

Razvoj i karakterizacija filmova od karboksimetil celuloze i pektina za jestiva pakiranja

Knežević, Ivona

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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:159:487703>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-04**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, srpanj 2022

Ivona Knežević

**RAZVOJ I KARAKTERIZACIJA
FILMOVA OD KARBOKSIMETIL
CELULOZE I PEKTINA ZA JESTIVA
PAKIRANJA**

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. Mije Kurek, Prehrambeno - biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

*Posebnu zahvalnost dugujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Miji Kurek na pomoći i strpljenu prilikom izrade ovog rada, te posebno na srdačnosti i razumijevanju.
Želim se zahvaliti i svome Juri na podršci i pomoći u ključnim trenucima.*

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Upravljanje sigurnošću hrane

RAZVOJ I KARAKTERIZACIJA FILMOVA OD KARBOKSIMETIL CELULOZE I PEKTINA ZA
JESTIVA PAKIRANJA

Ivona Knežević, univ. bacc. ing. techn. aliment.
0058220768

Sažetak: U ovom radu pripremljeni su biopolimerni jestivi filmovi na bazi karboksimetil celuloze i pektina s dodatkom glicerola u omjeru 30 % (m/m) kako bi se postigla bolja elastičnost. Kao izvor funkcionalnih, bioaktivnih sastojaka dodano je enkapsulirano eterično ulje komorača u koncentracijama 0,5 % (m/v) i 1 % (m/v). Određivana su fizikalno - kemijska svojstva (boja, transparentnost, debljina, udio vode) i barijerna svojstva filmova (vodena para, kisik i ugljikov dioksid) te viskoznost i pH filmogenih otopina. Dodatak glicerola i aktivne komponente uzrokovao je promjene u propusnosti filmova na plinove. Filmovi na bazi pektina pokazali su bolja barijerna svojstva na plinove. Primjena aktivne komponente i plastifikatora kod svih filmova također je pokazala i učinkovitu zaštitu od UV zračenja. Pektinski filmovi su imali manju propusnost na vodenu paru. Dodatak glicerola uzrokovao je povećanje propusnosti dok dodatak aktivne komponente smanjenje propusnosti na vodenu paru.

Ključne riječi: *biopolimerni filmovi, karboksimetil celuloza, pektin, enkapsulirano eterično ulje komorača*

Rad sadrži: 44 stranice, 10 slika, 6 tablica, 70 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: doc. dr. sc. Mia Kurek

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. izv. prof. dr. sc. Mario Ščetar (predsjednik)
2. doc. dr. sc. Mia Kurek (mentor)
3. doc. dr. sc. Ivona Elez Garofulić (član)*
4. doc. dr. sc. Maja Repajić (zamjenski član)

Datum obrane: 20. srpnja 2022.

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: Food Technology

Graduate university study programme: Food Safety Management

DEVELOPMENT AND CHARACTERISATION OF CARBOXYMETHYL CELLULOSE AND PECTIN FILMS FOR EDIBLE FOOD PACKAGING

Ivona Knežević, univ. bacc. ing. techn. aliment.
0058220768

Abstract: In this work, biopolymer edible films based on carboxymethyl cellulose and pectin were prepared with the addition of glycerol in a ratio of 30% (m/m) in order to achieve better elasticity. Encapsulated fennel essential oil was added as a source of functional, bioactive ingredients in concentrations of 0.5 % (m/v) and 1 % (m/v). Physico-chemical properties (color, transparency, thickness, and water content) and barrier properties of films (water vapor, oxygen and carbon dioxide), and viscosity and pH of film forming solutions were determined. The addition of glycerol and the active component led to changes in the gas permeability of the films. Films based on pectin showed better gas barrier properties. The use of active components and plasticizers in all films also showed effective protection against UV radiation. Pectin films had a lower permeability to water vapor. The addition of glycerol caused an increase while the addition of the active component resulted in a decreased permeability to water vapor.

Keywords: *biopolymer films, carboxymethyl cellulose, pectin, encapsulated fennel essential oil*

Thesis contains: 44 pages, 10 figures, 6 tables, 70 references

Original in: Croatian

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

Mentor: Mia Kurek, PhD, Assistant professor

Reviewers:

1. Mario, Ščetar,, PhD, Associate professor (president)
2. Mia, Kurek, PhD, Assistant professor (mentor)
3. Ivona, Elez Garofulić ,, PhD, Assistant professor (member)
4. Maja, Repajić, PhD, Assistant professor (substitute)

Thesis defended: July 20th, 2022

Sadržaj

| | |
|---|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. TEORIJSKI DIO | 2 |
| 2.1. PAKIRANJE HRANE | 2 |
| 2.2. VAŽNOST I UTJECAJ PAKIRANJA HRANE NA SVOJSTVA UPAKIRANOG PROIZVODA..... | 3 |
| 2.3. POTENCIJAL JESTIVIH PREVLAKA U PAKIRANJU HRANE..... | 4 |
| 2.3.1. Jestive prevlake i/ili filmovi..... | 4 |
| 2.3.2. Primjena jestivih prevlaka u prehrambenoj industriji | 5 |
| 2.4. POLIMERI..... | 6 |
| 2.4.1. Karboksimetilceluloza | 7 |
| 2.4.2. Pektin | 8 |
| 2.5. KOMORAČ | 9 |
| 2.5.1. Uporaba komorača u prehrambenoj industriji..... | 10 |
| 2.6. PRIPREMA AKTIVNIH SASTOJAKA ZA PREHRAMBENU INDUSTRIJU PRIMJENOM ZELENIH METODA EKSTRACIJE | 11 |
| 2.6.1. Zelene metode ekstrakcije..... | 11 |
| 2.6.2. Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima | 12 |
| 2.6.3. Ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom | 13 |
| 2.6.4. Ekstrakcija visokonaponskim pražnjenjem..... | 13 |
| 2.7. PRIMJENA ENKAPSULACIJE U PAKIRANJU HRANE | 14 |
| 2.8. ZAKONSKA REGULATIVA | 15 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 16 |
| 3.1. MATERIJALI | 16 |
| 3.2. PRIPREMA JESTIVIH FILMOVA | 16 |
| 3.3. METODE KARAKTERIZACIJE FILMOGENIH OTOPINA | 17 |
| 3.3.1. Određivanje viskoznosti filmogene otopine..... | 17 |
| 3.3.2. Mjerenje pH vrijednosti filmogenih otopina..... | 18 |
| 3.4. METODE KARAKTERIZACIJE FILMOVA | 19 |
| 3.4.1. Debljina filmova | 19 |
| 3.4.2. Mjerenje propusnosti plinova kroz biopolimerni film | 19 |
| 3.4.3 Mjerenje propusnosti vodene pare kroz biopolimerni film..... | 20 |
| 3.4.4. Određivanje topljivosti filmova u vodi | 21 |
| 3.4.5. Određivanje udjela vode i suhe tvari..... | 22 |
| 3.4.6. Određivanje boje filma..... | 22 |

| | |
|--|-----------|
| 3.4.7. Mjerenje transparentnosti filmova | 24 |
| 3.5. OBRADA PODATAKA..... | 24 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA..... | 25 |
| 4.1. VISKOZNOST I pH FILMOGENIH OTOPIHA | 25 |
| 4.2. BOJA FILMOVA | 26 |
| 4.3. DEBLJINA FILMOVA | 28 |
| 4.4. UDIO VODE I TRANSPARENTNOST | 29 |
| 4.5. PROPUSNOST FILMOVA NA VODENU PARU (WVP) I BRZINA PRIJENOSA VODENE PARE (WVTR)..... | 31 |
| 4.6. PROPUSNOST FILMOVA NA PLINOVE..... | 34 |
| 5. ZAKLJUČCI..... | 36 |
| 6. LITERATURA..... | 37 |

1. UVOD

Danas se u prehrambenoj industriji sve intenzivnije koriste nove metode pakiranja i materijali koji pružaju alternativu konvencionalnim plastičnim materijalima. Primjena biopolimera u proizvodnji materijala jestivog karaktera postaje i marketinški i tehnološki trend, a posebice zbog ekološki prihvatljivog koncepta održivog razvoja. Pri proizvodnji materijala za pakiranje hrane koriste se biomaterijali iz raznih izvora, no zanimljivi su oni iz obnovljivih izvora energije. Također, važno svojstvo predstavlja i mogućnost razgradnje, i to biorazgradnje uz pomoć mikroorganizama ne samo u industrijskim bioreaktorima već i u prirodnom okruženju (Tokić i sur., 2011). Oni materijali koji se mogu konzumirati s proizvodom, odnosno jestivog karaktera, čak i ako se ne konzumiraju u cijelosti ne trebaju se dodatno zbrinjavati već se mogu svrstati i pod kompostabilni i biootpad. U znanstvenoj literaturi sve se češće navodi da materijali izrađeni od samo jednog tipa biopolimera često nemaju adekvatna svojstva za pakiranje određenog prehrambenog proizvoda (barijerna, mehanička i fizikalno - kemijska). Stoga se pri odabiru formulacije često kombiniraju višeslojni i/ili višekomponentni filmovi. S ciljem poboljšanja svojstava materijala ali i tehnološke izvodivosti, često se osnovnom polimernom matriksu dodaju aditivi raznih funkcija, kao plastifikatori, nanočestice, tvari boje i arome i sl.

Jestive prevlake se koriste kod pakiranja lako kvarljive hrane s ciljem očuvanja nutritivnih i organoleptičkih svojstava produžujući rok trajnosti, smanjujući enzimsko posmeđivanje i razvitak nepoželjnog okusa (Falguera i sur., 2011). Različite funkcije moguće je ostvariti dodavanjem aktivnih dodataka odgovarajuće funkcije, primjerice nutrijenti, probiotici i tvari arome.

U ovom radu istraživani su jestivi filmovi na bazi karboksimetil celuloze i pektina s dodatkom glicerola. Kao izvor funkcionalnih, bioaktivnih sastojaka dodan je ekstrakt komorača. U filmogenim otopinama određena je viskoznost i pH otopina, a u filmovima različiti fizikalno-kemijski parametri: boja, debljina, udio vode i transparentnost. Također su određeni koeficijent propusnosti na kisik i ugljikov dioksid, kao i propusnost filmova na vodenu paru i brzina prijenosa vodene pare (WVP i WVTR).

Dobiveni rezultati daju uvid u mogućnost daljnje primjene jestivih filmova na bazi karboksimetil celuloze i pektina s dodatkom enkapsuliranog praha komorača kao aktivne antioksidacijske komponente, za pakiranje prehrambenih proizvoda. Dobiveni rezultati prikazani su tablično i grafički.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. PAKIRANJE HRANE

Jedan od najvažnijih koraka za održavanje kvalitete hrane prilikom transporta, skladištenja, pa sve do krajnje uporabe su pakiranje, kao i odabir ambalažnog materijala. Pakiranjem se smatra postupak stavljanja proizvoda u ambalažni materijal odgovarajućih svojstava: kakvoće, oblika i zatvaranja. Također, proizvod je potrebno prikladno zaštititi od raznih nepovoljnih utjecaja vodeći računa da su potrebni i specifični zahtjevi za hranu posebnih svojstava.

Prema Pravilniku RH (NN 90/2005) smatra se da je:

- pakiranje – postupak stavljanja proizvoda u ambalažu odgovarajuće kakvoće, oblika i načina zatvaranja
- pakovanje – proizvod u ambalaži s kojom se stavlja u promet
- pakovina – proizvod koji je bez nazočnosti kupca tako zatvoren da mu se naznačeni sastav i količina ne mogu promijeniti bez otvaranja ili očevidne preinake.

Danas su standardi i potrebe tržišta sve veće u pogledu ambalaže i od nje očekujemo zaštitu upakiranog sadržaja od vanjskog utjecaja, najbolji način prezentacije proizvoda, da ne reagira s proizvodom i ispunjavanje svih zakonskih regulativa, a uz sve ovo da je jednostavna, učinkovita i praktična. Kvalitetna ambalaža podrazumijeva međusobnu usklađenost svih funkcija koje možemo podijeliti u četiri skupine: zaštitna, skladišno-transportna, prodajna i uporabna funkcija.

Pakiranjem je potrebno zaštititi hranu od mehaničkih, kemijskih, klimatskih, ekoloških i drugih utjecaja i zagađenja; olakšati skladištenje, kao i transport, prezentaciju proizvoda kao i informirati sve sudionike u lancu distribucije o upakiranom sadržaju. Prilikom transporta određenog proizvoda od proizvođača pa do krajnjeg potrošača, a da bi se minimalizirala mogućnost oštećenja istog potrebno ga je zaštititi.

Pakiranje se provodi ručno ili strojno a varira s obzirom na oblike, dozu i sistem zatvaranja pakovine. Višestruka uloga ambalaže iziskuje i njenu podjelu na više načina. Prema vrsti ambalažnog materijala, ambalažu možemo podijeliti prema osnovnim sirovinama od kojih je proizvedena: papir, karton, drvo, metal, staklo, tekstilna, polimeri, kombinirani i višeslojni

materijali, keramika i dr.

Nadalje, s obzirom na mehanička svojstva dijelimo na: čvrstu, polučvrstu i fleksibilnu ambalažu.

Razlikujemo i investicijsku ili krupnu ambalažu i potrošnu ili sitnu ambalažu ovisno o vrijednosti. .

Budući se ponekad materijali koriste jednokratno a ponekad se mogu ponovno upotrijebiti, ambalažu možemo podijeliti i na povratnu i nepovratnu.

Ako razmatramo kontakt s proizvodom, tada prema odvojivosti ambalažu dijelimo na odvojivu i neodvojivu.

Zbog višestruke uloge koju ima dijelimo je i na

- Primarnu (podrazumijeva sve što je u direktnom, neposrednom kontaktu s proizvodom);
- Sekundarnu (podrazumijeva grupno pakiranje koje u sebi sadrži nekoliko pojedinačnih proizvoda u kojima je proizvod izložen na polici);
- Tercijarnu (transportna uloga) (Vujković i sur., 2007).

2.2. VAŽNOST I UTJECAJ PAKIRANJA HRANE NA SVOJSTVA UPAKIRANOG PROIZVODA

Pojedini prehrambeni proizvodi iziskuju određeni izbor ambalažnog materijala. U današnje vrijeme najviše se koriste prirodni ambalažni materijali koji su uz pružanje zaštite upakiranoj hrani pogodni i za očuvanje prirode i okoliša. Ambalažni materijali se prvenstveno biraju u ovisnosti od osobina prehrambenih proizvoda, osobina ambalažnih materijala, željenog roka trajnosti, te postojeće procesne opreme. Na izbor također utječu i ekonomski faktori, prirodni resursi i ekološki aspekti. Prvenstveno je važno da se pri pakiranju hrane u ambalažni materijal očuva hrana, kao i njezino sigurno dostavljanje do potrošača odnosno kupca, odnosno smanje reakcije koja utječu na stabilnost upakiranog sadržaja.

