

UNIVERZITET U BEOGRADU

TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

Sanja I. Šešlija

**ACILOVANI DERIVATI PEKTINA:
SINTEZA, KARAKTERIZACIJA I
MOGUĆNOST PRIMENE**

Doktorska disertacija

Beograd, 2018

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Sanja I. Šešlija

**ACYLATED DERIVATIVES OF PECTIN:
SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND
APPLICATIVE POTENTIAL**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2018

Mentor:

dr Ivanka Popović,
redovni profesor Univerziteta u Beogradu,
Tehnološko-metalurški fakultet

Komentor:

dr Melina Kalagasidis Krušić,
vanredni profesor Univerziteta u Beogradu,
Tehnološko-metalurški fakultet

Članovi komisije:

dr Enis Džunuzović,
vanredni profesor Univerziteta u Beogradu,
Tehnološko-metalurški fakultet

dr Ljubiša Nikolić,
redovni profesor Univerziteta u Nišu,
Tehnološki fakultet u Leskovcu

dr Jasmina Stevanović,
naučni savetnik Univerziteta u Beogradu,
Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju

Datum odbrane: _____

Doktorska disertacija urađena je na Katedri za Organsku hemijsku tehnologiju, Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, kao rezultat istraživanja sprovedenog u okviru projekta pod nazivom “Sinteza i karakterizacija novih funkcionalnih polimera i polimernih (nano)kompozita”, br. 172062, finansiranom od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Deo istraživanja u toku izrade ove doktorske disertacije urađen je u saradnji sa sledećim institucijama:

Institut za polimere, kompozite i biomaterijale, Napulj, Italija

Institut za tehnologiju materijala, Univerzitet tehnologije u Poznanju, Poljska

Tehnološki fakultet u Leskovcu, Univerzitet u Nišu

Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Univerzitet u Beogradu

Zahvaljujem se mentoru, prof. dr Ivanki Popović, na ukazanom poverenju, stvaralačkoj slobodi i neizostavnoj podršci u svakom aspektu mog akademskog angažovanja.

Neizmerno se zahvaljujem prof. dr Melini Kalagasidis Krušić, dr Jasmini Stevanović, prof. dr Enisu Džunuzoviću i prof. dr Ljubiši Nikoliću na sveukupnom zalaganju i saradnji, podršci, stručnim savetima i sugestijama koje su doprinele da disertacija poprimi konačan oblik.

Posebno se zahvaljujem dragim kolegama, dr Vesni Panić i dr. Pavlu Spasojeviću, na svakoj sugestiji, nesebičnom zalaganju, kao i spoznaji činjenice da je osmeh najbolji katalizator svake reakcije.

Hvala prijateljima koji oplemenjuju svaki moj dan.

Najveću zahvalnost dugujem porodici za sve ono što nije pretočivo u reči.

Posebnu zahvalnost dugujem doc. dr Savi Veličkoviću, koji je prepoznao ono što ja nisam i za mene odškrinuo vrata nauke. Ovu disertaciju posvećujem uspomeni na njega.

Acilovani derivati pektina: sinteza, karakterizacija i mogućnost primene

IZVOD

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije sprovedena su sa osnovnim ciljem razvoja derivata pektina unapređene funkcionalnosti u odnosu na primenu ovog polisaharida kao sorbenta i materijala za izradu ambalažnih filmova. U prvom delu rada opisan je postupak modifikacije pektina u reakciji esterifikacije sa acil-dihloridima, nakon čega su ispitana svojstva dobijenih acilovanih derivata sintetisanih pri različitim molarnim odnosima agensa za acilaciju i galakturonske kiseline. Utvrđeno je da promene u strukturi utiču na reološka, termička i morfološka svojstva pektina, kao i na interakcije koje se uspostavljaju u vodenim rastvorima. U cilju detaljnog sagledavanja svih parametara koji mogu imati uticaj na sorpciju pektina i njegovih derivata, u drugom delu rada ispitan je uticaj specifičnih anjona na umrežavanje nativnog pektina u vodenim rastvorima soli bakra. Analiza ovog uticaja rezultovala je uspostavljanjem analogije umrežavanja pektina sa relativnim uticajem anjona u vodenim rastvorima koje je opisano Hofmeister-ovom teorijom. Hidrofobnost acilovanih derivata, kao i mogućnost njihove primene kao sorbenata i materijala za izradu ambalažnih filmova, ispitana je u trećem delu rada. Dobijeni rezultati ukazuju da acil ostaci (C4-C10) u strukturi derivata utiču na povećanje hidrofobnosti nativnog pektina, što se može smatrati jednim od najznačajnijih rezultata proisteklih iz ove disertacije. Parametri procesa sorpcije Cu^{2+} jona iz vodenih rastvora ukazuju da acilovani derivati poseduju manji ravnotežni kapacitet u poređenju sa nativnim pektinom, pri čemu je utvrđeno da je vrednost ovog parametra uslovljena strukturom derivata. Filmovi na bazi acilovanih derivata pektina predstavljaju bolju barijeru za transport vodene pare, što se tumači kao posledica njihove povećane hidrofobnosti. Ipak, rezultati mehaničkih ispitivanja ukazuju da predložene modifikacije nemaju pozitivan uticaj na moguću primenu sintetisanih derivata kao materijala za izradu ambalažnih filmova.

Ključne reči: pektin, acilovani derivati, hidrofobnost, umrežavanje, sorpcija

Naučna oblast: Tehnološko inženjerstvo

Uža naučna oblast: Hemijsko inženjerstvo

UDK broj:

Acylated derivatives of pectin: synthesis, characterization and applicative potential

ABSTRACT

The main goal of the research conducted within this doctoral dissertation was development of pectin based derivatives with improved functionality when used as sorbents and packaging film material. The first part of this work reports modification procedure and characterization of the derivatives obtained by esterification of the neat pectin using di-acyl chlorides at different molar ratios. It was found that changes in structure affect rheological, thermal and morphological properties of pectin, as well as the interactions established in water solutions. In order to get the deeper insights into all parameters that could influence the sorption on pectin and its derivatives, the second part of this work reports the effect of specific anions on the cross-linking process of neat pectin in water solutions of copper salts. This analysis resulted in establishment of an analogy between pectin cross-linking and relative influence of anions in water solutions described by Hofmeister theory. The hydrophobicity of acylated derivatives and their possibility to be used as sorbents and package film materials was investigated in the third part of this work. The obtained results indicate that acyl residues (C4-C10) cause the increase in hydrophobicity of neat pectin, which could be considered as one of the most significant result of this dissertation. The parameters that describe sorption of Cu^{2+} from aqueous solution suggest that acylated derivatives exhibit lower equilibrium capacity when compared to native pectin, and it was found that these parameters are dependent on derivatives structure. Due to the increased hydrophobicity of acylated pectin, the films based on these derivatives have improved water barrier properties. Still, the results obtained from mechanical testing indicate that proposed modification do not have positive influence on possible application of films based on acylated pectin as packaging material.

Keywords: pectin, acylated derivatives, hydrophobicity, cross-linking, sorption

Scientific field: Technological engineering

Field of Academic Expertise: Chemical engineering

UDK Number:

SADRŽAJ

UVOD	1
TEORIJSKI DEO	3
POGLAVLJE I	4
1. Modifikacije polisaharida	4
1.1 REAKCIJE HIDROKSILNE GRUPE POLISAHARIDA	7
1.1.1 Eterifikacija	7
1.1.2 Esterifikacija	9
1.1.3 Regioselektivnost reakcija eterifikacije i esterifikacije	11
1.1.4 Mehanizam reakcija nukleofilne supstitucije kod polisaharida	12
1.1.5 Halogenovanje	12
1.1.6 Aminacija	14
1.2 OKSIDACIJA POLISAHARIDA	14
1.2.1 Oksidacija primarne alkoholne grupe	15
1.2.2 Oksidativno raskidanje 1,2-diolne veze	16
1.3 REAKCIJE KARBOKSILNE GRUPE POLISAHARIDA	16
1.3.1 Formiranje estara	16
1.3.2 Formiranje amida	17
1.4 REAKCIJE AMINO GRUPE POLISAHARIDA	17
1.5 NEZASIĆENI DERIVATI POLISAHARIDA	18
POGLAVLJE II	20
2. PEKTIN: STRUKTURA, SVOJSTVA I METODE MODIFIKACIJE	20
2.1 SVOJSTVA RASTVORA PEKTINA	23
2.2 GELIRANJE PEKTINA	24
2.3 IZVORI, PROIZVODNJA I PRIMENA PEKTINA	26
2.4 MODIFIKACIJE PEKTINA	28
2.4.1 Alkilacija karboksilne grupe pektina	28
2.4.2 Acilovanje hidroksilne grupe pektina	30
2.4.3 Amidacija pektina	31
2.4.4 Kvaternizacija pektina	32
2.4.5 Tiolacija pektina	33
2.4.6 Sintaza sulfatnih estara pektina	33
2.4.7 Oksidacija pektina	34
2.4.8 Umrežavanje pektina	34
2.4.9 Kalemljenje	35
2.5 DEPOLIMERIZACIJA PEKTINA	36
2.5.1 Hemijska depolimerizacija	36
2.5.2 Fizička (mehanička) degradacija	37
2.5.3 Enzimski degradacija	37
2.6 BEZBEDOSNE PROCENE PRIMENE DERIVATA PEKTINA	38
POGLAVLJE III	40
3. PEKTIN KAO SORBENT ZA UKLANJANJE TEŠKIH METALA IZ VODENIH RASTVORA	40

3.1 BIOSORPCIJA -----	40
3.2 PRIMENA POLISAHARIDA KAO BIOSORBENATA: PREDNOSTI I MANE -----	42
3.3 PEKTIN KAO BIOSORBENT -----	43
3.4 INTERAKCIJE PEKTINA I JONA DVOVALENTNOG BAKRA -----	44
3.5 ADSORPCIONE IZOTERME-----	45
3.5.1 Langmuir-ova adsorpciona izoterma -----	46
3.5.2. Freundlich-ova adsorpciona izoterma -----	47
3.6 KINETIKA SORPCIJE -----	48
3.6.1. Lagergren-ov model pseudo prvog reda-----	48
3.6.2. Ho-ov model pseudo drugog reda -----	49
EKSPERIMENTALNI DEO-----	50
POGLAVLJE IV -----	51
4. SITEZA I KARAKTERIZACIJA ACILOVANIH DERIVATA PEKTINA -----	51
4.1 REAKTANTI-----	51
4.1.1 Pektin -----	51
4.1.2 Dimetil sulfoksid-----	52
4.1.3 Sukcinit-hlorid -----	52
4.1.4 Glutaroil-hlorid-----	53
4.1.5 Adipoil-hlorid -----	53
4.1.6 Sebacoil-hlorid -----	54
4.2 SINTEZA ACILOVANIH DERIVATA PEKTINA-----	54
4.3 KARAKTERISANJE ACILOVANIH DERIVATA PEKTINA-----	56
4.3.1 Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom -----	56
4.3.2 Određivanje reoloških parametara -----	56
4.3.3 Gel-propusna hromatografija-----	56
4.3.4 Difrakcija laserske svetlosti i optička mikroskopija -----	57
4.3.5 Termogravimetrijska analiza -----	57
4.3.6 Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija-----	57
4.3.7 Skenirajuća elektronska mikroskopija -----	58
POGLAVLJE V -----	58
5. ISPITIVANJE UTICAJA SPECIFIČNIH ANJONSKIH VRSTA NA PROCES	
UMREŽAVANJA NATIVNOG PEKTINA -----	58
5.1 UMREŽAVANJE PEKTINA U VODENIM RASTVORIMA BAKARNIH SOLI -----	58
5.2 INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA SA FURIJEOVOM TRANSFORMACIJOM -----	59
5.3 ODREĐIVANJE RAVNOTEŽNOG KAPACITETA SORPCIJE PROCESA UMREŽAVANJA NATIVNOG PEKTINA U	
FUNKCIJI POČETNE KONCENTRACIJE VODENIH RASTVORA SOLI BAKRA -----	59
5.4 PRIMENA ADSORPCIONIH IZOTERMI NA UMREŽAVANJE PEKTINA U VODENIM RASTVORIMA BAKARNIH	
SOLI -----	59
5.5 SKENIRAJUĆA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA I ELEKTRONSKA DISPERZIONA SPEKTROSKOPIJA -----	59
5.6 ISPITIVANJE MEHANIČKIH KARAKTERISTIKA PEKTINSKIH ČESTICA -----	59
POGLAVLJE VI-----	60
6. ISPITIVANJE UTICAJA MODIFIKACIJE NA SVOJSTVA MATERIJALA NA BAZI	
PEKTINA-----	60
6.1 ISPITIVANJE HIDROFOBNOSTI ACILOVANIH DERIVATA PEKTINA-----	60
6.1.1 Metoda ležeće kapi ("Sessile drop method")-----	60
6.1.2 Metoda prstena po Di Noiđu ("Du Nouy ring method") -----	60

6.2 ISPITIVANJE KINETIČKIH I RAVNOTEŽNIH PARAMETARA SORPCIJE NATIVNOG I MODIFKOVANOG PEKTINA U VODENIM RASTVORIMA Cu^{2+} JONA -----	61
6.3 ISPITIVANJE UTICAJA MODIFIKACIJE NA MEHANIČKA I BARIJERNA SVOJSTVA FILMOVA NA BAZI PEKTINA -----	61
6.3.1 Priprema filmova -----	61
6.3.2 Ispitivanje mehaničkih svojstava -----	61
6.3.3 Ispitivanje permeabilnosti vodene pare -----	62
REZULTATI I DISKUSIJA -----	63
POGLAVLJE VII -----	64
7. ACILOVANI DERIVATI PEKTINA -----	64
7.1 MEHANIZAM ESTERIFIKACIJE -----	64
7.2 FTIR ANALIZA NATIVNOG I ACILOVANOG PEKTINA -----	65
7.3 GPC ANALIZA NATIVNOG I ACILOVANOG PEKTINA -----	68
7.4 ODREĐIVANJE REOLOŠKIH PARAMETARA RASTVORA NATIVNOG I ACILOVANOG PEKTINA -----	69
7.5 ANALIZA RASPODELE VELIČINE ČESTICA U RASTVORIMA NATIVNOG I ACILOVANOG PEKTINA -----	70
7.6 TG ANALIZA NATIVNOG I ACILOVANOG PEKTINA -----	75
7.7 DSC ANALIZA NATIVNOG I ACILOVANOG PEKTINA -----	76
7.8 ANALIZA MORFOLOGIJE LIOFILIZOVANIH UZORKA NATIVNOG I ACILOVANOG PEKTINA -----	77
POGLAVLJE VIII -----	81
8. UTICAJ ANJONA NA UMREŽAVANJE PEKTINA U RASTVORIMA DVOVALENTNOG BAKRA -----	81
8.1 FTIR ANALIZA UMREŽENIH ČESTICA NATIVNOG PEKTINA -----	81
8.2 PRIMENA SORPCIONOG MODELA NA UMREŽAVANJE PEKTINA Cu^{2+} JONIMA -----	82
8.3 PRIMENA HOFMEISTER-OVE TEORIJE NA ANALIZU UTICAJA ANJONA U PROCESU UMREŽAVANJA PEKTINA -----	85
8.4 PRIMENA ADSORPCIONIH IZOTERMI NA ISPITIVANJE MEHANIZMA UMREŽAVANJA NATIVNOG PEKTINA U VODENIM RASTVORIMA SOLI BAKRA -----	87
8.5 ANALIZA MORFOLOGIJE UMREŽENIH ČESTICA PEKTINA -----	89
8.6 EDS ANALIZA -----	91
8.7 ISPITIVANJE PRITISNE ČVRSTOĆE -----	93
POGLAVLJE IX -----	95
9. ANALIZA SVOJSTAVA MATERIJALA NA BAZI NATIVNOG I MODIFIKOVANOG PEKTINA -----	95
9.1 HIDROFOBOST ACILOVANIH DERIVATA PEKTINA -----	95
9.2 KINETIKA SORPCIJE ACILOVANIH DERIVATA PEKTINA -----	97
9.3 BARIJERNA I MEHANIČKA SVOJSTVA FILMOVA NA BAZI ACILOVANIH DERIVATA PEKTINA -----	100
9.3.1 ISPITIVANJE PARAMETARA VODENE PARE -----	100
9.3.2 Ispitivanje mehaničkih svojstava -----	101
POGLAVLJE X -----	103
10. ZAKLJUČAK -----	104
LITERATURA -----	106
BIOGRAFIJA AUTORA -----	123
Izjava o autorstvu -----	124

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada -----	125
Izjava o korišćenju -----	126

SPISAK OZNAKA

AG	Apiogalakturonan
Araf	α -L-arabinofuranoze
CMPI	2-hloro-1-metilpiridinium jodid
DCCI	N, N'-dicikloheksilkarbodiimid
DE	Stepen esterifikacije
DLS	Difrakcija laserske svetlosti
DMA	Dimetilacetamid
DMF	Dimetilformamid
DMI	1, 3-dimetil-2-imidazolidinon
DMSO	Dimetil sulfoksid
DS	Stepen supstitucije
DSC	Difrencijalna skenirajuća kalorimetrija
DTG	Derivativna termogravimetrija
EC	Evropska komisija
EDCI	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid
EDS	Elektronska disperziona spektroskopija
FAO	Organizacija za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih nacija
FDA	Američka savezna uprava za hranu i lekove
FTIR	Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom
GalA	Galakturonska kiselina
Galp	Galaktopiranozna
Galp	β -D-galaktopiranoze
GPC	Gel-propusna hromatografija
HG	Homogalakturonan
HM	Viskoesterifikovani pektin
KDO	2-keto-3-deoksi-D-mano-oktulosonsku
LM	Niskoesterifikovani pektin
NMR	Nuklearno-magnetno-rezonantna spektroskopija

PGaIA	Poligalakturonska kiselina
RG I	Ramnogalakturonan
RG II	Ramnogalakturonan II
SEM	Skenirajuća elektronska mikroskopija
SN1	Monomolekulska nukleofilna supstitucija
SN2	Bimolekulska nukleofilna supstitucija
TBA	Tetra-butilamonijum jon
TBAF	Tetra-n-butilamonijum fluorid
TEMPO	2,2,6,6-tetrametil-piperidin-1-il
Tg	Temperatura ostakljivanja
TGA	Termogravimetrijska analiza
TS	Zatezna čvrstoća
WVP	Parameter permeabilnosti vodene pare
WVTR	Brzina prenosa vodene pare
XG	Ksilogalakturonan

SPISAK SLIKA I TABELA

I Spisak slika

Slika 1.1 Struktura monosaharida koji ulaze u sastav različitih polisaharida

Slika 1.2. Strukturne jedinice nekih polisaharidnih etara

Slika 1.4. Reakcija halogenovanja celuloze (a) iz sulfonata u reakciji sa solima halogenida; (b) direktno u reakciji sa SOCl_2 .

Slika 1.5. Uvođenje amino grupe primenom amina i azida.

Slika 1.6. Različiti proizvodi reakcije oksidacije polisaharida: a) oksidacija primarne OH grupe; b) oksidativno raskidanje diolne veze.

Slika 1.7. Šematski prikaz reakcija amino grupe.

Slika 1.8. Nezasićeni derivati a) 5,6-nezasićeni derivat celuloze (enolni etar); b) 2,3-nezasićeni derivat celuloze (alken); c) 2,3-nezasićeni derivat pentoznog šećera.

Slika 2.1. Struktura homogalakturonana, HG.

Slika 2.2. Šematski prikaz strukturnih domena pektinskih polisaharida.

Slika 2.3. Opšta struktura RG II.

Slika 2.4. Šematski prikaz geliranja LM pektina po "egg box" modelu.

Slika 2.5. Šematski prikaz geliranja amidovanih pektina u prisustvu Ca^{2+} jona.

Slika 2.6. Alkilacija pektina primenom alkil halogenida.

Slika 2.7. Esterifikacija OH grupe pektina primenom palmitinske, oleinske i linolne kiseline.

Slika 2.8. Amidacija pektina.

Slika 2.9. Šema reakcije kvaternizacije pektina u reakciji sa 3-hlor-2-hidroksipropiltrimetilamonijum hloridom.

Slika 2.10. Reakcija između pektina i glicidil metakrilata.

Slika 2.11. Šematski prikaz reakcija degradacije pektina a) demetoksilacija; b) β -eliminacija.

Slika 4.1. Strukturna formula sukcinil-hlorida.

Slika 4.2. Strukturna formula glutaroil-hlorida.

Slika 4.3. Strukturna formula adipoil-hlorida.

Slika 4.4. Strukturna formula sebacoil-hlorida.

Slika 6.1. Kontakni ugao koji tečnost zaklapa sa površinom čvrstog uzorka.

Slika 7.1. Mehanizam esterifikacije pektina.

Slika 7.2. FTIR spektri nativnog i modifikovanog pektina sintetisanog u prisustvu sukcinil-hlorida.

Slika 7.3. FTIR spektri nativnog i modifikovanog pektina sintetisanog u prisustvu glutaroil-hlorida.

Slika 7.4. FTIR spektri nativnog i modifikovanog pektina sintetisanog u prisustvu adipoil-hlorida.

Slika 7.5. FTIR spektri nativnog i modifikovanog pektina sintetisanog u prisustvu sebacoil-hlorida.

Slika 7.6. Hromatogrami nativnog i modifikovanog pektina sintetisanog pri a) višem (1/3) i b) nižem (1/15) molarnom udelu agensa za acilovanje.

Slika 7.7. Viskoznost rastvora nativnog i modifikovanog pektina sintetisanog pri a) nižem (1/15) i b) višem (1/3) molarnom udelu agensa za acilovanje.

Slika 7.8. Raspodela veličina čestica rastvora nativnog pektina.

Slika 7.9. Raspodela veličina čestica rastvora pektina modifikovanog pri različitim udelima acil-dihlorida.

Slika 7.10. Vizuelni prikaz razblaženih vodenih ratvora nativnog i modifikovanog pektina: a1) SC1/3; a2) SC1/15; b1) G1/3; b2) G1/15; c1) A1/3; c2) A1/15; d1) S1/3; d2) S1/15.

Slika 7.11. Termogravimetrijske krive nativnog i modifikovanog pektina.

Slika 7.12. SEM mikrograf liofilizovanog rastvora nativnog pektina.

Slika 7.13. SEM mikrografi liofilizovanih rastvora acilovanih derivata pektina a) SC1/3; b) SC1/15.

Slika 7.14. SEM mikrografi liofilizovanih rastvora acilovanih derivata pektina a) G1/3; b) G1/15.

Slika 7.15. SEM mikrografi liofilizovanih rastvora acilovanih derivata pektina a) A1/3; b) A1/15.

Slika 7.16. SEM mikrografi liofilizovanih rastvora acilovanih derivata pektina a) S1/3; b) S1/15.

Slika 8.1. FTIR spektri nativnog i pektina umreženog u rastvorima bakarnih soli.

Slika 8.2. Krive zavisnosti ravnotežnog kapaciteta sorpcije nativnog pektina od početne koncentracije Cu^{2+} jona.

Slika 8.3. Ravnotežni kapacitet sorpcije Cu^{2+} procesa umrežavanja nativnog pektina u rastvorima CuSO_4 i $\text{CuSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$.

Slika 8.4. Eksperimentalne sorpcione izoterme dobijene primenom Freundlich-ovog modela a) CuSO_4 ; b) $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$; c) CuCl_2 and d) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$.

Slika 8.5. Eksperimentalne sorpcione izoterme dobijene primenom Langmuir-og modela a) CuSO_4 ; b) $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$; c) CuCl_2 and d) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$.

Slika 8.6. SEM mikrografi čestica pektina umreženih u rastvorima a) CuSO_4 ; b) $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$; c) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ and d) CuCl_2 .

Slika 8.7. EDS spektri površine pektinskih čestica umreženih u rastvorima a) CuSO_4 ; b) $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$; c) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$; d) CuCl_2 .

Slika 8.8. EDS spektri poprečnog preseka pektinskih čestica umreženih u rastvorima a) CuSO_4 ; b) $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$; c) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$; d) CuCl_2 .

Slika 9.1. Vrednosti ugla kvašenja vode u vremenu t .

Slika 9.2. Zavisnost kapaciteta sorpcije q_t od vremena t .

Slika 9.3. Brzina prenosa vodene pare kroz fimove a) nativnog pektina; b) G1/3; c) S1/3.

II Spisak tabela

Tabela 1.1. Literaturni pregled homogenih i heterogenih reakcija dobijanja karboksilatnih estara polisaharida.

Tabela 1.2. Literaturni pregled reakcija dobijanja halogenih derivata polisaharida.

Tabela 3.1. Adsorpcioni modeli.

Tabela 4.1. Zapremine acil-dihlorida korišćenih pri sintezi derivata pektina.

Tabela 7.1. Prečnici čestica u vodenim rastvorima nativnog i modifikovanog pektina.

Tabela 7.2 Temperature ostakljivanja (T_g) nativnog i modifikovanog pektina.

Tabela 8.1 Radijus anjona – r ; polarizabilnost – α , molarni priraštaj površinskog napona – σ , parcijalna molarna zapremina – v . Navedene vrednosti odgovaraju vodenim rastvorima ispitivanih anjona pri koncentraciji 1 M.

Tabela 8.2. Langmuir-ovi i Freundlich-ovi karakteristični parametri i koeficijenti korelacije za sorpciju Cu^{2+} jona u procesu umrežavanja pektina.

Tabela 8.3. Raspodela elementarnog bakra na površini i unutrašnjosti pektinskih čestica umreženih u rastvorima bakarnih soli.

Tabela 8.4. Srednja vrednost prečnika i pritisne čvrtstoće čestica umreženih u rastvorima bakarnih soli koncentracije 0.1 mol dm^{-3} .

Tabela 9.1. Vrednosti površinskog napona razblaženih rastvora nativnog i modifikovanog pektina.

Tabela 9.2 Vrednosti početne (c_0), ravnotežne koncentracije (c_t) i ravnotežnog kapaciteta sorpcije (qt) Cu^{2+} jona u funkciji vremena t .

Tabela 9.3. Kinetički parametri sorpcije.

Tabela 9.4. Vrednosti parametara WVTR i WVP.

Tabela 9.5. Mehanički parametri ispitivanih filmova.

UVOD

Polisaharidi pripadaju posebnoj klasi biopolimera čiji se potencijal primene temelji na njihovoj strukturalnoj raznolikosti, širokoj dostupnosti i pristupačnim cenama. Posebna prednost ovih materijala ogleda se u svojstvima kao što su biokompatibilnost, biodegradabilnost, bioadhezivnost i netoksičnost. Pomenute karakteristike svrstavaju ove materijale u red najperspektivnijih, kako sa industrijskog, tako i sa stanovišta nauke [1]. U cilju postizanja ekoeфикаsnosti, velika pažnja posvećena je istraživanjima koja se tiču pronalaženja alternative konvencionalnim petrohemijskim materijalima i njihove zamene sirovinama iz obnovljivih izvora, gde su polisaharidi prepoznati kao materijali izuzetnog potencijala. Pored brojnih prednosti, šira upotreba polisaharida ograničena je nedostacima koji se ogledaju u teškoćama prilikom prerade i njihovim nezadovoljavajućim mehaničkim i barijernim svojstvima. U cilju poboljšanja svojstava nativnih polisaharida primenjivani su brojni postupci modifikacije koji se međusobno razlikuju u zavisnosti od strukture polisaharida, njegove rastvorljivosti i željene primene.

Osnovni lanac pektina sastoji se od monomernih jedinica D-galakturonske kiseline (GalA), vezanih α -(1-4) glikozidnim vezama, dok se kao bočni lanci mogu naći različiti neutralni šećeri. Američka savezna uprava za hranu i lekove (FDA) ocenila je pektin kao generalno bezbedan, što je doprinelo njegovoj uspešnoj primeni u formulacijama kozmetičkih proizvoda, medicini i farmaciji [2]. Zbog mogućnosti formiranja konzistentnih filmova, pektin se sve češće koristi kao komponenta ambalažnih filmova. Takođe, zbog velikog afiniteta prema jonima teških metala i zadovoljavajućih sorpcionih svojstava, veliki potencijal pektina prepoznat je i u oblasti zaštite životne sredine. Ipak, kao i u slučaju drugih polisaharida, primena pektina ograničena je postojanjem nedostataka koji su usko vezani za strukturu pektinskog molekula. Veliki broj hidroksilnih i karboksilnih grupa u osnovnom pektinskom lancu čini ovaj polisaharid pogodnim kandidatom za veliki broj fizičkih i hemijskih modifikacija. U zavisnosti od tipa reakcije, pektin može biti modifikovan na različite načine: supstitucijom (alkilacija, amidacija, kvarternizacija, tiolacija, oksidacija, itd.), povećanjem dužine polimernog lanca (kalemljenje i umrežavanje) i depolimerizacijom

(hemijska, fizička i enzimaska degradacija). Poslednjih godina veliko interesovanje usmereno je ka razvoju postupaka modifikacije u kojima kao krajnji proizvodi nastaju manje hidrofилni derivati. Ranija istraživanja pokazuju da uvođenje nepolarnih segmenata u pektinski molekul utiče na povećanje hidrofobnosti i dovodi do značajnih promena fizičko-hemijskih svojstava. Alkilacija karboksilnih grupa izdvaja se kao jedna od najčešće korišćenih metoda, pomoću koje su uspešno sintetisani hidrofobni derivati pektina različite strukture [3, 4]. Uvođenjem kratkih nepolarnih segmenata u pektinski molekul mogu se dobiti derivati sa svojstvima površinski aktivnih supstanci [5, 6], pa je njihova karakterizacija i bolje razumevanje strukture veoma važno sa stanovišta primene.

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije polaze od hipoteze da se uvođenjem hidrofobnih segmenata, bočnih grana i dodatnih umreženja u pektinski lanac mogu dobiti derivati unapređenih funkcionalnih karakteristika u odnosu na nativni pektin. Naime, povećanje hidrofobnosti može imati za posledicu poboljšanje barijernih svojstava filmova na bazi pektina, a zajedno sa dodatnim umreženjima pektinskog lanca može doprineti povećanju stabilnosti ovog polisaharida u vodenim sistemima, koje je veoma važno kada je reč o njegovoj upotrebi kao sorbenta. Opis primenjenih eksperimentalnih metoda, kao i analiza proisteklih rezultata data je u okviru tri tematska poglavlja. Prvi deo ovog rada imao je za cilj sintezu acilovanih derivata pektina, njihovu karakterizaciju i identifikaciju uticaja reakcionih parametara (stepen acilacije i vrsta korišćenog agensa) na svojstva dobijenih materijala (Poglavljje VII). Kako je najveći potencijal primene pektina prepoznat u oblasti biosorpcije, posebna pažnja u ovom radu posvećena je boljem razumevanju procesa formiranja kompleksa nativnog pektina i Cu^{2+} jona (Poglavljje VIII). U okviru ovog dela istraživanja ispitan je uticaj specifičnih anjonskih vrsta na afinitet pektina prema Cu^{2+} jonima, kao i svojstva pektinskih čestica nastalih umrežavanjem u vodenim rastvorima soli bakra. U okviru Poglavlja IX ispitana je hidrofobnost acilovanih derivata pektina, uticaj strukturnih modifikacija na kinetičke i ravnotežne parametre procesa sorpcije Cu^{2+} jona iz vodenih rastvora, kao i mehanička i barijerna svojstva filmova na bazi ovih materijala.

Na osnovu dosadašnjih saznanja, tematika obrađena u okviru ove doktorske disertacije, nije bila predmet ranijih istraživanja.

Teorijski deo

Poglavlje I: Metode modifikacije polisaharida

Poglavlje II: Pektin: Struktura, svojstva i metode modifikacije

Poglavlje III: Pektin kao sorbent za uklanjanje teških metala

Poglavlje I

1. Modifikacije polisaharida

Osnovu polisaharidne strukture čini veliki broj monosaharidnih jedinica povezanih glikozidnim vezama. Prema sastavu monomera dele se na homopolisaharide, izgrađene od jedne vrste monosaharidnih jedinica, i heteropolisaharide, koji sadrže dve ili više vrsta monosaharidnih jedinica. Klasifikacija polisaharida može se izvršiti i na osnovu drugih kriterijuma kao što su naelektrisanje (jonski i nejonski), stepen grananja (linearani i razgranati), biološka funkcija (rezervni i strukturni). Prema izvorima iz kojih se izoluju, dele se na polisaharide biljaka, životinja i mikroorganizama.

Nakon decenija nepravednog zanemarivanja, oblast hemije i tehnologije polisaharida poslednjih godina doživljava preporod širokih razmera. Ovakav trend je posledica boljeg sagledavanja njihove funkcionalne svestranosti, usled koje ovi prirodni materijali mogu parirati petrohemijskim. Šira primena polisaharida bila je tradicionalno ograničena na upotrebu proizvoda na bazi celuloze i skroba dobijenih ekstrakcijom iz biljnih izvora. Trenutno, velika pažnja posvećena je razvoju novih funkcionalnih materijala na bazi polisaharida, namenjenih primeni u najrazličitijim oblastima industrije: proizvodnji adheziva, tekstilnih materijala, detergenata, boja, lekova, materijala za izradu biorazgradivih filmova (ambalažni filmovi, prekrivni filmovi za zaštitu poljoprivrednih dobara) [7-9].

Ipak, svojstva materijala na bazi polisaharida često ne zadovoljavaju zahteve koji se tiču njihove specifične primene. Sa ciljem poboljšanja njihovih fizičko-hemijskih karakteristika i proširenja oblasti primene, modifikacije polisaharida predmet su intenzivnog istraživanja. Svojstva nativnih polisaharida drastično variraju u zavisnosti od porekla, predtretmana i primenjenih metoda ekstrakcije. U odnosu na druge klase organskih jedinjenja, polisaharidi se izdvajaju i na osnovu svoje specifične hemijske reaktivnosti. Rutinske organske reakcije derivatizacije polisaharida daju vrlo male prinose čak i pored predtretmana, dok su često i potpuno neprimenljive. U nekim slučajevima, proizvodi reakcije modifikacije dobijaju se pod uslovima za koje se ne može uspostaviti formalna analogija u organskoj hemiji, pa je primena tradicionalnih analitičkih i sintetskih metoda često bezuspešna. Sa ciljem prevazilaženja pomenutih

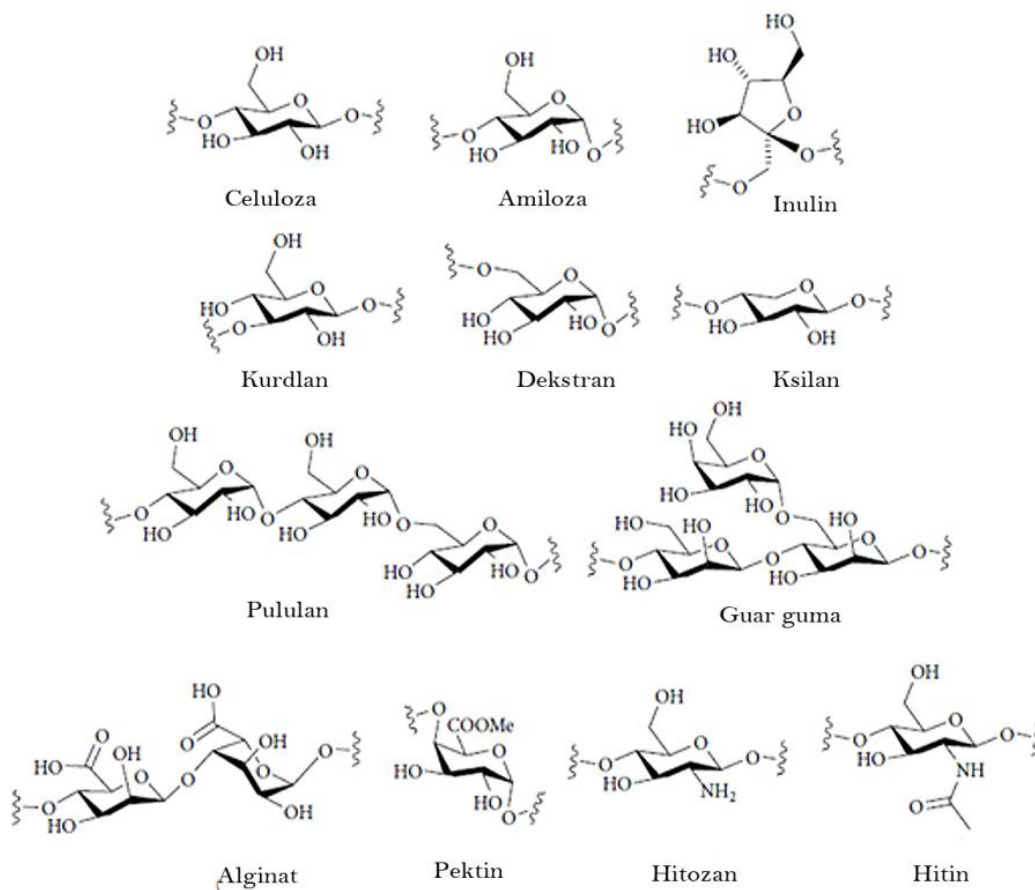
prepreka, postoji stalna potreba za razvojem novih, efikasnijih metoda pripreme i karakterizacije polisaharidnih derivata.

Metode modifikacije uključuju primenu neselektivnih (statističkih) i selektivnih hemijskih reakcija. Kao proizvodi neselektivnih reakcija nastaju nasumično modifikovani derivati, dok selektivne reakcije pružaju mogućnost sinteze derivata sa unapred definisanim strukturnim karakteristikama. Pionirima u oblasti razvoja metoda selektivne modifikacije polisaharida smatraju se Horton, Lindberg, Wolfrom i njihovi saradnici [10, 11]. Jedna od najvažnijih prednosti selektivnih metoda odnosi se na primenu manje agresivnih reagenasa i generalno, blažih uslova reakcije u kojima je stvaranje sporednih proizvoda i/ili degradacija nativnog polimera svedena na minimum ili potpuno eliminisana. U literaturi se, kao uobičajeni proizvodi reakcija u kojima je selektivnost postignuta podešavanjem reakcionih uslova, mogu sresti alkil, hidroksialkil, karboksialkil- i trifenil-etri, kao i različiti, nitratni, fosfatni, halogeni, sulfatni i sulfonatni estri polisaharida [12, 13]. Jednako važna prednost zasniva se na jednostavnijem postupku karakterizacije derivata dobijenih primenom selektivne metode. Naime, nasumična modifikacija, do koje dolazi primenom neselektivnih reakcija, u mnogome otežava određivanje tačne pozicije supstituenata u polisaharidnom lancu [14].

Vrlo važno polje primene selektivne modifikacije polisaharida jeste sinteza derivata definisane strukture i svojstava kao što su viskoznost, hidrofobnost/hidrofilnost, gelirajuća svojstva, formiranje kompleksa sa metalima, kapacitet sorpcije i ponašanje u rastvorima. Selektivne metode veoma su značajne i sa stanovišta biomedicine, čijom primenom je omogućena kontrola aktivnosti biološki aktivnih polisaharida kao i procena uticaja strukture na svojstvo bioaktivnosti (npr. antikoagulatni, antitumorni agensi). Kod pripreme bioloških supstrata (enzima, proteina, itd.) i konjugata polisaharida primena ovih metoda svodi na minimum, ili potpuno isključuje hemijske reakcije umrežavanja i pojavu sporednih reakcionih proizvoda. Takođe, omogućena je bolja kontrola strukture preparata kao što su imunoregulatori i proteini sa specifičnim receptorima. Modifikovani polisaharidi uspešno se primenjuju u formulacijama za kontrolisano otpuštanje lekovitih supstanci i uklanjanje teških metala, za pripremu selektivno propustljivih membrana i supstrata za elektroforezu i hromatografiju, kao i za imobilizaciju enzima i ćelija.

Detaljan pregled metoda hemijske i enzimске derivatizacije polisaharida dat je još osamdesetih godina prošlog veka [15]. U ovom preglednom radu metode su klasifikovane na osnovu vrste funkcionalne grupe koja je predmet modifikacije, bez posebnog osvrta na selektivnost. Metode za uklanjanje sulfatne, acetilne i piruvatne grupe iz strukture polisaharida, kao i metode dobijanja manjih molekula polazeći od polisaharida, detljano su opisane od strane različitih autora [16].

U nastavku, biće dat pregled savremene literature koja se tiče hemijskih modifikacija u kojima osnovni lanac polisaharida ostaje neizmenjen, odnosno, očuvana je polisaharidna struktura proizvoda reakcije. Osnovne strukturne jedinice polisaharida čije će modifikacije biti opisane prikazane su na Slici 1.1.



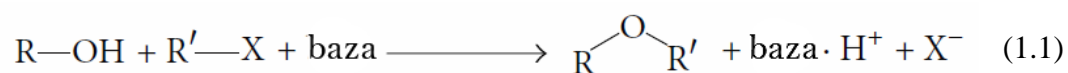
Slika 1.1 Struktura monosaharida koji ulaze u sastav različitih polisaharida.

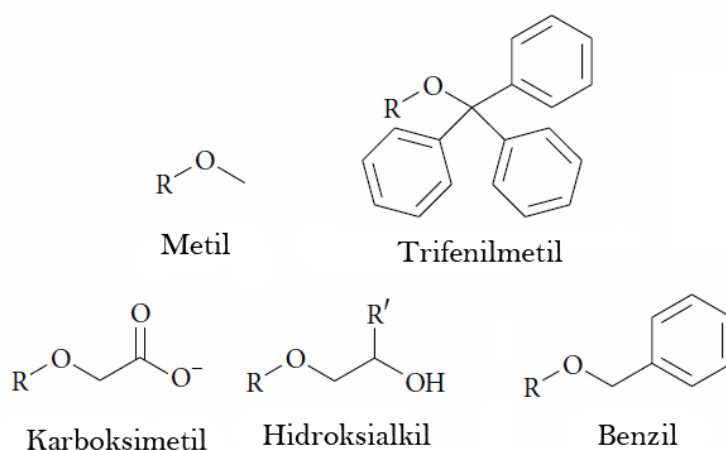
1.1 Reakcije hidroksilne grupe polisaharida

Reakcije u kojima učestvuju hidroksilne grupe monosaharida obuhvataju formiranje etara i estara kao krajnjih proizvoda. Kod ove vrste reakcija stepen supstitucije (DS) varira, pa može biti veoma nizak kada je derivatizovano samo nekoliko hidroksilnih grupa u lancu, i veoma visok, kada su sve dostupne hidroksilne grupe proreagovale u postupku modifikacije. Kako su reakcije najčešće regioselektivne i samo jedna hidroksilna grupa monosaharidne jedinice učestvuje u reakciji, DS vrednost obično se nalazi između dve ekstremne vrednosti. Iako regioselektivne reakcije pružaju mogućnost dobijanja proizvoda tačno definisane strukture, u radu sa polisaharidima postoje određeni nedostaci primene ovog pristupa. Kod monomernih molekula, gde je regioselektivnost nepotpuna (dolazi do formiranja regioizomera, di- i tri-supstituisanih proizvoda reakcije, itd.) proizvod reakcije može biti prečišćen od ostalih komponenti kristalizacijom ili hromatografijom. Ove metode prečišćavanja ne mogu se primeniti kod polisaharida zbog postojanja kovalentnih veza između monosaharidnih ostataka definisane strukture i onih koji su nastali kao proizvod nasumične modifikacije. Zbog toga, za sintezu polisaharidnih derivata homogene strukture neophodno je primeniti reakcije modifikacije najvišeg stepena regioslektivnosti.

