Adsorpcija polifenola na ß-glukanu - kinetička istraživanja

Tadić, Toma

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

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:109:781570

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

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

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

Toma Tadić

Adsorpcija polifenola na β-glukanu - kinetička istraživanja

završni rad

Osijek, 2016.

SVEUČILIŠTE J. J. STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

Završni rad

Adsorpcija polifenola na β-glukanu - kinetička istraživanja

Nastavni predmet
Fizikalna kemija
Predmetni nastavnik: izv.prof.dr.sc. Lidija Jakobek

Student: **Toma Tadić** (MB: 3673/12)
Mentor: izv.prof.dr.sc. Lidija Jakobek
Predano (datum):
Pregledano (datum):

Ocjena: **Potpis mentora:**

Naslov: Adsorpcija polifenola na β-glukanu - kinetička istraživanja

Sažetak: Polifenolni spojevi su pokazali da mogu ulaziti u interakcije sa sastojcima hrane kao što su lipidi, proteini, te ugljikohidrati. Ove interakcije se mogu pratiti kroz proces adsorpcije kroz kinetička istraživanja pri čemu se mogu dobiti informacije o redu reakcije. U ovom radu istraživana je kinetika adsorpcije galne kiseline kao polifenola i β-glukana kao prehrambenog vlakna koji spada u skupinu polisaharida. Pokazalo se da se galna kiselina adsorbirala na β-glukan tijekom vremena, a reakcija adsorpcije galne kiseline na β-glukanu bila je pseudo-prvog reda.

Ključne riječi: polifenoli**,** adsorpcija, β-glukan, kinetička istraživanja

Title: The adsorption of polyphenols onto β-glucan - kinetic studies

Summary: Polyphenolic compounds have shown that they can interact with food ingredients such as lipids, proteins, and carbohydrates. These interactions can be interpreted through adsorption process through kinetic studies where the information about the reaction order can be obtained. In this work the kinetic of reaction between polyphenol like gallic acid and dietary fiber like β-glucan have been investigated. It has been shown that gallic acid adsorbed onto β-glucan and the reaction of gallic acid adsorption onto β-glucan was the pseudo-first order.

Keywords: polyphenols, adsorption, β-glucan, kinetics studies

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. TEORIJSKI DIO 2
2.1. Polifenoli 2
2.1.1. Interakcije polifenola s lipidima 2
2.1.2. Interakcije polifenola s proteinima 2
2.1.3. Interakcije polifenola s ugljikohidratima 2
2.2. Adsorpcija 3
2.3. Kemijska kinetika 3
3. EKSPERIMENTALNI DIO 4
3.1. Materijali i metode 4
3.1.1. Kemikalije 4
3.1.2. Priprema standarda i uzoraka 4
3.1.3. Spektroskopska metoda za ukupne polifenole 4
3.1.4. Istraživanje kinetike reakcije galne kiseline i β-glukana 4
3.1.5. Statistička obrada podataka 5
4. REZULTATI 6
4.1. Adsorpcijski kapacitet galne kiseline na β-glukanu 6
4.2. Kinetika reakcije galne kiseline i β-glukana 7
5. RASPRAVA 9
6. ZAKLJUČCI 10
7. LITERATURA 11

1. UVOD

Polifenoli mogu stupati u interakciju s makromolekulama kao što su lipidi, proteini, ugljikohidrati i prehrambena vlakna. Ove interakcije se sve više proučavaju jer bi one mogle utjecati na biodostupnost polifenola u organizmu.

Interakcije se mogu pratiti kroz kinetička istraživanja pri čemu se kroz vrijeme prati adsorpcija polifenola na makromolekulama. Time se mogu dobiti informacije o redu reakcije, te o adsorpcijskom kapacitetu polifenola na makromolekulama.

Interakcije između β-glukana kao prirodnog vlakna kojemu su dokazana mnoga potencijalno pozitivna svojstva, te polifenola se sve više istražuju.

