

Utjecaj koncentracije alginata na adsorpciju i desorpciju prehrambene boje s alginatnih mikrokapsula

Birkić, Anamaria

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:043699>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International](#)/[Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Anamaria Birkić

7580/PT

**UTJECAJ KONCENTRACIJE ALGINATA NA ADSORPCIJU
I DESORPCIJU PREHRAMBENE BOJE S ALGINATNIH
MIKROKAPSULA**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Tehnologija prahova

Mentor: Doc. dr. sc. Maja Benković

Zagreb, 2021.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za procesno inženjerstvo
Kabinet za osnove inženjerstva

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Utjecaj koncentracije alginata na adsorpciju i desorpciju prehrambene boje s alginatnih mikrokapsula

Anamaria Birkić, 0058213025

Sažetak: Upotreba alginatnih mikrokapsula u posljednje vrijeme često se spominje kao jedan od načina uklanjanja boja iz otpadnih otapala, voda i materijala iz prehrambene industrije. Pored toga, alginat se može koristiti i kao sredstvo za mikroinkapsulaciju prehrambenih boja i njihovu daljnju primjenu u prehrambenoj industriji. Cilj ovog rada bio je utvrditi utjecaj koncentracije alginata na viskoznost otopina alginata te utjecaj koncentracije alginata na sposobnost adsorpcije i desorpcije prirodne prehrambene boje s alginatnih mikrokapsula. Prema dobivenim rezultatima, povećanjem koncentracije alginata povećava se i viskoznost alginatnih otopina. Utvrđeno je da se nakon provedenog procesa adsorpcije promjer mikrokapsula povećao, dok je nakon procesa desorpcije došlo do smanjenja promjera alginatnih mikrokapsula. Osim toga, utvrđeno je da se povećanjem koncentracije alginata povećava koncentracija boje koja se tijekom procesa adsorpcije adsorbira u mikrokapsule i koncentracija boje koja se tijekom procesa desorpcije otpušta iz mikrokapsula.

Ključne riječi: adsorpcija, desorpcija, koncentracija alginata, mikroinkapsulacija, prehrambena boja

Rad sadrži: 31 stranica, 12 slika, 2 tablice, 33 literaturna navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: doc. dr. sc. Maja Benković

Pomoć pri izradi: doc. dr. sc. Ana Jurinjak Tušek

Datum obrane: 8. srpnja 2021.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Food Technology

Department of Process Engineering
Section for Fundamental Engineering

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

Effect of alginate concentration on adsorption and desorption of food dye from alginate microcapsules

Anamaria Birkić, 0058213025

Abstract: The use of alginate microcapsules has often been mentioned recently as one of the ways to remove dyes from waste solvents, water and materials from the food industry. In addition, alginate can be used as a wall material for microencapsulation of food dyes and their further application in food industry. The aim of this study was to determine the effect of alginate concentration on the viscosity of alginate solutions and on the ability of adsorption and desorption of natural food dye from microcapsules. According to the obtained results, the viscosity of alginate solutions increases as alginate concentration increases. It was found that after the adsorption process the diameter of alginate microcapsules increased, while after the desorption the diameter of alginate microcapsules decreased. In addition, it has been found that increasing the alginate concentration increases the concentration of adsorbed dye during adsorption and the concentration of released dye during desorption.

Keywords: adsorption, alginate concentration, desorption, microencapsulation, food dye

Thesis contains: 31 pages, 12 figures, 2 tables, 33 references

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in: Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: PhD. Maja Benković, Assistant professor

Technical support and assistance: PhD. Ana Jurinjak Tušek, Assistant professor

Defence date: July 8th 2021

Sadržaj:

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. MIKROINKAPSULACIJA	2
2.1.1. Metode mikroinkapsulacije.....	3
2.1.1.1. Ekstruzija (metoda kapanja)	3
2.1.2. Prednosti mikroinkapsulacije	5
2.1.3. Područja primjene mikroinkapsulacije	6
2.2. PREHRAMBENE BOJE	7
2.2.1. Betalaini.....	7
2.2.1.1. Betalaini iz crvene cikle	8
3. EKSPERIMENTALNI DIO	10
3.1. MATERIJALI	10
3.1.1. Reagensi.....	10
3.1.2. Aparatura i pribor	10
3.2. METODE	11
3.2.1. Priprema otopine soka od cikle.....	11
3.2.2. Izrada baždarnog dijagrama	11
3.2.3. Adsorpcijski pokusi.....	12
3.2.3.1. Priprema praznih alginatnih mikrokapsula	12
3.2.3.2. Mjerenje viskoznosti pripremljenih otopina alginata	13
3.2.3.3. Adsorpcija boje na alginatne mikrokapsule.....	13
3.2.3.4. Određivanje koncentracije boje supernatanta	13
3.2.3.5. Analiza boje supernatanta	13
3.2.3.6. Određivanje boje alginatnih mikrokapsula prije i nakon procesa adsorpcije	14
3.2.4. Desorpcijski pokusi	14
3.2.4.1. Priprema alginatnih mikrokapsula koje sadrže boju	14
3.2.4.2. Mjerenje viskoznosti pripremljenih otopina boja-alginat.....	15
3.2.4.3. Desorpcija boje s alginatnih mikrokapsula	15
3.2.4.4. Određivanje koncentracije boje supernatanta	15

3.2.4.5. Analiza boje supernatanta	15
3.2.4.6. Određivanje boje alginatnih mikrokapsula prije i nakon procesa desorpcije	16
3.3. Statistička obrada eksperimentalnih podataka	16
4.REZULTATI I RASPRAVA.....	17
4.1. ADSORPCIJA	17
4.1.1. Viskoznost otopine alginata	17
4.1.2. Analiza mikrokapsula.....	18
4.1.2.1. Promjer mikrokapsula	18
4.1.2.2. Boja mikrokapsula	19
4.1.3. Analiza otopine.....	20
4.1.3.1. Dinamika promjene koncentracije boje otopine tijekom procesa adsorpcije.....	20
4.1.3.2. Dinamika ukupne promjene boje (ΔE)	22
4.2. DESORPCIJA.....	23
4.2.1. Viskoznost otopine boja-alginat.....	23
4.2.2. Analiza mikrokapsula.....	24
4.2.2.1. Promjer mikrokapsula	24
4.2.2.2. Boja mikrokapsula	25
4.2.3. Analiza otopine.....	26
4.2.3.1. Dinamika promjene koncentracije boje otopine tijekom procesa desorpcije.....	26
4.2.3.2. Dinamika ukupne promjene boje (ΔE)	27
5. ZAKLJUČCI	28
6. LITERATURA.....	29

1. UVOD

Mikroinkapsulacija se može definirati kao postupak obavljanja aktivnog sastojka unutar zaštitnog materijala čime se postiže jedan ili više željenih učinaka poput imobilizacije, zaštite ili stabilizacije, kontroliranog otpuštanja i promjene svojstava inkapsulirane tvari (Chan i sur., 2009). Postoji veliki broj različitih metoda kojima se mikroinkapsulacija može provesti. Kako bi se proizvele mikrokapsule željenih karakteristika za određenu namjenu potrebno je odabrati prikladnu metodu mikroinkapsulacije i optimirati procesne uvjete. Od velike je važnosti i pravilan odabir materijala za mikroinkapsulaciju. Iako se danas za mikroinkapsulaciju koristi veliki broj prirodnih i sintetskih polimera, potencijali novih i modificiranih materijala za izradu ovojnica i nosača još uvijek se istražuju, a razvoj novih tehnologija mikroinkapsulacije usko je povezan s razvojem novih materijala za mikroinkapsulaciju. Zahvaljujući velikom broju različitih materijala koji se mogu upotrijebiti za proizvodnju mikrokapsula te razvoju različitih tehnologija proizvodnje, mikroinkapsulacijom se danas može postići izuzetno širok spektar funkcionalnosti (Gouin, 2004). Svoju primjenu mikroinkapsulacija je pronašla u brojnim područjima, među kojima se najčešće ističu farmaceutska, prehrambena i kozmetička industrija, a daljnji napredak i razvoj novih tehnologija otvaraju nove mogućnosti procesa i nova područja primjene mikrokapsula. U posljednje vrijeme sve češće se ističe upotreba poroznih alginatnih mikrokapsula za uklanjanje različitih organskih i anorganskih onečišćenja iz otpadnih voda. Zagađenje vode predstavlja veliki ekološki problem na globalnoj razini koji uzrokuje narušavanje ekosustava te izravno i neizravno utječe na cjelokupnu biološku zajednicu. Pročišćavanje otpadnih voda od velike je važnosti kako bi se smanjio negativan utjecaj onečišćenja na održivost biosustava (Pandey i sur., 2007).

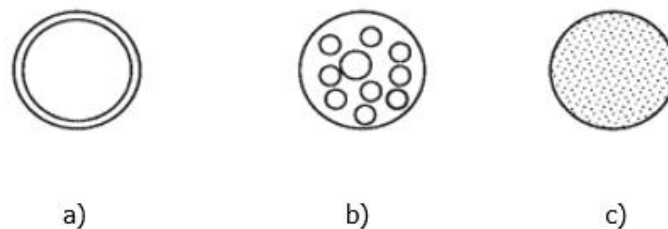
Glavni cilj ovog rada je utvrditi utjecaj različite koncentracije alginata na viskoznost alginatnih otopina te na adsorpciju i otpuštanje prehrambene boje s pripremljenih alginatnih mikrokapsula. Pripremljene alginatne otopine sadržavale su 1, 2, 3 i 4 % (w/v) alginata. Prehrambena boja korištena u ovom radu je komercijalno dostupan sok od crvene cikle koji sadrži mješavinu pigmenta iz skupine betalaina. Praćena je dinamika adsorpcije i desorpcije soka od cikle s alginatnih mikrokapsula, a nakon provedenih adsorpcijskih i desorpcijskih pokusa određene su promjene u veličini i boji mikrokapsula.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. MIKROINKAPSULACIJA

Mikroinkapsulacija je proces u kojemu se sitne krute čestice, kapljice tekućine ili plinovi okružuju inernim omotačem kojim se izoliraju od vanjskog okruženja (Ghosh, 2006). Kao rezultat procesa nastaju mikrokapsule čije su dimenzije obično u raponu od nekoliko mikrometara do nekoliko milimetara. Dva osnovna dijela mikrokapsula čine jezgra u kojoj se nalazi punjenje, koje se ponekad naziva supstratom ili aktivnom tvari te omotač, koji se još naziva ljuskom, nosačem ili membranom. Punjenje mikrokapsula najčešće čine kapljice tekućine ili praškaste krute tvari koje mogu biti i mješavine nekoliko aktivnih sastojaka i različitih pomoćnih tvari (Venkatesan i sur., 2009). Lijekovi, stanice mikroorganizama i bioaktivne tvari samo su neki od primjera tvari koje mogu činiti mikroinkapsulirani sastojak jezgre. Ispravan odabir materijala za tvorbu ovojnice ili nosača mikrokapsule vrlo je važan jer utječe na cjelokupnu učinkovitost procesa i stabilnost proizvedenih mikrokapsula (Corrêa-Filho i sur., 2019). Idealan materijal za mikroinkapsulaciju treba pružati maksimalnu zaštitu sadržaja jezgre od nepovoljnih uvjeta okoline, imati visoku sposobnost zadržavanja jezgre unutar kapsule te biti kemijski inertan kako ne bi došlo do nepoželjnih reakcija s aktivnom tvari jezgre. U slučaju da su mikrokapsule namijenjene za upotrebu u hrani, materijal za tvorbu ovojnice ili nosača trebao bi biti i prihvatljivog okusa. Osim toga, važan parametar pri odabiru materijala za mikroinkapsulaciju je i ekonomska isplativost (Silva i sur., 2014). Budući da niti jedan materijal za oblaganje ne može ispuniti sve navedene kriterije, u praksi se najčešće koristi kombinacija dvaju ili više materijala te se provode različite kemijske modifikacije postojećih materijala, čime se postižu bolja fizička i mehanička svojstva materijala (Desai i Park, 2005). Materijali koji se najčešće koriste su prirodni ili sintetski polimeri kao što su proteini, ugljikohidrati i gume, a upotrijebiti se mogu i lipidi, voskovi te različite anorganske tvari. Jedan od najčešće upotrebljavanih polimera je alginat, kojeg odlikuju biokompatibilnost i dobra sposobnost geliranja (Zhang i sur., 2007). Široki spektar mogućnosti sastava jezgre i odabira materijala za izradu ovojnice mikrokapsula omogućuje fleksibilnost i široku primjenjivost procesa mikroinkapsulacije te omogućuje proizvodnju različitih mikrokapsula željenih svojstava. Izgled i oblik mikrokapsula razlikuju se ovisno o svojstvima aktivne tvari i materijala od kojeg je napravljen omotač te ovisno o primijenjenoj tehnici mikroinkapsulacije (Corrêa-Filho i sur., 2019). Mikrokapsule mogu biti pravilnog (sferičnog) ili nepravilnog oblika, a prema morfologiji se obično razlikuju mononuklearni, polinuklearni i matični oblik mikrokapsula (Slika 1). Mononuklearne mikrokapsule sadrže jednu jezgru oko koje je obavijena ovojnica, dok polinuklearne mikrokapsule imaju više jezgri zatvorenih unutar jedne ovojnice. Kod matičnog

oblika ovojnice se u punom smislu riječi ne pojavljuje, već je materijal jezgre homogeno raspoređen unutar cijele strukture mikrokapsule. Uz navedene osnovne oblike, mikrokapsule mogu sadržavati i više ovojnica oko jedne jezgre ili tvoriti nakupine mikrokapsula (Ghosh, 2006).



