

# Inkapsulacija fenolnih spojeva koprive primjenom sušenja raspršivanjem

---

**Mikulić, Antonija**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2021**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:417416>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-27**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2021.

Antonija Mikulić

1364/PI

**INKAPSULACIJA FENOLNIH  
SPOJEVA KOPRIVE PRIMJENOM  
SUŠENJA RASPRŠIVANJEM**

Rad je izrađen u Laboratoriju za kemiju i tehnologiju voća i povrća te Laboratoriju za procese sušenja i praćenje stabilnosti biološki aktivnih spojeva Zavoda za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo, Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom doc. dr. sc. Ivone Elez Garofulić te uz pomoć mag. ing. Ene Cegledi.



**Ovaj rad izrađen je u okviru projekta “Izolacija i enkapsulacija bioaktivnih molekula samonikle i kultivirane koprive i komorača i učinci na fiziologiju organizma” (PlantBioPower, IP-01-2018-4924) financiranog sredstvima Hrvatske zaklade za znanost.**

*Hvala kolegici Eni Cegledi i profesorici Ivoni Elez Garofulić na pomoći  
pri izradi diplomskog rada.*

*Posebno hvala mome mužu, materi, ćaći i ostatku obitelji na pruženoj podršci  
svih ovih godina.*

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratoriju za kemiju i tehnologiju voća i povrća

Laboratorij za procese sušenja i praćenje stabilnosti biološki aktivnih spojeva

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

### INKAPSULACIJA FENOLNIH SPOJEVA KOPRIVE PRIMJENOM SUŠENJA RASPRŠIVANJEM

*Antonija Mikulić, 1364/PI*

**Sažetak:** U ovom je radu promatran utjecaj odabranih uvjeta prilikom sušenja raspršivanjem (temperatura, omjer suhe tvari ekstrakta i nosača, vrsta nosača) na svojstva inkapsuliranog ekstrakta koprive (*Urtica dioica* L.). Ispitivan je utjecaj temperatura od 120 °C, 160 °C i 200 °C te omjer suhe tvari ekstrakta i nosača 1:1, 1:2, 1:3. Kao nosač korišten je čisti maltodekstrin u prvom slučaju, te mješavina maltodekstrina i arapske gume u omjeru 50:50 u drugom slučaju. U tako dobivenim inkapsuliranim ekstraktima praćen je utjecaj na iskorištenje, topljivost, higroskopnost, udio suhe tvari, koncentraciju ukupnih i površinskih fenola te inkapsulacijski kapacitet. Prema statističkoj analizi rezultata optimalni uvjeti za proizvodnju inkapsulata najboljih fizikalno-kemijskih karakteristika su: temperatura sušenja od 200 °C, omjer suhe tvari ekstrakta i nosača 1:3 te maltodekstrin. Za inkapsulate s najboljim inkapsulacijskim kapacitetom optimalni uvjeti su: temperatura sušenja od 120 °C, omjer suhe tvari ekstrakta i nosača 1:2 te kombinacija maltodekstrina i arapske gume (50:50).

**Ključne riječi:** kopriva, sušenje raspršivanjem, biljni ekstrakt, inkapsulacija, fenolni spojevi

**Rad sadrži:** 51 stranicu, 5 slika, 9 tablica, 79 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** doc.dr.sc. Ivona Elez Garofulić

**Pomoć pri izradi:** mag. ing. Ena Cegledi

#### Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. prof.dr.sc. Verica Dragović-Uzelac
2. doc.dr.sc. Ivona Elez Garofulić
3. prof.dr.sc. Sandra Albino
4. doc.dr.sc. Maja Repajić (zamjena)

**Datum obrane:** 23. rujna, 2021.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Department of Food Engineering

Laboratory for Chemistry and Technology of Fruits and Vegetables

Laboratory for drying Technologies and monitoring of biologically active compounds

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

### ENCAPSULATION OF PHENOLIC COMPOUNDS EXTRACTED FROM NETTLE USING SPRAY-DRYING

*Antonija Mikulić, 1364/PI*

**Abstract:** *This work investigates the influence of the selected conditions during spray drying (temperature, ratio of dry extract substance and carrier agent, carrier agent type) on the measured properties of the nettle (*Urtica dioica*) extract powder. The process was examined under temperatures of 120 °C, 160 °C i 200 °C and core to carrier agent ratio of 1:1, 1:2, and 1:3. Pure maltodextrin was used as a carrier agent in the first case, while 50:50 mixture of maltodextrin and gum Arabic was used in the second case. Observed properties include: yield, solubility, dry matter content, concentration of phenolic compounds (overall and surface), and encapsulation capacity. According to the statistical analysis, the optimal conditions for the production of the encapsulate with the best physicochemical properties are: drying temperature of 200 °C, core to carrier agent ratio of 1:3, and maltodextrine as a carrier. The optimal conditions for the encapsulates with the best ensapsulation capacity are: drying temperature of 120 °C, core to carrier agent ratio of 1:2, and the mixture of maltodextrine and gum Arabic as a carrier (50:50).*

**Key words:** *nettle, spray-drying, plant extract, encapsulation, phenolic compounds*

**Thesis contains:** 51 page, 5 figures, 9 tables, 79 references

**Original in:** Croatian

**Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** *PhD Ivona Elez Garofulić, Assistant Professor*

**Technical support and assistance:** *mag. ing. Ena Cegledi*

**Reviewers:**

1. PhD *Verica Dragović-Uzelac*, Full Professor
2. PhD *Ivona Elez Garofulić*, Assistant Professor
3. PhD *Sandra Balbino*, Full Professor
4. PhD *Maja Repajić*, Assistant Professor (substitute)

**Thesis defended:** September 23<sup>rd</sup>, 2021



# SADRŽAJ

<b>1.</b>	<b>UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>TEORIJSKI DIO.....</b>	<b>2</b>
<b>2.1.</b>	<b>KOPRIVA.....</b>	<b>2</b>
<b>2.2.</b>	<b>FENOLNI SPOJEVI KOPRIVE.....</b>	<b>3</b>
<b>2.3.</b>	<b>BILJNI EKSTRAKTI.....</b>	<b>5</b>
<b>2.4.</b>	<b>METODE EKSTRAKCIJE.....</b>	<b>6</b>
2.4.1.	Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima .....	6
<b>2.5.</b>	<b>INKAPSULACIJA BILJNIH EKSTRAKATA.....</b>	<b>7</b>
2.5.1.	Inkapsulacijske tehnike.....	9
2.5.2.	Sušenje raspršivanjem .....	11
2.5.3.	Odabir nosača te omjera nosača i aktivne tvari za sušenje raspršivanjem.....	13
2.5.4.	Odabir temperature sušenja.....	15
2.5.5.	Fizikalno-kemijski parametri inkapsuliranih ekstrakata.....	16
<b>3.</b>	<b>EKSPERIMENTALNI DIO.....</b>	<b>19</b>
<b>3.1.</b>	<b>MATERIJAL.....</b>	<b>19</b>
3.1.1.	Kemikalije.....	19
3.1.2.	Aparatura i pribor .....	20
<b>3.2.</b>	<b>METODE.....</b>	<b>21</b>
3.2.1.	Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima .....	21
3.2.2.	Proizvodnja praha iz ekstrakta koprive postupkom sušenja raspršivanjem.....	21
3.2.3.	Fizikalno-kemijske metode analize prahova ekstrakta lista koprive .....	24
3.2.4.	Ekstrakcija fenolnih spojeva iz inkapsulata dobivenih sušenjem raspršivanjem.....	26
3.2.5.	Statistička obrada rezultata .....	29
<b>4.</b>	<b>REZULTATI I RASPRAVA.....</b>	<b>30</b>
<b>4.1.</b>	<b>FIZIKALNO-KEMIJSKI PARAMETRI INKAPSULATA EKSTRAKTA LISTA KOPRIVE.....</b>	<b>31</b>
4.1.1.	Iskorištenje procesa .....	32
4.1.2.	Udio suhe tvari .....	34
4.1.3.	Topljivost .....	35
4.1.4.	Higroskopnost .....	36
4.2.	Sadržaj fenolnih spojeva i inkapsulacijski kapacitet inkapsulata ekstrakta lista koprive .....	38
4.2.1.	Koncentracija ukupnih fenola (UF) .....	39
4.2.2.	Koncentracija površinskih fenola (PF) .....	41
4.2.3.	Inkapsulacijski kapacitet .....	41
<b>5.</b>	<b>ZAKLJUČAK.....</b>	<b>43</b>
<b>6.</b>	<b>LITERATURA .....</b>	<b>44</b>

# 1. UVOD

Kopriva (*Urtica dioica* L.) je široko poznata samonikla biljka koja ima brojna ljekovita svojstva. Koristi se od davnih vremena u narodnoj medicini i prehrani za široki spektar bolesti i poremećaja. Nadaleko je poznata kao diuretik za liječenje reume i artritisa. Ima protuupalno, antimikrobno, antioksidativno i analgetsko djelovanje. Poznato je da kopriva jača imunitet te sprječava anemiju. Predlaže se za liječenje hipertenzije i bolesti srca te za inhibiranje rasta tumorskih stanica dojke, prostate i pluća. Može ublažiti simptome Alzheimerove bolesti i respiratorne alergije. Ljekovita svojstva koprive su osim s visokim udjelom minerala i vitamina, povezana s fenolnim spojevima (Kószegi i sur., 2019). Točnije, određenim fenolnim spojevima pripisana su protuupalna i antioksidativna svojstva te sposobnosti uklanjanja reaktivnih vrsta dušika (RNS) ili kisika (ROS), (Carvalho i sur., 2017). Međutim, oni imaju nisku bioraspoloživost i visoku osjetljivost na okoliš, uvjete prerade i skladištenje te ih je stoga potrebno zaštititi.

Inkapsulacija se pokazala kao učinkovit način za zaštitu fenolnih spojeva i može se definirati kao postupak kojim se stvara barijera (matrični ili polimerni pokrov) oko aktivne komponente koja inhibira kemijske interakcije, štiti od djelovanja čimbenika okoliša kao što su temperatura, pH, enzimi i kisik te omogućuje kontrolirano oslobađanje aktivne komponente pod određenim uvjetima (Dias i sur., 2017). Jedan od postupaka inkapsulacije je sušenje raspršivanjem kojim se sirovina u tekućem stanju uz dodatak nosača raspršuje u vrućem plinu za sušenje, pri čemu se proizvodi prah. Postupak se odvija na uređaju za sušenje raspršivanjem, odnosno spray dryer-u (Piñón-Balderrama i sur., 2020).

Cilj ovog rada bio je inkapsulirati ekstrakt lista koprive bogat fenolnim spojevima. U tu svrhu, najprije je provedena ekstrakcija fenolnih spojeva iz listova koprive potpomognuta mikrovalovima. Nadalje, ekstrakt koprive je inkapsuliran pri različitim uvjetima sušenja raspršivanjem: temperaturi od 120 °C, 160 °C i 200 °C, omjeru suhe tvari ekstrakta i nosača 1:1, 1:2, 1:3, te s različitim nosačima (čisti maltodekstrin u prvom slučaju, te mješavina maltodekstrina i arapske gume u omjeru 50:50 u drugom slučaju). Naposljetku, provedene su fizikalno-kemijske analize proizvedenih inkapsulata: iskorištenje, topljivost, higroskopnost, udio suhe tvari, koncentracija ukupnih i površinskih fenola te inkapsulacijski kapacitet. Potom su statističkom analizom dobivenih rezultata određeni optimalni uvjeti sušenja raspršivanjem ekstrakata lista koprive.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. KOPRIVA

*Urtica dioica* (Slika 1) je složena taksonomska vrsta u kojoj se razlikuje nekoliko subspecifičnih podvrsta u nacionalnim i lokalnim florama (Grosse-Veldmann i Weigend, 2015). Sve podvrste su uspravne trajnice koje mogu biti visoke do dva metra. Imaju vriježe i razgranati podanak. Listovi su im nasuprotni, ovalnog i kopljastoga oblika pri vrhu. Karakteriziraju ih nazubljeni rubovi s oštrim vrhom, aksilarni cvat s mnogo malih, zelenih cvjetova, a orašica ili koštunica kao njezini plodovi (Grauso i sur., 2020). Kopriva – *Urtica dioica* L. je višegodišnja samonikla, zeljasta biljka iz porodice *Urticaceae* (Orčić i sur., 2014). Ime roda dolazi od latinske riječi *urere* što znači peći, dok ime vrste *dioica* znači dvodomno što govori da biljke obično sadrže ili muške ili ženske cvjetove (Taylor, 2005).



**Slika 1.** Kopriva (Uwe H. Friese, 2003)

Raste na vlažnim tlima, livadama i napuštenim poljima na djelomično sjenovitim mjestima, do nadmorske visine od 1800 metara. Preferira tlo bogato dušikom. Lišće se za stabljiku veže peteljkom koja je kraća od polovice lisne pločice, a svaka nosi dva lisna zaliska. Obje strane listova prekrivene su trihomima: kraće jednostavne dlake koje su pomiješane s duljim krutim dlačicama (one koje bodu) i s cistolitima. Trihomi koprive štite biljku tako da se pri ubodu vršni dio trihoma odlomi, a ostatak trihoma prodre u kožu i u nju izlije svoj sadržaj koji uzrokuje iritaciju kože (Grauso i sur., 2020).

Kopriva se dugo koristi u prehrambenoj, kemijskoj i farmaceutskoj industriji zbog nutritivnog sastava i ljekovitog djelovanja. Svi dijelovi koprive bogati su raznim bioaktivnim komponentama s visokim antioksidativnim kapacitetom. Istraživanja pokazuju da su listovi i stabljika koprive bogat izvor vitamina A, B2, B5, B9, C, D, E, K, minerala (Ca, Mg, Zn, Mn, Cu), polifenola i pigmentata (Repajić i sur., 2021; Kószegii sur., 2020).

## 2.2. FENOLNI SPOJEVI KOPRIVE

Fenoli su spojevi kod kojih je na benzenski prsten vezana hidroksilna skupina. U biljkama su mnogobrojni i pripadaju sekundarnim metabolitima. Nalaze se u obliku glikozida ili estera šećera otopljeni u vakuoli. Biljni fenoli su velika i raznovrsna skupina spojeva od kojih su određeni topljivi samo u organskim otapalima, drugi u vodi ili su u obliku velikih, netopljivih polimera. Imaju ulogu obrane biljke od herbivornih organizama, sudjeluju u mehaničkoj potpori, privlačenju oprašivača i rasprostranjivača plodova, redukciji rasta susjednih biljaka te štite od UV zračenja (Pevalek-Kozlina, 2003). Prema kemijskoj strukturi dijelimo ih na flavonoide i neflavonoide. U skupinu neflavonoidnih spojeva ubrajamo fenolne kiseline (hidroksicimetne i hidroksibenzojeve), kumarine, tanine te stilbene. Flavonoidi se dijele na flavonole, flavone, flavanone, antocijanidine, izoflavone i flavane (Whale i sur., 2010).

Znanstvene studije zabilježile su izravnu korelaciju između unosa fenolnih spojeva prehranom i blagotvornog učinka na zdravlje. Točnije, određenim fenolnim spojevima pripisana su protuupalna i antioksidativna svojstva dodijelivši im tako ogroman potencijal, posebice kod kronične upale. Istodobno, sposobnosti uklanjanja reaktivnih vrsta dušika (RNS) ili kisika (ROS) bi mogle imati blagotvoran učinak na bolesti povezane s oksidativnim stresom i upalom, kao što su dijabetes, kardiovaskularne i neurodegenerativne bolesti, ateroskleroza i karcinom. Stoga je od važnosti istražiti upotrebu koprive u hrani kao promotora zdravlja (Carvalho i sur., 2017) zahvaljujući upravo visokom sadržaju fenolnih spojeva.

Različiti dijelovi koprive sadrže različite koncentracije fenolnih spojeva. Kao opću usporedbu među uzorcima u svom istraživanju Otles i sur. (2012) navode da bi se sadržaj ukupnih fenola koprive mogao rangirati na sljedeći način: lišće > korijen > stabljika. Također, u nedavno objavljenom radu Repajić i sur. (2021) iz rezultata je vidljivo kako se u listovima koprive nakuplja značajno veća količina polifenolnih grupa nego u stabljici. U istom radu identificiran je 41 polifenolni spoj u listu i stabljici koprive koji su navedeni u tablici 1.