U ovom radu provedeno je istraživanje kinetike adsorpcije galne kiseline na β-glukanu kako bi se dobile informacije o redu reakcije. Također kroz modele pseudo-prvog i pseudo-drugog reda određena je i konstanta brzine reakcije i adsorpcijski kapacitet kroz vrijeme i u ravnoteži.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Polifenoli

Polifenoli su skupina spojeva koji se sastoje od jednostavnih molekula male molekulske mase do vrlo kompleksnih molekula velike molekulske mase. Oni su sekundarni biljni metaboliti koji se mogu naći u voću, povrću i njihovim proizvodima.

Prema strukturi se mogu podijeliti na fenolne kiseline, flavonoide, stilbene i lignane. Flavonoidi se mogu podijeliti na flavonole, flavone, flavanole, antocijane i izoflavone (Manach i sur., 2004; Bravo, 1998).

Pokazali su mnoga potencijalno pozitivna svojstva kao što su sprečavanje nastanka stanica raka pri čemu djeluju kao antioksidansi i drugo (Camouse i sur., 2005; Kampa i sur., 2007; Pandey i sur., 2009).

Polifenoli su pokazali da mogu ulaziti u interakcije s makromolekulama kao što su proteini, ugljikohidrati i lipidi (Jakobek , 2015).

2.1.1. Interakcije polifenola s lipidima

Studije su pokazale da interakcije polifenola i lipida mogu imati pozitivan utjecaj na zdravlje ljudi. Lipidi mugu štiti polifenole tijekom prolaska kroz probavni trakt, tj. mogu sprječiti njihovu razgradnju. Kroz interakcije polifenola i lipida, polifenoli mogu pokazati određenu bioaktivnost u gastrointestinalnom traktu gdje mogu stvoriti pozitivnu antioksidacijsku okolinu, te mogu reagirati sa štetnim produktima peroksidacije lipida (Jakobek, 2015).

2.1.2. Interakcije polifenola s proteinima

Polifenoli mogu ulaziti u interakcije s proteinima putem nekovalentne veze, a spojevi se mogu naknadno stabilizirati vodikovim vezama (Jakobek, 2015).

2.1.3. Interakcije polifenola s ugljikohidratima

Polifenoli mogu ulaziti u interakcije s ugljikohidratima kao što su pektin i celuloza i prehrambena vlakna. U interakciji polifenola s ugljikohidratima, polifenoli mogu biti „zarobljeni“ unutar strukture ugljikohidrata. Na taj način mogu dospjeti do debelog crijeva gdje mogu pokazati potencijalno pozitivne aktivnosti (Jakobek, 2015).

Prirodno vlakno koje se danas sve više istražuje je β-glukan. β-glukan je polimer glukoze koji se može naći u žitaricama, gljivama, kvascu i algama (Laroche i sur., 2007).

2.2. Adsorpcija

Adsorpcija je proces koji se javlja između plinova ili otopina koji dolaze u dodir s nekom krutom fazom. Kad dvije homogene smjese, npr. plin i neka kruta faza dolaze u dodir jedna s drugom, stvara se granično područje. Granično područje faza nastaje pod utjecajem sila na graničnim površinama faza koje su određene prirodom i sastavom faza koje se međusobno dodiruju. Ako dođe do povećanja udjela međufazne površine kao posljedica djelovanja sila na graničnoj površini nekom tvari iznad koncentracije koju ta tvar ima unutar faze, onda se takvo povećanje udjela tvari na graničnoj površini obiju faza naziva adsorpcija (Brdička,1969).

2.3. Kemijska kinetika

Kemijska kinetika bavi se proučavanjem brzine kemijskih reakcija i mehanizama kojima se te reakcije odvijaju. Brzina reakcije opisuje napredovanje kemijske reakcije s vremenom, a mehanizam reakcije predstavlja slijed događaja na molekularnoj razini kojima reaktanti prelaze te u produkte reakcije.

Reakcija prvoga reda je reakcija u kojoj reagiraju dva reaktanta pri čemu je brzina promjene koncentracije proporcionalna koncentraciji samo jednog reaktanta.

