

Promjene fenolnih spojeva modelnih otopina i ekstrakta lista masline pri sušenju raspršivanjem uz dodatak maltodekstrina i inulina

Dobrinčić, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2017

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:845533>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-15**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO – BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2017.

Ana Dobrinčić, 743/PI

**PROMJENE FENOLNIH SPOJEVA
MODELNIH OTOPINA I
EKSTRAKTA LISTA MASLINE
PRI SUŠENJU RASPRŠIVANJEM
UZ DODATAK
MALTODEKSTRINA I INULINA**

Ovo istraživanje je provedeno u okviru projekta „Primjena inovativnih tehnologija u proizvodnji biljnih ekstrakata kao sastojaka funkcionalne hrane (IT-PE-FF)“ financiranog sredstvima Hrvatske zaklade za znanost.

Diplomski rad izrađen je u Laboratoriju za procese konzerviranja i preradu voća i povrća na Zavodu za prehrambeno – tehnološko inženjerstvo i u Laboratoriju za procese sušenja i praćenje stabilnosti biološki aktivnih spojeva u Centru za prehrambenu tehnologiju i biotehnologiju u Zadru, Prehrambeno – biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof.dr.sc. Branke Levaj te uz pomoć asistentice dr. sc. Maje Repajić i doc. dr. sc. Zorana Zorića.

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Branki Levaj na ukazanom povjerenju, susretljivosti i suradnji. Veliko hvala asistentici dr. sc. Maji Repajić na velikom trudu i ugodnoj atmosferi tijekom rada u laboratoriju. Posebno hvala i doc. dr. sc. Zoranu Zoriću i dr. sc. Sandri Pedisić iz Laboratorija za procese sušenja i praćenje stabilnosti biološki aktivnih spojeva te dr. sc. Srećku Valiću s Instituta Ruđer Bošković, na pruženoj pomoći i ustupljenim uređajima korištenim pri izradi ovog rada.

Hvala svim prijateljima i kolegama na razumijevanju i velikoj podršci tijekom studiranja.

Najveće hvala mojoj obitelji na bezuvjetnoj potpori i vjeri u mene.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Zavod za prehrambeno – tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za procese konzerviranja i preradu voća i povrća

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

PROMJENE FENOLNIH SPOJEVA MODELNIH OTOPINA I EKSTRAKTA LISTA MASLINE PRI SUŠENJU RASPRŠIVANJEM UZ DODATAK MALTODEKSTRINA I INULINA

Ana Dobrinčić, 743/PI

Sažetak: Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj različitih nosača (maltodekstrina (MD), inulina (I) i smjese maltodekstrina i inulina (MI)) na prinos praha, učinkovitost mikroinkapsulacije ukupnih fenola i fizikalna svojstva prahova ekstrakta lista masline dobivenih sušenjem raspršivanjem. Kako bi se utvrdila optimalna temperatura (120, 150, 180 °C) te omjer uzorak:nosač (3:1, 5:1), za svaki od nosača, provedeno je sušenje modelnih otopina galne kiseline. Optimalna temperatura za sva tri korištena nosača je 150 °C. Optimalan omjer galne kiseline i nosača uz MD i MI je 5:1, a uz I 3:1. Navedeni parametri zatim su korišteni za sušenje ekstrakta lista masline. Upotrebom MI postignut je najveći prinos praha ekstrakta lista masline (39,97 %), najveća učinkovitost mikroinkapsulacije (33,81 %) i najbolja fizikalna svojstva praha, a upotrebom I najveća koncentracija fenola (128,68 mg GAE/g praha). Koncentracije ukupnih fenola u dobivenim prahovima povećane su više od tri puta u odnosu na prah lista masline prije sušenja.

Ključne riječi: list masline, sušenje raspršivanjem, maltodekstrin, inulin, ukupni fenoli

Rad sadrži: 47 stranica, 19 slika, 06 tablica, 70 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: Prof. dr. sc. Branka Levaj

Pomoć pri izradi: Dr. sc. Maja Repajić, Doc. Dr. sc. Zoran Zorić

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. Prof. dr. sc. Verica Dragović-Uzelac
2. Prof. dr. sc. Branka Levaj
3. Doc. dr. sc. Danijela Bursać Kovačević
4. Izv. prof. dr. sc. Sandra Balbino

Datum obrane: 26. rujna 2017.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Engineering
Laboratory for Technology of Fruits and Vegetables Preservation and Processing

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

INFLUENCE OF MALTODEXTRIN AND INULIN ADDITION IN SPRAY DRYING PROCESS OF GALLIC ACID MODEL SOLUTION AND OLIVE LEAVES EXTRACT

Ana Dobrinčić, 743/PI

Abstract: The aim of this research was to investigate the impact of different carriers (maltodextrin (MD), inulin (I) and mixture of maltodextrin and inulin (MI)) on yield, microencapsulation efficiency and physical properties of spray dried olive leaf extract. Spray drying of gallic acid model solution was carried out to establish optimal temperature (120, 150, 180 °C) and sample to carrier ratio (3:1, 5:1). The optimal temperature for all carriers is 150 °C. The optimal ratio is 5: 1 for MD and MI and 3: 1 for I. These parameters were then used for spray drying of olive leaves extracts. The highest yield (39.97 %), microencapsulation efficiency (33.81 %) and the best physical properties were achieved using MI, while the highest polyphenols concentration (128.68 mg GAE/g powder) was achieved using I. Total phenols in obtained powders were more than three time higher compared to the olive leaf before drying.

Keywords: olive leaf, spray drying, maltodextrin, inulin, polyphenols

Thesis contains: 47 pages, 19 figures, 06 tables, 70 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. Branka Levaj, Full professor

Technical support and assistance: PhD. Maja Repajić, PhD. Zoran Zorić

Reviewers:

1. PhD. Verica Dragović-Uzelac, Full professor
2. PhD. Branka Levaj, Full professor
3. PhD. Danijela Bursać Kovačević, Assistant professor
4. PhD. Sandra Balbino, Associate professor (substitute)

Thesis defended: 26 th September 2017

SADRŽAJ

| | |
|---|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. TEORIJSKI DIO..... | 2 |
| 2.1. MASLINA | 2 |
| 2.1.1. Kemijski sastav lista masline..... | 3 |
| 2.1.2. Pozitivni učinci na ljudsko zdravlje..... | 3 |
| 2.2. MIKROINKAPSULACIJA | 4 |
| 2.3. SUŠENJE RASPRŠIVANJEM..... | 6 |
| 2.3.1. Proces sušenja raspršivanjem | 7 |
| 2.3.2. Utjecaj procesnih parametara | 10 |
| 2.4. NOSAČI U SUŠENJU RASPRŠIVANJEM..... | 12 |
| 2.4.1. Maltodekstrin..... | 12 |
| 2.4.2. Inulin..... | 13 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 15 |
| 3.1. MATERIJALI | 15 |
| 3.1.1. Uzorak lista masline..... | 15 |
| 3.1.2. Kemikalije..... | 15 |
| 3.1.3. Aparatura..... | 15 |
| 3.1.4. Pribor..... | 16 |
| 3.2. METODE..... | 17 |
| 3.2.1. Ubrzana ekstrakcija otapalima uz povišeni tlak (ASE)..... | 17 |
| 3.2.2. Sušenje raspršivanjem..... | 17 |
| 3.2.3. Određivanje koncentracije ukupnih fenola..... | 21 |
| 3.2.4. Antioksidacijski kapacitet | 22 |
| 3.2.5. Boja..... | 23 |
| 3.2.6. Nasipna gustoća | 24 |
| 3.2.7. Rehidracija prahova | 24 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA..... | 25 |
| 4.1. PRINOS MODELNIH PRAHOVA GALNE KISELINE | 25 |
| 4.2. UČINKOVITOST MIKROINKAPSULACIJE GALNE KISELINE U MODELNIM PRAHOVIMA..... | 27 |
| 4.3. PRINOS PRAHOVA EKSTRAKTA LISTA MASLINE | 30 |
| 4.4. KONCENTRACIJE UKUPNIH FENOLA I ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITETI PRAHOVA EKSTRAKTA LISTA MASLINE | 32 |
| 4.5. UČINKOVITOST MIKROINKAPSULACIJE UKUPNIH FENOLA EKSTRAKTA LISTA MASLINE..... | 33 |

| | | |
|------|----------------------------|----|
| 4.6. | BOJA..... | 35 |
| 4.7. | NASIPNA GUSTOĆA..... | 37 |
| 4.8. | REHIDRATACIJA PRAHOVA..... | 39 |
| 5. | ZAKLJUČAK..... | 40 |
| 6. | POPIS LITERATURE..... | 41 |

1. UVOD

Pozitivni učinci maslinovog ulja, glavnog predstavnika mediteranske prehrane, na ljudsko zdravlje široko su poznati. Povezani su s mononezasićenim masnim kiselinama i bioaktivnim molekulama poput tokoferola, karotenoida i polifenola. Međutim, ulje nije jedini proizvod ove tradicionalne biljke koji pozitivno utječe na ljudsko zdravlje, veliki potencijal krije se i u listu. Lišće masline je poljoprivredni i industrijski otpad te se smatra jeftinim, obnovljivim i bogatim izvorom polifenola (Şahin i Şamlı, 2013), spojeva poznatih po antioksidacijskom učinku i pozitivnom utjecaju na zdravlje ljudi. U prehrambenoj industriji antioksidansi se dodaju kao aditivi, a uloga im je spriječiti promijene na hrani, produljiti trajnost hrane štiteći je od kvarenja uzrokovanog oksidacijom, kao što je ranjetljivost masti i promjene boje. Zbog svojih antioksidacijskih, antimikrobnih, antivirusnih i protuupalnih svojstava polifenoli imaju potencijal da zamijene nepoželjne sintetske antioksidanse u prehrambenoj industriji, ali i u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji. Ekstrakcija polifenola iz nusproizvoda prehrambene industrije kao i njihova ponovna primjena predmet je brojnih istraživanja posljednjih desetljeća.

Međutim, u primjeni polifenola postoje i određeni nedostaci kao što su slaba topljivost u vodi te osjetljivost na okolišne čimbenike kao što su izloženost svjetlu, kisiku, temperaturi i enzimima pri čemu mogu izgubiti svoju osnovnu funkciju. Da bi se očuvale njihove biokemijske funkcije primjenjuje se proces mikroinkapsulacije. Najčešće primjenjivana tehnika je sušenje raspršivanjem koje se sastoji od raspršivanja tekuće namirnice, uz primjenu nosača koji pruža zaštitu bioaktivnoj komponenti, u struji vrućeg zraka pri čemu nastaje praškasti proizvod. Uspješnost procesa sušenja raspršivanjem ovisi o odabranoj vrsti nosača te procesnim parametrima kao što su temperatura i omjer uzorka i otapala. Sušenje raspršivanjem različitih biljnih ekstrakata i voćnih sokova tema je brojnih istraživanja u kojima je cilj definiranje optimalnih uvjeta sušenja i odabir nosača. Međutim, temeljem pregleda dostupne literature primijećeno je da je sušenje raspršivanjem ekstrakta lista masline provedeno samo uz nosač kitozan (Kosaraju i sur., 2006). Pod pretpostavkom da se i drugi nosači mogu uspješno koristiti za sušenje raspršivanjem ekstrakta lista masline, ovo je istraživanje provedeno s ciljem utvrđivanja utjecaja različitih nosača na prinos praha, učinkovitost mikroinkapsulacije vodenih ekstrakata lista masline te fizikalna svojstva dobivenog praha. Istražen je utjecaj maltodekstrina i inulina, ali i koje prednosti može donijeti kombinacija ta dva nosača. Procesni parametri sušenja raspršivanjem optimirani su na modelnoj otopini galne kiseline kako bi se utvrdila optimalna vrsta nosača, temperatura te omjer uzorak/nosač koji rezultira najvećim iskorištenjem procesa.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. MASLINA

Maslina (*Olea europaea* L.) je zimzelena biljka čije nepravilno, kvrgavo i razgranato stablo može dostići visinu 3 – 13 metara. Listovi (Slika 1.) su nasuprotni, zimzeleni, kožnati, duguljasti, dugi 3 – 9 cm, široki do 3 cm, cjelovitog ruba, ušiljenog vrha, na naličju srebrnasto sivkasti. U cvatu, maslina razvija dvospolne, pravilne, sitne, bijele cvjetove, ugodna mirisa, skupljene u uspravne grozdove. Plod (Slika 1.) je mesnata, ovalna koštunica, duga 1 – 4 cm, do 2 cm u promjeru (Rapoport i sur., 2016). U početku je zelena, dozrijevanjem postane tamno modra, crna ili smeđe zelena. Plod je bogat uljem, zbog čega se prvenstveno koristi za proizvodnju ulja.



Slika 1. List i plod masline (Agroklub, 2017)

Maslina se uzgaja na više od 8 milijuna hektara u cijelom svijetu, a 98 % od toga čini područje Mediterana gdje je maslina jedna od najvažnijih poljoprivrednih kultura (Abaza i sur., 2015). Maslinarstvo predstavlja vrlo značajan gospodarski potencijal u poljoprivrednoj proizvodnji mediteranskog područja Republike Hrvatske i maslina je jedna od rijetkih mediteranskih voćnih kultura koja je u posljednjih desetak godina zabilježila povećanje proizvodnih površina i porast proizvodnje. Prema podacima Državnog zavoda za statistiku, 2014. godine u Republici Hrvatskoj više od 19 000 ha činili su maslinici, dok je 2000. godine ukupna površina maslinika iznosila 11 000 ha.

Samim uzgojem maslina, ali i proizvodnjom maslinovog ulja godišnje se proizvede značajna količina nusproizvoda (grančica i lišća) koji se mogu koristiti kao stočna hrana ili se podvrgavaju uništenju (Ahmad – Qasem i sur., 2013). Godišnje se sa svakog stabla rezidbom dobije 25 kg nusproizvoda (Abaza i sur., 2015), odnosno više od 1 tone osušenog nusproizvoda po hektaru (Spinelli i Picchi, 2010). Velika količina nusproizvoda dobije se i u procesu proizvodnje maslinovog ulja (5 – 10 % od težine maslina, ovisno koja tehnika se koristi) (Lafka i sur., 2013).

2.1.1. Kemijski sastav lista masline

Lišće masline potencijalan je izvor različitih biološki aktivnih spojeva, a posebice je bogato polifenolnim spojevima. Polifenolni spojevi lista masline su mnogobrojni, a s obzirom na glavne karakteristike molekule podijeljeni su na jednostavne fenole i kiseline, lignane, sekoiridoide (oleuropein) i flavonoide, uključujući flavone (luteolin-7-glikozid, apigenin-7-glikozid, diosmetin-7-glikozid, luteolin i diosmetin), flavonole (rutin), flavan-3-ole (katehin), supstituirane fenole (tirozol, hidroksitirozol, vanilin, vanilinska kiselina i kavaska kiselina) (Abaza i sur., 2015). Flavonoidi su prisutni u značajnijim količinama, a jednostavni fenoli i kiseline u manjim količinama. Oleuropein i drugi derivati su glavne komponente lista masline. Faktori koji mogu utjecati na kvalitativni i kvantitativni sastav fenola lista masline su starost lista, stupanj zrelosti, zemljopisno podrijetlo, sorta, udio vlage i stupanj onečišćenja sa zemljom (Şahin i Şamlı, 2013), ali i metoda ekstrakcije.

2.1.2. Pozitivni učinci na ljudsko zdravlje

List masline ima mnogo znanstveno dokazanih pozitivnih učinaka na ljudsko zdravlje. Istraživanje Goulasa i sur. (2009) otkrilo je da ekstrakt lista masline može usporiti rast stanica povezanih s rakom mozga, mokraćnog mjehura i dojke. Nadalje, snižava krvni tlak i smanjuje rizik od potencijalnih bolesti srca, a za razliku od uobičajenih lijekova ne uzrokuje nuspojave već smanjuje razinu kolesterola i triglicerida (Susalit i sur., 2011). Ima antimikrobna svojstva za učinkovitu borbu protiv bakterija i gljivica (npr. *Escherichia coli* i *Candida albicans*) (Markin i sur., 2003) te ima sposobnost borbe protiv infekcija kao što su upala pluća, hepatitis B, meningitis, malarija, tuberkuloza i infekcije uha, mokraćnog sustava i zuba. Sposobnosti ekstrakta lista masline da smanji upalu u zglobovima, u istraživanju Gong i sur. (2011), dovela je do značajnog smanjenja oticanja šapa kod štakora koji su imali artritis. Istraživanja su pokazala da oleuropein ima sposobnost smanjiti simptome, ali i pojavu bolesti mozga povezanih s godinama kao što su demencija i Alzheimerova bolest (Bright, 2016).

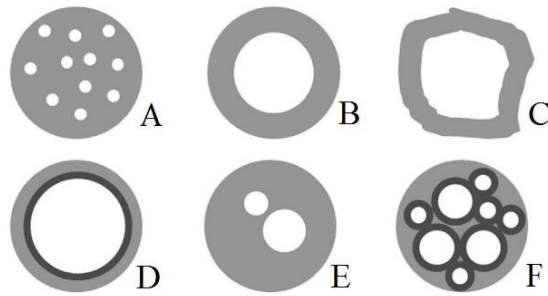
Zahvaljujući tim nedavnim znanstvenim istraživanjima i dokazanim učincima na zdravlje, popularnost ekstrakta lista masline raste. Na tržištu se danas nalazi kao dodatak prehrani, najčešće u obliku kapsula s 20 % oleuropeina (Slika 2).



