

Karakterizacija višeslojnih filmova od poli (mliječne kiseline) i barijernog sloja od želatine

Raguž, Katarina

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:159:283278>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-13**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, studeni 2022.

Katarina Raguž

**KARAKTERIZACIJA
VIŠESLOJNIH FILMOVA OD
POLI(MLIJEČNE KISELINE) I
BARIJERNOG SLOJA OD
ŽELATINE**

Rad je izrađen u Laboratoriju za pakiranje hrane na Zavodu za prehrambeno - tehnološko inženjerstvo Prehrambeno - biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Mije Kurek.

Željela bih se zahvaliti mentorici izv. prof. dr. sc. Miji Kurek na nesebičnoj pomoći, brojnim stručnim savjetima i prijedlozima, a posebno na izdvojenom trudu i vremenu koje mi je pružila tijekom pisanja diplomskog rada.

Hvala i mojoj dragoj obitelji koja me podržavala tijekom čitavog obrazovanja i uvijek bila uz mene.

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: Prehrambeno inženjerstvo

KARAKTERIZACIJA VIŠESLOJNIH FILMOVA OD POLI(MLIJEČNE KISELINE) I BARIJERNOG SLOJA OD ŽELATINE

Katarina Raguž, univ. bacc. ing. techn. aliment.
0058218768

Sažetak: Inovacije u području pakiranja hrane usmjerene su na alternativne metode i ekološki prigvatljive materijale koji ispunjavaju zahtjeva tržišta i potrošača za smanjenom upotrebomplastičnih ambalažnih materijala. U ovome radu karakterizirani su filmovi na bazi poli(mliječnekiseline) (PLA) s dodatkom sloja želatine (GEL), s i bez dodatka galne (GA) i taninskekiseline (TA). Ispitivana su određena fizikalno kemijska svojstva, kao što su: debljina, boja, transparentnost, propusnost plinova, te propusnost na vodenu paru. Debljina filmova se povećala nakon dodatka sloja želatine, galne i taninske kiseline u odnosu na kontrolni PLA film. Ukupna razlika u obojenosti nije bila vidljiva ljudskom oku. Dodatkom želatine, te želatine i galne kiseline, smanjila se prozirnost u odnosu na kontrolniuzorak. Dodatkom galne i taninske kiseline dobiva se nepropusnija i kompleksnija struktura, zbog tog što se povećava kristaličnost matriksa. Najveću brzinu prijenosa vodene pare izmjeren je ukontrolnom uzorku (PLA) dok se brzina prijenosa vodene pare smanjuje se dodatkom želatine, galne i taninske kiseline.

Ključne riječi: *poli(mliječna kiselina), želatina, fenolne kiseline, višeslojni filmovi, barijerna svojstva*

Rad sadrži: 47 stranica, 14 slika, 3 tablice, 91 literaturni navod, 1 prilog

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: izv. prof. dr. sc. Mia Kurek

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

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

Datum obrane: 15. studenog 2022. godine

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 Engineering

CHARACTERIZATION OF MULTILAYER POLY(LACTIC ACID) FILMS AND GELATIN BARRIER LAYER

Katarina Raguž, univ. bacc. ing. techn. aliment.
0058218768

Abstract: Innovations in the field of food packaging are focused on alternative methods and environmentally friendly materials that meet market and consumer demands for reduced use of plastic packaging materials. In this work, films based on poly(lactic acid) (PLA) with the addition of a layer of gelatin (GEL), without and with the addition of gallic (GA) and tannic acid (TA) were investigated. These samples were tested for certain physico-chemical properties, such as: thickness, colour, transparency, gas permeability, and water vapour permeability. The thickness of the films increased after the addition of a layer of gelatin, gallic and tannic acid compared to the control PLA film. The overall difference in colour was not visible to the human eye. With the addition of gelatin, and gelatin with gallic acid, the transparency decreased compared to the control film. With the addition of gallic and tannic acid, an impermeable and complex structure was obtained, due to the fact that the crystallinity of the matrix was increased. The control sample PLA had the highest water vapor transfer rate, while it was reduced by the addition of gelatin, gallic and tannic acid.

Keywords: *poly(lactic acid), gelatin, phenolic acids, multilayer films, barrier properties*

Thesis contains: 47 pages, 14 figures, 3 tables, 91 references, 1 supplement

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, Associate professor

Reviewers:

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

Thesis defended: November 15th, 2022

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. PAKIRANJE HRANE	3
2.2. BIOMATERIJALI U PAKIRANJU HRANE.....	4
2.2.1. Poli(mliječna kiselina) (PLA)	5
2.2.2. Želatina	8
2.3. KOMBINACIJE BIOMATERIJALA ZA PAKIRANJE HRANE.....	12
2.3.1. Poboljšanje svojstava filmova od želatine	12
2.3.2. Kompozitni filmovi od želatine s drugim biopolimerima.....	13
2.3.3. Kompozitni filmovi od želatine s antioksidansima.....	14
2.3.4. Biomaterijali u kombinaciji s PLA	18
2.4. BARIJERNA SVOJSTVA MATERIJALA ZA PAKIRANJE HRANE.....	19
2.5. ODRŽIVOST I RECIKLIRANJE.....	20
3. EKSPERIMENTALNI DIO	22
3.1. MATERIJALI	22
3.2. PRIPREMA MATERIJALA.....	23
3.3. METODE	24
3.3.1. Debljina filma	24
3.3.2. Boja filma.....	24
3.3.3. Mjerenje transparentnosti filmova	25
3.3.4. Određivanje propusnosti plinova kroz film	26
3.3.5. Mjerenje propusnosti vodene pare	26
3.3.6. Statistička analiza.....	27
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	28
4.1. MJERENJE DEBLJINE FILMOVA	28
4.2. BOJA I TRANSPARENTNOST MATERIJALA	29
4.3. PROPUSNOST NA PLINOVE	31
4.4. ODREĐIVANJE PROPUSNOSTI VODENE PARE.....	33
5. ZAKLJUČAK.....	37
6. LITERATURA	38
7. PRILOZI.....	47

1. UVOD

Pakiranje hrane je vrlo važna etapa u proizvodnji prehrambenih proizvoda, od proizvodne linije do konzumacije, čineći veliki poslovni sektor, gdje se na tržište svakodnevno plasiraju brojne inovacije. Zbog česte promijene zahtjeva potrošača, inovativne tehnologije pakiranja se intenzivno razvijaju, a u 21. stoljeću su orijentirane na razvoj ekološki prihvatljivih metoda i materijala za pakiranje. Ipak, razvijeni, odnosno novi materijali moraju zadovoljiti sva svojstva potrebna za očuvanje kvalitete upakiranog proizvoda kako bi efikasno omogućili produženje trajnosti proizvoda a samim time i uspješan plasman na tržište (Robertson, 2013).

Izbor materijala za pakiranje prehrambenih proizvoda je izuzetno velik uključujući materijale od papira, stakla, plastike, biorazgradivih materijala, metala, keramike i drva. Materijal za pakiranje trebao bi biti isplativ i za potrošače i za proizvođače. Također bi trebao zaštititi prehrambeni proizvod tijekom skladištenja, transporta i distribucije. Svaki materijal za pakiranje je različit u smislu fizičkih, kemijskih i funkcionalnih svojstava. Svojstva materijala za pakiranje služe kao osnova za izbor materijala za pakiranje prehrambenih proizvoda. Osnovna svojstva materijala za pakiranje koja utječu na kvalitetu i sigurnost su: barijerna, mehanička, kemijska reaktivnost i migracije (Kim i sur., 2014). Poznavanje barijernih svojstava od iznimne je važnosti za očuvanje trajnosti upakiranog proizvoda.

Široko poznavanje svojstava ambalažnog materijala ključno je u projektiranju ambalažnog materijala za pojedine proizvode. Svojstva materijala za pakiranje kao što su mehanička čvrstoća, propusnost plina i sposobnost brtvljenja određuju prikladnost materijala za pakiranje za namjeravanu namjenu (Marsh i Bugusu, 2007). Industrija hrane, tekstila i plastične ambalaže postala je vidljiva u prvim redovima programa održivosti, ne zato što je glavni uzrok ekoloških problema, već zato što njihova uporaba izravno utječe na potrošače. Proizvodi na biološkoj osnovi postali su privlačniji, a recikliranje materijala na biološkoj bazi moglo bi biti održivije od kompostiranja (Ahmad i sur., 2017). Biorazgradivi materijali za pakiranje hrane na bazi biopolimera mogu poslužiti kao učinkovita alternativa materijalima iz petrokemijskih izvora. Stoga se očekuje da će napredak na ovom polju nedvojbeno ispuniti svoj cilj i dati izvrsne rezultate (Ahmad i sur., 2017). Iako su biomaterijali postali sve češća tema znanstvenih istraživanja kao rješenje na ekološke probleme, često njihova svojstva nisu ni približno slična tradicionalnim plastičnim materijalima. Stoga se nastoje naći odgovarajuće

metode kako bi se bez narušavanja ekološki prihvatljivog karaktera poboljšala svojstva materijala. Jedna od predloženih je premazivanje materijala s barijernim premazima, također biorazgradivog karaktera. Sukladno tome, glavni cilj ovog diplomskog rada je karakterizacija višeslojnog materijala od poli(mliječne kiseline) s tankim barijernim slojem želatine. Nadalje određen je utjecaj dodataka polifenola, taninske i galne kiseline na svojstva sloja od želatine te konačnog višeslojnog materijala.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. PAKIRANJE HRANE

U današnjem društvu pakiranje je sveprisutno i bitno. Pakiranje štiti proizvod koji se kupuje, od prerade i proizvodnje, preko rukovanja i skladištenja, do krajnjeg potrošača. Bez pakiranja, rukovanje proizvodima bi bilo neuredno, neučinkovito i skupo, a marketing bi bio gotovo nemoguć. Sektor ambalaže predstavlja oko 2% bruto nacionalnog prometa proizvoda u razvijenim zemljama, a oko polovice ambalaže se koristi za pakiranje hrane (Robertson, 2013). Visoko sofisticirane industrije ambalaže koje danas karakteriziraju moderno društvo daleko su od jednostavne aktivnosti pakiranja iz ranijih vremena. Cijelo područje prehrambene tehnologije i znanosti doživjelo je eksponencijalni razvoj tijekom zadnjih 30-ak godina, što je i evidentno iz broja znanstvenih radova i knjiga posvećenih pakiranju hrane (Robertson, 2013). Prema Pravilniku o mjeriteljskim zahtjevima za pakovine i boce kao mjerne spremnike (NN 90/2005), u kontekstu pakiranja hrane definirani su slijedeći pojmovi:

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

Tehnologije pakiranja hrane razvijaju se s primarnim ciljem očuvanja izvorne kvalitete upakiranog proizvoda. Funkcije ambalaže su mnogobrojne. Odgovarajućom metodom i materijalom, osigurava se zaštita prehrambenog proizvoda od bioloških, fizičkih ili kemijskih oštećenja (Ahmad i sur., 2017). Ambalaža ima i skladišno-transportnu, racionalizacijsku, te uporabnu funkciju. Nadalje pakiranje hrane ima i informativnu, prodajnu i marketinšku ulogu. Drugim riječima, oblikom, bojom i deklaracijom na pakiranju, ostvaruje se komunikacija između proizvođača i potrošača. Funkcije pakiranja su međusobno povezane i sve se moraju istovremeno procjenjivati i razmatrati u procesu odabira i materijala i metode za pakiranje određenog proizvoda. Prema osnovnoj podjeli, a s obzirom na odnos s upakiranim proizvodom, pakiranje se može podijeliti na primarno, sekundarno (pakira se veći broj prodajnih jedinica malih dimenzija - "skupna jedinica"), tercijarno (olakšava rukovanje i transport određenog broja prodajnih jedinica ili skupne ambalaže) i kvartarno (koristi se za olakšano rukovanje i transport tercijarne ambalaže). S gledišta zaštite proizvoda, od najveće važnosti je ono koje je u izravnom kontaktu s namirnicom, odnosno primarno pakiranje (Ahmad i sur., 2017).

Materijali za pakiranje koji se najčešće koriste u prehrambenoj industriji su polimeri, papir, staklo i metali. Nekad se ambalaža sastoji i od kombinacije 2 ili više materijala (laminati). Efikasnost pakiranja u ispunjenju očekivane funkcije ovisit će o kemijskom sastavu i fizičkim karakteristikama materijala od kojega je načinjen, kao i o svojstvima upakirane namirnice. Iskorištena ambalaža za hranu čini veliki udio gradskog krutog otpada i taj udio stalno raste. Unatoč važnoj i ključnoj ulozi koju ambalaža igra, često se smatra nužnim zlom ili nepotrebnim troškom. Zbog povećanja osviještenosti o problemu otpada i zbog stalno rastuće cijene zbrinjavanja otpada, ova je tema sve aktualnija. Poseban problem predstavlja polimerna ambalaža. Nju čini niz široko rasprostranjenih sintetskih ambalažnih materijala različitih i promjenjivih svojstava ključnih za njihov uspjeh, koji, iako su jeftini i pružaju izvrsnu zaštitu proizvodu imaju veliku manu, a to je da su teško razgradivi. Stoga su zahtjevi za biorazgradivim polimerima sve značajniji (Berk, 2018).

2.2.BIOMATERIJALI U PAKIRANJU HRANE

Prema standardu EN16575:2014, bio-bazirano znači da je materijal izrađen od obnovljivih, prirodnih sirovina. Kukuruz, krumpir, riža, soja, šećerna trska, pšenica i biljno ulje, mogu se transformirati kemijskim ili biološkim procesima. Posljednjih desetljeća našli su primjenu u raznim sektorima. Biomaterijali su postali atraktivni u posljednjim desetljećima zbog ekoloških i ekonomskih razloga. Mogu se sintetizirati uglavnom proizvodnjom polimera izravno iz prirodnih spojeva ili proizvodnjom monomera izvorno prisutnih u prirodi i njihovom naknadnom (bio)kemijskom polimerizacijom, kroz procese kao što je fermentacija. Bez obzira na način proizvodnje biomaterijala, glavni problem je kontrolirati njihov sastav, ponovljivost i dužinu polimernog lanca. Glavna prepreka je u tome da (mikro)organizam učini ciljano biosintezu dosljedno i opetovano. Stoga se provodi kontrolirana kemijska polimerizacija s biomonomerima (Razzaq i sur., 2016; Storz i Vorlop 2013).

Biomaterijali uključuju:

- biopolimere,
- nanomaterijale iz prirodnih izvora,
- vlakna prisutna u prirodi i njihove kompozite.

Biopolimeri se općenito mogu klasificirati u četiri grupe:

- 1) polimeri ekstrahirani iz biomase, kao što su celuloza, hemiceluloza i hitin;
- 2) sintetski polimeri iz monomera biomase, kao što su poli(mliječna kiselina) (PLA) i biopolietilen (BioPE);

3) polimeri proizvedeni mikroorganizmima, kao što su polihidroksialkanoati (PHA), bakterijska celuloza; i

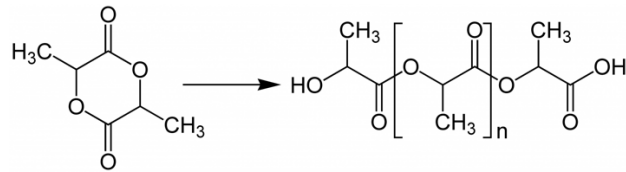
4) biorazgradivi polimeri sintetizirani iz petrokemijskih monomera, kao što su polikaprolakton (PCL), poli(butilen sukcinat-ko-adipat) (PBSA), poli(butilen adipat-tereftalat) (PBAT), poli(glikolna kiselina) (PGA), polibutilen sukcinat (PBS) i polipropilen karbonat (PPC).

Prirodni nanomaterijali uglavnom uključuju nanokristale celuloze, celulozna nanovlakna, nanokristale hitina i druge nanomaterijale iz biomase. Vlakna iz prirodnih izvora odnose se na prirodna vlakna koja proizvode životinje, biljke ili ona nastala geološkim procesima. Budući da materijali za pakiranje hrane moraju zadovoljiti nekoliko zahtjeva, kao što su mehanička svojstva, propusnost i antibakterijska svojstva, stvarna primjena biomaterijala za pakiranje hrane obično uključuje njihove kompozite (Wang i sur., 2020).