Slika 1. Osnovni oblici mikrokapsula: a) mononuklearni, b) polinuklearni i c) matični oblik (Ghosh, 2006)

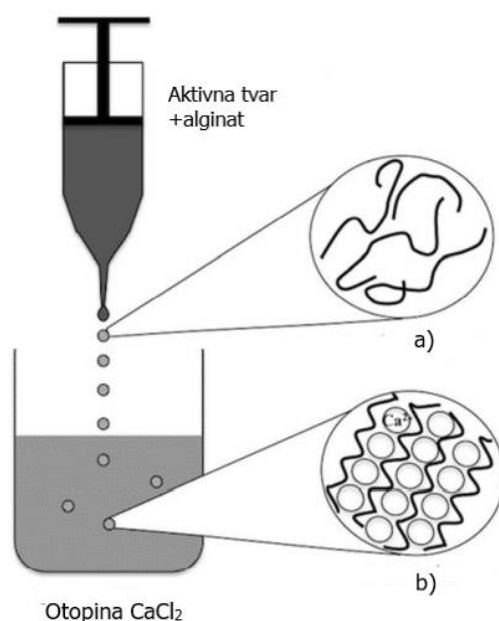
2.1.1. Metode mikroinkapsulacije

Mikroinkapsulacija aktivnog sastojka unutar zaštitne ovojnice može se provesti primjenom velikog broja različitih metoda. Izbor najprikladnije metode ovisi o vrsti i svojstvima aktivnog sastojka koji se mikroinkapsulira, svojstvima materijala koji se koristi za mikroinkapsulaciju, veličini potrebnih čestica, konačnoj namjeni mikrokapsula te opsegu i troškovima proizvodnog procesa. Neke od metoda mikroinkapsulacije su primjerice sušenje raspršivanjem, ekstruzija, polimerizacija, oblaganje u fluidiziranom sloju, koacervacija i liofilizacija. U prehrambenoj i farmaceutskoj industriji često se koristi sušenje raspršivanjem jer se uz niske proizvodne troškove dobivaju čestice visoke kvalitete te se postiže visoka učinkovitost procesa mikroinkapsulacije. Osim toga moguća je prilagodba procesa industrijskim razmjerima proizvodnje (Peanparkdee i sur., 2016). Glavni nedostatak ove metode je ograničena upotreba metode za inkapsulaciju tvari osjetljivih na povišene temperature, kao što su pigmenti, mikroorganizmi i esencijalna ulja, kod kojih pri visokim temperaturama koje se koriste u procesu dolazi do isparavanja i/ili degradacije. Osim toga, nedostatak ove metode je i proizvodnja mikrokapsula neujednačene veličine (Silva i sur., 2014). Važno je istaknuti da je mikroinkapsulacija relativno novo znanstveno područje koje je široko otvoreno za inovacije uz upotrebu novih materijala i novih tehnologija i da se potencijali novijih metoda mikroinkapsulacije još uvijek istražuju.

2.1.1.1. Ekstruzija (metoda kapanja)

Iako predstavlja jednu od najstarijih i najjednostavnijih metoda mikroinkapsulacije, ekstruzija se vrlo često koristi za proizvodnju mikrokapsula. Ekstruzija korištena u ovom kontekstu nije isto što i ekstruzija koja se u prehrambenoj industriji koristi za kuhanje i teksturiranje proizvoda

na bazi žitarica. Proizvodnja mikrokapsula ovom metodom uključuje ugradnju aktivne tvari u otopinu ugljikohidratnog polimera nakon čega se dobivena smjesa pod visokim tlakom istiskuje kap po kap u otopinu za stvrdnjavanje (Desai i Park, 2005). Upravo iz tog razloga ekstruzija se još naziva i metodom kapanja. Materijal za oblaganje koji se najčešće koristi u ovoj metodi je natrijev alginat. Alginati su ravnolančani, binarni kopolimeri sastavljeni od monomernih jedinica β -D-manuronske kiseline i α -L-guluronske kiseline koje su međusobno povezane 1,4-glikozidnom vezom. Sastav alginata (omjeri dviju uronskih kiselina i raspored njihovih sekvencija) razlikuje se ovisno o izvoru alginata. Alginati se u prirodi najčešće pronalaze u staničnoj stijenci smeđih algi (*Phaeophyceae*). Iako postoje i bakterije koje ga mogu sintetizirati, trenutno je sav komercijalno dostupan alginat proizveden isključivo ekstrakcijom iz biomase smeđih algi (Pereira i Cotas, 2020). Shematski prikaz ove metode nalazi se na slici 2. Kako bi se oblikovale mikrokapsule, smjesa aktivne tvari i natrijevog alginata istiskuje se najčešće kroz špricu s iglom u prihvatnu otopinu. Otopina za skrućivanje koja se najčešće koristi je otopina kalcijeva klorida (CaCl_2), koja sadrži Ca^{2+} ione. U dodiru s dvovalentnim kationima dolazi do umrežavanja alginata i stvaranja gela (Liu i sur., 2020). Kapljice istisnute smjese u kontaktu s otopinom kalcijeva klorida u trenutku se pretvaraju u sferične kuglice uz inkapsulaciju aktivne tvari u trodimenzionalnu rešetku ionski umreženog alginata (Krasaekoopt i sur., 2003).



Slika 2. Shematski prikaz pripreme alginatnih mikrokapsula metodom kapanja u prihvatnu otopinu kalcijeva klorida, uz prikaz a) kapljice neumreženog alginata i b) alginata umreženog Ca^{2+} ionima u proizvedenoj mikrokapsuli (Ching i sur., 2017)

Kada otopina alginata izađe iz otvora šprice, stvara se kapljica na vrhu igle koja raste sve dok se ne odvoji od vrha igle i padne u gelirajuću otopinu. Tijekom slobodnog pada kapljice, zbog površinske napetosti otopine alginata, formira se sferična kapljica koja se u dodiru s otopinom za stvrdnjavanje pretvara u alginatnu kuglicu sferičnog oblika. (Ching i sur., 2017) Iako se ova metoda koristi već dugi niz godina, oblikovanje mikrokapsula željene veličine i oblika često zahtijeva prethodna eksperimentalna ispitivanja optimalnih svojstava alginatne otopine za ekstruziju, kao i tehničke izvedbe procesa pripreme mikrokapsula. Veličina i morfologija čestica mogu se razlikovati ovisno o viskoznosti alginatne otopine, promjeru otvora igle, brzini protoka otopine te udaljenosti šprice iz koje se istiskuje otopina alginata od prihvatne otopine (Chan i sur., 2009). Glavne prednosti metode ekstruzije su jednostavnost, niski troškovi i blagi uvjeti proizvodnje, što ovu metodu čini pogodnom za mikroinkapsulaciju različitih supstrata. Neki od nedostataka ove tehnologije su formiranje mikrokapsula prilično velikih dimenzija (obično 1-3 mm), koje ograničavaju njihovu primjenu te zahtjevna prilagodba metode industrijskim razmjerima proizvodnje (Rathore i sur., 2013; Liu i sur., 2020). Kako bi se prevladali nedostaci jednostavne metode ekstruzije kapanjem, razvijeno je i nekoliko modificiranih metoda ekstruzije kojima je moguće proizvesti čestice manjih dimenzija u većim količinama, a koje uključuju oblikovanje polimernih kuglica raspršivanjem mlaza pomoću rotirajućeg diska, atomizatora i slično (Ching i sur., 2017).

2.1.2. Prednosti mikroinkapsulacije

Jedna od temeljnih zadaća procesa mikroinkapsulacije je zaštita aktivne tvari unutar jezgre mikrokapsule od nepovoljnih okolišnih uvjeta kako bi se osigurala ispravnost aktivne tvari do trenutka kada se treba otpustiti (Liu i sur., 2020). Mikroinkapsulacijom osjetljivih spojeva povećava se njihova stabilnost tijekom izlaganja povišenoj temperaturi, vlazi, svjetlosti i kisiku, dok se kod lako hlapivih tvari mikroinkapsulacijom smanjuje njihovo isparavanje i razgradnja. Mikroinkapsulacijom se mogu prikriti nepoželjni izgled, mirisi i okusi tvari, poput gorkog okusa i trpkosti polifenola i drugih spojeva s visokom antioksidacijskom aktivnošću. Osim što stabilizira sastojke hrane, mikroinkapsulacija povećava i njihovu bioraspoloživost (Nedović i sur., 2011). Glavni mehanizmi otpuštanja aktivne tvari iz mikrokapsula su lom omotača pod utjecajem vanjske sile, razgradnja i otapanje omotača te difuzija kroz omotač pri određenim vanjskim uvjetima kao što su povišena temperatura ili prisutnost otapala (Venkatesan i sur., 2009). U posljednje vrijeme u prehrambenoj industriji sve veća pažnja pridaje se mogućnostima kontroliranog otpuštanja inkapsuliranog sastojka. Kontrolirano otpuštanje sastojaka može poboljšati učinkovitost različitih aditiva u hrani, proširiti opseg primjene nekih sastojaka hrane i osigurati njihovo optimalno doziranje (Gouin, 2004). Tako se primjerice kontroliranim otpuštanjem funkcionalnih sastojaka hrane omogućuje njihovo usmjeravanje u

određene dijelove probavnog trakta kako bi povoljno utjecali na željene funkcije u organizmu čovjeka (Sanguansri i Augustin, 2010). Nadalje, upotreba mikroinkapsuliranih mikrobnih stanica u različitim procesima povoljnija je u odnosu na upotrebu slobodnih stanica. Neke od prednosti upotrebe imobiliziranih stanica su smanjeni rizik od mikrobiološke kontaminacije, lako izdvajanje stanica od krajnjeg proizvoda, veća produktivnost procesa radi postignutih visokih koncentracija stanica, zaštita stanica od nepovoljnih uvjeta, mogućnost ponovne upotrebe imobiliziranih stanice te kontrola kvalitete konačnog proizvoda (Nedović i sur., 2011; Rathore i sur., 2013). Mikroinkapsulacija tekućih sastojaka može olakšati ili poboljšati rukovanje sastojcima tijekom proizvodnog procesa. Pretvorba tekućeg sastojka u prah nudi značajnu praktičnost, budući da je praškasti sastojak puno lakše dodati smjesi, dozirati i čuvati u usporedbi s tekućom verzijom istog sastojka. Mikroinkapsulacija može pomoći u ravnomjernijem miješanju sastojaka smjese. Kao primjer se može navesti miješanje bioaktivnih sastojaka u hranu koji se obično dodaju u vrlo koncentriranom obliku i u vrlo malim količinama. Dodatak nekoliko miligrama ili grama bioaktivnog sastojka na veliku količinu proizvoda mogu dovesti do neravnomjerne raspodjele tvari unutar konačnog proizvoda. Korištenje mikroinkapsuliranih bioaktivnih sastojaka omogućuje homogenije miješanje jer se postiže veća količina mikroinkapsuliranog sastojka nižih koncentracija (Sanguansri i Augustin, 2010).

2.1.3. Područja primjene mikroinkapsulacije

Svoju primjenu proces mikroinkapsulacije danas pronalazi u različitim područjima, a daljnja primjena i mogućnosti procesa još uvijek se istražuju. Najčešće se ističe upotreba mikrokapsula u farmaceutskoj, kozmetičkoj, prehrambenoj te kemijskoj i tekstilnoj industriji. Posebno se ističe primjena u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji, budući da se mikroinkapsulacijom može povećati topljivost, poboljšati stabilnost te postići svojstva kontroliranog otpuštanja spojeva kao što su antioksidansi, esencijalna ulja, enzimi i lijekovi (Peanparkdee i sur., 2016). Farmaceutska industrija bila je uključena u razvoj tehnologija mikroinkapsulacije već oko 1930. godine, kada su se želatinske ovojnice počele upotrebljavati za mikroinkapsulaciju lijekova (Jackson i Lee, 1991). U prehrambenoj industriji mikroinkapsuliraju se različiti sastojci hrane i aditivi kao što su aminokiseline, bojila, antioksidansi, enzimi, mikroorganizmi, arome, masti i ulja, vitamini i minerali, soli, zaslađivači i slično. Rastući interes prehrambenih tehnologa prema iskorištavanju potencijala mikrokapsulacije pokazuje eksponencijalni porast broja publikacija (znanstvenih članaka i patenata) objavljenih od sredine 1950-ih, kada je započela značajnija upotreba procesa mikroinkapsulacije u industriji (Gouin, 2004). Mikrokapsule su svoju primjenu pronašle i u području zaštite okoliša jer se mogu koristiti kao adsorbensi za uklanjanje različitih nečistoća iz otpadnih voda. Onečišćenje voda različitim kontaminantima poput iona teških metala, boja i drugih toksičnih molekula predstavlja jedan od ozbiljnijih ekoloških problema

današnjice. Poznato je da biopolimeri poput natrijevog alginata imaju sposobnost vezanja različitih iona, stoga se aktivno istražuje njihov potencijal u procesima adsorpcije različitih iona metala (Pandey i sur., 2007). Mikrobiološke kulture imobilizirane u kuglicama kalcijevog alginata koriste se za biološko uklanjanje boja. Uz to, inkapsulacijom različitih adsorbensa poput aktivnog ugljika u alginatne mikrokapsule može se poboljšati učinkovitost procesa adsorpcije i uklanjanja boje iz zagađene vode (Aravindhani i sur., 2007). Primjena netoksičnih, učinkovitih i uglavnom jeftinih biopolimera predstavlja vrlo konkurentan način pročišćavanja otpadnih voda u usporedbi s drugim metodama.