1.1.1 Eterifikacija

Eterifikacija podrazumeva reakciju između hidroksilne grupe polisaharida i agensa za alkilovanje u prisustvu baze (Jednačina 1.1). Kao agensi za alkilovanje uglavnom se koriste alkil-halogenidi (hloridi, bromidi, jodidi) ili, nešto ređe, alkil-sulfonati.





Slika 1.2. Strukturne jedinice nekih polisaharidnih etara.

Reakcije alkilacije najčešće se izvode u organskom rastvaraču, obzirom da agensi za alkilovanje podležu hidrolizi u reakciji sa vodom. Strukturne jedinice nekih polisaharidnih etara prikazane su na Slici 1.2.

Alkil i benzil-etri

Reakcije dobijanja celuloznih etara nešto su komplikovanije u odnosu na reakcije dobijanja estara ovog polisaharida, ali su u homogenim sistemima ipak moguće uz upotrebu odgovarajućeg rastvarača. Pokazano je da je za ovu vrstu reakcije najpogodniji rastvarač 1,3-dimetil-2-imidazolidinon (DMI)/litijum-hlorid (LiCl) [11]. Potpuna eterifikacija celuloze (tj. tri-*O*-alkilacija) postignuta je i u prisustvu drugih rastvarača sa različitim alkil grupama [17-19]. Slični reakcioni uslovi uspešno su primenjeni za eterifikaciju drugih polisaharida, kao što su ksilan, amiloza, skrob, hitin i pululan [19-23].

Karboksimetil-etri

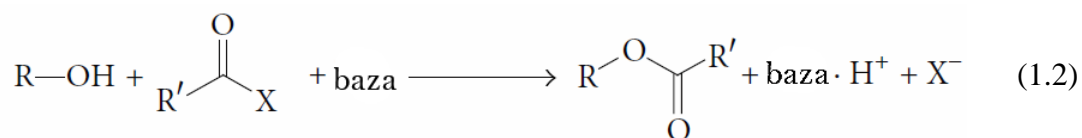
Karboksimetil celuloza je veoma važan industrijski polimer, pa je sinteza derivata ovog tipa ispitivana u najvećoj meri. U literaturi su opisani načini sinteze karboskimetil-etara ksilana, guar gume i glukomanana [19, 24].

Hidroksietil-etri

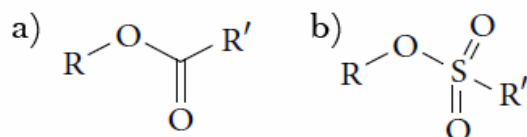
Pored derivata celuloze, koji se industrijski proizvode u reakciji otvaranja epoksidnog prstena, ovaj tretman, koji podrazumeva primenu etilen-oksida ili propilen-oksida i natrijum-hidroksida, uspešno je primenjen i za sintezu etara ksilana i guar gume [19].

1.1.2 Esterifikacija

Esterifikacija podrazumeva reakciju između hidroksilne grupe saharida i agensa za acilovanje, po mehanizmu predstavljenim u Jednačini 1.2.



Na Slici 1.3 prikazani su primeri strukture karboksilatnih i sulfonatnih estara.



Slika 1.3. Opšta struktura polisaharidnih estara: a) karboksilatni; b) sulfonatni.

Acetatni i drugi karboksilatni estri

U jako kiseljoj sredini, karboksilatni estri mogu se dobiti korišćenjem karboksilnih kiselina kao agenasa za acilovanje (Fisher-ova esterifikacija), dok se u baznoj sredini dobijaju korišćenjem reaktivnijih derivata kao što su hloridi i anhidridi kiselina.

Primena sumporne kiseline kao katalizatora u reakciji Fisher-ove esterifikacije dovodi do parcijalnog sulfonovanja proizvoda, pa nije moguće dobiti triacetatne estre. Uspešna sinteza triacetatnih estara moguća je u prisustvu perhlorne kiseline (HClO₄), jer između

ovog katalizatora i celuloze ne dolazi do uspostavljanja kovalentne veze u toku reakcije. Reakcija sa reaktivnijim derivatima kiselina zahteva prisustvo baze u stehiometrijskom odnosu (piridin, trietilamin).

Na osnovu agregatnog stanja reaktanata i proizvoda, reakcije dobijanja karboksilatnih estara mogu se podeliti na homogene i heterogene. Homogene reakcije podrazumevaju rastvorljivost polisaharida u reakcionom medijumu. Kod heterogenih reakcija polazni polisaharid je nerastvoran u reakcionom medijumu i do rastvaranja dolazi naknadno u toku reakcije. U Tabeli 1.1 dat je literaturni pregled homogenih i heterogenih reakcija dobijanja karboksilatnih estara različitih polisaharida.

Tabela 1.1. Literaturni pregled homogenih i heterogenih reakcija dobijanja karboksilatnih estara polisaharida.

<i>Homogene reakcije</i>			
Polisaharid	Rastvarač	Agens za acilovanje/katalizator	Literatura
Celuloza	Dimetilacetamid (DMA)/LiCl	Propionil-hlorid/trietilamin	[25]
Skrob	DMA/LiCl	Acil-hlorid/piridin	[26]
Ksilan	Dimetilformamid (DMF)/LiCl	Acetanhidrid/piridin	[27]
Alginat	DMSO/tetra-n-butilamonijum fluorid (TBAF)	Acetanhidrid/piridin	[28]
Hitozan	Voda	Karboksilna kiselina(C2-C9)/H ₂ SO ₄	[29]
<i>Heterogene reakcije</i>			
Celuloza	Piridin	Hlorid kiseline	[30]
Glukomanan	Benzen	Palmitoil-hlorid/piridin	[31]
Arabinoksilan	Anhidrid kiseline	Metansulfonska kiselina	[32]

Sulfonatni estri

Sulfonatni estri podležu nukleofilnim supstitucijama po S_N2 mehanizmu, o čemu će biti reči u nastavku, pa se njihova primena zasniva upravo na ovom aspektu reaktivnosti. Reakcija sinteze sulfonatnih estara odlikuje se visokom regiselektivnošću i odvija se posredstvom primarnih OH grupa u strukturi polisaharida. Najčešći polisaharidni

sulfonatni estri su toluensulfonati (tozilati) i metansulfonati (mezilati) [33]. Tozilati se dobijaju u heterogenoj reakciji polisaharida sa tozil-hloridom u prisustvu piridina. Kod reakcija u heterogenoj sredini zbog visokih temperatura i dugih vremena reakcije često dolazi do pojave sporednih proizvoda. Stvaranje sporednih proizvoda svedeno je na minimum kod reakcija u homogenoj sredini [34]. Tozilacijom i mezilacijom celuloze u rastvoru DMA/LiCl dobijeni su derivati uređene strukture. Nedavno je objavljena studija uspešne tozilacije celuloze u homogenoj sredini, korišćenjem jonske tečnosti [35]. Jednako uspešno sintetisani su i sulfonatni estri drugih polisaharida kao što su hitin, dekstran, glukomanan i pululan [19, 36-38].

Važno je napomenuti da se estri polisaharida mogu uspešno sintetisati pod uslovima Mitsunobu-ove reakcije, koja predstavlja konvencionalnu reakciju kondenzacije između alkoholne funkcije i nukleofilne karboksilne kiseline. U osnovi Mitsunobu-ove reakcije je oksidoredukcija koja se odvija između dietilazodikarboksilata, oksidacionog agensa, i trifenilfosfina, koji se dodaje u svojstvu redukcionog sredstva. Mehanizam uključuje aktivaciju alkoholne grupe i stvaranje odlazeće fosfonijum grupe, koja se u narednom stupnju zamenjuje nukleofilom. Ova reakcija se odlikuje regioselektivnošću i visokim prinosima, a u supstituciji obično učestvuje primarna alkoholna grupa [39]. Bez obzira na prednosti koje nudi, ova reakcija se ne primenjuje često za modifikaciju polisaharida.

1.1.3 Regioselektivnost reakcija eterifikacije i esterifikacije

U reakcijama eterifikacije i esterifikacije, skoro bez izuzetka, učestvuju primarne hidroksilne grupe. Razlika u reaktivnosti između primarnih i sekundarnih OH grupa može da varira, pa je često vrlo teško uvideti jasnu razliku kada je u pitanju regioselektivnost reakcije u odnosu na OH grupe C6 atoma i svih ostalih OH grupa koje se mogu naći na C2, C3 i C4 atomima monosaharidne jedinice. Konstanta brzine reakcije supstitucije u kojima učestvuju primarne i sekundarne OH grupe u toku reakcije je nepromenljiva, pa ukoliko primarne grupe reaguju brže, njihova koncentracija u toku reakcije opada većom brzinom. Stoga, kako reakcija napreduje, brzine reakcije primarnih i sekundarnih OH grupa postaju približno jedanke, što dovodi do smanjenja regioselektivnosti. Međusobne razlike u reaktivnosti sekundarnih OH grupa koje ulaze u sastav jednog polisaharida veoma je teško odrediti. Smatra se da je reaktivnost ovih

grupa u organskim rastvaračima približno jednaka, pa se etarske i estarske veze sa jednakom verovatnoćom mogu formirati posredstvom bilo koje sekundarne OH grupe [40].

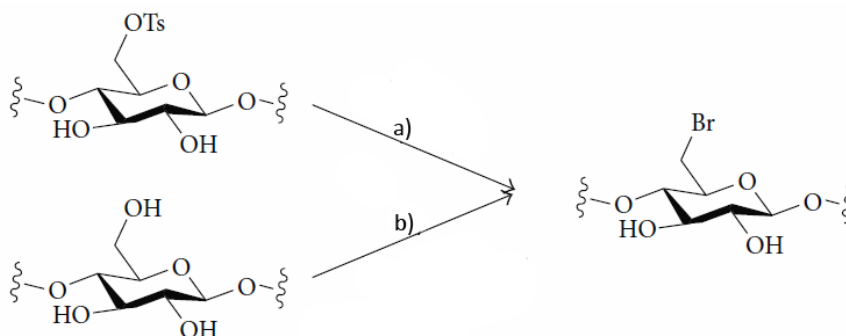
1.1.4 Mehanizam reakcija nukleofilne supstitucije kod polisaharida

Do zamene funkcionalne OH grupe polisaharida drugom funkcionalnom grupom dolazi u reakciji nukleofilne supstitucije, koja se može odvijati putem dva različita mehanizma: monomolekulska nukleofilna supstitucija (S_N1) i bimolekulska nukleofilna supstitucija (S_N2). S_N1 mehanizam ima dva stupnja. U prvom stupnju, najpre se udalji odlazeća grupa, nakon čega se formira karbokatjon. U drugom stupnju, nukleofilni reagens napada karbokatjon i formira sigma vezu. S druge strane, reakcija po S_N2 mehanizmu ima samo jedan stupanj u kome se napad nukleofila i uklanjanje odlazeće grupe odvija istovremeno. Za razliku od alifatičnih ugljovodonika, kod polisaharida se reakcija nukleofilne supstitucije gotovo nikada ne odvija po S_N1 mehanizmu, bez obzira da li je reagujuća OH grupa primarna ili sekundarna. Karbokatjon, formiran u prvom stupnju reakcije koja prati S_N1 mehanizam, snažno je destabilisan privlačenjem slobodnih elektronskih parova hidroksilnih grupa, pa se sve reakcije nukleofilne supstitucije kod polisaharida odvijaju po S_N2 mehanizmu. Sterne smetnje, kao i nepovoljan elektronski efekat (efekat polja), uzrokovan neposrednom blizinom alkoksi i aciloksi grupa, destabilizuje sekundarne OH grupe i čini saharidni elektrofil nedovoljno reaktivnim i u reakcijama po S_N2 mehanizmu. Ovaj empirijski efekat naziva se Oldham-Rutherfordovo pravilo [41]. Činjenica da reakcije po S_N2 mehanizmu daju visoke prinose pri sintezi monosaharidnih derivata, a da su gotovo neprimenjive kod polisaharida, predstavlja izuzetan izazov u oblasti hemije polisaharida.

1.1.5 Halogenovanje

Jedan od načina za uvođenje halogene grupe jeste tretman C-6 sulfonata solima halogenida u prisustvu acetona kao rastvarača (Finkelstein-ova reakcija) [33]. Nedostatak ove metode ogleda se u tome što se, polazeći od nativnih polisaharida, sinteza halogenida ne odvija u jednom koraku, već uključuje međukorak sinteze sulfonata. Polisaharidi mogu biti halogenovani direktno, primenom klasičnih agenasa za

halogenovanje kao što je tionil-hlorid (SOCl_2), pri čemu se može obezbediti regioselektivnost bez prethodne zaštite ostalih reaktivnih funkcionalnih grupa. U slučaju celuloze, najpre će biti halogenovan C-6 atom monosaharidne jedinice. Pod određenim uslovima do halogenovanja može doći i na C-3 atomu, dok atom C-2 obično ne učestvuje u reakciji [42]. Dva pomenuta načina za uvođenje halogene grupe prikazana su na Slici 1.4.



Slika 1.4. Reakcija halogenovanja celuloze (a) iz sulfonata u reakciji sa solima halogenida; (b) direktno u reakciji sa SOCl_2 .

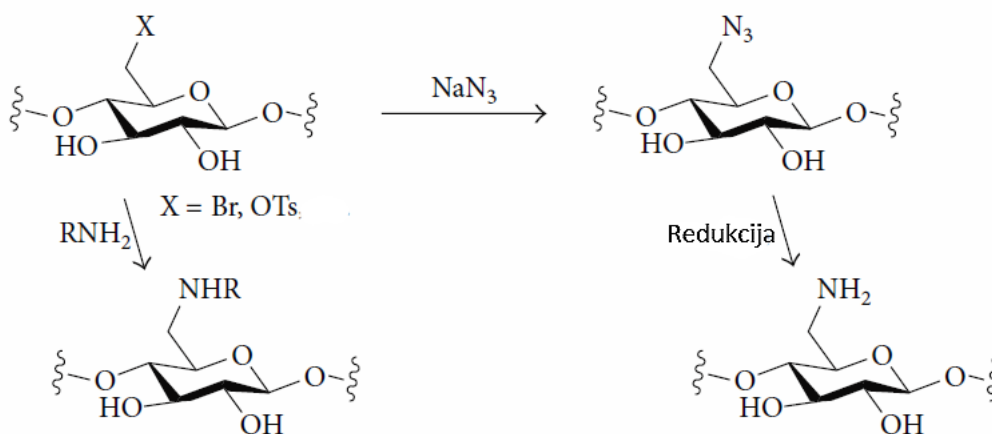
U Tabeli 1.2 dat je literaturni pregled reakcija dobijanja halogenih derivata različitih polisaharida.

Tabela 1.2. Literaturni pregled reakcija dobijanja halogenih derivata polisaharida.

Hlorovanje			
Polisaharid	Rastvarač	Agensi za halogenovanje/ katalizator	Literatura
Celuloza	(DMA)/LiCl	N-hlorsukcinimid (NCS)/trifenilfosfin (PPh_3)/LiCl	[43]
Amiloza	(DMF)/LiCl	$\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$	[44]
Inulin	DMF	$\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$	[45]
Pululan	DMF	$\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$	[46]
Bromovanje			
Celuloza	DMA/litijum-bromid (LiBr)	Tribromoimidazol/ PPh_3 /imidazol	[47]
Amiloza	DMF/LiBr	N-bromsukcinimid (NBS)/ PPh_3	[44]
Hitin	DMA/LiBr	N-bromsukcinimid (NBS)/ PPh_3	[48]
Kurdlan	DMF/LiCl	CBr_4 / PPh_3	[49]

1.1.6 Aminacija

Modifikacija strukture polisaharida uvođenjem različitih grupa koje sadrže azot u reakcijama nukleofilne supstitucije nije ispitana u velikoj meri. Kao nukleofili, u ovim reakcijama mogu se koristiti amini ili azidi (Slika 1.5).

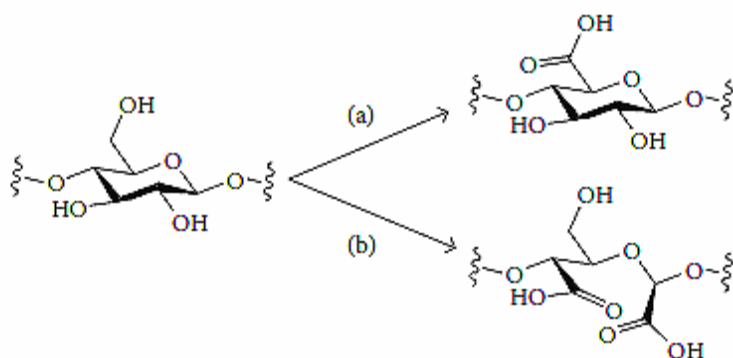


Slika 1.5. Uvođenje amino grupe primenom amina i azida.

U reakcijama ovog tipa prednost primene azida u odnosu na amine zasniva se na monovalentnosti azota u ovim jedinjenjima, zbog koje je isključena mogućnost višestruke supstitucije i stvaranja umreženja [50]. Uvođenjem azidne grupe uspešno su sintetisani različiti derivati celuloze [51], skroba [52], kurdiana [49], hitozana [53], pululana i dekstrana [54], dok su u prisustvu amina sintetisani isključivo derivati celuloze [55-57].

1.2 Oksidacija polisaharida

U zavisnosti od uslova pod kojima se izvodi, reakcija oksidacije polisaharida može rezultovati derivatima različite strukture (Slika 1.6). Primarna alkoholna grupa (npr. na C-6 atomu celuloze ili amiloze) može biti oksidovana do aldehida ili dalje do karboksilne kiseline. Oksidacija do karboksilne kiseline vodi do formiranja poliuronske strukture polisaharida, karakteristične za pektine i alginat.



Slika 1.6. Različiti proizvodi reakcije oksidacije polisaharida: a) oksidacija primarne OH grupe; b) oksidativno raskidanje diolne veze.

Drugi način oksidacije podrazumeva reakciju otvaranja prstena usled oksidativnog raskidanja 1,2-diolne veze u strukturi polisaharida, pri čemu nastaju dikarbonilna jedinjenja. Struktura koja je podložna ovoj vrsti oksidacije karakteristična je za celulozu, amilozu i ksilozu [38].

1.2.1 Oksidacija primarne alkoholne grupe

Do oksidacije primarne OH grupe monosaharida dolazi dejstvom kiseonika u prisustvu platine kao katalizatora [58]. Mogućnost ponovne upotrebe katalizatora i odsustvo neželjenih sporednih proizvoda čini ovu metodu veoma atraktivnom.

Kada je reč o oksidaciji polisaharida, pomenuti postupak ima veliki nedostatak zbog generalno niskog stepena oksidacije koji se javlja usled heterogenih uslova reakcije uspostavljenih u ovom sistemu [59]. Ipak, u literaturi su opisane sinteze u kojima su primenom ove metode dobijeni uronski derivati inulina i galaktana zadovoljavajućeg stepena oksidacije [60, 61].

Početakom devedesetih godina prošlog veka, Van Bekkum je došao do saznanja da se katalizator, 2,2,6,6-tetrametil-piperidin-1-il)oksil (TEMPO), može koristiti za regioselektivnu oksidaciju primarnih OH grupa polisaharida u homogenim uslovima, pri čemu je mogućnost reakcije sekundarnih OH grupa potpuno isključena [62]. Upotreba ovog katalizatora pogoduje kod veoma selektivnih oksidacija na C-6 atomima nekih

polisaharida kao što su pululan i skrob [63]. Na osnovu analize ^{13}C NMR spektra proizvoda oksidacije, procenjena selektivnost ove reakcije u odnosu na primarne alkoholne grupe veća je od 95%. Činjenica da se oksidacijom dobijaju derivati poliuronske strukture znatno veće rastvorljivosti svakako je doprinela široj primeni ove metode modifikacije. U polisaharide koji su uspešno oksidovani primenom TEMPO katalizatora spadaju skrob, amiloza, amilopektin, amilodekstrin, dekstran, pululan, alternan, inulin, hitin, hitozan i celuloza [62-66].

1.2.2 Oksidativno raskidanje 1,2-diolne veze

Za reakciju oksidativnog raskidanja 1,2-diolne veze između C-2 i C-3 atoma, u kojoj dolazi do otvaranja prstena monosaharidne jedinice, veoma često se koriste perjodati. U ovoj reakciji najpre dolazi do formiranja aldehida, koji se dalje oksiduje do karboksilne kiseline. Uspešnost ovog postupka, uz primenu različitih oksidanata, ispitan je na primeru oksidacije skroba i maltodekstrina [58]. Primena oksidanata kao što su tungstat/ H_2O_2 i hipohlorit, dovela je do značajne degradacije polisaharidnog lanca. Najbolji rezultati dobijeni su u reakciji koja se odvija u dva stupnja. U prvom stupnju delovanjem perjodata dolazi do reakcije otvaranja prstena i formiranja aldehida, dok se u drugom stupnju aldehyd oksiduje do karboksilne kiseline primenom hipohlorita. Utvrđeno je da su derivati dobijeni u reakciji otvaranja prstena podložniji kiselo-katalizovanoj depolimerizaciji (npr. acetalna hidroliza) od njihovih neoksidovanih analoga. Efikasnost ove oksidacije može se poboljšati dodatkom soli metala, koje dovode do narušavanja intramolekulskih vodoničnih veza i povećanja rastvorljivosti polisaharida [38].

1.3 Reakcije karboksilne grupe polisaharida

1.3.1 Formiranje estara

U reakcijama esterifikacije, karboksilne grupe u strukturi polisaharida mogu se ponašati kao elektrofil i kao nukleofili. Preduslov za formiranje estara u reakciji u kojoj je karboksilna grupa elektrofil predstavlja aktivacija ove grupe, što se može postići njenim prevođenjem u hlorid ili primenom snažnog kiselog katalizatora (Fisher-ova esterifikacija). Nakon aktivacije, karboksilna grupa u reakciji sa nukleofilom alkohola

formira estar. Ovaj postupak ima određene nedostatke koji ograničavaju njegovu primenu u slučaju modifikacije polisaharidnih uronskih kiselina: (i) kompetitivna reakcija između molekula vode i alkoholnih nukleofila dovodi do hidrolize aktivirane karboksilne grupe; (ii) nezaštićene alkoholne grupe u strukturi polisaharida takođe učestvuju u kompetitivnoj reakciji sa dodatim alkoholom, pa može doći do formiranja cikličnih proizvoda reakcije; (iii) Fisher-ova esterifikacija često dovodi do depolimerizacije nativnog polisaharida. Drugi način podrazumeva deprotonovanje karboksilne grupe dejstvom slabe baze, pri čemu dolazi do stvaranja karboksilatnog anjona. U ovom obliku, u reakciji esterifikacije sa različitim agensima za alkilovanje, karboksilna grupa učestvuje kao nukleofil [67, 68].

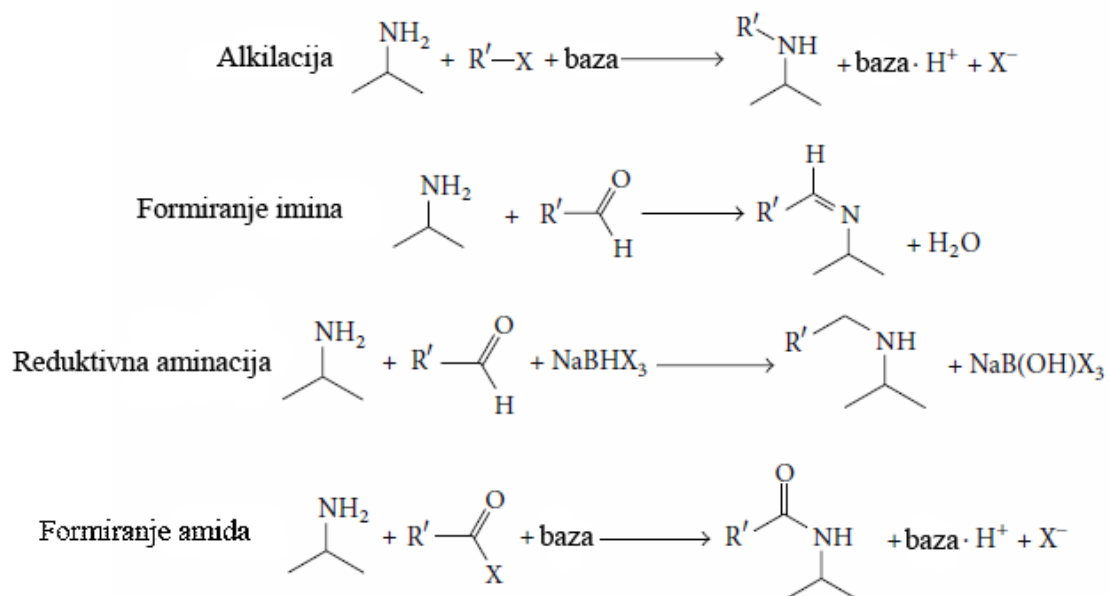
1.3.2 Formiranje amida

Da bi stupili u reakciju sa aminima, uronske kiseline najpre se moraju prevesti u aktivirani oblik. Aktivacija se u većini slučajeva ostvaruje uz pomoć agensa za kuplovanje kao što su *N*, *N'*-dicikloheksilkarbodiimid (DCCI) ili 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimid (EDCI). U reakciji sa aminima i u prisustvu vodorastvornog agensa za kuplovanje, EDCI, uronske kiseline alginata uspešno su prevedene u amide [69]. Amidi su uspešno sintetisani i u reakciji tetrabutilamonijum soli (TBA) alginata sa decilaminom. Kao rastvarač korišćen je DMF, a kao agens za kuplovanje 2-hloro-1-metilpiridinium jodid (CMPI) [70]. U reakciji formiranja amida, elektrofilni derivati karboksilnih kiselina mogu se javiti i u obliku estara. Estri reaguju sa aminima u reakciji direktne aminolize. Primenom ovog postupka uspešno su sintetisani amidi visokoesterifikovanog pektina pod heterogenim uslovima [71].

1.4 Reakcije amino grupe polisaharida

U reakcije u kojima saharidni azot učestvuje kao nukleofil najčešće stupaju polisaharidi sa slobodnom amino grupom u svojoj strukturi (npr. hitozan), ali se takođe mogu sresti i kod drugih aminovanih derivata. Kao proizvodi ovih reakcija mogu biti nagrađeni amidi, amini višeg reda, amonijum soli ili imini. Zbog razlike u reaktivnosti kiseoničnih i azotnih nukleofila, aminovane derivate moguće je sintetisati bez prethodne zaštite hidroksilnih grupa. Svakako, pod određenim uslovima može doći do O-alkilacije i O-

acetilacije, ali se ovakav ishod može izbeći izborom optimalnih reakcionih parametara, pod kojima do derivatizacije dolazi isključivo na atomu azota.

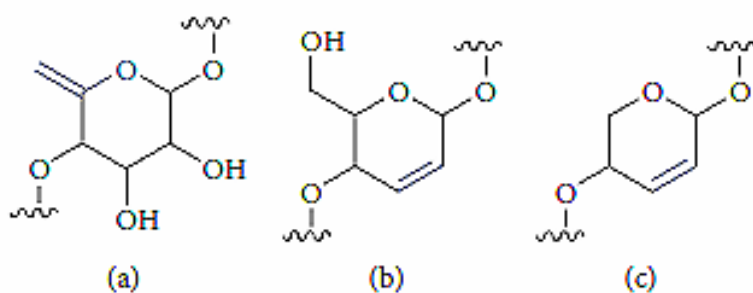


Slika 1.7. Šematski prikaz reakcija amino grupe.

Generalno, reakcije u kojima azot amino grupe polisaharida učestvuje kao nukleofil mogu se podeliti na reakcije alkilacije [72-74], reduktivne aminacije [75-77] i na reakcije u kojima dolazi do formiranja imina [78] i amida [79, 80]. Šematski prikaz mehanizama ovih reakcija prikazan je Slici 1.7.

1.5 Nezasićeni derivati polisaharida

Derivati polisaharida kod kojih se u strukturi gradivnih jedinica, monosaharida, mogu naći dvostruke C=C veze nazivaju se nezasićenim. U zavisnosti od toga da li je jedan od atoma ugljenika dvostruke C=C veze direktno vezan za atom kiseonika ili nije, razlikuju se dve vrste celuloznih derivata ovog tipa: enolni etri i alkeni (Slika 1.8).



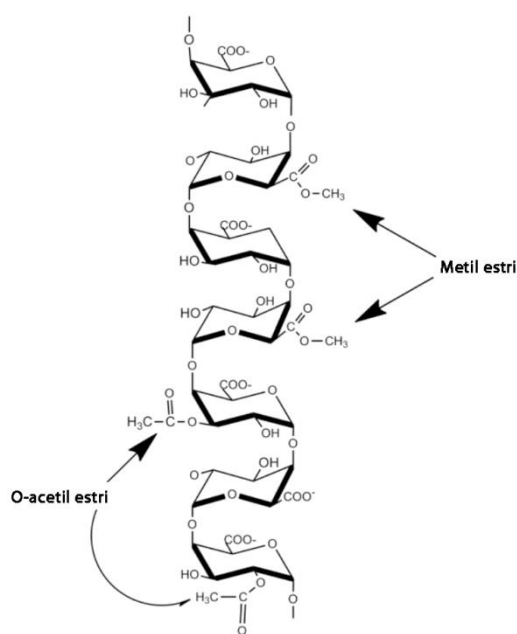
Slika 1.8. Nezasićeni derivati a) 5,6-nezasićeni derivat celuloze (enolni etar); b) 2,3-nezasićeni derivat celuloze (alken); c) 2,3-nezasićeni derivat pentoznog šećera.

Očekivano, ove dve klase jedinjenja u velikoj meri se razlikuju po pitanju reaktivnosti. Derivati celuloze kod kojih se nezasićenje nalazi između C-5 i C-6 atoma pripadaju klasi enolnih etara [81]. Osim derivata celuloze, sintetisani su i 5, 6-nezasićeni derivati amiloze. U klasu alkena svrstavaju se derivati celuloze kod kojih se nezasićena C=C veza javlja se između C-2 i C-3 atoma. Ksilan i amiloza se takođe mogu prevesti u 2,3-olefinski tip derivata [82].

Poglavlje II

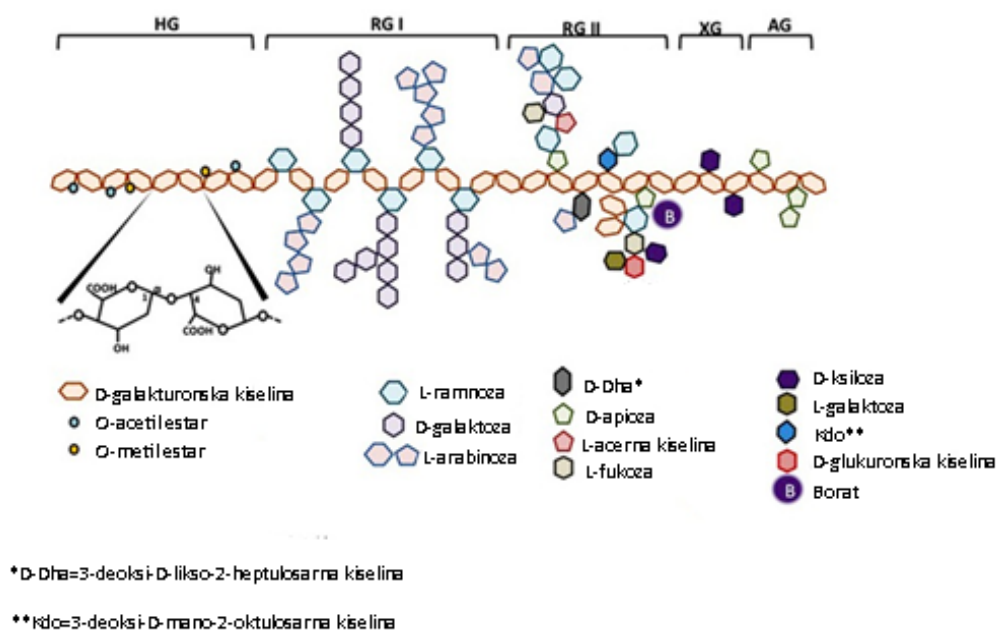
2. Pektin: struktura, svojstva i metode modifikacije

Pektini su strukturno i funkcionalno najkompleksniji polisaharidi koji učestvuju u izgradnji ćelijskog zida biljaka, gde čine oko 1/3 ukupne suve materije. Najveća koncentracija pektina nalazi se u srednjoj lameli ćelijskog zida i postepeno opada idući od primarnog zida ka plazma membrani [83]. Prvi put ga je izolovao i opisao Henri Braconnot 1825. godine [84]. Rezultati brojnih istraživanja ukazuju da pektin kao strukturna komponenta učestvuje u različitim procesima kao što su rast biljke, morfogeneza, ćelijska adhezija, hidratacija semena, razvoj korenog sistema, itd. [85, 86]. Makromolekul pektina se sastoji od nekoliko stotina do oko hiljadu saharidnih jedinica povezanih u lancu, što odgovara prosečnoj molarnoj masi od 50 000 do 150 000 g/mol. Galakturonska kiselina (GalA) predstavlja osnovnu gradivnu jedinicu i zastupljena je oko 70% u strukturi svih vrsta pektina. U molekulu pektina, jedinice galakturonske kiseline povezane su kovalentno preko atoma kiseonika označenih kao O1 i O4.



Slika 2.1. Struktura homogalakturonana, HG.

U strukturi pektina razlikuju se tri glavna polisaharida koja sadrže GalA u većoj ili manjoj meri. Najzastupljeniji među njima je homogalakuronan (HG), linearni homopolimer u čijoj strukturi dominiraju ponavljajući segmenti GalA povezani α -1, 4 glikozidnom vezom (Slika 2.1). Lanac HG može biti delimično metoksilovan na C-6 atomu i O-acetlovan na O-2 ili O-3 atomima galakturonske kiseline [87], a može biti esterifikovan i nekim drugim grupama čija struktura nije do kraja razjašnjena [88, 89]. Acetilovane grupe HG karakteristične su za pektine izolovane iz šećerne repe i krompira [87]. Lanac HG obično sadrži oko 100-200 GalA jedinica, mada se u strukturi nekih pektina mogu naći i kraći segmenti [90]. U ostale pektinske polisaharide, daleko složenije strukture, ubrajaju se ramnogalakuronan II (RG II), ksilogalakuronan (XG), apiogalakuronan (AG) i ramnogalakuronan I (RG I). Strukturni domeni pektinskih polisaharida šematski su prikazani na Slici 2.2.

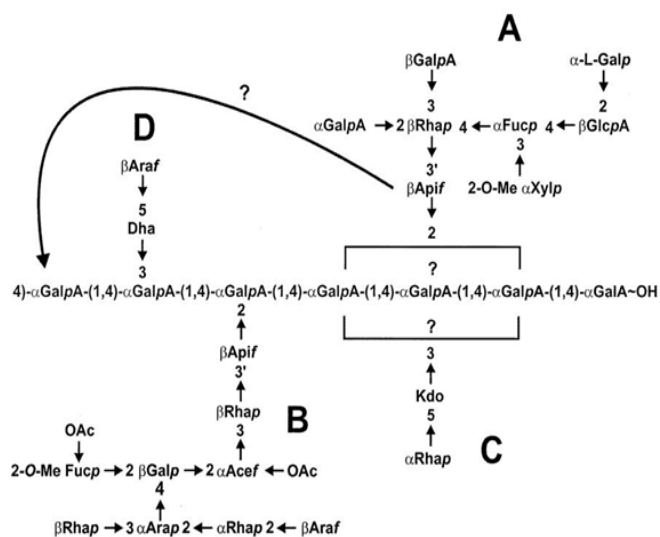


Slika 2.2. Šematski prikaz strukturnih domena pektinskih polisaharida.

U strukturi pektina RG I je zastupljen sa 20–35%. Osnovni lanac se sastoji od niza ponavljajućih disaharidnih jedinica $[-\alpha$ -d-GalA-1,2- α -l-Rha-1-4] $_n$, za koji mogu biti vezane različite vrste šećera i oligosaharida u vidu bočnih lanaca [91, 92]. Tačan razlog strukturne heterogenosti ovog domena nije poznat, ali svakako izaziva interesovanje

velikog broja istraživača. U većini slučajeva, 20 do 80% ramnozil ostataka RG-I lanca sadrži pojedinačne, linerane ili razgranate ostatke α -L-arabinofuranoze (Araf), i/ili β -D-galaktopiranoze (Galp), a njihova zastupljenost i dužina lanca varira u zavisnosti od biljnog izvora iz kojeg je pektin izolovan [93].

Ramnogalakturonan II (RGII) je najkompleksniji pektinski polisaharid koji je u strukturi pektina zastupljen sa 10% (Slika 2.3). Glavni lanac se sastoji od najmanje osam 1,4- α -vezanih GalA ostataka, supstituisanih sa oko 12 različitih tipova šećera u bočnim lancima, uključujući apiozu, acernu kiselinu i 2-keto-3-deoksi-D-mano-oktulosonsku kiselinu (KDO) [94]. Nonasaharid (bočni lanac B) i oktasaharid (bočni lanac A) vezani su za C-2 atome ostataka GalA glavnog lanca, dok su dva strukturno različita disaharida (bočni lanci C i D) vezana za C-3 glavnog lanca. Druga dva supstituisana galakturonana, ksilogalakturonan (XG) i apiogalakturonan (AG), zastupljeni su u manjoj meri. XG nastaje O-3 supstitucijom GalA ostatka ksilozom [95]. Supstitucija GalA ostataka apiozom na O-2 i O-3 atomima dovodi do formiranja apiogalakturonana, polisaharida koji je prvi put izolovan iz biljnog tkiva lokvanja [96]. Ove biosintetske modifikacije dovode do značajnih promena funkcionalnih svojstva HG domena.



Slika 2.3. Opšta struktura RG II.

Kako je za izolaciju HG, RG I i RG II neophodno primeniti hemijski ili ezimski postupak, veruje se da su ovi strukturni polisaharidi u makromolekulu pektina povezani kovalentno. Ipak, ne postoji jedinstven stav o redosledu međusobnog povezivanja pektinskih polisaharida, kao ni o načinu njihovog povezivanja sa ostalim polisaharidima koji učestvuju u izgradnji ćelijskog zida biljaka. Najveći broj objavljenih studija o strukturi pektina govori u prilog tome da su ovi polisaharidi povezani u poredku koji je šematski prikazan na Slici 2.2 [93, 97, 98].

Odnos esterifikovanih u odnosu na ukupan broj GalA jedinica u pektinskom lancu označen je kao stepen esterifikacije – DE. U odnosu na DE, pektini se klasifikuju na visokoesterifikovane (HM) koji imaju vrednosti $DE > 50\%$ i niskoesterifikovane (LM), sa vrednostima $DE < 50\%$. Teorijski, vrednost stepena esterifikacije pektina može varirati od 0 do 100%, što zavisi od faktora kao što su vrsta biljke iz koje je izolovan, tip i zrelost biljnog tkiva. Kod komercijalnih pektina vrednost DE obično se nalazi u intervalu od 60-75%. Ovaj parametar veoma je značajan za razumevanje mehanizma geliranja i hidrodinamičkih svojstava pektina [99].

2.1 Svojstva rastvora pektina

Pektini, kao i njihove jednovalentne katjonske soli, rastvorljivi su u vodi na sobnoj temperaturi. Kompleksi koje pektin gradi sa dvovalentnim i trovalentnim jonima metala slabo su rastvorni u vodi ili čestice, potpuno nerastvorni. U dodiru sa vodom, pektin hidrira brzo i ima tendenciju da formira grudvice [100].

Razblaženi rastvori pektina su njutnovske tečnosti, dok u umerenim koncentracijama poprimaju nenjutnovske, pseudoplastične karakteristike. Rastvorljivost pektina i viskoznost pektinskih rastvora zavisi od molarne mase, DE, koncentracije, pH vrednosti rastvora, vrste i koncentracije različitih jonskih vrsta prisutnih u rastvoru. Kako u svojoj strukturi sadrže jonogene grupe, pektini se u vodenom rastvoru ponašaju kao polielektroliti, odnosno dolazi do njihove disocijacije, usled koje na jednom makromolekulskom lancu nastaje veći broj istoimeno naelektrisanih jona. Zbog toga, na oblik ovakvih makromolekula u rastvoru, pored elastičnosti makromolekulskih lanaca, interakcija makromolekul-rastvarač i sternih smetnji izazvanih bočnim grupama, veliki

uticaj imaju i elektrostatičke odbojne sile. Ove odbojne sile utiču na smanjenje savitljivosti makromolekulskih lanaca zbog čega oni postaju ispruženiji i zauzimaju veću zapreminu u rastvoru. Polijoni u rastvoru najčešće nisu uniformno raspoređeni, već dolazi do njihovog grupisanja i formiranja voluminoznih struktura koji se nazivaju domeni ili klasteri [101]. Ove strukture takođe doprinose rasipanju svetlosti i moraju se posmatrati kao još jedna komponenta sistema.

Jonizacija karboksilnih grupa se suzbija smanjenjem pH, što dovodi do smanjenja hidratacije karboksilnih grupa. Pri niskim vrednostima pH polisaharidni molekuli ne odbijaju jedni druge celom svojom dužinom, već dolazi do formiranja zona umreženja i nastajanja gela. Prividne pK-vrednosti (pH pri 50% disocijacije) zavise od stepena esterifikacije pektina, pa tako pektin sa DE=65% ima prividni pK od 3,55, dok izmerena pK vrednost pektina sa DE= 0% iznosi 4,10 [102].