Inovativnost principa aktivnog pakiranja proizlazi iz mogućnosti kontroliranog otpuštanja aktivnih tvari iz materijala za pakiranje. Stoga je utvrđeno da bi se kombinacija aktivnih tvari izravno s materijalima za pakiranje nedvojbeno pokazala učinkovitom, a mogla bi biti i pouzdana. Vrlo je bitno napomenuti da treba koristiti samo potrebnu količinu aktivnog spoja. S obzirom na osjetljivost prehrambenih proizvoda najčešće se ugrađuju oni s antimikrobnim i antioksidacijskim svojstvima (Ahmad i sur., 2017). Potpuna zamjena plastike biorazgradivim materijalima je nemoguća, ali očekuje se sve veća upotreba biopolimera u budućnosti (Siracusa i sur., 2008).

2.2.1. Poli(mliječna kiselina) (PLA)

PLA pripada skupini biopolimera koji su proizvedeni sintezom monomera iz biomaterijala, odnosno obnovljivih izvora, i to fermentacijom glukoze podrijetlom iz škroba, laktoze iz sirutke ili sukroze iz melase. S industrijskog aspekta smatra se najprofitabilnijim biorazgradivim ambalažnim materijalom. Prvi put je sintetizirana prije više od 150 godina, ali zbog tehnoloških i gospodarskih razloga njena proizvodnja nije zaživjela. Međutim, u 90-tim godinama prošlog stoljeća PLA postaje popularna zahvaljujući ekonomičnoj proizvodnji iz obnovljivih izvora, te posljedično dolazi do ubrzanog razvoja i proizvodnje PLA. Svojim optičkim, mehaničkim, termičkim i barijernim svojstvima slična je polipropilenu, poli(etilen-tereftalatu) i polistirenu, a ču regulatornim tijelima SAD-a, dodijeljen joj je i GRAS status (*engl. Generally Recognized as Safe*) (Castro - Aguire i sur., 2016).

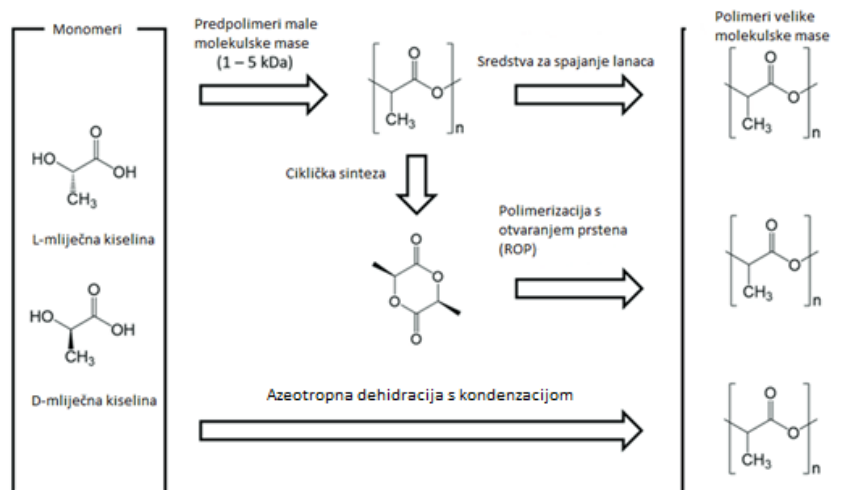


Slika 1. Strukturna formula PLA (prema Auras i sur., 2003)

Po svojoj kemijskoj strukturi, PLA je linearni alifatski poliestar sintetiziran iz monomera laktata. Mliječna kiselina se proizvodi fermentacijom iz ugljikohidratnih izvora (škroba) pomoću mikroorganizama. Vrste roda *Lactobacillus* su poznate industrijske bakterije za ovu fermentaciju. Tijekom fermentacije, jedna molekula glukoze se konvertira u 2 molekule laktata pod ograničenim dotokom kisika i uz pomoć enzima laktat dehidrogenaze, stvarajući mliječnu kiselinu (2-hidroksipolipropanskukiselinu). Pojavljuje se u dva stereoizomera: *L*(+) i *D*(-) mliječna kiselina. Mliječna kiselina dobivena sintezom iz petrokemijskih izvora ima omjer *L* i *D* izomera 1:1. Ukoliko se dobiva fermentacijom mikroorganizama, tada prevladava *L*-izomer i to u postotku od 99,5 %. Omjer stereoizomera tijekom polimerizacije od velike je važnosti za svojstva materijala. U literaturi se navode 3 glavna načina kojima se proizvodi PLA (Kabasci, 2020) (slika 2.):

- 1) izravna kondenzacija mliječne kiseline;
- 2) azeotropna dehidracija nakon koje slijedi kondenzacija;
- 3) polimerizacijom otvaranja prstena cikličkog laktidnog dimera.

(a) Izravna polikondenzacija mliječne kiseline na povišenim temperaturama uz uklanjanje vode putem vakuuma rezultira predpolimernim PLA lancima niske molekularne mase (nekoliko tisuća jedinica molekulske mase). Ovi polikondenzati se ne skrućuju na sobnoj temperaturi, već ostaju u visoko viskoznom tekućem stanju, te je za daljnju primjenu potreban dodatak aditiva kako bi došlo do produženja duljine polimernog lanca. (b) U azeotropnoj dehidracijskoj kondenzaciji moguće je proizvesti PLA visoke molekularne mase bez produživača lanca ili pomoćnih sredstava. Međutim, njegovi glavni nedostaci su brza razgradnja i hidroliza uz toksične katalizatore. Konačno, kako bi se proizveli visokomolekularni materijali, najčešće se koristi polimerizacija s otvaranjem prstena laktida, cikličkih dimera mliječne kiseline. Ovi intermedijeri (ciklički dimeri mliječne kiseline) nastaju, s druge strane, depolimerizacijom PLA-polikondenzata niske molekularne mase (Kabasci, 2020).



Slika 2. Shematski prikaz sinteze poli(mliječne kiseline) (prema Kabasci, 2020)

Stupanj kristaliničnosti (koji se određuje relativnim omjerima *L* i *D* laktida), te kristalni sadržaj (odnos amorfne i pravilne kristalne strukture) glavna su svojstva koja utječu na ostale karakteristike PLA. Budući je temperatura staklastog prijelaza (T_g) PLA oko ili čak ispod $60\text{ }^\circ\text{C}$, amorfni karakter ovog materijala i loša temperaturna stabilnost ograničavajući su faktor za mnoge primjene. Zbog visoke vrijednosti T_g , to je krut materijal, a dodatkom plastifikatora (sniženje T_g) snizuje se čvrstoće i povećava rastezanja, odnosno produženja pri pucanju na sobnoj temperaturi (Siracusa i Rosa, 2018). Osim plastifikatora, s ciljem poboljšanja mehaničkih svojstava kombinira se i s drugim biorazgradivim i nerazgradivim smolama, vlaknima, mikro- i nano česticama. Primjerice, proces i stupanj kristalizacije PLA utječu na biorazgradnju i mehanička svojstva materijala pa je njihovo poznavanje izrazito bitno kod zbrinjavanja materijala i određivanja mogućnosti primjene kod određenog prehrambenog proizvoda. PLA je polimer koji predstavlja slabu barijeru za vodenu paru, te ni previsoku ni prenisku propusnost na kisik (Castro - Aguirre i sur., 2016).

Biorazgradivi polimeri su pokazali veliki potencijal ne samo kao biorazgradivi materijali koji se mogu primjeniti za pakiranje prehrambenih proizvoda (ekološki prihvatljivi spremnici i boce) već i u polju biomedicine. Među njima, PLA je opsežno istraživana u biomedicinske i farmaceutske svrhe, kao što su sustavi kontroliranog otpuštanja lijekova, medicinski implantati i inženjerstvo tkiva; upravo zbog izvanredne razgradivosti i biokompatibilnosti materijala. Zapravo, konačni produkt razgradnje PLA, mliječna kiselina, je metabolit koji se može lako razgraditi i eliminirati iz ljudskog organizma putem Krebsovog ciklusa (Albertsson i Varma, 2002).

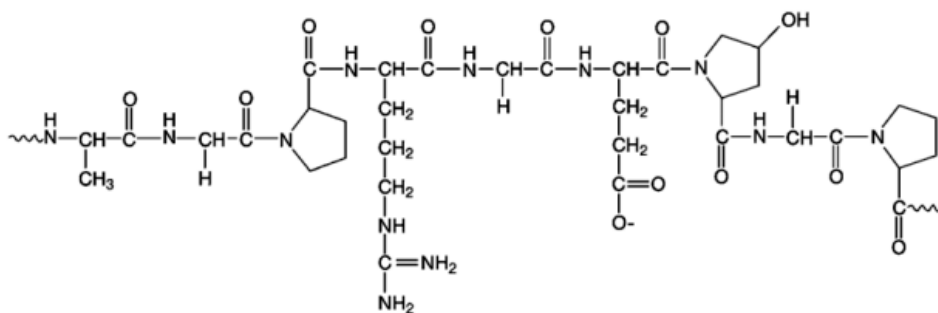


Slika 3. Kristalizirana PLA-granule (Anonymous 1)

U 2010. godini PLA materijal je imao drugu najveću količinu potrošnje bilo koje bioplastike na svijetu. Iako se naziv "polilaktična kiselina" široko koristi, on nije u skladu s IUPAC standardnom nomenklaturom, pa je stoga prikladnije "poli(mliječna kiselina)" (Castro - Aguirre i sur., 2016). U komercijalne svrhe, granule PLA se proizvode ekstruzijom ili injekcijskim prešanjem, a proizvodnjom prednjače SAD, Nizozemska, Belgija, Kina, Japan i Švicarska. NatureWorks LLC (SAD) i Total Corbion (Nizozemska) i dalje su jedini veliki komercijalni proizvođači PLA na svijetu. Iako su cijene PLA značajno pale u posljednjih nekoliko godina, one još uvijek nisu konkurentne plastici iz petrokemijskih izvora (Castro - Aguirre i sur., 2016). Što se tiče zbrinjavanja, PLA se može reciklirati ili razgraditi. Razgradnja PLA prvenstveno je posljedica hidrolize esterskih veza, koje se javljaju više ili manje nasumično duž okosnice polimera. Hidroliza PLA kroz glavne esterske skupine smatra se sporom, te u prirodnim uvjetima (odbačena u okoliš), zbog niske vlage i temperature, njezina razgradnja može trajati nekoliko godina. Međutim, moguće je ubrzati proces izlaganjem PLA temperaturama iznad 50 °C, te se stoga često kompostira i razgrađuje u bioreaktorima. Unatoč tome, još uvijek se smatra da se PLA sporo razgrađuje u usporedbi s organskim otpadom u odlagalištima (Lambert i Wagner 2017).

2.2.2. Želatina

Želatina je bijelo-žućkastosjajna krutina i djelomično razgrađeni produkt kolagena u životinjskom vezivnom tkivu (slika 4.). To je jeftin materijal koji se koristi u proizvodnji hrane i pakiranju, farmaceutskoj, fotografskoj i kozmetičkoj industriji zbog svoje karakteristične funkcionalnosti, uključujući sposobnost vezanja vode, sposobnost stvaranja gela, dobra filmogena svojstva, sposobnosti pjenjenja, te sklonost emulgiranju (Ahmad i sur., 2017).



Slika 4. Kemijska struktura želatine (prema Kommareddy i sur., 2007)

Tradicionalno, želatina se dobiva od kravlje kože, svinjske kože, demineraliziranih kostiju i kopita (Zhang i sur., 2020). Također se dobiva iz ribljih izvora - riblja želatina, te insekata (Mariod, 2020). Želatina se može ekstrahirati hidrolizom kolagena životinjskog podrijetla, ali ne i biljnog. Prema izvorima želatine dobivene kontrolom hidrolize kolagena, želatina se dijeli na tri glavne vrste kolagena: kolagen tipa I, kolagen tipa II i kolagen tipa III. Kolagen tipa I prvenstveno se nalazi u vezivnom tkivu, poput kože, kosti i tetiva. Jedinstven je po tome što tvori trostruku super spiralnu strukturu koja se sastoji od tri alfa (slične veličine) spiralna polipeptidna lanca. Tip II, Tip III i druge vrste želatine nalaze se u tkivu hrskavice, vrlo mlade kože i u organima (Ahmad i sur., 2017). Posljednjih godina, iz vjersko-kulturoloških, te nutricionističkih razloga (alergije na hranu, infekcije uzrokovane zaraženim životinjama), želatina životinjskog podrijetla se sve češće zamjenjuje ribljom želatinom (Zhihua i sur., 2017). Riblja želatina se smatra obećavajućom alternativom želatini sisavaca koja može stvoriti ekonomsku vrijednost ribljih nusproizvoda (čine 70% ukupne težine ribe) i smanjiti otpad industrije plodova mora (Pauly i Zeller, 2017). Neke takozvane "biljne želatine", kao što su želatine od morskih algi, nisu klasificirane kao želatine jer nemaju nikakav kemijski odnos sa želatinom (Piao i sur., 2021).

Funkcionalna svojstva želatine mogu se podijeliti u dvije skupine. Jedna skupina je povezana sa želiranjem i uključuje vrijeme geliranja, čvrstoću gela, temperaturu taljenja, zgušnjavanje, teksturu, viskoznost i vezanje vode. Druga skupina svojstava se odnosi na želatinozno ponašanje površine, na primjer, stvaranje emulzije i stabilizaciju, zaštitna koloidna svojstva, stvaranje pjene (poput bijelog sljeza), stvaranje filma te adheziju/koheziju. Najčešće korišteno svojstvo želatine je sposobnost formiranja termo-reverzibilnih gelova. Materijal je dobro poznat po svojoj upotrebi kao kapsule, za isporuku tekućih ili praškastih lijekova. Također se često koristi u kulinarske svrhe zbog svojstva stvaranja gela oko 35°C,

kao zgušnjivač i kao dodatak hrani. No, najvažnije svojstvo ovog hidrokoloidnog sastojka je čvrstoća gela, koja se, kada je određena standardnom metodom, naziva Cvat „*engl. Bloom*“ vrijednost. Komercijalno dostupne želatine obično imaju *Bloom* vrijednosti između 50 i 280 (Karim i Bath, 2008).

Za proizvodnju jestive ambalaže, uglavnom se koriste dvije vrste, goveđa i riblja želatina. Oba tipa imaju velik broj različitih bočno suspendiranih skupina koje mogu olakšati kovalentno (s glutaraldehydom ili genipinom) i enzimsko (transglutaminaze) umrežavanje i derivatizaciju, važnu značajku u prevladavanju problema osjetljivosti na vlagu. Iako je prilično obradiv materijal, svojstva proizvedenih filmova za pakiranje hrane jedva da se mogu usporediti s onom plastične ambalaže (Peña i sur., 2015). Primjeri primjene prevlakai filmova od želatine dani su u tablici 1.

Tablica 1. Različiti spojevi koji se koriste kao aktivni dodaci u filmovima i prevlakama na bazi želatine (prema Ramos i sur., 2016)

Izvor	Dodaci	Primjena (prevlaka/film)	Osnovna svojstva materijala	Referenca
Riblja želatina	<i>Origanum vulgare L.</i>	Filmovi	Poboljšanje WVP, topljivosti, barijerana UV, poboljšanje AM	Hosseini i sur., 2015
Goveda želatina	Bakteriocini i flavonoidni ester prunin laurat	Filmovi	Održavanje funkcionalnih svojstava, poboljšanje AM	Ibarguren i sur., 2015
Želatina	Nanočestice srebra	Filmovi	Poboljšanje hidrofobnosti, barijera na vodenu paru i UV, snažno AM	Kanmani i Rhim, 2014
Želatina	Nanočestice cinkovog oksida	Filmovi	Poboljšana topl. stabilnost, udio vode, kontakti kut vode, WVP i istežanje pri lomu, snažno AM	Shankar i sur., 2015
Želatina od riblje kože	Paprena metvica i citronela	Filmovi	Poboljšanje AM	Yanwong i Threepopnatkul, 2015
Riblja želatina	Zeleni čaj, sjemenke grožđa, đumbir i list ginka	Filmovi	Poboljšanje AO	Li i sur., 2014
Želatina	Polifenoli čaja	Filmovi	Poboljšanje AO	Wang i sur., 2015
Želatina svinjske kože	Tanin kestena	Filmovi	Poboljšanje AM i AO	Peña-Rodriguez i sur., 2015
Svinjska želatina	Etanolni ekstrakt hmelja	Filmovi	Poboljšanje AO	Kowalczyk i Biendl, 2016
Goveda želatina	EO origana i lavande	Filmovi	Poboljšanje AM i AO	Martucci i sur., 2015

AO – antioksidacijska svojstva, AM – antimikrobna svojstva, EO – eterično ulje

Jestivi filmovi i prevlakena bazi želatine koriste se za zaštitu, održavanje ili produljenje roka trajanja prehrambenih proizvoda. Neki od primjera uključuju jestive prevlake za meso i riblje proizvode te za voće i povrće (Ramos i sur. 2016). Čimbenici koje treba uzeti u obzir pri izradi ove vrste materijala uključuju kemijsku prirodu hrane, mehanizme kontroliranog otpuštanja, organoleptičke karakteristike hrane i toksičnost aditiva, skladištenje i distribuciju, fizikalna i mehanička svojstva materijala i propise koji se primjenjuju u tom okviru (Mellinas i sur., 2016). Posljedično, različite vrste aditiva mogu se dodati kako bi se poboljšala ili modificirala konačna svojstva filmova. Ove komponente su obično eterična ulja ili ekstrakti dobiveni iz biljaka i začina koji pokazuju antimikrobna i antioksidativna svojstva, a većina ih se smatra općenito priznatim kao GRAS (Valdes i sur., 2015). Kako bi se

smanjila uporaba sintetskih aditiva u prehrambenoj industriji, posljednjih se godina povećala uporaba prirodnih aditiva u hrani s antimikrobnim i/ili antioksidativnim svojstvima bez negativnih učinaka na ljudsko zdravlje. Ovi prirodni dodaci mogu spriječiti ili smanjiti kvarenje hrane uzrokovano oksidacijom ili mikrobiološkim učincima, čime pomažu u očuvanju i produljenju roka trajanja hrane (Atarés i Chiralt, 2016).

