



Sveučilište u Zagrebu

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Lana Živković

Inkapsulacija bioaktivnih spojeva

Kemijski seminar I

D. Dahiya, A. Terpou, M. Dasenaki, P. S. Nigam, *Sustainable Food Technol.* **1** (2023) 500 – 510

Zagreb, 2024.

Sadržaj

1) UVOD	1
2) PREGLED TEME.....	2
2.1. Izvori bioaktivnih spojeva	2
2.2. Inkapsulacija	4
2.3. Tehnike inkapsulacije	5
2.3.1. Koacervacija	6
2.3.2. Višeslojne kapsule	6
2.3.3. Emulzije stabilizirane čvrstim česticama	6
2.3.4. Umreženi polimerni gelovi	7
2.4. Poboljšana kvaliteta hrane inkapsulacijom	7
2.4.1. Inkapsulacija lipida	8
2.4.2. Inkapsulacija antioksidansa	8
2.4.3. Inkapsulacija proteina.....	8
2.4.4. Inkapsulacija ugljikohidrata.....	9
2.4.5. Inkapsulacija prehrambenih boja	9
2.4.6. Inkapsulacija aroma	9
3) ZAKLJUČAK.....	10
4) LITERATURNI IZVORI	11

1) UVOD

Inkapsulacija je proces umetanja ili pakiranja jedne tvari unutar druge. Prilikom tog procesa nastaju kapsule čiji promjer može varirati od nekoliko nm (nanočestice) do nekoliko mm (mikročestice).¹ Tvar koja se inkapsulira naziva se aktivno sredstvo, jezgra, unutarnja faza ili punjenje dok se tvar u koju se inkapsulira naziva omotač, membrana, ljuska, nosač, vanjska faza ili matriks.² Tehnologija inkapsulacije koristi se u biotehnologiji, agronomiji, industriji hrane, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji.

