

Fizikalno-kemijska svojstva filmova od pektina i kitozana uz dodatak limonena te njihov utjecaj na svojstva mandarina (lat. Citrus reticulata) tijekom skladištenja

Šagud, Dora

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:159:715910>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-13**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, prosinac 2023.

Dora Šagud

**FIZIKALNO-KEMIJSKA
SVOJSTVA FILMOVA OD
PEKTINA I KITOZANA UZ
DODATAK LIMONENA TE
NJIHOV UTJECAJ NA SVOJSTVA
MANDARINA (lat. *Citrus reticulata*)
TIJEKOM SKLADIŠTENJA**

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

Želim iskoristiti ovu priliku da se od srca zahvalim svojim roditeljima, zaručniku i bliskim prijateljima na nevjerojatnoj podršci koju ste mi pružili tijekom mog školovanja i izrade diplomskog rada. Bez vas, moj put do ovog trenutka ne bi bio moguć.

Vaša nesebična podrška i vjera u mene bili su moj najveći motivacijski faktor. Hvala vam što ste me poticali da idem naprijed i ostvarim svoje akademske ciljeve.

Posebno hvala mentorici, izv. prof. dr. sc. Miji Kurek. Hvala Vam što ste me usmjeravali i poticali da stvorim kvalitetan diplomski rad. Vaša podrška i ohrabrenje su mi bili neizmjereno važni tijekom cijelog procesa.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

FIZIKALNO-KEMIJSKA SVOJSTVA FILMOVA OD PEKTINA I KITOZANA UZ DODATAK
LIMONENA TE NJIHOV UTJECAJ NA SVOJSTVA MANDARINA (lat. *Citrus reticulata*) TIJEKOM
SKLADIŠTENJA

Dora Šagud, univ. bacc. ing. techn. aliment.
0058212540

Sažetak:

Jestivi filmovi i prevlake za pakiranje hrane predstavljaju inovativna rješenja za produljenje trajnosti proizvoda. U ovom radu pripremljeni su filmovi od kitozana i pektina uz dodatak limonena. Samostojeći filmovi su pripremljeni kako bi im se ispitala neka fizikalno-kemijska svojstva. Iste formulacije korištene su za izradu prevlaka, nanosenih na mandarine, kako bi se utvrdio utjecaj na skladištenje. Od fizikalno-kemijskih svojstava filmova određena su debljina, topljivost filmova u vodi, kapacitet bubrenja, boja, transparentnost te propusnost na plinove i vodenu paru. Kod primjene na mandarinama ispitana su svojstva promjene mase, boje i respiracije tijekom 4 tjedna skladištenja. Limonen je pokazao utjecaj na povećanje debljine, bubrenja, propusnosti na vodenu paru kao i promjenu boje filmova, te je utjecao na smanjenje propusnosti CO₂. Najbolje rezultate respiracije pokazali su plodovi mandarine na koje je nanosena prevlaka od kitozana, dok su mandarine na koje je nanosen pektin imali bolji izgled nakon 4 tjedna skladištenja.

Ključne riječi: *jestive prevlake, jestivi filmovi, kitozan, pektin, mandarina, skladištenje*

Rad sadrži: 47 stranica, 17 slika, 7 tablica, 60 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. Mia Kurek

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. izv. prof. dr. sc. Mario Ščetar (predsjednik)
2. izv. prof. dr. sc. Mia Kurek (mentor)
3. izv. prof. dr. sc. Ivona Elez Garofulić (član)
4. izv. prof. dr. sc. Antonela Ninčević Grassino (zamjenski član)

Datum obrane: 21. prosinca 2023.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

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

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology

Graduate university study program: Food Engineering

PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF PECTIN AND CHITOSAN FILMS WITH THE ADDITION OF LIMONEN AND THEIR INFLUENCE ON PROPERTIES OF MANDARINS (lat. *Citrus reticulata*) DURING STORAGE

Dora Šagud, univ. bacc. ing. techn. aliment.
0058212540

Abstract:

Edible films and coatings for food packaging are innovative solutions for extending the shelf life of products. In this graduate thesis, chitosan and pectin films were prepared with the addition of limonene. Self-standing films were produced in order to study their physico-chemical properties. Same formulations were used for coatings, applied to mandarins, in order to study their influence on mandarin storage. Following physico-chemical properties were tested: thickness, solubility in water, swelling ratio, colour, and gas and water vapor permeability. When applied to mandarins weight, colour and respiration during 4 weeks of storage were tested. Limonen showed an effect on increasing the thickness, swelling ratio, water vapor permeability, and its presence changed the film colour and had an effect on the reduction of CO₂ permeability. The best respiration results were shown by mandarin fruits coated with chitosan, while mandarins coated with pectin had a better appearance after 4 weeks of storage.

Keywords: *edible coatings, edible films, chitosan, pectin, mandarin, storage*

Thesis contains: 47 pages, 17 figures, 7 tables, 60 references

Original in: Croatian

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

Mentor: Mia, Kurek, PhD, Associate professor

Reviewers:

1. Mario Ščetar, PhD, Associate professor (president)
2. Mia Kurek, PhD, Associate professor
3. Ivona Elez Garofulić, PhD, Associate professor (member)
4. Antonela Ninčević Grassino, PhD, Associate professor (substitute)

Thesis defended: December 21st, 2023.

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. PAKIRANJE HRANE	3
2.2. SVJEŽE UBRANO VOĆE I MINIMALNO PROCESIRANO VOĆE	5
2.2.1. Mandarine.....	6
2.3. PRIMJENA JESTIVIH PREVLAKA U PAKIRANJU SVJEŽEG VOĆA.....	7
2.3.1. Pektin.....	10
2.3.2. Kitozan	10
2.3.3. Limonen.....	12
2.4. ZAKONSKA REGULATIVA	13
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	15
3.1. MATERIJALI.....	15
3.2. PRIPREMA FILMOVA	15
3.3. ODREĐIVANJE SVOJSTAVA FILMOVA.....	15
3.3.1. Određivanje debljine	15
3.3.2. Udio vode i suhe tvari	16
3.3.3. Bubrenje i topljivost	16
3.3.4. Određivanje propusnosti na plinove.....	17
3.3.5. Određivanje propusnosti na vodenu paru	17
3.3.6. Određivanje boje filmova.....	19
3.3.7. Transparentnost	20
3.4. Priprema proizvoda.....	20
3.5. Određivanje svojstava proizvoda	21
3.5.1. Određivanje mase proizvoda	21
3.5.2. Određivanje respiracije proizvoda.....	21
3.5.3. Određivanje boje proizvoda	22
3.6. Obrada podataka.....	22
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	23
4.1. UDIO VODE, SUHE TVARI, TRANSPARETNOST I BUBRENJE.....	24
4.1.1. Debljina, udio vode i suhe tvari.....	24
4.1.2. Topljivost i bubrenje	24
4.2. PARAMETRI BOJE I TRANSPARETNOST FILMOVA	26
4.3. PROPUSNOST NA PLINOVE	29
4.4. PROPUSNOST NA VODENU PARU	30
4.5. ISPITIVANJA PROVEDENA NA PROIZVODU	32

4.5.1. Respiracija	32
4.5.2. Promjena boje.....	36
5. ZAKLJUČCI.....	42
6. LITERATURA	43

1. UVOD

U današnjem društvu, primjećuje se sve veći naglasak na ekološkoj osviještenosti i potrebi za ekološki prihvatljivim proizvodima. To je značajno utjecalo na prehrambenu industriju, posebno na područje pakiranja hrane. Pakiranje hrane ima ključnu ulogu u zaštiti proizvoda od vanjskih čimbenika i osigurava njihovu svježinu i sigurnost. Znanstvenici u području ekologije sve se više susreću s novijim rezultatima istraživanja koja pokazuju izrazito negativne učinke jednokratne plastike na okoliš. Kako raste količina znanstvenih dokaza koji pokazuju negativne učinke, raste i svijest potrošača o neželjenim utjecajima na okoliš, te samim time, negativan utjecaj plastike na ljudsko zdravlje. Iako se prema Europskoj regulativi donose zakoni koji ograničavaju korištenje plastike, posebice one namijenjene za jednokratnu upotrebu, u praksi se i dalje susrećemo s velikom količinom plastike koju koristimo u svakodnevnom životu.

Jedan od zanimljivih pristupa u istraživanju pakiranja hrane je korištenje jestive i ekološki prihvatljive ambalaže kao alternativa konvencionalnoj plastici. Jestivi filmovi mogu se proizvoditi od različitih sastojaka, a najčešće se koriste i istražuju oni koji se mogu dobiti kao nusprodukt prehrambene industrije ili mogu biti sintetizirani iz istih. Jestivi filmovi najčešće su sastavljeni od više komponenti kako bi pružili što bolja mehanička i barijerna svojstva. Pokazali su različite prednosti u oblicima aktivnog pakiranja poput ugradnje pojedinih aktivnih komponenti u prehrambeni proizvod povećavajući nutritivnu vrijednost proizvoda (Kocira i sur., 2021), zatim utjecaj na trajnost i izgled proizvoda te antimikrobna, protuupalna i antikancerogena svojstva, ovisno o komponentama od kojih se proizvode (Eddin i sur., 2021). No, prehrambena industrija susreće se i s brojim izazovima u aspektu proizvodnje jestivih filmova kao što su prihvaćanje takvog oblika pakiranja od strane potrošača te neusporediva mehanička zaštita uobičajenih oblika pakiranja hrane u odnosu na jestive filmove. Unatoč svim izazovima, istraživači i industrija pakiranja hrane nastavljaju tražiti inovativne načine za stvaranje sigurnog, održivog okoliša bez onečišćenja za sadašnje i buduće generacije.

U ovom diplomskom radu istražen je oblik aktivnog pakiranja u obliku filmova proizvedenih od kitozana ili pektina uz dodatak antioksidansa limonena, koji je i prirodno prisutan u kori agruma, te karakterizacija proizvedenih filmova. Također, ispitana su neka svojstva mandarina, te na koji način proizvedeni filmovi utječu na izgled i trajnost tog proizvoda.