**Tablica 1.** Polifenolni spojevi identificirani masenom spektrofotometrijom  
(Repajić i sur., 2021)

<b>Identificirani fenolni spoj</b>	
<b>Hidroksibenzojeve kiseline</b>	<b>Flavoni</b>
Protokatehuinska kiselina	Apigenin heksozid
(3,4-dihidroksibenzojeva kiselina)	Luteolin
Gentisična kiselina	Apigenin
(2,5-dihidroksibenzojeva kiselina)	<b>Izoflavoni</b>
Siringinska kiselina	Genistein
<i>p</i> -hidroksibenzojeva kiselina	<b>Flavanoni</b>
Galna kiselina	Naringenin
<b>Flavonoli</b>	<b>Kumarini</b>
Izoramnetin rutinozid	Umbeliferon
Kamferol-3-rutinozid	(7-hidroksikumarin)
Kvercetin ramnozid	Eskuletin
Kamferol heksozid	Skopoletin
Miricetin	<b>Flavan-3-oli</b>
Kvercetin	Epigalokatehin galat
Kvercetin-3-glukozid	Epikatehin
Kvercetin-3-rutinozid	Katehin
Izoramnetin	Epikatehin galat
Kamferol pentozid	<b>Hidroksicimetne kiseline</b>
Kvercetin pentozid	Kafeinska kiselina
Kamferol ramnozid	Klorogenskaa kiselina
kvercetin acetilheksozid	<i>p</i> -kumarinska kiselina
kvercetin acetilrutinozid	Cimetna kiselina
kvercetin pentozilheksozid	Ferulinska kiselina
Kamferol pentozil heksozid	Sinapinska kiselina
Kamferol	<b>Druge fenolne kiseline</b>
	Kinska kiselina

U istraživanju kojeg su proveli Carlvaho i sur. (2017), utvrđena je snažna korelacija između ukupnih fenola i sadržaja hidroksicimetnih kiselina. Taj odnos s velikom vjerojatnošću ukazuje da je hidroksicimetna kiselina uglavnom odgovorna za antioksidativno i antiradikalno djelovanje koprive. Ti rezultati su u skladu s istraživanjem u radu Repajić i sur. (2021) u kojem su među ukupnim fenolima najzastupljenija skupina hidroksicimetne kiseline (179,22 mg 100 g<sup>-1</sup> s.tv.). Slijede ih flavonoli (134,60 mg 100 g<sup>-1</sup> s.tv.), flavoni (24,56 mg 100 g<sup>-1</sup> s.tv.), flavan-3-oli (20,70 mg 100 g<sup>-1</sup> s.tv.) i hidroksibenzojeve kiseline (10,20 mg 100 g<sup>-1</sup> s.tv.). Kumarini, izoflavoni i druge kiseline bili su prisutni u nižim koncentracijama: prosječne vrijednosti 5,31, 3,09 i 2,88 mg 100 g<sup>-1</sup> s.tv. Najnižu koncentraciju među ukupnim fenolima imali su flavanoni (0,34 mg 100 g<sup>-1</sup> s.tv.).

Udio fenolnih spojeva u koprivi mijenja se ovisno o fenološkim fazama biljke. K"oszegi i sur. (2020) u svom radu navode da se rastom i sazrijevanjem koprive smanjuje sadržaj polifenola. Točnije, udio fenola se od proljeća, odnosno početka vegetacijskog razdoblja, do jeseni smanji za 50 %. Stoga je optimalno vrijeme za berbu koprive proljeće. Moguće je da do smanjenja polifenola u fazi cvatnje dolazi zbog prelaska iz vegetativne u generativnu fazu te nastanka cvjetova (Naser i sur., 2015).

Sadržaj fenolnih spojeva koprive varira i ovisno o staništu i klimi koja u njemu vlada. U svom radu Otles i sur. (2012) iznosi da se uzorci koprive prikupljeni u različitim regijama Turske (Egejska, Crnomorska, Mramorna i Sredozemna) razlikuju u udjelu fenolnih spojeva. U skladu s tim, u nedavnom istraživanju Repajić i sur. (2020) navodi da su uzorci koprive iz planinskih i kontinentalnih područja bogatiji fenolnim spojevima od uzoraka iz staništa smještenih u primorskom području.

### 2.3. BILJNI EKSTRAKTI

Biljni ekstrakti važan su izvor biološki aktivnih spojeva i imaju značajnu ulogu u zdravlju ljudi. Da bi se ispoljila njihova ljekovita svojstva, biljni ekstrakti moraju biti pažljivo pripremljeni, uzimajući u obzir razne parametre. Ljekovite i aromatične biljke obično se prije ekstrakcije suše na zraku ili liofiliziraju, iako se ponekad može koristiti svježi biljni materijal. Ovisno o biljnom dijelu koji se koristi, materijal se može rezati na komadiće ili samljeti u prah kada se koriste tvrdi dijelovi biljke. Mekši dijelovi biljke kao što su listovi ili cvjetovi se samo usitne ili koriste neobrađeni. Ekstrakciju mogu pratiti i drugi postupci kao što su filtriranje, koncentriranje ili sušenje (Rodino i Butu, 2019).

## 2.4. METODE EKSTRAKCIJE

Postupak ekstrakcije je efikasna i brza metoda kojom se bioaktivni spojevi izdvajaju i koncentriraju iz biljnih materijala. Princip na kojem se zasniva ekstrakcija tvari iz homogene smjese je različita topljivosti u različitim otapalima koja se međusobno ne miješaju. Ekstrakcijom se izdvaja tvar koju je potrebno otpariti ili kristalizirati kako bi bila u čistom obliku (Blekić i sur., 2011). Bioaktivni spojevi iz biljnog materijala mogu se ekstrahirati pomoću raznih konvencionalnih metoda ekstrakcije. Većina tih metoda temelji se na ekstrakcijskom potencijalu različitih otapala te primjeni topline i / ili miješanja (Rodino i Butu, 2019). Zbog učinkovitosti i jednostavnosti najčešće se koristi ekstrakcija otapalima. Osnova metode ekstrakcije otapalima je miješanje uzorka s odgovarajućim otapalom i/ili prevođenje uzorka u dvofazni sustav dvaju ili više otapala koja su međusobno ne miješaju. Najčešće korištena otapala su metanol, etanol, aceton, acetonitril, etil acetat. Također, mogu se koristiti i njihove kombinacije koje se u različitim omjerima miješaju s vodom. Pravilan odabir otapala utječe na uspješno provođenje ekstrakcije. Učinkovitost postupka ovisi i o kemijskoj strukturi i fizikalnim svojstvima uzorka te o vremenu i temperaturi ekstrakcije (Dai i Mumper, 2010).

Nekonvencionalne metode ekstrakcije ekološki su prihvatljivije zbog toga što se mali volumeni sintetičkih i organskih kemikalija koriste kraće vrijeme te daju povećani prinos i vrhunsku kvalitetu nastalih ekstrakata. Dakle, kako bi se povećao ukupni prinos i selektivnost bioaktivnih komponenata ekstrahiranih iz biljnog materijala, razvijene su razne nove metode ekstrakcije: ultrazvučni tretman, ekstrakcija pulsirajućim električnim poljem, ekstruzija, ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima, ekstrakcija potpomognuta visokim hidrostatskim tlakom te ultrazvukom, ekstrakcija superkritičnim tekućinama i ubrzana ekstrakcija otapalima (Rodino i Butu, 2019).

### 2.4.1. Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima

Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima (MAE) je tehnika ekstrakcije koja kombinira upotrebu energije mikrovalova i tradicionalnu ekstrakciju otapalom. Kod MAE mikrovalna energija se koristi za zagrijavanje otapala u dodiru s čvrstim ili tekućim uzorcima uzrokujući izdvajanje spojeva od interesa iz uzorka u otapalo. Za razliku od uobičajenog zagrijavanja, energija mikrovalova zagrijava otapalo izravno. Kao rezultat toga, gradijenti temperature su minimalni, a brzina zagrijavanja pomoću mikrovalova je brža (Llompart i sur., 2019).

Mikrovalovi zagrijevaju molekule dvojakim mehanizmom ionske vodljivosti i rotacije dipola. Ionska vodljivost i dipolna rotacija se obično odvijaju istovremeno u otapalu i u uzorku, što učinkovito pretvara mikrovalnu u toplinsku energiju (Pavlović i Ašperger, 2013). Zagrijavanje uzorka u mikrovalnom polju zahtijeva prisutnost dielektričnog spoja, odnosno mikrovalovi zagrijevaju samo materijale ili otapala s trajnim dipolima. Kako se mikrovalna apsorpcija događa preorijentacijom trajnih dipola električnim poljem, količina apsorbirane energije je proporcionalna dielektričnoj konstanti otapala koja je mjera sposobnosti uzorka da apsorbira mikrovalnu energiju (Llompart i sur., 2019). U većini slučajeva, otapalo odabrano za izvođenje MAE ima visoku dielektričnu konstantu, tako da snažno apsorbira mikrovalnu energiju. Otapala koja su dovoljno polarna da bi se mogla zagrijati energijom mikrovalova su: etanol, metanol i voda (Blekić i sur., 2011).

Za razliku od uobičajenih metoda, MAE može smanjiti vrijeme ekstrakcije na manje od 20 minuta i potrošnju otapala ispod 20 mL. MAE omogućuje istodobnu obradu više uzoraka (do 12, 24 ili čak 40 istovremenih ekstrakcija), drastično poboljšavajući propusnost uzorka. Štoviše, ekstrakti dobiveni MAE-om uglavnom su usporedivi ili bolji od onih koje pružaju druge metode. Stoga, MAE uglavnom ispunjava minimalne kriterije potrebne za moderne metode ekstrakcije uzoraka i pruža vrlo atraktivnu alternativu konvencionalnim metodama (Llompart i sur., 2019).

## 2.5. INKAPSULACIJA BILJNIH EKSTRAKATA

Posljednjih godina ljudska prehrana se značajno promijenila. Hrana se ne konzumira samo kako bi se zadovoljile osnovne potrebe, nego i jer se očekuje da će poboljšati ljudsko zdravlje, spriječiti razvoj raznih bolesti te pomoći u liječenje već razvijenih. Sve je to dovelo do širenja istraživanja u području funkcionalnih prehrambenih proizvoda s poboljšanom hranjivom vrijednošću i biološkom aktivnošću. Da bi se razvili opisani prehrambeni proizvodi, potrebno je pronaći način kako odabranu hranu učiniti funkcionalnom (Trifković i sur., 2016). Uobičajeni način je obogaćivanje hrane prirodnim spojevima s visokom biološkom aktivnošću za koje je dokazano da korisno utječu na ljudsko zdravlje. Posljedično, koriste se razni aktivni spojevi izolirani iz prirodnih izvora kao što su: biljni polifenoli, probiotičke bakterije, omega-3-masne kiseline, vitamini, minerali i drugi (Đorđević i sur., 2015). Takvi spojevi obično imaju svojstvo slabe stabilnosti pod utjecajem svjetlosti, vlage, promjene pH ili temperature. Sve to negativno utječe na biološku aktivnost tih spojeva te dugoročno smanjuje njihovu bioraspoloživost i rok trajanja prehrambenih proizvoda (Champagne i Fustier, 2007).



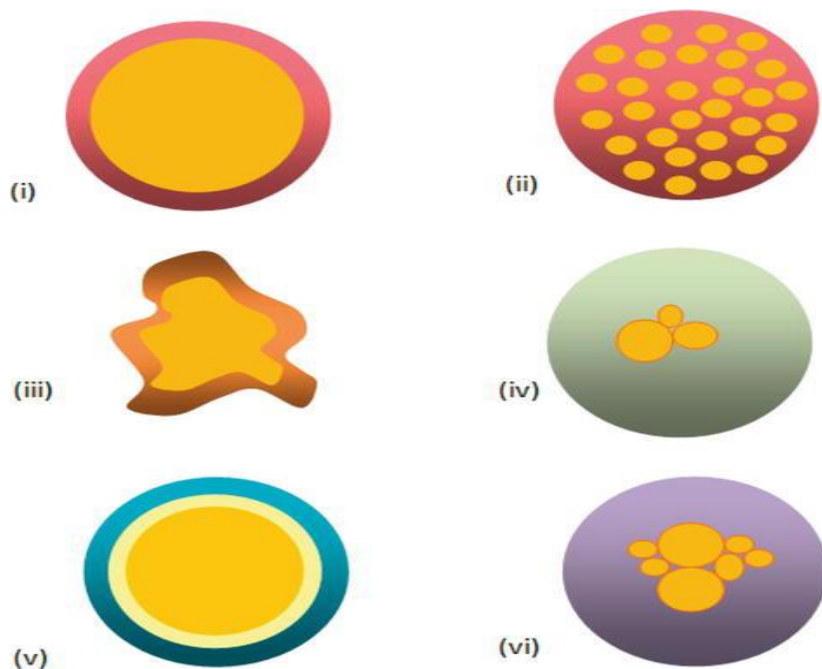
Da bi se prevladala ta ograničenja, umjesto slobodnih oblika bioaktivnih spojeva, postupkom inkapsulacije takvi spojevi se zaštićuju. Inkapsulacija se može definirati kao postupak kojim se stvara barijera (matrični ili polimerni pokrov) oko aktivne komponente koja inhibira kemijske interakcije; štiti od djelovanja čimbenika okoliša kao što su temperatura, pH, enzimi i kisik te omogućuje kontrolirano oslobađanje aktivne komponente pod određenim uvjetima (Dias i sur., 2017).

U procesu inkapsulacije jedna ili više bioaktivnih komponenata se kapsulira, odnosno oblaže jednim ili kombinacijom više materijala. U tehnikama inkapsulacije dva su važna pojma – materijal koji se kapsulira naziva se aktivni materijal ili jezgra, a drugi je materijal nosač koji tvori kapsulu ili ljusku. Materijal nosača može biti u obliku krutine, kapljice tekućine ili mjehurića plina koji inkapsuliraju tekućinu, krutinu ili plin kao jezgru. Primjeri najčešće korištenih nosača za inkapsulaciju sastojaka hrane dani su u tablici 2.

**Tablica 2.** Primjeri biopolimera koji se koriste za inkapsulacija sastojaka hrane (Jafari, 2017)

Polisaharidi	Masti i voskovi	Proteini	Sintetski materijali
<b>Arapaska guma</b>	Hidrogenirano biljna ulja	Želatina	Paklitaksel
<b>Modificirani škrob</b>	Pčelinji vosak	Proteini sirutke	mPEG5000-b-p
<b>Maltodekstrin</b>	Lecitin	Natrijev kazeinat	Poliakrilonitril
<b>Alginati</b>	Srednjolančani trigliceridi	Sojini proteini	Polikaprolakton
<b>Pektin</b>	Gliceril behenat	Gluten	Polimlječna kiselina
<b>Karagenan</b>		Kazein	
<b>Derivati celuloze</b>		Zein	
<b>Citozan</b>		Svileni fibroin	
<b>Ciklodekstrin</b>			
<b>Čestice škroba</b>			

Struktura jezgre i nosača može biti raznih oblika poput mikrokapsula, mikrokuglica, jednojezgrene, višejezgrene, matrica te mnoge druge (Slika 2). Jezgra i materijal kapsule razlikuju se ovisno o primjeni i posjeduju specifična svojstva (Sonawane i sur., 2020).



**Slika 2.** Strukture jezgre i nosača: (i)- jednojezgrena mikrokapsula, (ii)- matriks, (iii)- nepravilna mikrokapsula, (iv)- višejezgrena mikrokapsula, (v)- mikrokapsula s višeslojnim nosačem i (vi)-složena mikrokapsula (Onsaard i Onsaard, 2019)

### 2.5.1. Inkapsulacijske tehnike

Zbog mogućnosti primjene inkapsulacije u raznim područjima te u različite svrhe, razvijeno je više tehnika inkapsuliranja koje su navedene i opisane u tablici 3.

**Tablica 3.** Pregled inkapsulacijskih tehnika (Đorđević i sur., 2016)

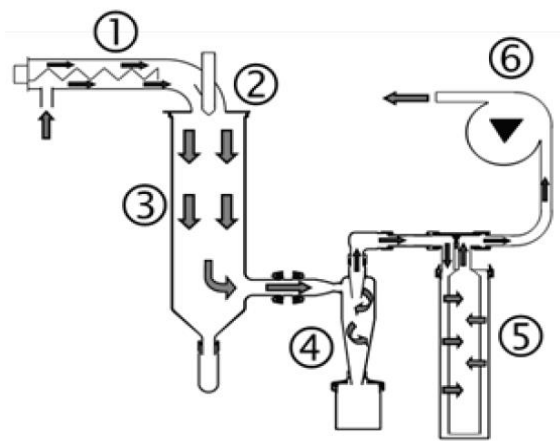
Tehnika inkapsulacije	Princip	Prednosti	Nedostatci	Proizvod
<b>Sušenje raspršivanjem</b>	Atomizacija mješavine jezgre i nosača u vrućoj komori uz isparavanje vode.	Mogućnost korištenja hidrofilnih i hidrofobnih materijala; brza i vrlo ponovljiva operacija; niska cijena; moguća proizvodnja velikih razmjera u kontinuiranom načinu.	Visoka radna temperatura; teško kontroliranje veličine čestica; prinosi za male serije su umjereni.	Prah čestica sfernog oblika promjera u rasponu 10–100 µm.
<b>Ekstruzija</b>	Potiskivanje polimerne otopine kroz špricu i stvaranje kapljica koje se skrutnu u gel.	Aktivni spoj je potpuno okružen kapsulom; relativno niska temperatura operacija.	Niski kapacitet proizvodnje; ograničenje na otopine nosača niske viskoznosti.	Sferične čestice gela promjera u raspon 0,2–2000 µm.
<b>Emulzifikacija</b>	Sredstvo za geliranje dodaje se u emulziju biopolimera s vodom u ulju	Spoj je potpuno okružen kapsulom, lakši prelazak na industrijsku proizvodnju od ekstruzije.	Skuplje od ekstruzije; teže kontroliranje procesa.	Čestice gela s promjerom u raspon 10–1000 µm.
<b>Sušenje zamrzavanjem/hladenjem</b>	Otopljeni spoj nosača i jezgre se raspršuje u hladnoj komori gdje dolazi do skrućivanja čestica.	Ekonomična obrada; pogodan postupak za spojeve osjetljive na toplinu.	Niska efikasnost inkapsulacije; teško kontroliranje veličine čestica; brzo oslobađanje aktivne komponente; hidrofobni karakter čestice.	Čestice matričnog tipa s promjerom u rasponu 20–200 µm.
<b>Molekularna inkluzija</b>	Dolazi do izdvajanja nakon dodavanja nosača u vodenu otopinu aktivnog spoja, nakon čega slijedi miješanje ili grijanje.	Učinkovita zaštita; visoka temperaturna stabilnost kapsule; povećana topljivost aktivnog spoja; kontrolirano oslobađanje aktivnog spoja.	Ograničeno na nepolarne spojeve s molekulama prikladne dimenzije; korišteni spojevi su skupi.	Čestice promjera 0,001–0,01µm.
<b>Inkapsulacija liposomima</b>	Fosfolipidi su dispergirani u vodenoj fazi.	Polarni, nepolarni i amfipatski spojevi se kapsuliraju; kontroliran proces.	Prelazak na industrijsku proizvodnju težak; visoka cijena sirovina; ograničena fizikalna i kemijska stabilnost.	Liposomi u veličini od 10–1000 µm.
<b>Kompleksna koacervacija</b>	Suprotno nabijene molekule biopolimera su pomiješane pri pH ispod izoelektrične točke proteina (pI). Koacervat sadrži aktivni spoj koji se pri tome taloži.	Prikladan za spojeve osjetljive na toplinu; kapsule otporne na toplinu; svojstva kontroliranog otpuštanja.	Složena i dugotrajna metoda, osjetljiva na pH i temperaturu; efekt praska, problemi agregacije i konglutacije; korištenje otrovnih kemijskih sredstava; zaostala otapala i koacervirajuća sredstva na površini kapsula.	Čestice promjera 10–800 µm.