U određenim uvjetima, pojedini materijali koji se koriste za pakiranje namirnica mogu iz svog sastava otpuštati komponente u hranu. Pojavu otpuštanja tvari male molekulske mase iz ambalažnog materijala u hranu naziva se migracija, a migranti su tvari koje se kao posljedica

dodira ili međudjelovanja između hrane i ambalažnog materijala prenesu u hranu. Migracijom se mogu promijeniti svojstva hrane kemijski, senzorski i fizikalno, odnosno prehrambeni proizvod može poprimiti neugodan miris ili neprivlačnu boju. Također migracija kemijskih tvari iz ambalaže u hranu može narušiti zdravstvenu ispravnost te hrane, a nadasve imati negativne posljedice na zdravlje potrošača koji ju konzumira. Osim migracija postoje i druge kemijske i/ili fizikalne reakcije između ambalaže, hrane i okoliša koje uvelike mogu utjecati na kvalitetu, fizikalna svojstva hrane, odnosno ambalaže. Definiramo ih kao:

- Sorpcija – sastojci iz hrane prelaze u ambalažni materijal (tzv. negativna migracija);
- Permeacija - male molekule prolaze kroz ambalažni materijal u oba smjera (npr. plinovi, vodena para, arome, mirisi).

Mnogi čimbenici, kao što su vrsta i kvaliteta same ambalaže, kemijski sastav namirnice, prisutnost kisika u ambalaži, uvjeti skladištenja i dr. uvjetuju da li će uopće doći do interakcije između sadržaja i ambalaže. Kemijski sastav namirnice, odnosno njezina pH vrijednost uvjetuje hoće li ista reagirati u cjelini ili će samo komponente reagirati s ambalažom.

Kako bismo spriječili utjecaj materijala na zdravlje potrošača, a vezano za migraciju tvari male molekulske mase iz materijala za pakiranje u upakirani proizvod, potrebna su znanja o svojstvima ambalažnih materijala kao i proizvoda koji će se pakirati te njihovoj međusobno potencijalnoj interakciji. Sagledavši u cijelosti, puno je parametara koji utječu na potencijalne promjene u ispravnosti i svojstvima proizvoda, poput vrste i svojstava materijala, sastavu i kemijskim karakteristikama proizvoda, količini plinova u pakovini te njihovoj propusnosti kroz primijenjeni materijal, te okolnim procesnim, skladišnim i transportnim uvjetima.

2.3. POTENCIJAL PRIMJENE JESTIVIH PREVLAKA U PAKIRANJU HRANE

2.3.1. Jestive prevlake i/ili filmovi

Danas se plastična ambalaža dobivena iz neobnovljivih izvora energije nastoji što više zamijeniti biorazgradivim ili ekološki prihvatljivijim materijalima. Posebnu kategoriju čine oni materijali jestivog karaktera. Budući su jestivi, ovi biopolimeri su posljedično i biorazgradivi, a dobiveni su iz raznih sastojaka hrane kao što su polisaharidi, proteini i lipidi. To su materijali koji se mogu ili izravno nanijeti iz otopina na površinu hrane (prevlake) ili prvo proizvesti kao samostojeći film te onda primijeniti na proizvod (filmovi). U slučaju prevlaka, filmogena

otopina se nanosi potapanjem proizvoda, prskanjem po površini ili četkanjem. Jestiva ambalaža može se konzumirati sa ili kao dio prehrambenog proizvoda. Ima razne funkcije kao što su zaštita proizvoda od sušenja, kisika i očuvanje integriteta te mehaničkih svojstava. Nadalje može pružati neku drugu funkcionalnost kao nositelj ciljanih dodataka proizvodu (npr, funkcionalni, nutritivni, nutraceutici), a s ciljem obogaćivanja funkcionalnosti i svojstava proizvoda (antimikrobna sredstva, antioksidansi, arome itd.).

Jestivi zaštitni filmovi su tanki sloj materijala koji potrošač može konzumirati. Taj sastavni dio proizvoda osigurati će barijeru na plinove i vodenu paru (Galić, 2009). Proizvode se od prirodnih i jestivih sastojaka pa je samim tim osigurana njihova biorazgradivost, u odnosu na sintetske polimere koji se sve teže zbrinjavaju. Jestivi filmovi su tako dizajnirani da štite proizvod od okolnih utjecaja te mu produžuju trajnost zahvaljujući odgovarajućim barijernim i fizikalno-kemijskim karakteristikama. Prema mišljenju nekih znanstvenika budući se konzumiraju s proizvodom nije ih potrebno posebno zbrinjavati pa samim time smanjuju količinu plastičnog otpada. Filmovi se mogu koristiti i kao posebni slojevi unutar proizvoda, odnosno kod onih namirnica heterogene strukture kod kojih je potrebno razdvojiti dva sloja različitog sastava kako bi se dobio proizvod boljih karakteristika (posebice s ciljem poboljšanja mehaničkih i organoleptičkih svojstava). No ipak ostaje diskutabilno koliko se zaista u konačnici smanjuje otpad budući se takav proizvod opet mora upakirati u odgovarajuću skladišnu i transportnu ambalažu? S obzirom na materijal od kojeg su proizvedeni jestive filmove svrstavamo u tri skupine: hidrokoloide (proteini i polisaharidi), lipidi (masne kiseline i voskovi) i kompoziti (kombinacija hidrokoloida i lipida) (Skurtys i sur., 2010).

Prvi korak u proizvodnji čini priprema filmogene otopine određenog sastava i viskoznosti. U drugom koraku, ovisno svojstvima filmogene otopine ista se ili nanosi prethodno navedenim metodama direktno na površinu namirnice ili se izlijeva na površine odgovarajućeg oblika i sastava (staklene, plastične ili teflonske Petrijeve zdjelice, ili ploče istog sastava). U trećem koraku filmovi se suše u klima komori s kontroliranom temperaturom i relativnom vlagom. Nakon sušenja (u slučaju filma), filmovi se odlijepu s površine te skladište u kontroliranim uvjetima (temperatura i RH) do korištenja (Guilbert, 1986.).

2.3.2. Primjena jestivih prevlaka u prehrambenoj industriji

Zadnjih par desetljeća jestivi filmovi i prevlake sve se češće koriste u prehrambenoj industriji kao i industriji pakiranja hrane. Dodatkom funkcionalnih sastojaka moguće je produžiti trajnost proizvoda ali i poboljšati tehnološka i organoleptička svojstva. S aspekta

poboljšanja kvalitete proizvoda, važno je da su filmovi ili prevlake takvog sastava koji će postići odgovarajuću izmjenu plinova (O_2 i CO_2), te vodene pare između proizvoda i okolnih uvjeta skladištenja (ili unutar pakovine ako se naknadno pakira). Kao što je već spomenuto, primjenom biopolimera moguće je smanjiti količinu otpada i primjenu sintetičkih materijala te time poboljšati ekološku prihvatljivost odnosno smanjiti negativan utjecaj ambalaže na okoliš. Trendovi u razvoju su orijentirani i na iskorištavanje sekundarnih sirovina odnosno otpada (nusprodukata) prehrambene industrije, pa se time njihova primjena smatra i održivom proizvodnjom odnosno konceptom održivog razvoja čija se načela temelje na odgovornom i racionalnom iskorištavanju prirodnih resursa.

S obzirom na tip polimera, jestivi filmovi mogu izvorno imati antimikrobna svojstva, ali mogu i služiti kao nosači aktivnih tvari, te time imati antimikrobno i antioksidacijsko djelovanje. Nadalje, varijacijama u sastavu, moguće je utjecati na promjenu vlažnosti među komponentama proizvoda, kao i migraciju otapala u hrani. Djeluju i kao barijera na plinove, ulja i masti, vodenu paru i kao nositelji boje i okusa. Sve ove zaštitne funkcije usmjerene su na poboljšanje kvalitete prehrambenih proizvoda. Koriste se i kod višeslojne ambalaže za pakiranje zajedno sa nejestivim filmovima i tada su oni unutarnji slojevi u izravnom dodiru s hranom. Također mogu smanjiti aglomeriranje čestica, te poboljšati vizualne i taktilne značajke površine proizvoda. Primjena jestivih filmova mora biti odabrana prema specifičnoj namirnici, vrsti prehrambenog proizvoda i glavnom mehanizmu smanjenja kvalitete proizvoda (Petersen i sur., 1999). Danas često služe kao marketinški alat za povećanje prodaje i promociju. U komercijalne svrhe ponajviše se koriste za voće, povrće, bombone te orašaste plodove. Ukoliko su voće i povrće obloženi jestivim filmovima imaju veću otpornost na fizička oštećenja tkiva, samim tim usporava im se brzina respiracije, a ukoliko imaju dobra barijerna svojstva na vodenu paru tada je njihova zaštitna uloga od dehidracije voća i povrća je uistinu značajna.

2.4. POLIMERI

Polimeri su materijali kod kojih sustav makromolekula nastaje povezivanjem velikog broja atoma, najčešće ugljika, vodika, kisika i dušika. Polimeri mogu biti prirodni (biopolimeri) ili sintetski (umjetni, iz petrokemijskih izvora), a po kemijskom sastavu organski i anorganski. Polimerni materijal podrazumijeva polimer kojemu su dodani spojevi male molekulske mase s ciljem poboljšanja svojstava i omogućavanja lakše prerade i primjene. Mogu biti homogeni (izrađeni su od jedne vrste polimera ili kopolimera) i kompozitni (smjese dva ili više polimera

i s dodatkom im punila ili nekih drugih anorganskih dodataka). Prema stupnju uređenosti molekulske strukture mogu biti amorfnog ili kristalnog karaktera. Ovisno o tomu kako se ponašaju pri povišenoj temperaturi, polimerne materijale možemo podijeliti na: plastomere (zagrijavanjem im se smanjuje čvrstoća, omekšavaju i prelaze u plastično stanje te je omogućeno lakše oblikovanje), duromere (netopivi su i ne bubre u otapalima niti prelaze u plastično stanje) i elastomere (elastični su na uobičajenoj temperaturi, s tim da je temperatura staklišta niža od temperature primjene). Ambalažni materijali se izrađuju od termoplastičnih polimernih masa, a manju primjenu imaju duromeri i elastomeri i ukoliko se koriste, onda su to uglavnom pomoćni materijali kod hermetičkog zatvaranja metalne ambalaže.

Prednosti sintetskih polimera su prije svega jednostavna i jeftina proizvodnja, raznovrsnost, mala masa i dostupnost. U prehrambenoj industriji koriste se kao folije, posude (boce, plastenke, itd.), te pjene, a najzastupljeniji su polietilen (PE), polipropilen (PP), poli(vinil-klorid) (PVC) i polistiren (PS). Među prirodne biorazgradive polimere spadaju biopolimeri izravno izdvojeni iz biomase i biopolimeri proizvedeni direktno iz prirodnih izvora ili genetski modificiranih organizama. Biopolimeri izravno izdvojeni iz biomase su polisaharidi (termoplastični škrob, celuloza i njeni derivati, vlakna, hitin i kitozan, guma) i polipeptidi (pšenični gluten, protein soje, kolagen i želatina, proteini surutke). Biopolimeri proizvedeni direktno iz prirode ili genetski modificiranih organizama su mikrobnji poliesteri (poli(hidroksi-alkanoat), PHA, poli(hidroksi-butirat), PHB, polikaprolakton, PCL, bakterijska celuloza) i biopolimeri (poliesteri) sintetizirani iz bio-derivatnih monomera polimljična kiselina (PLA) i poliglikolna kiselina (PGA). Među sintetske biorazgradive polimere pripadaju poli(butilen-sukcinat) (PBS), poli(vinil-alkohol) (PVOH) i poli(vinil-acetat) (PVA).

2.4.1. Karboksimetil celuloza

Karboksimetil celuloza (natrijeva karboksimetil celuloza) je derivat celuloze i pripada skupini karboksimetil etera. Ne pojavljuje se u prirodi iako su njezine komponente prirodnog podrijetla. Ovisno o veličini molekula i (jačini) esterifikacije, viskoznost karboksimetil celuloze varira. Topiva je u hladnoj vodi, dakle neovisno o pH i temperaturi, a može se koristiti za stvaranje otopina niske viskoznosti do jakih, prozirnih gelova. Tvori vrlo stabilne, glatke filmove i dobro se slaže kao sredstvo za oblaganje. Uglavnom je stabilna na slabe lužine, kiseline, mikroorganizme i toplinu. Filmovi se pripremaju sušenjem iz vodenih otopina. Izravno nanošenje na hranu provodi se potapanjem u otopinu prevlake. Dobiveni filmovi su čvrsti,

prozirni, otporni na masti, ulja i većinu nepolarnih organskih otapala. Izrazito su osjetljivi na vodu te se stoga često koriste za jestiva pakiranja koja se rastapaju u ustima pod utjecajem vodenog medija i sline (Nieto, 2016). Zbog prisustva karboksilne grupe (C=O), koristi se za formiranje blendova s drugim polimerima kao što su škrobovi (Tongdeesontorn i sur., 2011) i gume (Shekarabi i sur., 2014). Povezivanjem karboksilne grupe s hidroksilnom (-OH) skupinom prisutnom u drugom polimeru, dolazi do povećanja otpornosti na vodu te boljih mehaničkih svojstava dobivenog blenda.

U prehrambenoj industriji služi kao zgušnjivač (za punjenje kolača) ili u enologiji za stabilizaciju tartarata u vinu. Na listi aditiva, prema Pravilniku o prehrambenim aditivima (NN 62/2010), kada se koristi u prehrambene svrhe potrebno ju je označiti kao E466.

2.4.2. Pektin

Pektin je linearni polisaharid, sastavljen od monomera D-galakturonske kiseline povezanih α -1,4 vezama. (Nieto, 2016). Među glavnim komponentama je stanične stijene biljke i pridonosi cjelovitosti tkiva i krutosti pa se smatra jednim od najsloženijih makromolekula u prirodi (Jolie i sur., 2010.) Karboksilne skupine u molekuli pektina su djelomično esterificirane metanolom, a sekundarne hidroksilne grupe mogu biti djelomično esterificirane acetatom (octenom kiselinom) ovisno o podrijetlu pektina. S obzirom na broj esterificiranih karboksilnih skupina dijeli se u dvije grupe: visokoesterificirani i niskoesterificirani. U industrijske svrhe, pektin se uglavnom izolira iz jabuka i kora citrusa; i to uglavnom limete, limuna ili naranče te ponekad (ali značajno manje) iz šećerne repe. Ekstrakcija pektina radi se s vodenom otopinom kiseline pri 50 - 90 °C, 3 - 12 sati pri pH = 1 - 3, nakon čega slijedi precipitacija alkoholom. Ovom metodom se netopljivi protopektin degradira u topljivi pektin (Bourbon i sur., 2011).