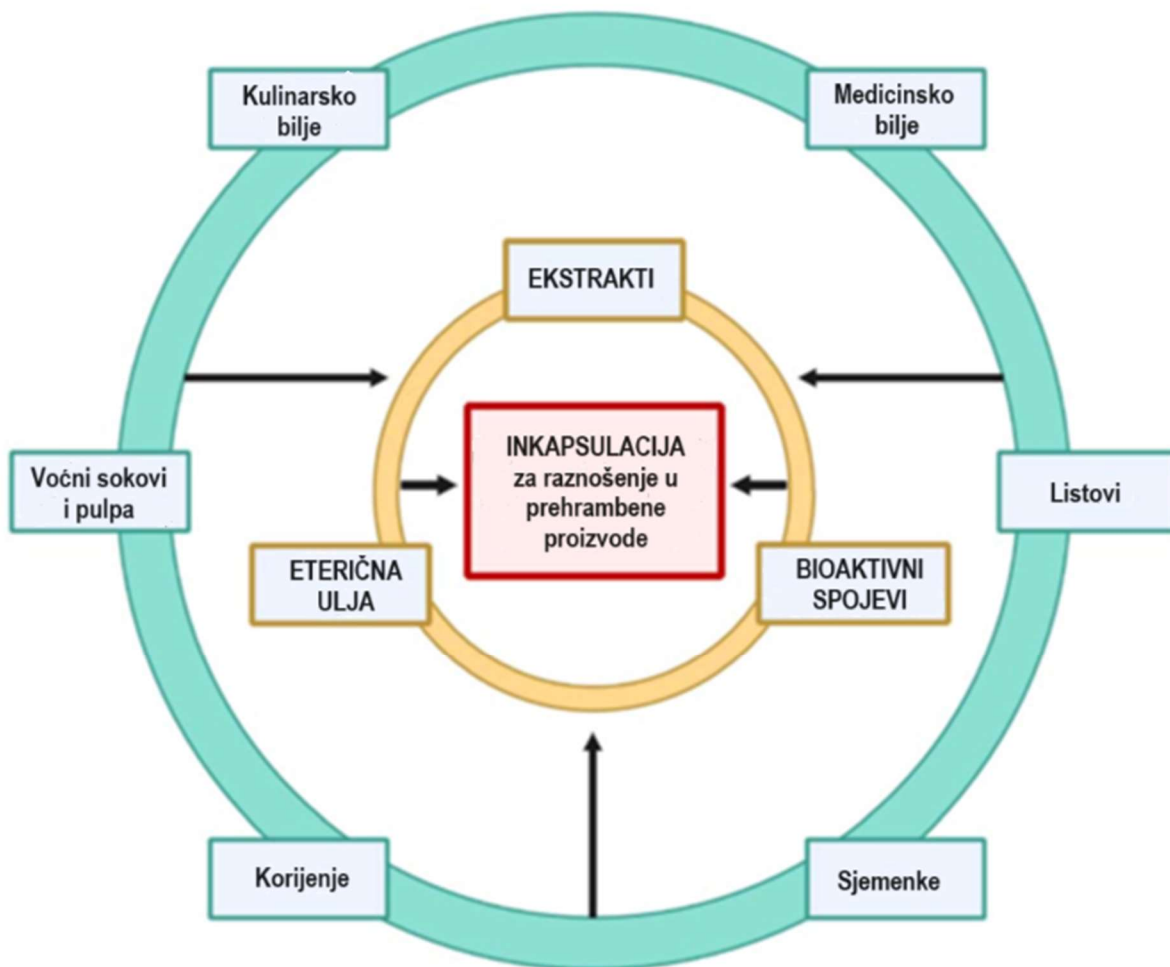
Bioaktivni spojevi su esencijalni i neesencijalni spojevi koji su prisutni u prirodi, a njihova aktivnost očituje se u djelovanju na organizme koji ih konzumiraju.³ Bioaktivni spojevi u biljkama su sekundarni metaboliti te imaju toksikološki i farmakološki učinak na zdravlje ljudi i životinja. Podjela tih spojeva nije točno definirana, no postoji podjela bioaktivnih spojeva u biljkama u tri kategorije: a) terpeni i terpenoidi, b) alkaloidi i c) fenolni spojevi.⁴ Bioaktivni spojevi koji se koriste u proizvodima moraju biti sigurni za zdravlje organizama koji će ih konzumirati.

Tehnologija inkapsulacije ima korisnu primjenu u industriji hrane za dopremu bioaktivnih spojeva u prehrambene proizvode. Neki od tih bioaktivnih spojeva su antioksidansi, minerali, vitamini, masne kiseline, arome i boje, a svaki od njih ima utjecaj na zdravlje ljudi i životinja. Inkapsulacija bioaktivnih spojeva važna je zbog njihove osjetljivosti na vanjske utjecaje (pH, svjetlo, temperaturu, metalne ione, kisik) te njihovog brzog raspadanja i gubitka aktivnosti pri određenim uvjetima. Inkapsulacijom se bioaktivni spojevi štite od vanjskih utjecaja, a glavni cilj je omogućiti njihovo kontrolirano otpuštanje u okolinu, te dulji rok skladištenja.⁵

2) PREGLED TEME

2.1. Izvori bioaktivnih spojeva

Prisutnost bioaktivnih spojeva u hrani ima blagotvoran učinak na zdravlje ljudi. Utvrđeno je da učinci unosa funkcionalne hrane imaju osnovnu prehrambenu funkciju te antitumorske, protuupalne, antioksidativne, antihipertenzivne i antihiperlipidemijske učinke. Bioaktivni spojevi se iz biljnih izvora većinom izoliraju ekstrakcijom. Jestivi biljni izvori bioaktivnih spojeva su začini, začinsko bilje, voće, povrće, sjemenke, listovi, korijen, cvijeće te kulinarско i ljekovito bilje.⁶ Neki izvori bioaktivnih spojeva za primjenu u prehranbenim proizvodima prikazani su na slici 1.