Tehnika inkapsulacije koja se primjenjuje ovisi o parametrima poput područja primjene, predviđene veličine čestica, fizikalno-kemijskih karakteristika vanjske i unutarnje faze, mehanizma oslobađanja inkapsulirani tvari, ukupnih troškova i mnogih drugih (Jafari, 2017).

### 2.5.2. Sušenje raspršivanjem

Čak i nakon više od jednog stoljeća istraživanja, sušenje raspršivanjem i dalje je tema proučavanja i inovacija zbog sve više zahtjeva za kompleksnim česticama specifičnih karakteristika. Smatra se moćnim tehnološkim procesom jer omogućuje proizvodnju sipkih čestica praha s točno definiranom veličinom. Osim toga, imajući na umu mogućnost primjene različitih sirovina, kao i visoku produktivnost te široku primjena, jasno je zašto je ova tehnika sve privlačnija znanstvenoj zajednici (Anandharamakrishnan i Ishwarya, 2015).

Iako se smatra postupkom dehidracije, koristi se i kao tehnika inkapsulacije. Po definiciji, sušenje raspršivanjem je postupak kojim se sirovina u tekućem stanju (emulzija, disperzija, otopina) raspršuje u vrućem plinu za sušenje pri čemu se proizvodi prah. Postupak se odvija na uređaju za sušenje raspršivanjem, odnosno spray dryer-u shematski prikazanom na slici 3. Mehanizam postupka temelji se na uklanjanju vlage zagrijanim plinovima (Piñón-Balderrama i sur., 2020).



**Slika 3.** Uređaj za sušenje raspršivanjem i glavni dijelovi (BÜCHI Labortechnik AG)

1-Zagrijavanje ulaznog zraka na željenu temperaturu (max. 220 °C); 2-Formiranje kapljica prolaskom otopine uzorka i nosača kroz mlaznicu raspršivača; 3-Kolona za sušenje: Razmjena topline između plina za sušenje i kapljica uzorka; 4-Sakupljanje kapljica u ciklonu ciklonskom tehnologijom; 5-Vanjski filter: Sakupljanje najsitnijih čestica zbog zaštite korisnika i okoliša; 6-Plin za sušenje dostavljen pomoću aspiratora.

Tri su glavne faze sušenja raspršivanjem: raspršivanje, pretvorba kapljica u čestice i sakupljanje čestica. Postupak sušenja raspršivanjem započinje atomizacijom, odnosno raspršivanjem otopine u sitne kapljice zbog smanjenja površinske napetosti. Razlaganje početne otopine na veliki broj malih kapljica rezultira povećanjem njihove površine, optimizirajući tako prijenos topline i mase između zagrijanog plina za sušenje i kapljica (Nandiyanto i Okuyama, 2011). Nakon raspršivanja, mehanizam se nastavlja s fazom formiranja čestica, presudnim korakom kojeg obilježavaju dva događaja: kontakt raspršenih kapljica sa zrakom i potom sušenje. Atomizirane kapljice izložene su vrućem plinu unutar komore za sušenje, što rezultira brzim isparavanjem vlage. Obično je plin za sušenje zagrijani atmosferski zrak, iako je u nekim slučajevima potrebno koristiti inertne plinove kako bi se izbjegle eventualne nestabilnosti između plina i kapljica (Anandharamakrishnan i Ishwarya, 2015). Čim kapljice dođu u kontakt s unutarnjim medijem za sušenje u komori, podliježu isparavanju i kondenzaciji otopljene tvari, što rezultira uklanjanjem otapala. Ova pojava odražava problem ravnoteže topline i mase uzrokovan razlikom između tlaka pare otapala i njegovog parcijalnog tlaka u odnosu na plinsku fazu. Dakle, temperatura vrućeg plina pokreće izmjenu topline s plina na kapljice, dok razlika tlaka pare uzrokuje prijenos vlage u suprotnom smjeru. Kao rezultat, nastaju suhe čestice praha. Nakon što se završi pretvorba kapljica u čestice, potrebno je prikupiti osušene čestice. To podrazumijeva postupak odvajanja osušenih čestica od plina za sušenje. Takvo se razdvajanje događa općenito u dvije faze, koje se nazivaju primarna i sekundarna. U primarnom odvajanju, najgušće čestice se nakupljaju na konusnom dnu komore za sušenje. U sekundarnom odvajanju, najfinije ili se najmanje čestice prenose na vanjske uređaje, gdje su odvojene od vlažnog zraka (Santos i sur., 2018).

Sušenje raspršivanjem je svestran postupak koji se može koristiti za inkapsuliranje gotovo svih vrsta sastojaka hrane, npr. enzimi, bioaktivni peptidi i molekule, probiotici i drugi mikroorganizmi, fenolni spojevi i antioksidanti, vitamini, minerali, prirodna bojila za hranu, omega-3 ulja, arome, esencijalna ulja, antimikrobna sredstva i mnoge druge komponente. Glavne prednosti postupka sušenja raspršivanjem za inkapsuliranje bioaktivnih sastojaka hrane jesu (Arpagaus i sur., 2017; Assadpour i Jafari, 2019):

- Kontrola veličine, oblika i morfologije čestica (amorfni / kristalni oblik, poroznost)
- Polukontinuirani postupak u jednom koraku koji izravno pretvara različite otopine u suhi prah
- Jednostavnost procesa, jednostavnost rada i mogućnost proširivanja

- Moguća inkapsulacija vrlo ljepljivih otopina pomoću sredstava za sušenje i površinski aktivnih tvari
- Niski operativni troškovi, energetska učinkovita tehnologija i brz proces
- Obrada tvari osjetljivih na toplinu s malim rizikom od razgradnje
- Mogućnost rada s visoko viskoznom otopinama uz predgrijavanje
- Dizajn čestica sa svojstvima kontroliranog otpuštanja
- Primjenjivost na hidrofилne i hidrofobne sastojke hrane
- Visoka učinkovitost inkapsulacije i produženi vijek trajanja dobivenih prahova
- Primjenjivost različitih dizajna eksperimenta za optimizaciju procesa

### 2.5.3. Odabir nosača te omjera nosača i aktivne tvari za sušenje raspršivanjem

Prilikom sušenja raspršivanjem spojevi koji su osjetljivi na okolne uvjete inkapsuliraju se pomoću nosača čija fizikalno-kemijska svojstva imaju značajan utjecaj na proces (Jafari i sur., 2008). Nosači zadržavaju aktivne sastojke unutar kapsula tijekom obrade ili skladištenja pod različitim uvjetima vlage zraka, temperature i aktiviteta vode, te ne reagiraju s inkapsuliranim materijalom. Također, moraju imati dobre reološke karakteristike, dovoljnu propusnost membrane, sposobnost prevladavanja kiselog i enzimskog okruženja želuca te povećati prijanjanje i vrijeme zadržavanja aktivnih sastojaka u određenim dijelovima gastrointestinalnog trakta (Đorđević i sur., 2016). Nadalje, nosač mora biti netoksičan i nealergen za ljude, pogodan za sterilizaciju, nikakvog ili blagog okusa, što omogućuje upotrebu za inkapsulaciju sastojaka hrane. Nosači mogu biti biopolimeri velike molekularne mase poput škroba, modificiranog škroba i bjelančevina ili biopolimeri niže molekulske mase poput ciklodekstrina i maltodekstrina (Coimbra i sur., 2020).

Sve je veći interes za primjenu sušenja raspršivanjem kako bi se inkapsulirali spojevi poput polifenola, karotenoida, flavonoida i antocijanina koji imaju visoku biološku aktivnost i antioksidativni kapacitet. U tu svrhu, uglavnom korišteni biopolimeri su maltodekstrin, arapska guma i proteini mlijeka (Shamaei i sur., 2017).

Maltodekstrin karakterizira visoka topljivost u vodi, niska viskoznost te blag okus. Bezbojan je u otopini, pruža zaštitu od oksidacije kada se koristi kao nosač i ima nisku cijenu (Saavedra-Leos i sur., 2015). Ima loše emulgirajuće svojstvo zbog prisutnosti hidroksilnih skupina koje pogoduju vlaženju, stvarajući ograničenje u kapsuliranju (Waterhouse i sur., 2017). To se može promijeniti dodavanjem drugog nosača, poput pektina, arapske gume,

proteina sirutke ili esterifikacijom. Maltodekstrin se također može koristiti u kombinaciji s drugim kapsulirajući materijalima kako bi se smanjio gubitak hlapljivih spojeva tijekom postupka sušenja čak i na višim ulaznim temperaturama (oko 150 °C) jer stvara zid na površini kapi, poboljšavajući prinos praha i snizujući udio vlage u konačnom proizvodu (Soottitantawat i sur., 2015). Također može izdržati velike varijacije aktiviteta vode budući da može zadržati svoju polimernu strukturu dok se ne postigne aktivitet vode od 0,695 (Araujo-Diaz i sur., 2017). Otpornost na aktivnost vode nakon postupka inkapsulacije može biti posljedica manje veličine molekula i slabe prisutnosti hidroksilnih skupina, što rezultira manjom topljivošću i adsorpcijom vlage iz zraka (Zotarelli i sur., 2017). Osim toga, može potaknuti dodatni stabilizacijski učinak zbog svoje sposobnosti smanjenja bioaktivne pokretljivosti i smanjenje propusnosti kisika obrnuto proporcionalno njegovom dekstroznom ekvivalentu (Gupta i sur., 2015).

Zbog visoke topljivosti u vodi, niske viskoznosti i dobrih emulgirajućih svojstava arapska guma se najčešće koristi kao nosač u svrhe inkapsulacije. Nažalost, ima visoku cijenu i ograničenu dostupnost (Gupta i sur., 2015). Mikrokapsule izrađene od arapske gume sušenjem raspršivanjem stabilne su pri niskom aktivitetu vode i održavaju stabilnost jezgre do 200 dana. Međutim, pri aktivitetu vode većem od 0,74, gube stabilnost i započinje postupak otapanja nosača, što dovodi do gubitka jezgre (Rascon i sur., 2011). Udio proteina u strukturi arapske gume može djelovati kao stabilizator i emulgator, što pruža dobru sposobnost za stvaranje mikrokapsula te za emulgiranje s uljima (Ramirez i sur., 2015). Struktura arapske gume uzrokuje agregaciju s bioaktivnim tvarima, vjerojatno zadržavajući ih poput vakuola (Đorđević i sur., 2015). Nažalost, visoko razgranata struktura arapske gume je polupropusna membrana za kisik, što dovodi do samo djelomične zaštite od oksidacije (Samantha i sur., 2015).

Za smjese nosača obično se koriste polimeri poput maltodekstrina ili škroba s dodatkom emulgirajućeg nosača, neke vrste gume ili proteina (Drosou i sur., 2017). Zahvaljujući takvom sastavu, povećava se prinos praha i učinkovitost zadržavanja kapsuliranih tvari (Maia i sur., 2019). Polimeri poput maltodekstrina ili škroba uzorkuju brzo stvaranje stijenki kapsula, dok su nosači s dobrim emulgirajućim svojstvima u interakciji s jezgrom. Kao posljedica toga, hlapljivi sastojci nalaze se u strukturi emulgirajućeg nosača, dok polimer poput maltodekstrina tvori kapsulu (Mahdi i sur., 2020).

Jedan od čimbenika za poboljšanje fizikalno-kemijskih svojstava inkapsulata je udio nosača koji se koristi za sušenje raspršivanjem. Udio nosača u odnosu na aktivnu tvar utječe na razliku

u postotku prinosa, prijelaznoj temperaturi, higroskopnosti, topljivosti i drugim fizikalno-kemijskim svojstvima (Lee i sur., 2018). Minemoto i sur. (2002) u svom radu navode da je učinkovitost inkapsulacije povećana kada se povećao omjer nosača i jezgre, budući da pri niskim omjerima udio nosača može biti nedovoljan za potpuno inkapsuliranje kapljica materijala jezgre i to može rezultirati smanjenjem učinkovitosti inkapsulacije. Daza i sur. (2016) zaključili su da je topljivost prahova bolja povećanjem udjela nosača. Također u istraživanju Tomsona i sur. (2020) na topljivost inkapsulata ekstrakta hrena utjecao je omjer jezgre i nosača. Općenito, inkapsulat s omjerom jezgre i nosača od 20:80 imao najveću topljivost. Omjer jezgre i nosača ima značajan utjecaj i na higroskopnost prahova. Istraživanja su pokazala tendenciju povećanja higroskopnosti sa smanjenjem udjela nosača u odnosu na jezgru (De Souza i sur., 2015). Keshani i sur. (2015), pak navode da u procesu sušenja raspršivanjem povećanje koncentracije nosača smanjuje sadržaj vlage u dobivenom prahu i povećava higroskopnost praha. Omjer jezgre i nosača utječe na koncentraciju fenolnih spojeva u inkapsulatima te inkapsulacijski kapacitet. Nosač se koristi kako bi se inkapsuliralo što više fenolnih spojeva, stoga udio nosača mora biti dostatan za inkapsulaciju. Posljedično je pri manjem udjelu nosača manje i inkapsuliranih fenolnih spojeva (Jafari i sur., 2008).

#### 2.5.4. Odabir temperature sušenja

Ulazna temperatura je temperatura medija za sušenje, tj. struje plina, i o njoj ovisi sposobnost uklanjanja otapala isparavanjem. Odabrana temperatura mora biti najviša moguća za postizanje najnižeg sadržaja vlage u proizvodu uz izbjegavanje toplinske razgradnje aktivnih spojeva. Uz to, visoka ulazna temperatura pomaže u sprečavanju aglomeriranja čestica te njihovog prijanjanja na stijenke komore za sušenje. Tijekom postupka sušenja, ulazna temperatura se smanjuje zbog toga što je je plin izložen raspršenim kapljicama. Iz tog razloga ova varijabla utječe na izlaznu temperaturu. Što je temperatura na ulazu viša, broj čestica se također povećava, a sadržaj vlage se smanjuje, što se uočava kod većih prinosa (Anandharamakrishnan i Ishwarya, 2015; Piñón-Balderrama i sur., 2020). Brojni autori izvještavaju o temperaturama od 140 °C do 200 °C za uobičajeno sušenje raspršivanjem. Lewandowski i sur. (2019) u svom radu proveli su sušenje raspršivanjem za dobivanje praha iz emulzije maltodekstrina i istražili kvalitetu suhih čestica s obzirom na ulazne temperature od: 150, 175, 200 i 215 °C. Utvrdili su veću razgradnju čestica iznad 200 °C. Bednarska i Janiszewska-Turak (2020) istraživali su učinak ulazne temperature i različitih nosača na gubitak hranjivih sastojaka nakon sušenja raspršivanjem aronije. U provedenom istraživanju na



temperaturama od 160 °C i 200 °C nije bilo značajnijeg utjecaja na sadržaj antocijana i polifenola.

Izlazna temperatura je varijabla koja se ne može izravno kontrolirati rukovanjem instrumentom, već je posljedica drugih čimbenika poput ulazne temperature, protoka plina, entalpije isparavanja i koncentracije otopine. To je temperatura zraka koji sadrži suhe čestice neposredno prije nego što se uvode u uređaj za prikupljanje praha. Izlazna temperatura rezultat je izmjene topline i mase unutar komore za sušenje (Santos i sur., 2018). Ljepljivost praha se može izbjeći održavanjem temperature izlaznog zraka ispod 50 °C, ali pritom prah ima visoki zaostali sadržaj vlage i aktivitet vode (Jafari i sur., 2017).