U prehrambenoj industriji najčešće se koristi kao sredstvo za stabilizaciju i zgrušavanje proizvoda (jogurt, džem itd.), za geliranje i ima iznimno dobru topljivost u vodi. Stupanj esterifikacije utječe na svojstva pektina, a pogotovo na svojstvo geliranja (Anonymous 1).

Osnovno svojstvo niskoesterificiranih pektina dobivenih kontroliranom deesterifikacijom, je da mogu formirati gelove u prisutnosti kalcijevih iona, te se primjenjuju i za proizvodnju jestivih filmova (Lacroix i Tien, 2005). Postoje mnoge objavljene znanstvene studije o pektinskim jestivim filmovima samim i u kombinaciji s ostalim sastojcima. Kao i CMC, osnovno svojstvo (ali ponekad i nedostatak) je visoka topivost u vodi (Espitia i sur., 2013). Galus i sur (2012) su proučavali sorpciju i vlaženje pektinskih filmova i otkrili da se

sadržaj vode polako povećava kada je a_w proizvoda od 0 do 0,75, a naglo se povećava s 0,75 na 0,90. Filmovi od pektina su dobrih barijernih svojstava za plinove. Inkorporacijom prirodnih bioaktivnih spojeva u polimerni matriks od pektina, moguće je postići antimikrobnu aktivnost, odnosno bakteriocidni učinak na patogene koji se prenose hranom (Espitia i sur., 2013). Pektinski jestivi filmovi su ekološki prihvatljiva alternativa sintetskim polimerima, biorazgradivi, dostupni i jeftini, mogu se koristiti kao jednokomponentni filmovi ili u kombinaciji s drugim polimerima (Espitia i sur., 2013). S ciljem poboljšanja mehaničkih svojstava često im se dodaju plastifikatori (glicerol ili sorbitol).

2.5. KOMORAČ

Komorač (*Foeniculum vulgare* Mill.) kao samonikla višegodišnja biljka potječe s mediteranskog područja, ugodnog je i aromatičnog mirisa. Uzgaja se još od antičkih vremena i nalazimo je uz putove te na pustim kamenitim mjestima. Na našim područjima raste kao divlja biljka, osobito u primorskim krajevima, jer zahtjeva mnogo topline i rahlo tlo (Borovac, 2015). Koriijen komorača je mesnat, vretenast i raste vrlo duboko. Stabljika je uspravna i glatka, plavozelene boje i visine od 1-2 m. Odlikuju ga prošireni listovi sa tankim ispercima kao niti i imaju bijele, mesnate i proširene rukavce. Listovi mogu biti i do 40 cm duljine. Cvjetovi komorača se razvijaju u razdoblju od srpnja do rujna (Hulina, 2011), sitni su i žutonarančaste boje i čine štitaste cvatove promjera 10-15 cm. Sjemenke se skupljaju u rujnu i listopadu kada poprime žutu boju.

Eterično ulje komorača našlo je široku primjenu u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji, kao i u narodnoj medicini. Dosta se koristi i u kulinarsvu. Komorač, kao biljka u cijelosti, s obzirom da je vrlo aromatična, može se koristiti kao povrće, začim ili lijek.

Postupcima ekstrakcije i destilacije izdvajamo eterično ulje komorača iz biljne mase. Zelene metode ekstrakcije i neki od literaturno dostupnih primjera na komoraču dani su u poglavlju 2.6. Sastav eteričnog ulja, kao i njegov postotni udio različito je raspoređen i promjenjiv je, ovisno od dijela biljke komorač. Plodovi komorača (4 do 11 %) sadrže više eteričnog ulja od stabljike i listova (1 do 1,5 %). Najzastupljenije organske tvari u eteričnom ulju komorača su: trans – anetol od 55 do 70 %, fenhon od 12 do 22 %, estragol od 2 do 5 % i limonen do 1 % (Badgujar i sur., 2014.). Tipičan sastojak ulja je fenhon, koji daje karakterističan gorak i ljut okus, a za specifičnu aromu komorača sličnu anisu, odgovoran je

trans–anetol. Sjeme komorača sadrži 6,3 % vode, 9,5 % bjelančevina, 10 % masti, 13,4 % minerala, 18,5% vlakana te 42,3 % ugljikohidrata (Rather i sur., 2016). Komorač je dobar izvor kalcija, natrija, fosfora i kalija. Sadrži i bogatstvo vitamina i prehrambenih vlakana, a isti su neophodni za ljudski organizam. Komorač također sadrži slijedeće minerale i vitamine: aluminij, kobalt, bakar, željezo, magnezij, mangan, cink, vitamin A, E, K, tiamin, riboflavin, niacin, askorbinsku kiselinu, leucin, fenilalanin i triptofan (Xue i sur., 2006).

Prema dostupnim literaturnim podacima, sjemenke komorača su izvrstan izvor flavanola, kvercetina i fenolnih kiselina (primjerice galne i kava kiseline). Derivati kempferola, kvercetina i rutina su prisutni u lišću i plodovima, dok se u cvijetu nalazi znatno više aromatskih spojeva. Tijekom ekstrakcije, izoliraju se velike količine fitosterola i to posebice kampesterol, stigmasterol i β -sitosterol. U literaturi se navodi da je komorač bogat brojnim flavonoidima, od kojih su najzastupljeniji: ružmarinska kiselina, eridiktol-7- rutinozid, izorhamnetin, glukozid, kvercetin, izokvercetin, kvercetin-3-arabinozid, kvercetin-3-O-galaktozid, kvercetin-3-rutinozid, kvercetin-3-glukoronid, kempferol, kempferol-3-glukoronid, kempferol-3-O-rutinozid, kempferol-3-arabinozid, kamferol-3- glukozid, izoharmnetin i 3-O- α -ramnozid (Gonzales-Tejero i sur., 2008).

2.5.1. Uporaba komorača u prehrambenoj industriji

Komorač se još od davnina koristi kao povrće i začim. U antičko doba koristio se za ocat, u slanoj vodi ili kao dodatak prehrani. Upotrebljivi su korijen, stabljika i listovi u svježem stanju ili osušeni. U mnogim europskim kuhinjama stalan je začim za određena jela, a u Hrvatskoj njegova uporaba je izrazita na cijeloj jadranskoj obali (Hulina, 2011; Grlić, 1990). U Grčkoj i Makedoniji od komorača se proizvode žestoka alkoholna pića, a nerijetko se dodaje i u travaricu. Sjeme komorača koristi se u proizvodnji likera, slatkiša, pita i pudinga. Za spravljanje salata koriste se lisni rukavci i mlado lišće komorača, može se dodati u spravljanje omleta, umaka i kod spravljanja raznolikog povrća. Komorač se dodaje kao kulinarski dodatak i to u salate, jela od ribe i ukiseljene krastavce. Također se može dodati u razna variva, umake, majonezu i juhe (Borovac, 2015; Grlić, 1990). Zbog visokog udjela polifenola i ostalih sastojaka s potencijalnim antimikrobnim djelovanjem, može se koristiti i kao aditiv za produženje trajnosti proizvoda. Primjenom eteričnog ulja komorača postiže se značajan antifungalni učinak odnosno sprečava ili odgađa kvarenje hrane, a naročito ako postoji rizik od kontaminacije vrstama *Fusarium oxysporum* i *Aspergillus niger* (Martins i sur., 2012).

2.6. PRIPREMA AKTIVNIH SASTOJAKA ZA PREHRAMBENU INDUSTRIJU PRIMJENOM ZELENIH METODA EKSTRACIJE

2.6.1. Zelene metode ekstrakcije

Općenito, ekstrakciju možemo definirati kao uravnoteženo odvajanje jedne ili više komponenti iz početnog sustava koji može biti kruta ili kapljevita faza, pomoću otapala. U otapalo difundiraju tvari koje su topive u tom otapalu, a ostale zaostaju u ishodišnoj smjesi. Na taj način dobivamo ekstrakt koji sadrži tvar, gdje se mora provesti postupak pročišćavanja u svrhu njegovog razdvajanja. Pojam zelene ekstrakcije nastaje iz posebne grane zelene kemije. Zelena metoda ekstrakcije se općenito definira kao dizajn novih procesa ekstrakcije s ciljem reduciranja primijenjene energije, korištenjem alternativnih otapala i obnovljivih produkata ali i osiguravanja proizvoda visoke kvalitete i sigurnosti za ljudsku konzumaciju (Chemat i sur., 2012). Chemat i sur. (2012) su odredili šest principa zelene ekstrakcije prirodnih proizvoda:

- pronalaženje alternativnih sirovina biljnog podrijetla i primjena obnovljivih izvora;
- primjena alternativnih otapala (npr. voda i onih iz prirodnog izvora);
- smanjena potrošnja energije postignuta ponovnom uporabom energije i primjenom inovativnih tehnologija;
- generiranje proizvoda a ne otpada kako bi se uključila i bio- i agronomska industrija;
- smanjeni broj koraka uz realizaciju sigurnog i kontroliranog procesa;
- proizvodnja ekstrakta s biorazgradivim karakteristikama bez kontaminanata.

Osnove ovog radnog protokola su nova i inovativna tehnologija, intenziviranje procesa, agro-otapala i ušteda energije. Raspravlja se o konceptu, načelima i primjerima zelene ekstrakcije, nudeći ažuriran pogled na ogroman tehnološki napor koji se stvara i raznolike aplikacije koje se razvijaju (Chemat i sur., 2012).

Tehnikama ekstrakcije kontinuirano se nastojalo sve probleme svesti na minimum kao što su utrošak energije i otapala te mali prinosi. Zelene tehnike ekstrakcije su visokoučinkoviti procesi čijom je primjenom moguće osigurati bolji prinos iz obnovljivih izvora i to bez štetnih kemijskih supstanci (Pavlič, 2017; Mustafa i Turner, 2011). Primjenom alternativnih otapala, manjom energetsom potrošnjom kao i manjim brojem eksperimenata tijekom cijelog proces, može se postići proizvodnja ekstrakta bez onečišćivača (kontaminanata) (Pavlič, 2017; Chemat i sur., 2012).

Danas se u znanstvenoj literaturi najviše spominju inovativne tehnologije ekstrakcije

kao one potpomognute mikrovalovima i/ili ultrazvukom, primjena alternativnih otapala kao što su super i superkritični fluidi (CO₂ i voda), ionske kapljevine i eutektička otapala (Chemat i sur., 2012).

2.6.2. Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima

Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima je jedna od sve češće upotrebljivanih zelenih metoda ekstrakcije. Energija mikrovalova je neionizirajuće zračenje frekvencije između 300 MHz i 300 GHz, a mikrovalovi elektromagnetski valovi valne duljine od 1 do 300 mm. Njihovo djelovanje se bazira na zagrijavanju cijelog volumena uzorka odjednom te oštećenju vodikove veze, potičući rotaciju dipola. Kretanjem iona koji se nalaze otopljeni u odgovarajućem otapalu postiže se bolje prodiranje otapala u materijal te posljedično se postiže bolje otapanje (Wong i Weller, 2006). Zagrijavanjem mikrovalovima direktno se djeluje na molekule ciljanog materijala.

Ovu ekstrakciju najčešće nalazimo kod ekstrakcije prirodnih komponenti iz biljnog materijala zbog velikog vremenskog reduciranja uporabe otapala i samog postupka. Mikrovalovima se kontrolirano zagrijava uzorak zbog unaprijeđenja postupka ekstrakcije. Zračenjem mikrovalova tijekom ekstrakcije uglavnom se postiže povećanje ekstrakcije sekundarnih biljnih metabolita, poput polifenola, te tvari arome (Blekić i sur., 2011).

Kada uzorak podvrgnemo zagrijavanju, u njemu dolazi do zagrijavanja vode, oslobađanja vodene pare u stanicama i kao rezultat dolazi do puknuća staničnih membrana. Pospješuje se difuzija sekundarnih metabolita i oni difundiraju u otapalo. Učinkovitost ovog procesa ovisi o većem broju čimbenika: matriksu uzorka i prirodi otapala, a odabir samog otapala i parametara procesa ovisna je o komponentama prisutnim u pojedinom uzorku. Parametri koji utječu na sam proces ekstrakcije su temperatura, vrijeme ekstrakcije, primijenjeni tlak, snaga mikrovalova, odabrano otapalo te svojstva matriksa uzorka (Destandau i sur., 2013).

Nedavno, Benmoussa i sur. (2019) su objavili da ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima pruža niz prednosti u odnosu na konvencionalne metode ekstrakcije eteričnog ulja komorača (*Foeniculum vulgare* Mill). Osnovne zabilježene prednosti su kraće vrijeme ekstrakcije (30 minuta za ekstrakciju potpomognutu mikrovalovima u odnosu na 180 min za hidrodestilaciju), manja potrošnja energije i manji troškovi. Boudra i sur. (2021) su također

uočili da je ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima, pri uvjetima 305 W tijekom 20 min, inovativna, ekonomična i ekološki prihvatljiva metoda za efikasnu ekstrakciju eteričnog ulja komorača, zdravstveno ispravnog za ljudsku konzumaciju.

2.6.3. Ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom

Ultrazvučno potpomognuta ekstrakcija smatra se preferiranom tehnikom za izoliranje bioaktivnih spojeva iz bilja, a temelji se na principu rada akustične ili ultrazvučne kavitacije. Ultrazvučni valovi, jačine iznad 20 kHz, uzrokuju nastajanje sitnih mjehurića koji pri dovoljno snažnim vibracijama, kada su amplitude nastalog tlaka veće od hidrostatskog, rezultiraju implozijom mjehurića i pojavom kavitacije. Implozijom nastaju ekstremni uvjeti, i to temperatura visoka nekoliko tisuća K i tlako od više stotina atmosfera (Lovrić, 2003). Nadalje, kolaps kavitacijskih mjehura rezultira efikasnijom destabilizacijom stanice. Destabilizacija je rezultatom nastajanja mikročestica usred asimetričnog kolapsa mjehurića u blizini površine namirnice. Ekstrakcija ultrazvukom ima velike prednosti što uključuje prijenos mase, bolje prodiranje otapala, manje ovisnosti o korištenim otapalima, provedbe pri nižim temperaturama, skraćeno trajanje procesa, a veći prinosi željenih komponenti u ekstraktu. Temeljem navedenog, ultrazvučnu ekstrakciju možemo smatrati kao vrlo poželjnu tehniku za izolaciju različitih spojeva bioaktivnog karaktera, primjerice vitamina, polifenola, polisaharida, knabinoida i drugih fitokemikalija.

