

# Trajnost banana s jestivom prevlakom od kitozana i proteina konoplje

---

Jančec, Lucija

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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:159:075284>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO – BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, prosinac 2023.

Lucija Jančec

**TRAJNOST BANANA S JESTIVOM  
PREVLAKOM OD KITOZANA I  
PROTEINA KONOPLJE**

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. Marija Ščetara te uz pomoć izv. prof. dr. sc. Davora Valingera.

*Zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Mariju Ščetaru na mentorstvu, srdačnom pristupu i stručnom vođenju kroz cijeli postupak organizacije i izrade diplomskog rada. Također, zahvalila bih izv. prof. dr. sc. Davoru Valingeru na stručnim savjetima te izdvojenom vremenu i pomoći oko izvođenja eksperimentalnog dijela rada.*

*Hvala i mojoj dragoj obitelji i prijateljima koji su me podržavali tijekom čitavog obrazovanja i uvijek bili uz mene. Uz vas je sve moguće.*

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

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

Diplomski rad

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti

**Znanstveno polje:** Prehrambena tehnologija

**Diplomski sveučilišni studij:** Prehrambeno inženjerstvo

TRAJNOST BANANA S JESTIVOM PREVLAKOM OD KITOZANA I PROTEINA KONOPLJE

*Lucija Jančec*, univ. bacc. ing. techn. aliment.

0058213462

**Sažetak:** Kitozan je sve popularniji sastojak jestive ambalaže obzirom da ima dobre karakteristike koje vode do produživanja roka trajnosti različitih namirnica, a najviše voća. Kao takav predstavlja alternativan izvor ambalažnog materijala koji može zamijeniti plastične materijale koji predstavljaju opasnost za okoliš. Konoplja (*Cannabis sativa* L.) je biljka koja ima mnoga ljekovita svojstva, a iz nje se mogu dobiti proteini koji služe kao funkcionalni sastojci hrane. Zbog navedenih karakteristika kitozana i proteina konoplje, cilj ovog diplomskog rada bio je utvrditi utjecaj jestivih premaza od kitozana i proteina konoplje na rok trajanja banana. Tijekom skladištenja banana pri 25 °C i relativnoj vlažnosti zraka od 80 %, određivani su parametri kvalitete banana, kao što su izgled, gubitak na masi, boja, vlaga i udio invertnih šećera. Utvrđeno je da jestivi premaz od kitozana i proteina konoplje djeluje pozitivno na izgled banana, boju i udio invertnih šećera, a negativno na gubitak na masi i vlagu.

**Ključne riječi:** *jestivi premaz, kitozan, proteini konoplje, banane, trajnost*

**Rad sadrži:** 45 stranica, 21 slika, 7 tablica, 55 literaturnih navoda

**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. Mario Ščetar

**Pomoć pri izradi:** izv.prof.dr.sc. Davor Valinger

**Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:**

1. izv. prof. dr. sc. Mia Kurek (predsjednik)
2. izv. prof. dr. sc. Mario Ščetar (mentor)
3. izv. prof. dr. sc. Ana Jurinjak Tušek (član)
4. izv. prof. dr. sc. Marko Obranović (zamjenski član)

**Datum obrane:** 22. prosinca 2023.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

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

Graduate Thesis

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Scientific field:** Food Technology

**Graduate university study programme:** Food Engineering

### SHELF LIFE OF BANANAS COATED WITH CHITOSAN AND HEMP PROTEINS

*Lucija Jančec*, univ. bacc. ing. techn. aliment.  
0058213462

**Abstract:** Chitosan is getting popular as ingredient in edible coatings considering that it has good characteristics which lead to the extension of the shelf life of various foods, especially fruits. It represents an alternative source of packaging material which can replace plastic materials. Hemp (*Cannabis sativa* L.) is a plant that has a positive effect on health and proteins obtained from it represent functional ingredients. Due to the mentioned characteristics, the goal of this graduate thesis was to determine the influence of edible coatings made of chitosan and hemp proteins on the shelf life of bananas. During storage of bananas at 25 °C and 80 % relative humidity, quality parameters, such as appearance, weight loss, color, moisture and invert sugar content, were determined. It was found that the mentioned coating has a positive effect on banana appearance, color and invert sugar content, and a negative effect on weight loss and moisture.

**Keywords:** *edible coating, chitosan, hemp proteins, bananas, shelf life*

**Thesis contains:** 45 pages, 21 figures, 7 tables, 55 references

**Original in:** Croatian

**Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** Mario Ščetar, PhD, Associate professor

**Technical support and assistance:** Davor Valinger, PhD, Associate professor

**Reviewers:**

1. Mia, Kurek, PhD, Associate professor (president)
2. Mario, Ščetar, PhD, Associate professor (mentor)
3. Ana, Jurinjak Tušek, PhD, Associate professor (member)
4. Marko, Obranović, PhD, Associate professor (substitute)

**Thesis defended:** December 22<sup>th</sup>, 2023

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	2
<b>2.1. JESTIVA AMBALAŽA</b> .....	2
<b>2.2. JESTIVE KOMPONENTE KOJE ULAZE U SASTAV JESTIVE AMBALAŽE</b> . 3	
2.2.1. Polisaharidni jestivi ambalažni materijali .....	6
2.2.1.1. <i>Kitozan</i> .....	7
2.2.2. Prah proteina konoplje kao jestiva komponenta jestive ambalaže .....	10
<b>2.3. PRIMJENA JESTIVE AMBALAŽE NA VOĆU</b> .....	13
<b>2.4. PARAMETRI KOJI UTJEČU NA KVALITETU VOĆA</b> .....	15
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	17
<b>3.1. MATERIJALI</b> .....	17
<b>3.2. PRIPREMA OTOPINE KITOZANA S PROTEINIMA KONOPLJE</b> .....	17
<b>3.3. NANOŠENJE OTOPINE KITOZANA S PROTEINIMA KONOPLJE NA BANANE</b> .....	18
<b>3.4. METODE POMOĆU KOJIH JE PRAĆENA KVALITETA BANANA</b> .....	19
3.4.1. Gubitak na masi.....	19
3.4.2. Boja banana .....	20
3.4.3. Vlaga.....	21
3.4.4. Invertni šećeri .....	21
3.4.4.1. <i>Određivanje udjela invertnih šećera pomoću refraktometra</i> .....	21
3.4.4.2. <i>Određivanje udjela invertnih šećera pomoću NIR spektrofotometra</i> .....	22
3.4.5. Obrada podataka .....	22
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	24
<b>4.1. IZGLED KORE I PRESJEKA BANANA</b> .....	24
<b>4.2. GUBITAK NA MASI</b> .....	29
<b>4.3. VLAGA</b> .....	30
<b>4.4. BOJA BANANA</b> .....	31
<b>4.5. INVERTNI ŠEĆERI</b> .....	34
4.5.1. Rezultati mjerenja dobiveni upotrebom refraktometra.....	34
4.5.2. Rezultati mjerenja dobiveni primjenom NIR spektrofotometrije .....	35
<b>5. ZAKLJUČCI</b> .....	41
<b>6. LITERATURA</b> .....	42



# 1. UVOD

Problem nakupljanja polimernog plastičnog otpada predstavlja rastuću zabrinutost u pogledu ekoloških i klimatskih promjena na našem planetu. Kako bi se umanjio negativan utjecaj odlaganja teško razgradive plastike u prirodne ekosustave, sa stajališta prehrambene industrije, nastoji se pribjeći prirodnim alternativama koje će se implementirati kod operacija pakiranja hrane. Jedna takva alternativa uključuje primjenu jestivih ambalažnih materijala, kao što je kitozan, u svrhu očuvanja kvalitete i produženja roka trajanja proizvoda. Za razliku od plastike, kitozan je prirodni polisaharid (biopolimer) koji nije toksičan i koji je lako razgradiv te time doprinosi zaštiti okoliša (Elgadir i Mariod, 2023; Zhao i sur., 2021; Motelica i sur., 2020). Svoju najveću primjenu kitozan je pronašao kao jestivi ambalažni materijal prisutan na voću (Adiletta i sur., 2021; Díaz-Montes i Castro-Muñoz, 2021; Philibert i sur., 2017).

Voće je bogat izvor nutrijenata te igra važnu ulogu u prehrani ljudi. Redoviti unos voća u organizam povezan je sa smanjenjem pojave različitih kroničnih bolesti (Adiletta i sur., 2021). Nakon naranča, banane su voće koje se najviše konzumira na svjetskoj razini, a uz to se i svake godine bilježi porast njihove potrošnje (FAO, 2020). Generalno, voće spada u skupinu lako kvarljivih namirnica pa su i gubici voća značajni. Da bi se produžila njihova trajnost, na njih se mogu nanijeti jestivi ambalažni materijali koji će osigurati modificiranu atmosferu unutar pakovine. Dodatkom bioaktivnih spojeva kao što su antioksidansi, proteini i sl., ambalaža postaje funkcionalna. Zbog potreba čovječanstva za izvorom biljnih proteina u nedostatku onih životinjskog podrijetla, kao funkcionalni sastojci mogu se koristiti proteini konoplje. Oni predstavljaju izvrstan izvor esencijalnih aminokiselina, a uz to ih krasi i visoka probavljivost te niska alergena svojstva (Burton i sur., 2022).

Ciljevi ovog diplomskog rada bili su:

- ✓ Priprema otopine kitozana i proteina konoplje
- ✓ Nanošenje otopine kitozana i proteina konoplje na banane
- ✓ Skladištenje banana s jestivim premazom pri određenim uvjetima
- ✓ Određivanje parametara kvalitete banana s jestivim premazom i bez jestivog premaza te usporedba dobivenih rezultata

## 2. TEORIJSKI DIO

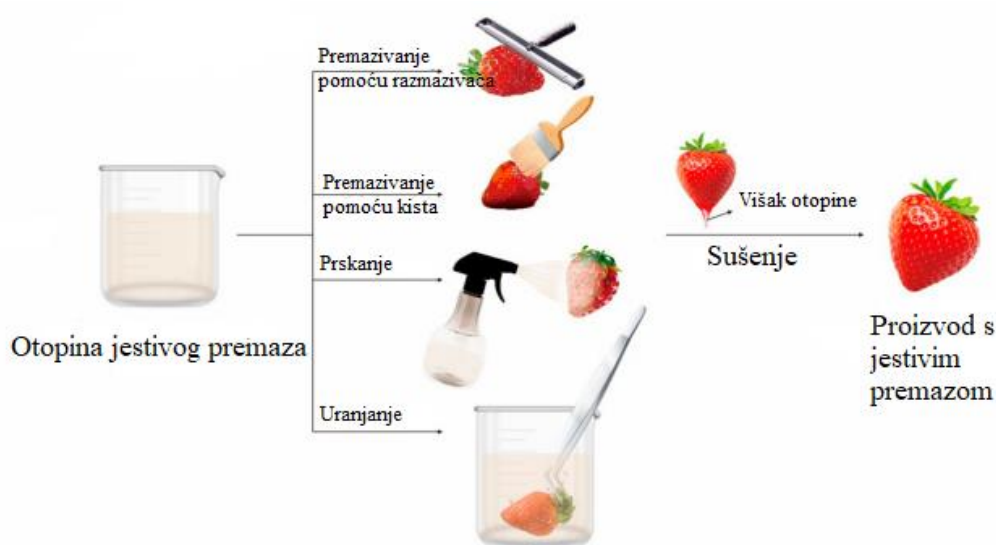
### 2.1. JESTIVA AMBALAŽA

Trend kojeg primjenjuju suvremeni potrošači uključuje smanjenje upotrebe polimernih plastičnih ambalažnih materijala obzirom da njihovo neadekvatno odlaganje vodi do značajnih ekoloških problema u svijetu. Prema Europskoj agenciji za okoliš, nakupljanje plastičnog otpada, osim što vodi do nastajanja sve većih ekoloških problema, utječe nepovoljno i na klimatske uvjete (EEA, 2023). Kako bi se spriječilo zagađenje ekoloških sustava uzrokovano nakupljanjem teško razgradivih ambalažnih materijala, prvenstveno plastičnih, ponuđeno je jedno od mogućih rješenja koje uključuje primjenu lako razgradive jestive ambalaže čiji su glavni sastojci biopolimeri (Elgadir i Mariod, 2023; Zhao i sur., 2021; Motelica i sur., 2020).

Jestiva ambalaža definirana je kao tanki sloj materijala kojeg potrošač može konzumirati, a osigurava barijeru prema plinovima (kisik, ugljikov dioksid) i vodenoj pari (Galić, 2009). Prema tome, jestiva ambalaža, kao i nejestiva ambalaža, ima ulogu u očuvanju sigurnosti i kvalitete hrane, odnosno proizvodu upakiranom u jestivu ambalažu produžuje se njegova trajnost. Najveća prednost upotrebe jestive ambalaže leži u tome što doprinosi zaštiti okoliša obzirom da nema otpadnih materijala nakon konzumacije. U slučaju da ipak postoje otpadni materijali nakon konzumacije, to su onda lako razgradivi materijali koji se neće dugo zadržavati u okolišu kao što će se, na primjer, polimerna plastična ambalaža (Baldwin i Hagenmaier, 2012). Unatoč navedenim prednostima, jestiva ambalaža ipak pruža slabiju zaštitu proizvoda nego li nejestiva pa je onda prema tome i manje zastupljena u komercijalnoj upotrebi (Galić, 2009).

Suprotno mišljenju suvremenih potrošača, korištenje jestivih ambalažnih materijala ne smatra se inovacijom modernog doba, a sama inspiracija dolazi od prirodno prisutnih zaštitnih omotača koji se nalaze na voću i povrću, kao što je na primjer kora naranče (Robertson, 2013). Naime, prva primjena jestive ambalaže datira iz 12. stoljeća kad je u Kini krenulo nanošenje voska na citruse kako bi im se umanjio gubitak vlage, a kasnije u Engleskoj započinju s primjenom masti (eng. *larding*) na mesne proizvode, sve u svrhu produživanja njihove trajnosti (Kumari i sur., 2017; Baldwin i Hagenmaier, 2012).

Jestiva ambalaža se, prema Avena – Bustillos i McHugh (2012), dijeli na jestive filmove i jestive premaze. Osnovna razlika između tih dviju struktura leži u načinu njihovog nanošenja na proizvod. Jestivi filmovi predstavljaju samostojeće, suhe strukture koje su formirane zasebno sušenjem otopine na supstratu. Nakon sušenja se odvajaju od supstrata te stavljaju na proizvod kojeg se želi zaštititi. Nasuprot tome, jestivi premazi predstavljaju tanke slojeve jestivog materijala formiranog direktno na površini proizvoda kojeg se nastoji zaštititi pri čemu se jestivi materijal na proizvod može nanijeti postupkom uranjanja, prskanja ili premazivanja nakon čega slijedi sušenje. Shematski prikaz formiranja jestivog premaza na proizvodu prikazan je na slici 1.



**Slika 1.** Shematski prikaz formiranja jestivog premaza na proizvodu (prema Zhao i sur., 2021)

## 2.2. JESTIVE KOMPONENTE KOJE ULAZE U SASTAV JESTIVE AMBALAŽE

Obzirom da dolaze u neposredan kontakt s hranom te, između ostalog, postaju sastojci hrane, jestive komponente moraju biti odobrene za ljudsku konzumaciju od strane službenih institucija koje su zadužene za sigurnost hrane i materijala u dodiru s hranom. U Europskoj Uniji službena institucija za sigurnost hrane i materijala u dodiru s hranom je Europska agencija za sigurnost hrane (eng. *European Food Safety Authority, EFSA*), dok u Americi tu funkciju obnaša Agencija za hranu i lijekove (eng. *Food and Drug Administration, FDA*) (Bionda, 2021).

Jestive komponente koje ulaze u sastav jestive ambalaže prikazane su u tablici 1 pri čemu glavninu sastava jestivih filmova i prevlaka, prema Robertson (2013), čini najmanje jedna komponenta koja je prema svojoj strukturi polimer visoke molekulske mase. Najčešće zastupljeni polimeri visokih molekulskih masa koji grade jestivu ambalažu jesu biopolimeri, odnosno polisaharidi, lipidi i proteini porijeklom iz biljaka i životinja. Osim pojedinačno, navedeni biopolimeri se mogu nalaziti i u kombinaciji pa se u tom slučaju radi o kompozitima, odnosno složenim jestivim ambalažnim materijalima u kojima se uklanjaju ili smanjuju negativna svojstva pojedinačnih komponenata (Baldwin i Hagenmaier, 2012). Biopolimeri su široko rasprostranjeni u prirodi što ih čini lako dostupnim i jeftinim komponentama te nisu toksični što ispunjava osnovni zahtjev kod formiranja jestive ambalaže (Soliva – Fortuny i sur., 2012). Jestiva ambalaža na bazi polisaharida i proteina ima hidrofilna svojstva pa sukladno tome predstavlja dobru barijeru prema plinovima, ali slabiju barijeru prema vlazi. Nasuprot tome, jestiva ambalaža na bazi lipida ima hidrofobna svojstva te kao takva predstavlja dobru barijeru za vlagu, ali slabiju barijeru za plinove. Izuzetak su smole koje uz izuzetno dobra barijerna svojstva prema vlazi pružaju i dobra barijerna svojstva za plinove.

Funkcionalna, senzorska, nutritivna, barijerna i mehanička svojstva jestivih ambalažnih materijala mogu biti izmijenjena dodatkom različitih tvari u niskim koncentracijama. Prema tome, uz biopolimere kao osnovne komponente, u sastav jestive ambalaže dodaju se i aditivi kao što su plastifikatori, emulgatori, antimikrobna sredstva, antioksidacijska sredstva i sredstva protiv posmeđivanja (Robertson, 2013). Prema Pravilniku o prehranbenim aditivima (2010), „prehranbeni aditiv jest svaka tvar koja se sama po sebi ne konzumira kao hrana, niti je prepoznatljiv sastojak određene hrane bez obzira na hranjivu vrijednost, a čije je dodavanje hrani namjerno zbog tehnoloških razloga u proizvodnji, preradi, pripremi, obradi, pakiranju, prijevozu ili skladištenju i ima za posljedicu, ili se može očekivati da će imati za posljedicu, da će aditiv ili njegov derivat postati izravno ili neizravno sastojak hrane“. Prema tome, aditivi se inkorporiraju u jestive materijale u svrhu pospješivanja mikrobiološke stabilnosti, izgleda i teksture proizvoda na kojeg se oni nanose što vodi očuvanju kvalitete i sigurnosti tog proizvoda (Avena – Bustillos i McHugh, 2012).

Otapala, kao što su voda, vodena otopina etanola, vodena otopina octene kiseline i sl., potrebna su za formiranje jestivih ambalažnih materijala, odnosno predstavljaju medij koji služi za otapanje jestivih komponenti.

