11

3. EKSPERIMENTALNI DIO 12

3.1. ZADATAK 13

3.2. MATERIJAL I METODE 13

3.2.1. Kemikalije 13

3.2.2. Priprema pufera 14

3.2.3. Priprema otopine galne kiseline i β-glukana 14

3.2.4. Adsorpcija galne kiseline na β-glukan 14

3.2.5. Folin-Ciocalteu metoda 15

3.2.6. Adosrpcijski kapacitet 15

3.2.7. Kinetika 15

3.2.8. UV/Vis spektri galne kiseline i β-glukana 17

3.2.9. Statistička obrada podataka 17

4. REZULTATI I RASPRAVA 18

4.1. REZULTATI 19

4.2. RASPRAVA 34

5. ZAKLJUČCI 39

6. LITERATURA 41

1. UVOD

Danas je već opće poznato da polifenolni spojevi imaju veliku ulogu kako u biljnom svijetu (zaštita od oksidacije, UV zračenja te vanjskih štetočina), tako i za ljudski organizam (prvenstveno sprječavanje štetnog djelovanja slobodnih radikala). Bioaktivnost i bioraspoloživost polifenola tijekom probave ovisit će o svojstvima samog polifenolnog spoja, njegovoj strukturi, ali i reakcijama s drugim spojevima u hrani (Jakobek, 2007; Perković, 2019).

U ljudskom probavnom sustavu polifenoli ulaze u interakciju s prehrambenim vlaknima, što utječe na njihovu bioraspoloživost. Ovisno o interakciji i tipu veza, prehrambena vlakna mogu osigurati veću bioraspoloživost polifenola štiteći ih od prerane oksidacije u probavnom sustavu. Koja veza će nastati i hoće li doći do interakcije uopće, ovisiti će o pH, temperaturi, ionskoj jakosti okoline te strukturi reaktanata (Jakobek i Matić, 2019).

Interakcije polifenola i prehrambenih vlakana se mogu interpretirati kao procesi adsorpcije fenolnih spojeva na vlakna. Adsorpcija je proces koji definira sposobnost neke čvrste tvari (prehrambenog vlakna kao adsorbensa) da na svojoj površini veže, odnosno adsorbira molekule plina ili otopljene tvari iz otopine (polifenole kao adsorbante) (Brdička, 1969). Kada se jedan takav proces privede kraju, tj. kada je koncentracija adsorbiranih i neadsorbiranih polifenola u ravnoteži, dobiju se adsorpcijske izoterme. Proces adsorpcije se najčešće opisuje kinetičkim jednadžbama pseudo-prvog i pseudo-drugog reda (Alshameri i sur., 2018).

Jedan od najrasprostranjenijih i jedan od glavnih predstavnika polifenolinih spojeva je galna kiselina koja pripada skupini hidroksibenzojevih kiselina. Može se pronaći u vinu, čajevima, citrusnim plodovima i dr., a mnoga istraživanja su pokazala da posjeduje protuupalna, antioksidacijska i antibakterijska svojstva (Locatelli i sur., 2013). Bioaktivnost i bioraspoloživost galne kiseline u ljudskom organizmu uvelike ovisi o njenim interakcijama s drugim spojevima, pa tako i prehrambenim vlaknima, npr. β-glukanom. Stoga, cilj ovog istraživanja je bio odrediti adsorpcijski kapacitet β-glukana za galnu kiselinu te pratiti proces adsorpcije kroz određeni vremenski period pri različitim pH vrijednostima. Ekperimentalni rezultati su obrađeni jednadžbama pseudo-prvog i pseudo-drugog reda.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. POLIFENOLI

Polifenoli predstavljaju jednu od najbrojnijih i najrasprostranjenijih skupina spojeva u biljkama. Mogu se sastojati od jednostavnih molekula (npr. benzokinoni, kumarini, kromoni, ksantoni, fenolne kiseline i dr.) ili vrlo složenih molekula velike molekulske mase (tanini ili lignini). Zajedničko im je postojanje aromatskog prstena u strukturi na koji je vezana jedna hidroksilna skupina (Goleniowski i sur., 2013). Oni su biljni sekundarni metaboliti koji, iako nisu nužni za funkcioniranje ljudskog organizma, igraju veliku ulogu u njegovom obrambenom mehanizmu (Jakobek, 2007; Tadić, 2016).

Prema strukturi se dijele na flavonoide, fenolne kiseline, stilbene i lignane. Nadalje, flavonoidi se dijele na flavonole, flavone, antocijane i izoflavone, te ujedno predstavljaju i najveću skupinu polifenola (Panche i sur., 2016). Fenolne kiseline u svojoj strukturi sadržavaju fenolni aromatski prsten na koji je vezana barem jedna karboksilna skupina. One mogu biti derivati benzojeve ili cimetne kiseline (hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline). U prirodi se većinom javljaju u vezanom obliku, najčešće esterificirane s vinskom kiselinom ili kina kiselinom (Jakobek, 2007).

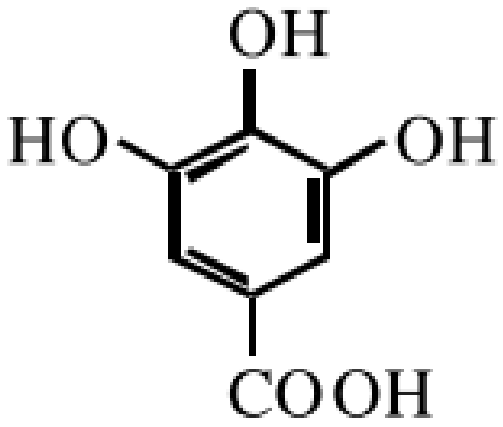
Hidroksicimetne kiseline su dijelovi staničnih stijenki biljnih stanica gdje su konjugirane hidroksilnim kiselinama (šikiminska, vinska kiselina), a enzimska ili kemijska hidroliza uzrokuje njihov prelazak u slobodan oblik. Četiri su najzastupljenije hidroksicimetne kiseline: *p*-kumarinska, kafeinska, ferulična i sinapinska kiselina (Manach i sur., 2004). Hidroksibenzojeve kiseline imaju općenitu C_6-C_1 strukutru koja potječe od benzojeve kiseline. Rijetko se javljaju u slobodnom obliku, uglavno su to konjugati (konjugirani šećerima, organskim kiselinama ili dijelovima stanične stijenke, npr. lignine), koji se oslobađaju tijekom prerade voća i povrća. Ovoj skupini pripadaju *p*-hidrokskibenzojeva, vanilinska, siringinska, protokatehinska, elaginska te galna kiselina (Goleniowski i sur., 2013; Jakobek, 2007)

2.1.1. Galna kiselina

Galna kiselina (3,4,5-trihidroksibenzojeva kiselina) je jedna od najpoznatijih hidroksibenzojevih kiselina. Vrlo često se u metodama određivanja ukupnih fenola ili fenolnih podgrupa galna kiselina koristi kao standard. Opće poznato je da posjeduje antioksidacijska, antibakterijska i antiupalna svojstva. Njena uloga u sprječavanju oksidativnih oštećenja može uzrokovati potencijalno smanjenje rizika od nekih bolesti. Jabuka, maslinovo ulje, orasi, zeleni

čaj i citrusni plodovi predstavljaju najveće izvore galne kiseline (Jelić, 2019; Locatelli i sur., 2013). Najčešće se galna kiselina proizvodi kiselinskom hidrolizom tanina. Tanini koji su podložni hidrolizi sadrže galotanine i elagitanine s glukozom u središtu. Kao preduvjet da bi se nešto klasificiralo kao tanin, tri hidroksilne skupine glukoze moraju biti esterificirane u oligomere galne kiseline (Ow i Stupans, 2003). U čistom obliku galna kiselina izgleda kao bezbojni kristalni prah. Soli galne kiseline su galati, a njeni esteri se koriste za stabilizaciju biljnih i životinjskih masti jer sprječavaju proces oksidacije (Jelić, 2019). Budući da su galna kiselina i njeni metaboliti prisutni u voću, povrću te raznim napitcima (čaj, vino itd.), dnevni unos galne kiseline u organizam može doseći i 1 gram. Mnogi aditivi i suplementi mogu sadržavati galnu kiselinu ili njene estere (propil i oktil galat) (Shi i sur., 2013).

Na **Slici 1** prikazana je struktura galne kiseline gdje je vidljivo da su na aromatski prsten vezane tri hidroksilne skupine (*ortho*- položaj u odnosu jedna prema drugoj) te jedna karboksilna skupina. Položaj i broj hidroksilnih skupina te prisutnost drugih funkcionalnih skupina utječe na antioksidacijsku aktivnost galne kiseline. Povećanjem broja hidroksilnih skupina povećava se i antioksidacijsko djelovanje neke molekule, zbog čega galna kiselina pokazuje visok antiradikalni učinak (Jelić, 2019; Locatelli i sur., 2013).



Slika 1 Struktura galne kiseline (Jakobek, 2007)

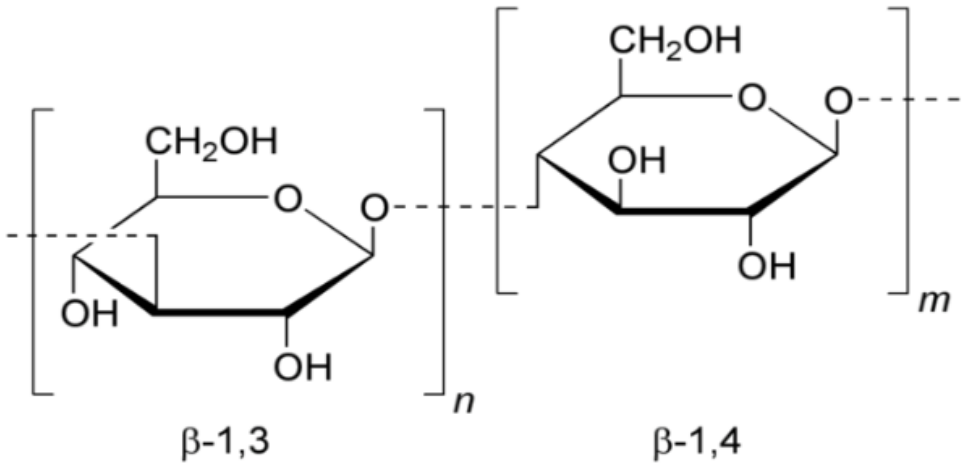
2.2. PREHRAMBENA VLAKNA

Prehrambena vlakna predstavljaju heterogenu skupinu komponenata s različitim funkcionalnim svojstvima. Ne probavljaju se niti apsorbiraju u ljudskom probavnom traktu, nego se potpuno ili djelomično fermentiraju u debelom crijevu uz pomoć prirodne endogene mikroflore. Kao produkti nastaju kratkolančane masne kiseline, plinovi i voda (Jakobek i Matić, 2019). Zabilježeno je da propionska kiselina, koja može tako nastati, smanjuje sintezu kolesterola u jetri, pa tako i njegovu razinu u krvi (Chakrabarty i Chakrabarty, 2019)

Glavna podjela prehrambenih vlakana je na topljiva i netopljiva vlakna. Skupini netopljivih vlakana pripadaju hitin, celuloza, hemiceluloza itd. Vlakna topljiva u vodi uključuju pektin, gume, *β*-glukane i fruktane, uključujući inulin i fruktooligosaharide (Chakrabarty i Chakrabarty, 2019; Dror i sur., 2020).

2.2.1. *β*-glukan

Glukani su polisaharidi koji se sastoje od glukoze, a s obzirom na tip veza unutar molekule postoje *α*-glukani (monomeri glukoze povezani α-glikozidnim vezama) i *β*-glukani (monomeri glukoze povezani *β*-glikozidnim vezama) (Dror i sur., 2020). U strukturi *β*-glukana pronalaze se *β*-1,4-glikozidne veze, a nakon svake dvije do tri takve veze dolazi *β*-1,3-glikozidna veza (**Slika 2**).



Slika 2 Struktura *β*-glukana (Perković, 2019)

Znanstvena istraživanja pokazala su da *β*-glukan ima potencijal poticanja imunološkog sustava, smanjenja razine LDL kolesterola i glukoze u krvi. Otporan je na apsorpciju u tankom crijevu, a u debelom crijevu dolazi do njegove fermentacije pri čemu nastaju komponente koje se lakše apsorbiraju u krvotok. Kao izvori *β*-glukana najviše se ističu žitarice, i to zob i ječam, ali

β-glukan se može pronaći i u pekarskom kvascu, gljivama i algama (Dror i sur., 2020).

2.3. ADSORPCIJA

Adsorpcija se definira kao interakcija adsorbensa (čvrste tvari) i adsorbanta (otopljena tvar iz otopine ili molekula plina) i odvija se na granici te dvije faze koje se naziva granično područje faza. To područje nastaje pod utjecajem različitih sila, a količina tvari koja se adsorbira ovisi o prirodi adsorbensa i adsorbanta, pH, tlaku, temperaturi i koncentraciji. Adsorpcija je egzoterman proces ($\Delta H < 0$). Proces adsorpcije je uspješniji što je veća površina adsorbensa (Perković, 2017). Nadalje, proces adsorpcije ovisi i o svojstvima površine koja može biti nepolarna (hidrofobna), polarna (hidrofilna) te površina s pozitivnim ili negativnim nabojem (Latour, 2020). S obzirom na vrstu sila između adsorbensa i adsorbanta, tri su tipa adsorpcije:

- fizikalna ili Van der Waalsova adsorpcija – između čestica vladaju slabe Van der Waalsove sile i adsorpcijske topline nisu više od 10 kcal/mol;
- Kemijska adsorpcija ili kemisorpcija – između čestica vladaju jače kemijske sile i adsorpcijske topline dosegnu i do 150 kcal mol^{-1};
- Ionska adsorpcija – javlja se kod pozitivno ili negativno nabijenih koloida koji na svojoj površini adsorbiraju anione ili katione (Brdička, 1969).