Slika 2. Kapsule ekstrakta lista masline (Healths Harmony, 2017)

2.2. MIKROINKAPSULACIJA

Mikroinkapsulacija je proces oblaganja bioaktivne komponente nekom drugom tvari s ciljem očuvanja bioaktivnih svojstava obložene tvari. Oblikovane mikrokapsule su obično male kuglice čiji promjer može iznositi od nekoliko mikrometara do nekoliko milimetara. Veličina, struktura i oblik mikrokapsula ovisi o upotrebljavanim materijalima i tehnici mikroinkapsulacije, a različite vrste kapsula prikazane su na Slici 3. (Estevinho i sur., 2013.).



Slika 3. Morfologija različitih vrsta kapsula: A – matrica; B – jednostavna mikrokapsula; C – mikrokapsula nepravilnog oblika; D – višepregradna mikrokapsula; E – višejezrena mikrokapsula; F – agregati mikrokapsule (Estevinho i sur., 2013.)

Bioaktivna tvar koja je inkapsulirana naziva se jezgra materijala, aktivna tvar, punjenje ili unutarnja faza, dok se tvar koja ju obavija naziva membrana, ljuska, vanjska faza, matriks ili nosač (Fanga i Bhandari, 2010). Materijali koji se koriste kao nosači u prehrambenoj industriji moraju biti jestivi, biorazgradivi i imati sposobnost stvaranja barijere između unutarnje faze i okoliša. Osim toga, moraju pružiti maksimalnu zaštitu bioaktivne tvari od fizikalno – kemijskih parametara okoliša u kojem se nalaze, kao što su uvjeti procesiranja, transporta i skladištenja hrane, te uvjeti koji vladaju u gastrointestinalnom traktu, ne smiju reagirati s unutarnjom fazom te moraju imati dobra reološka svojstva. U tu svrhu, najčešće korišteni nosači su prirodne tvari poput (Nedović i sur., 2011):

- škroba i njegovih derivata (amiliza, amilopektin, dekstrin, maltodekstrin i dr.);
- celuloze i njenih derivata;
- biljnih izlučevina i ekstrakta (guma arabika, galaktomanani, karaja guma, pektini, topivi polisaharidi soje i dr.);
- ekstrakta morskih organizama (karagenan, alginat i dr.);
- mikrobnih i animalnih polisaharida (dekstrin, ksantan, gelan, kitozan i dr.);
- proteina (gluten, kazein, proteini sirutke, proteini soje i dr.);

- lipida (masne kiseline i alkoholi, voskovi [pčelinji vosak, karnauba vosak], gliceridi, fosfolipidi itd.);
- ostali materijali (PVP, parafin, šelak, anorganski materijali).

Ova tehnologija razvila se prije više od 60 godina i od iznimnog je značaja u prehrambenoj industriji (antioksidansi, aditivi, boje, arome, stabilizatori, probiotici, vitamini, mineralne soli), u farmaceutskoj industriji za otpuštanje aktivnih komponenti ili cjepiva, u kozmetičkoj i tekstilnoj industriji te u poljoprivredi (Estevinho i sur., 2013.). Prirodni antioksidansi, unatoč brojnim pozitivnim učincima, obično su skloni oksidaciji te su osjetljivi na toplinu i svjetlost, što ograničava njihovu primjenu u prehrambenoj industriji. Također, neki od tih spojeva pokazuju i druga ograničenja kao što su neugodan okus, nestabilnost tijekom skladištenja, prerade te u gastrointestinalnim uvjetima. Mikrokapsulacija je pouzdana tehnika kojom je moguće nadjačati ova ograničenja budući da omogućuje (Aguiar i sur., 2016):

- zaštitu osjetljivih i nestabilnih komponenti hrane od okoliša koji ih okružuje (temperatura, vlaga, zrak i svjetlo);
- poboljšanje vremena retencije hranjivih tvari u hrani;
- kontrolirano i ciljano otpuštanja inkapsuliranog sadržaja;
- maskiranje lošeg okusa i mirisa nekih tvari;
- sprječavanje neželjenih interakcija sa hranom;
- usporavanje degradacijskih procesa (oksidacije ili hidrolize);
- povećanje biodostupnosti.

Postoji nekoliko tehnika mikroinkapsuliranja, različitih karakteristika i primjene. Odabiru se ovisno o veličini i obliku željenih mikrokapsula, potrebnim kemijskim i fizikalnim svojstvima, načinu kontroliranog otpuštanja i opsegu proizvodnje. Najvažnije tehnike su sušenje raspršivanjem u struji vrućeg zraka, sušenje raspršivanjem u struji hladnog zraka, ekstruzija, koacervacija, kokristalizacija, emulgiranje, mikroinkapsuliranje fluidiziranih čestica itd. Zbog svoje jednostavnosti, učinkovitosti, povoljne cijene i fleksibilnosti najčešće korištena metoda je sušenje raspršivanjem (Estevinho i sur., 2013.).

2.3. SUŠENJE RASPRŠIVANJEM

Sušenje raspršivanjem je metoda kojom se tekuće i polutekuće otopine, suspenzije, emulzije ili paste direktno prevode u praškasti proizvod. Raspršivanjem otopine bioaktivne tvari i nosača u struji vrućeg zraka nastaju kapljice koje uklanjanjem vlage daju praškasti proizvod koji sadrži mikroinkapsuliranu bioaktivnu tvar.

Sušenje raspršivanjem u prehrambenoj industriji najprije se počelo primjenjivati u mliječnoj industriji, za proizvodnju mlijeka u prahu, sirutke i dječjih formula. Krajem 1950-ih počinje se koristiti u svrhu mikroinkapsulacije, za zaštitu od degradacije nutritivnih sastojaka hrane (Elez Garofulić, 2015). Nedović i sur. (2011) zabilježili su podatak da je 80 – 90 % svih mikroinkapsuliranih tvari dobiveno sušenjem raspršivanjem u struji toplog zraka. Brzina (5 – 100 s) i niža cijena postupka proizvodnje, visoka održivost inače reaktivnih bioaktivnih tvari, dobra stabilnost mikrokapsula i veliko iskorištenje proizvodnje, neki su od razloga tako široke primjene sušenja raspršivanjem (Byun i sur., 2010). Zbog velike brzine, vrijeme izlaganja visokoj temperaturi je izrazito kratko što omogućuje sušenje toplinski osjetljivih sastojaka hrane. Istraživanje Hammamia i Renea (1997) pokazalo je da je zbog manje potrošnje električne energije i kratkog procesa sušenja, sušenje raspršivanjem 4 – 5 puta ekonomičnije od liofilizacije. Zbog niskog udjela vlage i aktiviteta vode proizvedene mikrokapsule su otporne na mikrobiološko kvarenje i oksidacijsku degradaciju (posmeđivanje, hidrolitičke reakcije, oksidaciju lipida, autooksidaciju), a mala veličina čestica (< 40 µm) poželjna je za dobra senzorska svojstva i teksturu proizvoda. Međutim, postoje neki nedostaci vezani uz tehniku sušenja raspršivanjem kao što su složenost opreme, neujednačeni uvjeti u komori za sušenje i teška kontrola veličine čestica (Nedović i sur., 2011).

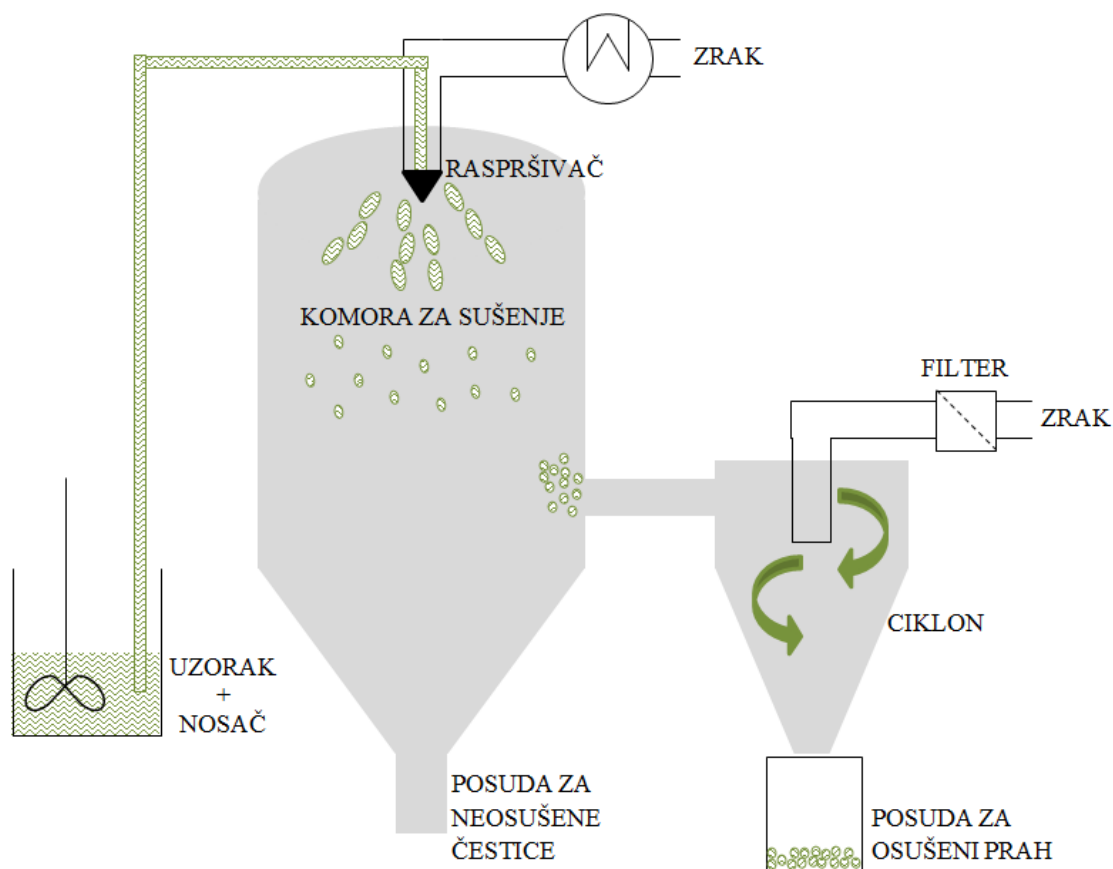
Fizikalno – kemijska svojstva konačnog proizvoda rezultat su odabranih parametara procesa sušenja i nosača, karakteristika uređaja, ali i svojstava materijala koji se suši. Neki od tih parametara su temperatura ulaznog zraka za sušenje, protok zraka, protok materijala koji se suši, brzina raspršivanja, vrsta nosača i njegova koncentracija (Obon i sur., 2009). Ukoliko je temperatura zraka u sušioniku preniska, proizvedeni prahovi će imati visok udio vlage, a ukoliko je previsoka doći će do intenzivnog isparavanja vode iz otopine i lomova na proizvedenim mikrokapsulama, te gubitka djela bioaktivnih komponenata (Gharsallaoui, 2007). Važan parametar je i temperatura ulazne otopine, koja ukoliko je previsoka smanjuje viskoznost otopine što rezultira proizvodnjom manjih mikrokapsula. Ako je temperatura ulazne otopine previsoka, može uzrokovati gubitak komponenata okusa (Gharsallaoui, 2007).

2.3.1. Proces sušenja raspršivanjem

Tekuća namirnica za sušenje se pomoću pumpe uvodi u raspršivač pri čemu nastaju sitne kapljice koje se izlažu struji zraka za sušenje. Vrući zrak potiče isparavanje vode te kada dovoljna količina tekućine ispari, preostali čvrsti materijal formira česticu i izdvaja se iz struje zraka. Prosječno vrijeme za formiranje čestice je od nekoliko milisekundi do nekoliko sekundi, a temperatura u središtu mikrokapsula uglavnom ne prelazi 100 °C čime je mogućnost za neželjene promjene na temperaturno osjetljivim spojevima smanjena. Formiranje kapljice ovisi o veličini kapi i brzini isparavanja. Prijenos topline u kapljice, prijenos tvari iz kapljice u struju plina i specifični sastojci komponenata kontroliraju proces isparavanja (Estevinho i sur., 2013.).

Postupak sušenja raspršivanjem može se podijeliti u četiri osnovne faze (Slika 4.):

- raspršivanje tekuće namirnice za sušenje
- miješanje tekuće namirnice i medija za sušenje (zraka)
- sušenje
- odvajanje gotovog proizvoda i zraka (Elez Garofulić, 2015).



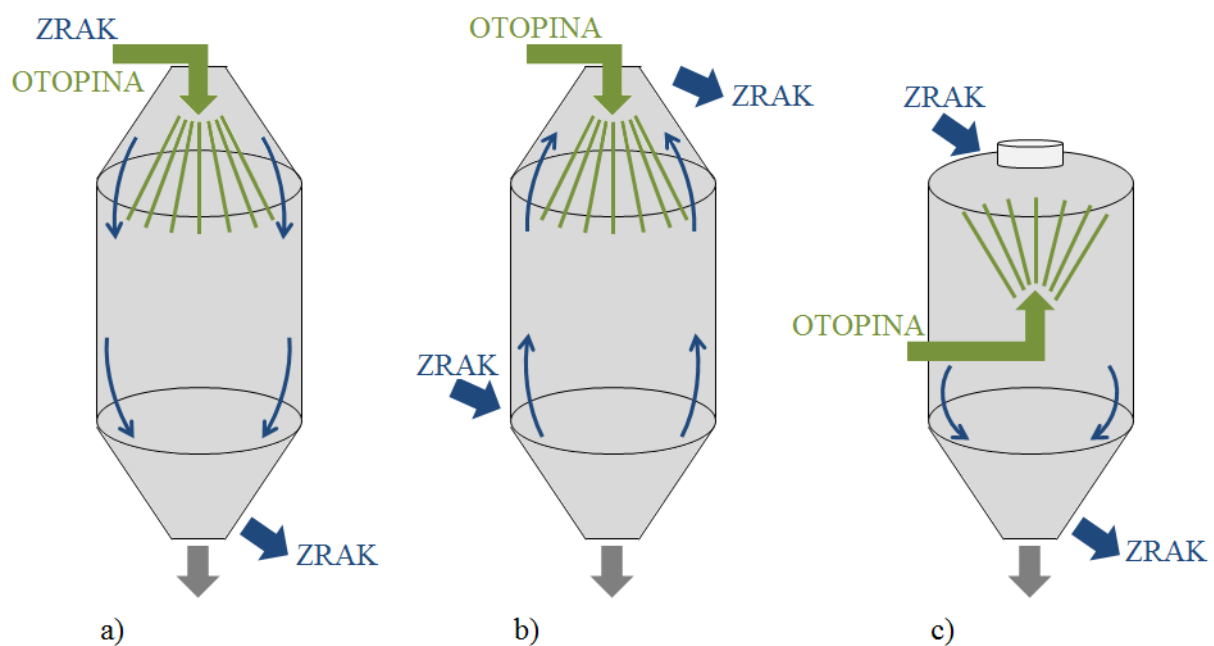
Slika 4. Shematski prikaz postupka sušenja raspršivanjem (prema Stunda-Zujeva i sur., 2017)

Raspršivanje tekuće namirnice za sušenje

Tekuća namirnica koja se suši raspršuje se u obliku aerosola sastavljenog od velikog broja kapljica. Tako se povećava površina izmjene topline i mase između namirnice i zagrijanog zraka te se ubrzava proces sušenja. Odabir vrste raspršivača ovisi o prirodi i viskoznosti smjese za sušenje te o željenim karakteristikama gotovog proizvoda (veličina i raspodjela veličine čestica) (Patel i sur., 2009). Najčešće korištene vrste raspršivača su raspršivači s rotirajućim diskovima, raspršivači s tlačnim mlaznicama i raspršivači s pneumatskim mlaznicama.

Miješanje tekuće namirnice i medija za sušenje (zraka)

Tekuća namirnica raspršuje se izravno u komoru za sušenje, u struju vrućeg zraka. Kontakt između kapljica i vrućeg zraka utječe na brzinu sušenja, konačni sadržaj vlage i svojstva praškastog proizvoda. Postoje različite izvedbe komora za sušenje ovisno o načinu na koji se ostvaruje kontakt materijala koji se suši i zraka: istosmjerne (Slika 5a), protusmjerne (Slika 5b) i kombinirane (Slika 5c).

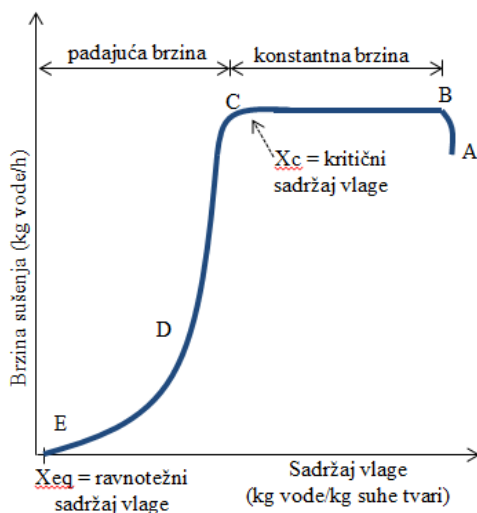


Slika 5. Miješanje otopine koja se suši i struje vrućeg zraka: a) istosmjerni tok, b) protusmjerni tok, c) miješani tok (prema Elez Garofulić, 2015)

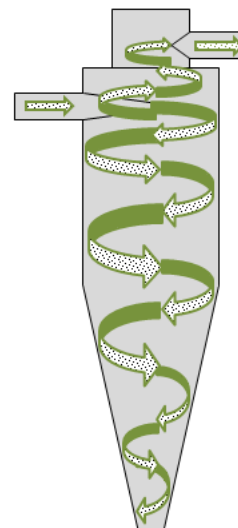
Sušenje

Sušenje se odvija u komorama konusnog oblika, a njihova veličina izravno određuje vrijeme sušenja namirnice. Stupanj izmjene mase i topline između slojeva zraka i vlage koji okružuju svaku kapljicu utječu na vrijeme potrebno za sušenje. Prijenos topline pokrenut je temperaturnom razlikom i odvija se od zraka prema materijalu koji se suši. Prijenos mase odnosno vlage odvija se u suprotnom smjeru zbog razlike u tlaku pare (Elez Garofulić, 2015).