Ciljevi ovog rada bili su:

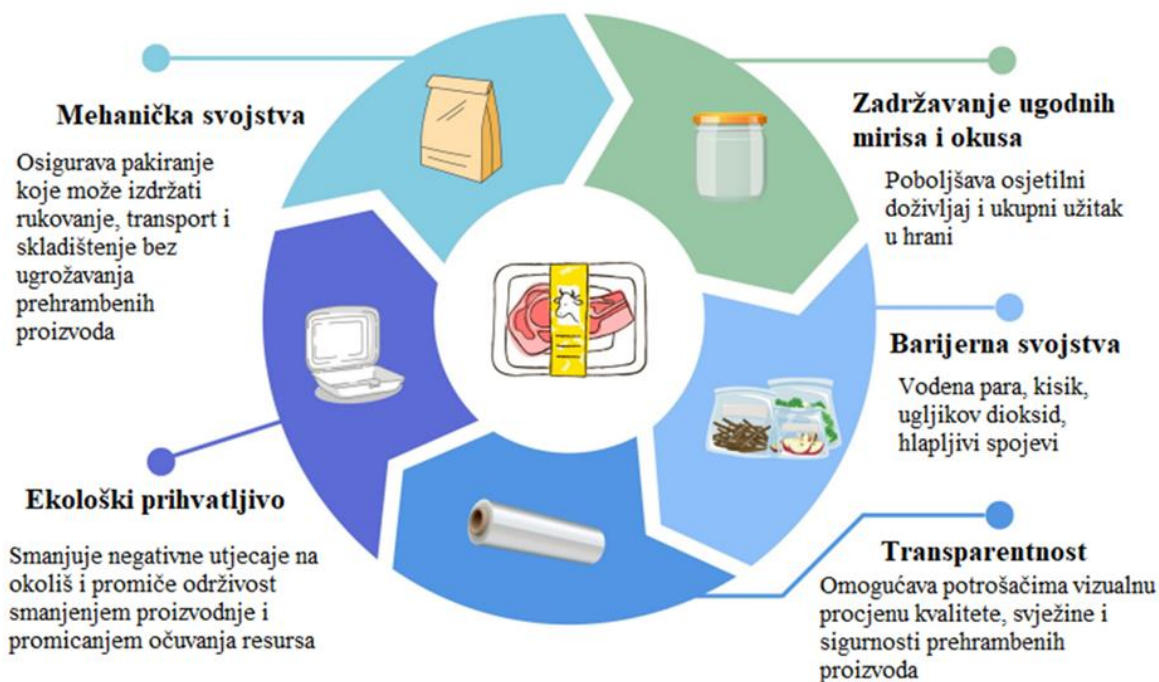
- pripremiti jestive filmove na bazi kitozana i pektina uz dodatak limonena kao novu vrstu aktivnog pakiranja
- odrediti optička, fizikalno-kemijska i barijerna svojstva pripremljenih filmova
- istražiti utjecaj formulacija nanesenih kao prevlake na mandarine na masu, boju i respiraciju proizvoda tijekom skladištenja.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. PAKIRANJE HRANE

U novije vrijeme, sve je veći naglasak na ekološkoj osviještenosti stanovništva te težnji za korištenjem proizvoda koji se smatraju ekološki prihvatljivim (proizvodi koji minimiziraju negativne učinke na okoliš) i sigurni su za ljudsku upotrebu. Spomenuto mišljenje značajno je zahvatilo prehrambenu industriju, pa tako i pakiranje hrane.

Ambalaža se često još uvijek smatra samo teretom za okoliš i otpadom koji puni naša odlagališta. Trebali bismo gledati dalje od ove, donekle pogrešne, pretpostavke i podsjetiti se na glavnu zadaću pakiranja (Grönman i sur., 2013). Pakiranje hrane je esencijalno za zaštitu hrane od vanjskih utjecaja, kao što su temperatura, vlaga i svjetlost, osiguravajući kvalitetu, svježinu i sigurnost unutar roka trajanja kontroliranjem izmjene plinova i vlage s atmosferskim zrakom (Rodríguez-Rojas i sur., 2019). Osnovne karakteristike koje bi pakiranje trebalo pružiti hrani navedene su na slici 1. Korištenje odgovarajućih materijala za pakiranje i metoda za smanjenje gubitaka hrane i osiguravanje sigurnih i zdravih prehrambenih proizvoda oduvijek je bilo u fokusu pakiranja hrane. Osim toga, tijekom posljednjeg desetljeća, sve su značajniji potrošački trendovi za kvalitetnijom, svježom i praktičnom hranom i proizvodima (Ozdemir i Floros, 2004).



Slika 1. Prikaz osnovnih karakteristika pakiranja hrane (prema González-López i sur., 2023)

Odgovarajućom kombinacijom strukturnog dizajna i odabira materijala, pakiranje hrane mora osigurati povoljno okruženje unutar pakiranja i očuvati prehrambene proizvode održavanjem optimalne unutarnje atmosfere, kao i učinkovitost protiv vanjskih štetnih utjecaja (Srinivasa i Tharanathan, 2007).

Razvijanje ekološki prihvatljivog pakiranja hrane pristup je pakiranju koji se temelji na smanjenju negativnih utjecaja na okoliš tijekom cijelog ciklusa pakiranja, uključujući proizvodnju, distribuciju, upotrebu i odlaganje. Ovaj pristup postaje sve važniji kako se svijest o očuvanju okoliša povećava i kako raste zabrinutost zbog povećanja količine otpada i zagađenja.

Proučavaju se primjene jestive i ekološki prihvatljive ambalaže kao alternativa konvencionalnoj/sintetičkoj ambalaži zbog velikog interesa potrošača za zdravom, sigurnom i prirodnom hranom, a također i interesom istraživača za zadovoljavanjem potreba potrošača i proizvođača. Razni biopolimeri opsežno se istražuju kao potencijalni materijali za pakiranje hrane (Stefănescu i sur., 2022). Očito je da su biorazgradivi "konkurenti" skuplji i da njihova proizvodnja zahtijeva napredne tehnološke procese, ali je korist za prirodu i budući održivi okoliš važnija. Komponente koje su biorazgradive trebale bi biti iz obnovljivih prirodnih izvora koji su dostupni i jeftini (Aleksanyan, 2023).

Danas je prisutnost mikroplastike u hrani izuzetno zabrinjavajuća. Prema dosadašnjem stalnom rastu u korištenju plastike, smatra se da će do 2050. godine svjetska potrošnja plastike dostići 500 milijuna tona, zajedno s predmetima za jednokratnu upotrebu, koji čine većinu ove potrošnje. Ulažu se i značajni naponi u reklamiranju hrane pakirane u recikliranu plastiku, no to je i dalje izuzetno izazovno, posebice za proizvode koji služe kao primarno pakiranje zbog toga što dolaze u direktan kontakt s hranom. Kontaminanti koji se nalaze u recikliranoj plastici moraju se strogo kontrolirati kako bi se osigurala sigurnost hrane, što iziskuje značajne troškove i uloženo vrijeme (González-López i sur., 2023). Recikliranje može pružiti samo djelomično rješenje za dugoročno smanjenje plastike. Tijekom recikliranja, materijal gubi neka svojstva poput izgleda, kemijske otpornosti, mogućnosti ponovne obrade i mehaničkih karakteristika (Srinivasa i Tharanathan, 2007).

U posljednjih desetak godina objavljen je veliki broj znanstvenih radova koji se bave istraživanjem različitih biopolimera, te na koji način biopolimeri utječu na sigurnost, trajnost, izgled i druge komponente hrane (González-López i sur., 2023). Glavni smjer pakiranja hrane je očuvanje kvalitete i izgleda proizvoda, a to se može postići smanjenjem oksidacije lipida, inhibicijom rasta mikroba, a time i produljenjem roka trajanja prehrambenih proizvoda (Stefănescu i sur., 2022).

S obzirom na objavljene rezultate spomenutih istraživanja u svrhu razvoja jestive ambalaže, može se zaključiti da postoji veliki potencijal za razvoj nove formulacije za stvaranje sigurnog, održivog okoliša bez onečišćenja za sadašnje i buduće generacije (Aleksanyan, 2023).

2.2. SVJEŽE UBRANO VOĆE I MINIMALNO PROCESIRANO VOĆE

Jedan od najvećih zadataka prehrambene industrije je omogućiti potrošačima svježe ubrano i dostupno voće na tržištu. Svijest o zdravoj prehrani i minimalno procesiranoj hrani koja će imati što bogatiji nutritivni sastav sve je izraženija, pa tako i proizvođači voća pokušavaju naći način kako s minimalnom obradom ostvariti maksimalnu nutritivnu vrijednost i ponuditi potrošačima zdravu i nutritivno visoko vrijednu namirnicu.

Minimalno procesirano voće je svježe voće koje je prošlo kroz minimalni proces obrade, kako bi se sačuvala njegova svježina i nutritivna vrijednost, ali i omogućilo jednostavnije korištenje i konzumiranje. Pojam „minimalno procesirano” odnosi se na upotrebu jedne ili više metode, tehnike ili postupaka za pretvaranje hrane biljnog podrijetla u hranu spremnu za konzumaciju ili proizvod spreman za kuhanje s produljenim rokom trajanja uz održavanje iste nutritivne i organoleptičke kvalitete svježeg povrća ili voća (Finger i sur., 2023).

Voće i povrće ključni su u ljudskoj prehrani zbog svoje prehrambene vrijednosti. Bogat su izvor vitamina, esencijalnih minerala, antioksidansa, bioflavonoida i dijetalnih vlakana. Svo voće je lako pokvarljiv proizvod kojem su potrebne optimalne tehnologije nakon berbe kako bi se omogućilo što duže skladištenje i produljio rok trajanja (Kocira i sur., 2021). Kratak rok trajanja, zbog visokog sadržaja vlage koji je između 75 % i 95 % (Mitelut i sur., 2021) uzrokuje njihovu brzu degradaciju.

Voće je podijeljeno u dvije skupine prema mehanizmima koji u osnovi sadrže njihov proces zrenja. Dijeli se na klimakterijsko i neklimakterijsko voće. Dok voće koje pripada drugoj kategoriji ne nastavlja proces zrenja nakon berbe, oni iz prve kategorije mogu dozrijevati i nakon berbe, te proizvode više etilena od neklimakterijskog voća, pa su osjetljiviji na kvarenje uzrokovano mikroorganizmima. Iz tog razloga, odgovarajuće pakiranje i nove tehnologije su više nego potrebne za produljenje roka trajanja ovih prehrambenih proizvoda (Mitelut i sur., 2021).

Tijekom skladištenja, hrana je podvrgnuta procesu degradacije kvalitete. Posljednjih godina tehnologije obrade hrane, poput ultra visokog tlaka (engl. *Ultra High Pressure*, UHP), pakiranje u modificiranoj atmosferi (engl. *Modified Atmosphere Packaging*, MAP), aktivno pakiranje i drugi, razvijeni su s ciljem doprinosa produljenju očuvanja hrane, produljenju roka trajanja i, posljedično, smanjenju otpada hrane (Mitelut i sur., 2021).

Veliki broj istraživanja jestivih filmova proveden je upravo na raznolikom voću i povrću, najvjerojatnije zbog toga što voće i povrće simbolizira zdravu prehranu kod potrošača i najveća su očekivanja da će upravo voće i povrće biti pakirano na ekološki prihvatljiv način. Također, komponente koje su sastavni dijelovi filmova često su proizvedeni upravo od prirodnih sastojaka voća.