Primjena adsorpcije je raznolika, a vrlo često predstavlja jeftinu i pouzdanu metodu za izdvajanje neke komponente iz otopine ili plina, npr. uklanjanje kontaminanata iz otpadnih voda, pročišćavanje zraka, izdvajanje pojedinih spojeva i dijelova proizvoda, itd. Ključan je odabir adsorbensa, a kao adsorbens se mogu koristiti razni materijali. Često su to aktivni ugljen ili otpadni materijali prehrambene industrije kao repini rezanci, pivski trop, trop jabuke, kore citrusa (Afolabi i sur., 2020).

Adsorpcijski kapacitet adsorbanta na adsorbensu računa se prema **formuli (1)**:

$$q_e\ (ili\ q_t) = \frac{(c_o - c_e) * V_,}{c_a * V_a} \quad \textbf{(1)}$$

gdje je: q_e – ravnotežni adsorpcijski kapacitet adsorbanta na adsorbensu (mg g^{-1}),

c_o - početna koncentracija adsorbanta u otopini (mg l^{-1}),

c_e - ravnotežna koncentracija adsorbanta u otopini (mg l^{-1}),

V_m - volumen otopine u kojoj se odvija adsorpcija (l),

c_a - koncentracija adsorbensa u otopini (mg l^{-1}),

V_a – volumen adsorbensa u otopini (l) (Krešić, 2017).

2.4. KINETIKA PROCESA ADSORPCIJE

Kemijska kinetika istražuje brzine kemijskih reakcija, parametre koji utječu na brzinu reakcije i mehanizme kemijskih reakcija. Ukoliko se odvija reakcija prvog reda u kojoj reaktant A prelazi u produkte, tada se jednadžba kinetike te reakcije može opisati jednadžbom:

$$-\frac{dc_A}{dt} = k_1 c_A \quad \textbf{(2)}$$

$$-\frac{dc_A}{c_A} = k_1 dt \quad \textbf{(3)}$$

gdje je c_A koncentracija reaktanta A, t je vrijeme, a k_1 konstanta brzine reakcije prvog reda.

Ukoliko se ova jednadžba integrira u granicama c_{A0} do c_A, $t = 0$ do t (kada je $t = 0$, koncentracija reaktanta A iznosi c_{A0}, kada je vrijeme t, tada je koncentracija reaktanta A c_A), dobije se jednadžba:

$$ln\frac{c_{A0}}{c_A} = k_1 t \quad \textbf{(4)}$$

koja predstavlja jednadžbu kemijske reakcije prvog reda. Iz ove jednadžbe se sređivanjem dobije jednadžba za određivanje konstante brzine reakcije prvog reda:

$$k_1 = \frac{1}{t} ln\frac{c_{A0}}{c_A} \quad \textbf{(5)}$$

Kemijska reakcija drugog reda može se opisati jednadžbom:

$$-\frac{dc_A}{dt} = k_2 c_A^2 \quad \textbf{(6)}$$

$$-\frac{dc_A}{c_A^2} = k_2 dt \quad \textbf{(7)}$$

Integriranjem u granicama od c_{A0} do c_A, $t = 0$ do t, dobije se jednadžba:

$$\frac{1}{c_A} - \frac{1}{c_{A0}} = k_2 t \quad \textbf{(8)}$$

koja predstavlja jednadžbu kemijske reakcije drugog reda. Iz ove jednadžbe se sređivanjem dobije jednadžba za određivanje konstante brzine reakcije drugog reda:

$$k_2 = \frac{1}{t}\left(\frac{1}{c_A} - \frac{1}{c_{A0}}\right) \quad \textbf{(9)}$$

Jednadžbe za brzine reakcije prvog i drugog reda te jednadžbe za konstante brzine reakcije prvog i drugog reda mogu se upotrijebiti za dobivanje konstanti k_1 i k_2 te za određivanje reda reakcije ukoliko reakcija odgovara jednadžbama prvog ili drugog reda.

2.4.1. Kinetika procesa adsorpcije

Princip procesa adsorpcije zasniva se na dvije faze: difuzija i reakcija na površini adsorbensa. Vrlo često se onda kinetički modeli adsorpcije dijele na dva tipa, difuzijski i reakcijski model. Difuzijski model opisuje transport adsorbanta iz otopine prema površini adsorbensa, dok reakcijski modeli opisuju sam proces adsorpcije (Fang i sur., 2020).

Za obradu eksperimentalnih podataka adsorpcije adsorbanta na adsorbens u različitim vremenskim intervalima vrlo često se koriste kinetičke jednadžbe pseudo-prvog i pseudo-drugog reda.

2.4.1.1. Model pseudo-prvog reda

Pojam "pseudo" je povezan s kinetičkim modelima koji opisuju reakcije u kojima je jedan reaktant konstantan, odnosno ne utječe na brzinu reakcije. Kod procesa adsorpcije prati se promjena koncentracije adsorbanta na adsorbens čija se koncentracija ne mijenja (Laidler, 1996).

Model pseudo-prvog reda je jedan od najčešće korištenih modela koji opisuje brzinu adsorpcije u tekućinama. Lagergren (1898) je prvi predložio jednadžbu pseudo-prvog reda, a danas se uglavnom koristi inačica koju su dali Ho i McKay (1999). Linearna jednadžba pseudo-prvog reda, pri q_e=0 kada je t = 0 i q_t = q_e kada je t = t_e, dana je **formulom (10)**:

$$\ln(q_e - q_t) = lnq_e - k_1 t \quad \textbf{(10)}$$

gdje je: q_e – ravnotežni adsorpcijski kapacitet (mg g^{-1}),

q_t – adsorpcijski kapacitet u vremenu t (mg g^{-1}),

t – vrijeme (h),

k_1 – konstanta brzine reakcije pseudo-prvog reda (h^{-1}) (Perković, 2019).

Linearnom regresijom preko dijagrama ovisnosti ln(q_e-q_t) o t, koji daje nagib pravca $-k_1$ i odsječak na y-osi ln q_e, mogu se odrediti vrijednosti parametara q_e i k_1 (Alshameri i sur., 2018).

2.4.1.2. Model pseudo-drugog reda

Model pseudo-drugog reda se temelji na pretpostavci da brzinu adsorpcijske kinetike određuje brzina procesa adsorpcije i desorpcije. Linearna jednadžba pseudo-drugog reda dobivena pri graničnim uvjetima q_e = 0 kada je t = 0 i q_t = q_e kada je t = t_e, (Ho i McKay, 1999) prikazana je **formulom (11)**:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{q_e} t + \frac{1}{k_2 q_e^2} \quad \textbf{(11)}$$

gdje je: q_e – ravnotežni adsorpcijski kapacitet (mg g^{-1}),

q_t – adsorpcijski kapacitet u vremenu t (mg g^{-1}),

t – vrijeme (h),

k_2 – konstanta brzine reakcije pseudo-drugog reda (g (mgh)$^{-1}$) (Perković, 2019).

Linearnom regresijom preko dijagrama ovisnosti t/q_t o t, koji daje nagib pravca $1/q_e$ i odsječak na y-osi $1/k_2 q_e^2$, mogu se odrediti vrijednosti parametara q_e i k_2 (Alshameri i sur., 2018).

Navedeni modeli kinetike adsorpcije mogu se primijeniti i na adsorpciju između polifenola i prehrambenih vlakana, točnije za opisivanje interakcija galne kiseline i β-glukana.

2.5. INTERAKCIJE POLIFENOLA S PREHRAMBENIM VLAKNIMA

Bioaktivnost i bioraspoloživost polifenolnih tvari u organizmu uvelike ovisi o njihovim interakcijama s drugim molekulama, posebice ugljikohidratima, proteinima i lipidima. Te interakcije mogu smanjiti dostupnost polifenola u organizmu, ali, s druge strane, mogu i spriječiti oksidaciju polifenola tijekom prolaska kroz probavni sustav zbog čega postoji mogućnost da dođu u debelo crijevo u kojem se metaboliziraju pod utjecajem prirodne mikroflore. Najčešće se te interakcije ostvaruju pomoću nekovalentnih veza, posebice vodikovih veza. Kovalentne veze se mogu pojaviti u slučaju kada fenolna tvar posjeduje mogućnost stvaranja radikala kinona i semikinona kroz reakciju u dva koraka. Kod interakcija polifenola s ugljikohidratima, odnosno s prehrambenim vlaknima, dolazi do stvaranja vodikovih veza. Između polifenola i polisaharida može doći do stvaranja kovalentnih veza. Stupanj vezivanja ovisiti će o strukturi obje molekule (Jakobek, 2015).

2.5.1. Interakcije galne kiseline i *β*-glukana

Interakcije *β*-glukana i polifenola se interpretiraju kroz proces adsorpcije pri čemu je *β*-glukan adsorbens, a polifenoli adsorbanti. Tijekom ovog procesa određuje se adsorpcijski kapacitet te adsorpcijske izoterme (Perković, 2017).

Galna kiselina formira dva tipa oligomera: oligomeri u kojima nastaje veza između dva atoma ugljika u fenolnim prstenovima (ne može hidrolizirati) i oligomeri s kompleksnim esterskim vezama između funkcionalnih skupina (mogu hidrolizirati) (Krasnova i sur., 2015). Struktura galne kiseline znatno utječe na proces njene adsorpcije na *β*-glukan. Esterifikacijom galne kiseline zamijećeno je značajno povećanje hidrofobnosti i smanjenje adsorpcije budući da je adsorpcija galne kiseline na *β*-glukan predvođena hidrofilnim reakcijama (vodikove veze) (Jakobek, 2015).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak rada bio je:

- provesti adsorpciju galne kiseline (20, 50 i 100 mg l^{-1}) na β-glukanu pri različitim pH vrijednostima (1,5; 7,5 i 10) i u različitim vremenskim periodima (10, 30, 60, 120, 300 min);
- kvantificirati galnu kiselinu nakon adsorpcije spektrofotometrijski pomoću Folin-Ciocalteu metode te izračunati adsorpcijski kapacitet u različitim vremenskim periodima (q_t)
- modelirati eksperimentalne podatke jednadžbama pseudo-prvog i pseudo-drugog reda
- Na osnovu dobivenih podataka opisati mogući mehanizam adsorpcije galne kiseline pri različitim pH vrijednostima

3.2. MATERIJAL I METODE

3.2.1. Kemikalije

Za izradu ovog rada korištene su sljedeće kemikalije:

- β-glukan iz ječma (G6513) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA),
- Galna kiselina (≥ 98%) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA),
- Folin-Cioalteu reagens (Kemika, Zagreb, Hrvatska),
- HCl (37 %) (Carlo Erba, Val de Reuil, Francuska),
- KCl (Gram mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska),
- Na_2CO_3 (T.T.T., Sveta Nedelja, Hrvatska),
- $NaHCO_3$ (Gram mol, Zagreb, Hrvatska),
- Na_2HPO_4 $12H_2O$ (Kemika, Zagreb, Hrvatska),
- NaH_2PO_4 $2H_2O$ (Kemika, Zagreb, Hrvatska).

3.2.2. Priprema pufera

Otopipri pH vrijednosti 1,5: U odmjernu tikvicu od 100 ml pripremljena je otopina kloridne kiseline koncentracije 0,1 mol dm^{-3}, te otopina kalijevog klorida koncentracije 0,1 mol dm^{-3}. Otopipri pH vrijednosti 1,5 dobivena je miješanjem 50 ml 0,1 mol dm^{-3} KCl, 31,62 ml 0,1 mol dm^{-3} HCl te destilirane vode do ukupnog volumena 100 ml.

Pufer pH vrijednosti 7,5: Odvagano je 0,2902 g NaH_2PO_4 $2H_2O$ i 2,9153 g Na_2HPO_4 $12H_2O$ u odmjernu tikvicu od 100 ml te je dodana destilirana voda do ukupnog volumena 100 ml

Pufer pH vrijednosti 10: Odvagano je 0,5682 g $NaHCO_3$ i 0,34309 g Na_2CO_3 u odmjernu tikvicu od 100 ml te je dodana destilirana voda do ukupnog volumena 100 ml.

3.2.3. Priprema otopine galne kiseline i *β*-glukana

Pripremljena je stock otopina galne kiseline koncentracije 1000 mg l^{-1} u ukupnom volumenu 5 ml otapanjem galne kiseline u metanolu. Od stock otopine su razrjeđenjem pripremljene otopine galne kiseline 10, 20, 30, 50 i 100 mg l^{-1} koje su poslužile za konstrukciju kalibracijskog pravca galne kiseline. Otopina *β*-glukana pripremljena je u odmjernoj tikvici volumena 25 ml u koncentraciji 194 mg l^{-1} otapanjem *β*-glukana u vodi te zagrijavanjem na 80 °C.

3.2.4. Adsorpcija galne kiseline na *β*-glukan

Adsorpcija je praćena pri 3 različite pH vrijednosti (pH 1,5; 7,5 i 10) za tri različite početne koncentracije galne kiseline (c_{A0}) (20, 50 i 100 mg l^{-1}). Pri pH vrijednosti 1,5, adsorpcija je provedena tako da je u 5 plastičnih epruveta dodan *β*-glukan (konačna koncentracija u reakcijskoj otopini 10 mg l^{-1}), galna kiselina (konačna koncentracija u reakcijskoj otopini 20 mg l^{-1}), a ostatak volumena do 1500 μl zauzimao je pufer pH vrijednosti 1,5. Ove epruvete stavljene su na vortex (PV 1 Grant bio, Grant Instruments, Cambridgeshire, UK) te na mješalicu (IKA KS 130, Staufen, Germany). S obzirom na vrijeme praćenja adsorpcije (10, 30, 60, 120, 300 min) epruvete su skinute s mješalice, stavljene na centrifugu na 10 000 rpm, 5 minuta. Iz gornjeg dijela otopine uzet je alikvot od 750 μl koji je profiltriran syringe filterom (0,45 μm, PTFE) te upotrijebljen za analizu galne kiseline nakon adsorpcije (c_A). Isti postupak proveden je za adsorpciju galne kiseline početne koncentracije 50 i 100 mg l^{-1} pri pH 1,5.

