

Želatin kao nosač za isporuku polifenolnih komponenata

ALEKSANDRA A. JOVANOVIĆ, Univerzitet u Beogradu,
Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd
VERICA B. ĐORĐEVIĆ, Univerzitet u Beogradu,
Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd
STEVA M. LEVIĆ, Univerzitet u Beogradu,
Poljoprivredni fakultet, Beograd
SMILJA B. MARKOVIĆ, Institut tehničkih nauka SANU, Beograd
VLADIMIR B. PAVLOVIĆ, Univerzitet u Beogradu,
Poljoprivredni fakultet, Beograd
VIKTOR A. NEDOVIĆ, Univerzitet u Beogradu,
Poljoprivredni fakultet, Beograd
BRANKO M. BUGARSKI, Univerzitet u Beogradu,
Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd

Originalni naučni rad
UDC: 615.014.6
DOI: 10.5937/tehnika1705633

U prikazanoj studiji ispitan je uticaj različitih metoda inkapsulacije (liofilizacije i sprej sušenja) na želatin, kao nosač polifenolnih komponenata, na ekstrakte majčine dušice i na njihove želatinske inkapsulate. FTIR analiza je pokazala prisustvo ugljenih hidrata, polisaharida, polifenolnih komponenata, flavonoida, monoterpena i karboksilata u osušenim ekstraktima, dok su FTIR spektri inkapsulata pokazali isključivo trake koje potiču od želatina, što ukazuje na efikasno obavijanje aktivnih komponenata ekstrakata i samim tim njihovu zaštitu. Skenirajuća elektronska mikroskopija je pokazala da proces liofilizacije daje čestice nepravilnog oblika, dok se sprej sušenjem formiraju male čestice sferičnog i pseudo-sferičnog oblika, sa neravnom površinom. Primenom difrakcije laserske svetlosti utvrđeno je da veličina čestica sprej osušenog inkapsulata ima značajno manju vrednost i da je uniformnost značajno veća nego kod liofilizovane paralele. Ispitivanjem termičkih karakteristika, primenom diferencijalne skenirajuće kalorimetrije, pokazano je da se kod liofilizovanog želatinskog inkapsulata endotermni pik nalazi na višoj temperaturi, te se može zaključiti da je pomenuti uzorak termički stabilniji u odnosu na sprej osušen. Dodatno, vrednosti promene entalpije želatinskih inkapsulata ekstrakata bile su značajno veće nego kod čistih ekstrakata, što svedoči o prisustvu stabilizirajućih interakcija između inkapsuliranih komponenata i nosača.

Ključne reči: inkapsulacija, liofilizacija, sprej sušenje, FTIR, SEM, DSC

1. UVOD

Polifenolne komponente predstavljaju veliku heterogenu grupu sekundarnih metabolita biljaka, uključujući fenolkarboksilne kiseline, flavonoide, kumarine, lignane, tanine, stilbene, antranoide, naftodiantrone i druga jedinjenja [1]. Polifenolima se pripisuju mnogobrojni blagotvorni efekti na ljudski organizam, zahva-

ljujući njihovom antioksidativnom, antimikrobnom, antitumorskom, antiinflamatornom, antialergijskom, antiulkusnom, spazmolitičnom, kardioprotektivnom i hepatoprotektivnom efektu [2-5]. S obzirom da efikasnost i primena polifenolnih jedinjenja zavisi od očuvanja njihove stabilnosti, bioaktivnosti i bioraspoloživosti, neophodna je inkapsulacija pomenutih aktivnih principa u različite nosače [6]. Tehnike inkapsulacije polifenola podrazumevaju liofilizaciju, sprej sušenje, inkapsulaciju u lipozome, nanoinkapsulaciju, emulzifikaciju, koacervaciju, ko-kristalizaciju, inkluziono kompleksiranje, ekstruziju, kao i mnoge druge metode [6]. Liofilizacija predstavlja proces sušenja u vakuumu, pri veoma niskim temperaturama, obezbeđujući

Adresa autora: Aleksandra Jovanović, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd, Karneگیjeva 4

e-mail: acancarevic@tmf.bg.ac.rs

Rad primljen: 22.09.2017.