2.2 Geliranje pektina

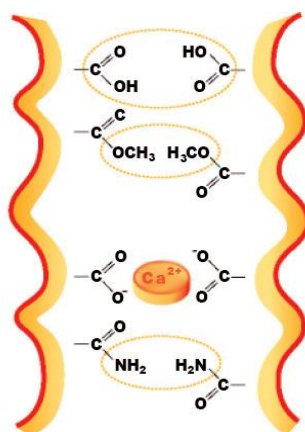
Mogućnost formiranja gela je najvažnije svojstvo pektina na kome se temelji njegova industrijska upotreba. Proces geliranja pektina u velikoj meri zavisi od parametara kao što su stepen esterifikacije, srednja molarna masa uzorka, jonska jačina, temperatura, pH, raspodela naelektrisanja duž polimernog lanca i prisustvo drugih rastvorenih materija [103]. Visokoesterifikovani pektini formiraju gel pri pH vrednostima manjim od 3,5 i u prisustvu više od 55% šećera ili sličnih rastvorenih materija. Mehanizam formiranja gela zasnovan je na hidrofobnim interakcijama koje se uspostavljaju između metoksilovanih grupa u strukturi pektina. Pri niskim pH vrednostima procesu formiranja gela HM pektina doprinose vodonične veze koje umanjuju dejstvo elektrostatičkih odbojnih sila [104, 105]. Niskoesterifikovani pektini mogu formirati gel u prisustvu Ca^{2+} jona u širokom rasponu pH vrednosti rastvora, pri čemu prisustvo šećera nije neophodno. Mehanizam geliranja se uglavnom opisuje primenom "egg box" modela, koji predviđa intermolekulsko povezivanje GalA jedinica u paralelnim ili susjednim lancima, posredstvom Ca^{2+} jona i karboksilnih grupa (Slika 2.4) [106]. Za uspostavljanje "egg box" strukture potrebno je 14-20 uzastopno raspoređenih slobodnih karboksilnih grupa. Vrednost stepena esterifikacije ima potpuno drugačiji uticaj na funkcionalna svojstva HM i LM pektina. Naime, povećanje stepena

esterifikacije kod HM pektina dovodi do povećanja brzine kojom se formira gel, dok kod LM pektina utiče na njeno smanjenje [107]. Osim stepena esterifikacije, značajan uticaj na svojstva pektina ima i raspodela metoksi grupa.



Slika 2.4. Šematski prikaz geliranja LM pektina po "egg box" modelu.

Utvrđeno je da blok raspodela metoksi grupa pospešuje geliranje u prisustvu Ca^{2+} jona, dok njihova nasumična raspodela ne pogoduje uspostavljanju ovih interakcija [108]. Takođe, pokazano je da HM pektini koji poseduju blok raspodelu metoksi grupa formiraju gel pri višim temperaturama u odnosu na pektine istog stepena esterifikacije kod kojih je raspodela ovih grupa uniformnija [107]. Ispitivanjem kinetičkih parametara utvrđeno je da se proces formiranja gela najbolje može opisati primenom modela pseudo-drugog reda, o čemu će biti više reči u nastavku [109].



Slika 2.5. Šematski prikaz geliranja amidovanih pektina u prisustvu Ca^{2+} jona.

Amidacija pektina pospešuje geliranje u prisustvu dvovalentnih jona zbog mogućnosti uspostavljanja vodoničnih veza između $-\text{NH}_2$ grupa u strukturi ovih derivata (Slika 2.5) [110].

2.3 Izvori, proizvodnja i primena pektina

Iako se može naći u većini biljnih tkiva, izvori koji se koriste za komercijalnu proizvodnju pektina su ograničeni. Kao što je već napomenuto, pektini izolovani iz različitih biljnih izvora imaju različita funkcionalna svojstva (DE, molarna masa), od kojih neka ne pogoduju njihovoj primeni u komercijalne svrhe. Komercijalni pektini se uglavnom dobijaju ekstrakcijom iz kore citrusa i jabučne kaše, koji nastaju kao sporedni proizvodi postupka proizvodnje voćnih sokova. U odnosu na ukupan sadržaj suve materije, pektin je u jabučnoj kaši zastupljen sa 10-15%, a u kori citrusa sa 20-30%. U alternativne izvore pektina spada i biljni otpad koji nastaje preradom šećerne repe, suncokreta i manga [107].

Optimalna temperatura za ekstrakciju pektina može se postići direktnim ključanjem ili mikrotalasnim zagrevanjem voćne kaše, pa su na osnovu ovog kriterijuma klasifikovane i najčešće korišćene industrijske metode dobijanja pektina [111]. Kod metode direktnog ključanja voćna kaša se najpre izlaže delovanju visokih temperatura, nakon čega se ekstrakcija pektina vrši kiselim vodenim rastvorima (pH=2). Taloženje pektina se postiže primenom etanola ili izopropil alkohola. Ceo postupak ekstrakcije traje 2-4 h. Zbog relativno dugog perioda izloženosti direktnom zagrevanju, u ovom postupku često dolazi do termičke degradacije pektina [112]. Vreme ekstrakcije znatno se smanjuje primenom mikrotalasnog zagrevanja (na 15 min), pri čemu je mogućnost degradacije potpuno isključena. Zbog dejstva visokog pritiska dolazi do razaranja ćelijske strukture i povećanja kapilarne poroznosti materijala iz kojeg se pektin ekstrahuje, pa primena ove metode obezbeđuje bolje prodiranje rastvarača i veće prinose ekstrakcije.

Pektini najčešće nalaze primenu kao sredstva za geliranje, ugušćivači i stabilizatori. Kao gradivna komponenta voća i povrća i sastojak koji se nalazi u formulacijama različitih komercijalnih proizvoda dostupnih na tržištu, pektin predstavlja i sastavni deo ljudske ishrane. Procenjen unos pektina kroz konzumaciju 500 g voća i povrća na dnevnom nivou iznosi 5g [113]. Pod dejstvom mikroorganizama, varenje pektina započinje u debelom crevu gde dolazi do njegove degradacije na masne kiseline kratkog lanca koje pokazuju prebiotičku aktivnost. Upotreba pektina u ishrani ima pozitivan uticaj na smanjenje nivoa holesterola u krvi. Naime, promena pH vrednosti u intestinalnom traktu dovodi do povećanja viskoznosti pektina, usled čega se smanjuje apsorpcija holesterola iz hrane ili žuči. Različite vrste pektina koriste se kao

mukoadhezivna sredstva u gastrointestinalnom traktu [114]. Zajedno sa ostalim viskozim polianjonima kao što je karagenan, pektin se koristi za obezbeđenje stabilnosti koloidnih rastvora kazeina (npr. u mlečnim proizvodima). Pozitivna svojstva ovog prirodnog polimera uticala su na proširenje polja njegove primene u oblasti medicine i farmacije, pa pektin ulazi u brojne formulacije sistema za kontrolisano otpuštanje lekovitih supstanci. Zbog potvrđene antimikrobne aktivnosti primenjuje se kao prirodni profilaktik. Pored kaolinita, preparati na bazi pektina spadaju u red najprimenjenijih lekovitih sredstava koja potpomažu uspostavljanje normalne funkcije organa za varenje [115]. Zbog dobrih film-formirajućih svojstava, potencijal primene pektina prepoznat je u oblasti ambalažnih materijala. Filmovi na bazi ovog polisaharida obezbeđuju zadovoljavajuća barijerna svojstva prema kiseoniku, lipidima, kao i organskim molekulima koji su nosioci aroma i mirisa [7]. Mogu biti pripremljeni primenom različitih tehnika kao što su otparavanje rastvarača, ekstruzija, sprej depozicija i izvlačenje uz pomoć aplikatora. Metoda otparavanja rastvarača sastoji se u izlivanju film-formirajućeg rastvora na ravnu i nelepljivu površinu, sa koje je moguće ukloniti film nakon sušenja. Kao rastvarači se najčešće koriste voda i etanol, ili njihova kombinacija [116]. Zbog jednostavnosti, ova metoda se najčešće primenjuje u laboratorijskim uslovima. Na industrijskom nivou, filmovi na bazi polisaharida najčešće se dobijaju u kontinualnom postupku izvlačenja primenom odgovarajućeg aplikatora (nož, valjak) [117]. Iako prepoznata kao veoma efikasna metoda za pripremu ambalažnih filmova, ekstruzija nije u dovoljnoj meri zastupljena kada je reč o filmovima na bazi pektina. U literaturi se može naći samo nekoliko studija koje se odnose na primenu ove metode za dobijanje filmova na bazi skroba i pektina, u kojima je pektin kao komponenta zastupljen sa manjim udelom [118-120]. Sprej depozicija podrazumeva raspršivanje rastvora ili disperzije polimera po površini čvrstog materijala, nakon čega dolazi do otparavanja rastvarača i formiranja konzistentnog filma [121].

2.4 Modifikacije pektina

Posljednjih godina velika pažnja posvećena je ispitivanju mogućnosti primene pektina u različite svrhe. Ipak, šira primena ograničena je postojanjem određenih nedostataka koji su usko vezani za strukturalna svojstva ovog polisaharida. Tako na primer, upotreba HM pektina u medicinske svrhe onemogućena je činjenicom da do formiranja gela dolazi u prisustvu visoke koncentracije saharoze, što ne pogoduje pacijentima sa dijagnozom dijabetesa [122]. Izrazita hidrofilnost pektina dovodi do brze hidratacije, bubrenja i erozije, pa je kontrolisano otpuštanje lekovitih supstanci iz preparata na bazi ovog polisaharida vrlo problematično [123]. S druge strane, tendencija ka stvaranju aglomerata otežava rastvaranje pektina u vodenoj sredini [124]. Filmovi na bazi pektina poseduju loša mehanička svojstva i ne predstavljaju dovoljno dobru barijeru za transport vodene pare [125-128].

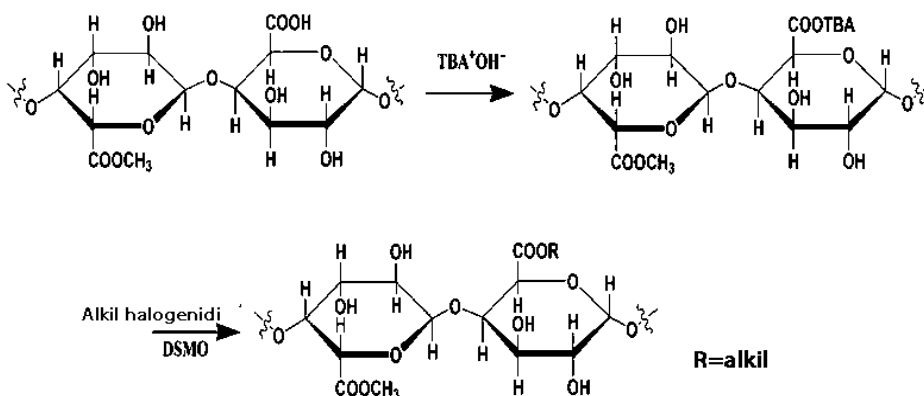
U cilju prevazilaženja pomenutih prepreka, pektin se vrlo često podvrgava modifikacijama, koje se sprovode sa ciljem prilagođavanja postojećih ili kreiranja novih funkcionalnih svojstava u odnosu na željenu primenu. Veliki broj hidroksilnih i karboksilnih grupa u osnovnom lancu pektina čini ovaj polisaharid pogodnim za veliki broj fizičkih i hemijskih modifikacija. U zavisnosti od tipa reakcije, pektin može biti modifikovan na različite načine: supstitucijom (alkilacija, amidacija, kvarternizacija, tiolacija, oksidacija, itd.), povećanjem dužine polimernog lanca, (kalemljenje i umrežavanje) i depolimerizacijom (hemijaska, fizička i enzimaska degradacija). U odeljku koji sledi biće dat literaturni pregled najčešće korišćenih metoda modifikacije pektina, sa posebnim osvrtom na specifičnu primenu. S tim u vezi, biće dat i pregled propisa koji se tiču bezbednosne procene primene materijala na bazi modifikovanog pektina.

2.4.1 Alkilacija karboksilne grupe pektina

Alkilovanje karboksilne grupe u reakciji esterifikacije najčešće se sprovodi u cilju povećanja hidrofobnosti pektina [3, 4]. U strukturi pektina vrlo često je prisutna metoksi grupa (-OCH₃), a postupak esterifikacije u kome se karboksilna grupa prevodi u metoksi grupu naziva se metoksilacija. U zavisnosti od željenog stepena metoksilacije, primenjuju se različite metode. Najčešće korišćena metoda podrazumeva tretman pektina metanolom u prisustvu sumporne ili hlorovodonične kiseline kao katalizatora

[129]. Zbog primene agresivnih reaktanata može doći do raskidanja glikozidnih veza i degradacije pektina, pa se ova reakcija izvodi na temperaturama od 0-5 °C, što znatno produžuje vreme neophodno za potpunu metoksilaciju. U reakciji tetrabutilamonijum (TBA) pektinata i metil-jodida u dimetilsulfoksidu, mogu se dobiti derivati pektina sa stepenom estrifikacije većim od 60% [130]. Potpuna metoksilacija pektina, minimalna degradacija i znatno smanjenje vremena reakcije može se postići primenom anhidrovanog metanola i acetil-hlorida, u postupku koji su razvili Rosenbohm i saradnici [131]. Reakcija uklanjanja metoksi grupe iz strukture galakturonske kiseline naziva se demetoksilacija. Na industrijskom nivou, LM pektini se dobijaju polazeći od HM pektina u hemijskom postupku kiselo [132] ili bazno katalizovane demetoksilacije [133], ili enzimatski, primenom metil esteraza [134]. Mehanizam demetoksilacije i struktura nagrađenih derivata u velikoj meri zavise od izbora metode, pa tako u prisustvu baza dolazi do nasumične demetoksilacije [135], dok se primenom enzima dobijaju proizvodi uređene strukture [136].

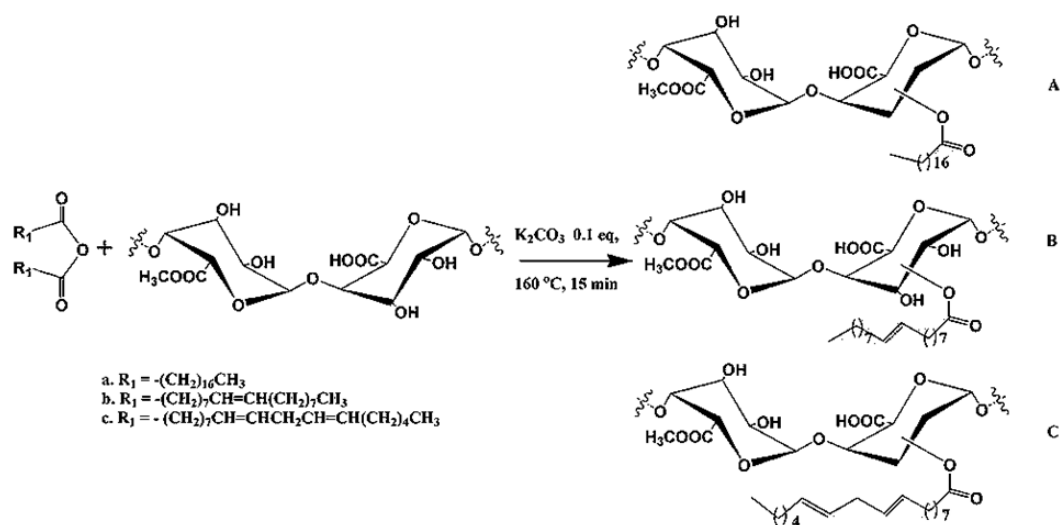
Posredstvom karboksilne grupe, alkilacijom se u pektinski lanac mogu uvesti i alkil grupe sa većim brojem C atoma. Derivati ove vrste se obično dobijaju u reakciji TBA soli pektina sa odgovarajućim alkil-halogenidima (Slika 2.6) [4]. Alkil estri pektina mogu se dobiti i primenom drugih postupaka, klasifikovanih na osnovu hemijskih reagenasa korišćenih u reakciji modifikacije: diizoalkan metoda, trietil ortoacetat metoda i metoda alkanoil/p-toluensulfonske kiseline [137].



Slika 2.6. Alkilacija pektina primenom alkil halogenida.

2.4.2 Acilovanje hidroksilne grupe pektina

Acetilacija je jedna od najvažnijih reakcija acilovanja hidroksilnih grupa pektina. Galakturonske kiseline pektina izolovanog iz šećerne repe [138], krompira [139] i suncokreta [140] mogu biti prirodno acetilovane. U zavisnosti od specifične primene, uticaj acetil grupe na određena svojstva pektina može biti ocenjen kao pozitivan ili negativan. Tako na primer, sterne smetnje uzrokovane prisustvom acetil grupe onemogućavaju povezivanje dve susedne karboksilne grupe jonom kalcijuma, što dovodi do inhibicije formiranja kompleksa sa ovim metalom [130]. S druge strane, smanjena polarnost i rastvorljivost ovih derivata ima pozitivan uticaj na njihovu primenu kao emulgatora, stabilizatora i nosača za kontrolisano otpuštanje lekovitih supstanci [123, 141]. Reakcija acetilacije može biti izvedena u homogenoj ili heterogenoj sredini, što u velikoj meri utiče na raspodelu acetil grupa duž pektinskog lanca [130, 142]. Generalno, sinteza ovih derivata najčešće se izvodi u prisustvu anhidrida kiseline i jedne od tri kombinacije rastvarač/katalizator: DMSO/*N*-metilimidazol, DMSO/piridin, formamid/piridin. Pektin je uspešno acilovan i u prisustvu anhidrida nezasićenih kiselina, palmitinske, oleinske i linolne kiseline. Sve esterifikacije su izvedene u prisustvu baznog katalizatora, bez upotrebe rastvarača (Slika 2.7). Ova hemijska modifikacija pokazala se kao efikasna, ekonomična i ekološki prihvatljiva, a kao proizvod dobijen je hidrofobni derivat pektina povećane otpornosti prema vodi [143].



Slika 2.7. Esterifikacija OH grupe pektina primenom palmitinske, oleinske i linolne kiseline [143].

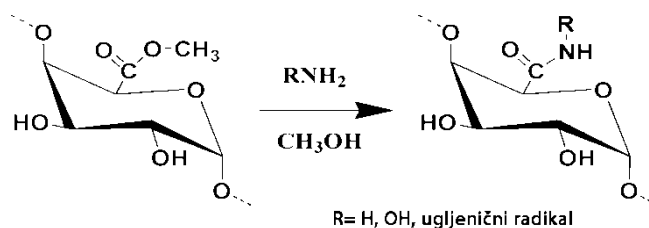
2.4.3 Amidacija pektina

Najčešće korišćeni amidovani derivati pektina u svojoj strukturi sadrže primarnu amido grupu $-CO-NH_2$. Karakterišu ih veoma dobra gelirajuća svojstva, što ih čini veoma pogodnim za pripremu čestica hidrogela za kontrolisano otpuštanje aktivnih komponenti. Gelovi na bazi ovih derivata su termoreverzibilni i pokazuju smanjenu osetljivost na promenu pH sredine [144, 145].

Amidovani pektini koji u strukturi sadrže primarnu amido grupu najčešće se dobijaju u reakciji amonolize metoksi grupa HM pektina u anhidrovanom metanolu (Slika 2.8). U ovom postupku dolazi do alkalne demetoksilacije i zamene metoksi grupa amino grupama [146]. Amidovani derivati koji sadrže grupu generalne strukture $-CO-NHR$ ($R = OH$) mogu se dobiti u reakciji viskoesterifikovanih pektina i hidrosilamina [147]. Ispitivanja su pokazala da derivati sintetisani na ovaj način pokazuju povećanu antioksidativnu aktivnost u odnosu na nativni pektin.

U reakciji viskoesterifikovanih pektina sa primarnim aminima dobijaju se amidovani derivati koji u svojoj strukturi poseduju sekundarnu amido grupu, opšte formule $-CO-NHR$ ($R =$ ugljenični radikali). Ovi derivati najčešće se dobijaju u reakciji viskoesterifikovanih pektina sa primarnim aminima u metanolu, a mogu se dobiti i u

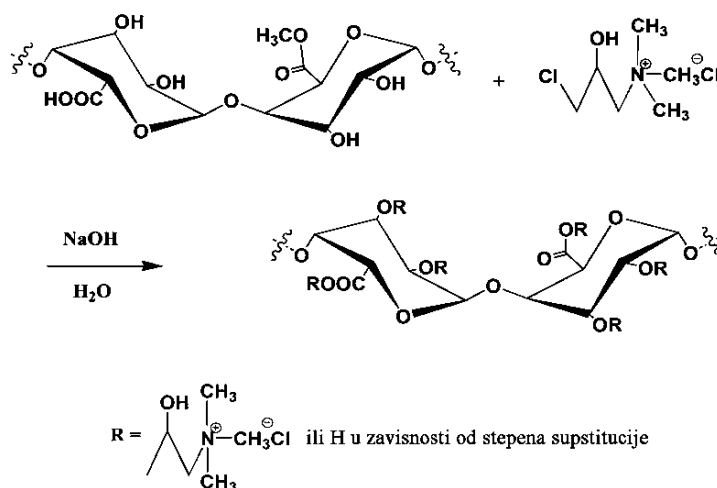
vodenoj sredini primenom enzima-proteaza i odgovarajućih amina ili aminokiselina [148].



Slika 2.8. Amidacija pektina.

2.4.4 Kvaternizacija pektina

Kvaternizacija je postupak modifikacije pektina u kojem se mogu dobiti njegovi katjonski derivati (Slika 2.9). Unapređenje svojstava kod derivata ovog tipa ogleda se u povećanom kapacitetu apsorpcije vode i povećanoj antimikrobnoj aktivnosti [149].



Slika 2.9. Šema reakcije kvaternizacije pektina u reakciji sa 3-hlor-2-hidroksipropiltrimetilamonijum hloridom [149].

Kvaternarni derivat pektina, sintetisan u postupku koji su opisali Katav i saradnici, pokazao se kao veoma efikasan nosač u genskoj terapiji [150].

2.4.5 Tiolacija pektina

Uvođenje tiolne grupe u strukturu polisaharida u velikoj meri doprinosi poboljšanju mukoadhezivnih svojstava ovih prirodnih polimera. Naime, nativni polisaharidi pripadaju 'prvoj generaciji' mukoadhezivnih polimera i odlikuju ih veoma slabe, nekovalentne interakcije sa mukoznim slojem [151]. Tiomeri, derivati prirodnih polimera dobijeni tiolacijom, poseduju mogućnost formiranja kovalentnih disulfidnih veza sa subdomenima mukoznog sloja bogatih cisteinom i pripadaju 'drugoju generaciji' mukoadhezivnih polimera [152]. U okviru studije razvoja ove vrste mukoadheziva, istraživanja koja se tiču tiolacije pektina zauzimaju veoma važno mesto. Ligandi koji sadrže tiolnu grupu mogu biti umetnuti u pektinski lanac formiranjem amidne ili estarske veze. Sharma i Ahuja dali su opis tiolacije pektina u reakciji esterifikacije sa tioglikolnom kiselinom. Sintetisani derivat pokazao je poboljšanje mukoadhezivne aktivnosti, dok modifikacija u strukturi nije uticala na profil otpuštanja lekovite supstance iz čestica gela tiolovanog pektina [153]. Primenom 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimid-hidrohlorida kao aktivatora, tiolacija pektina se može ostvariti i u reakciji amidacije. U ovoj reakciji, amidna veza se uspostavlja između primarne amino grupe cisteina i karboksilne grupe pektina [154].

2.4.6 Sinteza sulfatnih estara pektina

Estri sumporne kiseline nastaju u reakciji zamene hidroksilne grupe u strukturi pektina sulfatnom. Modifikacijom ove vrste dolazi do stvaranja novih funkcionalnih svojstava koja se ogledaju u antimikrobnim, kontraceptivnim, antiinflamatornim, antitumornim, antioksidativnim, antikoagulantnim i antitrombocitnim aktivnostima sumpornih derivata pektina [155-158].

Ovi estri obično se dobijaju u reakciji pektina sa sumpornom i hlorsulfonskom kiselinom, monometil sulfatom, sulfuril-hloridom, sulfotrioksidom ili amidosulfonskom kiselinom u prisustvu formamida, dimetilsulfoksida, trimetilamina ili piridina. Kada se u obzir uzmu stepen esterifikacije i prinos reakcije, hlorsulfonska kiselina se pokazala kao veoma dobar agens [159]. S druge strane, primena ovog agensa može dovesti do hidrolize pektinskog molekula i izazvati velike probleme koji se tiču zagađenja [160].

Zadovoljavajuća efikasnost pri blagim reakcionim uslovima postignuta je primenom natrijumove soli trisulfonamina, $N(SO_3Na)_3$, koja je korišćena pri sintezi sulfatnog estra jabučnog pektina u vodenom rastvoru [161].

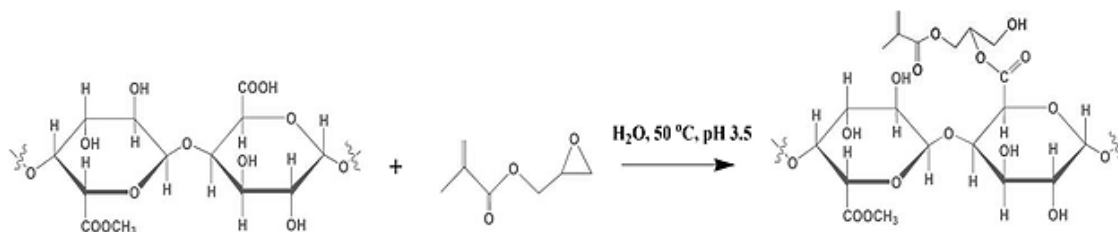
2.4.7 Oksidacija pektina

Funkcionalne grupe oksidovanog pektina podložnije su degradaciji i pokazuju veću reaktivnost u odnosu na grupe u strukturi nativnog pektina, pa se poslednjih godina vrlo intenzivno ispituje mogućnost primene ovih derivata kao sistema za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci [162]. Reakcija oksidacije $-OH$ grupa na C-2 i C-3 atomima galakturonske kiseline, u prisustvu natrijum perjodata, dovodi do raskidanja C-C veze i formiranja aldehidnih grupa na svakoj oksidovanoj monomernoj jedinici [163]. Upravo prisustvo aldehidnih grupa u strukturi čini ove derivate pogodnim za imobilizaciju aktivnih komponenti, kao i za dobijanje hidrogelova posredstvom odgovarajućeg umreživača. U zavisnosti od reakcionih uslova, oksidacijom se mogu dobiti derivati različite strukture, kod kojih su selektivno oksidovane samo slobodne karboksilne grupe galakturonske kiseline (dekarboksilacija) [164] ili samo terminalne jedinice pektinskog lanca [165].

2.4.8 Umrežavanje pektina

Do formiranja pektinskih gelova dolazi usled umrežavanja HG domena, koje se, u zavisnosti od stepena esterifikacije pektina, može ostvariti na različite načine: posredstvom dvovalentnih jona metala kao što je Ca^{2+} kod LM pektina [136] ili uspostavljanjem hidrofobnih interakcija između metil grupa HM pektina [166]. Kao što je već napomenuto, struktura, pa samim tim i gelirajuća svojstva, u velikoj meri zavise i od vrste biljnog izvora iz kog je pektin izolovan. Tako na primer, pektini izolovani iz šećerne repe, koji u svojoj strukturi poseduju ferulinsku kiselinu, mogu formirati gel u reakciji oksidativnog umrežavanja preko dvostruke veze ove kiseline u prisustvu amonijum persulfata [167]. Do umrežavanja pektinskih lanaca i formiranja gela, najčešće dolazi u prisustvu različitih umreživača kao što su: epihlorhidrin [168], etilenglikol diglicidil-etar i glutaraldehid [169], adipinska kiselina [170] i natrijum trimetafosfat [171]. Strukturna specifičnost derivata pektina dobijenih u nekoj od

reakcija modifikacije pruža dodatne mogućnosti njihovog umrežavanja, pa se tako, derivati dobijeni u reakciji tiolacije mogu umrežiti posredstvom disulfidnih mostova nastalih kao rezultat oksidacije tiolnih grupa [172].



Slika 2.10. Reakcija između pektina i glicidil metakrilata.

Estri, dobijeni u reakciji sa alkil- ili aril-halogenidima, takođe se mogu dodatno umrežiti primenom umreživača kao što su 1, 6-dibromoheksan, 1, 3-dijodopropan i 1, 10-dijododekan [173]. Takei i saradnici objavili su rezultate istraživanja u kojem je oksidovani derivat pektina naknadno umrežen primenom dihidrazida adipinske kiseline [162]. Hidrogel sintetisan na ovaj način pokazao se kao veoma efikasan nosač za kontrolisano otpuštanje antitumornog agensa.

2.4.9 Kalemljenje

Kalemljenje se ubraja u jednu od najvažnijih metoda za modifikovanje fizičko-hemijskih svojstava pektina. Postiže se dodavanjem bočnih grana različite strukture u pektinski molekul, čije prisustvo u velikoj meri određuje svojstva nagrađenog derivata. Nastali kopolimeri najčešće nalaze primenu kao sistemi za kontrolisano otpuštanje aktivnih supstanci [174-176] i sorpciju jona teških metala iz vodenih rastvora [177].

2.5 Depolimerizacija pektina

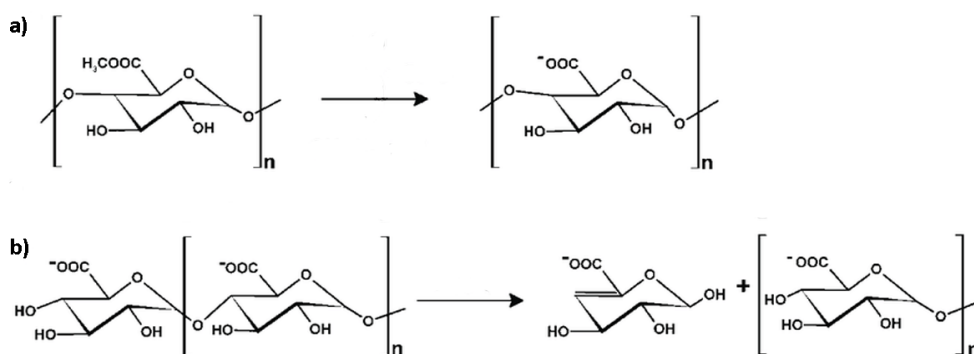
Sa stanovišta primene pektina i njegovih derivata, veoma važan aspekt predstavljaju istraživanja na temu depolimerizacije. Veličina i heterogenost pektinskog molekula u velikoj meri otežava ispitivanje strukturnih karakteristika, pa se često pribegava depolimerizaciji pektina u cilju dobijanja oligosaharidnih segmenata, koji su pogodniji za analizu strukture [178]. S druge strane, proizvodi degradacije pektina se vrlo uspešno primenjuju kao represori akumulacije lipida u jetri, inhibitori proliferacije ćelija kancera [179], antimetastatski i antimikrobni agensi [180, 181] i prebiotici [182]. Generalno, metode depolimerizacije pektina mogu se svrstati u hemijske, fizičke i enzimske.

2.5.1 Hemijska depolimerizacija

Pektini su najstabilniji u vodenim rastvorima pH vrednosti oko 3.5 [183]. Pri višim ili nižim pH vrednostima sredine može doći do raskidanja glikozidnih veza u molekulu pektina, kao i do uklanjanja grupa kao što su metoksi, karboksilna i acetilna. Stoga, u zavisnosti od uslova pri kojima dolazi do raskidanja specifičnih veza, degradacija pektina može biti kiselo ili bazno katalizovana.

U neutralnoj i baznoj sredini, degradacija se može odvijati prema jednoj od dve kompetitivne reakcije, demetoksilacije i β -eliminacije. Visukoesterifikovani pektini podložniji su degradaciji po mehanizmu β -eliminacije, koja je favorizovana pri višim temperaturama. U izrazito baznoj sredini, favorizovana je reakcija demetoksilacije [133]. Na kompetitivnost ovih reakcija utiče i prisustvo katjona u rastvoru, pri čemu je pri višim koncentracijama katjona dominantna reakcija β -eliminacije [184].

U kiselj sredini (pH <3, 0), degradacija se odvija po mehanizmu kiselj katalizovane hidrolize. Utvrđeno je da se kod LM pektina reakcija hidrolize odvija većom brzinom [185], kao i da mehanizam reakcije u velikoj meri zavisi od temperature [186].



Slika 2.11. Šematski prikaz reakcija degradacije pektina a) demetoksilacija; b) β -eliminacija.

2.5.2 Fizička (mehanička) degradacija

Do degradacije pektina može doći i primenom fizičkih tretmana kao što su ultrasonikacija [187, 188], fotoliza [189], uslovi visokog pritiska [190, 191] i zračenje [192, 193]. Mehaničko delovanje u procesima mlevenja [194], ekstruzije [195] i dehidratacije [196] takođe može biti uzrok degradacije pektina. Proizvodi degradacije se razlikuju u zavisnosti od primenjene metode.

2.5.3 Enzimska degradacija

Zbog mogućnosti regioselektivne depolimerizacije pod blagim uslovima, reakcije enzimske degradacije poslednjih godina dobijaju sve više na važnosti. Kompleksna struktura pektinskog molekula otvara brojne mogućnosti kada je u pitanju izbor enzima, koji mogu dovesti do njegove degradacije. U ove svrhe najčešće se koriste enzimi iz grupe pektinesteraza, poligalakturonaza, pektat liaza, pektin acetilesteraza, β -galaktozidaza i arabinozidaza. Generalno, enzimi se mogu svrstati u dve grupe u odnosu na to da li njihovom primenom dolazi do degradacije HG domena (pektat liaze, poligalakturonaze, pektin acetilesteraze i pektin metilesteraze) ili RG domena sa bočnim granama (ramnogalakturonaze, ramnogalakturonan liaze, ramnogalakturonan

ramnohidrolaze i ramnogalakturonan galaktohidrolaze). Zbog svoje složene strukture, pektini se u cilju degradacije često izlažu dejstvu više enzima istovremeno, od kojih određeni deluju sinergetski [197].

Mehanizmi enzimskih esterifikacija kao i analiza proizvoda degradacije pektina, detaljno su opisani u nekoliko preglednih radova koji obrađuju ovu tematiku [198-200].

2.6 Bezbednosne procene primene derivata pektina

Komercijalni pektin procenjen je kao netoksičan i u većini zemalja registrovan je kao dodatak ishrani. Regulatorna tela kao što su Američka savezna uprava za hranu i lekove (FDA), Evropska komisija (EC) i Organizacija za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih nacija (FAO) ocenila su pektin i amidovani pektin kao bezbedne komponente. Ipak, zbog striktnih zahteva, primena mnogih derivata pektina kao dodataka ishrani još uvek se nalazi u postupku odobravanja. Fizičke modifikacije, koje se koriste u cilju smanjenja veličine pektinskog molekula i ne utiču na osnovnu strukturu polisaharida, prihvatljive su za primenu u prehrambenoj industriji. Tu spadaju metode kao što su homogenizacija, mikrotalasno i ultrazvučno zračenje. Derivat pektina, dobijen fizičkom modifikacijom, često se primenjuje kao dodatak ishrani i poznat je pod komercijalnim nazivom Slendid™. Enzimске reakcije u kojima kao proizvodi nastaju derivati strukture slične nemodifikovanom pektinu takođe se smatraju prihvatljivim [201]. Smatraju se bezbednim i proizvodi na bazi pektina koji su dobijeni u postupcima sa izmenjenim uslovima pH i temperature. Primer je derivat citrusnog pektina sa potvrđenom antitumorskom aktivnošću, sintetisan u postupku pH i temperaturno indukovane depolimerizacije [180]. U prehrambenoj industriji mogu se koristiti i derivati dobijeni u postupcima kao što su metoksilacija/demetoksilacija, acetilacija/deacetilacija i amidacija/deamidacija. Grupe kao što su $-\text{COOCH}_3$, $-\text{COCH}_3$, $-\text{CONH}_2$ mogu biti prisutne u strukturi nativnog pektina, pa ove reakcije dovode samo do promena u stepenu supstitucije. Važno je naglasiti da se za sintezu derivata često koriste toksični agensi kao što su piridin i *N*-metilimidazol, koji se i nakon primene vrlo efikasnih metoda prečišćavanja mogu naći u finalnom proizvodu.

Metode modifikacije koje uključuju primenu ovih, i sličnih agenasa visoke toksičnosti, ocenjene su kao nebezbedne i nisu preporučene za sintezu komercijalno dostupnih proizvoda na bazi pektina. Za sada ne postoji dovoljan broj podataka koji govore o bezbednosti ove vrste derivata, pa su neophodna dodatna istraživanja koja bi obezbedila sve potrebne informacije za dobijanje upotrebne dozvole od strane ovlašćenih organa.

Poglavlje III

3. Pektin kao sorbent za uklanjanje teških metala iz vodenih rastvora

Tokom poslednje dve decenije u svetu je došlo do povećanja ekološke svesti što je doprinelo razvoju novih, efikasnih i ekonomski prihvatljivih tehnologija za prečišćavanje zagađenih voda. Upravo se to vreme smatra početkom razvoja biosorpcije, odnosno primene prirodnih materijala za uklanjanje polutanata iz vodenih rastvora. Aktualnost ove metode može se sagledati i kroz konstantan rast publikovanih radova iz ove oblasti, što samo potvrđuje kompleksnost i multidisciplinarnost sistema za biosorpciju.

3.1 Biosorpcija

Toksični metali, koji se mogu naći u različitim ekosistemima, imaju izrazito negativan uticaj na biljni i životinjski svet, zalihe vode za piće i konačno, na zdravlje ljudi [202]. Teški metali dospevaju u životnu sredinu na različite načine: emisijom štetnih gasova iz automobila, neadekvatnim tretmanom otpadnih voda, upotrebom fosilnih goriva, itd. Njihov štetan uticaj na biljke ogleda se u smanjenju unosa nutrienata, promeni strukture korenog sistema i smanjenju unosa vode [203]. Prisustvo ovih metala, čak i u tragovima, dovodi se u vezu sa malignim oboljenjima i kardiovaskularnim bolestima kod ljudi. Tako je na primer, potvrđen toksičan uticaj četvorovalentnog hroma na bakterije, biljke, životinje i ljude [204]. Akumulacija bakra u jetri izaziva Vilsonovu bolest, koju karakterišu teška neurološka i psihijatrijska stanja. Takođe, utvrđeno je da prisustvo ovog metala dovodi do anemije i disfunkcije gastrointestinalnog trakta [205]. Izrazito toksičan uticaj na životnu sredinu i opšte zdravlje ljudi imaju živa i kadmijum [206]. Dodatnu zabrinutost donosi i činjenica da ovi metali nisu biodegradabilni i imaju tendenciju akumulacije u živim organizmima.

Najčešće korišćene konvencionalne metode za uklanjanje jona teških metala su hemijsko taloženje i redukcija, filtracija, flokulacija, jonska izmena, elektrohemijski tretman, itd [207]. Glavni nedostaci ovih metoda su nedovoljna selektivnost, generisanje otpadnog mulja koji je potrebno dalje tretirati, visoki operativni troškovi i različita

tehnička ograničenja, naročito ukoliko su polutanti prisutni u niskim koncentracijama. Zbog toga je neophodno pronaći ekonomski isplativo i tehnički lako izvodljivo rešenje, kojim bi se oni efikasno uklonili [47]. Stoga, neodložna potreba za rešavanjem navedenih problema, kao i sve striktnija zakonska regulativa iz oblasti zaštite životne sredine, uticala je na razvoj novih sorpcionih metoda koje se oslanjaju na primenu različitih prirodnih materijala [208].

Sorpcija koja uključuje primenu materijala iz obnovljivih izvora naziva se još i biosorpcija. Definiše se kao sposobnost biomolekula da svojim aktivnim grupama vezuju ili iz vodenih rastvora koncentrišu određene jone. Prvi izazov na polju sorpcije je izbor najpogodnijeg sorbenta, a zatim i utvrđivanje mehanizma po kom se proces odvija. Primena modela sorpcionih izoterma i kinetike sorpcije pruža informacije o načinu vezivanja sorbata za sorbent, što je veoma važno za razumevanje i poboljšanje procesa sorpcije. Generalno, sorpcija se odvija u tri osnovna koraka koja uključuju transport polutanta do površine sorbenta, adsorpciju na površini čestica sorbenta i difuziju u unutrašnjost sorbenta. Zbog kompleksnosti strukture sorbenta (prisustvo različitih funkcionalnih grupa, poroznost, specifična površina), proces sorpcije uslovljen je različitim vrstama interakcija koje se uspostavljaju sa polutantima. Na uspostavljanje ovih interakcija u velikoj meri utiče i pH, odnos koncentracije sorbent/sorbat kao i koncentracija i vrsta jona prisutna u rastvoru. Mehanizmi na osnovu kojih se ostvaruje proces sorpcije mogu biti pojedinačni ili kombinacija sledećih procesa: jonska izmena, građenje helatnih kompleksa, fizička adsorpcija ili hemisorpcija, uspostavljanje hidrofobnih interakcija, elektrostatičke interakcije, kiselo-bazne interakcije, uspostavljanje vodoničnih veza i mikrotaloženje [209].

U odnosu na konvencionalne metode, biosorpcija ima određene prednosti: selektivna je, jeftina i efikasna čak i pri vrlo niskim koncentracijama polutanata i ekološki održiva, jer se sorbenti najčešće dobijaju iz obnovljivih izvora (biomase) [210]. Upotrebljenu biomasu moguće je regenerisati, pri čemu se dobija koncentrat metala i biomaterijal spreman za novi ciklus uklanjanja. Efikasnost biomase i njenih komponenti se može povećati modifikacijom fizičkim, hemijskim, termičkim ili kombinovanim tretmanima, o čemu će biti više reči u poglavlju koje sledi.

