

# Adsorpcija derivata kvercetina na $\beta$ -glukan

---

Kraljević, Šima

Master's thesis / Diplomski rad

2017

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:109:117873>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-28**

REPOZITORIJ

PTF OS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

**Šima Kraljević**

**ADSORPCIJA DERIVATA KVERCETINA NA  $\beta$ -GLUKANU**

Diplomski rad

Osijek, prosinac 2017.

## 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 20, 31000 Osijek, Hrvatska

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija  
**Nastavni predmet:** Inženjerska kemija  
**Tema rada** je prihvaćena na III. izvanrednoj sjednici Odbora za završne i diplomske ispite Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek održanoj 03.07.2017. godine.  
**Mentor:** izv. prof. dr. sc. *Lidija Jakobek Barron*  
**Pomoć pri izradi:** *Petra Matić*, dipl.ing.

### ADSORPCIJA DERIVATA KVERCETINA NA $\beta$ -GLUKANU

*Šima Kraljević, 354/DI*

**Sažetak:** Zadatak ovog rada bio je provesti eksperimente adsorpcije između  $\beta$ -glukana i odabranih derivata kvercetina: kvercetin-3-glukozida, kvercetin-3-galaktozida te kvercetin-3-ramnozida. Koncentracija neadsorbiranih derivata kvercetina nakon uspostavljanja ravnoteže ( $c_e$ ) određena je pomoću Folin-Ciocalteu metode. Izračunat je adsorpcijski kapacitet ( $q_e$ ). Eksperimentalni rezultati ( $c_e$  i  $q_e$ ) su obrađeni nelinearnim i linearnim adsorpcijskim modelima (Freundlich, Langmuir i Dubinin-Radushkevich) kako bi se dobile konstante ovih modela ( $K_F$  i  $1/n$  kod Freundlicha,  $K_L$  i  $g_m$  kod Langmuira te  $q_s$  i  $\beta$  kod Dubinin-Radushkevicha). Na osnovu dobivenih rezultata zaključeno je da su nelinearni modeli pokazali bolje slaganje s eksperimentalnim rezultatima u odnosu na linearne modele, te da je adsorpcija između  $\beta$ -glukana i derivata kvercetina favorizirana, a adsorpcijski kapacitet je bio nešto veći za kvercetin-3-glukozid. Moguće je da raspored -OH skupina na glikozidima ima utjecaja na proces adsorpcije.

**Ključne riječi:** adsorpcija,  $\beta$ -glukan, derivati kvercetina, adsorpcijski modeli

**Rad sadrži:** 38 stranica  
12 slika  
32 literaturne reference

**Jezik izvornika:** Hrvatski

#### Sastav Povjerenstva za obranu:

- |  |               |
|--|---------------|
| 1. izv. prof. dr. sc. <i>Ana Bucić-Kojić</i>       | predsjednik   |
| 2. izv. prof. dr. sc. <i>Lidija Jakobek Barron</i> | član-mentor   |
| 3. izv. prof. dr. sc. <i>Mirna Habuda-Stanić</i>   | član          |
| 4. izv. prof. dr. sc. <i>Ivica Strelec</i>         | zamjena člana |

**Datum obrane:** 19. prosinca 2017.

**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

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek  
Faculty of Food Technology Osijek  
Department of Applied Chemistry and Ecology  
Subdepartment of Applied Chemistry and Instrumental Methods  
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

**Scientific area:** Biotechnical sciences  
**Scientific field:** Food technology  
**Course title:** Engineering chemistry  
**Thesis subject** was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology at its session no. III held on July 3<sup>th</sup>, 2017.  
**Mentor:** Lidija Jakobek Barron, PhD, Associate professor  
**Technical assistance:** Petra Matić, BSc

### QUERCETIN DERIVATIVES ADSORPTION ONTO $\beta$ -GLUCAN

Šima Kraljević, 354/DI

**Summary:** The aim of this study was to conduct the adsorption experiments between  $\beta$ -glucan and selected quercetin derivatives: quercetin-3-glucoside, quercetin-3-galactoside and quercetin-3-rhamnoside. After reaching the adsorption equilibrium, the concentration of unadsorbed quercetin derivative ( $c_e$ ) was determined by the use of Folin-Ciocalteu method. The adsorption capacity was calculated ( $q_e$ ). Experimental results ( $c_e$  and  $q_e$ ) were analysed with nonlinear and linear adsorption models (Freundlich, Langmuir and Dubinin-Radushkevich) in order to obtain the constants of these models ( $K_F$  and  $1/n$  for Freundlich,  $K_L$  and  $q_m$  for Langmuir, and  $q_s$  and  $\beta$  for Dubinin-Radushkevich model). On the basis of the results it can be concluded that nonlinear models showed a better agreement with experimental results compared to the linear models, that adsorption between  $\beta$ -glucan and quercetin derivatives was favoured, and that adsorption capacity was a little bit higher for quercetin-3-glucoside. It is possible that the arrangement of -OH groups on glycoside part of molecules affects the adsorption process.

**Key words:** adsorption,  $\beta$ -glucan, quercetin derivatives, adsorption models

**Thesis contains:** 38 pages  
12 figures  
4 tables  
32 references

**Original in:** Croatian

#### Defense committee:

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. Ana Bucić-Kojić, PhD, associate professor       | chair person |
| 2. Lidija Jakobek Barron, PhD, associate professor | supervisor   |
| 3. Mirna Habuda-Stanić, PhD, associate professor   | member       |
| 4. Ivica Strelec, PhD, associate professor         | stand-in     |

**Defense date:** 19 December, 2017.

**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 izrađen je na projektu Hrvatske zaklade za znanost „Utjecaj prehrambenih vlakana na bioraspoloživost polifenola istraživanjem adsorpcije i simuliranih probavnih procesa, „*in vitro*“, broj projekta: IP-2016-06-6777, voditelja izv. prof. dr. sc. Lidije

Jakobek Barron.

Kao prvo, Bogu hvala na svemu. Hvala mojoj obitelji, rodbini i prijateljima na velikoj potpori tijekom studija, a posebno mojim roditeljima, braći, sestrama. Neizmjereno hvala dragoj mentorici izv.prof.dr.sc. Lidiji Jakobek Barron na predloženoj temi te dragoj asistentici Petri Matić na strpljenju i pomoći kod izrade i pisanja diplomskog rada. Ostalim profesorima sveučilišta J.J.Strossmayera u Osijeku, koje sam imala priliku upoznati kroz predavanja, zahvaljujem na trudu i prenesenom znanju, kao i svojim kolegama i kolegicama sa kojima sam imala priliku proći kroz ovo jedno lijepo i nezaboravno životno razdoblje.

## Sadržaj

<b>1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO .....</b>	<b>2</b>
2.1. POLIFENOLNI SPOJEVI.....	3
2.1.1. Flavonoidi .....	3
2.1.2. Flavonoli .....	4
2.1.3. Adsorpcija derivata kvercetina u organizmu.....	6
2.2. INTERAKCIJE POLIFENOLA I MAKROMOLEKULA .....	6
2.2.1. Interakcije s prehrambenim vlaknima .....	6
2.2.2. $\beta$ -(1,3)-(1,4)-D-glukan .....	7
2.3. ADSORPCIJA .....	7
2.3.1. Adsorpcijske izoterme .....	9
2.3.2. Freundlichova izoterma .....	10
2.3.3. Langmuirova izoterma .....	11
2.3.4. Dubinin-Radushkevicheva izoterma .....	11
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO.....</b>	<b>14</b>
3.1. ZADATAK RADA.....	15
3.2. MATERIJALI I METODE.....	16
3.2.1. Kemikalije .....	16
3.2.2. Priprema standarda i uzoraka .....	16
3.2.3. Spektroskopska metoda za određivanje ukupnih polifenola (Folin-Ciocalteu metoda) .....	16
3.2.4. Adsorpcija derivata kvercetina na $\beta$ -glukanu.....	16
3.2.5. Statistička obrada podataka .....	17
<b>4. REZULTATI .....</b>	<b>19</b>
4.1. KALIBRACIJSKE KRIVULJE DERIVATA KVERCETINA.....	20
4.2. NELINEARNI ADSORPCIJSKI MODELI ZA ADSORPCIJU DERIVATA KVERCETINA NA $\beta$ -GLUKANU.....	20
4.2.1. Adsorpcijske ravnoteže derivata kvercetina na $\beta$ -glukanu .....	21
4.2.2. Konstante nelinearnih adsorpcijskih modela za adsorpciju derivata kvercetina na $\beta$ -glukanu....	23
4.3. LINEARNI ADSORPCIJSKI MODELI ZA ADSORPCIJU DERIVATA KVERCETINA NA $\beta$ -GLUKANU .....	24
4.3.1. Konstante linearnih adsorpcijskih modela za adsorpciju derivata kvercetina na $\beta$ -glukanu.....	27
<b>5. RASPRAVA .....</b>	<b>29</b>
<b>6. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>33</b>
<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>35</b>

### Popis oznaka, kratica i simbola

$K_F$	konstanta relativnog adsorpcijskog kapaciteta ( $\text{mol g}^{-1}$ ) ( $\text{mol l}^{-1}$ ) <sup>-1/n</sup>
$1/n$	konstanta intenziteta adsorpcije
$K_L$	konstanta slobodne energije adsorpcije ili konstanta afiniteta ( $\text{l mol}^{-1}$ )
$q_m$	maksimalni teorijski adsorpcijski kapacitet ( $\text{mol g}^{-1}$ )
$q_s$	teorijski kapacitet zasićenja ( $\text{mol g}^{-1}$ )
$c_e$	ravnotežna koncentracija adsorbata u otopini ( $\text{mol l}^{-1}$ )
$q_e$	ravnotežni adsorpcijski kapacitet ( $\text{mol g}^{-1}$ ),
$\varepsilon$	Polany potencijal ( $\text{J mol}^{-1}$ )
$\beta$	konstanta povezana s adsorpcijskim kapacitetom ( $\text{mol}^2 \text{J}^{-2}$ )
$E$	srednja slobodna energija adsorpcije ( $\text{J mol}^{-1}$ )
$R^2$	koeficijent determinacije
$RMSE$	korijen srednje kvadratne pogreške (engl. root mean square error)



## **1. UVOD**

Polifenolni spojevi su sekundarni biljni metaboliti koji se prema razlikama u strukturi mogu podijeliti na fenolne kiseline, flavonoide, stilbene i lignane (Bravo, 1998). Nađene su mnoge potencijalno pozitivne bioaktivnosti polifenola na ljudski organizam (Camouse i sur., 2005; Kampa i sur., 2007; Pandey i Rizvi, 2009; Scalbert i sur., 2005). Jedna od bioaktivnosti polifenola je interakcija sa sastojcima hrane kao što su proteini, ugljikohidrati, prehrambena vlakna te lipidi u probavnom traktu (Jakobek, 2015). Ove bioaktivnosti polifenola sa proteinima, ugljikohidratima, prehrambenim vlaknima te lipidima nisu u potpunosti istražene. Interakcije između polifenola i prehrambenih vlakana se sve više istražuju jer su prehrambena vlakna otporna na probavu i apsorpciju u tankom crijevu, a u debelom crijevu mogu djelomično ili potpuno fermentirati pa mogu prenositi polifenole kroz probavni trakt (Quirós-Sauceda i sur., 2014). Također, ove interakcije mogu utjecati na biodostupnost polifenola i na potencijalno pozitivna svojstva polifenola u donjem dijelu probavnog trakta (Jakobek, 2015).