Želatina pokazuje dobra barijerna svojstva za plinove, no visoku propusnost na vodenu paru. U vodenom mediju bubri, te ima slabu mehaničku otpornost (Xiaoqing i sur., 2010). Kako bi se smanjila lomljivost materijala, često se plastificira vodom, glicerolom, masnim kiselinama i polietilen glikolom. Prema literaturnim navodima, a s ciljem smanjenja osjetljivosti na vodu, želatina se kombinira s PLA: termoprešanjem (Martucci i Ruseckaite, 2010) ili premazivanjem umakanjem (Peña i sur., 2015) čime nastaju višeslojni materijali. U kombinaciji s anorganskim punilima poput montmorilonita ili celuloznih nanovlakana, također se može koristiti za stvaranje nanobiokompozita (Westwood i sur., 2010).

2.3.KOMBINACIJE BIOMATERIJALA ZA PAKIRANJE HRANE

Materijali za pakiranje izrađeni od jednog polimera ili mješavine polimera često nisu u mogućnosti zadovoljiti specifične zahtjeve za produljenje roka trajnosti mnogih prehrambenih proizvoda (Butler i Morris, 2013). Stoga se višeslojni materijali za pakiranje razvijaju i uspješno koriste. Višeslojni materijal za pakiranje može se definirati kao dva ili više materijala specifičnih svojstava spojenih u jednu slojevitú strukturu. Primjenjuju se u prehrambenoj industriji zbog velikih promjena u načinu proizvodnje hrane i u maloprodaji (Dixon, 2011). Danas, za proizvodnju fleksibilne ambalaže, tržištem pakiranja hranedominiraju sintetski polimerni materijali. Zabrinutost za okoliš uzrokovana korištenjem ovih neobnovljivih i bionerazgradivih materijala za pakiranje stvorilo je sve veći interes za područje biorazgradivih alternativa koje potječu iz obnovljivih izvora. Međutim, niti jedan pojedinačni biomaterijal ne može zadovoljiti sve potrebe određene namirnice u primjeni pakiranja. Stoga raste interes za kombiniranjem biomaterijala za razvoj višeslojnih fleksibilnih struktura (Weber i sur., 2001).

2.3.1. Poboljšanje svojstava filmova od želatine

Koncept jestivih filmova/prevlaka proizlazi iz pitanja zagađenja okoliša te postupanja s nerazgradivom plastikom i zahtjevima potrošača za prirodnom i nutritivno bogatom hranom. Za proizvodnju jestivih filmova koriste se polisaharidi, proteini, masti i voskovi te dodaci (plastifikatori, vlakna, emulgatori itd.). Proizvode se kao jednokomponentni ili

više-komponentni. Kao što je gore navedeno, jednostavni materijali često ne zadovoljavaju zahtjevima proizvoda te se stoga u zadnje vrijeme sve češće kombiniraju s drugim polimerima kako bi se postigla zadovoljavajuća svojstva konačnog materijala. Budući su kombinacije mnogobrojne, a u ovom diplomskom radu korištena je želatina, u ovom pregledu literature navode se samo primjeri vezani za želatinu. Želatina se može miješati s drugim funkcionalnim materijalima, aktivnim sastojcima i aditivima čijom se kombinacijom pridonosi poboljšanim svojstvima materijala za pakiranje hrane (Rhim i sur., 2013).

2.3.2. Kompozitni filmovi od želatine s drugim biopolimerima

Polisaharidi mogu modificirati površinsku strukturu proteina i povećanjem hidrolize proteina oslabiti stvaranje proteinske mreže. Zbog Maillardove reakcije između proteina i polisaharida, polimerizacijom želatine i ugljikohidrata mogu se poboljšati fizikalna i kemijska svojstva želatinskog filma i znatno promijeniti njegova biološka svojstva. Dosadašnja istraživanja govore o tome da se želatina kombinira s kitozonom, škrobom i karboksimetil celulozom (Hosseini i sur., 2016; Nur Hazirah i sur., 2016; Fakhouri i sur., 2015).

Ugradnja eteričnog ulja origana u želatinu ribljeg podrijetla u kombinaciji s kitozonom uspješno je provedena kako bi se dobili biokompozitni aktivni filmovi. Dodatak eteričnog ulja izravno je utjecao na mehanička svojstva, propusnost vodene pare i transparentnost dobivenih filmova (Hosseini i sur., 2016).

Fakhouri i sur. (2015) su istraživali kompozitne filmove na bazi kukuruznog škroba i želatine, plastificirane glicerolom ili sorbitolom. Formulacije polimera s najprikladnijim fizikalno-kemijskim svojstvima nanešene su kao jestive kompozitne prevlake na crno grožđe kako bi se produžio rok trajanja. Dodatak želatine značajno je povećao mehaničku čvrstoću, topljivost u vodi, propusnost za vodenu paru i debljinu biopolimernog filma, a istovremeno smanjio je prozirnost. Kompozitni filmovi pripremljeni sa sorbitolom imali su značajno manju propusnost za vodenu paru i veću vlačnu čvrstoću od filmova plastificiranih glicerolom. Poboljšan izgled primijećen je u uzorcima grožđa s prevlakom nakon 21 dana skladištenja u uvjetima hlađenja, koje je imalo manji gubitak težine od kontrolne skupine. Senzorska procjena pokazala je da svi premazi nisu utjecali na rezultate prihvatljivosti.

Nur Hazirah i sur. (2016) su ispitali želatin-karboksimetil celulozu (CMC) dodatkom ksantana. Procijenjena su fizikalna i mehanička svojstva pojedinih filmova. Dodatak ksantana povećao je debljinu, sadržaj vlage i propusnost vodene pare filma od želatine i CMC ($p < 0,05$). Nadalje, zaštita od ultraljubičastog svjetla se povećala zajedno sa smanjenom transparentnošću vidljivog svjetla ($p < 0,05$) i povećanom toplinskom stabilnošću (T_g) (p

<0,05). Dobiveni filmovi također su pokazali nižu vlačnu čvrstoću sa smanjenim istezanjem na točki loma, kao i veću silu probijanja i manju deformaciju probijanja, što ukazuje na veću otpornost na probijanje od kontrolnog filma od želatine i CMC-a. Sveukupno, želatina-CMC film s ksantan gumom (5%,m/m) pokazao je najbolja fizikalna i mehanička svojstva.

Kemijska struktura želatine može se modificirati i enzimima i proteinima, kao što su glutaminaza, tirozinaza, itd. (Ahammed i sur., 2021). Ahammed i sur. (2021) su pokazali da se u prisutnosti izolata proteina soje ukupna topljiva tvar i topljivost proteina želatinskog filma smanjuju s 89,36% i 92,78% na 35,83% i 40,05% nakon dodavanja 3% transglutaminaze, što može biti posljedica jače topljivosti želatine u vodi nego topljivost izolata proteina soje. Čvrstoća želatinskog filma je poboljšana s dodatkom 1% transglutaminaze, ali je smanjena kada je koncentracija transglutaminaze povećana.

2.3.3. Kompozitni filmovi od želatine s antioksidansima

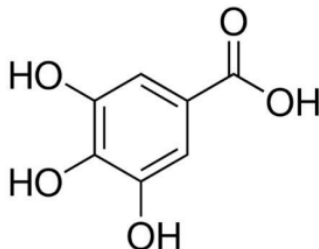
Razvojem koncepta aktivnog pakiranja, u jestive filmove sve se češće posljednjih 10-ak godina dodaju antioksidansi i antimikrobne tvari prirodnog podrijetla.

Polifenoli

Polifenolisu skupina antioksidativnih spojeva ekstrahiranih iz biljaka (voća, povrća, žitarica itd.) koji mogu poboljšati zdravlje, inhibirati aktivnost slobodnih radikala u tijelu i spriječiti oštećenje tjelesnih tkiva (Weng i Zheng, 2015). Inkorporirani u jestive premaze i filmove, konzumiraju se s proizvodom. U ovom slučaju njihova uloga je dvostruka: obogaćivanje nutritivnog profila proizvoda i stabilizacija svojstava aktivnog filma. Različite koncentracije polifenola čaja dodane u film od želatine i natrijevog alginata čine jestive filmove i premaze poboljšanog izgleda (boja i struktura površine), s antioksidativnim djelovanjem i poboljšanom strukturom želatinskog filma. Polifenoli čaja poboljšavaju kovalentno umrežavanje polimerne mreže filma od želatine i natrijeva alginata. Također utječu na mehanička svojstva krajnjih filmova. Propusnost na vodenu paru filmova s polifenolima čaja (0,8–2,0%) značajno se smanjila, što može biti posljedica umrežavanja polimernih lanaca i polifenola povećavajući gustoću polimernog matriksa. Osim toga, otpornost na svjetlost i antioksidativno djelovanje filma su značajno poboljšani s 2,0% polifenola čaja kako bi se spriječila oksidacija masti i produžio rok trajanja hrane tijekom skladištenja (Dou i sur., 2018).

Galna kiselina

Galna kiselina (slika 5.) je derivat hidroksibenzojeve kiseline koji se kao antioksidans koristi kao aditiv za inhibiciju stvaranja slobodnih radikala u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. Galna kiselina se prirodno nalazi u grožđu, mangu, zelenom čaju, orasima i vinu (Fiuza i sur., 2004).



Slika 5. Kemijska struktura galne kiseline (prema Fernandes i Salgado, 2015)

Galna kiselina (GA) sadrži fenolne hidroksilne skupine, koje mogu generirati vodikove veze s molekulama kolagena ili želatine kako bi se stvorila čvršća prostorna struktura i poboljšala mehanička svojstva, termostabilnost i antimikrobna aktivnost umreženog filma (Wang i sur., 2020; Rui i sur., 2017; Haroun i sur., 2010).

Dodavanje GA kao prirodnog antioksidansa, te drugih fenolnih spojeva u ambalažu, može značajno povećati antioksidativnu aktivnost filma te oslabiti oksidativno propadanje hrane u procesu skladištenja (Liu i sur., 2015). Također mogu smanjiti rizik koji predstavljaju antioksidansi koji se dodaju hrani u procesu proizvodnje (Rigoussen i sur., 2018). Kako bi se zaštitio zapakirani materijal, ambalaža mora biti dovoljno čvrsta da izdrži mehaničke udare proizvodnje, obrade i transporta. Vodikove veze u više točaka između GA i želatine za poboljšanje mehaničkih svojstava kompozitnog filma nisudovoljneza ispunjavanje zahtjeva za upotrebu kao materijala za pakiranje. Stoga je potrebno istražiti novu metodu modifikacije za poboljšanje mehaničkih svojstava ovih filmova. Zbog svoje reaktivnosti, amino skupine mogu lako reagirati s molekulama koje sadrže aldehid (putem aldiminske kondenzacije) i formirati stabilnu strukturu Schiffove baze (Jv i sur., 2020). Stoga je jedina mogućnost uvesti aldehidne skupine u strukturu GA kako bi se povećala njegova reaktivnost s amino skupinama želatine, čime se poboljšavaju mehanička svojstva umreženog želatinskog filma i poboljšavaju antioksidacijska svojstva. Postoji mnogo načina za realizaciju reakcije aciliranja fenola, uključujući Vilsmeier-Haack-ovu reakciju, Reimer-Tiemann-ovu reakciju i Duff-ovu reakciju (Kumar i sur., 2011).

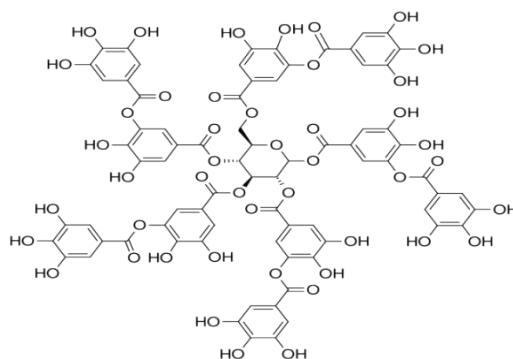
U istraživanju Guo i sur. (2021) želatina ekstrahirana iz štavljenog otpada korištena je kao sirovina, a modificirana galna kiselina duffovom reakcijom (DFGA) korištena je kao sredstvo za umrežavanje za pripremu želatinskih filmova. Ispitana su i analizirana mehanička

svojstva filma, kao i njegova propusnost na svjetlo, toplinska stabilnost, antioksidacijska svojstva, antibakterijska svojstva, strukturne karakteristike, mikroskopska morfologija i mehanizam unakrsnog povezivanja. Utvrđeno je da DFGA proizvodi stabilno kemijsko umrežavanje s molekulama želatine i značajno poboljšava mehanička svojstva i kapacitet apsorpcije ultraljubičastog zračenja umreženog želatinskog filma. Osim toga, biorazgradivost modificiranog filma umrežene galne kiseline potvrđena je enzimatskom razgradnjom, mikrobnom razgradnjom i kompostiranjem aktivnog mulja.

Lou i sur. (2021) su u svom radu uspješno proizveli aktivan film na bazi želatine. Međusobno povezana mreža uspostavljena je u matrici želatine integracijom s galnom kiselinom i mikrofibriliranom celulozom (MFC) stvaranjem višestrukih nekovalentnih interakcija između želatinskih lanaca, galne kiseline i MFC-a, uključujući vodikove veze, hidrofobne interakcije i π - π interakcije. Uvođenjem MFC-a u koncentraciji od 1 % (m/v), MFC je ravnomjerno raspršen u želatinskoj matrici, što je rezultiralo odgovarajućim poboljšanjima od 12,8 % za vlačnu čvrstoću i 27,6 % za istežanje pri prekidu u odnosu na čisti želatinski film. Također su poboljšani učinak blokiranja UV zračenja, barijera na vodenu paru, toplinska stabilnost i antioksidacijska aktivnost. Ovaj rad ukazuje na veliki potencijal želatinskih filmova za korištenje u izradi aktivnih materijala za pakiranje hrane.

Taninska kiselina

Taninska kiselina (TA) je prirodni polifenolni spoj koji sadrži nekoliko -OH skupina, a dobiva se iz raznih biljaka (npr. hrast, kesten) kao bezbojna do blijedo žuta krutina oporog okusa (slika 6.). Osim kao antioksidans, u području biopolimera koristi se kao dodatak za prirodno umrežavanje. Uz više načina dobivanja, TA je najzastupljeniji prirodni spoj nakon celuloze, hemiceluloze i lignina, a služi kao ključna komercijalna sirovina i tradicionalno se koristi kao sredstvo za štavljenje kože, premaz, ljepilo, u kirurgiji, farmaceutskoj i prehrambenoj industriji (Chen i sur., 2022). Zahvaljujući kompleksnom sastavu i bogatom udjelu katehola i pirogalola (spojevi aromatske prstenaste strukture), TA pruža niz jedinstvenih kemijskih svojstava poželjnih za primjenu pri proizvodnji biopolimera: topljivost, biokompatibilnost, adhezivnost, kelirajuća svojstva, umrežavanje itd. Zbog svoje specifične polihidrične strukture fenola, umrežavanje se postiže fizički ili kemijski. Kada se radi o fizičkom ili supramolekularnom umrežavanju, TA može kompleksirati ili umrežiti makromolekule na više mjesta za vezivanje kroz više interakcija, uključujući vodikove i ionske veze (Erel i sur., 2008).