Slika 1. Izvori bioaktivnih spojeva za primjenu u prehranbenim proizvodima⁶

U nastavku će biti navedeni konkretni primjeri bioaktivnih spojeva koji se mogu izolirati iz biljaka te njihovi blagotvorni učinci na zdravlje.

Iz biljaka se raznim metodama ekstrakcije mogu dobiti eterična ulja koja su sekundarni metaboliti u organizmu biljaka. Eterična ulja primjenjuju se u industriji hrane i pića, industriji parfema, poljoprivrednoj industriji, farmaceutskoj industriji i dr.⁷ Neke biljke iz kojih se dobivaju eterična ulja su bosiljak, menta, ružmarin i origano. Eterično ulje bosiljka od bioaktivnih spojeva sadrži fenolne kiseline, flavonoide, tanine, terpenoide, alkaloidne, saponin i glikozide. Prisutnost ovih spojeva u ulju bosiljka ima antimikrobne, antioksidativne i protuupalne učinke na zdravlje ljudi.⁶ Eterično ulje raznih vrsta biljke mente većinski je sastavljeno od mentola i monoterpena. Ulja mente imaju antiparazitski, antimikrobni, protuupalni i analgetski učinak na zdravlje ljudi.⁸ Listovi biljke ružmarina bogati su bioaktivnim spojevima, a dobivaju se ekstrakcijom. Ružmarin je biljka bogata polifenolima i ima jak antioksidativni učinak te se koristi kao začim i ljekovita biljka. Osim antioksidativnog, ima i antiproliferativan te antibakterijski učinak.⁶ Origano je još jedna biljka čijom ekstrakcijom se dobiva eterično ulje. Eterično ulje origana ima antimikrobni i antioksidativni učinak.⁶ Bioaktivni spojevi većinski prisutni origanu su terpeni, karvakrol i timol.^{6,9}

Nar je primjer biljke koja u svim svojim dijelovima sadrži bioaktivne spojeve. Sok nara sadrži mnoštvo bioaktivnih spojeva, a neki od njih su flavonoidi i fenoli koji imaju antioksidativni, antimikrobni i antitumogeni učinak. Osim soka nara bioaktivni spojevi još se nalaze u sjemenkama, kori i listu. Neki od tih spojeva su antocijanini, katehin, galna kiselina, alkaloidi i dr.⁶

Endofiti su najčešće gljive ili bakterije koje žive u simbiozi sa biljkom. Određeno vrijeme svog životnog ciklusa provode kolonizirajući u biljci, a da pritom ne nanose štetu biljci kao domaćinu.¹⁰ Lišajevi su primjer gljiva koji kao sekundarne metabolite proizvode razne spojeve koji pripadaju steroidima, kinonima, terpenoidima, peptidima, flavonoidima, alkaloidima i dr. To su bioaktivni spojevi koji imaju antikancerogeni, antivirusni, antifungalni, protuupalni, antitumorski te anti-Alzheimer učinak.^{11,12}

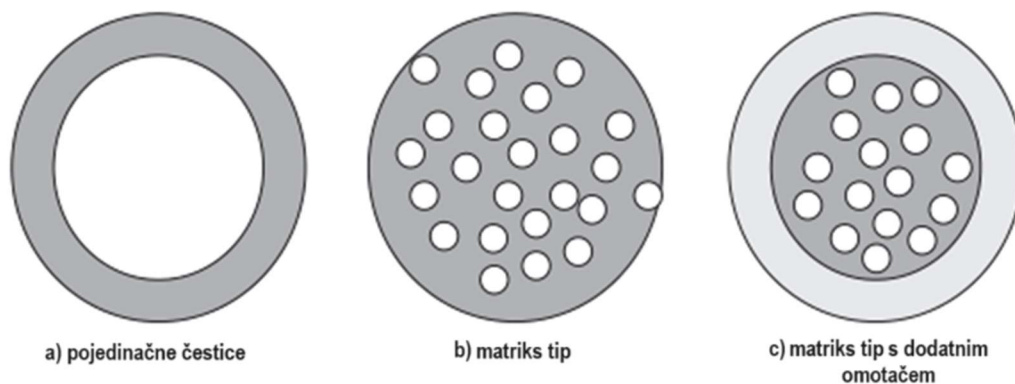
Bundeva, lubenica i dinja su biljke koje pripadaju porodici tikvovki (lat. *Cucurbitaceae*) i imaju antioksidativni učinak na ljudski organizam. Sjemenke plodova bundeve, lubenice i dinje