#### 2.5.5. Fizikalno-kemijski parametri inkapsuliranih ekstrakata

Fizikalno-kemijski parametri prahova proizvedenih sušenjem raspršivanjem ovise o varijablama procesa kao što su: karakteristike uzorka koji se suši (viskoznost, veličina čestica, protok), zrak ili plin za sušenje (temperatura, pritisak), vrsta raspršivača, vrsta nosača i mnogi drugi. Stoga je važno optimizirati proces sušenja kako bi se dobili proizvodi sa što boljim organoleptičkim, nutritivnim i fizikalnim karakteristikama (Tonon i sur., 2008). Fizikalno-kemijski parametri inkapsulata određivani u ovom radu su: iskorištenje, udio suhe tvari, topljivost, higroskopnost, koncentracija UF i PF te inkapsulacijski kapacitet.

Prema Clarku (2003) sadržaj suhe tvari u prahu trebao bi biti veći od 95 % jer visoki sadržaj suhe tvari omogućuje korištenje praha u tehnološke svrhe te povećava stabilnost njegovih fizikalnih svojstava. Sušenjem se smanjuje sadržaj vlage proizvoda zbog čega se može sigurno skladištiti tijekom duljeg razdoblja (Doymaz i Kocayigit, 2011). S povećanjem temperature sušenja smanjuje se vlaga zbog bržeg prijenosa topline između proizvoda i zraka za sušenje. Pri višim temperaturama ulaznog zraka postoji veći temperaturni gradijent između raspršenog uzorka i zraka za sušenje što rezultira većom pokretačkom silom za isparavanje vode (Phisuit, 2012). Dodatak nosača povećava sadržaj suhe tvari u materijalu i tako smanjuje udio vode raspoloživ za isparavanje (Ferrari i sur., 2012; Kha i sur., 2010; Quek i sur., 2007).

Prema izvještaju u radu Bhandari i sur. (1997) sušenje raspršivanjem uspješno je provedeno ako je iskorištenje procesa veće od 50 %. Povećanje ulaznih temperatura rezultira većim prinosom procesa zbog bolje učinkovitosti prijenosa topline i mase. Ponekad se povećanjem ulazne temperature sušenja smanjuje prinos procesa, a to može biti uzrokovano topljenjem praha i kohezijom nosača (Phisuit, 2012). Iskorištenje procesa sušenja raspršivanjem ovisi o

udjelu suhe tvari u uzorku koji se suši. Pri nižim koncentracijama nosača manji je udio suhe tvari u uzorku za sušenje, manja je gustoća i viskoznost što dovodi do veće vrijednosti radijalne brzine te sudaranja kapljica s unutrašnjim stijenkama komore za sušenje pri većoj brzini i intenzitetu. Posljedično, nakuplja se više praha na stijenkama komore i smanjuje iskorištenje procesa. Veće koncentracije nosača imaju suprotan utjecaj i uzrokuju povećanje iskorištenja procesa (Largo Avila i sur., 2015).

Higroskopsnost je parametar na temelju kojeg je moguće predvidjeti ponašanje praha tijekom skladištenja te ukazuje na njegovu stabilnost (Bednarska i Janiszewska-Turak, 2020). Temperatura sušenja utječe na higroskopsnost praha koji se proizvodi. Sušenje na niskim temperaturama uzrokuje manju higroskopsnost, što se može objasniti činjenicom da prah proizveden u tim uvjetima ima veći udio vlage i posljedično niži koncentracijski gradijent vode između proizvoda i atmosfere (Fernandes i sur., 2013). Akhavan Mahdavi i sur. (2016) uočili su da mikrokapsule s nosačem veće molekularne mase imaju manju higroskopsnost u usporedbi s mikrokapsulama s nosačem manje molekularne mase.

Topljivost je jedno od najvažnijih funkcionalnih svojstava jestivog praha. Utječe na ponašanje praha kada se rekonstituiru u vodi (Tomson i sur., 2020). Prah proizveden na nižoj temperaturi ulaznog zraka ima veći sadržaj vlage i veću tendenciju prema aglomeraciji, što pomaže u rekonstituciji prahova (Quek i sur., 2007.). Više temperature sušenja raspršivanjem imaju tendenciju smanjiti sadržaj vlage u prahu, čineći prah topljivijim (Bakar i sur., 2013). Vrsta i udio nosača utječu na topljivost tako da što je nosač bolje topljiv u vodi, topljivost praha je veća. Primjer su maltodekstrin i arapska guma koji pokazuju dobru topljivost u vodi (Fazaeli i sur., 2012; Phisut, 2012).

Koncentracije ukupnih i površinskih fenola te inkapsulacijski kapacitet uvelike ovise o primjenjenoj temperaturi sušenja. Fenolni spojevi su bioaktivni spojevi koji su osjetljivi na okolne uvjete pa tako i na visoku temperaturu pri kojoj može doći do toplinske razgradnje (Mishra i sur., 2014). Stoga je važno da odabrana temperatura bude najviša moguća za postizanje najnižeg sadržaja vlage u proizvodu, ali da pri tom ne dođe do toplinske razgradnje aktivnih spojeva. Koncentracija fenolnih spojeva ovisi i o udjelu nosača. Uloga nosača je inkapsuliranje bioaktivnih spojeva kako bi se zaštitili od vanjskih uvjeta pa je posljedično manje inkapsuliranih fenola pri nižoj koncentraciji nosača (Jafari i sur., 2008). Koncentracija inkapsuliranih fenolnih spojeva ovisi i o odabranom nosaču. Budući da su fenolni spojevi uglavnom hidrofilni, nema potrebe za primjenom emulgatora tijekom njihovog sušenja

raspršivanjem. Uobičajeni biopolimer koji se koristi kao nosač za inkapsulaciju fenola je maltodekstrin, iako su ga neki istraživači kombinirali s drugim biopolimerima poput arapske gume što je rezultiralo boljom inkapsulacijom (Assadpour i Jafari, 2019).

## 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. MATERIJAL

Za istraživanje je korišten prirodno osušeni list koprive *Urticae folium* proizvođača Suban d.o.o., serija 21-004, Strmec, Hrvatska. List koprive sakupljen je u Hrvatskoj i nakon sušenja čuvan je na suhom i tamnom mjestu. Rok trajanja je do 31.12.2022. godine. List koprive samljeven je u električnom mlincu za mljevenje (Grundig CM3260) te skladišten u posudi do provedbe ekstrakcije.

#### 3.1.1. Kemikalije

- maltodekstrin DE 13-17 (Sigma Aldrich, SAD)
- arapska guma (Acros Organics, Belgija)
- kvarcni pijesak, sitno zrnat (GRAM-MOL d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
- NaCl (Carlo Erba Reagents, Španjolska)

#### **Kemikalije za ekstrakciju fenolnih spojeva**

- destilirana voda
- etanol, 96%-tni, p.a. (GRAM-MOL d.o.o., Zagreb, Hrvatska)
- octena kiselina, 99,5%-tna, p.a. (T.T.T. d.o.o., Sveta Nedjelja, Hrvatska)
- metanol, 100%-tni (Avantor Performance Materials, Norveška)

#### **Reagensi za određivanje fenolnih spojeva**

- Folin-Ciocalteu reagens (F.C. reagens)
- zasićena otopina natrijeva karbonata (20 %-tna otopina)

Priprema: 200 g anhidrida natrijeva karbonata otopi se u 800 mL vruće destilirane vode, a potom ohladi na sobnu temperaturu. Doda se nekoliko kristalića natrijeva karbonata, nadopuni u odmjerne tikvici od 1000 mL i nakon 24 h filtrira.

- standard galne kiseline

### 3.1.2. Aparatura i pribor

#### *Aparatura:*

- uređaj za sušenje raspršivanjem Buchi Mini Spray Dryer B-290, Švicarska
- magnetska miješalica HSC Ceramic Hot Top-Plate Stirrer, Velp, Italija
- laboratorijski sušionik Instrumentaria ST – 01/02, Zagreb
- analitička vaga Ohaus, SAD
- vortex miješalica MS2 Minishaker, IKA, SAD
- centrifuga ROTOFIX 32, Hettich Zentrifugen, Njemačka
- vodena kupelj Büchi Heating Bath B-490, Švicarska
- ultrazvučna kupelj Bandelin Sonorex RK 100 H, Njemačka
- eksikator
- električni mlinac, Gruding CM3260
- spektrofotometar VWR UV-1600PC Spectrophotometer, Kina
- mikrovalni ekstrator Ethos Easy, Milestone, Italija

#### *Pribor:*

- aluminijski lončići
- stakleni štapići
- pipeta od 10 mL
- mikropipete volumena 100  $\mu$ L, 250  $\mu$ L i 1000  $\mu$ L
- staklene čaše
- Falcon kivete volumena 50 mL
- staklene epruvete
- odmjerne tikvice volumena 100 mL
- filter papir
- lijevak
- Petrijeve zdjelice
- Büchnerov lijevak
- staklene kivete

## 3.2. METODE

### 3.2.1. Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima

Liofilizirani listovi koprive usitne se u mlinicu za mljevenje. Na analitičkoj vagi izvaže se 10 g usitnjenog uzorka lista koprive te se prebaci u ćeliju za ekstrakciju. Zatim se u ćeliju doda 60 mL 30 %-tne otopine etanola i magnet za miješanje uzorka. Ćelije s uzorcima i otapalom postave se u uređaj za mikrovalovima potpomognutu ekstrakciju. Podese se unaprijed određeni parametri ekstrakcije (vrijeme 5 min, snaga 300 W, temperatura 60 °C), a zatim slijedi automatizirani proces ekstrakcije. Nakon završetka ekstrakcije svaki uzorak iz ćelije se profiltrira preko Büchnerovog lijevka te se ekstrakt sakuplja do ukupnog volumena potrebnog za inkapsulaciju.

### 3.2.2. Proizvodnja praha iz ekstrakta koprive postupkom sušenja raspršivanjem

Sušenje raspršivanjem ekstrakta koprive provedeno je pomoću laboratorijskog uređaja za sušenje raspršivanjem Buchi Mini Spray Dryer B-290, Švicarska (Slika 4) sa specifikacijama navedenim u tablici 4.

**Tablica 4.** Specifikacije uređaja Buchi Mini Spray Dryer B-290 (BÜCHI Labortechnik AG)

<b>Potrošnja energije</b>	max. 2900 W
<b>Napon</b>	200-230 V ± 10 %
<b>Frekvencija</b>	50/60 Hz
<b>Kapacitet sušenja</b>	1,0 L h <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> O, veći za organska otapala
<b>Pumpa</b>	Peristaltička
<b>Protok zraka</b>	max. of 35 m <sup>3</sup> h <sup>-1</sup>
<b>Max. Temperatura</b>	220 °C
<b>Kapacitet grijača</b>	2300 W
<b>Plin za sušenje</b>	Komprimirani zrak ili dušik; 200 - 800 L h <sup>-1</sup> ; 5 - 8 bar
<b>Promjer mlaznice</b>	0,7 mm
<b>Raspon promjera čestica</b>	1 - 25 µm
<b>Dimenzije (W x H x D)</b>	65 x 110 x 70 cm
<b>Težina</b>	46 kg

Tijekom provedbe postupka sušenja raspršivanjem konstantni parametri bili su sljedeći: 15 % kapaciteta pumpe, 80 % kapaciteta aspiratora čiji je maksimum  $35 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  te čišćenje mlaznice na rangu 4.



**Slika 4.** Uređaj za sušenje raspršivanjem Buchi Mini Spray Dryer B – 290, Švicarska (vlastita fotografija)

Plan provedbe pokusa prikazan je u tablici 5. Prema planu, proizvedeno je 18 inkapsuliranih ekstrakata lista koprive postupkom sušenja raspršivanjem koje se odvijalo na temperaturama od  $120 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $160 \text{ }^\circ\text{C}$  i  $200 \text{ }^\circ\text{C}$  te pri različitim omjerima suhe tvari ekstrakta i nosača – (1:1, 1:2 i 1:3). Korištena su dva različita nosača i to maltodekstrin (MD) te kombinacija maltodekstrina i arapske gume u omjeru 50:50 (MD + GA).

**Tablica 5.** Eksperimentalni dizajn sušenja raspršivanjem ekstrakata listova koprive

Uzorak	Temperatura [°C]	Nosač	Ekstrakt : Nosač
1	120	MD	1:1
2		MD+GA (50:50)	
3	120	MD	1:2
4		MD+GA (50:50)	
5	120	MD	1:3
6		MD+GA (50:50)	
7	160	MD	1:1
8		MD+GA (50:50)	
9	160	MD	1:2
10		MD+GA (50:50)	
11	160	MD	1:3
12		MD+GA (50:50)	
13	200	MD	1:1
14		MD+GA (50:50)	
15	200	MD	1:2
16		MD+GA (50:50)	
17	200	MD	1:3
18		MD+GA (50:50)	

Ekstrakt koprive (100 mL) prije samog postupka sušenja raspršivanjem pomiješa se s nosačem otopljenim u istom volumenu destilirane vode. Masa nosača odredi se na temelju suhe tvari u ekstraktu koprive koja iznosi 3,58 %. Kako bi se nosač otopio i smjesa homogenizirala, miješa se na magnetnoj miješalici pri 50 °C. Nakon provedenog postupka sušenja raspršivanjem, proizvedeni prahovi čuvaju se u hermetički zatvorenim Falcon kivetama u eksikatoru sve do provođenja fizikalno-kemijskih metoda analize.



### 3.2.3. Fizikalno-kemijske metode analize prahova ekstrakta lista koprive

#### ***Iskorištenje postupka sušenja raspršivanjem***

Iskorištenje postupka sušenja raspršivanjem računa se prema sljedećoj formuli:

$$\text{Iskorištenje (\%)} = \left( \frac{P}{S + N} \right) \cdot 100 \quad [1]$$

pri čemu je:

P – masa praha proizvedenog postupkom sušenja raspršivanjem [g],

S – suha tvar u volumenu ekstrakta koji se suši raspršivanjem [g],

N – masa nosača koja se dodaje u ekstrakt pri sušenju raspršivanjem [g].

#### ***Sadržaj suhe tvari***

Sadržaj suhe tvari prahova proizvedenih iz ekstrakta koprive određuje se sušenjem u sušioniku na 105 °C do konstantne mase (AOAC, 1984). Aluminijska posudica s poklopcem osuši se i izvažte te se u nju stavi oko 1 g kvarcnog pijeska i stakleni štapić. Tako pripremljena posudica s kvarcnim pijeskom, staklenim štapićem i skinutog poklopca, suši se u sušioniku dva sata na 105 °C. Nakon sušenja, posudica se zatvori poklopcem i hladi u eksikatoru te se potom izvažte s točnošću ± 0,0002 g. U ohlađenu i izvaganu posudicu s pijeskom stavi se oko 1 g uzorka, odnosno praha te se dobro izmiješa staklenim štapićem. Posuda s uzorkom izvažte se s točnošću ± 0,0002 g. U sušionik zagrijan na 105 °C ± 0,5 °C stavi se aluminijska posudica s pijeskom, uzorkom i otvorenim poklopcem te se zagrijava jedan sat. Nakon sušenja posudica se hladi u eksikatoru i važe, a postupak sušenja se nastavlja sve dok razlika između dva uzastopna sušenja, u trajanju od pola sata, ne bude manja od 0,001 g. Posudica se naposljetku ponovno važe s točnošću ± 0,0002 g.

Sadržaj suhe tvari računa se prema sljedećoj formuli:

$$\text{Sadržaj suhe tvari (\%)} = \left( \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \right) \cdot 100 \quad [2]$$

pri čemu je:

- m<sub>0</sub> – masa posudice i pomoćnog materijala (pijesak, stakleni štapić, uzorak) [g],

- $m_1$  – masa posudice s ispitivanim uzorkom prije sušenja [g],
- $m_2$  – masa posudice s ostatkom nakon sušenja [g].

### ***Topljivost***

Topljivost prahova određuje se prema djelomično modificiranoj metodi koju su opisali Andreson i sur. (1969). 1 gram praha otopi se u epruveti u 10 mL destilirane vode miješanjem na vortex miješalici 1 minutu. Zatim se termostatira u vodenoj kupelji 30 minuta na 37 °C i potom centrifugira 20 minuta na 5500 o min<sup>-1</sup>. Nastali supernatant se suši u sušioniku na 105 °C do konstantne mase i nakon toga izvaže.

Topljivost (%) se računa prema sljedećoj formuli:

$$\text{Topljivost (\%)} = \left( \frac{m_s}{m_p} \right) \cdot 100 \quad [3]$$

Pri čemu je:

- $m_s$  – masa praha dobivenog sušenjem supernatanta do konstantne mase [g],
- $m_p$  – masa praha uzetog za analizu [g].