Slika 6. Kemijska struktura taninske kiseline (prema Chu i sur., 2016)

Nedavno su Parsaei i sur. (2022) proučavali utjecaj taninske i kafeinske kiseline kao sredstava za umrežavanje na svojstva želatinskih filmova. Rezultati su pokazali da je uspostavljanje umreženih veza između želatinskog polimera i fenolnih kiselina poboljšalo stabilnost filma, a topljivost u vodi smanjena sa ~ 100 na ~ 40%. Povećanjem udjela taninske i kafeinske kiseline do 5% (u odnosu na suhu tvar polimera) smanjila se propusnost na kisik, no povećala zatamnjenost. Ugradnjom polifenola povećana je i mehanička čvrstoća ~ 28 na ~ 50 MPa. Zaključno, rezultati istraživanja su pokazali da se taninska i kafeinska kiselina mogu koristiti za uspješno umrežavanje filma od želatine kao jestivog filma ili biomaterijala, s time da je taninska kiselina bolji spoj za umrežavanje od kafeinske kiseline.

Prema istraživanjima Menezes i sur., (2019) taninska kiselina dodana filmu želatine poboljšala je barijerna svojstva za vodenu paru, što je vrlo važan parametar za održavanje ili produljenje roka trajanja proizvoda. Također, poboljšane su mehanička čvrstoća, toplinska i oksidacijska stabilnost. Prisutnost taninske kiseline nije značajno promijenilo elastičnost filmova, ali je povećalo antibakterijsko djelovanje protiv *S. aureusa* i *E. coli*.

U istraživanju Yuan i sur. (2021) taninska kiselina se dodala u filmove na bazi želatine koji su pripremljeni kovalentnim umrežavanjem želatine i dialdehid glukomanana (DG), kako bi se dobio film s odgovarajućim mehaničkim svojstvima i dobrom antimikrobnom aktivnosti. Kovalentno umrežavanje DG i želatine kontrolirano je mijenjanjem vremena reakcije Schiffove baze. Boja, kemijska struktura, morfološka svojstva, fizikalna svojstva i antioksidativna svojstva filmova detaljno su procijenjena kako bi se proučili učinci stupnja kovalentnog umrežavanja i taninske kiseline na filmove. Taninska kiselina je značajno utjecala na boju filmova, toplinsku stabilnost, otpornost na oksidaciju i antibakterijska svojstva. Štoviše, pojačano kovalentno umrežavanje između želatine i DG uzrokovano toplinskom obradom i uključivanjem taninske kiseline moglo bi sinergistički poboljšati

kapacitet UV apsorpcije, vlačnu čvrstoću i propusnost na vodenu paru. Ovaj film na bazi želatine ima veliki potencijal primjene u pakiranju hrane.

Leite i sur. (2021) u svom su istraživanju uspješno koristili tanišnu kiselinu (TA) biljnog podrijetla kao antioksidativni i bakteriocidni spoj kao dodatak želatini za pripremu multifunkcionalne aktivne ambalaže. Pokazalo se da značajne interakcije između komponenti želatine, TA i nanokristala celuloze (CNC) ovise o specifičnoj vrsti korištene TA (oksidirana ili neoksidirana). Dodavanje neoksidirane TA pogodovalo je nekovalentnim i međumolekularnim interakcijama, poboljšavajući mehaničku stabilnost i povećavajući antioksidativni kapacitet filmova u usporedbi s filmovima od želatine s oksidiranim TA. Dodatak 6 % (m/v) CNC rezultirao je filmovima s gušćom strukturom, nižom poroznošću i propusnosti na vodenu paru, te većom vlačnom čvrstoćom od filmova s TA alibez CNC. Kompozitni filmovi dodatno su pokazali inhibicijski učinak protiv rasta *S. aureusa* i *E. coli* zbog ugradnje TA. Korištenje takvih filmova može biti vrlo prikladno za primjenu u hrani, posebno kada su antioksidativna i antimikrobna djelovanja od najveće važnosti.

2.3.4. Biomaterijali u kombinaciji s PLA

Višeslojno pakiranje hrane industrijski je standard koji omogućuje funkcije koje nisu prisutne ni u jednom sloju/materijalu zasebno. Međutim, višestruke slojeve koji su čvrsto spojeni i djeluju kao barijera za kisik i vlagu teško je reciklirati, a sintetička plastika nije biorazgradiva, što stvara rastući problem na kraju životnog vijeka proizvoda.

Unatoč odličnim i komercijalno primjenjivim svojstvima, PLA pokazuje neke nedostatke čijim bi se rješavanjem postigla još veća primjenjivost PLA u području pakiranja hrane. Visoka propusnost na plinove u usporedbi s konvencionalnom plastikom izvrsnih performansi, reaktivnost na vodu (hidroliza), nepoželjan zvuk pucketanja koji stvara kada se njime rukuje, niska toplinska stabilnost i visoka cijena i dalje ograničavaju upotrebu na tržištu. Poboljšanje barijernih svojstava PLA postiže se na dva načina. Prvi predstavlja dodavanjem drugog materijala (npr. polimeri, biopolimeri, anorganski materijali, vlakna i nanopunila) disperzijom u PLA kontinuirani matriks. Iako je ova metoda jednostavna za proizvodnju, novonastali materijali često pokazuju problem kompatibilnosti ili disperzije. Primjerice, Muller i suradnici (2017) su predložili izradu PLA s dodatkom škroba. Škrob je materijal manje mehaničke otpornosti, no osjetljiv na vodu. Drugim rječima, PLA je hidrofoban, dok je škrob hidrofilan. Time se kombinacijom PLA i škroba stvara novi proizvod izvrsne fleksibilnosti i mehanička svojstva.

S druge strane, drugi pristup temelji se na modifikaciji površine PLA za proizvodnju višeslojnih kompleksa, korištenjem različitih tehnika, kao što je mokro lijevanje, elektropredenje, vruće prešanje ili koekstruzija (Rocca Smith i sur., 2019). Do sada su se proteini i polisaharidi pokazali kao dobri kandidati za razvoj održivih višeslojnih kompleksa s PLA. Budući su sami po sebi biorazgradivi, ne ugrožavaju održivu prirodu PLA, kao što je slučaj s anorganskim spojevima (npr. grafen, nanogline, itd.) ili poli(vinil-alkohol) (PVAL) i poli(viniliden klorid) (PVDC) (Rocca-Smith i sur., 2019; Svagan i sur., 2012). Osim toga, iako su proteini i polisaharidi hidrofilnih svojstava osjetljiviji na vodu nego PLA, njihova barijerna svojstva za plinove su mnogo veća, posebice pri niskim RH. Ova komplementarnost sugerira da kombiniranjem PLA s proteinima ili polisaharidima, moguće je štititi osnovu PLA od utjecaja vode i povećavati barijeru na plinove. U znanstvenoj literaturi zabilježeno je da se PLA kombinira s nanocelulozom (Aulin i sur., 2013), kitozanom (Gartner i sur., 2015), želatinom (Hosseini i sur., 2016), pšeničnim glutenom (Rocca Smith i sur., 2019; Cho i sur., 2010), i sl. Iako navedene studije pokazuju obećavajuće rezultate, s smanjenom propusnošću na kisik od 15% do 10 000%, daljnji napori su potrebni, uzimajući u obzir PLA proizvodnju u velikoj mjeri, sa standardiziranim postupcima i tehnologijom kao i jedinstvenom strategijom za proizvodnju dodatnih slojeva (Rocca Smith i sur., 2019).

Valdes i sur. (2015) su nedavno napravili i karakterizirali višeslojni kompozitni materijal sastava PLA/želatina/PLA, obogaćenog s nanokristalima celuloze i ekstrakta antioksidansa iz nusproizvoda bademove ljuske. Materijal je razvijen tehnikom lijevanja. Dobiveni materijal se pokazao kao obećavajući aktivni sustav pakiranja za pakiranje hrane, s primjermom na avokadu. Materijal je imao nisku prozirnost, svjetlinu i indeks bjeline. Slojevi su imali dobru kohezivnost i adheziju, nisku propusnost na kisik ($40,87 \pm 5,20 \text{ cm}^3 \text{ mm m}^{-2} \text{ dan}^{-1}$) i malu topljivost ($39,19 \pm 0,16\%$), dok su mehanička svojstva bila usporediva s komercijalnim plastičnim filmovima.

2.4. BARIJERNA SVOJSTVA MATERIJALA ZA PAKIRANJE HRANE

Da bi se određeni materijali mogli koristiti kao ambalaža za hranu moraju imati zadovoljavajuća svojstva zbog kojih će hrana bit pogodna za konzumiranje duže vremena. Barijerna svojstva materijala za pakiranje hrane značajno variraju s obzirom na tip biopolimera. Biopolimeri su se općenito pokazali kao lošija barijera za plinove poput kisika u odnosu na plastične materijale za pakiranje hrane (Siracusa i sur., 2008). Biopolimeri imaju dobra barijerna svojstva za vodenu paru, ali zbog svoje hidrofilnosti barijerna svojstva se

najčešće gube pri višim vlažnostima (Tokić i sur., 2011). Mehanička svojstva biopolimera su usporediva s mehaničkim svojstvima sintetskih plastičnih materijala. Kako bi ambalaža zadržala dobra barijerna i mehanička svojstva cijelo vrijeme roka trajnosti prehrambenih namirnica potrebno je osigurati dugotrajnost ambalaže i to predstavlja jedan od glavnih izazova za korištenje biorazgradive ambalaže (Robertson, 2013). Kako bi se odabrali materijali koji imaju odgovarajuća barijerna svojstva potrebno je uzeti u obzir sve procese u proizvodnji hrane. To uključuje proizvodnu liniju, svojstva hrane, pakiranje, čuvanje proizvoda, te uvjete transporta i skladištenja.

Neki plinovi, kao što su dušik, kisik ili ugljikov dioksid, te vodena para, mogu uzrokovati degradibilne procese, u slučaju prolaza kroz ambalažu, koji hranu učine neprihvatljivom za konzumaciju. Zbog toga se propusnost vodene pare i kisika obično koriste kako bi se kvantificirala učinkovitost ambalažnog materijala (Robertson, 2013). Različita barijerna svojstva pokazuju različite vrste polimera. Međutim, kod odabira polimera za ambalažni materijal ne gleda se samo njegova barijerna sposobnost, nego i njegova ostala ostala optička, fizička i mehanička svojstva (Kurek i sur., 2011).

2.5. ODRŽIVOST I RECIKLIRANJE

U današnjem potrošačkom društvu, masovna uporaba plastičnih proizvoda u svakodnevnom životu svjetske populacije predstavlja ozbiljan izazov ekološkoj održivosti planeta. Do 2005. plastika je činila najmanje 10% krutog otpada po masi u 58% zemalja s dostupnim podacima (Hoornweg i sur., 2012). Raspon procijenjenog protoka plastičnog otpada koji ulazi u ocean bio je čak 4,8 do 12,7 milijuna metričkih tona u 2010., što negativno utječe na morski svijet (Wilcox i sur., 2016). Značajan dio proizvodnje (39% u Europi) se koristi za pakiranje. Konvencionalna plastična ambalaža proizvodi se od fosilnih goriva, čiji su resursi ograničeni i neobnovljivi. Budući da su obrasci potrošnje i potreba za jednokratnim pakiranjima teško povratni, pronalaženje obnovljivih i reciklirajućih alternativa od iznimne je važnosti. Obilje bio-otpada pretvara ga u ekološki prihvatljivu opciju koju treba iskoristiti. U tom kontekstu, biopolimeri koji se mogu ekstrahirati iz biološkog otpada, kao što su polisaharidi, proteini i lipidi, pokazuju veliki potencijal zbog svoje netoksičnosti, biorazgradivosti i biokompatibilnosti. Među proteinima, želatina je najzastupljenija zbog velikog broja izvora iz kojih se želatina može dobiti.

Sve veća uporaba plastike izazvala je ozbiljne ekološke probleme usko povezanu njihovom nerazgradivosti (Leal Filho i sur., 2019). Stoga je sve veći istraživački interes usmjeren prema većoj upotrebi obnovljivih izvora za proizvodnju biopolimera s određenim

željenim funkcijama koje su ujedno potpuno biorazgradive i reciklirajuće (Kabiri sur., 2020). U neposredan dodir s hranom dolaze različiti materijali i predmeti izrađeni od tih materijala. Među njima su najčešći metali, polimerni materijali (plastika, uključujući lakove, premaze i prevlake, celuloza i elastomeri), drvo, tekstil itd. Predmeti koji obično dolaze u dodir s hranom su pribor, posuđe, oprema i uređaji te ambalaža koja se rabi u poslovanju s hranom. U neposredan dodir s hranom mogu doći i biorazgradivi, reciklirani, aktivni i inteligentni materijali od kojih svaki ima svoju funkciju. Aktivni materijali otpuštaju aktivne sastojke u hranu kako bi se produžio rok trajanja, a inteligentni materijali nadziru stanje upakiranog sadržaja, kao što su vlaga i temperatura. Najvažnija uloga ambalaže je zaštita proizvoda od vanjskih utjecaja i održavanje proizvoda u zdravstveno ispravnom stanju. Ne postoji nijedan materijal, s time i staklo, koji je potpuno inertan kada dolazi u neposredan dodir s hranom. Ambalažni materijali i hrana su uvijek u interakciji. Rezultat je najčešće prelazak spojeva male molekulske mase u hranu, tj. migracija i otpuštanje iz materijala ili predmeta u hranu ili obrnuto. U nekim slučajevima to može predstavljati zdravstveni rizik za potrošača (Anonymous 2).

Aktivni i inteligentni materijali produljuju rok trajnosti održavajući ili poboljšavajući svojstva upakirane hrane, otpuštajući ili apsorbirajući tvari u ili iz hrane ili okoliša koji je okružuje. Zbog toga su izuzeti iz općeg pravila o inertnosti iz Uredbe (EZ) br. 1935/2004. Posebni zahtjevi i svojstva aktivnih i inteligentnih ambalažnih materijala dani su u Uredbi Komisije (EZ) br. 450/2009 :

- apsorpcija tvari iz unutrašnjosti pakiranja hrane kao što su tekućina i kisik;
- otpuštanje tvari u hranu kao što su konzervansi;
- označavanje isteka roka trajnosti hrane sensorima koji mijenjaju boju kada se prekorači maksimalni rok trajanja ili temperatura skladištenja.

Biorazgradnja je proces razgradnje polimera pomoću živih organizama, bakterija, fungi ili algi, sa svrhom dobivanja ugljikovog dioksida, vode, metana i biomase, što mikroorganizmi koriste kao izvor energije. Bakterije, s kojima se najčešće susrećemo prilikom biorazgradnje su iz sojeva: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia* itd. Fungiti također sudjeluju u biorazgradnji, a neke od njih su sojevi: *Talaromyces*, *Thermoascus* i druge. Razlikuju se anaerobna i aerobna biorazgradnja, jer se biorazgradnja može odvijati u prisustvu ili bez prisustva kisika. Kisik iz zraka reagira s polimerom kod aerobne biorazgradnje pri čemu nastaju ugljikov dioksid, voda i kompost sastavljen od minerala i kompleksnih organskih tvari. Ugljikov dioksid, metan, voda, biomasa i ostatci nastaju iz polimera kod anaerobne biorazgradnje (Anonymous 3).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1.MATERIJALI

U ovom radu korišteni su biopolimerni materijali prethodno proizvedeni u suradnji s istraživačima iz UMR PAM A 02.102, Agrosup Dijon, Sveučilište u Burgundiji. Poli(mliječna kiselina) (PLA) je korištena kao osnovni materijal (Nativia-NTSS 25, Taghleef Industries, San Giorgio di Nogaro, Italija). Glavna svojstva ovog biaksijalno orijentiranog materijala dana su u tehničkim podacima (NATIVIA-NTSS, 2021.) NTSS Nativia PLA film je obostrano tretiran „Corona“ tretmanom tijekom industrijske proizvodnje. Ovaj tretman olakšava prijanjanje hidrofilne aktivne prevlake. Uzorci su izrezani u listove točnih dimenzija (50 cm x 20 cm) kako bi se mogli koristiti kao podloga za proces prevlačenja. Za proizvodnju tankih barijernih i funkcionalnih prevlaka korišteni su: komercijalno dostupna riblja želatina (GEL) (CO-SP-004, 200 Bloom (stupanj cvjetanja), viskoznost 3,5 - 4,5 mPa.s pri 60 °C i pri koncentraciji od 6,67% u vodi te pri pH=5,8, pI=4,8 - 5,3, Louis François, Marne-La-Vallée, Francuska), galna kiselina (GA, min. čistoće 98%, $M_w = 170.12 \text{ g mol}^{-1}$ $M_v=97,3 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$, gustoća $1,749 \text{ g cm}^{-3}$, MP = 251 °C, BP=501 °C, LogP = 0,964, pKa u vodenoj otopini=4,09, topivost u vodi = $11,5 \text{ g L}^{-1}$ pri 20 °C, Sigma Aldrich, Njemačka), taninska kiselina (TA, minimalna čistoća 98%, $M_w = 1701,2 \text{ g mol}^{-1}$, $MV=799,1 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$, gustoća $2,1 \text{ g cm}^{-3}$, MP = 218 °C, LogP = 9,537, pKa u vodenoj otopini=10, topivost u vodi = $2,85 \text{ g L}^{-1}$ pri 20 °C, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin Fallavier, Francuska). Obje fenolne kiseline odabrane su kao prirodne antioksidativne molekule. Taninska kiselina smatra se aditivom u hrani (E181) bez ikakvih ograničenja uporabe ili maksimalnog dnevnog unosa prema Europskoj Agenciji za Sigurnost Hrane (EFSA), dok je u slučaju galne kiseline, nekoliko studija pokazalo da nije toksična u koncentracijama ispod 1000 mg kg^{-1} . Kao plastifikator korišten je glicerol (GLY) (anhidridni, čistoće 98%, Fluka-Fisher Scientific SAS, Illkirch, Francuska).