Reakcije drugog reda su one reakcije u kojima reagiraju dvije molekule, tj. dva reaktanta u kojoj su sume eksponenata koncentracije reaktanata jednake redu reakcije (Filipović i Lipanović, 1995).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali i metode

3.1.1. Kemikalije

U istraživanju je korištena galna kiselina (≥ 98%), β-D-glukan (G6513, ≥ 95%) proizvođača Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA), natrij karbonat proizvođača Gram-mol (Zagreb, Hrvatska), Folin-Ciocalteu reagens Kemika (Zagreb, Hrvatska), te methanol (HPLC čistoće).

3.1.2. Priprema standarda i uzoraka

Otopina galne kiseline pripremljena je u koncentraciji od 1000 mg/l u metanolu. β-D-glukan pripremljen je u koncentraciji od 190 mg/l u destiliranoj vodi.

Pripremljena otopina galne kiselina razrijeđena je na koncentracije od 1, 10, 50, 100, 200 i 500 mg/l u metanolu za pripremu kalibracijske krivulje.

3.1.3. Spektroskopska metoda za ukupne polifenole

Za ukupne polifenole korištena je Folin-Ciocalteu metoda (Singleton i sur., 1999). 20 µl uzorka, 1580 µl vode, 100 µl Folin-Ciocalteu reagensa i 300 µl natrij karbonata otpipetirano je u staklenu kivetu. Otopina je promiješana i stavljena na u vodenu kupelj na 40°C kroz 30 min, nakon čega je mjerena apsorbancija na spektrofotometru (UV 2005, Selecta, Španjolska) na 765 nm prema slijepoj probi koji je umjesto uzorka sadržavala detiliranu vodu.

Ovom metodom kostruirana je kalibracijska krivulja galne kiseline pri čemu su uzorci mjereni 2 puta (n=2).

3.1.4. Istraživanje kinetike reakcije galne kiseline i β-glukana

Kinetika je praćena u model otopini koja se sastojala od galne kiseline, β-glukana i fosfatnog pufera. Ukupan volumen model otopine bio je 500 µl. Koncentracija galne kiseline u model otopini bila je 200 mg/l, β-glukana 5 mg/l, a ostatak volumena je činio fosfatni pufer (0.13 M, pH 5.5). Kinetika je praćena kroz vremena od 1, 2, 5 i 16 h na sobnoj temperaturi. Neadsorbirani polifenoli odvojeni su od adsorbiranih pomoću ultrafiltracije na centrifugi (Eppendorf minispin centrifuga, Hamburg, Njemačka) uz pomoć centrifugalnih filtera (Sartorius, Vivaspin 500, 10000 MWCO, 100 - 500 µl). Neadsorbirani polifenoli određeni su Folin-Ciocalteu metodom 2 puta (n=2).

Adsorpcijski kapacitet galne kiseline na β-glukani kroz različita vremena izračunat je prema **formuli (1)**:

$$q_t = \frac{m_1 - m_2}{m_3} \quad \textbf{(1)}$$

gdje je: m_1 – početna masa galne kiseline u otopini (mg),

m_2 – neadsorbirana masa galne kiseline u otopini (mg),

m_3 – masa β-glukana u model otopini (g) i

q_t – adsorpcijski kapacitet (mg/g).

Konstanta brzine reakcije prvog reda dobivena je pomoću **formule (2)** (Marsal i sur., 2012):

$$\log(q_e - q_t) = -\left(\frac{k_1}{2{,}303}\right) t + (log q_e) \quad \textbf{(2)}$$

gdje je: q_e – ravnotežni adsorpcijski kapacitet (mg/g),

q_t – adsorpcijski kapacitet kroz vrijeme (mg/g),

t – vrijeme (h) i

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

Konstanta brzine reakcije drugog reda dobivena je pomoću **formule (3)** (Marsal i sur., 2012):