Mohsen i sur. (2021) su uspješno primijenili ekstrakciju potpomognutu ultrazvukom za dobivanje eteričnog ulja komorača s značajnim udjelom anetola, fenconona, limonena i estragola. Autori su otkrili da je kritičan parametar za uspješnost ekstrakcije veličina čestica, a metoda se pokazala efikasnijom od tradicionalne ekstrakcije otapalima (Soxhlet).

2.6.4. Ekstrakcija visokonaponskim pražnjenjem

Posljednjih godina sve se više radi istraživanja po principu električnih pražnjenja u vodi. S obzirom da molekule u tekućini imaju veliki ionizacijski potencijal, potrebno je puno energije kako bi im se uklonio elektron. Pulsirajuće električno polje koristi se za stvaranja plazme koja vodi do stvaranja pora u membrani stanice, tj. elektroporacije. Vodikov peroksid i hidroksilni radikal, kao visoko reaktivni spojevi, nastaju kao produkti djelovanja plazme u vodi. Raspored elektroda i njihov oblik, kao i razmak među njima utječu na osobine pražnjenja. Kao posljedica

polarizacije iona u membrani dolazi do njene kompresije i naposljetku pucanja, a električni izboji stvaraju šok valove, s tim da u tekućini mogu izazvati kavitaciju.

2.7. PRIMJENA ENKAPSULACIJE U PAKIRANJU HRANE

Bioaktivni spojevi često se koriste kao sastojci u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji kako bi se osigurali proizvodi sa funkcionalnim karakteristikama, pri čemu je njihova stabilnost tijekom procesa proizvodnje i skladištenja kritičan parametar za implementaciju (Nedović, 2011). Biološke komponente su nakon konzumiranja podlegnute brzom metabolizmu u ljudskom organizmu, a čime dolazi do transformacije kemijske strukture i promjene bioaktivnosti. Stoga je potrebno osigurati njihovo kontrolirano i ciljano oslobađanje u gastrointestinalnom traktu, jer pravovremeno i ciljano otpuštanje dovodi do poboljšanja efikasnosti dodataka bioaktivnih komponenti s tim da osigurava njihovo optimalno doziranje. Naime, procesom enkapsulacije prevazilaze se ove poteškoće jer dolazi do stvaranja zaštitnog omotača oko aktivne komponente koja se enkapsulira, pri čemu se sprječavaju neželjene kemijske interakcije enkapsulirane komponente sa nekim drugim spojevima. Enkapsulirana komponenta je zaštićena od okolnih utjecaja (temperatura, pH, enzimi i kisik) i omogućava se kontrolirano oslobađanje aktivne komponente pod određenim uvjetima (Dias i sur., 2017). Procesom enkapsulacije također se smanjuje isparavanje i degradacija lako hlapljivih komponenti, te poboljšava njihova bioraspoloživost. Enkapsulirati se mogu sva tri agregatna stanja što u konačnici omogućava lakše rukovanje aktivnom komponentom, prevođenjem iz tekućeg stanja (npr. ekstrakti bilja) u čvrsto stanje – prah (Nedović i sur., 2011).

Za enkapsulaciju bioaktivnih komponenti koriste se različite tehnike: uslijed djelovanja fizikalno-mehaničkih efekta (raspršivanje, topljenje, zamrzavanje) i na tehnike kod kojih se čestica formira pod utjecajem fizičko-kemijskog tretmana (polimerizacija, koacervacija i sl.). Odabir adekvatne tehnike enkapsulacije u suštini ovisi o vrsti matriksa koji se enkapsulira kao i karakteristikama gotovog proizvoda u kome se primjenjuje dobivena enkapsulirana komponenta. Nadalje, izborom materijala nosača uvelike se utječe na svojstva enkapsuliranih sastojaka, a posebice na efikasnost procesa enkapsuliranja.

Ipak, nijedna od tehnika enkapsuliranja se ne može smatrati jedinstvenom i primjenjivom za sve bioaktivne sastojke. Razlog tome su karakteristična molekularna struktura raznih bioaktivnih sastojaka (Ray i sur., 2016).

2.8. ZAKONSKA REGULATIVA

Zakonska regulativa koja je na snazi u Republici Hrvatskoj u skladu je s Regulativom Europske Unije. U Europskoj Uniji se primjenjuje regulatorna politika analize i kontrole kvalitete ambalaže i svih materijala koji dolaze u kontakt s hranom, a s ciljem zaštite zdravlja potrošača, te iz komercijalnih razloga (Silano i Rossi, 2015). Materijali i predmeti koji dolaze u dodir s hranom moraju biti sigurni jer mogu doći u interakciju s hranom tijekom obrade, skladištenja i prijevoza hrane.

Prema Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti materijala i predmeta koji dolaze u neposredan dodir s hranom (NN 125/2009) opisani su opći i posebni uvjeti koji se odnose na zdravstvenu ispravnost materijala od kojih su izrađeni predmeti koji dolaze ili mogu doći, direktno ili indirektno u dodir s hranom. Materijalima u smislu ovoga Pravilnika smatraju se: metali i njihove slitine, emajl, cement, keramika i porculan, staklo, polimerni materijali (plastika uključujući lakove, premaze i prevlake, celuloza i elastomeri) drvo uključujući i pluto te tekstil. Uredbom (EZ) br. 450/2009 opisani su aktivni i inteligentni materijali i predmeti koji dolaze u dodir s hranom. Aktivni materijali su namijenjeni povećavanju trajnosti upakiranog proizvoda, te sadržavaju komponente koje se oslobađaju u hranu dok inteligentni materijali raspoznaju uvijete u zapakiranom proizvodu ili okolini koja ga okružuje. Materijali i predmeti koji dolaze u dodiru s hranom moraju biti u skladu s dobrom proizvođačkom praksom. Ne smiju ugroziti ljudsko zdravlje, uzrokovati neprihvatljive promjene u sastavu hrane te pogoršanje organoleptičkih svojstava hrane (HGK, 2014). Aktivni materijali i predmeti koji su u dodiru s hranom smiju mijenjati sastav ili organoleptička svojstva hrane samo ako su promjene sukladne odredbama EU, odnosno RH koje se primjenjuju na hranu, kao što je Pravilnik o prehrambenim aditivima (NN 62/2010). Uredba komisije (EK) br. 450/2009 navodi da kancerogene, mutagene i toksične tvari ne smiju biti prisutne u aktivnim i inteligentnim materijalima. Sastojci koji se koriste za jestive prehrambene premaze/pakovine moraju se nalaziti na listi dozvoljenih aditiva u hrani. S ciljem zaštite potrošača važno je navesti korištenje određenog aditiva te njegova korisna djelovanja i prednosti. Primjenom aditiva potrošače se ne smije dovoditi u zabludu, uporaba aditiva mora biti tehnološki opravdana i sigurna za zdravlje.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Za izradu filmova u ovom radu su korišteni prirodni biopolimeri: karboksimetil celuloza (CMC, karboksimetil celuloza tip 466, Acros organics, Francuska) i pektin (PEC, citrus-130 AS, CPKelco, Njemačka). Prirodni glicerol (minimalne čistoće 99,5 %, E422, Dekorativna točka d.o.o, Hrvatska) je služio kao plastifikator, dok je eterično ulje komorača bilo izvorom bioaktivnih sastojaka za ugradnju u filmove.. Za pripremu zasićene otopine za mjerenje propusnosti na vodenu paru korišten je magnezijev nitrat ($Mg(NO_3)_2$, Sigma - Aldrich, SAD), kao i za održavanje relativne vlažnosti atmosfere u eksikatoru od 53 % RH.

3.2. PRIPREMA JESTIVIH FILMOVA

Za formiranje jestivih filmova korišteni su karboksimetil celuloza i pektin te im je dodan glicerol koji ima ulogu plastifikatora. Otopina karboksimetil celuloze dobivena je otapanjem 3 g praha karboksimetil celuloze u 100 mL destilirane vode, kako bi se dobila 3 % (m/v) otopina za formiranje filma. Za dobivanje otopine pektina, 3 g praha pektina otopi se u 100 mL destilirane vode kako bi se dobila 3 % (m/v) otopina za formiranje filma. Navedene otopine se miješaju na magnetskoj miješalici do oku vidljivog otapanja odnosno dispergiranja. Kako bi se postigla bolja elastičnost filmovima se dodaje glicerol ((GLY) 30 % m/m u odnosu na suhu tvar polimera) te miješa na magnetskoj miješalici 10 minuta. Za aktivne filmove (filmove s ekstraktom) dodaje se točno određena masa prethodno pripremljene aktivne komponente (A) (eterično ulje komorača enkapsuliranog u nosač od gume arabike i β - ciklodekstrina, te miješa digitalnim Ultra-turaxom pri 12000 rpm tijekom 10 minuta (Ultra-turax T25, IKA, Njemačka). Točno određena masa ovako dobivene otopine izliva se u staklene i plastične Petrijeve zdjelice različitih dimenzija kako bi se formirali filmovi bez velikih varijacija u debljini. Filmovi se suše tijekom iduća 24 h u ventiliranoj klima komori (HPP110, Memmert, Njemačka) pri kontroliranim uvjetima temperature od 30 °C i relativne vlažnosti zraka 40 %. Nakon sušenja, filmovi se odljepljuju s površine te čuvaju u eksikatoru s zasićenom otopinom $Mg(NO_3)_2$ kako bi relativna vlažnost bila 53 % pri 23 ± 2 °C. Konačne formulacije filmova s pripadajućim kraticama dane su u tablici 1.

Aktivni prah pripremljen je iz eteričnog ulja komorača (Ireks Aroma d.o.o., Hrvatska), sušenjem raspršivanjem na uređaju za sušenje raspršivanjem Büchi Mini Spray Dryer B-290, Švicarska. Sušenje raspršivanjem odvijalo se na temperaturi 200 °C, pri omjeru nosača β - ciklodekstrina i gume arabike 1:3. Udio eteričnog ulja komorača iznosio je 5 g na 100 mL otopine, odnosno 5 %. Omjer eteričnog ulja i nosača iznosio je 1:4.

Tablica 1. Sastav biopolimernih filmova

| BIOPOLIMER | AKTIVNI PRAH KOMORAČA (m/v) (A) | GLICEROL (GLY, % m/m) | KRATICA |
|----------------------|--|----------------------------------|----------------|
| | 0 | 0 | CMC |
| KARBOKISMETIL | 0 | 30 | CMCGLY |
| CELULOZA | 0,5 | 30 | CMC0,5A |
| | 1 | 30 | CMC1A |
| | 0 | 0 | PEC |
| PEKTIN | 0 | 30 | PECGLY |
| | 0,5 | 30 | PEC0,5A |
| | 1 | 30 | PEC1A |

3.3. METODE KARAKTERIZACIJE FILMOGENIH OTOPINA

3.3.1. Određivanje viskoznosti filmogene otopine

Uređaj za određivanje viskoznosti otopina je viskozimetar (Lamy Rheology RM 100 Plus, Francuska, slika 1). Prilikom svakog mjerenja korištene su pripremljene svježe otopine biopolimera. Mjerenje viskoznosti provedeno je pri dvije brzine smicanja; 100 s⁻¹ i 1290 s⁻¹. Mjerenjem se dobiju slijedeće vrijednosti: viskoznosti(Pa s) i obrtna sila (mNm). Za svaki uzorak su provedena po tri mjerenja za obje brzine smicanja.



Slika 1. Viskozimetar (Anonymous 2, Lamy Rheology RM 100 Plus, Francuska)

3.3.2. Mjerenje pH vrijednosti filmogenih otopina

pH vrijednost otopina polimera određena je pomoću uređaja pH metra FiveGO (Mettler Toledo, Švicarska (slika 2)). Iz pripremljenih otopina mjerila se pH vrijednost za svaki uzorak. Prilikom mjerenja korištene su svježe pripremljene otopine. pH vrijednost se mjerila za svaki uzorak 3 puta, a kao rezultat je uzeta srednja vrijednost.



Slika 2. pH metar (Anonymous 3, Five Go, Mettler Toledo, Švicarska)

3.4. METODE KARAKTERIZACIJE FILMOVA

3.4.1. Debljina filmova

Debljina filmova izmjerena je digitalnim mikrometrom preciznosti do 0,001 mm (Digimet, HP, Helios Preisser, Njemačka) (slika 3). Za svaki uzorak odredila se debljina na pet različitih mjesta. Rezultat je prikazan kao srednja vrijednost s standardnom devijacijom (μm).



Slika 3. Digitalni mikrometar HP 25 - 50 (Anonymus 4, Helios Preisser, Njemačka, MM DIGI - met)

3.4.2. Mjerenje propusnosti plinova kroz film

Određivanje propusnosti plinova provedeno je manometrijskom metodom koristeći uređaj Brugger, GDP - C (Brugger Feinmechanik GmbH, Njemačka) (slika 4). Prije samog provođenja mjerenja uzorci se pri kontroliranim uvjetima vlage (53 % RH) čuvaju u eksikatoru. Vakuimiranje (evakuacija) mjernog volumena provodi se pomoću vakuumpumpe, dok se kroz jednu stranu uzorka propušta ispitivani plin pod atmosferskim tlakom.

Zbog prisutnosti razlike tlakova, plin difundira kroz ispitivani uzorak (film), a postepeni porast tlaka je vidljiv na računalu. Računalni program bilježi podatke i očituje ih kao vrijednost permeance ($\text{cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ bar}^{-1}$). Propusnost na kisik (PO_2), odnosno propusnost na ugljikov dioksid dobije se kao aritmetički produkt debljine filma i permeance, te se izražava se u $\text{cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ d}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$. Propusnost se računa po slijedećoj jednadžbi [1]:

$$PO_2 \text{ ili } PCO_2 = q * x \quad [1]$$

gdje je:

q - permeanca ($\text{cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ bar}^{-1}$);

x - debljina filma (μm).