Kako bi se dobilo više informacija o interakcijama između polifenola i prehrambenih vlakna, interakcije se mogu proučavati kroz proces adsorpcije, preko adsorpcijskih izoterma. Adsorpcijske izoterme predstavljaju odnos između količine polifenola adsorbirane na površinu adsorbensa i preostale (neadsorbirane) koncentracije polifenola u otopini. Prema Giles i sur. (1974), adsorpcijske izoterme se mogu podijeliti na „L“, „H“, „C“ i „S“ tipove. Također, eksperimentalni rezultati procesa adsorpcije mogu se analizirati upotrebom različitih nelinearnih i linearnih adsorpcijskih modela kao što su Freundlich, Langmuir i Dubinin-Radushkevich. Preko konstanti ovih modela mogu se dobiti informacije o tome da li se adsorpcija odvija u jednom ili više slojeva, da li je adsorpcija favorizirana, da li su veze koje nastaju između polifenola i prehrambenih vlakana fizikalne ili kemijske. Također, može se odrediti i maksimalni adsorpcijski kapacitet (Foo i sur., 2010; Soto i sur., 2011).

U ovom radu cilj je bio provesti eksperimente adsorpcije između  $\beta$ -glukana i derivata kvercetina (kvercetin-3-glukozid, kvercetin-3-galaktozid te kvercetin-3-ramnozid) te analizirati eksperimentalne rezultate nelinearnim i linearnim adsorpcijskim modelima (Freundlich, Langmuir i Dubinin-Radushkevich) kako bi se dobile konstante ovih modela ( $K_F$  i  $1/n$  kod Freundlicha,  $K_L$  i  $q_m$  kod Langmuira te  $q_s$  i  $\beta$  kod Dubinin-Radushkevicha). Nadalje, cilj je bio utvrditi koji modeli (linearni ili nelinearni) bolje odgovaraju eksperimentalnim rezultatima, da li je moguće opisati proces adsorpcije upotrebom ovih modela te da li postoje razlike u adsorpciji ova tri derivata kvercetina.

## **2. TEORIJSKI DIO**

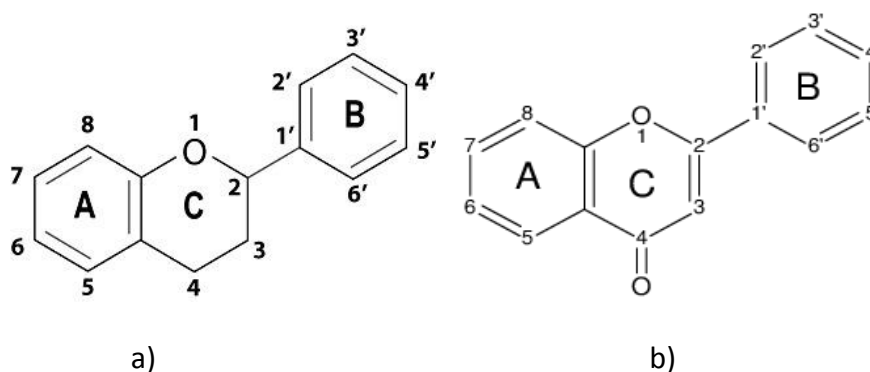
## 2.1. POLIFENOLNI SPOJEVI

Polifenolni spojevi su grupa sekundarnih metabolita biljaka čija je primarna funkcija zaštita biljke od ultraljubičastog zračenja i patogena. Prema broju fenolnih prstenova koje sadrže i na osnovi strukturnih elemenata koji te prstenove povezuju, mogu se podijeliti na fenolne kiseline, flavonoide, stilbene i lignane (Manach i sur., 2004). Fenolne kiseline se mogu podijeliti na derivate benzojeve kiseline i derivate cimetine kiseline. Polifenoli su pokazali mnoga potencijalno pozitivna svojstva na ljudski organizam kao što su zaštita organizma od razvoja nekoliko kroničnih bolesti (kardiovaskularne bolesti, rak, dijabetes, infekcije i sl.). Zbog svojih potencijalno pozitivnih svojstava za ljudski organizam, polifenoli se sve više istražuju (Pandey i Rizvi, 2009).

### 2.1.1. Flavonoidi

Flavonoidi su široka skupina sekundarnih biljnih fenola s jezgrom flavana. Najviše su koncentrirani u voću, povrću, vinu, čajevima i kakau. Nalaze se i u listovima, sjemenkama, kori i cvjetovima biljaka. Do danas je identificirano više od 4000 flavonoida (Heim i sur., 2002).

Osnovna struktura flavonoida temelji se na jezgri koja se sastoji od dva aromatska prstena A i B. Aromatski prsten A kondenziran je sa oksigeniranim heterocikličkim prstenom C (**Slika 1**) (Bravo, 1998; Jakobek, 2007).



**Slika 1** Osnovna struktura flavonoida. a) jezgra flavana; b) 4-okso flavonoid

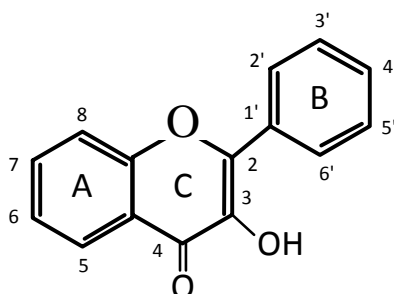
(pripremljeno prema Bravo, 1998; Jakobek, 2007)

U skupinu flavonoida ubrajaju se flavonoli, flavoni, izoflavoni, flavanoni, antocijanidini te flavanoli (Bravo, 1998). Flavonoidi mogu na svojoj strukturi imati vezanu molekulu šećera.

Flavonoidi koji nemaju vezan šećer na svojoj strukturi nazivaju se aglikoni, a oni koji imaju vezan šećer nazivaju se glikozidi flavonoida (Aherne i O'Brien, 2002).

### 2.1.2. Flavonoli

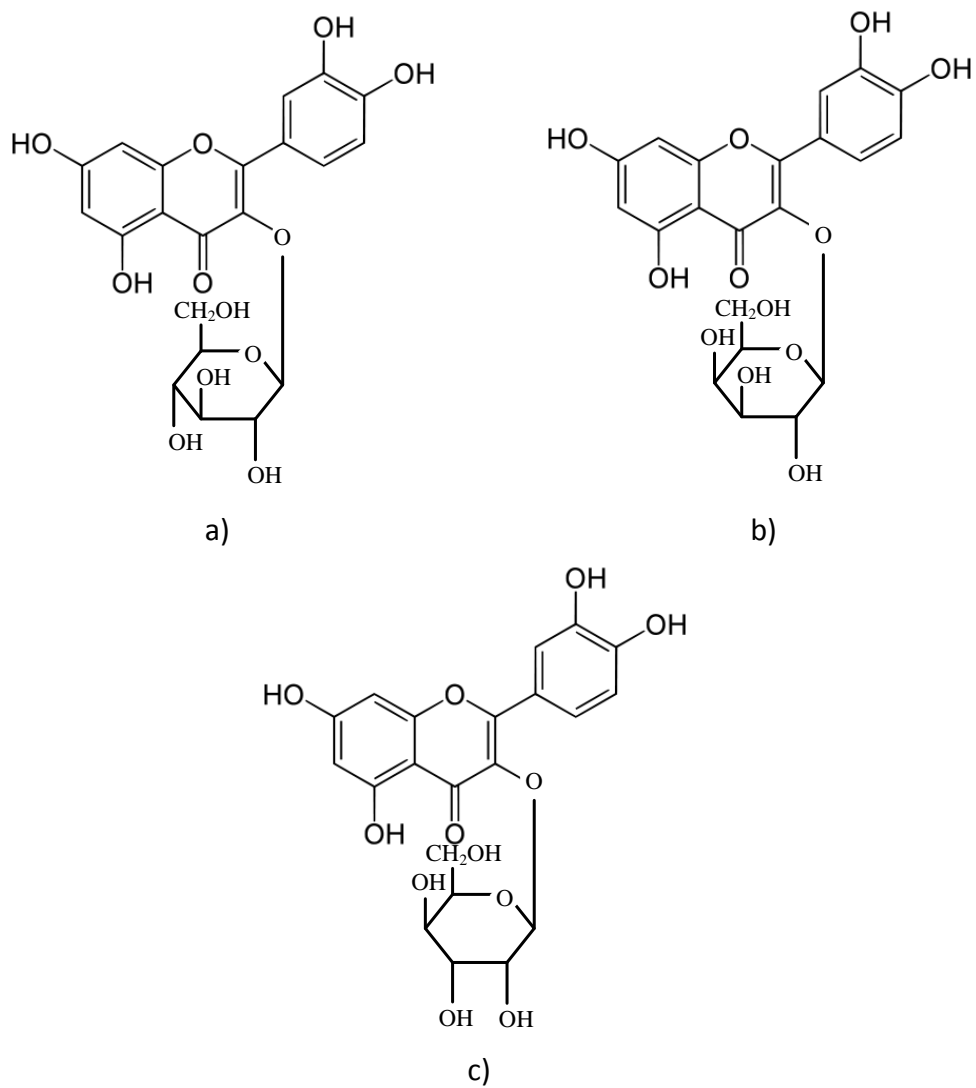
Flavonoli spadaju u skupinu flavonoida. Mogu se naći u voću, povrću i napitcima kao što su čaj i crno vino. Kemijska struktura aglikona flavonola prikazana je na **Slici 2**, a sastoji se od -OH skupine na poziciji -3. U svojoj strukturi mogu imati vezane šećere, najčešće na poziciji -3, a rjeđe na poziciji -7. Najčešće vezani šećeri na aglikonu flavonola su D-glukoza, arabinoza, galaktoza, L-ramnoza ili ksiloza (Aherne i O'Brien, 2002).



**Slika 2** Kemijska struktura aglikona flavonola

(pripremljeno prema Aherne i O'Brien, 2002)

U flavonole spadaju i derivati kvercetina, kao što su kvercetin-3-glukozid koji na poziciji -3 ima vezan šećer glukoze, zatim kvercetin-3-galaktozid koji na poziciji -3 ima vezan šećer galaktoze, te kvercetin-3-ramnozid koji na poziciji -3 ima vezan šećer ramnoze (**Slika 3**).



**Slika 3** Kemijska struktura derivata kvercetina. a) kvercetin-3-glukozid; b) kvercetin-3-galaktozid; c) kvercetin-3-ramnozid

### 2.1.3. Apsorpcija derivata kvercetina u organizmu

Apsorpcija kvercetina i njegovih derivata u organizmu nije u potpunosti istražena. Nađeno je da na biodostupnost flavonola u organizmu utječe šećer koji je vezan na aglikon flavonola. Pokazalo se da je apsorpcija u organizmu bila najveća kad je glukoza bila vezana na aglikon flavonola (Hollman i Arts, 2000).

## 2.2. INTERAKCIJE POLIFENOLA I MAKROMOLEKULA

Bioaktivnosti polifenola u koje spadaju interakcije polifenolnih spojeva s makromolekulama kao što su proteini, ugljikohidrati (prehrambena vlakna) i lipidi, nisu u potpunosti istražene (Jakobek, 2015; Le Bourvellec i Renard, 2012).

### 2.2.1. Interakcije s prehrambenim vlaknima

Prehrambena vlakna su ugljikohidrati koji su djelomično otporni na probavu i apsorpciju u tankom crijevu, s djelomičnom ili potpunom fermentacijom u debelom crijevu (Quiros-Sauceda i sur., 2014).