Rad prihvaćen: 25.09.2017.

očuvanje termolabilnih jedinjenja prisutnih u početnoj sirovini, dok nizak sadržaj vlage u krajnjem proizvodu garantuje mikrobiološku stabilnost i trajno konzerviranje proizvoda [7]. Sprej sušenje ili sušenje raspršivanjem predstavlja tehniku prevođenja tečnog uzorka u suvi prah, koja može biti primenjena na širok spektar materijala, kako u prehrambenoj, tako i u farmaceutskoj industriji, za dobijanje lekovitih sirovina, ekscipijena ili mikrokapsula [8]. Za inkapsulaciju sprej sušenjem se najčešće koriste ugljeni hidrati (maltodekstrin i polisaharidi soje), gume (guma arabika), proteini (proteini mleka i želatin) i druge supstance, u kojima će željena komponenta biti homogenizovana [6, 9]. Želatin, kao protein rastvoran u vodi, ima sposobnost da formira zid mikročestice tokom sprej sušenja. Dodatno, u poređenju sa maltodekstrinom, maltozom i manitolom, želatin poseduje bolje karakteristike veza- ne za efikasnu inkapsulaciju željene komponente, zahvaljujući visokom nivou emulzifikacije, visokoj stabilnosti i tendenciji stvaranja guste mreže nakon sprej sušenja. Takođe, želatin predstavlja komponentu čija je primena u namirnicama i farmaceutskim proizvodima dozvoljena [9, 10].

Cilj ovog rada bila je inkapsulacija polifenolnog ekstrakata majčine dušice (*Thymus sepyllum* L.) u želatin, primenom dve metode inkapsulacije: liofilizacije i sprej sušenja. Liofilizovani i sprej osušeni nosač (želatin), ekstrakti i želatinski inkapsulati ekstrakata okarakterisani su primenom FTIR spektroskopije, skenirajuće emisije mikroskopije (SEM), difrakcije laserske svetlosti i diferencijalne skenirajuće kalorimetrije (DSC).

2. EKSPERIMENTALNA PROCEDURA

Biljni materijal i nosač - Biljni materijal za izradu ekstrakata predstavlja herbu *T. serpyllum* i komercijalni je proizvod Instituta za proučavanje lekovitog bilja „Dr Josif Pančić“, Beograd, Srbija. Nosač korišćen u eksperimentalnom radu je goveđi želatin, 220 Bloom (Gelnex, Brazil).

Proces ekstrakcije - Ekstrakt majčine dušice korišćen za inkapsulaciju dobijen je primenom stepena usitnjenosti biljnog materijala od 0,3 mm, odnosa biljnog materijala i rastvarača 1:30 i 50% etanola, tokom 15 minuta. Navedeni uslovi ekstrakcije su izabrani na osnovu prethodnog ispitivanja, gde je najveći prinos polifenola postignut pri ovim uslovima ekstrakcije [11]. Ekstrakcija je izvedena u staklenim erlenmajerima, na povišenoj temperaturi (80°C), pri brzini mešanja od 150 obrtaja u minuti, u inkubator šejkeru koji omogućava kontrolisanu temperaturu okruženja, KS 4000i control (IKA, Nemačka) (slika 1).

Proces inkapsulacije - Procesu inkapsulacije je prethodio proces uparavanja etanola iz dobijenog eks-

trakta, upotrebom vakuum uparivača, Hei-VAP Advantage (Heidolph, Nemačka), pri temperaturi od 40-45°C, pritisku od 50 mbar i brzini rotacije od 150 obrtaja u minuti. Potom su ekstrakti pomešani sa 5% želatina (50 mL ekstrakta iz kog je uklonjen etanol i 2,5 g želatina) i smeša je homogenizovana na magnetnoj mešalici RTC basic (IKA, Nemačka), pri temperaturi od 40°C, u toku 15 minuta.



Slika 1 - Inkubator šejker za ekstrakciju na povišenoj temperaturi

Uzroci planirani za liofilizaciju (želatin, čist ekstrakt i ekstrakt sa 5% želatina) zamrznuti su na -80°C u toku jednog sata, u uređaju LAB11/EL19LT (Elcold, Danska). Postupkom liofilizacije, u uređaju Beta 2-8 LD plus (Christ, Nemačka), na -75°C, pri pritisku od 0,011 mbar, u periodu od 24 časa, zatim na -65°C, pri pritisku od 0,054 mbar, u dodatnom satu, dobijeni su suvi želatin, ekstrakt majčine dušice i želatinski inkapsulat ekstrakta (slika 2).



Slika 2 - Uređaj za liofilizaciju

Sprej sušenje želatina, čistog ekstrakta i ekstrakta sa 5% želatina obavljeno je na uređaju Mini Spray

Dryer B-290 (Büchi, Švajcarska), pri ulaznoj temperaturi od 140°C, izlaznoj temperaturi od 72-75°C, protoku tečnosti od 8 mL/min i protoku gasa od 600 L/h (slika 3).