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{q_e} t + \frac{1}{k_2 q_e^2} \quad \textbf{(3)}$$

gdje je: q_e – ravnotežni adsorpcijski kapacitet (mg/g),

q_t – adsorpcijski kapacitet kroz vrijeme (mg/g),

t – vrijeme (h) i

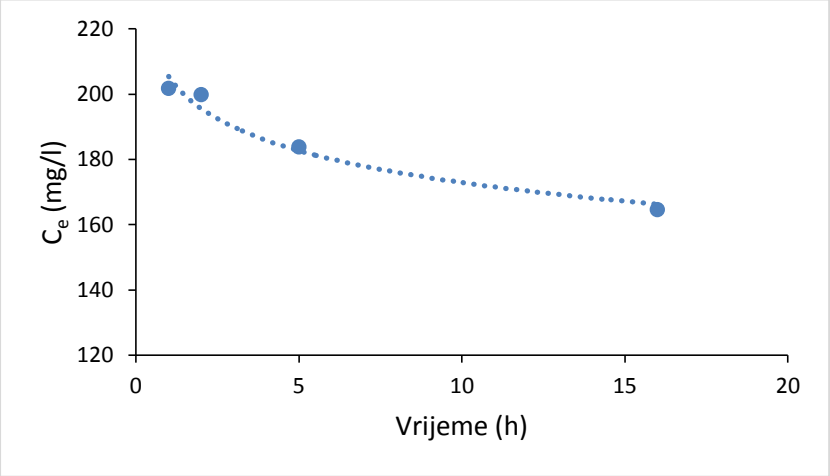
k_2 – konstanta brzine reakcije pseudo-drugog reda (g/mg h).

3.1.5. Statistička obrada podataka

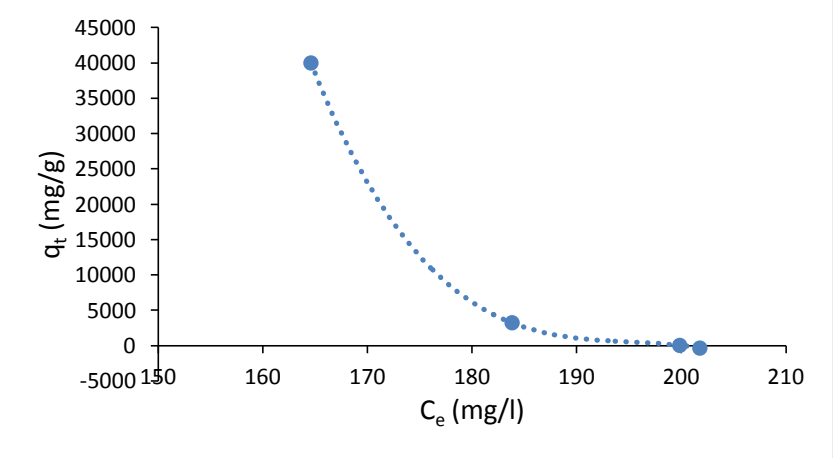
Kompjutorski program MS Excel (Microsoft Corporation, SAD) korišten je za obradu dobivenih podataka. Jednadžbe pravca i pripadajući koeficijenti determinacije r^2 dobiveni su pomoću regresijske analize.

4. REZULTATI

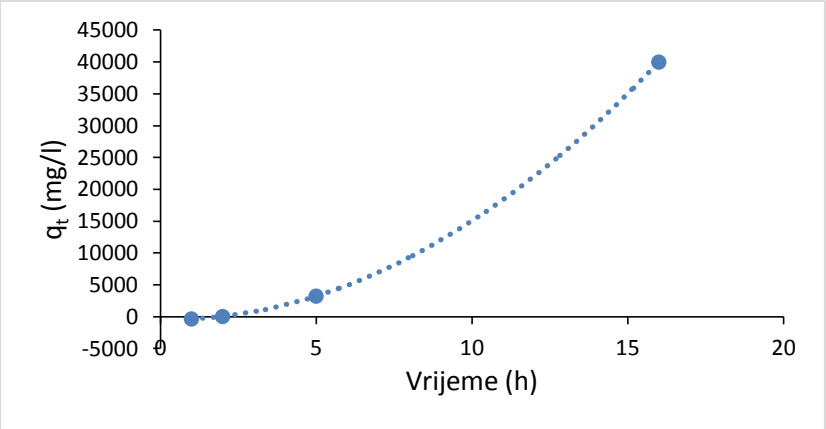
4.1. Adsorpcijski kapacitet galne kiseline na β-glukanu



Slika 1 Smanjenje ravnotežne koncentracije galne kiseline u otopini galne kiseline i β-glukana tijekom vremena