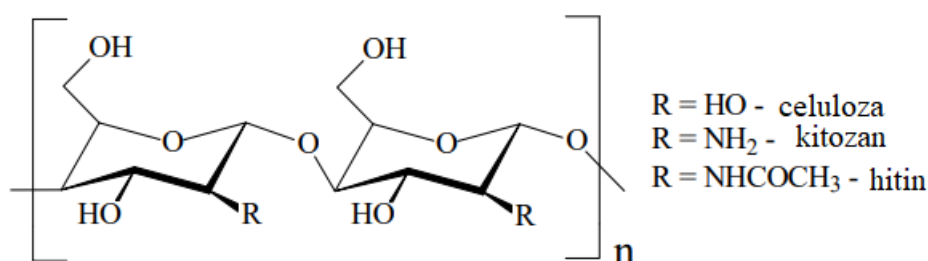
**Tablica 1.** Jestive komponente koje mogu ući u sastav jestive ambalaže i njihove karakteristike (Robertson, 2013)

JESTIVE KOMPONENTE KOJE MOGU UĆI U SASTAV JESTIVE AMBALAŽE			OSNOVNE KARAKTERISTIKE JESTIVIH KOMPONENTI
<b>BIOPOLIMERI</b>	POLISAHARIDI	celuloza i derivati celuloze (CMC, MC, HPC, HPMC*), škrob i derivati škroba (dekstrin), pektini, alginati, karagenan, agar, gume (guma arabika), kitozan	Hidrofilne komponente koje pružaju dobru barijeru prema plinovima, ali slabu barijeru prema vlazi
	PROTEINI	kolagen, želatina, pšenični gluten, zein, proteini soje, proteini sirutke, kazein, proteini pamuka	Hidrofilne komponente koje pružaju dobru barijeru prema plinovima, ali slabu barijeru prema vlazi
	LIPIDI	prirodni i umjetni voskovi (pčelinji vosak, karnauba vosak, parafinski vosak), mineralna i biljna ulja, smole (šlak), acetogliceridi	Hidrofobne komponente koje pružaju dobru barijeru prema vlazi, ali slabu barijeru prema plinovima
<b>ADITIVI</b>	PLASTIFIKATORI	glukoza, glukozno – fruktozni sirup, saharoza, glicerol, sorbitol, polietilen glikoli, fosfolipidi, masne kiseline, voda	Tvari koje pospješuju fleksibilnost i izdržljivost jestivih materijala
	EMULGATORI	lecitin, glicerol monopalmitat, glicerol monostearat, polisorbat 60, polisorbat 65, polisorbat 80, natrijev lauril sulfat	Amfipatske tvari koje omogućuju sjedinjavanje i stabilnost smjese čije komponente se po svojoj prirodi ne miješaju
	ANTIMIKROBNA SREDSTVA	organske kiseline, kitozan, nisin, biljni ekstrakti i njihova esencijalna ulja	Tvari koje inhibiraju ili prekidaaju rast i razvoj neželjenih mikroorganizama
	ANTIOKSIDACIJSKA SREDSTVA I SREDSTVA PROTIV POSMEĐIVANJA	limunska kiselina, askorbinska kiselina, askorбил palmitat, tartarična kiselina, tokoferol, fenolni spojevi ekstrahirani iz biljaka kao što su ružmarin, kadulja, timijan i sl.	Tvari koje odgađaju početak ili usporavaju odvijanje neželjenih oksidacijskih i degradacijskih reakcija te reakcija diskoloracije
<b>OTAPALA</b>	voda, etanol, octena kiselina		Tvari koje omogućuju formiranje jestivih materijala

\*CMC – karboksimetil celuloza, MC – metil celuloza, HPC – hidroksipropil celuloza, HPMC – hidroksipropilmetil celuloza

### 2.2.1. Polisaharidni jestivi ambalažni materijali

Polisaharidi su složeni ugljikohidrati građeni od monosaharidnih jedinica međusobno povezanih glikozidnim vezama. Iako mnogi polisaharidi posjeduju sličnu monomernu strukturu što je vidljivo na slici 2, konfiguracija polimernog lanca, vodikove veze i supstituenti igraju ključnu ulogu u oblikovanju specifičnih svojstava svakog pojedinačnog biopolimera (Motelica i sur., 2020). Vrlo su rasprostranjeni u prirodi obzirom da predstavljaju energetske rezerve biljaka (škrob) ili služe kao osnovni strukturni element biljnih staničnih stijenki (celuloza), odnosno životinjskih vanjskih oklopa (hitin) (Robertson, 2013).



**Slika 2.** Usporedba struktura različitih polisaharida (prema Motelica i sur., 2020)

Zbog svoje velike rasprostranjenosti, niske cijene, netoksičnosti, lakog rukovanja i posjedovanja dobrih svojstava potrebnih za formiranje jestivih filmova i premaza, polisaharidi su najčešći biopolimeri koji se rabe za izradu jestive ambalaže (Zhao i sur., 2021; Motelica i sur., 2020; Avena – Bustillos i McHugh, 2012). U svrhu formiranja jestivih ambalažnih materijala najviše su korišteni idući polisaharidi: celuloza i derivati celuloze, škrob i derivati škroba, pektini, alginati, karagenan, agar, gume (guma arabika) i kitozan (Zhao i sur., 2021; Motelica i sur., 2020; Robertson, 2013). U samim počecima primjene jestivih ambalažnih materijala na proizvode, od polisaharida su se najviše koristili derivati škroba i celuloze, a proteklih godina, zahvaljujući brojnim istraživanjima na tu temu, drugi polisaharidi preuzeli su ulogu vodećih sastojaka za formiranje jestivih ambalažnih materijala (Soliva – Fortuny i sur., 2012).

Naime, Soliva – Fortuny i sur. (2012) navode da polisaharidni jestivi ambalažni materijali imaju dobra mehanička svojstva te izrazito dobra barijerna svojstva za plinove uz sposobnost selektivne propusnosti za kisik i ugljikov dioksid. Krase ih i dobra barijerna svojstva prema uljima i mastima pa shodno tome doprinose usporavanju oksidacije masti kod proizvoda s višim udjelima masti (npr. meso i mesni proizvodi). S druge strane, zbog njihove hidrofilne

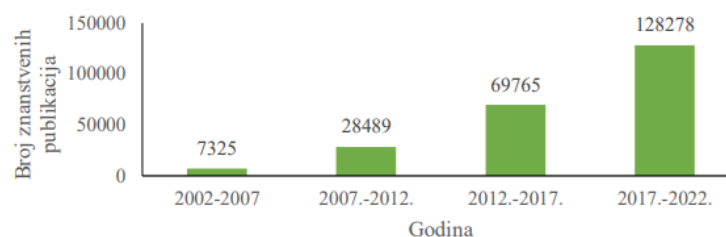
prirode, njihov nedostatak su slaba barijerna svojstva prema vlazi pa su u skladu s time njihova funkcionalna svojstva uvelike ovisna o vlažnosti zraka. Također, Robertson (2013) navodi da su se polisaharidni jestivi ambalažni materijali pokazali učinkovitima pri zadržavanju hlapljivih spojeva boje i arome što doprinosi očuvanju izgleda i okusa proizvoda, a služe i kao nosioci različitih aditiva koji se mogu dodati u jestivu ambalažu.

Neki polisaharidi koji se koriste kao glavne komponente u izradi jestive ambalaže (npr. kitozan) sami po sebi imaju antimikrobna i antioksidativna svojstva (Motelica i sur., 2020). No, polisaharidni jestivi materijali mogu poslužiti i kao nosioci bioaktivnih spojeva čijim dodatkom se može formirati aktivna jestiva ambalaža s antimikrobnim i antioksidativnim svojstvima. Bioaktivni spojevi koji se koriste u tu svrhu uključuju neke prirodno prisutne komponente (bakteriocini, esencijalna ulja, prirodni ekstrakti biljaka i sl.), ali i sintetičke komponente (Ag, ZnO, TiO<sub>2</sub>, nanomaterijali, sintetski antibiotici i sl.). Jedna od glavnih prednosti aktivne jestive ambalaže uključuje sporo i kontrolirano otpuštanje bioaktivnih komponenti iz jestivog materijala u proizvod (Muñoz – Tebar i sur., 2023; Poldan, 2022; Ke i sur., 2021; Zhao i sur., 2021; Motelica i sur., 2020).

Zbog svoje raznolikosti, polisaharidi postaju temom istraživanja brojnih stručnjaka iz područja pakiranja hrane koji na dnevnoj bazi dolaze do novih spoznaja vezanih uz strukturu i funkcionalnost polisaharidnih jestivih ambalažnih materijala. Jedan polisaharid koji se pokazao izuzetno korisnim prilikom formiranja jestivih ambalažnih materijala jest kitozan (Soliva – Fortuny i sur., 2012).

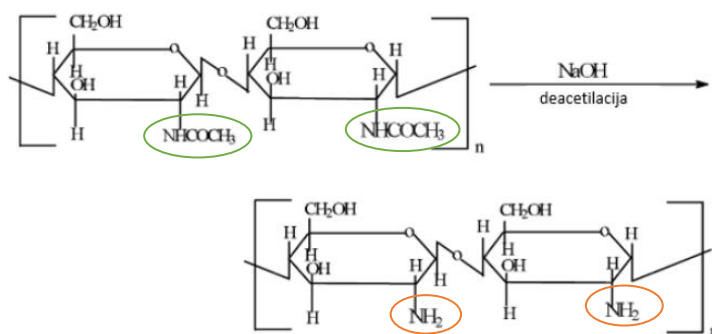
### 2.2.1.1. Kitozan

U posljednjih dvadesetak godina zabilježen je veliki porast broja znanstvenih publikacija koje se odnose na kitozan kao sastojak jestivih ambalažnih materijala što zorno prikazuje slika 3.



**Slika 3.** Prikaz broja znanstvenih publikacija u Scopusu vezanih za jestivu ambalažu na bazi kitozana u periodu od 2002. do 2022. godine (prema Poldan, 2022)

Kitozan je polisaharid koji se dobiva iz hitina, a hitin je, nakon celuloze, drugi najrasprostranjeniji polisaharid prirodno prisutan u okolišu (Synowiecki i Al-Khateeb, 2010). Nalazi se u vanjskom oklopu člankonožaca te u staničnim stijenkama gljiva i pojedinih algi (Van den Broek i sur., 2015). Prema kemijskom sastavu, hitin i kitozan su linearni polisaharidi građeni od N-acetil-2-amino-2-deoksi-D-glukoernih i 2-amino-2-deoksi-D-glukoernih ostataka povezanih  $\beta$ -1,4 glikozidnim vezama (Muñoz – Tebar i sur., 2023; Aranaz i sur., 2021). Djelomičnom deacetilacijom, odnosno uklanjanjem acetilnih skupina s monomernih jedinica hitina uz prisustvo lužina dobiva se kitozan pri čemu komercijalno dostupan kitozan ima stupanj deacetiliranja 85 % (Robertson, 2013). Stupanj deacetiliranja definira se kao postotak primarnih amino ( $-NH_2$ ) skupina u strukturi polimera, a uz molekulsku masu jedan je od najvažnijih faktora koji utječe na topljivost kitozana i svojstva jestivog materijala (Aranaz i sur., 2021; Perak, 2018). Proces dobivanja kitozana iz hitina prikazan je na slici 4.



**Slika 4.** Prikaz kemijske reakcije nastajanja kitozana iz hitina uz djelovanje natrijeve lužine (prema Perak, 2018)

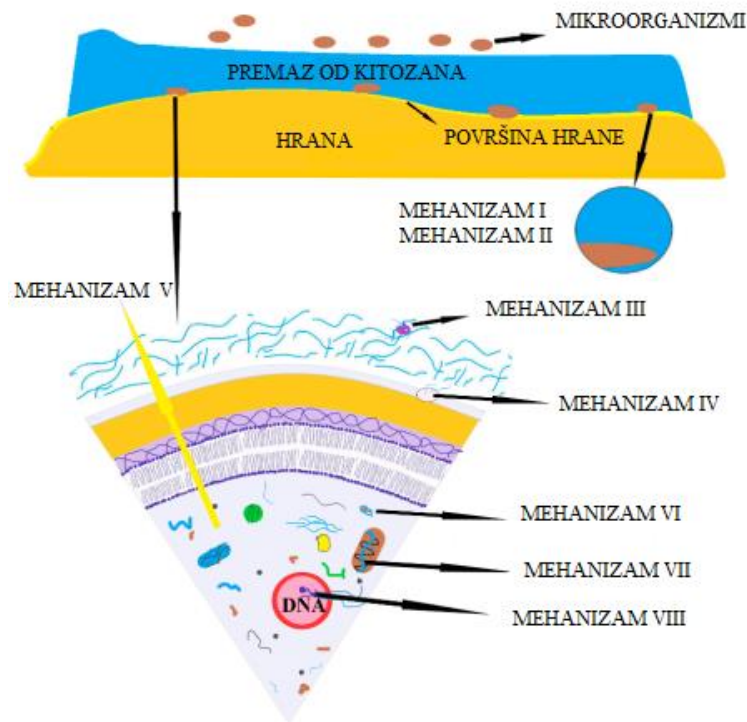
Kitozan je hidrofilni polisaharid koji se na tržištu može pronaći u obliku otopine, praha, kuglica ili vlakana (Martinac i Filipović – Grčić, 2002), a ima iznimno dobra svojstva formiranja jestivih filmova i premaza (Muñoz – Tebar i sur., 2023; Motelica i sur., 2021; Zhao i sur., 2021; Shiekh i sur., 2013; Baldwin i Hagenmaier, 2012). Samo formiranje jestivih materijala se postiže otapanjem kitozana (stupnja deacetiliranja 85 %) koji se nalazi u praškastom obliku u blago kiselj vodenoj otopini (Martinac i Filipović – Grčić, 2002) pri čemu koncentracija kitozana varira od 1 do 3 % (w/v), a koncentracija octene ili mliječne kiseline također od 1 do 3 % (v/v) (Muñoz – Tebar i sur., 2023). Za otapanje kitozana se koristi blago kiselj vodena otopina obzirom da prilikom dobivanja kitozana postupkom deacetilacije dolazi do nastajanja glukozaminskih ostataka iz acetilglukozaminskih ostataka prilikom čega se dobiva veća količina protoniranih  $-NH_2$  skupina čija je pKa vrijednost 6.5. Kad je otprilike 50 % amino skupina protonirano, onda kitozan postaje topljiv (Aranaz i sur., 2021).



Zbog dobrih svojstava formiranja jestivih filmova i premaza koja kitozan posjeduje, omogućeno je dobivanje jestivih materijala s dobrim mehaničkim svojstvima i selektivnom propusnošću za CO<sub>2</sub> i O<sub>2</sub>. Međutim, jestivi materijali na bazi kitozana zbog svojeg hidrofilnog karaktera vrlo su propusni za vodenu paru što ograničava njihovu upotrebu kod prehrambenih proizvoda s visokim stupnjem vlažnosti jer je učinkovita kontrola prijenosa vlage važno svojstvo za očuvanje kakvoće takvih proizvoda (Zhao i sur., 2021; Koren, 2017). Zbog toga je predloženo nekoliko strategija za poboljšanje funkcionalnosti svojstava ovih materijala. Na primjer, modifikacije stupnja deacetilacije, prilagođavanje pH vrijednosti, adekvatan odabir otapala ili dodatak plastifikatora. Također, miješanje kitozana s drugim sastojcima kao što su proteini ili polisaharidi može poboljšati funkcionalna svojstva kitozanskog filma (Muñoz – Tebar i sur., 2023; Poldan, 2022). Muñoz – Tebar i sur. (2023) istaknuli su da je kitozan prirodni kationski polimer dok je većina polisaharida ili neutralnog ili anionskog karaktera, a upravo ovo svojstvo kitozanu omogućuje formiranje višeslojnih struktura ili elektrostatskih kompleksa s drugim sintetičkim ili negativno nabijenim prirodnim polimerima.

Kitozan se smatra i potencijalnim prirodnim konzervansom obzirom da posjeduje antimikrobnu i antioksidativnu aktivnost prema velikom broju patogenih mikroorganizama uključujući gljive (kvasce i plijesni), gram negativne i gram pozitivne bakterije (Muñoz – Tebar i sur., 2023; Aranaz i sur., 2021; Ke i sur., 2021). Jestivi ambalažni materijali na bazi kitozana mogu zaštititi proizvod pomoću nekoliko mehanizama prikazanih na slici 5. Ke i sur. (2021) i Motelica i sur. (2020) navode da mogu blokirati prelazak mikroorganizama iz okoline u proizvod pošto djeluju kao fizička barijera, a uz to im onemogućavaju i dostupnost nutrijentima (mehanizam I). Mehanizam II se odnosi na sposobnost materijala na bazi kitozana da ometa respiratornu aktivnost mikroorganizama blokirajući im dostupnost kisika. Nadalje, zbog svoje strukture kitozan djeluje kao kelirajući agens pri čemu može kelirati različite nutrijente potrebne mikroorganizmima za njihov rast i razvoj (mehanizam III). Također, u vanjskoj staničnoj membrani mikroorganizama prisutnih na površini hrane može doći do promjena u permeabilnosti zbog elektrostatskih interakcija između pozitivno nabijenih amino grupa kitozana i negativno nabijenih fosfatnih skupina stanične membrane mikroorganizama što posljedično vodi do otežanog transporta nutrijenata u stanice mikroorganizama (mehanizam IV). Sve navedeno doprinosi dodatnom stresu kojeg mikroorganizmi moraju svladavati. Antimikrobna aktivnost kitozana može biti i rezultat oštećenja stanične membrane koji vodi do istjecanja unutarstaničnih elektrolita (mehanizam V). Jednom kad polimerni lanci kitozana difundiraju kroz staničnu membranu u unutarstanični prostor mikroorganizama, onda se može

odviti nekoliko različitih puteva koji vode do odumiranja mikroorganizama. Mehanizam VI odnosi se na kelatiranje nutrijenata ili esencijalnih iona metala iz plazme stanice. Kitozan može utjecati i na ekspresiju gena (mehanizam VII) ili može prodrijeti u jezgru i tamo se vezati na DNA što negativno utječe na proces replikacije DNA, a čime sprječava sintezu proteina (mehanizam VIII).