2.2.1. Mandarine

Mandarina (lat. *Citrus reticulata*) je biljka iz obitelji *Rutaceae* te pripada rodu *Citrusa* i prikazana je na slici 2. Smatra se drugim najvažnijim citrusom u cijelom svijetu. Mandarina je porijeklom iz jugoistočne Azije, a njeno kretanje u različite dijelove svijeta dogodilo se s raseljavanjem civilizacija i trgovaca (El Barnossi i sur., 2021). Mandarine su bogat izvor vitamina C, kalija, vitamina A i karotenoida.

Citrusi su osjetljivi na ekstremne temperature. Osjetljivost stabla na mraz i na toplinu varira ovisno o vrsti i podlozi i glavni je čimbenik koji ograničava regije i lokalitete na kojima se citrusi mogu uspješno uzgajati i mogu dati odgovarajući urod. Godine 2019. ukupna svjetska proizvodnja mandarina iznosila je oko 31,7 milijuna tona. U mediteranskim zemljama agrumi se proizvode većinom za prehranu u svježem stanju. Sjedinjene Američke Države (uglavnom Florida) i Brazil su vodeći proizvođači zemlje prerađenog citrusnog voća (El-Otmani i sur., 2011).



Slika 2. Plod mandarine (prema Anonymous 1, 2004)

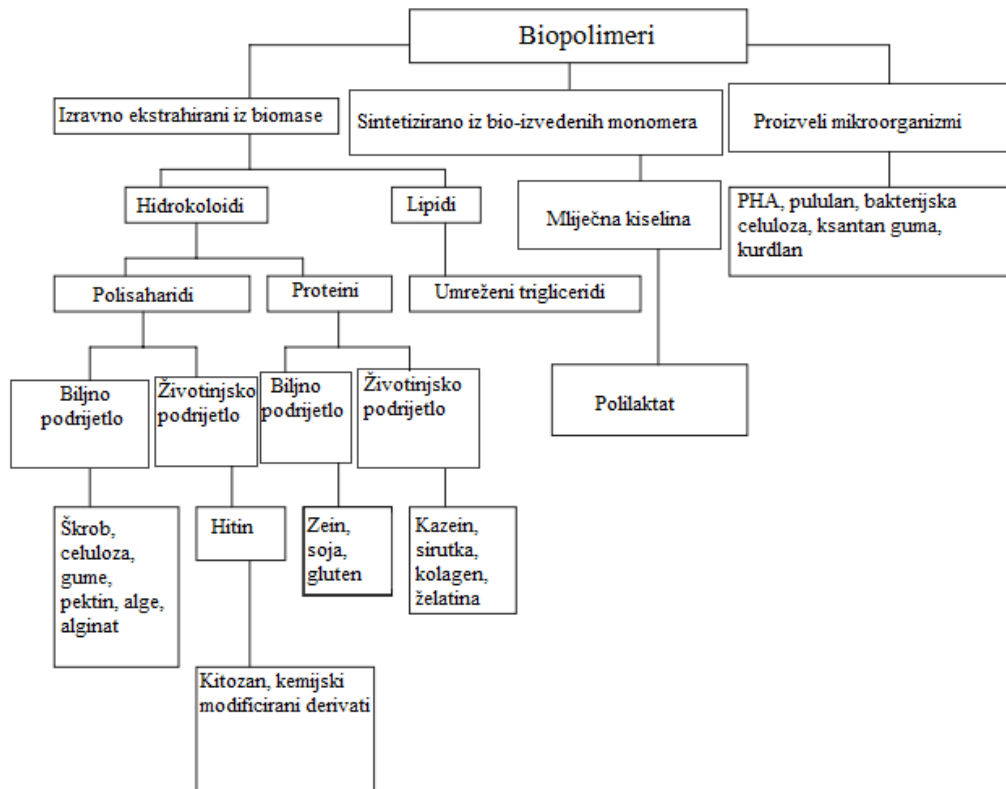
Kore citrusa smatraju se agroindustrijskim otpadom, no potencijalan su izvor biljnih sekundarnih metabolita u obliku eteričnih ulja. Eterična ulja kore citrusa imaju širok spektar potencijalnih aktivnosti u hrani, parfumeriji, higijeni, kozmetici i farmaciji. Najvažnija primjena eteričnih ulja kore citrusa proizlazi iz prisutnosti nekih bioaktivnih spojeva u njima, koji mogu poslužiti kao alternative sintetskim antioksidansima (Kamal i sur., 2013).

U Republici Hrvatskoj, mandarina najbolje uspijeva u dolini Neretve gdje su izvrsni uvjeti za intenzivni uzgoj vrlo kvalitetnih sorti Unshiu mandarina koje se uzgajaju od 1933. godine. Mandarina Unshiu (Satsuma) zapravo je sortna skupina japanskih mandarina, kojih ima više od 200. Zbog otpornosti na hladnoću (može izdržati kraće periode hladnoće i do -10 °C) postala je glavna sorta uzgoja u našim krajevima (Kaleb, 2014).

2.3. PRIMJENA JESTIVIH PREVLAKA U PAKIRANJU SVJEŽEG VOĆA

Potražnja za svježim voćem i povrćem natjerala je industriju da razvije nove i bolje metode održavanja kvalitete i produljenja roka trajanja. Produljenje roka trajanja ne samo da poboljšava kvalitetu, okus i teksturu voća i povrća, već također smanjuje otpad i povezane troškove. Jedno od takvih rješenja je korištenje prirodnih i biorazgradivih filmova i prevlaka. Oni mogu učinkovito odgoditi propadanje voća i povrća, produžiti rok trajanja i zaštititi ih od štetnih utjecaja iz okoliša (Kocira i sur., 2021). Jestive prevlake koriste se od 12. i 13. stoljeća u Kini, gdje se na plodove naranče nanosio tanak sloj voska (Mitelut i sur., 2021).

Potruga za alternativama iz obnovljivih izvora i iskorištavanje agroindustrijskog otpada za smanjenje ukupnog otpada, dovelo je do razvoja interesa za istraživanje potencijalnog korištenja strukturnih i funkcionalnih hidrokoloida, kojih ima u prirodi u izobilju, kao na primjer, proteini (želatina, kazeini, zein, gluten, izolati iz sjemenki) i polisaharidi (škrob, kitozan, gume, agar, karagenan, derivati celuloze) dobiveni iz životinjskih i biljnih izvora, nusproizvodi, i agroindustrijski ostaci (kosti, koža, perje, školjke i ljuske životinja, sirutka, kore voća, ljuske sjemena, otpadni krumpirov škrob). Izvedeni iz „generalno sigurno“ (engl. *Generally Recognized As Safe*, GRAS) proizvoda, mogu imati izravan kontakt s hranom te mogu biti jestivi zajedno s njom. Općenito, materijali za pakiranje razvijeni s polisaharidima i proteinima pokazali su učinkovitu barijernu funkciju vezanu za prodiranje različitih plinova, uglavnom O₂, te aroma. Međutim, u većini slučajeva, ovi materijali gube svoja svojstva u visokoj vlažnosti okoliša (zbog hidrofilnih strukturnih skupina) i imaju mehanička svojstva koja se ne mogu natjecati sa snagom koju nude plastični materijali u sadašnjoj industrijskoj upotrebi (González-López i sur., 2023). Podjela različitih biopolimera koji mogu biti korišteni za pakiranje hrane nalazi se na slici 3.



Slika 3. Različiti tipovi biopolimera korišteni za pakiranja (prema Srinivasa i Tharanathan, 2007)

Jestive prevlake mogu smanjiti prijenos vlage, ograničiti unos kisika, usporiti disanje i proizvodnju etilena, zadržati hlapljive tvari koje utječu na okus, a isto tako mogu sadržavati dodatne funkcionalne sastojke (kao što su antioksidansi ili antimikrobna sredstva) koji mogu usporiti mikrobnu rast i potencijalnu promjenu boje proizvoda (Elsabee i Abdou, 2013). Jestive prevlake se mogu klasificirati kao ekološka i biorazgradiva ambalaža. Strategija premazivanja uključuje kombinaciju prirodnih biopolimera i odgovarajućih metoda očuvanja proizvoda. Brojna istraživanja pokazuju da su prirodni polisaharidi prikladni za upotrebu kao materijal za pakiranje svježeg voća i povrća i često mogu biti važna alternativa sintetičkim spojevima. Prirodni polimerni materijali dobra su barijera za kisik i ugljični dioksid; no karakterizira ih pretjerana topljivost u vodenom okolišu, propusnost na vodenu paru i slaba rastezljivost (Kocira i sur., 2021).

Izraz "prevlaka" odnosi se na tanki sloj stranog materijala nanesenog na površinu voća/povrća, kao dodatni pokrov preko prirodnog zaštitnog pokrova. Može se nanositi uranjanjem, natapanjem, raspršivanjem ili četkanjem (Srinivasa i Tharanathan, 2007).

Jestivi filmovi i prevlake su dizajnirani kao primarni materijal za pakiranje prehrambenih proizvoda, a imaju jestivi sastav odnosno komponente i tako mogu pomoći u održavanju osjetilnih svojstava kao što su miris, okus i izgled. Voće i povrće koje je obloženo jestivim filmovima ima

dulji vijek trajanja, a procesi njihovog sazrijevanja su odgođeni (Mitelut i sur., 2021). Iako se ne očekuje da će jestive prevlake i filmovi u potpunosti zamijeniti konvencionalne materijale za omatanje, oni se mogu koristiti za povećanje stabilnosti hrane smanjenjem izmjene vlage, lipida, hlapljivih tvari i plinova između hrane i okolnog okoliša. Izbjegavanje površinske kontaminacije povećalo bi učinkovitost pakiranja hrane, a time i smanjenje potrebe za polimerima dobivenim iz nafte (Mohamed i sur., 2020).

Pripremaju se kombiniranjem dvaju ili više sastojka kako bi se dobile strukture s modificiranim fizičkim, mehaničkim i barijernim svojstvima, a koja su bolja od jedno komponentnog materijala. Stoga se u pripravcima koji stvaraju film koriste različite tvari kao što su plastifikatori (glicerol, polioksietilen glikol, propilen glikol, sorbitol), sredstva za umrežavanje, emulgatori i pojačivači. Međutim, ako se unose u suvišku, mogu pogoršati mehanička svojstva i povećati propusnost vodene pare (Kocira i sur., 2021).

Korištenje plastifikatora, kao što je glicerol, polietilen glikol (PEG), sorbitol, itd. u filmskim formulacijama ili kompozitima je prednost za postizanje savitljivosti i fleksibilnosti, što može poboljšati rukovanje. Korištenje plastifikatora smanjuje lomljivost filma ometanjem intramolekularnih i intermolekularnih vodikovih veza između molekula lipida i hidrokoloida (Srinivasa i Tharanathan, 2007).

Dodavanje sladila, aroma i bojila jestivim filmovima i premazima može povećati senzornu privlačnost voća i povrća, a obogaćivanje antioksidativnim spojevima poboljšava njihove prehrambene i zdravstvene vrijednosti (Kocira i sur., 2021).