3.2 Primena polisaharida kao biosorbenata: prednosti i mane

Ekstrakcija i separacija zagađujućih materija primenom polisaharida predstavlja ekonomičan postupak čijom su primenom zadovoljeni svi zahtevi koji se tiču očuvanja životne sredine. Visok stepen efikasnosti u odnosu na proces sorpcije pokazuju polisaharidi kao što su hitin, skrob, ciklodekstrin, hitozan i pektin. Veliki sorpcioni potencijal ovih jedinjenja pripisuje se faktorima kao što su prisustvo velikog broja funkcionalnih grupa (acetamido, hidroksilne, amino, karboksilne), visoka hemijska reaktivnost ovih grupa, hidrofilan karakter i fleksibilna struktura polimernog lanca [211]. Pored svih navedenih prednosti, postoje i određeni nedostaci koji se mogu javiti usled primene ovih materijala. Najčešći problemi javljaju se zbog njihove izrazite rastvorljivosti, usled koje su ovi sistemi nestabilni u vodenim rastvorima. U tom smislu, modifikacije polisaharida mogu pružiti brojne mogućnosti u cilju povećanja efikasnosti i proširenja polja primene. Gelovi i hidrogelovi, polimerne smole, membrane, čestice i vlakna predstavljaju makromolekulske strukture pogodne za primenu u procesima sorpcije i najčešće se dobijaju u reakcijama modifikacije kao što su umrežavanje i kalemljenje [208]. Polisaharidi se mogu umrežiti primenom jednostavnih postupaka i relativno jeftinih reagenasa. U zavisnosti od reakcionih uslova, mogu se dobiti umreženi materijali različitih funkcionalnih i morfoloških karakteristika, koji poseduju brojne prednosti u odnosu na neumrežene. Pregled funkcionalnih svojstava koja nastaju kao rezultat umrežavanja polisaharida dat je u nastavku:

- Stabilnost polisaharida u kiselim i baznim sredinama, kao i u većini organskih rastvarača;
- Povećana mehanička otpornost;
- Smanjena osetljivost na uticaj visokih temperature;
- Mogućnost podešavanja kinetičkih parametara bubrenja;
- Povećana dostupnost sorpcionih centara usled smanjenja stepena kristaliničnosti;
- Jednostavan postupak regeneracije umreženih polisaharida nakon sorpcije.

Sorpciona svojstva umreženih polisaharida mogu se dodatno poboljšati uvođenjem različitih funkcionalnih grupa u osnovni lanac ili polimernu mrežu [212, 213]. S tim u vezi, polisaharidi se modifikuju u cilju kontrole i unapređenja afiniteta materijala prema

specifičnom polutantu, postizanja većeg stepena selektivnosti, povećanja kapaciteta sorpcije i stabilnosti materijala [212, 214]. Kalemiljnje karboksilne [215] i amino grupe [213, 216], kao i uvođenje sumporne komponente [212, 217] spadaju u najzastupljenije metode koje se koriste u ove svrhe.

3.3 Pektin kao biosorbent

Veliki broj objavljenih istraživanja bavi se afinitetom pektina prema jonima različitih dvovalentnih metala, kao i mehanizmom na osnovu kojeg dolazi do uspostavljanja specifičnih interakcija [218-220]. Ipak, važno je naglasiti da ne postoji jedinstvena teorija kojom bi se objasnio mehanizam sorpcije pektina. Afinitet ovog polisaharida prema teškim metalima uglavnom se povezuje sa formiranjem pektata-jedinjenja nastalih vezivanjem jona metala za osnovni polimerni lanac posredstvom hidroksilnih grupa i/ili karboksilnih grupa galakturonske kiseline. Proces umrežavanja i nastajanja pektata objašnjen je pomoću dva mehanizma: kompleksacije i jonske izmene. Doprinos svakog od ova dva mehanizma zavisi od karakteristika pektinskog materijala (biljnog izvora, načina izolovanja, stepena esterifikacije), vrste metalnog jona i eksperimentalnih uslova (koncentracija, pH, prisustva konkurentnih jona i drugih gelirajućih agenasa, itd.) [221].

Do umrežavanja dolazi uspostavljanjem elektrostatičkih interakcija između katjona metala i negativno naelektrisanih segmenata polimernih lanaca. Umreženi polimerni lanci dodatno su stabilisani Van der Waals-ovim i vodoničnim vezama [222]. U zavisnosti od radijusa metalnog jona, polimerni lanci zauzimaju energetski najpovoljniju konformaciju kako bi se formirale zone umreženja. Ovo ukazuje da je stvaranje kompleksa složen proces, na koji, pored ostalih ranije pomenutih faktora, utiče i koordinaciono stanje prelaznog metala. Različiti parametri korišćeni za procenu jačine ostvarene veze između jona metala i pektina, ukazuju na najveću stabilnost kompleksa formiranog u prisustvu bakarnih jona, dok je kompleks sa jonima kalcijuma najmanje stabilan [223, 224].

Ispitivanjem sorpcionih svojstava različitih vrsta industrijskih pektina nađeno je da selektivnost prema jonima teških metala opada u nizu $Pb^{2+} \gg Cu^{2+} > Co^{2+} > Ni^{2+} \gg$

$Zn^{2+} > Cd^{2+}$. Ista studija pokazala je da pektin izolovan iz šećerne repe poseduje najveći afinitet prema Pb^{2+} i Cu^{2+} jonima, pektin izolovan iz jabuke prema Co^{2+} jonima, a pektin iz citrusa prema Ni^{2+} jonima. Sve vrste pektina ispitane u ovoj studiji gotovo i da ne poseduju afinitet prema dvovalentnim jonima cinka i kadmijuma [221]. Navedene tvrdnje nalaze se u saglasnosti sa rezultatima istraživanja drugih autora koji su se bavili sličnim ispitivanjima [220, 225].

Iako prema ovom metalu pektini pokazuju najmanji afinitet, istraživanja koja se tiču umrežavanja pektina u prisustvu Ca^{2+} jona veoma su važna sa stanovišta potencijalne primene. Kalcijum-pektati su se pokazali kao veoma perspektivni materijali za inkapsulaciju različitih aktivnih supstanci, kao što su lekovi, enzimi i bakterijske kulture. Veoma uspešno se primenjuju i kao sorbenti za uklanjanje jona teških metala [226-228].

3.4 Interakcije pektina i jona dvovalentnog bakra

Kao što je prethodno pomenuto, pektini pokazuju najveći afinitet prema jonima bakra. Spektroskopske studije su pokazale da dvovalentni bakar formira unutrašnji sferni oktaedarski kompleks sa poligalakturonskom kiselinom (PGalA), od kojih su dve COO^- grupe neesterifikovane PGalA u aksijalnom položaju, a ostale grupe koordiniraju sa molekulima vode [229]. Neki autori Cu(II)-PGalA interakciju tumače formiranjem ML kompleksa [225], dok drugi smatraju da dolazi do pojave druge vrste kompleksa, ML_2 ($M = Cu^{2+}$, $L = PGalA$) [221]. Nastajanje kompleksa tipa ML_2 zavisi isključivo od koncentracije liganada, odnosa L:M kao i od udela esterifikovane frakcije. Kod visokoesterifikovanih pektina i kada je odnos L:M=4:1, ML_2 kompleks nije moguće izolovati [230]. Generalno, PGalA ima veći afinitet prema Cu^{2+} jonima u poređenju sa dvovalentnim jonima olova, cinka, kadmijuma, nikla i olova, što je u skladu sa Irving-Vilijamsonovim nizom koji ukazuje na relativnu stabilnost metalnih kompleksa. Primenom voltametrije i potenciometrije sa jon-selektivnom elektrodom, Vilhena i saradnici ispitivali su nastajanje bakar-pektin kompleksa [231]. Ovim ispitivanjem potvrđeno je veoma dobro poklapanje sa prethodno predloženim ML i ML_2 modelima, koji se odnose na proces formiranja kompleksa. Takođe, utvrđeno je da na interakciju pektina i Cu^{2+} jona utiču još i gustina naelektrisanja, koncentracija pektina, kao i odnos

koncentracije bakra i pektina. Escandar i Sala su pokazali da se interakcije između Cu^{2+} i PGaA uspostavljaju posredstvom karboksilatnog i endocikličnog kiseonika istovremeno, što nije potvrđeno i za komplekse sa drugim metalima [232]. Kao posledica toga, u prisustvu Cu^{2+} jona moguće je dobiti stabilne gelove pektina visokog stepena esterifikacije (DE oko 94%).

Zbog izrazitog afiniteta pektina prema Cu^{2+} jonima i stabilnosti koja odlikuje ove komplekse, u okviru ove doktorske disertacije ispitani su kinetički i ravnotežni parametri procesa sorpcije iz vodenih rastvora upravo ovih jona, primenom nativnog i modifikovanog pektina kao sorbenta. Zbog nedovoljnog broja literaturnih podataka koji bi do kraja razjasnili ovaj proces [233, 234], posebna pažnja je posvećena ispitivanju uticaja specifičnih anjona na umrežavanje pektina koje se nalazi u osnovi procesa sorpcije.

3.5 Adsorpcione izoterme

Sorpcija se najčešće izučava putem adsorpcionih izotermi, odnosno dijagrama zavisnosti količine adsorbata adsorbovanog po jedinici mase adsorbenta, pri konstantnoj temperaturi. Sorpcija iz rastvora na čvrstom sorbentu se najčešće opisuje istim modelima kao i sorpcija na granici faza čvrsto-gasovito, ali se radi o znatno složenijem procesu usled interakcija sorbat-rastvarač i sorpcije molekula rastvarača na površini sorbenta. Najčešće korišćeni modeli i odgovarajuće adsorpcione izoterme predstavljeni su u Tabeli 3.1. Kako je u ovom radu praćena sorpcija iz rastvora sve jednačine su u obliku prilagođenom sistemu čvrsto-tečno.

Tabela 3.1. Adsorpcioni modeli.

<i>Model</i>	<i>Jednačina</i>	<i>Linearan oblik</i>	<i>Parametri</i>
Freundlich [235]	$q_e = K_F C_e^{1/n}$	$\ln q_e = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln C_e$	K_F, n
Langmuir [236]	$q_e = \frac{q_m K_L C_e}{1 + K_L C_e}$	$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_m} + \frac{1}{q_m K_L} \cdot \frac{1}{C_e}$	K_L, q_m

3.5.1 Langmuir-ova adsorpciona izoterma

Langmuir-ova adsorpciona izoterma je jedan od najčešćih i najjednostavnijih modela koji se koristi za opis procesa sorpcije. Prvobitno je izvedena za opisivanje fizičke adsorpcije na granici faza čvrsto/gasovito, ali se može primeniti i za opis sorpcije iz rastvora i hemisorpcije, ukoliko važe sledeće pretpostavke [237]:

- Molekuli se vezuju na određenim mestima na površini sorbenta, takozvanim centrima sorpcije;
- Svi sorpcioni centri su identični, jednako dostupni za sorpciju (bez obzira na popunjenost susednih mesta) i energetski ekvivalentni;
- Za svaki sorpcioni centar može da se veže jedan molekul, nakon čega je on zauzet, što dalje znači da će se sorpcija odvijati dok se ne popune sva prazna mesta, odnosno dok se ne formira monomolekulski sloj;
- Sorpcija je povratan proces;
- Nema promene faza i čestice sorbata ne mogu da se kreću po površini sorbenta.

Predstavlja se jednačinom:

$$q_e = \frac{q_m K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (3.1)$$

u kojoj je q_e masa vezanog sorbata po jedinici mase sorbenta (mg g^{-1}), C_e ravnotežna koncentracija sorbata u rastvoru (g dm^{-3}), a q_m (mg g^{-1}) i K_L ($\text{dm}^3 \text{g}^{-1}$) Langmuir-ove konstante, od kojih prva predstavlja maksimalan sorpcioni kapacitet, a druga takozvani koeficijent sorpcije, koji predstavlja odnos konstanti brzine sorpcije i desorpcije sorbata, zavisi od temperature i brojno je jednak recipročnoj vrednosti masene koncentracije pri kojoj je zauzeta polovina od ukupnog broja centara sorpcije na površini sorbenta [238].

Iz jednačine (3.1) sledi da je zavisnost q_e od C_e linearna, kada je $K_L C_e \ll 1$, tj. $q_e = q_m K_L C_e$ kao i kada je $K_L C_e \gg 1$, kada q_e dostiže graničnu vrednost q_m .

Konstante q_m i K_L se određuju iz linearnog oblika Langmuir-ove jednačine [239]:

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_m} + \frac{1}{q_m K_L} \cdot \frac{1}{C_e} \quad (3.2)$$

Na dijagramu zavisnosti $\frac{1}{q_e}$ vs. $\frac{1}{C_e}$ iz odsečka se dobija q_m , a zatim iz nagiba K_L . Bitna karakteristika ovog modela je i bezdimenzioni separacioni faktor, R_L , koji pokazuje da li je sorpcija favorizujuća ($0 < R_L < 1$), nefavorizujuća ($R_L > 1$), linearna ($R_L = 1$) ili ireverzibilna ($R_L = 0$), a izračunava se kao:

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_0} \quad (3.3)$$

gde je C_0 početna koncentracija sorbata u rastvoru (g dm^{-3}) [240, 241].

3.5.2. Freundlich-ova adsorpciona izoterma

Freundlich-ova adsorpciona izoterma se koristi u slučajevima kada površina adsorbenta nije energetska homogena, jer promena Gibsove energije zavisi logaritamski od stepena pokrivenosti, i kada je na njoj moguće obrazovanje i višemolekulskog sloja sorbata. Predstavlja se empirijskom jednačinom:

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (3.4)$$

u kojoj je q_e masa adsorbovanog sorbata po jedinici mase sorbenta (mg g^{-1}), C_e ravnotežna koncentracija adsorbata u rastvoru (g dm^{-3}), a K_F i n Freundlich-ove konstante karakteristične za dati sistem: adsorbat, adsorbent i rastvarač. Konstanta n je uvek veća od 1, pa je eksponent $1/n$, koji predstavlja meru intenziteta adsorpcije i heterogenosti površine, u opsegu između 0 i 1. Kada je vrednost $1/n$ bliža 0 površina adsorbenta je heterogenija, dok je pri $1/n=1$ reč o linearnoj adsorpciji i centrima adsorpcije jednake energije. Ukoliko je $1/n < 1$ to ukazuje na Langmir-ov adsorpcioni model, dok je u slučaju $1/n > 1$ u pitanju kooperativna adsorpcija [241-243]. Takođe, više vrednosti $1/n$ ukazuju na veću adsorpciju pri nižim koncentracijama, kao i postojanje velikog udela aktivnih centara sa visokom energijom [244].

Osnovni nedostatak Freundlich-ovog sorpcionog modela je to što jednačina nema teorijsku zasnovanost i što ne predviđa postojanje maksimalne količine adsorbata koja se može adsorbovati po jedinici mase adsorbenta, iako je eksperimentalno dokazano da ona postoji.

Logaritmovanjem jednačine (3.4) dobija se jednačina (3.5):

$$\ln q_e = \ln K_f + \frac{1}{n} \ln C_e \quad (3.5)$$

U koordinatnom sistemu $\ln q_e - \ln C_e$ jednačina (3.5) predstavlja pravu liniju. Iz nagiba te prave se dobija konstanta n , a iz odsečka K_F .

3.6 Kinetika sorpcije

Kinetika sorpcije ukazuje na brzinu i mehanizam ovog procesa i predstavlja jedno od najvažnijih svojstava sorbenta. U literaturi postoji veliki broj modela za opis kinetike sorpcije od kojih se najviše koriste Lagergren-ov model pseudo prvog reda i Ho-ov model pseudo drugog reda.

3.6.1. Lagergren-ov model pseudo prvog reda

Lagergren-ov model pseudo prvog reda se opisuje jednačinom [245]:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_f(q_e - q_t) \quad (3.6)$$

u kojoj su q_e i q_t kapaciteti sorpcije u ravnoteži i u vremenu t , redom (mg g^{-1}) i k_f konstanta brzine pseudo prvog reda (min^{-1}). Posle integraljenja uz primenu graničnih uslova: $q_t=0$ za $t=0$, odnosno $q_t=q_e$ za $t=t$, dobija se:

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - \frac{k_f}{2.303} t \quad (3.7)$$

Dijagram zavisnosti $\ln(q_e - q_t)$ vs. t , bi trebalo da je prava linija iz čijeg nagiba se računa k_f , a iz odsečka q_e .

3.6.2. Ho-ov model pseudo drugog reda

Jednačina pseudo drugog reda koju je predložio Ho [246, 247], ima sledeći oblik:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_s(q_e - q_t)^2 \quad (3.8)$$

gde je k_s konstanta brzine pseudo drugog reda ($g \text{ mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$). Integraljenjem uz granične uslove: $q_t=0$ za $t=0$, odnosno $q_t= q_e$ za $t=t$, i uvođenjem početne brzine sorpcije, $h= k_s q_e^2$, dobija se uobičajen linearni oblik ovog modela:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{h} + \frac{1}{q_e} t \quad (3.9)$$

Kada je ovaj model primenljiv dijagram zavisnosti t/q_t od t bi trebalo da daje pravu liniju iz čijeg nagiba i odsečka je moguće odrediti q_e i k_s , redom.

Eksperimentalni deo

Poglavlje IV: Sinteza i karakterizacija acilovanih derivata pektina

Poglavlje V: Ispitivanje uticaja specifičnih anjonskih vrsta na proces umrežavanja nativnog pektina

Poglavlje VI: Ispitivanje uticaja modifikacije na svojstva materijala na bazi pektina

Eksperimentalni deo podeljen je u tri tematska poglavlja, IV, V i VI. U Poglavlju IV dat je pregled eksperimentalnih postupaka korišćenih pri sintezi i karakterizaciji acilovanih derivata pektina. Eksperimentalne metode korišćene za ispitivanje uticaja specifičnih anjonskih vrsta na proces umrežavanja nativnog pektina u prisustvu Cu^{2+} jona opisane su u okviru poglavlja V. U poglavlju VI dat je pregled metoda primenjenih u cilju identifikacije uticaja strukture derivata na njihovu moguću primenu kao sorbenta i materijala za sintezu polisaharidnih filmova unapređenih svojstava.

Poglavlje IV

4. Siteza i karakterizacija acilovanih derivata pektina

U ovom radu, acilovani derivati pektina sintetisani su u reakciji konvencionalne esterifikacije primenom acil-dihlorida koji su korišćeni kao agensi za acilovanje [248]. Pre primene, sve hemikalije sušene su pod vakuumom na $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ do postizanja konstantne mase.

4.1 Reaktanti

Za potrebe sinteze acilovanih derivata korišćeni su sledeći reaktanti:

- Pektin
- Agensi za acilovanje: sukcinil-hlorid, glutaroil-hlorid, adipoil-hlorid, sebacoil-hlorid
- Ratvarač: dimetil sulfoksid (DMSO)
- Katalizator: piridin

4.1.1 Pektin

U ovom radu korišćen je komercijalni pektin izolovan iz jabuke, firme Sigma Aldrich, SAD, sledećih karakteristika:

$$\bar{M}_n=30\ 000-100\ 000\ \text{g mol}^{-1}$$

stepen esterifikacije: 70-75%

čistoća: 98%

4.1.2 Dimetil sulfoksid

Dimetil sulfoksid (DMSO) je važan polarni aprotični rastvarač koji rastvara polarna i nepolarna jedinjenja i meša se sa velikim brojem organskih rastvarača, kao i sa vodom. U ovom radu korišćen je DMSO firme Merck, Nemačka, koji ima sledeće karakteristike:

Molarna masa: $78,13 \text{ g mol}^{-1}$

Molekulska formula: $\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$

Temperatura ključanja: $189 \text{ }^\circ\text{C}$

Čistoća: p.a

Kao agensi za esterifikaciju u ovom radu korišćeni su acil-dihloridi firme Sigma Aldrich, SAD.

4.1.3 Sukcinil-hlorid

Sukcinil-hlorid je dihlorid sukcininske kiseline.

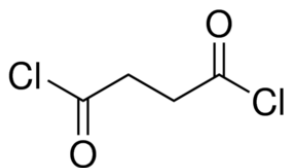
Molarna masa: $154,98 \text{ g mol}^{-1}$

Molekulska formula: $\text{ClCOCH}_2\text{CH}_2\text{COCl}$

Temperatura ključanja: $190 \text{ }^\circ\text{C}$

Gustina: $1,407 \text{ g ml}^{-1}$ ($25 \text{ }^\circ\text{C}$)

Čistoća: 95%



Slika 4.1. Strukturna formula sukcinil-hlorida.

4.1.4 Glutaroil-hlorid

Glutaroil-hlorid je dihlorid glutarne kiseline.

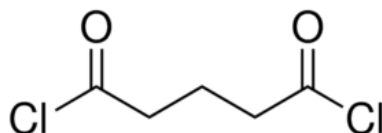
Molarna masa: 169,01 g mol⁻¹

Molekulska formula: ClCO(CH₂)₃COCl

Temperatura ključanja: 216-218 °C

Gustina: 1,324 g ml⁻¹ (25 °C)

Čistoća: 97%



Slika 4.2. Strukturna formula glutaroil-hlorida.

4.1.5 Adipoil-hlorid

Adipoil-hlorid je dihlorid adipinske kiseline.

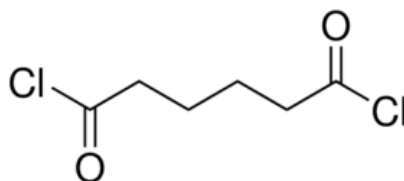
Molarna masa: 183,03 g mol⁻¹

Molekulska formula: ClCO(CH₂)₄COCl

Temperatura ključanja: 105-107 °C

Gustina: 1,259 g ml⁻¹ (25 °C)

Čistoća: 98%



Slika 4.3. Strukturna formula adipoil-hlorida.

4.1.6 Sebacoil-hlorid

Sebacoil-hlorid je dihlorid sebacinske kiseline.

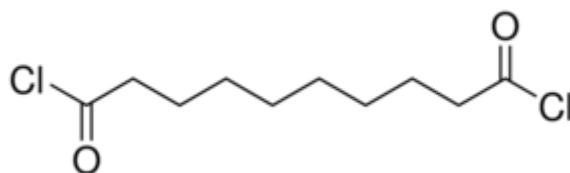
Molarna masa: 239,14 g mol⁻¹

Molekulska formula: ClCO(CH₂)₈COCl

Temperatura ključanja: 220 °C

Gustina: 1,121 g ml⁻¹ (25 °C)

Čistoća: 99%



Slika 4.4. Strukturna formula sebacoil-hlorida.

Piridin (p.a, Sigma Aldirch, SAD) je korišćen kao katalizator i za uklanjanje sporednih proizvoda reakcije.

Etanol i aceton (p.a, Carlo Erba, Španija) korišćeni za taloženje i prečišćavanje proizvoda reakcije.

4.2 Sinteza acilovanih derivata pektina

U suvom balonu zapremine 50 cm³ najpre je napravljen rastvor pektina u DMSO koncentracije 15 g dm⁻³. Pektin je rastvaran tokom 24 h na temperaturi od 60 °C uz konstantno mešanje (250 rpm). U pripremljen rastvor pektina agensi za acilovanje dodavani su kap po kap u ledenom kupatilu (5 °C), nakon čega je reakcija esterifikacije vođena na 50 °C u uljanom kupatilu tokom 12 h, uz konstantno mešanje. Zapremine acil-dihlorida su preračunate tako da svaka treća, odnosno, svaka petnaesta jedinica galakturonske kisline bude acilovana (Tabela 4.1). Da bi se uklonio HCl koji se izdvaja

kao sporedni proizvod, u reakcionu smešu dodavana je stehiometrijska količina piridina u odnosu na odgovarajući acil-dihlorid.

Nakon što je reakcija završena, reakciona smeša tretirana je etanolom u cilju taloženja reakcionog proizvoda. Izdvojeni talog ispiran je etanolom tokom 1 h uz konstantno mešanje. Postupak je ponovljen tri puta, nakon čega je proizvod ispran acetonom i filtriran. Dobijeni proizvodi reakcije sušeni su u vakuum sušnici na 40 °C do konstantne mase.

Prethodno opisan postupak sinteze i prečišćavanja proizvoda reakcije primenjen je za pripremu svih uzoraka modifikovanog pektina predstavljenih u Tabeli 4.1.

Tabela 4.1. Zapremine acil-dihlorida korišćenih pri sintezi derivata pektina

Agens za acilovanje	Redni broj	Oznaka uzorka*	V(μL)	Redni broj	Oznaka uzorka*	V(μL)
Sukcinil-hlorid	1.	SC 1/3	67,25	5.	SC 1/15	13,44
Glutaroil-hlorid	2.	G1/3	77,9	6.	G1/15	15,59
Adipoil-hlorid	3.	A 1/3	88,72	7.	A 1/15	17,74
Sebacoil-hlorid	4.	S1/3	130,3	8.	S1/15	26,03

*Slova u oznaci uzorka, SC, G, A i S, ukazuju na vrstu korišćenog agensa za acilaciju. Brojevi, 1/3 i 1/15, ukazuju na molarni odnos agensa za acilaciju i galakturnoske kiseline.

4.3 Karakterisanje acilovanih derivata pektina

Sintetisani acilovani derivati su karakterisani primenom infracrvene spektroskopije sa Furijeovom transformacijom (FTIR), viskozimetrije, gel-propusne hromatografije (GPC), difrakcije laserske svetlosti (DLS) i optičke mikroskopije, termogravimetrijske analize (TGA), diferencijalne skenirajuće kalorimetrije (DSC), kao i skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM).

4.3.1 Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom

Za potrebe FTIR analize korišćeni su uzorci u obliku filma, koji su pripremljeni iz vodenih rastvora nativnog i modifikovanog pektina koncentracije 10 g dm^{-3} . Rastvori su nakapavani (1-2 kapi) na ZnSe pločice i sušeni 72 h na $40 \text{ }^\circ\text{C}$ do formiranja tankog filma, nakon čega su ispitivani u opsegu vrednosti talasnog broja od 600 do 4000 cm^{-1} pri rezoluciji 4 cm^{-1} , upotrebom IR spektrofotometra Bomem MB100.

4.3.2 Određivanje reoloških parametara

Viskoznost koncentrovanih rastvora (40 g dm^{-3}) na $25 \text{ }^\circ\text{C}$ određena je pomoću mehaničkog spektrometra, Rheometrics RMS 605. Korišćena je geometrija paralelnih ploča prečnika 25 mm. Za potrebe ovog merenja uzorci su rastvarani u $0,025\text{M}$ rastvoru NaCl na sobnoj temperaturi tokom 18 h, nakon čega su centrifugirani (3000 g , 15 min) da bi se uklonio zaostali vazduh [249].

4.3.3 Gel-propusna hromatografija

Raspodela molarnih masa sintetisanih uzoraka određena je primenom gel-propusne hromatografije na instrumentu GPC Malvern opremljenim sa četiri vrste detektora (diferencijalni refraktometar, MALLS, LALLS i viskozimetar). Kao eluent korišćen je vodeni rastvor koji sadrži $0,1\text{M NaNO}_3$ i $0,2\%$ NaN_3 . Injekciona zapremina iznosila je $100 \text{ }\mu\text{l}$, a protok eluenta $0,5 \text{ ml min}^{-1}$. Uzorci su ispitivani propuštanjem kroz predkolonu i kolonu (TSKgelGMPWxl, Tosoh Corporation) na temperaturi od $40 \text{ }^\circ\text{C}$. Korišćena je univerzalna kalibraciona kriva, a kao standard je korišćen pululan

molarnih masa 1220000-1000 g mol⁻¹. Koncentracije uzoraka bile su 1,5-2,0 mg ml⁻¹. Analize su ponovljene dva puta za sve uzorke.

4.3.4 Difrakcija laserske svetlosti i optička mikroskopija

Raspodela veličina čestica u rastvoru određivana je metodom difrakcije laserske svetlosti, upotrebom instrumenta Mastersizer 2000 (Malvern Instruments). Uzorci nativnog i modifikovanog pektina najpre su rastvoreni u 0,25M rastvoru NaCl na 50 °C, tokom 12 h i razblaženi do koncentracije 0,5 g dm⁻³. Rastvori pripremljeni na opisan način tretirani su u ultrazvučnom kupatilu tokom 3 min, nakon čega su ubrizgavani u komoru od kvarcnog stakla. Sva merenja izvođena su na sobnoj temperaturi pri pH=3. Isti rastvori naknadno su ispitani i primenom optičkog mikroskopa sa kamerom (LEICA DC 150).

4.3.5 Termogravimetrijska analiza

Termička stabilnost modifikovanog i nativog pektina (5±0,5 mg) ispitana je korišćenjem Mettler-Toledo TG-SDTA 851 instrumenta za termogravimetriju. TGA analiza je izvedena u struji azota, protoka 60 ml min⁻¹ i sa programiranim linearnim zagrevanjem od 10 °C min⁻¹ u temperaturnom opsegu od 25 °C do 600 °C. Analize su ponovljene tri puta za sve uzorke.

4.3.6 Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija

DSC analiza uzoraka (6,0 ± 0,5 mg) urađena je pomoću instrumenta TA DSC – Q2000 u atmosferi azota pri protoku od 30 ml min⁻¹. Primenjen je sledeći temperaturni režim: zagrevanje od 0 do 110 °C (20 °C min⁻¹), izotermalni korak na 100 °C tokom 30 min, zatim hlađenje do 0 °C (10 °C min⁻¹), drugi izotermalni korak u cilju stabilizacije sistema (1 min na 0 °C) i ponovno zagrevanje do 200 °C (20 °C min⁻¹). Kako bi se obezbedila ponovljivost eksperimenta svaki uzorak analizaran je tri puta.

4.3.7 Skenirajuća elektronska mikroskopija

Mikrostrukturne karakteristike materijala određene su skenirajućom elektronskom mikroskopijom na uređaju TESCAN MIRA 3 XMU, pri radnom naponu struje vlakna od 20 kV. Materijali su prethodno učvršćeni na bakarni nosač i napareni legurom zlato/paladijum u naparivaču tipa Polaron SC502 Sputter coater. Za potrebe SEM analize koncentrovani rastvori nativnog i modifikovanog pektina (40 g dm^{-3}) su najpre zamrznuti na temperaturi od -20°C tokom 48 h, a potom liofilizovani tokom 24 h na temperaturi od -30°C i pritisku 0,370 mbar uz pomoć uređaja Martin Christ Freeze-dryer Alpha 1–2 LDplus.

Poglavlje V

5. Ispitivanje uticaja specifičnih anjonskih vrsta na proces umrežavanja nativnog pektina

Za potrebe umrežavanja pektina korišćene su sledeće neorganske soli bakra (Merck, Nemačka):

- a) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, bakar(II)-sulfat-pentahidrat
- b) $\text{Cu}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, bakar(II)-acetat-monohidrat
- c) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, bakar(II)-hlori-dihidrat
- d) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, bakar(II)-nitrat-trihidrat

5.1 Umrežavanje pektina u vodenim rastvorima bakarnih soli

Umrežene pektinske čestice dobijene su ukapavanjem vodenog rastvora pektina (20 g dm^{-3}) u rastvore bakarnih soli kroz injektor prečnika 0,45 mm. Početne koncentracije vodenih rastvora bakarnih soli varirane su u opsegu 0,5 g/l -10 g/l, dok je masa ukapavanog rastvora pektina bila konstantna, 2 g. Svi eksperimenti su izvođeni na sobnoj temperaturi. Dobijene čestice izdvojene su iz rastvora odmah nakon umrežavanja i isprane destilovanom vodom tri puta. Srednji prečnik čestica (2,8-3,2 mm) određen je optičkim mikroskopom sa kamerom, LEICA DC 150. Podaci su kvantifikovani analizom slike u programu Image-Pro Plus.

5.2 Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom

Liofilizovane čestice su prašene i pomešane sa kalijum-bromidom (KBr, Sigma-Aldrich, Nemačka) u odnosu 1:100, a zatim komprimovane da bi se dobile KBr pločice potrebne za snimanje spektara Bomem MB 100 spektrofotometrom. Obrada i dalja analiza dobijenih FTIR spektara izvedena je u softverskim paketima WinBomem i Origin Microcal 8.0.

5.3 Određivanje ravnotežnog kapaciteta sorpcije procesa umrežavanja nativnog pektina u funkciji početne koncentracije vodenih rastvora soli bakra

Koncentracija bakarnih jona u rastvoru, pre i nakon umrežavanja, određena je primenom atomskog apsorpcionog spektrofotometra Perkin-Elmer Analyst 700 AAS. Svi eksperimenti su izvođeni na temperaturi od 25° C i pH= 4.

5.4 Primena adsorpcionih izoterma na umrežavanje pektina u vodenim rastvorima bakarnih soli

Ekperimentalni podaci procesa sorpcije dalje su korelisani sa linearnim oblicima dva modela adsorpcionih izoterma, Langmuir-ovim i Freundlich-ovim.

5.5 Skenirajuća elektronska mikroskopija i elektronska disperziona spektroskopija

Morfologija površine i poprečnog preseka umreženih čestica ispitana je primenom skenirajuće elektronske mikroskopije. Prethodno liofilizovani i prelomljeni uzorci napareni su platinom u raspršivaču LEICA SCD005, dok su snimanja rađena na mikroskopu Jeol JSM 5800 pri radnom naponu vlakna od 20 kV. Elementarna analiza uzoraka urađena je primenom elektronske disperzione spektroskopije na instrumentu Oxford Inca 3.2, kuplovanim sa skenirajućim elektronskim mikroskopom.

5.6 Ispitivanje mehaničkih karakteristika pektinskih čestica

Pritisna čvrstoća uzoraka u vlažnom stanju merena je primenom 1185 Instron uređaja za testiranje. Uzorci su komprimovani do deformacije od 80% pri brzini od 1 mm min⁻¹. Podaci su uzeti kao srednja vrednost rezultata dobijenih iz tri nezavisna meranja.

Poglavlje VI

6. Ispitivanje uticaja modifikacije na svojstva materijala na bazi pektina

6.1 Ispitivanje hidrofobnosti acilovanih derivata pektina

Procena hidrofobnosti dobijenih derivata data je na osnovu merenja vrednosti kontaknog ugla kapi na površini uzorka u formi filma (metoda ležeće kapi) i površinskog napona vodenih rastvora (metoda prstena po Di Noiju).



Slika 6.1. Kontakni ugao koji tečnost zaklapa sa površinom čvrstog uzorka.

Kontakni ugao je definisan kao ugao koji tangenta površine tečnosti povučena kroz tačku dodira tri faze zaklapa sa površinom filma (Slika 6.1).

6.1.1 Metoda ležeće kapi ("Sessile drop method")

Kontakni ugao, koji kap ultra čiste vode (4 μl) zaklapa sa površinom filmova nativnog i modifikovanog pektina, određen je na instrumentu Theta Optical Tensiometer (Attension, KSV) pri konstantnoj temperaturi od 25 °C. Filmovi su prethodno pripremljeni metodom otparavanja rastvarača iz rastvora koncentracije 20 g dm^{-3} i sušeni pod vakuumom na 40 °C do dostizanja konstantne mase [250].

6.1.2 Metoda prstena po Di Noiju ("Du Nouy ring method")

Površinski napon vodenih rastvora nativnog i modifikovanog pektina određen je primenom instrumenta Nouy ring tensiometer (SEO DST 30 Surface tension metre). Merenja su izvođena u laboratorijskoj čaši zapremine 50 ml u kojoj se nalazilo 20 ml rastvora koncentracije 5 g dm^{-3} . Razmak između potopljenog prstena, izrađenog od legure platine i iridijuma, i površine tečnosti podešen je na 5 mm. Svi ekperimenti izvođeni su na konstantnoj temperaturi od 25 °C. Vrednosti površinskog napona

izračunate su na osnovu zadatih parametara (dimenzije prstena, koncentracija rastvora, temperatura) primenom integrisanog softverskog paketa [109].

6.2 Ispitivanje kinetičkih i ravnotežnih parametara sorpcije nativnog i modifikovanog pektina u vodenim rastvorima Cu^{2+} jona

Koncentrovani rastvori nativnog i modifikovanog pektina (40 g dm^{-3}) su najpre zamrznuti na temperaturi od $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ tokom 48 h, a potom liofilizovani tokom 24 h na temperaturi od $-30 \text{ }^\circ\text{C}$ i pritisku 0.370 mbar uz pomoć uređaja Martin Christ Freeze-dryer Alpha 1–2 LDplus. Liofilizovani uzorci konstantne mase (0.05g) uronjeni su u vodene rasvove bakar (II)-sulfata koncentracije $0, 5 \text{ g/l}$ i $\text{pH}=5.5$. Promena koncentracije Cu^{2+} jona u funkciji vremena t praćena je uzorkovanjem zapremine od 1 ml rastvora u unapred zadatim vremenskim intervalima tokom 24 h. Koncentracija Cu^{2+} jona određena je primenom atomskog apsorpcionog spektrofotometra, Perkin-Elmer Analyst 700 AAS. Analize su rađene u atmosferi smeše acetilena i vazduha, primenom plamene tehnike na talasnoj dužini $249,22 \text{ nm}$. Eksperimentalni podaci dalje su analizirani korišćenjem Lagergren-ovog kinetičkog modela pseudo prvog reda i Ho-ovog kinetičkog modela pseudo drugog reda.

6.3 Ispitivanje uticaja modifikacije na mehanička i barijerna svojstva filmova na bazi pektina

6.3.1 Priprema filmova

Filmovi su pripremljeni metodom otparavanja rastvarača iz vodenih rastvora nativnog i modifikovanog pektina koncentracije 20 g dm^{-3} i zapremine od 20 ml . Rastvori su izlivani u u teflonske kalupe kružnog oblika i sušeni na temperaturi of $37 \text{ }^\circ\text{C}$.

6.3.2 Ispitivanje mehaničkih svojstava

Mehanička svojstva (zatezna čvrstoća – TS i relativno izduženje (ϵ)) ispitana su korišćenjem Instron M 1185 universal uređaja za testiranje. Brzina istezanja podešena je na 2 mm min^{-1} . Prosečna debljina uzoraka, merena digitalnim mikrometrom, iznosila je $20 \text{ }\mu\text{m}$. Podaci su uzeti kao srednja vrednost rezultata dobijenih iz pet nezavisnih meranja za svaki uzorak dimenzija $15 \times 5 \text{ mm}$, pri standardnoj devijaciji od 15%.

7.3.3 Ispitivanje permeabilnosti vodene pare

Brzina prenosa vodene pare (water vapor transmission rate – WVTR) merena je prema ASTM E96 vlažnoj metodi [251] koristeći CEAST metalnu čašu sa izloženom površinom od 6,154 cm². U dno čaše sa uzorcima dodata je higroskopna so relativne vlažnosti 0% (CaCl₂), nakon čega su čaše stavljene u komoru podešene relativne vlažnosti od 50% i temperature od 25 °C. Pre merenja uzorci su ostavljeni u komori tokom 24 h kako bi se sistem uravnotežio, a zatim su merene mase uzoraka na svaka 2 h. WVTR vrednosti izražene u g h⁻¹ mm⁻² su određene iz linearne zavisnosti promene mase od vremena prema jednačini:

$$WVTR = \frac{\Delta G/t}{A} \quad (6.1),$$

gde je ΔG promena mase (g), t vreme u kome je došlo do porasta mase ΔG (h), A testirana površina čaše (mm²), a $\Delta G/t$ je nagib prave. Parametar permeabilnosti vodene pare za svaki uzorak dobija se iz jednačine:

$$WVP = \frac{WVTR \times L}{\Delta p} \quad (6.2),$$

gde je L debljina pektinskih filmova (mm) i Δp razlika parcijalnih pritisaka vodene pare sa jedne i druge strane filma (1,587x10³ Pa). Podaci su uzeti kao srednja vrednost tri nezavisna merenja za svaki uzorak.

Rezultati i diskusija

Poglavlje VII: Acilovani derivati pektina

**Poglavlje VIII: Uticaj anjona na umrežavanje pektina u
rastvorima dvovalentnog bakra**

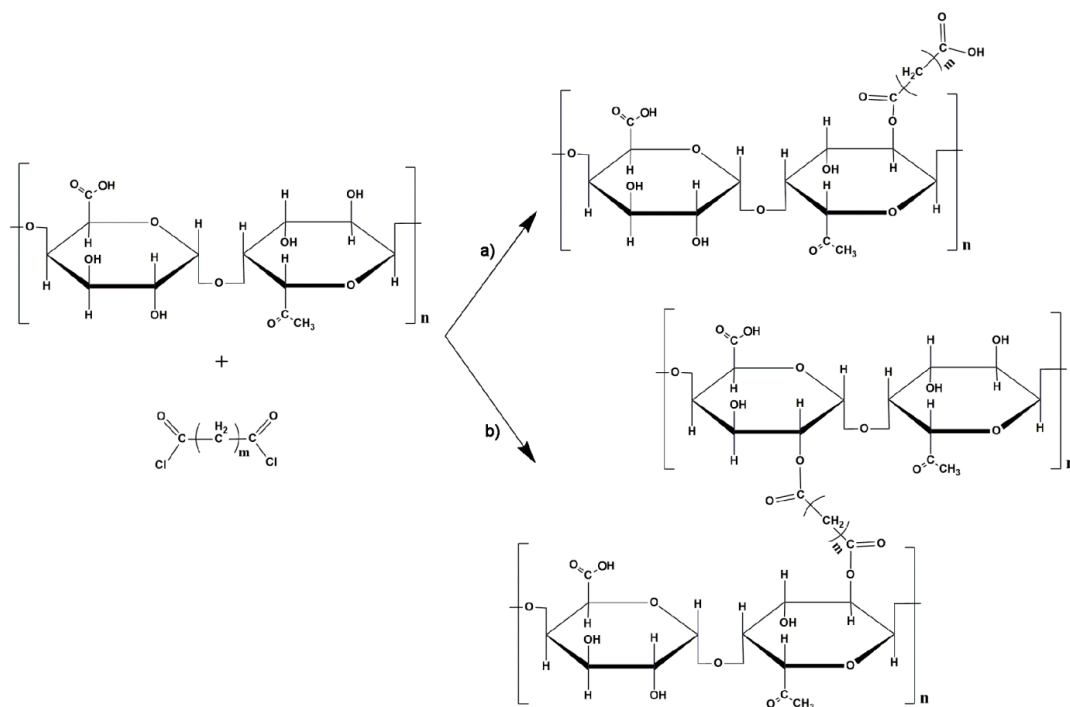
**Poglavlje IX: Analiza svojstava materijala na bazi nativnog i
modifikovanog pektina**

Poglavlje VII

7. Acilovani derivati pektina

7.1 Mehanizam esterifikacije

Acilovani derivati pektina (karboksilatni estri) dobijeni su u reakciji hidroksilne grupe pektina i acil-dihlorida (sukcinil-hlorid, glutaroil-hlorid, adipoil-hlorid, sebacoil-hlorid) koji su korišćeni kao esterifikacioni agensi. Svojstva sintetisanih derivata ispitana su u zavisnosti od molarnog odnosa agensa za acilaciju i galakturonske kiseline koji je variran pri sintezi. Kako je procenjena reaktivnost OH grupe na C2 i C3 atomima galakturonske kiseline u organskim rastvaračima približno jednaka, estarska veza se može uspostaviti preko jedne ili druge grupe sa istom verovatnoćom [38, 40]. U daljem tekstu derivati pektina označeni su kao SC, G, A i S, u zavisnosti od vrste korišćenog agensa za acilaciju, i numerisani sa 1/3 ili 1/15 u zavisnosti od primenjenog molarnog odnosa agensa za acilaciju i galakturonske kiseline (Tabela 4.1, Eksperimentalni deo).