**Slika 5.** Mehanizmi pomoću kojih jestivi filmovi na bazi kitozana manifestiraju svoju antimikrobnu aktivnost (prema Motelica i sur., 2020)

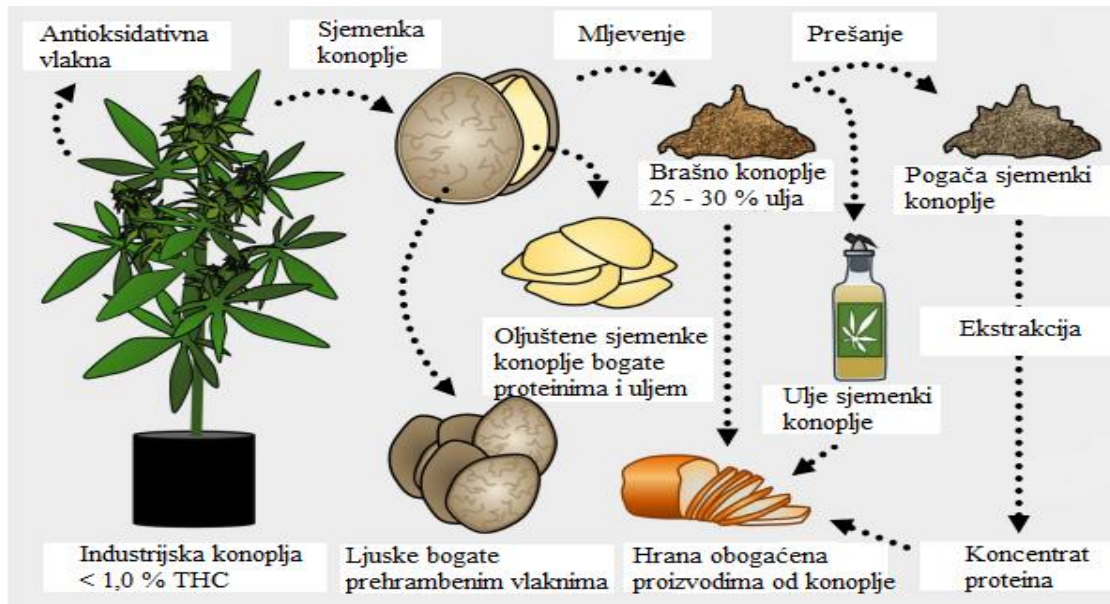
### 2.2.2. Prah proteina konoplje kao jestiva komponenta jestive ambalaže

Još jedan trend koji je posljedica rasta svjetske populacije (UN, 2022) uključuje potrebu za dodatkom proteina hrani. Razlog se krije u sve više ograničenim zalihama proteina životinjskog podrijetla koje nisu dovoljne za prehranu brzorastuće populacije. Alternativni izvori proteina biljnog podrijetla, kao što su proteini mahunarka, žitarica, uljarica, orašastih plodova i sl., privukli su pažnju u tom segmentu zbog njihove cijene, pozitivnih utjecaja na zdravlje, ali i etičkih i vjerskih aspekata. U prehrambenoj industriji, karakteristike biljnih proteina potrebne za njihovu konzumaciju ili ugradnju u jestivu ambalažu moraju uključivati: dobar nutritivni profil (aminokiselinski profil i probavljivost), dobru funkcionalnost i poželjan okus (Shen i sur., 2021).

Konoplja je biljka iz roda *Cannabaceae* koji uključuje tri vrste: industrijsku konoplju (*Cannabis sativa*), indijsku konoplju (*Cannabis indica*) i ruderalnu konoplju (*Cannabis ruderalis*). Zajedničko svojstvo svih navedenih vrsta jest prisutnost sekundarnih metabolita – kanabinoida (Schilling i sur., 2020), a najpoznatiji kanabinoidi su tetrahidrokanabinol (THC) koji ima psihoaktivno djelovanje i kanabidiol (CBD) koji se koristi u medicinske svrhe obzirom da pomaže u liječenju epilepsije, anksioznosti i nesanicte te ublažava kroničnu bol (Burton, 2022; Grinspoon, 2021). Industrijska konoplja sadrži THC u veoma niskoj koncentraciji (<1,0 %) te se zbog svojeg iznimnog sastava makro – i mikro – nutrijenata sve više upotrebljava u prehrambenoj industriji kao funkcionalni sastojak hrane (Burton i sur., 2022; Shen i sur., 2021; Mamone i sur., 2019). Naime, makronutrijente u sjemenkama konoplje predstavljaju proteini, masti i prehrambena vlakna. Proteini konoplje predstavljaju izvrstan izvor esencijalnih aminokiselina, a uz to ih krasi i visoka probavljivost i niska alergičnost. Uz proteine, sjemenke konoplje sadrže i značajan udio ulja bogatog  $\omega$ -3 i  $\omega$ -6 esencijalnim masnim kiselinama. U mikronutrijente sjemenki konoplje se ubrajaju minerali (P, K, Mg, Ca, Na, Fe, Mn, Zn, Cu), a značajan je i udio antioksidativnih spojeva (tokoferoli, steroli i karotenoidi) (Burton i sur., 2022; Mamone i sur., 2019).

Shen i sur. (2021) u svom istraživanju prikazuju da sjemenke konoplje, iako im kemijski sastav varira između vrsta, sadrže otprilike 25 – 30 % ulja, 20 – 30 % proteina, 30 – 40 % vlakana te vitamine i minerale u nižim udjelima. Isti autori navode da se iz ulja konoplje može ekstrahirati visok sadržaj polinezasićenih masnih kiselina (>80 %), a uz to, ulje obiluje i antioksidansima kao što su tokoferoli, steroli i polifenoli. Nakon prešanja, uz ulje konoplje dobiva se i jedan nusproizvod procesa – pogača konoplje koja je bogata proteinima. Iz ovog nusproizvoda daljnjom obradom mogu se ekstrahirati proteini konoplje. Tri su glavne vrste proteina konoplje, a to su: koncentrat proteina konoplje, izolat proteina konoplje i hidrolizat proteina konoplje. Kao izvor proteina može se koristiti i prah proteina konoplje dobiven sušenjem i finim mljevenjem pogače konoplje. Nutritivna kvaliteta proteina ovisi o sastavu aminokiselina te probavljivosti proteina (Burton i sur., 2022). Sastav aminokiselina kod proteina konoplje ovisi o genotipu i agrotehničkim uvjetima, ali u svakom slučaju uključuje prisutnost svih esencijalnih aminokiselina uz glutamin, asparagin i arginin kao najzastupljenije. Probavljivost proteina ovisna je o molekularnoj strukturi proteina, prisutnosti antinutritivnih spojeva te uvjetima procesiranja. Prema Shen i sur. (2021), proteini konoplje manje su probavljivi nego li animalni proteini, ali više u odnosu na proteine mahunarki ili proteine žitarica. Jedan od načina pospješivanja probavljivosti proteina konoplje uključuje ljuštenje

sjemenki konoplje prije mljevenja. Uz to što sadrže sve esencijalne masne kiseline i imaju visoku probavljivost, proteini konoplje imaju i nisku alergenu aktivnost. Zbog svojih nutritivnih vrijednosti, biološke aktivnosti, funkcionalnosti i aromatskog profila, proteini konoplje koriste se kao funkcionalni sastojci u prehrambenoj industriji. Shematski prikaz dobivanja proteina konoplje vidljiv je na slici 6.



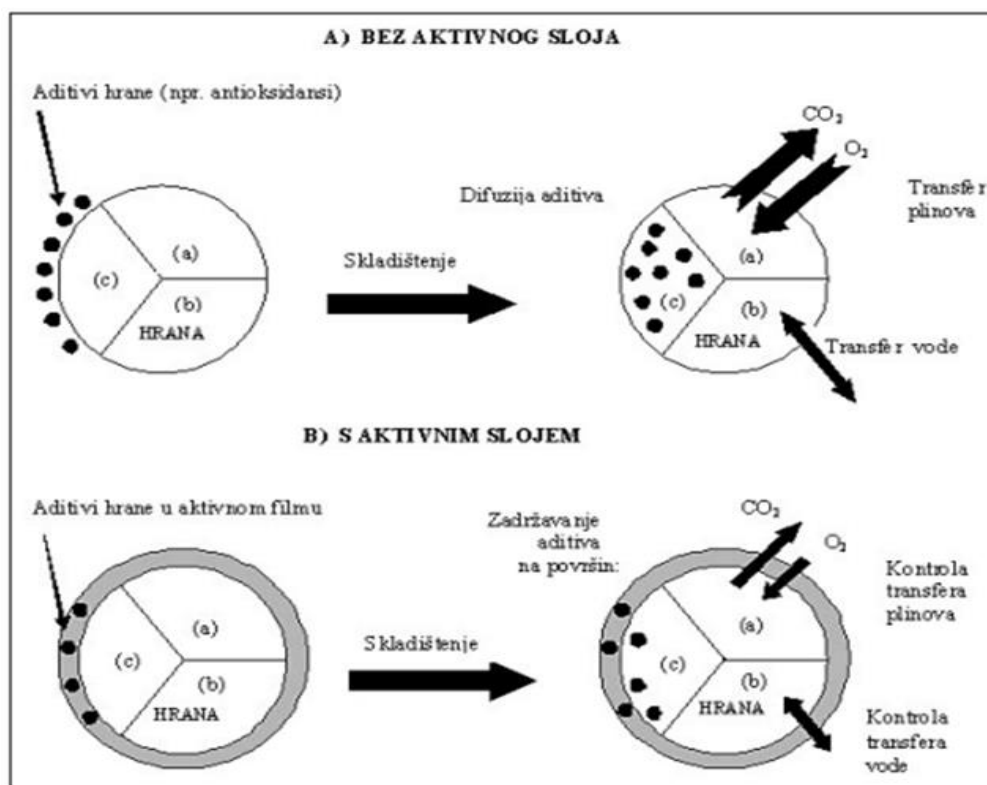
**Slika 6.** Shematski prikaz dobivanja proteina konoplje iz sjemenki konoplje (prema Burton i sur., 2022)

Ograničavajući čimbenik kod dodatka biljnih proteina u proizvode je, prema Shen i sur. (2021) prisutnost određenih antinutritivnih spojeva koji mogu negativno utjecati na probavljivost proteina i organoleptička svojstva te na biodostupnost ostalih nutrijenata. U sjemenkama konoplje uočeno je nekoliko antinutrijenata kao što su inhibitor tripsina, fitinska kiselina, cijanogeni glikozidi, tanini i saponini.

Okus i miris važna su senzorska svojstva proizvoda koja utječu na prihvaćanje određenog proizvoda od strane potrošača. Problem koji se javlja kod korištenja biljnih proteina u prehrambenoj industriji uključuje njihov neprijatan miris koji je posljedica enzimske ili neenzimske oksidacije nezasićenih masnih kiselina. To nije slučaj kod proteina konoplje obzirom da konoplja ima prijatnu i jedinstvenu aromu zbog prisutnosti terpena u cvjetovima konoplje. Kao takvi, proteini konoplje mogu se bez problema koristiti u prehrambenoj industriji (Mamone i sur., 2019).

### 2.3. PRIMJENA JESTIVE AMBALAŽE NA VOĆU

U prehrambenoj industriji, za pakiranje voća (svježeg ili minimalno procesiranog), veliku važnost imaju jestivi materijali na bazi polisaharida, konkretno kitozana (Elgadir i Mariod, 2023; Adiletta i sur., 2021; Díaz-Montes i Castro-Muñoz, 2021; Motelica i sur., 2020). Ovi materijali koriste se u svrhu očuvanja kvalitete i produživanja trajnosti voća što se postiže smanjenjem stupnja respiracije i dehidracije, odgađanjem enzimskog posmeđivanja ili lipidne oksidacije te inhibicijom rasta patogenih mikroorganizama i mikroorganizama kvarenja (Zhao i sur., 2021; Baldwin i Hagenmaier, 2012). Na slici 7 dan je shematski prikaz zaštite proizvoda jestivim filmovima ili prevlakama kao “aktivnim slojevima”, i to u uvjetima početka kvarenja proizvoda koji je rezultat respiracije, otpuštanja ili vezanja vlage, odnosno razvoja mikroorganizama i pojava procesa oksidacije na površini hrane (Galić, 2009).



**Slika 7.** Shematski prikaz zaštite hrane u prisutnosti i bez prisutnosti zaštitnog jestivog filma ili prevlake, kao aktivnog sloja, pri prvoj pojavi kvarenja uzrokovanog (a) respiracijom; (b) otpuštanjem ili vezanjem vode te (c) razvojem mikroorganizama ili procesa oksidacije na površini hrane (prema Galić, 2009)

Baldwin i Hagenmaier (2012) opisuju da jestivi ambalažni materijali potrebni za zaštitu voća moraju imati adekvatna barijerna svojstva prema plinovima kako bi se spriječio prelazak na anaerobni metabolizam, ali također moraju osigurati usporavanje zrenja i starenja te umanjiti gubitke na vlazi kako bi se spriječila smežuranost voća. Osim navedenog, jestivi materijali imaju ulogu i u pospješivanju izgleda voća dajući im sjaj te u nekim slučajevima i boju pri čemu se novi izgled mora održati kroz manipulaciju, skladištenje i transport voća do krajnjeg potrošača (Soliva – Fortuny i sur., 2012).

Naime, voće podliježe metaboličkim aktivnostima kao što su respiracija, proizvodnja etilena i transpiracija (Shiekh i sur., 2013; Bai i Plotto, 2012; Baldwin i Hagenmaier, 2012; Soliva – Fortuny i sur., 2012). Respiracija je metabolički proces koji uključuje sposobnost stanica da koriste kisik i proizvode ugljikov dioksid. Uz respiraciju, stanice proizvode i etilen – biljni hormon koji ubrzava zrenje i starenje voća. Transpiracija, s druge strane, predstavlja metabolički proces koji uključuje isparavanje vode iz međustaničnih prostora voća u okolinu što rezultira gubitkom vlage (Adiletta i sur., 2021). Bai i Plotto (2012) navode da se gubitak vlage od 5 % i više lako vizualno uočava na voću što posljedično vodi smanjenju vrijednosti voća. Gubitak vlage iz voća rezultira i gubitkom na masi što utječe na smežuranost voća. Prilikom gubitka vlage gubi se i na nutritivnoj vrijednosti voća obzirom da se smanjuje udio spojeva topljivih u vodi. Kod klimakterijskog voća, odnosno voća koje zrije nakon berbe (banane, breskve, jabuke), trajnost može biti produžena skladištenjem tog voća u kontroliranoj ili modificiranoj atmosferi u kojoj vlada relativno visok udio ugljikovog dioksida te niski udio kisika što vodi do usporavanja reakcija zrenja (respiracije i proizvodnje etilena) (Robertson, 2013; Shiekh i sur., 2013).

Jedan od načina na koji je moguće postići modificiranu atmosferu jest upravo primjena jestivih premaza obzirom da njihovom primjenom na voće dolazi do promjena u koncentracijama plinova pri čemu se povećava udio ugljikovog dioksida, a smanjuje udio kisika (Lustriane i sur., 2018). Važno je pritom primijeniti odgovarajuću formulaciju jestivog premaza kako ne bi došlo do prevelikog pada udjela kisika čime bi se inicirao anaerobni metabolizam voća koji bi doveo do proizvodnje etanola što bi rezultiralo neodgovarajućim okusom. Također, za smanjenje gubitka vode iz voća potrebno je osigurati visoku relativnu vlažnost zraka u skladišnim prostorima ili pakovini, odnosno moguće je primijeniti i hidrofobne premaze koji će reducirati gubitak vode.

## 2.4. PARAMETRI KOJI UTJEČU NA KVALITETU VOĆA

Ocjena uspješnosti primjene jestivih ambalažnih materijala proizlazi iz praćenja kvalitete voća tijekom skladištenja. Gontard i Guillaume (2010) razlikuju kvalitetu orijentiranu na proizvod i onu orijentiranu na potrošača. Kvalitetu orijentiranu na proizvod definiraju kao skup mjerljivih parametara proizvoda koji vrednuju njegove tehnološke karakteristike, a kvalitetu orijentiranu na potrošača povezuju s prihvatljivošću proizvoda od strane potrošača pri čemu se ona razlikuje ovisno o kulturološkim i demografskim uvjetima. Na primjer, banane se mogu konzumirati i zelene i žute, ovisno o preferencijama potrošača.

U tehnološkom smislu, važnija je kvaliteta orijentirana na proizvod pri čemu ona uključuje vrednovanje senzorskih karakteristika proizvoda, mikrobiološke slike i nutritivne vrijednosti. Senzorska svojstva uključuju teksturu, okus, miris i boju kao parametre koji se razvijaju zrenjem i starenjem proizvoda. Promjene u teksturi uključuju mekšanje voća što je posljedica topljivosti i depolimerizacije pektina djelovanjem pektinolitčkih enzima (pektinaze i pektinesteraze). Degradacija škroba i dekarboksilacija organskih kiselina vode do promjena u okusu, odnosno do prijelaza kiselog u slatki okus. Promjene u boji nastaju zbog: degradacije, sinteze pigmenta kao što su antocijani ili karoteni te enzimskog posmeđivanja. Drugi parametar važan u određivanju kvalitete voća je mikrobiološka slika svježeg voća koja je važna u pogledu sigurnosti. Mikroorganizmi kvarenja prisutni na voću uzrokuju degradaciju proizvoda, ali ne utječu direktno na ljudsko zdravlje. S druge strane, patogeni mikroorganizmi narušavaju zdravlje ljudi u slučaju da se nalaze na voću koje čovjek konzumira. Kao treći parametar važan za određivanje kvalitete upotrebljava se nutritivna vrijednost svježeg voća koja je ovisna o vrsti voća i njihovoj zrelosti. Iako je početni udio fitonutrijenata vrlo važan za nutritivna svojstva voća, još je važnija biodostupnost tih spojeva koja ovisi o količini fitonutrijenata apsorbiranih u organizam tijekom digestije. Svi navedeni parametri podložni su fiziološkim promjenama koje se javljaju kod ubranih plodova, a koje su pod utjecajem temperature i sastava plinova u atmosferi (Gontard i Guillaume, 2010).

Temperatura je jedan od glavnih čimbenika koji utječu na kvalitetu svježeg voća pa mora biti strogo kontrolirana tijekom rukovanja, skladištenja i transporta voća. Povišenjem temperature povećava se i respiracija, a sniženjem temperature se respiracija i enzimske reakcije smanjuju.

Još jedan ključni faktor koji utječe na brzinu respiracije svježeg voća, a samim time i na kvalitetu voća je sastav plinova. Smanjenjem udjela kisika postiže se smanjenje respiracije, no poželjno je smanjenje kisika do određene granice da ne bi došlo do prelaska na anaerobni metabolizam i nastanka etanola koji daje nepoželjan okus. Visoka koncentracija ugljikovog dioksida (>10 %) također utječe na smanjenje respiracije te ograničava proizvodnju etilena. Uz navedeno, visoka koncentracija ugljikovog dioksida ima bakteriostatska svojstva prema aerobnim bakterijama, no može voditi do razvoja anaerobnih bakterija. Nadalje, može doći i do degradacije dijelova voća ukoliko je koncentracija ugljikovog dioksida previsoka (Gontard i Guillaume, 2010).



### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

#### **3.1. MATERIJALI**

Za provedbu eksperimentalnog dijela korištene su 32 banane sorte Cavendish porijeklom iz Kolumbije koje su nabavljene u lokalnom supermarketu. Odabir banana temeljio se na boji kore i prisustvu fizičkih oštećenja na bananama. Na temelju ovih kriterija odabrane su one banane čija je kora više zelena nego li žuta te one koje nemaju vidljivih fizičkih oštećenja.