Debljina i ujednačenost jestivih filmova i premaza među parametrima su koji utječu na biološka svojstva i rok trajanja premazanih sirovina. Oni ovise o svojstvima same otopine (njenoj gustoći, viskoznosti, površinskoj napetosti) i načinu proizvodnje filmova i premaza (Kocira i sur., 2021).

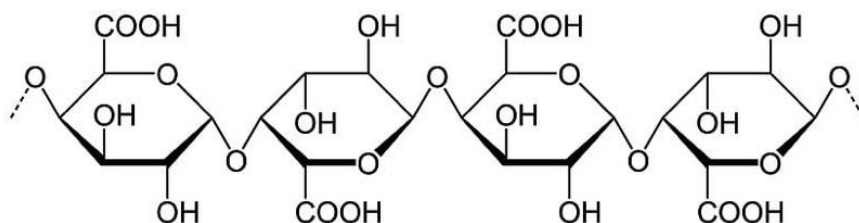
Novi sastojci pakiranja razvijeni su iz prirodnih izvora i karakterizirani u različitim istraživanjima; no unatoč tome, dobivene informacije nisu univerzalne za sve proizvode, što predstavlja izazov za napredak specifičnih filmova i prevlaka za svaku namirnicu. Ambalaža mora zadovoljiti različite ekonomske zahtjeve i zahtjeve učinkovitosti, te mora biti dobro integrirana s lancem opskrbe hrane kako bi postigla svoju funkciju i ponudila adekvatnu zaštitu hrane (Mohamed i sur., 2020). Premda jestive prevlake i filmovi mogu pomoći u produljenju roka trajanja različite hrane, prehrambena industrija suočava se s izazovom prihvaćanja novih proizvoda od strane potrošača. Razumijevanje načina na koji potrošači formiraju stavove prema novim tehnologijama i proizvodima važan je za inovacije prehrambenog lanca, jer je prihvaćanje potrošača ključno za razvoj uspješnih prehrambenih proizvoda (Mitelut i sur., 2021).

2.3.1. Pektin

Pektin je sastavni dio biljnih vlakana i može se ekstrahirati iz staničnih stijenki biljke. To je složeni anionski polisaharid sastavljen od β -1,4-povezanih ostataka α -D-galakturonske kiseline a struktura mu je prikazana na slici 4. Sirovine bogate pektinom mogu se koristiti kao potencijalni prirodni plastifikatori, poboljšavajući rastezljivost jestivih filmova (Kocira i sur., 2021).

Pektin se može koristiti za brojne primjene, uglavnom zato što je siguran, netoksičan proizvod s niskim troškovima proizvodnje i visokom dostupnošću. Na njegove funkcionalnosti utječe njegova struktura. Pektin se općenito koristi u prehrambenoj industriji kao sredstvo za želiranje, zgušnjavanje, stabiliziranje i emulgiranje. Popularan je za upotrebu u džemovima, voćnim sokovima, desertima, mliječnim proizvodima, ali i velika primjena pektina u prehrambenoj industriji je proizvodnja materijala za pakiranje i proizvodnja jestivih prevlaka. Njegova sposobnost stvaranja gelova i filmova objašnjava njegovu upotrebu u razvoju biorazgradive ambalaže za hranu ili jestivih premaza za konzerviranje hrane (Freitas i sur., 2021).

Sam pektin nije vrlo učinkovit za izradu filmova budući da su oni po prirodi krhki i hidrofilniji s uskraćenim mehaničkim svojstvima (Chandel i sur., 2022). Eterična ulja kao aktivni dodaci često se ugrađuju u pektinsku matricu za proizvodnju funkcionalnih materijala: eterično ulje klinčića, eterično ulje mažurana, ulje ružmarina, ulje nima i ostali (Aleksanyan, 2023).



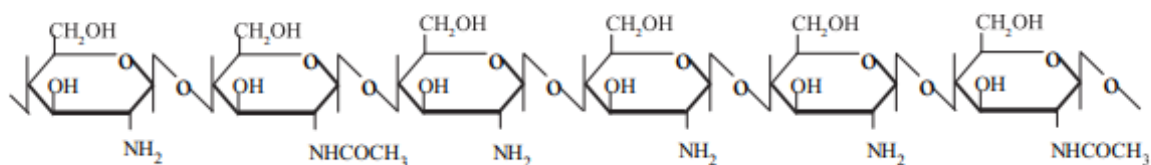
Slika 4. Kemijska struktura pektina (prema Anonymous 2, 2018)

2.3.2. Kitozan

Kitozan je jedan od najvažnijih biopolimera korišten u pakiranju hrane. To je kopolimer N-acetilglukozamina i glukozaminskih ostataka povezanih 1,4-glikozidnim vezama prikazan na slici 5. Zbog svoje dostupnosti i niske cijene, biokompatibilnosti, netoksičnosti, biorazgradivosti i svojstva stvaranja filma, kitozan se smatra zamjenom za konvencionalnu plastiku u mnogim područjima, uključujući primjenu u hrani, farmaceutskim proizvodima, poljoprivredi i kozmetičkim proizvodima (Stefănescu i sur., 2022).

U procesu konzerviranja hrane, korištenje prevlaka ili filma od kitozana koji prekriva površinu hrane može se u određenoj mjeri iskoristiti protiv mikroorganizama, usporiti kvarenje hrane i time

joj produljiti rok trajanja. Konzerviranje prevlačenjem odnosi se na prekrivanje površine hrane slojem otopine kitozana, koja se obično može nanijeti premazivanjem, uranjanjem, elektrostatskim raspršivanjem ili četkanjem. Otopina kitozana u kombinaciji s biljnim ekstraktima korištena kao prevlaka za umakanje, može usporiti propadanje kvalitete voća, povrća, mesa itd. (Liu i sur., 2022).



Slika 5. Kemijska struktura kitozana (prema Srinivasa i Tharanathan, 2007).

Prevlaka od jestivog kitozana nanescna na površinu voća i povrća smanjuje njihovu brzinu disanja regulirajući propusnost plina. Međutim, zbog visoke propusnosti vodene pare, njihova je uporaba kao jestivih filmova ograničena, osobito u vlažnim okruženjima. Drugi čimbenik koji ograničava izravnu upotrebu kitozana kao jestivog premaza je njegova niska topljivost u vodi, što je rezultat njegove krute kristalne strukture (Kocira i sur., 2021).

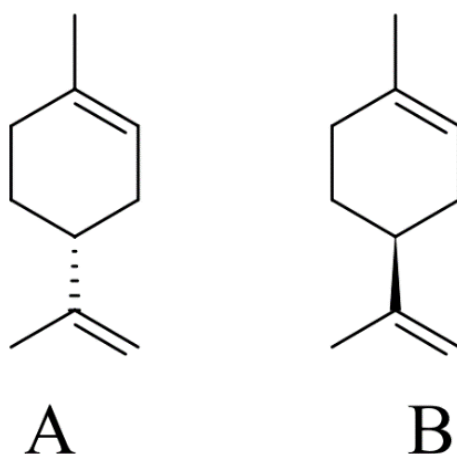
Younis i Zhao (2019) razvili su biorazgradivi materijal za pakiranje kombinirajući kitozan s pektinom. Dok se kitozan i pektin mogu koristiti odvojeno zbog njihove sposobnosti stvaranja filmova, istraživanje je pokazalo da se miješanjem kitozana i pektina može razviti film s boljim karakteristikama od bilo kojeg od pojedinačnih filmova kitozana i pektina, posebice zbog boljih mehaničkih svojstava. Međumolekulske interakcije kitozana i pektina (vodikove veze, hidrofobne interakcije) značajno mogu utjecati na poboljšanje mreže polimera u matrici filma (Stefanescu i sur., 2022).

Povremeno, biopolimeri ili njihove kombinacije sadrže različite aditive, kao što su antioksidansi, antimikrobna sredstva, arome ili boje, kako bi se poboljšala svojstva filmova (Stefanescu i sur., 2022).

Zahvaljujući mogućnosti modificiranja matrice kitozana korištenjem prirodnih dodataka, moguće je pojačati antioksidativno i antimikrobno djelovanje kitozanskih filmova, što znači da će u skoroj budućnosti materijali na bazi kitozana biti ekološki prihvatljivija alternativa do sada korištenoj plastičnoj ambalaži (Stefanowska i sur., 2023).

2.3.3. Limonen

Limonen (1-metil-4-(1-metiletenilcikloheksen)) jedan je od najčešćih sastojaka eteričnih ulja aromatičnih biljaka. Limonen je optički aktivan spoj, a postoji u dva enantiomerna oblika: R i S, kao što je prikazano na slici 6. R-(+)-enantiomer poznat je kao d-limonen, glavni je spoj u eteričnim uljima kore citrusa (Erasto i Viljoen, 2008).



Slika 6. Struktura R-(+) limonena (A) i S-(-) limonena (B) (prema Erasto i Viljoen, 2008)

Komercijalno dostupan limonen je u obliku bezbojne tekućine koja ima karakterističan miris limuna. Limonen je rezultat nusproizvoda industrije citrusa, gdje se stvara kondenzacijom kroz parne isparivače tijekom sinteze melase citrusa. Osim toga, može se proizvesti parnom destilacijom kore i pulpe citrusa ili deterpenacijom ulja citrusa (Eddin i sur., 2021).

Limonen je monoterpen koji se nalazi u voću poput grožđa (95 %), mandarine (94 %), naranče (91 %) i limuna (65 %), ali i u brojnom drugom voću (Anandakumar i sur., 2020). Rod citrusa (*Rutaceae*) je obitelj agruma koja uključuje najviše voća bogatog limonenom, kao što su naranče, limun i mandarine (Eddin i sur., 2021).

Mnoge studije pokazuju da d-limonen ima brojna terapijska svojstva, kao što su antioksidativna svojstva, inhibira peroksidaciju lipida i utječe pozitivno u borbi protiv oštećenja stanica slobodnim radikalima (Anandakumar i sur., 2020). Limonen pokazuje blaga antikancerogena, gastroprotektivna, protuupalna svojstva te učinkovitost u poboljšanju funkcije pluća (Eddin i sur., 2021). Također, pokazuje insekticidna svojstva, nisku toksičnost, biorazgradivost, blaga antimikrobna, antioksidacijska svojstva koja nude mogućnost ugradnje ovog spoja u različite medicinske i kozmetičke proizvode (Erasto i Viljoen, 2008).

2.4. ZAKONSKA REGULATIVA

Aktivno pakiranje hrane je posebna vrsta ambalaže koja ima aktivne komponente koje mogu reagirati s hranom kako bi je očuvali, poboljšali kvalitetu, produžili njezin rok trajanja ili poboljšali sigurnost hrane. Ove aktivne komponente mogu biti različite prirode i imati različite funkcije. Važno je osigurati da se aktivni materijali koji dolaze u kontakt s hranom strogo kontroliraju i odobravaju u skladu s odgovarajućim zakonodavstvom i standardima kako bi se osigurala sigurnost potrošača.