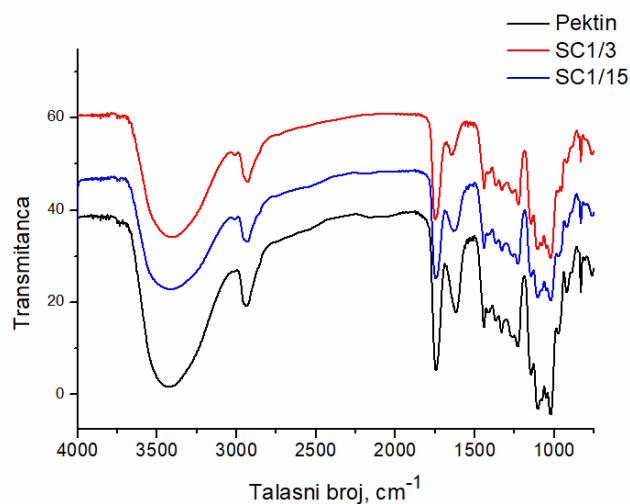
Slika 7.1. Mehanizam esterifikacije pektina.

U zavisnosti od dužine ugljeničnog niza agensa za acilaciju primenjenog pri sintezi, $(\text{CH}_2)_m$, kao proizvodi reakcije esterifikacije mogu nastati derivati različite strukture

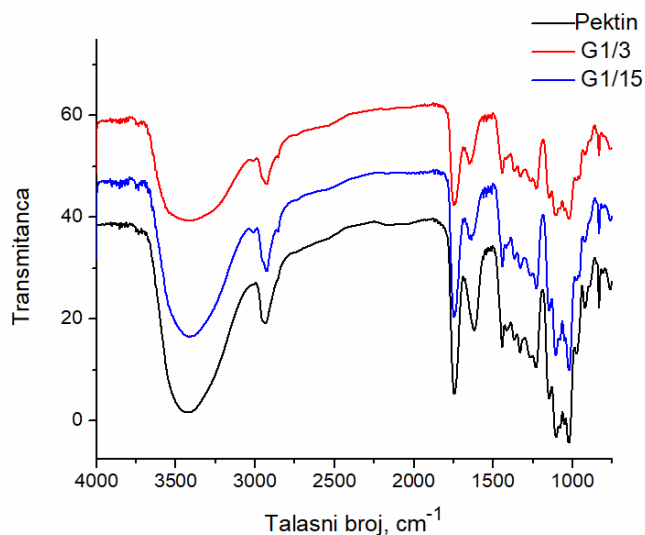
(Slika 7.1). Detaljnije objašnjenje strukturnih svojstava dobijenih derivata dato je u Odeljku 7.5.

7.2 FTIR analiza nativnog i acilovanog pektina

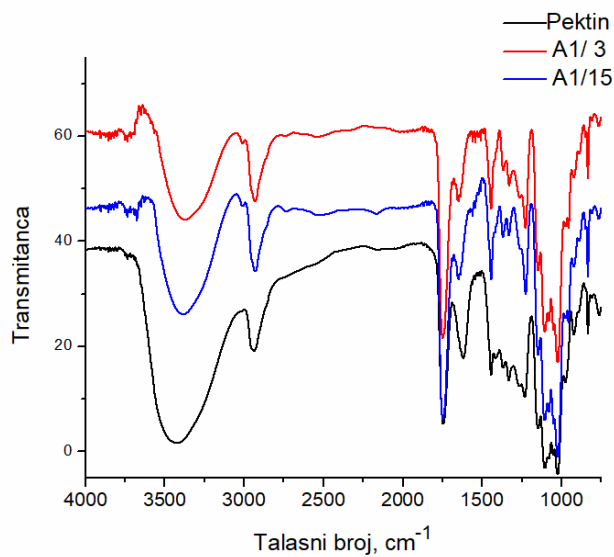
FTIR spektri derivata pektina sintetisanih pri različitim molarnim odnosima pektin/acil-dihlorid prikazani su na Slikama 7.2-7.6. Radi poređenja, na svakom grafiku prikazan je spektar nativnog pektina.



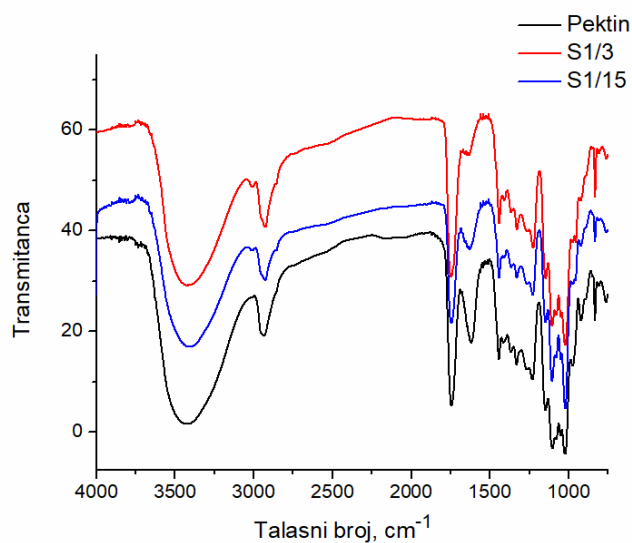
Slika 7.2. FTIR spektri nativnog i modifikovanog pektina sintetisanog u prisustvu sukcinil-hlorida.



Slika 7.3. FTIR spektri nativnog i modifikovanog pektina sintetisanog u prisustvu glutaroil-hlorida.



Slika 7.4. FTIR spektri nativnog i modifikovanog pektina sintetisanog u prisustvu adipoil-hlorida.



Slika 7.5. FTIR spektri nativnog i modifikovanog pektina sintetisanog u prisustvu sebacoil-hlorida.

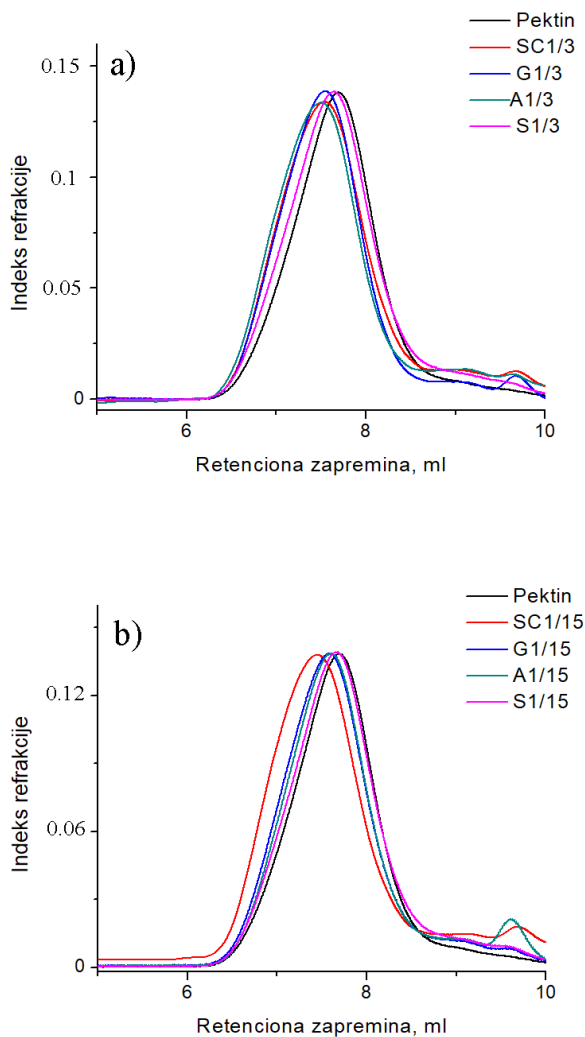
Dominantan apsorpcioni pik na FTIR spektru nativnog pektina uočava se u oblasti talasnih brojeva $3200-3600\text{ cm}^{-1}$ (sa maksimumom oko 3400 cm^{-1}) i potiče od O-H vibracionih istežanja hidroksilne grupe. Vibracije istežanja C-H veze dovode do pojave

pika srednjeg intenziteta u oblasti 2830-2995 cm^{-1} . Intenzivan pik oko 1746 cm^{-1} potiče od istezanja C=O grupa nejonizovane karboksilne kiseline i metil estera. Jonizacija karboksilne kiseline dovodi do pojave pikova u oblasti od 1616-1650 cm^{-1} i 1438-1443 cm^{-1} , koji potiču od vibracija istezanja COO^- grupe. Vibracije ljuljanja $-\text{CH}_2$ grupe dovode do pojave pikova na 1357 cm^{-1} i 1228 cm^{-1} , dok pikovi na 1368 cm^{-1} i 920 cm^{-1} odgovaraju deformacionim ("scissoring" i "rocking") vibracijama $-\text{CH}_3$ grupe metil estera [252]. Intenzivni pikovi na 1146 cm^{-1} i 1105 cm^{-1} potiču od vibracija istezanja etarskih R-O-R i C-C veza u cikličnoj skrukturi pektinskog molekula. Pik na oko 830 cm^{-1} potiče od COOH deformacija izvan ravni [253].

U poređenju sa nativnim pektinom, na FTIR spektrima modifikovanih pektina može se uočiti smanjenje intenziteta pika na 3400 cm^{-1} . Kako su OH grupe na C-2 i C-3 atomima galakturonske kiseline označene kao centri esterifikacije, smanjenje intenziteta ovog pika može se objasniti utroškom ovih grupa u procesu modifikacije. Uvođenje hidrofobnih segmenata u pektinski molekul dovodi do povećanja hidrofobnosti i otežanog uspostavljanja vodoničnih veza, što dodatno utiče na smanjenje intenziteta ovog pika [254]. Na prisustvo $-(\text{CH}_2)_n$ segmenata u strukturi modifikovanih pektina ukazuje pojava manje intenzivnih pikova na 2995 cm^{-1} , karakterističnih za vibracije istezanja alifatične C-H grupe. Značajne promene u izgledu spektra mogu se uočiti i u oblastima talasnih dužina 1620-1750 cm^{-1} . Naime, povećanje odnosa površine ispod pika na 1746 cm^{-1} u odnosu na sumu površina ispod pikova na 1746 i 1620 cm^{-1} , ukazuje da u strukturi sintetisanih derivata dolazi do formiranja dodatnih etarskih veza između hidroksilne grupe pektina i acil grupe esterifikacionog agensa. Suprotan poredak, odnosno, smanjenje relativnog odnosa površine ispod navedenih pikova, uočeno je na spektrima alkilovanih pektina dobijenih u reakciji karboksilne grupe pektina i alkil-halogenida [255]. U ovom radu, zapažena pojava u spektru alkilovanih pektina objašnjena je hidrolizom karboksilne grupe i nastajanjem karboksilatnog anjona u procesu modifikacije. Uzimajući dato objašnjenje u obzir, rezultati prikazani na Slikama 7.2-7.5 mogu se interpretirati na sledeći način: smanjenje relativne površine ispod pika, koji potiče od vibracionog istezanja karboksilatnog anjona, ukazuje da se karboksilne grupe acilovanih derivata pektina u najvećoj meri nalaze u protonovanom obliku. Uočena razlika u površini ispod pikova izraženija je na FTIR spektrima uzoraka sa većim stepenom acilacije (SC1/3, G1/3, A1/3, S1/3).

7.3 GPC analiza nativnog i acilovanog pektina

GPC analizom određena je raspodela molarnih masa uzoraka nativnog i modifikovanog pektina. Hromatogrami na Slici 7.6 dati su kao zavisnost retencione zapremine od indeksa refrakcije.



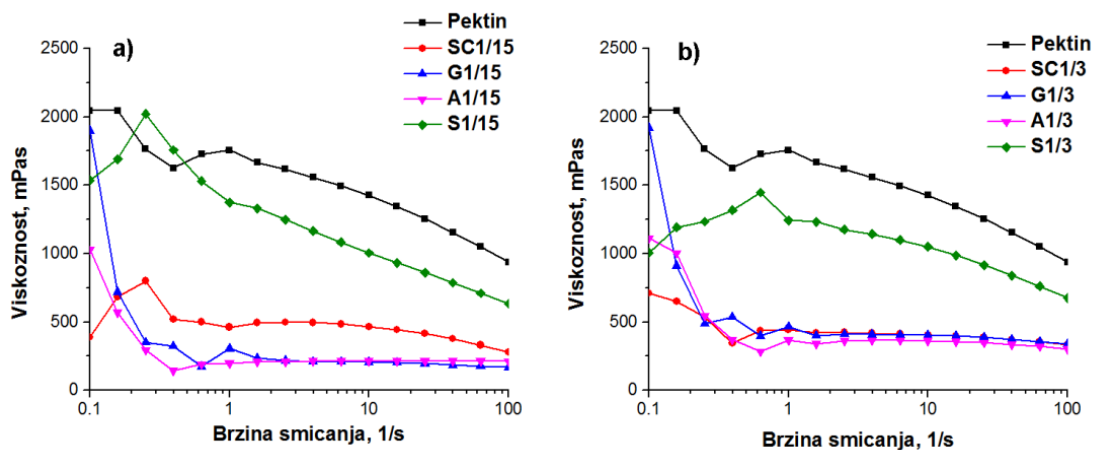
Slika 7.6. Hromatogrami nativnog i modifikovanog pektina sintetisanog pri a) višem (1/3) i b) nižem (1/15) molarnom udelu agensa za acilovanje.

Sa Slike 7.6 može se zaključiti da nema značajnih promena retencione zapremine modifikovanih pektina u poređenju sa nativnim, odnosno, da nije došlo do degradacije

tokom esterifikacije. Srednje vrednosti molarnih masa po brojnoj zastupljenosti (\bar{M}_n) frakcije koja se izdvaja u datom opsegu elucione zapremine iznosi 55 000–60 000 g mol⁻¹.

7.4 Određivanje reoloških parametara rastvora nativnog i acilovanog pektina

Polimeri koji poseduju hidrofilne i hidrofobne strukturne elemente pokazuju specifična reološka svojstva, koja u velikoj meri zavise od inter- i intramolekulskih interakcija koje se uspostavljaju u datom sistemu. Rezultati ispitivanja reoloških svojstava vodenih rastvora nativnog i modifikovanog pektina (40 g dm⁻³) prikazani su na Slici 7.7.



Slika 7.7. Viskoznost rastvora nativnog i modifikovanog pektina sintetisanog pri a) nižem (1/15) i b) višem (1/3) molarnom udelu agensa za acilovanje.

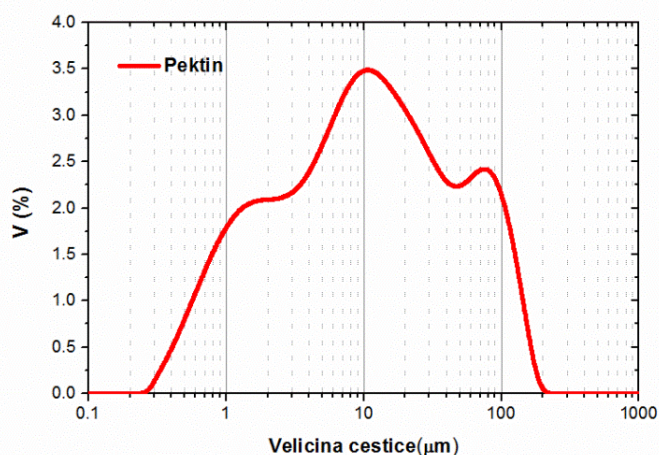
Pri svim ispitivanim brzinama smicanja, rastvori acilovanog pektina pokazuju niže vrednosti viskoznosti u poređenju sa nativnim pektinom. Kod uzoraka modifikovanih tako da svaka treća galakturonska jedinica pektinskog lanca učestvuje u reakciji esterifikacije, viskoznost rastvora opada u nizu pektin>S1/3>A1/3~G1/3~S1/3 (Slika 7.7b). Isti opadajući trend uočen je i kod uzoraka modifikovanih pri nižem molarnom udelu agensa za acilovanje (SC1/15, G1/15, A1/15, S1/15, G1/15, Slika 7.7a). Kako je GPC analizom utvrđeno da nije došlo do degradacije pektinskog lanca, smanjenje viskoznosti rastvora acilovanih derivata može biti posledica veće heterogenosti ovih sistema, nastale usled formiranja domena smanjene rastvorljivosti [256].

Pri malim brzinama smicanja (0,1 – 0,3 s⁻¹) rastvori G1/3, G1/15, A1/3 i A1/15 pokazuju nagli pad viskoznosti koji se može objasniti raskidanjem vodoničnih veza koje su

favorizovane u ovim sistemima [257]. Detaljna diskusija koja se tiče specifičnih inter- i intramolekulskih interakcija uslovljenih strukturom derivata biće data u nastavku (Odeljak 7.5).

7.5 Analiza raspodele veličine čestica u rastvorima nativnog i acilovanog pektina

Sa stanovišta stabilnosti i primene pektina, interakcije sa rastvaračem predstavljaju veoma značajan aspekt [258]. Raspodela veličina čestica može obezbediti veoma korisne smernice za bliže određivanje uticaja strukture na ponašanje polimera u datom rastvaraču. Kako se pektini najbolje rastvaraju u vodi, analiza raspodele veličina čestica ispitivanih uzoraka data je upravo za ovaj sistem.



Slika 7.8. Raspodela veličina čestica rastvora nativnog pektina.

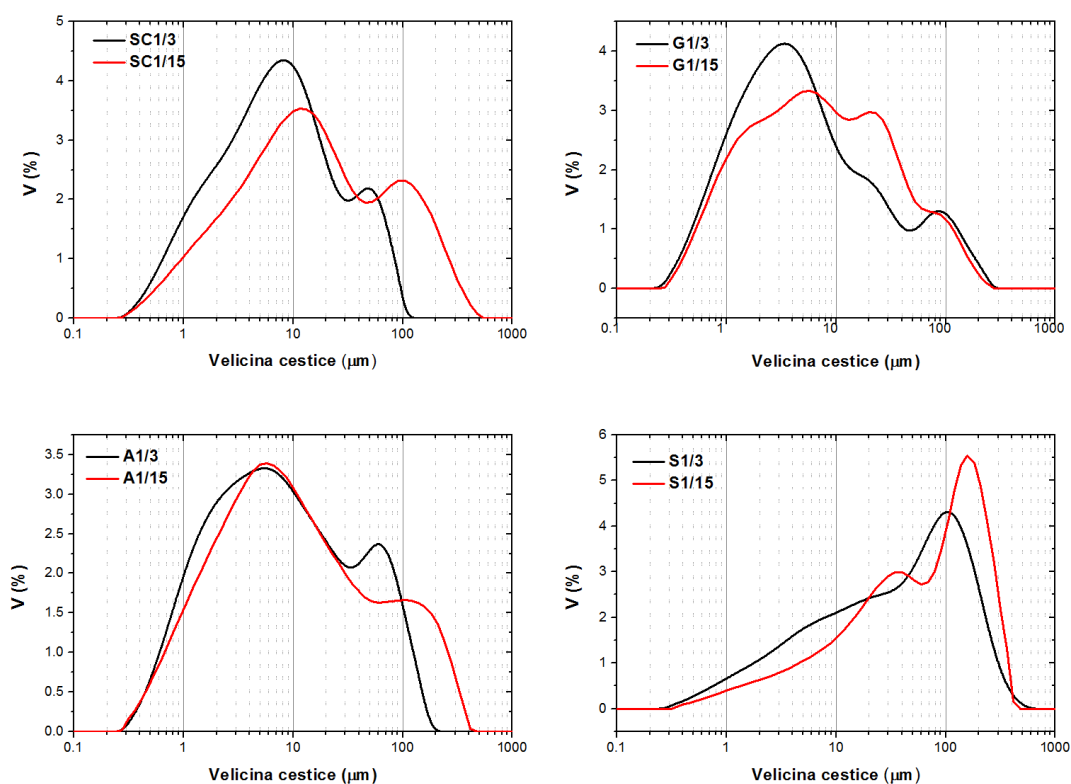
U rastvoru nativnog pektina uočena je veoma široka raspodela čestica sa dimenzijama u opsegu 0,26 do 214 µm. (Slika 7.8). Dobijeni podaci ukazuju da u razblaženom rastvoru pektina 50% zapremine zauzimaju čestice prečnika manjeg od 11,04 µm. Čestice manjih dimenzija (0-1,21 µm) zauzimaju manje od 10% zapremine, dok čestice manje od 81,17 µm zauzimaju 90% ukupne zapremine.

Vrednosti prečnika čestica nativnog i modifikovanog pektina, koje zauzimaju 10% ($d_{V,0.1}$), 50% ($d_{V,0.5}$) i 90% ($d_{V,0.9}$) ukupne zapremine rastvora, prikazane su u Tabeli 7.1.

Tabela 7.1. Prečnici čestica u vodenim rastvorima nativnog i modifikovanog pektina.

Oznaka uzorka	$d_{v,0.1}$	$d_{v,0.5}$	$d_{v,0.9}$
Pektin	1,21	11,0	81,2
SC1/3	1,35	7,72	46,2
SC1/15	1,94	15,0	50,7
G1/3	0,980	4,57	59,7
G1/15	1,10	7,22	55,6
A1/3	1,24	7,73	69,4
A1/15	1,39	9,41	127
S1/3	2,95	41,8	186
S1/15	5,63	69,9	247

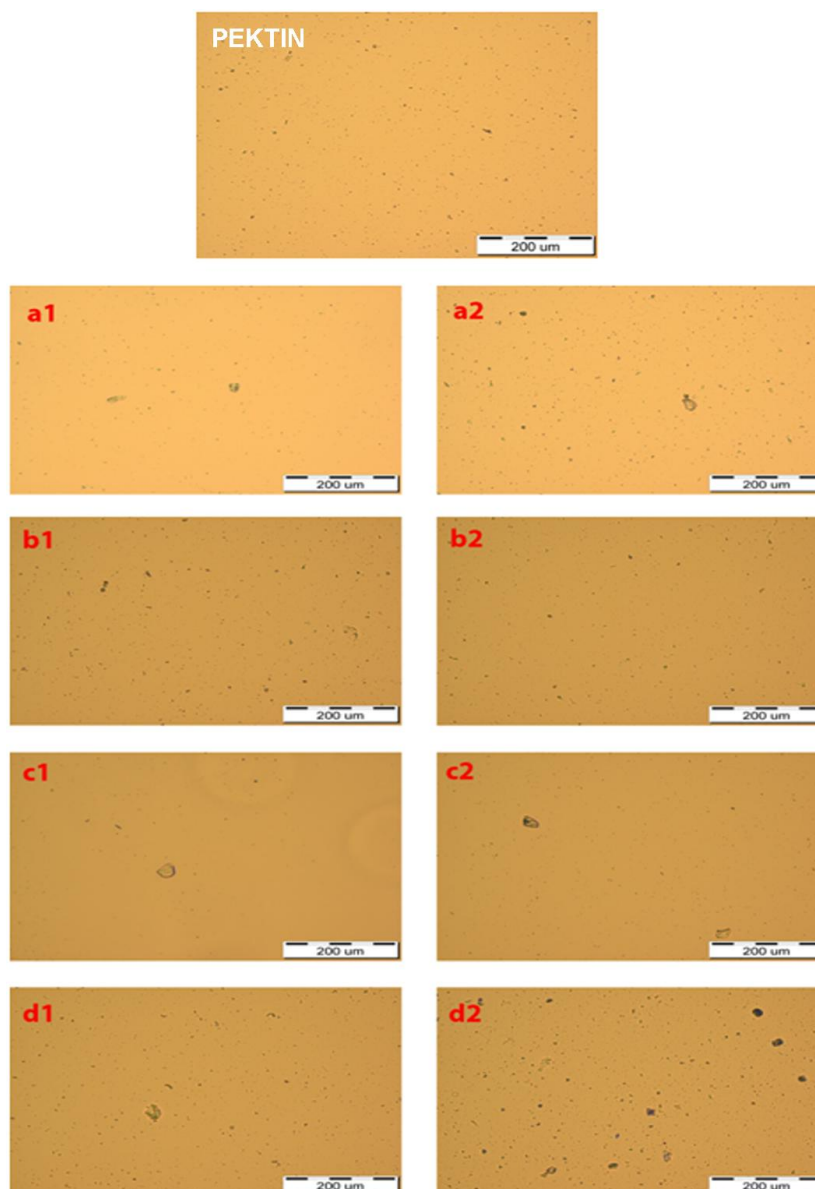
Sa slike 7.9 se može zaključiti da je raspodela veličina čestica u rastvorima modifikovanih pektina nešto uža i da je za uzorke modifikovane u prisustvu sukcinil-hlorida i glutaroil-hlorida pomerena ka nižim vrednostima. Dakle, u rastvorima jednake koncentracije ove čestice imaju manji zapreminski udeo od čestica nativnog pektina. U rastvorima derivata pektina sintetisanih u prisustvu adipoil- i sebacoil-hlorida, detektovane su čestice većeg prečnika u odnosu na one u rastvoru nativnog pektina.



Slika 7.9. Raspodela veličina čestica rastvora pektina modificiranog pri različitim molarnim udelima acil-dihlorida.

U cilju boljeg razumevanja uočenih razlika u raspodeli veličina čestica, neophodno je uzeti u obzir sve inter- i intramolekulske interakcije koje se mogu ostvariti u ispitivanim sistemima. Na osnovu strukture pektina i predloženih struktura acilovanih derivata (Slika 7.1), raspodela veličine čestica u vodenom rastvoru može biti uslovljena delovanjem elektrostatičkih odbojnih sila usled prisustva velikog broja jonogenih COOH grupa, vodoničnih veza, kao i hidrofobnih privlačnih interakcija intenziviranih ugradnjom $-(CH_2)_n$ segmenata u pektinski lanac. Takođe, značajan uticaj na raspodelu veličine čestica u rastvoru može imati umreženje pektinskih lanaca koje nastaje u reakciji esterifikacije, kao i pH vrednost ispitivanog rastvora. Pri pH vrednostima manjim od 3,5 (ispod pKa) slobodne karboksilne grupe su uglavnom nedisosovane, dok su pri vrednostima pH višim od 4,5 (iznad pKa) ove grupe disosovane [259, 260]. Negativno naelektrisanje karboksilatnih anjona, pri višim pH vrednostima, dovodi do elektrostatičkog odbijanja makromolekula u rastvoru. Pri zadatoj kiselosti ispitivanih rastvora (pH=3) disocijacija karboksilnih grupa je suzbijena, pa se u datom sistemu

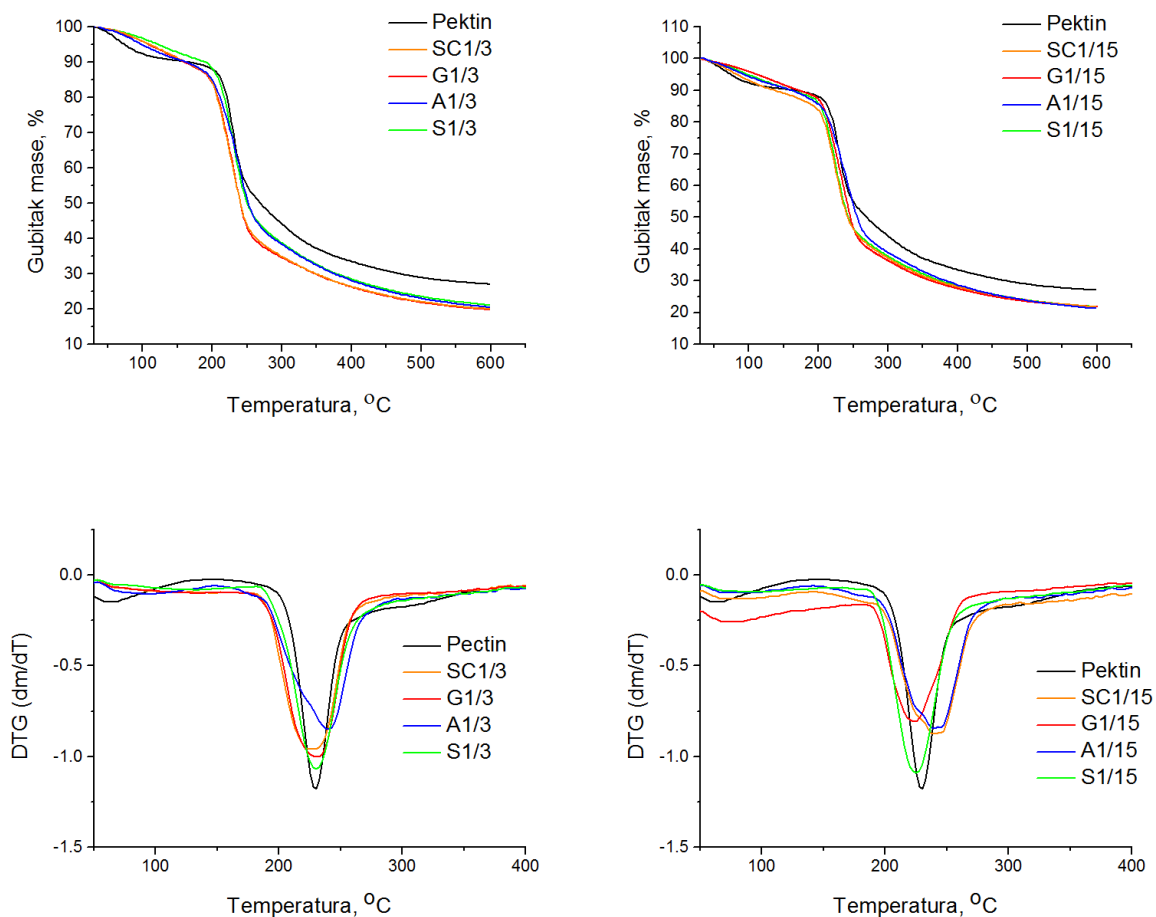
odbojne sile između istoimenih naelektrisanja mogu smatrati zanemarljivim. U molekulu nativnog pektina vodonične veze mogu se uspostaviti između slobodnih karboksilnih ili hidroksilnih grupa susednih molekula, dok se hidrofobne veze uglavnom ostvaruju između metil estarskih grupa. Uočene razlike u veličini čestica, u rastvorima nativnog i modifikovanog pektina, nedvosmisleno ukazuju da su promene u strukturi, nastale usled hemijske modifikacije, uticale na delovanje razmatranih interakcija. Kao što je već navedeno, u rastvorima uzoraka sintetisanih u prisustvu adipoil- i sebacoil-hlorida detektovane su čestice najvećih prečnika. Ovaj rezultat se tumači povećanjem intenziteta hidrofobnih interakcija i pojave agregacije, usled ugradnje acil ostataka sa većim brojem C atoma u nizu. Interesantno je da je trend povećanja dimenzija čestica izraženiji u rastvorima uzoraka sintetisanih pri manjim molarnim udelima di-acil hlorida (A1/15, S1/15). Kako su acil ostaci adipoil- i sebacoil-hlorida dovoljno dugački da mogu da povežu dva susedna pektinska lanca, opisano ponašanje može se objasniti umrežavanjem, odnosno, nastajanjem hemijskih gelova u procesu modifikacije. Umreženije strukture (A1/3, S1/3) poseduju manji kapacitet bubrenja u rastvoru, pa je stoga njihov zapreminski udeo u vodenim rastvorima manji. S druge strane, smanjenje dimenzija čestica u rastvorima uzoraka modifikovanih u prisustvu sukcinil-hlorida i glutaroil-hlorida može ukazivati na formiranje struktura u kojima su acil ostaci za pektinski lanac vezani u vidu bočnih grana. Prisustvo izolovanih bočnih lanaca sa terminalnom karboksilnom grupom dovodi do povećanja intenziteta vodoničnih veza, čime se suzbija uticaj hidrofobnih interakcija. Pretpostavka je da je dužina acil ostatka sukcinil- i glutaroil-hlorida bila nedovoljna da poveže dva susedna pektinska lanca. Pri niskim pH vrednostima, unutrašnja raspodela karboksilnih kiselina duž polimernog lanca postaje dominantan faktor koji diktira intenzitet vodoničnih interakcija, kao i svojstva rastvorenog uzorka. Stabilisane delovanjem intramolekulskih vodoničnih veza, čestice u ovim rastvorima ne pokazuju tendenciju ka agregaciji, pa je i njihova raspodela uniformnija [261]. Vizuelni prikaz razblaženih vodenih rastvora nativnog pektina i derivata sintetisanih pri različitim molarnim udelima acil-dihlorida dat je na Slici 7.10.



Slika 7.10. Vizuelni prikaz razblaženih vodenih ratvora nativnog i modifikovanog pektina: a1) SC1/3; a2) SC1/15; b1) G1/3; b2) G1/15; c1) A1/3; c2) A1/15; d1) S1/3; d2) S1/15.

Na slikama koje prikazuju čestice u rastvorima modifikovanih pektina (Slika 7.10 a, b, c, d) mogu se uočiti domeni čestica znatno većih dimenzija u poređenju sa rastvorom nativnog pektina. Pretpostavka je da do uspostavljanja heterogene organizacije dolazi usled smanjene rastvorljivosti strukturnih domena modifikovanih derivata. Ovaj trend je izraženiji kod uzoraka modifikovanih pri manjim udelima acil-dihlorida. Uočeno ponašanje može biti posledica manjeg stepena umreženja, pa ovi uzorci imaju veći kapacitet bubrenja u vodenim rastvorima.

7.6 TG analiza nativnog i acilovanog pektina



Slika 7.11. Termogravimetrijske krive nativnog i modifikovanog pektina.

Termogravimetrijske krive nativnog i modifikovanog pektina prikazane su na Slici 7.11. Degradacija svih ispitivanih uzoraka dešava se u dva stupnja karakteristična za pektine. Prvi stupanj obuhvata temperaturni interval od 25-180 °C, dok se drugi odvija u opsegu od 180-600 °C. Prvi stupanj termičke degradacije karakterističan je za otparavanje vode iz sistema [254]. Na osnovu interakcija koje se uspostavljaju između apsorbiranih molekula vode i hidrofilnog polimera mogu se razlikovati slobodna i vezana voda [262, 263]. Usled nepostojanja fizičkih interakcija sa polimerom, slobodna voda ne podleže

promenama temperature faznih prelaza i kristališe na 0 °C. U zavisnosti od strukture polimera, interakcije uspostavljene sa molekulima vezane vode mogu biti slabe Van der Waals-ove i intenzivne vodonične. Voda vezana Van der Waals-ovim vezama kristališe na temperaturama ispod 0 °C, dok voda vezana vodoničnim vezama ne kristališe čak ni kada se nabubreo uzorak ohladi do temperature od -100 °C [264]. Kriva degradacije nativnog pektina ukazuje na intenzivno isparavanje vode u opsegu od 25-100 °C, dok se kontinualni gubitak mase modifikovanih uzoraka dešava u opsegu od 25-180 °C. Uočene razlike u prvom stupnju termičke degradacije ukazuju na to da je prisustvo hidrofobnih segmenata u strukturi modifikovanih pektina uticalo na interakcije uspostavljene između polimera i molekula vode, pa uzorci modifikovanog pektina apsorbuju manju količinu nevezane vode pri istim uslovima skladištenja. U drugom stupnju, koji se odvija od 180–600 °C, dolazi do najvećeg gubitka mase usled termičke razgradnje pektina. Gubitak mase od oko 60% potiče od pirolitičke dekompozicije [254]. U ovom stupnju dolazi do primarne i sekundarne dekarboksilacije koja uključuje bočne kiselinske grupe kao i ugljenik iz prstena, nakon čega dolazi do karbonizacije materijala. Veći nagib TG krive uzoraka modifikovanog pektina ukazuje na stvaranje više isparljivih proizvoda degradacije u drugom stupnju u poređenju sa nativnim pektinom. Na DTG krivama svih ispitivanih uzoraka degradacioni pik najvećeg intenziteta uočava se u intervalu od 180-285 °C (sa maksimumom na 230 °C). Kod modifikovanih uzoraka degradacija započinje na nešto nižoj temperaturi u odnosu na nativni pektin, što može biti posledica većeg broja manje stabilnih estarskih veza prisutnih u strukturi acilovanih derivata [265].

7.7 DSC analiza nativnog i acilovanog pektina

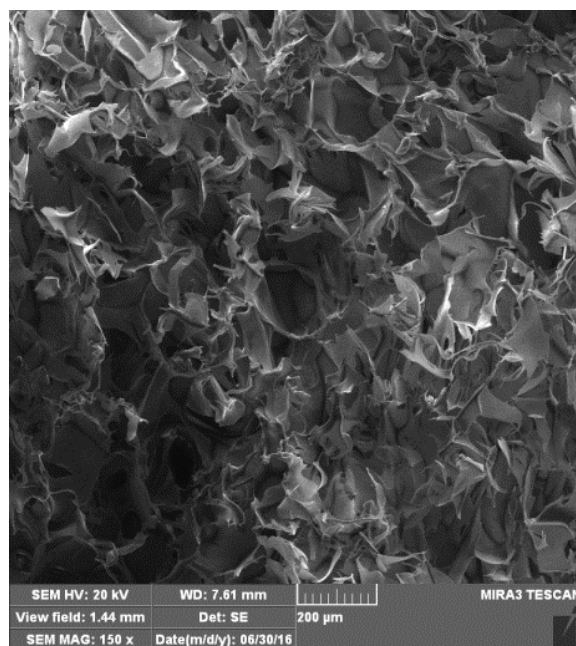
Temperatura ostakljivanja je kompleksan fenomen uslovljen brojnim faktorima uključujući intramolekulske interakcije, molarnu masu, fleksibilnost polimernih lanaca, grananje i stepen umreženja [266]. Na osnovu rezultata prikazanih u Tabeli 7.2, može se zaključiti da acilovani derivati pektina imaju niže Tg vrednosti u poređenju sa nativnim pektinom. Odstupanja od temperature ostakljivanja nativnog pektina veća su kod uzoraka sa većim stepenom acilovanja, što se može objasniti povećanjem slobodne zapremine usled većeg broja acil ostataka u strukturi ovih derivata. Generalno, što je veća slobodna zapremina, niža je Tg [267].

Tabela 7.2 Temperature ostakljivanja (Tg) nativnog i modifikovanog pektina.

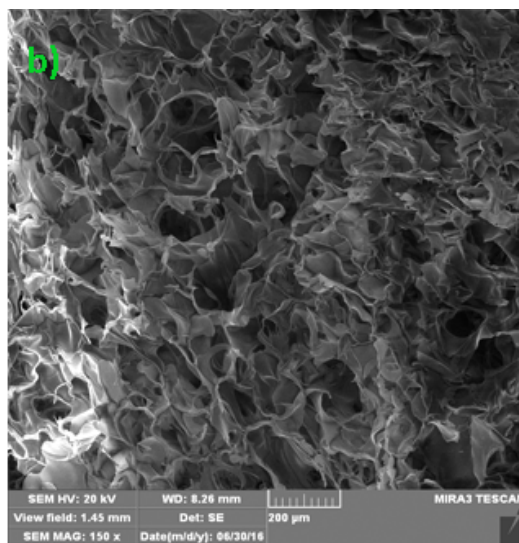
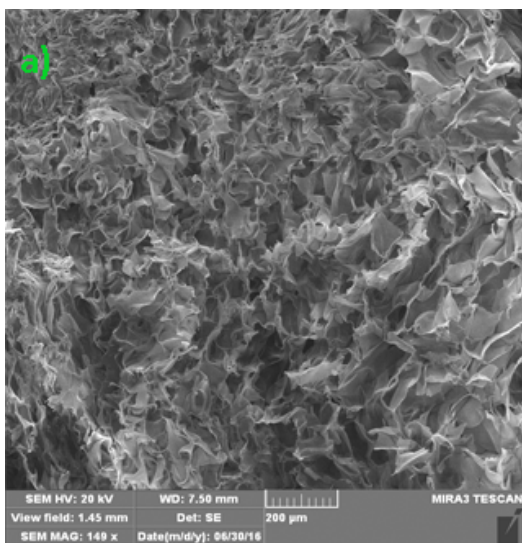
Oznaka uzoraka	Tg
Pektin	131
SC1/3	93,0
SC1/15	99,0
G1/3	95,0
G1/15	118
A1/3	95,0
A1/15	127
S1/3	94,0
S1/15	121

7.8 Analiza morfologije liofilizovanih uzorka nativnog i acilovanog pektina

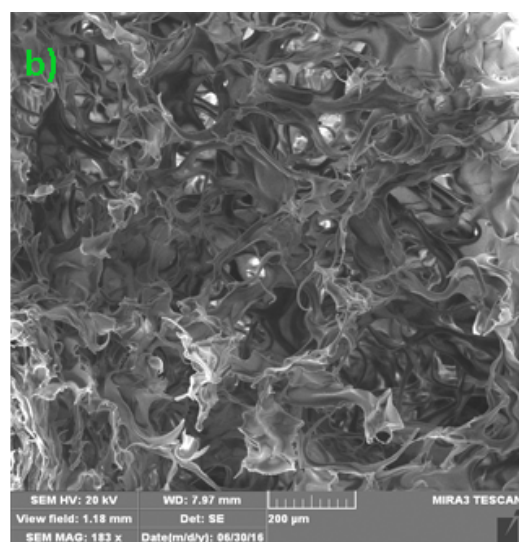
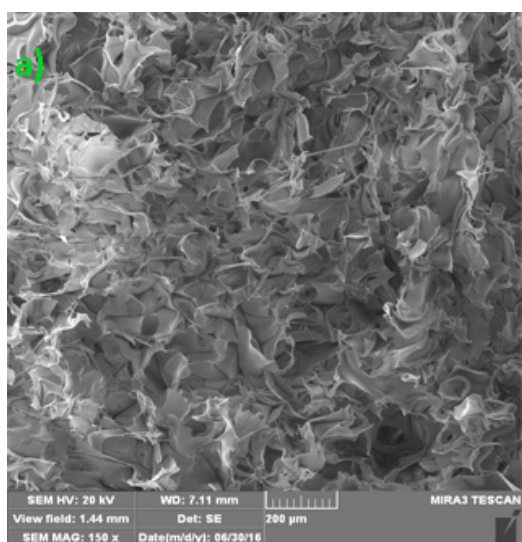
SEM mikrografi, koji prikazuju morfologiju poprečnog preseka liofilizovanih rastvora nativnog i modifikovanog pektina, prikazani su na Slikama 7.12-7. 7.16.