Dijele se na:

- netopljiva prehrambena vlakna: celuloza, hemiceluloza, lignin
- topljiva prehrambena vlakna: pektini, beta-glukani, gume i drugi (Quiros-Sauceda i sur., 2014).

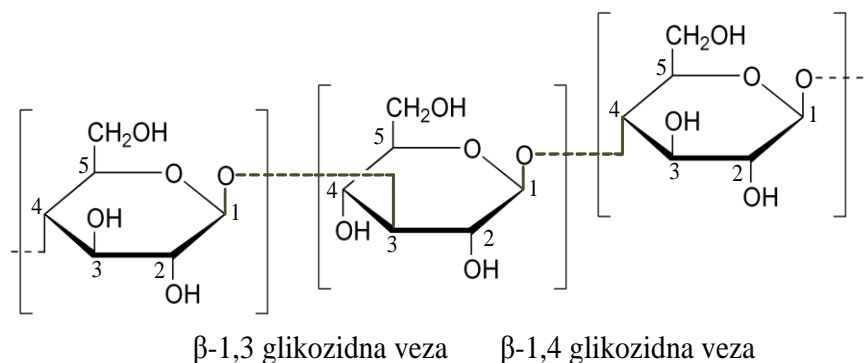
Pokazalo se da se prehrambena vlakna mogu vezati s polifenolima prisutnima u hrani tijekom gastrointestinalne probave. Interakcije polifenola i prehrambenih vlakana mogu biti kroz:

- nekovalentne veze (vodikove veze - između -OH skupine polifenola i kisikovog atoma vlakana; elektrostatske interakcije; hidrofobne interakcije), te
- kovalentne veze (između fenolnih kiselina i vlakana) (Bordenave i sur., 2014; Quiros-Sauceda i sur., 2014).

Međutim, interakcije polifenola i prehrambenih vlakana nisu u potpunosti istražene. Pokazalo se da ove interakcije mogu utjecati na bioaktivnost polifenola pa se provode istraživanja ovih interakcija (Gao i sur., 2012; Wu i sur., 2011).

### 2.2.2. $\beta$ -(1,3)-(1,4)-D-glukan

$\beta$ -glukan je prirodno vlakno, polimer glukoze koji se može se naći u gljivama, pekarskom kvascu, zobu, ječmu i algama (Laroche i Michaud, 2007). Jedinice glukoze mogu biti međusobno povezane s  $\beta$ -1,4- glikozidnom vezom,  $\beta$ -1,3-glikozidnom vezom ili  $\beta$ -1,6-glikozidnom vezom. Kemijska struktura  $\beta$ -glukana iz žitarica prikazana je na **Slici 4** (Laroche i Michaud, 2007).



**Slika 4** Kemijska struktura  $\beta$ -(1,3)-(1,4)-D-glukana

(pripremljeno prema Laroche i Michaud, 2007)

Pokazalo se da  $\beta$ -glukani imaju potencijalno pozitivno djelovanje na imunološki sustav, respiratorne bolesti, kardiovaskularne bolesti te na smanjenje kolesterola i drugo (Chen i Raymond, 2008; Kofuji i sur., 2012; Queenan i sur., 2007).

### 2.3. ADSORPCIJA

Tijekom procesa adsorpcije, molekule iz otopine (adsorbat) adsorbiraju se na površinu adsorbensa (Soto i sur., 2011). Proces adsorpcije se može odvijati kroz sljedeća četiri koraka:

1. transport adsorbata iz otopine,
2. difuzija adsorbata preko tekućeg filma koji okružuje česticu adsorbensa,
3. intračestična difuzija i
4. adsorpcija i desorpcija adsorbata sa površine adsorbensa (Plazinski i sur., 2009).

S obzirom na privlačne sile koje se stvaraju između adsorbirane čestice i adsorbensa, adsorpcija se može podijeliti:



- fizikalnu adsorpciju (van der Waalsova adsorpcija),
- kemijsku adsorpciju (kemisorpcija) i
- ionsku adsorpciju (Brdička, 1969).

Kod fizikalne adsorpcije čestice su privučene na površinu fizikalnim silama (van der Waalsovom, elektrostatskom, kapilarnom) te se svaka molekula može adsorbirati na bilo kojoj površini krutog tijela. Kod kemisorpcije, koja se zbiva na višim temperaturama, čestice su vezane uz površinu kemijskim silama koje su specifične za određene adsorbense i adsorbate.

Nakon procesa adsorpcije može se odrediti adsorpcijski kapacitet adsorbensa. Adsorpcijski kapacitet adsorbata na adsorbensu (količina adsorbata u molima adsorbirana po g adsorbensa) može se izračunati **formulom (1)**:

$$q_e = \frac{(c_o - c_e) \cdot V_m}{\gamma_a \cdot V_a} \quad (1)$$

gdje je:  $q_e$  – ravnotežni adsorpcijski kapacitet adsorbata na adsorbensu ( $\text{mol g}^{-1}$ ),

$c_o$  – početna koncentracija adsorbata u otopini ( $\text{mol l}^{-1}$ ),

$c_e$  – ravnotežna koncentracija adsorbata u otopini ( $\text{mol l}^{-1}$ ),

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

$\gamma_a$  – koncentracija adsorbensa u otopini ( $\text{g l}^{-1}$ ) i

$V_a$  – volumen adsorbensa u otopini (l).

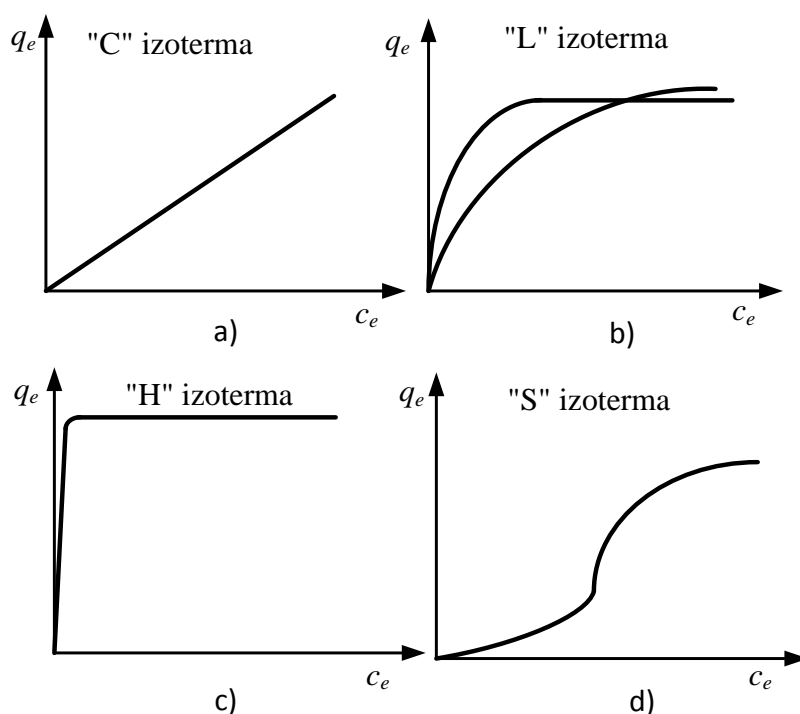
Na adsorpcijski kapacitet mogu utjecati različiti uvjeti kao što su:

- svojstva adsorbata,
- svojstva adsorbensa i
- pH, temperatura otopine u kojoj je odvija adsorpcija i drugo (Marsal i sur., 2012; Soto i sur., 2011; Wu i sur., 2011).

Nakon procesa adsorpcije, u stanju ravnoteže mogu se odrediti adsorpcijske izoterme preko kojih se može doći do informacija o samom procesu adsorpcije.

### 2.3.1. Adsorpcijske izoterme

Adsorpcijska izoterma predstavlja odnos između adsorbirane količine adsorbata na adsorbensu (adsorpcijski kapacitet  $q_e$ ) i koncentracije adsorbata koja preostaje u otopini (neadsorbirana koncentracija adsorbata u otopini  $c_e$ ) u ravnoteži, pri konstantnoj temperaturi. Upotrebom različitih nelinearnih i linearnih modela kao što su Freundlich, Langmuir, Dubinin-Radushkevich i drugi, može se preko konstanti ovih modela doći do informacija o samom procesu adsorpcije (Foo i Hameed, 2010; Limousin i sur., 2007; Soto i sur., 2011). Na **Slici 5** prikazane su najčešće izoterme za adsorpciju kruto-tekuće (Limousin i sur., 2007).



**Slika 5** Najčešće adsorpcijske izoterme za adsorpciju čvrsto-tekuće. a) „C“ izoterma; b) „L“ izoterma; c) „H“ izoterma; d) „S“ izoterma (pripremljeno prema Limousin i sur., 2007)

Kod „C“ izoterme odnos između adsorbirane količine adsorbata na adsorbensu i preostale (neadsorbirane) količine adsorbata u otopini je jednak pri bilo kojoj koncentraciji, pa ova izoterma ima oblik pravca. Kod „L“ izoterme odnos između adsorbirane količine adsorbata na adsorbensu i preostale (neadsorbirane) količine adsorbata u otopini opada kada koncentracija adsorbata u otopini raste, pa je krivulja konkavna. Dvije su vrste „L“ izoterme: ona koja pokazuje da adsorbens ima ograničen kapacitet za adsorbatom i ona koja ne pokazuje da

adsorbens ima ograničen kapacitet za adsorbatom. Kod „H“ izoterme početni nagib ove krivulje je vrlo velik. „S“ izoterma je sigmoidalna krivulja koja ima točku infleksije. Do točke infleksije, adsorbat ima nizak afinitet za adsorbensom, a nakon što se površina adsorbensa zasiti sa molekulama adsorbata, daljnja adsorpcija se odvija brže. Ova adsorpcija se naziva kooperativna adsorpcija (Limousian i sur., 2007).

### 2.3.2. Freundlichova izoterma

Freundlichova adsorpcijska izoterma opisuje neidealnu, reverznu adsorpciju na heterogenu površinu koja nije ograničena na stvaranje monosloja. Također, ona pretpostavlja da se mjesta s većom energijom na površini adsorbensa popune prva, tj. da svako mjesto na površini adsorbensa ima svoju energiju. Nelinearni oblik Freundlichove jednadžbe dan je sa **formulom 2**, a linearni oblik sa **formulom (3)**.

$$q_e = K_F c_e^{1/n} \quad (2)$$

$$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log c_e \quad (3)$$

gdje je:  $q_e$  – ravnotežni adsorpcijski kapacitet adsorbata na adsorbensu ( $\text{mol g}^{-1}$ ),

$K_F$  – konstanta relativnog adsorpcijskog kapaciteta ( $\text{mol g}^{-1}$ ) ( $\text{mol l}^{-1}$ ) $^{-1/n}$ ,

$c_e$  – ravnotežna koncentracija adsorbata u otopini ( $\text{mol l}^{-1}$ ) i

$1/n$  – konstanta intenziteta adsorpcije (Babaeiveli i sur., 2013; Foo and Hameed, 2010; Marsal i sur., 2012; Soto i sur., 2011).

Konstanta  $K_F$  ukazuje na kapacitet adsorbensa. Veća vrijednost za  $K_F$  znači veći kapacitet adsorbensa. Konstanta  $1/n$  je konstanta intenziteta, odnosno jačine adsorpcije, te veće vrijednosti za  $1/n$  znače slabiju adsorpcijsku vezu, dok manja vrijednost  $1/n$  znači jaču adsorpcijsku vezu (Foo and Hameed, 2010; Soto i sur., 2011).