alternativni su izvori biljnog ulja. Sjemenke bundeve koriste se kao nutraceutici, a njihova biološka aktivnost potiče od fenolnih spojeva koje sadrži.⁶

Kurkuma je začin bogat spojem kurkuminom koji ima protuupalni i antioksidativni učinak. Kurkumin i alfa-linolenska kiselina također imaju i antikancerogeni učinak. Slično tome, šafran je začin koji sadži mnoge antioksidanse pa samim time ima antioksidativni učinak. Glavni bioaktivni spojevi prisutni u šafranu su karotenoidi, glukozidi, flavonoidi, monoterpeni, a najznačajniji bioaktivni spojevi su apokarotenoidi (safranal, pikrokrocin i krocjin).⁶

2.2. Inkapsulacija

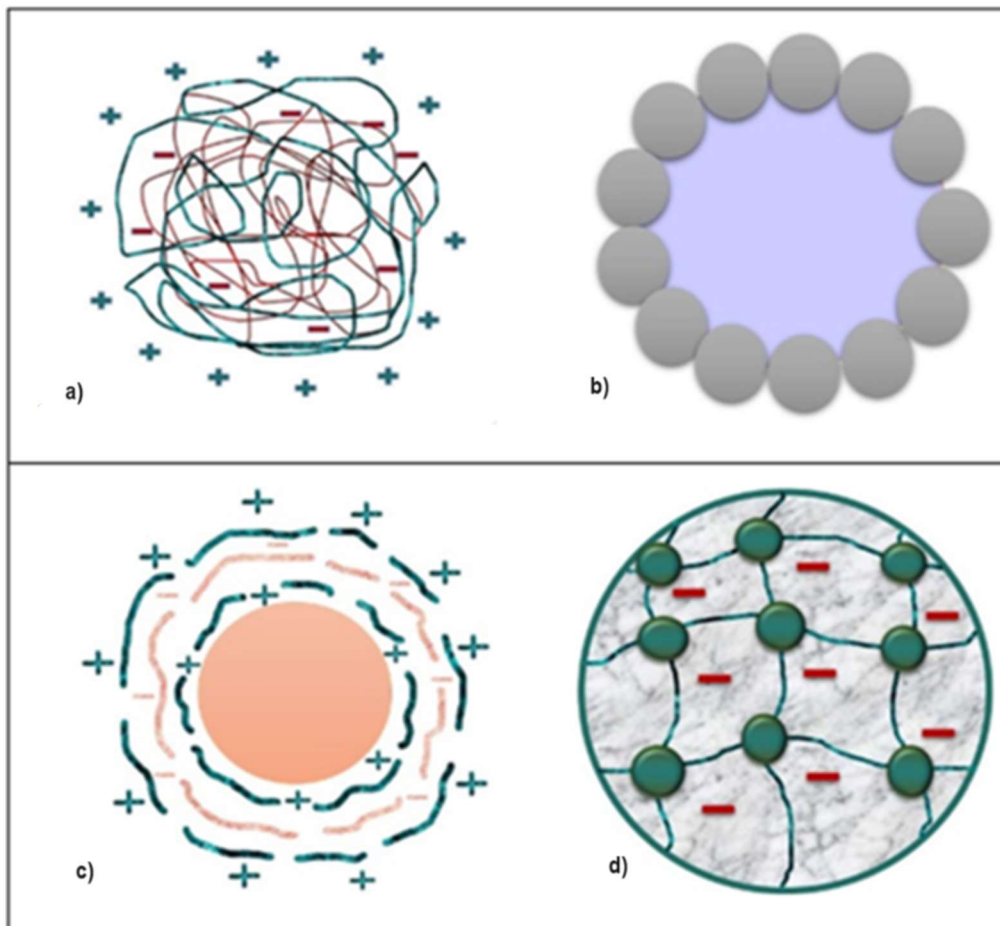
Inkapsulacija je tehnika kojom se jedna tvar pakira ili umeće u drugu. Ona omogućuje sigurno uvođenje bioaktivnih spojeva u gotov prehrambeni proizvod. Materijal u koji se inkapsulira najčešće je prehrambeni materijal koji je siguran za primjenu u ljudi. Taj materijal mora zadovoljavati nekoliko bitnih kriterija: ne smije reagirati sa komponentom koja se inkapsulira, ne smije otpuštati inkapsuliranu tvar tokom skladištenja i transporta, te mora pružati maksimalnu zaštitu inkapsulirane tvari od vanjskih utjecaja.⁵ Postoje dva tipa kapsula, pojedinačne čestice (eng. *reservoir type*) i matriks tip (eng. *matrix type*) kao što je prikazano na slici 2. Pojedinačne čestice imaju omotač oko sebe i nazivaju se kapsule ili monojezgrene kapsule. U matriks tipu aktivno sredstvo je raspršeno unutar nosača te se takve kapsule nazivaju polijejzgrene kapsule. Aktivno sredstvo se u matriks tipu nalazi na površini te se za njihovu zaštitu koriste dodatni omotači.^{1,5}