Kao jestivi premaz korišten je prirodni polisaharid kitozan (Chitin, Francuska, tip 652, molekulske mase 165 kDa, stupanj deacetiliranja iznad 85 %) otopljen u otapalu za čiju pripremu su upotrijebljene octena kiselina (ledena octena kiselina 100 %, Merck, Darmstadt, Njemačka) i destilirana voda u omjeru 1:100. U otopinu kitozana naknadno su dodani i otopljeni proteini konoplje u obliku praha (100 % proteini konoplje dobiveni iz hladnih organskih sjemenki konoplje proizvođača Bonatura, Boštjan Rudolf s.p., Makedonska ulica 45, 2000 Maribor, Slovenija).

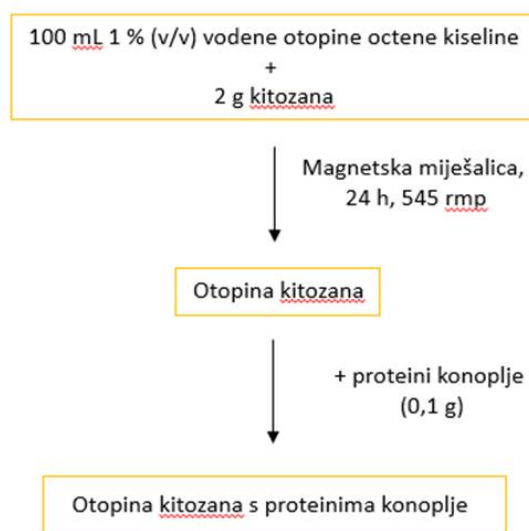
#### **3.2. PRIPREMA OTOPINE KITOZANA S PROTEINIMA KONOPLJE**

Za pripremu otopine kitozana s proteinima konoplje, kojom će se prskati odabrane banane, bio je potreban sljedeći laboratorijski pribor:

- Analitička vaga (KERN KB 2000-2N)
- Staklena čaša (200 mL)
- Pipeta (100 mL) i propipeta
- Magnetska miješalica i magnet (Witeg ms-mp8, Njemačka)
- Lađice za vaganje
- Špatula
- Boca namijenjena za ručno prskanje
- Plastični podlošci
- Ventilirana klima komora (HPP110, Memmert, Njemačka)

Proces pripreme otopine kitozana započeo je otapanjem 2 g kitozana u 1 % (v/v) vodenoj otopini octene kiseline. Obzirom da je kitozan netopljiv u vodi, koristila se 1 % (v/v) vodena otopina octene kiseline čija niska koncentracija nema utjecaj na senzorska svojstva otopine. Sam proces otapanja kitozana proveden je na način da se 100 mL 1 % (v/v) vodene otopine

octene kiseline dodalo u staklenu čašu u kojoj se nalazio magnet te se čaša postavila na magnetsku miješalicu pri čemu se broj okretaja podesio na 545 rpm. Prethodno se pomoću lađice za vaganje izvagalo 2 g ( $\pm 0,001$  g) kitozana na analitičkoj vagi. Izvagana količina kitozana se postepeno dodavala u vodenu otopinu octene kiseline kako ne bi došlo do prezasićenja, odnosno kako bi se omogućilo što bolje otapanje polimera. Staklena čaša se zatim zaštitila parafinskim filmom i ostavila 24 h pri sobnoj temperaturi na magnetskoj miješalici kako bi se kitozan u potpunosti dispergirao. Iduća faza pripreme uključivala je dodatak proteina konoplje u pripremljenu, homogenu otopinu kitozana. To se postiglo vaganjem 0,1 g ( $\pm 0,001$  g) praha proteina konoplje na lađicu za vaganje pomoću analitičke vage te njegovim prebacivanjem u staklenu čašu u kojoj se nalazila otopina kitozana. Prah proteina konoplje se također dodavao polagano kako bi se on potpuno dispergirao u otopini. Nakon dodatka proteina konoplje u otopinu kitozana uslijedilo je miješanje na magnetskoj miješalici u trajanju od 40 min. Radi boljeg razumijevanja, postupak pripreme otopine kitozana s proteinima konoplje shematski je prikazan na slici 8.



**Slika 8.** Shematski prikaz pripreme otopine kitozana s proteinima konoplje

### 3.3. NANOŠENJE OTOPINE KITOZANA S PROTEINIMA KONOPLJE NA BANANE

Dobivena otopina kitozana s proteinima konoplje prebačena je iz staklene čaše u plastičnu bocu namijenjenu za ručno prskanje pomoću koje su bile prskane banane. 32 banane su prethodno ocijedene i osušene na sobnoj temperaturi, a potom je 16 banana poprskano otopinom kitozana s proteinima konoplje po cijeloj svojoj površini pri čemu je volumen otopine

potreban za prskanje jedne banane iznosio  $3,2 \pm 0,1$  mL. Preostalih 16 nepoprskanih banana predstavljalo je kontrolnu grupu kako bi se omogućila usporedba banana koje su poprskane otopinom kitozana s proteinima konoplje i banana koje nisu poprskane. Obje grupe banana, banane poprskane otopinom kitozana s proteinima konoplje (BKK) i banane koje nisu poprskane otopinom kitozana s proteinima konoplje (BK), čuvale su se na plastičnim podlošcima u ventiliranoj klima komori na  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  i pri relativnoj vlažnosti zraka od 80 %.

Tijekom 15 dana, od dana nanošenja otopine kitozana s proteinima konoplje na izabrane banane, radile su se analize pomoću kojih se pratila kvaliteta banana (sve do trenutka kad banane nisu postale prezrele). Svaki uzorak rađen je u dvije paralele pri čemu su prilikom svake analize uzete 2 banane iz grupe BK te dvije banane iz grupe BKK.

### **3.4. METODE POMOĆU KOJIH JE PRAĆENA KVALITETA BANANA**

Metode koje su korištene u svrhu praćenja kvalitete banana iz grupe BK i BKK odnose se na određivanje: gubitka na masi, boje (promjene boje), vlage te udjela invertnih šećera. Udio invertnih šećera određivao se pomoću 2 metode od kojih jedna uključuje upotrebu refraktometra, a druga NIR spektrofotometar.

#### **3.4.1. Gubitak na masi**

Gubitak na masi određen je vaganjem banana (BK i BKK) unutar vremenskog perioda od 15 dana. U svrhu vaganja korištena je analitička vaga (KERN KB 2000-2N) pri čemu su banane izvagane prije skladištenja ( $M_0$ ) te svaki drugi, odnosno treći dan tijekom skladištenja ( $M_i$ ). Kao i kod Hu i sur. (2022), gubitak na masi (GM) izračunat je prema sljedećoj formuli:

$$GM(\%) = \left[ \frac{M_0 - M_i}{M_0} \right] \cdot 100\% \quad [1]$$

gdje je:

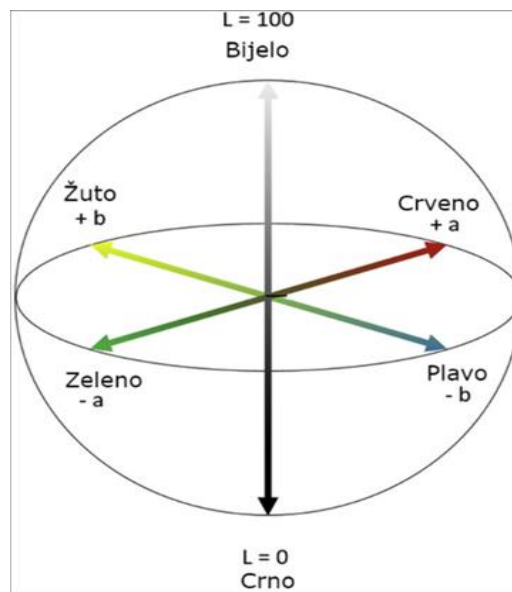
GM – gubitak na masi (%)

$M_0$  – masa banana prije skladištenja (g)

$M_i$  – masa banana tijekom skladištenja (g)

### 3.4.2. Boja banana

Boja banana te promjene u boji do kojih dolazi tijekom njihovog skladištenja mogu se kvantitativno odrediti pomoću CIELAB sustava boja koji je standardiziran od strane *Commission Internationale de l'Eclairage* (CIE). CIELAB sustav boja služi za određivanje svjetline boje, intenziteta crvene, odnosno zelene boje te intenziteta žute, odnosno plave boje preko  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  vrijednosti. Naime, CIELAB sustav boja predstavlja kvantitativnu vezu boja pomoću tri osi u koordinatnom sustavu boja:  $L^*$  predstavlja svjetlinu, a  $a^*$  i  $b^*$  su kromatske koordinate. Vertikalna os u koordinatnom sustavu boja predstavlja parametar  $L^*$  pri čemu se vrijednosti kreću od 0 (crno) do 100 (bijelo). Os koja se odnosi na parametar  $a^*$  u pozitivnom dijelu koordinatnog sustava boja predstavlja intenzitet crvene boje, a u negativnom dijelu intenzitet zelene boje. S druge strane, os koja označava parametar  $b^*$  u pozitivnom dijelu koordinatnog sustava boja predstavlja intenzitet žute boje, a u negativnom dijelu intenzitet plave boje. Ishodište koordinatnog sustava boja predstavlja neutralno ili akromatsko područje. (Ly i sur., 2019). CIELAB koordinatni sustav boja prikazan je na slici 9.



**Slika 9.** CIELAB koordinatni sustav boja (Ly i sur., 2019)

U svrhu određivanja parametara CIELAB sustava boja korišten je kolorimetar Konica Minolta Spectrophotometer CM – 700d, SAD. Mjerenje je provedeno na 3 različita mjesta na svakoj pojedinoj banani, a kao konačni rezultat mjerenja uzete su srednje vrijednosti  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  koje su grafički prikazane. Iz  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  vrijednosti izračunata je i ukupna razlika u boji, odnosno kolorimetrijska razlika koja prikazuje odstupanje reflektirane boje od kontrole (Grigić, 2014), a računa se prema sljedećoj formuli:

$$\Delta E = [(L_0^* - L_i^*)^2 + (a_0^* - a_i^*)^2 + (b_0^* - b_i^*)^2]^{\frac{1}{2}} \quad [2]$$

gdje je:

$\Delta E$  – kolorimetrijska razlika

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

$L_i^*, a_i^*, b_i^*$  - vrijednosti ispitivanog uzorka boje

### 3.4.3. Vlaga

Određivanje udjela vlage u uzorcima banana započelo je vaganjem 1g ( $\pm 0,01$ g) jestivog unutrašnjeg dijela banane (bez kore) pomoću analitičke vage (KERN KB 2000-2N, Njemačka) na lađicu za vaganje. Izvagani uzorak se potom prebacio na aluminijsku pliticu uređaja za mjerenje vlage (PMB 53 Adam Equipment, SAD). Zatvaranjem gornjeg poklopca uređaja i pokretanjem zagrijavanja na temperaturu od 105 °C došlo je do spaljivanja uzorka pri čemu je isparila slobodna voda. Mjerenje je provedeno tri puta za svaki uzorak, a izmjereni udio vlage u uzorku očitao je sa zaslona uređaja. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost uz standardnu devijaciju za svaku paralelu pojedinačno.

### 3.4.4. Invertni šećeri

Za određivanje udjela invertnih šećera korištene su dvije metode od kojih jedna uključuje upotrebu refraktometra, a druga NIR spektrofotometar (eng. *near – infrared spectroscopy*, NIRS).

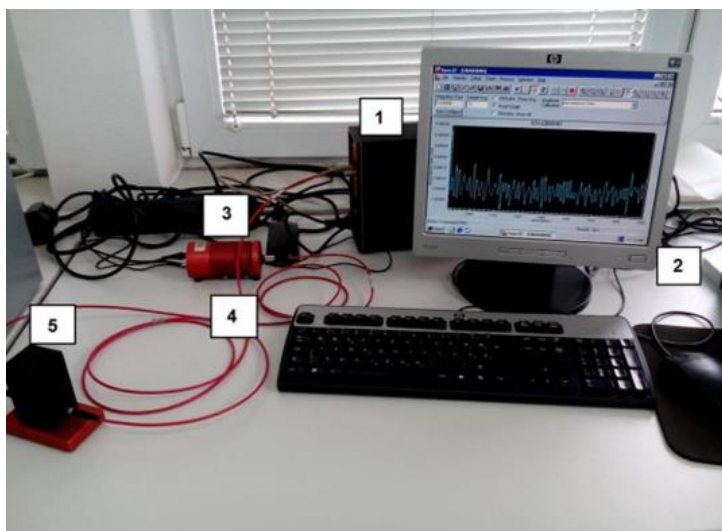
#### 3.4.4.1. Određivanje udjela invertnih šećera pomoću refraktometra

Pomoću analitičke vage (KERN KB 2000-2N) izvagano je 1g ( $\pm 0,01$ g) unutrašnjeg jestivog dijela banane (bez kore) na lađicu za vaganje. Izvagani uzorak se usitnio pomoću noža kako bi se povećala specifična dodirna površina uzorka te time omogućilo bolje otapanje sastojaka iz uzorka u vodi. Usitnjeni uzorak kvantitativno je prenesen u epruvetu u koju se zatim pomoću pipete dodala destilirana voda u količini od 10 mL. Sadržaj epruvete promiješan je na vrtložnom mikseru (IKA MS2 minishaker) kako bi se postigao što veći stupanj homogenizacije. Nakon homogenizacije sadržaj epruvete je profiltriran u drugu epruvetu pomoću staklenog lijevka i filter papira. Dobivena je bistra otopina koja se pomoću kapaljke stavila u utor refraktometra (ATAGO Refractometer PAL-3). Vrijednost dobivena na zaslonu uređaja prikazana je u stupnjevima Brix pri čemu 1 stupanj Brix označava 1 gram saharoze na 100

grama otopine. Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost dviju paralela pri čemu je na svakoj paraleli mjerenje provedeno tri puta.

#### 3.4.4.2. Određivanje udjela invertnih šećera pomoću NIR spektrofotometra

Uzorci banana namijenjeni za NIR spektrofotometriju pripremljeni su na način da se pomoću noža odrezala ploška od svakog uzorka. Pripremljene ploške banana snimljene su pomoću sonde NIR-128-1.7-USB/6.25/50 $\mu$ m skenirajućeg monokromatora (Control Development, SAD) s instaliranim pripadajućim softwareom Spec32 (Control Development, SAD) u području valnih duljina od 904 do 1699 nm (slika 10). Svaka ploška snimljena je deset puta na različitim mjestima unutrašnjeg jestivog dijela banane (ne uključujući koru), a neobrađeni spektri bliskog infracrvenog zračenja pohranjeni su kao .xls datoteke u softwareu Microsoft Office Excel te su kasnije korišteni za obradu podataka PCA metodom.



**Slika 10.** NIR spektrofotometar povezan s računalom. (1 – NIR uređaj, 2 – računalno s instaliranim Spec32 softverom, 3 – izvor zračenja, 4 – optički kablovi, 5 – mjesto za snimanje uzoraka) (prema Radman, 2018)

#### 3.4.5. Obrada podataka

Obrada podataka provedena je analizom varijance (ANOVA) pomoću Xlstat-Pro (win) 7.5.3. (Addinsoft, New York). U svim slučajevima, vrijednost  $p < 0,05$ , pri intervalu pouzdanosti od 95 %, smatra se statistički značajnom.

Za obradu podataka NIR spektrofotometrije korištena je kemometrijska metoda analize glavnih komponenti (PCA). Analiza glavnih komponenti koristi se kako bi se izdvojile specifične informacije iz velike baze podataka, kao i radi lakšeg uočavanja sličnosti, odnosno

razlike među podacima na temelju njihovog međusobnog razdvajanja i grupiranja (Skef, 2021). Za analizu podataka NIR spektra PCA metodom korišten je software Statistica 13.0 (StatSoft, USA).

Umjetne neuronske mreže (eng. *Artificial Neural Network*, ANN) korištene su kako bi se na temelju podataka iz NIR spektra predvidjele vrijednosti udjela invertnih šećera i vlage kod banana. Koristeći software Statistica v.13 (StatSoft, USA) razvijene su mreže s 8 – 13 neurona u skrivenom sloju. Za ulazne varijable korišteno je prvih deset faktora dobivenih analizom glavnih komponenti koji su bili odgovorni za 99,9 % varijabilnosti u podacima. Kao izlazne varijable postavljene su šećeri i vlaga. Učenje umjetnih neuronskih mreža provedeno je podjelom podataka u skupove za učenje, test i validaciju u omjeru 60:20:20. Najbolje umjetne neuronske mreže odabrane su na temelju najviše  $R^2$  vrijednosti i najmanje pogreške.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

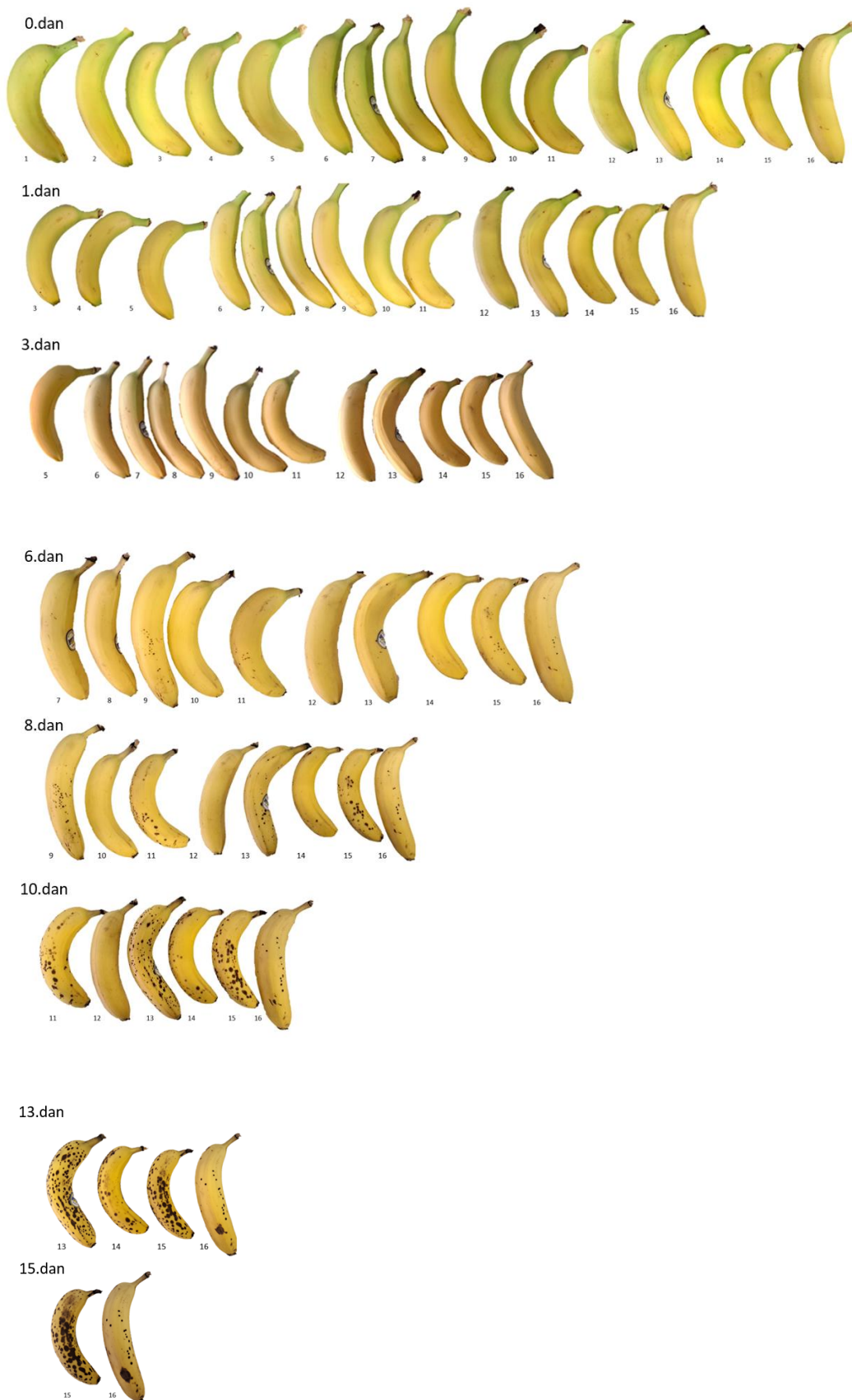
U ovom radu praćeni su parametri kvalitete banana na kojima se nalazi jestivi premaz od kitozana i proteina konoplje. Kako bi se usporedio utjecaj tog jestivog premaza na rok trajanja banana praćeni su i parametri kvalitete banana na kojima nema jestivog premaza. Parametre kvalitete banana, u ovom istraživanju, predstavljaju: gubitak na masi, boja, vlaga i udio invertnih šećera. Rezultati koji su dobiveni prikazani su tabelarno i grafički. Osim izmjerenih vrijednosti za navedene parametre kvalitete, tijekom istraživanja pratio se i izgled obje grupe banana obzirom da on uvelike ovisi o tome hoće li potrošač kupiti navedeni proizvod ili ne.