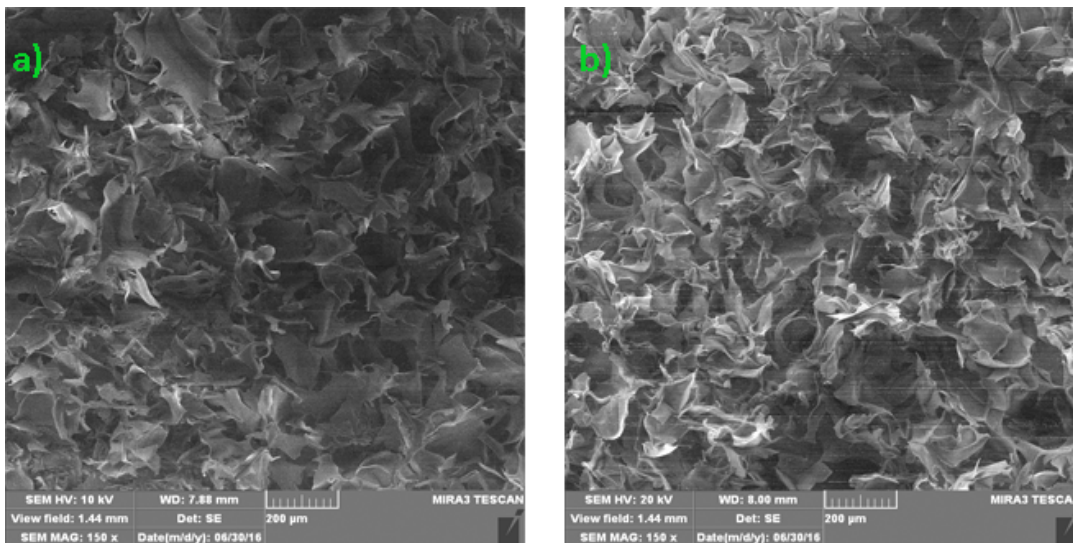
Slika 7.12. SEM mikrograf liofilizovanog rastvora nativnog pektina.



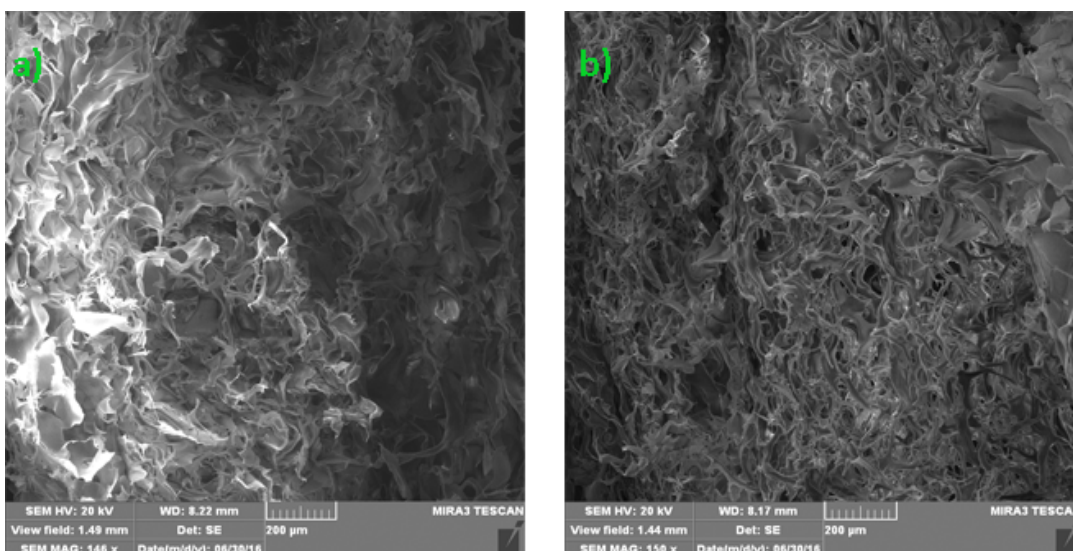
Slika 7.13. SEM mikrografi liofilizovanih rastvora acilovanih derivata pektina a) SC1/3; b) SC1/15.



Slika 7.14. SEM mikrografi liofilizovanih rastvora acilovanih derivata pektina a) G1/3; b) G1/15.



Slika 7.15. SEM mikrografi liofilizovanih rastvora acilovanih derivata pektina a) A1/3; b) A1/15.



Slika 7.16. SEM mikrografi liofilizovanih rastvora acilovanih derivata pektina a) S1/3; b) S1/15.

Morfologija poprečnog preseka liofilizovanih rastvora nativnog i modifikovanog pektina ukazuje na sunderastu strukturu koja obiluje naborima i šupljinama, nastalih kao posledica migracije molekula vode [268]. U odnosu na nativni pektin, u mikrostrukturi modifikovanih uzoraka mogu se uočiti gušći nabori sa većim brojem šupljina.

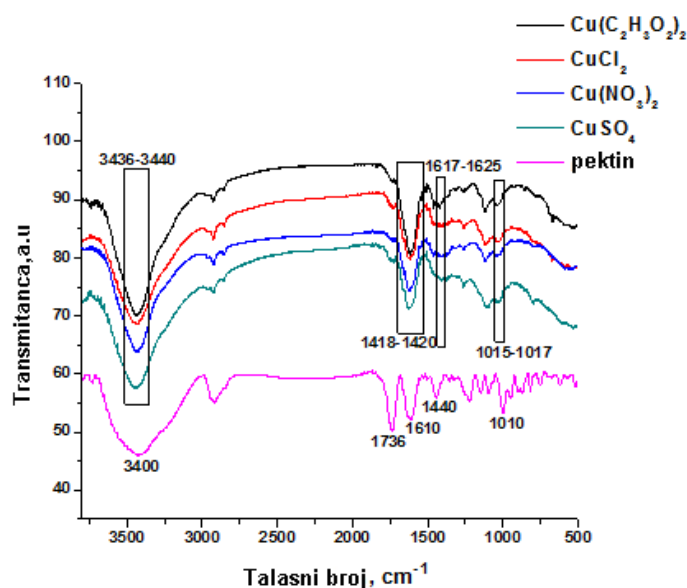
Morfološke promene mogu se povezati sa izmenjenim interakcijama između modifikovanih polimera i molekula vode, nastalih ugradnjom hidrofobnih mikrodomena u lanac pektina. Usled toga, prostorni raspored koji molekuli vode zauzimaju u koncentrovanim rastvorima modifikovanih pektina razlikuje se u odnosu na onaj koji imaju u rastvoru nativnog pektina. Zbog izraženijeg hidrofobnog karaktera i lošije interakcije sa polarnim rastvaračem, uzorci sa većim stepenom acilacije poseduju kompaktniju strukturu, sa šupljinama manjih dimenzija u odnosu na one prisutne u strukturi derivata pektina većeg stepena acilovanja.

Poglavlje VIII

8. Uticaj anjona na umrežavanje pektina u rastvorima dvovalentnog bakra

8.1 FTIR analiza umreženih čestica nativnog pektina

U cilju dobijanja informacija o promenama u strukturi nastalih kao posledica umrežavanja, primenom FTIR spektroskopije analizirani su uzorci pektina pre i nakon umrežavanja u rastvorima različitih bakarnih soli (Slika 8.1).



Slika 8.1. FTIR spektri nativnog i pektina umreženog u rastvorima bakarnih soli.

Na FTIR spektru nativnog pektina može se uočiti širok i intenzivan apsorpcioni pik oko 3400 cm⁻¹ koji potiče od vibracionog istežanja –OH grupa. Pikovi na 1610 cm⁻¹ i 1440 cm⁻¹ javljaju se usled asimetričnih i simetričnih vibracija istežanja karboksilatnog anjona (COO⁻), dok pik na 1010 cm⁻¹ potiče od vibracionog istežanja C-OH grupa u strukturi pektina [269]. Pik koji se javlja na 1736 cm⁻¹ odgovara vibracionom istežanju C=O veze karboksilnih grupa ili njenih estara (–COOH, –COOCH₃) [270]. S obzirom da pri stvaranju kompleksa sa jonima metala interaguju karboksilne i hidroksilne grupe, intenzitet ovog pika može biti indikativan za tumačenje interakcija između pektina i bakarnih jona [271].

Nakon umrežavanja, može se uočiti pomeranje pikova koji se javljaju na 3400, 1610, 1440 i 1010 cm^{-1} u oblast talasnih brojeva 3436-3440, 1617-1625, 1418-1420 i 1015-1017 cm^{-1} , redom (Slika 8.1). Ova pomeranja mogu se pripisati promenama u ukupnom naelektrisanju, odnosno, nastanku COO^- i O^- i jona nakon interakcija karboksilne i hidroksilne grupe sa jonima bakra iz rastvora [271]. Nakon umrežavanja dolazi do značajnog smanjenja intenziteta pika na 1736 cm^{-1} što se može objasniti supstitucijom jona vodonika COOH grupe i formiranjem COO-Cu kompleksa [272].

FTIR spektar, ipak, ne ukazuje na postojanje razlika u strukturi kompleksa pektina i bakra koje nastaju kao posledica uticaja različitih anjonskih vrsta u rastvorima korišćenim za umrežavanje. U spektru ne dolazi do značajnijih pomeranja, niti pojava novih pikova koji bi ukazali na prisustvo specifičnih anjona, najverovatnije usled njihove nedovoljne koncentracije da bi bili detektovani primenom FTIR spektroskopije.

8.2 Primena sorpcionog modela na umrežavanje pektina Cu^{2+} jonima

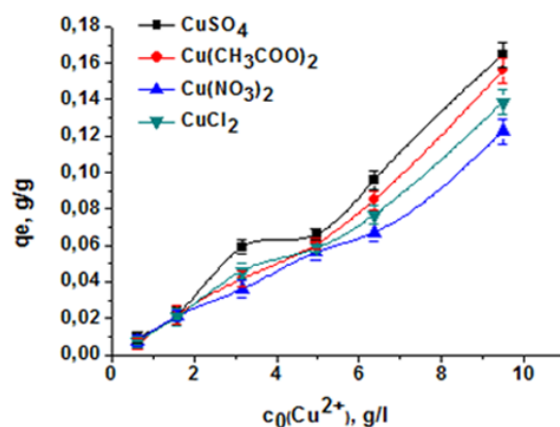
Pektin rastvoren u vodi poseduje veliki broj jonizujućih COOH grupa, što ovaj polimer čini vrlo osetljivim na promenu pH [273]. Sorpcija jona bakra takođe zavisi od pH vrednosti rastvora i favorizovana je u opsegu od pH 2 do pH 5. Iznad pH 5 nije moguće istpitivati sorpciju bakarnih jona jer dolazi do taloženja nerastvornog bakar(II)-hidroksida [274]. Pri pH vrednostima nižim od 3, sorpcija Cu^{2+} jona je otežana usled postojanja kompetitivne reakcije sa H^+ jonima. Kao posledica odbojnih sila koje se javljaju između istoimenih naelektrisanja, H^+ joni mogu onemogućiti pristup katjonima metala do mesta sorpcije. Povećanje pH iznad 3 dovodi do povećanja negativnog naelektrisanja duž pektinskog lanca, pa su privlačne interakcije sa katjonima metala u ovim uslovima favorizovane [275]. Uzimajući u obzir sve prethodno navedeno, procenjeno je da su pri pH 4 obezbeđeni optimalni uslovi za analizu umrežavanja pektina.

Ravnotežni kapacitet sorpcije procesa umrežavanja (q_e) izračunat je na osnovu jednačine:

$$q_e = \frac{(c_0 - c_e) \cdot V}{m} \quad (8.1)$$

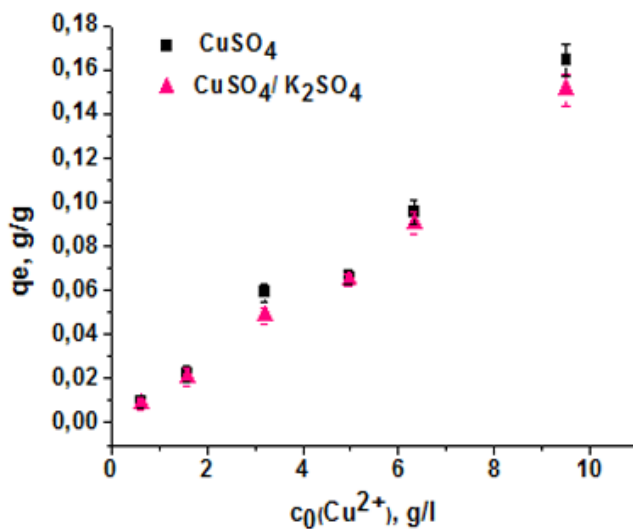
gde je q_e ravnotežni kapacitet sorpcije (g/g), c_0 i c_e su početna i ravnotežna koncentracija Cu^{2+} jona (g/l), V je zapremina rastvora, a m masa sorbenta (g).

Krive sorpcije korišćene za opisivanje procesa umrežavanja pektina prikazane su na Slici 8.2.



Slika 8.2. Krive zavisnosti ravnotežnog kapaciteta sorpcije nativnog pektina od početne koncentracije Cu^{2+} jona.

Uzimajući u obzir disocijaciju bakarnih soli korišćenih za umrežavanje, jasno je da se molarna koncentracija sulfatnih jona u rastvoru razlikuje u odnosu na ostale anjone razmatrane u ovom radu (acetatni, hloridni i nitratni jon). U cilju uspostavljanja koncentracione jednakosti svih anjona, u rastvor bakar(II)-sulfata dodat je kalijum(I)-sulfat u ekvimolarnom odnosu. Rezultati prikazani na Slici 8.3 ukazuju da je koncentracija Cu^{2+} jona utrošena u procesu umrežavanja iz rastvora CuSO_4 i $\text{CuSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$ približno jednaka, pa se može zaključiti da pomenuta razlika u koncentraciji SO_4^{2-} nema uticaja na kapacitet sorpcije.



Slika 8.3. Ravnotežni kapacitet sorpcije Cu^{2+} procesa umrežavanja nativnog pektina u rastvorima CuSO_4 i $\text{CuSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$.

Generalno, kapacitet sorpcije se povećava sa povećanjem početne koncentracije Cu^{2+} jona. Ovakav rezultat ukazuje da je količina bakarnih jona koja se utroši u procesu umrežavanja uslovljena početnom koncentracijom rastvora. Pri nižim početnim koncentracijama bakarnih jona u rastvorima ($c_0(\text{Cu}^{2+}) < 2$ g/l) sorpcione krive se preklapaju, pa se uticaj različitih jonskih vrsta na kapacitet sorpcije u ovom koncentracionom opsegu može smatrati zanemarljivim. Dalje povećanje početne koncentracije rastvora utiče na kapacitet sorpcije Cu^{2+} jona, pri čemu je maksimalni kapacitet sorpcije postignut u vodenom rastvoru bakar(II)-sulfata. Kapacitet sorpcije, odnosno, koncentracija bakarnih jona koja se utroši u procesu umrežavanja pektina u različitim rastvorima bakarnih soli opada u nizu $\text{CuSO}_4 > \text{Cu}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 > \text{CuCl}_2 > \text{Cu}(\text{NO}_3)_2$.

Uz pretpostavku da je efekat bakarnog katjona na proces umrežavanja pektina isti u svim rastvorima, uočene razlike u kapacitetima sorpcije mogu se tumačiti kroz uticaje različitih anjona. Veće naelektrisanje sulfatnog anjona u odnosu na druge ispitivane anjone može biti razlog veće efikasnosti u procesu jonskog vezivanja [233, 276]. Zbog izrazitog akceptorskog efekta prema jonima vodonika, koji utiče na uspostavljanje vodoničnih interakcija, sulfatni jon pospešuje proces vezivanja metala iz vodenih

rastvora [233]. Chen i saradnici došli su do sličnih saznanja ispitivanjem kapaciteta sorpcije nativnog hitozana i hitozana umreženog epihlorhidrinom u vodenim rastvorima bakar(II)-hlorida i bakar(II)-sulfata. Naime, rezultati dobijeni u ovom istraživanju ukazuju na veći kapacitet sorpcije materijala na bazi hitozana iz rastvora bakar(II)-sulfata pri istim pH vrednostima [234].

8.3 Primena Hofmeister-ove teorije na analizu uticaja anjona u procesu umrežavanja pektina

Uočene razlike u koncentracijama Cu^{2+} jona koje se utroše u procesu umrežavanja mogu se objasniti uticajem specifičnih anjona, koji je 1888. godine u svojoj studiji predložio Franz Hofmeister [277]. Hofmeister-ova teorija predviđa rangiranje anjona na osnovu njihovog relativnog uticaja na ponašanje makromolekula u vodenim rastvorima i predstavlja se sledećim nizom (Hofmeister-ov niz): $\text{F}^- \approx \text{SO}_4^{2-} > \text{HPO}_4^{2-} > \text{CH}_3\text{COO}^- > \text{Cl}^- > \text{NO}_3^- > \text{Br}^- > \text{ClO}_3^- > \text{I}^- > \text{ClO}_4^- > \text{SCN}^-$. Anjoni sa desne strane Cl^- nazivaju se haotropima (slabo hidratizirani anjoni, “water structure breakers”), dok se anjoni sa leve strane Cl^- nazivaju kosmotropima (izrazito hidratizirani, “water structure makers”) [278]. Hloridni anjon se smatra neutralnim (bez uticaja). Usled jakih interakcija koje ostvaruju sa molekulima vode, kosmotropi poseduju mogućnost stabilizacije vodene strukture. S druge strane, haotropi ostvaruju lošije interakcije sa molekulima vode i na taj način je destabilišu [279]. Ovom teorijom na sličan način opisan je uticaj katjona i predstavljen je sledećim nizom: $(\text{CH}_3)_4\text{N}^+ > \text{NH}_4^+ > \text{CS}^+ > \text{Rb}^+ > \text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{Li}^+ > \text{Mg}^{2+} > \text{Ca}^{2+}$. Katjoni sa leve strane K^+ jona, koji se smatra neutralnim, nazivaju se haotropima, dok se katjoni sa desne strane K^+ nazivaju kosmotropima [280].

Svi anjoni razmatrani u ovom istraživanju pripadaju Hofmeister-ovom nizu. Osnovne karakteristike ovih anjona prikazane su u Tabeli 8.1 [281, 282].

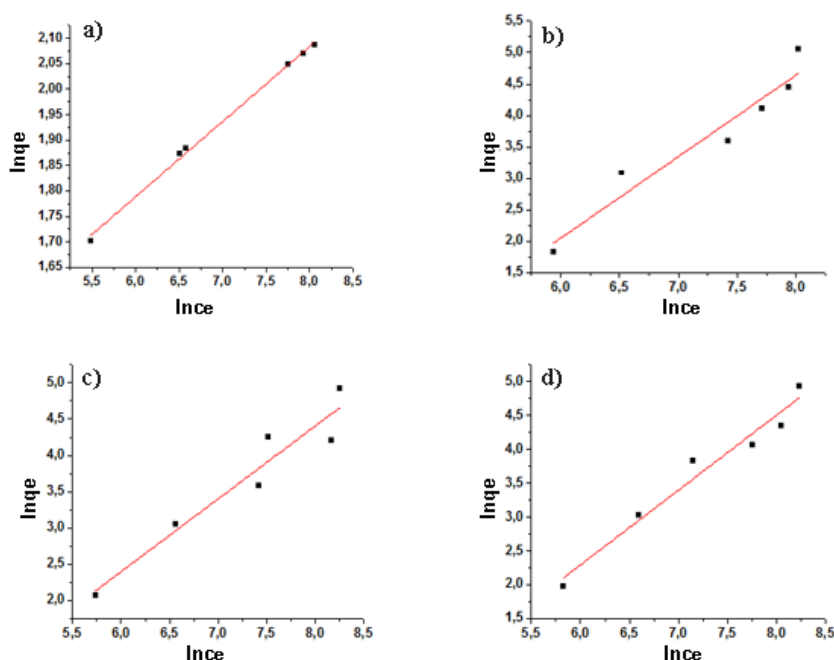
Tabela 8.1 Radijus anjona – r ; polarizabilnost – α , molarni priraštaj površinskog napona – σ , parcijalna molarna zapremina – v . Navedene vrednosti odgovaraju vodenim rastvorima ispitivanih anjona pri koncentraciji 1 M.

Anion	r (pm) [283]	α (\AA^3) [282]	σ ($\text{mN L m}^{-1} \text{ mol}^{-1}$) [284]	v ($\text{cm}^3 \text{ mol}^{-1}$) [282]
SO_4^{2-}	258	$6,3 \pm 0,4$	2,74	11,62
CH_3COO^-	162	/	0,93	39,23
Cl^-	181	3,76	1,63	16,5
NO_3^-	206	4,47	1,18	27,8

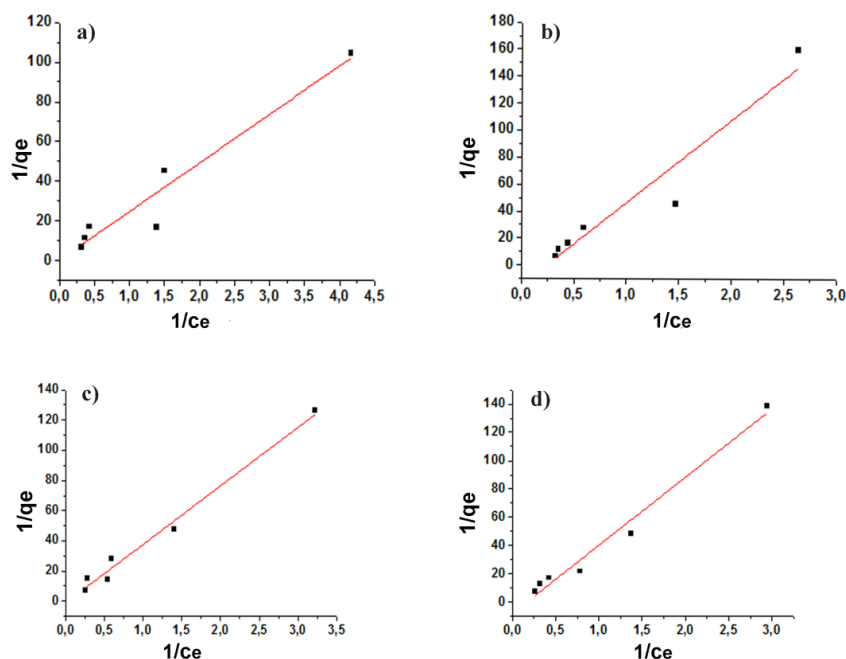
Bakarne soli rastvorene u vodi brzo disosuju na odgovarajuće jone koji svojim delovanjem narušavaju vodonične veze uspostavljene između molekula vode. Raskidanje vodoničnih veza je energetski nepovoljno, ali se u zavisnosti od vrste jona ovaj gubitak energije može kompenzovati [285]. Prema Hofmeister-ovoj teoriji, pri nižim koncentracijama ($c_0(\text{Cu}^{2+}) < 2 \text{ g/l}$) uticaj anjona na makromolekule u rastvorima može se smatrati zanemarljivim zbog nedovoljno jakih interakcija koje bi mogle da naruše uspostavljenu strukturu vodoničnih veza [278]. Na osnovu podataka prikazanih u Tabeli 8.1 i sorpcionih eksperimenata (Slika 8.2) može se zaključiti da anjoni niže polarizabilnosti (Cl^- , NO_3^-) imaju destabilišući uticaj, koji se ogleda u smanjenom kapacitetu sorpcije pri većim koncentracijama ispitivanih rastvora bakarnih soli. Anjoni više polarizabilnosti (SO_4^{2-} , CH_3COO^-) u većoj meri doprinose suzbijanju elektrostatičkog odbijanja, pospešujući na taj nači sorpciju metalnih jona. Naime, protoni u kompetitivnoj reakciji ometaju pristup bakarnih jona do mesta vezivanja, pa smanjenje elektrostatičkog odbijanja dovodi do stabilizacije sistema. Dakle, najpolarizabilniji sulfatni anjon u najvećoj meri stabilise sistem i pospešuje sorpciju. Uočene razlike u kapacitetima sorpcije ukazuju da je uticaj specifičnih anjona izraženiji u rastvorima viših početnih koncentracija.

8.4 Primena adsorpcionih izoterma na ispitivanje mehanizma umrežavanja nativnog pektina u vodenim rastvorima soli bakra

Kao što je već napomenuto, proces umrežavanja pektina je veoma složen i zasniva se na različitim mehanizmima koji uključuju jonsku izmenu, kompleksaciju, elektrostatičke i vodonične interakcije [223]. Iz ovih razloga, još uvek nije razvijen jedinstven teorijski model koji bi objedinio sve uticaje i opisao ovaj proces na verodostojan način. Bez obzira što nisu ispunjeni svi teorijski kriterijumi njihove primene, u literaturi se za opisivanje procesa sorpcije jona metala iz vodenih rastvora primenom različitih vrsta suspenzija polisaharida kao sorbenta, često koriste Langmuir-ova i Freundlich-ova adsorpciona izoterma [225]. Primenom ovih teorijskih modela mogu se dobiti veoma korisne informacije koje se tiču pre svega selektivnosti sorbenta prema različitim vrstama jona metala, kao i podaci o ravnotežnim kapacitetima sorpcije. Upravo linearni oblici ovih modela korišćeni su za korelaciju dobijenih eksperimentalnih podataka procesa umrežavanja rastvora nativnog pektina u vodenim rastvorima soli bakra različite koncentracije (Slika 8.4 i Slika 8.5). Karakteristični parametri za oba modela, kao i koeficijenti korelacije (R^2) prikazani su u Tabeli 8.2.



Slika 8.4. Eksperimentalne sorpcione izoterme dobijene primenom Freundlich-ovog modela a) CuSO_4 ; b) $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$; c) CuCl_2 ; d) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$.



Slika 8.5. Eksperimentalne sorpcione izoterme dobijene primenom Langmuir-og modela a) CuSO_4 ; b) $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$; c) CuCl_2 ; d) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$.

Vrednosti parametara predstavljenih u Tabeli 8.2 ukazuju da su oba modela sorpcionih izoterma primenljiva samo u slučaju umrežavanja pektina u rastvoru bakar(II)-sulfata. Korelacija eksperimentalnih podataka, dobijenih kvantifikacijom umrežavanja pektina u ostalim razmatranim rastvorima, daje negativnu vrednost odsečka ($1/q_{\text{max}}$), pa je Langmuir-ov model na ove sisteme neprimenljiv (Slika 8.5). Kako su Langmuir-ovom i Freundlich-ovom izotermom predviđeni potpuno različiti mehanizmi sorpcije, može se zaključiti da sulfatni anjon interaguje po drugačijem obrascu u poređenju sa CH_3COO^- , Cl^- i NO_3^- . Analizirajući vrednosti parametara $1/n$ (Tabela 8.1) zaključujemo da je umrežavanje pektina Cu^{2+} jonima u prisustvu različitih anjona vođeno različitim mehanizmima. Vrednost parametra $1/n > 1$ ukazuje na kooperativnu sorpciju procesa umrežavanja pektina u prisustvu nitratnog i acetatnog anjona. Vrednost $1/n = 1$, dobijena korelacijom eksperimentalnih podataka za sorpciju iz rastvora bakar(II)-hlorida, indikator je linearne sorpcije sa većim brojem sorpcionih centara jednake energije, dok vrednost $1/n < 1$ ukazuje da je u prisustvu sulfatnog jona process sorpcije favorizovan [286].

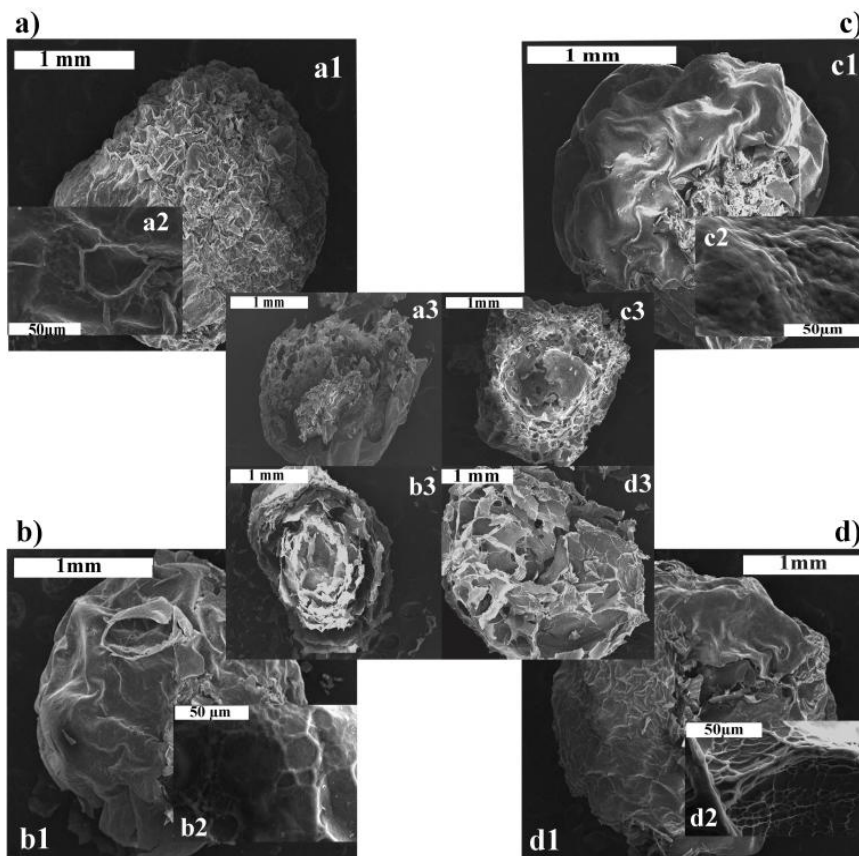
Za sorpciju iz rastvora acetata, hlorida i nitrata, vrednosti parametra K_f razlikuju se samo neznatno. Vrednost ovog parametra, koji predstavlja meru kapaciteta sorpcije, nešto je viša za sorpciju iz rastvora bakar(II)-sulfata ($K_f=0,0352$ g/g), što je još jedna indikacija specifičnih interakcija do kojih dolazi u prisustvu ovog anjona.

Tabela 8.2. Langmuir-ovi i Freundlich-ovi karakteristični parametri i koeficijenti korelacije za sorpciju Cu^{2+} jona u procesu umrežavanja pektina.

Anjon	Parametri Freundlich-ove izoterme		
	R^2	1/n	$K_f(g/g)$
SO_4^{2-}	0,94	0,97	0,0352
CH_3COO^-	0,92	1,30	0,0252
Cl^-	0,91	1,00	0,0270
NO_3^-	0,95	1,10	0,0273
	Parametri Langmuir-ove izoterme		
	R^2	$q_{max}(g/g)$	$K_l(l/g)$
SO_4^{2-}	0,92	3,28	0,0125

8.5 Analiza morfologije umreženih čestica pektina

Morfologija površine i poprečnog preseka čestica pektina ispitana je primenom skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM). Ispitivani uzorci najpre su umreženi u rastvorima bakarnih soli jednake koncentracije (0.1 mol dm^{-3}), a zatim liofilizovani. Mikrografi celih čestica (a1, b1, c1, d1), njihove površine (a2, b2, c2, d2) i poprečnog preseka (a3, b3, c3, d3) dati su na Slici 8.6.



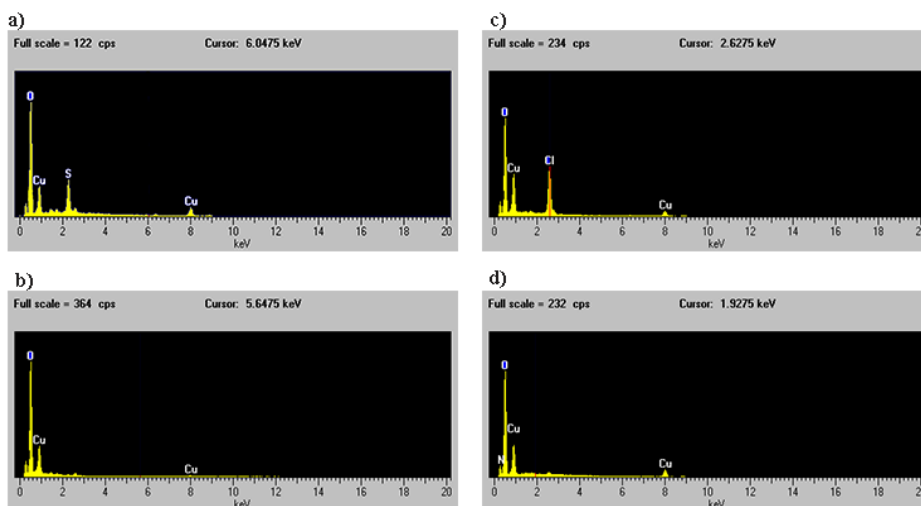
Slika 8.6. SEM mikrografi čestica pektina umreženih u rastvorima a) CuSO_4 ; b) $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$; c) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$; d) CuCl_2 .

Iako su čestice dobijene umrežavanjem pektina u prisustvu katjona istog metala, morfologija površine (Slika 8.6, a1, b1, c1, d1) i poprečnog preseka (Slika 8.6, a3, b3, c3, d3) ukazuje na postojanje izvesnih razlika. Kod svih uzoraka može se uočiti hrapava površina koju prekrivaju karakteristični nabori različite veličine i zastupljenosti. Nabori su nazastupljeniji na površini čestice umrežene u rastvoru bakar(II)-sulfata (Slika 8.6, a1), što može biti posledica većeg stepena umreženja. Zastupljenost nabora na površini uzoraka se smanjuje sa smanjenjem koncentracije bakarnih jona koji učestvuju u procesu umrežavanja, pa se ova vrsta površinske morfologije povezuje sa skupljanjem čestica pri većim koncentracijama jona metala [287]. Mikrografi poprečnog preseka otkrivaju sunderastu unutrašnjost sa velikim brojem šupljina i kanala, nastalih kao posledica migracije molekula vode [288]. Veličina šupljina takođe je uslovljena stepenom umreženja, pa su tako šupljine najzastupljenije na poprečnom preseku čestice umrežene u rastvoru bakar(II)-nitrata, gde je utrošena najmanja koncentracija bakarnih jona (Slika 8.6, d3). Struktura slična mreži, koja se uočava pri većim uvećanjima (Slika 8.6, a2, b2,

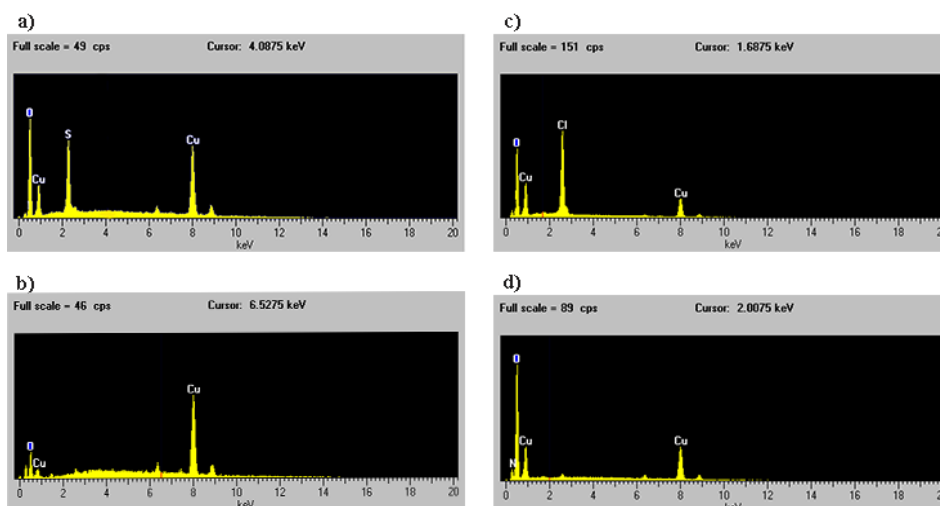
b3, c3), najizraženija je na površini uzorka umreženog u rastvoru bakar(II)-sulfata (Slika 8.6, a2). Na površini čestice umrežene u rastvoru bakar(II)-nitrata (Slika 8.6, d2), uočena morfološka karakteristika izražena je u najmanjoj meri, pa se formiranje mrežne strukture povezuje sa stepenom umreženja koji opada u sledećem nizu anjona prisutnih u rastvoru $\text{SO}_4^{2-} > \text{CH}_3\text{COO}^- > \text{Cl}^- > \text{NO}_3^-$.

8.6 EDS analiza

U cilju dobijanja podataka o raspodeli elementarnog bakra unutar uzoraka, sadržaj metala na površini i unutrašnjosti umreženih čestica određen je primenom elektronske disperzione spektroskopije. EDS spektri površine i poprečnog preseka umreženih čestica prikazani su na Slikama 8.7 i 8.8.



Slika 8.7. EDS spektri površine pektinskih čestica umreženih u rastvorima a) CuSO_4 ; b) $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$; c) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$; d) CuCl_2 .



Slika 8.8. EDS spektri poprečnog preseka pektinskih čestica umreženih u rastvorima
 a) CuSO_4 ; b) $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$; c) $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$; d) CuCl_2 .

Ispitivanjem je potvrđeno da se kod svih uzoraka veća koncentracija bakra u nejonizovanom obliku nalazi u unutrašnjosti čestica (Tabela 8.3). Do sličnih rezultata, koji ukazuju na neuniformu raspodelu elementarnog bakra u masi umreženih alginatnih čestica, došli su Ouwerx i saradnici, što je objašnjeno specifičnim mehanizmom umrežavanja posredstvom bakarnih jona [289].

Podaci dati u Tabeli 8.3 ukazuju da se najveća koncentracija bakra nalazi u unutrašnjosti uzorka umreženog u rastvoru bakar(II)-sulfata, dok opada u prisustvu acetatnog, hloridnog i nitratnog jona. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa kapacitetima sorpcije koji opisuju proces umrežavanja pektina u rastvorima različitih soli bakra (Slika 8.2). Sadržaj bakra na površini čestice umrežene u rastvoru bakar(II)-sulfata 6-10 puta je niži u pređenju sa istim sadržajem pronađenim na površini čestica umreženim u ostalim ispitivanim rastvorima.

Tabela 8.3. Raspodela elementarnog bakra na površini i unutrašnjosti pektinskih čestica umreženih u rastvorima bakarnih soli.

Bakarna so	Sadržaj atomskog bakra , %	
	Površina	Unutrašnjost
Cu(SO ₄) ₂	0,16±0,07	16,73±0,12
Cu(CH ₃ COO) ₂	1,39±0,09	11,8±0,09
CuCl ₂	1,01±0,09	4,46±0,11
Cu(NO ₃) ₂	1,75±0,08	3,51±0,10

8.7 Ispitivanje pritiskne čvrstoće

U cilju ispitivanja različitih uticaja koncentracije bakra sadržane unutar umreženih čestica ispitana je pritiska čvrstoća uzoraka. Kako su razlike u kapacitetima sorpcije pektina pri ispitivanoj početnoj koncentraciji rastvora od 0,1 mol dm⁻³ značajne, izvesno je da i mehanički odgovor čestica na zadatu silu zavisi od koncentracije bakarnih jona koji učestvuju u procesu umrežavanja. Rezultati ove analize prikazani su u Tabeli 8.4.

Tabela 8.4. Srednja vrednost prečnika i pritiskne čvrstoće čestica umreženih u rastvorima bakarnih soli koncentracije 0.1 mol dm⁻³.

Bakarna so	Srednji prečnik čestice (mm)	Srednja vrednost pritiskne čvrstoće σ (N/mm ²)
Cu(SO ₄) ₂	2,77±0,02	0,101±0,01
Cu(CH ₃ COO) ₂	2,87±0,08	0,099±0,02
CuCl ₂	2,91±0,05	0,082±0,02
Cu(NO ₃) ₂	3,15±0,08	0,072±0,01

Pri istoj vrednosti zadate deformacije, najviša srednja vrednost pritiskne čvrstoće dobijena je za uzorke sa najvećim unutrašnjim sadržajem bakra. Kod svih ispitivanih

uzoraka smanjenje koncentracije bakra u unutrašnjosti čestica dovodi do opadanja pritisne čvrstoće. Uticaj različitih anjona na umrežavanje pektina posredstvom bakarnih jona može se tumačiti i kroz razlike u vrednostima srednjih prečnika čestica (Tabela 8.4). Solvatacija anjona dovodi do izvesnih promena površinskog napona na granici faza polimer/vodeni rastvor, koji može imati uticaja na proces umrežavanja. Priraštaj površinskog napona u rastvorima soli zavisi od polarizabilnosti anjona i opada u sledećem nizu $SO_4^{2-} > CH_3COO^- > Cl^- > NO_3^-$, što ima za posledicu povećanje dodirne površine na granici faza pektin/umrežavajući rastvor [290]. S tim u vezi, čestice najvećeg srednjeg prečnika dobijene su umrežavanjem u rastvoru soli sa najnižim priraštajem površinskog napona ($Cu(NO_3)_2$) i obratno ($Cu(SO_4)_2$).

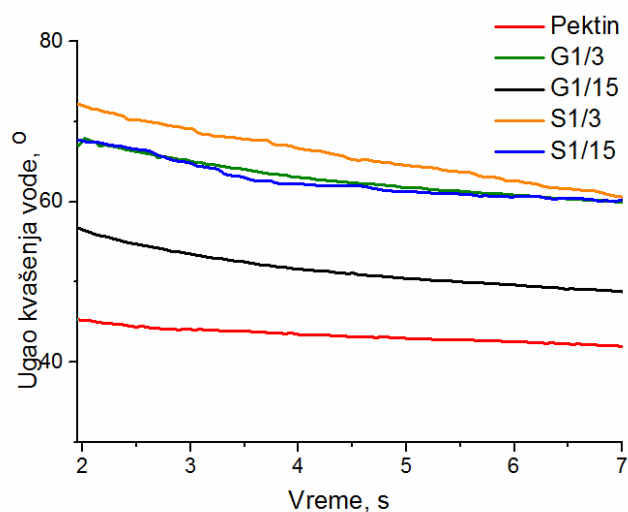
Poglavlje IX

9. Analiza svojstava materijala na bazi nativnog i modifikovanog pektina

Sa osvrtom na perspektivu moguće primene, u okviru Poglavlja IX ispitana je hidrofobnost acilovanih derivata pektina, kinetički i ravnotežni parametri sorpcije, kao i mehanička i barijerna svojstva filmova na bazi ovih materijala. Odabir uzoraka (G, S) izvršen je tako da analizom budu obuhvaćene obe karakteristične strukture derivata pretpostavljene reakcionim mehanizmon prikazanim na Slici 7.1. Radi poređenja i mogućnosti utvrđivanja uticaja strukturnih modifikacija na navedena svojstva, prikaz rezultata svih ispitivanja dat je i za uzorak nativnog pektina.