Slika 3 - Uređaj za sprej sušenje

FTIR - U cilju ispitivanja uticaja metode sušenja na hemijske karakteristike ekstrakata majčine dušice i njihovih želatinskih inkapsulata primenjena je FTIR spektroskopija. FTIR spektri liofilizovanih i sprej osušenih ekstrakata, nosača korišćenog za inkapsulaciju, tj. želatina i liofilizovanih i sprej osušenih inkapsulata ekstrakata, dobijeni su primenom FTIR spektrofotometra (ATR-FTIR) IRAffinity-1 (Shimadzu, Japan). Uzorci su analizirani pri rezoluciji od 4 cm⁻¹ i u opsegu 4000-600 cm⁻¹.

SEM - Morfologija nosača korišćenog za inkapsulaciju, tj. želatina, čistih ekstrakata majčine dušice i želatinskih inkapsulata ekstrakata (liofilizovanih i sprej osušenih) ispitana je primenom SEM metode, na mikroskopu JSM-6390LV (JEOL, Japan), uz prethodno nanošenje zlata na uređaju SCD 005 (BAL-TEC, Nemačka).

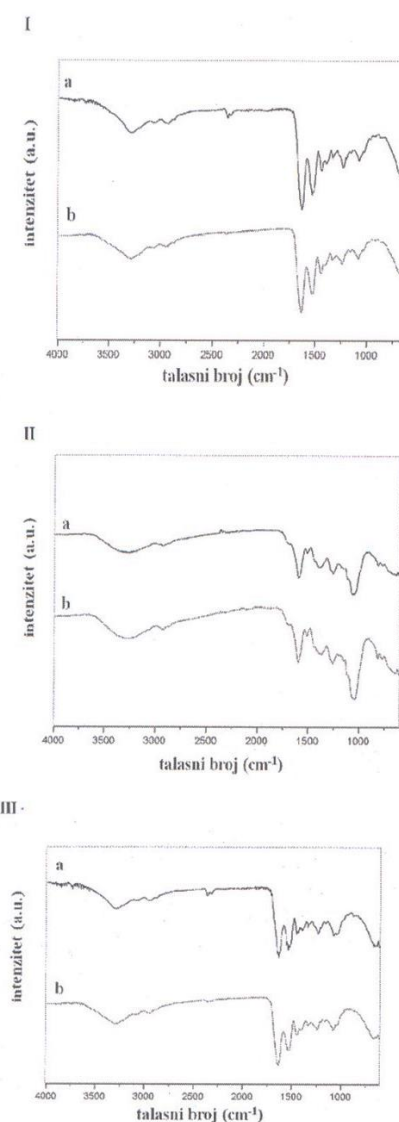
Difrakcija laserske svetlosti - Raspodela veličina čestica i uniformnost liofilizovanih i sprej osušenih želatinskih inkapsulata ekstrakata majčine dušice određena je metodom difrakcije laserske svetlosti, na uređaju Mastersizer 2000 (Malvern, UK), uz korišćenje suvih uzoraka. Rezultati su predstavljeni preko zapreminskih prečnika u mikrometrima (µm).

DSC - Termičke karakteristike liofilizovanih i sprej osušenih uzoraka (želatina, čistih ekstrakata i njihovih želatinskih inkapsulata) ispitane su primenom DSC metode. U aluminijumske posude (30 µL) odmereno je 0,5-2 mg suvog uzorka. Posude su hermetički zatvorene i izvršena je analiza uzoraka u uređaju DSC131 Evo (SETARAM Instrumentation, Francuska), koji je prethodno kalibrisan indijumom. Prazna aluminijumska posuda korišćena je kao referentni uzorak. U isto vreme su referentna posuda i posuda sa uzorkom postavljene u komoru uređaja i

termostatarane 5 minuta na 30°C. Zatim je vršeno zagrevanje komore od 30 do 300°C, konstantnom brzinom od 10°C/min. Struja azota imala je protok od 20 mL/min. Bazna linija je određena kada su obe aluminijumske posude bile prazne i podvrgnute istim uslovima. Oduzimanje bazne linije i određivanje vrednosti entalpije (J/g) izvedeno je upotrebom softverskog programa CALISTO PROCESSING.