Kod nelinearne jednadžbe Freundlichove izoterme, konstante  $1/n$  i  $K_F$  mogu biti dobivene s nelinearnom regresijom pomoću programa Solver u MS Excelu. Kod linearne jednadžbe Freundlichove izoterme, dijagram ovisnosti ( $\log q_e$ ) o ( $\log c_e$ ) daje nagib pravca  $1/n$  i odsječak na y-osi  $\log K_F$ .

### 2.3.3. Langmuirova izoterma

Langmuirov model predviđa monoslojnu adsorpciju na homogenoj površini te da se adsorpcija može odvijati na ograničenim mjestima. Ona predviđa da nema daljnjih interakcija i steričkih smetnji između adsorbiranih molekula (Foo and Hameed, 2010; Soto i sur., 2011).

Nelinearni oblik Langmuirove jednadžbe dan je sa **formulom (4)**, a linearni oblik sa **formulom (5)**.

$$q_e = \frac{q_m K_L c_e}{1 + K_L c_e} \quad (4)$$

$$\frac{c_e}{q_e} = \frac{1}{K_L q_m} + \frac{c_e}{q_m} \quad (5)$$

gdje je:  $q_e$  – ravnotežni adsorpcijski kapacitet adsorbata na adsorbensu ( $\text{mol g}^{-1}$ ),  
 $K_L$  – konstanta slobodne energije adsorpcije ili konstanta afiniteta ( $\text{l mol}^{-1}$ )  
 $c_e$  – ravnotežna koncentracija adsorbata u otopini ( $\text{mol l}^{-1}$ ) i  
 $q_m$  – maksimalni teorijski adsorpcijski kapacitet ( $\text{mol g}^{-1}$ ) (Babaeiveli i sur., 2013; Foo and Hameed, 2010; Marsal i sur., 2012; Soto i sur., 2011).

Kod nelinearne jednadžbe Langmuirove izoterme, konstante  $q_m$  i  $K_L$  mogu biti dobivene pomoću nelinearne regresije za koju se koristi program Solver u MS Excelu. Kod linearne jednadžbe Langmuirove izoterme, dijagram ovisnosti  $c_e/q_e$  o  $c_e$  daje pravac s nagibom  $1/q_m$  i odsječkom na y-osi  $1/K_L q_m$ .

### 2.3.4. Dubinin-Radushkevicheva izoterma

Kako bi se mogla razlikovati kemijska od fizikalne adsorpcije, može se koristiti Dubinin-Radushkevicheva izoterma (Foo and Hameed, 2010; Soto i sur., 2011).

Nelinearni oblik Dubinin-Radushkevicheve jednadžbe dan je **formulom (6)**, a linearni oblik **formulom (7)**.

$$q_e = q_s \exp(-\beta \varepsilon^2) \quad (6)$$

$$\ln q_e = \ln q_s - \beta \varepsilon^2 \quad (7)$$

gdje je:  $q_e$  – ravnotežni adsorpcijski kapacitet adsorbata na adsorbensu ( $\text{mol g}^{-1}$ ),

$q_s$  – teorijski kapacitet zasićenja ( $\text{mol g}^{-1}$ )

$\beta$  – konstanta povezana s adsorpcijskim kapacitetom ( $\text{mol}^2 \text{J}^{-2}$ ),

$\varepsilon$  – Polany potencijal ( $\text{J mol}^{-1}$ ).

Polany potencijal se može izračunati pomoću **formule (8)**:

$$\varepsilon = RT \ln \left( 1 + \frac{1}{c_e} \right) \quad (8)$$

gdje je:  $\varepsilon$  – Polany potencijal ( $\text{J mol}^{-1}$ ).

$c_e$  – ravnotežna koncentracija adsorbata u otopini ( $\text{mol l}^{-1}$ ),

$T$  – temperatura (K) i

$R$  – opća plinska konstanta ( $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ).

Kod nelinearne jednadžbe Dubinin-Radushkevicheve izoterme, konstante  $q_s$  i  $\beta$  mogu biti dobivene nelinearnom regresijom pomoću programa Solver u MS Excelu. Kod linearne jednadžbe Dubinin-Radushkevicheve izoterme, dijagram ovisnosti  $\ln q_e$  o  $\varepsilon^2$  daje pravac s nagibom  $\ln q_s$  i odsječkom na y-osi ( $-\beta$ ).

Također, da bi se razlikovala fizikalna od kemijske adsorpcije, potrebno je odrediti srednju slobodnu energiju  $E$ . Adsorpcija je fizikalna ukoliko  $E$  iznosi manje od  $8 \text{ kJ mol}^{-1}$ , a ukoliko je  $E$  veća od  $8 \text{ kJ mol}^{-1}$  adsorpcija je kemijski proces (Marsal i sur., 2012).

Srednja slobodna energija adsorpcije se može odrediti **formulom (9)**:

$$E = \frac{1}{\sqrt{2\beta}} \quad (9)$$

gdje je:  $E$  – srednja slobodna energija adsorpcije ( $\text{J mol}^{-1}$ ) i

$\beta$  – konstanta povezana s adsorpcijskim kapacitetom ( $\text{mol}^2 \text{J}^{-2}$ ) (Babaeivelni i sur., 2013; Foo i Hameed, 2010; Marsal i sur., 2012; Soto i sur., 2011).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. ZADATAK RADA

Zadatak rada bio je:

- provesti eksperimente adsorpcije između  $\beta$ -glukana i sljedećih derivata kvercetina:
  - kvercetin-3-glukozid,
  - kvercetin-3-galaktozid i
  - kvercetin-3-ramnozid,
- odrediti koncentraciju neadsorbiranih derivata kvercetina pomoću Folin-Ciocalteu metode nakon uspostavljanja adsorpcijske ravnoteže,
- eksperimentalne rezultate obraditi sljedećim nelinearnim i linearnim adsorpcijskim modelima:
  - Freundlich,
  - Langmuir,
  - Dubinin-Radushkevich,
- odrediti konstante ovih nelinearnih i linearnih modela ( $K_F$  i  $1/n$  kod Freundlicha,  $K_L$  i  $q_m$  kod Langmuira te  $q_s$  i  $\beta$  kod Dubinin-Radushkevicha),
- usporediti linearne i nelinearne modele radi utvrđivanja točnije obrade eksperimentalnih podataka,
- usporediti adsorpciju ova tri derivata kvercetina.



## 3.2. MATERIJALI I METODE

### 3.2.1. Kemikalije

U ovom istraživanju korišteni su polifenolni standardi proizvođača (Extrasynthese (Genay, France) (kvercetin-3-glukozid ( $\geq 98,5$  % HPLC), kvercetin-3-galaktozid ( $\geq 98$  % HPLC), kvercetin-3-ramnozid ( $\geq 98,5$  % HPLC)). Ostale kemikalije proizvedene su u Kemika (Zagreb, Hrvatska) (Folin-Ciocalteu reagens, natrij hidrogenfosfat dodekahidrat, natrij dihidrogenfosfat dihidrat), Gram-mol (Zagreb, Hrvatska) (natrijev karbonat), zatim u J. T. Baker (Netherlands) (metanol HPLC čistoće), te u Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) ( $\beta$ -glukan iz ječma,  $\geq 95$  % HPLC).

### 3.2.2. Priprema standarda i uzoraka

Pripremljene su stock otopine derivata kvercetina u metanolu u koncentraciji od  $900 \text{ mg l}^{-1}$  za kvercetin-3-glukozid,  $490 \text{ mg l}^{-1}$  za kvercetin-3-galaktozida, te  $985 \text{ mg l}^{-1}$  za kvercetin-3-ramnozida. Stock otopina  $\beta$ -glukana pripremljena je u koncentraciji od  $190 \text{ mg l}^{-1}$  u destiliranoj vodi. Stock otopine derivata kvercetina su razrijeđene u koncentracijama od 1, 10, 50, 100, 150, 200 i  $500 \text{ mg l}^{-1}$ . S razrijeđenim otopinama konstruirane su kalibracijske krivulje pomoću spektroskopske Folin-Ciocalteu metode. Derivati kvercetina mjereni su dva puta ( $n=2$ ).

### 3.2.3. Spektroskopska metoda za određivanje ukupnih polifenola (Folin-Ciocalteu metoda)

Ukupni polifenoli (neadsorbirani derivati kvercetina nakon adsorpcije) određeni su Folin-Ciocalteu metodom (Singleton i sur., 1999). Derivatu kvercetina nakon adsorpcije ( $20 \text{ }\mu\text{L}$ ) dodana je destilirana voda ( $1580 \text{ }\mu\text{L}$ ) i Folin-Ciocalteu reagens ( $100 \text{ }\mu\text{L}$ ). Zatim je u otopinu dodano  $300 \text{ }\mu\text{L}$  natrijevog karbonata ( $200 \text{ g l}^{-1}$ ). Uzorci su promiješani na mješalici vortex (Grant Bio, Cambridgeshire, England) i stavljeni su u inkubator na  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , 30 minuta (Memmert IN 30, Schwabach, Njemačka). Apsorbancija ( $A$ ) je mjerena na  $765 \text{ nm}$  prema slijepoj probi (umjesto derivata kvercetina sadrži destiliranu vodu) na spektrofotometru (UV 2005, Selecta, Španjolska).

### 3.2.4. Adsorpcija derivata kvercetina na $\beta$ -glukanu

Adsorpcija glikozida kvercetina provedena je na  $\beta$ -glukanu kroz 16 h na  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Modelna otopina sastojala se od glikozida kvercetina,  $\beta$ -glukana te fosfatnog pufera (ukupan volumen  $500 \text{ }\mu\text{L}$ ).

Konačne koncentracije glikozida kvercetina u modelnoj otopini iznosile su 25, 50, 75, 100 i 150 mg l<sup>-1</sup>, dok je koncentracija β-glukana iznosila 5 mg l<sup>-1</sup>. Otopine su promiješane na mješalici (Grant Bio, Cambridgeshire, England) te su stavljene na tresilicu (IKA KS 130, Staufen, Germany) na proces adsorpcije. Nakon adsorpcije od 16 h, neadsorbirani polifenoli odvojeni su od adsorbiranih pomoću polietersulfonske membrane (Sartorius, Vivaspin 500, 10 000 MWCO, 100 - 500 μL) na centrifugi (Eppendorf minispin centrifuge, Hamburg, Germany). Nakon procesa centrifugiranja, neadsorbirani polifenoli prošli su kroz membranu, te im je određena koncentracija  $c_e$  (ravnotežna koncentracija  $c_e$ ), dok su se adsorbirani polifenoli na β-glukanu zadržali na membrani. Neadsorbirani polifenoli određeni su pomoću Folin-Ciocalteu metode.

U stanju ravnoteže određene su nelinearne i linearne adsorpcijske izoterme. Freundlichova nelinearna i linearna izoterma određena je prema **formuli (2)** i **formuli (3)**, Langmuirova prema **formuli (4)** i **formuli (5)** te Dubinin-Raduschevicheva prema **formuli (6)** i **formuli (7)**. Kod Dubinin-Raduschevicheva izoterme određena je srednja slobodna energija adsorpcije preko **formule (9)**. Određen je i ravnotežni adsorpcijski kapacitet derivata kvercetina na β-glukanu **formulom (1)**.