Proces sušenja odvija se u dvije faze (Slika 6.). Prva je faza konstantne brzine sušenja u kojoj dolazi do uklanjanja slobodne vode iz namirnice. Stupanj difuzije vode iz unutrašnjosti kapljice jednak je brzini isparavanja vode s površine kapljice. Kada količina vlage u kapljici dosegne kritičnu razinu, na površini se formira čvrsta kora te nastupa faza padajuće brzine sušenja. U toj drugoj fazi sušenja uklanja se vezana voda, a sušenje je završeno kada je temperatura čestice praha jednaka temperaturi zraka za sušenje (Phisut, 2012).



Slika 6. Krivulja sušenja tekuće namirnice (prema Alessandro, 2008)



Slika 7. Kretanje čestica praha i izlaznog zraka u ciklonu (prema Anonymous, 2017)

Odvajanje gotovog proizvoda i zraka

Nakon završetka procesa sušenja potrebno je odvojiti gotovi proizvod iz struje zraka za sušenje. Odvajanje većih čestice praha, odnosno primarno odvajanje, odvija se na dnu komore za sušenje, a odvajanje sitnijih čestice praha, odnosno sekundarno odvajanje, odvija se u ciklonu (Slika 7.). Zrak i čestice uvode se u ciklon pod kutom što uzrokuje rotacijsko gibanje, te nastaje vrtlog. Centrifugalna sila nosi čvrste čestice koje se na taj način skupljaju u boci za prah (Sollohub i Cal, 2010).

2.3.2. Utjecaj procesnih parametara

2.3.2.1. Vrsta nosača

U sušenju raspršivanjem važno je obratiti pozornost na odabir nosača bioaktivne tvari jer o njegovim svojstvima značajno ovise i svojstva konačnog proizvoda. Prednost se daje prirodnim, netoksičnim i biorazgradivim polimernim materijalima kao što su razni derivati škroba, proteini, biljni ekstrakti i hidrokoloide. Najčešće korišteni nosači su arapska guma, maltodekstrin, alginat, modificirani kukuruzni škrob i proteini poput natrijevog kazeinata. Oni direktno utječu na svojstva i stabilnost prahova tako da kristalne i amorfne strukture dobivene iz istog materijala pokazuju razlike u veličini i obliku čestica, nasipnoj gustoći, fizikalno – kemijskim svojstvima, kemijskoj stabilnosti, topljivosti i higroskopsnosti (Yousefi i sur., 2011). S ciljem utvrđivanja kvalitete fizikalnih parametara te koncentracije ukupnih fenola i antioksidacijskog kapaciteta inkapsuliranog ekstrakta lista masline, u ovom istraživanju analizirana je upotreba maltodekstrina, inulina i njihove mješavine kao nosača u sušenju raspršivanjem.

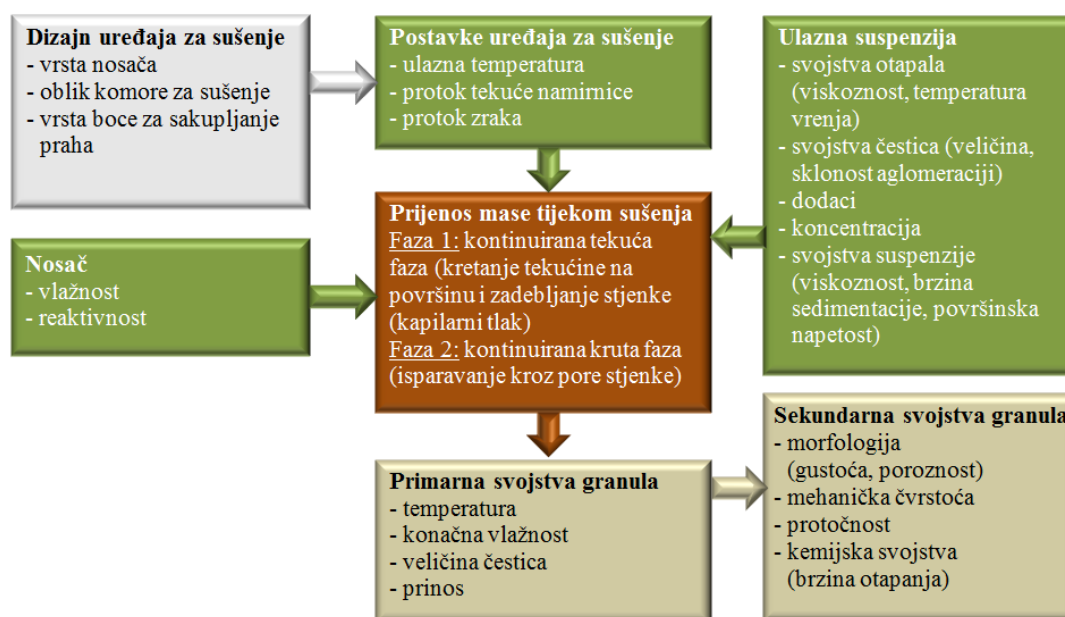
2.3.2.2. Koncentracija nosača

Koncentracija u kojoj se nosač dodaje uzorku prije sušenja značajno utječe na svojstva gotovog praha. Povećanjem koncentracije nosača poboljšava se sušenje ljepljivih proizvoda, povećava se prinos sušenja i smanjuje se sadržaj vlage u gotovom proizvodu (Shishir i Chen, 2017). Još neki od parametara na koje je zabilježen pozitivan ili negativan utjecaj povećanja koncentracije nosača su veličina čestica, higroskopsnost, topljivost i nasipna gustoća koja je direktno povezana s ljepljivošću prahova (Kwapinska i Zbicinski, 2005).

2.3.2.3. Temperatura

Sadržaj vlage, nasipna gustoća, veličina čestica, higroskopsnost i iskorištenje postupka sušenja neki su od svojstva prahova na koje značajno utječe temperatura sušenja. S porastom temperature dolazi do brže izmjene topline između namirnice i zraka te je veći temperaturni gradijent, koji je pokretačka sila prilikom sušenja, pa sadržaj vlage pada. Povišena temperatura djeluje na brzo formiranje suhe „kore“ na površini čestica koja teško propušta vlagu što dovodi do stvaranja mjehurića vlage i posljedično ekspanzije čestica te smanjenja nasipne gustoće (Tonon i sur., 2008). Primjenom više temperature proces sušenja je brži. To dovodi do bržeg nastajanja kore čestica koja sprječava skupljanje i smanjivanje čestica, a

rezultat su čestice veće veličine. Što je temperatura sušenja veća, to je sadržaj vlage u prahovima niži, a gradijent vlage između proizvoda i okoline je veći pa im je veći i kapacitet apsorpcije vlage iz okoline, odnosno higroskopnost (Elez Garofulić, 2015). Zbog veće učinkovitosti izmjene mase i topline iskorištenje postupka sušenja je veće primjenom povišene temperature. Međutim, do pada iskorištenja pri višim temperaturama dolazi zbog pojave ljepljivosti prahova i njihove kohezije uz stjenke uređaja. Temperatura sušenja može značajno utjecati i na biološki aktivne komponente podložne degradaciji, kao što su polifenoli ili pigmenti. Općenito, njihov sadržaj pada s porastom temperature zbog toplinske i oksidacijske degradacije (Elez Garofulić, 2015).



Slika 8. Sažeti prikaz varijabli koji utječu na prijenos mase tijekom sušenja raspršivanjem i dobivena svojstva osušenih granula (prema Stunda – Zujeva i sur., 2017)

2.3.2.4. Protok zraka

Energija potrebna za isparavanje vode mijenja se ovisno o dostupnoj količini zraka za sušenje. Protok zraka za sušenje utječe na brzinu isparavanja vode zbog čega je poželjno da je protok zraka maksimalan (Phisut, 2012). Sporiji protok zraka za sušenje povećava vrijeme sušenja te potiče efekt ponovnog kruženja čestica. Posljedica toga je veći stupanj isparavanja vode i smanjeni sadržaj vlage u konačnom proizvodu. S druge strane, primjenom veće brzine protoka zraka za sušenje, vrijeme sušenja je kraće, ali je sadržaj vlage u konačnom proizvodu veći (Shishir i Chen, 2017). U ovom radu primijenjena je konstantna vrijednost protoka zraka od 3,5 m/s.

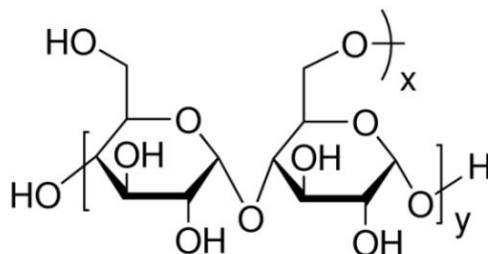
2.3.2.5. Protok tekuće namirnice

Veći protok tekuće namirnice koju je potrebno osušiti zahtijeva veću količinu energije kako bi se isparila ista količina vlage iz kapljica namirnice. Tonon i sur. (2008), sušenjem soka ačaj bobica, zabilježili su negativan utjecaj povećanja protoka namirnice na sadržaj vlage u prahovima i na iskorištenje postupka. Zbog bržeg protoka i kontaktno vrijeme između namirnice i zraka za sušenje je kraće pa je prijenos topline manje učinkovit te se ukloni manja količina vode. Tako proizvedene vlažne čestice zalijepile su se za stjenke komore za sušenje što smanjuje prinos postupka sušenog raspršivanjem. U ovom radu nije istražen utjecaj protoka tekuće namirnice na svojstva dobivenog praha. Ostale varijable koje utječu na prijenos mase tijekom sušenja raspršivanjem i dobivena svojstva osušenih granula prikazane su na slici 8.

2.4. NOSAČI U SUŠENJU RASPRŠIVANJEM

2.4.1. Maltodekstrin

Maltodekstrini (Slika 9.) su kompleksni ugljikohidrati, proizvedeni djelomičnom kiselinskom ili enzimskom hidrolizom škroba, koji se često koriste za mikroinkapsulaciju u prehrambenoj industriji. Probavljivi su ugljikohidrati dostupni iz više izvora kao što su kukuruz, krumpir, riža i tapioka (Deis, 1997). Sastavljeni su od D – glukoernih jedinica primarno povezanih $\alpha(1\rightarrow4)$ glikozidnim vezama, a razlikuju se po dekstroznom ekvivalentu (DE) koji je obrnuto proporcionalan njihovoj molekularnoj masi. DE ukazuje na stupanj hidrolize molekule škroba, viši DE znači da je viši udio monosaharida od kratkolančanih polimera (Šajina, 2015). Vrijednost DE maltodekstrina kreće se u rasponu od 3 do 20 i što je DE veći, veća je topivost i osjećaj slatkoće, a otpornost na toplinu je manja.



Slika 9. Strukturna formula maltodekstrina (Sigma Aldrich, 2017a)

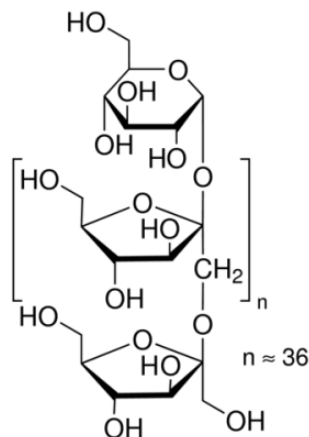
Maltodekstrini su prikladni za primjenu u prehrambenoj industriji zbog niske cijene, neutralnog okusa i mirisa, neobojenosti, topljivosti u vodi, niske viskoznosti pri visokim koncentracijama krute tvari i dobre zaštite arome od oksidacije. Imaju sposobnost nakupljanja

i stvaranja filma, vezanja okusa i masti, a koriste se i za smanjenje ljepljivosti i ostalih aglomeracijskih problema prilikom stvaranja praha (Gallegos – Infante i sur., 2013). Nedostatak maltodekstrina je niski emulzijski kapacitet i granično zadržavanje hlapivih tvari, pa se često koristi u kombinaciji s drugim nosačima.

Učinak maltodekstrina u sušenju raspršivanjem istraživani je na velikom broju voćnih sokova, povrća i biljnih ekstrakata. Neki od voćnih sokova na kojima su provedena istraživanja su sokovi višnje maraske (Elez Garofulić, 2015), borovnice (Araujo – Díaz i sur., 2017), lubenice (Oberoi i Sogi, 2015; Quek i sur., 2007), ananasa (Hashib i sur., 2015), šipka (Yousefi i sur., 2011) i manga (Cano – Chauca i sur., 2005), nadalje tu su još i crna mrkva (Murali i sur., 2015) i ljubičasti slatki krumpir (Ahmed i sur., 2010; Peng i sur., 2013) te ekstrakti kadulje (Şahin – Nadeem i sur., 2013), planinskog čaja (Şahin – Nadeem i sur., 2011) i lista hrasta (Gallegos – Infante i sur., 2013).

2.4.2. Inulin

Inulini (Slika 10.) su grupa prirodnih polisaharida koje proizvode mnoge vrste biljaka (više od 36 000) kao što su poriluk, luk, češnjak, cikorija, artičoke i banane (Nieto, 2009), ali za komercijalnu upotrebu proizvodi se iz korijena cikorije (*Cichorium intybus* L.) i Jeruzalemske artičoke (*Helianthus tuberosus* L.) koji prosječno sadrže 15 – 20 % inulina. Pripadaju skupini prehrambenih vlakana poznatih kao fruktani, linearnih polimera fruktoze vezanih β - (2 \rightarrow 1) glikozidnim vezama. Kemijski gledano, inulin je smjesa oligomera i polimera glukopiranozil – fruktofuranozil fruktoze i fruktopiranozil – fruktofuranozil – fruktoze koji se međusobno razlikuju prema stupnju polimerizacije (SP) (Vitali Čepo i Vedrina Dragojević, 2012). Inulin proizveden iz korijena cikorije obično ima stupanj polimerizacije 3 – 60.



Slika 10. Strukturna formula inulina (Sigma Aldrich, 2017b)

Inulin je prebiotik zbog svoje selektivne stimulacije rasta crijevnih bifidobakterija, povoljno utječe na apsorpciju nekih nutritivno važnih minerala, osobito Ca i Mg, a zbog svojih tehnoloških karakteristika može se koristiti kao zamjena za masti ili šećer (Vitali Čepo i Vedrina Dragojević, 2012). Zbog svega navedenog, inulin danas ima široku primjenu u industriji funkcionalne hrane i dijetetskih proizvoda.

Povećan je interes za upotrebom inulina kao nosača u sušenju raspršivanjem bioaktivnih spojeva koji su osjetljivi na promjene ili degradaciju duž ljudskog probavnog trakta, budući da se njegovo otpuštanje odvija samo u crijevima, gdje se i apsorbira. Do sad je upotreba inulina u tu svrhu istražena na eteričnom ulju origana (Beirão-da-Costa i sur., 2013) i ružmarina (de Barros Fernandes i sur., 2014), sokovima naranče (Saavedra-Leos i sur., 2014) i ličija (Kingwatee i sur., 2015) te bioaktivnih spojeva iz indijske smokve (Saéñz i sur., 2009).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Uzorak lista masline

Svježi listovi masline (*Olea europaea*), sorte Cipressino, sakupljeni su u travnju 2016. godine u okolici Kaštela. Posloženi su u jednom sloju i osušeni na sobnoj temperaturi tijekom 5 dana te usitnjeni električnim mlincem. Prah je pohranjen u staklenu posudu i čuvan u mraku na sobnoj temperaturi do ekstrakcije.

3.1.2. Kemikalije

- galna kiselina, C₇H₆O₅ (Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Njemačka)
- 96 %-tni etanol, p.a. (T.T.T. d.o.o., Sveta Nedjelja, Hrvatska)
- destilirana voda
- dijatomejska zemlja, 6/60 mesh, 26033 (Restek Corporation, SAD)
- maltodekstrin DE 13-17 (Aldrich Chemistry, SAD)
- inulin (Orafti HSI, Beneo, Njemačka)
- Folin - Ciocalteu reagens (Fisher Scientific, UK)
- zasićena otopina natrijeva karbonata (20 %-tna otopina)

PRIPREMA: 200 g anhidrida natrijeva karbonata (Gram-mol doo, Zagreb, Hrvatska) se otopi u 800 mL vruće destilirane vode, u odmjernoj tikvici volumena 1000 mL, a zatim ohladi na sobnu temperaturu. Doda se nekoliko kristalića natrijeva karbonata, te se nadopuni destiliranom vodom do oznake. Nakon 24 sata pripremljena otopina se filtrira.