3. REZULTATI I DISKUSIJA

FTIR – spektri - Kako bi se ispitao uticaj procesa sušenja na nosač, želatin je rastvoren u istoj koncentraciji kao u inkapsulatima, bez dodatka ekstrakta, a zatim je pod istim uslovima liofilizovan, odnosno sprej osušen i analiziran FTIR spektroskopijom (slika 4I).



Slika 4 – FTIR spektri: (I) želatin - (a) liofilizovan i (b) sprej osušen; (II) ekstrakt majčine dušice - (a) liofilizovan i (b) sprej osušen i (III) želatinski inkapsulat ekstrakta - (a) liofilizovan i (b) sprej osušen

Uočeno je više karakterističnih traka u FTIR spektrima želatina, a kao najvažnije su one vezane za strukturu proteina: $\sim 1630\text{ cm}^{-1}$ (amid I, C=O vibracije) i $\sim 1540\text{ cm}^{-1}$ (amid II, N-H vibracije) [12,13]. Traka sa maksimumom na oko 2937 cm^{-1} potiče od C-H vibracija istezanja, dok se još mogu uočiti trake na $\sim 1448\text{ cm}^{-1}$, $\sim 1332\text{ cm}^{-1}$ i $\sim 1080\text{ cm}^{-1}$, koje su u literaturi opisane kod želatina, a potiču najverovatnije od C-O vibracija [13], ili pak od karboksilnih grupa iz aminokiselina (trake približno u opsegu $1300\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$) [14]. Amid III traka (N-H vibracije) može se uočiti na oko 1240 cm^{-1} [12].

Prema FTIR spektrima, razlike između uticaja liofilizacije i sprej sušenja na strukturu želatina, vidljive su kao manje promene kod pozicija traka koje potiču od OH grupa, kao i u poziciji amid II trake. Različiti načini sušenja verovatno utiču drugačije na međumolekulske interakcije, što izaziva promene u poziciji trake koja potiče od OH grupe. Zhao i sar. [15] su utvrdili da se struktura proteina menja u zavisnosti od toga da li su proteini liofilizovani ili sprej osušeni. Prema istim autorima, sprej osušeni proteini su imali bolju rastvorljivost, dok su liofilizovani proteini pokazali bolju termičku stabilnost.

U FTIR spektrima ekstrakata osušenih liofilizacijom ili sprej sušenjem (slika 4II), može se uočiti nekoliko traka sa izrazitim intenzitetom, kao što je traka na oko 1600 cm^{-1} , koja verovatno potiče od COO- vibracija u molekulima polisaharida [16], dok je traka u opsegu $1030\text{-}1070\text{ cm}^{-1}$ bliska pozicijama trake koja potiče od C-OH vibracija u prisutnim ugljenim hidratima [17]. Traka na oko 2927 cm^{-1} potiče od C-H vibracija i po svojoj poziciji odgovara istoj vibraciji identifikovanoj u ekstraktu zelenog čaja [18].

Najveće promene u spektrima liofilizovanih i sprej osušenih ekstrakata uočene su u pozicijama traka koje potiču od vibracija OH grupa (spektralni region $3000\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$). Ove razlike se pre svega mogu dovesti u vezu sa uslovima sušenja. Traka koja se nalazi na 1516 cm^{-1} najverovatnije potiče od ekstrahovanih flavonoida [19].

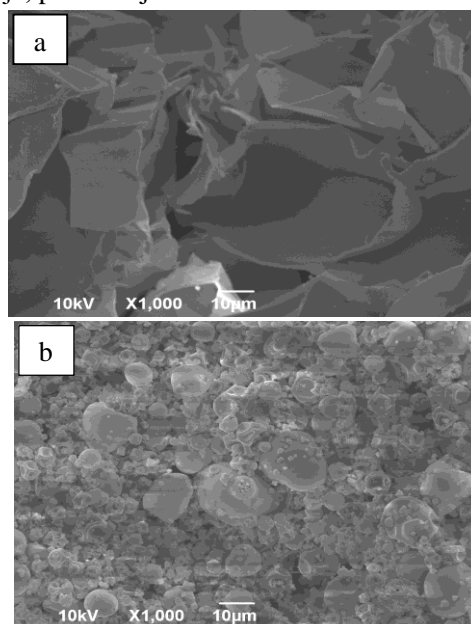
Traka na 1260 cm^{-1} može se dovesti u vezu sa polifenolnim komponentama biljke (C-C-O vibracije) [16]. Traka manjeg intenziteta na oko 815 cm^{-1} u osušenom ekstraktu mogla bi se dovesti u vezu sa prisutnim monoterpenima (C-H vibracije) [16].

