

# Barijerna i mehanička svojstva jestivih filmova od kitozana s ekstraktom sjemenki grožđa

---

**Buljan, Josipa**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:758539>

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

*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 2020.

Josipa Buljan

1180/N

**BARIJERNA I MEHANIČKA  
SVOJSTVA JESTIVIH FILMOVA  
OD KITOZANA S DODANIM  
EKSTRAKTOM SJEMENKI  
GROŽĐA**

Rad je izrađen u Laboratoriju za pakiranje hrane na Zavodu za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom doc. dr. sc. Marija Ščetara, Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

*Zahvaljujem doc. dr. sc. Mariju Ščetaru na mentorstvu, srdačnom pristupu i stručnom vođenju kroz cijeli postupak organizacije i izrade diplomskog rada. Također, zahvalila bih doc. dr. sc. Miji Kurek na stručnim savjetima kao i tehničkim suradnicima, Goranu Bosancu te Darjanu Pipiću, na izdvojenom vremenu i pomoći oko izvođenja eksperimentalnog dijela rada.*

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo  
Laboratorij za pakiranje hrane

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Nutricionizam

**BARIJERNA I MEHANIČKA SVOJSTVA JESTIVIH FILMOVA OD KITOZANA S  
EKSTRAKTOM SJEMENKI GROŽĐA**

*Josipa Buljan, 1180/N*

**Sažetak:** Produkti otpada hrane kao što su sjemenke grožđa koje su tada još uvijek bogate vrijednim antioksidacijskim spojevima, mogu se primijeniti za proizvodnju novih funkcionalnih proizvoda čime se poboljšava njihova kvaliteta. Cilj ovog istraživanja je optimizacija formulacije jestivih filmova proizvedenih od kitozana (CS) i ekstrakta sjemenki grožđa (GSE) koji je odabran zbog visokog fenolnog sadržaja. Promatran je utjecaj koncentracije kitozana (2, 2,5 i 3 % m/v) i prisutnost GSE (0,3 % m/v) na boju, debljinu, topljivost, sadržaj vlage, mehanička i barijerna svojstva. Prisutnost ekstrakta značajno je promijenila parametre boje  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$ . Vrijednost  $L^*$  se smanjila dok se  $a^*$  povećala što ukazuje na crvenkastu boju filma zbog prisutnosti antocijana u ekstraktu sjemenki grožđa. Filmovi s dodanim ekstraktom bili su propusniji na kisik i vodenu paru od filmova koji su sadržavali samo kitozan. Kitozanski filmovi bili su elastičniji od filmova s dodanim ekstraktom.

**Ključne riječi:** jestivi filmovi, kitozan, ekstrakt sjemenki grožđa, barijerna i mehanička svojstva

**Rad sadržava:** 52 stranice, 12 slika, 6 tablica, 106 literaturnih navoda, 1 prilog

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

**Mentor:** doc. dr. sc. Mario Ščetar

**Pomoć pri izradi:** doc. dr. sc. Mía Kurek

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. prof. dr. sc. Kata Galić
2. doc. dr. sc. Mario Ščetar
3. izv. prof. dr. sc. Ivana Rumbak
4. izv. prof. dr. sc. Irena Keser (zamjena)

**Datum obrane:** 25. rujna 2020.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
Department of Food Engineering  
Laboratory for Food Packaging

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Nutrition

### BARRIER AND MECHANICAL PROPERTIES OF CHITOSAN FILMS WITH GRAPE SEED EXTRACT

*Josipa Buljan, 1180/N*

**Abstract:** By-products collected from food processing waste, such as grape seeds that are wealthy in still valuable antioxidant compounds, could be applied for the production of novel functional products thus improving their quality. This research is aimed to optimize the formulation of edible films made from chitosan (CS) and grape seed extract (GSE) which was chosen because its known high phenolic content. Influence of chitosan concentration (2, 2.5 and 3 % w/v) and presence of GSE (0.3 % w/v) was tested on colour, thickness, solubility, moisture content, mechanical and barrier properties. Presence of GSE significantly changed  $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$  colour parameters.  $L^*$  decreased and  $a^*$  increased indicating film reddish taint, due to the presence of anthocyanins in grape seed extract. Films with added GSE component were more permeable to oxygen and water vapour than films with CS only. CS films were more elastic than CS/GSE films.

**Keywords:** edible films, chitosan, grape seeds extracts, barrier and mechanical properties

**Thesis contains:** 52 pages, 12 figures, 6 tables, 106 references, 1 supplement

**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. Mario Ščetar, Assistant professor

**Technical support and assistance:** PhD. Mia Kurek, Assistant professor

#### Reviewers:

1. PhD. Kata Galić, Full professor
2. PhD. Mario Ščetar, Assistant professor (Mentor)
3. PhD. Ivana Rumbak, Associate professor
4. PhD. Irena Keser, Associate professor (substitute)

**Thesis defended:** 25 September 2020

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	2
2.1. BIORAZGRADIVI I JESTIVI FILMOVI I PREMAZI .....	2
2.1.1. Kitozan .....	5
2.2. AKTIVNO I INTELIGENTNO PAKIRANJE .....	7
2.2.1. Kapsulacija bioaktivih komponenti u jestive filmove .....	8
2.2.2. Ekstrakti grožda .....	10
2.3. FIZIKALNO-KEMIJSKA SVOJSTVA JESTIVIH FILMOVA .....	12
2.3.1. Debljina jestivih filmova .....	12
2.3.2. Topljivost i udio vode jestivih filmova .....	12
2.4. BARIJERNA SVOJSTVA JESTIVIH FILMOVA .....	13
2.5. MEHANIČKA SVOJSTVA JESTIVIH FILMOVA .....	15
2.6. ZAKONSKA REGULATIVA O JESTIVIM FILMOVIMA I PREMAZIMA .....	15
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	17
3.1. MATERIJALI .....	17
3.2. PRIPREMA FILMOVA .....	17
3.3. METODE .....	19
3.3.1. Debljina filmova .....	19
3.3.2. Mjerenje propusnosti kisika kroz biopolimerni film .....	19
3.3.3. Mjerenje propusnosti vodene pare kroz biopolimerni film .....	20
3.3.4. Određivanje topljivosti biopolimernog filma u vodi .....	21
3.3.5. Određivanje udjela vode u biopolimernom filmu .....	21
3.3.6. Određivanje boje biopolimernog filma .....	21
3.3.7. Određivanje mehaničkih svojstava biopolimernog filma .....	22
3.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA .....	24
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	25
4.1. PROPUSNOST FILMOVA NA VODENU PARU I KISIK .....	25
4.2. TOPLJIVOST FILMOVA I UDIO VODE U FILMOVIMA .....	29
4.3. BOJA FILMOVA .....	30
4.4. MEHANIČKA SVOJSTVA FILMOVA .....	31
<b>5. ZAKLJUČCI</b> .....	34
<b>6. LITERATURA</b> .....	35
<b>7. PRILOZI</b> .....	44



# 1. UVOD

Pakiranje hrane ima važnu ulogu u lancu opskrbe hranom. Pakiranjem se hrana uglavnom štiti, nakon čega se distribuira i stavlja na tržište, a često se koristi u kombinaciji s drugim metodama konzerviranja (Hoover, 1997). Osnovne funkcije pakiranja hrane su osiguravanje roka valjanosti, zaštita od mehaničkih oštećenja, gubitka mase te prijenosa topline.

Povećana svijest o očuvanju okoliša, potreba za većom kvalitetom hrane, otkriće funkcionalnih spojeva i novih tehnologija u proizvodnji hrane potaknuli su istraživanja o jestivim filmovima i premazima (Zhao i McDaniel, 2005). Novi materijali za pakiranje izvedeni od razgradivih biopolimera (Azeredo i sur., 2009) nisu univerzalni za sve proizvode i to predstavlja izazov za razvoj odgovarajućih filmova za sve vrste hrane. Cilj je upotreba jeftinijih, dostupnijih, funkcionalnijih biopolimera (Aguirre-Joya i sur., 2018). S razvojem industrije povećavaju se i zahtjevi koje ambalaža mora ispuniti. Osim osnovnih funkcija, obogaćivanjem ambalažnog materijala žele se postići bolje karakteristike proizvoda poput produljenja roka trajanja, poboljšanja sigurnosti hrane gledajući s mikrobiološkog aspekta ili pak povećanje sadržaja nutritivnih tvari.

Grožde zbog sadržaja funkcionalnih komponenti, predstavlja namirnicu s visokim antioksidacijskim potencijalom. Značajne su razlike u sadržaju fenolnih komponenti ovisno o dijelu bobice pa su tako sjemenka i potkožica najbogatije fenolnim komponentama. Pojedine namirnice u trenutku bacanja i dalje sadrže visokovrijedne komponente koje se mogu iskoristiti u prehrambenoj, farmaceutskoj ili kozmetičkoj industriji. Primjerice, istraživanja pokazuju da nakon proizvodnje vina zaostaje oko 20 % organskog otpada (Davila i sur., 2017; Kammerer i sur., 2004).

Predloženi su sljedeći ciljevi diplomskog rada:

- Priprema jestivih, biorazgradivih filmova upotrebom biopolimera (kitozan)
- Dodatak ekstrakta sjemenki grožđa u biopolimer
- Karakterizacija i usporedba fizikalno-kemijskih svojstava pripremljenih filmova

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. BIORAZGRADIVI I JESTIVI FILMOVI I PREMAZI

Znanstvenici su prepoznali potencijal jestivih i biorazgradivih filmova kao alternativu uobičajenom pakiranju. Strukturni materijali od kojih se proizvode jestivi filmovi temelje se na proteinima (soja, kolagen, želatina), polisaharidima (derivati celuloze, škrob, alginati, kitozan) i lipidima (esteri glicerola i voskovi), a mogu se koristiti pojedinačno ili u kombinacijama (Quirós-Sauceda i sur., 2014). Takvi filmovi predstavljaju novu strategiju kojom se održava kvaliteta, produljuje rok trajanja i pridonosi ekonomskoj učinkovitosti ambalažnog materijala (Arismendi i sur., 2013). Biopolimeri su prirodne i biorazgradive tvari što čini prednost i u smislu potencijalne zamjene plastike čime se u određenoj mjeri utječe i na problem zbrinjavanja plastičnog otpada (Andrade i sur., 2012). Također, mogu se koristiti i s ciljem poboljšanja utjecaja procesa obrade hrane na kvalitetu konačnog proizvoda. Primjerice, prilikom prženja, nanošenjem hidrokolidnih filmova smanjuje se sadržaj ulja u konačnom proizvodu poput čipsa od krumpira (Tavera-Quiroz i sur., 2011) i pilećih prsa (Dragich i Krochta, 2009).

Jestivi premaz definiran je kao tanki sloj jestivog polimera koji se nanosi na površinu hrane, a primjenjuje se u tekućem obliku (Zhao i McDaniel, 2005). Mogu se primijeniti različitim metodama kao što su ispiranje u otopini, u fluidiziranom sloju, uranjanjem i raspršivanjem. Raspršivanjem kao najčešće korištenom tehnikom omogućeno je nanošenje jednolikog premaza, kontroliranje debljine i mogućnost višeslojnih nanošenja. Uz to, prednost metode je i oblikovanje premaza kombinirajući hidrofilne i hidrofobne tvari (Andrade i sur., 2012). Nasuprot tome, jestivi film predstavlja tanki sloj jestivog polimera, u krutom obliku, smješten na površini ili između sastojaka hrane (Falguera i sur., 2011; Krochta i De Mulder-Johnston, 1997).

Priprema jestivih filmova i premaza uključuje upotrebu biopolimera, plastifikatora i ostalih aktivnih sastojaka. Također, kako bi se povećala stabilnost i kvaliteta hrane, moguće ih je modificirati dodatkom funkcionalnih sastojaka poput antioksidansa, antimikrobnih i hranjivih tvari (Debeaufort i sur., 1998; Krochta i De Mulder-Johnston, 1997; Krochta i sur., 1994). Poželjno je da oni u međusobnim interakcijama ne mijenjaju organoleptička svojstva samog proizvoda, a budući da se uglavnom koriste u malim koncentracijama, smatra se da je taj utjecaj zanemariv (Zhao i McDaniel, 2005). Funkcionalnost filma može varirati budući da se radi o komponentama različitih svojstava, različitim vezama među polimernim molekulama, ali i zbog utjecaja raznih fizikalnih i kemijskih agensa (Janjarasskul i Krochta,

2010). Stoga je bitno pažnju usmjeriti na sinergiju svih komponenti u polimernom materijalu te utjecaj dodanih tvari budući da o tome ovise mehanička i barijerna svojstva filma (Altenhofen i sur., 2009).

Općenito, idealan premaz ili film treba biti siguran, nevidljiv, bez okusa i mirisa, adekvatne mehaničke čvrstoće te s poželjnom barijerom za vlagu i plinove. Na taj način, teoretski, upotreba jestivih premaza i filmova može poboljšati kvalitetu hrane jer:

1. Formiranjem barijere sprječava gubitak vlage čime se prevenira dehidacija
2. Zbog selektivne propusnosti plinova, odgađa se proces zrenja
3. Kontrolira se migracija u vodi topljivih tvari (zadržavanje prirodne boje, nutrijenata)
4. Sadrže funkcionalne sastojke (Zhao i McDaniel, 2005)

Funkcionalnost jestivih filmova i premaza promatrana je na raznim vrstama hrane te je primjećen značajni utjecaj na produljenje roka trajanja (Falguera i sur., 2011). Emulzijski filmovi učinkovito djeluju na povećanje stabilnosti svježeg i prerađenog voća i povrća, sireva i drugih prehrambenih proizvoda (Galus i Kadzińska, 2015).

Mliječni proizvodi skloni su oksidaciji i razvoju mikroorganizama stoga je potrebno osigurati ambalažne materijale s niskom propusnošću na kisik. Sir je složeni prehrambeni proizvod koji se većinom sastoji od kazeina, masti i vode. Jestivi filmovi mogu poboljšati rok trajanja i kvalitetu sira pružajući dobru selektivnu barijeru za prijenos vlage i unos kisika čime se reducira mikrobiološka kontaminacija, oksidacija i gubitak hlapljivih aroma te se postižu bolja organoleptička svojstva proizvoda (Nisperos-Carriedo, 1994). Različite vrste sireva zahtijevaju određene ambalažne materijale i uvjete pakiranja kako bi se održala kvaliteta proizvoda. Svježi sirevi pakiraju se u modificiranoj atmosferi s inetrnim plinom (dušikom) ili ugljikovim dioksidom koji ima antimikrobni učinak. Polutvrđi i tvrdi sirevi imaju visok stupanj respiracije stoga zahtijevaju pakiranje od materijala propusnih na ugljikov dioksid kako bi se izbjeglo napuhivanje ambalaže (Cerqueira i sur., 2009).

Svježa riba izvor je vrijednih hranjivih sastojaka, međutim radi se o proizvodu koji se lako kvari. Kako bi se očuvala zdravstvena, mikrobiološka i nutritivna kvaliteta svježe ribe, razvijaju se nove strategije poput dizajniranja i primjene jestivih filmova kao što su filmovi od kitozana, agra, škroba te izolata proteina sirutke.

Svježe i minimalno procesirano voće i povrće također se brzo kvari stoga je potrebno primijeniti određene metode kojima se održava stabilnost tijekom skladištenja takvih proizvoda. S ciljem produljenja roka trajanja, istraženo je nekoliko vrsta jestivih ambalažnih materijala, od prirodnih biopolimera poput škroba (Chiumarelli i Hubinger, 2014), pektina

(Taqui i Stamatina, 2014), kitozana (Elsabee i Abdou, 2013), galaktomanana (Cerqueira i sur., 2011), alginata (Guerreiro i sur., 2015) i voska (Ochoa i sur., 2011). Smatra se da jestivi filmovi i premazi izvrsno doprinose produljenju roka trajanja voća i povrća (Cerqueira i sur., 2011). Tablica 1 prikazuje nekoliko primjera primjene jestivih filmova na voću i povrću, mliječnim proizvodima, mesu i peradi te njihove utjecaje na proizvod.