- otopina DPPH radikala

PRIPREMA: 6 mg DPPH radikala (Sigma, Zagreb, Hrvatska) otopi se uz miješanje u 100 mL 96 % - tnog etanola (Gram-mol doo, Zagreb, Hrvatska)

3.1.3. Aparatura

- električni mlinac, CM3260 (Grundig, Njemačka)
- ASE ekstraktor, Thermo Scientific™ Dionex™ ASE™ 350 (Thermo Fisher Scientific, California, SAD)
- analitička vaga, ABT 220 – 4M (Kern, Njemačka)
- uređaj za sušenje raspršivanjem, SD 06 (LabPlant, Velika Britanija)

- magnetna miješalica, HSC Heating Magnetic Stirrer (VELP Scientifica, Italija)
- ultrazvučna kupelj, Elmasonic S 40 (H) (Elma Schmidbauer GmbH, Njemačka)
- tehnička vaga, METTLER PM600 (Mettler Toledo, SAD)
- analitička vaga, AX224 (OHAUS Corporation, SAD)
- vortex miješalica, MS2 Minishaker (IKA, Njemačka)
- vodena kupelj, Rotavapor R-205 (Büchi, Švicarska)
- spektrofotometar, UV – 1600PC (VWR International, SAD)
- ESR spektrometar, Varian E-109, dodatno opremljen mikrovalnim mostom Bruker ER 041 XG (nalazi se na Institutu Ruđer Bošković u Zagrebu)
- kolorimetar, CM-3500d (Konica – Minolta, Japan)
- magnetna miješalica, RT 5 (IKA, Njemačka)

3.1.4. Pribor

- plastična žličica
- celulozni filteri (Thermo Scientific, Dionex™ 350/150 Extraction Cell Filters)
- plastična boca (1500 mL)
- odmjerne tikvice (100 mL)
- laboratorijske čaše (25 mL, 50 mL, 100 mL i 200 mL)
- mikropipete (100 μ L i 1000 μ L)
- stakleni štapić
- staklene epruvete
- stalak za epruvete
- staklene kivete
- plastične kivete
- staklene kapilare
- cjevčica za ESR (elektronsku spinsku spektrofotometriju) uređaj
- petrijeva zdjelica
- menzure (10 mL)
- štoperica
- magnetni mješači

3.2. METODE

3.2.1. Ubrzana ekstrakcija otapalima uz povišeni tlak (ASE)

Na analitičkoj vagi, u staklenoj čašici, odvažuje se 8 g ($\pm 0,01$) uzorka praha lista masline. U ekstrakcijsku ćeliju od nehrđajućeg čelika najprije se postavi celulozni filter papir, a potom dijatomejska zemlja, na koju se zatim dodaje odvagani uzorak (do otprilike 5 mm ispod gornjeg ruba) te se ćelija ručno zatvara. Tako pripremljeni uzorci postavljaju se u uređaj za ekstrakciju ASE Dionex 350®. Upotrebljavano otapalo je destilirana voda, a temperatura ekstrakcije iznosila je 100 °C. Ekstrakcija je provedena u 3 ciklusa, a vrijeme trajanja svakog ciklusa je 5 min.

Nakon završene ekstrakcije, dobiveni ekstrakti se spajaju u istu plastičnu bocu volumena 1500 mL i čuvaju u hladnjaku na 4 °C do provođenja sušenja raspršivanjem.

3.2.2. Sušenje raspršivanjem

Postupak sušenja raspršivanjem proveden je na laboratorijskom uređaju za sušenje raspršivanjem SD 06 (LabPlant, Velika Britanija) (Slika 11.) sa specifikacijama navedenim u Tablici 1.



Slika 11. Uređaj za sušenje raspršivanjem SD 06 (LabPlant, 2017)

Tablica 1. Specifikacije uređaja za sušenje raspršivanjem SD 06 (LabPlant, 2017)

| | |
|--------------------------------------|--|
| Raspršivač | Promjer mlaznice 1 mm, istosmjerni |
| Kapacitet sušenja | 1000 – 1500 mL/h |
| Temperaturni raspon | 50 – 250 °C |
| Protok zraka | 15 – 30 m ³ /h |
| Kompresor | 2 m ³ /h pri 2 bara – 1.7 m ³ /h pri 4 bar |
| Grijač | 3kW |
| Pumpa | Peristaltička, podesive brzine |
| Igla za deblokiranje mlaznica | Automatska, 3 brzine |
| Dimenzije | 1110 x 825 x 600 mm |
| Težina | 80 kg |

Sušenje modelnih otopina galne kiseline

Prahovi su proizvedeni primjenom tri različita nosača i to maltodekstrina dekstroznog ekvivalenta 13-17 (MD), inulina (I) i njihove mješavine u omjeru 50:50 (MI) prema uvjetima prikazanim u Tablici 2. Kod uzoraka s omjerom galne kiseline i nosača 3:1 6 g galne kiseline i 2 g nosača otopljeno je u 25 mL etanola (96 %) i homogenizirano 3 – 5 minuta u ultrazvučnoj kupelji na 30 °C, a zatim je u odmjernoj tikvici nadopunjeno destiliranom vodom do 100 mL. Kod uzoraka s omjerom 5:1 7,5 g galne kiseline i 1,5 g nosača otopljeno je u 37,5 mL etanola i homogenizirano 3 – 5 minuta u ultrazvučnoj kupelji na 30 °C, a zatim je u odmjernoj tikvici nadopunjeno destiliranom vodom do 150 mL. Zbog ravnomjerne raspodjele nosača u otopini provedena je homogenizacija na magnetskoj miješalici HSC Heating Magnetic Stirrer (VELP, Italija). Tako dobivene smjese otopine galne kiseline i nosača sušene su na tri različite temperature ulaznog zraka, 120, 150 i 180 °C. Pri temperaturi ulaznog zraka 120 °C, izmjerena temperatura zraka na izlazu iz sušionika iznosila je od 64 – 72 °C, pri 150 °C od 70 – 81 °C, a pri ulaznoj temperaturi 180 °C temperatura na izlazu je iznosila od 81 – 100 °C. Prilikom provedbe istraživanja protok zraka održavan je konstantnim na 3,5 m/s. Svi proizvedeni prahovi su do provođenja analize čuvani u plastičnim posudama u hladnjaku na 4 °C. Nakon provedene analize sadržaja fenolnih spojeva izračunat je prinos proizvodnje praha te učinkovitost mikroinkapsulacije ukupnih polifenola.

Tablica 2. Uvjeti sušenja raspršivanjem modelnih otopina galne kiseline

| NOSAČ | UZORAK | OMJER galna:nosač | T (°C) zadana | T (°C) ulazna | T (°C) izlazna | PROTOK UZORKA (mL/h) |
|------------------------------|--------|----------------------|------------------|------------------|-------------------|----------------------------|
| MALTODEKSTRIN | MD1 | 3:1 | 120 | 122 | 64 | 485 |
| | MD2 | 3:1 | 150 | 153 | 77 | 695 |
| | MD3 | 3:1 | 180 | 181 | 86 | 695 |
| | MD4 | 5:1 | 120 | 121 | 66 | 485 |
| | MD5 | 5:1 | 150 | 151 | 76 | 695 |
| | MD6 | 5:1 | 180 | 180 | 81 | 900 |
| INULIN | IN1 | 3:1 | 120 | 120 | 64 | 485 |
| | IN2 | 3:1 | 150 | 152 | 79 | 695 |
| | IN3 | 3:1 | 180 | 181 | 90 | 695 |
| | IN4 | 5:1 | 120 | 122 | 65 | 485 |
| | IN5 | 5:1 | 150 | 154 | 81 | 695 |
| | IN6 | 5:1 | 180 | 180 | 100 | 900 |
| MALTODEKSTRIN + INULIN | MI1 | 3:1 | 120 | 122 | 72 | 485 |
| | MI2 | 3:1 | 150 | 151 | 75 | 695 |
| | MI3 | 3:1 | 180 | 180 | 81 | 695 |
| | MI4 | 5:1 | 120 | 119 | 64 | 485 |
| | MI5 | 5:1 | 150 | 149 | 70 | 695 |
| | MI6 | 5:1 | 180 | 179 | 86 | 900 |

Izračun prinosa modelnih prahova galne kiseline

Prinos modelnih prahova galne kiseline izračunat je kao omjer mase praha (g) dobivenog sušenjem raspršivanjem i zbroja mase (g) galne kiseline i nosača prema jednadžbi [1].

$$\text{PRINOS}_g [\%] = \frac{\text{masa praha dobivenog sušenjem raspršivanjem}}{\text{masa galne kiseline} + \text{masa nosača}} * 100 \quad [1]$$

Izračun učinkovitosti mikroinkapsulacije galne kiseline

Učinkovitost mikroinkapsulacije galne kiseline izračunata je kao omjer galne kiseline u prahu dobivenom sušenjem raspršivanjem i galne kiseline u uzorku podvrgnutom sušenju, prema formuli [2].

$$\text{UČINKOVITOST}_g [\%] = \frac{\text{galna kiselina u dobivenom prahu}}{\text{galna kiselina u uzorku podvrgnutom sušenju}} * 100 \quad [2]$$

Sušenje ekstrakta lista masline

Za svaki od nosača odabrani su uvjeti (temperatura i omjer uzorka i nosača) kod kojih je postignuto najveće iskorištenje i najveća učinkovitost mikroinkapsulacije galne kiseline te je pri tim uvjetima provedeno sušenje ekstrakta lista masline. U staklenu čašu dodano je 300 mL ekstrakta lista masline (1,7 g fenola u 300 mL ekstrakta) i potrebna količina nosača. Nakon homogenizacije na magnetskoj miješalici provedeno je sušenje prema parametrima iz tablice 3.

Tablica 3. Uvjeti sušenja raspršivanjem ekstrakta lista masline

| NOSAČ | OMJER uzorak:nosač | MASA NOSAČA (g) | T (°C) zadana | T (°C) ulazna | T (°C) izlazna | PROTOK UZORKA (mL/h) |
|---------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------------------|
| MALTODEKSTRIN | 5:1 | 0,34 | 150 | 150 | 71 | 695 |
| INULIN | 3:1 | 0,57 | 150 | 151 | 73 | 695 |
| MALTODEKSTRIN + INULIN | 5:1 | 0,34 | 150 | 147 | 67 | 695 |

Izračun prinosa procesa

Prinos procesa sušenja raspršivanjem ekstrakta lista masline izračunat je kao omjer mase praha (g) dobivenog sušenjem raspršivanjem i zbroja mase suhe tvari ekstrakta (g) i mase nosača (g) u volumenu podvrgnutom sušenju (300 mL), prema jednadžbi [3] (Elez Garofulić, 2015).

$$\text{PRINOS}_m [\%] = \frac{\text{masa praha dobivenog sušenjem raspršivanjem}}{\text{masa suhe tvari ekstrakta} + \text{masa nosača}} * 100 \quad [3]$$

Izračun učinkovitosti mikroinkapsulacije ukupnih fenola

Učinkovitost mikroinkapsulacije ukupnih fenola izračunata je kao omjer ukupnih fenola u dobivenom prahu nakon sušenja i ukupnih fenola u ekstraktu lista masline podvrgnutom sušenju (Paini i sur., 2015), prema formuli [4]. Ovaj parametar koristi se za procjenu degradacije fenolnih spojeva tijekom sušenja raspršivanjem.

$$\text{UČINKOVITOST}_m [\%] = \frac{\text{ukupni fenoli u dobivenom prahu}}{\text{ukupni fenoli u 300 mL ekstrakta}} * 100 \quad [4]$$

3.2.3. Određivanje koncentracije ukupnih fenola

Princip metode:

Određivanje koncentracije ukupnih fenola provodilo se spektrofotometrijskom metodom koja se temelji na oksidaciji fenolnih skupina dodatkom Folin – Ciocalteu reagensa i nastajanjem obojenog produkta. Folin – Ciocalteu reagens (smjesa fosfovolframove i fosfomolibden kiseline) reagira s fenoksid ionom iz uzorka prilikom čega se fenoksid – ion oksidira, a Folin – Ciocalteu reagens reducira do plavo obojenih volframovih i molibdenovih oksida. Izmjereni intenzitet nastalog obojenja pri valnoj duljini 765 nm je direktno proporcionalan koncentraciji fenola (Shortle i sur., 2014).

Postupak rada:

Koncentracija ukupnih fenola izmjerena je u ekstraktu lista masline neposredno nakon ekstrakcije, u modelnim prahovima galne kiseline te u osušenom ekstraktu lista masline. Prije provođenja mjerenja, modelni prahovi galne kiseline te osušeni ekstrakt lista masline potrebno je otopiti u destiliranoj vodi. Na analitičkoj vagi, u staklenu epruvetu se odvažuje 50 mg praha te se otpipetira 2 mL destilirane vode i promiješa pomoću Vortex miješalice.

U staklenu epruvetu otpipetira se 100 μ L ekstrakta ili prethodno pripremljene otopine, 200 μ L Folin Ciocalteu reagensa i 2 mL destilirane vode. Nakon 3 minute doda se 1 mL 20 % – tne zasićene otopine natrijeva karbonata i promiješa pomoću vortexa. Nakon termostataranja u vodenoj kupelji 25 min na 50 °C, na spektrofotometru (UV–1600PC, VWR International, SAD) se mjeri apsorbancija pri 765 nm. Na isti način se pripremi i slijepa proba, ali se umjesto uzorka uzima voda. Sva mjerenja su provedena u paraleli.

Izrada baždarnog pravca i izračun rezultata:

Za pripremu baždarnog pravca odvažuje se 0,5 g galne kiseline koja se otopi u 10 mL 96 % – tnog etanola u odmjerne tikvici od 100 mL i nadopuni destiliranom vodom do oznake. Iz tako pripremljene otopine galne kiseline rade se razrjeđenja koncentracija 50, 100, 150, 250 i 500 mg/L. Od svakog razrjeđenja otpipetira se 100 μ L i postupa po propisu za određivanje ukupnih fenola. Iz izmjerenih vrijednost apsorbancija nacrtava se baždarni pravac čija jednadžba [5] glasi:

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

$$R^2 = 0,9995$$

gdje je:

y – apsorbancija pri 765 nm

x – koncentracija galne kiseline (mg/L)

Dobivene masene koncentracije (mg/L) preračunate su i izražene kao mg ekvivalenta galne kiseline na gram suhe tvari praha (mg GAE/g s.tv.).

3.2.4. Antioksidacijski kapacitet

Princip metode:

Antioksidacijski kapacitet osušenog praha ekstrakta lista masline određen je metodom elektronske spinske rezonancije (ESR). Za praćenje antioksidacijske aktivnosti korišten je DPPH (2,2 – difenil – 1 – pikrilhidrazil) radikal. Elektronska spinska rezonancija (ESR) ili elektronska paramagnetska rezonancija (EPR) je rezonantna spektrometrijska metoda kojom se detektira prijelaz između spinskih stanja nesparenog elektrona u atomima, ionima i molekulama paramagnetskih tvari u magnetskom polju (Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2017). ESR je jako osjetljiva metoda kojom se mogu detektirati vrlo niske koncentracije slobodnih radikala. Polifenoli i druge bioaktivne tvari prisutne u ekstraktu lista masline imaju sposobnost hvatanja slobodnih radikala kao što je DPPH. Što je veći antioksidacijski kapacitet ekstrakta više DPPH radikala će biti neutralizirano odnosno pad aktivnosti biti će veći.

Postupak rada:

Prvo je 50 mg praha ekstrakta lista masline otopljeno u 100 mL vode te je pripravljena otopina DPPH radikala u etanolu, koncentracije 0,15 mmol/L. Reakcija, a time i mjerenje vremena, započinje dodatkom otopljenoga praha otopini radikala tako da udio otopljenoga praha iznosi 1 %. Nakon 3 sekunde miješanja na vortex miješalici pripravljena otopina ostaje mirovati 30 minuta. Neposredno prije mjerenja, staklena kapilara se napuni reakcijskom otopinom, s jedne strane se zatvori glinom, postavlja se u ESR cjevčicu uređaja te se snima spektar. Kao slijepa proba upotrijebljena je otopina DPPH radikala kojoj je umjesto uzorka dodana voda. Snimanje ESR spektara provedeno je pri slijedećim uvjetima: centralnom polju od 331 mT (3310 G), magnetski posmak od 10 mT (100 G), snazi mikrovalnog polja od 10 mW, amplitudi modulacije 0,1 mT (1 G) i pojačanju 1600 te vremenom posmaku magnetskog polja od 20 s. Za akumuliranje i obradu spektra korišten je

EW (EPRWare) Scientific Software Service program. Mjerenja su provedena u Laboratoriju za magnetske rezonancije Instituta "Ruđer Bošković" u Zagrebu, na ESR spektrometru tipa Varian E-109 koji je dodatno opremljen mikrovalnim mostom Bruker ER 041 XG.

Izračun rezultata:

Omjer aktivnosti uzorka nakon 30 minuta reakcije i aktivnosti slijepe probe predstavlja aktivnost koja je preostala nakon reakcije, odnosno postotak aktivnosti DPPH radikala koji nije neutraliziran prisutnim antioksidacijskim komponentama u uzorku. Za izračun antioksidacijskog kapaciteta (AO), odnosno postotak aktivnosti DPPH radikala koji je neutraliziran prisutnim antioksidacijskim komponentama, navedeni omjer oduzet je od postotka aktivnosti DPPH radikala prije reakcije (100 %). Navedeni izračun prikazan je u jednadžbi [6]:

$$AO [\%] = 100 - \frac{\text{aktivnost nakon 30 minuta}}{\text{aktivnost slijepe probe}} \quad [6]$$

3.2.5. Boja

Princip metode:

Određivanje boje uzoraka provedeno je difuzno reflektirajućom spektrofotometrijom na kolorimetru CM-3500d (Konica – Minolta, Japan) prema CIELab (Commission Internationale de L'Eclairage – Međunarodna komisija za regulaciju svjetla) sustavu boja. CIELab koristi prostornu prezentaciju koja mjeri boju prema njezinom tonu, zasićenosti i svjetloći. Izvor svjetla bila je pulsirajuća ksenon lampa, a upotrebljavani kompjuterski program SpectraMagic NX. Kao rezultat dobiveni su parametri boje ili tzv. Hunterovi parametri L^* , a^* , b^* , C i H vrijednosti. L^* vrijednost je osvjetljenje ili svjetlosna komponenta, koja ima vrijednosti u rasponu 0 – 100, dok su a^* (od zelene do crvene) i b^* (od plave do žute) dvije kromatske vrijednosti u rasponu od – 120 do 120 (Gökmen i Sığüt, 2007).