Slika 2. Tipovi kapsula: a) pojedinačne čestice, b) matriks tip, c) matriks tip s dodatnim omotačem¹³

2.3. Tehnike inkapsulacije

Najpopularnije tehnike inkapsulacije bioaktivnih spojeva, prikazane na slici 3, povećavaju bioraspoloživost i stabilnost bioaktivnih spojeva. Te tehnike uključuju kompleksne koacervate, mikrokapsule sa strukturom jezgra-omotač, odnosno višeslojne kapsule, emulzije stabilizirane čvrstim česticama (eng. *Pickering emulsion*) i umrežene biopolimere ili umrežene polimerne gelove.⁶



Slika 3. Tehnike inkapsulacije: a) kompleksni koacervati, b) višeslojne kapsule, c) emulzije stabilizirane čvrstim česticama d) umreženi biopolimeri⁶

2.3.1. Koacervacija

Koacervacija je proces koji označava proces odvajanja faza koji je izazvan modifikacijom okolnog medija. U tom procesu koacervat je koloidna faza, odnosno faza bogata polimerima, a faza ravnoteže je faza siromašna polimerima.^{14,15} Ovisno o mehanizmu odjeljivanja faza, koacervacija se dijeli na jednostavnu i kompleksnu koacervaciju. Jednostavna koacervacija uključuje samo jedan polimer dok kompleksna uključuje dva ili više polimera. Koacervati koji se koriste u inkapsulaciji aktivne tvari najčešće su kompleksnog tipa, a omotač je većinom guma arabika ili želatina.¹⁵

2.3.2. Višeslojne kapsule

Za nastanak višeslojnih kapsula koristi se sloj-po-sloj metoda (eng. *layer-by-layer*). Bitna stavka za nastanak višeslojnih kapsula su međumolekulske veze (elektrostatske sile, vodikove veze, kovalentne veze, interakcije gost-domaćin i van der Waals-ove sile). Ovom metodom omogućena je veća kontrola nad kapsulom. Može se kontrolirati njezina veličina, oblik i sastav kapsule, debljina omotača, funkcija kapsule.¹⁶