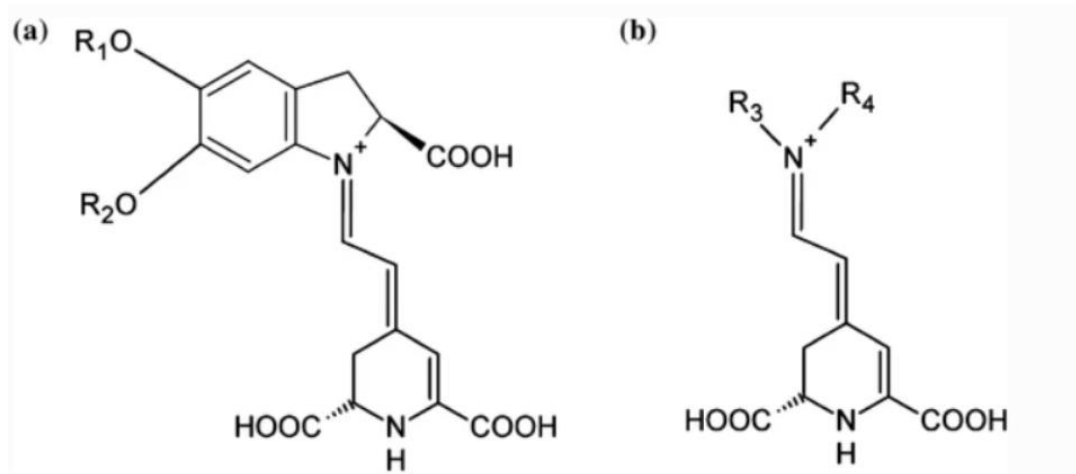
2.2. PREHRAMBENE BOJE

Budući da boja predstavlja važan parametar kvalitete hrane, prehrambene boje često se dodaju pri proizvodnji različite hrane i pića kako bi se postigao bolji izgled konačnog proizvoda. Boja hrane ili pića igra veliku ulogu u uspjehu proizvoda na tržištu jer osim što proizvod čini izgledom privlačnijim može utjecati i na to kako potrošači doživljavaju okus proizvoda (Fernández-López i sur., 2018). U prehrambenoj industriji koriste se različite prirodne i sintetske boje, uz rastući interes potrošača prema upotrebi prirodno proizvedenih boja. Takav trend usko je povezan sa percepcijom sintetskih boja kao štetnih, dok se pigmenti koji se prirodno pojavljuju u jestivim biljkama obično smatraju neškodljivima (Gliszczyńska-Świąto i sur., 2006). Uz to, postoje dokazi o zdravstvenim rizicima povezanim s konzumacijom određenih umjetnih boja. Neke zemlje, s ciljem povećanja sigurnosti potrošača, pokušale su regulirati upotrebu nekih umjetnih boja u hrani ograničavanjem ili zabranom njihove upotrebe te uvođenjem obaveznog označavanja prisutnosti određenih bojila na deklaraciji proizvoda (Ribeiro i Veloso, 2021). Za razliku od sintetskih boja, prirodni ekstrakti boja mogu sadržavati i druge bioaktivne sastojke koji mogu poboljšati funkcionalnu vrijednost konačnog proizvoda (Fernández-López i sur., 2018). Međutim, glavni nedostaci prirodnih boja su viša cijena proizvodnje te manja stabilnost pri skladištenju i obradi u usporedbi s umjetnim bojama (Antigo i sur., 2018). Među poznatim prirodnim pigmentima koji se mogu koristiti kao prehrambena bojila ističu se karotenoidi kao alternativa za upotrebu žutih i narančastih boja, betalaini i antocijani za zamjenu crvene, žute i ljubičaste boje, klorofili za zamjenu zelene boje te genipin i fikocijanin, koji se mogu koristiti kao zamjene za plavu boju (Ribeiro i Veloso, 2021).

2.2.1. Betalaini

Betalaini su skupina biljnih pigmenata koji uključuju crveno-ljubičaste betacijanine (npr. betanini) i žuto-narančaste betaksantine (npr. indikasantini). Osnovna struktura betacijanina i betaksantina prikazana je na slici 3. Betacijanini su kondenzati betalaminske kiseline s 3,4-dihidroksifenilalaninom (ciklo-DOPA) i njegovim derivatima, dok su betaksantini kondenzati

betalaminske kiseline s različitim amino spojevima (Stintzing i Carle, 2004). Strukturne razlike odražavaju se u različitom izgledu dviju podskupina betalaina. Različiti supstituenti na osnovnoj strukturi rezultiraju različitim tonovima crvene i ljubičaste boje betacijanina, a žute tonove boje betaksantina određuju različiti pobočni ogranci aminokiselina i amina (Ribeiro i Veloso, 2021). Betalaini učinkovito uklanjaju slobodne radikale i posjeduju visoku antioksidativnu aktivnost. Zbog prethodno navedenih svojstava, betalaini se smatraju bioaktivnim pigmentima (Fernández-López i sur., 2018).



Slika 3. Osnovna struktura a) betacijanina i b) betaksantina.

R₁ i R₂: vodik, acilni ili šećerni supstituenti; R₃: amin ili aminokiselinska skupina; R₄: obično vodik (Stintzing i Carle, 2004)

2.2.1.1. Betalaini iz crvene cikle

Crvena cikla (*Beta vulgaris* L.) korjenasto je povrće bogato fenolnim spojevima koje se konzumira u mnogim zemljama. Budući da je korijen crvene cikle bogat izvor pigmenata, cikla se može koristiti i za proizvodnju prirodne boje (Antigo i sur., 2018). Crvena boja „Beetroot-red“ prirodna je boja koja se dobiva ekstrakcijom iz korijena crvene cikle. Odobrena je kao dodatak hrani u Europskoj uniji (EU) i označava se brojem E 162. Koristi se u raznim prerađenim namirnicama, posebno u sladoledima i smrznutim desertima jer doprinosi izraženoj boji bez utjecaja na okus konačnog proizvoda (Gliszczyńska-Świgło i sur., 2006). Sadrži niz različitih pigmenata koji pripadaju skupini pigmenata betalaina. Osim toga, crvena boja dobivena ekstrakcijom iz cikle može sadržavati i razgradne produkte betalaina (svijetlosmeđe boje) te šećere, soli i/ili proteine koji su prirodno prisutni u crvenoj cikli (EFSA Panel, 2015). Korijen crvene cikle sadrži visoku koncentraciju betanina (300-600 mg/kg) i niže koncentracije izobetanina, betanidina i betaksantina. Među betaksantinima, u crvenoj cikli najviše su

zastupljeni vulgaksantini (Gliszczyńska-Świgło i sur., 2006). Prirodno bojilo na tržištu se može naći u obliku različitih proizvoda od cikle, od prešanih sokova ili vodenih ekstrakata usitnjenog korijenja do koncentriranijih i pročišćenijih oblika kao što su paste ili prah. U dostupnoj literaturi nema informacija o primijećenoj netoleranciji ili alergijskim reakcijama povezanim sa konzumacijom boje dobivene iz crvene cikle (EFSA Panel, 2015). Osim toga, dokazano je da betalaini pokazuju protuupalno, antifungalno i antikancerogeno djelovanje (Stintzing & Carle, 2004). Iz toga proizlazi da konzumacija proizvoda bogatih betalainima kao što su sok i drugi proizvodi od crvene cikle te konzumacija hrane obojene betalainima, kao sigurnim prirodnim bojilima, može imati pozitivan utjecaj na zdravlje potrošača.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Reagensi

U eksperimentalnom dijelu ovoga rada kao prirodno prehrambeno bojilo korišten je komercijalno dostupan sok od cikle proizvođača dm-drogerie markt GmbH + Co. KG (Karlsruhe, Njemačka) te slijedeći reagensi:

- Natrijev alginat (Fisher Scientific, Loughborough, Ujedinjeno Kraljevstvo)
- Kalcijev klorid bezvodni (CaCl_2) (Gram-Mol d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
- Destilirana voda

3.1.2. Aparatura i pribor

Aparatura:

- Analitička vaga (Sartorius TE214S, Göttingen, Njemačka)
- Magnetna miješalica (SB 162-3, Stuart, Staffordshire, Velika Britanija)
- Centrifuga (Hettich, Kirchleingern, Njemačka)
- Kolorimetar (PCE-CSM 3, PCE Instruments, Njemačka)
- Štapni mikser (Superior XB955F, Guangdong Xinbao Electric, Foshan, China)
- Viskozimetar (ViscoQC 300-L, Anton Paar, Graz, Austrija)
- Vorteks (Biosan V-1 plus, Riga, Latvija)
- Uljna kupelj (IKA HBR 4 digital, IKA-Werk, Staufen, Njemačka)
- UV-VIS spektrofotometar (Biochrom Libra S11, Cambridge, Engleska)
- Set za vakuum filtraciju Rocker 300-LF30 (Rocker, New Taipei City, Tajvan)

Pribor:

- Plastične epruvete, 2 mL
- Okrugla tikvica s ravnim dnom, 1000 mL
- Staklene pipete volumena 20 i 100 mL
- Mikropipete volumena 100 μL i 1 mL
- Plastične kivete
- Plastična boca, 6 L
- Plastična posudica s ravnim dnom
- Odmjerne tikvice
- Laboratorijske čaše
- Menzure
- Stakleni lijevak

- Stakleni štapić
- Metalne žličice
- Filter papir
- Šprice s iglom
- Cjedilo
- Štoperica
- Pomična mjerka

3.2. METODE

3.2.1. Priprema otopine soka od cikle

Prije provođenja adsorpcijskih i desorpcijskih pokusa potrebno je pripremiti otopinu crvene boje (sok od cikle) u destiliranoj vodi. Otopina se priprema tako da se sok cikle razrjeđuje sve dok apsorbancija pri 482 nm na spektrofotometru ne padne ispod vrijednosti 1,15. Sok od cikle potrebno je razrijediti 30 puta tako što se u plastičnu bocu volumena 6 L menzurama odmjeri 200 mL prethodno profiltriranog soka od cikle i 5800 mL destilirane vode. Isto razrjeđenje koristi se u svim adsorpcijskim i desorpcijskim pokusima.