### 3.2.5. Statistička obrada podataka

Za obradu dobivenih podataka korišten je kompjutorski program MS Excel (Microsoft Corporation, SAD). Pomoću regresijske analize dobivene su jednadžbe kalibracijskih pravca i pripadajući koeficijenti determinacije  $R^2$ . Za eksperiment adsorpcije korišteno je pet početnih koncentracija polifenola, u dvije paralele, od kojih je svaka mjerena tri puta. Eksperimentalni podaci su tada obrađeni pomoću linearnih i nelinearnih modela adsorpcijskih izotermi. Za nelinearne modele korišten je alat Solver u MS Excelu koji koristi nelinearnu regresiju te minimizira  $RMSE$  pogrešku (korijen srednje kvadratne pogreške) (**formula 10**):

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (q_{e,i} - f(c_{e,i}, a, b))^2} \quad (10)$$

gdje je:  $c_{e,i}$  – i-ta mjera vrijednosti  $c_e$ ,

$q_{e,i}$  – i-ta mjera vrijednosti  $q_e$ ,

$f(c_e, a, b)$  – nelinearna funkcija modela sa parametrima  $a$  i  $b$  koji predstavljaju konstante modela i

$n$  – broj mjerenja.

Za linearne modele korištena je regresijska analiza. Dobivene su konstante linearnih i nelinearnih modela. Slaganje podataka u modelu određeno je preko koeficijenta determinacije  $R^2$  i  $RMSE$  pogreške (**formula (11)**).

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (q_{e,m} - q_e)^2} \quad (11)$$

gdje je:  $q_{e,m}$  – ravnotežni adsorpcijski kapacitet dobiven po modelu ( $\text{mol g}^{-1}$ ),

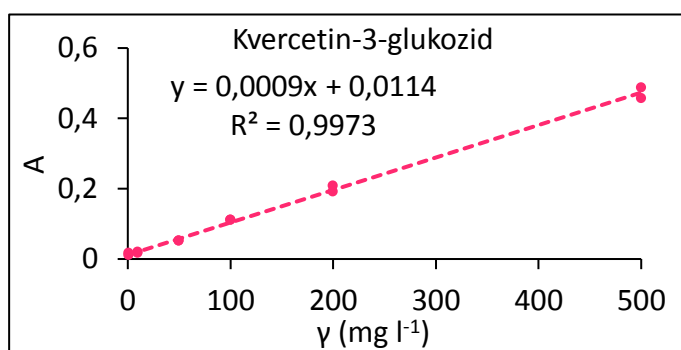
$q_e$  – ravnotežni adsorpcijski kapacitet dobiven eksperimentalno ( $\text{mol g}^{-1}$ ),

$n$  – broj mjerenja.

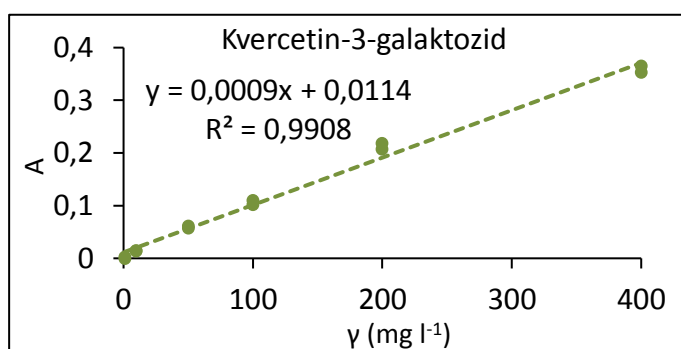
## **4. REZULTATI**

**4.1. KALIBRACIJSKE KRIVULJE DERIVATA KVERCETINA****4.2. NELINEARNI ADSORPCIJSKI MODELI ZA ADSORPCIJU DERIVATA KVERCETINA NA  $\beta$ -GLUKANU**

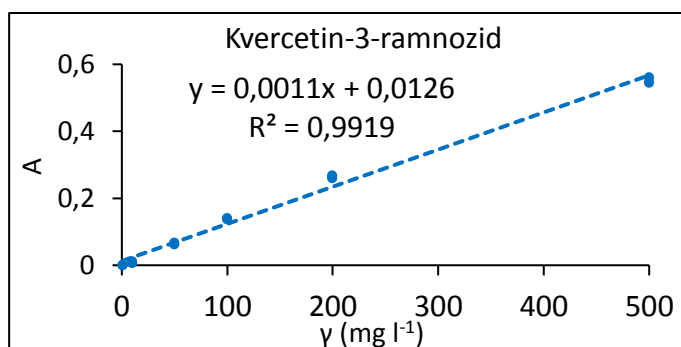
Kalibracijske krivulje derivata kvercetina dobivene s spektroskopskom metodom za određivanje ukupnih polifenola (Folin-Ciocalteu metoda) koja je opisana u poglavlju 2.3.2., a dobivenu rezultati su prikazani na **Slici 6**.



a)



b)

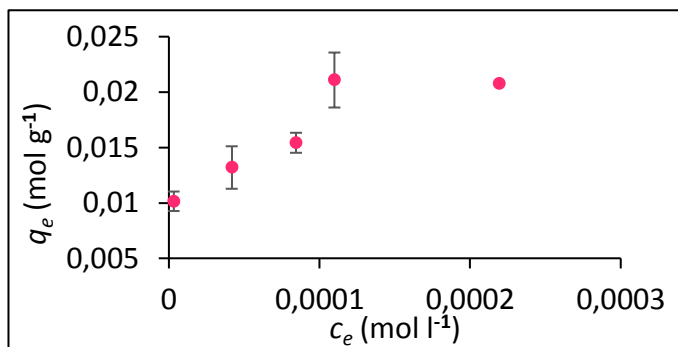


c)

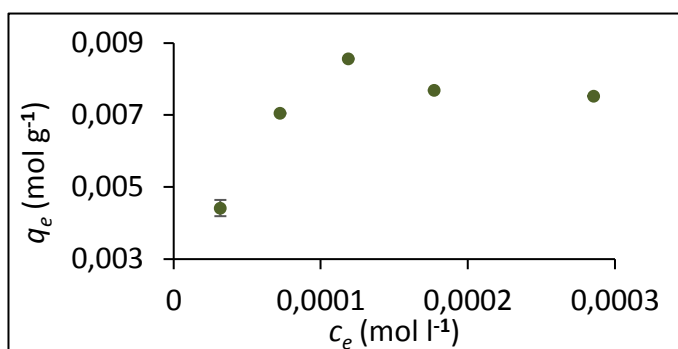
**Slika 6** Kalibracijske krivulje derivata kvercetina dobivene Folin-Ciocalteu metodom. a) kvercetin-3-glukozid; b) kvercetin-3-galaktozid; c) kvercetin-3-ramnozid (svaka koncentracija mjerena je dva puta (n=2))

### 4.2.1. Adsorpcijske ravnoteže derivata kvercetina na $\beta$ -glukanu

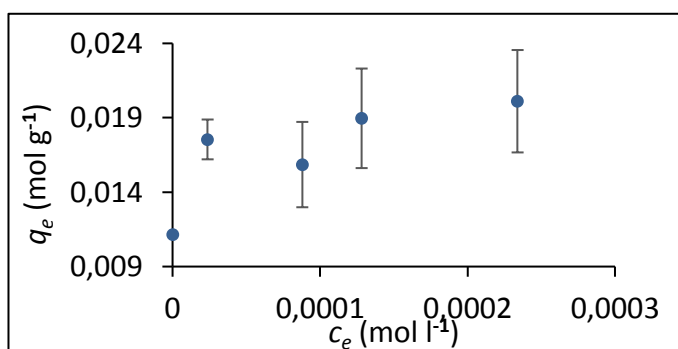
Adsorpcija derivata kvercetina na  $\beta$ -glukanu opisana je adsorpcijskim ravnotežama i nelinearnim modelima koji su opisani u poglavlju 2.3.1 – 2.3.4., a dobiveni rezultati prikazani su na **Slikama 7 i 8**, te **Tablicama 1 i 2**.



a)

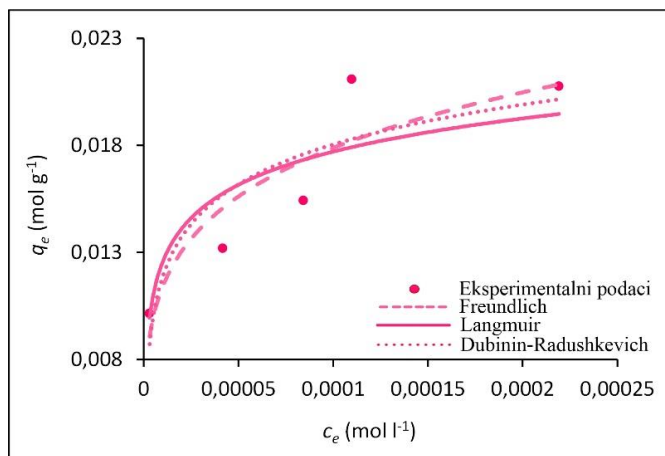


b)

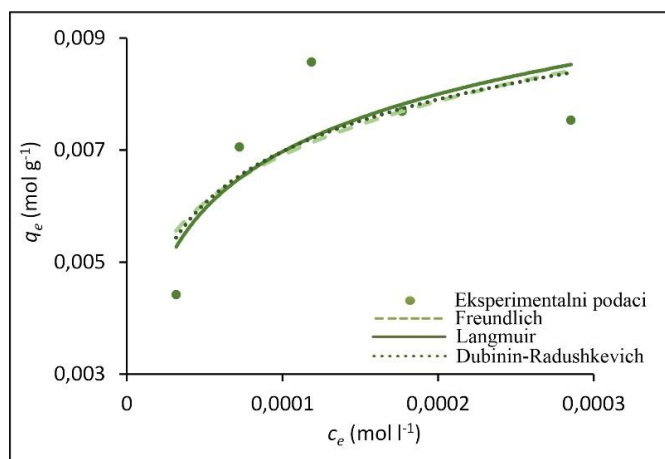


c)

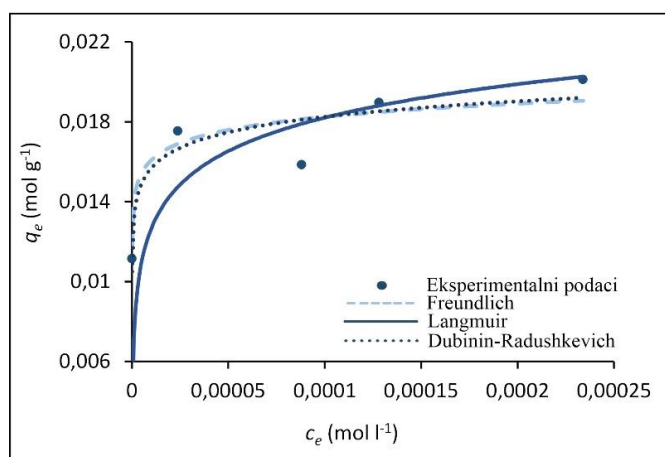
**Slika 7** Adsorpcijske ravnoteže derivata kvercetina na  $\beta$ -glukanu. a) kvercetin-3-glukozid; b) kvercetin-3-galaktozid; c) kvercetin-3-ramnozid ( $q_e$  je adsorpcijski kapacitet  $\beta$ -glukana u mol g<sup>-1</sup>;  $c_e$  je ravnotežna koncentracija derivata kvercetina u mol l<sup>-1</sup>)



a)



b)



c)