Na slici 11 prikazane su banane bez jestivog premaza, a na slici 12 banane s jestivim premazom tijekom skladištenja u trajanju od 15 dana. Osim vanjskog izgleda banana, praćen je i presjek obiju vrsta banana što prikazuju slike 13 i 14. Izmjerene vrijednosti koje se tiču gubitka na masi banana prikazane su u tablici 2, a vrijednosti koje se odnose na udio vlage u bananama nalaze se u tablici 3. Boja banana određena je CIE L\*a\*b\* prostornim modelom, a rezultati mjerenja prikazani su grafički što je vidljivo na slikama 15, 16 i 17. Kolorimetrijska razlika ( $\Delta E$ ) prikazana je grafički na slici 18. Udjeli invertnih šećera dobiveni upotrebom refraktometra, a koji su izmjereni kod obje grupe banana, prikazani su grafički na slici 19. Određivanje udjela invertnih šećera NIR spektrofotometrijom za obje grupe banana prikazano je na slikama 20 i 21 gdje se nalaze podaci dobiveni PCA analizom, dok tablice 4 i 5 prikazuju rezultate najboljih neuronskih mreža razvijenih za predviđanje udjela invertnih šećera i vlage. Tablice 6 i 7 daju uvid u rezultate predviđanja udjela invertnih šećera i vlage na temelju odabranog najboljeg modela umjetne neuronske mreže.

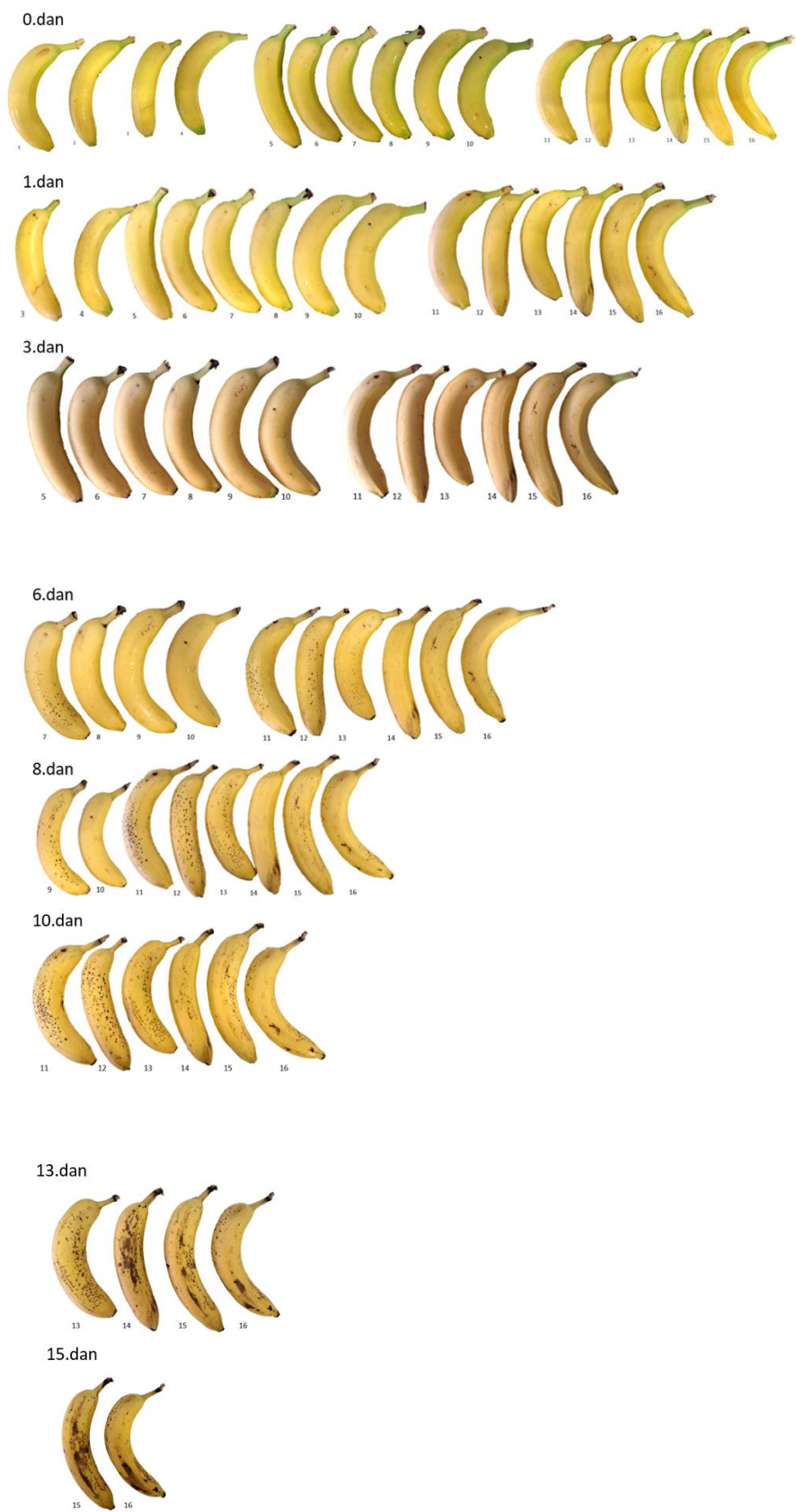
### 4.1. IZGLED KORE I PRESJEKA BANANA

Ono što je važno za potrošača prilikom odabira banana za kupnju jest upravo njihov izgled. Banane, kao klimakterijsko voće, nakon branja nastavljaju sa zrenjem što vodi do promjena u izgledu, točnije do promjena u boji i teksturi što ima za posljedicu kratak rok trajanja banana. Promjene u boji kod banana bez jestivog filma od kitozana i proteina konoplje prikazuje slika 11, a promjene u boji kod banana s jestivim filmom od kitozana i proteina konoplje prikazuje slika 12.





**Slika 11.** Praćenje izgleda kore banana bez jestivog premaza tijekom 15 dana (*vlastita fotografija*)

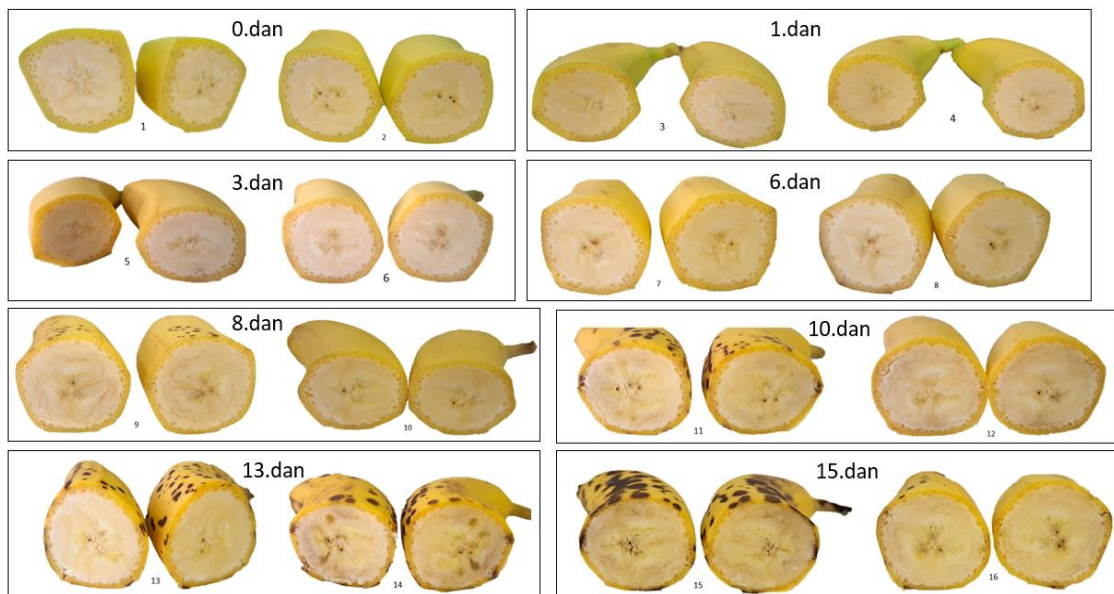


**Slika 12.** Praćenje izgleda kore banana s jestivim premazom tijekom 15 dana (*vlastita fotografija*)

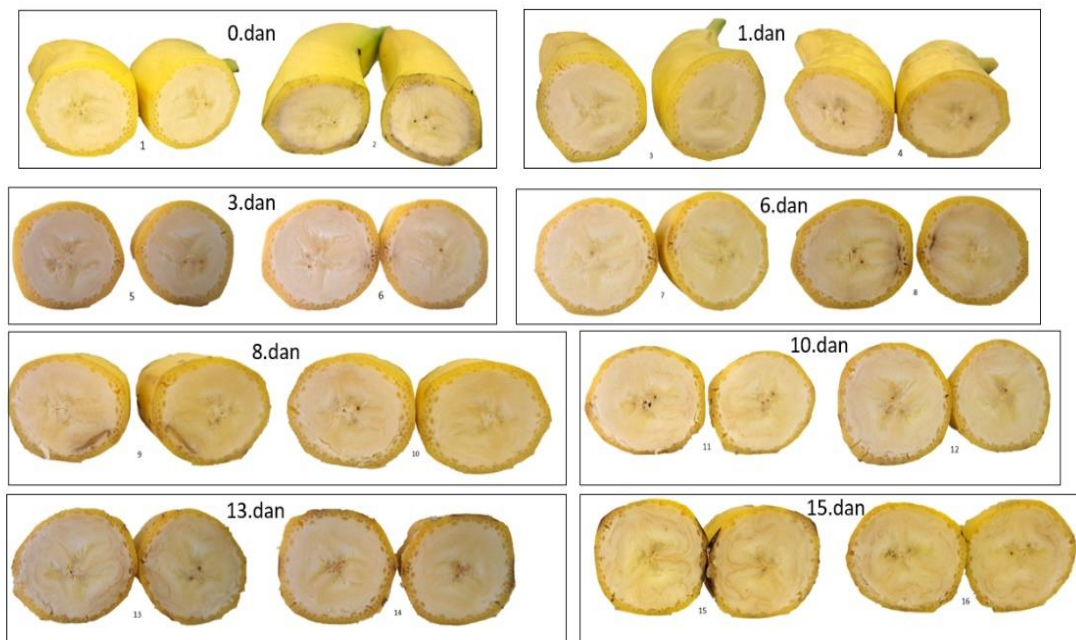
Uspoređujući izgled banana bez jestivog premaza (kontrolna grupa) te izgled banana s jestivim premazom, može se uočiti da do pojave smeđih mrlja na njihovoj kori dolazi šesti dan skladištenja. Daljnjim skladištenjem posmeđivanje kore nastavlja se kod obje grupe banana, a nešto je više izraženo kod kontrolne grupe. Izraženije posmeđivanje kore kod kontrolne grupe banana slaže se sa rezultatima istraživanja koje su proveli Lustriane i sur. (2018). Navedeni autori također su uspoređivali utjecaj jestivog premaza od kitozana na rok trajanja banana te su ustanovili da jestivi premazi s koncentracijama kitozana od 1,15 i 1,25 % odgađaju posmeđivanje kore banana i zadržavaju njihovu kvalitetu sve do sedmog dana skladištenja. S druge strane, kod banana bez jestivog premaza do posmeđivanja je došlo petog dana skladištenja i ono je dalje bilo sve izraženije. Suseno i sur. (2014) također su promatrali utjecaj jestivog premaza od kitozana na izgled kore banana pri čemu su koncentracije kitozana varirale od 1 preko 1,5 do 2 %. Pri navedenim koncentracijama uočili su da je do posmeđivanja kore došlo sedmog dana skladištenja, dok je kod kontrolne grupe posmeđivanje kore uočeno četvrtog dana skladištenja. Hu i sur. (2022) u jestivi premaz od kitozana inkorporirali su ekstrakt kore japanske jabuke te uočili da banane premazane takvim premazom duže zadržavaju prvobitni izgled u odnosu na one premazane premazom od isključivo kitozana. Ekstrakt kore japanske jabuke sa kitozonom čini kompaktniji premaz koji posljedično vodi do boljih barijernih svojstava. Osim utjecaja na izgled banana, jestivi premaz od kitozana utjecao je i na očuvanje izgleda kod manga (Kumar i sur., 2021; Chien i sur., 2005), krušaka (Sánchez i sur., 2015), jagoda (Gol i sur., 2013) i kivija (Kumarihami i sur., 2022). Razlog tome leži u sposobnosti kitozana da djeluje kao barijera za kisik pri čemu uz niže koncentracije kisika i više koncentracije ugljikovog dioksida unutar pakovine dolazi do usporavanja degradacije klorofila u kori voća te usporavanja proizvodnje etilena čime se odgađa zrenje.

Tijekom eksperimentalnog dijela rada pratio se i izgled presjeka banana. Presjek banana iz kontrolne grupe prikazan je na slici 13, a presjek banana s jestivim premazom na slici 14. Može se uočiti da kod banana iz kontrolne grupe posmeđivanje pulpe započinje osmog dana, a kod banana sa jestivim premazom trinaestog dana. Također, vidljiva je i promjena u omjeru pulpe i kore banana pri čemu je kod banana iz kontrolne grupe značajno vidljivo povećanje omjera pulpe i kore osmog dana skladištenja, a kod banana s jestivim premazom desetog dana skladištenja. Povećanje omjera pulpe i kore banana tijekom skladištenja uočili su i Lustriane i sur. (2018). Kod banana bez jestivog premaza uočili su značajni porast omjera pulpe i kore već trećeg dana skladištenja, a kod banana koje su tretirali jestivim premazom od kitozana (1,25 %) porast je zabilježen petog dana skladištenja. Ovakva pojava pripisuje se djelovanju osmotskog

tlaka. Naime, tijekom zrenja dolazi do brze konverzije škroba u šećer unutar pulpe banana što vodi do promjena u osmotskom tlaku.



**Slika 13.** Presjeci banana bez jestivog premaza tijekom 15 dana skladištenja (*vlastita fotografija*)



**Slika 14.** Presjeci banana s jestivim premazom tijekom 15 dana skladištenja (*vlastita fotografija*)

## 4.2. GUBITAK NA MASI

Gubitak na masi koji je izračunat na temelju vrijednosti masa banana iz kontrolne grupe i masa banana s jestivim premazom tijekom njihovog skladištenja prikazan je u tablici 2. Tijekom procesa zrenja, odnosno tijekom skladištenja, kod obje grupe banana dolazi do povećanja postotka gubitka na masi. Prvih deset dana skladištenja zabilježen je veći gubitak na masi kod obje paralele iz grupe banana s jestivim premazom. Kod banana iz kontrolne grupe, međutim, trinaestog dana paralela 2 ima nešto veći gubitak na masi u odnosu na onu s jestivim premazom, dok petnaestog dana obje paralele iz kontrolne grupe banana imaju veći gubitak na masi u odnosu na grupu banana s jestivim premazom ( $p < 0,05$ ). Takvi rezultati se djelomično slažu s rezultatima do kojih su došli Lustriane i sur. (2018) i Gol i Ramana Rao (2011) obzirom da je gubitak na masi prilikom njihovog istraživanja bio svakog dana skladištenja veći kod banana iz kontrolne grupe u odnosu na one tretirane jestivim premazom od kitozana ( $p < 0,05$ ). Do istih rezultata dolaze i Hu i sur. (2022) te Suseno i sur. (2014) koji ujedno i navode kako prilikom skladištenja banane gube vodu zbog procesa respiracije kao i evaporacije vode što posljedično vodi do njihove smežuranosti koja utječe na smanjenje kvalitete. S druge strane, nanošenjem jestivog premaza od kitozana koji djeluje kao barijera prema vanjskim okolišnim uvjetima postiže se smanjenje evaporacije vode i respiracije. U slučaju dodatka proteina prilikom pripreme jestivog premaza od kitozana, različiti znanstvenici dolaze do različitih spoznaja pa su tako Muley i Singhal (2020) otopini kitozana dodali izolat proteina sirutke te su dobiveni jestivi premaz nanijeli na jagode uz praćenje gubitka na masi pri čemu su ustanovili da jagode s navedenim premazom tijekom skladištenja imaju manji gubitak na masi u odnosu na one bez premaza. Abugoch i sur. (2015) su na borovnice nanijeli jestivi premaz od kitozana i proteina kvinoje uz dodatak suncokretovog ulja te ustanovili da je gubitak na masi tijekom njihovog skladištenja veći upravo kod borovnica s jestivim premazom u odnosu na one bez premaza. S druge strane, Zhang i sur. (2018) na breskve su nanijeli jestivi premaz od kitozana i izolata proteina soje pri čemu su došli do rezultata koji ukazuju na manji gubitak na masi kod breskava sa jestivim premazom tijekom skladištenja u odnosu na one bez premaza. Rezultati dobiveni u ovom radu, obzirom da se ne slažu u potpunosti s rezultatima navedenih autora, mogu biti posljedica krivo upotrijebljene koncentracije kitozana koja nije adekvatna da služi kao jestivi premaz za banane. Također, neslaganja u rezultatima mogu biti posljedica dodavanja proteina konoplje u jestivi premaz od kitozana pri čemu proteini svojim hidrofilnim ograncima aminokiselina doprinose većoj propusnosti jestivog premaza za vlagu što u svom istraživanju donose Huang i Wang (2023). Nadalje, prilikom prskanja banana otopinom od kitozana i proteina konoplje možda nisu bila ravnomjerno poprskana sva mjesta na bananama zbog

njihovog zakrivljenog izgleda pa bi možda umjesto prskanja više odgovaralo uranjanje banana u otopinu kitozana i lišća konoplje.