Adsorpcija pri pH vrijednosti 7,5 i 10 provedena je na isti način.

3.2.5. Folin-Ciocalteu metoda

Koncentracija galne kiseline nakon adsorpcije (c_A) određena je spektrofotometrijskom Folin-Ciocalteu metodom. U kivetu je otpipetirano 20 µl profiltriranog uzorka, 1580 µl destilirane vode, 100 µl Folin-Ciocalteu reagensa te 300 µl otopine Na_2CO_3 (Sabljić, 2016). Smjesa je promiješana na vortex mješalici te stavljena u inkubator (IN 30, Memmert, Buechenbach, Njemačka) na 40 °C, 30 minuta. Priređena je i slijepa proba u koju je umjesto uzorka dodana destilirana voda. Nakon završene inkubacije otopinama galne kiseline mjerena je apsorbancija (*A*) na spektrofotometru (UV 1280, Shimadzu, Kyoto, Japan) na 765 nm, nasuprot slijepe probe. Svi uzorci mjereni su u dvije paralele (n = 2). Kalibracijska krivulja koja je poslužila za računanje koncentracije galne kiseline u uzorcima dobivena je mjerenjem različitih koncentracija galne kiseline (10, 20, 30, 50 i 100 mg l^{-1}) istim postupkom.

3.2.6. Adosrpcijski kapacitet

Za računanje adsorpcijskog kapaciteta u svim vremenskim periodima (q_t (mg g^{-1} β-glukana)) upotrijebljena je **formula (12):**

$$q_e(ili\ q_t) = \frac{(c_{A0} - c_A)V_m}{\gamma_a V_a} \quad \textbf{(12)}$$

gdje je: c_{A0} početna koncentracija galne kiseline (mg l^{-1}), c_A koncentracija galne kiseline nakon adsorpcije ili količina neadsorbirane galne kiseline (mg l^{-1}), V_m ukupan volumen reakcijske otopine (l), γ_a masena koncentracija β-glukana (g l^{-1}), V_a volumen dodanog β-glukana u reakcijskoj otopini (l).

3.2.7. Kinetika

Kinetika je istraživana praćenjem koncentracije galne kiseline na početku reakcije c_{AO} i nakon adsorpcije c_A. Podaci c_{AO} i c_A modelirani su kinetikom reakcije pseudo prvog reda, upotrebljavajući jednadžbu:

$$k_1 = \frac{1}{t} ln \frac{c_{A0}}{c_A} \quad \textbf{(13)}$$

gdje je k_1 konstanta brzine reakcije prvog reda (h^{-1}), t vrijeme adsorpcije (h), c_{A0} koncentracija galne kiseline na početku reakcije (mg l^{-1}), c_A koncentracija galne kiseline u vremenu t (mg l^{-1}).

Preuređenjem se dobije jednadžba:

$$ln\frac{c_{A0}}{c_A} = k_1 t \quad \textbf{(14)}$$

U dijagramu je prikazana ovisnost ln c_{A0}/c_A *vs t*, a linearnom regresijom je dobivena vrijednost nagiba pravca koji predstavlja konstantu k_1 (konstanta brzine reakcije prvog reda, h^{-1}). Dobiveni pravac prolazi kroz ishodište.

Osim jednadžbom kinetike reakcije prvog reda, podaci c_{AO} i c_A modelirani su kinetikom reakcije pseudo drugog reda upotrebljavajući jednadžbu:

$$k_2 = \frac{1}{t}(\frac{1}{c_A} - \frac{1}{c_{A0}}) \quad \textbf{(15)}$$

Preuređenjem jednadžbe dobije se:

$$\frac{1}{c_A} = k_2 t + \frac{1}{c_{A0}} \quad \textbf{(16)}$$

Iz dijagrama ovisnosti $1/c_A$ *vs t* linearnom regresijom dobiven je nagib pravca koji predstavlja k_2 (konstanta brzine reakcije drugog reda (l h^{-1} mg^{-1})) te odsječak na osi y $1/c_{A0,grafički}$.

3.2.7.1. Kinetika procesa adsorpcije

Osim općenitim kinetičkim jednadžbama kojima je modelirana koncentracija galne kiseline nakon adsorpcije, kinetika procesa adsorpcije ispitana je modeliranjem količine adsorbirane galne kiseline (q_e, q_t). Pri tome je upotrijebljena jednadžba procesa adsorpcije pseudo-prvog reda:

$$\ln(q_e - q_t) = lnq_e - k_1 t \quad \textbf{(17)}$$

gdje je: q_e ravnotežni adsorpcijski kapacitet (mg g^{-1}), q_t ravnotežni adsorpcijski kapacitet u vremenu t (mg g^{-1}), t vrijeme (h), k_1 konstanta brzine reakcije pseudo-prvog reda (h^{-1}).

Eksperimentalni podaci prikazani su u dijagramu ovisnosti *ln* $(q_e - q_t)$ o *t,* a linearnom regresijom dobiven je pravac s nagibom k_1 (h^{-1}) i odsječkom na y-osi *ln* q_e (Alshameri i sur., 2018).

Kinetika procesa adsorpcije ispitana je i jednadžbom procesa adsorpcije pseudo-drugog reda:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{q_e}t + \frac{1}{k_2 q_e^2} \quad \textbf{(18)}$$

gdje je q_e ravnotežni adsorpcijski kapacitet (mg g^{-1}), q_t ravnotežni adsorpcijski kapacitet u vremenu t (mg g^{-1}), t vrijeme (h), k_2 konstanta brzine reakcije pseudo-drugog reda (g $h^{-1}mg^{-1}$). Eksperimentalni podaci prikazani su u dijagramu ovisnosti t/q_t o t, a linearnom regresijom dobiven je pravac s nagibom $1/q_e$ te odsječkom na y osi $1/k_2q_e^2$ iz koje se izračuna k_2 (g h^{-1} mg^{-1}) (Alshameri i sur., 2018).

3.2.8. UV/Vis spektri galne kiseline i β-glukana

Otopine galne kiseline 20, 50 i 100 mg l^{-1} pripremljene su dodavanjem određenog alikvota stock otopine galne kiseline u plastične kivete te dodavanjem pufera pH 1,5, 7,5 i 10 do ukupnog volumena 2,5 ml. Ovim otopinama snimljen je UV/Vis spektar na spektrofotometru (UV 1280, Shimadzu, Kyoto, Japan) od 200 do 450 nm.

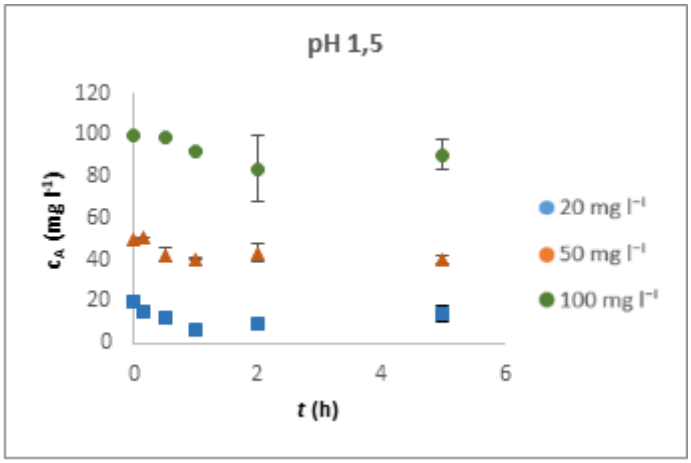
Otopina β-glukana 20 mg l^{-1} priređena je dodavanjem određenog alikvota stock otopine β-glukana u plastične kivete te dodavanjem pufera pH 1,5, 7,5 i 10 do ukupnog volumena 2,5 ml. Otopini je snimljen UV/Vis spektar od 200 do 1100 nm.

3.2.9. Statistička obrada podataka

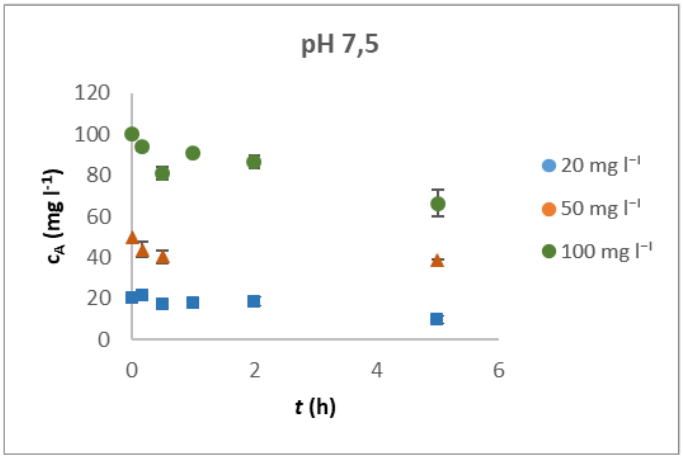
Za obradu dobivenih eksperimentalnih podataka adsorpcije kinetičkim modelima pseudo-prvog i pseudo-drugog reda korištena je linearna regresija te je izračunat koeficijent determinacije r^2. Za statističku obradu korišten je program MS excel (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, SAD).

4. REZULTATI I RASPRAVA

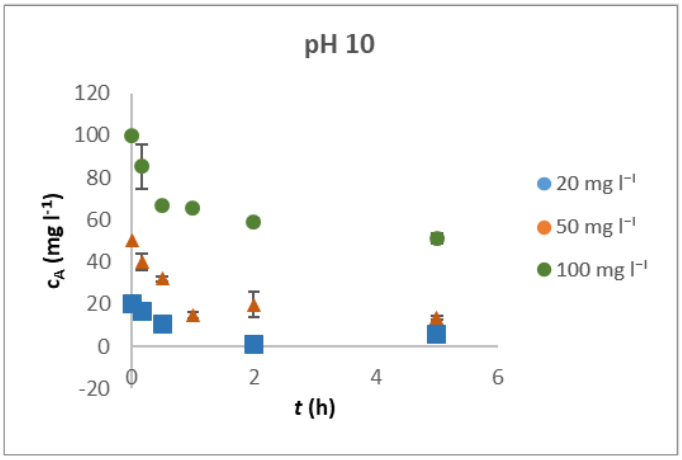
4.1. REZULTATI



a)

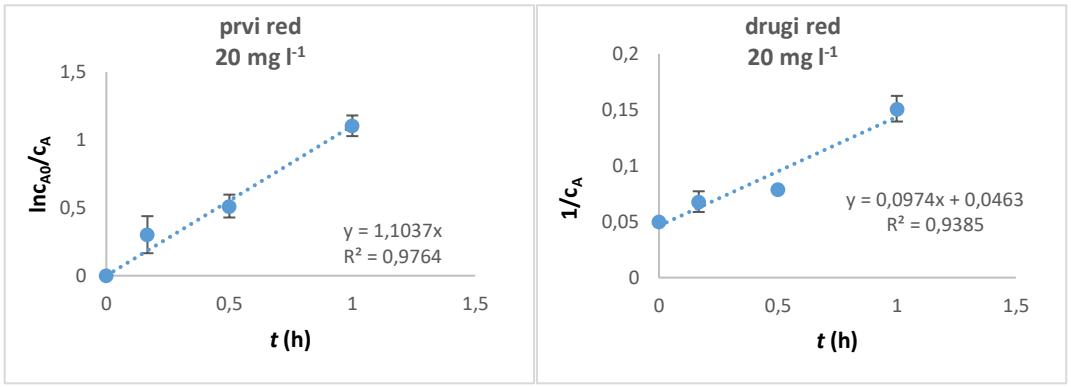


b)

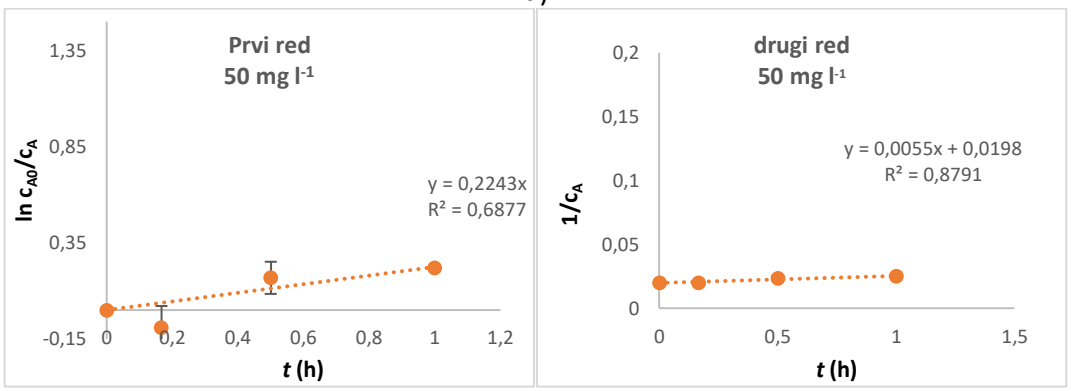


c)

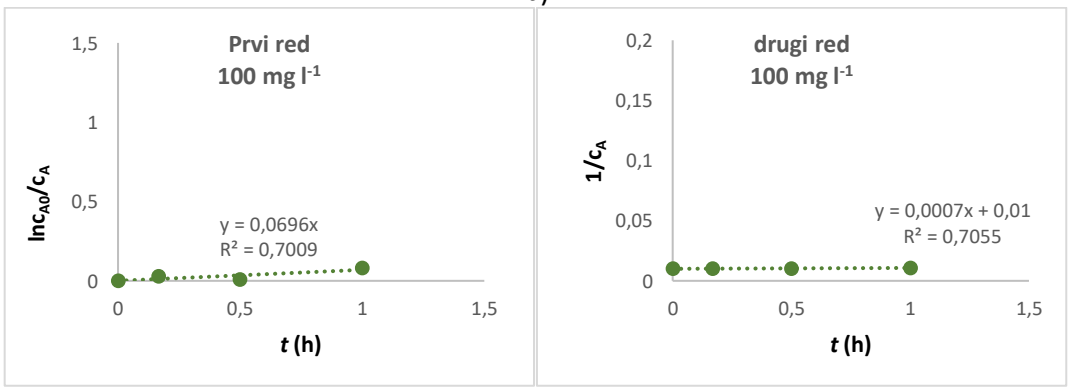
Slika 3 Promjena koncentracija galne kiseline tijekom 5 h adsorpcije na ß-glukan pri a) pH 1,5, b) pH 7,5 i c) pH 10



a)