Slika 4. Instrument za mjerenje propusnosti plinova (Anonymous 5, GDP-C Brugger, Njemačka)

3.4.3. Mjerenje propusnosti vodene pare kroz film

Pomoću modificirane ASTM E96 - 80 (1980) standardne metode gravimetrijski je određena propusnost filmova na vodenu paru, koja je prilagođena za jestive materijale (Debeaufort i sur., 1993). Uzorci se prije provođenja mjerenja čuvaju u eksikatoru pri kontroliranim uvjetima vlage (53 % RH). Za mjerenje se koristi posuda za mjerenje propusnosti (slika 5). Uzorci filmova se postavljaju tako da se učvrste između dva teflonska prstena na vrhu staklene čašice, u koju se ulije 20 ml destilirane vode (100 % RH) ili zasićena otopina magnezijeva nitrata (~ 50 % RH). U ventiliranoj klima komori (Mettler HPP110, Mettler, Njemačka) uzorci se čuvaju deset dana pri 23 °C i 30 % RH. Budući se koristi destilirana voda i magnezijev nitrat, a uzorci čuvaju pri 30 % RH, time se postižu dva različita gradijenta RH: $\Delta 70$ i - $\Delta 20$ %.

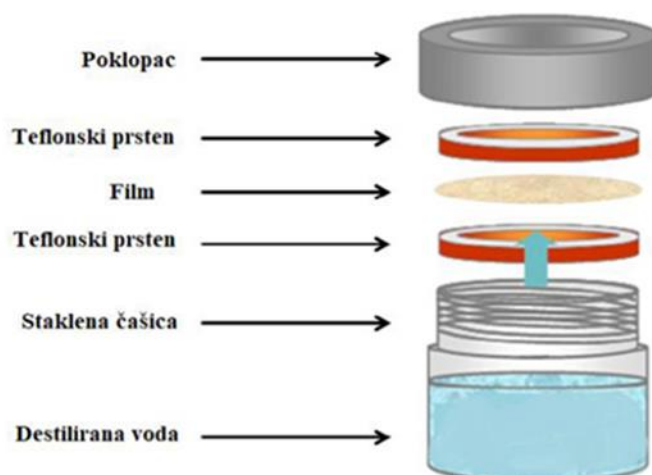
Propusnost na vodenu paru WVP ($\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$) izračunata je iz promjene mase posude u odnosu na vrijeme u stacionarnom stanju [2]:

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

gdje je:

$\Delta m/\Delta t$ – maseni gubitak vlage po jedinici vremena (g s^{-1});
 A – površina filma izložena prijenosu vlage ($9,08 \times 10^{-4} \text{ m}^2$);
 x – debljina filma (m);
 Δp – razlika tlaka vodene pare između dvije strana filma (Pa).

Za svaki uzorak mjerenje je ponovljeno pet puta.



Slika 5. Čašica sa sastavnim dijelovima za mjerenje propusnosti materijala na vodenu paru (s destiliranom vodom) (Kurek, 2012)

3.4.4. Određivanje topljivosti filmova u vodi

Količinu suhe tvari otopljene u destiliranoj vodi nakon uranjanja tijekom 24 h definiramo kao topljivost filmova, a određuje se prema Gontard i sur. (1996). Prije provođenja mjerenja, uzorci se čuvaju u eksikatoru pri kontroliranim uvjetima vlage (53 % RH). Za potrebe određivanja filmovi se izrežu na dimenzije 2 x 2 cm, potom se osuše u sušioniku (Memmert, Njemačka) na 105 °C, te im se na analitičkoj vagi odredi masa (w_i). Nakon toga filmovi se stave u 30 mL destilirane vode, sobne temperature (23 ± 2 °C) i ostave tijekom 24 h. Nakon isteka zadanog vremena, provodi se ponovno sušenje filmova u sušioniku (Memmert, Njemačka) na 105 °C do konstantne mase (w_f). Za svaki uzorak provedena su po 4 mjerenja.

Topljivost filma (FS, %) izračunata je prema izrazu [3]:

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

gdje je:

FS – topljivost filma (%);

W_i – početni sadržaj suhe tvari (g);

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

3.4.5. Određivanje udjela vode i suhe tvari

Udio vode i suhe tvari (određivanjem mase prije i nakon sušenja uzorka na 105°C do konstantne mase) mjeri se prema AOAC metodi (1995). Udio vode određivan je u već napravljenim filmovima. U osušenu i odvučenu posudicu od aluminija odvagane se približno 0,2 g filma. Zatim se posudice s uzorcima čuvaju sušioniku pri 105 °C do postizanja konstante mase. U slijedećem koraku se uzorci hlade u eksikatoru te ponovno odvagnu.

Udio vode i suhe tvari se računa prema formulama [4] i [5]:

$$Voda (\%) = \frac{(m_0 + m_1) - m_2}{m_1} * 100 \quad [4]$$

$$Suha tvar (\%) = 100 - Voda (\%) \quad [5]$$

gdje su:

m_0 - masa aluminijske posudice

m_1 - masa filma prije sušenja

m_2 - masa filma nakon sušenja

3.4.6. Određivanje boje filma

Boja uzoraka određuje se pomoću kolorimetra (CM - 3500 d, Konica Minolta, Japan). Kolorimetar radi na principu CIE L^*a^*b prostornog modela (slika 6), a to je trodimenzionalni sustav boja, koji se sastoji od koordinata koje se temelje na Heringtovoj teoriji suprotnih parova

boja koje ujedno predstavljaju i osi sustava. Raspon boja za os a je crveno (-) – zeleno (+), za os b žuto (-) – plavo (+), akromatska os L ima raspon crna (0) - bijelo (100) (Petrović i sur., 2013). Uređaj se kalibrira te se uzorak se stavi ispod otvora. Za svaki film mjerenje je provedeno na deset različitih mjesta, a rezultati su izraženi kao srednja vrijednost s pripadajućom devijacijom. Rezultati se izražavaju kao vrijednost kolorimetrijske razlike (ΔE) (Petrović i sur., 2013) Kolorimetrijska razlika (ΔE) se računa se po metodi Ghorpad i sur. (1995) a pokazuje odstupanje reprodukcije od originala prema jednadžbi [6], a indeks bjeline (WI) prema jednadžbi [7]:

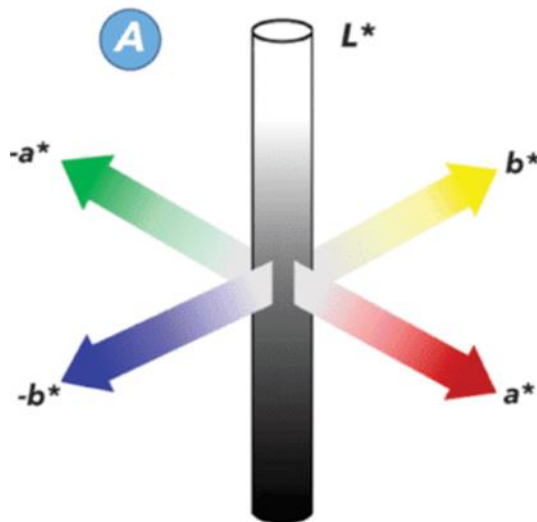
$$\Delta E = \sqrt{\Delta L_2 + \Delta a_2 + \Delta b_2} \quad [6]$$

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}} \quad [7]$$

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 6. CIE $L^*a^*b^*$ prostor boja (Delazio i sur., 2017)

3.4.7. Mjerenje transparentnosti filmova

Transparentnost filmova mjeri se na UV/VIS spektrometru (Perkin Elmer Lambda 25, SAD). Mjeri se apsorbancija uzoraka pri valnoj duljini od 600 nm, prema Peng i sur. (2013). Iz dobivenih podataka o apsorbanciji izračuna se transparentnost filma iz slijedeće jednadžbe [8]:

$$T = \frac{Abs_{600}}{l} [8]$$

gdje su:

T – transparentnost;

Abs_{600} – apsorbancija pri 600 nm;

l - debljina filma (mm).

3.5. OBRADA PODATAKA

Obrada podataka provedena je analizom varijance (ANOVA) pomoću Xlstat - Pro 7.5.3. programa (Addinsoft, SAD). Dobiveni podaci su rangirani te su statističke razlike ocijenjene u redovima s jednosmjernom analizom varijance (ANOVA) i Tukey – ovim višestrukim usporednim testovima. U svim slučajevima vrijednost $p < 0,05$ se smatra statistički značajnom.

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu pripremljeni su biopolimerni jestivi filmovi na bazi karboksimetil celuloze i pektina s dodatkom glicerola. Kao izvor funkcionalnih, bioaktivnih sastojaka dodan je enkapsulirano eterično ulje komorača. Kako bi se ispitale karakteristike pripremljenih filmova određivani su fizikalno-kemijski i barijerni parametri. Viskoznost i pH je također određeno u filmogenim otopinama. Dobiveni rezultati daju uvid u mogućnost daljnje primjene filmova za pakiranje prehrambenih proizvoda. Dobiveni rezultati su prikazani tablično i grafički.

4.1. VISKOZNOST I pH FILMOGENIH OTOPINA

Rezultati mjerenja viskoznosti i pH filmogenih otopina dani su u tablici 2.

Tablica 2. pH i viskoznost biopolimernih otopina pri brzini smicanja (SR) od 100 s^{-1} i 1290 s^{-1}

| Uzorak | SR100s ⁻¹ | SR1290s ⁻¹ | pH |
|---------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| CMC | $0,12 \pm 0,00^b$ | $0,07 \pm 0,00^b$ | $7,20 \pm 0,00^a$ |
| CMCGLY | $0,12 \pm 0,00^b$ | $0,07 \pm 0,00^b$ | $7,01 \pm 0,02^b$ |
| CMC0,5A | $0,11 \pm 0,00^c$ | $0,07 \pm 0,00^c$ | $7,04 \pm 0,02^b$ |
| CMC1A | $0,12 \pm 0,00^b$ | $0,07 \pm 0,00^b$ | $6,89 \pm 0,03^c$ |
| PEC | $0,09 \pm 0,00^e$ | $0,07 \pm 0,00^d$ | $4,22 \pm 0,02^{e,f}$ |
| PECGLY | $0,09 \pm 0,00^e$ | $0,06 \pm 0,00^e$ | $4,19 \pm 0,01^f$ |
| PEC0,5A | $0,10 \pm 0,00^d$ | $0,07 \pm 0,00^c$ | $4,26 \pm 0,02^{d,e}$ |
| PEC1A | $0,14 \pm 0,00^a$ | $0,08 \pm 0,00^a$ | $4,29 \pm 0,02^d$ |

CMC – karboksimetil celuloza, PEC - pektin, GLY- film s dodatkom glicerola, A – aktivni prah eteričnog ulja komorača

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

Sve otopine pri brzini smicanja od 100 s^{-1} statistički se značajnije razlikuju od onih pri brzini od 1290 s^{-1} . Pri brzini smicanja od 100 s^{-1} najniža izmjerena vrijednost je za čistu otopinu pektina i onu s dodatkom glicerola. Također otopina PECGLY ima najnižu vrijednost i pri brzini smicanja od 1290 s^{-1} . Pri nižim brzinama smicanja, filmovi na bazi karboksimetil

celuloze pokazuju nešto veću viskoznost u odnosu na pektinske filmove, što je u skladu s literaturnim podacima. Kod brzine smicanja od 1290 s^{-1} nema značajnije razlike. Dodatkom aktivne komponente povećava se viskoznost što je u skladu sa znanstvenom literaturom. Sve otopine su pokazale karakteristično ponašanje posmičnog stanjivanja, sa smanjenjem viskoznosti kako se povećavaju brzine smicanja (Mohammadi i sur., 2020).

Izmjerene pH vrijednosti dane su u tablici 3. Poznavanje ovog parametra važno je kako bi se predvidjela neka svojstva filmova nakon sušenja (boja, topljivost i mogućnost stvaranja blenda). Primjerice, Navarro-Cruz i sur. (2018) su utvrdili da pH vrijednosti niže od 7 kod CMC filmova imaju veći antimikrobni učinak. Uočeno je da na pH utječe dodatak različitih komponenti. Otopine na bazi pektina pokazuju niske pH vrijednosti, uzimajući u obzir da komercijalni pektin tvori otopine pH 3,0 - 4,0 što je u skladu s literaturom (Chakravartula i sur. 2019). pH vrijednosti CMC filmogenih otopina su više od onih na bazi pektina. Za uzorak CMC izmjerene su najviše pH vrijednosti, te su iste slične onima u znanstvenoj literaturi (Navarro-Cruz i sur., 2018).

4.2. BOJA FILMOVA

U tablici 3. dani su parametri boje (a^* , b^* , L^*), indeks bjeline (WI), ukupna razlika u obojenosti (ΔE) u svježe pripremljenim filmovima od karboksimetil celuloze i pektina.

Općenito, kriterij svjetline, odnosno vrijednost L^* se kreće od 0 za tamu do 100 za svjetlinu. Rezultati mjerenja kolorimetrijskih parametara (tablica 2), pokazuju da su uzorci filmova od pektina tamniji od uzoraka CMC. Najveću vrijednost parametra L^* ima film na bazi CMC što znači da je on svjetliji u odnosu na ostale. Film na bazi PEC ima najnižu L^* vrijednost dok su filmovi na bazi CMC s dodatkom aktivne komponente (0,5A i 1A) svjetliji od PEC. Ipak, prema statističkoj obradi podataka, nema statistički značajne razlike u ovom parametru neovisno o sastavu iste vrste polimernog filma.