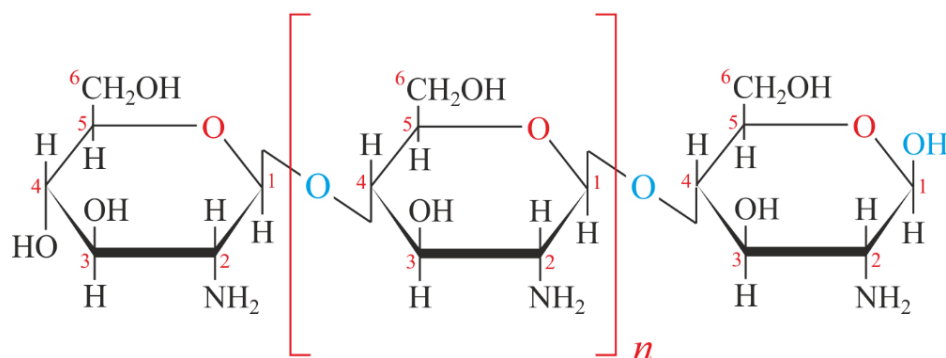
Tablica 1. Primjeri primjene jestivih ambalažnih filmova na različitim prehrambenim proizvodima

<b>Namirnica</b>	<b>Komponente filma</b>	<b>Rezultati</b>	<b>Referenca</b>
Borovnica	Kitozan i ekstrakt Aloa vere	Produljen rok trajanja za 5 dana	Vieira i sur., 2016
Citrusi	Karboksimetilceluloza i kitozan	Poboljšani svi parametri kvalitete voća	Arnon i sur., 2015
Mrkva	Kitozan, octena kiselina i glicerol	Odgođeno mikrobno kvarenje, pozitivni učinci na boju i teksturu mrkve	Leceta i sur., 2015
Ricotta sir	Kitozan i protein sirutke	Odgođen razvoj neželjene kiselosti, bolje održanje teksture, nepromijenjena osjetilna svojstva	Di Pierro i sur., 2011
Fileti odmrznutog oslića ( <i>Merluccius capensis</i> )	Agar, glicerol, glukoza, ekstrakt zelenog čaja ( <i>Camellia sinensis</i> )	Redukcija bakterija koje proizvode H <sub>2</sub> S, kvaliteta održiva unutar granica prihvatljivosti	Lopez de Lacey i sur., 2014
Fileti pastrve ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Kitozan (1 % w/v), octene kiseline (1 % v/v), želatina (3 % w/v), glicerol 0,75mL g <sup>-1</sup>	Zadržana kvaliteta i rok trajanja tijekom hladnog skladištenja, postignut antioksidacijski efekt	Nowzari i sur., 2013

Posljednjih godina polisaharidi su često istraživani kao biopolimeri za stvaranje jestivih ambalažnih filmova (Espitia i sur., 2014). Jedan od takvih primjera je i kitozan koji se zbog izvrsnih filmogenih svojstava intenzivno istražuje te je jedan od najčešće korištenih biopolimera u proizvodnji jestivih filmova (Van den Broek i sur., 2015; Dutta i sur., 2009).

### 2.1.1. Kitozan

Kitozan je polisaharid, sastavljen od N-acetil-D-glukoza-aminskih jedinica povezanih  $\beta$ - (1,4) vezom (slika 1). Nastaje deacetilacijom hitina, glavnog sastojka ljuštura rakova (Aguirre-Joya i sur., 2018). Predmet je brojnih istraživanja s ciljem provjere sigurnosti i potencijalne primjene u ambalaži za hranu. Američka agencija za hranu i lijekove je 1983. odobrila upotrebu kitozana kao aditiva u hrani (Ghaouth i sur., 1991). Budući da je biorazgradiv i netoksičan koristi se u biomedicini, prehrambenoj i kemijskoj industriji (Erginkaya i sur., 2014).



Slika 1. Kemijska struktura kitozana (Anonymous 1)

Kitozan je slabo topljiv u vodi, dobro se otapa u kiselim otapalima (Aguirre-Joya i sur., 2018). Za pripremu jestivih filmova od kitozana većinom se koristi octena kiselina. U pH rasponu takve otopine (3,9-4,2) dolazi do pojave astrigencije za koju se smatra da je rezultat porasta protoniranih grupa otopljenih u kiselini (Zhao i McDaniel, 2005). Također, kitozan može vezati proteine sline čime se smanjuje vlažnost u ustima (Kubota i Kihuchi, 1998). Rodriguez i sur. (2003) izvijestili su da se namještanjem pH otopine na vrijednost od 4,6 do 6,3 smanjuje pojava astrigentnosti.

Zbog svojih izvrsnih biokemijskih i filmogenih svojstava, može biti idealan materijal za oblaganje svježeg voća, ali i ostalih prehrambenih proizvoda (Ghaouth i sur., 1991).

Upotrebljava se i zbog svojstva stvaranja barijere koja kontrolira propusnost vodene pare i plinova čime utječe na trajnost proizvoda (Alvarez i sur., 2013). Istraživanja su pokazala da premazi na bazi kitozana imaju potencijalnu široku primjenu na različitim proizvodima poput sirovih jaja (Bhale i sur., 2003), breskvi (Li i Yu, 2001) i svježih jagoda i malina (Garcia i sur., 1998; Zhang i Quantick, 1998; Ghaouth i sur., 1991). Također, pokazalo se da kitozan inhibira rast nekih gljivica (Jiang i Li, 2001; Ghaouth i sur., 1991). Kitozanski filmovi su, kao i većina hidrokoloida, propusni na vodenu paru (Aguirre-Joya i sur., 2018). Ovisno o tehnološkim zahtjevima, oni se mogu modificirati, između ostaloga, miješanjem s drugim polimerima. Primjerice, jestivi filmovi od kitozana i želatine pokazali su poboljšana barijerna i mehanička svojstva kao i antimikrobno djelovanje protiv Gram-negativnih bakterija u odnosu na same kitozanske filmove (Jridi i sur., 2014; Hosseini i sur., 2013).

## 2.2. AKTIVNO I INTELIGENTNO PAKIRANJE

Sve veći zahtjevi potrošača za sigurnom i kvalitetnom hranom razlog su neprestanog razvoja i usavršavanja tehnologije pakiranja. Aktivni i inteligentni sustavi za pakiranje dio su moderne inovacije koja nadilazi tradicionalne načine te u njima postoji interakcija proizvoda i okoliša radi produljenja roka trajanja hrane, poboljšanja senzorskih svojstava i kvalitete pakirane hrane (Aguirre-Joya i sur., 2018).

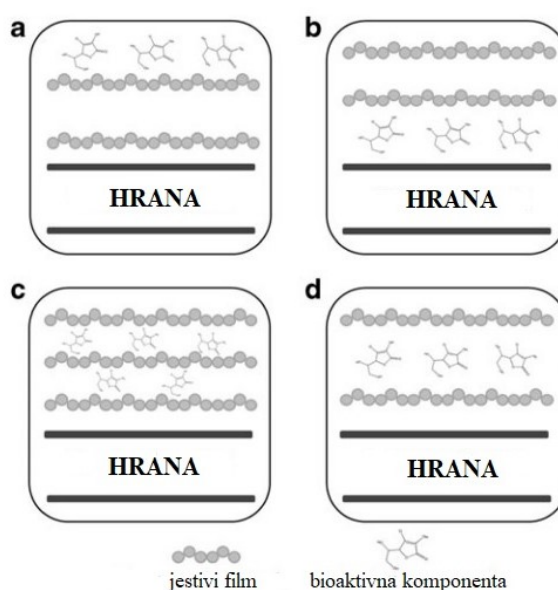
Aktivni ambalažni sustavi zamišljeni su tako da otpuštaju aktivne tvari u proizvod ili apsorbiraju štetne tvari iz proizvoda s ciljem poboljšanja uvjeta u kojima se proizvod nalazi. Na taj način aktivna ambalaža osigurava adekvatno stanje proizvoda u trenutku kada dođe do krajnjeg potrošača (Jakupić i sur., 2019). Aktivno pakiranje predstavlja inovativnu strategiju uključivanja bioaktivnih tvari poput antioksidansa u polimerni matriks radi produljenja roka trajanja i sprječavanja oksidacijskih promjena prehrambenih proizvoda (Realini i Marcos, 2014; López-de-Dicastillo i sur., 2012). Ostale metode aktivnog pakiranja uključuju apsorbere kisika, apsorbere/izračivače ugljikova dioksida i apsorbere etilena, apsorbere/regulatore vlage te tvari s antimikrobnim učinkom. Aktivno pakiranje ne smije sadržavati tvari koje prekrivaju proces kvarenja hrane, već ga spriječiti u nastajanju (Jakupić i sur., 2019).

Za razliku od aktivnog pakiranja, inteligentno pakiranje ne djeluje izravno na produljenje roka trajanja hrane, već ima za cilj prenošenje informacija vezanih za kvalitetu hrane sudionicima opskrbe hranom, npr. proizvođačima, trgovcima i potrošačima (Restuccia i sur., 2010). Inteligentno pakiranje dolazi u dodir s hranom i daje informaciju o svježini, a pri tome ne smije mijenjati sastav ili organoleptička svojstva proizvoda. Također, podrazumijeva upotrebu senzora i indikatora koji se stavljaju unutar ili na pakiranje, a daju informaciju o stanju proizvoda. Vrlo je česta upotreba senzora i indikatora u pakiranjima u modificiranoj atmosferi ili u vakuumskim pakiranjima. Inteligentno pakiranje može se podijeliti u tri grupe: eksterni indikatori – nalaze se na vanjskom dijelu pakiranja, a uključuju indikatore vremena, temperature, fizičkog šoka; interni indikatori – nalaze se u unutrašnjosti pakiranja, a uključuju indikatore propuštanja O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, indikatore razvoja mikroorganizama (mikrobiološkog kvarenja) te indikatori koji povećavaju efikasnost protoka informacija – specijalni bar kodovi koji pohranjuju informacije o namirnici. RFID tehnologija (*eng. Radio Frequency Identification*) predstavlja zaseban oblik inteligentnog pakiranja koji se temelji na očitavanju mikročipa s namirnice čime se postiže lakše praćenje proizvoda u trgovinama i skladištima (Jakupić i sur., 2019). Prednost inteligentnog pakiranja je u tome što svi sudionici

u opskrbi hrane, zbog prisutnog vanjskog ili unutarnjeg pokazatelja, imaju uvid u kvalitetu proizvoda te se na taj način učinkovitije upravlja proizvodom, smanjuju gubitci i prati autentičnost proizvoda.

### 2.2.1. Kapsulacija bioaktivnih komponenti u jestive filmove

Jestivi premazi mogu se koristiti kao kapsulirajuće matrice bioaktivnih spojeva za poboljšanje kvalitete prehrambenih proizvoda. Na taj način može se smanjiti rizik od patogena, produljiti rok trajanja, ali i osigurati funkcionalnost proizvoda sa zdravstvenim koristima za samog potrošača (Quirós-Sauceda i sur., 2014). Najčešće korišteni bioaktivni spojevi su antioksidansi, antimikrobne tvari, probiotici i arome (Muranyi, 2013; Ayala-Zavala i sur., 2011). Ovisno o namjeni i svojstvima bioaktivne komponente, moguće su 4 različite vrste kapsulacije (slika 2). Metode kapsulacije su učinkovitije od izravne primjene spoja na površinu jer se odgađa migracija komponente s površine hrane čime se održava visoka koncentracija bioaktivne komponente tamo gdje je potrebna (Quirós-Sauceda i sur., 2014).



Slika 2. Načini kapsulacije bioaktivne komponente u film: a) ugradnja na vanjsku površinu filma, b) u međuprostor između filma i hrane, c) između više slojeva jestivog filma, d) rapršena između različitih dijelova filma (Quirós-Sauceda i sur., 2014).



Bioaktivni spojevi su dodatni prehrambeni sastojci koji se obično pojavljuju u malim količinama u hrani. Uključuju skupine spojeva kao što su karotenoidi, fenoli, glukozinolati, prehrambena vlakna, fitosteroli, monoterpeni i molekule poput askorbinske kiseline. Njihova upotreba je sve veći interes brojnih istraživanja i potrošača budući da su povezani s pozitivnim učinkom na zdravlje ljudi. Uz brojne prednosti, valja napomenuti i da su skloni brzom razgradnji i interakciji s drugim komponentama hrane što smanjuje funkcionalnost proizvoda. Uključivanje antioksidansa u jestive filmove može utjecati na parametre kvalitete hrane poput boje, mirisa ili okusa, te u skladu s tim na potrošačke sklonosti (Barbosa-Pereira i sur., 2014). Antioksidansi štite tvari od oksidacije te mogu produljiti rok trajanja hrane. Međutim, osjetljivi su na visoke temperature i količine svjetla, ograničene su topljivosti, a to rezultira gubitkom funkcionalnosti, ograničavajući njihovu primjenu (Fang i Bhandari, 2010; Ayala-Zavala i sur., 2008). U tom smislu neke tehnologije kapsulacije mogu ublažiti nedostatke na način da štite bioaktivne tvari od UV svjetla, topline, vlage ili plinova. Također odabirom odgovarajuće metode, kapsulacijom se može regulirati topljivost bioaktivne komponente u hrani (Quirós-Sauceda i sur., 2014). Jedna od najatraktivnijih prednosti uporabe jestivih premaza je i sposobnost kontrole oslobađanja bioaktivne tvari u određenom trenutku što je ključno za postizanje funkcionalnosti hrane (Ayala Zavala i sur., 2008). Različiti su mehanizmi oslobađanja bioaktivne komponente iz filma u hranu poput topljenja, difuzije, razgradnje ili razdiobe čestica (Madene i sur., 2006). Difuzijsko oslobađanje ovisi i o topljivosti te permeabilnosti bioaktivne komponente kroz strukturni matriks (Quirós-Sauceda i sur., 2014).

Postoje različite metode kapsulacije, sušenje raspršivanjem, hlađenje raspršivanjem, koekstruzija i liposomi. Metoda koja se najviše koristi u pripravi jestivih filmova je sušenje raspršivanjem pri čemu se tvar emulgira u kapsulacijski agent (Skurtys i sur., 2010). Hlađenje raspršivanjem temelji se na ubrizgavanju hladnog zraka u posudu koja omogućuje učvršćivanje čestica. Kapljica očvrstne te privlači bioaktivne komponente. Koekstruzijom je cilj bioaktivnu komponentu ugraditi u nepropusni plin (Champagne i Fustier, 2007), dok su liposomi čestice koje se sastoje od jednog ili više lipidnih slojeva koji vežu različite molekule (Fang i Bhandari, 2010). Odabir metode ovisi o svojstvima bioaktivne komponente, materijalu jestivoga filma i primjeni proizvoda (Quirós-Sauceda i sur., 2014).

Ugradnja bioaktivne tvari u strukturu jestivog filma predmet je brojnih istraživanja. Ponce i sur. (2008) uočili su poboljšanu antioksidacijsku zaštitu minimalno prerađene tikvice primjenom kitozana obogaćenog esencijalnim uljima. Postoje i drugi bioaktivni spojevi koji se mogu ugraditi u jestive obloge radi poboljšanja funkcionalnosti i prehrambene vrijednosti

hrane; posebno se ističu mineralne tvari, vitamini, fitosteroli, lutein, masne kiseline i likopen. Nekoliko studija izvijestilo je o kapsulaciji luteina, prirodnog pigmenta koji ima korisnu ulogu u prevenciji kardiovaskularnih bolesti, moždanog udara, raka pluća i karcinoma dojke. Lutein je nestabilan na svjetlu i toplini, slabo je topljiv u vodi, slabo se apsorbira i ima malu bioraspoloživost. Iz tog razloga, jestivi filmovi mogu biti dobra opcija za poboljšanje navedenih karakteristika (Quirós-Sauceda i sur., 2014).