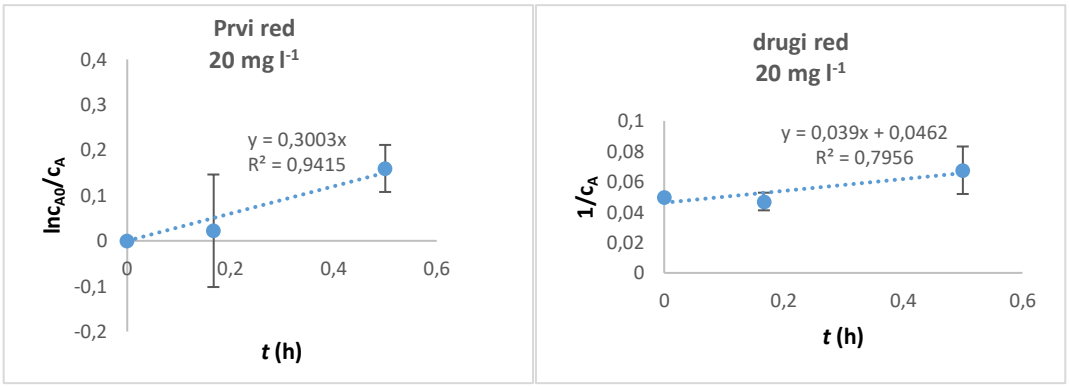


b)

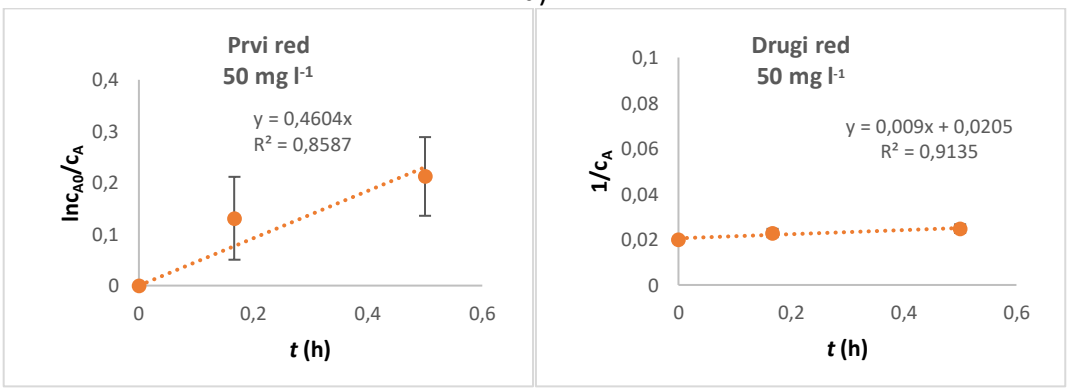


c)

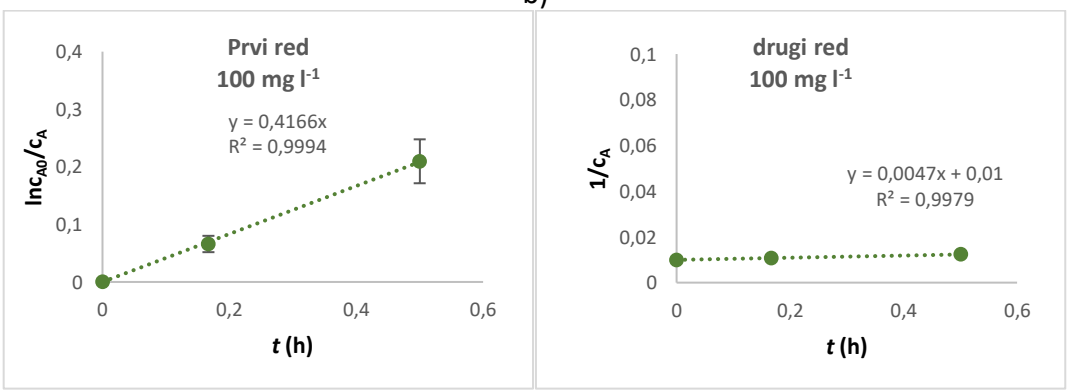
Slika 4 Kinetika adsorpcije galne kiseline na ß-glukan pri pH 1,5. (ovisnost *ln* c_{A0}/c_A o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike prvog reda te ovisnost $1/c_A$ o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike II reda). Početna koncentracija galne kiseline a) 20, b) 50 i c) 100 mg l^{-1}. Kinetika praćena na temelju koncentracije slobodne galne kiseline.



a)

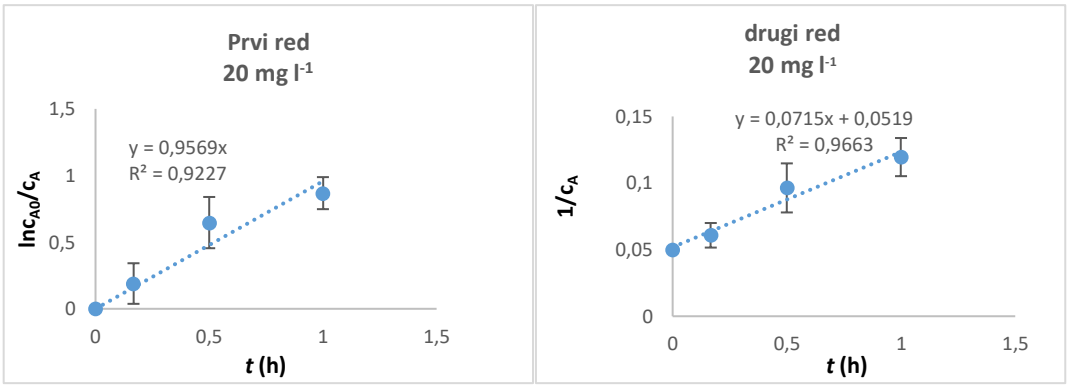


b)

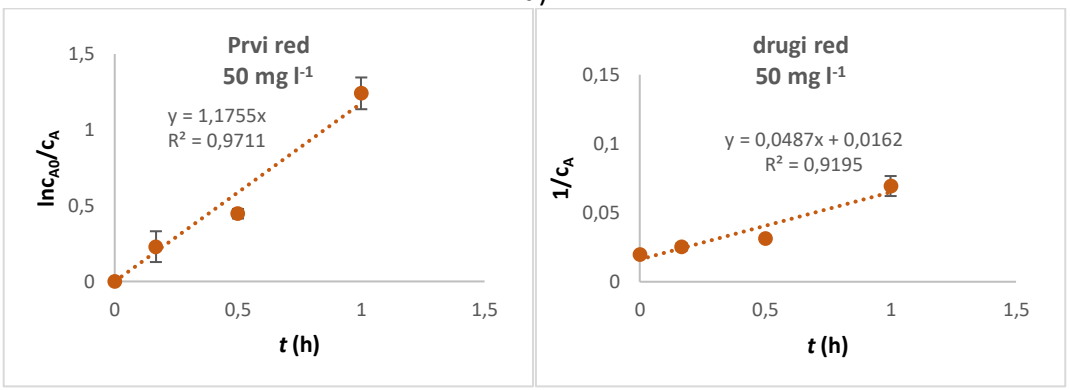


c)

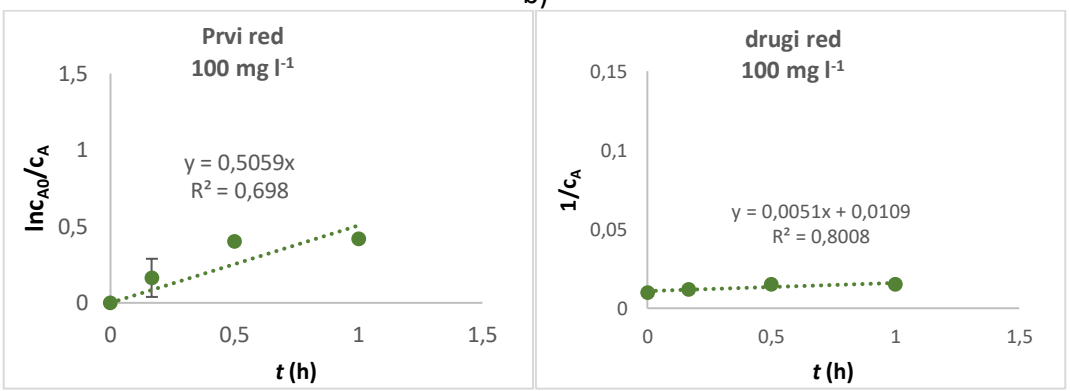
Slika 5 Kinetika adsorpcije galne kiseline na ß-glukan pri pH 7,5. (ovisnost *ln* c_{A0}/c_A o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike prvog reda te ovisnost $1/c_A$ o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike II reda). Početna koncentracija galne kiseline a) 20, b) 50 i c) 100 mg l^{-1}. Kinetika praćena na temelju koncentracije slobodne galne kiseline.



a)



b)

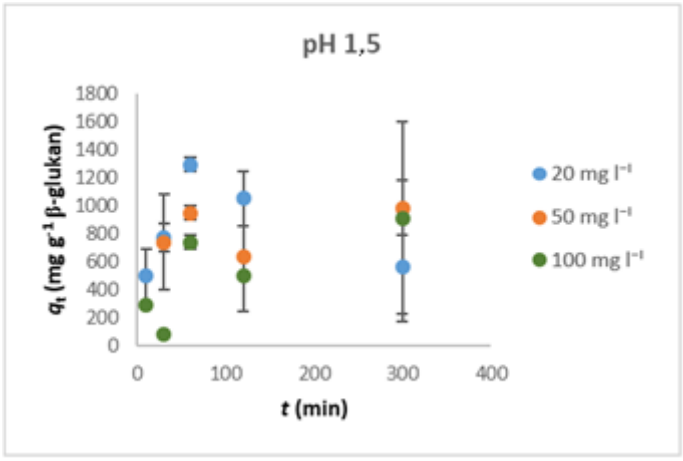


c)

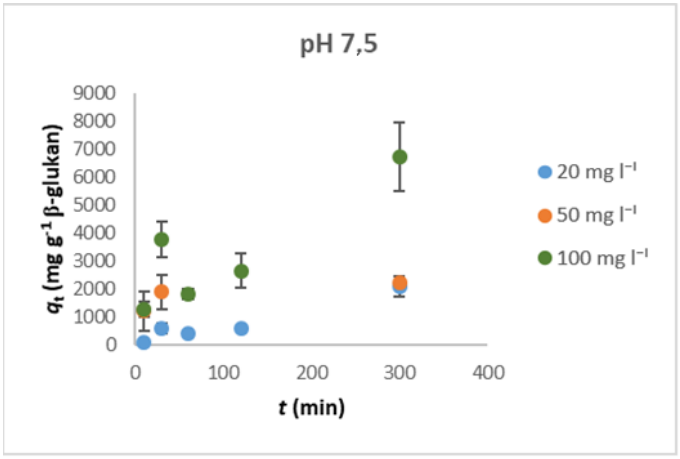
Slika 6 Kinetika adsorpcije galne kiseline na ß-glukan pri pH 10. (ovisnost *ln* c_{A0}/c_A o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike prvog reda te ovisnost $1/c_A$ o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike II reda). Početna koncentracija galne kiseline je a) 20, b) 50 i c) 100 mg l^{-1}. Kinetika praćena na temelju koncentracije slobodne galne kiseline.