2.3.3. Emulzije stabilizirane čvrstim česticama

Emulzije stabilizirane čvrstim česticama najčešće su emulzije tipa ulje-voda ili voda-ulje. Za stabilizaciju ovih emulzija koristi se širok raspon čvrstih čestica, a najveći je izazov pronaći one koje su pogodne za primjenu u hrani, tj. da nisu štetne za ljudski organizam. Čvrste čestice koje su najbolji stabilizatori su anorganske i umjetno proizvedene čestice, no one nisu pogodne za primjenu u hrani. Zato se koriste čestice biološkog podrijetla, odnosno čestice dobivene iz lipida, proteina, polisaharida i dr. Čvrste stabilizirajuće čestice nalaze se na međupovršini dviju faza (ulja i vode).¹⁷

2.3.4. Umreženi polimerni gelovi

Umreženi polimerni gelovi imaju karakteristična svojstva kao što su jako bubrenje u vodenim i nevodnim otapalima, bolja raspodjela otopljenih tvari, bolji transport određene mase, odnosno tvari. Ovisno o okolnim uvjetima ta se svojstva gelova mogu prilagoditi i to mijenjanjem stupnja umreženosti i/ili poroznosti, promjenom kemijskog sastava, kopolimerizacijom, nanokompozitiranjem i dr.¹⁸

2.4. Poboljšana kvaliteta hrane inkapsulacijom

Inkapsulacija je važna metoda za poboljšanu dopremu bioaktivnih spojeva u hranu i gastrointestinalni sustav. Inkapsulacijom se bioaktivni spojevi pakiraju unutar kapsule zadržavajući svoje blagotvorne učinke. Bioaktivni spojevi korišteni za poboljšanu kvalitetu hrane moraju biti sigurni za zdravlje ljudi koji će tu hranu konzumirati. Najčešće inkapsulirani spojevi koji poboljšavaju kvalitetu hrane, prikazani na slici 4, su lipidi, antioksidansi, proteini, ugljikohidrati, prehrambene boje i arome.⁶



Slika 4. Bioaktivni spojevi korišteni za poboljšanu kvalitetu hrane⁶

2.4.1. *Inkapsulacija lipida*

Lipidi pripadaju kategoriji prehrambenih spojeva koja obuhvaća karotenoide, masne kiseline, vitamine topive u ulju, antioksidanse, fosfolipide i fitosterole. Lipidi su skupina spojeva koji su teško topivi u vodi i vrlo podložni oksidaciji. Inkapsulacijom se lipidi štite od vanjskih utjecaja i oksidacije. Omotači poput pektina, gume arabike i proteinskih izolata dokazani su da poboljšavaju stabilnost lipida. Glavne tehnike za inkapsulaciju lipida su sušenje raspršivanjem, sušenje smržavanjem, kompleksna koacervacija, ekstruzija, hlađenje raspršivanjem i ionsko geliranje.⁶

2.4.2. *Inkapsulacija antioksidansa*

Antioksidansi su skupina spojeva koja ima ulogu konzervansa, ima sposobnost spriječiti kvarenje hrane bez narušavanja njene prehrambene vrijednosti. Bioaktivni antioksidativni spojevi imaju sposobnost smanjivanja ili potpunog prekidanja lančane reakcije uzrokovane slobodnim radikalima. Preferiraju se biološki antioksidansi, ne samo zato što se primjenjuju u hrani nego i zato što imaju poboljšanu toplinsku stabilnost i antioksidacijsku sposobnost u odnosu na sintetske antioksidanse. Antioksidansi iz hrane mogu se klasificirati na temelju svojih svojstava, tako razlikujemo one koji su topivi u vodi (fenolni spojevi, flavonoidi, citrati, antocijanini) te one koji su topivi u ulju (terpenoidi, karotenoidi, tokoferoli, vitamini). Antioksidansi su učinkoviti ako imaju visoku reaktivnost i biološku dostupnost, te ako imaju sposobnost prolaženja kroz biološke barijere. Dokazano je da se mikroinkapsulacijom poboljšava dostava vitamina i minerala u hranu, uglavnom sprječavanjem interakcije s drugim komponentama hrane. Najčešće korištene tehnike inkapsulacije antioksidansa su kompleksna koacervacija, umrežavanje polimernih gelova te korištenje emulzija.⁶