### 2.2.2. Ekstrakti grožda

Zbog nepotpune ekstrakcije prilikom proizvodnje vina, komina grožđa je u trenutku bacanja vrijedan izvor fitokemikalija. Grožđe je bogat izvor fenola, dijetalnih vlakana, celuloze i pektina. Fenoli su sekundarni biljni metaboliti koji imaju povoljan učinak na zdravlje ljudi prije svega zbog antioksidacijskog, antiupalnog i antibakterijskog djelovanja. Fenolne komponente iz grožđa općenito se dijele u nekoliko skupina: fenolne kiseline (derivati hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline), flavonoidi (flavonoli, flavonoli, antocijani, stilbeni) te tanini i proantocijanidini. Kako bi se postiglo dobro iskorištenje spojeva, potrebno je razviti učinkovite, ali i održive tehnike ekstrakcije (Fontana i sur., 2013). U komini grožđa identificirani su brojni fenoli, a najzastupljenije su fenolne kiseline, antocijani, flavan-3-oli, flavonoli i stilbeni. Sjemenke grožđa sadrže vlakna, proteine, lipide, ugljikohidrate, mineralne tvari, te 5-8 % sastava čine polifenolni spojevi (Davila i sur., 2017). Ulje sjemenki grožđa sadržava visoke količine polinezasićenih masnih kiselina s najrasprostranjenijom linolnom (oko 70 %) te oleinskom (oko 15 %), a u nižim količinama prisutne su i palmitinska (oko 7 %) te stearinska kiselina (oko 3 %) (Lavelli i sur., 2017). Budući da je posljednjih godina povećana težnja za održivom prehranom, produkti otpada voća se sve više istražuju i koriste kao jeftin izvor fitokemikalija koje se mogu ponovo upotrijebiti u raznim industrijama (Deng i sur., 2011; Schieber i sur., 2011).

U današnje vrijeme prevladava sve veći interes za poboljšanjem mikrobioloških, nutritivnih i senzorskih svojstava hrane. Rast mikroorganizama uzrokuje kvarenje svježih proizvoda te na taj način dolazi do skraćivanja roka trajanja. Osjetljive namirnice poput mesnih proizvoda zahtijevaju upotrebu ambalažnih materijala s antioksidacijskim i antimikrobnim svojstvima. Iz tog razloga, zbog barijernih svojstava za kisik i vlagu, jestivi filmovi i premazi razvijaju se kao nova metoda kemijskog i mikrobiološkog konzerviranja. Upotreba sintetskih antioksidansa je ograničena zbog toksičnosti usprkos njihovoj učinkovitosti i stabilnosti. Zbog jakih antioksidacijskih i antimikrobnih učinaka, posljednjih

godina pažnja je usmjerena na upotrebu produkata otpada grožđa, posebice ekstrakta sjemenki grožđa (eng. *grape seed extract*, GSE) kao potencijalnog aditiva za održavanje kvalitete hrane. Agencija za hranu i lijekove (eng. *Food And Drug Administration*, FDA) definira ekstrakt sjemenki grožđa kao sastojak s GRAS statusom (eng. *Generally Recognized as Safe*) te je komercijalno dostupan kao suplement i aditiv (Hassanzadeh i sur., 2018).

U nekoliko je studija testirana upotreba proizvoda dobivenih od grožđa u različitim prehrambenim proizvodima. Antibakterijski učinak ovisi o nekoliko čimbenika među kojima se ističu sorta i postupci dobivanja ekstrakta. Najčešće se primjenjuje ekstrakt sjemenki grožđa zbog veće razine polifenola koji su odgovorni za intenzivniju antimikrobnu aktivnost. Istraživanja su pokazala da ekstrakt sjemenki grožđa usporava rast psihrotrofnih aerobnih bakterija u svinjskom mesu. Također, uspješno inhibiraju rast bakterija *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. enterica* u siru. Većina istraživanja potvrdila je intenzivniji bakteriocidni učinak ekstrakta sjemenki grožđa u usporedbi s ekstraktom kože grožđa (Lavelli i sur., 2017). Zanimljivo je postojanje studije koje su primjetile rast određenih mikrobnih vrsta kod dodanog ekstrakta sjemenki grožđa. Ti rezultati pripisani su probiotičkom učinku pojedinih komponenti ekstrakta poput vlakana, galne kiseline i katehina (Alberto i sur., 2001).

Istraživanjem u kojem se proučavao pojedinačni utjecaj kitozanskog filma kao i dodatak ekstrakta sjemenki grožđa na trajnost fileta pastrve, pokazalo se da je kod uzorka s kitozanom kao i kod kombinacije kitozan/GSE rok trajanja dulji nego kod kontrolnih uzoraka te uzoraka sa samim ekstraktom. To ukazuje na inhibitorno djelovanje kitozana, bilo pojedinačno ili u kombinaciji s ekstraktom. Pretpostavka je da polimer, osim zbog dobrih barijernih svojstava na vlagu, suzbija rast bakterija i zbog apsorpcije hranjivih tvari koje koriste bakterije. Najpovoljniji utjecaj na pH vrijednost, peroksidni broj te posljedično na trajnost i senzorska svojstva proizvoda, pokazala je kombinacija kitozan/GSE budući da ekstrakt doprinosi antioksidacijskom i antimikrobnom djelovanju (Hassanzadeh i sur., 2018).

Nadalje, dodatak voćnog ekstrakta utječe na poboljšanu nutritivnu vrijednost namirnica. Kod pekarskih i slastičarskih proizvoda donosi očite prednosti poput obogaćivanja bijelog kruha, kolača ili keksa funkcionalnim spojevima kao što su prehrambena vlakna, vitamini, minerale tvari i antioksidansi. Tańska i suradnici (2016) pokazali su kako dodatak različitih voćnih ekstrakta utječe na promjenu boje od kontrolnih svjetlijih keksića prema tamnijim nijansama zbog prisutnih fenolnih komponenti. Također, uočena je povećana tvrdoća keksića, međutim tekstura je i dalje bila poželjna, bez zabilježenih negativnih organoleptičkih obilježja.

## 2.3. FIZIKALNO-KEMIJSKA SVOJSTVA JESTIVIH FILMOVA

### 2.3.1. Debljina jestivih filmova

Debljina filma je direktno povezana s mehaničkim i barijernim svojstvima. Kod filmova koji se pripremaju izlivanjem u Petrijeve posude, debljina ovisi o volumenu i viskozitetu otopine kao i promjeru posude u koju se film izliva. Viskozna otopina se teško razliva i na taj način nastaje visoka vrijednost debljine filma. Dva su načina mjerenja debljine filma: kontaktna i ne-kontaktna metoda. Iako je kontaktna metoda mjerenja uz pomoć mikrometra vrlo jednostavna, može doći do oštećenja filma, stoga se smatra da je ne-kontaktna metoda pouzdanija budući da pri tome ne dolazi do uništavanja materijala.

### 2.3.2. Topljivost i udio vode jestivih filmova

Bitna karakteristika filma je topljivost u vodi prema kojoj film pripada u skupinu hidrofilnih ili hidrofobnih materijala. To je važan parametar budući da daje uvid u ponašanje, odnosno stabilnost filma u vodenom okružju. Zbog topljivosti filma u kontaktu s vodom dolazi do pojave bubrenja kapljica nataloženih na hidrokolidima (Kokoszka i sur., 2010). Ukoliko se radi o proizvodima koji su u određenim uvjetima osjetljivi na migraciju vode, potrebno ih je kombinirati s hidrofobnim filmovima ili premazima kako bi se spriječilo isušivanje i održao integritet proizvoda. Nasuprot tome, hidrofilne biopolimere je idealno koristiti u situacijama kada je cilj da se oni otope tijekom upotrebe.

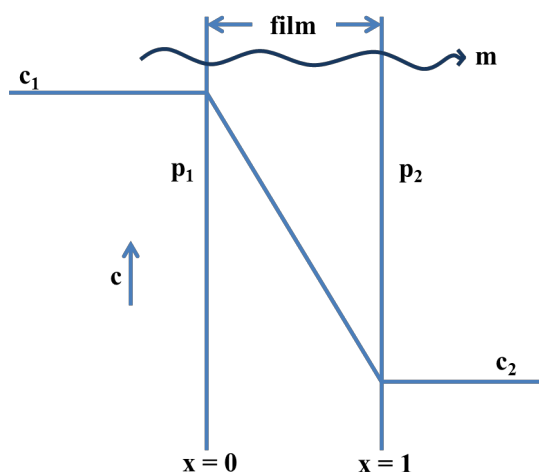
Kontaktni kut jedan je od indikatora za izravno određivanje hidrofilne ili hidrofobne prirode filma. Primjerice, kontaktni kut je povećan kod interakcije hidrofobnog filma i proizvoda s većim sadržajem lipida (Aguirre-Joya i sur., 2018).

U filmovima koji sadrže bioaktivne komponente, topljivost utječe na mjeru oslobađanja te komponente. Također, topljivost antioksidansa u filmovima može odrediti njegovu učinkovitost (Aguirre-Joya i sur., 2018). Decker (1998) je definirao pojam „paradoks antioksidansa" prema kojem su polarni antioksidansi prikladniji za hranu s visokim sadržajem lipida (Gómez-Estaca i sur., 2014).

Udio vode je parametar koji predstavlja ukupni volumen vode umrežen u polimernoj strukturi filma.

## 2.4. BARIJERNA SVOJSTVA JESTIVIH FILMOVA

Barijerna svojstva, odnosno propusnost na plinove, vodenu paru, arome i ostale tvari utječu na kvalitetu i rok trajanja, a ovise o kemijskom sastavu i strukturi filma, kao i svojstvima same namirnice (zrelost, sadržaj vlage, lipida) (Zhao i McDaniel, 2005). Propusnost ili permeacija ( $P/X$ ) definira prijenos permeata kroz jediničnu površinu materijala (slika 3), jedinične debljine, uvjetovano jediničnom razlikom tlaka između dvije površine unutar definiranih uvjeta temperature i relativne vlage s obje strane površine (Vujković i sur., 2007). Različiti proizvodi zahtijevaju određena barijerna svojstva, stoga je važno primijeniti odgovarajući polimerni sustav.



Slika 3. Shematski dijagram permeacije kroz polimerni film (Kovačić, 2010)

Pri proizvodnji jestivih filmova bitno je pažnju usmjeriti na sinergiju svih komponenti u polimernom materijalu kao i utjecaj dodanih tvari budući da o tome ovise barijerna svojstva filma (Altenhofen i sur., 2009). Dodatak plastifikatora utječe na povećanu propusnost vode i plinova kao posljedica slabljenja intermolekularnih sila u polimeru (Aquirre-Joya i sur., 2018). Zabilježeno je da u uvjetima niske relativne vlažnosti ( $< 25\%$ ) većina polisaharida pokazuje dobra barijerna svojstva (Baldwin i sur., 2012). Kao rezultat velikog broja hidrofilnih skupina, vodikove veze imaju značajnu ulogu u nastanku i karakteristikama filma. Polisaharidi i proteini su polimeri koji mogu formirati snažne međumolekulske veze što posljedično stvara dobru barijeru za plinove ( $\text{CO}_2$  i  $\text{O}_2$ ) (Andrade i sur., 2012). Za razliku od plastičnih materijala, biopolimeri od proteina i polisaharida obično zbog hidrofilnog karaktera predstavljaju slabu barijeru za vodenu paru (Aquirre-Joya i sur., 2018). Zasićene

masne kiseline u strukturi filma vrlo su efikasne u kontroli prijenosa vlage zbog manje polarnosti u usporedbi s nezasićenim kiselinama (Morillon i sur., 2002).

Velik broj istraživača proučava kompozitne ili višekomponentne filmove i premaze za poboljšanje konačnih karakteristika ambalaže (Kurek i sur., 2014; Galus i sur., 2013). Većina kompozitnih ambalaža spoj je hidrofilnog strukturnog matriksa i hidrofobne (lipidne) komponente što stvara bolju barijeru za vodenu paru od samih hidrokolooidnih filmova (Aquirre-Joya i sur., 2018). Galus i Kadzińska (2015) spomenuli su da se kompozitni materijali mogu dobiti kao dvosloji ili emulzije. Emulziju tvori lipidna faza raspršena u biopolimeru, dok je u slučaju dvoslojnog sustava potrebno najprije stvoriti tanki sloj proteina ili polisaharida, a preko toga sloj lipida (Aquirre-Joya i sur., 2018). Unatoč pružanju dobrih barijera protiv vodene pare, dvosloji su manje popularni u prehrambenoj industriji zbog višebrojnih postupaka i viših ekonomskih troškova (Debeaufort i Voilley, 1995). Zaštitna svojstva emulgiranih i hidrokolooidnih filmova ovise o relativnoj vlažnosti i temperaturi. Propusnost kisika je obrnuto proporcionalna stupnju relativne vlažnosti, dok propusnost ugljikova dioksida u emulgiranim filmovima ovisi o kemijskoj strukturi lipida (Aquirre-Joya i sur., 2018). Vrijednosti propusnosti kisika i vodene pare za neke od polimernih materijala nalaze se u tablici 2.

Tablica 2. Propusnost kisika i vodene pare kroz polimerne filmove debljine 25,4  $\mu\text{m}$  (Ščetar i sur., 2010)

Ambalažni materijal (0,025 mm debljine)	Barijerna svojstva	
	Vodena para ( $\text{g m}^{-2} \text{ 24 h}$ )	Kisik ( $\text{cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ 24 h}$ )
Poli(vinil-klorid), PVC	1,5–5	8–25
Poliviniliden-klorid, PVDC	0,5–1	2–4
Polipropilen, PP	5–12	2000–4500
Polietilen visoke gustoće, PE-HD	7–10	1600–2000
Polietilen niske gustoće, PE-LD	10–20	6500–8500
Linearni polietilen niske gustoće, PE-LLD	15,5–18,5	200
Etilen-vinil acetat, EVAC	40–60	12500
Etilen-vinil alkohol, EVOH	1000	0,5
Poliamid, PA	300–400	50–75
Polietilen-tereftalat, PET	15–20	100–150
Polistiren, PS	70–150	4500–6000

## 2.5. MEHANIČKA SVOJSTVA JESTIVIH FILMOVA

Mehanička svojstva filmova moraju se ispitati kako bi se procijenila održivost filma tijekom procesa obrade i samog rukovanja (Debeaufort i sur., 1998). Usko su povezana s udjelom vode i fizičkim integritetom proizvoda. U mnogim istraživanjima pokazalo se da jestivi premazi utječu na održavanje tvrdoće svježeg voća i povrća zbog barijere koja sprječava gubitak vode (Han i sur., 2004; Mei i sur., 2002; Sumnu i Bayindirli, 1995). Utjecaj na integritet smrznutih proizvoda pokazali su Han i sur. (2004) gdje je kitozanski premaz utjecao na smanjenje gubitka tekućine za 24 % prilikom smrzavanja/odmrzavanja maline. Također, u usporedbi s proizvodima bez premaza, kitozanski premaz s dodanim kalcijem povećao je čvrstoću proizvoda oko 25 %. Nadalje, Pascall i Lin, (2013) te Han i sur. (2005) su u istraživanjima pokazali kako se nanošenjem jestivog materijala od kitozana jačaju mehanička svojstva jagoda tijekom obrade i skladištenja.