**Tablica 2.** Rezultati koji se odnose na gubitak na masi prikazani kao  $\bar{x} \pm SD$  (n = 4) za obje paralele iz grupe banana sa i bez jestivog premaza od kitozana i proteina konoplje

Vrijeme / dani	Gubitak na masi koji se odnosi na banane iz kontrolne grupe / %		Gubitak na masi koji se odnosi na banane s jestivim premazom / %	
	Paralela 1	Paralela 2	Paralela 1	Paralela 2
1	1,334 ± 0,185	1,366 ± 0,084	2,152 ± 0,159	2,089 ± 0,268
3	3,050 ± 0,430	3,057 ± 0,164	3,644 ± 0,324	3,799 ± 0,330
6	5,422 ± 0,754	5,588 ± 0,297	5,933 ± 0,575	6,222 ± 0,479
8	7,366 ± 0,864	7,311 ± 0,456	7,397 ± 0,805	7,851 ± 0,613
10	8,619 ± 1,018	8,935 ± 0,604	9,161 ± 0,411	9,412 ± 0,833
13	10,764 ± 1,459	11,711 ± 1,849	10,841 ± 0,069	11,687 ± 0,569
15	13,682 ± 0,388	13,554 ± 0,358	12,500 ± 0,243	13,548 ± 0,256

#### 4.3. VLAGA

Vlaga kod banana usko je povezana s gubitkom na njihovoj masi, a dobiveni rezultati prikazani su u tablici 3. Obzirom da je prethodno navedeno kako je gubitak na masi tijekom skladištenja sve do trinaestog dana veći kod banana s jestivim premazom u odnosu na onaj kod banana iz kontrolne grupe, za očekivati je da će veći postotak vlage tijekom skladištenja imati upravo banane iz kontrolne grupe što je slučaj prvog, osmog, desetog, trinaestog i petnaestog dana skladištenja. Početni postotak vlage (0. dan) veći je kod banana s jestivim premazom u odnosu na banane iz kontrolne grupe. Kao razlog tome može se pripisati prskanje banana tekućim jestivim premazom koji je doprinio dodatnoj količini vlage banana. Daljnjim skladištenjem banana ipak se uočava veći postotak vlage kod banana iz kontrolne grupe. Kao što je već spomenuto u potpoglavlju 4.2., kitozan vodi do zadržavanja vlage u bananama obzirom da djeluje kao svojevrsna barijera za vlagu te time utječe pozitivno na kvalitetu banana. Međutim, uz dodatak proteina moguće je da dođe do formiranja slabijih barijernih svojstava jestivog premaza prema vlazi obzirom da proteini mogu svojim hidrofilnim ograncima aminokiselina doprinijeti povećanoj hidrofilnosti jestivog premaza što ga čini više propusnim za vodu.

**Tablica 3. Promjena udjela vlage u bananama tijekom njihovog skladištenja prikazana**kao  $\bar{x} \pm SD$  (n = 3)

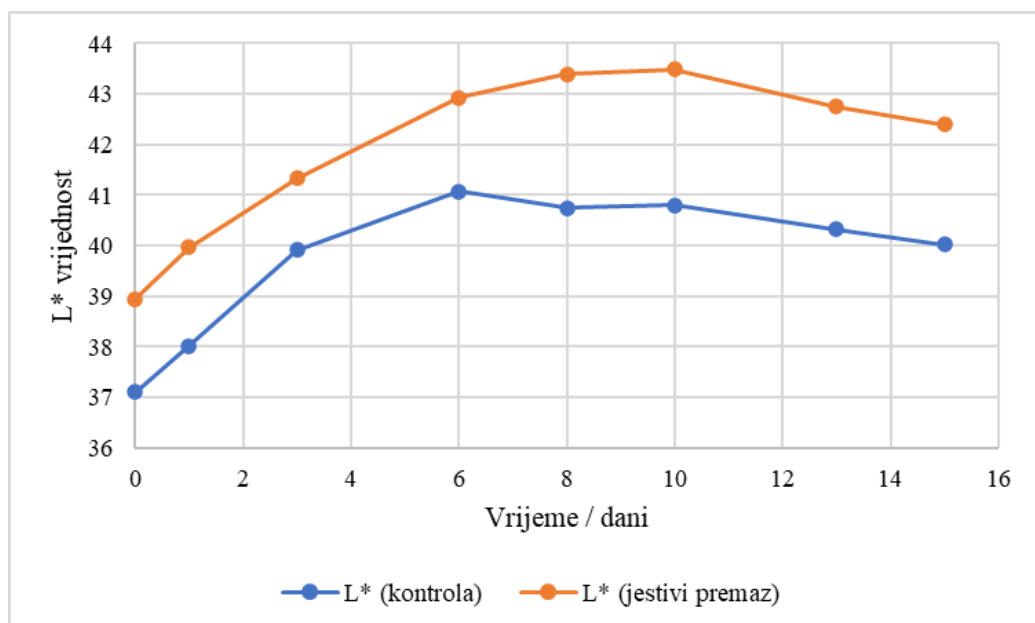
Vlaga / %		Vrijeme / dani							
		0	1	3	6	8	10	13	15
Banane iz kontrolne grupe	Paralela 1	44,62 ± 2,61	55,57 ± 2,14	50,32 ± 5,37	55,35 ± 1,51	54,80 ± 0,33	58,15 ± 1,77	58,13 ± 1,41	62,16 ± 2,90
	Paralela 2	45,40 ± 2,61	56,97 ± 2,14	53,56 ± 5,37	48,68 ± 1,51	54,43 ± 0,33	57,68 ± 1,77	57,64 ± 1,41	60,84 ± 2,90
Banane s jestivim premazom	Paralela 1	59,17 ± 0,27	52,92 ± 0,73	58,82 ± 0,29	55,20 ± 0,82	54,39 ± 0,68	56,02 ± 3,04	56,21 ± 3,17	58,74 ± 0,26
	Paralela 2	59,39 ± 0,27	52,52 ± 0,73	59,53 ± 0,30	59,94 ± 0,82	53,87 ± 0,68	57,55 ± 3,04	57,54 ± 3,17	56,77 ± 0,26

#### 4.4. BOJA BANANA

Tijekom skladištenja banana iz kontrolne grupe te banana s jestivim premazom pratila se i njihova boja obzirom da boja također uvelike utječe na prihvaćanje banana od strane potrošača. Slike 15, 16 i 17 prikazuju rezultate dobivene na temelju vrijednosti izmjerenih pomoću kolorimetra te je jasno prikazano da su L\*, a\* i b\* vrijednosti kod banana s jestivim premazom od kitozana i proteina konoplje veće u odnosu na te vrijednosti kod banana iz kontrolne grupe. Također, a\* i b\* vrijednosti tijekom skladištenja banana iz obje grupe rastu što je isto vidljivo na slikama 16 i 17, dok L\* vrijednost prvih dana skladištenja raste, a zatim pada (slika 15). Rast ovih vrijednosti tijekom skladištenja banana iz obje grupe je očekivani obzirom da tijekom skladištenja dolazi do promjene boje banana iz zelene u sve izraženiju žutu boju što je posljedica degradacije klorofila (slike 11 i 12). Negativna a\* vrijednost kod banana iz kontrolne grupe izmjerena nulti dan skladištenja ukazuje na veći intenzitet zelene boje u odnosu na crvenu, dok pozitivna a\* vrijednost kod banana s jestivim premazom ukazuje upravo na dodatak tog premaza koji je blago smeđe boje. Rastuća a\* vrijednost tijekom skladištenja

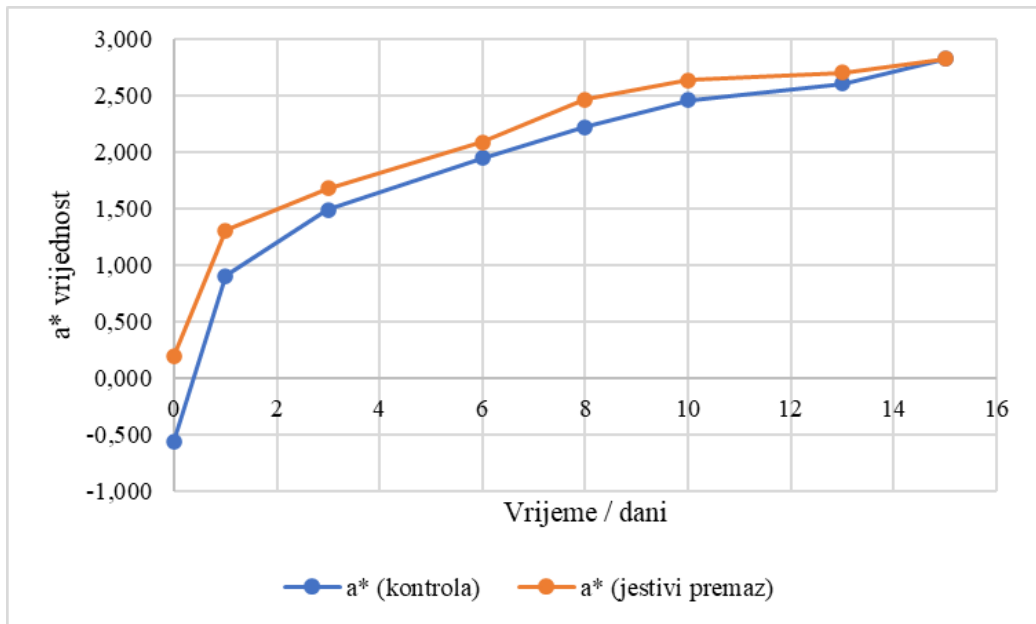
pokazuje da se povećava intenzitet crvene boje u odnosu na zelenu, a to je slučaj kod obje grupe banana. Rastuća  $b^*$  vrijednost, tijekom skladištenja, pokazuje da se povećava intenzitet žute boje banana u odnosu na plavu, a te vrijednosti su veće kod banana s jestivim premazom iz istog razloga kao što su veće i  $a^*$  vrijednosti.  $L^*$  vrijednost kod banana iz kontrolne grupe raste do šestog dana skladištenja, a zatim pada. S druge strane, kod banana s jestivim premazom  $L^*$  vrijednost raste sve do desetog dana skladištenja te potom pada. Pad  $L^*$  vrijednosti odnosi se na pojavu smeđih mrlja na bananama koje se pojavljuju tijekom zrenja banana. Navedeni rezultati slažu se s rezultatima do kojih su došli Al – Dairi i sur. (2023) prilikom istraživanja utjecaja različitih uvjeta skladištenja i mehaničkih oštećenja na promjene do kojih dolazi tijekom zrenja banana.

Također, na slici 18 dan je grafički prikaz ukupne razlike u boji do koje dolazi tijekom skladištenja obje grupe banana. Vidljivo je da ta razlika tijekom skladištenja banana iz kontrolne grupe i banana s jestivim premazom raste što je i očekivano obzirom da dolazi do jačanja intenziteta žute boje i slabljenja intenziteta zelene boje.

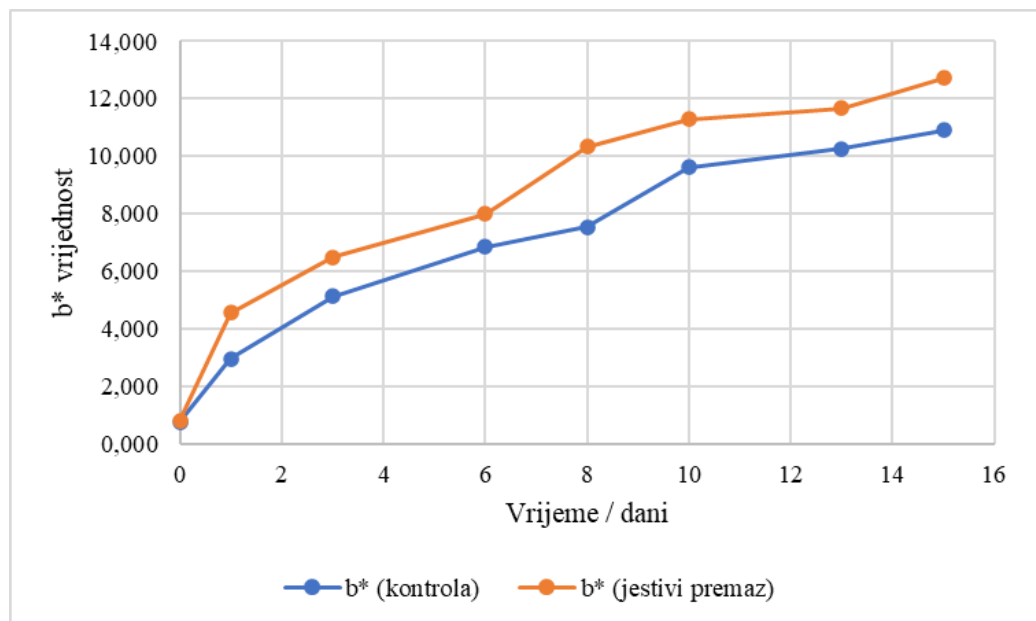


**Slika 15.** Grafički prikaz  $L^*$  vrijednosti kod banana iz kontrolne grupe (plavo) i banana s jestivim premazom (narančasto)

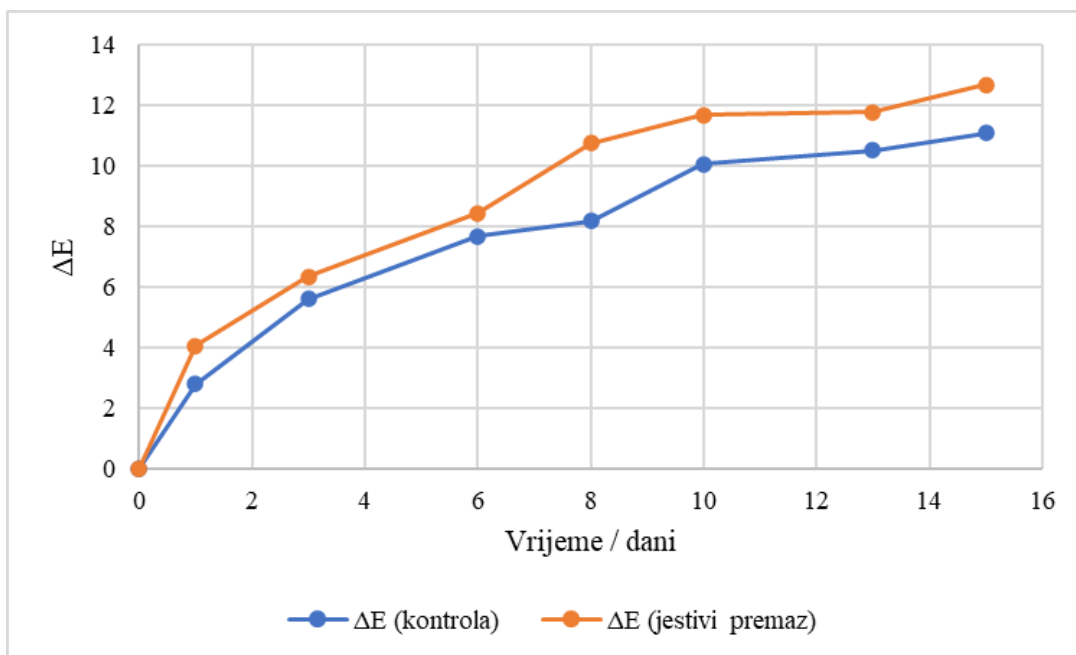




**Slika 16.** Grafički prikaz a\* vrijednosti kod banana iz kontrolne grupe (plavo) i banana s jestivim premazom (narančasto)



**Slika 17.** Grafički prikaz b\* vrijednosti kod banana iz kontrolne grupe (plavo) i banana s jestivim premazom (narančasto)



**Slika 18.** Grafički prikaz kolorimetrijske razlike tijekom skladištenja banana iz kontrolne grupe i banana s jestivim premazom

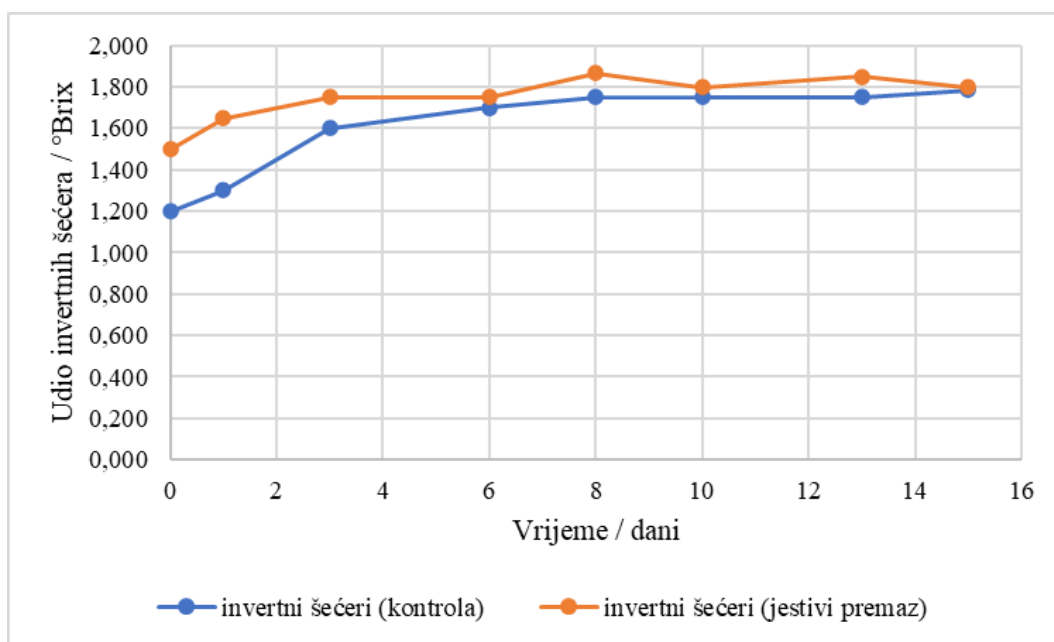
#### 4.5. INVERTNI ŠEĆERI

Udio invertnih šećera prisutan u bananama važan je faktor koji se odnosi na njihovu zrelost i okus. Udio invertnih šećera prisutan u bananama iz kontrolne grupe i bananama s jestivim premazom dobiven je korištenjem refraktometra te primjenom NIR spektrofotometrije. Rezultati dobiveni upotrebom refraktometra nalaze se u potpoglavlju 4.4.1., a rezultati dobiveni primjenom NIR spektrofotometrije nalaze se u potpoglavlju 4.4.2.