Tablica 3. Parametri boje (a^* , b^* , L^* , WI , ΔE) u različitim filmovima

| Uzorak | L^* | a^* | b^* | WI | ΔE |
|----------------|-------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| CMC | 92,04 ± 0,03 ^a | 2,60 ± 0,03 ^a | -7,66 ± 0,10 ^b | 88,65 ± 0,07 ^b | 0,00 ± 0,00 ^b |
| CMCGLY | 90,56 ± 1,44 ^{b,c} | 2,57 ± 0,05 ^{bc} | -7,15 ± 0,54 ^b | 87,83 ± 0,81 ^c | 1,58 ± 1,52 ^{ab} |
| CMC0,5A | 91,50 ± 0,12 ^{a,b,c} | 2,46 ± 0,05 ^{ab} | -7,15 ± 0,17 ^b | 88,62 ± 0,06 ^b | 0,76 ± 0,20 ^b |
| CMC1A | 91,51 ± 0,19 ^{a,b} | 2,30 ± 0,04 ^{ab} | -7,24 ± 0,11 ^b | 88,57 ± 0,12 ^b | 0,68 ± 0,20 ^b |
| PEC | 90,30 ± 0,25 ^c | 1,87 ± 0,12 ^c | -3,7 ± 0,57 ^a | 89,43 ± 0,09 ^a | 0,00 ± 0,00 ^b |
| PECGLY | 90,84 ± 0,42 ^{a,b,c} | 2,13 ± 0,16 ^{bc} | -4,79 ± 0,94 ^a | 89,40 ± 0,12 ^a | 1,57 ± 1,28 ^{ab} |
| PEC0,5A | 90,70 ± 0,39 ^{b,c} | 1,92 ± 0,20 ^{bc} | -4,23 ± 0,99 ^a | 89,56 ± 0,14 ^a | 2,88 ± 1,62 ^a |
| PEC1A | 90,46 ± 0,45 ^{b,c} | 1,92 ± 0,22 ^{bc} | -3,64 ± 1,09 ^a | 89,58 ± 0,05 ^a | 1,00 ± 0,50 ^{ab} |

CMC – karboksimetil celuloza, PEC - pektin, GLY- film s dodatkom glicerola, A – aktivni prah eteričnog ulja komorača

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

Vrijednosti parametra a^* su pozitivne kod svih uzoraka što ukazuje na zelenkasti ton. CMC film ima najveću a PEC najmanju vrijednost a^* . Statistički značajna razlika je uočena između filmova na bazi pektina i onih na bazi karboksimetil celuloze, te možemo uočiti i veće vrijednosti rezultata dobivenih kod CMC filmova. Razlika parametara a^* je u skladu i sa vizualnim izgledom filmova. Filmovi jednostavnog sastava su bili gotovo prozirni dok oni s dodatkom glicerola i enkapsuliranog eteričnog ulja upućuju na prisutnost zelenkasto-žute boje. Sukladno vrijednosti parametra b^* za sve filmove su negativne. Najnižu negativnu vrijednost ima CMC kao i ostali filmovi na bazi karboksimetil celuloze u odnosu na manje izražene negativne vrijednosti kod pektinskih filmova. Izmjereni parametri boje se razlikuju ovisno o dodatku aktivne komponente što je u skladu s literaturnim navodima (Li i sur., 2021). Ukupna razlika u obojenosti izražena je kao ΔE . Taj parametar daje podatak o najvećoj razlici boje filmova u odnosu na kontrolni film, a to su u ovom istraživanju CMC za sve filmove na bazi karboksimetil celuloze i PEC za sve filmove na bazi pektina. Razlika u obojenosti primjetna je kod obje skupine filmova s dodatkom glicerola, te kod PEC1A filma u odnosu na kontrolne uzorke. Prema literaturi ukoliko je ΔE ispod 3, razlika u boji nije uočljiva ljudskom oku, te se boja filmova iz ovog istraživanja može smatrati sličnima (Li i sur., 2021).

4.3. DEBLJINA FILMOVA

Debljina filma utječe na mehanička i barijerna svojstva materijal te je važna za njegovu primjenu. Efikasnost jestivih prevlaka i filmova ovisi o kontroliranom raspršivanju odnosno nanošenju filmogene otopine koja utječe na debljinu suhog filma (Skurtys i sur., 2010). Kod filmova koji se pripremaju izlivanjem u Petrijeve posude, debljina ovisi o volumenu i viskoznosti otopine kao i promjeru posude u koju se film izliva. Idealna debljina filmova ne prelazi 0,25 mm (Utami Hatmi i sur., 2020).

Prema podacima iz tablice 4., može se uočiti da nema statistički značajne razlike u debljini filmova što ukazuje na njihovu ujednačenost, te umanjuje mogući efekt debljine kod različitih fizikalno-kemijskih i barijernih karakteristika filmova. Sve vrijednosti su se kretale oko 60 μm .

Tablica 4. Debljina filmova

| Uzorak filma | Debljina (μm) |
|---------------------|--|
| CMC | 49,40 \pm 13,30 ^a |
| CMCGLY | 52,33 \pm 9,84 ^a |
| CMC0,5A | 59,10 \pm 14,92 ^a |
| CMC1A | 55,63 \pm 8,57 ^a |
| PEC | 56,40 \pm 12,40 ^a |
| PECGLY | 58,40 \pm 9,14 ^a |
| PEC0,5A | 46,86 \pm 9,48 ^a |
| PEC1A | 62,44 \pm 9,79 ^a |

CMC – karboksimetil celuloza, PEC - pektin, GLY- film s dodatkom glicerola, A – aktivni prah eteričnog ulja komorača

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

4.4. UDIO VODE I TRANSPARENTNOST

Rezultati određivanja udjela vode dani su u tablici 5. Nisu uočene značajne razlike udjela vode između različitih vrsta filmova. Vrijednosti su se kretale oko 15 %. Iako se u literaturi navodi da se povećanjem gliceroala povećava i udio vode u filmovima (Basiak i sur., 2018), u ovom istraživanju to nije uočeno. Prema znanstvenoj literaturi filmovi s manje od 33 % glicerola imaju niži kapacitet upijanja vlage od filmova s većim sadržajem glicerola. Istraživanja su također pokazala da što je niži sadržaj glicerola, to je film bolja barijera (propusnost kisika, propusnost vodene pare) (Leung i sur., 1986).

Tablica 5. Rezultati mjerenja udjela vode i transparentnosti filmova od karboksimetil celuloze i pektina

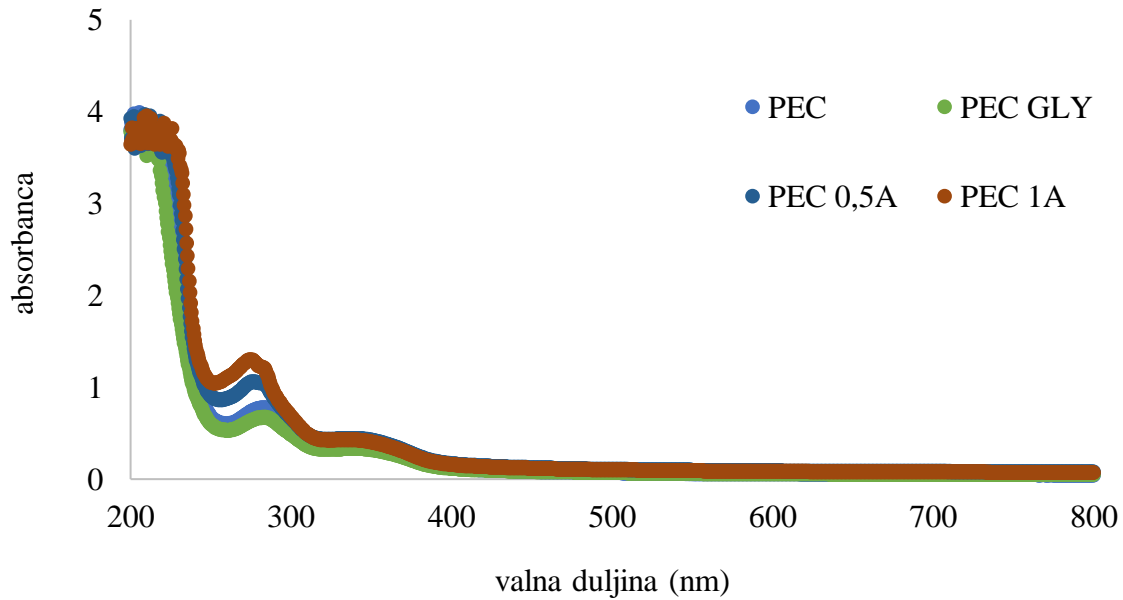
| Uzorak | Udio vode (%) | T ₆₀₀ |
|---------|----------------------------|----------------------------|
| CMC | 13,22 ± 2,95 ^a | 0,98 ± 0,00 ^b |
| CMCGLY | 15,01 ± 3,60 ^a | 1,49 ± 0,00 ^b |
| CMC0,5A | 12,05 ± 0,31 ^a | 1,09 ± 0,00 ^b |
| CMC1A | 11,35 ± 1,25 ^a | 1,53 ± 0,00 ^{a,b} |
| PEC | 9,60 ± 1,54 ^a | 0,97 ± 0,00 ^b |
| PECGLY | 29,23 ± 43,26 ^a | 0,99 ± 0,00 ^b |
| PEC0,5A | 7,33 ± 2,14 ^a | 2,57 ± 0,01 ^a |
| PEC1A | 10,03 ± 2,09 ^a | 1,69 ± 0,02 ^a |

CMC – karboksimetil celuloza, PEC - pektin, GLY- film s dodatkom glicerola, A – aktivni prah eteričnog ulja komorača

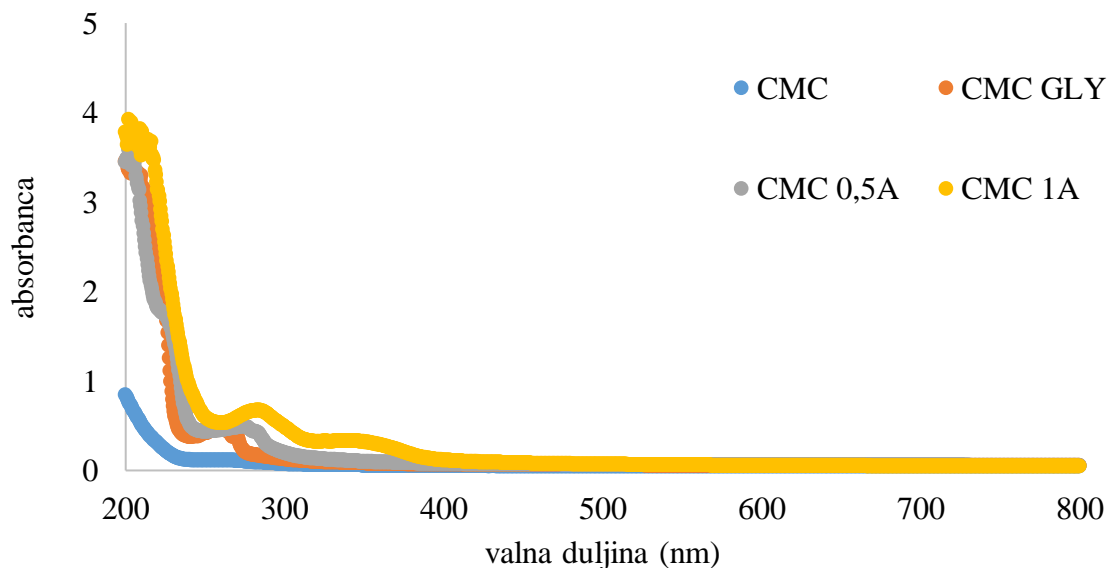
Različiti eksponenti (^{a-b}) unutar stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ($p < 0,05$)

Transparentnost filmova mjerena pri 600 nm dana je u tablici 5, a spektar mjerenja pri valnim duljinama od 200 do 800 nm na slikama 7 i 8. Prozirnost filmova ovisi o strukturi samog filma te njegovim dodanim komponentama. Što su manje vrijednosti transparentnosti to su filmovi transparentniji (Jridi i sur., 2014). Filmovi bez dodataka (CMC i PEC) imaju najniže vrijednosti transparentnosti, te su i ljudskom oku najprozirniji. Dodatkom aktivne komponente dolazi do smanjenja prozirnosti filmova, odnosno povećanja vrijednosti T₆₀₀. To se posebno ističe kod filmova s dodatkom veće koncentracije aktivne komponente (PEC1A i CMC1A). Interakcije komponenti u filmovima povećavaju disperziju svjetlosti i smanjuju transparentnost

(Lin i sur., 2020). Iz prozirnosti može se i naslutiti gustoću filmova, odnosno što je manja prozirnost to je gustoća veća (Lin i sur., 2020).



Slika 7. Promjene u absorbanci filmova na bazi pektina mjerene u spektru od 200 do 800 nm
 PEC - pektin, GLY- film s dodatkom glicerola, A – aktivni prah eteričnog ulja komorača



Slika 8. Promjene u absorbanci filmova na bazi karboksimetil celuloze mjerene u spektru od 200 do 800 nm

CMC – karboksimetil celuloza, GLY- film s dodatkom glicerola, A – aktivni prah eteričnog ulja komorač

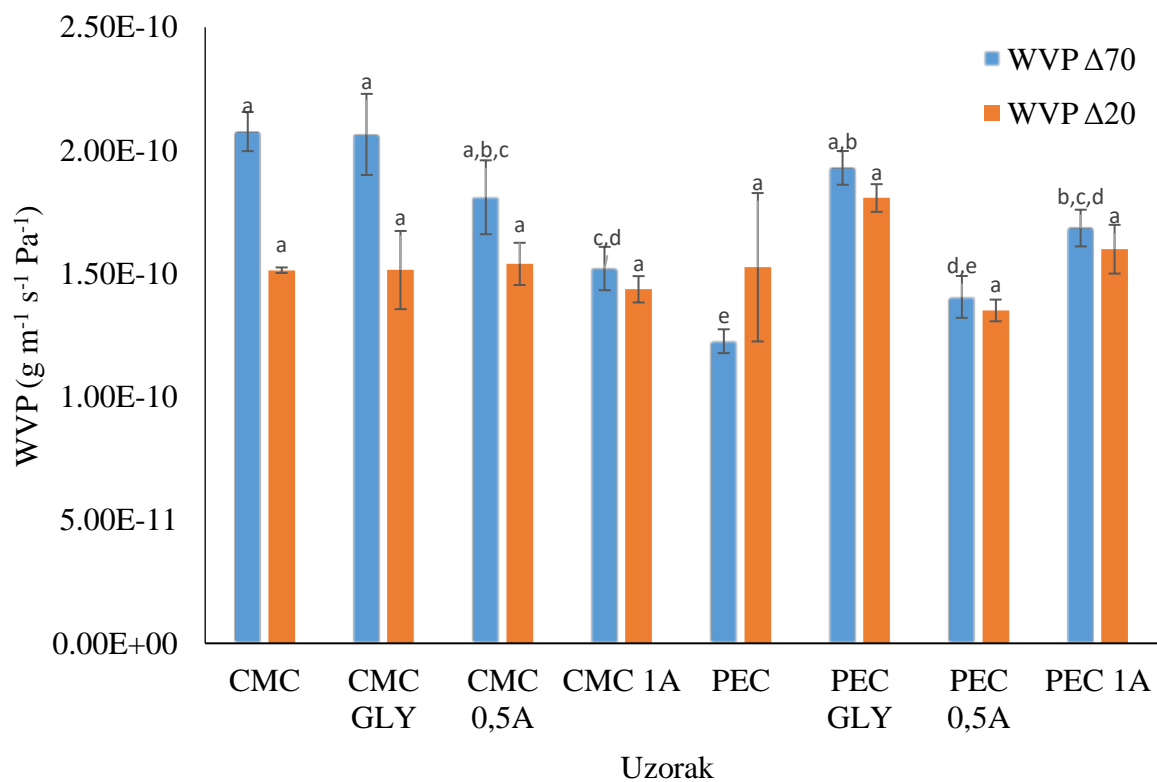
Optička svojstva filmova su važna za definiranje mogućnosti primjene filmova na površinu hrane, budući njihova prisutnost utječe na izgled upakiranog proizvoda. Prozirne folije s visokom propusnošću vidljive svjetlosti koriste se kod onih namirnica koje nisu osjetljive na prisutnost svjetla, dok se folije koje blokiraju UV zrake s niskom propusnošću UV-svjetla koriste za one proizvode čijim se izlaganjem UV narušava kvaliteta proizvoda, donosno dolazi do gubitka hranjivih tvari ili promjene boje u hrani osjetljivoj na UV zrake. (Ebrahimi i sur., 2018).