Tablica 1 Konstante brzine reakcije I i II reda za adsorpciju galne kiseline na β-glukanu

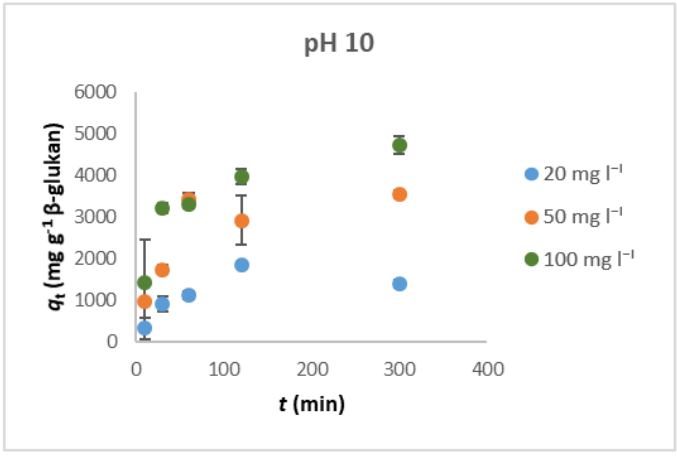
		I red		II red			
pH	C_{A0} (mg l^{-1})	r^2	k_1 (h^{-1})	r^2	k_2 (l $h^{-1}mg^{-1}$)	$1/c_{A0grafički}$	$1/c_{A0računski}$
1,5							
	20	0,9764	1,104	0,9385	0,0974	0,0463	0,05
	50	0,6877	0,2243	0,8791	0,0055	0,0198	0,02
	100	0,7009	0,0696	0,7055	0,0007	0,0100	0,01
7,5							
	20	0,9415	0,3003	0,7956	0,0390	0,0462	0,05
	50	0,8587	0,4604	0,9135	0,0090	0,0205	0,02
	100	0,9994	0,4166	0,9979	0,0047	0,0100	0,01
10							
	20	0,9227	0,9569	0,9663	0,0715	0,0519	0,05
	50	0,9711	1,1755	0,9195	0,0487	0,0162	0,02
	100	0,6980	0,5059	0,8008	0,0051	0,0109	0,01



a)

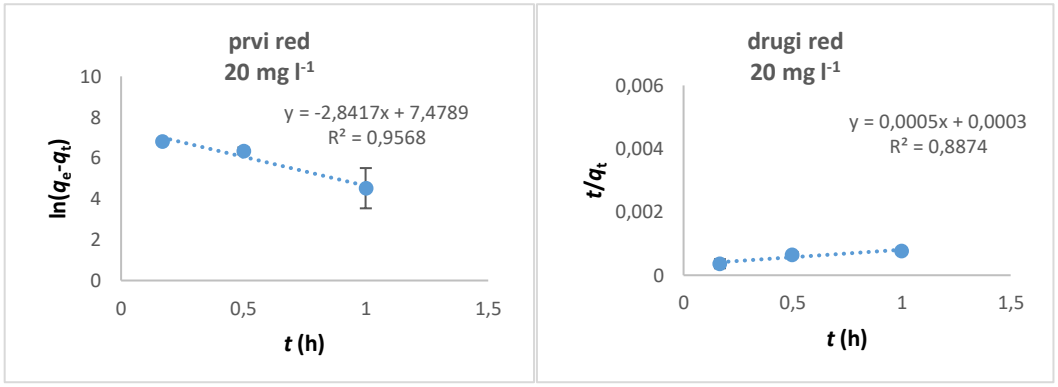


b)

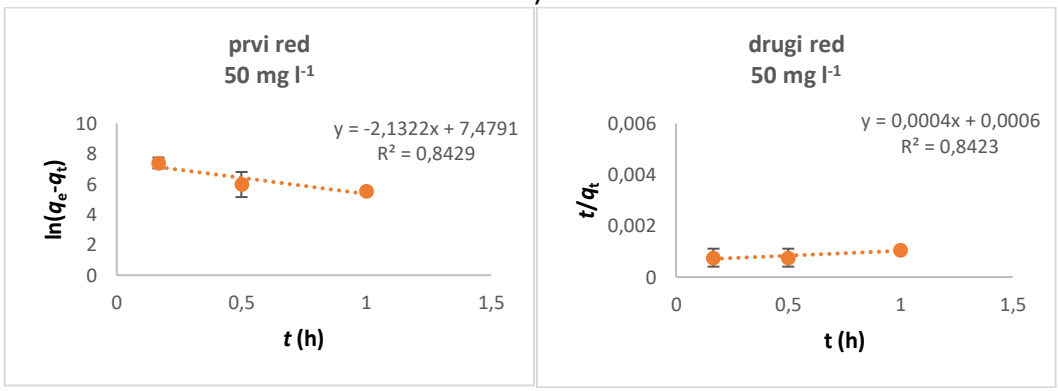


c)

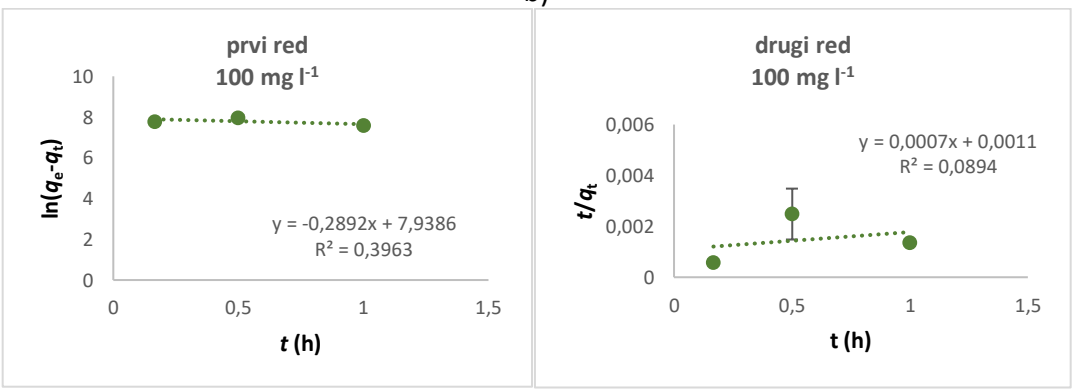
Slika 7 Adsorpcijski kapacitet β-glukana za galnu kiselinu pri različitim pH vrijednostima a) pH 1,5, b) pH 7,5 i c) pH 10



a)

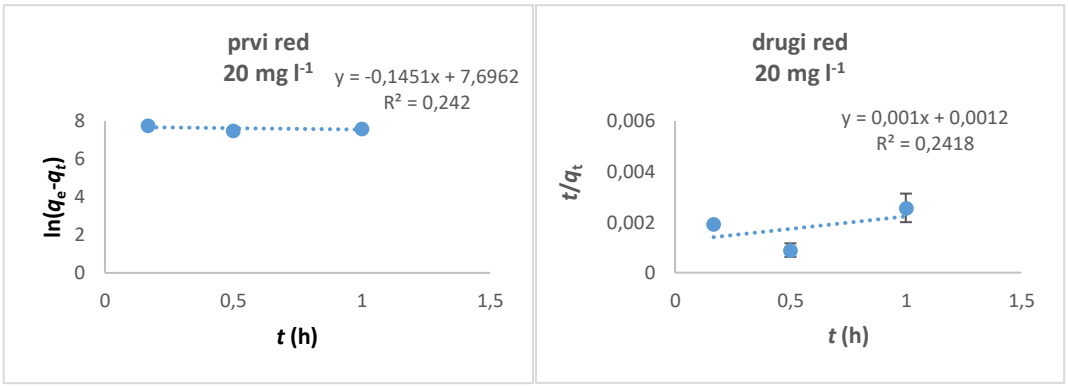


b)

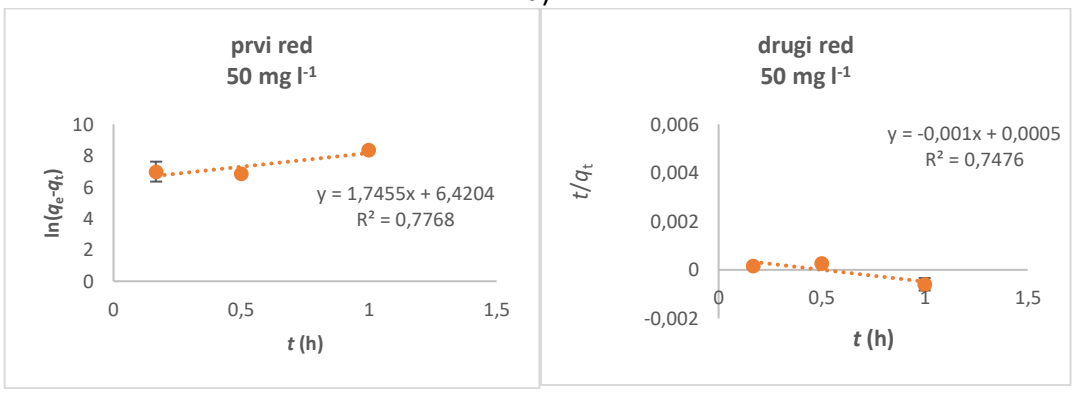


c)

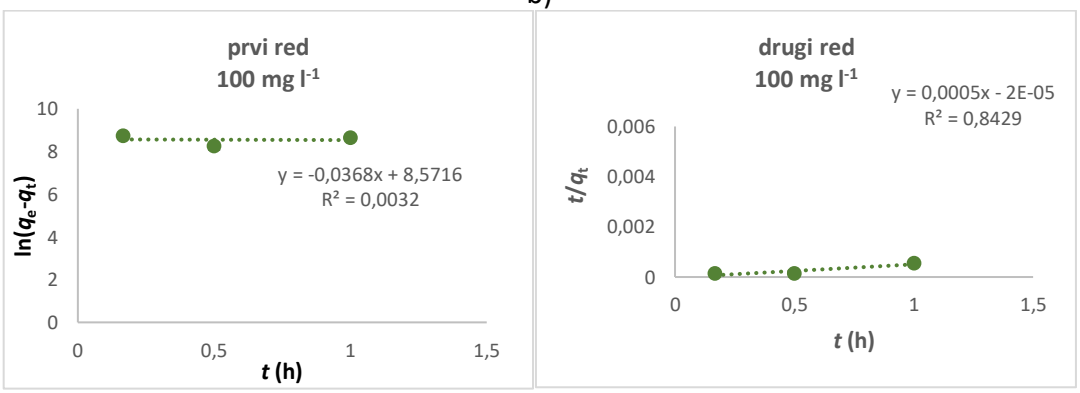
Slika 8 Kinetika adsorpcije galne kiseline na *β*-glukan pri pH 1,5 (ovisnost *ln* (q_e-q_t) o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike prvog reda te ovisnost t/q_t o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike II reda). Početna koncentracija galne kiseline a) 20, b) 50 i c) 100 mg l^{-1}. Kinetika praćena na temelju količine adsorbirane galne kiseline.



a)

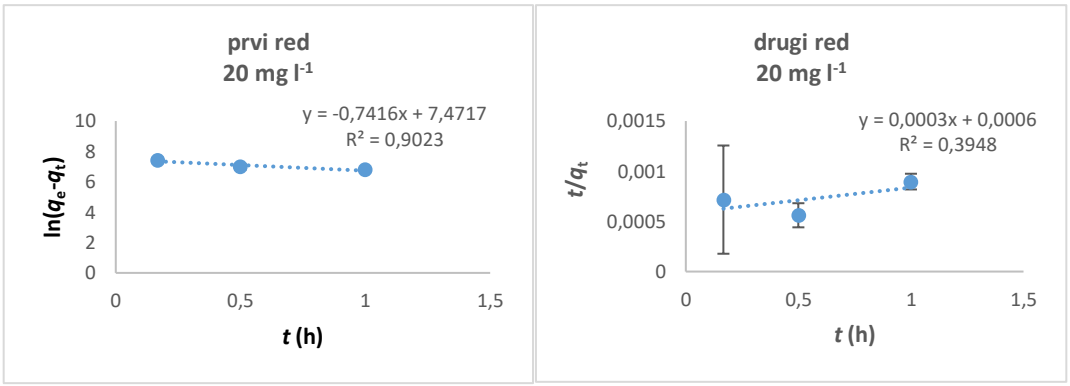


b)

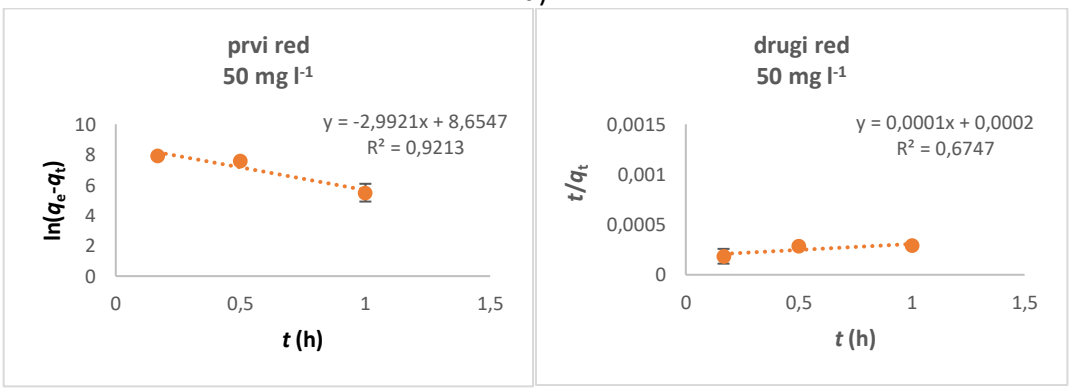


c)

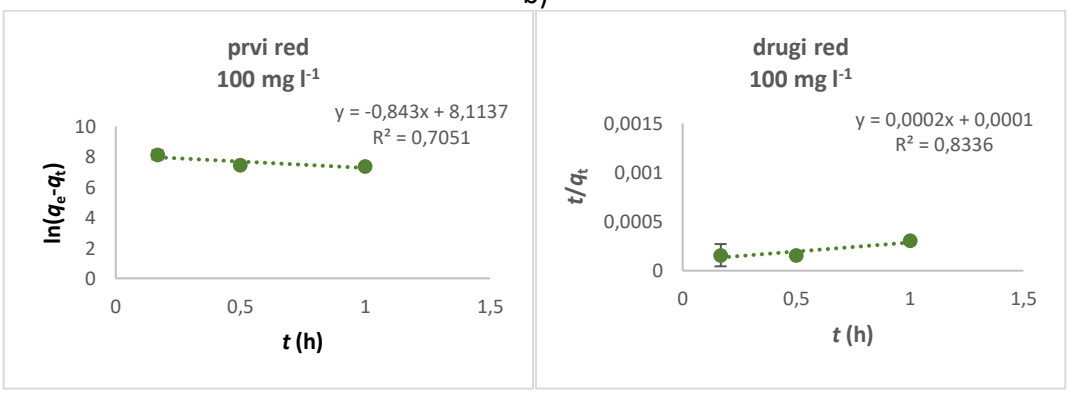
Slika 9 Kinetika adsorpcije galne kiseline na *β*-glukan pri pH 7,5 (ovisnost *ln* (q_e-q_t) o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike prvog reda te ovisnost t/q_t o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike II reda). Početna koncentracija galne kiseline a) 20, b) 50 i c) 100 mg l^{-1}. Kinetika praćena na temelju količine adsorbirane galne kiseline.



a)



b)