##### 4.5.1. Rezultati mjerenja dobiveni upotrebom refraktometra

Vrijednosti invertnih šećera izmjerene refraktometrom tijekom eksperimentalnog dijela ovog rada prikazane su grafički na slici 19. Vidljivo je da je udio invertnih šećera kod kontrolne grupe banana niži u odnosu na udio invertnih šećera kod banana s jestivim premazom tijekom cjelokupnog skladištenja, a zajedničko za obje grupe banana je da se taj udio tijekom skladištenja povećava. Potrebno je još uočiti da je kod kontrolne grupe banana taj porast izraženiji tijekom prvih šest dana skladištenja. Naime, do porasta udjela invertnih šećera dolazi zbog konverzije škroba u šećere na koju utječu prisutnost  $\text{CO}_2$  i  $\text{O}_2$ . Niži udio  $\text{O}_2$  i viši udio  $\text{CO}_2$  utječe na inhibiciju aktivnosti enzima uključenih u hidrolizu škroba. Lustriane i sur. (2018) vođeni tom pretpostavkom došli su do rezultata koji govore da kod banana tretiranih s 1,15 % i 1,25 % kitozana dolazi do smanjenja škroba za oko 5 %, a kod netretiranih banana to smanjenje iznosi oko 65 % trećeg dana skladištenja. Usporedno s tim, udio šećera u bananama se

povećava. Navedeni autori zaključili su da jestivi premaz od kitozana zbog svojih barijernih svojstava prema plinovima inhibira konverziju škroba u šećere. Rezultati istraživanja ovih autora, kao i drugih autora (Hu i sur., 2022; Gol i Ramana Rao, 2011) podudaraju se s rezultatima dobivenim tijekom provedbe eksperimentalnog dijela ovog diplomskog rada. Naime, ono u čemu je došlo do podudaranja između rezultata ovog rada i rezultata svih navedenih autora jest brži porast invertnih šećera kod kontrolne grupe u odnosu na grupu banana s jestivim premazom. Kod banana iz kontrolne grupe nulti dan je izmjereni udio invertnih šećera iznosio  $1,200 \pm 0,210$  °Brix, a petnaesti dan  $1,783 \pm 0,075$  °Brix. Prema tome, razlika u udjelu invertnih šećera između nultog i petnaestog dana skladištenja iznosi  $0,583$  °Brix. Nasuprot tome, kod banana s jestivim premazom od kitozana i proteina konoplje taj porast je niži –  $1,300$  °Brix, pri čemu nulti dan udio invertnih šećera iznosi  $1,500 \pm 0,141$ , a petnaesti dan  $1,800 \pm 0,063$ . Time se ukazuje na to da jestivi film od kitozana zajedno s proteinima konoplje djeluje kao svojevrsna barijera za plinove što vodi sporijoj konverziji škroba u šećere tijekom skladištenja tretiranih banana.



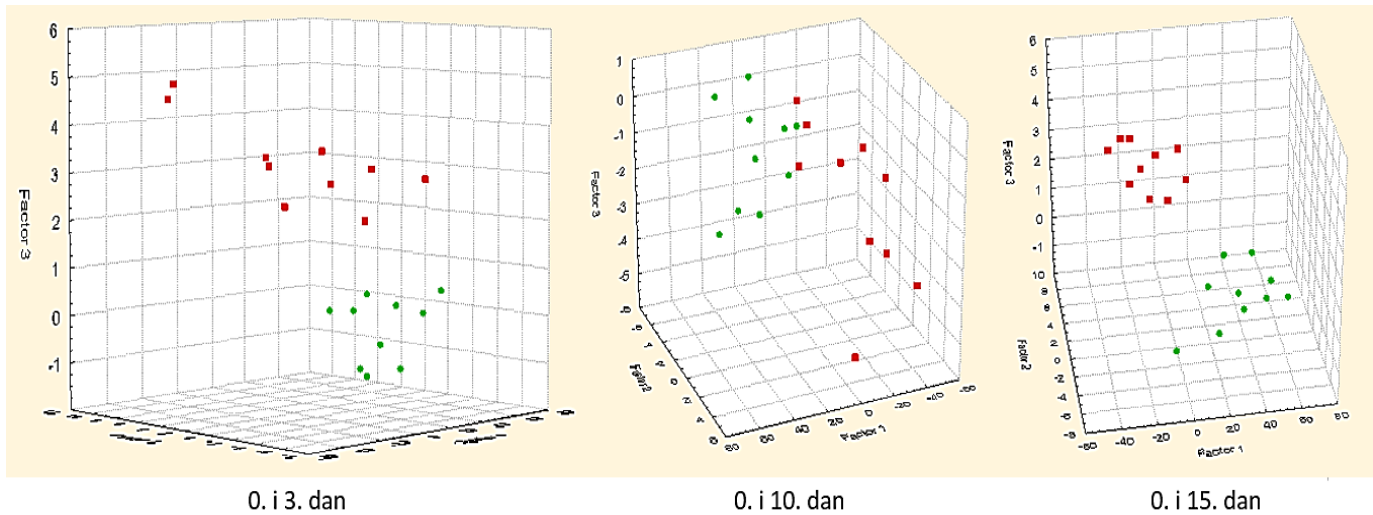
**Slika 19.** Grafički prikaz udjela invertnih šećera (°Brix) u bananama iz kontrolne grupe (plavo) i bananama s jestivim premazom (narančasto) tijekom skladištenja

#### 4.5.2. Rezultati mjerenja dobiveni primjenom NIR spektrofotometrije

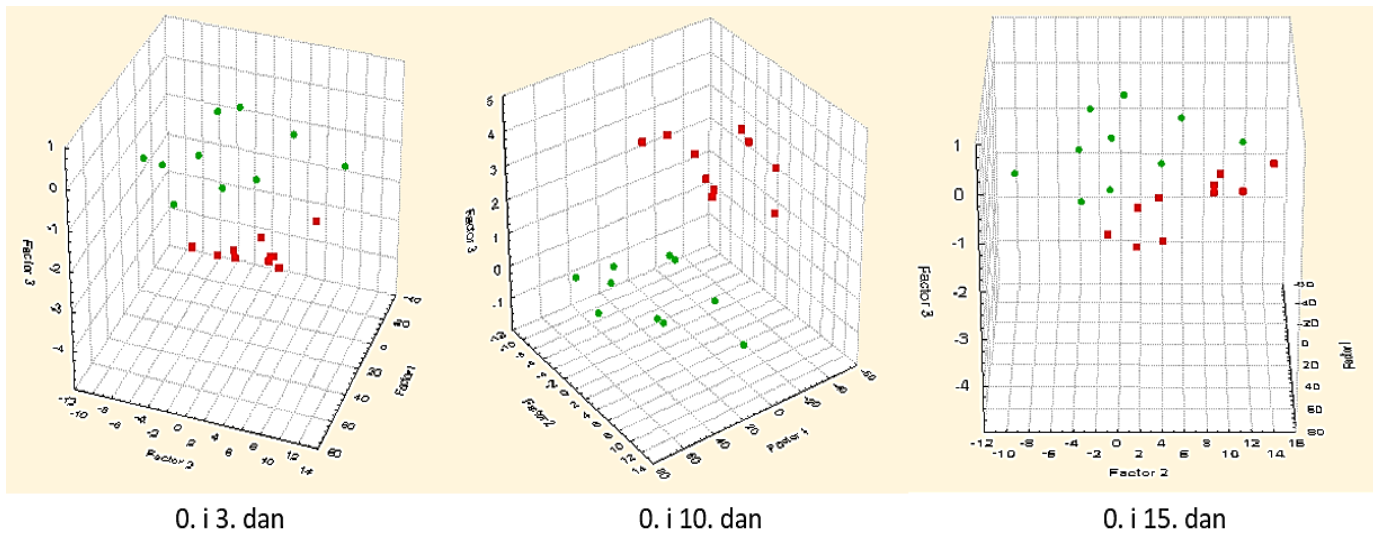
Na temelju podataka dobivenih iz spektara banana snimljenih na cijelom blisko-infracrvenom spektru (904 – 1699 nm) napravljena je analiza glavnih komponenata kako bi se vidjelo može li se pomoću ove metode dobiti značajno razdvajanje ovisno o udjelu invertnih

šećera prisutnih u bananama tijekom njihovog skladištenja. Slike 20 i 21 prikazuju grafički 3D prikaz PCA analize prva tri faktora koji predstavljaju 99 % varijabilnosti u podacima. 3D prikaz je korišten zbog toga jer kod 2D prikaza (najčešće prva dva faktora) može doći do preklapanja uzoraka pa na prvi pogled može izgledati da nije došlo do razdvajanja uzoraka.

a)

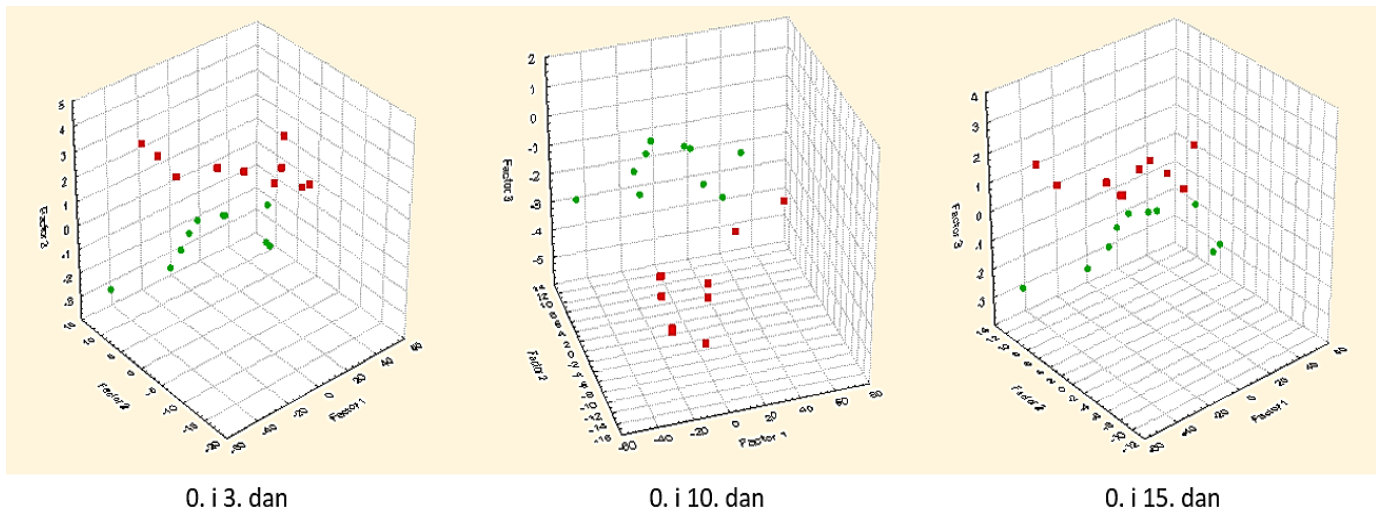


b)

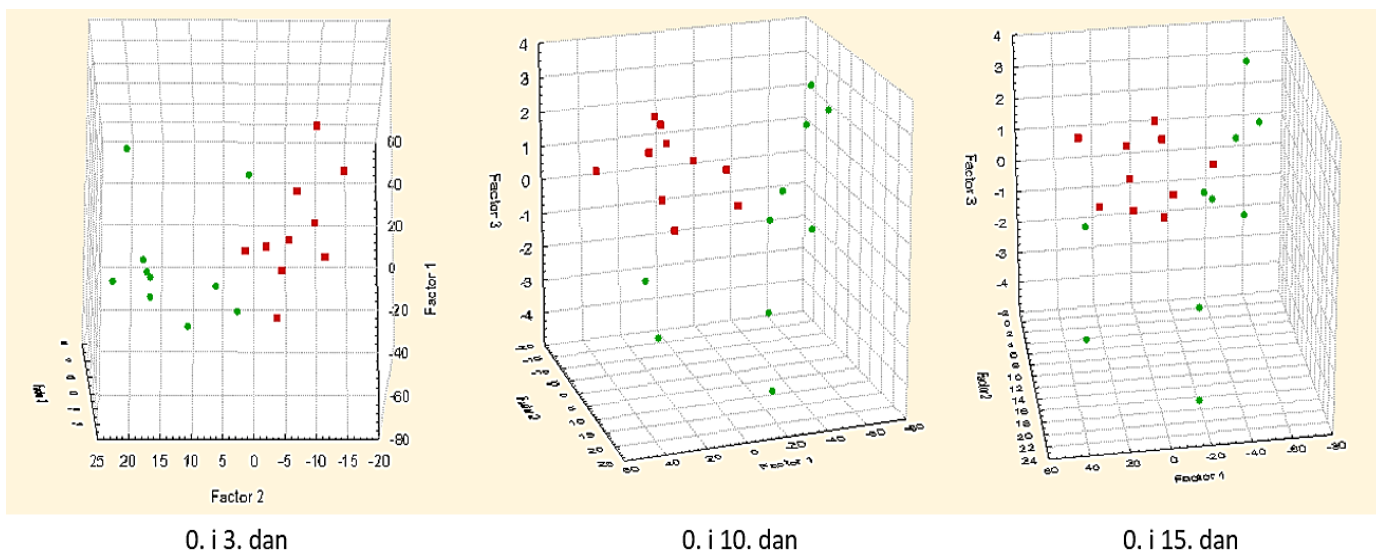


**Slika 20.** 3D prikaz prva tri faktora analize glavnih komponenta za paralelu 1 (a) i paralelu 2 (b) iz kontrolne grupe banana (zelenom bojom su prikazani podaci za nulti dan, a crvenom za treći, deseti i petnaesti dan)

a)



b)



**Slika 21.** 3D prikaz prva tri faktora analize glavnih komponenta za paralelu 1 (a) i paralelu 2 (b) grupe banana s jestivim premazom (zelenom bojom prikazani su podaci za nulti dan, a crvenom za treći, deseti i petnaesti dan)

Obzirom da je jedan od ciljeva PCA metode postići dobro grupiranje i razdvajanje kako bi se lakše prepoznale i interpretirale sličnosti, odnosno razlike među uzorcima, iz slika 20 i 21 možemo vidjeti da je to u našem slučaju uglavnom postignuto. Promatrajući 3D grafičke prikaze koji se odnose na banane iz kontrolne grupe (slika 20), možemo vidjeti grupiranje i razdvajanje uzoraka banana kod obje paralele pri čemu je najizraženije razdvajanje postignuto petnaesti dan skladištenja gdje se vidi jasno odvajanje uzoraka banana snimljenih nulti dan u odnosu na petnaesti dan. S druge strane, promatrajući 3D grafičke prikaze koji se odnose na

grupu banana s jestivim premazom od kitozana i proteina konoplje, može se uočiti slabije grupiranje i razdvajanje uzoraka tijekom skladištenja. Zbog jasnog grupiranja i razdvajanja uzoraka banana iz kontrolne grupe, možemo reći da postoji razlika u udjelu invertnih šećera tijekom njihovog skladištenja pri čemu je ona najizraženija između banana snimljenih nulti dan i banana snimljenih petnaesti dan. Ovaj podatak potvrđuje istraživanja drugih autora kao što su Hu i sur. (2022), Lustriane i sur. (2018) te Gol i Ramana Rao (2011) koji navode da tijekom skladištenja banana dolazi do povećanja udjela invertnih šećera zbog hidrolize škroba. Suprotno tome, kod obje paralele iz grupe banana s jestivim premazom od kitozana i proteina konoplje vidljivo je da nema jasno izraženog grupiranja podataka, pogotovo kod druge paralele, što upućuje na manje razlike u udjelu invertnih šećera kod ovih banana tijekom skladištenja. Ovi rezultati ukazuju na to da primjenom kitozana s proteinima konoplje, kao jestivog premaza na bananama, dolazi do inhibicije enzima odgovornih za hidrolizu škroba čime se udio invertnih šećera ne mijenja značajno tijekom skladištenja. Razlog tome je sposobnost kitozana koji, uz proteine konoplje, djeluje kao barijera za plinove pri čemu se unutar pakovine uspostavlja veći udio CO<sub>2</sub> i manji udio O<sub>2</sub> što vodi usporavanju zrenja.

Korištenjem modela umjetnih neuronskih mreža željelo se postići precizno predviđanje dviju izlaznih varijabli u odnosu na direktno izmjerene podatke. Prvih deset faktora dobivenih PCA metodom korišteno je kao ulazne varijable, a oni su se pokazali odgovornima za 99,9 % varijabilnosti u podacima. Ulazne varijable korištene su za predviđanje vrijednosti dviju izlaznih varijabli – udjela invertnih šećera i vlage. U tablicama 4 i 5 prikazane su četiri najbolje umjetne neuronske mreže koje su odabrane zbog toga jer imaju najveće koeficijente determinacije za učenje, testiranje i validaciju uz najmanje pogreške za ispitivane uzorke. Crvenom bojom u tablicama 4 i 5 označen je model umjetnih neuronskih mreža odabran na temelju najviših dobivenih vrijednosti koeficijenta determinacije za preciznost učenja, testiranja i validacije te najnižih vrijednosti pogrešaka, odnosno odabrani model se najviše slaže s eksperimentalnim podacima. Odabrana umjetna neuronska mreža za banane iz kontrolne

grupe sastoji se od 10 ulaza, 11 neurona u skrivenom sloju te 2 izlaza, a ona za banane s jestivim premazom od 10 ulaza, 13 neurona u skrivenom sloju te 2 izlaza.