Mehanička svojstva filmova čine tri parametra: otpor materijala na pucanje pod napetošću (vlačna čvrstoća), Young-ov modul te postotak produljenja prije pucanja (Skurtys i sur., 2010). Mehanička svojstva ovise o sinergiji i međusobnoj interakciji svih komponenti u strukturi filma (Altenhofen i sur., 2009). Polisaharidi i proteini su polimeri koji mogu formirati snažne međumolekulske veze stoga obično tvore filmove dobrih mehaničkih svojstava (Wu i sur., 2002; Vargas i sur., 2008), međutim u usporedbi sa sintetičkim, jestivi filmovi imaju slabija mehanička svojstva (Han i sur., 2015). Dodatak plastifikatora, spojeva male molekulske mase, smanjuje molekulske sile između polimernih lanaca, povećava se njihova pokretljivost što rezultira povećanjem elastičnosti i čvrstoće materijala (Aquirre-Joya i sur., 2018). Mohammad i sur. (2015) su na primjeru dodanog glicerola u film od gume sa sjemenkama kadulje pokazali da dodatak raznih vrsta lipidnih plastifikatora u film ili premaz utječe na povećanje debljine i sadržaj vlage. Međutim, na mehanička svojstva (elastičnost i vlačnu čvrstoću) utječu koncentracija lipidnih komponenti i adekvatno miješanje emulzijske smjese filma od gume s chia sjemenkama, odnosno kitozanskog filma s glicerolom (Dick i sur., 2015; Santacruz i sur., 2015).

## 2.6. ZAKONSKA REGULATIVA O JESTIVIM FILMOVIMA I PREMAZIMA

S ciljem zaštite zdravlja potrošača kao i zbog komercijalnih razloga, 1970-ih Europska unija (EU) uspostavila je regulatornu politiku za analizu i kontrolu kvalitete ambalaže i svih materijala koji su u kontaktu s hranom, uključujući čelik, drvo, aluminij, celulozu, papir, plastiku te aktivno i inteligentno pakiranje (Silano i Rossi, 2015).

Svi materijali ili predmeti koji dolaze u dodir s hranom, a koji se stavljaju na tržište EU trebaju ispunjavati zahtjeve Uredbe (EZ) br. 1935/2004 o materijalima i predmetima koji dolaze u dodir s hranom, uključujući aktivne i inteligentne materijale. Materijali i predmeti koji su u dodiru s hranom proizvode se u skladu s dobrom proizvođačkom praksom tako da pod uobičajenim i predvidivim uvjetima uporabe, ne prenose svoje sastojke u hranu u količinama koje bi mogle: ugroziti zdravlje ljudi, uzrokovati neprihvatljivu promjenu u sastavu hrane, uzrokovati pogoršanje organoleptičkih svojstava hrane (HGK, 2014). Uredba komisije (EK) br. 450/2009 navodi popis tvari koje se smiju koristiti u aktivnim i inteligentnim materijalima; tvari ne smiju biti kancerogene, mutagene, toksične ili u nano obliku.

Propisi o jestivom, prirodnom i pametnom pakiranju trebaju biti obuhvaćeni zakonodavstvom države koja stavlja proizvod na tržište. Za EU, jestive prehrambene pakovine uključene su u propise o aditivima u hrani. Oni navode da se s ciljem zaštite zdravlja potrošača mora procijeniti sigurnost aditiva za upotrebu u hrani te da se u formulaciji jestivih filmova mogu koristiti samo sastojci koji se pojavljuju na popisu odobrenih sastojaka (EK 1331/2008). Također, upotreba aditiva u hrani mora biti tehnološki opravdana, ne smije dovesti potrošača u zabludu te je nužno provjeriti da je korišteni aditiv siguran što se postiže analizom toksičnosti i prihvatljivog dnevnog unosa (EU 234/2011).

FDA je navela popis sastojaka koji smiju biti upotrijebljeni u sastavu premaza i emulzija. Dopuštena je upotreba samo navedenih sastojaka i u određenim koncentracijama. Popis se uglavnom sastoji od sastojaka s definiranim GRAS statusom i ostalih sigurnih sastojaka. Također, zakonodavstvo SAD-a navodi da svježe voće i povrće koje sadrži premaz, treba biti označeno kako bi potrošači bili informirani o takvoj vrsti hrane (Aguirre-Joya i sur., 2018).



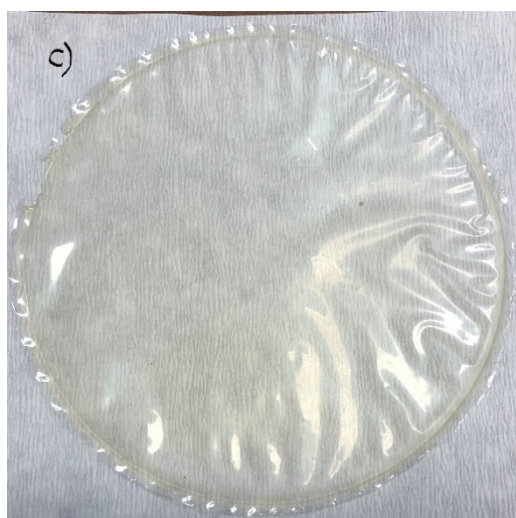
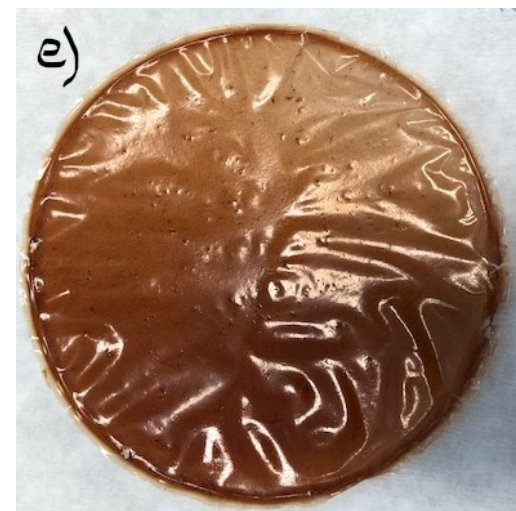
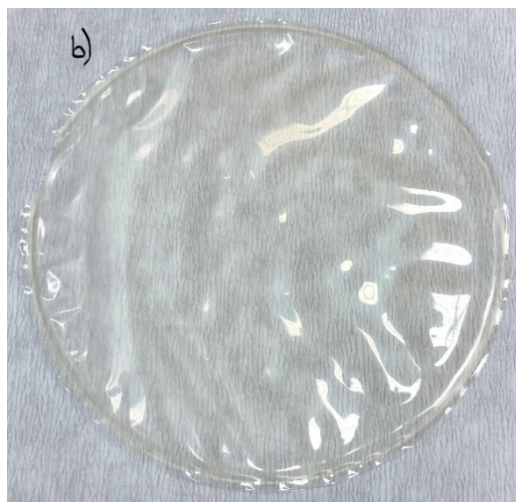
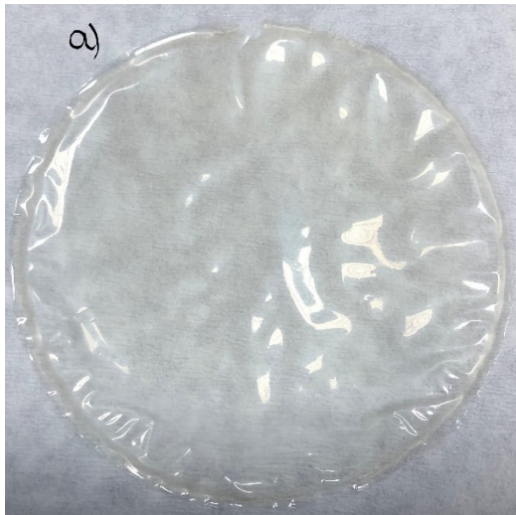
### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. MATERIJALI

U ovom radu, kao osnovni materijal za proizvodnju filmova korišten je prirodni biopolimer, kitozan (Francuska Chitin, Francuska, tip 652, molekulske mase 165 kDa, stupanj deacetiliranja iznad 85 %). Za obogaćivanje filmova bioaktivnim sastojcima upotrijebljen je prirodni ekstrakt sjemenki grožđa (Polyphenolics, SAD, udio ukupnih fenola iznosi 90 %, a izražen je kao ekvivalent galne kiseline (mg/100 g)). Priprema jestivih filmova uključivala je upotrebu biljnog glicerina (minimalne čistoće 99,5 %) kao plastifikatora, te destilirane vode i octene kiseline (ledena octena kiselina 100 %, Merck, Darmstadt, Njemačka) za pripremu otapala.

#### 3.2. PRIPREMA FILMOVA

Otopina kitozana dobivena je otapanjem 2, 2,5 i 3 g praha kitozana (CS) u 1 % (m/v) vodenoj otopini octene kiseline kako bi se pripremila 2, 2,5 i 3 % (m/v) filmogena otopina. Cilj je koristiti manju koncentraciju octene kiseline kako bi što manje utjecala na senzorska svojstva proizvoda. Otopine se pripremaju na način da se u čašu s magnetičem ulije polovica potrebnog volumena octene kiseline (50 mL) te se postepeno dodaje odvagana količina kitozana i preostali volumen kiseline kako bi se izbjeglo prezasićenje, odnosno omogućilo što bolje otapanje kitozana. Čaša sa pripremljenom otopinom zaštititi se parafinskim filmom. Radi postizanja potpune disperzije polimera, otopina se pri sobnoj temperaturi miješala 24 h na magnetskoj miješalici. U filmogene otopine dodan je glicerol (20 % od suhe mase polimera) koji je homogeniziran uz konstantno miješanje kroz 10 minuta. Za pripremu antioksidacijskih filmova, u filmogene otopine je prije dodatka plastifikatora, postepeno uz miješanje, dodano 0,3 % (m/v) ekstrakta sjemenki grožđa (GSE). Filmovi su označeni s obzirom na koncentraciju filmogene otopine i prisutnost ekstrakta, a formirani su izlivanjem 30 g pripremljene otopine u staklene Petrijeve posude promjera 14,3 cm. Posude su stavljene na sušenje na period oko 22 do maksimalno 24 h, u ventiliranu klima komoru (HPP110, Memmert Germany) pri kontroliranim uvjetima temperature (40 °C) i relativne vlažnosti (35 % RH). Nakon sušenja, filmovi se pažljivo uklanjaju s površine Petrijevih posuda te se do analize čuvaju složeni na filter papirima (slika 4) u eksikatoru pri kontroliranim uvjetima vlage (50 % RH).



Slika 4. Fotografije filmova pripremljenih otapanjem 2, 2,5 i 3 g kitozana sa i bez dodatka ekstrakta sjemenki grožđa (GSE)

### 3.3. METODE

#### 3.3.1. Debljina filmova

Debljina filmova određena je pomoću digitalnog mikrometra (Helios Preisser DIGI-MET, Njemačka) s preciznošću 0,001 mm (slika 5). Za svaki film debljina je određena na 3 različita mjesta, a kao rezultat se uzima srednja vrijednost izražena u mikrometrima ( $\mu\text{m}$ ).



Slika 5. Digitalni mikrometar Helios Preisser DIGI- met (Anonymous 2)

#### 3.3.2. Mjerenje propusnosti kisika kroz biopolimerni film

Mjerenje propusnosti plina određeno je manometrijskom A-metodom, na uređaju za mjerenje propusnosti Brugger, GDP-C (Brugger Feinmechanik GmbH, Munich, Njemačka). Temperatura uzorka namještena je pomoću vodene kupelji na vrijednost sobne temperature ( $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Podesi se i brzina protoka plina u minuti te se uzorak nanosi na ploču koja je prethodno podmazana protuvakumskom kremom. Prije svakog mjerenja provodi se vakumiranje, s tim da vrijeme trajanja ovisi o vrsti mjenog materijala. Metoda se zasniva na propuštanju plina kroz uzorak dok se atmosferski tlak ne izjednači s tlakom u komori. Zbog razlike tlakova plin difundira kroz uzorak što je vidljivo kao postepeni porast tlaka koji se registrira na računalu. Na računalu su podaci zabilježeni kao vrijednost permeance (izražena u  $\text{cm}^3\text{ m}^{-2}\text{ d}^{-1}\text{ bar}^{-1}$ ). Brzina prijenosa kisika ( $OTR$ ) izračunata je kao aritmetički produkt dobivene permeance i srednje vrijednosti debljine filma (izražena u  $\text{cm}^3\text{ m}^{-1}\text{ d}^{-1}\text{ Pa}^{-1}$ ). Koeficijent propusnosti plina ( $P$ ) dobije se koristeći izraz:

$$P = D * S \quad [1]$$

gdje je:

D – koeficijent difuzije permeata

S – koeficijent topljivosti permeata

### 3.3.3. Mjerenje propusnosti vodene pare kroz biopolimerni film

Propusnost vodene pare kroz film mjerena je gravimetrijski koristeći modificiranu ASTM E96-80 standardnu metodu. Prije mjerenja, uzorci su bili čuvani u eksikatoru pri kontroliranim uvjetima vlage (50 % RH). 20 mL destilirane vode se ulije u čašice na čiji vrh se postavi uzorak filma te se pričvrsti teflonskim prstenom i zaklopi (slika 6). Pri tome treba paziti da uzorak filma nije oštećen, da se protuvakumska krema kojom se namaže rub čašice ne razmaže po filmu jer to smanjuje površinu za mjerenje i utječe na rezultate. Na analitičkoj vagi je izmjerena početna masa tako pripremljenih čašica koje su potom pohranjene u ventiliranu klima komoru (Memmert HPP110, Memmert Njemačka) na 25 °C i 30 % RH. Za svaki film provedeno je minimalno 3 mjerenja. Propusnost na vodenu paru,  $WVP$ , ( $\text{g}^{-1} \text{m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$ ) izračunata je iz promjene mase čašice, koristeći sljedeću jednadžbu:

$$WVP = \frac{\Delta m}{\Delta t * A * \Delta p} * x \quad [2]$$

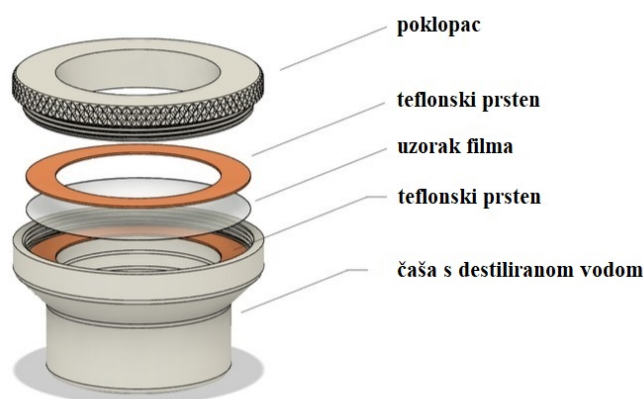
gdje je:

$\Delta m/\Delta t$  – maseni gubitak vlage po jedinici vremena ( $\text{g s}^{-1}$ ),

$A$  – površina filma izložena prijenosu vlage ( $9,08 \times 10^{-4} \text{ m}^2$ ),

$x$  – debljina filma (m),

$\Delta p$  – razlika tlaka vodene pare između dvije strana filma (Pa).



Slika 6. Posuda za mjerenje propusnosti vodene pare (Anonymous 3)

### 3.3.4. Određivanje topljivosti biopolimernog filma u vodi

Topljivost filma definira se kao količina suhe tvari otopljene nakon uranjanja u destiliranu vodu. Prije mjerenja, filmovi su bili čuvani u eksikatoru pri kontroliranim uvjetima vlage (50 % RH). Filmovi su izrezani u oblik kvadrata promjera 2 cm te su uronjeni u 30 mL destilirane vode pri sobnoj temperaturi tijekom 24 h. Obilježene aluminijske posudice stavljene su u sušionik na 105 °C do postizanja konstantne mase. Nakon 24 h preostali, neotopljeni komadići filmova stavljaju se u ohlađene aluminijske posude te se zajedno važu, nakon čega se ponovno stavljaju sušiti na 105 °C pazeći da posude budu malo otklopljene. Nakon postizanja konstantne mase, ponovno se zabilježi masa kako bi se dobila masa suhe tvari neotopljene u vodi.