3.2.2. Izrada baždarnog dijagrama

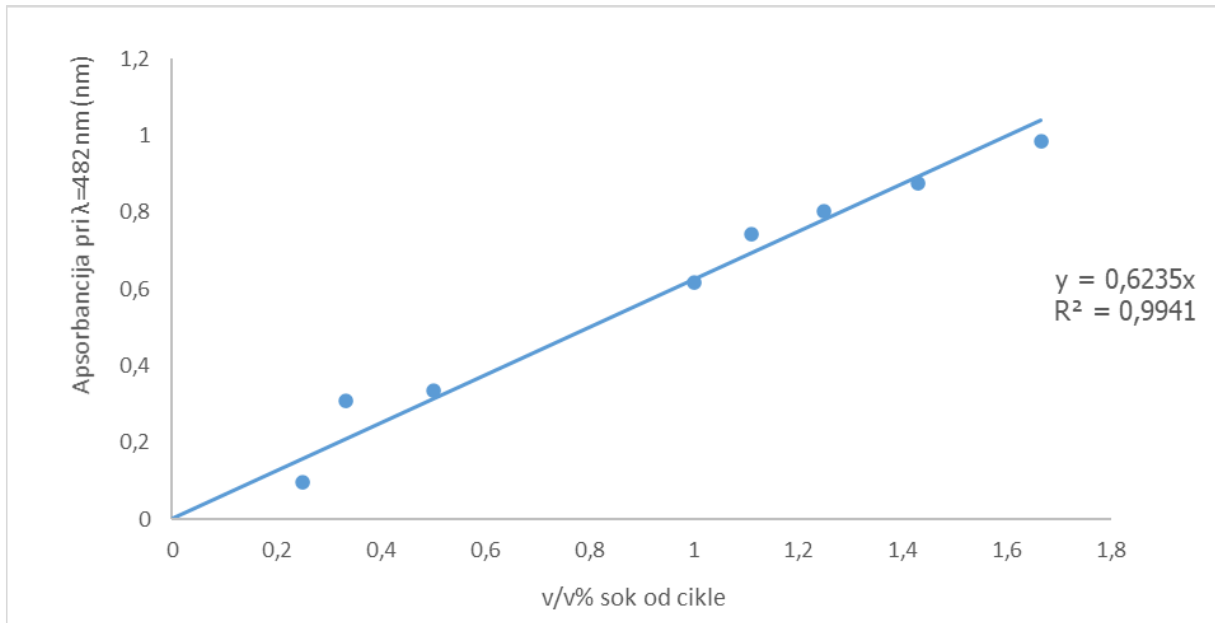
Prije provođenja adsorpcijskih i desorpcijskih pokusa potrebno je izraditi baždarni dijagram ovisnosti apsorbancije o različitim udjelima soka od cikle. Pripremaju se uzorci soka od cikle različitih razrjeđenja u rasponu od 60 do 400 puta na način da se u plastične epruvete volumena 2 mL mikropipetama otpipetiraju određeni volumeni soka od cikle i destilirane vode. Pripremljenim uzorcima poznatog udjela soka od cikle se zatim spektrofotometrijski određuje apsorbancija pri valnoj duljini $\lambda=482$ nm. Izmjerene vrijednosti apsorbancije stavljaju se na y-os, a poznati udjeli soka od cikle u ukupnom volumenu pojedinog uzorka stavljaju se na x-os i prikazuju se kao volumni postotak soka od cikle u uzorku. Dobiveni baždarni dijagram prikazuje ovisnost apsorbancije o volumnom postotku soka o cikle u pojedinom uzorku. Iz tih podataka odredi se jednadžba pravca koja glasi:

$$y=0,6235x \quad [1]$$

gdje su:

x - volumni postotak soka od cikle u uzorcima (v/v% sok od cikle)

y – izmjerene vrijednosti apsorbancije pri $\lambda=482$ nm



Slika 4. Baždarni dijagram za v/v% soka od cikle u uzorcima

Iz dobivenog baždarnog dijagrama moguće je odrediti nepoznati volumni postotak soka od cikle u kasnije izuzetim uzorcima supernatanata (pri provođenju apsorpcijskih i desorpcijskih pokusa) očitanjem apsorbancije uzoraka pri istoj valnoj duljini ($\lambda=482$ nm).

3.2.3. Adsorpcijski pokusi

3.2.3.1. Priprema praznih alginatnih mikrokapsula

Pripremi se 100 mL otopine (w/v) alginata (1, 2, 3 i 4 %) u destiliranoj vodi. Izmiješa se štapnim mikserom kako bi se osigurala dobra homogenizacija. Nakon miješanja otopina se stavlja u hladnjak da odstoji preko noći radi uklanjanja prisutnih mjehurića zraka. U međuvremenu se priprema 2 % (w/v) prihvatna otopina kalcijeva klorida (CaCl_2) u destiliranoj vodi, koja će služiti za prihvatanje mikrokapsula. Nakon što su uklonjeni mjehurići, svakoj otopini alginata određuje se viskoznost primjenom rotacijskog viskozimetra Anton Paar QC 300 (Anton Paar, Graz, Austrija). Nakon određivanja viskoznosti, otopina alginata prebacuje se u špricu, na koju se stavlja medicinska igla dimenzija 1,10 x 50 mm te se ručno istiskuju kuglice alginata u prihvatnu otopinu CaCl_2 . Pritom je potrebno paziti da je udaljenost vrha igle od površine prihvatne otopine ista za svaku šaržu te da se kuglice istiskuju ujednačenom brzinom kako bi se dobile kuglice čim sličnijih dimenzija. Nakon završetka pripreme, mikrokapsule se ostavljaju u otopini CaCl_2 preko noći kako bi se stabilizirale. Nakon toga se profiltriraju i temeljito isperu destiliranom vodom kako bi se uklonili ostaci kalcijevih iona s površine mikrokapsula.

3.2.3.2. Mjerenje viskoznosti pripremljenih otopina alginata

Viskoznost otopina alginata određuje se pomoću rotacijskog viskozimetra Anton Paar QC 300 (Anton Paar, Graz, Austrija) pri temperaturi 20 ± 2 °C, pri brzini vrtnje 40 rpm za 1%-tnu otopinu alginata te pri 5 rpm za otopine alginata većih koncentracija. Otopina (2 mL) se stavlja u CC12 nastavak za male volumene te se pokreće pokus odabirom moda rada i uputa prikazanih na displeju uređaja. Za svaki uzorak provode se 3 paralelna mjerenja, a dobiveni rezultati prikazani su kao prosječna vrijednost \pm standardna devijacija.

3.2.3.3. Adsorpcija boje na alginatne mikrokapsule

Odmjeri se 120 mL pripremljene otopine boje koja se stavi na temperiranje na 30 °C u uljnu kupelj, uz konstantno miješanje (200 rpm). Kad se otopina boje temperira, izbroji se 1000 praznih mikrokapsula koje se dodaju u temperiranu otopinu boje. U trenutku dodavanja kuglica u otopinu boje pokrene se štoperica i započinje adsorpcijski pokus. Uzorci supernatanta ($V=800 \mu\text{L}$) se uzimaju iz reakcijske smjese u vremenskim intervalima 0, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 30 minuta. U istim se intervalima uzima i po jedna kuglica iz reakcijske smjese kojoj se određuje promjer pomoću pomične mjerke. Adsorpcijski pokusi provode se zasebno za mikrokapsule proizvedene od različitih koncentracija otopine alginata (sveukupno 4 adsorpcijska pokusa, po jedan za svaku polaznu koncentraciju alginata). Izuzetim uzorcima supernatanta određuje se apsorbancija spektrofotometrijski pri 483 nm te boja pomoću kolorimetra.

3.2.3.4. Određivanje koncentracije boje supernatanta

Uzorak supernatanta izuzet iz reakcijske smjese prenese se u kivetu u kojoj se spektrofotometrijski određuje apsorbancija na UV-VIS spektrofotometru Biochrom Libra S11 (Cambridge, Engleska) pri 483 nm. Koncentracija boje odnosno soka od cikle u supernatantu očitava se iz baždarnog dijagrama izrađenog pri različitim koncentracijama boje. Važno je pripaziti da razrjeđenje uzorka bude takvo da očitana apsorbancija ulazi u raspon baždarnog dijagrama.

3.2.3.5. Analiza boje supernatanta

Boja supernatanta određuje se primjenom PCE-CSM3 kolorimetra (PCE Instruments, Njemačka) u kiveti za tekuće uzorke, uz prethodnu kalibraciju na bijelu ploču. Određuje se pet parametara boje (Hunterove koordinate boje):

L vrijednost - predstavlja svjetlost; svijetlo ($L=100$) ili tamno ($L=0$),

a vrijednost - predstavlja raspon od zelene do crvene; zeleno ($-a$) ili crveno ($+a$),

b vrijednost - predstavlja raspon od plave do žute; plavo (-b) ili žuto (+b),

C vrijednost - predstavlja zasićenje boje,

h vrijednost - predstavlja ton (kut) boje.

Za opisivanje promjene boje tijekom procesa adsorpcije iz izmjerenih vrijednosti L , a i b , određuje se ukupna promjena boje (ΔE), prema jednadžbi (Valinger i sur., 2021):

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0)^2 + (a^* - a_0)^2 + (b^* - b_0)^2} \quad [2]$$

gdje su za uzorke supernatanata prije početka procesa određene vrijednosti L_0 , a_0 , i b_0 , dok su za uzorke supernatanata izuzete tijekom procesa određene vrijednosti L^* , a^* i b^* . Za svaki uzorak provode se tri paralelna mjerenja, a rezultati su prikazani kao prosječna vrijednost \pm standardna devijacija.

3.2.3.6. Određivanje boje alginatnih mikrokapsula prije i nakon procesa adsorpcije

Primjenom PCE-CSM3 kolorimetra (PCE Instruments, Njemačka) određuje se i boja alginatnih mikrokapsula prije i nakon provedenog adsorpcijskog pokusa. Boja mikrokapsula određuje se u maloj plastičnoj posudi s ravnim dnom, uz prethodnu kalibraciju na bijelu ploču. Ponovno se određuje prethodno navedenih pet parametara boje, te ukupna promjena boje (ΔE), prema jednadžbi [2]. Vrijednosti L_0 , a_0 , i b_0 u ovom slučaju predstavljaju vrijednosti parametara boje za alginatne mikrokapsule prije procesa adsorpcije, dok su za alginatne mikrokapsule nakon procesa adsorpcije određene vrijednosti L^* , a^* i b^* . Za svaki uzorak provode se 3 paralelna mjerenja, a rezultati su prikazani kao prosječna vrijednost \pm standardna devijacija.

3.2.4. Desorpcijski pokusi

3.2.4.1. Priprema alginatnih mikrokapsula koje sadrže boju

Pripremi se 100 mL otopine alginata (1, 2, 3 i 4 % w/v) u boji (soku od cikle). Izmiješa se štapnim mikserom kako bi se osigurala dobra homogenizacija. Nakon miješanja otopina se ostavlja u hladnjaku preko noći radi uklanjanja prisutnih mjehurića zraka. U međuvremenu se priprema 2 % (w/v) prihvatna otopina CaCl_2 u otopini boje. Nakon što su uklonjeni mjehurići, svakoj otopini alginata određuje se viskoznost primjenom rotacijskog viskozimetra Anton Paar QC 300 (Anton Paar, Graz, Austrija). Nakon određivanja viskoznosti, otopina boja-alginat prebacuje se u špricu, na špricu se stavlja medicinska igla dimenzija 1,10 x 50 mm te se ručno istiskuju kuglice boja-alginat u prihvatnu otopinu boja- CaCl_2 . Pritom je potrebno paziti da je udaljenost vrha igle od površine prihvatne otopine ista za svaku šaržu te da se kuglice istiskuju ujednačenom brzinom kako bi se dobile kuglice čim sličnijih dimenzija. Nakon završetka pripreme, mikrokapsule se ostavljaju u otopini boja- CaCl_2 preko noći kako bi se stabilizirale.

Nakon toga se profiltriraju i temeljito isperu bojom kako bi se uklonili ostaci Ca iona s površine mikrokapsula. Nakon ispiranja bojom, provodi se jedan kratki ciklus ispiranja mikrokapsula destiliranom vodom kako bi se uklonio višak boje (paziti da boja ne počinje difundirati iz mikrokapsula, već da se ukloni samo boja koja je zaostala na površini).

3.2.4.2. Mjerenje viskoznosti pripremljenih otopina boja-alginat

Viskoznost otopina boja-alginat određuje se pomoću rotacijskog viskozimetra Anton Paar QC 300 (Anton Paar, Graz, Austrija) prema prethodno opisanom postupku (3.2.3.2.).

3.2.4.3. Desorpcija boje s alginatnih mikrokapsula

Izbroji se 1000 obojenih alginatnih kuglica koje se zatim dodaju u 120 mL destilirane vode prethodno temperirane na 30 °C u uljnoj kupelji pri 200 rpm. U trenutku dodavanja kuglica u destiliranu vodu pokrene se štoperica i započinje desorpcijski pokus. Uzorci supernatanta ($V=800 \mu\text{L}$) se uzimaju iz reakcijske smjese u vremenskim intervalima 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50, 60 i 90 minuta. U istim se intervalima uzima i po jedna kuglica iz reakcijske smjese kojoj se određuje promjer pomoću pomične mjerke. Desorpcijski pokusi provode se zasebno za mikrokapsule proizvedene od različitih koncentracija otopine alginata (sveukupno 4 desorpcijska pokusa, po jedan za svaku polaznu koncentraciju alginata). Izuzetim uzorcima supernatanta određuje se apsorbancija spektrofotometrijski pri 482 nm te boja pomoću kolorimetra.

3.2.4.4. Određivanje koncentracije boje supernatanta

Uzorak supernatanta prenese se u kivetu u kojoj se spektrofotometrijski određuje apsorbancija na UV-VIS spektrofotometru Biochrom Libra S11 (Cambridge, Engleska) pri 483 nm. Koncentracija boje odnosno soka od cikle u supernatantu očitava se iz baždarnog dijagrama izrađenog pri različitim koncentracijama boje. Važno je pripaziti da razrjeđenje uzorka bude takvo da očitana apsorbancija ulazi u raspon baždarnog dijagrama.

3.2.4.5. Analiza boje supernatanta

Boja supernatanta određuje se primjenom PCE-CSM3 kolorimetra (PCE Instruments, Njemačka) u kiveti za tekuće uzorke, uz prethodnu kalibraciju na bijelu ploču. Određuje se prethodno navedenih pet parametara boje (Hunterove koordinate boje): L , a , b , C i h . Za opisivanje promjene boje tijekom procesa desorpcije određuje se ukupna promjena boje (ΔE), prema jednadžbi [2], gdje su za uzorke supernatanta prije početka procesa određene vrijednosti L_0 , a_0 , i b_0 , dok su za uzorke supernatanta izuzete tijekom procesa određene vrijednosti L^* , a^* i b^* . Za svaki uzorak provode se tri paralelna mjerenja, a rezultati su prikazani kao prosječna vrijednost \pm standardna devijacija.