Filmovi pripremljeni od CMC (slika 8) imaju nešto nižu absorbciju, odnosno veću transmisiju svjetlosti u UV rasponima od 200 do 280 nm u odnosu na PEC (slika 7).

Propustljivost svjetlosti CMC i PEC filma bez dodataka bila je veća nego kod onih s dodatkom aktivnih komponenti i plastifikatora. Kod CMC filma izmjerene su najniže vrijednosti, odnosno može se zaključiti da je najpropusniji prema vidljivoj (400 – 800 nm) svjetlosti što ukazuje na najveću prozirnost i najnižu UV barijeru. Što je više dodatka, to su manje vrijednosti absorbcije (T), što je i u skladu s T_{600} .

4.5. PROPUSNOST FILMOVA NA VODENU PARU (WVP) I BRZINA PRIJENOSA VODENE PARE (WVTR)

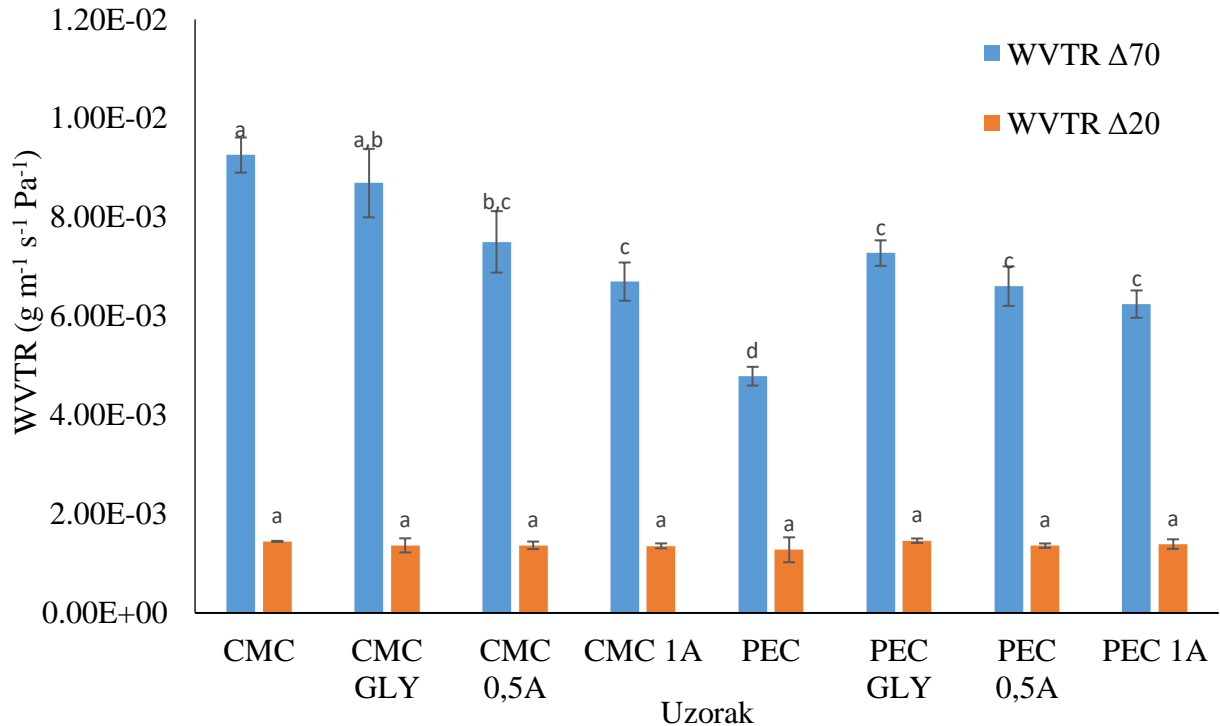
Rezultati mjerenja propusnosti na vodenu paru dani u na slici 9, a rezultati brzine prijenosa vodene pare na slici 10. Jedna od bitnijih funkcija jestivog filma je spriječiti prijenos vlage između okolne atmosfere i hrane ili između dvije komponente heterogenog prehrambenog proizvoda, dakle da propusnost vodene pare bude što manja (Bisht i sur., 2017). Jestivi filmovi zahtijevaju niži WVP kako bi se smanjila dehidracija i održala svježina namirnice. S obzirom na strukturalna i kemijska svojstva polimera, hidrofobne interakcije unutar filma kao i vrste i koncentracija aditiva, ovisit će kakva će biti propusnost filmova na vodenu paru (Aguirre-Loredo i sur., 2016).



Slika 9. Propusnost na vodenu paru filmova na bazi karboksimetil celuloze i pektina mjerena pri dva gradijenta relativne vlažnosti ($\Delta 70\%$ i $\Delta 20\%$).

CMC – karboksimetil celuloza, PEC - pektin, GLY- film s dodatkom glicerola, A – aktivni prah eteričnog ulja komorača

Različiti eksponenti (^{a-c}) iznad stupaca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima iste serije ($p < 0,05$)



Slika 10. Brzina prijenosa vodene pare u filmovima na bazi karboksimetil celuloze i pektina mjerena pri dva gradijenta relativne vlažnosti ($\Delta 70$ % i $\Delta 20$ %).

CMC – karboksimetil celuloza, PEC - pektin, GLY- film s dodatkom glicerola, A – aktivni prah eteričnog ulja komorača

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

Filmovi od CMC pokazuju više vrijednosti propusnosti na vodenu paru od filmova na bazi PEC. Taj trend je značajniji pri višem gradijentu RH ($\Delta 70$ %), dok kod nižeg gradijenta RH ($\Delta 20$ %) nema statistički značajne razlike među uzorcima. Ovakav rezultat je posljedica hidrofilnog karaktera filmova koji utječe da pri višem sadržaju vodene pare u okolini osjetljivost filmova postaje veća a samim time i propusnost na vodenu paru. Vrijednosti WVP kod svih uzoraka su reda veličine 10^{-10} g m⁻¹ s⁻¹ Pa⁻¹ Također, kod većeg gradijenta relativne vlažnosti, dodatkom glicerola dolazi do statistički značajnog povećanja propusnosti na vodenu paru.

Prema literaturi glicerol kao plastifikator povećava propusnost vodene pare hidrofilnih filmova smanjujući jačinu vodikove veze uz povećanje razmaka između polimernih lanaca, čime se smanjuje lomljivost i povećava propusnost (Lintang, 2021). Dodatkom aktivnog praha smanjuje se WVP obje vrste filma, što je rezultat hidrofobnog karaktera dodanog aktivnog praha eteričnog ulja komorača. Rezultati ovog istraživanja u skladu su s znanstvenom literaturom. Primjerice Chaichi i sur. (2017) su utvrdili da pektin ima manju propusnost na vodenu paru u odnosu na druge biopolimere. Odstupanja u rezultatima mjerenja uspoređujući različite literaturne podatke su moguća zbog različite koncentracije plastifikatora i debljine filma.

Brzina prijenosa vodene pare (WVTR) manja je kod višeg gradijenta relativne vlažnosti u odnosu na niži gradijent (slika 10). Povećanjem koncentracije dodataka dolazi do povećanih vrijednosti WVTR što ukazuje na promjene u strukturi polimernog matriksa dodatkom plastifikatora i aktivne komponente.

Najveća brzina prijenosa vodene pare izmjerena je kod CMC uzorka i to kod višeg gradijenta relativne vlažnosti ($9,26 \times 10^{-3} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$), a dok mu je brzina prijenosa značajnije smanjena kod nižeg gradijenta ($0,1 \times 10^{-3} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$). Kod nižeg gradijenta relativne vlažnosti može se primijetiti da filmovi sa dodanom aktivnom komponentom i dodanim plastifikatorom imaju veću brzinu prijenosa. To bi moglo biti posljedica povećanja međulančanog razmaka uzrokovanog uključivanjem molekula glicerola između polimernih lanaca što rezultira difuzijom vodene pare kroz film i time ubrzava WVTR. Slična zapažanja dostupna su u znanstvenoj literaturi za filmove na bazi celuloze i pektina (Bisht i sur., 2017)

4.6. PROPUSNOST FILMOVA NA PLINOVE

Rezultati mjerenja propusnosti filmova na plinove dani su u tablici 6. Budući su filmovi od CMC-a bez dodataka plastifikatora bili prelomljivi, mjerenja propusnosti na plinove za taj tip uzoraka nije bilo moguće provesti. Poznavanje propusnosti materijala na plinove, i to posebice kisik i CO₂ važno je kod većine prehrambenih proizvoda, a posebice kod one hrane koja je osjetljiva na oksidaciju (masti i ulja ili proteina) kao i hranu koja diše i nakon procesiranja a tijekom skladištenja poput minimalno procesiranog voća i povrća. Dodatkom glicerola i aktivnog praha eteričnog ulja komorača dolazi do povišenja propusnosti na plinove CMC filmova. Suprotno tome, kod PEC filmova, dodatkom aktivnog praha smanjuje se propusnost na plinove. Ovi rezultati ukazuju na moguće promjene u strukturi materijala

dodatkom aktivnog praha, koji kod CMC narušava kristalnu rešetku filma i povećava slobodan prostor za prolaz molekula plina, dok kod PEC filmova povoljno utječe smanjujući im propusnost. Propusnost na kisik kretala se od $6 \times 10^{-4} \text{ cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ dan}^{-1} \text{ bar}^{-1}$ za PEC0,5A film do $1232 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ dan}^{-1} \text{ bar}^{-1}$ za CMCGLY film. Razlike u vrijednostima su 1000 puta. Stoga bi se trebala provesti daljnja istraživanja kako bi se utvrdile eventualne strukturalne promjene u polimernom matriksu. Propusnost na CO₂ je viša u odnosu na PO₂.

Tablica 6. Rezultati mjerenja propusnosti na kisik i ugljični dioksid.

| Uzorak | PO₂ (cm³ m⁻¹ dan⁻¹ bar⁻¹) x 10⁻⁵ | PCO₂ (cm³ m⁻¹ dan⁻¹ bar⁻¹) x 10⁻⁵ |
|----------------|---|--|
| CMC | Nm | nm |
| CMCGLY | 488 ± 52 ^b | 359 ± 103 ^b |
| CMC0,5A | 614 ± 105 ^b | 1086 ± 220 ^d |
| CMC1A | 1232 ± 152 ^d | 868 ± 98 ^c |
| PEC | 582 ± 65 ^b | 1114 ± 120 ^d |
| PECGLY | 758 ± 60 ^c | 1200 ± 212 ^d |
| PEC0,5A | 6 ± 2 ^a | 10 ± 2 ^a |
| PEC1A | 13 ± 6 ^a | 13 ± 4 ^a |

CMC – karboksimetil celuloza, PEC - pektin, GLY- film s dodatkom glicerola, A – aktivni prah eteričnog ulja komorača. nm – nije mjereno.

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

5. ZAKLJUČCI

U provedenom istraživanju uspješno su proizvedeni filmovi na bazi karboksimetil celuloze i pektina s dodatkom aktivne komponente komorača.

1. Pripremljeni filmovi su bili su ujednačeni i bez vidljivih nepravilnosti na površini. Jednostavni filmovi bili su gotovo prozirni dok se dodatkom aktivne komponente i glicerola ukazao žuto-zeleni ton, no razlika u boji nije vidljiva ljudskom oku.
2. Dodatkom glicerola i aktivnog praha eteričnog ulja komorača promijenjena su svojstva propusnosti filmova na plinove (O_2 i CO_2) i to tako da se propusnost povećava..
3. Filmovi na bazi pektina pokazuju bolja barijerna svojstva u odnosu na filmove od karboksimetil celuloze. Razlog takvom ponašanju su moguće promjene u strukturi materijala dodatkom aktivne komponente. Najmanju propusnost na kisik ima PEC0,5A film ($6 \times 10^{-4} \text{ cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ dan}^{-1} \text{ bar}^{-1}$) a najveću CMCGLY film ($1232 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ dan}^{-1} \text{ bar}^{-1}$). Razlika u vrijednostima od 1000 puta vjerojatno je posljedica strukturalnih promjena u polimernom matriksu, no potrebna su daljnja istraživanja.
4. Propustljivost svjetlosti u UVC, UVB i UVA (200-400 nm) dijelu spektra kod filmova bez dodataka (CMC i PEC) bila je veća nego kod onih s dodatkom aktivnih komponenti i plastifikatora što znači da filmovi s dodatkom eteričnog ulja komorača omogućavaju zaštitnu UV barijeru.
5. Filmovi na bazi pektina imaju manju propusnost na vodenu paru u odnosu na filmove od karboksimetil celuloze. Razlog tomu je hidrofilni karakter filmova. Dodatkom glicerola došlo je do značajnog povećanja propusnosti na vodenu paru, što je posebno vidljivo kod CMC filma ($2,08 \times 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$) u odnosu na PEC ($1,23 \times 2,08 \times 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$) gdje je propusnost manja. Dodatak aktivnog praha uzrokuje smanjenje propusnosti kod obje vrste filmova.
6. Pri višem gradijentu RH ($\Delta 70 \%$) brzina prijenosa vodene pare kod CMC filma iznosi $9,26 \times 10^{-3} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ što je statistički značajno veće u odnosu na onu pri nižem gradijentu RH ($\Delta 20 \%$) gdje iznosi $0,1 \times 10^{-3} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$. Pretpostavka je da molekula glicerola uzrokuje povećanje međulančanog razmaka između polimernih lanaca.

6. LITERATURA

Aguirre – Loredo RY, Rodríguez – Hernández AI, Morales – Sánchez E, Gómez Aldapa CA, Velazquez G (2016) Effect of equilibrium moisture content on barrier, mechanical and thermal properties of chitosan films. *Food Chem* **196**, 560 - 566. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.065>

Anonymous 1 (2022) <<https://www.swicofil.com/commerce/products/chitosan/516/introduction>> Pristupljeno 26. svibnja 2022.

Anonymous 2 (2022) <<https://www.lamyrrheology.com/EN/produits/rm-100-plus/>> . Pristupljeno 15. svibnja 2022.

Anonymous 3 (2022) <https://www.mt.com/hr/hr/home/products/Laboratory_Analytics_Browse/pHmeter/portable-pH-meter/fivego/F2-Field-Kit.html> Pristupljeno 15. svibnja 2022.