Nakon inkapsulacije, FTIR spektri uzoraka dobijenih liofilizacijom i sprej sušenjem pokazali su gotovo isključivo trake koje potiču od nosača, tj. želatina (slika 4III). Od promena koje se mogu uočiti u spektrima, u odnosu na čist nosač, pre svega se izdvajaju manja pomeranja traka koje potiču od OH grupa ($3700\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$), kao i pomeranje kod pozicija amid I i amid II

traka kod liofilizovanog inkapsulata ekstrakta. Iz dobijenih FTIR spektara teško je izvesti jasan zaključak o interakcijama između nosača i komponenti ekstrakata. Naime, prilikom mešanja i rastvaranja želatina u ekstraktima (pre inkapsulacije) nije primećeno formiranje taloga ili zamućenja. Ovo ukazuje da iako postoje, interakcije želatin-ekstrakt najverovatnije nisu presudno uticale na formiranje inkapsulata.

Činjenica da u FTIR spektrima inkapsulata dominira želatin može da ukazuje na dobro formiranje zaštitnog omotača oko komponenti ekstrakta. Naravno, treba uzeti u obzir i da je dodata znatna količina želatina pre same inkapsulacije, što takođe ima uticaja na FTIR spektre inkapsulata. Medina-Torres i sar. [20] su zaključili da pojava traka u FTIR spektru koje gotovo isključivo potiču od nosača ukazuje na efikasno obavljanje aktivnih komponenti i samim tim njihovu bolju zaštitu.

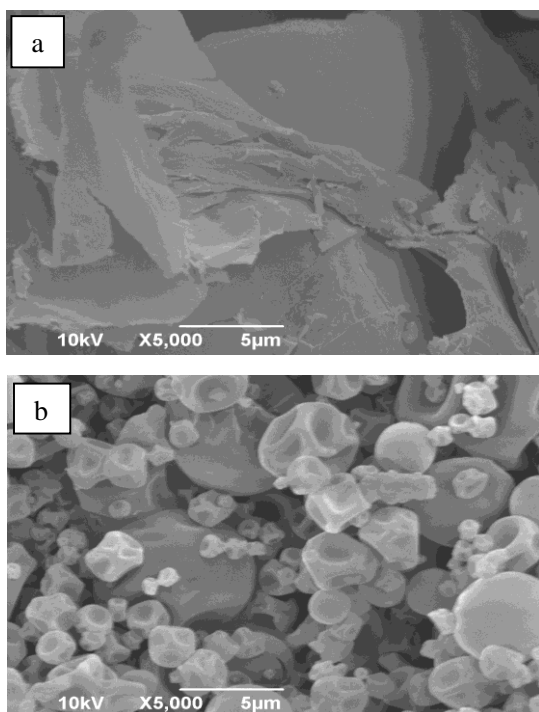
SEM analiza - Prema literaturnim podacima, većina mikrokapsula su male sferične čestice dijametra između nekoliko mikrometara i nekoliko milimetara. Međutim, neretko se dešava da mikrokapsule nemaju mnogo sličnosti sa jednostavnim sferama [9]. Veličina i oblik formiranih mikrokapsula zavisi od materijala i metoda koje se koriste za njihovu pripremu. U zavisnosti od fizičko-hemijskih karakteristika jezgra i zida mikročestice, kao i tehnike mikroinkapsulacije, čestice mogu biti jednostavne sfere, čestice koje sadrže jezgro nepravilnog oblika, višejedarne čestice sa jednim omotačem i čestice sa nekoliko omotača [6,9]. Mikroskopski prikazi čistog želatina i želatinskih inkapsulata ekstrakta majčine dušice, nakon liofilizacije i sprej sušenja, predstavljeni su na slikama 5 i 6.



Slika 5 – SEM analiza želatina - (a) liofilizovan i (b) sprej osušen

Kao što se može videti na slikama 5 i 6, proces liofilizacije je dao čestice nepravilnog oblika i kod čistog želatina i kod inkapsulata, dok je sprej sušenje formiralo male čestice sferičnog i pseudo-sferičnog oblika, sa neravnom površinom.