3.2.4.6. Određivanje boje alginatnih mikrokapsula prije i nakon procesa desorpcije

Primjenom PCE-CSM3 kolorimetra (PCE Instruments, Njemačka) određuje se i boja alginatnih mikrokapsula prije i nakon provedenog desorpcijskog pokusa. Boja mikrokapsula određuje se u maloj plastičnoj posudi s ravnim dnom, uz prethodnu kalibraciju na bijelu ploču. Ponovno se određuje prethodno navedenih pet parametara boje, te ukupna promjena boje (ΔE), prema jednadžbi [2]. Vrijednosti L_0 , a_0 , i b_0 u ovom slučaju predstavljaju vrijednosti parametara boje za alginatne mikrokapsule prije procesa desorpcije, dok su za alginatne mikrokapsule nakon procesa desorpcije određene vrijednosti L^* , a^* i b^* . Za svaki uzorak provode se 3 paralelna mjerenja, a rezultati su prikazani kao prosječna vrijednost \pm standardna devijacija.

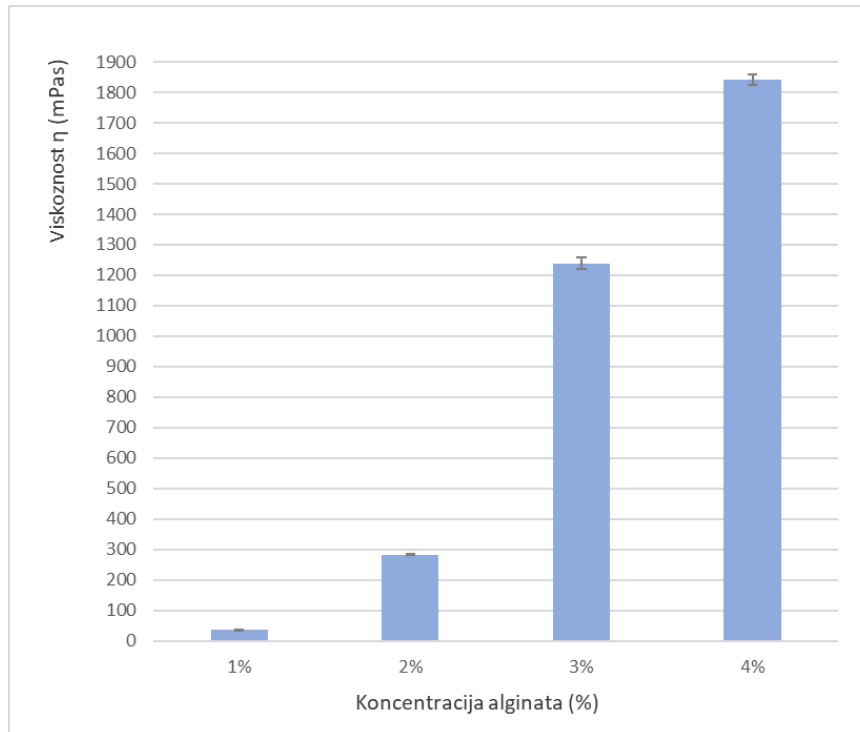
3.3. Statistička obrada eksperimentalnih podataka

Osnovna statistička obrada podataka provedena je pomoću programskog sustava Microsoft Excel v.2105 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, SAD) u vidu izračuna srednjih vrijednosti i standardnih devijacija paralelnih mjerenja.

4.REZULTATI I RASPRAVA

4.1. ADSORPCIJA

4.1.1. Viskoznost otopine alginata



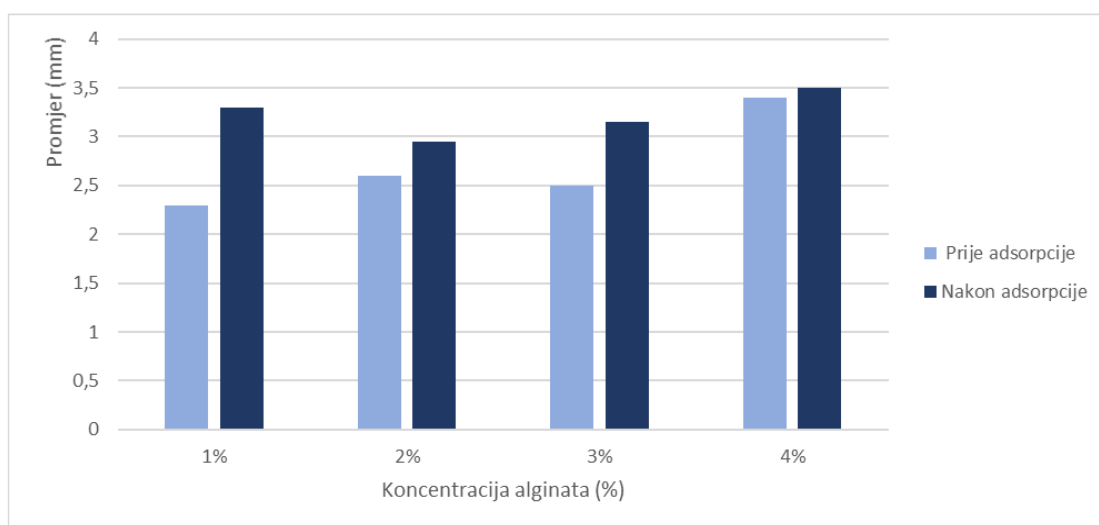
Slika 5. Grafički prikaz izmjerenih vrijednosti viskoznosti otopina alginata

Viskoznost je fizikalno svojstvo fluida (tekućine ili plina) koje se odnosi na unutarnje trenje koje nastaje pri strujanju fluida, a čiji je uzrok različita brzina gibanja slojeva fluida. Viskoznost otopina alginata različitih koncentracija (1, 2, 3, 4 % w/v) izmjerena je pomoću rotacijskog viskozimetra Anton Paar QC 300 (Graz, Austrija). Provedena su 3 paralelna mjerenja za svaku koncentraciju alginata, a utvrđena vrijednost viskoznosti otopina prikazana na slici 5. predstavlja srednju vrijednost triju uzastopnih mjerenja. Mjerenja viskoznosti provedena su na sobnoj temperaturi (20 ± 2 °C). Prethodno je utvrđeno da otopine alginata pokazuju visoke vrijednosti viskoznosti već pri malim koncentracijama, u rasponu oko 300 mPas za koncentraciju otopine alginata oko 2% (Belšak-Cvitanović i sur., 2015). Izmjerena viskoznost za 2 %-tnu otopinu alginata od $282,77 \pm 1,33$ mPas dobro se podudara s literaturnim navodima. Iz rezultata je vidljivo kako porastom koncentracije alginata u otopini raste i vrijednost izmjerene viskoznosti otopine alginata, od $35,82 \pm 0,3$ mPas za 1 %-tnu otopinu do $1840,33 \pm 17,6$ mPas za 4 %-tnu otopinu alginata. Dobiveni rezultati u skladu su s rezultatima drugih istraživačkih radova (Chan i sur., 2009; Davarci i sur., 2017), u kojima je također zabilježen eksponencijalni porast viskoznosti povećanjem koncentracije otopine alginata.

Prethodnim studijama utvrđeno je i da viskoznost otopine alginata mora biti veća od 60 mPas kako bi se proizvele mikrokapsule dobrih mehaničkih svojstava i željenog sfernog oblika. Viskoznost otopine alginata također je utjecala na pripremu mikrokapsula metodom kapanja. Otopine alginata nižih koncentracija s lakoćom su se istiskivale kroz špricu s medicinskom iglom, dok je najzahtjevnije bilo istiskivanje 4 %-tne otopine alginata u prihvatnu otopinu CaCl_2 . Općenito, alginatne otopine viskoznosti iznad 500 mPas teže se istiskuju kroz špricu, a dobivene mikrokapsule često imaju deformirani oblik (Davarci i sur., 2017).

4.1.2. Analiza mikrokapsula

4.1.2.1. Promjer mikrokapsula



Slika 6. Grafički prikaz promjene promjera mikrokapsula prije i nakon procesa adsorpcije

Promjer je važna karakteristika sferičnih alginatnih mikrokapsula koja određuje njihova svojstva i način primjene. Promjer mikrokapsula određen je prije i tijekom procesa adsorpcije pomoću pomične mjerke. Promjer mikrokapsula određuje se neposredno nakon vađenja mikrokapsula iz otopine u kojoj se nalaze, budući da duljim stajanjem mikrokapsula izvan otopine dolazi do njihova isušivanja i skupljanja. Mikrokapsule pripremljene iz otopina različitih koncentracija alginata razlikovale su se izgledom i veličinom. Promjeri alginatnih mikrokapsula proizvedenih metodom jednostavnog kapanja obično su u rasponu od 1 mm do najviše 6 mm (Bušić i sur., 2018). Promjer pripremljenih mikrokapsula kretao se u rasponu od 2 do 3,5 mm, što se dobro podudara s navodima u literaturi. Prema nekim autorima, na promjer mikrokapsula tijekom njihove pripreme veći utjecaj pokazuje brzina kojom se kuglice istiskuju nego koncentracija alginatne otopine. Promjer kapljice smanjuje se s povećanjem brzine istiskivanja tekućine do određene kritične brzine (Zhang i sur., 2007). Stoga je moguće da su mikrokapsule koje sadrže manje koncentracije alginata nešto manjih promjera u odnosu na one s većim koncentracijama alginata radi veće brzine istiskivanja manje viskozne alginatne

otopine. Za usporedbu su uzeti i na slici 6. prikazani promjeri mikrokapsula prije i nakon procesa adsorpcije. Kod svih uzoraka mikrokapsula tijekom procesa adsorpcije došlo je do povećanja promjera, a najveća promjena promjera može se uočiti kod mikrokapsula s 1% alginata, dok je kod mikrokapsula s 4% alginata promjena promjera bila najmanje izražena. Kada se mikrokapsule stave u otopinu boje, koncentracija molekula boje izvan mikrokapsula znatno je veća nego u njihovoj unutrašnjosti. Gradijent koncentracije uzrokovao je difuziju molekula boje u kuglice što je rezultiralo višim osmotskim tlakom u njihovoj unutrašnjosti i izazvalo bubrenje kuglica. Prema literaturnim podacima, kao razlog većeg bubrenja kuglica niže koncentracije alginata navodi se niži stupanj umrežavanja između kalcija i alginata što uzrokuje veću propusnost površinskog sloja kuglice, čime alginatna kuglica postaje izloženiya utjecajima okoline i lakše propušta vanjsko otapalo u kuglicu (Sriamornsak i Kennedy, 2010).

4.1.2.2. Boja mikrokapsula

Tablica 1. Parametri boje mikrokapsula prije i nakon procesa adsorpcije

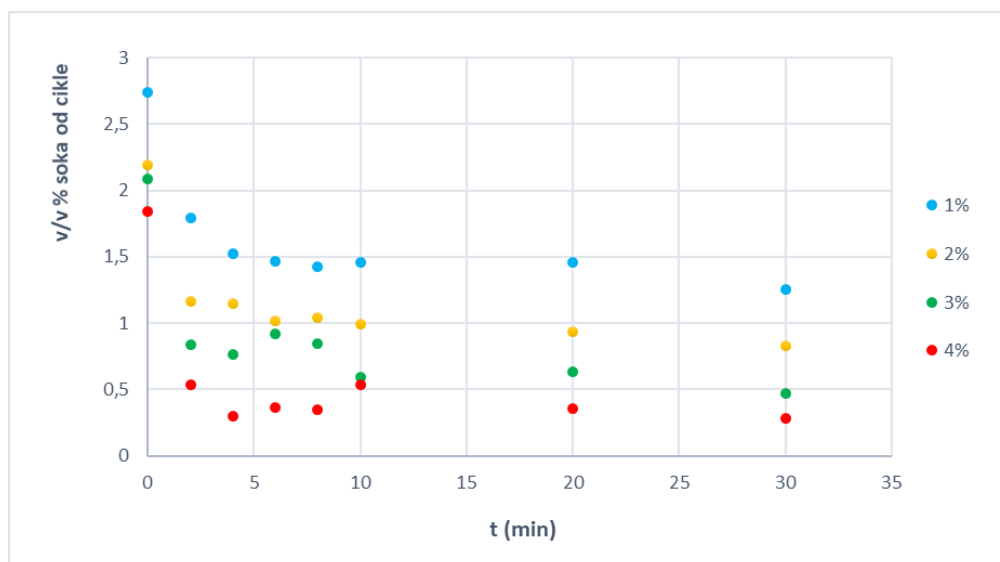
v/w %	L		a		b		c		h		ΔE
	prije	nakon	prije	nakon	prije	nakon	prije	nakon	prije	nakon	
1%	57,26 $\pm 0,78$	32,95 $\pm 0,87$	3,07 \pm 0,11	38,65 $\pm 1,29$	4,70 \pm 0,16	-2,53 $\pm 0,07$	5,61 \pm 0,19	38,73 $\pm 1,29$	57,08 $\pm 0,54$	356,29 $\pm 0,05$	43,69 $\pm 1,19$
2%	57,62 $\pm 1,34$	30,07 $\pm 0,16$	2,80 \pm 0,07	26,55 $\pm 0,06$	4,61 \pm 0,06	-7,02 $\pm 0,24$	5,40 \pm 0,09	27,47 $\pm 0,11$	58,72 $\pm 0,26$	345,19 $\pm 0,46$	38,19 $\pm 1,20$
3%	55,83 $\pm 0,87$	38,11 $\pm 1,82$	3,17 \pm 0,11	27,27 $\pm 1,20$	4,36 \pm 0,11	-11,16 $\pm 0,36$	5,39 \pm 0,09	29,47 $\pm 1,25$	53,99 $\pm 1,35$	337,73 $\pm 0,24$	33,71 $\pm 1,47$
4%	54,61 $\pm 1,75$	36,63 $\pm 0,23$	3,02 \pm 0,41	25,44 $\pm 0,14$	3,79 \pm 0,24	-10,28 $\pm 0,03$	4,85 \pm 0,43	27,44 $\pm 0,13$	51,58 $\pm 2,25$	338,00 $\pm 0,15$	32,00 $\pm 1,56$