U Hrvatskoj, aktivno pakiranje regulirano je Zakonom o hrani (NN 18/23) i Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti materijala i predmeta koji dolaze u neposredan dodir s hranom (NN 125/09). Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti materijala i predmeta koji dolaze u neposredan dodir s hranom iz 2009., aktivno pakiranje definirano je kao materijali i predmeti čija je namjena povećanje trajnosti ili održavanje ili poboljšanje uvjeta zapakirane hrane, a sadržavaju komponente koje bi trebale oslobađati ili apsorbirati tvari u upakirani ili iz upakiranog proizvoda ili okoline koja okružuje hranu. Aktivno pakiranje može dovesti do promjene u sastavu ili organoleptičkim svojstvima hrane uz uvjet da ne utječe na zdravstvenu ispravnost upakiranog proizvoda i da udovoljava odredbama koje se primjenjuju na tu vrstu hrane. Aktivni materijali i predmeti ne smiju mijenjati sastav ili organoleptička svojstva hrane, ukoliko na taj način prekrivaju kvarenje hrane što može dovesti potrošača u zabludu. Moraju biti označeni na način koji omogućuje potrošaču identifikaciju nejestivih dijelova. U tom se pravilniku propisuju uvjeti pod kojima se aktivno pakiranje smije koristiti, npr. mora biti odobreno za upotrebu u Hrvatskoj ili u Europskoj uniji i mora se koristiti u skladu s dozvoljenim količinama. Također, pravilnik propisuje da se aktivno pakiranje mora testirati prije upotrebe kako bi se osigurala njegova sigurnost i djelotvornost.

U posljednje vrijeme uočen je razvoj materijala na bazi prirodnih polimera. To je rezultat sve veće degradacije okoliša, kao i povećane svijesti i očekivanja potrošača. Mnoge industrije, a posebno industrija ambalaže, suočavaju se s izazovima koji proizlaze iz zakonskih propisa (Stefanowska i sur., 2023).

Polisaharidne prevlake i jestivi filmovi sastavni su dio voća i povrća i stoga podliježu istim zakonskim propisima kao i druge tvari u proizvodnji hrane. Ako je Američka Agencija za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration*, FDA) odobrila materijal kao siguran i naveden kao GRAS, te se također koristi u skladu s dobrim proizvođačkim praksama (engl. *Good manufacturing practice*, GMP), tada se može koristiti u jestivom pakiranju. Ukoliko korišteni biopolimerni materijal trenutno nije pokriven GRAS-om, proizvođač koji ga želi koristiti za proizvodnju može ga podnijeti pod uvjetom da se dokaže njegova sigurnost. Treba također uzeti u obzir toksičnost i

alergenost jestivih filmova i premaza. To se posebno odnosi na upotrebu eteričnih ulja koja se koriste u jestivim prevlakama kao antimikrobni spoj, iako klasificirana i registrirana od strane Europske komisije kao GRAS, mogu pokazati alergeno djelovanje (Kocira i sur., 2021).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Prilikom izrade eksperimentalnog dijela ovog rada korišten je pektin (CP Kelco, GENU® Explorer pectin 130 AS, broj serije SK71083, Lille Skensved, Danska), kitozan (tip 652, France Chitin, Marseille, Francuska) te kao antioksidans korišten je limonen ((R)-(+)-Limonene, 96 %, LO4733, Thermo Fisher GmbH, Kandel, Njemačka). Kao otapala koristile su se destilirana voda te 1 %-tna octena kiselina (v/v, pripremljena pomoću ledene octene kiseline). Također se koristio glicerol (biljni glicerol Raws, 99,5 %, E422, Dekorativna točka d.o.o., Poznanovec, Hrvatska) kao plastifikator.

3.2. PRIPREMA FILMOVA

Za pripremu filmova priređivala se 3 %-tna (m/v) vodena otopina pektina (PEC), te 2 %-tna (m/v) otopina kitozana (CS) u 1 %-tnoj (v/v) octenoj kiselini. Kako bi se postiglo bolje dispergiranje otopine se homogeniziraju na 12500 rpm tijekom 5 minuta (Ultra Turrax, IKAT18 digital, Njemačka). Za pripremu aktivnih formulacija, u pripremljene otopine dodaje se 0,5 % i 1 % (m/v) limonena, za pripremu (PEC0.5, PEC1, CS0.5 i CS1). Nakon dodavanja limonena otopine se homogeniziraju pomoću Ultra Turrax-a (IKAT18 digital, Njemačka) tijekom 5 minuta na 12000 rpm. U zadnjem koraku dodaje se plastifikator glicerol (30 % m/m suhe tvari polimera). Tako pripremljene otopine miješaju se na magnetskoj miješalici (Witeg MS-MP8, 230 rpm, Njemačka) tijekom 10 minuta. Otopine su zatim izlivena u Petrijeve zdjelice različitih promjera te stavljene na sušenje u klima komoru (Mettler HP110, Mettler, Njemačka) na 40 °C tijekom 48 sati. Nakon sušenja, filmovi su odlijepljeni s Petrijevih zdjelica, te se čuvaju u eksikatoru sa silikagelom do korištenja.

3.3. ODREĐIVANJE SVOJSTAVA FILMOVA

3.3.1. Određivanje debljine

Za određivanje debljine filmova, mjerenje se izvodilo na deset različitih mjesta na različitim uzorcima pojedinih vrsta filmova kako bi se prilikom dobivanja rezultata mogla uzeti srednja vrijednost te izračunati standardna devijacija debljine filmova. Uređaj kojim se mjerila debljina je

digitalni mikrometar s preciznošću od 0,0001 μm (Digimet, HP, Helios Preisser, Njemačka).

3.3.2. Udio vode i suhe tvari

Udio vode određen je prema Gontard i sur. (1996). Uzorcima filmova dimenzija 2 cm x 2 cm, odvagane se masa analitičkom vagom (Mettler Toledo XS64, Mettler Toledo, Sjedinjene Američke Države). Uzorci se suše u sušioniku (Mettmert, Schwabach, Njemačka) na 105 °C do konstantne mase. Uzorci se zatim hlade, važu, te se iz razlike mase odredi udio vode u uzorcima prema izrazu [1]. Udio vode izražava se u postotcima.

$$W_v = \frac{m_0 - m}{m_0} \cdot 100 \quad [1]$$

gdje su:

m_0 - početna masa uzorka,

m - masa uzorka nakon sušenja,

W_v - maseni udio vode.

Iz razlike u 100 %-tnom udjelu mase i masenom udjelu vode, može se izračunati maseni udio suhe tvari prema izrazu [2]:

$$W_i = 100 \% - W_v \quad [2]$$

gdje je:

W_i - maseni udio suhe stvari.

3.3.3. Bubrenje i topljivost

Osušeni i izvagani prethodno pripremljeni uzorci, uronjeni su u posude napunjene s 30 ml destilirane vode i ostavljeni na sobnoj temperaturi (23 ± 1 °C) tijekom 24 sata. Nakon navedenog vremena, uzorci su izvagani na analitičkoj vagi (Mettler Toledo XS64, Mettler Toledo, Sjedinjene Američke Države).

Filmovi koji se nakon 24 sata nisu otopili, izvade se iz vode, te suše pri 105 °C do konstantne mase (ASTM D2765-95). Postotak bubrenja računa se prema izrazu [3], a postotak topivosti prema izrazu [4].

$$SW (\%) = \frac{W_s - W_d}{W_d} \cdot 100 \quad [3]$$

gdje su:

W_s – masa uzoraka nakon bubrenja,

W_d – masa suhog uzorka.

$$FS (\%) = \frac{W_i - W_f}{W_i} \cdot 100 \quad [4]$$

gdje su:

FS – topljivost (%),

W_i – početni sadržaj suhe tvari (g),

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

3.3.4. Određivanje propusnosti na plinove

Propusnost na plinove, O_2 i CO_2 , određuje se manometrijski na uređaju Brugger GDP-C (Brugger Feinmechanik GmbH, Munich, Njemačka). Mjerna ćelija, sastavljena od dva dijela između kojih se ulaže uzorak, prvo se vakuumira (ukloni se sav zrak) a potom propušta testni plin pod tlakom od 5 bara i protokom $80 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$. Uređaj automatski prati promjenu tlaka tijekom određenog vremena, gdje se iz promjene tlaka tijekom vremena izračuna propusnost plina kroz film. Pomoću računalnog programa dobivamo rezultate u obliku permeance i koeficijenta propusnosti za svaki film, a koriste se sljedeće jednadžbe [5] i [6]:

$$PO_2 = q \cdot d \quad [5]$$

$$PCO_2 = q \cdot d \quad [6]$$

gdje su:

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

d - debljina filma (μm),

PO_2 - koeficijent propusnosti kisika ($\text{cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ bar}^{-1}$),

PCO_2 - koeficijent propusnosti ugljikovog dioksida ($\text{cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ d}^{-1} \text{ bar}^{-1}$).

3.3.5. Određivanje propusnosti na vodenu paru

Kako bi odredili propusnost filmova na vodenu paru korištena je standardna metoda ASTM E96 - 80 (1980) prilagođena za određivanje propusnosti jestivih filmova. Izrezana su po 3 uzorka točno određene veličine od svake vrste filma (3 paralele) i postavljeni na čašice u kojima se nalazilo po

20 mL destilirane vode kao što je prikazano na slici 7. Čašice su dobro zatvorene pomoću teflonskih prstena između kojih je stavljen uzorak pričvršćen na čašicu vakuumsom kremom, te su čašice vagane analitičkom vagom (Kern ABS320-4N, KERN&SOHN GmbH, Balingen, Njemačka) tijekom određenog vremena.



Slika 7. Prikaz uzoraka pri određivanju propusnosti na vodenu paru (vlastita fotografija)

Bilježenjem mase kroz određeno vrijeme, može se odrediti kada je došlo do ustaljenja mase, odnosno kada je došlo do ujednačenog gubitka na masi. Mjerenje se provodi čuvanjem uzoraka na $25 \pm 1 \text{ } ^\circ\text{C}$ i 30 % relativne vlažnosti zraka u klima komori (Memmert HPP110, Memmert, Schwabach, Njemačka). Propusnost na vodenu paru izračuna se prema izrazu [7]:

$$WVP = \frac{\Delta m}{\Delta t \cdot A \cdot \Delta p} \cdot x \quad [7]$$

gdje su:

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

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

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

x – debljina filma (m),

Δp – razlika tlaka vodene pare između dvije strana filma (Pa).