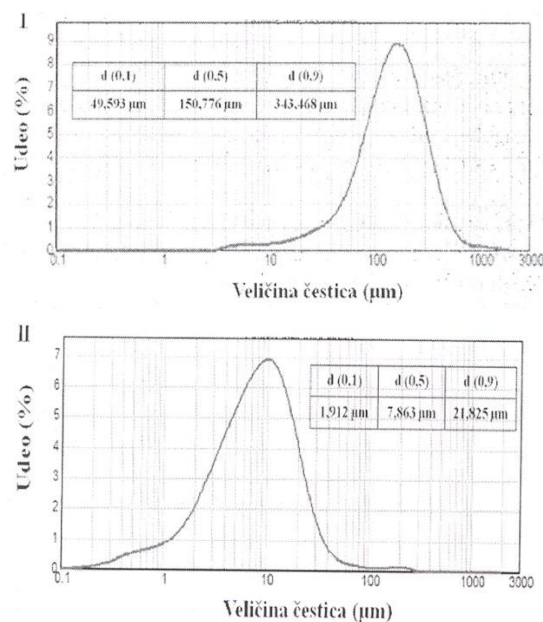
Prema literaturi, inkapsulirane čestice dobijene sprej sušenjem najčešće imaju sferičnu morfologiju, dok se liofilizacijom dobijaju čestice nepredvidive forme [6]. Gómez-Mascaraque i sar. [10] su pokazali da veće koncentracije želatina (20%) nakon elektrosprej sušenja formiraju vlakna, dok su pseudo-sferične čestice karakteristične za niže koncentracije želatina (5-8%). Dodatak ekstrakta majčine dušice nije uticao na morfološke karakteristike mikročestica želatina, kao što je bio slučaj i u inkapsulaciji (-)epigalokatehin galata u želatin [10].



Slika 6 – SEM analiza želatinskih inkapsulata ekstrakta majčine dušice - (a) liofilizovan i (b) sprej osušen

Raspodela veličina čestica - Veličina i raspodela veličina čestica liofilizovanih i sprej osušenih inkapsulata ekstrakta majčine dušice predstavljene su preko zapreminskih prečnika na slici 7.

Veličina čestica sprej osušenih inkapsulata je bila daleko manja i uniformnost značajno veća nego kod liofilizovanih paralela. Uniformnost liofilizovanih čestica je iznosila 0,639, dok je kod sprej osušene paralele ta vrednost bila 0,961. Prema literaturnim podacima, inkapsulati dobijeni sprej raspršivanjem imaju uniformnu raspodelu veličina čestica (10-100 µm), dok se liofilizacijom dobijaju čestice nepredvidivog oblika i veličine [6].



Slika 7 – raspodela veličina čestica želatinskih inkapsulata ekstrakta majčine dušice - (I) liofilizovan i (II) sprej osušen; d, srednji maseni prečnik zapreminske raspodele

DSC analiza. Vrednosti temperature faznog prelaza i promene entalpije liofilizovanog i sprej osušenog želatina, ekstrakta majčine dušice i njegovih želatinskih inkapsulata prikazane su u tabeli 1.

Tabela 1. Temperatura faznog prelaza i promena entalpije želatina, ekstrakta majčine dušice i njegovih želatinskih inkapsulata

Uzorak		Temperatura (°C) pik	ΔH (J/g)
želatin	L	80,0	137,6
	SD	89,5	309,7
ekstrakt	L	67,4	69,9
	SD	74,4	46,5
inkapsulat	L	91,8	145,1
	SD	86,6	161,8

L, liofilizacija; SD, sprej sušenje

Kao što je predstavljeno u tabeli 1, liofilizovan i sprej osušen želatin ima endotermni pik na 80°C, odnosno na 89,5°C, što je u skladu sa literaturnim podacima, gde se endotermni pik želatina pojavljuje na 85°C [21]. Sprej osušeni ekstrakt ima pik na višoj temperaturi, u odnosu na liofilizovanu paralelu. Prema dobijenim rezultatima u prethodnoj studiji, ta pojava može biti objašnjena prisustvom veće količine ugljenih hidrata u sprej osušenom ekstraktu u odnosu na liofilizovan ekstrakt, jer šećeri utiču na očuvanje sekundarne strukture proteina, te samim tim i na termičku stabilnost suvog ekstrakta [22]. S obzirom da se kod liofilizovanog želatinskog inkapsulata pik nalazi na višoj

temperaturi, može se zaključiti da je pomenuti uzorak termički stabilniji u odnosu na sprej osušen inkapsulat. Razlog može ležati u prirodi proteinskog nosača i proteina prisutnih u ekstraktima, jer su Zhao i sar. [15] pokazali da liofilizovani proteini poseduju bolju termičku stabilnost u poređenju sa sprej osušanim proteinima. Dodatno, prema prethodno publikovanim rezultatima sadržaja proteina, ekstrakt majčine dušice je posedovao veći procenat proteina nakon liofilizacije nego nakon sprej sušenja [22].