9.1 Hidrofobnost acilovanih derivata pektina

Uticaj modifikacije na hidrofobnost pektina najpre je ispitan određivanjem vrednosti kontaktnog ugla vodene kapi na površini uzoraka u formi filma. Kako je povećanje ugla kvašenja vode jasna indikacija povećane hidrofobnosti površine [291], rezultati prikazani na Slici 9.1 ukazuju da modifikovani uzorci imaju veći stepen hidrofobnosti u odnosu na nativni pektin. Vrednosti ugla kvašenja vode merenog na površini filmova nativnog i modifikovanog pektina opadaju u sledećem nizu: nativni pektin < G1/15 < G1/3 ≈ S1/15 < S1/3. Pretpostavka je da do smanjenja hidofilnosti kod modifikovanih uzoraka dolazi usled smanjenja broja i dostupnosti reagujućih hidroksilnih grupa i umetanja hidrofobnih segmenata u pektinski lanac [292]. Takođe, uočeni opadajući trend ukazuje da hidrofilni karakter materijala istovremeno zavisi od stepena acilacije i od dužine umetnutog ugljeničnog niza.



Slika 9.1. Vrednosti ugla kvašenja vode u vremenu t .

Vrednosti površinskog napona razblaženih rastvora nativnog i acilovanog pektina prikazani su u Tabeli 9.1. Ovi rezultati ukazuju na nešto drugačiji poredak koji nije u saglasnosti sa procenom hidrofobnog karaktera datog na osnovu kvantifikacije ugla kvašenja na površini uzoraka u čvrstom stanju. Naime, metodom prstena utvrđeno je da površinski napon rastvora ispitivanih uzoraka raste u nizu: $S1/3 < S1/15 < \text{nativni pektin} < G1/15 < G1/3$. Kao što je i očekivano, prisustvo acil ostatka (C10) pospešuje hidrofobne interakcije i dovodi do smanjenja površinskog napona u rastvorima uzoraka S1/3 i S1/15. S druge strane, rastvori uzoraka G1/3 i G1/15 pokazuju više vrednosti površinskog napona u poređenju sa rastvorom nativnog pektina. Ovakav rezultat može biti posledica pretpostavljene strukture derivata pektina koji nastaje u reakciji esterifikacije sa glutariol-hloridom (Slika 7.1a). Terminalne karboksilne grupe u strukturi bočnih lanaca ovih derivata favorizuju uspostavljanje vodoničnih veza, što za posledicu ima povećanje vrednosti površinskog napona rastvora [258].

Tabela 9.1. Vrednosti površinskog napona razblaženih rastvora nativnog i modifikovanog pektina.

Uzorak	Površinski napon, mN/cm
Neat Pectin	48,3
G1/3	51,7
G1/15	50
S1/3	45,3
S1/15	46

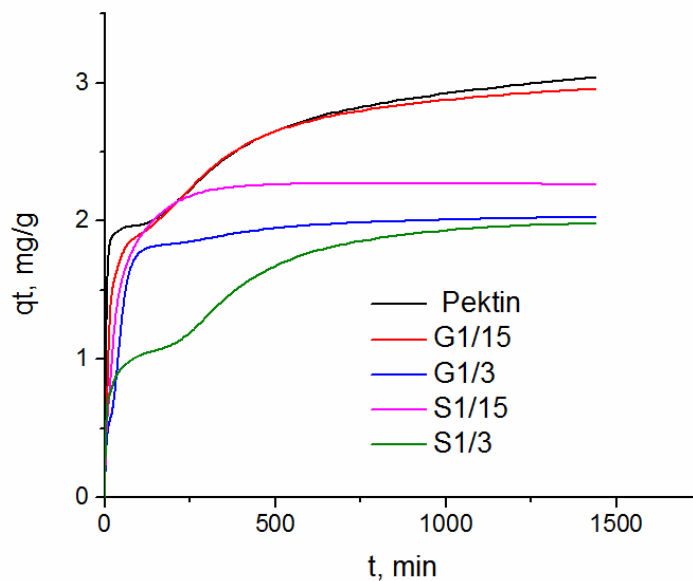
9.2 Kinetika sorpcije acilovanih derivata pektina

Kinetika sorpcije liofilizovanih uzoraka nativnog i modifikovanog pektina ispitana je u vodenim rastvorima Cu^{2+} jona čije su početne koncentracije prikazane u Tabeli 9.2. Promena koncentracije Cu^{2+} jona praćena je u zadatim vremenskim intervalima, nakon 5, 15, 30, 60, 120, 240, 480 i 1440 min.

Tabela 9.2 Vrednosti početne (c_0), ravnotežne koncentracije (c_t) i ravnotežnog kapaciteta sorpcije (qt) Cu^{2+} jona u funkciji vremena t .

t, min	Pektin			G1/15			G1/3		
	$c_0, \text{mg/l}$	$c_t, \text{mg/l}$	$qt, \text{mg/g}$	$c_0, \text{mg/l}$	$c_t, \text{mg/l}$	$qt, \text{mg/g}$	$c_0, \text{mg/l}$	$c_t, \text{mg/l}$	$qt, \text{mg/g}$
5	20,37	1,62	1,6103	21,45	0,54	0,5357	21,52	0,47	0,47
15	20,05	1,94	1,8898	20,49	1,5	1,4583	21,42	0,57	0,5586
30	19,99	2	1,9085	20,32	1,67	1,5904	21,28	0,71	0,6816
60	19,88	2,11	1,9715	19,99	2	1,865	20,18	1,81	1,7014
120	19,86	2,13	1,9479	19,9	2,09	1,9075	20	1,99	1,8308
240	19,54	2,45	2,1918	19,51	2,48	2,2142	19,96	2,03	1,827
480	18,79	3,2	2,7992	18,79	3,2	2,7936	19,73	2,26	1,9888
1440	18,43	3,56	3,0433	18,52	3,47	2,9605	19,63	2,36	2,0296
t, min	Pektin			S1/15			S1/3		
	$c_0, \text{mg/l}$	$c_t, \text{mg/l}$	$qt, \text{mg/g}$	$c_0, \text{mg/l}$	$c_t, \text{mg/l}$	$qt, \text{mg/g}$	$c_0, \text{mg/l}$	$c_t, \text{mg/l}$	$qt, \text{mg/g}$
5	20,37	1,62	1,6103	21,41	0,58	0,57884	21,28	0,71	0,71142
15	20,05	1,94	1,8898	21,25	0,74	0,72375	21,25	0,74	0,72665
30	19,99	2	1,9085	20,56	1,43	1,37006	21,07	0,92	0,88497
60	19,88	2,11	1,9715	20,18	1,81	1,698	20,96	1,03	0,97014
120	19,86	2,13	1,9479	19,83	2,16	1,98323	20,84	1,15	1,06012
240	19,54	2,45	2,1918	19,52	2,47	2,21856	20,78	1,21	1,09118
480	18,79	3,2	2,7992	19,39	2,6	2,28343	19,85	2,14	1,88697
1440	18,43	3,56	3,0433	19,35	2,64	2,26587	19,68	2,31	1,99058

Kinetičke krive procesa sorpcije Cu^{2+} , date kao zavisnost kapaciteta sorpcije od vremena t , prikazane su na Slici 9.2.



Slika 9.2. Zavisnost kapaciteta sorpcije q_t od vremena t .

Sa Slike 9.2 može se zaključiti da se kapaciteti sorpcije Cu^{2+} jona u slučaju nativnog pektina i uzorka G1/15 neznatno razlikuju, dok kod uzorka G1/3 dolazi do značajnijeg smanjenja q_t u svim ispitivanim vremenskim intervalima. Kod derivata S1/3 i S1/15 u oba slučaja dolazi do opadanja kapaciteta sorpcije u poređenju sa nativnim pektinom. Kod svih ispitivanih uzoraka proces sorpcije karakteriše izuzetno brz početak (linearni deo krive), nakon čega dolazi do usporavanja procesa. Eksperimentalne vrednosti ravnotežnih kapaciteta sorpcije ukazuju da ovaj parametar zavisi od stepena acilacije i dužine umetnutog ugljeničnog lanca i opada u sledećem nizu: nativni pektin > G1/15 > S1/15 > G1/3 > S1/3. Smanjenje kapaciteta sorpcije pektina nakon modifikacije može se objasniti smanjenjem broja i dostupnosti hidroksilnih grupa koje učestvuju u reakciji esterifikacije, a u isto vreme predstavljaju aktivne grupe procesa sorpcije. Do smanjenja kapaciteta sorpcije može doći i usled slabijih interakcija koje ovi derivati ostvaruju sa polarnim rastvaračem.

Kako bi se pronašao kinetički model koji bi najbolje opisao mehanizam sorpcije, dobijeni eksperimentalni podaci su dalje analizirani korišćenjem Lagergren-ovog kinetičkog modela pseudo prvog reda i Ho-ovog kinetičkog modela pseudo drugog reda. Dobijeni kinetički parametri prikazani su u Tabeli 9.3.

Tabela 9.3. Kinetički parametri sorpcije.

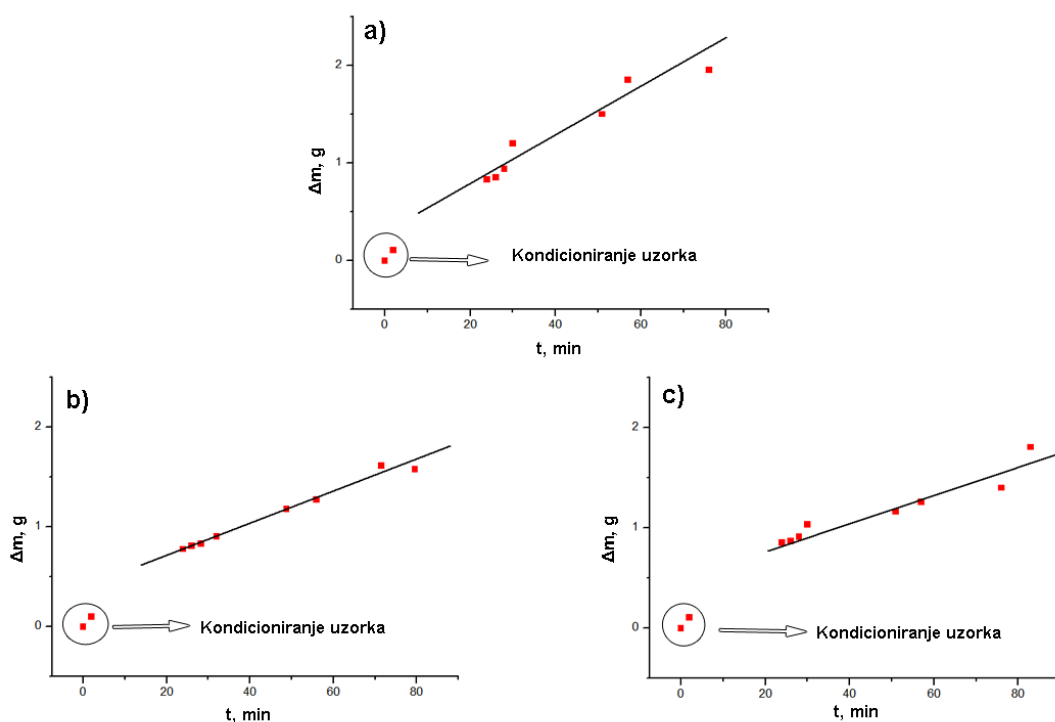
Uzorak	Lagergren-ov model			Ho-ov model			$q_{e, \text{exp}} \text{ mg/g}$
	$k_f, \text{ min}^{-1}$	$q_{e, \text{teor}} \text{ mg/g}$	R^2	$k_s \times 10^2, \text{ g/(mg min)}$	$q_{e, \text{teor}} \text{ mg/g}$	R^2	
Pektin	-0,00378	1,63	0,774	0,16	3,09	0,995	3,04
G1/3	-0,00764	1,22	0,815	0,21	2,08	0,999	2,03
G1/15	-0,00509	2,01	0,905	0,20	3,03	0,997	2,96
S1/15	-0,0154	1,78	0,981	0,17	2,30	0,999	2,27
S1/3	-0,00502	1,57	0,857	0,23	2,07	0,979	1,99

Negativne vrednosti konstante brzine, dobijene primenom modela pseudo prvog reda, ukazuju da je ovaj model u potpunosti neprimenljiv na ispitivane sisteme. S druge strane, na osnovu vrednosti koeficijenta korelacije ($R^2 \approx 1$) i vrlo bliskih vrednosti maksimalnih eksperimentalnih ($q_{e, \text{exp}}$) i teorijskih sorpcionih kapaciteta (q_e) može se zaključiti da model pseudo drugog reda dobro opisuje ovaj proces. Neznatne razlike u vrednostima parametra k_s ukazuju da promene u strukturi, nastale kao rezultat modifikacije, gotovo i ne utiču na brzinu sorpcije Cu^{2+} jona iz ispitanih vodenih rastvora. Poređenjem vrednosti eksperimentalnih i teorijskih kapaciteta sorpcije, dobijenih primenom Ho-ovog modela, može se zaključiti da ovi parametri prate isti opadajući trend koji ukazuje da kapacitet sorpcije opada sa povećanjem stepena acilacije i dužine - $(\text{CH}_2)_m$ segmenta u strukturi derivata. Rezultati slične studije, u kojoj je ispitan sorpcioni potencijal pektina umreženog adipinskom kiselinom, ukazuju na suprotan trend, gde uvođenje hidrofobnih segmenata dovodi do povećanja kapaciteta sorpcije Pb^{2+} , Cu^{2+} i Zn^{2+} jona. Ovaj rezultat objašnjen je većom poroznošću modifikovanog materijala, usled koje je olakšana difuzija jona metala do aktivnih centara sorpcije [170]. S obzirom da je utvrđeno da acilovani derivati imaju smanjenu sposobnost sorpcije jona bakra u poređenju sa nativnim pektinom i da ova vrsta modifikacije ne doprinosi primeni ovih materijala kao sorbenata, uticaj anjona na ovaj proces nije dodatno ispitan.

9.3 Barijerna i mehanička svojstva filmova na bazi acilovanih derivata pektina

9.3.1 Ispitivanje parametara vodene pare

Ranije je utvrđeno da barijerna svojstva filmova na bazi polisaharida zavise od sastava i raspodele inkorporiranih hidrofobnih komponenti. Generalno, uvođenje kontinualne hidrofobne faze u matriks i povećanje stepena hidrofobnosti dovodi do smanjenja propustljivosti vodene pare [293]. Na svojstva ovih filmova takođe utiču i zapremina hidrofobne frakcije, stepen polimorfnosti materijala, kao i uslovi sušenja filma [294]. Kao što je navedeno u Eksperimentalnom delu, barijerna svojstva filmova na bazi nativnog i modifikovanog pektina ispitana su primenom standardne metode ASTM E96 [251]. Brzina prenosa vodene pare kroz filmove na bazi nativnog i modifikovanog pektina (G1/3, S1/3), prikazana kao linearna zavisnost promene mase sa vremenom, data je na Slici 9.3. Za potrebe ovog ispitivanja odabrani su uzorci kod kojih je primenom metode ležeće kapi utvrđen najniži (G1/3), odnosno najviši stepen hidrofobnosti (S1/3) pri istom primenjenom molarnom odnosu agensa za acilaciju i galakturonske kiseline.



Slika 9.3. Brzina prenosa vodene pare kroz filmove a) nativnog pektina; b) G1/3; c) S1/3.

Na osnovu eksperimentalnih podataka izračunate su vrednosti parametara WVTR i WVP (Tabela 9.4).

Tabela 9.4. Vrednosti parametara WVTR i WVP.

Uzorak	WVTR, $\text{g}\cdot(\text{h}\cdot\text{mm}^2)^{-1}$	WVP, $\text{g}\cdot(\text{mm}\cdot\text{h}\cdot\text{Pa})^{-1}$
Nativni pektin	$0,24 \times 10^{-2}$	$3,02 \times 10^{-7}$
S1/3	$0,13 \times 10^{-2}$	$1,70 \times 10^{-7}$
G1/3	$0,16 \times 10^{-2}$	$1,98 \times 10^{-7}$

Vrednosti WVP parametara datih u Tabeli 9.4 opadaju u sledećem nizu: $WVP_{\text{nativni pektin}} > WVP_{G1/3} > WVP_{S1/3}$. Vrednosti dobijenih parametara ukazuju da filmovi na bazi acilovanog pektina predstavljaju bolju barijeru za prenos vodene pare u odnosu na filmove nativnog pektina. Kako je uočeno smanjenje brzine prenosa vodene pare obrnuto proporcionalno povećanju hidrofobnog karaktera ovih filmova (Slika 9.1), može se zaključiti da je vrednost WVP parametra uslovljena upravo stepenom acilacije i dužinom hidrofobnog niza u strukturi modifikovanih derivata pektina [295].

9.3.2 Ispitivanje mehaničkih svojstava

Rezultati ispitivanja mehaničkih svojstava modifikovanog pektina (S1/3, G1/3) i nativnog pektina prikazani su u Tabeli 9.5.

Tabela 9.5. Mehanički parametri ispitivanih filmova.

Uzorak	TS, MPa	ΔL , mm	ϵ , %
Nativni pektin	$100,33 \pm 15,05$	$0,82 \pm 0,12$	$5,44 \pm 0,82$
G1/3	$76,3 \pm 11,44$	$0,70 \pm 0,10$	$4,48 \pm 0,67$
S1/3	$38,23 \pm 5,73$	$0,61 \pm 0,09$	$4,07 \pm 0,61$

Prikazani rezultati ukazuju da modifikacije u strukturi pektinskog molekula značajno utiču na mehanička svojstva ispitivanih filmova. Najveći uticaj ogleda se u smanjenju vrednosti zatezne čvrtoće (TS) modifikovanih uzoraka: $TS_{\text{pektin}} > TS_{G1/3} > TS_{S1/3}$. Uzrok smanjanja TS parametra može biti prisustvo heterogenih domena smanjene rastvorljivosti (Slika 7.7), koji dovode do stvaranja površinskih defekata prilikom formiranja filma iz vodenih rastvora modifikovanih uzoraka [296]. Dobijeni rezultati mehaničkog ispitivanja nedvosmisleno ukazuju da predložena modifikacija ima negativan uticaj u odnosu na potencijalnu primenu dobijenih derivata kao materijala za izradu ambalažnih filmova. Uočeni nedostaci mogu se otkloniti primenom odgovarajućeg plastifikatora, koji bi obezbedio uniformniju raspodelu hidrofobnih domena i homogeniju strukturu pektinskog matriksa.

Zaključak

Poglavlje X

Poglavlje X

10. Zaključak

U prvom delu rada opisan je postupak modifikacije pektina u reakciji esterifikacije sa acil-dihloridima (sukcinil-hlorid, glutaroil-hlorid, adipoil-hlorid, sebacoil-hlorid), nakon čega su ispitana svojstva dobijenih acilovanih derivata sintetisanih pri različitim molarnim odnosima agensa za acilaciju i galakturonske kiseline. U zavisnosti od dužine ugljeničnog niza agensa za acilaciju primenjenog pri sintezi, $-(CH_2)_m$, kao proizvodi reakcije esterifikacije dobijeni su derivati različite strukture. Pretpostavka je da je dužina acil ostatka sukcinil- i glutaroil-hlorida bila nedovoljna da poveže dva susedna pektinska lanca, pa primenom ovih agenasa za esterifikaciju dolazi do formiranja struktura u kojima su acil ostaci za pektinski lanac vezani u vidu bočnih grana sa terminalnom karboksilnom grupom. Kako su acil ostaci adipoil- i sebacoil-hlorida dovoljno dugački da mogu da povežu dva susedna pektinska lanca, dolazi do formiranja umreženja, odnosno, nastajanja hemijskih gelova. Poređenjem srednjih vrednosti molarnih masa po brojnoj zastupljenosti (\bar{M}_n) uzoraka nativnog i acilovanog pektina utvrđeno je da u toku reakcije nije došlo do degradacije pektinskog lanca. Rezultati ispitivanja reoloških parametara ukazuju da, pri svim ispitivanim brzinama smicanja, rastvori acilovanog pektina pokazuju niže vrednosti viskoznosti u poređenju sa nativnim pektinom. Uočeno reološko ponašanje rastvora acilovanih derivata može biti posledica veće heterogenosti ovih sistema, koja nastaje usled formiranja hidrofobnih domena. U cilju bližeg određivanja svojstava ovih derivata u rastvoru, analizirana je raspodela veličina čestica i poređena sa raspodelom čestica detektovanih u rastvoru nativnog pektina. Rezultati ove analize nedvosmisleno ukazuju da su promene u strukturi, nastale usled hemijske modifikacije, uticale na interakcije koje acilovani pektini ostvaruju sa molekulima vode, pa se i raspodela veličina čestica u rastvorima modifikovanih uzoraka znatno razlikuje u odnosu na nativni pektin. Promene u strukturi uticale su i na smanjenje termičke stabilnosti acilovanih derivata, kao i na smanjenje vrednosti temperature ostakljivanja (T_g) u odnosu na nativni pektin. Sa ciljem detaljnog sagledavanja svih parametara koji mogu imati uticaj na sorpciju pektina i njegovih derivata, u drugom delu rada ispitan je uticaj specifičnih anjona na umrežavanje nativnog pektina u vodenim rastvorima soli bakra. Utvrđeno je da kapacitet sorpcije, odnosno, koncentracija bakarnih jona koja se utroši u procesu umrežavanja pektina

opada u sledećem nizu anjona prisutnih u rastvoru: $\text{SO}_4^{2-} > \text{CH}_3\text{COO}^- > \text{Cl}^- > \text{NO}_3^-$. Analiza ovog uticaja rezultovala je uspostavljanjem analogije umrežavanja pektina sa relativnim uticajem anjona u vodenim rastvorima koje je opisano Hofmeister-ovom teorijom. Na osnovu ove teorije, anjoni manje polarizabilnosti (Cl^- , NO_3^-) imaju destabilišući uticaj koji se ogleda u smanjenju kapaciteta sorpcije pri većim koncentracijama rastvora bakarnih soli. Anjoni veće polarizabilnosti (SO_4^{2-} , CH_3COO^-) u većoj meri doprinose suzbijanju elektrostatičkog odbijanja, pospešujući na taj nači sorpciju metalnih jona. Utvrđeno je da je u masi umreženih pektinskih čestica raspodela bakra neuniformna, pri čemu je najveći sadržaj bakra pronađen u unutrašnjosti čestica umreženih u rastvoru bakar(II)-sulfata. Koncentracija bakarnih jona utrošenih u procesu umrežavanja utiče i na morfološka i mehanička svojstva pektinskih čestica. Hidrofobnost acilovanih derivata, kao i mogućnost njihove primene kao sorbenata i materijala za izradu ambalažnih filmova, ispitana je u trećem delu rada. Dobijeni rezultati ukazuju da acil ostaci (C4-C10) u strukturi derivata utiču na povećanje hidrofobnosti nativnog pektina, što se može smatrati jednim od najznačajnijih rezultata proisteklih iz ove disertacije. Parametri procesa sorpcije Cu^{2+} jona iz vodenih rastvora ukazuju da acilovani derivati poseduju manji ravnotežni kapacitet u poređenju sa nativnim pektinom, pri čemu je utvrđeno da je vrednost ovog parametra uslovljena strukturom derivata. S obzirom da acilovani derivati imaju smanjenu sposobnost sorpcije jona bakra u poređenju sa nativnim pektinom i da ova vrsta modifikacije ne doprinosi primeni ovih materijala kao sorbenata, uticaj anjona na ovaj proces nije dodatno ispitivan. Filmovi na bazi acilovanih derivata pektina predstavljaju bolju barijeru za transport vodene pare, što se tumači kao posledica njihove povećane hidrofobnosti. Ipak, rezultati mehaničkih ispitivanja ukazuju da predložene modifikacije nemaju pozitivan uticaj na moguću primenu sintetisanih derivata kao materijala za izradu ambalažnih filmova.

Rezultati prikazani u okviru ove doktorske disertacije predstavljaju iskorak ka pevažilaženju nedostataka primene pektina koji su usko vezani za izrazitu hidrofilnost ovog polisaharida. Uspostavljena zavisnost između strukture i funkcionalnosti ovih derivata, kao i saznanje o interesantnim svojstvima koja se, usled njihovog amfifilnog karaktera, ispoljavaju u vodenim rastvorima svakako će predstavljati smernice za buduća istraživanja i proširenje oblasti njihove primene.

Literatura

1. Álvarez-Chávez, C.R., et al., *Sustainability of bio-based plastics: general comparative analysis and recommendations for improvement*. Journal of Cleaner Production, 2012. **23**(1): p. 47-56.
2. Chen, J., et al., *Pectin Modifications: A Review*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2015. **55**(12): p. 1684-1698.
3. Fischer, A., et al., *Detection of Intramolecular Associations in Hydrophobically Modified Pectin Derivatives Using Fluorescent Probes*. Langmuir, 1998. **14**(16): p. 4482-4488.
4. Miralles-Houzelle, M.C., P. Hubert, and E. Dellacherie, *Hydrophobic Alkyl Chains–Pectin Conjugates. Comparative Study of Some Physicochemical Properties in Relation to Covalent Coupling vs Ionic Association*. Langmuir, 2001. **17**(5): p. 1384-1391.
5. Landoll, L.M., *Nonionic polymer surfactants*. Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition, 1982. **20**(2): p. 443-455.
6. Simon, S., et al., *Amphiphilic polysaccharides. Evidence for a competition between intra and intermolecular associations in dilute system*. Polymer, 2003. **44**(26): p. 7917-7924.
7. Espitia, P.J.P., et al., *Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review*. Food Hydrocolloids, 2014. **35**: p. 287-296.
8. Halley, P., et al., *Developing biodegradable mulch films from starch-based polymers*. Starch-Stärke, 2001. **53**(8): p. 362-367.
9. Serrero, A., et al., *Polysaccharide-Based Adhesive for Biomedical Applications: Correlation between Rheological Behavior and Adhesion*. Biomacromolecules, 2011. **12**(5): p. 1556-1566.
10. Wolfrom, M.L., J.R. Vercellotti, and G.H.S. Thomas, *Carboxyl-Reduced Heparin. Monosaccharide Components I*. The Journal of Organic Chemistry, 1964. **29**(3): p. 536-539.
11. Lindberg, B., J. Lönngrén, and S. Svensson, *Specific Degradation of Polysaccharides*, in *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, R.S. Tipson and D. Horton, Editors. 1975, Academic Press. p. 185-240.
12. Whistler, R.L., *Methods in carbohydrate chemistry. Volume 4*. Methods in carbohydrate chemistry. Volume 4., 1964.
13. Meltzer, Y.L., *Water-soluble polymers : recent developments / Yale L. Meltzer*. Chemical technology review ; no. 126.1979, Park Ridge, N.J: Noyes Data Corp.
14. Genieser, H.-G., D. Gabel, and B. Jastorff, *Quantitative ether cleavage of ligands in hydrophobic agaroses —precise determination of the degree of substitution*. Journal of Chromatography A, 1981. **215**(Supplement C): p. 235-242.
15. Yalpani, M., *A survey of recent advances in selective chemical and enzymic polysaccharide modifications*. Tetrahedron, 1985. **41**(15): p. 2957-3020.
16. Finch, P., *Carbohydrate chemistry, volume 14, part II. Edited by Senior Reporter and JF Kennedy, The Royal Society of Chemistry, London, 1983. Pp xi+ 542, £ 76.00, \$136.00. ISBN 0851861326, 1984, Wiley Online Library*.

17. Isogai, A., A. Ishizu, and J. Nakano, *Preparation of tri-O-benzylcellulose by the use of nonaqueous cellulose solvents*. Journal of Applied Polymer Science, 1984. **29**(6): p. 2097-2109.
18. Petruš, L., D.G. Gray, and J.N. BeMiller, *Homogeneous alkylation of cellulose in lithium chloride/dimethyl sulfoxide solvent with dimethyl sodium activation. A proposal for the mechanism of cellulose dissolution in LiCl/Me₂SO*. Carbohydrate Research, 1995. **268**(2): p. 319-323.
19. Dumitriu, S., *Polysaccharides: structural diversity and functional versatility* 2004: CRC press.
20. BeMiller, J.N. and R.E. Wing, *Methyl terminal-4-O-methylmalto-oligosaccharides*. Carbohydrate Research, 1968. **6**(2): p. 197-206.
21. Pieters, R., R.A. de Graaf, and L.P.B.M. Janssen, *The kinetics of the homogeneous benzylation of potato starch in aqueous solutions*. Carbohydrate Polymers, 2003. **51**(4): p. 375-381.
22. Umemura, T., et al., *Quantitative protection of chitin by one-step tritylation and benzylation to synthesize precursors for chemical modifications*. Polymer bulletin, 2012. **69**(3): p. 303-312.
23. Shibata, M., et al., *Synthesis and properties of etherified pullulans*. European polymer journal, 2002. **38**(3): p. 497-501.
24. Petzold, K., K. Schwikal, and T. Heinze, *Carboxymethyl xylan—synthesis and detailed structure characterization*. Carbohydrate Polymers, 2006. **64**(2): p. 292-298.
25. McCormick, C.L. and P.A. Callais, *Derivatization of cellulose in lithium chloride and NN-dimethylacetamide solutions*. Polymer, 1987. **28**(13): p. 2317-2323.
26. Grote, C. and T. Heinze, *Starch derivatives of high degree of functionalization II: Studies on alternative acylation of starch with long-chain fatty acids homogeneously in N, N-dimethyl acetamide/LiCl*. Cellulose, 2005. **12**(4): p. 435-444.
27. Belmokaddem, F.-Z., et al., *Green synthesis of xylan hemicellulose esters*. Carbohydrate Research, 2011. **346**(18): p. 2896-2904.
28. Pawar, S.N. and K.J. Edgar, *Chemical modification of alginates in organic solvent systems*. Biomacromolecules, 2011. **12**(11): p. 4095-4103.
29. Badawy, M.E., et al., *Fungicidal and insecticidal activity of O-acyl chitosan derivatives*. Polymer bulletin, 2005. **54**(4): p. 279-289.
30. Labafzadeh, S.R., et al., *Reactive dissolution of cellulose and pulp through acylation in pyridine*. Cellulose, 2012. **19**(4): p. 1295-1304.
31. Söderqvist-Lindblad, M. and A.-C. Albertsson, *Chemical Modifications of Hemicelluloses and Gums*, in *Polysaccharides : Structural Diversity and Functional Versatility*, D. Severian, Editor 2004, CRC Press. p. 491-508.
32. Arai, K. and S. Sano, *Preparation of cellulose 2-methylstilbene-5-carboxylate and photoregulation of its properties*. Journal of Materials Chemistry, 1994. **4**(2): p. 275-278.
33. Whistler, R.L., *Methods in carbohydrate chemistry. Vol. 3*, Vol. 31963.
34. Rahn, K., et al., *Homogeneous synthesis of cellulose p-toluenesulfonates in N,N-dimethylacetamide/LiCl solvent system*. Die Angewandte Makromolekulare Chemie, 1996. **238**(1): p. 143-163.

35. Fox, S.C., et al., *Regioselective esterification and etherification of cellulose: a review*. *Biomacromolecules*, 2011. **12**(6): p. 1956-1972.
36. Morita, Y., et al., *Preparation of chitin-p-toluenesulfonate and deoxy (thiocyanato) chitin*. *European polymer journal*, 1994. **30**(11): p. 1231-1236.
37. Mocanu, G., M. Constantin, and A. Carpov, *Chemical reactions on polysaccharides, 5. Reaction of mesyl chloride with pullulan*. *Die Angewandte Makromolekulare Chemie*, 1996. **241**(1): p. 1-10.
38. Cumpstey, I., *Chemical Modification of Polysaccharides*. *ISRN Organic Chemistry*, 2013. **2013**: p. 27.
39. Cumpstey, I., et al., *Amine-linked diglycosides: Synthesis facilitated by the enhanced reactivity of allylic electrophiles, and glycosidase inhibition assays*. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 2011. **7**: p. 1115-1123.
40. Zaikov, G., *Chemistry of polysaccharides* 2005: CRC Press.
41. Wolfrom, M.L. and R.S. Tipson, *Advances in carbohydrate chemistry*. Vol. 14. 1959: Academic Press.
42. Petzold-Welcke, K., N. Michaelis, and T. Heinze. *Unconventional cellulose products through nucleophilic displacement reactions*. in *Macromolecular Symposia*. 2009. Wiley Online Library.
43. Furuhata, K.-i., et al., *Chlorination of cellulose with N-chlorosuccinimide-triphenylphosphine under homogeneous conditions in lithium chloride-N,N-dimethylacetamide*. *Carbohydrate Research*, 1992. **230**(1): p. 151-164.
44. Cimecioglu, A.L., et al., *Preparation of 6-O-Acyl Amylose Derivatives*. *MRS Proceedings*, 1993. **330**.
45. Ren, J., et al., *Synthesis and antifungal properties of 6-amino-6-deoxyinulin, a kind of precursors for facile chemical modifications of inulin*. *Carbohydrate Polymers*, 2012. **87**(2): p. 1744-1748.
46. Ball, D.H., B.J. Wiley, and E.T. Reese, *Effect of substitution at C-6 on the susceptibility of pullulan to pullulanases*. *Enzymatic degradation of modified pullulans*. *Canadian Journal of Microbiology*, 1992. **38**(4): p. 324-327.
47. Furuhata, K.-i., et al., *Bromination of cellulose with tribromoimidazole, triphenylphosphine and imidazole under homogeneous conditions in LiBr-dimethylacetamide*. *Carbohydrate Polymers*, 1995. **26**(1): p. 25-29.
48. Tseng, H., K.-i. Furuhata, and M. Sakamoto, *Bromination of regenerated chitin with N-bromosuccinimide and triphenylphosphine under homogeneous conditions in lithium bromide-N,N-dimethylacetamide*. *Carbohydrate Research*, 1995. **270**(2): p. 149-161.
49. Hasegawa, T., et al., *'Click chemistry' on polysaccharides: a convenient, general, and monitorable approach to develop (1→3)-β-d-glucans with various functional appendages*. *Carbohydrate Research*, 2006. **341**(1): p. 35-40.
50. Heinze, T., et al., *Studies on Non-natural Deoxyammonium Cellulose*. *Macromolecular Symposia*, 2006. **244**(1): p. 74-82.
51. Matsui, Y., et al., *Facile synthesis of 6-amino-6-deoxycellulose*. *Carbohydrate Research*, 2005. **340**(7): p. 1403-1406.
52. Xiao, C., et al., *Tunable synthesis of starch-poly(vinyl acetate) bioconjugate*. *Starch - Stärke*, 2011. **63**(4): p. 209-216.
53. Zampano, G., M. Bertoldo, and F. Ciardelli, *Defined Chitosan-based networks by C-6-Azide-alkyne "click" reaction*. *Reactive and Functional Polymers*, 2010. **70**(5): p. 272-281.

54. Koschella, A., et al., *Study of sulfonic acid esters from 1→4-, 1→3-, and 1→6-linked polysaccharides*. Journal of Applied Polymer Science, 2006. **100**(3): p. 2142-2150.
55. Knaus, S., U. Mais, and W.H. Binder, *Synthesis, characterization and properties of methylaminocellulose*. Cellulose, 2003. **10**(2): p. 139-150.
56. Liu, C. and H. Baumann, *New 6-butylamino-6-deoxycellulose and 6-deoxy-6-pyridiniumcellulose derivatives with highest regioselectivity and completeness of reaction*. Carbohydrate Research, 2005. **340**(14): p. 2229-2235.
57. Saad, G.R., M. Sakamoto, and K.-i. Furuhashi, *Dielectric study of β-relaxation in some cellulosic substances*. Polymer International, 1996. **41**(3): p. 293-299.
58. Lichtenthaler, F.W., *Carbohydrates as Organic Raw Materials*, in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry 2000*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
59. Bragd, P.L., H. van Bekkum, and A.C. Besemer, *TEMPO-Mediated Oxidation of Polysaccharides: Survey of Methods and Applications*. Topics in Catalysis, 2004. **27**(1): p. 49-66.
60. Verraest, D.L., J.A. Peters, and H. van Bekkum, *The platinum-catalyzed oxidation of inulin*. Carbohydrate Research, 1998. **306**(1): p. 197-203.
61. Aspinall, G.O., *12 - Chemistry of Cell Wall Polysaccharides A2 - Preiss, Jack*, in *Carbohydrates: Structure and Function 1980*, Academic Press. p. 473-500.
62. de Nooy, A.E.J., A.C. Besemer, and H. van Bekkum, *Highly selective tempo mediated oxidation of primary alcohol groups in polysaccharides*. Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas, 1994. **113**(3): p. 165-166.
63. de Nooy, A.E.J., A.C. Besemer, and H. van Bekkum, *Highly selective nitroxyl radical-mediated oxidation of primary alcohol groups in water-soluble glucans*. Carbohydrate Research, 1995. **269**(1): p. 89-98.
64. Chang, P.S. and J.F. Robyt, *Oxidation of Primary Alcohol Groups of Naturally Occurring Polysaccharides with 2,2,6,6-Tetramethyl-1-Piperidine Oxoammonium Ion*. Journal of Carbohydrate Chemistry, 1996. **15**(7): p. 819-830.
65. Isogai, A. and Y. Kato, *Preparation of Polyuronic Acid from Cellulose by TEMPO-mediated Oxidation*. Cellulose, 1998. **5**(3): p. 153-164.
66. Muzzarelli, R.A.A., et al., *6-Oxychitins, novel hyaluronan-like regiospecifically carboxylated chitins*. Carbohydrate Polymers, 1999. **39**(4): p. 361-367.
67. Pelletier, S., et al., *Amphiphilic derivatives of sodium alginate and hyaluronate: synthesis and physico-chemical properties of aqueous dilute solutions*. Carbohydrate Polymers, 2000. **43**(4): p. 343-349.
68. Pappas, C.S., et al., *Determination of the degree of esterification of pectinates with decyl and benzyl ester groups by diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy (DRIFTS) and curve-fitting deconvolution method*. Carbohydrate Polymers, 2004. **56**(4): p. 465-469.
69. Cathell, M.D., J.C. Szewczyk, and C.L. Schauer, *Organic modification of the polysaccharide alginate*. Mini-Reviews in Organic Chemistry, 2010. **7**(1): p. 61-67.
70. Vallée, F., et al., *Synthesis and rheological properties of hydrogels based on amphiphilic alginate-amide derivatives*. Carbohydrate Research, 2009. **344**(2): p. 223-228.

71. Synytsya, A., et al., *N-octadecylpectinamide, a hydrophobic sorbent based on modification of highly methoxylated citrus pectin*. Carbohydrate Polymers, 2004. **56**(2): p. 169-179.
72. de Britto, D., et al., *Quaternary salts of chitosan: history, antimicrobial features, and prospects*. International Journal of Carbohydrate Chemistry, 2011. **2011**.
73. Rúnarsson, Ö.V., et al., *N-selective 'one pot' synthesis of highly N-substituted trimethyl chitosan (TMC)*. Carbohydrate Polymers, 2008. **74**(3): p. 740-744.
74. Jia, Z., D. shen, and W. Xu, *Synthesis and antibacterial activities of quaternary ammonium salt of chitosan*. Carbohydrate Research, 2001. **333**(1): p. 1-6.
75. Desbrières, J., C. Martinez, and M. Rinaudo, *Hydrophobic derivatives of chitosan: Characterization and rheological behaviour*. International Journal of Biological Macromolecules, 1996. **19**(1): p. 21-28.
76. Badawy, M.E.I., *Chemical modification of chitosan: synthesis and biological activity of new heterocyclic chitosan derivatives*. Polymer International, 2008. **57**(2): p. 254-261.
77. Rabea, E.I., et al., *Enhancement of fungicidal and insecticidal activity by reductive alkylation of chitosan*. Pest Management Science, 2006. **62**(9): p. 890-897.
78. Hirano, S., et al., *Chitosan staple fibers and their chemical modification with some aldehydes*. Carbohydrate Polymers, 1999. **38**(4): p. 293-298.
79. Lee, K.Y., W.S. Ha, and W.H. Park, *Blood compatibility and biodegradability of partially N-acylated chitosan derivatives*. Biomaterials, 1995. **16**(16): p. 1211-1216.
80. Choi, C.Y., et al., *Effect of N-acylation on structure and properties of chitosan fibers*. Carbohydrate Polymers, 2007. **68**(1): p. 122-127.
81. Ishii, T., *Facile preparation of deoxyiodocellulose and its conversion into 5,6-cellulosene*. Carbohydrate Research, 1986. **154**(1): p. 63-70.
82. Horton, D. and M.H. Meshreki, *Synthesis of 2.3-unsaturated polysaccharides from amylose and xylan*. Carbohydrate Research, 1975. **40**(2): p. 345-352.
83. Mohnen, D., *Pectin structure and biosynthesis*. Current Opinion in Plant Biology, 2008. **11**(3): p. 266-277.
84. Labrude, P. and C. Becq, *Le pharmacien et chimiste Henri Braconnot (Commercy 1780-Nancy 1855)*. Revue d'Histoire de la Pharmacie, 2003. **91**(337): p. 61-78.
85. Ridley, B.L., M.A. O'Neill, and D. Mohnen, *Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling*. Phytochemistry, 2001. **57**(6): p. 929-967.
86. Farrokhi, N., et al., *Plant cell wall biosynthesis: genetic, biochemical and functional genomics approaches to the identification of key genes*. Plant Biotechnology Journal, 2006. **4**(2): p. 145-167.
87. O'Neill, M., P. Albersheim, and A. Darvill, *12 - The Pectic Polysaccharides of Primary Cell Walls*, in *Methods in Plant Biochemistry*, P.M. Dey, Editor 1990, Academic Press. p. 415-441.
88. Jackson, C.L., et al., *Pectin induces apoptosis in human prostate cancer cells: correlation of apoptotic function with pectin structure*. Glycobiology, 2007. **17**(8): p. 805-819.
89. MacKinnon, I.M., et al., *Pectic Methyl and Nonmethyl Esters in Potato Cell Walls*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002. **50**(2): p. 342-346.