Iz izmjerenih vrijednosti moguće je izračunati brzinu prijenosa pare kroz uzorak (WVTR) prema izrazu [8]:

$$WVTR = \frac{\Delta m}{A \cdot \Delta t} \quad [8]$$

gdje je:

WVTR – brzina prijenosa pare kroz uzorak ($\text{g m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

3.3.6. Određivanje boje filmova

Za određivanje boje filmova, korištena je CIELAB metoda. Pomoću kolorimetra (Konica Minolta, Spectrophotometer CM-700d, Japan), svakom od filmova izmjerene su vrijednosti L^* , a^* i b^* na 5 različitih mjesta za svaki uzorak.

Danas su spektrofotometri najčešće korišteni za brzu procjenu boje proizvoda. Oni pretvaraju energiju odbijenu od predmeta u brojeve koji definiraju boju. Pomoću CIELAB metode (dijagram metode prikazan na slici 8.), u prostoru se boja izražava pomoću tri koordinate: L^* , a^* , b^* . Za bolju vizualizaciju rezultata, konstituent L^* može se prikazati kao neovisna okomita linija sa sljedećim vrijednostima: od 0 – crna do 100 – bijela. Vrijednosti a^* i b^* predstavljaju točke u ab koordinatnom sustavu, odnosno boje prelaze od crvene ($+a^*$) preko žute ($+b^*$), do zelene ($-a^*$) i plave ($-b^*$) (Chudy i sur., 2020). CIELAB dijagram u prostoru za određivanje boje prikazan je na slici 8.

Kako bi se odredila boja uz pomoć CIELAB metode, najprije se uređaj kalibrira na standardnu bijelu boju. Zatim se mjeri uzorak boje, a rezultati se uspoređuju sa standardnim bijelim referentnim uzorkom. Iz razlike između očitanih i referentnih vrijednosti proizlazi L^* , a^* i b^* za određenu boju.

ΔE označava razliku u boji između dvije točke u CIELAB prostoru, a računa se pomoću izraza [9]:

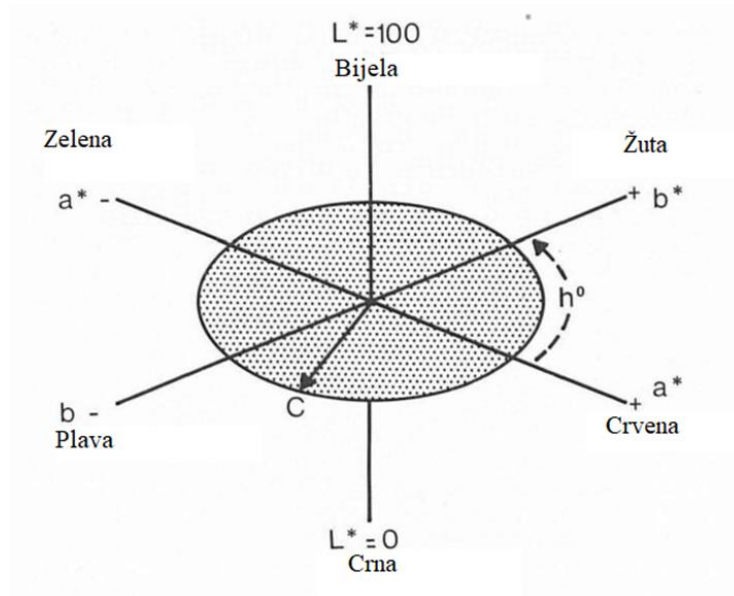
$$\Delta E = \sqrt{(L_0 - L)^2 + (a_0 - a)^2 + (b_0 - b)^2} \quad [9]$$

gdje su:

L_0, a_0, b_0 - referentne vrijednosti boje,

L, a, b – očitane vrijednosti boje ispitivanoga uzorka (Ly i sur., 2020).

ΔE veći od 1 označava razliku u boji koja je vidljiva ljudskom oku (Ly i sur., 2020).



Slika 8. Prikaz CIELAB dijagrama za određivanje boje (prema Weatherall i Coombs, 1992)

3.3.7. Transparentnost

Transparentnost filmova određuje se spektrofotometrijski (Perkin Elmer Lambda 25 UV/VIS, Waltham, SAD). Uzorci su mjereni na 3 različita mjesta pri valnim duljinama od 200 nm do 800 nm, transparentnost pri 600 nm izračuna se pomoću izraza [10]:

$$T_{600} = \frac{A_{600}}{x} \quad [10]$$

gdje su:

A_{600} - apsorbanca pri 600 nm,

x - debljina filma (mm),

T_{600} – transparentnost filma pri 600 nm.

3.4. Priprema proizvoda

Svježe mandarine oprane su u vodovodnoj mlakoj vodi kako bi se uklonile moguće nečistoće, te su dobro osušene na sobnoj temperaturi. Filmovi su priređeni na isti način kao što je objašnjeno u poglavlju 3.2. Mandarine su zatim premazane pripremljenim filmovima, za svaki uzorak filma napravljene su po 3 paralele uz još 3 kontrolna uzorka. Premazane i označene mandarine čuvane su tijekom 4 tjedna u klima komori (HPP110, Memmert, Schwabach, Njemačka), na kontroliranim uvjetima pri 25 ± 1 °C i 30 % relativne vlažnosti.

3.5. Određivanje svojstava proizvoda

3.5.1. Određivanje mase proizvoda

Promjene u masi proizvoda određuju se tijekom cijelog perioda skladištenja od 4 tjedna, i to periodično svakih 7 dana. Uzorci se čuvaju pri kontroliranim uvjetima u klima komori (HPP110, Memmert, Schwabach, Njemačka) na 25 ± 1 °C i 30 % relativne vlažnosti zraka. Netretirani uzorci mandarina važu se analitičkom vagom (Mettler Toledo PB303-S) (m_1), te nakon svakih 7 dana (m_2 , m_3 i m_4). Iz razlike u masi uzoraka nakon skladištenja i početnoj masi odredi se promjena u masi proizvoda ovisno o pred tretmanu uzoraka (bez ili s prevlakama).

3.5.2. Određivanje respiracije proizvoda

Kako bi odredili respiraciju proizvoda, mandarine tretirani jestivim prevlakama, kao i kontrolne mandarine (netretirane mandarine), izvagane su i stavljene u vrećice poznatog volumena od poliamida/polietilena (PA/PE). Vrećice se hermetički zatvaraju ručnom varilicom (Audion SK Seal Kid, Viro d.o.o., Zagreb, Hrvatska). U tako upakiranim uzorcima mjeri se udio kisika, dušika i ugljikovog dioksida pomoću uređaja za mjerenje sastava plinova (Oxybaby®Wittgas, Wittgas, Njemačka). Mjerenje se provodi periodično tijekom 14 dana. Prema Singh i sur. (2013) brzina disanja u smislu potrošnje kisika (R_{O_2}), nastajanja ugljikovog dioksida (R_{CO_2}) i respiracijskog kvocijenta (RQ) može se izračunati sljedećim formulama [11], [12] i [13]:

$$R_{O_2} = \frac{(p_{O_2}^{in} - p_{O_2}^f)V_V}{100 \cdot W \cdot (t^f - t^{in})} \quad \text{i} \quad R_{CO_2} = \frac{(p_{CO_2}^{in} - p_{CO_2}^f)V_V}{100 \cdot W \cdot (t^f - t^{in})} \quad [11]$$

gdje su:

p_{CO_2} i p_{O_2} - parcijalni tlak kisika i ugljikovog dioksida (%),

V_V - volumen šupljine (ml),

W - težina uzorka (kg),

t - vrijeme (h),

Superskript in i f - početna i završna.

$$RQ = R_{CO_2}/R_{O_2} \quad [12]$$

gdje su:

RQ - respiracijski kvocijent,

R_{O_2} - brzina potrošnje kisika ($ml\ kg^{-1}\ h^{-1}$),

R_{CO_2} - brzina generiranja ugljikovog dioksida ($ml\ kg^{-1}\ h^{-1}$).

$$V_V = \frac{Q_n \cdot 100}{(N_f - N_i)} \quad [13]$$

gdje su:

Q_n - zapremnina N_2 ubrizganog u respiracijsku komoru (cm^3),

N_i i N_f - početna i konačna koncentracija N_2 (%).

3.5.3. Određivanje boje proizvoda

Za svaku vrstu filma ispitivanja za boju su provedena na tri paralele, odnosno 3 različite mandarine, a boja je mjerena i računata CIELAB metodom na 3 različita mjesta na svakoj od paralela. Uzorci mandarina označeni su na tri različita mjesta kako bi se točno na istim mjestima kroz određeni vremenski period mogla pratiti promjena boje. 5 mjerenja je provedeno tijekom 4 tjedna s razmakom od točno 7 dana. Boja se mjerila pomoću kolorimetra (Konica Minolta, Spectrophotometer CM-700d, Japan) gdje su dobivene vrijednosti L^* , a^* i b^* . U vremenu između mjerenja, mandarine su pohranjene u klima komori (Memmert HPP110, Schwabach, Njemačka) na kontroliranim uvjetima pri temperaturi od $25\ ^\circ C$ i 30 % relativne vlažnosti. Boja proizvoda određene je prema opisu u potpoglavlju 3.3.6.

3.6. Obrada podataka

Izvršena je obrada podataka primjenom analize varijance (ANOVA) programom Xlstat 2023 (Addinsoft, SAD). Podaci su obrađeni jednosmjernom analizom varijance (ANOVA) i Tukey-evim višestrukim usporednim testovima. Svi rezultati koji su pokazali vrijednost $p < 0,05$ smatrani su značajnima u statističkom smislu.

4. REZULTATI I RASPRAVA

Prilikom izrade ovoga rada pripremljeni su jestivi filmovi na bazi biopolimera kitozana i polisaharida pektina. Jestivim biofilmovima dodane su različite koncentracije antioksidansa limonena kako bi se ispitao njegov utjecaj na fizikalno-kemijska svojstva filmova te koje su razlike u utjecaju limonena na filmove od pektina i kitozana. Koncentracije limonena iznosile su 0 % (v/v), 0,5 % (v/v) te 1 % (v/v). Svakom od filmova dodan je jednak udio glicerola kao plastifikatora. Osim što su provedena ispitivanja nekih svojstava filmova, isti su nanoseni na plodove svježih mandarina koje su skladištene tijekom 4 tjedna na sobnoj temperaturi kako bi se pokazao utjecaj filmova na proizvode, odnosno utjecaj filmova na produljenje trajnosti i očuvanje organoleptičkih svojstava mandarina.

Na ukupno 6 uzoraka filmova izvršeno je ispitivanje fizikalno-kemijskih svojstava debljine, udjela vode i suhe tvari, topljivosti, bubrenja, boje, propusnosti na vodenu paru kao i propusnosti na plinove O_2 i CO_2 . Osim navedenog, na samim mandarinama provedena su ispitivanja promjene boje kao i respiracije proizvoda. Svojstva promjene boje provedena su na 3 kontrolne mandarine kao i 3 mandarine za svaki oblik filma, s ukupno 21 uzorkom. Respiracija proizvoda mjerena je tako što su 2 mandarine postavljene u PA/PE pripremljene vrećice, te je na taj način. uz kontrolne mandarine, dobiveno ukupno 7 uzoraka kojima je mjerenja promjena O_2 , CO_2 i N_2 u vrećicama tijekom 4 tjedna.