Vrednosti promene entalpije želatina i inkapsulata ekstrakata bile su značajno veće nego kod čistih ekstrakata (tabela 1). U svim uzorcima nakon procesa sprej sušenja vrednosti promene entalpije bile su veće nego nakon liofilizacije, osim kod čistog ekstrakta. Generalno, visoke vrednosti promene entalpije ukazuju na prisustvo stabilizirajućih interakcija između inkapsuliranih komponenata i nosača [23].

4. ZAKLJUČAK

U prikazanoj studiji ispitan je uticaj procesa liofilizacije i sprej sušenja na karakteristike želatinskih inkapsulata ekstrakta majčine dušice. FTIR spektri inkapsulata pokazali su gotovo isključivo trake koje potiču od želatina, što ukazuje na efikasno obavijanje aktivnih komponenata ekstrakata i samim tim njihovu bolju zaštitu. SEM analizom je utvrđeno da je proces liofilizacije dao čestice nepravilnog oblika, dok je sprej sušenje formiralo male čestice sferičnog i pseudo-sferičnog oblika, sa neravnom površinom. DSC analiza je pokazala da se kod liofilizovanih želatinskih inkapsulata endotermni pikovi nalaze na višim temperaturama, te se može zaključiti da su pomenuti uzorci termički stabilniji u odnosu na sprej osušene. Vrednosti promene entalpije želatinskih inkapsulata ekstrakata bile su značajno veće nego kod čistih ekstrakata, što svedoči o prisustvu stabilizirajućih interakcija između inkapsuliranih komponenata i nosača.

5. ZAHVALNICA

Ovaj rad predstavlja rezultat projekata III46010 i III46013 finansiranih od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

LITERATURA

- [1] Nacz M, Shahidi F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol. 41, pp. 1523-1542, 2006.
- [2] Shahidi F, Ambigaipalan P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review, *Journal of Functional Food*, Vol. 18, pp. 820-897, 2015.
- [3] Singh B, Sharma H, Sarkar B. Optimization of extraction of antioxidant from wheat bran (*Triticum* spp.) using response surface methodology, *Journal of Food Science and Technology*, Vol. 49, pp. 294-308, 2012.
- [4] Boros B, Jakabová S, Dörnyei Á, Horváth G, Pluhár Z, Kilar F, Felinger A. Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography-mass spectrometry in *Thymus* species, *Journal of Chromatography A*, Vol. 1217, pp. 7972-7980, 2010.
- [5] Melzig MF, Pertz HH, Krenn L. Anti-inflammatory and spasmolytic activity of extracts from *Drosera Herba*, *Phytomedicine*, Vol. 8, pp. 225-229, 2001.
- [6] Fang Z, Bhandari B. Encapsulation of polyphenols - a review, *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 21, pp. 510-523, 2010.
- [7] Ivančević S, Mitrović D, Brkić M. Specifičnosti sušenja voća liofilizacijom, *Ekonomika poljoprivrede*, Vol. 59, pp. 461-471, 2012.
- [8] Bruschi M, Cardoso M, Lucchesi M, Gremião M. Gelatin microparticles containing propolis obtained by spray-drying technique: preparation and characterization, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 264, pp. 45-55, 2003.
- [9] Gharsallaoui A, Roudaut G, Chambin O, Voilley A, Saurel R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview, *Food Research International*, Vol. 40, pp. 1107-1121, 2007.
- [10] Gómez-Mascaraque L, Lagarón JM, López-Rubio A. Electrospayed gelatin submicroparticles as edible carriers for the encapsulation of polyphenols of interest in functional foods, *Food Hydrocolloids*, Vol. 49, pp. 42-52, 2015.
- [11] Jovanović A, Đorđević V, Zdunić G, Pljevljakušić D, Šavikin K, Godevac D, Bugarski B. Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques, *Separation and Purification Technology*, Vol. 179, pp. 369-380, 2017.
- [12] Jin W, Xu W, Ge H, Li Y, Li B. Polyphenol-gelatin nanoparticles as reductant and stabilizer for one-step synthesis of gold nanoparticles and their interfacial behavior, *RSC Advances*, Vol. 5, pp. 26496-26503, 2015.
- [13] Saarai A, Sedlacek T, Kasparikova V, Kitano T, Saha P. On the Characterization of Sodium Alginate/Gelatin-Based Hydrogels for Wound Dressing, *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 126, pp. E79-E88, 2012.
- [14] Kim HW, Knowles JC, Kim HE. Hydroxyapatite and gelatin composite foams processed via novel freeze-drying and crosslinking for use as temporary hard