3.2.PRIPREMA MATERIJALA

U ovom radu korištene su četiri kombinacije materijala:

- a) PLA - GEL (poli(mliječna kiselina) prevučenaželatinom);
- b) PLA - GEL – GA (poli(mliječna kiselina) prevučenaželatinom s dodatkom galne kiseline);
- c) PLA - GEL –TA (poli(mliječna kiselina) prevučenaželatinom s dodatkom taninske kiseline);
- d) PLA - GEL - GA –TA (poli(mliječna kiselina) prevučenaželatinom s dodatkom galne i taninske kiseline).

Točno određena masa, 150 g, riblje želatine u prahu je dispergirano u 1 L destilirane vode pri 60 °C uz kontinuirano miješanje na 300 okretaja u minuti tijekom 30 minuta. Nakon potpunog otapanja želatine, dodano je 22,5 g glicerola (15% m/msuhe tvari polimera), pod istim uvjetima miješanja i temperature tijekom 10 minuta. Uzorak od 200 mL izliven je na PLA filmove kako bi se formirali PLA/GEL filmovi. Zatim su slijedila dva postupka miješanja za formiranje otopina koje stvaraju film sa suspenzijom želatine i glicerola od 800 mL: 1) dodavanje taninske kiseline (PLA/GEL-TA), 2) dodavanje galne kiseline (GA) (PLA/GEL-TA), te 3) dodavanje prvo galne pa potom taninske kiseline (PLA/GEL-GA-TA). 1) Taninska kiselina (TA) dodana je u koncentraciji 1% (m/m) u uzorak od 400 mL, homogenizirana na 300 okretaja u minuti do potpunog otapanja TA (GEL-TA) tijekom 20 minuta na 60 °C. Galna kiselina (GA) je dodana u količini od 1% (m/m mase želatine). Ova otopina je homogenizirana na 300 okretaja u minuti do potpunog otapanja GA (GEL-GA). Za pripremu kombinacije GA i TA, u 400 mL suspenzije želatina-glicerol u prvom koraku dodana je GA (kako bi se formirao film GEL-GA), a zatim je TA ugrađen da se pripremi otopina za oblaganje GEL-GA-TA.

3.3.METODE

3.3.1. Debljina filma

Debljina filmova se određuje digitalnim mikrometrom koji mjeri sa preciznošću do 0,001 mm (Digimet, HP, Helios Preisser, Njemačka). Debljina se na svakom filmu određuje na pet mjesta, te se za rezultat uzima srednja vrijednost uz pripadajuću standardnu devijaciju (μm).

3.3.2. Boja filma

Kolorimetar je uređaj pomoću kojeg se određuje boja filmova (CM – 3500 d, Konica Minolta, Japan). CIE L^* a^* b^* prostorni model je trodimenzionalni sustav boja, na principu kojeg radi kolorimetar. Parametar L označava raspon od crne do bijele boje (0% – 100%), parametar a^* označava raspon boja od crvene (+) do zelene (-), a parametar b^* od žute (+) do plave (-) (Petrović i sur., 2013) (slika 7.). Kolorimetar radi na principu da se kalibrira, a uzorak se stavi ispod otvora. Na svakom filmu se provodi mjerenje na 10 mjesta, a rezultati su prikazani kao srednja vrijednost. Odstupanje reprodukcije od originala (ΔE) predstavlja kolorimetrijsku razliku (Petrović i sur., 2013). Ovaj parametar se računa kao srednja vrijednost razlika između L^* , a^* i b^* vrijednosti standarda i vrijednosti izmjerene na uzorku prema formuli [1]:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} [1]$$

$$\Delta L = L_0 - L_1$$

$$\Delta a = a_0 - a_1$$

$$\Delta b = b_0 - b_1$$

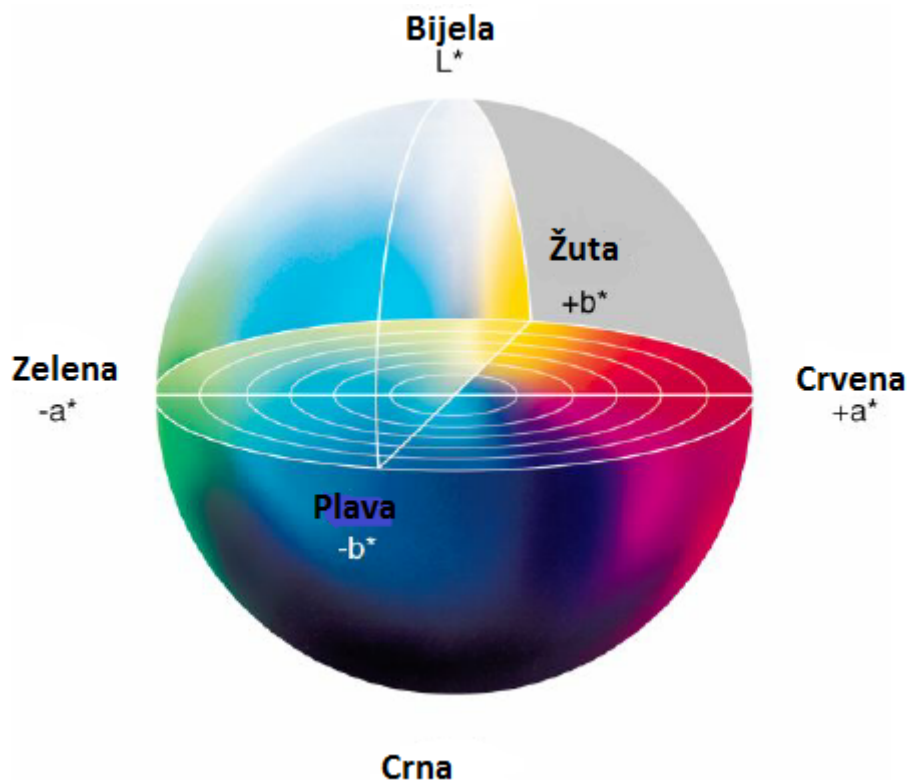
gdje su:

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

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

Indeks bjeline (WI) definira supanj bjeline, odnosno to je broj koji govori o udaljenosti od savršeno bijele boje. Računa se prema formuli [2]:

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



Slika 7. CIE L*a*b* prostor boja (Anonymous 4)

3.3.3. Mjerenje transparentnosti filmova

Transparentnosti se mjeri spektrofotometrijskim UV/VIS spektrofotometrom (Perkin Elmer Lambda 25, SAD). Transparentnost se određuje mjerenjem apsorbancije uzoraka pri valnoj duljini od 600 nm, prema Peng i sur. (2013). Transparentnost filma se računa iz podataka o apsorbanciji prema jednadžbi [3]:

$$T = 10^{-Abs_{600} / l} \quad [3]$$

T – transparentnost;

Abs_{600} – apsorbancija pri 600 nm;

l - debljina filma (mm).

3.3.4. Određivanje propusnosti plinova kroz film

Propusnost filmova na kisik i ugljikov dioksid se provodi manometarskom metodom na uređaju za mjerenje propusnosti Brugger, GDP-C (Brugger Feinmechanik GmbH, Munich, Njemačka). Uzorak točno poznate površine se postavlja između gornjeg i donjeg dijela permeacijske ćelije. Prije svakog mjerenja evakuira se zrak iz gornjeg i donjeg dijela ćelije, a zatim se kroz jednu stranu uzorka (gornja ćelija) propušta mjerni plin pod tlakom od 5 bara i protoka 80 mL min^{-1} . Porast tlaka na donjem dijelu ćelije uzrokuje razlika u tlaku i dolazi do difuzije plina kroz ispitivani materijal. Pomoću računalnog programa ovaj uređaj automatski očitava porast tlaka, registrira i zabilježi. Rezultati se očitaju kao vrijednost permeance q ($\text{cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ bar}^{-1}$), a izraženi su kao propusnost. Propusnost na kisik, PO_2 , i propusnost na ugljikov dioksid, PCO_2 , se dobiva kao aritmetički produkt debljine filma i permeance, te se izražava u $\text{cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ d}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$.

3.3.5. Mjerenje propusnosti vodene pare

Propusnost vodene pare kroz biopolimerni film određuje se prema metodi ASTM E96-80 (1980), prilagođenoj za određivanje propusnosti kod jestivih materijala (Debeaufort i sur., 1993). Metoda se temelji na principu da se uzorci čuvaju pri kontroliranim uvjetima temperature i vlage. Shematski prikaz mjerne posude dan je na slici 8. Između dva teflonska prstena na vrhu čaše se postavlja uzorak filma. Potom se u mjernu čašicu stavi 20 ml destilirane vode ili zasićena otpina magnezijeva nitrata. Uzorci se čuvaju deset dana pri $23 \text{ }^\circ\text{C}$ i 30% RH u ventiliranoj klima komori (Memmert HPP110, Memmert, Njemačka). Propusnost na vodenu paru se označava s WVP , mjerna jedinica je $\text{g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$, a računa se iz promjene mase posude u odnosu na vrijeme u stacionarnom stanju prema formuli [4]:

$$WVP = \frac{\Delta m}{\Delta t \cdot A \cdot \Delta p} \cdot x \quad [4]$$

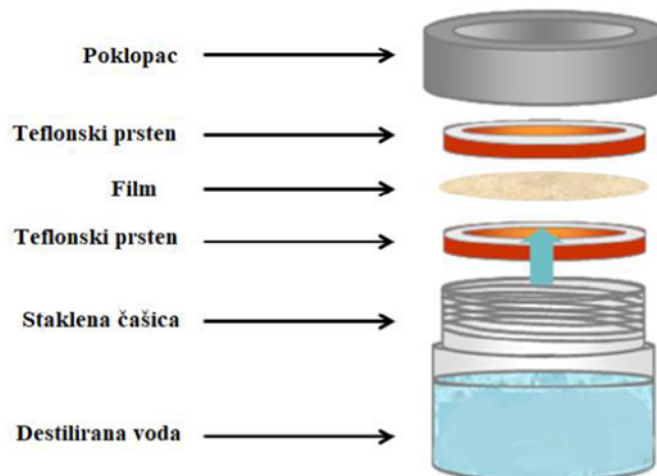
WVP – propusnost na vodenu paru ($\text{g}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ s}^{-1}$)

$\Delta m/\Delta t$ – 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)



Slika 8. Posuda za određivanje propusnosti materijala na vodenu paru (prema Kurek, 2012)

3.3.6. Statistička analiza

Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost \pm standardna devijacija. Analizom varijance (jednosmjerna ANOVA) provedena je na XLStat Add-In programu za Microsoft Excel. Sva mjerenja su provedena u minimalno tri ponavljanja. Statistički značajna razlika se smatra kada je vrijednost vjerojatnosti $p < 0,05$.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1.MJERENJE DEBLJINE FILMOVA

U tablici 2. dane su izmjerene vrijednosti debljine filmova.

Tablica 2. Debljina filmova

Uzorak	Debljina (μm)
PLA	$23,2 \pm 2,57^c$
PLA-GEL	$26,6 \pm 6,00^c$
PLA-GEL-GA	$28,2 \pm 7,54^c$
PLA-GEL-TA	$48,8 \pm 10,60^b$
PLA-GEL-GA-TA	$63,7 \pm 11,33^a$

PLA – poli(mliječna kiselina); GEL – želatina; GA – galna kiselina; TA – taninska kiselina Različiti eksponenti (^{a-c}) označavaju statistički značajne razlike unutar istog stupca ($p < 0,05$).

Debljina filma važno je svojstvo materijala jer utječe na mnoga druga svojstva kao što su i mehanička i barijerna svojstva. Iz podataka u tablici 2. može se zaključiti da se PLA, PLA-GEL i PLA-GEL-GA statistički značajno ne razlikuju. Debljina PLA je u skladu s tehničkim podacima o materijalu ($25 \mu\text{m}$). Iako bi se očekivalo da se nanošenjem GEL sloja povećava debljina materijala, sloj GEL je dovoljno tanak da ne utječe na razlike u mjerenju koje je moguće izmjeriti dostupnom opremom. Slično je navedeno i u radu Valdes i sur. (2015) koji ukazuju da dodatak kristala nanoceluloze i antioksidansa iz ljuske badema ne utječe na proces stvaranja i debljinu PLA filma. Suprotno tome, kod uzoraka PLA s dodatkom želatine i taninske kiseline, te PLA s dodatkom želatine, taninske i galne kiseline može se uočiti statistički značajna razlika u debljini materijala. Dodatkom taninske kiseline debljina materijala se povećava, vjerojatno zbog razlika u umrežavanju polimernih lanaca želatine s dodatkom samo GA i s dodatkom TA.

4.2. BOJA I TRANSPARENTNOST MATERIJALA

Optička svojstva materijala za pakiranje hrane važna su u smislu općeg izgleda, prihvaćanja od stranepotrošača, ali i vizualizacije proizvoda. Vizualno, uzorci su bili bez oštećenja, bez vidljivih razdvajanja i bez naizgled značajne razlike u boji. Rezultati mjerenja parametara boje dani su u tablici 3.