Topljivost filma ( $FS$ ), izračunata je prema formuli:

$$FS(\%) = \frac{W_i - W_f}{W_i} * 100 \quad [3]$$

gdje je:

$FS$  – topljivost filma (%),

$W_i$  – početni sadržaj suhe tvari (g)

$W_f$  – masa suhe tvari neotopljene u vodi (g)

### 3.3.5. Određivanje udjela vode u biopolimernom filmu

Udio vode u filmovima odredi se na način da se 0,5 g filma stavi u uređaj u kojem se zagrijava te se nakon par minuta na zaslonu uređaja (Adam PMB 53 Nova-Tech International Inc, SAD) očita postotak relativne vlažnosti.

### 3.3.6. Određivanje boje biopolimernog filma

CIE  $L^*a^*b^*$  prostorni model boja je trodimenzionalni sustav boja koji se temelji na percepciji standardnog promatrača kojeg predstavlja statistički podatak dobiven nizom mjerenja u kojima su sudjelovali ljudi dobrog vida bez deformacija viđenja boja. Koordinate CIELAB sustava boja se temelje na Heringovoj teoriji suprotnih parova boja, koje ujedno predstavljaju i osi sustava. Raspon boja crveno-zelena za os  $a$ , žuto-plavo za os  $b$  te akromatska os  $L$  sa vrijednosti u rasponu od 0 % (crna) do 100 % (bijela) (slika 7). Brojčane vrijednosti u CIE  $L^*a^*b^*$  kolornom sustavu prikazuju sve boje koje može ljudsko oko

percepirati. Kolorimetrijska razlika prikazuje odstupanje reflektirane boje od kontrole, a računa se prema izrazu:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad , \quad \Delta L = L_0 - L_1 \quad [4]$$

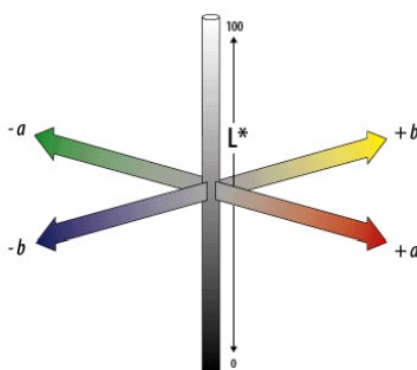
$$\Delta a = a_0 - a_1$$

$$\Delta b = b_0 - b_1$$

gdje su:

$L_0, a_0, b_0$ - vrijednosti referentne boje prema kojoj se mjeri odstupanje

$L_1, a_1, b_1$ - vrijednosti ispitivanoga uzorka boje (Petrović i sur., 2013)



Slika 7. CIE  $L^*a^*b^*$  prostor boja (Petrović i sur., 2013)

Boja jestivih filmova određena je pomoću kolorimetra (Konica Minolta Spectrophotometer CM3500d). Uzorak filma namjesti se na površinu otvora te se mjeri reflektiranje u vidljivom području pri čemu su dobivene  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  vrijednosti. Za svaki film mjerenje je provedeno na 3 različita mjesta, a rezultati su izraženi kao srednja vrijednost s pripadajućom devijacijom.

### 3.3.7. Određivanje mehaničkih svojstava biopolimernog filma

Mehanička svojstva filmova određena su analizatorom teksture (Texture analyzer, TA.HDPlus, Stable Micro Systems, UK). Prije mjerenja, filmovi su bili čuvani u eksikatoru pri kontroliranim uvjetima vlage (50 % RH). Uzorci filmova za mjerenje izrezani su na trakice duljine 3 cm i širine 1 cm. Mjerenje se provodi do točke pucanja. Za svaki film, mjerenje je provedeno 3 puta. Vlačna čvrstoća ( $TS$ ) može se definirati kao naprezanje, odnosno omjer sile na površinu filma, a završno naprezanje predstavlja produljenje filma

prije točke pucanja (postigne se  $F_{max}$ ), što označava deformaciju na granici elastičnosti ( $E$ ). Distanca, odnosno elastičnost do trenutka pucanja filma služi za računanje postotne defomacije, (distanca podijeljena s udaljenošću između dvije čeljusti, a iznosila je 10 mm). Vlačna čvrstoća ( $TS$ ) i Youngov modul ( $YM$ ) izračunati su prema podacima iz krivulja naprezanja, prema navedenim izrazima:

$$\text{➤ } TS = \frac{F_{max}}{A_i} \quad [5]$$

$$\text{➤ } YM = \frac{TS}{max.deformacija} \quad [6]$$

### 3.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Statistička obrada podataka provedena je analizom varijance (ANOVA) pomoću Xlstat-Pro (win) 7.5.3. (Addinsoft, New York). Podaci su rangirani prema uzorcima i metodama mjerenja te su statističke razlike ocijenjene u redovima s jednosmjernom analizom varijance (ANOVA) i Tukeyovim višestrukim usporednim testovima. Vrijednost  $p < 0,05$  smatra se statistički značajnom. Dobiveni različiti eksponenti (a-d) unutar stupaca za istu vrstu mjerenja, ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima.



## 4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu proizvedeni su antioksidacijski jestivi filmovi na bazi kitozana s dodanim ekstraktom sjemenki grožđa. Promatran je utjecaj različitih koncentracija kitozana i dodatak ekstrakta sjemenki grožđa na boju, debljinu, topljivost, sadržaj vlage, mehanička i barijerna svojstva. Poznavanje navedenih parametara važno je za prilagodbu dobrog dizajna filma. Dobiveni rezultati prikazani su tabelarno i grafički. Tablica 3 prikazuje promjene u debljini filma dodavanjem ekstrakta sjemenki grožđa te ovisno o koncentraciji kitozana. Hidrofilnost filmova može se objasniti rezultatima mjerenja topljivosti i relativne vlažnosti koji su navedeni u tablici 4. Slike 8 i 9 daju uvid u barijerna svojstva filmova sa i bez dodanog ekstrakta sjemenki grožđa. Ispitivani parametri boje zabilježeni su u tablici 5, dok su rezultati mjerenja mehaničkih svojstava navedeni u tablici 6. Krivulje pucanja odabranih uzoraka pripremljenih filmova prikazane su na slikama 11 i 12. Kolorimetrijska razlika među različitim uzorcima filmova grafički je prikazana na slici 10.

### 4.1. PROPUSNOST FILMOVA NA VODENU PARU I KISIK

Propusnost polimernih filmova ovisi o samoj prirodi polimera i permeata, tlaku ili koncentraciji te debljini filma. Debljina filma, jedan od ključnih faktora s utjecajem na barijerna svojstva proporcionalno se povećavala s koncentracijom kitozana kao i s dodatkom ekstrakta (tablica 3). Sivarooban i sur. (2008) također su izvijestili o značajnom povećanju debljine filma nakon ugradnje ekstrakta sjemenki grožđa u strukturu proteinskog filma. Debljina kontrolnog filma iznosila je 33,02  $\mu\text{m}$  te se dodatkom ekstrakta povisila na vrijednost od 77,89  $\mu\text{m}$  što je slično promjenama kod eksperimentalnih uzoraka u ovom radu.

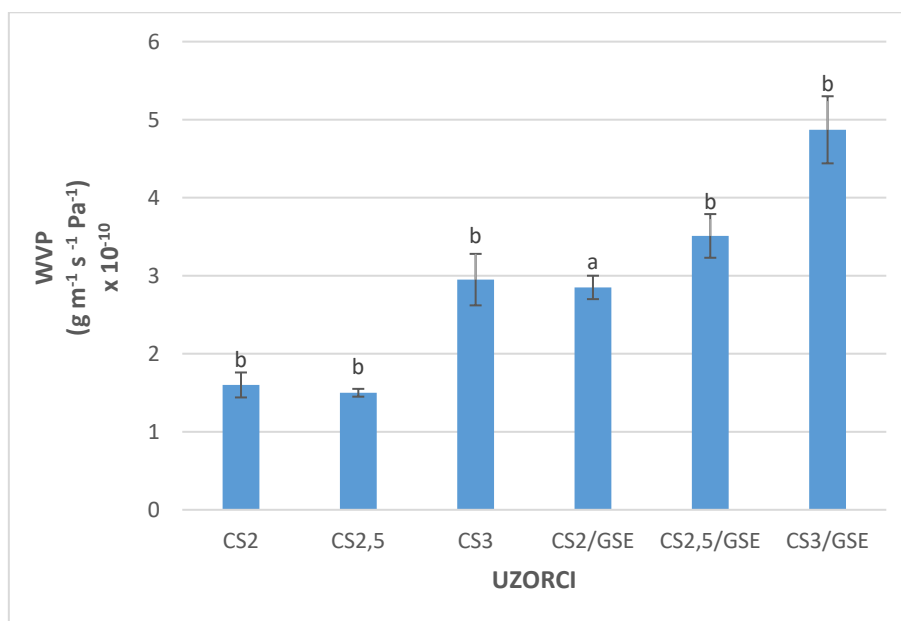
Tablica 3. Debljina različitih uzoraka kitozanskih filmova

Uzorak filma	Debljina filma ( $\mu\text{m}$ )
CS2	32,33 $\pm$ 5,51 <sup>c</sup>
CS2,5	30,67 $\pm$ 1,53 <sup>c</sup>
CS3	63,33 $\pm$ 4,16 <sup>bc</sup>
CS2/GSE	66,33 $\pm$ 10,69 <sup>bc</sup>
CS2,5/GSE	81 $\pm$ 3 <sup>ab</sup>
CS3/GSE	117 $\pm$ 29,82 <sup>a</sup>

Različiti eksponenti (a-c) unutar stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ( $p < 0,05$ ).

Na slikama 8 i 9 prikazani su rezultati mjerenja barijernih svojstava na vodenu paru i kisik. Budući da kvaliteta proizvoda u velikoj mjeri ovisi o organoleptičkim i mikrobiološkim svojstvima, bitno je poznavati navedena barijerna svojstva kako bi se očuvala kvaliteta proizvoda. Kod većine proizvoda, poželjno je eliminirati kisik budući da je on jedan od glavnih uzročnika oksidacijskih promjena, a uz to velika količina vodene pare utječe na mikrobiološko kvarenje.

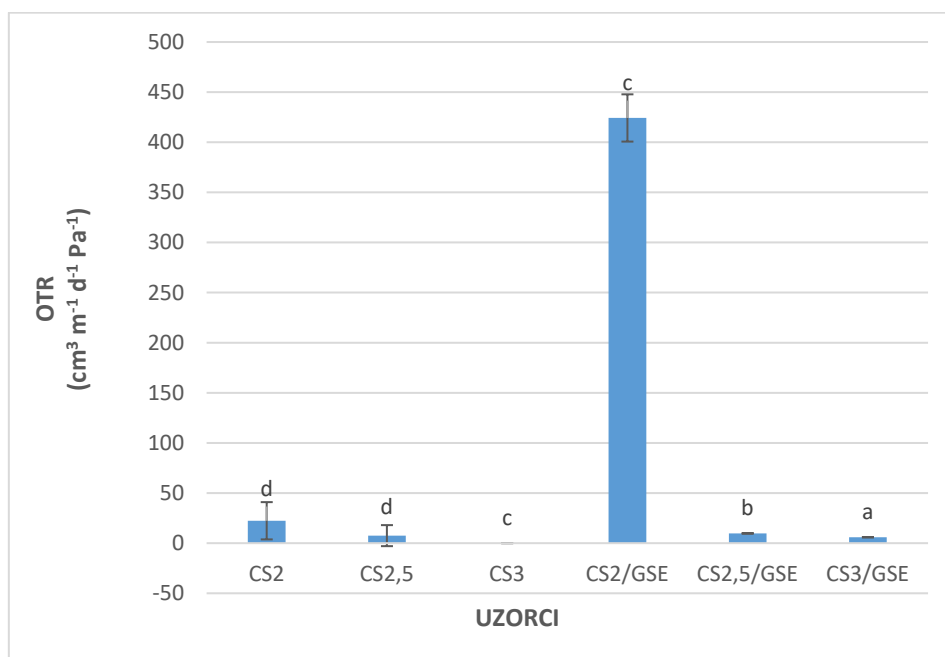
Prema rezultatima, dodatkom ekstrakta sjemenki grožđa dolazi do povećane propusnosti za vodenu paru (slika 8). Za uzorak CS2/GSE neočekivano je došlo do neznatnog smanjenja propusnosti u odnosu na filmove bez ekstrakta. Moguće je da zbog jakih sila između kitozana i ekstrakta preostaje manji broj dostupnih polarnih skupina koji se veže s vodom pa su iz tog razloga i vrijednosti za propusnost vodene pare bile nešto niže od očekivanih (Siripatrawan i Harte, 2010). Ugradnjom ekstrakta narušava se kristalna struktura polimera, slabe kohezijske veze među polimernim lancima te jačaju adhezijske sile čime se propusnost povećava. Budući da je dodani ekstrakt sjemenki grožđa hidrofilnog karaktera, za očekivati je da će se u tom slučaju propusnost na vodenu paru povećati. Chi i sur. (2006) potvrdili su poboljšana barijerna svojstva kitozanskih filmova na propusnost vode nakon dodatka hidrofobnog esencijalnog ulja u strukturu filma.



Slika 8. Propusnost vodene pare (*WVP*) u različitim uzorcima filmova pripremljenih otapanjem 2; 2,5 i 3 g kitozana sa i bez dodatka ekstrakta sjemenki grožđa (GSE)

Općenito, kitozanski filmovi zbog svoje kompaktne strukture i rasporeda polimernih lanaca predstavljaju dobru barijeru za kisik (Bourbon i sur., 2011), međutim biopolimeri u usporedbi sa sintetskim materijalima imaju dosta slabija barijerna svojstva. Dodavanje različitih fizikalnih i kemijskih agensa dovodi do promjena u propusnosti. Umrežavanje plastifikatora povećava mobilnost polimernih lanaca čime se posljedično stvara više slobodnog prostora što rezultira većom propusnošću na kisik. Prema eksperimentalnim rezultatima, primjećeno je da dodatak ekstrakta sjemenki grožđa povećava propusnost na kisik (slika 9). Isto su zaključili Rubilar i sur. (2013) promatrajući utjecaj dodanog ekstrakta sjemenki grožđa na kitozanske filmove. Povećana propusnost posljedica je poroznije strukture zbog narušavanja kristalne rešetke polimera. Najveća promjena primjećena je kod uzorka koji je pripremljen otapanjem 2 g kitozana. Propusnost kisika za uzorak CS2 iznosila je  $22,36 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ d}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$  te je ugradnjom ekstrakta porasla na  $424,24 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ d}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ . Pretpostavka je da je do tako visokih vrijednosti došlo i zbog mogućih oštećenja filma prilikom pripreme i/ili mjerenja. Također, u filmovima s dodanim ekstraktom, došlo je do stvaranja agregata kao posljedica nedovoljno dispergiranih čestica u filmu što je također utjecalo na povećanje propusnosti. Među filmovima obogaćenim ekstraktom, uzorak CS3/GSE pokazao je najnižu propusnost na kisik ( $5,90 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ d}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ ). Dosta niže rezultate

propusnosti (izražene u  $10^{-10} \text{ cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ d}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ ) naveli su Kurek i sur. (2018) promatrajući učinak dodatka komine borovnice i kupine u kitozanske filmove. Odstupanje od rezultata u literaturi može biti i posljedica upotrebljenih različitih vrsta i koncentracija plastifikatora kao i aktivnih spojeva koji djeluju na poroznost strukture polimera. Neki su autori izvijestili da antioksidansi poput ferulične kiseline i ekstrakta propolisa dovode do smanjenja propusnosti kitozanskih filmova na kisik zbog interakcije između aktivne komponente i polimera (Aljawish i sur., 2016; Siripatrawan i Vitchayakitti, 2016). Za razliku od njih, Kurek i sur. (2014) zabilježili su povećanje propusnosti u kitozanskim filmovima nakon ugradnje antioksidansa kao rezultat povećane pokretljivosti polimernih lanaca.