Postupak rada:

Prije mjerenja uređaj je kalibriran s čisto bijelim standardom (100 % refleksije), te crnim valjkom (0 % refleksije). Prahom ekstrakta lista masline prekriveno je dno petrijeve zdjelice koja je zatim postavljena u uređaj i poklopljena crnim valjkom. Svako mjerenje ponovljeno je u paraleli te je izračunata srednja vrijednost i standardna devijacija za svaki od parametara boje.

3.2.6. Nasipna gustoća

Postupak rada:

Nasipna gustoća određena je prema metodi Bernstaina i sur. (2001). U graduirani cilindar odvaže se 2 grama praha ekstrakta lista masline. Kako bi se čestice praha ravnomjerno rasporedile cilindar se postavlja na vortex miješalicu kroz 1 min. Potom se cilindar postavi na čvrstu i ravnu podlogu te se očita volumen praha. Nasipna gustoća (δ_n) izračunava se prema jednadžbi [7]:

$$\delta_n (\text{g/mL}) = \frac{m}{V} \quad [7]$$

Gdje je:

m – masa odvaženog praha (g)

V – očitani volumen praha u graduiranom cilindru (mL).

3.2.7. Rehidracija prahova

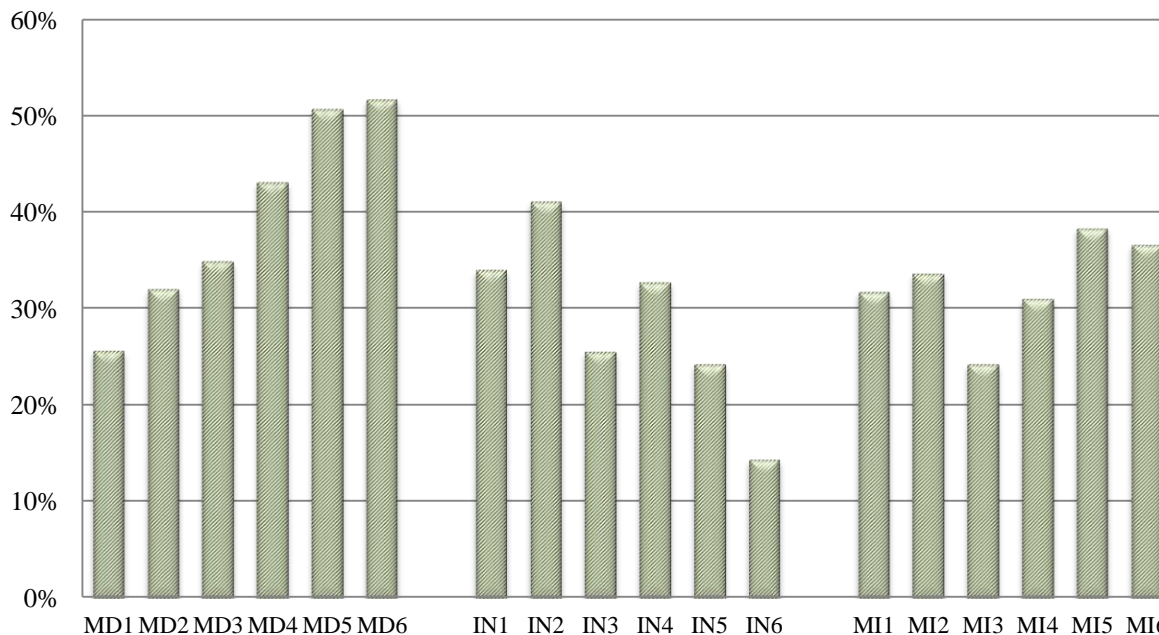
Postupak rada:

Rehidracija prahova prahova provedena je dodatkom 2 grama praha ekstrakta lista masline u 50 mL destilirane vode na 26 °C. Konstantno miješanje provedeno je u staklenoj čaši volumena 100 mL, na magnetnoj miješalici pri 880 rpm, uz upotrebu magnetnog štapića veličine 2 mm x 7 mm. Zabilježeno je vrijeme potrebno da se materijal potpuno otopi (Goula i Adamopoulos, 2010).

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. PRINOS MODELNIH PRAHOVA GALNE KISELINE

Što veći prinos, odnosno što manji gubici, poželjna je karakteristika svakog proizvodnog procesa posebice s industrijskog stajališta. U sušenju raspršivanjem ljepljivost i taloženje na stjenke uređaja glavni su problemi koji smanjuju prinos, a moguće ih je kontrolirati odabirom procesnih parametara. Osim toga, upotreba nosača nužna je za uspješnu proizvodnju praha jer njihov dodatak povećava prinos i smanjuje zadržavanje na stjenkama uređaja (Yousefi i sur., 2011). Stoga je u ovom istraživanju prinos sušenja modelnih otopina galne kiseline bio jedan od čimbenika u izboru procesnih parametara za sušenje ekstrakta lista masline. Slika 12. prikazuje prinos modelnih prahova galne kiseline dobivenih sušenjem raspršivanjem uz upotrebu tri različita nosača: maltodekstrina (MD), inulina (I) i smjese maltodekstrina i inulina (MI). Prinos modelnih prahova je uz upotrebu maltodekstrina bio najveći te se kretao u rasponu od 25,63 % do 51,67 %. Upotrebom inulina kao nosača prinos modelnih prahova kretao se od 14,33 % do 41,13 %, a upotrebom smjese maltodekstrina i inulina od 24,25 % do 38,33 %. Sušenje raspršivanjem smatra se uspješnim ukoliko je prinos proizvoda veći od 50 % (Lacerda i sur., 2016) što znači da se samo za dva uzorka s maltodekstrinom (omjer 5:1 na temperaturama 150 i 180 °C) može reći da su uspješni.



Slika 12. Prinos (%) modelnih prahova galne kiseline dobivenih sušenjem raspršivanjem uz nosače maltodekstrin (MD), inulin (I) i smjesu maltodekstrina i inulina (MI) prema parametrima iz tablice 2.

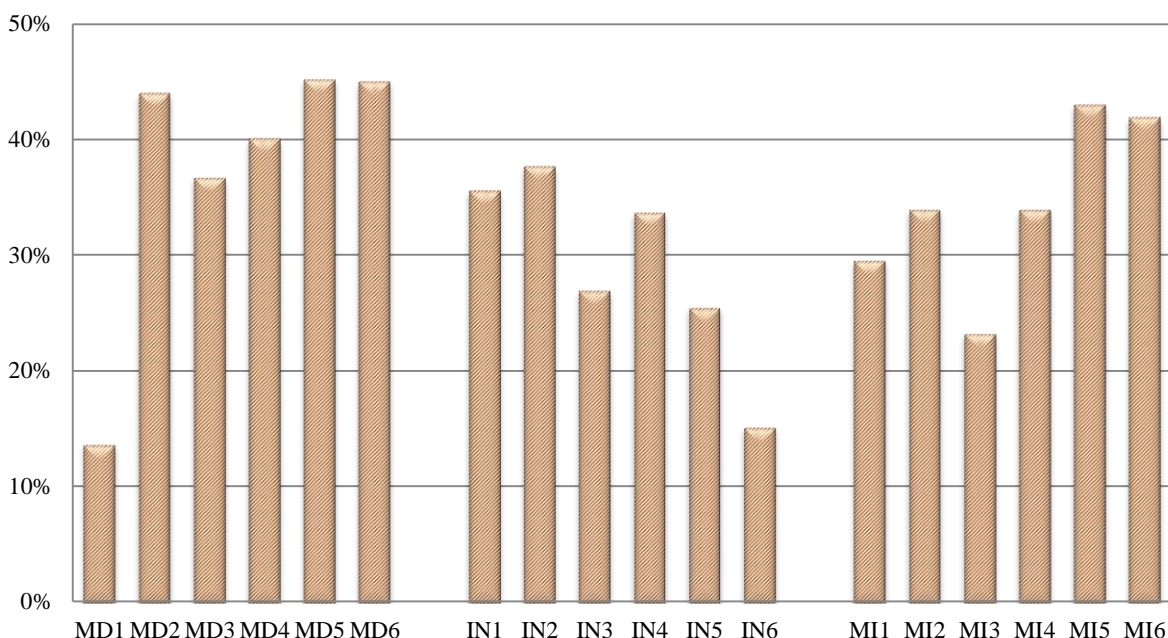
Promatrajući uzorke s maltodekstrinom može se primijetiti porast prinosa s porastom temperature, ali i porast prinosa sa smanjenjem udjela nosača odnosno povećanjem omjera uzorka i nosača s 3:1 na 5:1. Do istog saznanja došli su i Tonon i sur. (2008) sušeći sok acai bobica uz nosač maltodekstrin 10DE. Povećanje temperature sa 138 °C na 202 °C dovelo je do porasta prinosa s 46,01 % na 55,66 %. To su pripisali boljem prijenosu topline i mase koji se javlja kada se koriste veće temperature ulaznog zraka. Povećanje koncentracije maltodekstrina također je pokazalo negativan učinak na prinos procesa, vjerojatno zbog porasta viskoznosti smjese do kojeg dolazi povećanjem koncentracije maltodekstrina. Povećanjem viskoznosti je i sadržaj krute tvari u smjesi veći pa je i više krutih čestica dostupno za kontakt sa stjenkom komore za sušenje i da se zalijepi za nju, čime se smanjuje prinos postupka. Ovi rezultati u suglasju su i s rezultatima koje su objavili Cai i Corke (2000), prilikom sušenja raspršivanjem pigmenta betacijanina biljke *Amaranthus*. I Krishnaiah i sur. (2012) su sušeći tropsku biljku noni (*Morinda citrifolia* L.) postigli veći prinos (39,16 %) na višoj temperaturi ulaznog zraka (140 °C) nego na nižim temperaturama ulaznog zraka (90, 100 i 120 °C). Osim toga, i upotrebom maltodekstrina kao nosača u omjeru 2:1 u odnosu na uzorak prinos je bio veći nego upotrebom omjera 4:1 i 6:1, što još jednom potvrđuje da veća količina nosača ne znači i uspješnije sušenje. Osim toga, dodatak velikih količina nosača povećava trošak proizvodnje te može promijeniti izvorni okus proizvoda, što može rezultirati neodobravanja potrošača (Vidović i sur., 2014). Prah modelnih otopina galne kiseline dobiven s omjerom galne kiseline i nosača 5:1, na temperaturi od 180 °C rezultirao je neznatno većim prinosom (51,67 %) nego na temperaturi od 150 °C (50,67 %). Zbog toga su ovi parametri uzeti u obzir prilikom odabira parametara za sušenje ekstrakta lista masline.

Za uzorke s inulinom može se reći da imaju niži prinos proizvodnje od uzoraka s maltodekstrinom budući da najveća postignuta vrijednost iznosi samo 41,13 % što je značajno manje od 51,67 % koliko iznosi s maltodekstrinom. Taj najveći prinos ostvaren je sušenjem na temperaturi od 150 °C i omjeru galne kiseline i nosača 3:1. Veći prinos modelnih prahova postignut je kod omjera galne kiseline i nosača 3:1 za svaku od korištenih temperatura. Na temperaturi od 180 °C ostvaren je najmanji prinos neovisno o omjeru galne kiseline i nosača.

Kod uzoraka sa smjesom maltodekstrina i inulina veći prinos postiže se sušenjem na 150 °C kod oba omjera uzorka i nosača. Nešto veći prinos od 38,33 % ostvaren je kod omjera galne kiseline i nosača 5:1 te su upravo ti parametri korišteni za sušenje ekstrakta lista masline.

4.2. UČINKOVITOST MIKROINKAPSULACIJE GALNE KISELINE U MODELNIM PRAHOVIMA

Učinak mikroinkapsulacije galne kiseline koristan je čimbenik za procjenu degradacije i oksidacije fenolnih spojeva do koje može doći tijekom sušenja raspršivanjem. Upravo je to bio i drugi čimbenik u izboru procesnih parametara za sušenje ekstrakta lista masline. Na slici 13. prikazan je učinak mikroinkapsulacije galne kiseline u modelnim prahovima uz upotrebu tri različita nosača: maltodekstrina (MD), inulina (I) i smjese maltodekstrina i inulina (MI). Učinak mikroinkapsulacije galne kiseline u modelnim prahovima je uz upotrebu maltodekstrina bio najveći te se kretao u rasponu od 13,62 % do 45,18 %. Upotrebom inulina kao nosača učinkovitost mikroinkapsulacije se kretala od 15,17 % do 37,69 %, a upotrebom smjese maltodekstrina i inulina od 23,19 % do 42,98 %. Drugi autori zabilježili su veće vrijednosti učinkovitosti mikroinkapsulacije bioaktivnih tvari: indijska smokva, 23 – 81 % (Saénza i sur., 2009); komina masline, 51 – 94 % (Paini i sur., 2015); palma *Euterpe edulis* Martius, 6 – 67 % (Lacerda i sur., 2016); čaj *Orthospihon stamineus*, 65,39 – 82,08 % (Pang i sur. 2014); borovnica, 54,6 – 97,1 % (Tao i sur., 2017); mirika (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc), 96 ± 1 % (Fang i Bhandari, 2011).



Slika 13. Učinkovitost mikroinkapsulacije (%) galne kiseline u modelnim prahovima dobivenim sušenjem raspršivanjem uz nosače maltodekstrin (MD), inulin (I) i smjesu maltodekstrina i inulina (MI) prema parametrima iz tablice 2.

U uzorcima s maltodekstrinom može se primijetiti da je kod omjera galne kiseline i nosača 5:1 postignuta veća učinkovitost mikroinkapsulacije galne kiseline pri svakoj od korištenih temperatura. Nadalje, sušenjem na temperaturi 150 °C postignuta je najveća učinkovitost mikroinkapsulacije galne kiseline kod oba omjera galne kiseline i nosača. Iz toga proizlazi da su parametri pri kojima je postignuta najbolja učinkovitost mikroinkapsulacije galne kiseline (45,18 %) omjer 5:1 i temperatura 150 °C. Iako je prinos bio nešto veći pri omjeru 5:1 i temperaturi od 180 °C, zbog važnosti i samog cilja ovog istraživanja, za sušenje ekstrakta lista masline odabrani su omjer 5:1 i temperatura 150 °C.

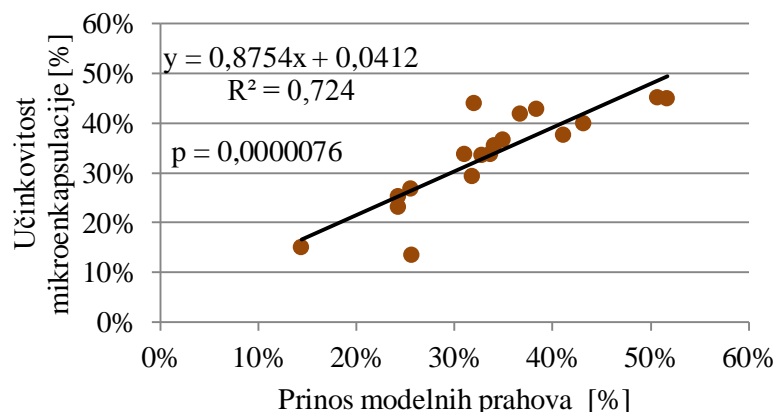
Suprotno od uzoraka s maltodekstrinom i smjesom maltodekstrina i inulina, kod uzoraka s inulinom veći učinak mikroinkapsulacije fenolnih spojeva postignut je pri omjeru 3:1 za sve tri korištene temperature. To je u skladu i s rezultatima za prinos modelnih prahova iz čega se može zaključiti da ako se u sušenju raspršivanju kao nosač koristi inulin, potrebno je dodati veću količinu nosača nego upotrebom maltodekstrina. Međutim, ovi rezultati su u suprotnosti s rezultatima Saénza i sur. (2009) koji su sušeći indijsku smokvu uz nosač maltodekstrin, kao optimalne parametre dobili omjer uzorka i nosača 3:1 i temperaturu 140 °C, a uz nosač inulin omjer 5:1 i temperaturu 120 °C. Temperatura od 180 °C rezultirala je najmanjim učinkom mikroinkapsulacije galne kiseline kod oba omjera galne kiseline i nosača. U preliminarnom istraživanju sušenja raspršivanjem komine masline Pains i sur. (2015) došli su do zaključka da ulazne temperature niže od 130 °C uzrokuju nastajanje vlažnog sloja na stjenkama komore za sušenje, a temperature više od 160 °C dovode do velikog uništenja polifenola. Tonon i sur. (2008) ističu da prahovi proizvedeni na nešto nižim temperaturama, zbog većeg udjela vlage, imaju veću sklonost stvaranja aglomerata. Time se smanjuje izloženost kisiku što štiti osjetljive spojeve od oksidacije. Najveći učinak mikroinkapsulacije ukupnih fenola uz upotrebu inulina iznosi 37,69 % i postignuta je na temperaturi od 150 °C i omjeru galne kiseline i nosača 3:1. Pri tim uvjetima postignut je i najveći prinos proizvodnje stoga su ovi parametri odabrani za sušenje ekstrakta lista masline.