**Slika 8** Nelinearne izoterme za adsorpciju derivata kvercetina na  $\beta$ -glukanu. a) kvercetin-3-glukozid; b) kvercetin-3-galaktozid; c) kvercetin-3-ramnozid ( $q_e$  je adsorpcijski kapacitet  $\beta$ -glukana u mol  $g^{-1}$ ;  $c_e$  je ravnotežna koncentracija derivata kvercetina u mol  $l^{-1}$ )

#### 4.2.2. Konstante nelinearnih adsorpcijskih modela za adsorpciju derivata kvercetina na $\beta$ -glukanu

**Tablica 1** Konstante<sup>1</sup> nelinearnih adsorpcijskih modela Freundlicha i Langmuira za adsorpciju derivata kvercetina na  $\beta$ -glukanu

Standard	Freundlich-ov model			Langmuir-ov model		
	$1/n$ (mol g <sup>-1</sup> ) (l mol <sup>-1</sup> ) <sup>1/n</sup>	$K_F$ (mol g <sup>-1</sup> ) (l mol <sup>-1</sup> ) <sup>1/n</sup>	$RMSE/10^3$	$q_m$ (mol g <sup>-1</sup> )	$K_L$ (l mol <sup>-1</sup> )	$RMSE/10^3$
Kvercetin-3-glukozid	0,1956	0,1083	1,43	0,0184	324987,14	2,20
Kvercetin-3-galaktozid	0,1890	0,0394	0,94	0,0090	40319,70	0,69
Kvercetin-3-ramnozid	0,0633	0,0327	1,48	0,0188	426942,74	1,30

<sup>1</sup>dobivene na temelju pet koncentracija, dvije paralele od svake koncentracije, svaka koncentracija mjerena ukupno tri puta,  $RMSE$  je korijen srednje kvadratne pogreške,  $1/n$  je konstanta intenziteta adsorpcije,  $K_F$  je Freundlichova konstanta relativnog adsorpcijskog kapaciteta  $\beta$ -glukana [(mol g<sup>-1</sup>) (l mol<sup>-1</sup>)<sup>1/n</sup>],  $K_L$  je konstanta slobodne energije adsorpcije ili konstanta afiniteta (l mol<sup>-1</sup>),  $q_m$  je maksimalni teorijski adsorpcijski kapacitet prema Langmuiru (mol g<sup>-1</sup>).

**Tablica 2** Konstante<sup>1</sup> nelinearnog adsorpcijskog modela Dubinin-Radushkevicha za adsorpciju derivata kvercetina na  $\beta$ -glukanu

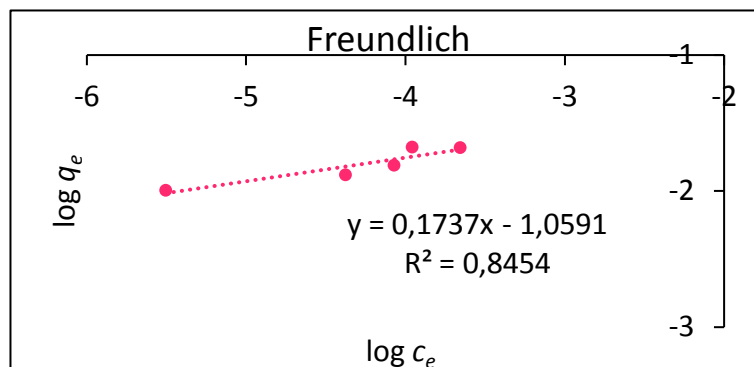
Standard	Dubinin-Radushkevich-ev model			
	$\beta$ (mol <sup>2</sup> J <sup>-2</sup> )	$q_s$ (mol g <sup>-1</sup> )	$E$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	$RMSE/10^3$
Kvercetin-3-glukozid	1,51·10 <sup>-09</sup>	0,0396	18,18	1,52
Kvercetin-3-galaktozid	1,7·10 <sup>-09</sup>	0,0170	17,15	0,91
Kvercetin-3-ramnozid	5,16·10 <sup>-10</sup>	0,0239	31,17	1,32

<sup>1</sup>dobivene na temelju pet koncentracija, dvije paralele od svake koncentracije, svaka koncentracija mjerena ukupno tri puta,  $RMSE$  je korijen srednje kvadratne pogreške,  $\beta$  je konstanta povezana s adsorpcijskim kapacitetom (mol<sup>2</sup> J<sup>-2</sup>),  $q_s$  je teorijski kapacitet zasićenja (mol g<sup>-1</sup>),  $E$  je srednja slobodna energija adsorpcije (kJ mol<sup>-1</sup>) koja ukazuje na fizikalni ili kemijski proces adsorpcije.

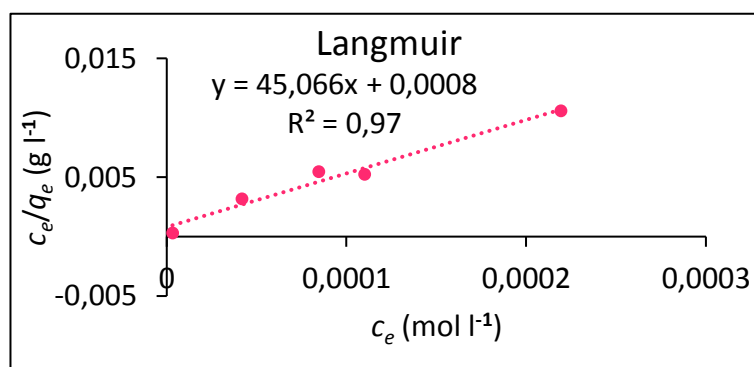


### 4.3. LINEARNI ADSORPCIJSKI MODELI ZA ADSORPCIJU DERIVATA KVERCETINA NA $\beta$ -GLUKANU

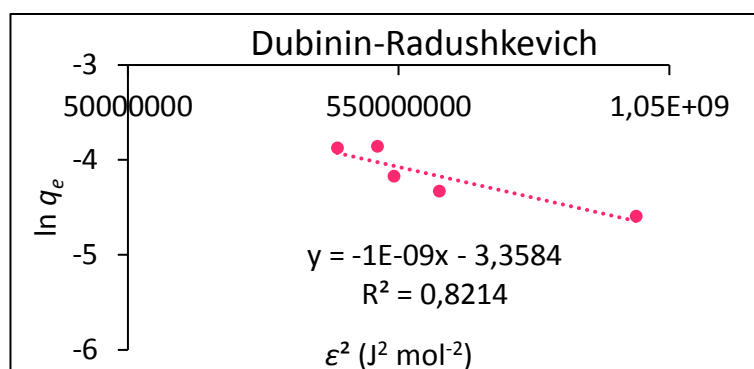
Adsorpcija derivata kvercetina na  $\beta$ -glukanu opisana je linearnim modelima koji su opisani u poglavlju 2.3.2 – 2.3.4., a dobiveni rezultati prikazani su na **Slikama 9 - 12**, te **Tablicama 3 i 4**.



a)

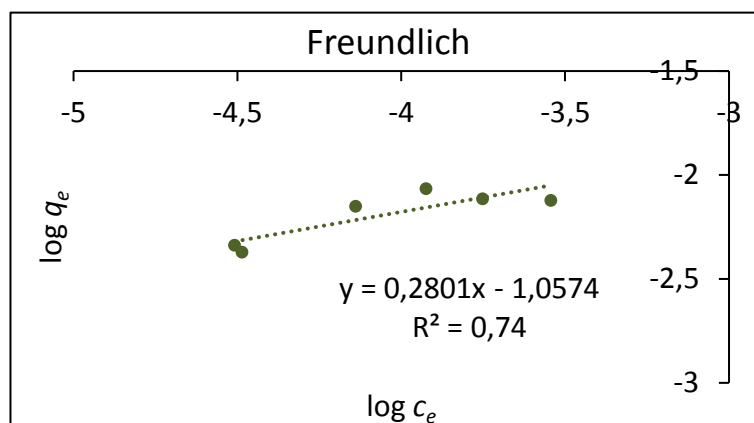


b)

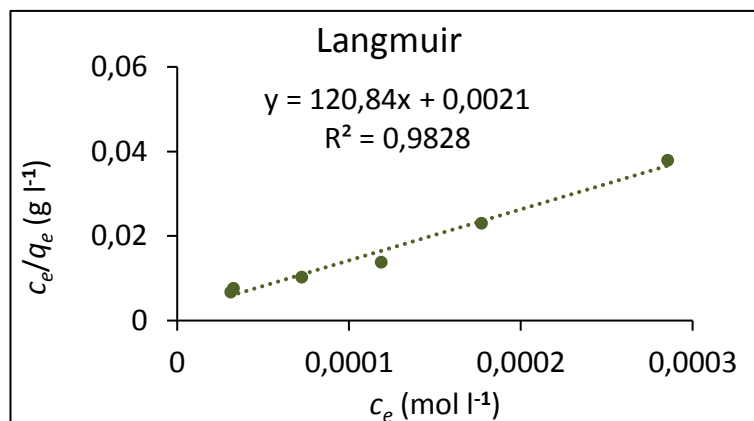


c)

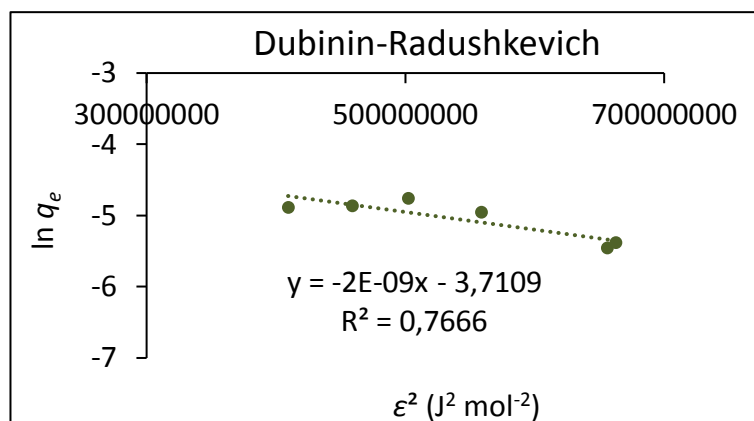
**Slika 9** Linearni adsorpcijski modeli za adsorpciju kvercetin-3-glukozida na  $\beta$ -glukan. a) Freundlichov model; b) Langmuirov model; c) Dubinin-Radushkevichev model



a)

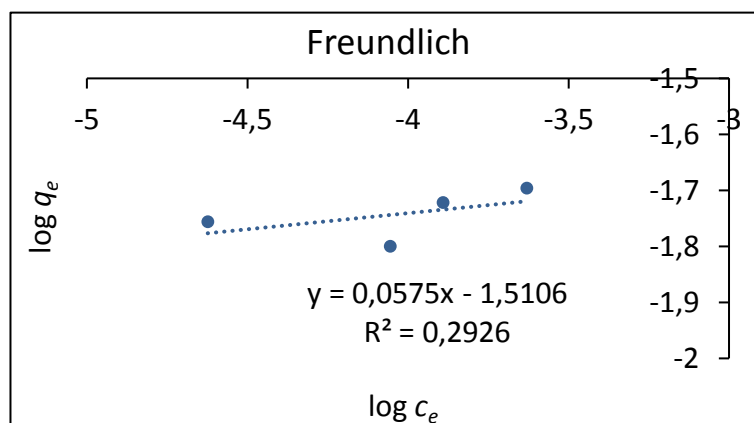


b)