Izmjerena debljina, udio vode i suhe tvari prikazane su u tablici 1 za svih 6 pripremljenih filmova, dok su topljivost i kapacitet bubrenja prikazani u tablici 2. Parametri boje (L^* , a^* , b^* , ΔE), kao i transparentnost (T_{600}) pripremljenih filmova prikazane su u tablici 3. Grafički su prikazani rezultati apsorbance filmova od kitozana i pektina što je prikazano na slikama 9 i 10. Propusnost pripremljenih filmova na plinove O_2 i CO_2 prikazane su u tablici 4, te se rezultati propusnosti na vodenu paru i brzine prijenosa vodene pare nalaze u tablici 5. Na slikama 11, 12 i 13 grafički su prikazane promjene udjela O_2 , CO_2 i N_2 u vrećicama kroz vrijeme, dok su na slikama 14 i 15 grafički prikazane vrijednosti brzine potrošnje O_2 i generiranja CO_2 . Na slici 16. vidljiva je promjena koeficijenta respiracije kod filmova nakon 2 i 24 sata od početka skladištenja. Na slici 17. prikazane su vlastite fotografije mandarina te kako se njihov izgled mijenjao tijekom skladištenja. Iste mandarine korištene su za mjerenje promjene boje, a rezultati tog ispitivanja prikazani su u tablicama 6 i 7.

4.1. UDIO VODE, SUHE TVARI, TRANSPARETNOST I BUBRENJE

4.1.1. Debljina, udio vode i suhe tvari

Rezultati ispitivanja debljine, udjela vode te udjela suhe tvari prikazani su u tablici 1. Iz rezultata prikazanih u tablici, vidljivo je kako se debljina filmova na bazi pektina i kitozana uz dodatak limonena povećala u odnosu na filmove pripremljene bez limonena. Također, udio suhe tvari je veći u filmovima pripremljenima uz dodatak limonena, što pokazuje da je povećanje udjela suhe tvari povezano s povećanjem debljine uzorka, što je u skladu s rezultatima istraživanja Mirande i sur. (2004). Isto tako, istraživanje Xie i sur. (2021), na filmovima na bazi pektina i kitozana, pokazuje kako se uz dodatak kurkumina debljina filmova proporcionalno povećala.

Debljina jestivih filmova ima važan učinak na fizikalna i mehanička svojstva filma. Prema literaturnim navodima, propusnost filma je u snažnoj korelaciji s debljinom filma (Zhang i sur., 2021). Debljina filma značajno ovisi i o prirodi ugrađenih molekula (Miranda i sur., 2004). Istraživanje koje su proveli Balau i sur. (2004) pokazuje da su filmovi debljine manje od 20 μm bili prozirni, vrlo fleksibilni i imali su vrlo glatku površinu, dok je povećanje debljine filma uzrokovalo povećanje unutarnje napetosti i posljedično stvaranje hrapave površine.

Tablica 1. Debljina filmova, udio vode i udio suhe tvari u pripremljenim filmovima

Uzorak	Debljina (μm)	Udio vode (%)	Udio suhe tvari (%)
CS	$38,30 \pm 5,29^b$	$21,06 \pm 0,78^a$	$75,94 \pm 0,78^a$
CS0.5	$45,90 \pm 7,98^{ab}$	$17,57 \pm 5,42^a$	$82,43 \pm 5,42^a$
CS1	$55,70 \pm 15,32^a$	$14,87 \pm 0,47^a$	$85,13 \pm 0,47^a$
PEC	$38,70 \pm 11,31^b$	$14,87 \pm 0,47^a$	$85,13 \pm 0,47^a$
PEC0.5	$61,40 \pm 19,57^a$	$6,82 \pm 1,73^b$	$93,18 \pm 1,73^b$
PEC1	$56,30 \pm 15,45^a$	$7,13 \pm 3,01^b$	$92,87 \pm 3,01^b$

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

*CS – filmovi na bazi kitozana, CS0.5 – filmovi na bazi kitozana uz dodatak 0,5% (m/v) limonena, CS1 - filmovi na bazi kitozana uz dodatak 1% (m/v) limonena, PEC – filmovi na bazi pektina, PEC0.5 – filmovi na bazi pektina uz dodatak 0.5% (m/v) limonena, PEC1 – filmovi na bazi pektina uz dodatak 1% (m/v) limonena

4.1.2. Topljivost i bubrenje

Topljivost i kapacitet bubrenja (eng. *swelling ratio*, SW) pripremljenih filmova prikazani su u tablici 2. Iz navedenih rezultata jasno se može vidjeti kako je topljivost filmova na bazi pektina 100 %-tna, odnosno ispitivani filmovi potpuno su se raspali nakon 24 sata namakanja u destiliranoj vodi.

Pektin je tipičan linearni heteropolisaharid koji se sastoji od velikog broja negativno nabijenih karboksilnih skupina, stoga pokazuje dobru topljivost u vodi te ima mogućnost interakcije s kationima (Xie i sur., 2021). Topljivost filmova na bazi kitozana iznosila je između $35,46 \pm 3,84$ i $36,35 \pm 11,36$ % za filmove s limonenom, što ukazuje da ne postoje značajne promjene s dodatkom limonena. Slična zapažanja dana su u istraživanju filmova na bazi pektina i kitozana uz dodatak kurkumina (Xie i sur., 2021), a razlikuje se od rezultata istraživanja Gao i sur. (2019), koji su prikazali kako se topljivost povećala dodatkom polifenola, što se pripisuje velikim brojem hidrofilnih skupina koje pospješuju prodiranje vode. Higroskopna priroda glicerola pogoduje apsorpciji molekula vode što dovodi do stvaranja vodikovih veza u matrici polimernog filma i tako povećava postotak „vezane vlage“, odnosno broj molekula vode vezanih u filmu. Svi filmovi na bazi pektina i glicerola bili su potpuno topljivi u vodi. Međutim, prema istraživanju Mehraj i Sistla (2021) kontrolni filmovi pektina bez glicerola nisu bili potpuno topljivi u vodi, što bi značilo da je udio glicerola u pektinskim filmovima utjecao na njihovu topljivost u vodi zbog svoje higroskopne prirode. Topljivost u vodi odnosi se na dezintegraciju ili otpornost strukture filma u kontaktu s vodom (Xie i sur., 2021).

Tablica 2. Rezultati mjerenja topljivosti i bubrenja (SW)

Uzorak	Topljivost (%)	SW (%)
CS	$35,46 \pm 3,84^b$	$2,62 \pm 0,13^a$
CS0.5	$35,81 \pm 4,28^b$	$3,46 \pm 1,23^a$
CS1	$36,35 \pm 11,36^b$	$5,46 \pm 2,42^a$
PEC	$100,00 \pm 0,00^a$	nm
PEC0.5	$100,00 \pm 0,00^a$	nm
PEC1	$100,00 \pm 0,00^a$	nm

*EkspONENTI (^{a,b}) unutar stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ($p < 0,05$).

*CS – filmovi na bazi kitozana, CS0.5 – filmovi na bazi kitozana uz dodatak 0,5% (m/v) limonena, CS1 - filmovi na bazi kitozana uz dodatak 1% (m/v) limonena, PEC – filmovi na bazi pektina, PEC0.5 – filmovi na bazi pektina uz dodatak 0.5% (m/v) limonena, PEC1 – filmovi na bazi pektina uz dodatak 1% (m/v) limonena; nm – nije mjerljivo.

Posljedica bubrenja su promjene u strukturi polimera koje se javljaju kao odgovor na naprezanja nastala unutar filma tijekom sorpcije vode. Vodena para se ponaša kao plastifikator unutar matrice kitozanskog filma (Miranda i sur., 2004). Rezultati prikazani niže u tablici 2. pokazuju blagi porast kapaciteta bubrenja s rastom udjela limonena kod filmova na bazi kitozana. Bubrenje nije bilo moguće izračunati za filmove na bazi pektina zbog toga što su se prilikom prethodnog ispitivanja topljivosti potpuno otopili u vodi. De Yao i sur. (1996) izvijestili su kako stupanj bubrenja brzo raste kada je koncentracija pektina u otopini niska. U visokoj koncentraciji vodene otopine pektina,

karboksilne skupine različitih makromolekula pektina povezuju se vodikovim vezama, što može dovesti do stvaranja guste, kompaktne mase u uzorku. Voda lako stupa u interakciju s limonenom i veže se na endocikličku dvostruku vezu limonena (Murugachandran i Sanz, 2022). Stanescu i sur., (2011) u svome istraživanju pokazali su kako je sposobnost bubrenja biorazgradivog kombiniranog filma veća od onih pripremljenih od čistog kitozana. Pokazali su kako su najveći sorpcijski kapaciteti oni iz mješavine filma s 0,4 % alkil poliglukoza. Voda ima sposobnost difuzije kroz polimere tako da se apsorbira u različitim stupnjevima ovisno o molekularnim i mikrostrukturnim karakteristikama polimernog materijala (Stanescu i sur., 2011). Filmovi upijaju vodu dok se ne postigne maksimalno bubrenje; zatim postepeno gube na težini do konačne ravnotežne vrijednosti (De Yao i sur., 1996).

4.2. PARAMETRI BOJE I TRANSPARENTNOST FILMOVA

Boja pakiranja važan je čimbenik u smislu općeg izgleda, kao i za prihvaćanje upakiranog proizvoda od strane potrošača (Srinivasa i sur., 2003). Parametri boje ispitivanih filmova prikazani su u tablici 3.