### ***Higroskopnost***

Higroskopnost prahova određuje se prema metodi koju su opisali Tonon i sur. (2008). Masa od 1 grama praha odvaže se u otvorenu posudicu koja se stavi u eksikator sa zasićenom otopinom NaCl-a. Ostavi se u eksikatoru tijekom 7 dana na 25 °C pri vlažnosti zraka 75,29 %. Nakon 7 dana uzorak se izvaže te se higroskopnost izrazi kao grami adsorbirane vlage na 100 grama praha prema sljedećoj formuli:

$$\text{Higroskopnost} \left[ \frac{\text{g}}{100\text{g}} \right] = \left( \frac{m_3 - m_0}{m_0} \right) \cdot 100 \quad [4]$$

Pri čemu je:

- $m_3$  – masa izvaganog praha nakon 7 dana [g]
- $m_0$  – početna masa praha [g].

### 3.2.4. Ekstrakcija fenolnih spojeva iz inkapsulata dobivenih sušenjem raspršivanjem

#### ***Ekstrakcija ukupnih fenolnih spojeva (UF) i površinskih fenolnih spojeva (PF)***

Prilikom ekstrakcije ukupnih fenolnih spojeva u epruvetu se odvažuje 0,2 g uzorka (praha) i pomiješa se s 2 mL otapala metanol:octena kiselina:voda (50:8:42, v/v/v). Smjesa se promiješa na vortex miješalici 1 minutu i potom ekstrahira u UZV kupelji na sobnoj temperaturi 20 minuta. Nakon ekstrakcije smjesa se centrifugira na 3000 okretaja 10 minuta. Supernatantu nastalom centrifugiranjem određuje se sadržaj ukupnih fenola metodom s Folin-Ciocalteu reagensom (Saénz i sur., 2009).

Za ekstrakciju površinskih fenolnih spojeva 0,2 g uzorka (praha) i pomiješa se s 2 mL otapala metanol:octena kiselina:voda (50:8:42, v/v/v). Smjesa se promiješa na vortex miješalici 1 minutu i centrifugira na 3000 okretaja 10 minuta. Supernatant se profiltrira kroz obični filter papir te se sadržaj površinskih fenola odredi spektrofotometrijski metodom s Folin-Ciocalteu reagensom (Saénz i sur., 2009).

#### ***Spektrofotometrijsko određivanje fenolnih spojeva***

Princip metode:

Određivanje ukupnih fenolnih spojeva provodi se u etanolno/metanolnom ekstraktu uzorka primjenom spektrofotometrijske metode koja se temelji na obojenoj reakciji fenolnih spojeva i Folin-Ciocalteu reagensa te mjerenju nastalog intenziteta obojenja pri 765 nm (Shortle i sur., 2014).

Razrjeđenja:

Za određivanje ukupnih fenolnih spojeva uzorci su razrijeđeni 5 puta, dok za određivanje površinskih fenolnih spojeva nije bilo potrebno razrjeđivati uzorke.

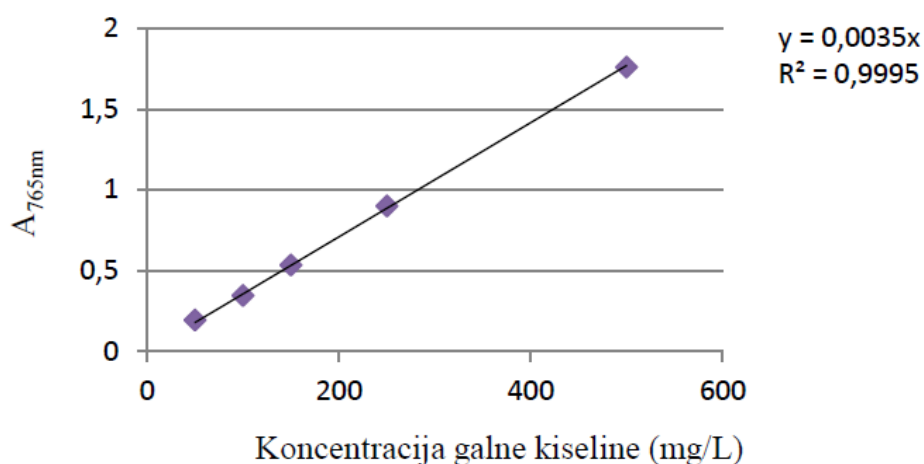
Postupak određivanja:

U epruvetu se otpipetira redom 100  $\mu$ L pripremljenog ekstrakta, 200  $\mu$ L Folin-Ciocalteu reagensa te 2 mL destilirane vode. Nakon 3 minute dodaje se 1 mL zasićene otopine natrijevog karbonata. Sadržaj epruvete promiješa se na Vortex miješalici i zatim termostatira u kupelji rotovapora 25 minuta na temperaturi 50 °C. Slijepa proba se priprema na isti način, osim što se

umjesto ekstrakta dodaje otapalo korišteno za ekstrakciju. Spektrofotometrom se potom mjeri apsorbanacija pri valnoj duljini 765 nm.

Izrada baždarnog pravca:

Za izradu baždarnog pravca (slika 5) izvaže se 0,5 g galne kiseline, otopi u 10 mL 96 %-tnog etanola u odmjerne tikvici od 100 mL i nadopuni destiliranom vodom do oznake. Od pripremljene otopine galne kiseline otpipetira se redom: 1, 2, 3, 5 i 10 mL alikvota standardne otopine galne kiseline u odmjerne tikvice od 100 mL koje se zatim dopune destiliranom vodom do oznake. Koncentracije galne kiseline u tim tikvicama redom iznose: 50, 100, 150, 250 i 500 mg L<sup>-1</sup>. Iz svake tikvice otpipetira se 100 µL standarda u staklene epruvete te se doda 200 µL Folin-Ciocalteu reagensa i 2 mL destilirane vode. Nakon 3 minute dodaje se 1 mL zasićene otopine natrijevog karbonata. Sadržaj epruvete promiješa se na Vortex miješalici i zatim termostatira u kupelji rotovapora 25 minuta na temperaturi 50 °C. Za slijepu probu koristi se 100 mL destilirane vode. Spektrofotometrom se potom mjeri apsorbanacija pri valnoj duljini 765 nm. Baždarni pravac se nacrtava u programu Microsoft Excel na računalu, tako da se na apscisu nanese koncentracije galne kiseline (mg L<sup>-1</sup>), a na ordinatu vrijednosti apsorbanacija izmjerene pri 765 nm.



**Slika 5.** Baždarni pravac i pripadajuća jednadžba pravca.

Račun:

Koncentracija ukupnih i površinski fenolnih spojeva računa se iz sljedeće jednadžbe pravca:

$$y = 0,0035 \cdot x \quad [5]$$

pri čemu je:

y – vrijednost apsorbancije izmjerene pri 765 nm,

x – koncentracija galne kiseline [mg L<sup>-1</sup>].

Izračunate vrijednosti masene koncentracije ukupnih i površinskih fenolnih spojeva [mg GAE L<sup>-1</sup>] izračunaju se uzimajući u obzir masu praha, a potom na osnovu poznatog udjela suhe tvari u ekstraktu koprive izražavaju se kao masa suhe tvari ekstrakta [mg GAE g<sup>-1</sup> s.tv.e.].

#### ***Izračun inkapsulacijskog kapaciteta***

Inkapsulacijski kapacitet računa se preko odnosa površinskih i ukupnih fenolnih spojeva prema sljedećoj formuli:

$$\% IK = \left( \frac{UF - PF}{UF} \right) \cdot 100 \quad [6]$$

gdje je:

UF – koncentracija ukupnih fenolnih spojeva [mg GAE g<sup>-1</sup> s.tv.e.],

PF – koncentracija površinskih fenolnih spojeva [mg GAE g<sup>-1</sup> s.tv.e.],

IK – inkapsulacijski kapacitet [%].

### 3.2.5. Statistička obrada rezultata

Za eksperimentalni dizajn pokusa i statističku obradu podataka korišten je programski sustav Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, SAD). Eksperimenti su dizajnirani kao mješoviti puni faktorijski dizajn s 2 faktora na tri i 1 faktorom na dvije razine. S ciljem optimiranja parametara inkapsulacije fenolnih spojeva koprive sušenjem raspršivanjem ispitan je utjecaj temperature sušenja, vrste nosača i omjera nosača i ekstrakta na fizikalno-kemijske parametre te sadržaj fenolnih spojeva i inkapsulacijski kapacitet dobivenih inkapsuliranih ekstrakata. Za usporedbu dobivenih uzoraka korištena je multifaktorska analiza varijance (ANOVA). Statistički značajna razlika razmatrana je na razini  $p \leq 0,05$  (95 %-tni interval pouzdanosti), a svi marginalni prosjeci uspoređeni su s Tukey HSD testom.

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

Provedbom procesa sušenja raspršivanjem ekstrakta listova koprive proizvedeno je 18 inkapsulata pri različitim temperaturama sušenja, vrsti nosača te omjeru suhe tvari ekstrakta i nosača. Fizikalno-kemijski parametri proizvedenih inkapsulata: iskorištenje procesa, udio suhe tvari, topljivost i higroskopnost prikazani su u tablici 6. Koncentracija ukupnih i površinskih fenola te inkapsulacijski kapacitet inkapsulata dobivenih sušenjem raspršivanjem prikazani su u tablici 8. U tablicama 7 i 9 nalaze se rezultati multifaktorske analiza varijance i Tukey HSD testa za sve određivane fizikalno-kemijske parametre, koncentracije fenola i inkapsulacijski kapacitet proizvedenih inkapsulata.

#### 4.1. FIZIKALNO-KEMIJSKI PARAMETRI INKAPSULATA EKSTRAKTA LISTA KOPRIVE

**Tablica 6.** Rezultati fizikalno-kemijskih parametara inkapsulata ekstrakta lista koprive proizvedenih s MD i MD i GA (50:50), pri različitim temperaturama sušenja i udjelima suhe tvari ekstrakta i nosača (GA, arapska guma; MD, maltodekstrin)

UZORAK	TEMPERATURA	NOSAČ	OMJER EKSTRAKT:NOSAČ	ISKORIŠTENJE (%)	SUHA TVAR (%)	TOPLJIVOST (%)	HIGROSKOPNOST (g 100g <sup>-1</sup> )
1	120	MD	1:1	74,87 ± 0,21	96,04 ± 0,25	90,73 ± 0,68	23,18 ± 0,32
2	120	MD+GA (50:50)	1:1	73,58 ± 0,11	96,31 ± 0,02	89,28 ± 0,56	26,19 ± 0,12
3	120	MD	1:2	75,84 ± 0,20	95,89 ± 0,17	83,17 ± 0,28	13,68 ± 0,17
4	120	MD+GA (50:50)	1:2	74,29 ± 0,58	92,91 ± 0,40	84,63 ± 0,28	15,09 ± 0,33
5	120	MD	1:3	77,15 ± 0,51	94,59 ± 0,06	82,82 ± 0,41	10,03 ± 0,09
6	120	MD+GA (50:50)	1:3	75,45 ± 0,55	93,21 ± 0,48	82,95 ± 0,53	11,98 ± 0,08
7	160	MD	1:1	68,05 ± 1,67	95,99 ± 0,55	86,66 ± 0,45	22,05 ± 0,13
8	160	MD+GA (50:50)	1:1	63,68 ± 0,90	95,11 ± 0,20	88,91 ± 0,28	24,20 ± 0,45
9	160	MD	1:2	74,18 ± 0,49	96,51 ± 0,09	85,57 ± 0,46	12,18 ± 0,31
10	160	MD+GA (50:50)	1:2	72,59 ± 0,09	92,77 ± 0,39	87,03 ± 0,52	15,83 ± 0,25
11	160	MD	1:3	87,87 ± 0,48	98,30 ± 0,37	84,66 ± 0,26	13,65 ± 0,52
12	160	MD+GA (50:50)	1:3	83,21 ± 0,95	97,06 ± 0,25	90,66 ± 0,63	16,30 ± 0,04
13	200	MD	1:1	76,80 ± 0,36	96,73 ± 0,53	83,08 ± 0,29	20,78 ± 0,50
14	200	MD+GA (50:50)	1:1	73,03 ± 1,29	96,73 ± 0,05	91,28 ± 0,40	23,00 ± 0,19
15	200	MD	1:2	79,29 ± 0,78	96,09 ± 0,41	87,15 ± 0,30	15,03 ± 0,37
16	200	MD+GA (50:50)	1:2	76,82 ± 0,31	95,82 ± 0,44	88,45 ± 0,57	16,88 ± 0,31
17	200	MD	1:3	82,96 ± 0,59	96,49 ± 0,02	90,01 ± 0,29	13,86 ± 0,24
18	200	MD+GA (50:50)	1:3	83,86 ± 0,33	97,08 ± 0,46	91,53 ± 0,08	17,00 ± 0,11



**Tablica 7.** Analiza varijance (ANOVA) za utjecaj temperature, nosača te omjera suhe tvari ekstrakta i nosača na fizikalno-kemijske parametre prahova ekstrakta lista koprive (GA, arapska guma; MD, maltodekstrin)

	N	ISKORIŠTENJE (%)	SUHA TVAR (%)	TOPLJIVOST (%)	HIGROSKOPNOST (g 100 g <sup>-1</sup> )
<b>Temperatura</b>		p<0,01	p<0,01	p<0,01	p<0,01
<b>120 °C</b>	12	75,20 ± 0,20 <sup>a</sup>	94,83 ± 0,10 <sup>a</sup>	85,60 ± 0,12 <sup>a</sup>	16,69 ± 0,08 <sup>a</sup>
<b>160 °C</b>	12	74,93 ± 0,20 <sup>a</sup>	95,96 ± 0,10 <sup>b</sup>	87,25 ± 0,12 <sup>b</sup>	17,37 ± 0,08 <sup>b</sup>
<b>200 °C</b>	12	78,79 ± 0,20 <sup>b</sup>	96,49 ± 0,10 <sup>c</sup>	88,58 ± 0,12 <sup>c</sup>	17,76 ± 0,08 <sup>c</sup>
<b>Nosač</b>		p<0,01	p<0,01	p<0,01	p<0,01
<b>MD</b>	18	77,45 ± 0,17 <sup>b</sup>	96,29 ± 0,08 <sup>b</sup>	85,98 ± 0,10 <sup>a</sup>	16,05 ± 0,07 <sup>a</sup>
<b>MD+GA (50:50)</b>	18	75,17 ± 0,17 <sup>a</sup>	95,22 ± 0,08 <sup>a</sup>	88,30 ± 0,10 <sup>b</sup>	18,50 ± 0,07 <sup>b</sup>
<b>Omjer ekstrakt:nosač</b>		p<0,01	p<0,01	p<0,01	p<0,01
<b>1:1</b>	12	71,68 ± 0,20 <sup>a</sup>	96,16 ± 0,10 <sup>b</sup>	88,32 ± 0,12 <sup>c</sup>	23,23 ± 0,08 <sup>c</sup>
<b>1:2</b>	12	75,50 ± 0,20 <sup>b</sup>	95,00 ± 0,10 <sup>a</sup>	86,00 ± 0,12 <sup>a</sup>	14,78 ± 0,08 <sup>b</sup>
<b>1:3</b>	12	81,75 ± 0,20 <sup>c</sup>	96,12 ± 0,10 <sup>b</sup>	87,11 ± 0,12 <sup>b</sup>	13,80 ± 0,08 <sup>a</sup>
<b>Grand mean</b>	36	76,31 ± 5,70	95,76 ± 1,51	87,14 ± 3,07	17,27 ± 4,71

\*a,b,c – različite oznake unutar stupca odnose se na statistički značajne razlike razmatrane na razini 95 %-tnog intervala pouzdanosti

#### 4.1.1. Iskorištenje procesa

U tablici 6 prikazani su rezultati iskorištenja procesa sušenja raspršivanjem ekstrakta listova koprive za svih 18 inkapsulata. Najveće iskorištenje procesa 87,87 % dobiveno je pri sljedećim primijenjenim uvjetima: temperatura sušenja 160 °C, nosač maltodekstrin te omjer suhe tvari ekstrakta i nosača 1:3. Najmanje iskorištenje iznosi 63,68 % i dobiveno je pri temperaturi sušenja 160 °C, kombinaciji nosača maltodekstrina i arapske gume u omjeru 50:50 te omjeru suhe tvari ekstrakta i nosača 1:1. Prema izvješću u radu Bhandari i sur. (1997), sušenje raspršivanjem uspješno je provedeno ako je iskorištenje procesa veće od 50 %. Ova teza može se primijeniti na sve proizvedene inkapsulate ekstrakta koprive, što znači da su svi procesi sušenja raspršivanjem uspješno provedeni.