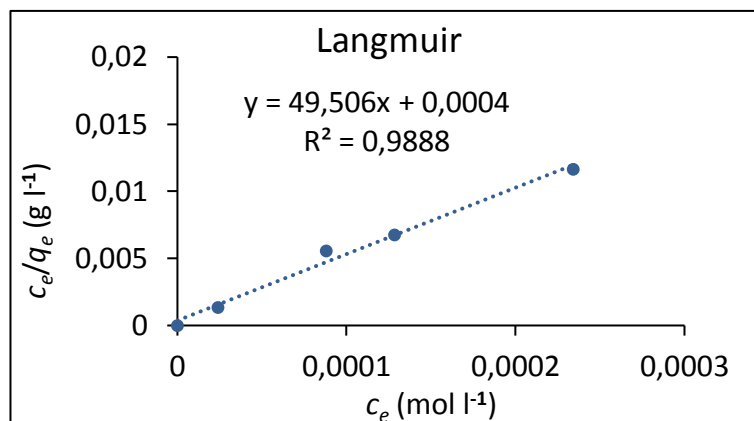


c)

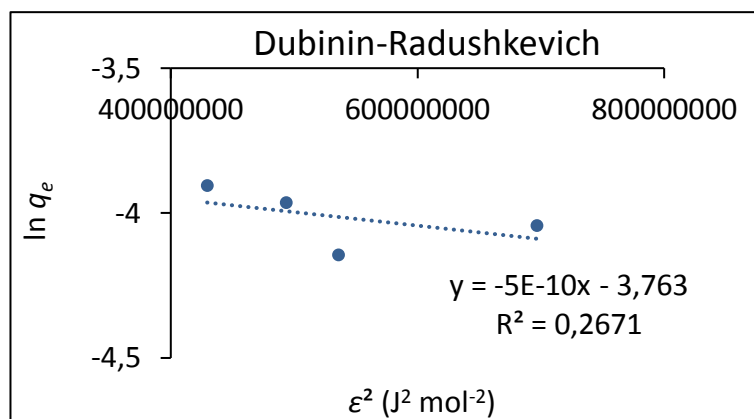
**Slika 10** Linearni adsorpcijski modeli za adsorpciju kvercetin-3-galaktozida na  $\beta$ -glukan. a) Freundlichov model; b) Langmuirov model; c) Dubinin-Radushkevichev model



a)



b)



c)

**Slika 11** Linearni adsorpcijski modeli za adsorpciju kvercetin-3-ramnozida na  $\beta$ -glukan. a) Freundlichov model; b) Langmuirov model; c) Dubinin-Radushkevichev model

### 4.3.1. Konstante linearnih adsorpcijskih modela za adsorpciju derivata kvercetina na $\beta$ -glukanu

**Tablica 3** Konstante<sup>1</sup> linearnih adsorpcijskih modela Freundlicha i Langmuira za adsorpciju derivata kvercetina na  $\beta$ -glukanu

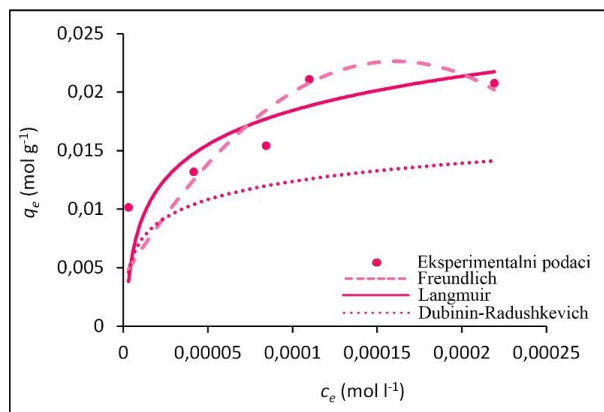
Standard	Freundlich-ov model			Langmuir-ov model		
	$1/n$ (mol g <sup>-1</sup> ) (l mol <sup>-1</sup> ) <sup>1/n</sup>	$K_F$ (l mol <sup>-1</sup> ) <sup>1/n</sup>	$RMSE/10^3$	$q_m$ (mol g <sup>-1</sup> )	$K_L$ (l mol <sup>-1</sup> )	$RMSE/10^3$
Kvercetin-3-glukozid	0,1737	0,0873	1,86	0,0222	56332,70	3,60
Kvercetin-3-galaktozid	0,2801	0,0876	1,06	0,0083	57542,90	0,76
Kvercetin-3-ramnozid	0,0575	0,0309	1,30	0,0202	123764,83	1,83

<sup>1</sup>dobivene na temelju pet koncentracija, dvije paralele od svake koncentracije, svaka koncentracija mjerena ukupno tri puta,  $RMSE$  je korijen srednje kvadratne pogreške,  $1/n$  je konstanta intenziteta adsorpcije,  $K_F$  je Freundlichova konstanta relativnog adsorpcijskog kapaciteta  $\beta$ -glukana [(mol g<sup>-1</sup>) (l mol<sup>-1</sup>)<sup>1/n</sup>],  $K_L$  je konstanta slobodne energije adsorpcije ili konstanta afiniteta (l mol<sup>-1</sup>),  $q_m$  je maksimalni teorijski adsorpcijski kapacitet prema Langmuiru (mol g<sup>-1</sup>).

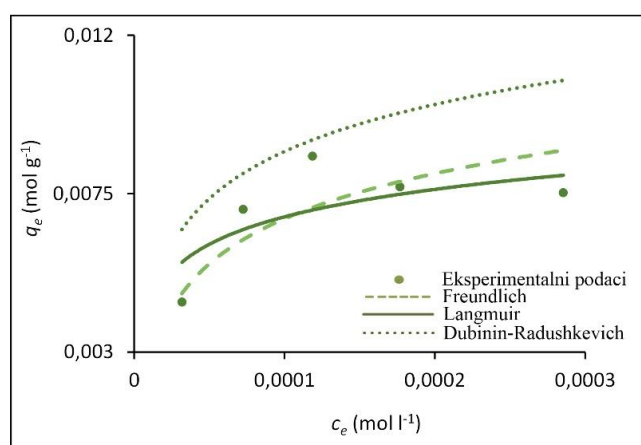
**Tablica 4** Konstante<sup>1</sup> linearnog adsorpcijskog modela Dubinin-Radushkevicha za adsorpciju derivata kvercetina na  $\beta$ -glukanu

Standard	Dubinin-Radushkevich-ev model			
	$\beta$ (mol <sup>2</sup> J <sup>-2</sup> )	$q_s$ (mol g <sup>-1</sup> )	$E$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	$RMSE/10^3$
Kvercetin-3-glukozid	1·10 <sup>-09</sup>	0,0348	22,36	3,58
Kvercetin-3-galaktozid	2·10 <sup>-09</sup>	0,0245	15,81	2,03
Kvercetin-3-ramnozid	5·10 <sup>-10</sup>	0,0232	31,62	1,37

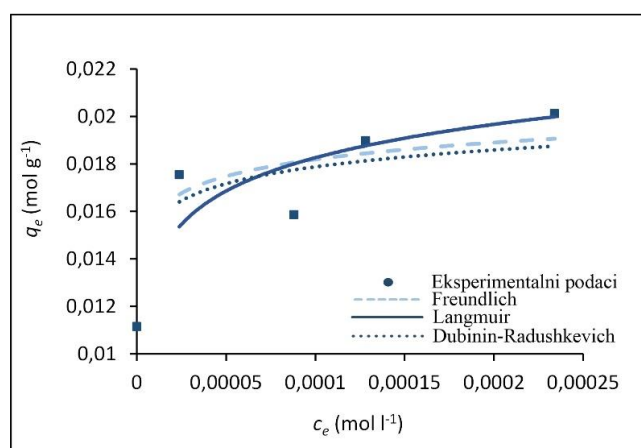
<sup>1</sup>dobivene na temelju pet koncentracija, dvije paralele od svake koncentracije, svaka koncentracija mjerena ukupno tri puta,  $RMSE$  je korijen srednje kvadratne pogreške,  $\beta$  je konstanta povezana s adsorpcijskim kapacitetom (mol<sup>2</sup> J<sup>-2</sup>),  $q_s$  je teorijski kapacitet zasićenja (mol g<sup>-1</sup>),  $E$  je srednja slobodna energija adsorpcije (kJ mol<sup>-1</sup>) koja ukazuje na fizikalni ili kemijski proces adsorpcije.



a)



b)



c)

**Slika 12** Izoterme za adsorpciju derivata kvercetina na  $\beta$ -glukanu dobivene stavljanjem u odnos  $q_e$  izračunatog iz modela te eksperimentalnih vrijednosti  $c_e$ . a) kvercetin-3-glukozid; b) kvercetin-3-galaktozid; c) kvercetin-3-ramnozid ( $q_e$  je adsorpcijski kapacitet  $\beta$ -glukana u mol g<sup>-1</sup>;  $c_e$  je ravnotežna koncentracija derivata kvercetina u mol l<sup>-1</sup>)

## **5. RASPRAVA**

Koncentracija derivata kvercetina ( $c_e$ ) u procesu adsorpcije praćena je u otopini pomoću Folin-Ciocalteu metode. Na **Slici 6** prikazane su kalibracijske krivulje derivata kvercetina te pripadajuće jednadžbe pravca i koeficijent determinacije  $R^2$ . Kalibracijski pravci derivata kvercetina su linearni u koncentracijskom području od 1 do 500 mg l<sup>-1</sup> za kvercetin-3-glukozid i kvercetin-3-ramnozid te od 1 do 400 mg l<sup>-1</sup> za kvercetin-3-galaktozid.

**Slika 7** prikazuje adsorpcijske ravnoteže derivata kvercetina na  $\beta$ -glukanu. Iz **Slike 7** je vidljivo da se povećanjem ravnotežne koncentracije derivata kvercetina  $c_e$  povećava i ravnotežni adsorpcijski kapacitet  $q_e$  do trenutka kad se uspostavi adsorpcijska ravnoteža. Prema tipu adsorpcijske izoterme, za sva tri derivata kvercetina najbolje odgovara „L“ tip izoterme prema kojoj  $\beta$ -glukan ima ograničen adsorpcijski kapacitet prema derivatima kvercetina. Kako bi se bolje analizirali dobiveni eksperimentalni podaci i opisao sam proces adsorpcije, na eksperimentalne podatke ( $c_e$  i  $g_e$ ) primijenjeni su nelinearni i linearni adsorpcijski modeli. Najčešće korišteni adsorpcijski modeli su Freundlich, Langmuir i Dubinin-Radushkevich (Marsal i sur., 2012) koji su primijenjeni i u ovom radu.

**Slika 8** prikazuje izoterme za adsorpciju derivata kvercetina na  $\beta$ -glukanu dobivene pomoću nelinearne regresije. Iz **Slike 8** je vidljivo da su dobivene krivulje modela slične. **Tablica 1 i 2** prikazuje konstante nelinearnih modela. Prema konstanti intenziteta adsorpcije  $1/n$  (**Tablica 1**), može se reći da je adsorpcija favorizirana za sva tri derivata kvercetina ( $1/n$  je manji od 1). Nadalje, konstante koje mogu biti povezane s adsorpcijskim kapacitetom  $\beta$ -glukana su Langmuirova konstanta  $q_m$  (maksimalni teorijski adsorpcijski kapacitet  $\beta$ -glukana) te Dubinin-Radushkevicheva konstanta  $q_s$  (adsorpcijski kapacitet zasićenja) (**Tablica 1 i 2**). Prema ovim konstantama, adsorpcijski kapacitet  $\beta$ -glukana bio je nešto manji za kvercetin-3-galaktozid, a veći za kvercetin-3-glukozid i kvercetin-3-ramnozid.