Boja mikrokapsula prije i nakon procesa adsorpcije određena je primjenom PCE-CSM3 kolorimetra (PCE Instruments, Njemačka), pri čemu je određeno pet parametara boje koji su prikazani u Tablici 1. Boja mikrokapsula za sve koncentracije alginata značajno se promijenila nakon provedenog procesa. *L* vrijednost (predstavlja svjetlost) svih uzoraka smanjuje se nakon provedenog procesa adsorpcije, što znači da su mikrokapsule nakon adsorpcije boje izgubile na svjetlini odnosno da su tamnije u odnosu na mikrokapsule prije adsorpcije boje. Uočiti se može i značajno povećanje vrijednosti parametra *a* (raspon od zelene do crvene), što ukazuje na to da su uzorci mikrokapsula nakon procesa adsorpcije imali izraženije crvene tonove.

Izraženiji crveni tonovi svih uzoraka mikrokapsula svakako su očekivani rezultat nakon adsorpcije soka od cikle, budući da prirodna boja cikle potječe od betalaina koji sadrži dvije skupine pigmenata crveno-ljubičaste i žute boje, koji zajedno rezultiraju brojnim varijacijama crvene boje (Antigo i sur., 2017). Kod svih uzoraka nakon procesa došlo je do smanjenja vrijednosti parametra b (raspon od plave do žute), čije su vrijednosti prešle iz pozitivnih u negativne. Natrijev alginat, koji pokazuje nijansu između bijele i žute boje, pridonio većem intenzitetu žute boje u pripremljenim mikrokapsulama prije adsorpcije boje. Smanjenje vrijednosti b ukazuje na veću tendenciju prema plavoj boji nakon adsorpcije soka od cikle te smanjenje tendencije prema žutim tonovima boje. Crveno-ljubičasti betacijanini prisutni u soku od cikle vjerojatno su imali utjecaj na pomicanje vrijednosti prema plavom dijelu spektra. Uz porast vrijednosti C koja ukazuje na veći stupanj zasićenja boje, nakon adsorpcije boje na alginatne mikrokapsule zabilježen je i znatan porast vrijednosti h , koje ukazuju na izraženije tonove boje. Ukupna promjena boje mikrokapsula (ΔE), izračunata prema jednadžbi [2], najveća je za mikrokapsule napravljene od 1%-tne, a najmanja za mikrokapsule napravljene od 4%-tne otopine alginata. Iz dobivenih rezultata može se uočiti kako se ukupna promjena boje mikrokapsula smanjuje s porastom koncentracije alginatne otopine upotrijebljene za njihovu pripremu. Vrijednosti ukupne promjene boje prate veća standardna odstupanja (1,19-1,56).

4.1.3. Analiza otopine

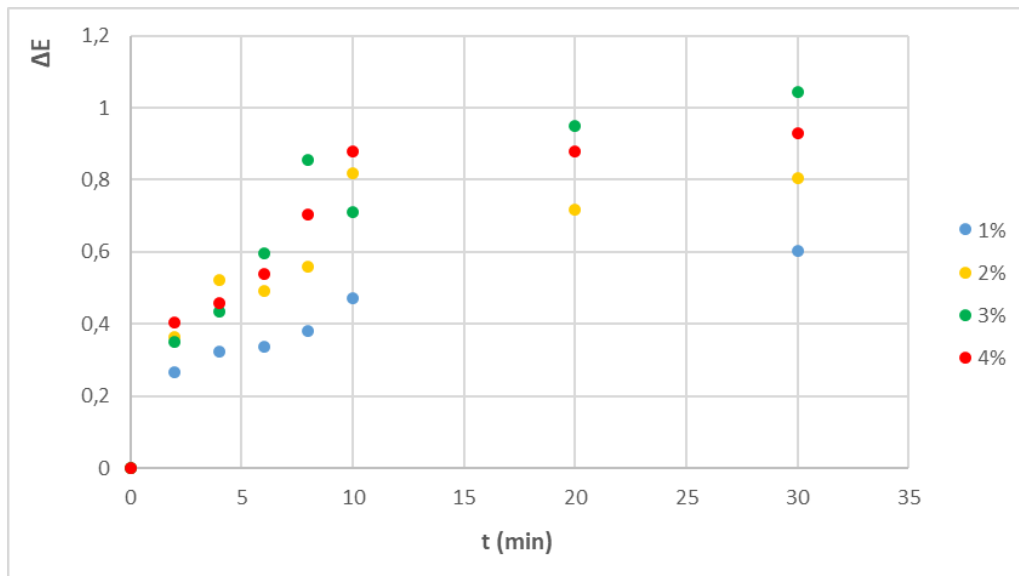
4.1.3.1. Dinamika promjene koncentracije boje otopine tijekom procesa adsorpcije



Slika 7. Dinamika promjene koncentracije soka od cikle (v/v% soka od cikle) u otopini tijekom procesa adsorpcije

Tijekom procesa adsorpcije iz reakcijske smjese otopine boje (soka od cikle) i mikrokapsula u određenim vremenskim intervalima uzimali su se uzorci supernatanta kojima se određivao intenzitet boje. Iz apsorbancije izmjerene UV-VIS spektrofotometrom Biochrom Libra S11 (Cambridge, Engleska) pri valnoj duljini 483 nm, određena je koncentracija boje u pojedinim uzorcima supernatanta. Koncentracije boje u uzorcima, izražene kao v/v% soka od cikle u supernatantu, određene su pomoću jednadžbe pravca [1] iz prethodno izrađenog baždarnog dijagrama (Slika 4.) ovisnosti apsorbancije o različitim koncentracijama boje. Iz slike 7. može se uočiti podjednaka dinamika promjene koncentracije soka od cikle u izuzetim uzorcima supernatanta, koja se smanjuje pri svim koncentracijama alginata u mikrokapsulama. Takvi rezultati u skladu su s očekivanjima, s obzirom da tijekom procesa adsorpcije dolazi do adsorpcije boje iz otopine u unutrašnjost mikrokapsula, što u konačnici dovodi do smanjenja koncentracije boje supernatanta u odnosu na početnu otopinu boje. Smanjenje koncentracije najizraženije je tijekom prvih pet minuta, dok je daljnji pad koncentracije soka od cikle tijekom vremena manje izražen. To ukazuje da se najviše boje iz otopine adsorbira u alginatne mikrokapsule tijekom prvih 5 minuta procesa adsorpcije. Brza adsorpcija vjerojatno je bila povezana s dostupnošću velikog broja slobodnih mjesta za adsorpciju na alginatnim kuglicama u početnoj fazi procesa. Postupno je sve manji broj slobodnih mjesta bio dostupan za vezanje molekulama boje, stoga je i adsorpcija boje na kuglice s vremenom postala manje izražena. Uz to, iz slike 7. uočava se kako porastom koncentracije alginata u mikrokapsulama supernatant sadrži manju koncentraciju boje, što znači da se porastom koncentracije alginata povećava i adsorpcija boje u mikrokapsule. To bi se moglo pripisati činjenici da se povećanjem doze alginata kao adsorbenta povećava i broj dostupnih mjesta za adsorpciju boje, što pospješuje adsorpciju boje. Isti trend uočen je i u drugim istraživačkim radovima u kojima je analiziran utjecaj koncentracije adsorbenta na učinkovitost adsorpcije boje (Aravindhan i sur., 2007; Mahmoodi, 2011).

4.1.3.2. Dinamika ukupne promjene boje (ΔE)



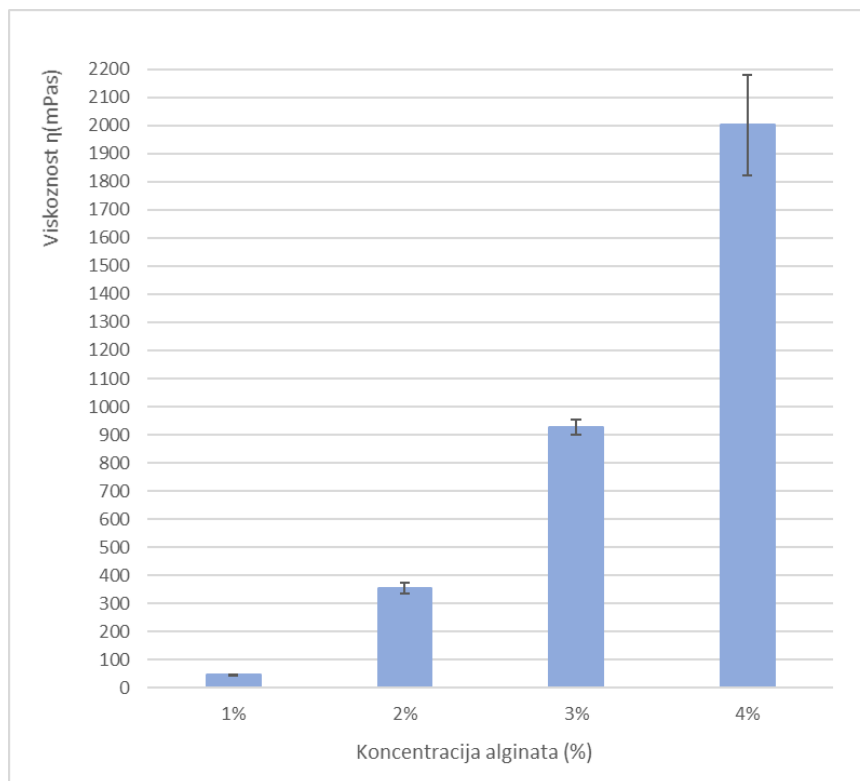
Slika 8. Dinamika ukupne promjene boje (ΔE) supernatanta tijekom procesa adsorpcije

Primjenom PCE-CSM3 kolorimetra (PCE Instruments, Njemačka), izuzetim uzorcima supernatanta u određenim vremenskim intervalima tijekom procesa adsorpcije iz reakcijske smjese otopine boje (soka od cikle) i mikrokapsula određeni su prethodno navedeni parametri boje: L , a , b , C i h . Za opisivanje promjene boje tijekom procesa adsorpcije određena je ukupna promjena boje (ΔE), prema jednadžbi [2]. Na slici 8. prikazana je dinamika ukupne promjene boje tijekom procesa adsorpcije. Unatoč tomu što je promatranjem dinamike promjene koncentracije soka od cikle ($v/v\%$ soka od cikle) u otopini tijekom procesa adsorpcije utvrđeno da se porastom koncentracije alginata u mikrokapsulama nakon provedenog procesa adsorpcije smanjila koncentracija boje u izuzetom supernatantu iz reakcijske smjese, ukupna promjena boje supernatanta na kraju procesa ne povećava se proporcionalno s povećanjem koncentracije alginata. Najveća ukupna promjena boje (ΔE) određena je za supernatante u reakcijskoj smjesi s 3 %-tnim, a potom s 4 %-tnim alginatnim mikrokapsulama, dok je određena ukupna promjena boje najmanja za supernatante izuzete iz reakcijske smjese s 1 %-tnim alginatnim mikrokapsulama. U radu Pandey i sur. (2007), određivanjem koncentracije metalnih iona zaostalih u bistrom supernatantu nakon procesa adsorpcije, utvrđeno je da povećanje količine alginata kao sorbenta iznad određene granice (3% v/w) rezultira smanjenjem količine vezanog metala. Kako se koncentracija alginata povećavala iznad te točke, kuglice su postale manje porozne što je utjecalo je na transport iona metala do unutarnjih mjesta adsorpcije jer se smanjila ukupna površina alginata dostupna za interakcije. Smanjena poroznost mikrokapsula iznad koncentracije alginata od 3% mogla je imati utjecaj i na manju promjenu boje supernatanta izuzetog iz reakcijske smjese s mikrokapsulama koje

sadrže 4% alginata u odnosu na supernatant iz reakcijske smjese s mikrokapsulama koje sadrže 3% alginata.