Tablica 3. Parametri boje (L^* , a^* , b^*), ukupna razlika u obojenosti (ΔE), te indeks bjeline (WI) izmjerenih na uzorcima filmova na bazi poli(mliječne kiseline) i želatine

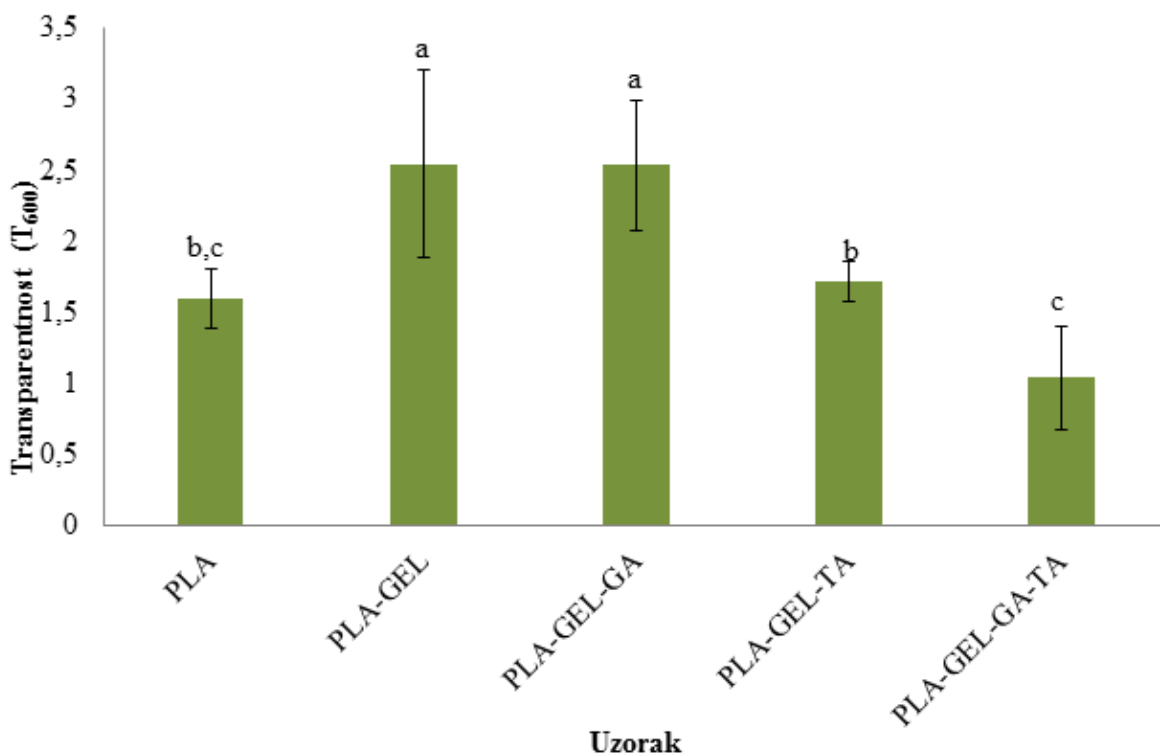
Uzorak	L^*	a^*	b^*	ΔE	WI
PLA	91,95 ±0,39 ^{a,b}	2,52 ±0,02 ^a	-7,95 ±0,11 ^c	0,00 ±0,00 ^d	88,40 ±0,22 ^b
PLA-GEL	92,09 ±0,19 ^a	2,52 ±0,03 ^a	-8,00 ±0,08 ^c	0,22 ±0,16 ^c	88,47 ±0,09 ^b
PLA-GEL-GA	91,97 ±0,38 ^{a,b}	2,30 ±0,11 ^b	-7,38 ±0,28 ^{a,b}	0,70 ±0,34 ^{a,b}	88,85 ±0,30 ^a
PLA-GEL-TA	91,61 ±0,35 ^b	2,27 ±0,08 ^b	-7,18 ±0,27 ^a	0,92 ±0,37 ^a	88,72 ±0,24 ^a
PLA-GEL-GA-TA	91,89 ±0,15 ^{a,b}	2,38 ±0,06 ^b	-7,54 ±0,13 ^b	0,47 ±0,14 ^b	88,68 ±0,11 ^a

PLA – poli(mliječna kiselina); GEL – želatina; GA – galna kiselina; TA – taninska kiselina Različiti eksponenti (^{a-d}) označavaju statistički značajne razlike unutar istog stupca ($p < 0,05$).

Vrijednost parametra svjetline, L^* , kod svih uzoraka veća od 90, što znači da su svi uzorci svijetli. Najveću vrijednost ima PLA u kombinaciji sa želatinom, međutim statistički značajne razlike u odnosu na ostale uzorke nema. Vrijednosti parametra a^* su pozitivne, krećući se u rasponu od 2,26 do 2,52. Vizualno, čisti filmovi od PLA su prozirni, a nanošenjem sloja GEL ne dolazi do značajnijeg obojanja. Ipak, dodatak taninske i galne kiseline uzrokuje porast vrijednosti parametra a^* , odnosno ukazuje na prisutnost zelenkasto-žute boje. Vrijednosti parametra b^* su negativne. Najniže vrijednosti su izmjerene za PLA i PLA-GEL bez statistički značajne razlike među uzorcima, dok su te vrijednosti lagano više za uzorke s dodatkom oba antioksidansa (GA i TA). Valdes i sur. (2015) su dobili slične vrijednosti za PLA-GEL i PLA-GEL s dodatkom nanoceluloze, no značajan pad svjetline uzoraka s dodatkom ekstrakta badema kao antioksidansa. Slične razlike su također izmjerene i za ostale parametre boje. Ukupna razlika u obojenosti, ΔE , najmanja je kod uzorka s slojem čiste želatine (PLA-GEL), a povisuje se s dodatkom GA i TA slijedećim redom: PLA-GEL-

GA-TA <PLA-GEL-GA<PLA-GEL-TA. Prema literaturi, razlika u obojenosti između dva filma može se podijeliti u nekoliko skupina, a to su: $0 < \Delta E < 1$ – neprimjetna; $1 < \Delta E < 2$ – primjetna za iskusnog promatrača; $2 < \Delta E < 3,5$ – primjetna i za neiskusnog promatrača; $3,5 < \Delta E < 5$ – značajno primjetna; $5 < \Delta E$ – daje dojam da se radi o dva potpuno različite boje (Hawthorne i sur., 2020). Boja filmova iz ovog istraživanja se može smatrati sličnima jer su sve ΔE vrijednosti ispod 1, odnosno razlika u boji nije uočljiva ljudskom oku (Li i sur., 2021).

Na slici 9. prikazane su izračunate vrijednosti transparentnosti filmova mjerenih pri 600 nm.



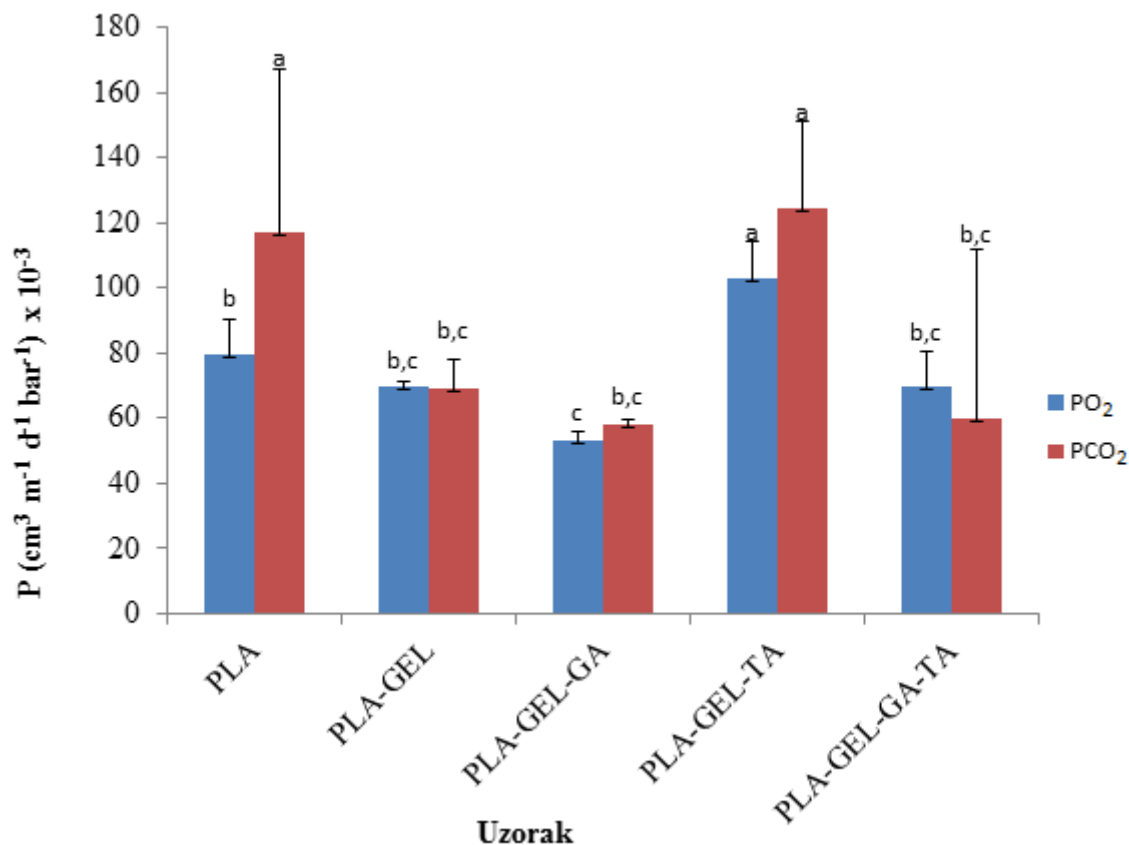
Slika 9. Transparentnost uzoraka filmova mjerena pri 600 nm

PLA – poli(mliječna kiselina); GEL – želatina; GA – galna kiselina; TA – taninska kiselina Različiti eksponenti (^{a-d}) označavaju statistički značajne razlike unutar istog stupca ($p < 0,05$).

Prozirnost filmova ovisi o strukturi filma i njegovim dodanim komponentama. Općenito, što su niže vrijednosti, to je materijal prozirniji. Kontrolni PLA i PLA-GEL-GA-TA pokazuju najniže T_{600} vrijednosti. Nanošenjem sloja od želatine, te dodatkom galne kiseline povećava se vrijednost T_{600} u odnosu na kontrolni uzorak (PLA). Rezultati dobiveni u ovom radu slični su onima u radu Halim i sur. (2018), koji ukazuju da dodatak taninske kiseline u polimerni film smanjuje prozirnost filma.

4.3. PROPUSNOST NA PLINOVE

Na slici 10. dani su rezultati mjerenja propusnosti na O_2 i CO_2 . Propusnost plinova, a posebice kisika i ugljikovog dioksida, vrlo je važno svojstvo materijala za pakiranje hrane, posebice za pakiranje onih proizvoda koji su osjetljivi na oksidaciju npr. masti, ulja, antioksidansa i sl. Također je važno svojstvo materijala koji se koriste za pakiranje u modificiranoj atmosferi, kao što su meso i riba, no i za proizvode koji dišu i nakon procesiranja, odnosno tijekom skladištenja, a to su voće i povrće. Prisutnost kisika u hrani rezultira oksidacijskim promjenama, te posljedično može doći do pogoršanja organoleptičkih svojstava upakirane hrane (Vujković i sur., 2007). Propusnost kontrolnog uzorka, PLA, iznosi $79,58 \times 10^{-3} \text{ cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ d}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ za O_2 i $117,24 \times 10^{-3} \text{ cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ d}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ za CO_2 . Vrijednosti su slične onima u znanstvenoj literaturi (Colomines i sur., 2010). Kod kontrolnog uzorka, propusnost na CO_2 je viša od propusnosti na O_2 , dok kod ostalih uzoraka nema razlike. Također, u usporedbi s sintetskim materijalima, PCO_2 je niži u odnosu na polistiren (PS) ($1,55 \times 10^{-16} \text{ kg m m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$), te viši u odnosu na poli(etilen tereftalat) (PET) ($1,7 \times 10^{-18}$ – $3,17 \times 10^{-18} \text{ kg m m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$) (Auras i sur., 2003). Zbog polukristalne prirode PLA, barijerna svojstva ovog materijala su usko povezana s kristaliničnošću, budući da se mehanizmi difuzije ovih molekula odvijaju kroz amorfnu područja (Colomines i sur., 2010). Iz rezultata mjerenja vidljivo je da se dodatkom sloja od želatine propusnost PLA na kisik i ugljikov dioksid smanjuje. Iako je želatina hidrofilni materijal, mjerenja su provedena pri niskoj RH, odnosno ≈ 0 , pa se utjecaj vode i promjene u strukturi materijala (povećana pokretnost polimernih lanaca te slobodan međuprostor za prolaz – difuziju molekula male molekulske mase) može zanemariti. Nanošenjem premaza od želatine i galne kiseline propusnost se također statistički značajno smanjuje, dok se dodatkom želatine i taninske kiseline propusnost opet povećava dosežući vrijednosti kontrolnog filma.



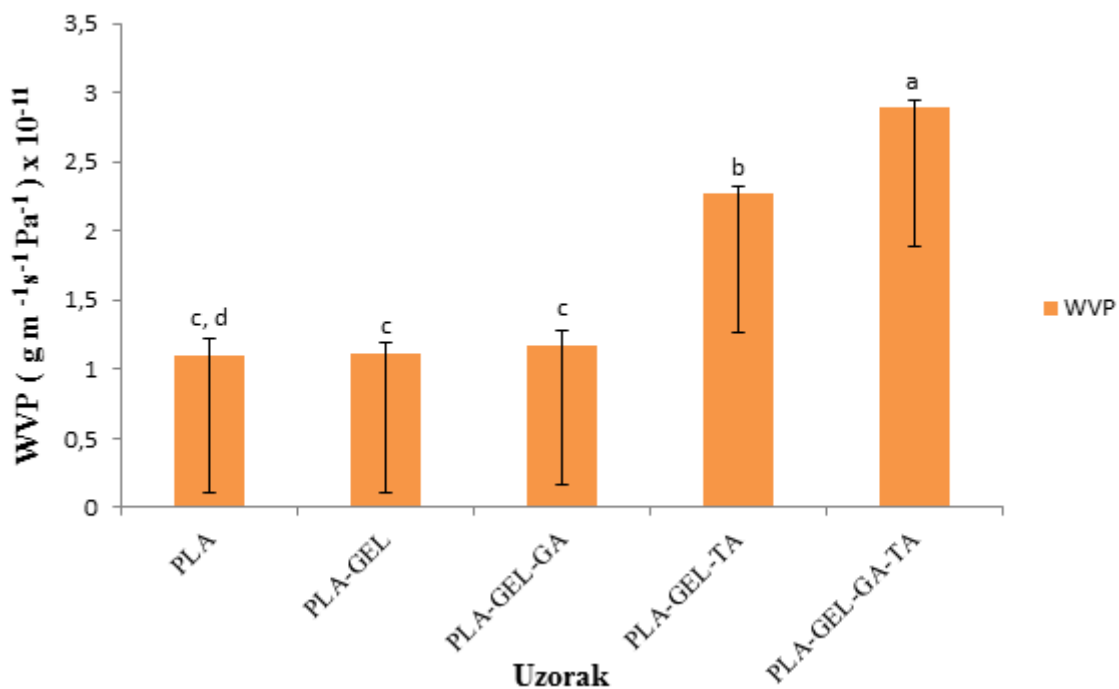
Slika 10. Propusnosti kisika i ugljikovog dioksida na uzorcima filmova

PLA – poli(mliječna kiselina); GEL – želatina; GA – galna kiselina; TA – taninska kiselina. Različiti eksponenti (a-d) označavaju statistički značajne razlike unutar istog stupca ($p < 0,05$).

Rezultati mjerenja u skladu s istraživanjima Zhang i sur. (2021) i Wang i sur. (2019). Autori su pokazali da se dodatkom galne i taninske kiseline postižu bolja barijerna svojstva kitozan-želatin filma na kisik. Dodatkom galne i taninske kiseline dobiva se nepropusnija i kompleksnija struktura, zbog tog što se povećava kristaličnost matriksa.

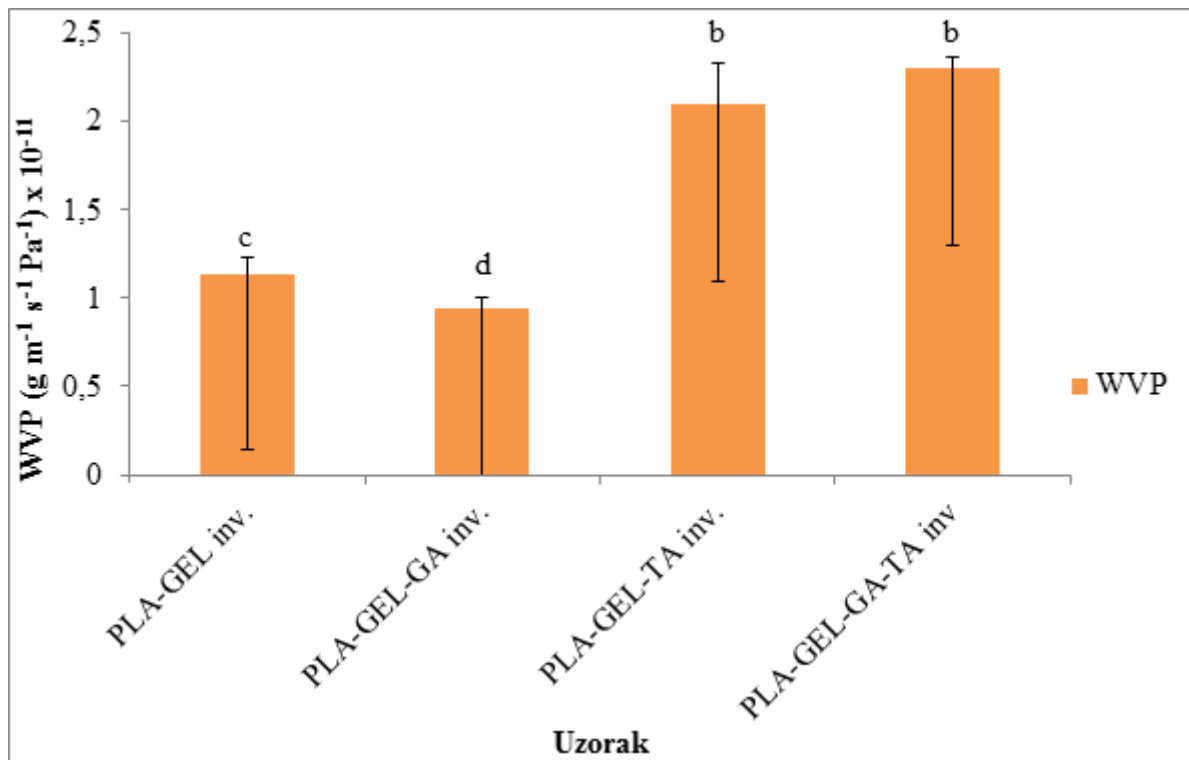
4.4. ODREĐIVANJE PROPUSNOSTI VODENE PARE

Da ne bi došlo do prijenosa vlage između atmosfere i proizvoda, a samim time da bi se spriječilo smanjenje kvalitete proizvoda koji je zapakiran, bilo bi poželjno da kod pakiranja prehrambenih proizvoda propusnost vodene pare bude niska (Bourbon i sur., 2011). U slučaju jestivih ambalažnih materijala, kako bi se smanjila dehidracija i održala svježina proizvoda, jestivi filmovi zahtijevaju nižu propusnost na vodenu paru (Aguirre-Loredo i sur., 2016).