Eksperimentalni podaci ( $q_e$  i  $c_e$ ) obrađeni su i linearnim jednadžbama Freundlicha, Langmuira i Dubinin-Radushkevicha (**slike 9, 10 i 11**). **Tablice 3 i 4** prikazuju konstante linearnih modela. Prema konstanti intenziteta adsorpcije  $1/n$ , može se reći da je adsorpcija favorizirana za sva tri derivata kvercetina ( $1/n$  je manji od 1). Najveći teorijski adsorpcijski kapacitet  $\beta$ -glukan je pokazao za kvercetin-3-glukozid ( $q_s$  i  $q_m$ ), a nešto manji za ostala dva derivata.

Prilikom usporedbe nelinearnih i linearnih modela (**Tablica 1, 2, 3 i 4**) vidljivo je da su pogreške modela uvijek manje za nelinearne modele. Ovo može značiti da se točnije predviđanje adsorpcije dobiva analizom eksperimentalnih rezultata nelinearnim modelima.

Da bi se usporedilo koliko eksperimentalne vrijednosti adsorpcije ( $q_e$  i  $c_e$ ) odgovaraju vrijednostima koje se dobiju izračunavanjem preko modela, vrijednosti  $q_e$  izračunate su prema modelu te su stavljene u odnos s  $c_e$  vrijednostima (**Slika 12**). Krivuljama su predstavljeni ovi teorijski modeli. U slikama se također mogu vidjeti točke eksperimentalnih podataka radi usporedbe. Iz prikazanog se može vidjeti da li vrijednosti modela odgovaraju eksperimentalnim vrijednostima. Za kvercetin-3-glukozid i kvercetin-3-galaktozid Freundlichov i Langmuirov model bolje odgovaraju eksperimentalnim vrijednostima, dok Dubinin-Radushkevichev model ne odgovara. Kod kvercetin-3-ramnozida, sva tri modela slično mogu odgovarati eksperimentalnim vrijednostima. Vidljivo je da derivati kvercetina pokazuju drugačije ponašanje prilikom adsorpcije na  $\beta$ -glukan te da je prilikom interpretacije rezultata potrebno koristiti odgovarajuće modele (za kvercetin-3-glukozid i kvercetin-3-galaktozid Freundlichov i Langmuirov model, a za kvercetin-3-ramnozid Freundlichov, Langmuirov model i Dubinin-Radushkevichev model).

Prema Dubinin-Radushkevichevom modelu, može se izračunati srednja slobodna energija adsorpcije  $E$ . Prema ovim vrijednostima (**Tablica 1, 2, 3 i 4**) moguće je da je adsorpcija derivata kvercetina na  $\beta$ -glukanu kemijski proces ( $E$  je veća od  $8 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) (Marsal i sur., 2012). No, s obzirom da Dubinin-Radushkevichev model u nekim slučajevima ne opisuje dobro proces adsorpcije, moguće je da su pogreške u izračunu  $E$  velike. Zbog toga je ove rezultate potrebno interpretirati oprezno. U literaturi je nađeno da se polifenoli mogu vezati za  $\beta$ -glukan s nekovalentnim vezama kao što su vodikove veze i van der Waalsove veze te kroz hidrofobne interakcije (Gao i sur., 2012; Simonsen i sur., 2009; Veverka i sur., 2014; Wu i sur., 2011), no također je nađeno da je adsorpcija polifenola na kožne strugotine bila kemijski proces (Marsal i sur., 2012) kao i u našem istraživanju.

Općenito se može reći da adsorpcija derivata kvercetina odgovara „L“ tipu izoterme prema kojoj  $\beta$ -glukan ima ograničen adsorpcijski kapacitet prema derivatima kvercetina. Adsorpcija je favorizirana, a nešto veći teorijski adsorpcijski kapacitet  $\beta$ -glukan je pokazao za kvercetin-3-glukozidom te kvercetin-3-ramnozidom dok je manji bio za kvercetin-3-galaktozid (i prema linearnim i prema nelinearnim modelima). Nelinearni modeli općenito su pokazali manju pogrešku u usporedbi s linearnima te se može zaključiti da je za modeliranje rezultata bolje primijeniti nelinearne modele. Moguće je da kemijska struktura glikozida utječe na adsorpciju.



Pošto sve tri molekule glikozida imaju isti broj -OH skupina (**Slika 3**), ali je njihov prostorni razmještaj drugačiji, moguće je da prostorni razmještaj -OH skupina u molekuli šećera ima utjecaj na adsorpciju na  $\beta$ -glukan.

## **6. ZAKLJUČCI**

U ovom radu proveden je proces adsorpcije derivata kvercetina (kvercetin-3-glukozid, kvercetin-3-galaktozid, kvercetin-3-ramnozid) na  $\beta$ -glukanu. Na eksperimentalne podatke primijenjeni su nelinearni i linearni modeli Freundlicha, Langmuira i Dubinin-Radushkevicha. Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Derivati kvercetina adsorbirali su se na površinu  $\beta$ -glukana, a adsorpcija se najbolje može opisati „L“ tipom izoterme prema kojoj  $\beta$ -glukan ima ograničen adsorpcijski kapacitet prema derivatima kvercetina.
2. Na eksperimentalne rezultate adsorpcije derivata kvercetina na  $\beta$ -glukanu primijenjeni su nelinearni i linearni adsorpcijski modeli Freundlicha, Langmuira i Dubinin-Radushkevicha, pri čemu su nelinearni modeli pokazali bolje slaganje s eksperimentalnim rezultatima. Pri objašnjenju procesa adsorpcije bolje je koristiti nelinearne modele.
3. Interakcije između derivata kvercetina i  $\beta$ -glukana bile su favorizirane.
4. Kvercetin-3-glukozid pokazao je veći teorijski adsorpcijski kapacitet na  $\beta$ -glukanu, a nešto niži adsorpcijski kapacitet pokazao je kvercetin-3-galaktozid.
5. Moguće je da prostorni razmještaj -OH skupina na molekuli glikozida ima utjecaj na proces adsorpcije.
6. Kako bi se objasnio utjecaj strukture derivata kvercetina na adsorpcijski kapacitet  $\beta$ -glukana, potrebna su daljna istraživanja.

## **7. LITERATURA**

- Aherne SA, O'Brien NM: Dietary Flavonols: Chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition* 18: 75 – 81, 2002.
- Babaeivelni, K, Khodadoust, AP: Adsorption of fluoride onto crystalline titanium dioxide: effect of pH, ionic strength, and co-existing ions. *Journal of Colloid Interface Science* 394: 419 - 427, 2013.
- Bordenave, N, Hamaker, BR, Ferruzzi MG: Nature and consequences of non-covalent interactions between flavonoids and macronutrients in food. *Food&Function* 5: 18 - 34, 2014.
- 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, K, Conrad, EP, Baron, ED: Protective effects of tea polyphenols and caffeine. *Expert Review of Anticancer Therapy* 5: 1061 - 1068, 2005.
- Chen, J, Raymond, K: Beta-glucans in the treatment of diabetes and associated cardiovascular risk. *Vascular Health and Risk Management* 4: 1265 - 1272, 2008.
- Foo, KY, Hameed, BH: Insight into the modeling of adsorption isotherm systems. *Chemical Engineering Journal* 156: 2 - 10, 2010.
- Gao, R, Liu H, Peng, Z, Wu, Z, Wang, Y, Zhao, G: Adsorption of (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) onto oat  $\beta$ -glucan. *Food Chemistry* 132: 1936 - 1943, 2012.
- Giles, CH, Smith, Huitson, A: A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. I. Theoretical. *Journal of Colloid and Interface Science* 47: 755 - 765, 1974.
- Heim, KE, Tagliaferro, AR, Bobilya, DJ: Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry* 13:572 – 584, 2002.
- Hollman CH, P, Arts CW, I: Flavonols, flavones and flavanols – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80:108 - 1093, 2000.
- Jakobek, L: Karakterizacija polifenola u voću i njihov utjecaj na antioksidacijsku aktivnost voća. *Disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2007.
- 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.
- Kofuji, K, Aoki, A, Tsubaki, K, Konishi, M, Isobe, T, Murata, Y: Antioxidant activity of  $\beta$ -Glucan. *ISRN Pharmacology* 2012: 1 - 5, 2012.

- Laroche, C, Michaud, P: New developments and prospective applications for  $\beta$  (1,3) glucans. *Recent Patents on Biotechnology* 1: 59 - 73, 2007.
- Le Bourvellec, C, Renard, CMGC: Interactions between polyphenols and macromolecules: quantifications methods and mechanism. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 52: 213 - 248, 2012.
- Limousin, G, Gaudet, JP, Charlet, L, Szenknect, S, Barthès, V, Krimissa, M: Sorption isotherms: a review on physical bases, modeling and measurement. *Applied Geochemistry* 22: 249 - 275, 2007.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jimenez L: Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79:727 – 47, 2004.
- Marsal, A, Maldonado F, Cuadros, S, Bautista ME, Manich, AM: Adsorption isotherm, thermodynamics and kinetics studies of polyphenols onto tannery shavings. *Chemical Engineering Journal* 183: 21 - 29, 2012.
- Pandey KB, Rizvi SI: Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2: 270 - 278, 2009.
- Plazinski, W, Rudzinski, W, Plazinska, A: Theoretical models of sorption kinetics including a surface reaction mechanism: a review. *Advances in Colloid and Interface Science* 152: 2 - 13, 2009.
- Queenan, KM, Stewart, ML, Smith, KM, Thomas, W, Fulcher, RG, Slavin, JL: Concentrated oat  $\beta$ -glucan, a fermentable fiber, lowers serum cholesterol in hypercholesterolemic adults in a randomized controlled trial. *Nutritional Journal* 6: 1 - 8, 2007.
- Quirós-Sauceda AE, Palafox-Carlos H, Sáyago-Ayerdi SG, Ayala-Zavala JF, Bello-Perez LA, Álvarez-Parrilla E, de la Rosa LA, González-Córdova AF, González-Aguilar GA: Dietary fiber and phenolic compounds as functional ingredients: interaction and possible effect after ingestion. *Food Function*, 5: 1063 – 1072, 2014.
- Ringot, R, Lerzy, B, Chaplain, K, Bonhoure, JP, Auclair, E, Larondelle, Y: *In vitro* biosorption of ochratoxin A on the yeast industry by-products: comparison of isotherm models. *Bioresource Technology* 98: 1812 - 1821, 2007.
- Scalbert, A, Manach, C, Morand, C, Remesy, C: Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 45: 287 - 306, 2005.
- Simonsen, HT, Nielsen, MS, Christensen, NJ, Christensen U, La Cour, TV, Motawia, MS, Jespersen, BPM, Engelsens, SB, Moller, BL: Molecular interactions between barley and oat  $\beta$ -glucans and phenolic derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 2056 - 2064, 2009.
- Singleton LV, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM: Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology* 299: 152 - 178, 1999.

- Soto, ML, Moure, A, Domínguez, H, Parajó, JC: Recovery, concentration and purification of phenolic compounds by adsorption: a review. *Journal of Food Engineering* 105: 1 - 27, 2011.
- Veverka, M, Dubaj ,T, Gallovič, J, Jorík, V, Veverková, E, Mičušík, M, Šimon, P: Beta-glucan complexes with selected nutraceuticals: Synthesis, characterization, and stability. *Journal of Functional Foods*, 8: 309 - 318, 2014.
- 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  $\beta$ -glucan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 10737 - 10746, 2011.