Analiza varijance (ANOVA) za utjecaj temperature sušenja, vrste nosača te omjera suhe tvari ekstrakta i nosača na fizikalno-kemijske parametre inkapsulata ekstrakta lista koprive

prikazana je u tablici 7. Prema rezultatima analize, sva tri promjenjiva faktora (temperatura, omjer suhe tvari ekstrakta i nosača, vrsta nosača) prilikom sušenja raspršivanjem imaju značajan utjecaj na iskorištenje procesa. Neovisno o nosaču te omjeru suhe tvari ekstrakta i nosača, iskorištenje procesa sušenja raspršivanjem na najvećoj primijenjenoj temperaturi od 200 °C veće je od iskorištenja procesa pri najnižoj temperaturi od 120 °C. Rezultati u tablici 7 upućuju na to da se povećanjem temperature sušenja povećava i iskorištenje procesa. Tolun i sur. (2016) u svom istraživanju proveli su postupak sušenja raspršivanjem ekstrakta komine grožđa upotrebom maltodekstrina te njegove mješavine s arapskom gumom. Iskorištenje procesa raslo je s porastom temperature sa 120 °C na 140, 160 i 180 °C u uzorcima s različitim omjerima maltodekstrina i arapske gume (10:0; 8:2; 6:4) te jezgre i nosača (1:1 i 1:2). Više temperature sušenja dovode do većeg prinosa procesa, što se može pripisati većoj učinkovitosti prijenosa topline i mase u slučaju korištenja viših temperatura ulaznog plina za sušenje (Tonon i sur., 2008). Također, učinkovitost prijenosa topline i mase sprječava hvatanje čestica praha na stijenke komore što posljedično povećava iskorištenje (Tontul i Topuz, 2017).

Iz rezultata u tablici 7 vidljivo je da se povećanjem udjela nosača, neovisno radi li se o maltodekstrinu ili njegovoj kombinaciji s arapskom gumom, povećava i iskorištenje. Najveći utjecaj udjela nosača na iskorištenje primjećuje se pri temperaturi sušenja od 160 °C, a najmanji pri temperaturi 120 °C (tablica 6). Pri omjerima suhe tvari ekstrakta i nosača 1:1, 1:2 i 1:3 iskorištenja su iznosila  $71,68 \pm 0,20 \%$ ,  $75,50 \pm 0,20 \%$ ,  $81,75 \pm 0,20 \%$ , respektivno. Ovi rezultati u skladu su s radovima Caliskan i Dirim (2013) te Akbarbaglu i sur. (2019) koji također izvještavaju o povećanju prinosa praha, odnosno iskorištenja kao rezultatu povećanja koncentracije nosača u uzorcima koje su sušili raspršivanjem. U radu Akbarbaglu i sur. (2019) pri sušenju hidrolizata iz sjemenki lana na 130 °C za omjere jezgre i nosača 1:1, 1:2 i 1:3 iskorištenja su bila 34,99 %, 42,16 % i 45,64 %, respektivno. Iskorištenje procesa sušenja raspršivanjem ovisi o udjelu suhe tvari u uzorku koji se suši. Pri nižim koncentracijama nosača manji je udio suhe tvari u uzorku za sušenje, odnosno gustoća uzorka je manja. Nadalje, manja viskoznost kao posljedica manje gustoće dovodi do veće vrijednosti radialne brzine, uzrokujući tako sudaranje kapljica s unutrašnjim stijenkama komore za sušenje pri većoj brzini i intenzitetu. Posljedično, nakuplja se više praha na stijenkama komore i smanjuje iskorištenje procesa. Veće koncentracije nosača imaju suprotan utjecaj i posljedično djeluju na povećanje iskorištenja procesa (Largo Avila i sur., 2015).

Bolje iskorištenje za sve prahove s nosačem maltodekstrinom u odnosu na one u kojima je nosač bila kombinacija MD i GA (50:50) vidljivo je u tablici 7. Ovi rezultati u skladu su s

istraživanjem Tolun i sur. (2016). Oni su proveli postupak sušenja raspršivanjem ekstrakta komine grožđa upotrebom maltodekstrina te njegove mješavine s arapskom gumom (10:0, 8:2, 6:4) pri omjeru jezgre i nosača (1:1 i 1:2) i temperaturama 120 °C, 140 °C, 160 °C, 180 °C. Najveće iskorištenje (64,9 %) među svim uzorcima postignuto je kada je korišten samo nosač maltodekstrin, pri omjeru jezgre i nosača 1:2 i temperaturi sušenja 180 °C.

#### 4.1.2. Udio suhe tvari

Udio suhe tvari u prahovima ekstrakta koprive dobivenih sušenjem raspršivanjem, prikazan u tablici 6, kreće se od 92,77 % do 98,30 %. Najveći udio suhe tvari određen je pri temperaturi sušenja od 160 °C i nosaču maltodekstrinu te omjeru suhe tvari ekstrakta i nosača 1:3, dok najmanji udio suhe tvari sadrži prah dobiven pri uvjetima sušenja od 160 °C, kombinaciji nosača maltodekstrina i arapske gume u omjeru 50:50 te omjeru suhe tvari ekstrakta i nosača 1:2. Prema Clarku (2003) sadržaj suhe tvari u prahu trebao bi biti veći od 95 % jer visoki sadržaj suhe tvari omogućuje korištenje praha u tehnološke svrhe te povećava stabilnost njegovih fizičkih svojstava. Većina proizvedenih prahova u ovom istraživanju zadovoljava navedeni kriterij.

Prema rezultatima analize varijance iz tablice 7, sva tri promjenjiva faktora (temperatura, omjer suhe tvari ekstrakta i nosača, vrsta nosača) imaju značajan utjecaj na udio suhe tvari u prahovima. Udio suhe tvari u prahovima sušenim pri temperaturama 120 °C, 160 °C i 200 °C iznose 94,83 %, 95,96 % i 96,49 %, respektivno. Iz rezultata u tablici 7 vidljivo je povećanje udjela suhe tvari s porastom temperature sušenja. Na višoj temperaturi sušenja brzina prijenosa topline na čestice je veća, što osigurava veću pogonsku silu za isparavanje vlage (Fazaeli i sur., 2012). Ovi rezultati u skladu su s istraživanjem Lourenco i sur. (2020) u kome su inkapsulirani ekstrakti kore ananasa s arapskom gumom i maltodekstrinom proizvedeni pri temperaturi sušenja od 150 °C imali veći sadržaj vlage u odnosu na one dobivene sušenjem na 190 °C. Povećanje temperature ulaznog zraka dovelo je do redukcije vlage prahova, odnosno povećanja udjela suhe tvari. To može biti rezultat različitih brzina sušenja između kapljice uzorka zbog njihovih različitih fizikalnih svojstava, navode oni. Također u radu Tran i sur. (2018) prahovi ekstrakta lista limunske trave sušeni raspršivanjem na 110 °C imali su najveći sadržaj vlage (13,11%) dok su oni sušeni pri 150 °C imali najniži sadržaj vlage (8,49%).

Prahovi za koje je korišten nosač maltodekstrin imaju veći udio suhe tvari od prahova za koje je korištena kombinacija maltodekstrina i arapske gume. To je u skladu s rezultatima u radu Caliskan i Dirim (2017) gdje je sadržaj vlage prahova špinata s MD niži od prahova s GA

najvjerojatnije zbog većeg početnog sadržaj vlage GA od MD-a. Tran i sur. (2018) također su u svom radu izvijestili da je najveći udio suhe tvari određen u prahu ekstrakta listova limunske trave s maltodekstrinom, a najniži u prahu s arapskom gumom, 92,4 % i 89,1 %, respektivno, dok je prah za koji je korištena mješavina GA i MD sadržavao 91,5 % suhe tvari. Arapska guma ima veći kapacitet vezanja vode od MD što rezultira manjim isparavanjem vlage tijekom sušenja (Khuenpet i sur., 2016). Isto tako razlike između kemijske strukture nosača (GA je složeni heteropolisaharid s razgranatom strukturom, koja sadrži kraće lance i hidrofilne skupine) mogu rezultirati različitim sadržajem vlage prahova (Du i sur., 2014).

#### 4.1.3. Topljivost

Vrijednosti za topljivost prahova prikazane u tablici 6 kreću se od 82,82 % do 91,53 %. Prah najmanje topljivosti 82,82 % dobiven je sušenjem na 120 °C pri omjeru suhe tvari ekstrakta i nosača 1:3 te nosaču maltodekstrinu, dok je prah najbolje topljivosti 91,53 % proizveden sušenjem na 200 °C pri omjeru suhe tvari ekstrakta i nosača 1:3 te kombinaciji maltodekstrina i arapske gume (50:50). Topljivost prahova utječe na dostupnost inkapsuliranih spojeva kada se prah ukomponira hranu. Nadalje, slaba topljivost prahova može uzrokovati teškoće u daljnjim procesima prerade (Daza i sur., 2016). Prikazane vrijednosti topljivosti ukazuju na to da su prahovi dobro topljivi u vodi. Dobra topljivost je i očekivana jer su materijali koji se koriste kod sušenja raspršivanjem visokotopljivi (Lourenco i sur., 2020).

Iz prikazanih rezultata analize varijance u tablici 7 vidljivo je da se porastom temperature sušenja povećava topljivost dobivenih prahova. Takvi rezultati mogu se objasniti činjenicom da povišenje ulazne temperature sušenja za isti tip nosača rezultira proizvodnjom praha većih čestica koje su teže te zato lakše tonu, dok manje čestice koje su lakše ostaju plutati na površini vode. Zbog toga prahovi s manjim česticama, proizvedeni na nižim ulaznim temperaturama imaju manju topljivost (Lourenco i sur., 2020). U skladu s time su i rezultati u radu Tran i sur. (2018) u kojem je povišenjem ulazne temperature sa 110 °C na 150 °C za proces sušenja raspršivanjem ekstrakta listova limunske trave došlo do povećanja topljivosti proizvedenih prahova sa 66,60 % na 85,73 %.

Utjecaj vrste nosača na topljivost u korelaciji je s udjelom vlage u prahovima. Nizak udio vlage prahova povezan je s bržim otapanjem, odnosno vrijednosti za topljivost prahova veće su što je udio vlage manji (Goula i Adamopoulos, 2004). Navedena tvrdnja u skladu je s rezultatima provedenog pokusa u ovom istraživanju. Iz rezultata u tablici 7 je vidljivo da prahovi za čiju je proizvodnju korištena mješavina maltodekstrina i arapske gume imaju manji

udio vlage te posljedično bolju topljivost u odnosu na prahove za koje je korišten nosač maltodekstrin koji sadrže više vlage te su slabije topljivi.

U istraživanju koje su proveli Tomsone i sur. (2020) na prahovima ekstrakta listova hrena izvijestili su da je topljivost za omjere suhe tvari ekstrakta i nosača maltodekstrina i arapske gume od 20:80, 50:50 i 80:20 iznosila 89,71 %, 84,70 % i 80,74 %, respektivno. Slični rezultati su objavljeni i u radu Daza i sur. (2016) te Pui i sur. (2020). U rezultatima prikazanim u tablici 7 trend povećanja topljivosti prahova s povećanjem omjera nosača i suhe tvari primjetan je pri promjeni omjera 1:2 na 1:3. Sveukupno, najveću topljivost imali su prahovi s omjerom suhe tvari ekstrakta i nosača 1:1, a najmanju pri omjeru 1:2.

#### 4.1.4. Higroskopnost

Higroskopnost prahova dobivenih sušenjem raspršivanjem ekstrakata listova koprive prikazana je u tablici 6. Najmanju higroskopnost  $10,03 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$  ima prah dobiven na temperaturi sušenja  $120 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , uz nosač maltodekstrin te omjeru suhe tvari ekstrakta i nosača 1:3. Najveću higroskopnost  $26,19 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  ima prah dobiven pri temperaturi sušenja  $120 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , mješavini maltodekstrina i arapske gume (50:50) te omjeru suhe tvari ekstrakta i nosača 1:1.

Prema analizi varijance iz tablice 7, različite temperature sušenja, omjeri suhe tvari ekstrakta i nosača te vrsta nosača imaju značajan utjecaj na higroskopnost prahova. Prahovi s kombinacijom MD + GA imaju veću higroskopnost od prahova s MD. Bazari i Kumar (2016) proveli su istraživanje utjecaja nosača maltodekstrina (DE10 i DE20), arapske gume te njihove kombinacije na svojstva prahova soka cikle. Prema rezultatima tog rada, najveću higroskopnost imao je prah s maltodekstrinom MD20 i arapskom gumom i to  $19,33 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ . Prah za koji je korištena samo arapska guma ima veću higroskopnost ( $18,11 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) od prahova za koje je korišten maltodekstrin DE10 ( $14,20 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) te maltodekstrin DE20 ( $17,23 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ ). Razlog veće higroskopnosti prahova koji sadrže arapsku gumu vjerojatno je stvaranje veza između vodika iz vode s prisutnim hidroksilnim grupama u strukturi arapske gume. S druge strane, mikrokapsule maltodekstrina imaju sferičan oblik i glatku površinu, a takva morfologija može smanjiti upijanje vode, odnosno higroskopnost tijekom skladištenja (Maia i sur., 2019). Navedene tvrdnje te rezultati drugih znanstvenika u skladu su s rezultatima ovog istraživanja u kojemu prahovi s kombinacijom MD i GA imaju veću higroskopnost od prahova s MD.

Iz tablice 7 vidljivo je da se povećanjem koncentracije nosača u odnosu na suhu tvar ekstrakta smanjuje higroskopnost prahova. Mishra i sur. (2013) ispitali su utjecaj

koncentracije nosača maltodekstrina i ulazne temperature na fizikalna svojstva praha ekstrakta amle. Koncentracija maltodekstrina imala je značajan utjecaj na higroskopnost amla praha. Pri najvišoj koncentraciji maltodekstrina od 9 % određena je najniža higroskopnost proizvedenog praha od  $46,03 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ , dok je pri najnižoj koncentraciji maltodekstrina od 3 % iznosila  $53,01 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ . Maltodekstrin ima svojstvo niske higroskopnosti te je ovim rezultatima potvrđena značajna uloga nosača u procesu sušenja raspršivanjem kako bi se proizveli prahovi što boljih svojstava (Tonon i sur., 2008).

Vrijednosti higroskopnosti prahova ekstrakta koprive proizvedenih pri temperaturama  $120 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $160 \text{ }^{\circ}\text{C}$  i  $200 \text{ }^{\circ}\text{C}$  iznose  $16,69 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ ,  $17,37 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$  i  $17,76 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ , respektivno. Ovi rezultati u skladu su s istraživanjem Fernandes i sur. (2013) o utjecaju uvjeta sušenja raspršivanjem na svojstva praha ulja ružmarina. Niže vrijednosti higroskopnosti prahova dobivene su kada su korištene najniže temperature sušenja, što se može objasniti činjenicom da prah proizveden u tim uvjetima ima veći udio vlage i posljedično niži koncentracijski gradijent vode između praha i atmosfere (Fernandes i sur., 2013).

#### 4.2. SADRŽAJ FENOLNIH SPOJEVA I INKAPSULACIJSKI KAPACITET INKAPSULATA EKSTRAKTA LISTA KOPRIVE

**Tablica 8.** Koncentracija ukupnih i površinskih fenola te inkapsulacijski kapacitet u prahovima dobivenim sušenjem raspršivanjem ekstrakta lista koprive (GA, arapska guma; MD, maltodekstrin)

UZORAK	TEMPERATURA	NOSAČ	OMJER EKSTRAKT:NOSAČ	UKUPNI FENOLI (mg g <sup>-1</sup> s. tv. ekstrakta)	POVRŠINSKI FENOLI (mg g <sup>-1</sup> s. tv. ekstrakta)	INKAPSULACIJSKI KAPACITET (%)
1	120	MD	1:1	31,91 ± 0,10	0,76 ± 0,01	97,61 ± 0,04
2	120	MD+GA (50:50)	1:1	29,68 ± 0,68	0,87 ± 0,03	97,07 ± 0,16
3	120	MD	1:2	30,70 ± 0,82	0,46 ± 0,03	98,51 ± 0,04
4	120	MD+GA (50:50)	1:2	34,34 ± 0,47	0,40 ± 0,02	98,83 ± 0,09
5	120	MD	1:3	28,28 ± 0,27	0,45 ± 0,02	98,40 ± 0,04
6	120	MD+GA (50:50)	1:3	32,81 ± 0,17	0,42 ± 0,03	98,72 ± 0,09
7	160	MD	1:1	29,37 ± 1,08	0,75 ± 0,02	97,45 ± 0,16
8	160	MD+GA (50:50)	1:1	30,17 ± 0,14	0,60 ± 0,01	98,03 ± 0,06
9	160	MD	1:2	29,33 ± 0,71	0,33 ± 0,02	98,87 ± 0,04
10	160	MD+GA (50:50)	1:2	32,27 ± 0,68	0,39 ± 0,02	98,78 ± 0,04
11	160	MD	1:3	24,22 ± 0,74	0,74 ± 0,01	96,95 ± 0,15
12	160	MD+GA (50:50)	1:3	28,11 ± 0,51	0,58 ± 0,04	97,94 ± 0,19
13	200	MD	1:1	27,10 ± 0,05	0,90 ± 0,03	96,68 ± 0,10
14	200	MD+GA (50:50)	1:1	24,16 ± 0,15	1,08 ± 0,04	95,52 ± 0,20
15	200	MD	1:2	28,72 ± 0,25	0,95 ± 0,01	96,68 ± 0,00
16	200	MD+GA (50:50)	1:2	35,08 ± 0,15	0,94 ± 0,01	97,32 ± 0,03
17	200	MD	1:3	13,86 ± 0,24	1,15 ± 0,02	96,13 ± 0,03
18	200	MD+GA (50:50)	1:3	17,00 ± 0,11	0,81 ± 0,03	97,47 ± 0,09