Slika 11. Propusnosti uzoraka filmova na vodenu paru (WVP)

PLA – poli(mliječna kiselina); GEL – želatina; GA – galna kiselina; TA – taninska kiselina. Različiti eksponenti (a^{-d}) označavaju statistički značajne razlike unutar istog stupca (p < 0,05).

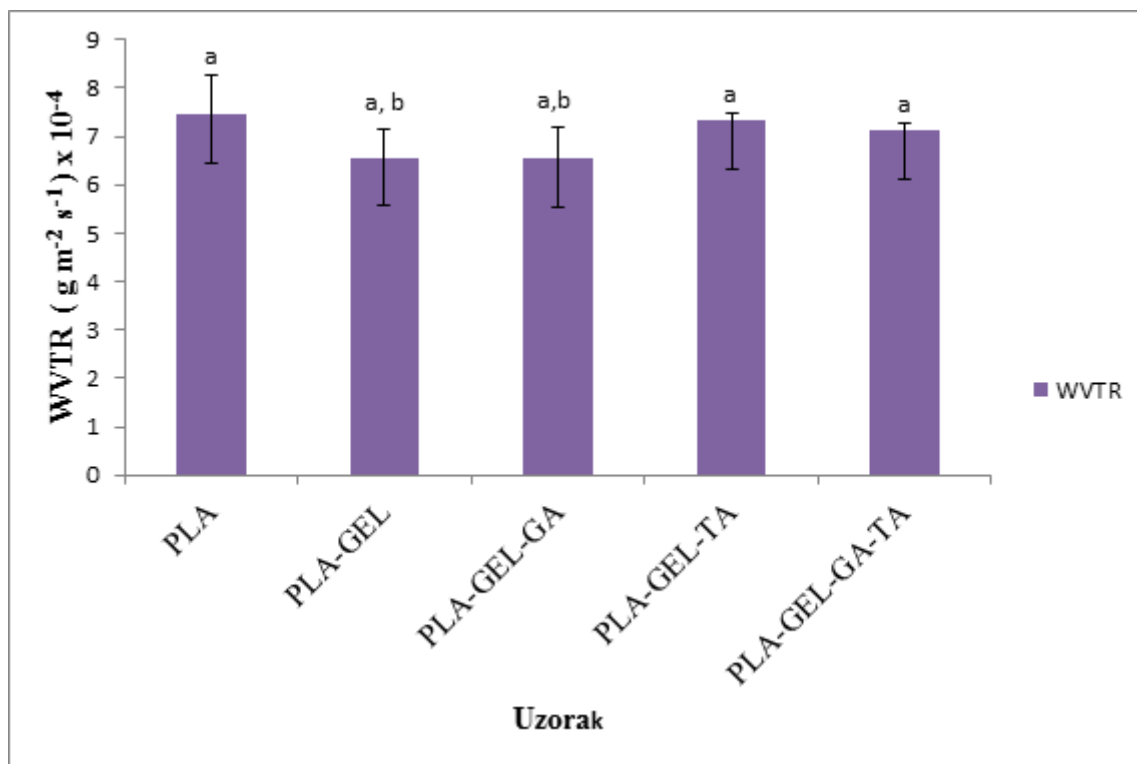


Slika 12. Propusnosti uzoraka filmova na vodenu paru (*WVP*)

PLA – poli(mliječna kiselina); GEL – želatina; GA – galna kiselina; TA – taninska kiselina. inv. – „*inverted*“, uzorak gdje je strana s želatinom okrenuta prema nižem RH.

Različiti eksponenti (^{b-d}) označavaju statistički značajne razlike unutar istog stupca ($p < 0,05$).

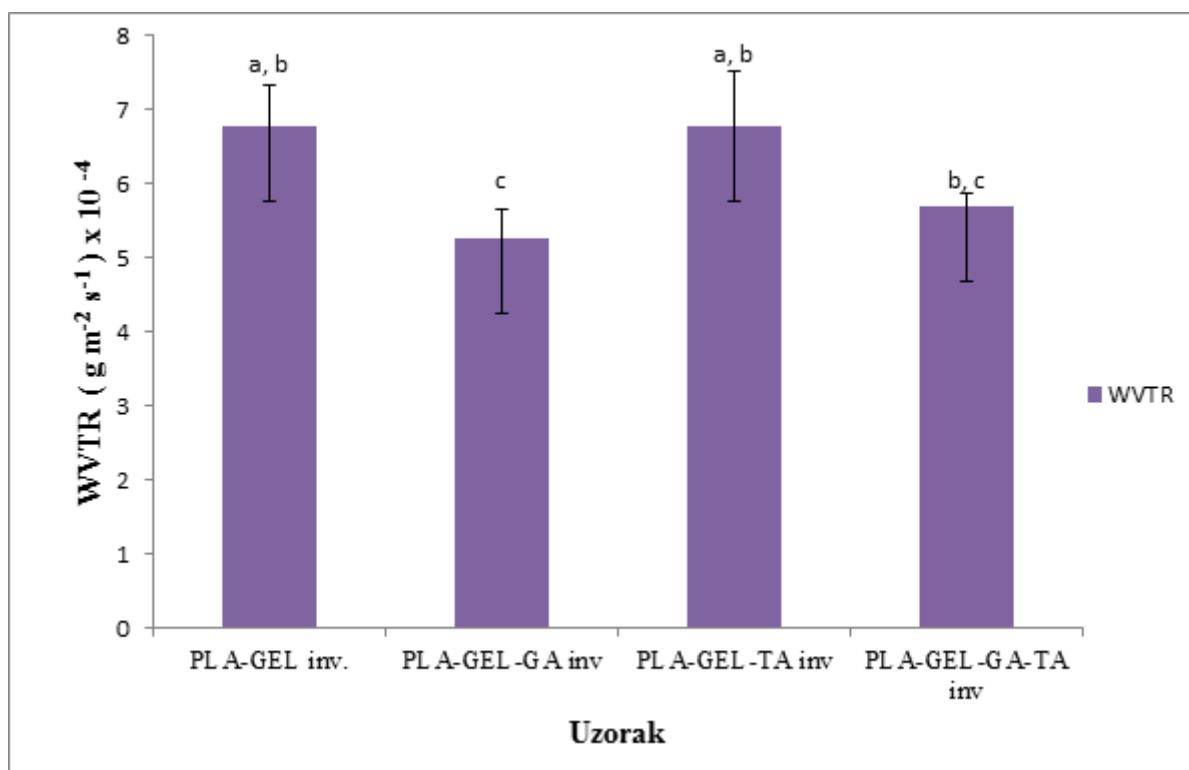
Rezultati mjerenja propusnosti vodene pare (*WVP*) i brzina prijenosa vodene pare (*WVTR*) dani su na slikama 11. i 12. (*WVP*) i 13. i 14. (*WVTR*). Kontrolni uzorak PLA, PLA-GEL i PLA-GEL-GA su dali slične rezultate bez statistički značajne razlike među uzorcima. Dodatkom TA dolazi do značajnog povišenja propusnosti na vodenu paru, te stoga svi uzorci s TA pokazuju statistički značajno više vrijednosti u odnosu na kontrolni uzorak. Halim i sur. (2018) su izmjerili niže vrijednosti propusnosti na vodenu paru filma od kitozana s dodatkom TA, što je suprotno rezultatima dobivenim u ovom radu. Budući nema značajne razlike u rezultatima mjerenja s obzirom na orijntaciju uzorka prema nižem/višem RH, možemo zaključiti da iako hidrofilna, želatina nanešena u tankom sloju ne utječe na povišeni prijenos vodene pare kroz PLA.



Slika 13. Grafički prikaz brzine prijenosa vodene pare uzoraka filmova (WVTR)

PLA – poli(mliječna kiselina); GEL – želatina; GA – galna kiselina; TA – taninska kiselina.

Različiti eksponenti (a^{-b}) označavaju statistički značajne razlike unutar istog stupca (p < 0,05).



Slika 14. Grafički prikaz brzine prijenosa vodene pare uzoraka filmova (WVTR)

PLA – poli(mliječna kiselina); GEL – želatina; GA – galna kiselina; TA – taninska kiselina; inv. – „*inverted*“, uzorak gdje je strana s želatinom okrenuta prema nižem RH.

Različiti eksponenti (^{a-c}) označavaju statistički značajne razlike unutar istog stupca ($p < 0,05$).

Najveću brzinu prijenosa vodene pare ima kontrolni uzorak PLA. Brzina prijenosa vodene pare smanjuje se dodatkom želatine, galne i taninske kiseline. Rezultati dobiveni za PLA u skladu su sa znanstvenom literaturom (Shogren i sur., 1997). Navedeni autori su određivali brzinu prijenosa vodene pare kroz PLA u kristalnom i amorfnom obliku. Dobivene vrijednosti kretale su se od $9,49 \times 10^{-4} \text{ g m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ za kristalni PLA, do $1,99 \times 10^{-3} \text{ g m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ za PLA u amorfnom obliku. Amorfna PLA je propusnija od PLA u kristalnom obliku jer kristalna PLA ima puno gušću strukturu polimernog matriksa.

5. ZAKLJUČAK

U ovom istraživanju karakterizirani su filmovi na bazi poli(mliječne kiseline) (PLA) s dodatkom barijernog sloja želatine (GEL), bez i s dodatkom galne (GA) i taninske kiseline (TA).

1. Vizualno, svi uzorci su bili ujednačeni bez vidljivih nepravilnosti na njihovoj površini. Razlika u debljini filmova bila je u porastu s dodavanjem sloja želatine, taninske i galne kiseline u odnosu na kontrolni PLA film.
2. Kontrolni filmovi (PLA) su prozirni dok dodatak taninske i galne kiseline u sloj od želatine uzrokuje prisutnost zelenkasto-žutog tona. Ipak ukupna razlika u obojenosti ΔE nije bila vidljiva ljudskom oku.
3. Kontrolni uzorak (PLA) i PLA s dodatkom želatine, galne i taninske kiseline, pokazuju najmanje vrijednosti transparentnosti, što ukazuje na to da su najprozirniji. Dodatkom želatine, te dodatkom želatine i galne kiseline smanjuje se prozirnost u odnosu na kontrolu.
4. Uzorci s barijernim premazom od želatine i želatine s GA mali su niže vrijednosti propusnosti na kisik i ugljikov dioksid u odnosu na kontrolni PLA film, dok se dodatkom TA te vrijednosti povisuju dostižući vrijednost kontrolnog uzorka.
5. Propusnost na vodenu paru dodatkom želatine i galne kiseline se ne mijenja, dok se u uzorcima s filmom od želatine i dodatkom taninske, te kombinacijom želatine, galne i taninske kiseline, povećava propusnost na vodenu paru.

6. LITERATURA

- Ahammed S, Liu F, Wu J, Khin MN, Yokoyama WH, Zhong F (2021) Effect of transglutaminase crosslinking on solubility property and mechanical strength of gelatin-zein composite films. *Food Hydrocoll***116**, 106649. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106649>
- Ahmad T, Ismail A, Ahmad SA, Khalil KA, Kumar Y, Adeyemi KD i sur. (2017) Recent advances on the role of process variables affecting gelatin yield and characteristics with special reference to enzymatic extraction: A review. *Food Hydrocoll***63**, 85–96. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.007>
- Albertsson AC, Varma I (2002) In Degradable Aliphatic Polyesters, Springer Berlin Heidelberg.
- Anonymous 1, <https://hr.chinabiomaterial.com/polylactic-acid/pla-granule/> Pristupljeno 26.7.2022.
- Anonymous 2, https://food.ec.europa.eu/safety/chemical-safety/food-contact-materials/legislation_en Pristupljeno 13.8.2022.
- Anonymous 3, <https://www.hzjz.hr/sluzba-zdravstvena-ekologija/materijali-i-predmeti-koji-dolaze-u-neposredan-dodir-s-hranom/> Pristupljeno 13.8.2022.
- Anonymous 4, https://www.researchgate.net/figure/CIE-LAB-1976-color-space_fig2_263697963 Pristupljeno 26.7.2022.
- Atarés L, Chiralt A (2016) Essential oils as additives in biodegradable films and coatings for active food packaging. *Trends Food Sci Technol***48**, 51–62. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.001>
- Aulin C, Karabulut E, Tran A, Wagberg L, Lindström T(2013) Transparent nanocellulosic multilayer thin films on polylactic acid with tunable gas barrier properties. *ACS Appl Mater Interfaces***5**, 7352–7359. <https://doi.org/10.1021/am401700n>
- Auras R, Harte B, Selke S, Hernandez R (2003) Mechanical, physical, and barrier properties of poly(lactide) films. *J Plast Film Sheeting* **19**:123–135. [doi: 10.1177/8756087903039702](https://doi.org/10.1177/8756087903039702)
- Berk Z (2018) Food process engineering and technology, 3. izd., Academic Press, Cambridge.

- Bourtoom T (2009) Edible protein films: properties enhancement. *Int Food Res J***16**,1–9.
- Butler TI, Morris BA (2013) PE-based multilayer film structures, in: S. Ebnesajjad, Plastic films in food packaging, Elsevier Inc, Waltham, str. 21-52. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-37100-1.00017-X>
- Castro-Aguirre E, Iñiguez-Franco F, Samsudin H, Fang X, Auras R (2016) Poly(lactic acid)—Mass production, processing, industrial applications, and end of life. *Adv Drug Deliv Rev* **107**, 333-366.<https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.03.010>
- Chen C, Hao Y, Xiao Y, Qinghai M (2022) Tannic acid: A crosslinker leading to versatile functional polymeric networks.*RSC Adv***12**, 7689–7711. <https://doi.org/10.1039/D1RA07657D>
- Cho S-W, Gallstedt M, Hedenqvist MS(2010) Properties of Wheat Gluten/Poly(lactic acid) Laminates. *J. Agric. Food Chem***58**, 7344–7350. <https://doi.org/10.1021/jf1003144>
- Chu X, Wang H, Jiang Y, Zhang Y, Bao Y, Zhang X, i sur. (2016) Ameliorative effects of tannic acid on carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in vivo and in vitro. *J Pharm Sc***130**,15-23.<https://doi.org/10.1016/j.jphs.2015.12.002>
- Clark S, Jung S, Lamsal B (2014) Food Processing: Principles and Applications, 2. izd., Wiley Blackwell.
- Colomines G, Ducruet V, Courgneau C, Guinault A, Domenek S (2010) Barrier properties of poly(lactic acid) and its morphological changes induced by aroma compound sorption. *Polym Int* **59**,818–826. [doi: 10.1002/pi.2793](https://doi.org/10.1002/pi.2793)
- Dixon J (2011) Packaging materials, 9. izd., Multilayer packaging for food and beverages, Int. Life Sci. Institute Eur., str. 1-44.
- Dou L, Li B, Zhang K, Chu X, Hou H (2018) Physical properties and antioxidant activity of gelatin-sodium alginate edible films with tea polyphenols. *Int J Biol Macromol***118**, 1377–1383. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.121>
- EN 16575:2014 (2014) European Standard. Bio-based products. European Committee for Standardisation (CEN), Brussels, Belgium.