Anonymous 4 (2022) <<https://www.megashop.hr/digitalni-mikrometar-helios-preisser-0912502-mjerno-podru-je-25---50-mm-o-itavanje-0001-mm-1234451>> Pristupljeno 15. svibnja 2022.

Anonymous 5 (2022) <https://www.bruggerfeinmechanik.com/fileadmin/user_upload/Datenblaetter/P_GDP-C_gb.pdf> Pristupljeno 15. svibnja 2022.

AOAC (1995). Official methods of analysis 16th Ed. Association of official analytical chemists. Washington DC, USA.

ASTM Standard Test Method E96 – 80, Water Vapor Transmission of Materials (2016)

Basiak E, Lenart A, Debeaufort F (2018) How glycerol and water contents affect the structural and functional properties of starch-based edible films. *Polymer* **10**(4), 412. <https://doi.org/10.3390/polym10040412>

Bisht SA, Alam SM, Bhatia, Gupta S (2017) Studies on development and evaluation of glycerol incorporated cellulose and alginate based edible films. *Indian J Agric Biochem* **30** (1), 67-72. <https://doi.org/10.5958/0974-4479.2017.00010>

- Badgujar SB, Patel VV, Bandivdekar AH (2014) *Foeniculum vulgare* Mill: A review of its botany, phytochemistry, pharmacology, contemporary application and toxicology. *Bio Med Res Int* 1-32. <https://doi.org/10.1155/2014/84267>
- Benmoussa H, Farhat A, Romdhane M, Bouajila J (2019) Enhanced solvent-free microwave extraction of *Foeniculum vulgare* Mill. essential oil seeds using double walled reactor. *Arabian J Chem* **12**(8), 3863-3870. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.02.010>
- Blekić M, Režek Jambrak A, Chemat F (2011) Mikrovalna ekstrakcija bioaktivnih spojeva. *Croat J Food Sci Technol* **3**(1), 32-47.
- Borovac, I. (2015): Ljekoviti vrt. 24sata d.o.o., Zagreb
- Boudraa H, Kadri N, Mouni L, Madani K (2021) Microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from fennel seeds: Optimization using Plackett–Burman design and response surface methodology. *J App Res Med Arom Plant* **23**, 2214-7861. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100307>
- Bourbon AI, Pinheiro AC, Cerqueira MA, Rocha CMR, Avides MC, Quintas MAC, Vicente AA (2011) Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. *J Food Eng*, **106**(2), 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.03.024>
- Chaichi M, Hashemi M, Badii F, Mohammadi A (2017) Preparation and characterization of a novel bionanocomposite edible film based on pectin and crystalline nanocellulose. *Carb Polym* **157**, 167–175. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.062>
- Chakravartula SSN, Soccio M, Lotti N, Balestra F, Dalla Rosa M, Siracusa V (2019) Characterization of composite edible films based on pectin/alginate/whey protein concentrate. *Materials (Basel)* **12**(15), 2454. <https://doi.org/10.3390/ma12152454>
- Chemat F, Vian M, Cravotto G (2012) Green extraction of natural products: concept and principles. *Int J Mol Sci*, **13**(7), 8615–8627. <https://doi.org/10.3390/ijms13078615>
- Debeaufort F, Martin-Polo M, Voilley A (1993) Polarity and structure affect water vapor permeability of model edible films. *J Food Sci* **58**, 428–434. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb04290.x>

Destandau E, Michel T, Elfakir C (2013) Microwave - assisted Extractiona, U: Natural Product Extraction: Principles and Applications (Rostagno MA, Prado JM ured.) The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Cambridge, str. 113-135.

Dias DR, Botrel DA, Fernandes R, Borges SV (2017) Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods. *Curr Opin Food Sci* **13**, 31-37. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.02.001>.

Ebrahimi I, Gashti MP (2018) Polypyrrole-MWCNT-Ag composites for electromagnetic shielding: Comparison between chemical deposition and UV-reduction approaches. *J Phys Chem Solid* **118**, 80–87. <https://doi.org/10.1016/j.jpics.2018.03.008>

Ebrahimi Y, Peighambardoust SJ, Peighambardoust SH, Karkaj SZ (2019) Development of antibacterial carboxymethyl cellulose-based nanobiocomposite films containing various metallic nanoparticles for food packaging applications. *J Food Sci* **84**(9), 2537-2548. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14744>

Espitia PJE, Du WX, Avena-Bustillos RJ, Soares NFF, McHugh TH (2013) Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties- A review. *Food Hydrocolloid* **35**, 287-296. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.005>

Falguera V, Quintero JP, Jimenez A, Munoz JA, Ibarz A (2011) Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trend Food Sci Technol* **22**(6), 292–303. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.02.004>

Galić K (2009) Jestiva ambalaža u prehrambenoj industriji. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam* **4**(1-2), 23-31.

Galus S, Turska A, Lenart A (2012) Sorption and wetting properties of pectin edible films. *Czech J Food Sci* **30**(5), 446–455.

Ghorpade VM, Li H, Gennadios A, Hanna MA (1995) Chemically modified soy protein films. *T. ASAE* **38**, 1805–1808. <https://doi.org/10.13031/2013.28007>

Gontard N, Thibault R, Cuq B, Guilbert S (1996) Influence of relative humidity on film composition on oxygen and carbon dioxide permeabilities of edible films. *J Agr Food Chem* **44**, 1064–1069. <https://doi.org/10.1021/jf9504327>

- González-Tejero MR, Casares-Porcel M, Sánchez-Rojas CP, Ramiro-Gutiérrez JM, Molero-Mesa J, Pieroni A, El Johrig S (2008) Medicinal plants in the Mediterranean area: Synthesis of the results of the project Rubia. *J Ethnopharmacol* **116**(2), 341–357. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.11.045>
- Grlić L (1990) Enciklopedija samoniklog jestivog bilja, 2.izd. August Cesarec, Zagreb
- Guilbert S, Gontard N (2005). Agro-polymers for edible and biodegradable films: Review of agricultural polymeric materials, physical and mechanical characteristics. *Innov Food Pack* 263–276. <https://doi.org/10.1016/B978-012311632-1/50048-6>
- Hulina N (2011): Više biljke stablašice. Golden marketing–Tehnička knjiga, Zagreb, **73** (3), str. 179-183. <https://hrcak.srce.hr/76756>.
- Jolie RP, Duvetter T, Van Loey AM, Hendrickx ME (2010) Pectin methylesterase and its proteinaceous inhibitor: a review. *Carbohydr Res* **345**(18), 2583-2595. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2010.10.002>
- Lacroix M, Le Tien C (2005) Edible films and coatings from nonstarch polysaccharides. *Innov Food Pack* 338–361. <https://doi.org/10.1016/B978-012311632-1/50052-8>
- Leung LM, Koberstein JT (1986) DSC annealing study of microphase separation and multiple endothermic behavior in polyether-based polyurethane block copolymers. *Macromol* **19**(3), 706–713. <https://doi.org/10.1021/ma00157a038>
- Li H, Shi H, He Y, Fei X, Peng L (2020) Preparation and characterization of carboxymethyl cellulose-based composite films reinforced by cellulose nanocrystals derived from pea hull waste for food packaging applications. *Int J Biol Macromol* **164**, 4104-4112. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.010>
- Li X, Ren Z, Wang R, Liu L, Zhang J, Ma F, Liu X (2021) Characterization and antibacterial activity of edible films based on carboxymethyl cellulose, *Dioscorea opposita* mucilage, glycerol and ZnO nanoparticles. *Food Chem* **349**, 129208. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129208>
- Lin D, Zheng Y, Wang X, Huang Y, Ni L, Chen X, Wu D (2020) Study on physicochemical properties, antioxidant and antimicrobial activity of okara soluble dietary fiber/sodium carboxymethyl cellulose/thyme essential oil active edible composite films incorporated

with pectin. *Inl J Biol Macromol* **165**, 1241-1249.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.005>

Lintang M, Tandi O, Layuk P, Karouw S, Dirpan A (2021) Characterization edible films of sago with glycerol as a plasticizer. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci* **807**, 1315-1755.
<http://dx.doi.org/10.1088/1755-1315/807/2/022070>

Lovrić T (2003) *Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva*, Hinus, Zagreb.

Jridi M, Hajji S, Ayed HB, Lassoued I, Mbarek A, Kammoun M, Nasri M (2014) Physical, structural, antioxidant and antimicrobial properties of gelatin–chitosan composite edible films. *Int J Biol Macromol* **67**, 373–379. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.03.054>

Martins JT, Cerqueira MA, Vicente AA. (2012) Influence of α -tocopherol on physicochemical properties of chitosan - based films. *Food Hydrocol* **27**(1), 220 – 227.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.06.011>

Mirdehghan-Ashkezari SM, Bahmanyar H, Azizpour H, Najafipour I, Mohammadi M (2021) Investigation of operating parameters on ultrasound-assisted extraction of anethole in fennel essential oil. *J Chem Petrol Eng* **55**(2), 339-351.
<https://dx.doi.org/10.22059/jchpe.2021.325123.1352>

Mohammadi M, Azizi HM, Zoghi A (2020) Antimicrobial activity of carboxymethyl cellulose–gelatin film containing *Dianthus barbatus* essential oil against aflatoxinproducing molds. *Food Sci Nutr* **8**(2), 1244-1253. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1413>

Mohsen S, Mirdehghan A, Bahmanyar H, Azizpour H, Mohammadi M, Najafipour I (2021) Investigation of operating parameters on ultrasound-assisted extraction of anethole in fennel essential oil. *J Chem Petroleum Eng* **55**(2), 339-351.
<https://dx.doi.org/10.22059/jchpe.2021.325123.1352>

Mustafa A, Turne C (2011) Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. *Anal Chim Acta* **703**, 8-18.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.07.018>

Navarro-Cruz AR, Ochoa-Velasco CE, Caballero-Alvarez FJ, Lazcano-Hernández A, Vera-López O, López-Malo A, Avila-Sosa R (2018) Effect of pH and mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) essential oil added to carboxymethyl cellulose and starch edible films

on *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. *J Food Qual* 1–6.
<https://doi.org/10.1155/2018/1659394>

Nedović V, Kalušević A, Manojlović V, Lević S, Bugarski B (2011) An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Sci* 1, 1806-1815.
<https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.265>

Nieto MB (2016) Edible films and packaging using gum polysaccharides. U: Ângelo, M., Nuno R, Pereira C, Leandro Ó, Ramos D S, António J, Teixeira C i Augusto Vicente A. (ured.) *Edible Food Packaging: Materials and Processing Technologies*, 1 izd. CRC Press. str. 71. <https://doi.org/10.1201/b19468>

Pavlić B (2017) Valorizacija sporednog proizvoda žalfije (*Salvia officinalis* L.) u cilju dobijanja bioaktivnih jedinjenja savremenim tehnikama ekstrakcije (doktorska disertacija), Tehnološki fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.

Peng Y, Wu Y, Li Y (2013) Development of tea extracts and chitosan composite films for active packaging materials. *Int J Biol Macromol* 59, 282-289.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.04.019>

Petersen K, Nielsen PV, Bertelsen G, Lawther M, Olsen MB, Nilssonk NH, Mortenseny G (1999) Potential of biobased materials for food packaging. *Trend Food Sci Technol* 10, 52-68.

Petrović V, Milković M, Valdec D (2013) Komparacija karakteristika ink-jet otisaka dobivenih vodenim, solventnim i UV bojilima. *Tehnički glasnik* 7(2), 191 – 197.
<https://hrcak.srce.hr/105606>

Pravilnik (2010) Pravilnik o prehrambenim aditivima. NN62/2010. Narodne novine 62, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010_05_62_1981.html Pristupljeno 4. lipnja 2022.

Pravilnik (2009) Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti materijala i predmeta koji dolaze u neposredan dodir s hranom. NN125/2009. Narodne novine 125, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009_10_125_3092.html Pristupljeno 3. lipnja 2022.

Pravilnik (2005) Pravilnik o mjeriteljskim zahtjevima za pakovine i boce kao mjerne spremnike. NN 90/2005. Narodne novine 1792. Zgareb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2005_07_90_1792.html Pristupljeno 4 lipnja 2022.

Rather MA, Dar BA, Sofi SN, Bhat BA, Qurishi MA (2016) *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. *Arab J Chem* **9**, 1574-1583. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.04.011>

Ray S, Raychaudhuri U, Chakraborty R (2016) An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. *Food Biosci* **13**, 76- 83. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2015.12.009>

Shekarabi AS, Oromiehie AR, Vaziri A, Ardjmand M, Safekordi AA (2014) Effect of glycerol concentration on physical properties of composite films prepared from plum gum and carboxymethyl cellulose. *Ind J Fund App Life Sci* **4**(54), 1241–1248.

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. <https://www.jstor.org/stable/43958337>

Skurtys O, Acevedo C, Pedreschi F, Enrione J, Osorio F, Aguilera JM (2010) Food hydrocolloid edible films and coatings. U: Hollingworth CS (ured.) Food Hydrocolloids: Characteristics, Properties and Structures, *Nova Science Publishers, Inc.*, New York, str. 41- 80.

Tokić I, Fruk G, Jemrić T (2011) Biorazgradiva ambalaža za čuvanje voća i drugih hortikulturnih proizvoda: materijali, svojstva i učinak na kakvoću. *J Cent Eur Agric* **12**, 226–238. <https://hrcak.srce.hr/71230>.

Tongdeesontorn W, Mauer L, Wongruong S, Sriburi P, Rachtanapun P (2011) Effect of carboxymethyl cellulose concentration on physical properties of biodegradable cassava starch-based films. *Purdue e-Pubs* **5**, 6. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-5-6>

Uredba (EZ) br. 450/2009 Europskog parlamenta i Vijeća od 29. svibnja 2009. o aktivnim i inteligentnim materijalima i predmetima koji dolaze u dodir s hranom.

Utami Hatmi R, Apriyati E, Cahyaningrum N (2020) Edible coating quality with three types of starch and sorbitol plasticizer. *E3S Web of Conf* **142**, 9. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202014202003>

Vujković I, Galić K, Vereš M (2007) Ambalaža za pakiranje namirnica, Sveučilišni udžbenik, TECTUS, Zagreb.

Wong L, Weller CL (2006) Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trend Food Sci Technol* **17**, 300. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.004>

Xue GQ, Liu Q, Han YQ, Wei HG, Dong T (2006) Determination of thirteen metal elements in the plant *Foeniculum vulgare* Mill. by flame atomic absorption spectrophotometry. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi* **26**(10), 1935– 1938.

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja IVONA KNEŽEVIĆ izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

A handwritten signature in cursive script, reading "Ivona Knežević", is written over a horizontal line.

Vlastoručni potpis