2.4.3. *Inkapsulacija proteina*

Bioaktivni proteini važne su molekule za inkapsulaciju i primjenu u hrani jer mnogi mogu djelovati kao antioksidansi, čimbenici rasta, te antihipertenzivi. Inkapsulacija proteina ovisi o vrsti proteina, njihovom učinku na zdravlje i o materijalu koji služi kao prijenosnik bioaktivnih proteina.⁶

2.4.4. Inkapsulacija ugljikohidrata

Inkapsulacija ugljikohidrata uglavnom se odnosi na bioaktivne ugljikohidrate koji su prisutni u dijetalnim vlaknima. Vlakna su vrlo heterogena i razlikuju se po vrsti i raspodjeli polisaharida, ali i po količini monosaharida. Obično se klasificiraju prema molekularnoj strukturi, fizikalno-kemijskim svojstvima, porijeklu ili fiziološkom učinku. Polisaharidi se većinom koriste kao matrice nosača koji prenose druge bioaktivne spojeve ili mikroorganizme. Vlakna koja se koriste u inkapsulaciji su neprobavljivi topivi polisaharidi koji se koriste za smanjenje kolesterola, sprječavanje zatvora te imaju prebiotički i antioksidativni učinak. Inkapsulacija ugljikohidrata većinom se fokusira na povećanje ukupnog udjela vlakana u hrani pakiranjem dovoljne količine vlakana u kapsule bez utjecaja na kvalitetu konačnog proizvoda.⁶

2.4.5. Inkapsulacija prehrambenih boja

Biljni pigmenti su skupina spojeva koji biljkama daje karakterističnu boju i koriste se kao prehrambene boje. Smatraju se sekundarnim spojevima u procesu fotosinteze, metabolizmu biljke, zaštiti od fotooksidacije, prikupljanju svjetlosti i dr. Najčešći biljni pigmenti su karotenoidi (žuto-narančasti), klorofili (zeleni), antocijanini (crveno-ljubičasti), betalaini (crveno-žuti). Prirodna bojila, odnosno biljni pigmenti, koriste se u hrani s ciljem postizanja optimalnih organoleptičkih svojstava. Prirodna bojila imaju malu bioraspoloživost s obzirom na njihove blagotvorne učinke. Nestabilna bojila često su neprivlačne boje potrošaču pa se koristi inkapsulacija pigmenta kako bi se osigurala postojanost boje.⁶

2.4.6. Inkapsulacija aroma

Arome su bitne stavke hrane i igraju važnu ulogu kod potrošača koji konzumiraju hranu. Većina aroma koje su prisutne u hrani su lako hlapive i nestabilne na zraku uz prisutnost svjetla, vlage i visokih temperatura. Inkapsulacija se koristi kao tehnika za zaštitu aromatskih spojeva od vanjskih uvjeta. Inkapsulacija aroma još se koristi i za prikrivanje neugodnih okusa i mirisa kontroliranim otpuštanjem inkapsulirane aktivne tvari iz kapsule. Najpopularnija tehnika inkapsulacije aroma je sušenje raspršivanjem. Kompleksna koacervacija je novija, vrlo efikasna tehnika za inkapsuliranje aroma koja se sve više primjenjuje.⁶