Kao i kod modelnih prahova dobivenih uz maltodekstrin, kod prahova dobivenih uz smjesu maltodekstrina i inulina veća učinkovitost mikroinkapsulacije ukupnih fenola postignuta je uz omjer galne kiseline i nosača 5:1, neovisno o temperaturi. Druga sličnost s uzorcima dobivenim uz maltodekstrin je da je sušenjem na temperaturi od 150 °C postignuta najveća učinkovitost mikroinkapsulacije ukupnih fenola kod oba omjera galne kiseline i nosača. To znači i da su parametri za sušenje ekstrakta lista masline isti kao i upotrebom

maltodekstrina, 150 °C i omjer 5:1. O učinkovitosti ne previsokih temperatura govore i rezultati Şahin – Nadeem i sur. (2011) koji su postigli povećanje od 4 % u koncentraciji ukupnih fenola povišenjem temperature ulaznog zraka sa 145 °C na 155 °C. Ipak, daljnjim povećanjem temperature ulaznog zraka na 165 °C koncentracija ukupnih fenola malo se smanjila.

Lacerda i sur. (2016) su u sušenju pulpe palme *Euterpe edulis* Martius koristili iste nosače (maltodekstrin, inulin i smjesu maltodekstrina i inulina 50:50), ali u omjeru s pulpom 1:2. Nisu istražili učinkovitost mikroinkapsulacije ukupnih fenola već pigmenta antocijana koja je iznosila 14,6 %, 10,1 % i 20 % uz maltodekstrin, inulin i smjesu maltodekstrina i inulina. Dokazali su da je kombinacijom maltodekstrina i inulina moguće postići bolje zadržavanje bioaktivnih komponenti nego upotrebom svakog nosača zasebno što nije bio slučaj u ovom istraživanju. Možemo primijetiti da je i u njihovom istraživanju postignuto najlošije zadržavanje bioaktivnih komponenti ako se kao nosač koristio inulin. Međutim inulin kao prirodni polisaharid, dijetalno vlakno i prebiotik ima fiziološke prednosti za ljude i funkcionalna svojstva hrane (Araujo – Díaz i sur., 2017).

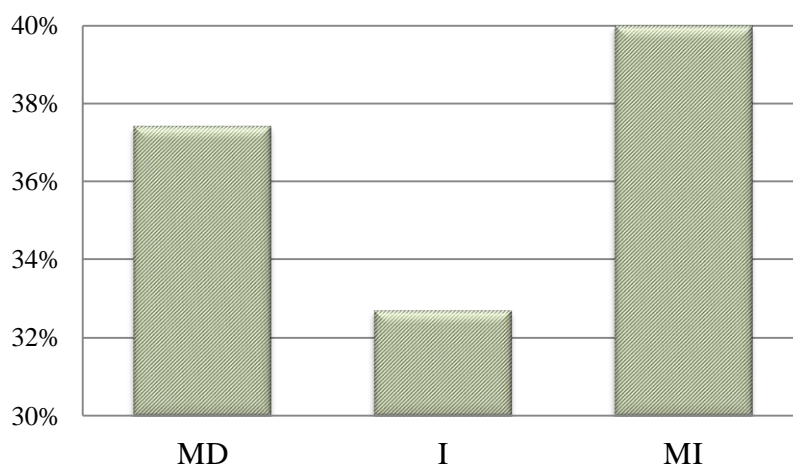
Povezanost prinosa modelnih prahova i učinkovitosti mikroinkapsulacije galne kiseline u modelnim prahovima prikazana je na slici 14. Koeficijent determinacije R^2 iznosi 0,724, koeficijent korelacije r je 0,85, a statistička značajnost koeficijenta korelacije $p = 0,0000076$. Budući da je $p < 0,05$ može se reći da je koeficijent korelacije značajan i da se radi o jakoj pozitivnoj korelaciji ($r > 0,8$). Odnosno, ako je prinos modelnog praha veći, veća je i učinkovitost mikroinkapsulacije galne kiseline.



Slika 14. Povezanost prinosa modelnih prahova i učinkovitosti mikroinkapsulacije galne kiseline u modelnim prahovima

4.3. PRINOS PRAHOVA EKSTRAKTA LISTA MASLINE

Nakon provedenog sušenja raspršivanjem modelnih otopina galne kiseline i analize prinosa modelnih prahova i učinkovitosti mikroinkapsulacije galne kiseline, odabrani su optimalni parametri (temperatura i omjer uzorka i nosača) za svaki od nosača. Zatim je pri tim optimalnim uvjetima provedeno sušenje raspršivanjem ekstrakta lista masline, a rezultati prinosa proizvodnje prikazani su na slici 15.



Slika 15. Prinosa (%) prahova ekstrakta lista masline proizvedenih sušenjem raspršivanjem uz nosače maltodekstrin (MD), inulin (I) i smjesu maltodekstrina i inulina (MI)

Kad se kao nosač upotrijebila smjesa maltodekstrina i inulina postignut je najveći prinos praha ekstrakta lista masline koji je iznosio 39,97 %. Prinos sušenja s nosačem maltodekstrinom iznosi 37,4 %, a s inulinom 32,71 %. U procesu sušenja raspršivanjem prinos proizvoda u ciklonu od minimalno 50 % smatra se kriterijem za uspješno sušenje (Vidović i sur., 2014), a to u ovom istraživanju nije zadovoljeno. Ove vrijednosti prinosa praha ekstrakta lista masline, niže su od najviših postignutih vrijednosti prinosa prahova drugih biljnih materijala, zabilježenih od drugih autora: *Satureja montana*, 66,42 – 68,32 % (Vidović i sur., 2014); palma *Euterpe edulis* Martius, 22,4 – 61,1 % (Lacerda i sur., 2016); planinski čaj, 11,77 – 50,72 % (Şahin Nadeem i sur., 2011); crni ribiz, 24,1 – 86,3 % (Bakowska – Barczak i Kolodziejczyk, 2011); *Eugenia dysenterica* DC., 37 – 81,20 % (Daza i sur. 2016). Manje vrijednosti (14,54 – 39,16 %) zabilježili su samo Krishnaiah i sur. (2012) na biljci noni (*Morinda citrifolia* L.). Razlike u navedenim prinosisima prahova mogu biti i posljedica upotrebe različitih nosača kao što su maltodekstrini različitog DE, arapska guma, inulin, škrob, κ – karagenan, β – ciklodekstrin.

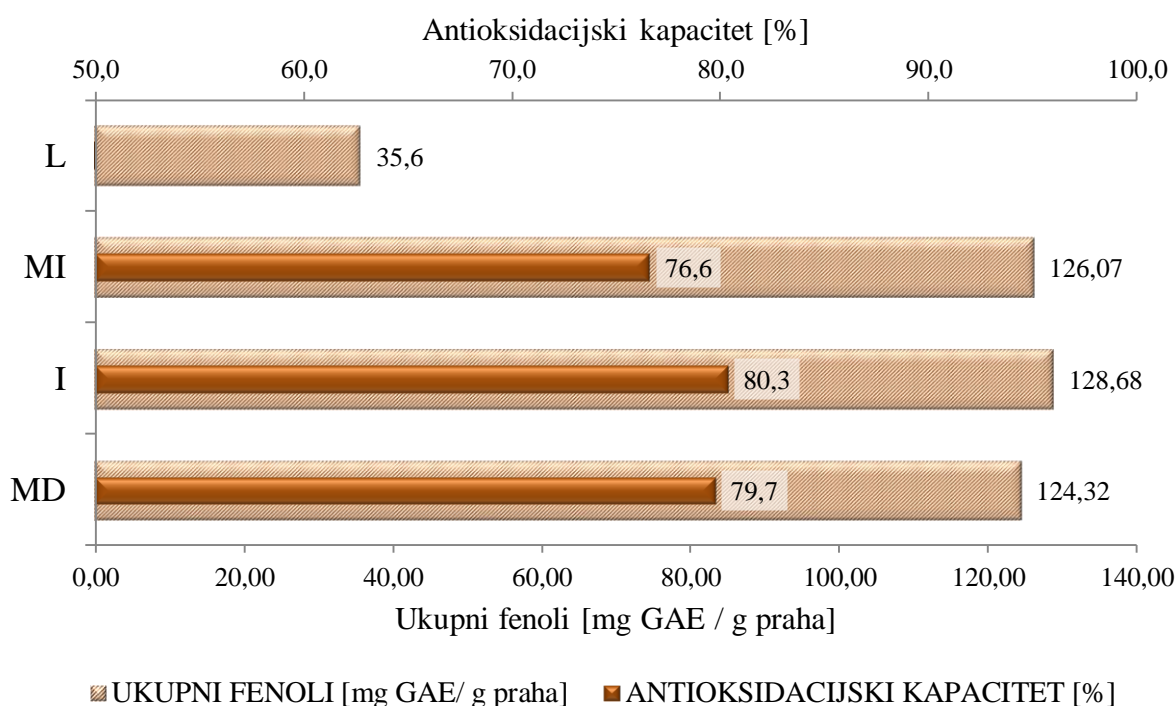
Uzorci s maltodekstrinom i smjesom maltodekstrina i inulina proizvedeni su pri omjeru uzorka i nosača 5:1, a uzorak s inulinom proizveden je pri omjeru 3:1 te je rezultirao najmanjim prinosom proizvoda. To je u suglasju s već opisanim rezultatima Tonon i sur. (2008) te Krishnaiah i sur. (2012) u kojima je povećanje koncentracije nosača (maltodekstrin te κ – karagenan i maltodekstrin) pokazalo negativan učinak na prinos procesa. Suprotno tome, rezultati Şahin Nadeem i sur. (2011) te (Yousefi i sur., 2011) pokazali su da povećanje koncentracija nosača (β - ciklodekstrin, arapska guma i maltodekstrin te arapska guma, maltodekstrin i škrob) pozitivno utječe na prinos proizvoda. Navode da povećanjem koncentracije nosača dolazi do povećanja sadržaja krute tvari što povećava prinos praha u sušenju raspršivanjem.

Yousefi i sur. (2011) navode da razlika u prinosu proizvoda uz različite nosače može biti posljedica različite konfiguraciju proizvedenih prahova. U njihovom istraživanju prahovi proizvedeni sa škrobom kao nosačem imali su kristalnu konfiguraciju zbog čega je taloženje na stjenke komore za sušenje bilo povećano, a prinos značajno niži. Lacerda i sur. (2016) su u već spomenutom istraživanju sušenja pulpe palme *Euterpe edulis* Martius, uz iste nosače kao što su u ovom istraživanju (maltodekstrin, inulin i smjesa maltodekstrina i inulina 50:50) dobili prinose proizvoda 38,8 %, 22,4 % i 39,8 %. Njihovi rezultati su u skladu s rezultatima ovog istraživanja, odnosno najveći prinos postignut je primjenom smjese maltodekstrina i inulina, a najmanji primjenom inulina. Bakowska – Barczak i Kolodziejczyk (2011) su u sušenju raspršivanjem ekstrakta crnog ribiza kao nosače koristili inulin i maltodekstrine različitog dekstroznog ekvivalenta. Na temperaturi od 150 °C uz inulin postigli su prinos od 76,3 %, a uz maltodekstrin DE18 77,4 % što znači da je razlika gotovo zanemariva.

Usporedbom ovih vrijednosti prinosa praha s prinosom modelnih prahova galne kiseline, pri istim parametrima procesa, uočava se da nisu u korelaciji ($p = 0,979$). Naime, kod modelnih prahova najveći prinos od čak 51,67 % ostvaren je upotrebom maltodekstrina što je značajno više od 37,4 % koliki je prinos praha ekstrakta lista masline upotrebom maltodekstrina. Uz smjesu maltodekstrina i inulina vrijednosti prinosa modelnog praha i praha ekstrakta lista masline ne razlikuju se mnogo, 38,33 % i 39,97 %. Međutim, među prahovima ekstrakta lista masline to je bio najveći postignuti prinos, dok je kod modelnih prahova bio najniži.

4.4. KONCENTRACIJE UKUPNIH FENOLA I ANTIOKSIDACIJSKI KAPACITETI PRAHOVA EKSTRAKTA LISTA MASLINE

Slika 16. prikazuje koncentracije ukupnih fenola lista masline i prahova dobivenih sušenjem ekstrakta lista masline uz nosače maltodekstrin, inulin i smjesu maltodekstrina i inulina. Najveća koncentracija ukupnih fenola postignuta je upotrebom inulina kao nosača i iznosi 128,68 mg GAE/g praha, nešto manju koncentraciju (126,07 mg GAE/g praha) ima uzorak sa smjesom maltodekstrina i inulina, a najmanja koncentracija ukupnih fenola od 124,32 mg GAE/g praha postignuta je upotrebom maltodekstrina. Bakowska – Barczak i Kolodziejczyk (2011) su u sušenju raspršivanjem ekstrakta crnog ribiza uz nosače inulin i maltodekstrin DE18, na temperaturi od 150 °C, postigli veću koncentraciju polifenola upotrebom maltodekstrina (1243,0 mg/100 g) nego inulina (967,2 mg/100 g).



Slika 16. Koncentracija ukupnih fenola lista masline (L) i koncentracije ukupnih fenola i antioksidacijski kapaciteti prahova ekstrakta lista masline dobivenih sušenjem raspršivanjem uz nosače maltodekstrin (MD), inulin (I) i smjesu maltodekstrina i inulina (MI)

Ako ove vrijednosti usporedimo s koncentracijom ukupnih fenola u listu masline, koja iznosi 35,6 mg GAE/g, vidimo povećanje od 3,61 puta za uzorak s inulinom, 3,54 puta za uzorak sa smjesom maltodekstrina i inulina te 3,49 puta za uzorak s maltodekstrinom.

Optimalna temperatura sušenja raspršivanjem za sva tri nosača bila je 150 °C, tako da razlika u koncentraciji ukupnih fenola nije posljedica razlike u temperaturi. Međutim, optimalan omjer uzorka i nosača u uzorku s inulinom bio je 3:1, dok je za ostala dva uzorka omjer bio 5:1. Ta veća koncentracija nosača u uzorku s inulinom može biti razlog boljeg zadržavanja fenolnih spojeva. Do suprotnog zaključka došli su Vidović i sur. (2014) sušeći ekstrakt biljke *Satureja montana* L.. Povećanje koncentracije maltodekstrina s 10 na 50 % dovelo je do smanjenja ukupnih fenola sa 153,61 na 100,94 mg GAE/g.

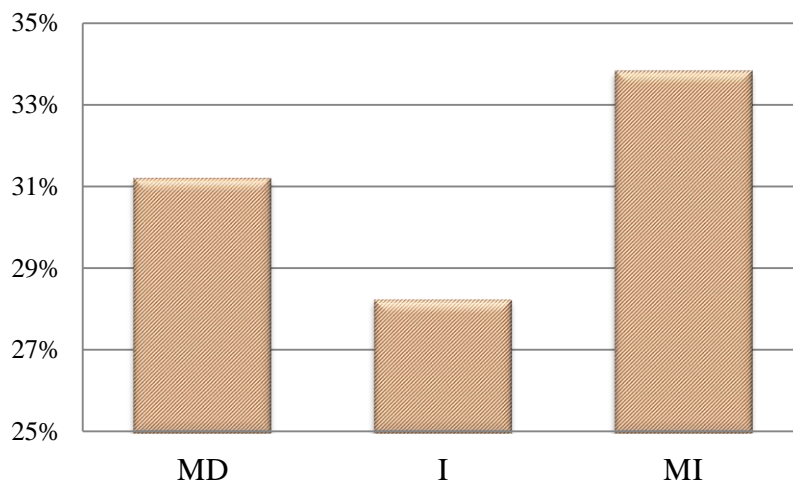
Za razliku od modelnih prahova galne kiseline u kojima se može uočiti korelacija između prinosa proizvoda i učinkovitosti mikroinkapsulacije ukupnih fenola ($p < 0,05$), u prahovima ekstrakta lista masline nema korelacije ($p = 0,487$). Uzorak s inulinom imao je najniži prinos praha, a najveću koncentraciju ukupnih fenola. U istraživanju Lacerda i sur. (2016) zadržavanje antocijana u mikročesticama praha palme *Euterpe edulis* Martius bilo je u korelaciji s prinosom proizvodnje ($r = 0,441$; $p = 0,0102$).

Na slici 16. su prikazani i antioksidacijski kapaciteti prahova ekstrakta lista masline, međutim antioksidacijski kapacitet ekstrakta lista masline nije izmjeren. Kao i koncentracija ukupnih fenola, najveći antioksidacijski kapacitet izmjeren je u uzorku s inulinom, 80,3 %. Malo manji je antioksidacijski kapacitet uzorka s maltodekstrinom, 79,7 %, a najmanji antioksidacijski kapacitet izmjeren sa smjesom maltodekstrina i inulina, 76,6 %. Ove vrijednosti nisu u korelaciji s koncentracijom ukupnih fenola što nije ništa neuobičajeno. Naime, Mylonaki i sur. (2008) u ekstrakciji polifenola iz lista masline za takvu korelaciju navode da se antioksidacijska svojstva ekstrakta ne mogu pripisati samo ukupnim fenolima, već da predstavljaju brojne interakcije među različitim fenolnim spojevima.

4.5. UČINKOVITOST MIKROINKAPSULACIJE UKUPNIH FENOLA EKSTRAKTA LISTA MASLINE

Najveća učinkovitost mikroinkapsulacije ukupnih fenola ekstrakta lista masline (Slika 17.) postignuta je kad je kao nosač korištena smjesa maltodekstrina i inulina, 33,81 %. S nosačem maltodekstrinom učinkovitost mikroinkapsulacije iznosi 31,20 %, a najmanja učinkovitost postignuta je upotrebom inulina i iznosi 28,24 %. Navedene vrijednosti u korelaciji su s vrijednostima za prinos praha ekstrakta lista masline, odnosno najveći prinos praha i najveća učinkovitost mikroinkapsulacije ukupnih fenola postignuti su korištenjem smjese

maltodekstrina i inulina. Iako je koncentracija ukupnih fenola u uzorku s inulinom bila najveća, zbog manjeg prinosa odnosno manje mase dobivenog praha učinkovitost je najmanja.