Slika 2 Povećanje adsorpcijskog kapaciteta sa smanjenjem ravnotežne koncentracije u otopini galne kiseline i β-glukana



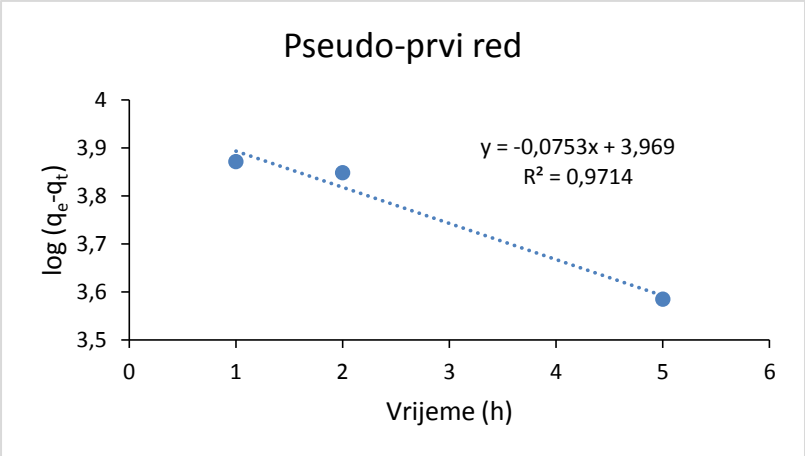
Slika 3 Povećanje adsorpcijskog kapaciteta galne kiseline na β-glukanu kroz vrijeme

Tablica 1 Povećanje adsorpcijskog kapaciteta za adsorpciju galne kiseline na β-glukanu tijekom vremena

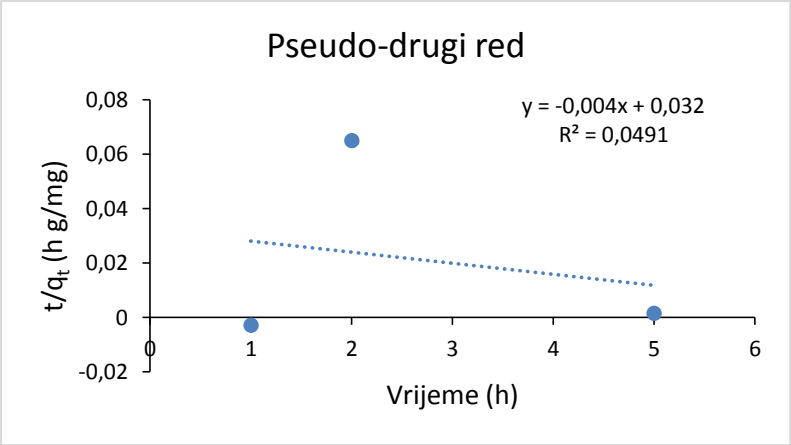
Vrijeme (h)	Adsorbirana količina (mg)	q_t [a] (mg/g)
1	-0,00088	-353,84
2	0,0000769	30,76
5	0,00809	3235,9
16	0,1	40000

[a] Adsorpcijski kapacitet kroz vrijeme

4.2. Kinetika reakcije galne kiseline i β-glukana



a)



b)

Slika 4 Kinetika reakcije galne kiseline i β-glukana. a) pseudo-prvi red; b) pseudo-drugi red reakcije

Tablica 2 Kinetički parametri reakcije presudo-prvog i pseudo-drugog reda galne kiseline i β-glukana dobivenih preko kinetičkih jednadžbi modela

	Pseudo-prvi red				Pseudo-drugi red			
C_o [a] (mg/l)	Jednadžba pravca	R^2	k_1 [b] (h^{-1})	q_e [c] (mg/g)	Jednadžba pravca	R^2	k_2 [d] (g/mg h)	q_e [c] (mg/g)
200	y=-0,0753x+3,969	0,9714	0,0173	9311,08	y=-0,004x+0,032	0,0491	0,0005	-250

[a] Početna koncentracija galne kiseline u model otopini (mg/l)

[b] Konstanta brzine reakcije pseudo-prvog reda

[c] Ravnotežni adsorpcijski kapacitet

[d] Konstanta brzine reakcije pseudo-drugoh reda

5. RASPRAVA

Na **Slici 1** prikazano je smanjenje ravnotežne koncentracije galne kiseline u model otopini galne kiseline i β-glukana tijekom vremena. Galna kiselina se tijekom vremena adsorbira na β-glukan, pa se njezina koncentracija u otopini smanjuje s vremenom.