**Tablica 9.** Analiza varijance utjecaja omjera suhe tvari ekstrakta i nosača, vrste nosača i temperature sušenja na koncentraciju ukupnih i površinskih fenola, inkapsulacijski kapacitet u prahovima ekstrakta lista koprive na 99 %-tnom nivou vjerojatnosti

	N	UKUPNI FENOLI (mg g <sup>-1</sup> s. tv. ekstrakta)	POVRŠINSKI FENOLI (mg g <sup>-1</sup> s. tv. ekstrakta)	INKAPSULACIJSKI KAPACITET (%)
<b>Temperatura</b>		p<0,01	p<0,01	p<0,01
<b>120 °C</b>	12	31,29 ± 0,15 <sup>b</sup>	0,56 ± 0,01 <sup>a</sup>	98,19 ± 0,03 <sup>c</sup>
<b>160 °C</b>	12	28,91 ± 0,15 <sup>a</sup>	0,56 ± 0,01 <sup>a</sup>	98,00 ± 0,03 <sup>b</sup>
<b>200 °C</b>	12	29,44 ± 0,15 <sup>a</sup>	0,97 ± 0,01 <sup>b</sup>	96,63 ± 0,03 <sup>a</sup>
<b>Nosač</b>		p<0,01	p<0,01	p<0,01
<b>MD</b>	18	28,81 ± 0,12 <sup>a</sup>	0,72 ± 0,01 <sup>b</sup>	97,47 ± 0,02 <sup>a</sup>
<b>MD+GA (50:50)</b>	18	30,95 ± 0,12 <sup>b</sup>	0,68 ± 0,01 <sup>a</sup>	97,74 ± 0,02 <sup>b</sup>
<b>Omjer ekstrakt:nosač</b>		p<0,01	p<0,01	p<0,01
<b>1:1</b>	12	28,73 ± 0,15 <sup>a</sup>	0,82 ± 0,01 <sup>c</sup>	97,06 ± 0,03 <sup>a</sup>
<b>1:2</b>	12	31,74 ± 0,15 <sup>b</sup>	0,58 ± 0,01 <sup>a</sup>	98,17 ± 0,03 <sup>c</sup>
<b>1:3</b>	12	29,17 ± 0,15 <sup>a</sup>	0,69 ± 0,01 <sup>b</sup>	97,60 ± 0,03 <sup>b</sup>
<b>Grand mean</b>	36	29,88 ± 2,95	0,70 ± 0,25	97,61 ± 0,97

\*a,b,c – različite oznake unutar stupca odnose se na statistički značajne razlike razmatrane na razini 95 %-tnog intervala pouzdanosti

#### 4.2.1. Koncentracija ukupnih fenola (UF)

Koncentracije ukupnih fenola (UF) u prahovima proizvedenim sušenjem raspršivanjem ekstrakta listova koprive, prikazane u tablici 8, određene su u rasponu vrijednosti od 24,16 do 35,08 mg GAE g<sup>-1</sup> s. tv. ekstrakta. Najveća vrijednost koncentracije fenola 35,08 mg GAE g<sup>-1</sup> s. tv. ekstrakta određena je u prahu dobivenom pri temperaturi 200 °C, s omjerom suhe tvari ekstrakta i nosača 1:2 kada je korištena kombinacija maltodekstrina i arapske gume u omjeru 50:50. S druge strane, najniža koncentracija UF 24,16 mg GAE g<sup>-1</sup> s. tv. ekstrakta. određena je pri uvjetima sušenja 200 °C, omjeru suhe tvari ekstrakta i nosača 1:1, kombinaciji maltodekstrina i arapske gume u omjeru 50:50.



Analiza varijance (ANOVA) za utjecaj temperature, vrste nosača te omjera suhe tvari ekstrakta i nosača na koncentraciju ukupnih i površinskih fenola, inkapsulacijski kapacitet u prahovima ekstrakta lista koprive prikazana je u tablici 9. Prema analizi varijance različite temperature sušenja, omjeri suhe tvari ekstrakta i nosača, vrsta nosača imaju značajan utjecaj na koncentraciju ukupnih fenola. Prahovi s maltodekstrinom i arapskom gumom u omjeru 50:50 imaju veće koncentracije UF u odnosu na prahove s maltodekstrinom. U istraživanju Bazari i Kumar (2016) o utjecaju nosača maltodekstrina (DE10 i DE20), arapske gume te njihove kombinacije na svojstva prahova soka cikle najveći ukupni sadržaj fenola određen je za prahove s AG i MD (DE20) 26,36 mg GAE 100 g<sup>-1</sup>. Upotreba jednog nosača za inkapsuliranje ne jamči najveću učinkovitost. Maltodekstrin ima loše emulgirajuće svojstvo zbog prisutnost hidroksilnih skupina koje pogoduju vlaženju, stvarajući ograničenje u inkapsuliranju (Waterhouse i sur., 2017). Zbog toga se koristiti u kombinaciji s drugim inkapsulirajućim materijalima kako bi se smanjio gubitak hlapljivih spojeva tijekom postupka sušenja u konačnom proizvodu (Soottitantawat i sur., 2015).

Niža koncentracija UF u prahovima s omjerom ekstrakta i nosača 1:1 u odnosu na omjer 1:2 može biti posljedica manjeg udjela nosača u odnosu na suhu tvar ekstrakta. Uloga nosača je inkapsuliranje bioaktivnih spojeva osjetljivih na okolne uvjete pa je posljedično manje inkapsuliranih fenola pri nižoj koncentraciji nosača (Jafari i sur., 2008). Nadalje, promjenom omjera suhe tvari ekstrakta i nosača na 1:3 ponovno je došlo do smanjenja koncentracije UF.

U istraživanju koje su proveli Tran i sur. (2018) koncentracije UF praha limunske trave smanjuju se povećanjem temperature sušenja raspršivanjem. Koncentracija UF smanjila se s 3,02 na 2,12 mg GAE 100 g<sup>-1</sup> s.tv.ekstrakta. pri povećanju temperature sa 110 °C na 150 °C. Fenolni spojevi su bioaktivni spojevi koji su osjetljivi na okolne uvjete pa tako i na visoku temperaturu pri kojoj može doći do toplinske razgradnje (Mishra i sur., 2014). Navedena tvrdnja te rezultati istraživanja Tran i sur. (2018) mogu se primijeniti na prahove ekstrakta koprive u kojima je povećanjem temperature sušenja sa 120 °C na 160 °C došlo do smanjena koncentracije UF s 31,29 mg GAE g<sup>-1</sup> s. tv. ekstrakta na 28,91 mg GAE g<sup>-1</sup> s. tv. ekstrakta. Nadalje u prahovima proizvedenim na 200 °C vidljivo je blago povećanje koncentracije UF u odnosu na prahove proizvedene na 160 °C. Razlog povećanja koncentracije UF u prahu iznad 160 °C može biti polimerizacija kao i sinteza polifenola na 200 °C, što povećava ukupni sadržaj fenola u prahu (Mishra i sur., 2014).

#### 4.2.2. Koncentracija površinskih fenola (PF)

U tablici 8 prikazani su rezultati za koncentracije površinskih fenola (PF) u prahovima ekstrakta listova koprive koje se kreću u rasponu od 0,33 mg g<sup>-1</sup> s. tv. ekstrakta do 1,15 mg g<sup>-1</sup> s. tv. ekstrakta. Najveća vrijednost koncentracije PF 1,15 mg GAE g<sup>-1</sup> s. tv. ekstrakta. određena je u prahu dobivenom pri temperaturi 200 °C, s omjerom suhe tvari ekstrakta i nosača 1:3 kada je korišten nosač maltodekstrin. Najmanja koncentracija PF 0,33 mg GAE g<sup>-1</sup> s. tv. ekstrakta. određena je u prahu dobivenom pri temperaturi 160 °C, s omjerom suhe tvari ekstrakta i nosača 1:2 kada je korišten nosač maltodekstrin.

Prema analizi varijance u tablici 9 različite temperature sušenja, omjeri suhe tvari ekstrakta i nosača, vrsta nosača imaju značajan utjecaj na koncentraciju ukupnih fenola. U prahovima ekstrakta koprive proizvedenih s nosačem maltodekstrinom koncentracija površinskih fenola veća je u odnosu na prahove kod kojih je korištena kombinacija maltodekstrina i arapske gume u omjeru 50:50. Iz takvih rezultata (tablica 9) vidljivo je da je maltodekstrin u usporedbi s MD i GA (50:50) lošiji nosač koji pri sušenju raspršivanjem inkapsulira manje fenolnih spojeva, pa je posljedično u prahovima s maltodekstrinom veća koncentraciju površinskih fenola. Samostalno, maltodekstrin kao nosač ima nižu učinkovitost od kombinacije MD i GA vjerojatno zbog slabog svojstva emulgiranja i niskog kapaciteta stvaranja zaštitnog filma (Navarro-Flores i sur., 2020).

Povećanjem temperature do 200 °C došlo je do povećanja koncentracije PF. Ovakvi rezultati možda su posljedica polimerizacije i sinteze polifenola koja se događa na 200 °C (Mishra i sur., 2014). Pri omjeru suhe tvari ekstrakta i nosača 1:2 u prahovima ekstrakta koprive određena je najmanja koncentracija površinskih fenola što je u skladu s rezultatima koncentracije ukupnih fenola koja je pri istom omjeru bila najveća. Slične rezultate navode Tolun i sur. (2016) u svom istraživanju inkapsuliranog polifenolnog sadržaja grožđa u kojem je pad koncentracije PF posljedica povećanja nosača u odnosu na suhu tvar grožđa.

#### 4.2.3. Inkapsulacijski kapacitet

Inkapsulacijski kapacitet, prikazan u tablici 8 određen je u rasponu od 95,52% do 98,87 %, što ukazuje na odlično inkapsuliranje fenolnih spojeva koprive pri svim primijenjenim temperaturama, vrstama nosača te omjerima suhe tvari ekstrakta i nosača. Najveći inkapsulacijski kapacitet 98,87 % određen je za prah proizveden pri 160 °C, omjeru suhe tvari ekstrakta i nosača 1:2 te nosaču maltodekstrinu, a najniži 95,52 % pri temperaturi 200 °C

omjeru suhe tvari ekstrakta i nosača 1:1 te nosaču MD+GA (50:50). Kako vrijednost inkapsulacijskog kapaciteta direktno ovisi o koncentraciji ukupnih i površinskih fenola, uvjeti sušenja raspršivanjem koji rezultiraju većom koncentracijom ukupnih fenola dat će i bolji inkapsulacijski kapacitet.

Prema rezultatima analize varijance iz tablice 9 sva tri promjenjiva faktora (temperatura, omjer suhe tvari ekstrakta i nosača, vrsta nosača) prilikom sušenja raspršivanjem imaju značajan utjecaj na inkapsulacijski kapacitet fenolnih spojeva. Inkapsulacijski kapacitet bolji je u prahovima u kojima je korištena kombinacija maltodekstrina i arapske gume u omjeru 50:50. Arapska guma ima bolja emulgirajuća svojstva od maltodekstrina. Nadalje, arapska guma i maltodekstrin su visoko topljivi materijali. Zbog toga kada uzorak za sušenje prolazi kroz spray dryer, mješavina MD i GA može zarobiti, odnosno inkapsulirati fenolne spojeve (Tolun i sur., 2016). Ova tvrdnja može se primijeniti na rezultate inkapsulacijskog kapaciteta ovog istraživanja. Također, u istraživanju Zokti i sur. 2016 na inkapsulatima ekstrakta listova zelenog čaja kombinacija MD i GA dala je veći inkapsulacijski kapacitet nego kad je samostalno korišteni maltodekstrin.

Nadalje, povećanje udjela nosača s 1:1 na 1:2 u odnosu na suhu tvar ekstrakta pozitivno utječe na inkapsulacijski kapacitet. Pri omjeru s. tv. ekstrakta i nosača 1:1, udio nosača nije bio dovoljan kako bi inkapsulirao sve fenolne spojeve nasuprot prahovima s omjerom s. tv. ekstrakta i nosača 1:2 u kojima je udio nosača bio dovoljan za inkapsulaciju više fenolnih spojeva te veći inkapsulacijski kapacitet. Ovi rezultati u skladu su s istraživanjem Akdeniz i sur. (2017) u kojem je povećanjem omjera nosača i uzorka s 10:1 na 20:1 došlo do povećanja inkapsulacijskog kapaciteta fenolnih spojeva u prahovima kože luka. Također, iz rezultata u tablici 9 vidljivo je da su najbolji inkapsulacijski kapaciteti određeni za ekstrakte sušene pri 120 °C. Daljnjim povećanjem na 160 i 200 °C inkapsulacijski kapacitet se smanjuje. Fenolni spojevi su bioaktivni spojevi koji su osjetljivi na okolne uvjete pa tako i na visoku temperaturu pri kojoj može doći do toplinske razgradnje (Mishra i sur., 2014). Stoga, moguće je donijeti zaključak da je pri temperaturama od 160 i 200 °C došlo do razgradnje fenolnih spojeva te posljedično smanjenja inkapsulacijskog kapaciteta.

## 5. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja, dobivenih rezultata i prezentirane rasprave može se zaključiti sljedeće:

1. Primjena procesa sušenja raspršivanjem ekstrakta lista koprive pokazala se učinkovitom u proizvodnji inkapsulata poželjnih fizikalno-kemijskih svojstava bogatih fenolnim spojevima.

2. Eksperimentalno najbolje dobiveno iskorištenje procesa sušenja raspršivanjem ekstrakta lista koprive iznosi 87,87 %, najveći udio suhe tvari 98,30 %, najbolja topljivost 91,53 %, najmanja higroskopnost 10,03 g 100 g<sup>-1</sup>. Najveća koncentracije ukupnih fenola je 35,08 mg GAE g<sup>-1</sup> s. tv. ekstrakta, najmanja koncentracija površinskih fenola od 0,33 mg g<sup>-1</sup> s. tv. ekstrakta te najveći inkapsulacijski kapacitet je 98,87 %.

3. Povećanjem temperature sušenja povećava se iskorištenje procesa, udio suhe tvari i topljivost, ali i higroskopnost. Povećanje udjela nosača u omjeru suhe tvari ekstrakta i nosača pozitivno utječe na iskorištenje procesa, sadržaj suhe tvari i higroskopnost, dok se topljivost smanjuje. Upotreba maltodekstrina rezultira boljim iskorištenjem, udjelom suhe tvari i manjom higroskopnosti, dok prahovi s maltodekstrinom i arapskom gumom (50:50) imaju bolju topljivost.

4. Prema statističkoj obradi rezultata, za proizvodnju prahova najboljih fizikalno-kemijskim karakteristika mogu se izdvojiti sljedeći uvjeti procesa: temperatura sušenja 200 °C, maltodekstrin te omjer suhe tvari ekstrakta i nosača 1:3.

5. Povećanje temperature sušenja rezultira smanjenjem koncentracija ukupnih fenola i inkapsulacijskog kapaciteta te povećanjem koncentracije površinskih fenola. Nadalje, povećanjem udjela nosača u odnosu na suhu tvar ekstrakta s 1:1 na 1:2, povećava se koncentracija ukupnih fenola i inkapsulacijski kapacitet, dok daljnjim povećanjem na 1:3 to nije slučaj. Kombinacija maltodekstrina i arapske gume (50:50) učinkovitija je za inkapsulaciju fenolnih spojeva i inkapsulacijski kapacitet u odnosu na maltodekstrin.

6. Prema statističkoj obradi rezultata, za proizvodnju prahova najboljeg inkapsulacijskog kapaciteta, odnosno najviše koncentracije ukupnih i najmanje koncentracije površinskih fenola, mogu se izdvojiti sljedeći uvjeti procesa: temperatura sušenja 120 °C, maltodekstrin i arapska guma (50:50) te omjer suhe tvari ekstrakta i nosača 1:2.

## 6. LITERATURA

Abadio, F. D. B., Domingues, A. M., Borges, S. V., Oliveira, V. M., 2004. Physical properties of powdered pineapple (*Ananas comosus*) juice effect of maltodextrin concentration and atomization speed. *J. Food Eng.* **64**, 285–287.

Ahmed, I., Niazi, M. B. K., Jahan, Z.; Naqvi, S. R. (2018) Effect of drying parameters on the physical, morphological and thermal properties of spray-dried inulin. *J. Polym. Eng.* **38**, 775–783.

Akdeniz, B., Sumnu, G., Şahin, S. (2017) The effects of maltodextrin and gum Arabic on encapsulation of onion skin phenolic compounds. *Chemical Engineering Transactions* **57**, 1891–1896.

Akhavan Mahdavi, S., Jafari, S. M., Assadpour, E., Dehnad, D. (2016) Microencapsulation Optimization of Natural Anthocyanins with Maltodextrin, Gum Arabic and Gelatin. *Int. J. Biol. Macromol.* **85**, 379–385.

Anandharamakrishnan, C., Ishwarya, S.P. (2015) *Spray Drying Techniques for Food Ingredient Encapsulation*. John Wiley & Sons, Ltd., Hoboken.

Araujo-Diaz, S. B., Leyva-Porras, C., Aguirre-Banuelos, P., Alvarez-Salas, C., Saavedra-Leos, Z. (2017) Evaluation of the physical properties and conservation of the antioxidants content, employing inulin and maltodextrin in the spray drying of blueberry juice. *Carbohydrate Polymers* **167**, 317–325.