Slika 17. Učinkovitost mikroinkapsulacije (%) ukupnih fenola ekstrakta lista masline proizvedenih sušenjem raspršivanjem uz nosače maltodekstrin (MD), inulin (I) i smjesu maltodekstrina i inulina (MI)

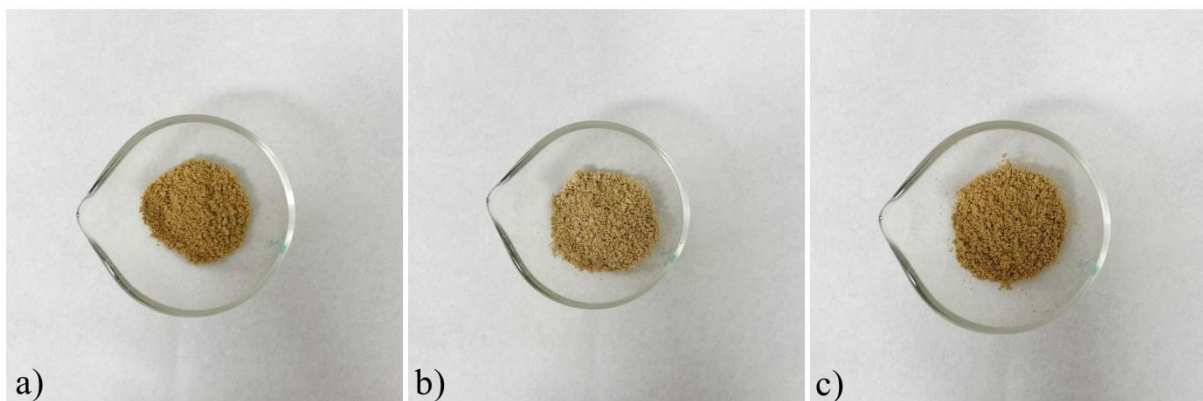
Ove vrijednosti učinkovitosti mikroinkapsulacije ukupnih fenola niže su od učinkovitosti mikroinkapsulacije galne kiseline i većine vrijednosti zabilježenih od već spomenutih drugih autora. U istraživanju Tonon i sur. (2010) sok açaí bobica prije sušenja raspršivanjem imao je koncentraciju ukupnih antocijana od 3946,14 mg/100 g praha. Nakon sušenja raspršivanjem prah dobiven uz maltodekstrin DE20 imao je koncentraciju ukupnih antocijana 3402,30 mg/100 g praha, a uz arapsku gumu 3415,96 mg/100 g praha što je prinos od 86 i 87 %. Pains i sur. (2015) su u sušenju raspršivanjem ekstrakta komine masline postigli učinkovitost mikroinkapsulacije ukupnih fenola veću od 50 % za sve uzorke. Učinkovitost od čak 94 % postigli su upotrebom maltodekstrina DE10, temperature 130 °C i protoka ulazne sirovine od 10 mL/min. Zaključili su kako visoka temperatura korištena u procesu sušenja nije imala veliki utjecaj na polifenole prisutne u ekstraktu. Učinkovitost mikroinkapsulacije veću od 100 % zabilježili su Saénz i sur (2009) koji su prvo ekstrahirali spojeve iz indijske smokve i dobiveni ekstrakti imali su koncentraciju ukupnih fenola od 1607 i 2223 mg GAE/g praha. Prvi ekstrakt sušili su uz nosač maltodekstrina, a drugi uz inulin. Koncentracija ukupnih fenola u dobivenim prahovima iznosila je 1812 i 2410 mg GAE/g praha, što je prinos od 112 % i 108 %. Navode da to može biti posljedica hidrolize konjugata polifenola tijekom pripreme uzoraka ili tijekom procesa sušenja.

4.6. BOJA

Boja je važan čimbenik svih prehrambenih proizvoda jer odražava ne samo senzorsku privlačnost, već ima i direktan utjecaj na kvalitetu. Postoji zeleno i obojano (od žute do ljubičaste) voće i povrće što je posljedica prisutnosti različitih pigmenata poput klorofila, karotena i antocijana (Saénz i sur., 2009). Cilj svakog postupka prerade, pa tako i sušenja raspršivanjem, je zadržati boju proizvoda što sličniju izvornoj sirovini (Caliskan i Dirim, 2013). U prahovima ekstrakta lista masline proizvedenim primjenom tri različite vrste nosača određeni su parametri boje L^* , a^* , b^* , C i H primjenom CIEL*a*b* sustava boja. Iz tablice 4., u kojoj su prikazani rezultati određivanja parametara boje, može se primijetiti da se za prah ekstrakta lista masline proizvedenog s inulinom svih 5 vrijednosti značajno razlikuje od prahova proizvedenih s maltodekstrinom te smjesom maltodekstrina i inulina. Tu razliku može se primijetiti i iz fotografija prahova na Slici 18., te grafičkog prikaza na Slici 19. koji predstavlja točnu boju praha za navedene L^* , a^* i b^* vrijednosti.

Tablica 4. Parametri boje suhih mikroinkapsuliranih prahova ekstrakta lista masline

| | L^* | a^* | b^* | C | H |
|------------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| MALTODEKSTRIN | $60,23 \pm 0,23$ | $5,76 \pm 0,10$ | $31,17 \pm 0,13$ | $31,69 \pm 0,14$ | $79,53 \pm 0,13$ |
| INULIN | $67,44 \pm 0,20$ | $4,13 \pm 0,06$ | $29,70 \pm 0,10$ | $29,98 \pm 0,11$ | $82,08 \pm 0,08$ |
| MALTODEKSTRIN + INULIN | $60,68 \pm 0,18$ | $5,74 \pm 0,04$ | $32,25 \pm 0,08$ | $32,76 \pm 0,09$ | $79,91 \pm 0,05$ |



Slika 18. Mikroinkapsulirani prahovi ekstrakta lista masline proizvedeni sušenjem raspršivanjem uz nosače: a) maltodekstrin; b) inulin; c) maltodekstrin + inulin (fotografija:

Dobrinčić



Slika 19. Grafikon boja prahova ekstrakta lista masline proizvedenih uz nosače:

a) maltodekstrin; b) inulin; c) maltodekstrin + inulin (e – paint, 2017)

Vrijednost L^* (eng. *Lightness*) predstavlja svjetlinu boje ili luminanciju. Više L^* vrijednosti znače slabiju obojenost, odnosno svjetlije obojenje, dok niže L^* vrijednosti znače tamnije obojenje ($L^* = 100$ apsolutno bijelo; $L^* = 0$ apsolutno crno). Vrijednost za parametar L^* praha ekstrakta lista masline proizvedenog s inulinom iznosila je $67,44 \pm 0,20$, dok je s maltodekstrinom odnosno njihovom smjesom iznosila $60,23 \pm 0,23$ te $60,68 \pm 0,18$. To znači da je prah proizveden s inulinom svjetlijeg obojenja. Ova razlika možda je posljedica veće koncentracije nosača (omjer 3:1) koja je korištena u uzorku s inulinom, za razliku od uzoraka s maltodekstrinom i smjesom maltodekstrina i inulina (omjer 5:1). Lacerda i sur. (2016) su zaključili da je upravo omjer uzorka i nosača, a ne sastav nosača, glavni čimbenik koji utječe na L^* vrijednost. Što je omjer uzorka i nosača veći, odnosno što je manje nosača, boja praha je tamnija. To su objasnili činjenicom da je nosač svjetlije boje nego uzorak, pa ako je dodan u većoj koncentraciji rezultirat će svjetlijim prahom. U istraživanju Şahin Nadeem i sur. (2011) vrsta nosača uzrokovala je značajnu promjenu u L^* i a^* vrijednosti praha planinskog čaja. Upotrijebili su nosače arapsku gumu, maltodekstrin i β – ciklodekstrin, a uzorak u koji je dodana arapska guma bio je najtamniji i najcrveniji. To su povezali s izvornom bojom arapske guma koja je krem, a ne bijela kao ostali nosači. Nadalje, kemijski sastav arapske gume uključuje različite šećere zbog čega je vjerojatno više sklona neenzimskom posmeđivanju tijekom sušenja raspršivanjem.

Vrijednost a^* predstavlja plavo – zelenu odnosno crveno – purpurnu komponentu boje, tj. daje odnos zelene i crvene komponente. Negativna a^* vrijednost označava zelenu, a pozitivna a^* vrijednost označava crvenu boju. Vrijednost a^* za sva tri uzorka je pozitivna što znači da prevladava crvena boja. To upućuje na degradaciju zelenog biljnog pigmenta klorofila ili na enzimsko ili neenzimsko posmeđivanje. Prah proizveden s inulinom rezultirao je nižom a^* vrijednošću odnosno manjim udjelom crvene boje.

Vrijednost b^* predstavlja odnos žute i plave komponente. Negativna b^* vrijednost označava plavu, a pozitivna b^* vrijednost označava žutu boju. Iz tablice 4. možemo vidjeti da svi uzorci imaju pozitivnu b^* vrijednost što znači da prevladava žuta boja. Međutim, i ovdje je vrijednost za uzorak s inulinom nešto niža, odnosno udio žute boje je nešto niži.

Vrijednost C (*Chroma, Saturation*) predstavlja intenzitet boje ili zasićenost boje. Jarke i čiste boje bez primjesa odlikuju se visokom zasićenošću, odnosno većom C vrijednošću. Boje smanjene zasićenosti djeluju pastelnije i blaže, a karakterizira ih niža C vrijednost. Vrijednost C praha proizvedenog s inulinom iznosila je $29,98 \pm 0,11$ i nešto je niža od prahova s maltodekstrinom i smjesom maltodekstrina i inulina što znači da je manje zasićena.

Vrijednost H (engl. *Hue angle*) označava ton boje ili tonalnost tj. vizualni doživljaj predstavlja osjet izazvan različitim dijelovima spektra uz jednaku svjetloću. Promatra se kao kut u prostoru boje i izražava u stupnjevima, a računa se prema formuli $\arctg = \frac{b^*}{a^*}$. Kut od 0° označava crveni, od 90° žuti, od 180° zeleni te od 270° plavi ton boje. H vrijednost sva tri uzorka nalazi se u I – om kvadrantu kartezijevog koordinatnog sustava (79,53, 82,08 i 79,91). I kvadrant (+a*= crveno, +b* = žuto), u kojem se ton mijenja od crvenog preko narančastog do žutog, uz nisku L* vrijednost i tamnije boje, predstavlja područje okera, ciglastih, umbra i drugih smeđecrvenih, smeđih i sličnih tonalnosti (Elez Garofulić, 2015).

U ovom istraživanju nije izmjerena boja svježih listova masline, no Boudhrioua i sur. (2009) izmjerili su L*, a* i b* parametre boje svježeg lista četiri sorte masline. L* vrijednost kretala se u rasponu od $29,79 \pm 0,61$ do $35,02 \pm 1,6$ što je mnogo manje od L* vrijednosti prahova ekstrakta lista masline dobivenih u ovom istraživanju. To znači da je prah dobiven sušenjem raspršivanjem svjetliji u odnosu na svježi list. Vrijednosti parametra a* kretale su se u rasponu od $-9,14 \pm 1,21$ do $-5,01 \pm 0,26$ što znači da prevladava zelena boja, a vrijednosti parametra b* od $6,24 \pm 0,14$ do $11,37 \pm 1,36$ upućuju da prevladava žuta boja. Veliku razliku uočavamo u parametru a* koji je u prahovima ekstrakta lista masline pozitivan i upućuje na prevladavanje crvene, a ne zelene boja. Infracrvenim sušenjem na 40°C i Boudhrioua i sur. (2009) zabilježili su promjenu parametra a* koja je porasla ili postala pozitivna. Slične rezultate i promjenu boje iz zelene u smečkastu, postigli su i Rocha i sur. (1993) na bosiljku što su pripisali degradaciji klorofila (zeleni) u feofitin (smeđi) i enzimskom ili neenzimskom posmeđivanju.

4.7. NASIPNA GUSTOĆA

Mjerenje nasipne gustoće prahova biljnih ekstrakata vrlo je važno s obzirom da je najčešći oblik upotrebe takvih prahova u kapsulama ili tabletama čiji je volumen ograničen (Vidović i sur., 2014). Iz tablice 5. vidi se da je nasipna gustoća praha ekstrakta lista masline u kojoj je nosač bio inulin bila najmanja i iznosila je $0,25 \text{ g/mL}$, uz nosač maltodekstrin

nasipna gustoća bila je 0,32 g/mL, a uz mješavinu maltodekstrina i inulina 0,35 g/mL. U usporedbi s prahovima ekstrakata drugih biljnih vrsta, nasipna gustoća praha ekstrakta lista masline bila je uglavnom manja: zelenog čaja 0,44 – 0,49 g/mL, bez nosača (Vuong i sur., 2013); infuzije cimeta 0,536 – 0,554 g/mL, maltodekstrin DE10 (Santiago – Adame i sur., 2015); ekstrakta planinskog čaja 0,34 – 0,38 g/mL, β - ciklodekstrin, arapska guma i maltodekstrin (Şahin Nadeem i sur., 2011); ekstrakta propolisa 0,32 – 0,37 g/mL, maltodekstrin, arapska guma i galaktomanan (Busch i sur., 2017).

Tablica 5. Nasipna gustoća mikroinkapsuliranih prahova ekstrakta lista masline

| | δ_n (g/mL) |
|------------------------|-------------------|
| MALTODEKSTRIN | 0,32 |
| INULIN | 0,25 |
| MALTODEKSTRIN + INULIN | 0,35 |

Nasipna gustoća predstavlja omjer mase i visine nasutog sloja te osim čestica uključuje i prostor među njima. Teži prah će lakše popuniti prostor između čestica i pritom će zauzeti manji volumen te će imati veću nasipnu gustoću. Bioaktivni spojevi u prahu ekstrakta lista masline podložni su oksidaciji pa ako je prostor među česticama veći, dostupna je veća koncentracija kisika koji uzrokuje degradativne promjene i smanjenje bioaktivnih svojstava proizvedenih prahova (Tonon i sur., 2010). Zbog toga, ali i smanjenih troškova pakiranja i skladištenja, poželjno je proizvesti prahove veće nasipne gustoće (Shishir i Chen, 2017).

Literaturni podaci pokazuje da na fizikalna svojstva prahova, među kojima je i nasipna gustoća, značajno utječe temperatura sušenja i vrsta nosača. Budući da su sva tri uzorka osušena na istoj temperaturi, može se zaključiti da je razlika u nasipnoj gustoći posljedica primjene različitih nosača. Tonon i sur. (2010) raspršivanjem su sušili sok acai bobica uz primjenu četiri nosača: maltodekstrin 10DE, maltodekstrin 20DE, arapska guma i tapioka škrob. Rezultati mjerenja nasipne gustoće proizvedenih prahova pokazali su da je nasipna gustoća praha proizvedenog s tapioka škrobom značajno veća od ostalih. To su objasnili najvećom molekularnom masom tapioka škroba koji sadrži veći udio amilopektina u odnosu na kukuruzni škrob. Şahin – Nadeem i sur. (2013) zaključili su da razlike u nasipnoj gustoći mogu biti posljedica razlike u veličini čestica dobivenog praha, ali i nasipnoj gustoći samih nosača. Što su čestice praha veće, nasipna gustoća je manja. Nasipna gustoća nosača koje su koristili u istraživanju, β – ciklodekstrin, maltodekstrin i arapska guma, bila je u pozitivnoj korelaciji s nasipnom gustoćom prahova proizvedenih upotrebom tih nosača.

Razlog manje nasipne gustoće praha proizvedenog s inulinom možda je i posljedica veće koncentracije nosača (omjer 3:1) koja je korištena u ovom uzorku za razliku od uzoraka s maltodekstrinom i smjesom maltodekstrina i inulina (omjer 5:1). Naime, Pains i sur. (2015) navode da povećanje koncentracije nosača (maltodekstrina) kao i ulazne temperature dovode do smanjenja nasipne gustoće. S druge strane, u istraživanju Vidović i sur. (2014) povećanje koncentracije nosača s 10 na 50 % dovelo je do smanjenja nasipne gustoće praha ekstrakta *Satureja montana* sa 138,0 mg/ml na 82,4 mg/ml, a Yousefi i sur., (2011) navode da nema jasne povezanost između koncentracije nosača i nasipne gustoće.

4.8. REHIDRATACIJA PRAHOVA

Rehidracijom prahova određeno je vrijeme koje je potrebno da osušeni prah bude vizualno potpuno mokar. Iz tablice 6. vidljivo je da je vrijeme rehidracije praha ekstrakta lista masline proizvedenog s inulinom najveće i da iznosi 140 s. Vrijeme rehidracije praha proizvedenog s maltodekstrinom bilo je 81 s, a najkraće vrijeme rehidracije od samo 58 s, postignuto je otapanjem praha proizvedenog sa smjesom maltodekstrina i inulina.