3) ZAKLJUČAK

Bioaktivni spojevi primjenjuju se u industriji hrane kako bi se poboljšala njena kvaliteta, za proizvodnju funkcionalne hrane, konzervansa za hranu, a osim toga imaju i mnoge blagotvorne učinke na zdravlje ljudi, kao što su antimikrobni, antihipertenzivni, antikancerogeni, protuupalni i drugi učinci. Inkapsulacijom se bioaktivni spojevi štite od vanjskog utjecaja okoline i uvjeta koji narušavaju njihovu stabilnost te je omogućeno kontrolirano otpuštanje bioaktivnih tvari iz kapsula. Inkapsulacija je vrlo važna za održivi razvoj raznih proizvoda od prehrambenih, poljoprivrednih, kozmetičkih proizvoda do nutraceutika. Rješava problem stabilizacije spojeva tokom industrijske obrade i skladištenja. Uz sve prednosti koje inkapsulacija donosi u održivi razvoj proizvoda još je mnogo prostora za napredak tehnika inkapsulacije.

4) LITERATURNI IZVORI

1. N. J. Zuidam, V. Nedović, *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*, Springer New York, New York, 2010, str.3
2. V. Nedović, A. Kalušević, V. Manojlović, S. Lević, B. Bugarski, *Procedia Food Science*, 11th International Congress on Engineering and Food (ICEF11), Atena, 2011, Zbornik radova str. 1806 – 1815
3. H. – K. Biesalski, L. Ove Dragsted, I. Elmadfa, R. Grossklaus, M. Müller, D. Schrenk, P. Walter, P. Weber, *Nutrition* **25** (2009) 1202 – 1205
4. J. Azmir, I.S.M. Zaidul, M.M. Rahman, K.M. Sharif, A. Mohamed, F. Sahena, M.H.A. Jahurul, K. Ghafoor, N.A.N. Norulaini, A.K.M. Omar, *J. Food Eng.* **117** (2013) 426 – 436
5. M. Vinceković, S. Jurić, *Nonthermal Processing in Agri-Food-Bio Sciences, Sustainability and Future Goals*, Springer International Publishing, Cham, 2022, str. 469 – 490
6. D. Dahiya, A. Terpou, M. Dasenaki, P. S. Nigam, *Sustainable Food Technol.* **1** (2023) 500 – 510
7. W. M. F. da Silva, D. H. Kringel, E. J. D. de Souza, E. da Rosa Zavareze, A. R. G. Dias, *Food Bioprocess Technol.* **15** (2022) 1 – 27
8. E. C. Chagas, C. Majolo, P. C. Monteiro, M. R. de Olivera, P. E. Gama, H. R. Bizzo, F. C. M. Chaves, *J. Essent. Oil Res.* **32** (2020) 209 – 215
9. N. Leyva-Lopez, E. P. Gutierrez-Grijalva, G. Vazquez-Olivo, J. B. Heredia, *Molecules* (2017) **22** (6), 989
10. R. del C. Flores-Vallejo, J. L. Folch-Mallol, A. Sharma, A. Cardoso-Taketa, L. Alvarez-Berber, M. L. Villarreal, *S AFR J BOT* **134** (2020) 213 – 224
11. S. Agrawal, S. K. Deshmukh, M. S. Reddy, R. Prasad, M. Goel, *S AFR J BOT* **134** (2020) 163 – 186
12. S. Kumar, R. Prasad Aharwal, H. Shukla, R. C. Rajak, S. S. Sandhu, *World J Pharm Pharm Sci* **3** (2014) 1179 – 1197

13. N. J. Zuidam, op.cit. (bilj. 1), str. 4
14. Y.P.Timilsena, T. O. Akanbi, N. Khalid, B. Adhikari, C. J. Barrow, *Int. J. Biol. Macromol.* **121** (2019) 1276 – 1286
15. N. J. Zuidam, op.cit. (bilj. 1), str. 15
16. W. Tong, X. Song, C. Gao, *Chem. Soc. Rev.* **41** (2012) 6103 – 6124
17. W. W. Mwangi, H. P. Lim, L. E. Low, B. T. Tey, E. S. Chan, *Trends Food Sci* **100** (2020) 320 – 332
18. C. A. Barbero, M. V. Martinez, D. F. Acevedo, M. A. Molina, C. V. Rivarola, *Macromol* **2** (2022) 440 – 475