4.2. DESORPCIJA

4.2.1. Viskoznost otopine boja-alginat



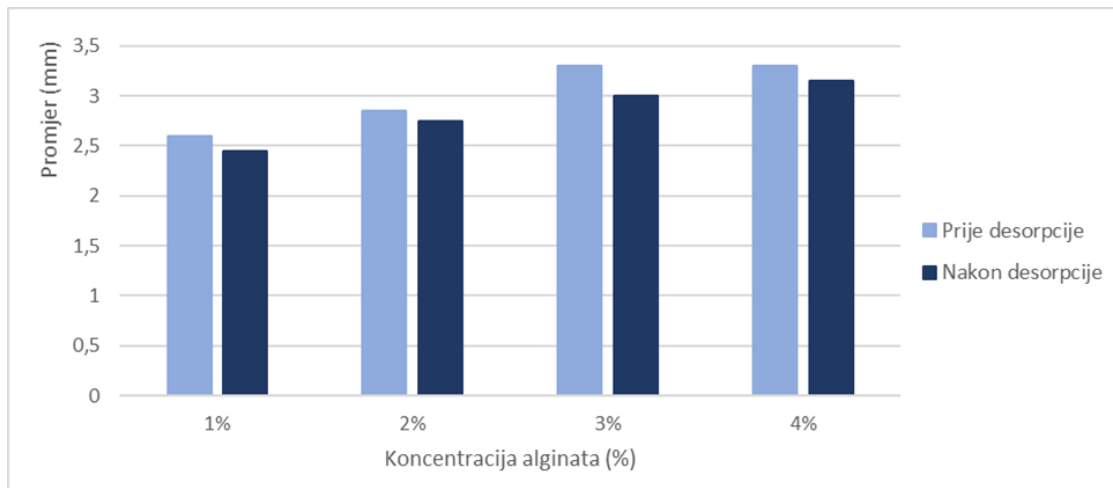
Slika 9. Grafički prikaz izmjerenih vrijednosti viskoznosti otopina boja-alginat

Izmjerene viskoznosti otopina boja-alginat različitih koncentracija alginata (1, 2, 3, 4 % w/v) prikazane su na slici 9. Iz rezultata je vidljiv eksponencijalni rast izmjerenih vrijednosti viskoznosti otopina boja-alginat s porastom koncentracije alginata u otopinama. Takav trend uočen je i u prethodno dobivenim rezultatima za viskoznost otopina alginata u destiliranoj vodi. Međutim, izmjerene vrijednosti viskoznosti otopina alginata u soku od cikle razlikuju se od onih izmjerenih za otopine alginata u destiliranoj vodi, iako sadrže jednake koncentracije alginata. Otopine boja-alginat koje sadrže 1 %, 2 % i 4 % alginata viskoznije su od otopina alginata jednakih koncentracija koje ne sadrže boju, dok je 3 %-tna otopina boja-alginat nešto manje viskozna od 3 %-tne otopine alginata u destiliranoj vodi. U pravilu se povećanjem udjela suhe tvari povećava i viskoznost (Lelas, 2006). Stoga otopine alginata koje su pripremljene otapanjem alginata u soku od cikle uglavnom imaju nešto višu viskoznost u odnosu na otopine alginata u destiliranoj vodi zahvaljujući većem udjelu suhe tvari u soku od cikle u odnosu na destiliranu vodu. Izmjerene vrijednosti viskoznosti otopina boja-alginat prate i veća standardna

odstupanja, posebno za 4 %-tnu otopinu boja-alginat, za koju standardna devijacija iznosi $\pm 177,53$ mPas.

4.2.2. Analiza mikrokapsula

4.2.2.1. Promjer mikrokapsula



Slika 10. Grafički prikaz promjene promjera mikrokapsula prije i nakon procesa desorpcije

Mikrokapsule pripremljene iz otopina alginata različitih koncentracija u boji (soku od cikle) razlikovale su se izgledom i veličinom. Nešto manji promjeri izmjereni su za mikrokapsule koje sadrže 1 i 2% alginata, u odnosu na mikrokapsule s 3 i 4% alginata, slično kao i kod mikrokapsula koje nisu sadržavale boju. Uobičajeno je da pripremom mikrokapsula jednostavnom metodom kapanja iz otopina koje karakterizira niža viskoznost nastaju mikrokapsule manjih promjera nego kada se za pripremu koriste viskoznije otopine, ukoliko su uvjeti pripreme mikrokapsula isti (Bušić i sur., 2018). Promjena promjera alginatnih mikrokapsula prije i nakon provedenog procesa desorpcije prikazana je na slici 10. Kod svih uzoraka mikrokapsula nakon desorpcije došlo je do smanjenja promjera mikrokapsula u odnosu na njihov promjer prije procesa, a smanjenje promjera podjednako je za sve uzorke mikrokapsula. Smanjenje promjera posljedica je difuzije molekula boje iz unutrašnjosti mikrokapsula u destiliranu vodu uslijed visokog koncentracijskog gradijenta.

4.2.2.2. Boja mikro kapsula

Tablica 2. Parametri boje mikro kapsula prije i nakon procesa desorpcije

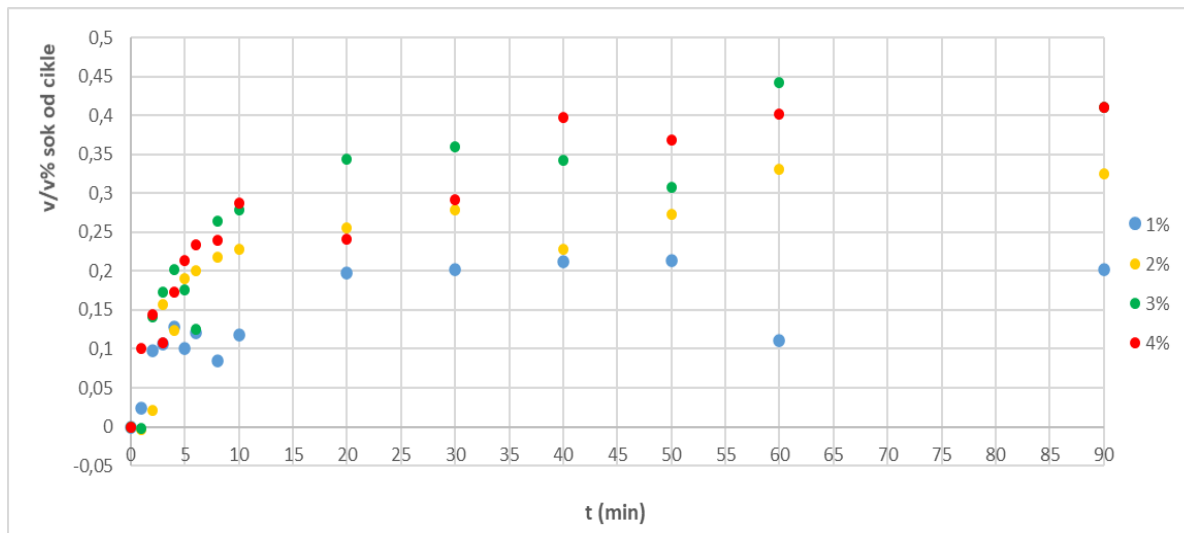
v/w %	L		a		b		c		h		ΔE
	prije	nakon	prije	nakon	prije	nakon	prije	nakon	prije	nakon	
1%	30,75 $\pm 0,59$	49,10 $\pm 1,48$	31,52 $\pm 1,53$	11,61 $\pm 0,38$	-9,41 $\pm 2,09$	-0,14 $\pm 0,12$	32,88 $\pm 0,82$	11,61 $\pm 0,37$	343,85 $\pm 5,00$	359,30 $\pm 0,60$	28,62 $\pm 2,46$
2%	31,23 $\pm 0,41$	40,43 $\pm 1,18$	29,63 $\pm 0,56$	13,27 $\pm 0,09$	-9,69 $\pm 0,23$	-4,17 $\pm 0,29$	31,16 $\pm 0,53$	13,90 $\pm 0,06$	341,88 $\pm 0,59$	342,57 $\pm 1,24$	19,56 $\pm 0,91$
3%	32,02 $\pm 1,64$	44,16 $\pm 0,39$	25,32 $\pm 0,72$	12,46 $\pm 0,16$	-11,57 $\pm 0,37$	-3,83 $\pm 0,15$	27,72 $\pm 0,52$	13,04 $\pm 0,11$	335,32 $\pm 0,88$	342,90 $\pm 0,85$	19,30 $\pm 1,39$
4%	34,36 $\pm 0,10$	48,55 $\pm 0,44$	26,14 $\pm 0,06$	10,59 $\pm 0,23$	-11,79 $\pm 0,14$	-3,73 $\pm 0,22$	28,68 $\pm 0,10$	11,23 $\pm 0,17$	335,74 $\pm 0,22$	340,59 $\pm 1,34$	22,54 $\pm 0,39$

Boja mikro kapsula značajno se promijenila nakon procesa desorpcije, što potvrđuju i podaci prikazani u tablici 2. Parametri boje (L , a , b , C , h) određeni prije i nakon provedenog procesa znatno se razlikuju. Vrijednost parametra L porasla je za sve uzorke mikro kapsula, što znači da su mikro kapsule postale svjetlije nakon otpuštanja boje. Vrijednost parametra a značajno se smanjila nakon desorpcije za sve uzorke mikro kapsula, što znači da se smanjio intenzitet crvene boje. Smanjenje crvenih tonova boje mikro kapsula očekivani su rezultat nakon desorpcije crvene boje soka od cikle iz unutrašnjosti mikro kapsula u destiliranu vodu. Kod svih uzoraka nakon procesa došlo je do povećanja vrijednosti parametra b . Porast vrijednosti b ukazuje na smanjenje tendencije prema plavoj boji odnosno ukazuje na manje izražene plave tonove mikro kapsula nakon procesa desorpcije. Navedeni parametri boje tijekom procesa desorpcije mijenjaju se suprotno odnosu na parametre boje tijekom procesa adsorpcije, gdje su mikro kapsule nakon procesa bile tamnije te se povećao intenzitet crvenih i plavih tonova boje mikro kapsula. S obzirom da su adsorpcija i desorpcija suprotni procesi, takav rezultat u skladu je s očekivanjem. Vrijednost parametra C nakon desorpcije boje se smanjila, što ukazuje na manji stupanj zasićenja boje i manji intenzitet boje mikro kapsula nakon desorpcije. Uz to, zabilježen je i blagi porast vrijednosti h . Ukupna promjena boje mikro kapsula (ΔE) najizraženija je za 1 %-tne alginatne mikro kapsule, dok je ukupna promjena boje za mikro kapsule koje sadrže veće koncentracije alginata manje izražena. Ukupna promjena boje za sve uzorke mikro kapsula nakon procesa adsorpcije i desorpcije bila je veća od 3,0 što ukazuje na to da su

razlike u boji mikrokapsula prije i nakon provedenih procesa vizualno uočljive i golim ljudskim okom (Fernández-López i sur., 2018).