Tablica 6. Vrijeme rehidracije prahova ekstrakta lista masline

| NOSAČ | VRIJEME (s) |
|------------------------|-------------|
| MALTODEKSTRIN | 81 |
| INULIN | 140 |
| MALTODEKSTRIN + INULIN | 58 |

Oberoi i Sogi (2015) utvrdili su obrnuto proporcionalni odnos između vremena rehidracije i udjela vlage u prahu te proporcionalni odnos između vremena rehidracije i koncentracije maltodekstrina. Prahovi proizvedeni s niskom koncentracijom MD sadržavali su veći udio vlage te su imali veću sklonost aglomeraciji čime je proces otapanja ubrzan. Do suprotnog zaključka o ovisnosti sadržaja vlage i vremena rehidracije došli su i Negrão – Murakami i sur. (2017) sušeci biljku mate (*Ilex paraguariensis.*). Oni su istražili utjecaj maltodekstrina različitog dekstroznog ekvivalenta na vrijeme rehidracije i udio vlage. Povećanjem s DE10.2 na DE18.6 vrijeme rehidracije se povećalo s 385,05 s na 429,01 s, a udio vlage se povećao s 3,09 % na 3,33 %. To su povezali s kemijskom strukturom MD s visokim DE, koji sadrže veliki broj hidrofilnih skupina zbog čega se lako mogu vezati s molekulama vode iz okolnog zraka. Može se primijetiti i da su ove vrijednosti vremena rehidracije praha mate značajno veće od onih praha ekstrakta lista masline.

5. ZAKLJUČAK

1. Najveći prinos praha galne kiseline i najveća učinkovitost mikroinkapsulacije galne kiseline postignuti su uz nosač maltodekstrin. Optimalna temperatura za sva tri korištena nosača je 150 °C. Optimalan omjer galne kiseline i nosača uz maltodekstrin i smjesu maltodekstrina i inulina je 5:1.
2. Najveći prinos praha i učinkovitost mikroinkapsulacije ekstrakta lista masline postignuti su upotrebom smjese maltodekstrina i inulina, a najveća koncentracija ukupnih fenola i najveći antioksidacijski kapacitet postignuti su uz nosač inulin unatoč najmanjem prinosu praha i učinkovitosti mikroinkapsulacije ukupnih fenola.
3. Koncentracije ukupnih fenola u prahovima ekstrakta lista masline dobivenim sušenjem raspršivanjem povećane su više od tri puta u odnosu na prah lista masline prije sušenja raspršivanjem.
4. Prahovi ekstrakta lista masline smeđkaste su nijanse što potvrđuju H vrijednosti u I – om kvadrantu (79,53, 82,08 i 79,91) i pozitivne a* vrijednosti (5,76, 4,13, i 5,74). Svih pet parametara boje praha proizvedenog s inulinom razlikuju se od ostala dva uzorka. Prah proizveden s inulinom svjetlije je obojenja, manjeg udjela crvene i žute boje te je boja pastelija.
5. Upotreba smjese maltodekstrina i inulina rezultirala je prahom s najvećom nasipnom gustoćom i najkraćim vremenom rehidracije, što su poželjne karakteristike praha, dok je upotrebom inulina nasipna gustoća bila najmanja, a vrijeme rehidracije najveće.
6. Upotrebom smjese maltodekstrina i inulina postignut je najveći prinos praha (39,97 %), najveća učinkovitost mikroinkapsulacije ukupnih fenola (33,81 %) i najbolja fizikalna svojstva praha, a upotrebom inulina najveća koncentracija polifenola (128,68 mg GAE/g praha).

6. POPIS LITERATURE

Abaza, L., Taamalli, A., Nsir, H., Zarrouk, M. (2015) Olive tree (*Olea europaeae* L.) leaves: Importance and advances in the analysis of phenolic compounds. *Antioxidants* **4**, 682-698.

Agroklub (2017) Maslina <<https://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/maslina-18/>>. Pristupljeno 1. Kolovoza 2017.

Aguiar, J., Estevinho, B. N., Santos, L. (2016) Microencapsulation of natural antioxidants for food application – The specific case of coffee antioxidants – A review. *Trends Food Sci Technol*, **58**, 21-39.

Ahmad-Qasem, M. H., Cánovas, J., Barrajón-Catalán, E., Micol, V., Cárcel, J. A., García-Pérez, J. V. (2013) Kinetic and compositional study of phenolic extraction from olive leaves (var. Serrana) by using power ultrasound. *Innov. Food Sci. & Emerg. Technol.* **17**, 120-129.

Alessandro, G., Christelle, T., Elisabeth, D. (2008) Powder agglomeration during the spray drying process: measurements of air properties. *Dairy Sci. Technol.* **88**, 53-64.

Anonymous (2017) Kretanje čestica praha i izlaznog zraka u ciklonu. <<http://spray-dryer.com/european-spray-dry-products/spray-drying-technologies/spray-drying-extraction-cyclone/>>. Pristupljeno 5. Kolovoza 2017.

Bakowska – Barczaka, A. M., Kolodziejczyk, P. P. (2011) Black currant polyphenols: Their storage stability and microencapsulation. *Ind Crops Prod.* **34**, 1301-1309.

Beristain, C. I., Garcia, H. S., Vernon-Carter, E. J. (2001) Spray – dried encapsulation of cardamom (*Elettaria cardamomum*) essential oil with Mesquite (*Prosopis juliflora*) gum. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, **34**, 398-401.

Boudhrioua, N., Bahloul, N., Slimen, I. B., Kechaou, N. (2009) Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Ind Crops Prod.* **29**, 412-419.

Bright, S. (2016) 7 Reasons You Should Take Olive Leaf Extract Every Day. <<http://www.naturallivingideas.com/olive-leaf-extract-benefits/>>. Pristupljeno 17. Kolovoza 2017.

Busch, V. M., Pereyra – Gonzalez, A., Šegatin, N., Santagapita, P. R., Poklar Ulrih, N., Buera, M. P. (2017) Propolis encapsulation by spray drying: Characterization and stability. *LWT - Food Sci Technol.* **75**, 227-235.

Byun, Y., Kim, Y. T., Desai, K. G. H., Park, H. J. (2010) Microencapsulation techniques for food flavour, U: *The Chemistry and Biology of Volatiles* (Herrmann, A., ured.), John Wiley & Sons Ltd, str. 307-332.

Cai, Y. Z., Corke, H. (2000) Production and Properties of Spray – dried *Amaranthus* Betacyanin Pigments. *J Food Sci.* **65**, 1248-1252.

Caliskan, G., Dirim, S. N. (2013) The effects of the different drying conditions and the amounts of maltodextrin addition during spray drying of sumac extract. *Food Bioprod Process.* **91**, 539-548.

Daza, L. D., Fujita, A., Fávoro – Trindade, C. S., Rodrigues – Ract, J. N., Granatod, D., Genovesea, 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.

Deis, R. C. (1997) Spray – Drying Innovative Use of an Old Process. *Food Prod. Des.* **7**, 97-113.

Deis, R.C. (1997) Spray – Drying Innovative Use of an Old Process. *Food Prod. Des.* **7**, 97-113.

Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske (2015) Biljna proizvodnja u 2014. <http://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2015/01-01-14_01_2015.htm>. Pristupljeno 1. Kolovoza 2017.

e – paint (2017) Convert L*a*b* values to the nearest standard colour. < http://www.e-paint.co.uk/Convert_Lab.asp> Pristupljeno 7. Kolovoza 2017.

Elez Garofulić, I. (2015) Optimiranje proizvodnje praha soka višnje maraske (*Prunus cerasus* var. Marasca) primjenom sušenja raspršivanjem. Doktorski rad, Prehrambeno – biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu.

Estevinho, B. N., Rocha, F., Santos, L., Alves, A. (2013) Microencapsulation with chitosan by spray drying for industry applications – A review. *Trends Food Sci Technol*, **31**, 138-155.

Fang, Z., Bhandari, B. (2010) Encapsulation of polyphenols – a review. *Trends Food Sci Technol*, **21**, 510-523.

Fang, Z., Bhandari, B. (2011) Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols. *Food Chem.* **129**, 1139-1147.

Gallegos – Infante, J. A., Rocha – Guzmán, N. E., González – Laredo, R. F., Medina – Torres, L., Gomez – Aldapa, C. A., Ochoa – Martínéz, L. A., Martínez – Sánchez, C. E., Hernández – Santos, B., Rodríguez – Ramírez, J. (2013) Physicochemical properties and antioxidant capacity of oak (*Quercus resinosa*) leaf infusions encapsulated by spray – drying. *Food Biosci.* **2**, 31-38.

Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R. (2007) Applications of spray – drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res. Int.* **40**, 1107-1121.

Gökmen, V., Sügüt, I. (2007) Computer – vision based analysis of colour as a tool for food process control. U: *Focus on food engineering research and developments*, (Pletney, V.N., ured.), Nova Publishers, New York, str. 17-27.

Gong, D., Geng, C., Jiang, L., Wang, L., Yoshimura, H., Zhong, L. (2011) Mechanisms of Olive Leaf Extract – Ameliorated Rat Arthritis Caused by Kaolin and Carrageenan. *Phytother Res.* **26**, 397-402.

Goula, A. M., Adamopoulos, K. G. (2010) A new technique for spray drying orange juice concentrate. *Innov. Food Sci. & Emerg. Technol.*, **11**, 342-351.

Hammami, C., Rene, F. (1997). Determination of freeze – drying process variables for strawberries. *J Food Eng.*, **32**, 133-154.

Healths Harmony (2017) Olive Leaf Extract <<https://healthsharmony.com/products/olive-leaf-extract>> Pristupljeno 17. Kolovoza 2017.

Kosaraju, S.L., D'ath, L., Lawrence, A. (2006) Preparation and characterisation of chitosan microspheres for antioxidant delivery. *Carbohydr Polym.* **64**, 163-167.

Krishnaiah, D., Sarbatly, R., Nithyanandam, R. (2012) Microencapsulation of *Morinda citrifolia* L. extract by spray-drying. *Chem. Eng. Res. Des.* **90**, 622-632.

Kwapinska, M., Zbicinski, I. (2005) Prediction of final product properties after co – current spray drying. *Drying Technol.* **23**, 1653–1665.

LabPlant (2017) Labplant Spray Dryer SD-06A/06AG <<http://www.labplant.co.uk/spray-dryer.html>> Pristupljeno 16. Kolovoza 2017.

Lacerda, E. C. Q., de Araújo Calado, V. M., Monteiro, M., Finotelli, P. V., Guedes Torres, A., Perrone, D. (2016) Starch, inulin and maltodextrin as encapsulating agents affect the quality and stability of jussara pulp microparticles. *Carbohydr Polym.* **151**, 500-510.

Lafka, T. I., Lazou, A. E., Sinanoglou, V. J., Lazos, E. S. (2013) Phenolic extracts from wild olive leaves and their potential as edible oils antioxidants. *Foods* **2**, 18-31.

Markin, D., Duek, L., Berdicevsky, I. (2003) *In vitro* antimicrobial activity of olive leaves. *Mycoses* **46**, 132-136.

Mylonaki, S., Kiassos, E., Makris, D. P., Kefalas, P. (2008) Optimisation of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. *Anal. Bioanal. Chem.* **392**, 977-985.

Nedović, V., Kalusević, A., Manojlović, V., Lević, S., Bugarski, B. (2011) An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Sci.* **1**, 1806-1815.

Negrão – Murakami, A. N., Nunes, G. L., Pinto, S. S., Murakami, F. S., Amante, E. R., Cunha Petrus, J. C., Prudêncio, E. S., Amboni, R. D. M. C. (2017) Influence of DE-value of maltodextrin on the physicochemical properties, antioxidant activity, and storage stability of spray dried concentrated mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). *LWT - Food Sci Technol.* **79**, 561-567.

Oberoi, D. P. S., Sogi, D. S. (2015) Effect of drying methods and maltodextrin concentration on pigment content of watermelon juice powder. *J Food Eng.* **165**, 172-178.

Obón, J. M., Castellar, M. R., Alacid, M., Fernández – López, J. A. (2009) Production of a red – purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems. *J. Food Eng.* **90**, 471–479.

Paini, M., Aliakbarian, B., Casazza, A. A., Lagazzo, A., Botter, R., Perego, P. (2015) Microencapsulation of phenolic compounds from olive pomace using spray drying: A study of operative parameters. *LWT - Food Sci Technol.* **62**, 177-186.

- Pang, S. F., Yusoff, M. M., Gimbun, J. (2014) Assessment of phenolic compounds stability and retention during spray drying of *Orthosiphon stamineus* extracts. *Food Hydrocoll.* **37**, 159-165.
- Patel, R. P., Patel M. P. Sutha, A. M. (2009) Spray drying technology: an overview. *Indian J. Sci. Technol.* **2**, 44-47.
- Phisut, N. (2012) Spray drying technique of fruit juice powder: some factors influencing the properties of product. *Int. Food Res. J.* **19**, 1297-1306.
- Rapoport, H. F., Fabbri, A., Sebastiani, L. (2016) Olive Biology. U: *The Olive Tree Genome* (Rugini, E., Baldoni, L., Muleo, R., Sebastiani, L., ured.), Springer International Publishing, str. 13-25.
- Rocha, T., Lebert, A., Marty – Audouin, C. (1993) Effect of Pretreatments and Drying Conditions on Drying Rate and Colour Retention of Basil (*Ocimum basilicum*). *LWT - Food Sci Technol.* **26**, 456-463.
- Saénz, 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.
- Şahin – Nadeem, H., Dinçer, C., Torun, M., Topuz, A., Özdemir, F. (2013) Influence of inlet air temperature and carrier material on the production of instant soluble sage (*Salvia fruticosa* Miller) by spray drying. *LWT - Food Sci Technol.* **52**, 31-38.
- Şahin – Nadeem, H., Torun, M., Özdemir, F. (2011) Spray drying of the mountain tea (*Sideritis stricta*) water extract by using different hydrocolloid carriers. *LWT - Food Sci Technol.* **44**, 1626-1635.
- Şahin, S., Şamlı, R. (2013) Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. *Ultrason. Sonochem.* **20**, 595–602.
- Santiago – Adame, R., Medina – Torres, L., Gallegos – Infante, J. A., Calderas, F., González – Laredo, R. F., Rocha – Guzm, N. E., Ochoa – Martínez, L. A., Bernad – Bernad, M. J. (2015) Spray drying – microencapsulation of cinnamon infusions (*Cinnamomum zeylanicum*) with maltodextrin. *LWT - Food Sci Technol.* **64**, 571-577.
- Shishir, M. R. I., Chen, W. (2017) Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. *Trends Food Sci Technol.* **65**, 49-67.

Shortle, E., O'Grady, M.N., Gilroy, D., Furey, A., Quinn, N., Kerry, J.P. (2014) Influence of extraction technique on the anti-oxidative potential of hawthorn (*Crataegus monogyna*) extracts in bovine muscle homogenates. *Meat Sci.*, **98**, 828-834.

Sigma Aldrich (2017a) Maltodextrin, dextrose equivalent 13.0-17.0, CAS Number 9050-36-6. <<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/419680?lang=en®ion=HR>>.

Pristupljeno 5. Kolovoza 2017.

Sigma Aldrich (2017b) Inulin from chicory, CAS Number 9005-80-5. <<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/i2255?lang=en®ion=HR>>.

Pristupljeno 5. Kolovoza 2017.

Sollohub, K., Cal, K. (2010) Spray Drying Technique: II. Current Applications in Pharmaceutical Technology. *J Pharm Sci.* **99**, 587-597.

Spinelli, R., Picchi, G. (2010) Industrial harvesting of olive tree pruning residue for energy biomass. *Bioresour Technol.* **101**, 730-735.

Stunda – Zujeva, A., Irbe, Z., Berzina – Cimdina, L. (2017) Controlling the morphology of ceramic and composite powders obtained via spray drying – A review. *Ceram Int.* **43**, 11543-11551.

Susalit, E., Agus, N., Effendi, I., Tjandrawinata, R. R., Nofiarny, D., Perrinjaquet – Moccetti, T., Verbruggen, M. (2011) Olive (*Olea europaea*) leaf extract effective in patients with stage – 1 hypertension: Comparison with Captopril. *Phytomedicine* **18**, 251-258.

Šajina, M. (2015) Dekstrozni ekvivalent. <<https://nutricionizam.com/dekstrozni-ekvivalent/>>.
Pristupljeno 30. Kolovoza 2017.

Tao, Y., Wang, P., Wang, J., Wua, Y., Han, Y., Zhou, J. (2017) Combining various wall materials for encapsulation of blueberry anthocyanin extracts: Optimization by artificial neural network and genetic algorithm and a comprehensive analysis of anthocyanin powder properties. *Powder Technol.* **311**, 77-87.

Tonon, R. V., Brabet, C., Hubinger, M. D. (2008) Influence of process conditions on the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder produced by spray drying. *J Food Eng.* **88**, 411-418.

- Tonon, R. V., Brabet, C., Hubinger, M. D. (2010) Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. *Food Res Int.* **43**, 907-914.
- Vidović, S. S., Vladić, J. Z., Vaštag, Ž. G., Zeković, Z. P., Popović, Lj. M. (2014) Maltodextrin as a carrier of health benefit compounds in *Satureja montana* dry powder extract obtained by spray drying technique. *Powder Technol.* **258**, 209-215.
- Vlassios Goulas, V., Exarchou, V., Troganis, A. N., Psomiadou, E., Fotsis, T., Briasoulis, E., Gerathanassis, I. P. (2009) Phytochemicals in olive – leaf extracts and their antiproliferative activity against cancer and endothelial cells. *Mol Nutr Food Res.* **53**, 600-608.
- Vuong, Q. V., Golding, J. B., Nguyen, M. H., Roach, P. D. (2013) Preparation of decaffeinated and high caffeine powders from green tea. *Powder Technol.* **233**, 169-175.
- Yancheva, S., Mavromatis, P., Georgieva, L. (2016) Polyphenol profile and antioxidant activity of extracts from olive leaves. *J Cent Eur Agric.* **17**, 154-163.
- Yousefi, S., Emam – Djomeh, Z., Mousavi, M. S. (2011) Effect of carrier type and spray drying on the physicochemical properties of powdered and reconstituted pomegranate juice (*Punica Granatum* L.). *J.Food Sci. Technol.* **48**, 677-684.