Arpagaus, C., John, P., Collenberg, A., Rützi, D. (2017) Nanocapsules formation by nano spray drying. U: *Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceutical Industries*; Elsevier: Gorgan, Iran, 346–401.

Assadpour, E., Jafari, S. M. (2019) Advances in spray-drying encapsulation of food bioactive ingredients: From microcapsules to nanocapsules. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **10**, 103–131.

Bakar, J., Ee, S. C., Muhammad, K., Hashim, D. M., Adzahan, N. (2013) Spray-drying optimization for red pitaya peel (*Hylocereus polyrhizus*). *Food Bioproc. Tech.* **6**, 1332–1342.

- Barlow S. M. (2013) European legislative framework controlling the use of food additives. U: *Essential guide to food additives. RSC Publishing, Cambridge*, 44–53
- Bednarska, M. A., Janiszewska-Turak, E. (2020) The influence of spray drying parameters and carrier material on the physico-chemical properties and quality of chokeberry juice powder. *J. Food Sci. Technol.* **57**, 564–577.
- Bhandari B.R., Datta N., Howes T. (1997) Problem associated with Spray drying of sugar-rich foods. *Drying Technol.* **15**, 671–84.
- Blekić, M., Režek Jambrak, A., Chemat, F. (2011) Mikrovalna ekstrakcija bioaktivnih spojeva. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, **3 (1)**, 32–47.
- Carvalho, A. R., Costa, G., Figueirinha, A., Liberal, J., Prior, J. A. V., Lopes, M. C., Cruz, M. T.; Batista, M. T. (2017) *Urtica* spp. Phenolic composition, safety, antioxidant and anti-inflammatory activities. *Food Res. Int.* **99**, 485–494.
- Champagne, C. P., Fustier, P. (2007) Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Current Opinion in Biotechnology*, **18**, 184–190.
- Coimbra, P. P. S., Cardoso, F. S. N., Andrade Gonçalves, É. C. B. (2020) Spray-drying wall materials: relationship with bioactive compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 1–18.
- Dai, J., Mumper, R. J., (2010) Plant phenolics: extraction, analysis and their anticancer properties. *Molecules.* **15**, 7313–7352.
- Daza, L. D., Fujita, A., Fávaro-Trindade, C. S., Rodrigues-Ract, J. N., Granato, D., Genovese, M. I. (2016) Effect of Spray Drying Conditions on the Physical Properties of Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) Fruit Extracts. *Food Bioprod. Process.* **97**, 20–29.
- De Souza, V. B., Thomazini, M., Balieiro, J. C. D. C., Fávaro-Trindade, C. S. (2015) Effect of Spray Drying on the Physicochemical Properties and Color Stability of the Powdered Pigment Obtained from Vinification Byproducts of the Bordo Grape (*Vitis labrusca*). *Food Bioprod. Process.* **93**, 39–50.
- Dias, D. R., Botrel, D. A., Fernandes, R., Borges, S. V., (2017) Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods. *Current Opinion in Food Science*, **13**.

- Drosou, C. G., Krokida, M. K., Biliaderis, C. G. (2017) Encapsulation of bioactive compounds through electrospinning/electrospraying and spray drying: A comparative assessment of foodrelated applications. *Drying Technology* **35** (2), 139–162.
- Du J., Ge Z.Z., Xu Z., Bo Zou B., Zhang Y., Li C.M. (2014) Comparison of the efficiency of five different drying carriers on the spray drying of persimmon pulp powders. *Dry Technol* **32**, 1157–1166.
- Đorđević, V., Balanč, B., Belščak-Cvitanović, A., Lević, S., Trifković, K., Kalušević, A., Kostić, I., Komes, D., Bugarski, B., Nedović, V. (2015) Trends in Encapsulation Technologies for Delivery of Food Bioactive Compounds. *Food Engineering Review*, **7**, 452–490.
- Đorđević, V., Paraskevopoulou, A., Mantzouridou, F., a Laolu, S., Pantić, M., Bugarski, B., Nedović, V. (2015) Encapsulation Technologies for Food Industry. U: *Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and Quality Food*.
- Fazaeli, M., Emam-Djomeh, Z., Ashtari, A. K., Omid, M. (2012) Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. *Food Bioprod. Process.* **90**, 667–675.
- Fernandes R. V., Borges, S. V., Botrel, D. A. (2014) Gumarabic/starch/maltodextrin/inulin as wallmaterials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydr Polym.* **101**, 524-532.
- Goula, A. M., Adamopoulos, K. G., (2008) Effect of maltodextrin addition during spray drying of tomato pulp in dehumidified air. II. Powder properties. *Drying Technol.* **26** (6), 726–737.
- Goula, A. M., Adamopoulos, K. G. (2004) Spray-drying of tomato pulp: Effect of Feed Concentration. *Dry. Technol.* **22**, 2309–2330.
- Grauso, L., de Falco, B., Lanzotti, V., Motti, R. (2020) Stinging nettle, *Urtica dioica* L.: Botanical, phytochemical and pharmacological overview. *Phytochem.* **19**, 1341–1377.
- Grosse-Veldmann, B., Weigend, M. (2015) Weeding the nettles III: named nonsense versus named morphotypes in European *Urtica dioica* L. (*Urticaceae*). *Phytotaxa* **208** (4), 239–260.

- Gupta, C., P. Chawla, S. Arora, S. K. Tomar, and A. K. Singh. (2015) Iron microencapsulation with blend of gum arabic, maltodextrin and modified starch using modified solvent evaporation method – Milk fortification. *Food Hydrocolloids* **43**, 622–628.
- Jafari, S. M. (2017) An overview of nanoencapsulation techniques and their classification. U: *Nanoencapsulation Technologies for the Food and Nutraceutical Industries*, Academic Press, 1–34.
- Jafari, S. M., Assadpour, E., He, Y., Bhandari, B. (2008) Encapsulation efficiency of food flavours and oils during spray drying. *Drying Technology* **26 (7)**, 816–835.
- Jafari, S. M., Ghalenoei, M. G., Dehnad, D. (2017) Influence of spray drying on water solubility index, apparent density, and anthocyanin content of pomegranate juice powder. *Powder Technol.* **311**, 59–65.
- Keshani, S., Daud, W. R. W., Nourouzi, M. M., Namvar, F., Ghasemi, M. (2015) Spray drying: An overview on wall deposition, process and modeling. *Journal of Food Engineering* **146**, 152–62.
- Khuenpet K., Charoenjarasrer N., Jaijit S., Arayapoonpong S., Jittanit W. (2016) Investigation of suitable spray drying conditions for sugarcane juice powder production with an energy consumption study. *Agric Nat Resour* **50**, 139–45.
- Kőszegi, K.; Békássy-Molnár, E.; Koczka, N.; Kerner, T.; Stefanovits-Bányai, É. (2020) Changes in Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Stinging Nettle (*Urtica dioica* L.) from Spring to Autumn. *Period. Polytech. Chem. Eng.* **64**, 548–554.
- Largo Avila, E., Cortes Rodrigues, M., Ciro Velasquez, H. J. (2015) Influence of Maltodextrin and Spray Drying Process Conditions on Sugarcane Juice Powder Quality. *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín* **68 (1)**, 7509-7520.
- Lee, J., Taip, F., Abdullah, Z. (2018) Effectiveness of additives in spray drying performance: a review. *Food Research* **2**, 486-499.
- Lewandowski, A., Jaskulski, M., Zbicinski, I. (2019) Effect of foam spray drying process parameters on powder morphology. *Dry. Technol.* **37**, 535–545.



- Llompart, M., Garcia-Jares, C., Celeiro, M., Dagnac, T., (2019) Microwave-Assisted Extraction. U: *Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition)*, Academic Press, 67–77.
- Mahdi, A. A., Mohammed, J. K., Al-Ansi, W., Ghaleb, A. D. S., Al-Maqtari, Q. A., Ma, M., Ahmed, M. I., Wang, H. (2020) Microencapsulation of fingered citron extract with gum arabic, modified starch, whey protein, and maltodextrin using spray drying. *International Journal of Biological Macromolecules* **152**, 1125–1134.
- Maia, P. D. D. S., dos Santos Bai~ao, D., da Silva, V. P. F., de Araujo Calado, V. M., Queiroz, C., Pedrosa, C., Valente-Mesquita, V. L., Pierucci, A. P. T. R. (2019) Highly stable microparticles of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) juice with maltodextrin and chemically modified starch. *Food and Bioprocess Technology* **12 (12)**, 2107–2119.
- Mishra, P., Mishra, S., & Mahanta, C. Lata. (2014). Effect of maltodextrin concentration and inlet temperature during spray drying on physicochemical and antioxidant properties of amla (*Emblica officinalis*) juice powder. *Food and bioproducts processing*, **92**, 252-258.
- Nadeem, H. S., Torun, M., Ozdemir, F. (2011) Spray drying of the mountain tea (*Sideritis strica*) water extract by using different hydrocolloid carriers. *LWT Food Sci. Technol.* **44**, 1626–1635.
- Nandiyanto A. B. D., Okuyama K. (2011) Progress in developing spray-drying methods for the production of controlled morphology particles: From the nanometer to submicrometer size ranges. *Advanced Powder Technology*. **22(1)**, 1–19.
- Naser Aldeen, M. G., Mansoor, R., AlJoubbeh, M. (2015) Fluctuations of phenols and flavonoids in infusion of lemon verbena (*Lippiacitriodora*) dried leaves during growth stages. *Nutr. Food Sci.* **45**, 766–773.
- Onsaard, E., Onsaard, W. (2019) Microencapsulated Vegetable Oil Powder, Microencapsulation - Processes, U: *Technologies and Industrial Applications*, (Fabien Salaiün, ured.), IntechOpen.
- Orčić, D., Francišković, M., Bekvalac K., Svirčev, E., Beara I., Lesjak, M., Mimica- Dukić, N. (2014) Quantitative determination of plant phenolics in *Urtica dioica* extracts by high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection. *Food Chem.* **143**, 48–53.

Otles, S., Yalcin, B. (2012) Phenolic Compounds Analysis of Root, Stalk, and Leaves of Nettle. *Sci. World J.* Epub **2012**, 1–12.

Pavlović, D. M., Ašperger, D. (2013) Analitika okoliša, *Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu*, 140–165.

Pevalek-Kozlina, B. (2003): Fiziologija bilja. Profil International, Zagreb, str. 566.

Piñón-Balderrama, C. I., Leyva-Porras, C., Terán-Figueroa, Y., Espinosa-Solís, V., Álvarez-Salas, C., Saavedra-Leos, M. Z. (2020) Encapsulation of Active Ingredients in Food Industry by Spray-Drying and Nano Spray-Drying Technologies. *Processes* **8**, 889.

Phisut, N. (2012) Spray drying technique of fruit juice powder: some factors influencing the properties of product. *International Food Research Journal* **19** (4), 1297–1306.

Quek, S. Y., Chok, N. K., Swedlund, P. (2007) The physicochemical properties of spray dried watermelon powders. *Chem. Eng. Process.* **46**, 386–392.

Ramirez, M. J., Giraldo, G. I., Orrego, C. E. (2015) Modeling and stability of polyphenol in spray-dried and freeze-dried fruit encapsulates. *Powder Technology* **277**, 89–96.

Rascon, M. P., Beristain, C. I., Garcia, H. S., Salgado, M. A. (2011) Carotenoid retention and storage stability of spray-dried encapsulated paprika oleoresin using gum Arabic and Soy protein isolate as wall materials. *LWT - Food Science and Technology* **44** (2), 549–557.

Repajić, M., Cegledi, E., Kruk, V., Pedisić, S., Çınar, F., Bursać Kovačević, D., Žutić, I., Dragović-Uzelac, V. (2020) Accelerated Solvent Extraction as a Green Tool for the Recovery of Polyphenols and Pigments from Wild Nettle Leaves. *Processes* **8**, 803.

Repajić, M., Cegledi, E., Zorić, Z., Pedisić, S., Elez Garofulić, I., Radman, S., Palčić, I., Dragović-Uzelac, V. (2021) Bioactive Compounds in Wild Nettle (*Urtica dioica* L.) Leaves and Stalks: Polyphenols and Pigments upon Seasonal and Habitat Variations. *Foods (Basel, Switzerland)*, **10** (1), 190.

Rodino, S., Butu, M., (2019) Herbal Extracts – New Trends in Functional and Medicinal Beverages. U: *Functional and Medicinal Beverages, Academic Press*, 73–108,

- Saavedra-Leos, Z., Leyva-Porras, C., Araujo-Díaz, S. B., Toxqui-Teran, A, Borrás-Enriquez, A. J. (2015). Technological application of maltodextrins according to the degree of polymerization. *Molecules (Basel, Switzerland)* **20** (12): 21067–81.
- Saéñz, C., Tapia, S., Chávez, J., Robert, P. (2009) Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chem.* **114**, 616-622
- Samantha, S. C., Bruna, A. S. M., Adriana, R. M., Fabio, B., Sandro, A. R., Aline, R. C. A. (2015) Drying by spray drying in the food industry: Micro-encapsulation, process parameters and main carriers used. *African Journal of Food Science* **9** (9), 462–470.
- Santos, D., Maurício, A. C., Sencadas, V., Santos, J. D., Fernandes, M. H. Gomes, P. S. (2018) Spray Drying: An Overview. U: *Biomaterials - Physics and Chemistry - New Edition*.
- Shamaei, S., Seiedlou, S. S., Aghbashlo, M., Tsotsas, E., Kharaghani, A. (2017). Microencapsulation of walnut oil by spray drying: Effects of wall material and drying conditions on physicochemical properties of microcapsules. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **39**, 101–112.
- Sonawane, S. H., Bhanvase, B. A., Sivakumar, M., Potdar S. B. (2020) Current overview of encapsulation. U: *Encapsulation of Active Molecules and Their Delivery System. Elsevier Science Ltd*.
- Soottitantawat, A., Partanen, R., Neoh, T. L., Yoshii, H. (2015) Encapsulation of hydrophilic and hydrophobic flavors by spray drying. *Japan Journal of Food Engineering* **16** (1), 37–52.
- Taylor, L. (2005) *The Healing Power of Rainforest Herbs: A Guide to Understanding and Using Herbal Medicinals*, Square One Publishers, New York.
- Tolun, A., Altintas, Z., Artik, N. (2016) Microencapsulation of grape polyphenols using maltodextrin and gum arabic as two alternative coating materials: Development and characterization. *Journal of Biotechnology* **239**, 23–33.
- Tonon, R. V., Brabet, C., Hubinger, M. D., (2008) Influence of process conditions on the physicochemical properties of acai (*Euterpeoleraceae Mart.*) powder produced by spray drying. *J. Food Eng.* **88**, 411–418.

Tontul, I., Topuz, A. (2017) Effects of different drying methods on the physicochemical properties of pomegranate leather (pestil). *LWT - Food Science and Technology*, **80**, 294-303.

Tran, T., Nguyen, H. (2018) Effects of Spray-Drying Temperatures and Carriers on Physical and Antioxidant Properties of Lemongrass Leaf Extract Powder. *Beverages* **4**, 84.

Trifković, K., Tadić, G., Bugarski, B. (2016) Short Overview of Encapsulation Technologies for Delivery of Bioactives to Food. *Journal of Engineering & Processing Management* **8** (1).

Waterhouse, G. I. N., Sun-Waterhouse, D., Su, G., Zhao, H., Zhao, M. (2017) Spray-drying of antioxidant-rich blueberry waste extracts; interplay between waste pretreatments and spray-drying process. *Food and Bioprocess Technology* **10** (6), 1074–1092.

Whale, W. J. K., Brown, I., Rotondo, D., Heys, D.S. (2010) Plant Phenolics in the Prevention and Treatment of Cancer. U: *Bio-Farms for Nutraceuticals: Functional Food and Safety Control by Biosensors* (Giardi, M.T., Rea, G., Berra, B., ured.), Landes Bioscience, Austin, Texas.

Zokti J. A., Baharin B. S., Mohammed A. S., Abas F. (2016) Green Tea Leaves Extract: Microencapsulation, Physicochemical and Storage Stability Study. *Molecules* **21**, 940.

Zotarelli, M. F., da Silva, V. M., Durigon, A., Hubinger, M. D., Laurindo, J. B. (2017) Production of mango powder by spray drying and cast-tape drying. *Powder Technology* **305**, 447–454.

Slika 1. Uwe H. Friese, Bremerhaven (2003).

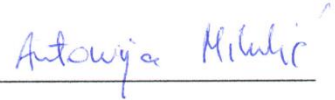
<[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Brennessel\\_1.JPG](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Brennessel_1.JPG)>. Pristupljeno 28. kolovoza 2021.

Tablica 4. Službena stranica BÜCHI Labortechnik AG

<<https://www.buchi.com/en/products/spray-drying-and-encapsulation/mini-spray-dryer-b-290>>. Pristupljeno 28. kolovoza 2021.

## IZJAVA O IZVORNOSTI

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



---

Antonija Mikulić

## STATEMENT OF ORIGINALITY

This is to certify, that the intellectual content of this thesis is the product of my own independent and original work and that all the sources used in preparing this thesis have been duly acknowledged.

*Antonija Mikulić*

---

Antonija Mikulić