**Tablica 4.** Karakteristike odabranih umjetnih neuronskih mreža razvijenih za predviđanje udjela invertnih šećera i vlage kod uzoraka banana iz kontrolne grupe

Karakteristike mreže	Preciznost učenja	Pogreška učenja	Preciznost testiranja	Pogreška testiranja	Preciznost validacije	Pogreška validacije	Skrivena aktivacijska funkcija	Izlazna aktivacijska funkcija
10 – 11 – 2	0,9047	0,0137	0,8843	0,0229	0,8370	0,0312	Eksponecijalna	Logistička
10 – 12 – 2	0,8926	0,0146	0,8639	0,0264	0,8012	0,0374	Tanh	Funkcija identiteta
10 – 9 – 2	0,8834	0,0160	0,8656	0,0257	0,7770	0,0413	Tanh	Eksponecijalna
10 – 10 – 2	0,9073	0,0127	0,8984	0,0179	0,8073	0,0388	Logistička	Funkcija identiteta

**Tablica 5.** Karakteristike odabranih umjetnih neuronskih mreža razvijenih za predviđanje udjela invertnih šećera i vlage kod uzoraka banana s jestivim premazom

Karakteristike mreže	Preciznost učenja	Pogreška učenja	Preciznost testiranja	Pogreška testiranja	Preciznost validacije	Pogreška validacije	Skrivena aktivacijska funkcija	Izlazna aktivacijska funkcija
10 – 11 – 2	0,8983	0,0158	0,8528	0,0297	0,8474	0,0330	Logistička	Funkcija identiteta
10 – 13 – 2	0,8898	0,0164	0,8652	0,0273	0,8574	0,0308	Logistička	Logistička
10 – 13 – 2	0,9103	0,0138	0,8594	0,0289	0,8592	0,0291	Logistička	Logistička
10 – 8 – 2	0,8980	0,0160	0,8568	0,0160	0,8407	0,0360	Tanh	Tanh

Iz tablice 4 je vidljivo da su vrijednosti koeficijenta determinacije za učenje, test i validaciju iznad 0,83 što odabranu umjetnu neuronsku mrežu čini dovoljno preciznom u predviđanju udjela invertnih šećera i vlage kod uzoraka banana iz kontrolne grupe, dok je iz tablice 5 vidljivo

da su te iste vrijednosti iznad 0,85 što odabranu mrežu čini još preciznijom. Također, drugi bitan faktor je da su pogreške učenja, testa i validacije vrlo male. Na temelju odabranih umjetnih neuronskih mreža za banane iz kontrolne grupe i banane s jestivim premazom, u tablicama 6 i 7 možemo vidjeti rezultate predviđanja pojedinačno za dvije izlazne varijable.

**Tablica 5.** Rezultati predviđanja dviju izlaznih varijabli na temelju odabranog modela umjetne neuronske mreže iz tablice 4

<b>Varijabla</b>	<b>Preciznost učenja</b>	<b>Preciznost testiranja</b>	<b>Preciznost validacije</b>
<b>Invertni šećeri</b>	0,9299	0,9320	0,9379
<b>Vlaga</b>	0,8794	0,8366	0,7360

**Tablica 7.** Rezultati predviđanja dviju izlaznih varijabli na temelju odabranog modela umjetne neuronske mreže iz tablice 5

<b>Varijabla</b>	<b>Preciznost učenja</b>	<b>Preciznost testiranja</b>	<b>Preciznost validacije</b>
<b>Invertni šećeri</b>	0,9106	0,9161	0,8925
<b>Vlaga</b>	0,9099	0,8027	0,8259

Iz dobivenih koeficijenata determinacije za obje predviđene varijable zasebno, možemo potvrditi uspješnost odabrane umjetne neuronske mreže kod obje grupe banana. Umjetna neuronska mreža koja se odnosi na banane iz kontrolne grupe pokazala se uspješnijom za predviđanje invertnih šećera s koeficijentom determinacije za učenje 0,9299, za test 0,9320 i za validaciju 0,9379 te manje uspješnom za predviđanje vlage gdje su dobiveni niži koeficijenti determinacije. Umjetna neuronska mreža koja se odnosi na banane s jestivim premazom također se pokazala uspješnijom za predviđanje invertnih šećera s koeficijentom determinacije za učenje 0,9106, za test 0,9161 i za validaciju 0,8925, no pokazala se uspješnijom za predviđanje vlage u odnosu na onu koja se odnosi na banane iz kontrolne grupe. Dobiveni podaci ukazuju na generalno dobro predviđanje invertnih šećera i vlage u bananama bez i s jestivim premazom.



## 5. ZAKLJUČCI

1. Banane s jestivim premazom od kitozana i proteina konoplje tijekom skladištenja od petnaest dana pri 25 °C i RH od 80 % imaju očuvaniji izgled kore u odnosu na banane bez jestivog premaza od kitozana i proteina konoplje.
2. Veći omjer pulpe i kore prije se postiže kod banana bez jestivog premaza od kitozana i proteina konoplje nego li kod banana s jestivim premazom od kitozana i proteina konoplje.
3. Veći gubitak na masi zabilježen je kod banana s jestivim premazom od kitozana i proteina konoplje sve do trinaestog dana skladištenja, a povećani udio vlage zabilježen je kod banana iz kontrolne grupe.
4.  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$  vrijednosti koje se odnose na boju veće su kod banana s jestivim premazom od kitozana i proteina konoplje u odnosu na one bez jestivog premaza od kitozana i proteina konoplje, a tijekom skladištenja rastu. Kolorimetrijska razlika se tijekom skladištenja povećava kod obje grupe banana, a veća je kod banana s jestivim premazom.
5.  $L^*$  vrijednost raste, kako kod banana s jestivim premazom od kitozana i proteina konoplje tako i kod banana bez jestivog premaza, a pada prije kod banana bez jestivog premaza.
6. Banane s jestivim premazom od kitozana i proteina konoplje imaju prisutan veći udio invertnih šećera izmjeren refraktometrom u odnosu na banane bez jestivog premaza, a porast udjela invertnih šećera tijekom skladištenja veći je kod banana bez jestivog premaza.
7. Na temelju podataka dobivenih iz spektara banana snimljenih na cijelom bliskoinfracrvenom spektru (904 – 1699 nm) napravljena je analiza glavnih komponenata koja pokazuje jasno grupiranje i razdvajanje uzoraka banana bez jestivog premaza od kitozana i proteina konoplje nulti i treći dan, nulti i deseti dan te nulti i petnaesti dan ovisno o udjelu invertnih šećera.
8. Korištenjem modela umjetnih neuronskih mreža željelo se postići precizno predviđanje dviju izlaznih varijabli u odnosu na direktno izmjerene podatke, pri čemu su dvije izlazne varijable udio invertnih šećera i vlaga. Umjetna neuronska mreža koja se odnosi na banane iz kontrolne grupe pokazala se uspješnijom za predviđanje invertnih šećera s koeficijentom determinacije za učenje 0,929943, za test 0,932019 i za validaciju 0,937862 te manje uspješnom za predviđanje vlage gdje su dobiveni niži koeficijenti determinacije. Umjetna neuronska mreža koja se odnosi na banane s jestivim premazom također se pokazala uspješnijom za predviđanje invertnih šećera s koeficijentom determinacije za učenje 0,910560, za test 0,916143 i za validaciju 0,892515, no pokazala se i boljom za predviđanje vlage u odnosu na onu koja se odnosi na banane iz kontrolne grupe.

## 6. LITERATURA

1. Abugoch L, Tapia C, Plasencia D, Pastor A, Castro-Mandujano O, López L i sur. (2015) Shelf-life of fresh blueberries coated with quinoa protein/chitosan/sunflower oil edible film. *J Sci Food Agric* **96**, 619 – 626. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7132>
2. Adiletta G, Di Matteo M, Petriccione M (2021) Multifunctional Role of Chitosan Edible Coatings on Antioxidant Systems in Fruit Crops: A Review. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 26 – 33. <https://doi.org/10.3390/ijms22052633>
3. Agullo E, Rodriguez MS, Ramos V, Albertengo L (2003) Present and Future Role of Chitin and Chitosan in Food. *MacromoL Biosci* **3**, 521 – 530.
4. Al-Dairi M, Pathare PB, Al-Yahyai R, Al-Mahdouri A (2023) Effect on Physiological Properties of banana fruit based on pendulum impact test and storage. *Current Research in Food Science* (2023), <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100640>
5. Aranaz I, Alcántara AR, Civera MC, Arias C, Elorza B, Caballero AH, i sur. (2021) Chitosan: An Overview of Its Properties and Applications. *Polymers* **13**, 32 – 56. <https://doi.org/10.3390/polym13193256>
6. Avena – Bustillos RJ, McHugh TH (2012) Role of edible film and coating additives. U: Baldwin EA, Hagenmaier RD, Bai J (ured.) *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, 2. izd., Taylor & Francis Group, Boca Raton, str. 157 – 185.
7. Bai J, Plotto A (2012) Coatings for fresh fruits and vegetables. U: Baldwin EA, Hagenmaier RD, Bai J (ured.) *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, 2. izd., Taylor & Francis Group, Boca Raton, str. 185 – 243.
8. Baldwin EA, Hagenmaier RD (2012) Introduction. U: Baldwin EA, Hagenmaier RD, Bai J (ured.) *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, 2. izd., Taylor & Francis Group, Boca Raton, str. 1 – 13.
9. Bionda H (2021) Priprema jestivog biofilma od kitozana i gume arabike s dodatkom ekstrakta sjemenki grožđa (diplomski rad), Prehrambeno – biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
10. Burton RA, Andres M, Cole M, Cowley JM, Augustin MA (2022) Industrial hemp seed: from the field to value-added food ingredients. *J Cannabis Res* **4**, 45. <https://doi.org/10.1186/s42238-022-00156-7>
11. Chien P, Sheu F, Yang F (2005) Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *J Food Eng* **78**, 225 – 229. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.09.022>
12. Díaz-Montes E, Castro-Muñoz R (2021) Trends in Chitosan as a Primary Biopolymer for Functional Films and Coatings Manufacture for Food and Natural Products. *Polymers* **13**, 767. <https://doi.org/10.3390/polym13050767>.
13. Dutta J, Tripathi S, Dutta PK (2011) Progress in antimicrobial activities of chitin, chitosan and its oligosaccharides: a systematic study needs for food applications. *Food Sci Technol Int* **18**, 3.
14. EEA (2023) Plastika je sve veći ekološki i klimatski problem: kako Europa može promijeniti taj trend? EEA – European Environment Agency, <https://www.eea.europa.eu/highlights/plastika-je-sve-veci-ekoloski>. Pristupljeno 15. lipnja 2023.
15. Elgadir MA, Mariod AA (2023) Gelatin and Chitosan as Meat By-Products and Their Recent Applications. *Foods* **12**, 60. <https://doi.org/10.3390/foods12010060>.

16. FAO (2020) Fruit consumption by fruit type, World, 1961 to 2020. FAO – Food and Agriculture Organization. [Fruit consumption by fruit type, World, 1961 to 2020 \(ourworldindata.org\)](https://ourworldindata.org). Pristupljeno 26. srpnja 2023.
17. Galić K (2009) Jestiva ambalaža u prehrambenoj industriji (stručni rad), Prehrambeno – biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
18. Gol NB, Patel PR, Ramana Rao TV (2013) Improvement of quality and shelf-life of strawberries with edible coatings enriched with chitosan. *Postharvest Biol Technol* **85**, 185 – 195. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.06.008>
19. Gol NB, Ramana Rao TV (2011) Banana Fruit Ripening as Influenced by Edible Coatings. *Int J Fruit Sci* **11**, 119 – 135. <https://doi.org/10.1080/15538362.2011.578512>
20. Gontard N, Guillaume C (2010) Packaging and the Shelf Life of Fruits and Vegetables. U: Robertson GL (ured.) *Food Packaging and Shelf Life: a Practical Guide*, Taylor & Francis Group, Boca Raton, str. 297 – 317.
21. Grigić E (2014) Svjetlostabilnost reprodukcije boja pri različitim vrstama podloge za ispis fotografija (završni rad), Grafički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
22. Grinspoon P (2021) Cannabidiol (CBD): What we know and what we don't. <https://www.health.harvard.edu/blog/cannabidiol-cbd-what-we-know-and-what-we-dont-2018082414476>. Pristupljeno 26. lipnja 2023.
23. Kader AA (1996) Banana: Recommendations for Maintaining Postharvest Quality.
24. Huang YL, Wang DM (2023) Characterization of Composite Film of Gelatin and Squid Pen Chitosan Obtained by High Hydrostatic Pressure. *Polymers* **15**, 1608. <https://doi.org/10.3390/polym15071608>
25. Hu D, Liu X, Qin Y, Yan J, Li J, Yang Q (2022) A novel edible packaging film based on chitosan incorporated with persimmon peel extract for the postharvest preservation of banana. *Food Qual Saf* **6**, 1 – 13. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyac028>
26. Ke CL, Deng FS, Chuang CY, Lin CH (2021) Antimicrobial Actions and Applications of Chitosan. *Polymers* **13**, 904 <https://doi.org/10.3390/polym13060904>
27. Kumarihami HMPC, Kim Y, Kwack Y, Kim J, Kim JG (2022) Application of chitosan as edible coating to enhance storability and fruit quality of Kiwifruit: A Review. *Sci Hort* **292**, 647. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110647>
28. Kumari M, Mahajan H, Joshi R, Gupta M (2017) Development and structural characterization of edible films for improving fruit quality. *Food Packag Shelf Life* **12**, 42 – 50. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.02.003>
29. Kumar N, P, N, Petkoska AT, AL-Hilifi SA, Fawole OA (2021) Effect of Chitosan–Pullulan Composite Edible Coating Functionalized with Pomegranate Peel Extract on the Shelf Life of Mango (*Mangifera indica*). *Coatings* **11**, 764. <https://doi.org/10.3390/coatings11070764>
30. Ly BCK, Dyer EB, Feig JL, Chien AL, Del Bino S (2019) Research techniques made simple: Cutaneous colorimetry: A reliable technique for objective skin color measurement. *J Invest Dermatol* **140**, 3 – 12. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2019.11.003>
31. Lustriane C, Dwivany FM, Suendo V, Reza M (2018) Effect of chitosan and chitosan-nanoparticles on post harvest quality of banana fruits. *J Plant Biotechnol* **45**, 36 – 44. <https://doi.org/10.5010/JPB.2018.45.1.036>
32. Mamone G, Picariello G, Ramondo A, Nicolai MA, Ferranti P (2019) Production, digestibility and allergenicity of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolates. *Food Res Int* **115**, 562 – 571. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.017>
33. Martinac A, Filipović – Grčić J (2002) Kitozan - biopolimer 21. stoljeća. *Farm Glas* **58**, 1 – 10.
34. Motelica L, Fikai D, Fikai A, Oprea OC, Kaya DA, Andronescu E (2020) Biodegradable Antimicrobial Food Packaging: Trends and Perspectives. *Foods* **9**, 14 – 38.

35. Muley AB, Singhal RS (2020) Extension of postharvest shelf life of strawberries (*Fragaria ananassa*) using a coating of chitosan-whey protein isolate conjugate. *Food Chem* **329**, 127 – 213. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127213>
36. Muñoz – Tebar N, Pérez – Álvarez JA, Fernández – López J, Viuda – Martos M (2023) Chitosan Edible Films and Coatings with Added Bioactive Compounds: Antibacterial and Antioxidant Properties and Their Application to Food Products: A Review. *Polymers* **15**, 396. <https://doi.org/10.3390/polym15020396>
37. Perak S (2018) Deacetilacija kitozana i karakterizacija produkta deacetilacije (završni rad), Odjel za kemiju, Sveučilište Josipa Juraja Strossmayera u Osijeku, Osijek.
38. Philibert T, Lee BH, Fabien N (2017) Current Status and New Perspectives on Chitin and Chitosan as Functional Biopolymers. *Appl Biochem Biotechnol* **181**, 1314 – 1337.
39. Poldan P (2022) Razvoj i karakterizacija jestivih filmova od kitozana, želatine i galne kiseline (diplomski rad), Prehrambeno – biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
40. Pravilnik (2010) Pravilnik o prehrambenim aditivima. Narodne novine 62, Zagreb. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010\\_05\\_62\\_1981.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010_05_62_1981.html) Pristupljeno 15. srpnja 2023.
41. Radman M (2018) Primjena NIR spektroskopije u detekciji glutena kao kontaminanta hrane (diplomski rad), Prehrambeno – biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
42. Robertson GL (2013) *Food Packaging Principles and Practice*, 3. izd., Taylor & Francis Group, Boca Raton, str. 49 – 86.
43. Sánchez C, Cebola Lidon F, Vivas M, Ramos P, Santos M, Barreiro MG (2015) Effect of chitosan coating on quality and nutritional value of fresh-cut ‘Rocha’ pear. *Emir J Food Agric* **27**, 206 – 214. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v27i2.19288>
44. Schilling S, Melzer R, McCabe PF (2020) Quick guide: *Cannabis sativa*. *Curr. Biol.* **30**, 1 – 9.
45. Shahidi F, Arachchi JKV, Jeon Y (1999) Food applications of chitin and chitosans. *Trends Food Sci* **10**, 37 – 51.
46. Shen P, Gao Z, Fang B, Rao J, Chen R (2021) Ferreting out the secrets of industrial hemp protein as emerging functional food ingredients. *Trends Food Sci. Technol.* **112**, 1 – 15. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.022>
47. Shiekh RA, Malik MA, Al-Thabaiti SA, Shiekh MA (2013) Chitosan as a Novel Edible Coating for Fresh Fruits. *Food Sci Technol Res* **19**, 139 – 155.
48. Skef L (2021) Mogućnost primjene NIR spektroskopije za kontrolu kvalitete tableta s acetilsalicilnom kiselinom kao aktivnom tvari (završni rad). Prehrambeno – biotehnoški fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.
49. Soliva – Fortuny R, Rojas – Graü MA, Martín – Belloso O (2012) Polysaccharide coatings. U: Baldwin EA, Hagenmaier RD, Bai J (ured.) *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, 2. izd., Taylor & Francis Group, Boca Raton, str. 104 – 127.
50. Suseno N, Savitria E, Sapeia L, Padmawijayaa KS (2014) Improving shelf-life of Cavendish Banana Using Chitosan Edible Coating. *Procedia Chem* **9**, 113 – 120. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2014.05.014>
51. Synowiecki J, Al-Khateeb NA (2010) Production, Properties, and Some New Applications of Chitin and Its Derivatives. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **43**, 145 – 171. <http://dx.doi.org/10.1080/10408690390826473>.
52. UN (2022) World Population Prospects 2022. UN – Ujedinjeni Narodi, <https://population.un.org/wpp/Graphs/DemographicProfiles/Line/900>. Pristupljeno 14. srpnja 2023.

53. Van den Broek LAM, Knoop RJI, Kappen FHJ, Boeriu CG (2015) Chitosan films and blends for packaging material. *Carbohydr Polym* **116**, 237 – 242. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.039>.
54. Zhanga L, Chena F, Laia S, Wanga H, Yangc H (2018) Impact of soybean protein isolate-chitosan edible coating on the softening of apricot fruit during storage. *Food Sci Technol* **96**, 604 – 611. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.06.011>
55. Zhao Y, Li B, Li C, Xu Y, Luo Y, Liang D i sur. (2021) Comprehensive Review of Polysaccharide – Based Materials in Edible Packaging: A Sustainable Approach. *Foods* **10**, 18 – 45. <https://doi.org/10.3390/foods10081845>

## IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja LUCIJA JANČEC 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.

---

Lucija Jančec