- tissue scaffolds, *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, Vol. 72A, pp. 136-145, 2005.
- [15] Zhao Q, Xiong H, Selomulya C, Chen DX, Huang S, Ruan X, Zhou Q, Sun W. Effects of Spray Drying and Freeze Drying on the Properties of Protein Isolate from Rice Dreg Protein, *Food and Bioprocess Technology*, Vol. 6, pp. 1759-1769, 2013.
- [16] Schulz H, Baranska M. Identification and quantification of valuable plant substances by IR and Raman spectroscopy, *Vibrational Spectroscopy*, Vol. 43, pp. 13-25, 2007.
- [17] Lu X, Wang J, Al-Qadiri HM, Ross CF, Powers JR, Tang J, Rasco BA. Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oshananii*) using infrared spectroscopy, *Food Chemistry*, Vol. 129, pp. 637-644, 2011.
- [18] Belščak-Cvitanović A, Lević S, Kalušević A, Špoljarić I, Đorđević V, Komes D, Mršić G, Nedović V. Efficiency Assessment of Natural Biopolymers as Encapsulants of Green Tea (*Camellia sinensis* L.) Bioactive Compounds by Spray Drying, *Food Bioprocess Technology*, Vol. 8, pp. 2444-2460, 2015.
- [19] Heneczowski M, Kopacz M, Nowak D, Kuźniar A. Infrared Spectrum Analysis of Some Flavonoids, *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, Vol. 58, pp. 415-420, 2001.
- [20] Medina-Torres L, Santiago-Adame R, Calderas F, Gallegos-Infante JA, González-Laredo RF, Rocha-Guzmán NE, Núñez-Ramírez DM, Bernad-Bernad MJ, Manero O. Microencapsulation by spray drying of laurel infusions (*Litsea glauscescens*) with maltodextrin, *Industrial Crops and Products*, Vol. 90, pp. 1-8, 2016.
- [21] Li D, Oh YK, Lim SJ, Kim J, Yang H, Sung J, Yong C, Choi HG. Novel gelatin microcapsule with bioavailability enhancement of ibuprofen using spray-drying technique, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 355, pp. 277-284, 2008.
- [22] Jovanović A, Petrović P, Trifković K, Đorđević V, Lević S, Mijin D, Bugarski B. Characterisation of lyophilized wild thyme (*Thymus serpyllum* L.) extracts and their antioxidant activity, *V International Congress: „Engineering, Environment and Materials in Processing Industry“*, Jahorina, Bosnia and Herzegovina, pp. 1487-1501, 15-17.03.2017.
- [23] Wu R, Dai J, Wu F, Zhang X, Li W, Wang Y. Competitive molecular interaction among paenol-loaded liposomes: Differential scanning calorimetry and synchrotron X-ray diffraction studies, *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 438, pp. 91-97, 2012.

SUMMARY

GELATIN AS A CARRIER SYSTEM FOR DELIVERY OF POLYPHENOLS COMPOUNDS

In the present study, the influence of different encapsulation techniques (lyophilization and spray drying) on gelatin, as a carrier system for delivery of polyphenols compounds, on wild thyme extracts and on encapsulated extracts was investigated. FTIR analyses has shown the presence of carbohydrates, polysaccharides, polyphenols, flavonoids, monoterpenes and carboxylates in the dried extracts, while FTIR spectrum of the encapsulated extracts has shown almost exclusively gelatin-based stripes, indicating the efficient encapsulation of the active ingredients of the extracts and therefore their protection. Scanning electron microscopy has shown that the lyophilization process produced irregularly shaped particles, while spray drying formed spherical and pseudo-spherical particles with rough surface. Using the method of diffraction of laser light, it has been found that spray dried encapsulate possessed significantly lower particle size and significantly better uniformity in comparison to the lyophilized sample. According to the results obtained in differential scanning calorimetry, endothermic peak of lyophilized gelatin encapsulate appeared at higher temperature, thus it can be concluded that lyophilized sample was more thermostable than spray dried parallel. Additionally, the values of enthalpy of gelatin encapsulates were significantly higher compared to pure extracts, which confirmed the presence of stabilizing interactions between the encapsulated components and a carrier.

Key words: encapsulation, lyophilization, spray drying, FTIR, SEM, DSC.