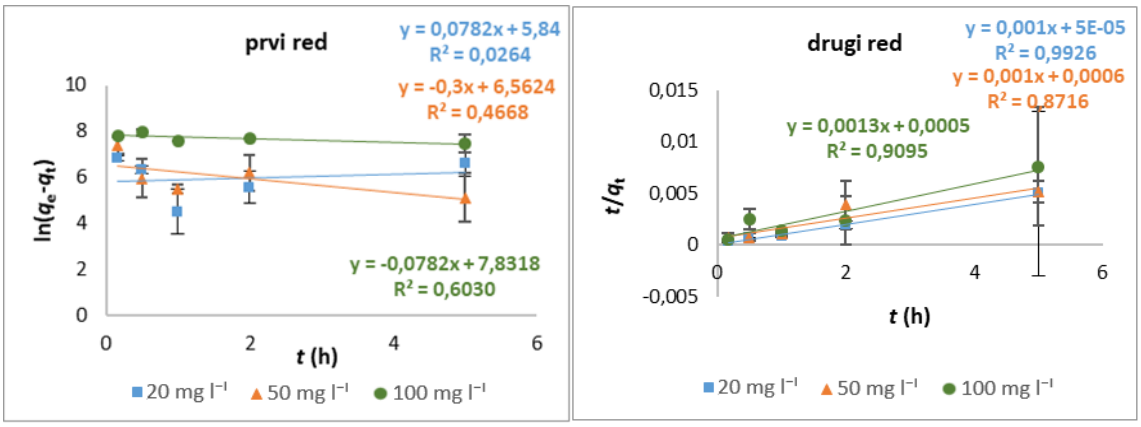


c)

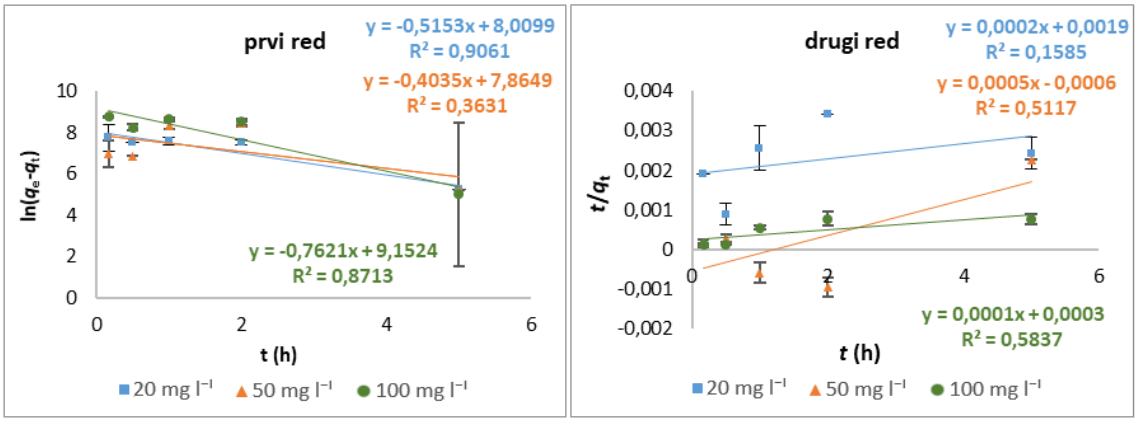
Slika 10 Kinetika adsorpcije galne kiseline na *β*-glukan pri pH 10 (ovisnost *ln* (q_e-q_t) o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike reakcije prvog reda te ovisnost t/q_t o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike reakcije II reda). Početna koncentracija galne kiseline a) 20, b) 50 i c) 100 mg l^{-1}. Kinetika praćena na temelju količine adsorbirane galne kiseline.

Tablica 2 Konstante brzine reakcije I i II reda za adsorpciju galne kiseline na β-glukanu u vremenu 1 h

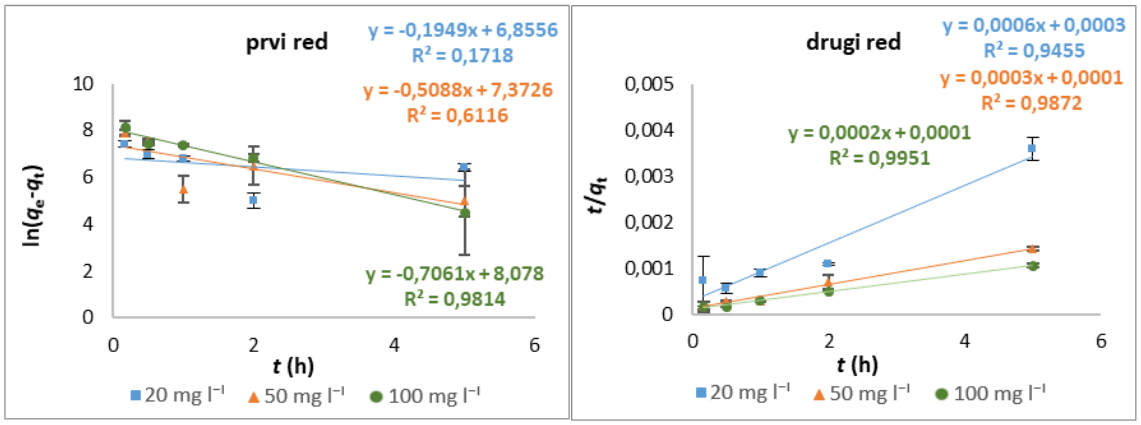
		I red		II red	
pH	c (mg l^{-1})	r^2	k_1 (h^{-1})	r^2	k_2 (g $h^{-1}mg^{-1}$)
1,5					
	20	0,9568	2,8417	0,8874	0,00083
	50	0,8429	2,1322	0,8423	0,00027
	100	0,3963	0,2892	0,0894	0,00045
7,5					
	20	0,2420	0,1451	0,2418	0,00083
	50	0,7768	-1,7455	0,7476	0,0020
	100	0,0032	0,0368	0,8429	-0,01250
10					
	20	0,9023	0,7416	0,3948	0,00015
	50	0,9213	2,9921	0,6747	0,00005
	100	0,7051	0,8430	0,8336	0,00040



Slika 11 Kinetika adsorpcije galne kiseline na *β*-glukan pri pH 1,5 kroz 5 h reakcije (ovisnost *ln* (q_e-q_t) o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike reakcije prvog reda te ovisnost t/q_t o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike reakcije II reda). Početna koncentracija galne kiseline 20, 50 i 100 mg l^{-1}



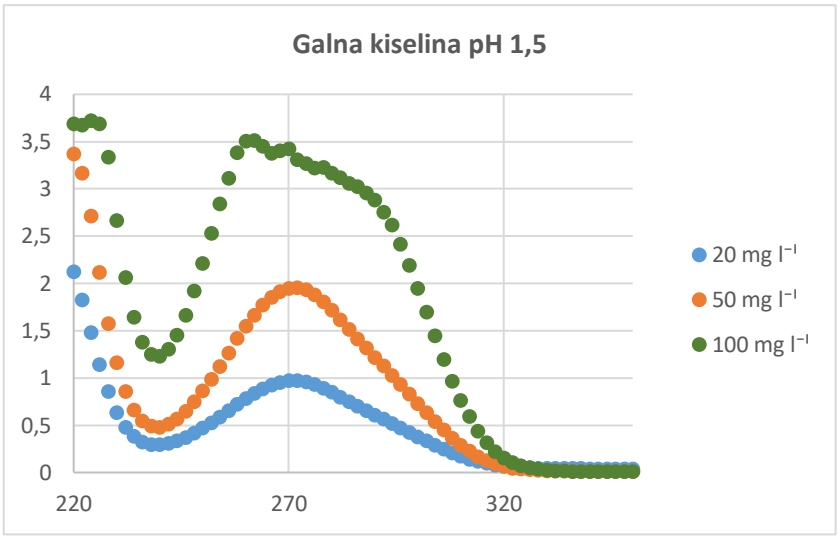
Slika 12 Kinetika adsorpcije galne kiseline na *β*-glukan pri pH 7,5 kroz 5 h reakcije (ovisnost *ln* (q_e-q_t) o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike reakcije prvog reda te ovisnost t/q_t o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike reakcije II reda). Početna koncentracija galne kiseline 20, 50 i 100 mg l^{-1}



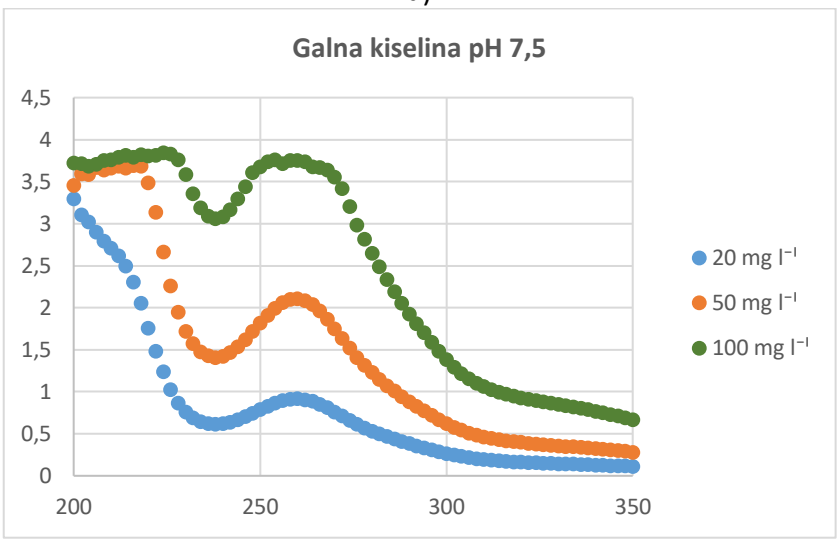
Slika 13 Kinetika adsorpcije galne kiseline na *β*-glukan pri pH 10 kroz 5 h reakcije (ovisnost *ln* (q_e-q_t) o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike reakcije prvog reda te ovisnost t/q_t o vremenu adsorpcije *t* (h) za opisivanje kinetike reakcije II reda). Početna koncentracija galne kiseline 20, 50 i 100 mg l^{-1}

Tablica 3 Konstante brzine reakcije I i II reda za adsorpciju galne kiseline na β-glukanu u vremenu 5 h

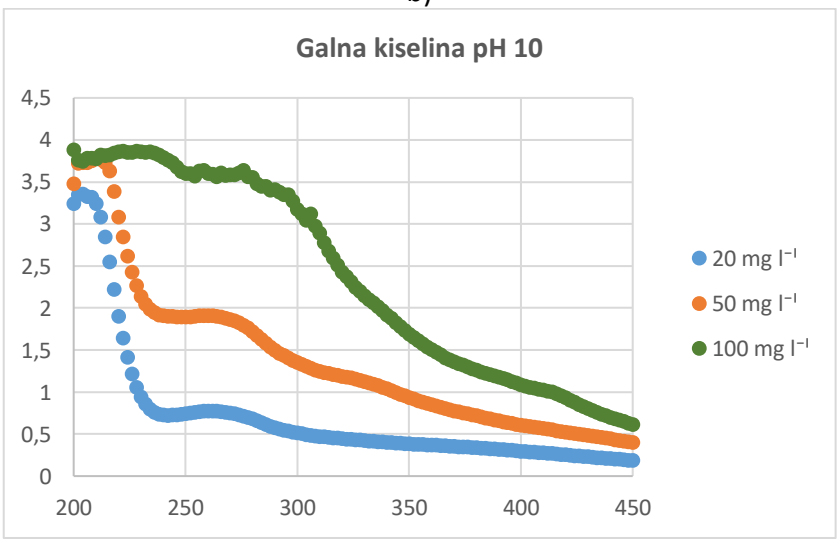
		I red		II red	
pH	c ($mg\ l^{-1}$)	r^2	k_1 (h^{-1})	r^2	k_2 ($g\ h^{-1}mg^{-1}$)
1,5					
	20	0,0264	-0,0782	0,9926	0,0200
	50	0,4668	0,3000	0,8716	0,00167
	100	0,6030	0,0782	0,9095	0,00338
7,5					
	20	0,9061	0,5153	0,1585	0,00002
	50	0,3631	0,4035	0,5117	-0,00042
	100	0,8713	0,7621	0,5837	0,00003
10					
	20	0,1718	0,1949	0,9455	0,0012
	50	0,6116	0,5088	0,9872	0,0009
	100	0,9814	0,7016	0,9951	0,0004



a)

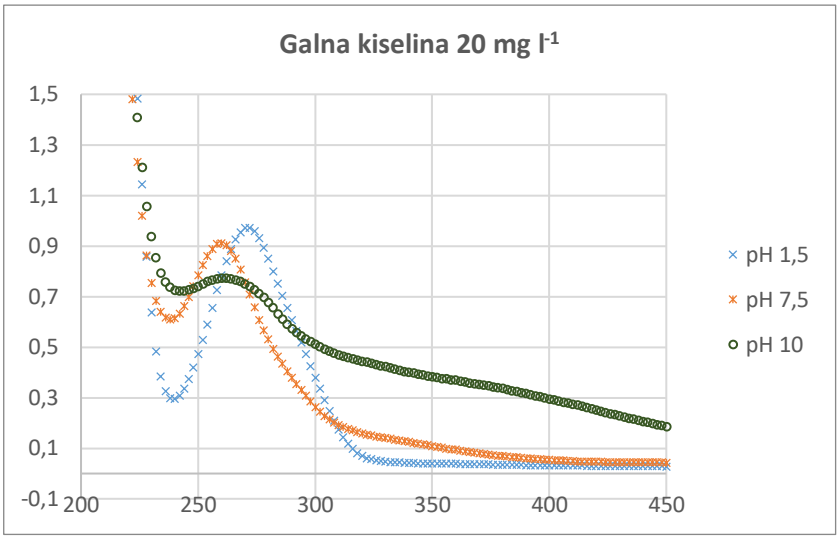


b)