Budući da se ravnotežna koncentracija galne kiseline tijekom vremena smanjuje u otopini, s time se povećava adsorpcijski kapacitet kroz vrijeme što je prikazano na **Slici 2**.

Povećanje adsorpcijskog kapaciteta galne kiseline na β-glukanu kroz vrijeme prikazano je na **Slici 3**.

U **Tablici 1** navedeni su adsorpcijski kapaciteti za adsorpciju galne kiseline na β-glukanu tijekom vremena. Adsorpcijska ravnoteža postignuta je za 16 h pri čemu je adsorpcijski kapacitet galne kiseline na β-glukanu iznosio 40000 mg/g.

Na **Slici 4** prikazan je kinetika reakcije galne kiseline i β-glukana za pseudo-prvi red i pseudo-drugi red reakcije. Prema koeficijentu determinacije R^2 iz slika je vidljivo da za adsorpciju galne kiseline na β-glukanu odgovara pseudo-prvi red reakcije (R^2 iznosi 0,9714).

Kinetički parametri reakcije pseudo-prvog i pseudo-drugog reda galne kiseline i β-glukana dobiveni preko kinetičkih jednadžbi modela prikazani su u **Tablici 2**. Konstanta brzine reakcije za adsorpciju galne kiseline na β-glukanu iznosi 0,0173 h^{-1}. Ravnotežni adsorpcijski kapacitet iznosi 9311,08 mg/g.

6. ZAKLJUČCI

Na osnovu navedenih teorijskih osnova i eksperimentalnog dijela u završnom radu, došlo se do sljedećih zaključaka:

- polifenoli mogu stupiti u interakcije sa makromolekulama kao što su lipidi, proteini i ugljikohidrati,
- interakcije polifenola s prehrambenim vlaknima sve se više istražuju kako bi se dobile informacije o ovim interakcijama,
- β-glukan je prehrambeno vlakno koje je zastupljeno u žitaricama, gljivama, kvascu i algama, a pokazao je da može stupiti u interakcije s polifenolima,
- ove interakcije mogu se pratiti kroz proces adsorpcije,
- tijekom vremena, ravnotežna koncentracija polifenola u otopini se smanjuje jer je polifenoli adsorbiraju na adsorbens,
- kroz modele pseudo-prvog i pseudo-drugog reda reakcije može se odrediti red reakcije i konstanta brzine reakcije i
- dobiveno je da za adsorpciju galne kiseline na β-glukanu odgovara pseudo-prvi red reakcije sa konstantom brzine reakcije prvog reda koja iznosi 0,0173 h^{-1}.

7. LITERATURA

Bravo L: Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutritional Reviews* 56: 317-333, 1998.

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

Camouse MM, Hanneman KK, Conrad EP, Baron ED: Protective effects of tea polyphenols and caffeine. *Expert Review of Anticancer Therapy* 5: 1061-1068, 2005.

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

Kampa M, Nifli AP, Notas G, Castanas E: Polyphenols and cancer growth, *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology* 159: 79-113, 2007.

Laroche C, Michaud P : New developments and prospective applications for β (1,3) glucans. Recent Patents on Biotechnology 1: 59-73, 2007.

Lipanović I, Filipović S. *Opća i anorganska kemija I. dio opća kemija*, Školska knjiga, Zagreb, 1995.

Manach C, Scalbert A, Morand C, Remesy C, Jimenez, L: Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79: 727-747, 2004.

Marsal A, Maldonado F, Cuadros S, Bautista ME, Manich AM, Adsorption isotherm, thermodynamic and kinetics studies of polyphenols onto tannery shavings. *Chemical Engineering Journsl* 183: 21-29, 2012.

Pandey KB, Rizvi SI: Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and diseases, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2: 270-278, 2009.

Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagens. *Methods in Enzymology* 299: 152-178, 1999.