Erel-Unal I, Sukhishvili SA (2008) Hydrogen-Bonded Multilayers of a Neutral Polymer and a Polyphenol Macromolecules. *Macromolecules***41**, 3962-3970. <https://doi:10.1021/ma800186q>

Fakhouri FM, Martelli SM, Caon T, Velasco JI, Mei LHI (2015) Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. *Postharvest Biol Technol***109**, 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.05.015>

Fernandes FHA, Salgado HRN (2015) Gallic Acid: Review of the Methods of Determination and Quantification. *Crit Rev Anal Chem***43**, 257-265. <https://doi.org/10.1080/10408347.2015.1095064>

Leite LSF, Pham C, Bilatto S, Azeredo HMC, Cranston ED, Moreira FK i sur. (2021) Effect of tannic acid and cellulose nanocrystals on antioxidant and antimicrobial properties of gelatin films. *ACS Sust Chem Eng***9**, 8539-8549. <https://doi:10.1021/acssuschemeng.1c01774>

Gartner H, Li Y, Almenar E (2015) Improved wettability and adhesion of polylactic acid/chitosan coating for bio-based multilayer film development. *Appl Surf Sci***332**, 488–493. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.01.157>

GuoL, Qiang T, Ma Y, Ren L, Zhu C (2021) Biodegradable Anti-Ultraviolet Film from Modified Gallic Acid Cross-linked Gelatin. *ACS Sust Chem***9**, 8393–8401. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.1c00085>

Halim ALA, Kamari A, Phillip E (2018) Chitosan, gelatin and methylcellulose films incorporated with tannic acid for food packaging. *Int J Biol Macromol***18**, 10413. [doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.08.169](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.169)

Haroun AA, El Toumy SA (2010) Effect of natural polyphenols on physicochemical properties of crosslinked gelatin-based polymeric biocomposite. *J Appl Polym Sci***116**, 2825–2832. <https://doi.org/10.1002/app.31736>

HoornwegD, Bhada-TataP (2012) What a Waste: A Global Review of Solid Waste Management, World Bank, Washington.

Horvath L, Min B, Kim YT (2017) Testing of mechanical properties for plastic packaging materials. U: Singh P, Wani AA, Langowski HC (ured.) Food packaging materials: Testing & Quality Assurance, 1 izd., CEC Press, New York, str. 103–122.

Hosseini SF, Javidi Z, Rezaei M (2016) Efficient gas barrier properties of multi-layer films based on poly(lactic acid) and fish gelatin. *Int J Biol Macromol***92**, 1205–1214. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.034>

Hosseini SF, Rezaei M, Zandi M, Farahmandghavi F (2015) Bio-based composite edible films containing *Origanum vulgare* L. essential oil. *Ind Crops Prod***67**, 403–413. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.062>

Ibarguren C, Céliz G, Díaz AS, Bertuzzi MA, Daz M, Audisio MC (2015) Gelatine based films added with bacteriocins and a flavonoid ester active against food-borne pathogens. *Innov Food Sci Emerg Technol***28**, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.01.007>

Jv X, Sun S, Zhang Q, Du M, Wang L, Wang B (2020) Efficient and mild reductive amination of carbonyl compounds catalyzed by dual-function palladium nanoparticles. *ACS Sust Chem***8**, 1618–1626. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b06464>

Kabasci S (2020) Biobased plastics. U: Letcher TM (ured.) In *Plastic Waste and Recycling*, Academic Press, str. 67-96.

Kabir E, Kaur R, Lee J, Kim KH, Kwon EE (2020) Prospects of biopolymer technology as an alternative option for non-degradable plastics and sustainable management of plastic wastes. *J Clean Prod***258**, 120536. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120536>

Kanmani P, Rhim JW (2014) Physicochemical properties of gelatin/silver nanoparticle antimicrobial composite films. *Food Chem***148**, 162–169. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.047>

Karim AA, Bhat R (2008) Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. *Trends Food Sci Technol***19**, 644-656. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.08.001>

Kommareddy S., Shenoy D., Amijim M. (2007) Gelatin nanoparticles and their biofunctionalization. U: *Nanotechnologies for the Life Sciences* (Kumar C.S.S.R., ured.), Wiley – VCH, 330 – 352.

Kowalczyk D, Biendl M (2016) Physicochemical and antioxidant properties of biopolymer/candelilla wax emulsion films containing hop extract—A comparative study. *Food Hydrocoll***60**, 384–392. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.010>

Kumar AS, Nagarajan R (2011) Synthesis of α -carboline via Pd-catalyzed amidation and Vilsmeier-Haack reaction of 3-acetyl-2-chloroindoles. *Org Lett***13**, 1398–1401. <https://doi.org/10.1021/ol2000827>

Kurek M (2012) Comprehensive study of the effects of formulation and processing parameters on structural and functional properties of active bio-based packaging films. (doktorski rad), Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Kurek M, Klepac D, Ščetar M, Valić S, Liu Y, Yang W (2011) Gas barrier and morphology characteristics of linear low-density polyethylene and two different polypropylene films *Polym Bull***67**, 1293-1309. [doi:10.1007/s00289-011-0494-z](https://doi.org/10.1007/s00289-011-0494-z)

Lambert S, Wagner M (2017) Environmental performance of bio-based and biodegradable plastics: the road ahead. *Chem Soc Rev***46**, 6855-6871. <https://doi.org/10.1039/C7CS00149E>

Leal Filho W, Saari U, Fedoruk M, Iital A, Moora H, Klöga M i sur. (2019) An overview of the problems posed by plastic products and the role of extended producer responsibility in Europe. *J Clean Prod***214**, 550–558. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.12.256>

Li J-H, Miao J, Wu J-L, Chen S-F, Zhang Q-Q (2014) Preparation and characterization of active gelatin-based films incorporated with natural antioxidants. *Food Hydrocoll***37**, 166–173. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.10.015>

Liu F, Antoniou J, Li Y, Yi J, Yokoyama W, Ma J, Zhong F (2015) Preparation of gelatin films incorporated with tea polyphenol nanoparticles for enhancing controlled-release antioxidant properties. *J Agric Food Chem***63**, 3987–3995. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b00003>

Luo Y, Wu Y, Wang Y, Yu L (2021) Active and robust composite films based on gelatin and gallic acid integrated with microfibrillated cellulose. *Foods***10**, 2831. <https://doi.org/10.3390/foods10112831>

Marsh K, Bugusu B (2007) Food packaging—roles, materials, and environmental issues. *J Food Sci***72**, 39-55. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00301.x>

Martucci JF, Gende LB, Neira LM, Ruseckaite RA (2015) Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films. *Ind Crops Prod***71**, 205–213. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.079>

- Martucci JF, Ruseckaite RA (2010) Three-layer sheets based on gelatin and poly(lactic acid), part 1: Preparation and properties. *J Appl Polym Sci***118**, 3102-3110.<https://doi.org/10.1002/app.32751>
- Mellinas C, Valdés A, Ramos M, Burgos N, Del Carmen Garrigós M, Jiménez A (2016) Active edible films: Current state and future trends. *J Appl Polym Sci***133**,42631.<https://doi.org/10.1002/app.42631>
- Menezes M, do LLR, Pires N, Rodrigues da Cunha PL, de Freitas Rosa M, de Souza BWS, de Freitas Rosa JP i sur. (2019) Effect of tannic acid as crosslinking agent on fish skin gelatin-silver nanocomposite film. *Food Pack Shelf Life***19**, 7–15. [doi:10.1016/j.fpsl.2018.11.005](https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.11.005)
- Muller J, González-Martínez C, Chiralt A (2017) combination of poly(lactic) acid and starch for biodegradable food packaging. *Materials***10**, 952.[doi: 10.3390/ma10080952](https://doi.org/10.3390/ma10080952).
- Nur Hazirah MASP, Isa MIN, Sarbon NM (2016) Effect of xanthan gum on the physical and mechanical properties of gelatin-carboxymethyl cellulose film blends. *Food Packag. Shelf Life***9**, 55–63.<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2016.05.008>
- Parsaei E, Mohammadi Nafchi A, Nouri L, Al-Hassan AA (2022) The effects of tannic and caffeic acid as cross-linking agents on the physicochemical, barrier, and mechanical characteristics of cold-water fish gelatin films. *Food Measure*<https://doi.org/10.1007/s11694-022-01495-y>
- Pauly D, Zeller D (2017) Comments on FAOs State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA 2016). *Mar Policy***77**, 176–181.<https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.01.006>
- Pawar, P.A., Purwar, A.H. (2013) Bioderadable polymers in food packaging. *Am J Eng Res***2**, 151–164.
- Peña-Rodríguez C, Martucci JF, Neira LM, Arbelaz A, Eceiza A, Ruseckaite RA(2015) Functional properties and in vitro antioxidant and antibacterial effectiveness of pigskin gelatin films incorporated with hydrolysable chestnut tannin. *Food Sci Technol Int***21**, 221–231.[https://doi: 10.1177/1082013214525429](https://doi.org/10.1177/1082013214525429)
- Petrović V, Milković M, Valdec D (2013) Komparacija karakteristika ink-jet otisaka dobivenih vodenim, solventnim i UV bojilima. *Tehnički glasnik***7**,191-197.

- Piao Y, You H, Xu T, Bei HP, Piwko IZ, Kwan YY, Zhao X(2021) Biomedical applications of gelatin methacryloyl hydrogels. *Eng Regen***2**, 47–56.<https://doi.org/10.1016/j.engreg.2021.03.002>
- Razzaq HAA, Pezzuto M, Santagata G, Silvestre C, Cimmino S, Larsen N, Duraccio D (2016) Barley β -glucan-protein based bioplastic film with enhanced physicochemical properties for packaging. *Food Hydrocoll***58**:276–283.<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.03.003>
- Rhim JW, Park HM, Ha CS(2013) Bio-nanocomposites for food packaging applications. *Prog Polym Sci***38**, 1629–1652.<https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.05.008>
- Rigoussen A, Verge P, Raquez JM, Dubois P(2018) Natural phenolic antioxidants as a source of biocompatibilizers for immiscible polymer blends. *ACS Sustainable Chem***6**, 13349–13357.<https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b02999>
- Robertson GL (2013) Food packaging: principles and practice. U: De Santis P, Kovacs JA (ured.)Biopolymers,3.izd.,CRC Press, Boca Raton, str. 299-327.
- Rocca-Smith JR, Pasquarelli R, Lagorce-Tachon A, Rousseau J, Fontaine S, Aguié-Béghin V i sur. (2019) Toward Sustainable PLA-Based Multilayer Complexes with Improved Barrier Properties. *ACS Sust Chem Eng***7**, 3759–3771. [doi:10.1021/acssuschemeng.8b04064](https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b04064)
- Rui L, Xie M, Hu B, Zhou L, Yin D, Zeng X(2017) A comparative study on chitosan/gelatin composite films with conjugated or incorporated gallic acid. *Carbohydr Polym***173**, 473–481.<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.05.072>
- Shankar S, Jaiswal L, Rhim JW (2016) Gelatin-based nanocomposite films: Potential use in antimicrobial active packaging. *Antimic Food Pack***27**, 339-348.<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800723-5.00027-9>
- Shankar S, TengX, Li G, Rhim JW (2015) Preparation, characterization, and antimicrobial activity of gelatin/zno nanocomposite films. *Food Hydrocoll***45**, 264–271.<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.12.001>
- Siracusa V, Rocculi P, Romani S, Rosa MD (2008) Biodegradable polymers for foodpackaging: a review. *Trends Food Sci Tech***19**, 634-643.<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.07.003>

Siracusa V, Rosa M (2018) Sustainable Packaging. *Sustainable Food Systems from Agriculture to Industry*. 275-307.<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811935-8.00008-1>

Storz H, Vorlop KD (2013) Bio-based plastics: status, challenges and trends. *Appl Agric For Res***63**, 321–332.https://doi:10.3220/LBF_2013_321-332

Svagan AJ, Åkesson A, Cardenas M, Bulut S, Knudsen J´C, Risbo J, Plackett D (2012) Transparent films based on PLA and montmorillonite with tunable oxygen barrier properties. *Biomacromol***13**, 397–405.<https://doi.org/10.1021/bm201438m>

Tokić I, Fruk G, Jemrić T (2011) Biorazgradiva ambalaža za čuvanje voća i drugih hortikulturnih proizvoda: materijali, svojstva i učinak na kakvoću. *J CentEur Agric***12**, 226-238.[doi:10.5513/JCEA01/12.1.903](https://doi.org/10.5513/JCEA01/12.1.903)

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

Valdés A, Martínez C. Garrigos MC, Jimenez A.(2021) multilayer films based on poly(lactic acid)/ gelatin supplemented with cellulose nanocrystals and antioxidant extract from almond shell by-product and its application on hass avocado preservation. *Polymers***13**, 3615.
<https://doi.org/10.3390/polym13213615>

Valdes A, Mellinas AC, Ramos M, Burgos N, Jimenez A, Garrigos MC (2015) Use of herbs, spices and their bioactive compounds in active food packaging. *RSC Adv***5**, 40324–40335.<https://doi.org/10.1039/C4RA17286H>

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

Wang L, Lin L, Pang J(2020) A novel glucomannan incorporated functionalized carbon nanotube films: Synthesis, characterization and antimicrobial activity. *Carbohydr Polym***245**, 116619.<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116619>

Wang Y, Liu A, Ye R, Li X, Han Y, Liu C(2015) The production of gelatin-calcium carbonate composite films with different antioxidants. *Int J Food Prop***18**, 2442–2456.<https://doi.org/10.1080/10942912.2014.960931>

- Weber CJ, Haugaard V, Festersen R, Bertelsen G (2001) Production and applications of biobased packaging materials for the food industry. *Food Addit Contam* **19**, 172–177. <https://doi.org/10.1080/02652030110087483>
- Weng W, Zheng H (2015) Effect of transglutaminase on properties of tilapia scale gelatin films incorporated with soy protein isolate. *Food Chem* **169**, 255–260. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.012>
- Westwood M, Gunning A, Parker R (2010) Temperature-dependent growth of gelatin–poly (galacturonic acid) multilayer films and their responsiveness to temperature, pH, and NaCl. *Macromol* **43**, 10582–10593. <https://doi.org/10.1021/ma101466w>
- Wilcox C, Mallos NJ, Leonard GH, Rodriguez A, Hardesty BD (2016) Using expert elicitation to estimate the impacts of plastic pollution on marine wildlife. *Mar Pol* **65**, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2015.10.014>
- Xiaoqing Z, My Dieu D, Casey P, Sulistio A, Qiao GG, Lundin L i sur. (2010) Chemical modification of gelatin by a natural phenolic cross-linker, tannic acid. *J Agric Food Chem* **58**, 6809–6815. <https://doi.org/10.1021/jf1004226>
- Yanwong S, Threepopnatkul P (2015) Effect of Peppermint and citronella essential oils on properties of fish skin gelatin edible films. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng* **87**, 012064. <https://doi:10.1088/1757-899X/87/1/012064>
- Yuan Y, Xue Q, Guo Q, Wang G, Yan S, Wu Y i sur. (2021). The covalent crosslinking of dialdehyde glucomannan and the inclusion of tannic acid synergistically improved physicochemical and functional properties of gelatin films. *Food Pack Shelf Life* **30**, 100747. [doi:10.1016/j.fpsl.2021.100747](https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100747)
- Zhang T, Xu J, Zhang Y, Wang X, Lorenzo JM, Zhong J (2020) Gelatins as emulsifiers for oil-in-water emulsions: Extraction, chemical composition, molecular structure, and molecular modification. *Trends Food Sci Technol* **106**, 113–131. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.005>
- Zhihua P, Deeth H, Hongshun Y, Sangeeta P, Nidhi B (2017) Evaluation of tilapia skin gelatin as a mammalian gelatin replacer in acid milk gels and low-fat stirred yogurt. *J Dairy Sci* **100**, 3436–3447. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11881>

7. PRILOZI

Prilog 1. Kazalo kratica

KRATICA	KAZALO
PBAT	Polibutilen adipat tereftalat
PBS	Polibutilen sukcinat
PBSA	Poli(butilen sukcinat-koadipat)
PCL	Poli(kaprolakton)
PGA	Poli(glikolna kiselina)
PHA	Polihidroksialkanoati
PLA	Poli(mliječna kiselina)
PLA-GEL	(Poli(mliječna kiselina) prevučenaželatinom)
PLA-GEL-GA	(Poli(mliječna kiselina) prevučenaželatinom s dodatkom galne kiseline)
PLA-GEL-TA	(Poli(mliječna kiselina) prevučena želatinom s dodatkom taninske kiseline)
PLA-GEL-GA-TA	(Poli(mliječna kiselina) prevučenaželatinom s dodatkom galne i taniske kiseline)
PPC	Polipropilen karbonat
WVP	Propusnost na vodenu paru
WVTR	Brzina prijenosa vodene pare

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja, Katarina Raguž, izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Vlastoručni potpis