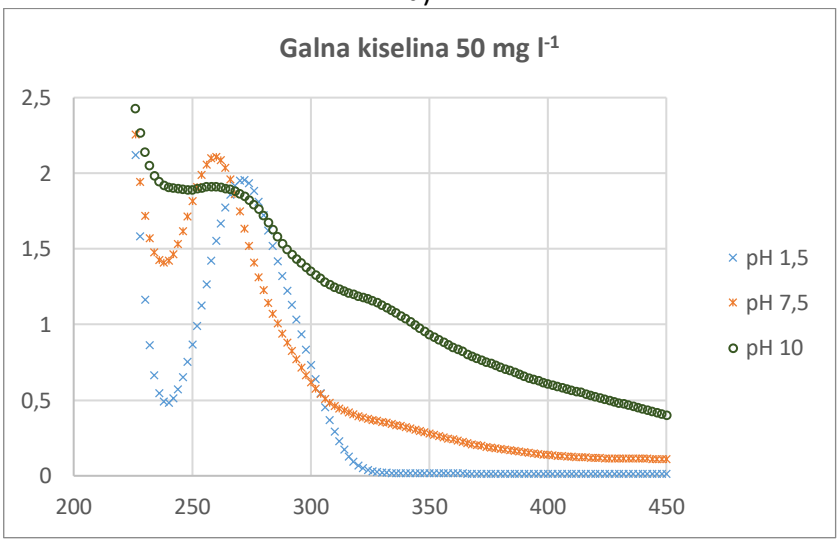


c)

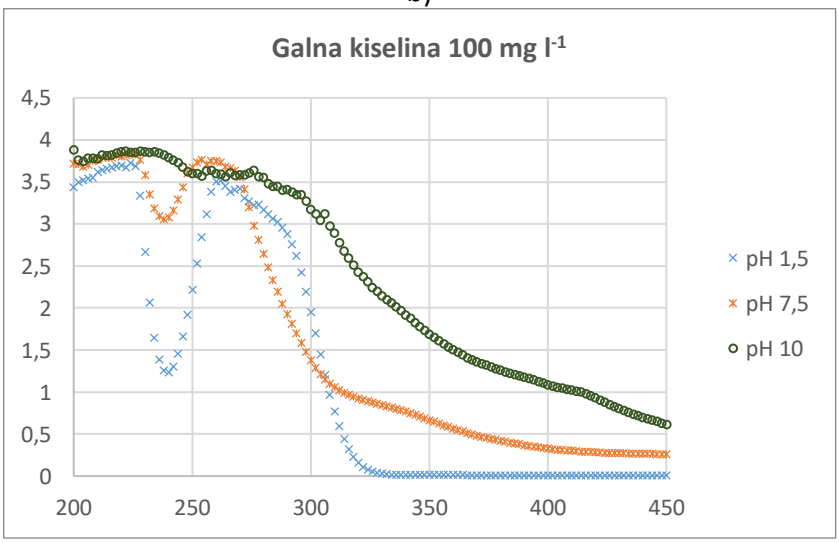
Slika 14 UV/Vis spektri galne kiseline pri različitim pH vrijednostima. a) pH 1,5, b) pH 7,5, c) pH 10



a)

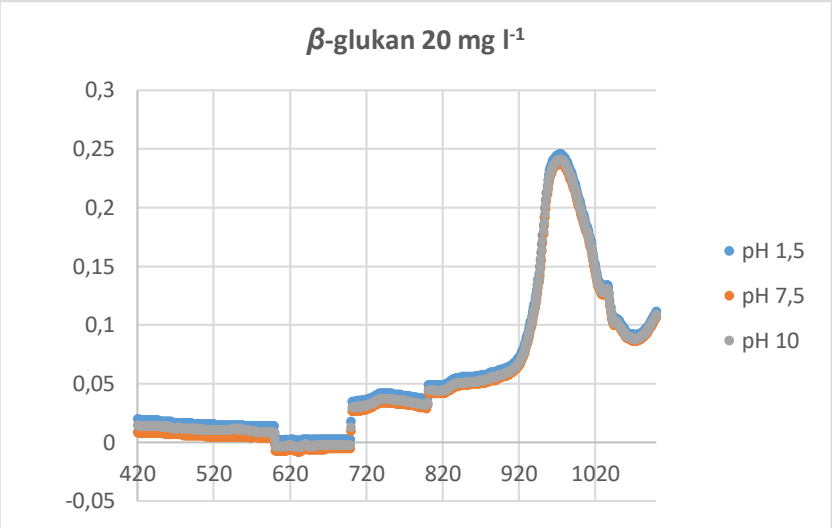


b)



c)

Slika 15 UV/Vis spektri galne kiseline različitih koncentracija. a) 20, b) 50, c) 100 mg l^{-1}, pri različitim pH vrijednostima



Slika 16 UV/Vis spektar otopine β-glukana pri različitim pH vrijednostima

4.2. RASPRAVA

U ovom radu istraživana je adsorpcija galne kiseline na *β*-glukanu, pri tri različite pH vrijednosti, u vremenskom periodu 5 h. Rezultati provedenog istraživanja prikazani su na **Slikama 3 do 16** i **Tablicama 1 do 3.**

Slika 3 prikazuje promjenu koncentracije galne kiseline tijekom 5 h adsorpcije, pri tri različite pH vrijednosti. Iz slike se može vidjeti da koncentracija neadsorbirane galne kiseline opada tijekom vremena na sve tri pH vrijednosti (pH 1,5; 7,5 i 10). Iz toga se može zaključiti da se galna kiselina adsorbira na površinu *β*-glukana. Ovi rezultati u skladu su s rezultatima adsorpcije različitih polifenolnih spojeva na *β*-glukanu. Ranija istraživanja pokazala su da se polifenoli čaja adsorbiraju na površinu *β*-glukana (Gao i sur., 2012; Wu i sur., 2011a; Wu i sur., 2011b). Osim polifenola čaja, različiti polifenolni spojevi pokazali su sposobnost adsorpcije na *β*-glukan (Wang i sur., 2013). Smanjenje koncentracije galne kiseline bilo je najveće tijekom 0,5 do 1 h adsorpcije, a nakon toga koncentracija galne kiseline dostiže „steady state" stanje. Iz toga se može zaključiti da je brzina adsorpcije galne kiseline na *β*-glukanu najveća unutar 0,5 do 1 h reakcije, a nakon toga reakcija usporava.

Rezultati početne koncentracije galne kiseline (c_{A0}) i koncentracije neadsorbirane galne kiseline (c_A) tijekom vremena modelirani su linearnim jednadžbama pseudo-prvog i pseudo-drugog reda.

Jednadžba pseudo-prvog reda (k_1=1/t lnc_{A0}/c_A) koja nakon preuređenja postaje ln$c_{A0}/c_A=k_1$t daje pravac koji prolazi kroz ishodište, s nagibom k_1. Dijagrami ovisnosti lnc_{A0}/c_A o *t* za tri različite početne koncentracije galne kiseline (20, 50 i 100 mg l^{-1}) prikazani su na **Slikama 4** (pH 1,5), **5** (pH 7,5) i **6** (pH 10). S obzirom da je iz **Slike 3** vidljivo da se adsorpcija odvijala brže tijekom 0,5 do 1 h, a nakon toga je usporila te dostigla „steady state" stanje, za modeliranje su uzeti u obzir podaci samo tijekom 1 h (pH 1,5 i 10) ili 0,5 h (pH 7,5) reakcije. Iz rezultata je vidljivo da eksperimentalni podaci odgovaraju jednadžbi pseudo-prvog reda (r^2 = 0,69 do 0,98 pri pH 1,5 za tri početne koncentracije galne kiseline, **Slika 4**), (r^2 = 0,86 do 0,99 pri pH 7,5 za tri početne koncentracije galne kiseline, **Slika 5**), (r^2 = 0,70 do 0,97 pri pH 10 za tri početne koncentracije galne kiseline, **Slika 6**). Pravci dobiveni modeliranjem prolaze kroz ishodište.

Jednadžba pseudo-drugog reda (k_2=1/*t**(1/c_A-1/c_{A0})) koja nakon preuređenja postaje 1/$c_A=k_2$*t+1/c_{A0} daje pravac s odsječkom na osi y 1/c_{A0} i nagibom k_2. Dijagrami ovisnosti 1/c_A

o t za tri različite početne koncentracije galne kiseline (20, 50 i 100 mg l^{-1}) prikazani su na **Slikama 4** (pH 1,5), **5** (pH 7,5) i **6** (pH 10). I ovdje su samo rezultati nakon 0,5 h (pH 7,5) ili 1 h (pH 1,5 i 10) reakcije modelirani jednadžbom pseudo-drugog reda jer je bilo vidljivo (**Slika 3**) da adsorpcija nakon tog perioda dolazi u „steady state" stanje. Iz rezultata je vidljivo da eksperimentalni podaci odgovaraju jednadžbi pseudo-drugog reda (r^2 = 0,71 do 0,94 pri pH 1,5 za tri početne koncentracije galne kiseline, **Slika 4**), (r^2 = 0,80 do 0,99 pri pH 7,5 za tri početne koncentracije galne kiseline, **Slika 5**), (r^2 = 0,80 do 0,97 pri pH 10 za tri početne koncentracije galne kiseline, **Slika 6**).

U **Tablici 1** prikazane su konstante brzine reakcije pseudo-prvog reda (k_1) i pseudo-drugog reda (k_2) te vrijednost $1/c_{A0}$ za reakciju pseudo-drugog reda koje su dobivene modeliranjem. Vidljivo je da vrijednosti k_1 uglavnom rastu kako početna koncentracija galne kiseline opada od 100 do 20 mg l^{-1} na sve tri pH vrijednosti (pri pH 1,5 k_1 raste od 0,07 do 1,10 kako c_{A0} opada od 100 do 20 mg l^{-1}); (pri pH 7,5 k_1 pokazuje slične vrijednosti od 0,42 do 0,30 kako c_{A0} opada od 100 do 20 mg l^{-1}), (pri pH 10 k_1 raste od 0,51 – 1,18 kako c_{A0} opada od 100 do 50 mg l^{-1} ili raste od 0,51 – 0,96 kako c_{A0} opada od 100 do 20 mg l^{-1}). Slično se može reći i za konstantnu k_2. Naime, vrijednosti k_2 uglavnom rastu kako početna koncentracija galne kiseline opada od 100 do 20 mg l^{-1} na sve tri pH vrijednosti (pri pH 1,5 k_2 raste od 0,0007 do 0,0974 kako c_{A0} opada od 100 do 20 mg l^{-1}); (pri pH 7,5 k_2 raste od 0,0047 – 0,039 kako c_{A0} opada od 100 do 20 mg l^{-1}), (pri pH 10 k_2 raste od 0,0051 – 0,0715 kako c_{A0} opada od 100 do 20 mg l^{-1}). Ovi rezultati su u skladu s ranijim istraživanjima u kojima je utvrđeno da se konstante brzine reakcija mijenjaju promjenom početne koncentracije adsorbanta (Fang i sur., 2020). Točnije, konstante brzine reakcije pokazuju porast sa smanjenjem početne koncentracije adsorbanta (Fang i sur., 2020). Osim toga, u **Tablici 1** vidljiva je grafički određena vrijednost $1/c_{A0}$ koja se slaže s eksperimentalnim vrijednostima $1/c_{A0}$ što upućuje na pravilno modeliranje dobivenih eksperimentalnih podataka.

Eksperimentalni podaci upotrijebljeni su za računanje adsorbirane količine galne kiseline na *β*-glukanu (mg g^{-1} *β*-glukana), a rezultati su prikazani na **Slici 7**. Vidljivo je da se galna kiselina adsorbirala najvećom brzinom unutar 1 do 2 h adsorpcije, nakon čega adsorpcija dolazi u „steady state" stanje pri pH 1,5 i 10, dok je pri pH 7,5 vidljivo povećanje adsorpcije tijekom 5 h. Osim toga, vidljivo je da se galna kiselina adsorbira više ukoliko je početna koncentracija galne kiseline veća (pH 7,5 i 10).

Rezultati adsorbirane količine galne kiseline (q_e *i* q_t) i koncentracije neadsorbirane galne kiseline (c_e) tijekom vremena modelirani su linearnim jednadžbama adsorpcije pseudo-prvog i pseudo-drugog reda.

Jednadžba pseudo-prvog reda ($\ln(q_e-q_t)=\ln q_e - k_1 t$) je jednadžba koja ima nagib pravca $-k_1$, te odsječak na y osi $\ln q_e$. Dijagrami ovisnosti $\ln(q_e-q_t)$ o t za tri različite početne koncentracije galne kiseline (20, 50 i 100 mg l^{-1}) prikazani su na **Slikama 8** (pH 1,5), **9** (pH 7,5) i **10** (pH 10). S obzirom da je iz **Slike 7** vidljivo da se adsorpcija odvijala brže tijekom 1 h, a nakon toga je usporila te dostigla „steady state" stanje, za modeliranje su uzeti u obzir podaci samo tijekom 1 h (pH 1,5, 7,5 i 10). Vrijednost r^2 iznosila je od 0,003 do 0,96 (r^2 = 0,40 do 0,96 pri pH 1,5 za tri početne koncentracije galne kiseline, **Slika 8**), (r^2 = 0,003 do 0,78 pri pH 7,5 za tri početne koncentracije galne kiseline, **Slika 9**), (r^2 = 0,71 do 0,92 pri pH 10 za tri početne koncentracije galne kiseline, **Slika 10**). Samo u pojedinim slučajevima s visokom r^2 može se pretpostaviti da podaci odgovaraju reakciji pseudo-prvog reda.

Jednadžba adsorpcije pseudo-drugog reda ($t/q_t=1/(k_2 q_e^2)+t/q_e$) je jednadžba koja ima nagib pravca $1/q_e$, te odsječak na y osi $1/(k_2 q_e^2)$. Dijagrami ovisnosti t/q_t o t za tri različite početne koncentracije galne kiseline (20, 50 i 100 mg l^{-1}) prikazani su na **Slikama 8** (pH 1,5), **9** (pH 7,5) i **10** (pH 10). I ovdje su za modeliranje uzeti u obzir podaci samo tijekom 1 h (pH 1,5, 7,5 i 10; s obzirom da je iz **Slike 7** vidljivo da se adsorpcija odvijala brže tijekom 1 h, a nakon toga je usporila te dostigla „steady state" stanje. Vrijednost r^2 iznosila je od 0,09 do 0,89 (r^2 = 0,09 do 0,89 pri pH 1,5 za tri početne koncentracije galne kiseline, **Slika 8**), (r^2 = 0,24 do 0,84 pri pH 7,5 za tri početne koncentracije galne kiseline, **Slika 9**), (r^2 = 0,40 do 0,84 pri pH 10 za tri početne koncentracije galne kiseline, **Slika 10**). Samo u slučajevima s visokom r^2 može se pretpostaviti da adsorpcija odgovara kinetici pseudo-drugog reda.