4.2.3. Analiza otopine

4.2.3.1. Dinamika promjene koncentracije boje otopine tijekom procesa desorpcije

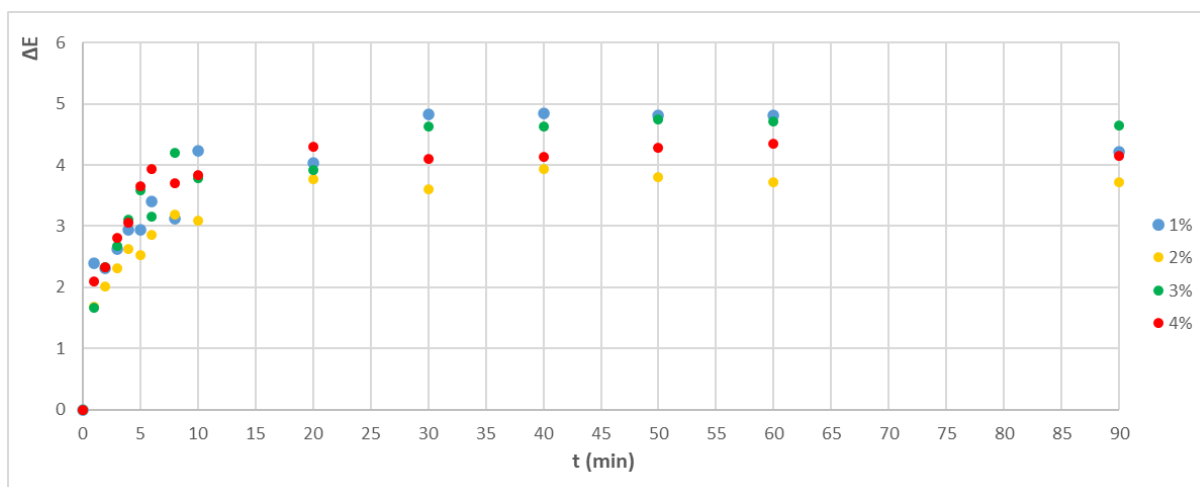


Slika 11. Dinamika promjene koncentracije soka od cikla ($v/v\%$ soka od cikla) u destiliranoj vodi tijekom procesa desorpcije

Tijekom procesa desorpcije iz reakcijske smjese mikrokapsula koje sadrže boju i destilirane vode u određenim vremenskim intervalima uzimali su se uzorci supernatanta kojima se određivao intenzitet boje. Iz izmjerene apsorbancije određena je koncentracija boje u pojedinim uzorcima supernatanta te je izražena kao $v/v\%$ soka od cikla u supernatantu. Iz slike 11. uočava se porast koncentracije soka od cikla u izuzetim uzorcima supernatanta tijekom desorpcije boje s mikrokapsula. Porast koncentracije boje tijekom procesa je očekivan, budući da tijekom procesa desorpcije dolazi do otpuštanja boje iz unutrašnjosti mikrokapsula u destiliranu vodu. Izrazito povećanje koncentracije boje u uzorcima odvija se tijekom prvih 20 minuta procesa. Iz slike 11. također se uočava kako je promjena koncentracije soka od cikla najmanja izražena za supernatante izuzete iz reakcijske smjese s 1%-tnim alginatnim mikrokapsulama, dok je promjena boje za supernatante izuzete iz reakcijske smjese s mikrokapsulama većih koncentracije alginata više izražena. U radu Desai i sur. (2010) analiziran je utjecaj različitih koncentracija natrijeva alginata na kinetiku otpuštanja boje Rodamin 6G (R6G) iz alginatnih mikrokapsula. Primijećeno je da niža koncentracija alginata pokazuje sporiju brzinu otpuštanja boje. Takvi rezultati pripisani su slabijem umrežavanju niže postotnog alginata zbog čega su u alginatnoj kuglici mikroinkapsulirane i niže koncentracije boje R6G. U skladu s tim, može se zaključiti da su mikrokapsule većih koncentracije alginata

inicijalno sadržavale veću koncentraciju boje. Nakon provedenog procesa desorpcije, veću koncentraciju boje sadržavali su supernatanti izuzeti iz reakcijskih smjesa s mikrokapsulama većih koncentracija alginata. Koncentracija boje u supernatantima izuzetim iz reakcijskih smjesa s 3 %-tnim i 4 %-tnim alginatnim mikrokapsulama iznosila je 0,41 v/v% soka od cikle, dok su za supernatante izuzete iz reakcijskih smjesa s 2 %-tnim i 1 %-tnim alginatnim mikrokapsulama koncentracije boje iznosile 0,33, odnosno 0,2 v/v% soka od cikle. To bi značilo da se povećanjem koncentracije alginata u mikrokapsulama povećala i količina boje koja se tijekom desorpcije otpustila u vodu.

4.2.3.2. Dinamika ukupne promjene boje (ΔE)



Slika 12. Dinamika ukupne promjene boje (ΔE) supernatanta tijekom procesa desorpcije

Kako bi opisali promjenu boje supernatanta tijekom procesa desorpcije, na slici 12. prikazana je dinamika ukupne promjene boje (ΔE) tijekom procesa desorpcije. Porast ukupne promjene boje najizraženiji je tijekom prvih 10 minuta procesa desorpcije za sve reakcijske smjese, što ukazuje na visok stupanj desorpcije boje s alginatnih mikrokapsula tijekom tog vremena. Nakon toga, porast ukupne promjene boje odvija se sporije, a nakon otprilike pola sata procesa ukupna promjena boje gotovo stagnira za sve uzorke. Najizraženija desorpcija boje na početku procesa uzrokovana je visokim koncentracijskim gradijentom boje, čija je koncentracija znatno veća u unutrašnjosti mikrokapsula nego u destiliranoj vodi. Budući da se koncentracijski gradijent s vremenom smanjuje radi sve većeg broja otpuštenih molekula boje u otopinu, posljedično dolazi i do sporije desorpcije boje s mikrokapsula, što se odražava kroz sporiju ukupnu promjenu boje. Najveća ukupna promjena boje zabilježena je za reakcijsku smjesu 3 %-tnih, dok je najmanja promjena boje uočena za reakcijsku smjesu 2 %-tnih mikrokapsula, što je u skladu sa istraživanjem Desai i sur. (2010) u kojem je primijećeno je da niža koncentracija alginata pokazuje sporiju brzinu otpuštanja boje.

5. ZAKLJUČCI

1. Iz dobivenih rezultata vidljivo je da viskoznost otopine alginata raste s porastom koncentracije alginata u otopini.
2. Viskoznosti otopina alginata u boji (soku od cikle) razlikuju se od onih izmjerenih za alginatne otopine jednakih koncentracija u destiliranoj vodi, pri čemu otopine alginata u boji pokazuju veće vrijednosti izmjerenih viskoznosti od otopina alginata u destiliranoj vodi.
3. Promjer mikrokapsula povećao se nakon provedenog procesa adsorpcije za sve koncentracije alginata.
4. Promjer mikrokapsula smanjio se nakon provedenog procesa desorpcije za sve koncentracije alginata.
5. Porastom koncentracije alginata u mikrokapsulama povećava se i koncentracija boje koja se adsorbira u mikrokapsule. Kod svih uzoraka mikrokapsula nakon provedenog procesa adsorpcije vrijednost parametra L značajno se smanjuje što znači da su kuglice izgubile na svjetlini, dok se vrijednost parametra a značajno povećava što ukazuje na izraženiji intenzitet crvene boje kuglica. Nakon adsorpcije smanjuje se vrijednost parametra b , što ukazuje na izraženije plave tonove boje mikrokapsula.
6. Povećanjem koncentracije alginata u mikrokapsulama povećava se i koncentracija boje koja se otpušta iz mikrokapsula tijekom procesa desorpcije. Kod svih uzoraka mikrokapsula vrijednost parametra L značajno se povećava što znači da su kuglice postale svjetlije, dok se vrijednost parametra a značajno smanjuje što ukazuje na smanjeni intenzitet crvene boje kuglica nakon provedenog procesa desorpcije. Osim toga, vrijednost parametra b se povećava, što ukazuje na manje izražene plave tonove boje mikrokapsula nakon provedenog procesa desorpcije.

6. LITERATURA

- Antigo, J. L. D., Bergamasco, R. D. C., Madrona, G. S. (2017) Effect of pH on the stability of red beet extract (*Beta vulgaris* L.) microcapsules produced by spray drying or freeze drying. *Food Science and Technology*, **38**, 72-77.
- Aravindhana, R., Fathima, N. N., Rao, J. R., Nair, B. U. (2007) Equilibrium and thermodynamic studies on the removal of basic black dye using calcium alginate beads. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **299**(1-3), 232-238.
- Belščak-Cvitanović, A., Đorđević, V., Karlović, S., Pavlović, V., Komes, D., Ježek, D., Bugarski, B., Nedović, V. (2015) Protein-reinforced and chitosan-pectin coated alginate microparticles for delivery of flavan-3-ol antioxidants and caffeine from green tea extract. *Food Hydrocolloids*, **51**, 361-374.
- Bušić, A., Belščak-Cvitanović, A., Cebin, A. V., Karlović, S., Kovač, V., Špoljarić, I., Mršić, G., Komes, D. (2018) Structuring new alginate network aimed for delivery of dandelion (*Taraxacum officinale* L.) polyphenols using ionic gelation and new filler materials. *Food research international*, **111**, 244-255.
- Chan, E. S., Lee, B. B., Ravindra, P., Poncelet, D. (2009) Prediction models for shape and size of calcium-alginate macrobeads produced through extrusion–dripping method. *Journal of colloid and interface science*, **338**(1), 63-72.
- Ching, S. H., Bansal, N., Bhandari, B. (2017). Alginate gel particles—A review of production techniques and physical properties. *Critical reviews in food science and nutrition*, **57**(6), 1133-1152.
- Corrêa-Filho, L. C., Moldão-Martins, M., Alves, V. D. (2019) Advances in the application of microcapsules as carriers of functional compounds for food products. *Applied Sciences*, **9**(3), 571.
- Davarci, F., Turan, D., Ozcelik, B., Poncelet, D. (2017). The influence of solution viscosities and surface tension on calcium-alginate microbead formation using dripping technique. *Food Hydrocolloids*, **62**, 119-127.
- Desai, K. G. H., Jin Park, H. (2005) Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Drying technology*, **23**(7), 1361-1394.

- Desai, S., Perkins, J., Harrison, B. S., Sankar, J. (2010) Understanding release kinetics of biopolymer drug delivery microcapsules for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: B*, **168**(1-3), 127-131.
- EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). (2015) Scientific Opinion on the re-evaluation of beetroot red (E 162) as a food additive. *EFSA Journal*, **13**(12), 4318.
- Fernández-López, J. A., Roca, M. J., Angosto, J. M., Obón, J. M. (2018) Betaxanthin-rich extract from cactus pear fruits as yellow water-soluble colorant with potential application in foods. *Plant Foods for Human Nutrition*, **73**(2), 146-153.
- Ghosh, S. K. (2006) Functional coatings and microencapsulation: a general perspective. *Functional coatings*, U: Functional Coatings by Polymer Microencapsulation, Ghosh, S.K., ur., WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA Weinheim, 1-28.
- Gliszczynska-Świgło, A., Szymusiak, H., Malinowska, P. (2006) Betanin, the main pigment of red beet: Molecular origin of its exceptionally high free radical-scavenging activity. *Food additives and contaminants*, **23**(11), 1079-1087.
- Gouin, S. (2004) Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in food science & technology*, **15**(7-8), 330-347.
- Jackson, L. S., Lee, K. (1991) Microencapsulation and the food industry. *Lebensm. Wiss. Technol*, **24**(4), 289-297.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., Deeth, H. (2003) Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International dairy journal*, **13**(1), 3-13.
- Lelas V. (2006) Prehrambeno-tehnološko inženjerstvo 1. Golden marketing - Tehnička knjiga, Zagreb, str. 23.
- Liu, H., Xie, M., Nie, S. (2020) Recent trends and applications of polysaccharides for microencapsulation of probiotics. *Food Frontiers*, **1**(1), 45-59.
- Mahmoodi, N. M. (2011) Equilibrium, kinetics, and thermodynamics of dye removal using alginate in binary systems. *Journal of Chemical & Engineering Data*, **56**(6), 2802-2811.
- Nedović, V., Kalušević, A., Manojlović, V., Lević, S., Bugarski, B. (2011) An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, **1**, 1806-1815.

- Pandey, A., Bera, D., Shukla, A., Ray, L. (2007) Studies on Cr (VI), Pb (II) and Cu (II) adsorption–desorption using calcium alginate as biopolymer. *Chemical Speciation & Bioavailability*, **19**(1), 17-24.
- Peanparkdee, M., Iwamoto, S., Yamauchi, R. (2016) Microencapsulation: a review of applications in the food and pharmaceutical industries. *Reviews in Agricultural Science*, **4**, 56-65.
- Pereira, L., Cotas, J. (2020) Introductory Chapter: Alginates-A General Overview. *Alginates-Recent Uses of This Natural Polymer*. Open access peer-reviewed chapter, DOI: 10.5772/intechopen.88381
- Rathore, S., Desai, P. M., Liew, C. V., Chan, L. W., Heng, P. W. S. (2013) Microencapsulation of microbial cells. *Journal of Food Engineering*, **116**(2), 369-381.
- Ribeiro, J. S., Veloso, C. M. (2020) Microencapsulation of natural dyes with biopolymers for application in food: A review. *Food Hydrocolloids*, 106374.
- Sanguansri, L., Augustin, M. A. (2010) Microencapsulation in functional food product development. *Functional food product development*, **1**, 1-23.
- Silva, P. T. D., Fries, L. L. M., Menezes, C. R. D., Holkem, A. T., Schwan, C. L., Wigmann, É. F., Bastos J. D. O., Silva, C. D. B. D. (2014). Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciência Rural*, **44**(7), 1304-1311.
- Sriamornsak, P., Kennedy, R. A. (2010) Effect of a small molecule on diffusion and swelling properties of selected polysaccharide gel beads. *Carbohydrate polymers*, **79**(1), 219-223.
- Stintzing, F. C., Carle, R. (2004) Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in food science & technology*, **15**(1), 19-38.
- Valinger, D., Longin, L., Grbeš, F., Benković, M., Jurina, T., Kljusurić, J. G., & Tušek, A. J. (2021) Detection of honey adulteration–The potential of UV-VIS and NIR spectroscopy coupled with multivariate analysis. *LWT*, **145**, 111316.
- Venkatesan, P., Manavalan, R., Valliappan, K. (2009) Microencapsulation: a vital technique in novel drug delivery system. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **1**(4), 26-35.
- Zhang, J., Li, X., Zhang, D., Xiu, Z. (2007) Theoretical and experimental investigations on the size of alginate microspheres prepared by dropping and spraying. *Journal of microencapsulation*, **24**(4), 303-322.

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Anamaria Birkić

ime i prezime studenta