Slika 9. Propusnost kisika (*OTR*) u različitim uzorcima filmova pripremljenih otapanjem 2; 2,5 i 3 g kitozana sa i bez dodatka ekstrakta sjemenki grožđa (GSE)

## 4.2. TOPLJIVOST FILMOVA I UDIO VODE U FILMOVIMA

Tablica 4 prikazuje rezultate topljivosti te udjela vode u filmovima. Poznavanje navedenih parametra bitno je radi konačne primjene jestivih filmova te dotičaja s proizvodima koji sadrže visoki udio relativne vlage. U tom slučaju potrebno je izabrati film s adekvatnim barijernim svojstvima na vodenu paru kao i film otporan na doticaj s vodom.

Tablica 4. Topljivost (*FS*) i relativna vlažnost (*RH*) različitih uzoraka filmova pripremljenih otapanjem 2; 2,5 i 3 g kitozana sa i bez dodatka ekstrakta sjemenki grožđa (*GSE*)

Uzorak filma	FS (%)	RH (%)
CS2	6,55±1,75 <sup>b</sup>	21,13
CS2,5	3,84±1,31 <sup>b</sup>	21,46
CS3	3,78±2,12 <sup>b</sup>	18,83
CS2/GSE	4,46±1,87 <sup>b</sup>	16,93
CS2,5/GSE	10,84±2,59 <sup>ab</sup>	16,70
CS3/GSE	15,44±6,13 <sup>a</sup>	17,07

Različiti eksponenti (a-b) unutar stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ( $p < 0,05$ ).

Prema rezultatima, veću topljivost pokazali su filmovi s dodanim ekstraktom sjemenki grožđa, što je i očekivano zbog hidrofilnog karaktera ekstrakta. Slične zaključke dobili su i Wang i sur. (2013) gdje su kitozanski filmovi s dodanim polifenolnim ekstraktom pokazali vrijednosti topljivosti i do 40 %. Kod uzorka CS2/GSE dobivena je nešto niža vrijednost (4,46 %), a mogući razlog je prisustvo koaguliranih čestica ekstrakta, čime ekstrakt nije u potpunosti doprinio hidrofilnosti filma. Nadalje, hidrofilnost je direktno povezana s udjelom vlage (Bourbon i sur., 2011). Hidrofilni filmovi imaju viši udio relativne vlažnosti, međutim u ovom slučaju filmovi s dodanim hidrofilnim ekstraktom pokazali su niži postotak relativne vlažnosti. Pretpostavka je da je dodatak ekstrakta utjecao na strukturu polimera. Umrežavanjem ekstrakta, njegove hidrofilne skupine povezuju se s amidnim grupama kitozana. Zbog kompetitivnog učinka vezanja, smanjene su interakcije između kitozana i vode što rezultira nižim udjelom vezane vode. Slični su rezultati dobiveni u istraživanju kitozana s polifenolima čaja te kore jabuke (Riaz i sur., 2018; Wang i sur., 2013), no potrebna su daljnja istraživanja kako bi se objasnili navedeni utjecaji.

### 4.3. BOJA FILMOVA

Boja biopolimernih kitozanskih filmova određena je CIE  $L^*$   $a^*$   $b^*$  prostornim modelom, a rezultati su prikazani u tablici 5.

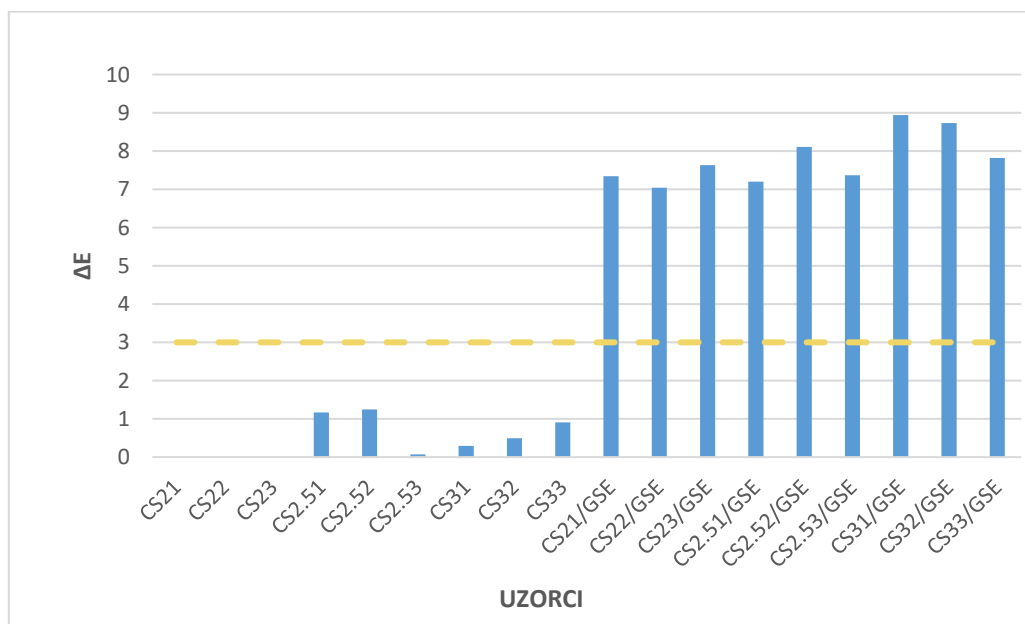
Tablica 5. Parametri boje ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $\Delta E$ ) različitih uzoraka filmova pripremljenih otapanjem 2; 2,5 i 3 g kitozana sa i bez dodatka ekstrakta sjemenki grožđa (GSE)

Uzorak filma	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E$
CS2	32,32±0,10 <sup>a</sup>	-0,48±0,05 <sup>c</sup>	1,37±0,14 <sup>c</sup>	0
CS2,5	32,39±0,37 <sup>a</sup>	-0,66±0,14 <sup>c</sup>	2,12±0,64 <sup>bc</sup>	0,83±0,66 <sup>b</sup>
CS3	32,87±0,33 <sup>a</sup>	-0,48±0,14 <sup>c</sup>	1,36±0,06 <sup>c</sup>	0,56±0,31 <sup>b</sup>
CS2/GSE	26,15±0,37 <sup>b</sup>	3,00±0,03 <sup>a</sup>	3,25±0,13 <sup>a</sup>	7,34±0,30 <sup>a</sup>
CS2,5/GSE	25,66±0,39 <sup>bc</sup>	2,70±0,21 <sup>ab</sup>	2,80±0,54 <sup>ab</sup>	7,56±0,48 <sup>a</sup>
CS3/GSE	24,99±0,65 <sup>c</sup>	2,55±0,09 <sup>b</sup>	2,31±0,26 <sup>abc</sup>	8,50±0,59 <sup>a</sup>

Različiti eksponenti (a-c) unutar stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ( $p < 0,05$ ).

U usporedbi s filmovima u kojima je dodan ekstrakt sjemenki grožđa, filmovi bez dodanog ekstrakta imali su više  $L^*$  vrijednosti što znači da su filmovi bez ekstrakta svjetliji. Također, filmovi bez ekstrakta pokazali su negativne  $a^*$  i pozitivne  $b^*$  vrijednosti (tablica 5) što ukazuje na zeleno-žuto obojenje filmova. Dodatkom ekstrakta u filmove,  $a^*$  vrijednosti su značajno promijenjene, a pozitivna vrijednost označava crvenkastu boju filma kao posljedica prisutnosti antocijana u ekstraktu sjemenki grožđa. Slične promjene u  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  vrijednostima izvijestili su Sivarooban i sur. (2008) za sojin proteinski film s dodanim ekstraktom sjemenki grožđa te Siripatrawan i Harte (2010) za kitozanski film s dodanim ekstraktom zelenog čaja. Promjena vrijednosti parametra  $a^*$  (od negativne -0,66 za čiste filmove do pozitivne vrijednosti 3 nakon ugradnje ekstrakta) predstavlja glavnu razliku među uzorcima koja je u skladu i s vizualnim izgledom filmova. Čisti filmovi bili su gotovo prozirni, dok su filmovi s dodanim ekstraktom bili vidljivo crvenkasto obojani (slika 4). Uz to, razlikovali su se i po morfološkoj strukturi. Čisti filmovi imali su glatku površinu dok je dodani ekstrakt zbog interakcija s polimernim lancima utjecao na nešto hrapaviju strukturu s vidljivim koaguliranim česticama ekstrakta na pojedinim dijelovima filma. Moradi i sur. (2012) pokazali su iste promjene za  $L^*$  i  $a^*$  vrijednosti dodatkom ekstrakta sjemenki grožđa u

kitozanski film te su u istom slučaju zabilježili smanjivanje  $b^*$  vrijednosti, što je suprotno od rezultata prikazanih u tablici 5. Odstupanje od rezultata u literaturi može biti povezano s upotrebom različitih vrsta i koncentracija ekstrakta sjemenki grožđa. Ukupna razlika boje za uzorke kitozana bez ekstrakta računata je u odnosu na kontrolni uzorak CS2. Isto tako, za uzorke obogaćene ekstraktom kao kontrolni uzorak također se uzima onaj bez ekstrakta (npr., za uzorak CS2/GSE kontrolni uzorak je CS2). Svi uzorci kitozana obogaćeni ekstraktom imaju  $\Delta E$  vrijednost veću od 3 (slika 10) što označava da postoje za ljudsko oko vidljive razlike u boji.



Slika 10. Kolorimetrijska razlika među različitim uzorcima filmova pripremljenih otapanjem 2; 2,5 i 3 g kitozana sa i bez dodatka ekstrakta sjemenki grožđa (GSE); iznad vrijednosti  $\Delta E=3$  razlike su vidljive ljudskom oku

#### 4.4. MEHANIČKA SVOJSTVA FILMOVA

Kako bi se odredila otpornost filma i utjecaj na integritet proizvoda, analizirana su mehanička svojstva antioksidacijskog filma. Promatran je utjecaj povećanja koncentracije kitozana i dodatak 0,3 g ekstrakta sjemenki grožđa na mehanička svojstva filmova. U skladu s tim, određena su tri parametra: vlačna čvrstoća (TS) koja označava maksimalnu silu koja može se primijeniti na površinu filma, maksimalna elastičnost do trenutka pucanja (E) te Youngov model (YM), a rezultati su prikazani u tablici 6.

Tablica 6. Vlačna čvrstoća (*TS*), deformacija na granici elastičnosti (*E*) i Youngov model (*YM*) različitih uzoraka filmova pripremljenih otapanjem 2; 2,5 i 3 g kitozana sa i bez dodatka ekstrakta sjemenki grožđa (GSE)

Uzorak filma	TS (MPa)	E (%)	YM (MPa)
CS2	0,05±0,006 <sup>b</sup>	75,57±14,48 <sup>b</sup>	0,07±0,011 <sup>b</sup>
CS2,5	0,111±0,014 <sup>ab</sup>	116,78±10,13 <sup>a</sup>	0,096±0,02 <sup>b</sup>
CS3	0,109±0,03 <sup>ab</sup>	79,04±22,56 <sup>ab</sup>	0,14±0,023 <sup>b</sup>
CS2/GSE	0,106±0,012 <sup>ab</sup>	17,32±4,23 <sup>d</sup>	0,64±0,18 <sup>a</sup>
CS2,5/GSE	0,12±0,038 <sup>a</sup>	20,86±9,65 <sup>cd</sup>	0,61±0,097 <sup>a</sup>
CS3/GSE	0,15±0,015 <sup>a</sup>	57,52±12,95 <sup>bc</sup>	0,26±0,04 <sup>b</sup>

Različiti eksponenti (a-d) unutar stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ( $p < 0,05$ ).

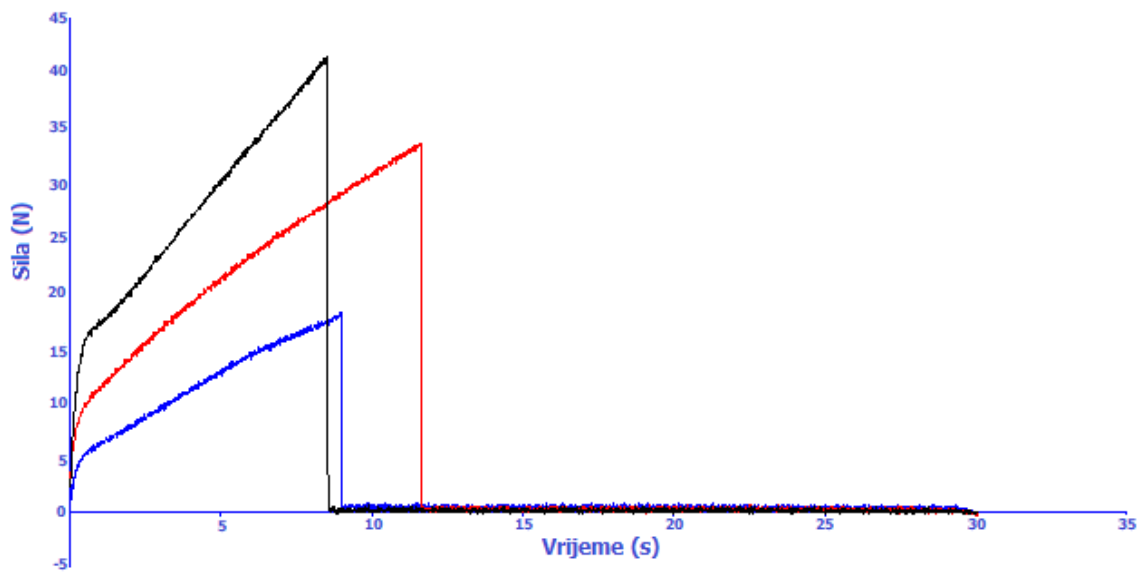
Kitozanski filmovi bez dodanog ekstrakta bili su dosta elastičniji od filmova s dodanim ekstraktom sjemenki grožđa. Moradi i sur. (2012) također su pokazali isti trend u elastičnosti filmova, međutim filmovi su općenito bili manje elastični (vrijednost oko 30 %). Među ispitivanim uzorcima, posebice se istaknuo film pripremljen otapanjem 2,5 g kitozana koji je pokazao izvrsnu elastičnost (116,78 %). Kod filmova različitih koncentracija s dodanim ekstraktom nije primijećena tako značajna razlika u elastičnosti.

Ugradnja ekstrakta u strukturu filma utječe na kohezijske sile među polimernim lancima. Nisu zabilježene veće promjene u vrijednostima za vlačnu čvrstoću kod filmova s i bez dodanog ekstrakta, ali ipak nešto veće vrijednosti pokazali su filmovi s većim koncentracijama kitozana s ekstraktom (0,15 MPa). Također, vrijednosti modula YM su povećane kod filmova s ekstraktom. Sivarooban i sur. (2008) zaključili su kako je moguće da je poboljšana vlačna čvrstoća proteinskih filmova s dodanim ekstraktom grožđa (koja je iznosila 10,74 MPa) posljedica jakih veza među fenolnim komponentama unutar ekstrakta kao i jakim protein-ekstrakt vezama.