U **Tablici 2** prikazane su konstante brzine reakcije adsorpcije pseudo-prvog reda (k_1) i pseudo-drugog reda (k_2) koje su dobivene modeliranjem. Vidljivo je da vrijednosti k_1 uglavnom rastu kako početna koncentracija galne kiseline opada na sve tri pH vrijednosti (pri pH 1,5 k_1 raste od 0,29 do 2,84 kako c_{A0} opada od 100 do 20 mg l^{-1}); (pri pH 7,5 k_1 pokazuje rast od 0,04 do 0,15 kako c_{A0} opada od 100 do 20 mg l^{-1} ili rast od -1,74 do 0,15 kako c_{A0} opada od 50 do 20 mg l^{-1}), (pri pH 10 k_1 raste od 0,84 do 2,99 kako c_{A0} opada od 100 do 50 mg l^{-1}). Slično se može reći i za konstantnu k_2. Naime, i u ovom slučaju se može vidjeti kako vrijednosti k_2 uglavnom rastu kako početna koncentracija galne kiseline opada na sve tri pH vrijednosti (pri pH 1,5 k_2

raste od 0,00045 do 0,00083 kako c_{A0} opada od 100 do 20 mg l^{-1} ili raste od 0,00027 do 0,00083 kako c_{A0} opada od 50 do 20 mg l^{-1}); (pri pH 7,5 k_2 raste od -0,0125 do 0,00083 kako c_{A0} opada od 100 do 20 mg l^{-1} ili rast od -0,00043 do 0,00083 kako c_{A0} opada od 500 do 20 mg l^{-1}), (pri pH 10 k_2 raste od 0,0004 do 0,00015 kako c_{A0} opada od 100 do 20 mg l^{-1} ili raste od 0,00005 do 0,00015 kako c_{A0} opada od 50 do 20 mg l^{-1}). Ovi rezultati su u skladu s ranijim istraživanjima u kojima je utvrđeno da se konstante brzine reakcija mijenjaju promjenom početne koncentracije adsorbanta (Fang i sur., 2020). Točnije, konstante brzine reakcije pokazuju porast sa smanjenjem početne koncentracije adsorbanta (Fang i sur., 2020).

Podaci dobiveni adsorpcijom modelirani su dodatno jednadžbama pseudo-prvog i pseudo-drugog reda i u vremenu 5 h da bi se vidjelo ukupno stanje reakcije adsorpcije nakon 5 h. Dijagrami ovisnosti $\ln(q_e-q_t)$ o t (pseudo-prvi red) te dijagrami ovisnosti t/q_t o t (pseudo-drugi red) tijekom 5 h reakcije za tri različite početne koncentracije galne kiseline (20, 50 i 100 mg l^{-1}) prikazani su na **slikama 11** (pH 1,5), **12** (pH 7,5) i **13** (pH 10). Vrijednosti r^2 za reakcije pseudo-prvog reda iznose od 0,026 do 0,98, a za reakcije pseudo-drugog reda od 0,16 do 0,99 (**Slike 11, 12 i 13**). Usporedbom r^2 vrijednosti vidljivo je da adsorpcija više odgovara reakcijama pseudo-drugog reda zbog viših vrijednosti r^2. Posebice se to odnosi pri pH 1,5 (r^2 za pseudo-drugi red 0,87 do 0,99) i 10 (r^2 za pseudo-drugi red 0,95 do 0,99). Konstante brzine reakcija dane su u **Tablici 3**. I ovdje je vidljiv porast vrijednosti konstanti brzine reakcije pri smanjenju početne koncentracije galne kiseline u određenim slučajevima (k_2 pri pH 1,5 i 10).

Iz **slike 7** vidljivo je da se galna kiselina adsorbira različito na različitim pH vrijednostima. Najveći iznos adsorpcije galna kiselina pokazala je pri pH 10, nakon toga pri pH 7,5, a najmanje se adsorbirala ukoliko je pH sredine bio 1,5. Ovo je u skladu s ranijim istraživanjima koja su pokazala da se polifenoli adsorbiraju drugačije na različitim pH vrijednostima. Tako je adsorpcija polifenola iz čaja na β-glukanu ispitivana pri pH vrijednostima od 3 do 7 (Wu i sur., 2011a). Polifenoli čaja su se adsorbirali u najmanjoj količini pri pH 3, nakon čega se adsorpcija povećavala do pH 6, te je došlo do blagog smanjenja adsorpcije pri pH 7 (Wu i sur., 2011a). Ovo je u skladu s rezultatima dobivenim u ovom radu. Različito ponašanje pri adsorpciji na različitim pH vrijednostima može se povezati s različitim oblicima galne kiseline na različitim pH vrijednostima. Naime, galna kiselina ima pKa vrijednost 4,5 što znači da je na nižim pH vrijednostima uglavnom u nedisociranom obliku dok kod pH vrijednosti 4,5 50% u disociranom, a 50% u nedisociranom obliku. Nakon pH 4,5, većina galne kiseline prelazi u

disocirani oblik. Ovi različiti omjeri disocirane/nedisocirane galne kiseline mogu se adsorbirati u različitoj količini.

Da bi se provjerilo postojanje različitih oblika galne kiseline na ispitivanim pH vrijednostima, snimljeni su UV/Vis spektri galne kiseline koncentracija 20, 50 i 100 mg l^{-1} pri pH 1,5; 7,5 i 10 (**Slika 14)**. Vidljiv je pomak maksimuma apsorpcije od 270 nm pri pH 1,5 do 260 pri pH 7,5 te do 265 pri pH 10 s dodatnim maksimumom na 410 nm. Ovi pomaci još su bolje vidljivi na **Slici 15**. Da bi se provjerio oblik β-glukana na različitim pH vrijednostima, snimljen je UV/Vis spektar β-glukana pri pH 1,5; 7,5 i 10 (**Slika 16**). β-glukan pokazuje maksimum na 970 nm na sve tri pH vrijednosti što može ukazati na to da pH vrijednost nije utjecala na pojavnost β-glukana.

Iz dobivenih rezultata može se vidjeti da se galna kiselina adsorbira na β-glukan pri pH vrijednostima 1,5; 7,5 i 10, a adsorpcija je najbrža unutar 1 do 2 h reakcije. Nakon tog vremena, proces adsorpcije usporava, te ulazi u „steady state“ stanje. Promjena galne kiseline tijekom vremena može se modelirati jednadžbama pseudo-prvog i pseudo-drugog reda, a konstante brzine reakcije određene modeliranjem povećavaju se smanjenjem početne koncentracije galne kiseline. Podaci količine adsorbirane galne kiseline na β-glukan tijekom vremena također se mogu obraditi jednadžbama procesa adsorpcije pseudo-prvog i pseudo-drugog reda. I ovim modeliranjem bilo je vidljivo da se konstante brzine reakcije određene modeliranjem pokazuju trend povećanja sa smanjenjem početne koncentracije galne kiseline. Ovo ukazuje na činjenicu da na proces adsorpcije te opisivanje procesa adsorpcije utječu brojni faktori, a među njima i početna koncentracija adsorbanta (galne kiseline) te je vrlo teško objasniti mehanizam adsorpcije te ponašanje u vremenu. Modeliranjem procesa adsorpcije tijekom ispitivanih 5 h može se pretpostaviti da adsorpcija odgovara reakcijama pseudo-drugog reda. Nadalje, galna kiselina adsorbirala se najmanje pri pH 1,5, nakon čega se iznos adsorpcije povećavao pri pH 7,5 te pri pH 10. Ovo različito ponašanje galne kiseline na različitim pH vrijednostima rezultat je različitih omjera disociranih/nedisociranih oblika galne kiseline na različitim pH vrijednostima što je potvrđeno i UV/Vis spektrima.

5. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Proces adsorpcije galne kiseline na β-glukan praćen je kroz 5 h te je zabilježeno da je reakcija najbrža unutar prvih 1 do 2 h, nakon čega ulazi u ravnotežno stanje.
2. Povećanjem pH vrijednosti sredine (1,5; 7,5 i 10) povećava se količina adsorbirane galne kiseline na β-glukan, što se može objasniti prelaskom galne kiseline iz nedisociranog u disocirani oblik pri višim pH vrijednostima.
3. Promjena slobodne galne kiseline tijekom vremena te količina adsorbirane galne kiseline na β-glukan može se modelirati jednadžbama pseudo-prvog i pseudo-drugog reda.
4. Navedeni modeli dali su podatke iz kojih je vidljivo da konstante brzine reakcije pokazuju trend porasta kako se smanjuje početna koncentracija galne kiseline, u nekim slučajevima.
5. Adsorpcija galne kiseline na β-glukan najvjerojatnije slijedi kinetiku reakcije pseudo-drugog reda.
6. Određivanje kinetike adsorpcije polifenola na prehrambena vlakna, odnosno konkretno galne kiseline na β-glukan, bitna je za shvaćanje interakcija između tih molekula o kojima ovisi bioaktivnost i bioraspoloživost istih.

6. LITERATURA

Afolabi IC, Popoola SI i Bello OS: Modeling pseudo-second-order kinetics of orange peel-paracetamol adsorption process using artificial neural network. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, Journal Pre-proof, 2020.

Alshameri A, Hongping H, Jianxi Z i sur.: Adsorption of ammonium by different natural clay minerals: Characterization, kinetics and adsorption isoterms. *Applied Clay Science* 159:83–93, 2018.

Brdička R: *Osnove fizikalne kemije*. Školska knjiga, Zagreb, 1969.

Chakrabarty K i Chakrabarty AS: Dietary Fibers. U: Chakrabarty K i Chakrabarty AS (eds): *Textbook of Nutrition in Health and Disease*. Springer Nature, Singapore, 2019.

Dror Y, Rimon E i Vaida R: The Dietary Fiber. U: Dror Y, Rimon E, i Vaida R (eds): *Whole-Wheat Bread for Human Health*. Springer Nature, Switzerland, 2020.

Fang D, Zhuang X, Huang L, Zhang Q, Shen Q, Jiang L, Xu X i Ji F: Developing the new kinetics model based on the adsorption process: From fitting to comparison and prediction. *Science of the Total Environment* 725:1-11, 2020.

Gao R, Liu H, Peng Z, Wu Z, Wang Y, Zhao G: Adsorption of (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) onto oat β-glucan. *Food Chemistry* 132:1936-1943, 2012.

Goleniowski M, Bonfill M, Cusido R i sur.: Phenolic Acids. U: Ramawat KG i Merillon JM (eds): *Natural Products*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 2013.

Ho Y i McKay G: Pseudo-second order model for sorption processes. *Process Biochemistry* 34:451-465, 1999.

Jakobek L: Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chemistry* 175:556–567, 2015.

Jakobek L: Karakterizacija polifenola u voću i njihov utjecaj na antioksidacijsku aktivnost voća. *Doktorski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2007.

Jakobek L i Matić P: Non-covalent dietary fiber - Polyphenol interactions and their influence on polyphenol bioaccessibility. *Trends in Food Science and Technology* 83:235–247, 2019.

Jelić J: Određivanje elektrokinetičkog potencijala otopine galne kiseline, otopine beta glukana i modela galne kiseline i beta-glukana. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2019.

Krasnova TA, Gora N V i Golubeva NS: Influence of physical-chemical properties of active carbons on gallic acid adsorption. *Foods and Raw Materials* 3:1–6, 2015.

Krešić V: Adsorpcija polifenolnih spojeva iz jabuke na β-glukanu. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2017.

Lagergren SY: *Zur Theorie der sogenannten Adsorption gelöster Stoffe*. Kungliga Svenska Vetenskapsakademien Handlingar 24, 1898.

Laidler KJ: A glossary of terms in chemical kinetics, including reaction dynamics (IUPAC Recommendations 1996). *Pure and Applied Chemistry* 68:149-192, 1996.

Latour RA: Funfamental Principles of the Thermodynamics and Kinetics of Protein Adsorption to Material Surfaces. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 191:1-11, 2020.

Locatelli C, Filippin-Monteiro FB, Centa A i sur.: Antioxidant, Antitumoral and Anti-Inflammatory Activities of Gallic Acid. U: Thompson MA i Collins PB (eds): *Handbook on Gallic Acid: Natural Ocurrences, Antioxidant Properties and Health Implications*. Nova Science Pub Inc, USA, 2013.

Manach C, Scalbert A, Morand C i sur.: Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79:727–747, 2004.

Ow Y i Stupans I: Gallic Acid and Gallic Acid Derivatives: *Effects on Drug Metabolizing Enzymes. Current Drug Metabolism* 4:241–248, 2003.

Panche AN, Diwan AD i Chandra SR: Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science* 5:1–15, 2016.

Perković G: Adsorpcija polifenola na β-glukanu. *Završni rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2017.

Perković G: Kinetika adsorpcije polifenola jabuke na β-glukanu. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2019.

Sabljić M: Validacija spektroskopskih i kromatografskih metoda za određivanje polifenolnih spojeva. *Diplomski rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2016.

Shi X, Xiao C, Wang Y i sur.: Gallic Acid Intake Induces Alterations to Systems Metabolism in Rats. *Journal of Proteome Research* 12:991–1006, 2013.

Tadić T: Adsorpcija polifenola na β-glukanu - kinetička istraživanja. *Završni rad*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2016.

Wu Z, Li H, Ming J, Zhao G: Optimization of adsorption of tea polyphenols into oat β-glucan using response surface methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:378-385, 2011.(a)

Wu, Z.; Ming, J.; Gao, R.; Wang, Y.; Liang, Q.; Yu, H.; Zhao, G: Characterization and antioxidant activity of the complex of tea polyphenols and oat β-glucan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 10737-10746, 2011.(b)