90. Yapo, B.M., et al., *Pectins from citrus peel cell walls contain homogalacturonans homogenous with respect to molar mass, rhamnogalacturonan I and rhamnogalacturonan II*. Carbohydrate Polymers, 2007. **69**(3): p. 426-435.
91. Willats, W.G.T., et al., *Pectin: cell biology and prospects for functional analysis*. Plant Molecular Biology, 2001. **47**(1): p. 9-27.
92. Guillemin, F., et al., *Distribution of pectic epitopes in cell walls of the sugar beet root*. Planta, 2005. **222**(2): p. 355-371.
93. Ishii, T. and T. Matsunaga, *Pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II is covalently linked to homogalacturonan*. Phytochemistry, 2001. **57**(6): p. 969-974.
94. Carpita, N.C. and D.M. Gibeaut, *Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth*. The Plant Journal, 1993. **3**(1): p. 1-30.
95. Zandleven, J., et al., *Enzymatic degradation studies of xylogalacturonans from apple and potato, using xylogalacturonan hydrolase*. Carbohydrate Polymers, 2006. **65**(4): p. 495-503.
96. Ishii, T., *O-Acetylated Oligosaccharides from Pectins of Potato Tuber Cell Walls*. Plant Physiology, 1997. **113**(4): p. 1265-1272.
97. Nakamura, A., et al., *Structural Studies by Stepwise Enzymatic Degradation of the Main Backbone of Soybean Soluble Polysaccharides Consisting of Galacturonan and Rhamnogalacturonan*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2002. **66**(6): p. 1301-1313.
98. Coenen, G.J., et al., *Identification of the connecting linkage between homo- or xylogalacturonan and rhamnogalacturonan type I*. Carbohydrate Polymers, 2007. **70**(2): p. 224-235.
99. Morris, G.A., T.J. Foster, and S.E. Harding, *The effect of the degree of esterification on the hydrodynamic properties of citrus pectin*. Food Hydrocolloids, 2000. **14**(3): p. 227-235.
100. Rolin, C., *CHAPTER 10 - PECTIN*, in *Industrial Gums (Third Edition)*1993, Academic Press: London. p. 257-293.
101. Radeva, T., *Physical chemistry of polyelectrolytes*. Vol. 99. 2001: CRC Press.
102. Plaschina, I.G., E.E. Braudo, and V.B. Tolstoguzov, *Circular-dichroism studies of pectin solutions*. Carbohydrate Research, 1978. **60**(1): p. 1-8.
103. Axelos, M.A.V. and M. Kolb, *Crosslinked biopolymers: Experimental evidence for scalar percolation theory*. Physical Review Letters, 1990. **64**(12): p. 1457-1460.
104. Morris, E.R., et al., *Characterization of pectin gelation under conditions of low water activity, by circular dichroism, competitive inhibition and mechanical properties*. International Journal of Biological Macromolecules, 1980. **2**(5): p. 327-330.
105. Oakenfull, D. and A. Scott, *Hydrophobic Interaction in the Gelation of High Methoxyl Pectins*. Journal of Food Science, 1984. **49**(4): p. 1093-1098.
106. Axelos, M. and J. Thibault, *The chemistry of low-methoxyl pectin gelation*. The chemistry and technology of pectin, 1991: p. 109-118.
107. Rolin, C., *Pectin*, in *Industrial Gums (Third Edition)*1993, Elsevier. p. 257-293.

108. Powell, D.A., et al., *Conformations and interactions of pectins: II. Influence of residue sequence on chain association in calcium pectate gels*. Journal of Molecular Biology, 1982. **155**(4): p. 517-531.
109. Lee, B.-B., et al., *Surface tension of viscous biopolymer solutions measured using the du Nouy ring method and the drop weight methods*. Polymer Bulletin, 2012. **69**(4): p. 471-489.
110. Reitsma, J.C.E., J.F. Thibault, and W. Pilnik, *Properties of amidated pectins. I. Preparation and characterization of amidated pectins and amidated pectic acids*. Food Hydrocolloids, 1986. **1**(2): p. 121-127.
111. Yeoh, S., J. Shi, and T.A.G. Langrish, *Comparisons between different techniques for water-based extraction of pectin from orange peels*. Desalination, 2008. **218**(1): p. 229-237.
112. Yujaroen, P., U. Supjaroenkul, and S. Rungrodnimitchai, *Extraction of pectin from sugar palm meat*. Int. J. Sci. Technol, 2008. **13**: p. 44-47.
113. Sriamornsak, P., *Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: a review*. Silpakorn University International Journal, 2003. **3**(1-2): p. 206-228.
114. Rishabha, M., et al., *Preparation and evaluation of disintegrating properties of Cucurbita maxima pulp powder*. Int. J. Ph. Sci, 2010. **2**(1).
115. Srivastava, P. and R. Malviya, *Sources of pectin, extraction and its applications in pharmaceutical industry— An overview*. 2011.
116. Campos, C.A., L.N. Gerschenson, and S.K. Flores, *Development of Edible Films and Coatings with Antimicrobial Activity*. Food and Bioprocess Technology, 2011. **4**(6): p. 849-875.
117. Otoni, C.G., et al., *Recent Advances on Edible Films Based on Fruits and Vegetables—A Review*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2017. **16**(5): p. 1151-1169.
118. Fishman, M.L., et al., *Extrusion of pectin/starch blends plasticized with glycerol*. Carbohydrate Polymers, 2000. **41**(4): p. 317-325.
119. Fishman, M.L., et al., *Extrusion of pectin and glycerol with various combinations of orange albedo and starch*. Carbohydrate Polymers, 2004. **57**(4): p. 401-413.
120. Liu, L., J.F. Kerry, and J.P. Kerry, *Application and assessment of extruded edible casings manufactured from pectin and gelatin/sodium alginate blends for use with breakfast pork sausage*. Meat Science, 2007. **75**(2): p. 196-202.
121. Jindal, M., et al., *An insight into the properties of Aegle marmelos pectin–chitosan cross-linked films*. International Journal of Biological Macromolecules, 2013. **52**: p. 77-84.
122. Stephen, A.M., *Food polysaccharides and their applications*. Vol. 67. 1995: CRC press.
123. Bhatia, M.S., et al., *Chemical modification of pectins, characterization and evaluation for drug delivery*. Scientia Pharmaceutica, 2008. **76**(4): p. 775-784.
124. Kurita, O., Y. Miyake, and E. Yamazaki, *Chemical modification of citrus pectin to improve its dissolution into water*. Carbohydrate Polymers, 2012. **87**(2): p. 1720-1727.
125. Debeaufort, F. and A. Voilley, *Effect of surfactants and drying rate on barrier properties of emulsified edible films*. International Journal of Food Science & Technology, 1995. **30**(2): p. 183-190.

126. Vartiainen, J., M. Vähä-Nissi, and A. Harlin, *Biopolymer films and coatings in packaging applications—a review of recent developments*. *Materials Sciences and applications*, 2014. **5**(10): p. 708.
127. Manrich, A., et al., *Hydrophobic edible films made up of tomato cutin and pectin*. *Carbohydrate Polymers*, 2017. **164**: p. 83-91.
128. Porta, R., et al., *Transglutaminase Crosslinked Pectin- and Chitosan-based Edible Films: A Review*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2011. **51**(3): p. 223-238.
129. Ralet, M.-C., E. Bonnin, and J.-F. Thibault, *Chromatographic study of highly methoxylated lime pectins deesterified by different pectin methyl-esterases*. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 2001. **753**(1): p. 157-166.
130. Renard, C.M.G.C. and M.C. Jarvis, *Acetylation and methylation of homogalacturonans I: optimisation of the reaction and characterisation of the products*. *Carbohydrate Polymers*, 1999. **39**(3): p. 201-207.
131. Rosenbohm, C., et al., *Chemically methylated and reduced pectins: preparation, characterisation by ¹H NMR spectroscopy, enzymatic degradation, and gelling properties*. *Carbohydrate Research*, 2003. **338**(7): p. 637-649.
132. El-Nawawi, S.A. and Y.A. Heikal, *Production of a low ester pectin by de-esterification of high ester citrus pectin*. *Carbohydrate Polymers*, 1995. **27**(3): p. 191-195.
133. Renard, C.M.G.C. and J.-F. Thibault, *Degradation of pectins in alkaline conditions: kinetics of demethylation*. *Carbohydrate Research*, 1996. **286**: p. 139-150.
134. Kim, Y., et al., *Textural Properties of Gelling System of Low-Methoxy Pectins Produced by Demethoxylating Reaction of Pectin Methyl Esterase*. *Journal of Food Science*, 2008. **73**(5): p. C367-C372.
135. Hunter, J.L. and L. Wicker, *De-esterification of pectin by alkali, plant and fungal pectinmethylesterases and effect on molecular weight*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2005. **85**(13): p. 2243-2248.
136. Willats, W.G.T., J.P. Knox, and J.D. Mikkelsen, *Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel*. *Trends in Food Science & Technology*, 2006. **17**(3): p. 97-104.
137. Klavons, J.A. and R.D. Bennett, *Preparation of Alkyl Esters of Pectin and Pectic Acid*. *Journal of Food Science*, 1995. **60**(3): p. 513-515.
138. Dea, I.C.M. and J.K. Madden, *Acetylated pectic polysaccharides of sugar beet*. *Food Hydrocolloids*, 1986. **1**(1): p. 71-88.
139. Bush, M.S. and M.C. McCann, *Pectic epitopes are differentially distributed in the cell walls of potato (*Solanum tuberosum*) tubers*. *Physiologia Plantarum*, 1999. **107**(2): p. 201-213.
140. Iglesias, M.T. and J.E. Lozano, *Extraction and characterization of sunflower pectin*. *Journal of Food Engineering*, 2004. **62**(3): p. 215-223.
141. Leroux, J., et al., *Emulsion stabilizing properties of pectin*. *Food Hydrocolloids*, 2003. **17**(4): p. 455-462.
142. Rexová-Benková, Ľ., et al., *The role of sec-alcoholic groups of D-galacturonan in its degradation by endo-D-galacturonanase*. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 1977. **42**(11): p. 3204-3213.

143. Monfregola, L., et al., *Physical and water sorption properties of chemically modified pectin with an environmentally friendly process*. *Biomacromolecules*, 2011. **12**(6): p. 2311-2318.
144. Munjeri, O., J.H. Collett, and J.T. Fell, *Hydrogel beads based on amidated pectins for colon-specific drug delivery: the role of chitosan in modifying drug release*. *Journal of Controlled Release*, 1997. **46**(3): p. 273-278.
145. Musabayane, C., et al., *Orally administered, insulin-loaded amidated pectin hydrogel beads sustain plasma concentrations of insulin in streptozotocin-diabetic rats*. *Journal of Endocrinology*, 2000. **164**(1): p. 1-6.
146. Einhorn-Stoll, U., et al., *Thermodynamic compatibility of sodium caseinate with different pectins. Influence of the milieu conditions and pectin modifications*. *Food / Nahrung*, 2001. **45**(5): p. 332-337.
147. Rha, H.J., et al., *Enhancement of anti-radical activity of pectin from apple pomace by hydroxamation*. *Food Hydrocolloids*, 2011. **25**(3): p. 545-548.
148. Cheng, H.N., Q.-M. Gu, and R.G. Nickol, *Amine modified polysaccharides*, 2000, Google Patents.
149. Fan, L., et al., *Preparation and characterization of a quaternary ammonium derivative of pectin*. *Carbohydrate Polymers*, 2012. **88**(2): p. 707-712.
150. Katav, T., et al., *Modified pectin-based carrier for gene delivery: Cellular barriers in gene delivery course*. *Journal of Controlled Release*, 2008. **130**(2): p. 183-191.
151. Smart, J.D., *The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2005. **57**(11): p. 1556-1568.
152. Bernkop-Schnürch, A., *Thiomers: A new generation of mucoadhesive polymers*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2005. **57**(11): p. 1569-1582.
153. Sharma, R. and M. Ahuja, *Thiolated pectin: Synthesis, characterization and evaluation as a mucoadhesive polymer*. *Carbohydrate Polymers*, 2011. **85**(3): p. 658-663.
154. Majzoob, S., et al., *Pectin-cysteine conjugate: synthesis and in-vitro evaluation of its potential for drug delivery*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2006. **58**(12): p. 1601-1610.
155. Martinichen-Herrero, J.C., et al., *Anticoagulant and antithrombotic activity of a sulfate obtained from a glucan component of the lichen *Parmotrema mantiqueirense* Hale*. *Carbohydrate Polymers*, 2005. **60**(1): p. 7-13.
156. Wang, J., et al., *Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica**. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2008. **42**(2): p. 127-132.
157. Maas, N.C., et al., *Sulfation pattern of citrus pectin and its carboxy-reduced derivatives: Influence on anticoagulant and antithrombotic effects*. *Carbohydrate Polymers*, 2012. **89**(4): p. 1081-1087.
158. Cipriani, T.R., et al., *Influence of molecular weight of chemically sulfated citrus pectin fractions on their antithrombotic and bleeding effects*. *Thrombosis and haemostasis*, 2009. **102**(05): p. 860-866.
159. Vityazev, F.V., et al., *Synthesis of sulfated pectins and their anticoagulant activity*. *Biochemistry (Moscow)*, 2010. **75**(6): p. 759-768.
160. Bae, I.Y., et al., *Effect of sulfation on the physicochemical and biological properties of citrus pectins*. *Food Hydrocolloids*, 2009. **23**(7): p. 1980-1983.

161. Fan, L., et al., *Synthesis and anticoagulant activity of pectin sulfates*. Journal of Applied Polymer Science, 2012. **124**(3): p. 2171-2178.
162. Takei, T., et al., *In situ gellable oxidized citrus pectin for localized delivery of anticancer drugs and prevention of homotypic cancer cell aggregation*. Biomacromolecules, 2010. **11**(12): p. 3525-3530.
163. Abdel-Hamid, M.I., K.S. Khairou, and R.M. Hassan, *Kinetics and mechanism of permanganate oxidation of pectin polysaccharide in acid perchlorate media*. European Polymer Journal, 2003. **39**(2): p. 381-387.
164. Bellú, S.E., et al., *Kinetics and mechanism of oxidation of apple pectin by CrVI in aqueous acid medium*. Journal of Physical Organic Chemistry, 2008. **21**(12): p. 1059-1067.
165. Gessa, C., et al., *The reduction of Fe(III) to Fe(II) and V(V) to V(IV) by polygalacturonic acid: A reduction and complexation mechanism of biochemical significance*. Inorganica Chimica Acta, 1983. **80**: p. L53-L55.
166. Da Silva, J.L. and M. Rao, *11 Pectins: Structure, Functionality, and Uses*. Food polysaccharides and their applications, 2006: p. 353.
167. Oosterveld, A., G. Beldman, and A.G.J. Voragen, *Oxidative cross-linking of pectic polysaccharides from sugar beet pulp*. Carbohydrate Research, 2000. **328**(2): p. 199-207.
168. Semdé, R., et al., *Synthesis and Enzymatic Degradation of Epichlorohydrin Cross-Linked Pectins*. Drug Development and Industrial Pharmacy, 2003. **29**(2): p. 203-213.
169. Yoshimura, T., K. Sengoku, and R. Fujioka, *Pectin-based superabsorbent hydrogels crosslinked by some chemicals: synthesis and characterization*. Polymer Bulletin, 2005. **55**(1): p. 123-129.
170. Li, F.T., et al., *Novel modified pectin for heavy metal adsorption*. Chinese Chemical Letters, 2007. **18**(3): p. 325-328.
171. Souto-Maior, J.F.A., et al., *Phosphated crosslinked pectin as a potential excipient for specific drug delivery: preparation and physicochemical characterization*. Polymer International, 2010. **59**(1): p. 127-135.
172. Perera, G., J. Hombach, and A. Bernkop-Schnürch, *Hydrophobic thiolation of pectin with 4-aminothiophenol: synthesis and in vitro characterization*. Aaps Pharmscitech, 2010. **11**(1): p. 174-180.
173. Matricardi, P., et al., *Gelation of chemically cross-linked polygalacturonic acid derivatives*. Carbohydrate Polymers, 1995. **27**(3): p. 215-220.
174. Assaf, S.M., Y.M. Abul-Haija, and M.M. Fares, *Versatile Pectin Grafted Poly (N-isopropylacrylamide); Modulated Targeted Drug Release*. Journal of Macromolecular Science, Part A, 2011. **48**(6): p. 493-502.
175. Fares, M.M., S.M. Assaf, and Y.M. Abul-Haija, *Pectin grafted poly(N-vinylpyrrolidone): Optimization and in vitro controllable theophylline drug release*. Journal of Applied Polymer Science, 2010. **117**(4): p. 1945-1954.
176. Pourjavadi, A. and S. Barzegar, *Synthesis and Evaluation of pH and Thermosensitive Pectin-Based Superabsorbent Hydrogel for Oral Drug Delivery Systems*. Starch - Stärke, 2009. **61**(3-4): p. 161-172.
177. Chauhan, G.S., A. Kumari, and R. Sharma, *Pectin and acrylamide based hydrogels for environment management technologies: Synthesis, characterization, and metal ions sorption*. Journal of Applied Polymer Science, 2007. **106**(4): p. 2158-2168.

178. Coenen, G.-J., et al., *CE-MSn of complex pectin-derived oligomers*. ELECTROPHORESIS, 2008. **29**(10): p. 2101-2111.
179. Yamaguchi, F., N. Shimizu, and C. Hatanaka, *Preparation and Physiological Effect of Low-molecular-weight Pectin*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 1994. **58**(4): p. 679-682.
180. Maxwell, E.G., et al., *Pectin – An emerging new bioactive food polysaccharide*. Trends in Food Science & Technology, 2012. **24**(2): p. 64-73.
181. Li, T., R. Yamauchi, and K. Kato, *Antibacterial Activity of Enzymolysate of Haw Pectin*. Journal of Applied Glycoscience, 1997. **44**(4): p. 489-495.
182. Olano-Martin, E., G.R. Gibson, and R.A. Rastall, *Comparison of the in vitro bifidogenic properties of pectins and pectic-oligosaccharides*. Journal of Applied Microbiology, 2002. **93**(3): p. 505-511.
183. Seymour, G.B. and J.P. Knox, *Pectins and their manipulation*. Vol. 15. 2002: Taylor & Francis.
184. Sajjaanantakul, T., J.P. Van Buren, and D.L. Downing, *Effect of cations on heat degradation of chelator-soluble carrot pectin*. Carbohydrate Polymers, 1993. **20**(3): p. 207-214.
185. Krall, S.M. and R.F. McFeeters, *Pectin Hydrolysis: Effect of Temperature, Degree of Methylation, pH, and Calcium on Hydrolysis Rates*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998. **46**(4): p. 1311-1315.
186. Thibault, J.-F., et al., *Studies of the length of homogalacturonic regions in pectins by acid hydrolysis*. Carbohydrate Research, 1993. **238**: p. 271-286.
187. Seshadri, R., et al., *Ultrasonic processing influences rheological and optical properties of high-methoxyl pectin dispersions*. Food Hydrocolloids, 2003. **17**(2): p. 191-197.
188. Tiwari, B.K., et al., *Rheological Properties of Sonicated Guar, Xanthan and Pectin Dispersions*. International journal of food properties, 2010. **13**(2): p. 223-233.
189. Burana-osot, J., et al., *Partial depolymerization of pectin by a photochemical reaction*. Carbohydrate Research, 2010. **345**(9): p. 1205-1210.
190. De Roeck, A., et al., *Effect of high-pressure/high-temperature processing on chemical pectin conversions in relation to fruit and vegetable texture*. Food Chemistry, 2009. **115**(1): p. 207-213.
191. Corredig, M. and L. Wicker, *Changes in the molecular weight distribution of three commercial pectins after valve homogenization*. Food Hydrocolloids, 2001. **15**(1): p. 17-23.
192. Zegota, H., *The effect of γ -irradiation on citrus pectin in N₂O and N₂O/O₂ saturated aqueous solutions*. Food Hydrocolloids, 1999. **13**(1): p. 51-58.
193. Dogan, M., A. Kayacier, and E. Ic, *Rheological characteristics of some food hydrocolloids processed with gamma irradiation*. Food Hydrocolloids, 2007. **21**(3): p. 392-396.
194. Dongowski, G., et al., *Interactions between food components and drugs. Part 5: Effect of acetylation and amidation of pectins on the interaction with drugs*. International Journal of Pharmaceutics, 1997. **158**(1): p. 99-107.
195. Hwang, J.-K., C.-J. Kim, and C.-T. Kim, *Extrusion of Apple Pomace Facilitates Pectin Extraction*. Journal of Food Science, 1998. **63**(5): p. 841-844.

196. Plat, D., N. Ben-Shalom, and A. Levi, *Changes in pectic substances in carrots during dehydration with and without blanching*. Food Chemistry, 1991. **39**(1): p. 1-12.
197. Bonnin, E., et al., *Characterisation of pectin subunits released by an optimised combination of enzymes*. Carbohydrate Research, 2002. **337**(18): p. 1687-1696.
198. Pedrolli, D.B., et al., *Pectin and pectinases: production, characterization and industrial application of microbial pectinolytic enzymes*. Open Biotechnology Journal, 2009: p. 9-18.
199. Tucker, G.A. and G.B. Seymour, *Modification and degradation of pectins. Pectins and Their Manipulation*. CRC Press, Boca Raton, FL, 2002: p. 150-173.
200. Yadav, S., et al., *Pectin lyase: A review*. Process Biochemistry, 2009. **44**(1): p. 1-10.
201. Seisun, D., *Introduction*, in *Food Stabilisers, Thickeners and Gelling Agents* 2009, Wiley-Blackwell. p. 1-10.
202. Abraham, M.R. and T.B. Susan, *Water contamination with heavy metals and trace elements from Kilembe copper mine and tailing sites in Western Uganda; implications for domestic water quality*. Chemosphere, 2017. **169**: p. 281-287.
203. Kahle, H., *Response of roots of trees to heavy metals*. Environmental and Experimental Botany, 1993. **33**(1): p. 99-119.
204. Kozłowski, C.A. and W. Walkowiak, *Removal of chromium(VI) from aqueous solutions by polymer inclusion membranes*. Water Research, 2002. **36**(19): p. 4870-4876.
205. Runnells, D.D., T.A. Shepherd, and E.E. Angino, *Metals in water. Determining natural background concentrations in mineralized areas*. Environmental Science & Technology, 1992. **26**(12): p. 2316-2323.
206. Rio, S. and A. Delebarre, *Removal of mercury in aqueous solution by fluidized bed plant fly ash*. Fuel, 2003. **82**(2): p. 153-159.
207. Kurniawan, T.A., et al., *Physico-chemical treatment techniques for wastewater laden with heavy metals*. Chemical Engineering Journal, 2006. **118**(1): p. 83-98.
208. Crini, G., *Recent developments in polysaccharide-based materials used as adsorbents in wastewater treatment*. Progress in Polymer Science, 2005. **30**(1): p. 38-70.
209. Gadd, G.M., *Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment*. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2009. **84**(1): p. 13-28.
210. Volesky, B. and Z. Holan, *Biosorption of heavy metals*. Biotechnology progress, 1995. **11**(3): p. 235-250.
211. Chandra, R. and R. Rustgi, *Biodegradable polymers*. Progress in Polymer Science, 1998. **23**(7): p. 1273-1335.
212. Arrascue, M.L., et al., *Gold sorption on chitosan derivatives*. Hydrometallurgy, 2003. **71**(1): p. 191-200.
213. Jeon, C. and W.H. Höll, *Chemical modification of chitosan and equilibrium study for mercury ion removal*. Water Research, 2003. **37**(19): p. 4770-4780.
214. Guibal, E., T. Vincent, and R.N. Mendoza, *Synthesis and characterization of a thiourea derivative of chitosan for platinum recovery*. Journal of Applied Polymer Science, 2000. **75**(1): p. 119-134.

215. Auzély-Velty, R. and M. Rinaudo, *Synthesis of starch derivatives with labile cationic groups*. International Journal of Biological Macromolecules, 2003. **31**(4): p. 123-129.
216. Ruiz, M., A. Sastre, and E. Guibal, *Osmium and Iridium Sorption on Chitosan Derivatives*. Solvent Extraction and Ion Exchange, 2003. **21**(2): p. 307-329.
217. Guibal, E., et al., *Sulfur derivatives of chitosan for palladium sorption*. Reactive and Functional Polymers, 2002. **50**(2): p. 149-163.
218. McKenna, B.A., et al., *Effects of Ca, Cu, Al and La on pectin gel strength: implications for plant cell walls*. Carbohydrate Research, 2010. **345**(9): p. 1174-1179.
219. Plazinski, W. and M. Drach, *Binding of bivalent metal cations by α -L-gulonate: insights from the DFT-MD simulations*. New Journal of Chemistry, 2015. **39**(5): p. 3987-3994.
220. Ajmal, M., et al., *Adsorption studies on Citrus reticulata (fruit peel of orange): removal and recovery of Ni(II) from electroplating wastewater*. Journal of Hazardous Materials, 2000. **79**(1): p. 117-131.
221. Kartel, M.T., L.A. Kupchik, and B.K. Veisov, *Evaluation of pectin binding of heavy metal ions in aqueous solutions*. Chemosphere, 1999. **38**(11): p. 2591-2596.
222. Fraeye, I., et al., *Fine-tuning the properties of pectin–calcium gels by control of pectin fine structure, gel composition and environmental conditions*. Trends in Food Science & Technology, 2010. **21**(5): p. 219-228.
223. Assifaoui, A., et al., *Structural behaviour differences in low methoxy pectin solutions in the presence of divalent cations (Ca^{2+} and Zn^{2+}): a process driven by the binding mechanism of the cation with the galacturonate unit*. Soft Matter, 2015. **11**(3): p. 551-560.
224. Jellinek, H.H.G. and S.P. Sangal, *Complexation of metal ions with natural polyelectrolytes (removal and recovery of metal ions from polluted waters)*. Water Research, 1972. **6**(3): p. 305-314.
225. Dronnet, V.M., et al., *Binding of divalent metal cations by sugar-beet pulp*. Carbohydrate Polymers, 1997. **34**(1): p. 73-82.
226. Mata, Y.N., et al., *Sugar-beet pulp pectin gels as biosorbent for heavy metals: Preparation and determination of biosorption and desorption characteristics*. Chemical Engineering Journal, 2009. **150**(2): p. 289-301.
227. Mata, Y.N., et al., *Studies on sorption, desorption, regeneration and reuse of sugar-beet pectin gels for heavy metal removal*. Journal of Hazardous Materials, 2010. **178**(1): p. 243-248.
228. Voo, W.-P., et al., *Comparison of alginate and pectin based beads for production of poultry probiotic cells*. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2011. **111**(3): p. 294-299.
229. Deiana, S., et al., *Coordination of transition-metal ions by polygalacturonic acid: A spectroscopic study*. Inorganica Chimica Acta, 1980. **46**: p. 249-253.
230. Davarski, K.A., et al., *COMPLEX EQUILIBRIA IN THE SYSTEM M^{2+} -POLYGALACTURONIC ACID (PECTIN) - H_2O ($\text{M} = \text{Co}, \text{Ni}, \text{Cu}, \text{Zn}, \text{Cd}$ AND Pb)*. Journal of Coordination Chemistry, 1994. **33**(1): p. 75-81.
231. Vilhena, C., M.L. Gonçalves, and A.M. Mota, *Binding of Copper(II) to Pectins by Electrochemical Methods*. Electroanalysis, 2004. **16**(24): p. 2065-2072.

232. Escandar, G.M. and L.F. Sala, *Complexes of Cu (II) with D-almonic and D-alduronic acids in aqueous solution*. Canadian Journal of Chemistry, 1992. **70**(7): p. 2053-2057.
233. Becker, T., M. Schlaak, and H. Strasdeit, *Adsorption of nickel(II), zinc(II) and cadmium(II) by new chitosan derivatives*. Reactive and Functional Polymers, 2000. **44**(3): p. 289-298.
234. Chen, A.-H., et al., *Comparative adsorption of Cu(II), Zn(II), and Pb(II) ions in aqueous solution on the crosslinked chitosan with epichlorohydrin*. Journal of Hazardous Materials, 2008. **154**(1): p. 184-191.
235. Hamdaoui, O. and E. Naffrechoux, *Modeling of adsorption isotherms of phenol and chlorophenols onto granular activated carbon: Part I. Two-parameter models and equations allowing determination of thermodynamic parameters*. Journal of Hazardous Materials, 2007. **147**(1): p. 381-394.
236. Senthil Kumar, P., et al., *Adsorption of dye from aqueous solution by cashew nut shell: Studies on equilibrium isotherm, kinetics and thermodynamics of interactions*. Desalination, 2010. **261**(1): p. 52-60.
237. Crini, G., *Kinetic and equilibrium studies on the removal of cationic dyes from aqueous solution by adsorption onto a cyclodextrin polymer*. Dyes and Pigments, 2008. **77**(2): p. 415-426.
238. Graf, K. and M. Kappl, *Physics and chemistry of interfaces* 2006: John Wiley & Sons.
239. Öztaş, N.A., A. Karabakan, and Ö. Topal, *Removal of Fe(III) ion from aqueous solution by adsorption on raw and treated clinoptilolite samples*. Microporous and Mesoporous Materials, 2008. **111**(1): p. 200-205.
240. Liu, Y., Y. Zheng, and A. Wang, *Enhanced adsorption of Methylene Blue from aqueous solution by chitosan-g-poly (acrylic acid)/vermiculite hydrogel composites*. Journal of Environmental Sciences, 2010. **22**(4): p. 486-493.
241. Mall, I.D., et al., *Adsorptive removal of malachite green dye from aqueous solution by bagasse fly ash and activated carbon-kinetic study and equilibrium isotherm analyses*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2005. **264**(1): p. 17-28.
242. Fytianos, K., E. Voudrias, and E. Kokkalis, *Sorption-desorption behaviour of 2,4-dichlorophenol by marine sediments*. Chemosphere, 2000. **40**(1): p. 3-6.
243. Caliskan, N., et al., *Adsorption of Zinc(II) on diatomite and manganese-oxide-modified diatomite: A kinetic and equilibrium study*. Journal of Hazardous Materials, 2011. **193**(Supplement C): p. 27-36.
244. Gil, A., et al., *Removal of dyes from wastewaters by adsorption on pillared clays*. Chemical Engineering Journal, 2011. **168**(3): p. 1032-1040.
245. Kumar, R.P., S. Varanasi, and V. Purushothaman, *Investigation of the biosorption mechanisms of Methylene blue onto press mud through kinetic modeling analysis*. Indian Journal of Science and Technology, 2010. **3**(1): p. 44-47.
246. Ho, Y.S. and G. McKay, *Pseudo-second order model for sorption processes*. Process Biochemistry, 1999. **34**(5): p. 451-465.
247. Ho, Y.S., et al., *Study of the Sorption of Divalent Metal Ions on to Peat*. Adsorption Science & Technology, 2000. **18**(7): p. 639-650.
248. Mosher, M., *Organic Chemistry. Sixth edition (Morrison, Robert Thornton; Boyd, Robert Neilson)*. Journal of Chemical Education, 1992. **69**(11): p. A305.

249. Charlot, A. and R. Auzély-Velty, *Novel Hyaluronic Acid Based Supramolecular Assemblies Stabilized by Multivalent Specific Interactions: Rheological Behavior in Aqueous Solution*. *Macromolecules*, 2007. **40**(26): p. 9555-9563.
250. Rojewska, M., M. Skrzypiec, and K. Prochaska, *Surface properties and morphology of mixed POSS-DPPC monolayers at the air/water interface*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2017. **150**: p. 334-343.
251. *ASTM E96 / E96M-16, Standard Test Methods for Water Vapor Transmission of Materials*, 2016, ASTM International: West Conshohocken, PA, USA.
252. Synytsya, A., et al., *Fourier transform Raman and infrared spectroscopy of pectins*. *Carbohydrate Polymers*, 2003. **54**(1): p. 97-106.
253. Černá, M., et al., *Use of FT-IR spectroscopy as a tool for the analysis of polysaccharide food additives*. *Carbohydrate Polymers*, 2003. **51**(4): p. 383-389.
254. Calce, E., et al., *Solvent-Free Synthesis of Modified Pectin Compounds Promoted by Microwave Irradiation*. *Molecules*, 2012. **17**(10): p. 12234.
255. Liang, R.-h., et al., *Alkylated pectin: Synthesis, characterization, viscosity and emulsifying properties*. *Food Hydrocolloids*, 2015. **50**: p. 65-73.
256. Graessley, W.W., *The entanglement concept in polymer rheology*, in *The Entanglement Concept in Polymer Rheology* 1974, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 1-179.
257. Kjøniksen, A.-L., M. Hiorth, and B. Nyström, *Association under shear flow in aqueous solutions of pectin*. *European Polymer Journal*, 2005. **41**(4): p. 761-770.
258. Einhorn-Stoll, U., et al., *Pectin-water interactions: Comparison of different analytical methods and influence of storage*. *Food Hydrocolloids*, 2015. **43**: p. 577-583.
259. Garnier, C., M.A.V. Axelos, and J.-F. Thibault, *Phase diagrams of pectin-calcium systems: Influence of pH, ionic strength, and temperature on the gelation of pectins with different degrees of methylation*. *Carbohydrate Research*, 1993. **240**: p. 219-232.
260. Ström, A., E. Schuster, and S.M. Goh, *Rheological characterization of acid pectin samples in the absence and presence of monovalent ions*. *Carbohydrate Polymers*, 2014. **113**: p. 336-343.
261. Lutz, R., et al., *Structure and physical properties of pectins with block-wise distribution of carboxylic acid groups*. *Food Hydrocolloids*, 2009. **23**(3): p. 786-794.
262. Hwang, B.-J., et al., *Analysis of states of water in poly (vinyl alcohol) based DMFC membranes using FTIR and DSC*. *Journal of Membrane Science*, 2011. **369**(1-2): p. 88-95.
263. Nakamura, K., T. Hatakeyama, and H. Hatakeyama, *Relationship between hydrogen bonding and bound water in polyhydroxystyrene derivatives*. *Polymer*, 1983. **24**(7): p. 871-876.
264. Russo, R., et al., *Effect of polyglycerol and the crosslinking on the physical properties of a blend alginate-hydroxyethylcellulose*. *Carbohydrate Polymers*, 2010. **82**(4): p. 1061-1067.
265. Almeida, E.A.M.S., et al., *Synthesis and characterization of pectin derivative with antitumor property against Caco-2 colon cancer cells*. *Carbohydrate Polymers*, 2015. **115**: p. 139-145.
266. Krishnamachari, P., et al., *Biodegradable Poly(Lactic Acid)/Clay Nanocomposites by Melt Intercalation: A Study of Morphological, Thermal, and*

- Mechanical Properties*. International Journal of Polymer Analysis and Characterization, 2009. **14**(4): p. 336-350.
267. Al-Ruqaie, I.M., et al., *The glass transition zone in high solids pectin and gellan preparations*. Polymer, 1997. **38**(22): p. 5685-5694.
268. Bera, H., S. Boddupalli, and A.K. Nayak, *Mucoadhesive-floating zinc-pectinate-sterculia gum interpenetrating polymer network beads encapsulating ziprasidone HCl*. Carbohydrate Polymers, 2015. **131**: p. 108-118.
269. Chen, L., R. Wilson, and M. McCann, *Infra-red microspectroscopy of hydrated biological systems: design and construction of a new cell with atmospheric control for the study of plant cell walls*. Journal of Microscopy, 1997. **188**(1): p. 62-71.
270. CIPA, *International Committee of Plastics in Agriculture*, 65, rue de Prony - 75854 Paris Cedex 17.
271. Ashkenazy, R., L. Gottlieb, and S. Yannai, *Characterization of acetone-washed yeast biomass functional groups involved in lead biosorption*. Biotechnology and Bioengineering, 1997. **55**(1): p. 1-10.
272. Gong, J.-L., et al., *Copper (II) removal by pectin-iron oxide magnetic nanocomposite adsorbent*. Chemical Engineering Journal, 2012. **185**: p. 100-107.
273. Plazinski, W. and M. Drach, *Binding of bivalent metal cations by [small alpha]-l-gulonate: insights from the DFT-MD simulations*. New Journal of Chemistry, 2015. **39**(5): p. 3987-3994.
274. Aksu, Z. and İ.A. İsoğlu, *Removal of copper(II) ions from aqueous solution by biosorption onto agricultural waste sugar beet pulp*. Process Biochemistry, 2005. **40**(9): p. 3031-3044.
275. Tiwari, A., R. Tiwari, and A.K. Bajpai, *Dynamic and Equilibrium Studies on Adsorption of Cu(II) Ions onto Biopolymeric Cross-Linked Pectin and Alginate Beads*. Journal of Dispersion Science and Technology, 2009. **30**(8): p. 1208-1215.
276. da Fonseca, M.G. and C. Airoidi, *Calorimetric Study of Amino Modified Talc Matrices and Copper Salts. An evidence of the chelate effect*. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2001. **64**(1): p. 273-280.
277. Hofmeister, F., *Zur Lehre von der Wirkung der Salze*. Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, 1888. **24**(4): p. 247-260.
278. Łuczak, J., et al., *Influence of the Hofmeister anions on self-organization of 1-decyl-3-methylimidazolium chloride in aqueous solutions*. Journal of Colloid and Interface Science, 2011. **362**(2): p. 415-422.
279. Xie, W.J. and Y.Q. Gao, *A Simple Theory for the Hofmeister Series*. The Journal of Physical Chemistry Letters, 2013. **4**(24): p. 4247-4252.
280. Salis, A. and B.W. Ninham, *Models and mechanisms of Hofmeister effects in electrolyte solutions, and colloid and protein systems revisited*. Chemical Society Reviews, 2014. **43**(21): p. 7358-7377.
281. Wang, H., et al., *Salt Effect on the Aggregation Behavior of 1-Decyl-3-methylimidazolium Bromide in Aqueous Solutions*. The Journal of Physical Chemistry B, 2010. **114**(3): p. 1380-1387.
282. Nostro, P.L., et al., *Hofmeister specific ion effects in two biological systems*. Current opinion in colloid & interface science, 2004. **9**(1): p. 97-101.

283. Wachter, W., et al., *Is There an Anionic Hofmeister Effect on Water Dynamics? Dielectric Spectroscopy of Aqueous Solutions of NaBr, NaI, NaNO₃, NaClO₄, and NaSCN*. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2005. **109**(39): p. 8675-8683.
284. Lo Nostro, P., et al., *Water Absorbency by Wool Fibers: Hofmeister Effect*. *Biomacromolecules*, 2002. **3**(6): p. 1217-1224.
285. Mráček, A., et al., *The Influence of Hofmeister Series Ions on Hyaluronan Swelling and Viscosity*. *Molecules*, 2008. **13**(5): p. 1025.
286. Lupa, L., et al., *Cs⁺ Removal from Aqueous Solutions through Adsorption onto Florisil® Impregnated with Trihexyl(tetradecyl)phosphonium Chloride*. *Molecules*, 2013. **18**(10): p. 12845.
287. Gotoh, T., K. Matsushima, and K.-I. Kikuchi, *Adsorption of Cu and Mn on covalently cross-linked alginate gel beads*. *Chemosphere*, 2004. **55**(1): p. 57-64.
288. Bera, H., et al., *Alginate–sterculia gum gel-coated oil-entrapped alginate beads for gastroretentive risperidone delivery*. *Carbohydrate Polymers*, 2015. **120**(Supplement C): p. 74-84.
289. Ouwerx, C., et al., *Physico-chemical properties and rheology of alginate gel beads formed with various divalent cations*. *Polymer Gels and Networks*, 1998. **6**(5): p. 393-408.
290. Kunz, W., P. Lo Nostro, and B.W. Ninham, *The present state of affairs with Hofmeister effects*. *Current opinion in colloid & interface science*, 2004. **9**(1): p. 1-18.
291. Farris, S., et al., *Wetting of Biopolymer Coatings: Contact Angle Kinetics and Image Analysis Investigation*. *Langmuir*, 2011. **27**(12): p. 7563-7574.
292. Ojagh, S.M., et al., *Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water*. *Food Chemistry*, 2010. **122**(1): p. 161-166.
293. Debeaufort, F., M. Martin-Polo, and A. Voilley, *Polarity Homogeneity and Structure Affect Water Vapor Permeability of Model Edible Films*. *Journal of Food Science*, 1993. **58**(2): p. 426-429.
294. Gontard, N., et al., *Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapour permeability and other physical properties*. *International Journal of Food Science & Technology*, 1994. **29**(1): p. 39-50.
295. Bagliotti Meneguín, A., B. Stringhetti Ferreira Cury, and R.C. Evangelista, *Films from resistant starch-pectin dispersions intended for colonic drug delivery*. *Carbohydrate Polymers*, 2014. **99**: p. 140-149.
296. Torquato, S., *Random heterogeneous materials: microstructure and macroscopic properties*. Vol. 16. 2013: Springer Science & Business Media.

BIOGRAFIJA AUTORA

Sanja I. Šešlija, master inženjer tehnologije, rođena je u Beogradu, 29.06.1987. godine. Završila je Devetu beogradsku gimnaziju „Mihailo Petrović-Alas” u Beogradu kao nosilac Vukove diplome. Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je 2006. godine. Osnovne akademske studije završila je 2010. godine na studijskom programu Hemijska tehnologija, studijsko područje Farmaceutsko inženjerstvo. Završni rad na temu „Skenirajuća elektronska mikroskopija kserogelova metakrilne kiseline modifikovanih amidovanim pektinom” odbranila je na Katedri za organsku hemijsku tehnologiju. Master akademske studije završila je 2011. godine na studijskom programu Hemijsko inženjerstvo sa prosečnom ocenom 9,75. Završni master rad na temu "Dobijanje šupljih metalnih sfera korišćenjem polimernih matrica" odbranila je na Katedri za organsku hemijsku tehnologiju, a pod mentorstvom doc. dr Save Veličkovića. Dobitnik je nagrade Srpskog hemijskog društva za ukupan uspeh postignut tokom osnovnih studija. U oktobru 2011. upisala je doktorske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, na Katedri za organsku hemijsku tehnologiju, studijski program Hemijsko inženjerstvo, pod mentorstvom doc. dr Save Veličkovića. U novembru 2013. godine mentorstvo u izradi doktorske disertacije preuzela je prof. dr Ivanka Popović.

Od 2011. do decembra 2013. godine Sanja Šešlija je bila zaposlena u Inovacionom centru Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu u okviru angažovanja na projektu osnovnih istraživanja (2011–) pod nazivom “Sinteza i karakterizacija novih funkcionalnih polimera i polimernih (nano)kompozita”. Od januara 2014. zaposlena je u NU Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju Univerziteta u Beogradu.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора: Сања Шешлија

Број индекса: 4029/2011

Изјављујем

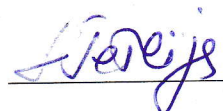
да је докторска дисертација под насловом :

Ациловани деривати пектина: синтеза, карактеризација и могућност примене

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 18.09.2018.



Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: Сања Шешлија

Број индекса: 4029/2011

Студијски програм: Хемијско инжењерство

Наслов рада: **Ациловани деривати пектина: синтеза, карактеризација и могућност примене**

Ментор: др Иванка Поповић, редовни професор Универзитета у Београду,
Технолошко-металуршки факултет

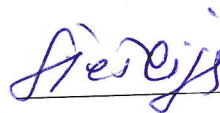
Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду.**

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 18.09.2018.



Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Ациловани деривати пектина: синтеза, карактеризација и могућност примене

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

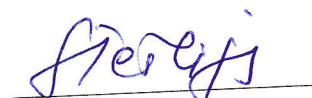
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 18.09.2018.



1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.