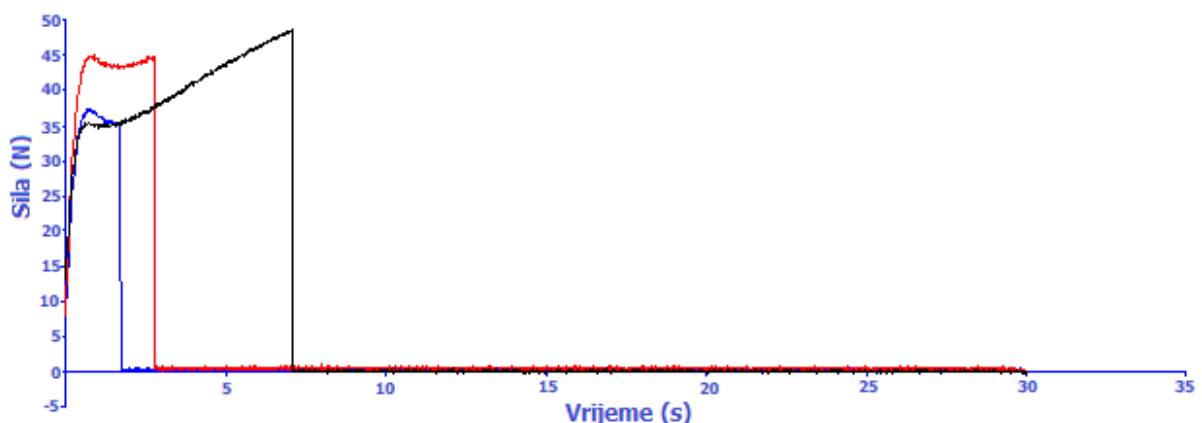
Odstupanje od rezultata u literaturi može biti povezano s upotrebom kitozana različitog stupnja deacetilacije i koncentracije, dodatkom različitih vrsta i koncentracija plastifikatora koji narušavaju međumolekulske veze u polimeru (Rubilar i sur., 2013). Primjerice, Dick i sur. (2015) te Santacruz i sur. (2015) pokazali su da na filmove od kitozana



u koji je dodan glicerol, na elastičnost i vlačnu čvrstoću utječe koncentracija plastifikatora. Promatrajući dobivene krivulje može se primjetiti kako je uzorak CS2,5 postigao zadovoljavajući odnos vrijednosti maksimalne sile i elastičnosti. Na slici 12 zanimljivo je da nakon postizanja  $F_{max}$ , sila oslabi nakon čega dolazi do pucanja filma. Takvo ponašanje nije karakteristično za biomaterijale. Kod njih općenito do pucanja dolazi u trenutku postizanja  $F_{max}$ . Pretpostavka je da je navedena situacija rezultat neravnomjerne raspodjele čestica ekstrakta i stvorenih aglomerata u filmu.



Slika 11. Krivulja pucanja filma pri postizanju  $F_{max}$  za uzorke CS2 (plava linija), CS2,5 (crvena linija) i CS3 (crna linija)



Slika 12. Krivulja pucanja filma pri postizanju  $F_{max}$  za uzorke CS2/GSE (plava linija), CS2,5/GSE (crvena linija) i CS3/GSE (crna linija)

## 5. ZAKLJUČCI

Ovim istraživanjem pripremljeni su jestivi, biorazgradivi kitozanski filmovi s dodanim ekstraktom sjemenki grožđa.

- Kitozanski filmovi bez ekstrakta su prozirni i glatke strukture, dok dodatkom ekstrakta dolazi do značajnih vizualnih promjena u boji vidljivih ljudskom oku. Uzorci CS2/GSE, CS2,5/GSE i CS3/GSE su tamniji i crvenkaste boje zbog prisutnih fenolnih spojeva.
- Kitozanski filmovi bez dodanog ekstrakta bili su dosta elastičniji od filmova s ekstraktom. Ističe se uzorak CS2,5 koji je postigao nešto nižu  $F_{max}$  (manja, ali zadovoljavajuća čvrstoća) i visoku elastičnost (116,78 %). Među filmovima različitih koncentracija s dodanim ekstraktom nije primijećena značajna razlika u elastičnosti.
- Ugradnjom ekstrakta sjemenki grožđa promijenjena su barijerna svojstva filmova (povećana propusnost kisika i vodene pare).
- Dodatkom ekstrakta sjemenki grožđa dolazi do povećane propusnosti za vodenu paru, osim za uzorak CS2/GSE gdje je neočekivano došlo do neznatnog smanjenja propusnosti u odnosu na uzorke bez ekstrakta. Pretpostavka je da zbog jakih veza unutar ekstrakta ili pak ekstrakt-kitozan veza preostaje manje dostupnih polarnih skupina koje bi se vezale s vodom i omogućile veću propusnost.
- Veću topljivost pokazali su filmovi s dodanim ekstraktom zbog povećane hidrofilnosti filma. Uzorak CS2/GSE pokazao je slabiju topljivost od očekivane, a mogući razlog je prisustvo koaguliranih čestica ekstrakta čime ekstrakt nije u potpunosti doprinio hidrofilnosti filma.
- Udio vode u filmu bio je obrnuto proporcionalan hidrofilnom karakteru filma, odnosno veći postotak relativne vlažnosti pokazali su filmovi bez dodanog ekstrakta. Pretpostavka je da je razlog kompetitivno vezanje molekula, no potrebna su daljnja istraživanja kako bi se potvrdila navedena pretpostavka.

## 6. LITERATURA

- Aguirre-Joya, J. A., De Leon-Zapata, M. A., Alvarez-Perez, O. B., Torres-León, C., Nieto-Oropeza, D. E., Ventura-Sobrevilla, J. M., Aguilar, M. A., Ruelas-Chacón, X., Rojas, R., Ramos-Aguiñaga, M. A., Aguilar, C. N. (2018) Basic and Applied Concepts of Edible Packaging for Foods. U: Food Packaging and Preservation, (Grumezescu, A., Holban, A. M., ured.), Elsevier, London, str. 1–61.
- Altenhofen, M., Krause, A. C., Guenter, T. (2009) Alginate and pectin composite films crosslinked with Ca<sup>2+</sup> ions: Effect of the plasticizer concentration. *Carbohydr. Polym.* **77**, 736–742.
- Alvarez, M. V., Ponce, A. G., Moreire, M. R. (2013) Antimicrobial efficiency of chitosan coating enriched with bioactive compounds to improve the safety of fresh cut broccoli. *Food Sci. Technol.* **50**, 78–87.
- Aljawish, A., Muniglia, L., Klouj, A., Jasniewski, J., Scher, J., & Desobry, S. (2016) Characterization of films based on enzymatically modified chitosan derivatives with phenol compounds. *Food Hydrocoll.* **60**, 551–558.
- Andrade, R. D., Skurtys, O., Osorio, F. A. (2012) Atomizing Spray Systems for Application of Edible Coatings. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **11** (3), 323-337.
- Anonymous 1:  
<https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=kitozan> (Pristupljeno 20.07.2020.)
- Anonymous 2:  
[https://www.bing.com/images/search?view=detailV2&ccid=77MYmvOu&id=26948E3A55C0FB22B1B115CE31F160F4A5491F28&thid=OIP.77MYmvOu0EpTGwzjHsm4sAHaCL&mEDIAURL=https%3A%2F%2Fwww.mbcCalibri.cz%2Ffiles%2Fsubory%2Fsekce\\_AKCE%2Fweb.jpg&exph=876&expw=2975&q=digitalni+mikrometar+helios+preisser&simid=608004881850303865&ck=7513B9EEFE27E4C9201AAC98F642DBC9&selectedindex=15&ajaxhist=0&vt=0&sim=11](https://www.bing.com/images/search?view=detailV2&ccid=77MYmvOu&id=26948E3A55C0FB22B1B115CE31F160F4A5491F28&thid=OIP.77MYmvOu0EpTGwzjHsm4sAHaCL&mEDIAURL=https%3A%2F%2Fwww.mbcCalibri.cz%2Ffiles%2Fsubory%2Fsekce_AKCE%2Fweb.jpg&exph=876&expw=2975&q=digitalni+mikrometar+helios+preisser&simid=608004881850303865&ck=7513B9EEFE27E4C9201AAC98F642DBC9&selectedindex=15&ajaxhist=0&vt=0&sim=11) (Pristupljeno 20.07.2020.)
- Anonymous 3:  
<https://www.thingiverse.com/thing:4155124> (Pristupljeno 20.07.2020.)
- Arismendi, C., Chillo, S., Conte, A., Del Nobile, M. A., Flores, S., Gerschenson, L. N. (2013) Optimization of physical properties of xanthan gum/tapioca starch edible matrices containing potassium sorbate and evaluation of its antimicrobial effectiveness. *Food Sci. Technol.* **53**, 290–296.
- Arnon, H., Granit, R., Porat, R., Poverenov, E. (2015) Development of polysaccharides-based

- edible coatings for citrus fruits: a layer-by-layer approach. *Food Chem.* **166** (0), 465–472.
- Ayala-Zavala J. F., Vega-Vega, V., Rosas-Domínguez, C., Palafox-Carlos, H., Villa-Rodríguez, J. A, Siddiqui, M. W., Dávila-Avina, J. E., GonzálezAguilar, G. A. (2011) Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Res. Int.* **44** (7), 1866–1874.
- Ayala-Zavala, J., Soto-Valdez, H., González-León, A., Álvarez-Parrilla, E., Martín-Belloso, O., González-Aguilar, G. (2008) Microencapsulation of cinnamon leaf (*Cinnamomum zeylanicum*) and garlic (*Allium sativum*) oils in -cyclodextrin. *J. Incl. Phenom. Macro.* **60** (3), 359–368
- Azeredo, H. M. C., Mattoso, L. H. C., Wood, D., Williams, T. G., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H. (2009) Nanocomposite edible films from mango puree reinforced with cellulose nanofibers. *J. Food Sci.* **74** (5), 31–35.
- Baldwin E., A., Hagenmaier R. D., Bai, J. (2012) Edible coatings and films to improve food Quality, 2. izd., CRC Press Llc, Boca Raton.
- Barbosa-Pereira, L., Angulo, I., Lagarón, J. M., Paseiro-Losada, P., Cruz, J. M. (2014) Development of new active packaging films containing bioactive nanocomposites. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **26**, 310–318.
- Bhale, S., No, H. K., Prinyawiwatkul, W., Farr, A. J., Nadarajah, K. and Meyers, S. P. (2003) Chitosan coating improves shelf life of eggs. *J. Food Sci.* **68** (7), 2378-2383.
- Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Cerqueira, M. A., Rocha, C. M. R., Avides, M. C., Quintas, M. A. C., Vicente, A. A. (2011) Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. *J. Food Eng.* **106** (2), 111–118.
- Cerqueira, M. A., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Martinis, J. T., Souza, B. W. S., Teixeira, J. A., Vicente, A. A. (2011) Galactomannans use in the development of edible films/coatings for food applications. *Trends Food Sci. Technol.* **22** (12), 662–671.
- Cerqueira, M.A., Lima, A.M., Souza, B.W.S., Teixeira, J.A., Moreira, R.A., Vicente, A.A. (2009) Functional polysaccharides as edible coatings for cheese. *J. Agric. Food Chem.* **57** (4), 1456–1462.
- Champagne, C. P., Fustier, P. (2007) Microencapsulation for the improved delivery of bioactive compounds into foods. *Curr. Opin. Biotechnol.* **18** (2), 184–190.
- Chi, S., Zivanovic, S., & Penfield, M. P. (2006) Application of chitosan films enriched with oregano essential oil on bolognaeactive compounds and sensory attributes. *Food Sci. Technol. Int.* **12**, 111-117.

- Chiumarelli, M., Hubinger, M. D. (2014) Evaluation of edible films and coatings formulated with cassava starch, glycerol, carnauba wax and stearic acid. *Food Hydrocoll.* **38**, 20–27.
- Dávila, I., Robles, E., Egiés, I., Labidi, J., Gullón, P. (2017) The Biorefinery Concept for the Industrial Valorization of Grape Processing By-Products. U: Handbook of Grape Processing By-Products, (Galanakis, C. M., ured.), Academic Press, London, str. 33.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, J. A., Voilley, A. (1998) Edible Films and Coatings: Tomorrow's Packagings: A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **38** (4), 299-313.
- Debeaufort, F., Voilley, A. (1995) Effect of surfactants and drying rate on barrier properties of emulsified films. *Int. J. Food Sci. Technol.* **30**, 183–190.
- Decker, E.A. (1998) Strategies for manipulating the prooxidative/antioxidative balance of foods to maximize oxidative stability. *Trends Food Sci. Technol.* **9** (6), 241–248.
- Deng, Q., Penner, M. H., Zhao, Y. (2011) Chemical composition of dietary fiber and polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins. *Food Res. Int.*, **44**, 2712–2720.
- Di Pierro, P., Sorrentino, A., Mariniello, L., Giosafatto, C. V., Porta, R. (2011) Chitosan/whey protein film as active coating to extend Ricotta cheese shelf-life. *LWT— Food Sci. Technol.* **44** (10), 2324–2327.
- Dick, M., Dick, M., Costa, T. M. H., Gomaa, A., Subirade, M., de Oliveira Rios, A., Hickmann Flôres, S. (2015) Edible film production from chia seed mucilage: effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties. *Carbohydr. Polym.* **130**, 198–205.
- Dragich, A. M., Krochta, J. M. (2010) Whey protein solution coating for fat-uptake reduction in deep-fried chicken breast strips. *J. Food Sci.* **75** (1), S43-S7.
- Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K., & Dutta, J. (2009) Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chem.* **114**, 1173-1182.
- Elsabee, M. Z., Abdou, E. S. (2013) Chitosan based edible films and coatings: a review. *Mater. Sci. Eng.* **33** (4), 1819–1841.
- Erginkaya, Z., Kalkan, S., Unal, E. (2014) Use of antimicrobial edible films and coatings as packaging materials for food safety. U: Food Processing: Strategies for Quality Assessment (Food Engineering Series), (Malik, A., Erginkaya, Ahmad, S., Erten, H., ured.), Springer, New York.
- Espitia, P. J. P., Du, W.-X, Avena-Bustillos, R. D. J., Soares, N. D. F. F., Mc Hugh, T. H. (2014) Edible films from pectin: physical-mechanical and antimicrobial properties—

- a review. *Food Hydrocoll.* **35**, 287–296.
- Falguera, V., Quintero, J. P., Jimenez, A., Munoz, J. A., Ibarz, A. (2011) Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends Food Sci. Technol.* **22** (6), 292–303.
- Fang, Z., Bhandari, B. (2010) Encapsulation of polyphenols-a review. *Trends Food Sci. Technol.* **21** (10), 510–523
- Fontana, A. R., Antonioli, A., Bottini, R. (2013) Grape Pomace as a Sustainable Source of Bioactive Compounds: Extraction, Characterization, and Biotechnological Applications of Phenolics. *J. Agric. Food Chem.* **61** (38), 8987-9003.
- Galus, S., Lenart, A., Voilley, A., Debeaufort, F. (2013) Effect of potato oxidized starch on the physico-chemical properties of soy protein isolate-based edible films. *Food Technol. Biotechnol.* **51** (3), 403–409.
- Galus, S., Kadzińska, J. (2015) Food applications of emulsion-based edible films and coatings. *Trends Food Sci. Technol.* **45** (2), 273–283.
- Garcia, M. A., Martino, M. N., Zaritzky, N. E. (1998). Plasticized starch-based coatings to improve strawberry (*Fragaria ananassa*) quality and stability. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 3758-3767.
- Ghaouth, A. E., Arul, J., Ponnampalam, R. and Boulet, M. (1991). Chitosan coating effect on storability and quality of fresh strawberries. *J. Food Sci.* **56**, 1618-1620
- Gómez-Estaca, J., Lopez-de-Dicastillo, C., Hernandez-Munoz, P., Catala R., Gavara, R. (2014) Advances in antioxidant active food packaging. *Trends Food Sci. Technol.* **35** (1), 42– 51.
- Guerreiro, A. C., Gago, M. L., Faleiro, M. L., Miguel, M. G. C., Antunes, M. D. C. (2015) The effect of alginate-based edible coatings enriched with essential oils constituents on *Arbutus unedo* L. fresh fruit storage. *Postharv. Biol. Technol.* **100**, 226–233.
- Han, J., Shin, S. H., Park, K. M., Kim, K. M. (2015) Characterization of physical, mechanical, and antioxidant properties of soy protein-based bioplastic films containing carboxymethylcellulose and catechin. *Food Science and Biotechnology*, **24** (3), 939–945.
- Han, C., Lederer, C., McDaniel, M., Zhao, Y. (2005) Sensory evaluation of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*) coated with chitosan-based edible coatings. *J. Food Sci.* **70**, S173–S178.
- Han, C., Zhao, Y., Leonard, S. W., Traber, M. G. (2004) Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria*

- ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Posthaw. Biol. Technol.* **33** (1), 67-78.
- Hassanzadeh, P., Moradi, M., Vaezi, N., Moosavy, M. H., Mahmoudi, R. (2018) Effects of chitosan edible coating containing grape seed extract on the shelf-life of refrigerated rainbow trout fillet. *Vet. Res. Forum* **9** (1), 79-79
- Hoover, D. (1997) Minimally processed fruit and vegetables: reducing microbial load by nonthermal physical treatments. *Food Technol.* **51** (6), 66–71.
- Hosseini, S.F., Rezaei, M., Zandi, M., Ghavi, F.F. (2013) Preparation and functional properties of fish gelatin-chitosan blend edible films. *Food Chem.* **136**, 1490–1495.
- Hrvatska gospodarska komora (2014):  
[https://zdravlje.gov.hr/UserDocsImages/dokumenti/Tekstovi%20razni/Vodic%20za%20materijale%20i%20predmete%20koji%20dolaze%20u%20neposredan%20dodir%20s%20hranom\\_HGK.pdf](https://zdravlje.gov.hr/UserDocsImages/dokumenti/Tekstovi%20razni/Vodic%20za%20materijale%20i%20predmete%20koji%20dolaze%20u%20neposredan%20dodir%20s%20hranom_HGK.pdf) (Pristupljeno 14.07.2020.)
- Jakupić, M., Poljan, M., Hajdek, K. (2019) Pametna ambalaža. *Politec. Design.* **2** (7), 144-153.
- Janjarasskul, T., Krochta, J. (2010) Edible packaging materials. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **1**, 415–448.
- Jiang, Y., Li, Y. (2001) Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. *Food Chem.* **73**, 139-143.
- Jridi, M., Haiji, S., Ayed, H.B., Lassoued, I., Mbarek, A., Kammoun, M., Soussi, N., Nasri, M. (2014) Physical, structural, antioxidant and antimicrobial properties of gelatin–chitosan composite edible films. *Int. J. Biol. Macromol.* **67**, 373–379.
- Kammerer, D., Claus, A., Carle, R., Schieber, A. (2004) Polyphenol screening of pomace from red and white grape varieties (*Vitis vinifera* L.) by HPLC-DAD-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.* **52**, 4360-4367.
- Kokoszka, S., Debeaufort, F., Lenart, A., Voilley, A. 2010. Liquid and vapour water transfer through whey protein/lipid emulsion films. *J. Sci. Food Agr.* **90** (10), 1673–1680.
- Kovačić, T. (2010) Struktura i svojstva polimera, Kemijsko-tehnološki fakultet, Split
- Krochta, J. M., De Mulder-Johnston, C. (1997). Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technol.* **51**(2), 61-74.
- Krochta, J. M., Baldwin, E. A., Nisperos-Carriedo, M. O. (1994). Edible Coatings and Films to Improve Food Quality. Technomic Publishing, Lancaster, PA
- Kubota, N., Kihuchi, Y. (1998). Macromolecular complexes of chitosan. U: Polysaccharides: Structural, Diversity and Functional Versatility (Dumitriu, S., ured.), Marcel Dekker, New York, str. 602-603.

- Kurek, M., Garofulić, I. E., Bakić, M. T., Ščetar, M., Uzelac, V. D., Galić, K. (2018) Development and evaluation of a novel antioxidant and pH indicator film based on chitosan and food waste sources of antioxidants, *Food Hydrocoll.* **84**, 238-246.
- Kurek, M., Galus, S., Debeaufort, F. (2014) Surface, mechanical and barrier properties of bio-based composite films based on chitosan and whey protein. *Food Packag. Shelf Life* **1** (1), 56–67.
- Kurek, M., Guinault, A., Voilley, A., Galić, K., & Debeaufort, F. (2014) Effect of relative humidity on carvacrol release and permeation properties of chitosan based films and coatings. *Food Chem.* **144**, 9–17.
- Lavelli, V., Kerr, W. L., García-Lomillo, J., González-SanJosé, M. J. (2017) Applications of Recovered Bioactive Compounds in Food Products. U: Handbook of Grape Processing By-Products, (Galanakis, C. M., ured.), Academic Press, London, str. 233-267.
- Leceta, I., Molinaro, S., Guerrero, P., Kerry, J. P., De la Caba, K. (2015) Quality attributes of map packaged ready-to-eat baby carrots by using chitosan-based coatings. *Postharv. Biol. Technol.* **100**, 142–150.
- Li, H., Yu, T. (2001). Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *J. Sci. Food Agric.* **81**(2), 269-274.
- López-de-Dicastillo, C., Gómez-Estaca, J., Catalá, R., Gavara, R., Hernández-Muñoz, P. (2012) Active antioxidant packaging films: development and effect on lipid stability of brined sardines. *Food Chem.* **131**, 1376–1384.
- López de Lacey, A .M., López-Caballero, M. E., Montero, P. (2014) Agar films containing green tea extract and probiotic bacteria for extending fish shelf-life. *LWT—Food Sci. Technol.* **55** (2), 559–564.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., Desobry, S. (2006) Flavour encapsulation and controlled release—a review. *Int. J. Food Sci. Technol.* **41** (1), 1–21.
- Mei, Y., Zhao, Y., Farr, H. (2002) Enhancement of nutritional and sensory qualities of fresh baby carrots by edible coatings. *J. Food Sci.* **67** (5), 1964-1968.
- Mohammad, S., Mohamed, A., Zahedi, Y. (2015) Characterisation of a new biodegradable edible film based on sage seed gum: Influence of plasticiser type and concentration. *Food Hydrocoll.* **43**, 290–298.
- Moradi, M., Tajik, H., Razavi Rohani, S. M., Oromiehie, A. R., Malekinejad, H., Aliakbarlu, J., & Hadian, M. (2012) Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. *LWT - Food Sci. Technol.*



**46 (2)**, 477–484.

- Morillon, V., Debeaufort, F., Blond, G., Capelle, M., Voilley, A. (2002) Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **42 (1)**, 67–89.
- Muranyi, P. (2013) Functional edible coatings for fresh food products. *J. Food Process. Technol.* **4**, 114.
- Nisperos-Carriedo, M.O. (1994) Edible coatings and films based on polysaccharides. U.; Edible Coatings and Films to Improve Food Quality, (Krochta, J.M., Baldiw, E.A., Nisperos-Carriedo, M., ured.) Technomic Publishing Company, Inc, Lancaster, PA, str. 305–335.
- Nowzari, F., Shábanpour, B., Ojagh, S. M. (2013) Comparison of chitosan–gelatin composite and bilayer coating and film effect on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chem.* **141 (3)**, 1667–1672.
- Ochoa, E., Saucedo-Pompa, S., Rojas-Molina R., De la Garza, H., Charles-Rodríguez A. V., Aguilar C. N. (2011) Evaluation of a candelilla wax-based edible coating to prolong the shelf-life quality and safety of apples. *Am. J. Agr. Biol. Sci.* **6 (1)**, 92–98.
- Pascall, M. A., Lin, S. J., (2013) The application of edible polymeric films and coatings in the food industry. *J. Food Proc. Technol.* **4**, 116.
- Petrović, V., Milković, M., Valdec, D. (2013) Komparacija karakteristika ink-jet otisaka dobivenih vodenim, solventnim i UV bojilima. *Tehnički glasnik* **7**, 191-197.
- Ponce, A., Roura, S., Del Valle, C., Moreira, M. (2008) Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies. *Postharvest Biol. Technol.* **49 (2)**, 294–300.
- Quirós-Sauceda, A. E., Ayala-Zavala, J. F., Olivas, G. I., González-Aguilar, G. A. (2014) Edible coatings as encapsulating matrices for bioactive compounds: a review. *J. Food Sci. Technol.* **51 (9)**, 1674-1685.
- Realini, C.E., Marcos, B. (2014) Active and intelligent packaging systems for a modern society. *Meat Sci.* **98 (3)**, 404–419.
- Restuccia, D., Spizzirri, U.G., Parisi, O., Cirillo, G., Curcio, M., Iemma, F., Puoci, F., Vinci, G., Picci, N. (2010) New EU regulation aspects and global market of active and intelligent packaging for food industry applications. *Food Control*, **21 (11)**, 1425– 1435.
- Riaz, A., Lei, S., Akhtar, H. M. S., Wan, P., Chen, D., Jabbar, S., Zeng, X. (2018) Preparation and characterization of chitosan-based antimicrobial active food

- packaging film incorporated with apple peel polyphenols. *Int. J. Biol. Macromol.* **114**, 547–555.
- Rodriguez, M. S., Albertengo, L. A., Vitale, I, Agullo, E. (2003) Relationship between astringency and chitsoan-saliva solutions turbidity at different pH. *J. Food Sci.* **68(2)**, 665-667.
- Rubilar, J. F., Cruz, R. M. S., Silva, H. D., Vicente, A. A., Khmelinskii, I., Vieira, M. C. (2013) Physico-mechanical properties of chitosan films with carvacrol and grape seed extract. *J. Food Eng.*, **115 (4)**, 466–474.
- Santacruz, S., Rivadeneira, C., Castro, M. (2015) Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. *Food Hydrocoll.* **49**, 89–94.
- Schieber, A., Stintzing, F. C., Carle, R.(2001) By-products of plantfood processing as a source of functional compounds—recent developments. *Trends in Food Sci. and Technol.* **12**, 401–413.
- Silano, V., Rossi, L. (2015) Safety evaluation in the European union of flavourings, contact materials, enzymes, and processing aids in food and its evolution over time. *Eur. Food Feed L. Rev.* **10 (6)**, 402–432.
- Siripatrawan U, Vitchayakitti W (2016) Improving functional properties of chitosan films as active food packaging by incorporating with propolis. *Food Hydrocoll.* **61**, 695–702.
- Siripatrawan, U., Harte, B. R. (2010) Physical properties and antioxidant activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract. *Food Hydrocoll.* **24(8)**, 770–775.
- Sivarooban, T., Hettiarachchy, N. S., Johnson, M. G. (2008) Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films. *Food Res. Int.* **41 (8)**, 781–785.
- Skurtys, O., Acevedo, C., Pedreschi, F., Enrione, J., Osorio, F., Aguilera, J. M. (2010) Food hydrocolloid edible films and coatings. U: *Food Hydrocolloids: Characteristics, Properties and Structures* (Hollingworth, C. S., ured.), Nova Science Publishers, Inc., New York, str. 41- 80.
- Sumnu, G., Bayindirli, L. (1995) Effects of coatings on fruit quality of Amasya apples. *Lebensm. Wiss. u. Technol.* **28 (5)**, 50 1-505.
- Ščetar, M., Kurek, M., Galić, K. (2010). Trends in meat and meat products packaging – a review. *Croat. J. Food Sci. Technol.*, **2 (1)**, 32-48.

- Tańska, M., Roszkowska, B., Czaplicki, S., Borowska, E. J., Bojarska, J., Dąbrowska, A. (2016) Effect of Fruit Pomace Addition on Shortbread Cookies to Improve Their Physical and Nutritional Values. *Plant Foods Hum. Nutr.* **71**, 307-313.
- Tavera-Quiroz, M. J., Urriza, M., Pinotti, A., Bertola, N. (2011) Plasticized methylcellulose coating for reducing oil uptake in potato chips. *J. Sci. Food Agric.* **97** (7), 1346-1353.
- Taqi, L., Stamatina, L. (2014) Physical and barrier properties of apple pectin/cassava starch composite films incorporating *Laurus nobilis* L oil and oleic acid. *J. Food Proc. Preserv.* **38** (4), 1982–1993.
- Van den Broek, L. A. M., Knoop, R. J. I., Kappen, F. H. J., Boeriu, C. G. (2015) Chitosan films and blends for packaging material. *Carbohydr. Polym.* **116**, 237–242.
- Vargas, M., Pastor, C., Chiralt, A., McClements, D. J., Gonzalez-Martinez, C. (2008) Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **48** (6), 496–511.
- Vieira, J.M., Florez-Lopez, M. L., De Rodriguez, D. J., Sousa, M. C., Vicente, A. A. , Martins, J. T. (2016) Effect of chitosan–Aloe vera coating on postharvest quality of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) fruit. *Postharv. Biol. Technol.* **116**, 88–97.
- Vujković, I., Galić, K., Vereš, M. (2007) Ambalaža za pakiranje namirnica, Sveučilišni udžbenik, TECTUS, Zagreb.
- Wang, L., Dong, Y., Men, H., Tong, J., Zhou, J. (2013) Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols. *Food Hydrocoll.* **32** (1), 35–41.
- Wu, Y., Weller, C., Hamouz, F., Cuppett, S. L., Schnepf, M. (2002) Development and applications of multicomponent edible coatings and films: a review. *Adv. Food Nutr. Res.* **44**, 347–94.
- Zhang, D. L., Quantick, P. C. (1998) Antifungal effects of chitosan coating on fresh strawberries and raspberries during storage. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* **73** (6), 763-767.
- Zhao, Y., McDaniel, M. (2005) Sensory quality of foods associated with edible film and coating systems and shelf-life extension. U: Innovations in Food Packaging, (Jung, H. H., ured.), Elsevier, Kanada, str. 434-453.

## 7. PRILOZI

### Prilog 1. Kazalo kratica

KRATICA	KAZALO
CS	Kitozan
GSE	Ekstrakt sjemenki grožđa
CS2	Film pripremljen otapanjem 2 g kitozana u 1 % - tnoj octenoj kiselini
CS2,5	Film pripremljen otapanjem 2,5 g kitozana u 1 % - tnoj octenoj kiselini
CS3	Film pripremljen otapanjem 3 g kitozana u 1 % - tnoj octenoj kiselini
CS2/GSE	Film pripremljen otapanjem 2 g kitozana u 1 % - tnoj octenoj kiselini s dodatkom 0,3 g ekstrakta sjemenki grožđa
CS2,5/GSE	Film pripremljen otapanjem 2,5 g kitozana u 1 % - tnoj octenoj kiselini s dodatkom 0,3 g ekstrakta sjemenki grožđa
CS3/GSE	Film pripremljen otapanjem 3 g kitozana u 1 % - tnoj octenoj kiselini s dodatkom 0,3 g ekstrakta sjemenki grožđa
FS	Topljivost filmova
RH	Relativna vlažnost
TS	Vlačna čvrstoća
E	Deformacija na granici elastičnosti
YM	Modul elastičnosti (Youngov modul)
WVP	Propusnost na vodenu paru
OTR	Propusnost kisika
UF	Sadržaj ukupnih fenola

## IZJAVA O IZVORNOSTI

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

*Josipa Buljan*  
\_\_\_\_\_  
Josipa Buljan