Tablica 3. Parametri boje (L^* , a^* , b^* , ΔE) i transparentnost (T_{600}) pripremljenih filmova

Uzorak	L^*	a^*	b^*	ΔE	T_{600}
CS	$89,54 \pm 1,32^a$	$-1,25 \pm 0,19^a$	$6,16 \pm 0,65^b$	$0,00 \pm 0,00^b$	$6,22 \pm 7,96^a$
CS0.5	$89,28 \pm 1,67^a$	$-2,39 \pm 0,19^b$	$10,88 \pm 0,85^a$	$5,09 \pm 0,84^a$	$3,19 \pm 0,98^a$
CS1	$89,83 \pm 1,05^a$	$-2,38 \pm 0,39^b$	$10,67 \pm 1,87^a$	$4,74 \pm 1,95^a$	$1,46 \pm 0,40^a$
PEC	$91,12 \pm 2,18^a$	$-0,71 \pm 0,14^b$	$6,06 \pm 2,10^a$	$0,00 \pm 0,00^b$	$3,27 \pm 1,74^a$
PEC0.5	$89,53 \pm 0,47^a$	$-0,58 \pm 0,13^{ab}$	$4,67 \pm 1,37^a$	$2,47 \pm 0,28^a$	$1,42 \pm 0,59^a$
PEC1	$88,99 \pm 0,46^a$	$-0,50 \pm 0,04^a$	$4,71 \pm 0,81^a$	$2,66 \pm 1,13^a$	$3,74 \pm 1,42^a$

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

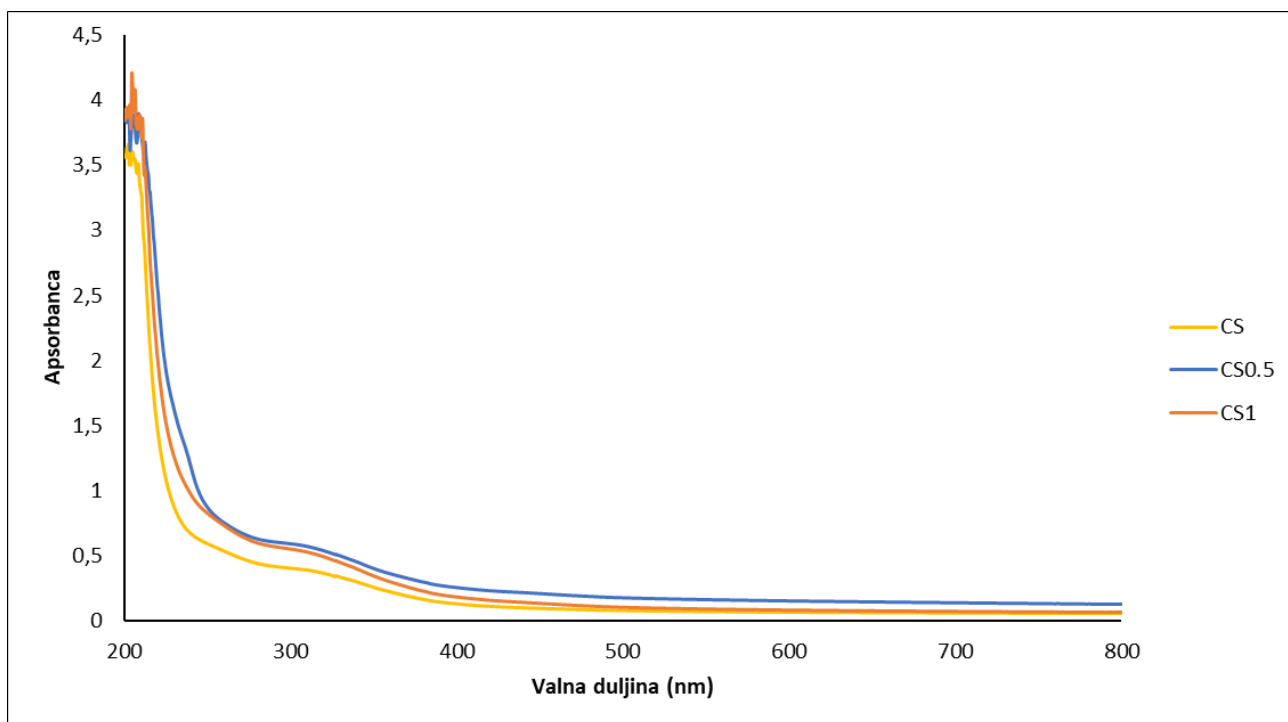
*CS – filmovi na bazi kitozana, CS0.5 – filmovi na bazi kitozana uz dodatak 0,5% (m/v) limonena, CS1 - filmovi na bazi kitozana uz dodatak 1% (m/v) limonena, PEC – filmovi na bazi pektina, PEC0.5 – filmovi na bazi pektina uz dodatak 0.5% (m/v) limonena, PEC1 – filmovi na bazi pektina uz dodatak 1% (m/v) limonena

Rezultati ispitivanja boje za filmove na bazi kitozana ili pektina za parametar L^* ne pokazuju statistički značajnu razliku s dodatkom limonena. Svi uzorci imali negativne vrijednosti parametra a^* , a uzorci s dodatkom limonena statistički su se razlikovali od onih bez limonena, i to su vrijednosti bile negativnije s dodatkom limonena. Koncentracija limonena nije pokazala statistički značajan utjecaj. Negativne a^* vrijednosti ukazuju na zeleno obojenje filmova prema Vrijednosti parametra b^* bile su pozitivne za sve uzorke, ukazujući na žutu boju. Vrijednosti parametra

b^* statistički se razlikuje između filma na bazi kitozana i onih s dodatkom limonena. Rezultati istraživanja slični su istraživanju Kaczmarek-Szczepanska i sur. (2022), gdje su autori naveli da je u filmovima na bazi kitozana dodatak fenolne kiseline utjecao na povećanje parametra b^* odnosno promjene boje prema žutoj. U pektinskim filmovima, nije bilo statistički značajne razlike u vrijednostima parametra b^* . Općenito, ΔE označava razliku u boji između dvije točke u CIELAB prostoru. Ukupna razlika u obojenosti u uzorcima od kitozana s dodatkom limonena iznosila je $5,09 \pm 0,84$ za CS0.5 i $4,74 \pm 1,95$ za CS1. Slično kao i kod parametara L^* , a^* i b^* nije bilo statistički značajne razlike među uzorcima ovisno o dodanoj koncentraciji limonena. Razlika u boji pektinskih filmova s dodatkom limonena manja je od onih izmjerenih za filmove od kitozana i iznosi $2,47 \pm 0,28$ i $2,66 \pm 1,13$ za PEC0.5 i PEC1. Također, navedene vrijednosti pokazuju statističku sličnost. Iako se prema nekim literaturnim navodima (Kaczmarek-Szczepanska i sur. 2022) tek vrijednosti više od 5 mogu smatrati kao značajne, drugi autori definiraju da je razlika značajna ako je ΔE veći od 3 (Ly i sur. 2020). Budući su u ovom diplomskom radu filmovi bili vizualno različiti (osobna zapažanja autorice rada), možemo zaključiti da je dodatak limonena ipak utjecao na razliku u boji filmova.

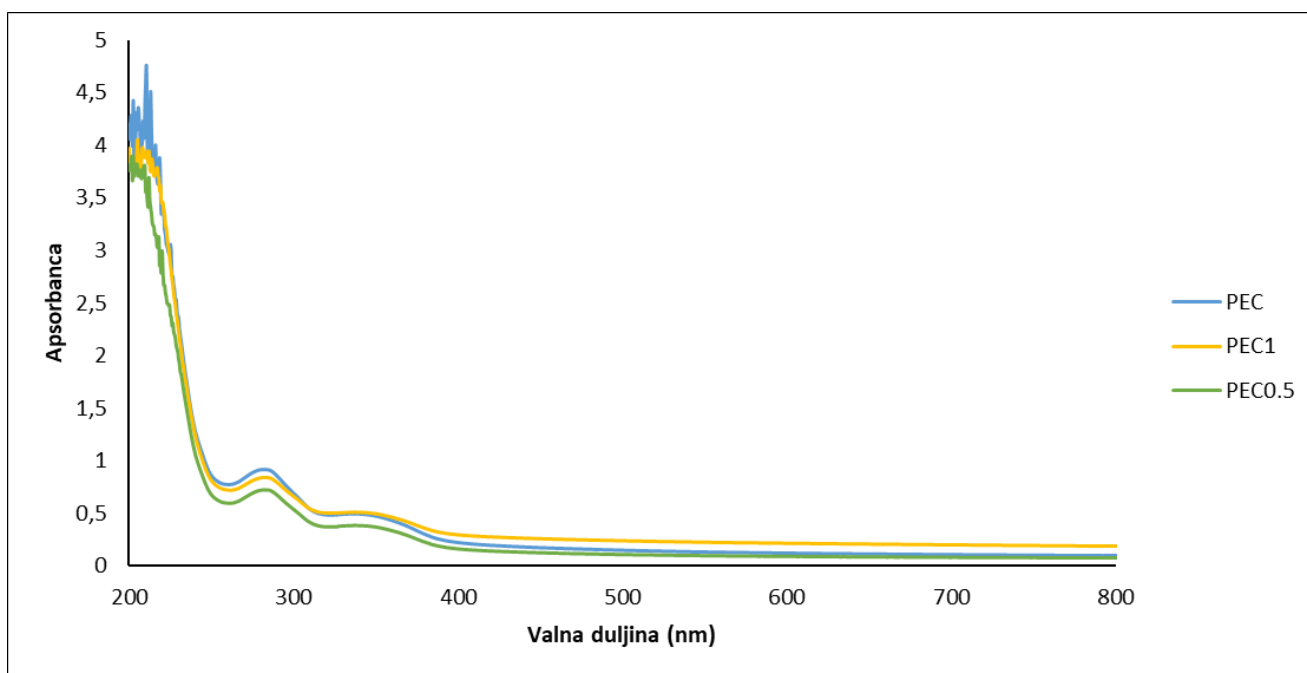
Također, transparentnost filmova se vizualno razlikovala ovisno o tipu uzorka, odnosno bilo da je riječ o kitozanu ili pektinu. Neprozirnost je parametar koji utječe na dopuštanje svjetlosti da prođe kroz materijal. Što je neprozirnost manja, to je veća količina svjetlosti koja može proći kroz materijal (Yadav i sur., 2020). Rezultati ispitivanja transparentnosti pokazuju kako je izračunata transparentnost filma pri 600 nm (T_{600}) bila najveća kod CS filma, što potvrđuje vizualno zapažanje, a iznosila je $6,22 \pm 7,96$. Kod ostalih filmova, transparentnost iznosi između 1,42 i 3,74 i ne pokazuje statistički značajnu razliku. Dobiveni rezultati u skladu su s istraživanjem Yadav i sur. (2020) koji pokazuju kako je prozirnost veća kod filmova na bazi kitozana u odnosu na kompozite pripremljene s celuloznim nanokristalima.

Na slikama 9. i 10. prikazana je apsorbancija filmova na bazi kitozana i pektina, u rasponu valnih duljina od 200 nm do 800 nm. Iz prikazanih spektrograma, može se uočiti da je film na bazi kitozana imao nižu vrijednost apsorbance u cijelom mjernom području, a posebice u rasponu od 200 nm do 400 nm, dok je kod uzoraka s dodatkom limonena ta vrijednost bila viša. Suprotno tome, kod filmova na bazi pektina apsorbancija za film bez limonena bila je viša u rasponu između 200 nm i 300 nm. UV zračenje može uzrokovati oksidativno kvarenje upakirane hrane, što dovodi do promjene boje, gubitka hranjivih tvari i neugodnog okusa (Jridi i sur., 2014), te u skladu s time, propusnost na UV zračenje nije poželjna karakteristika filmova namijenjenih za pakiranje hrane. S druge strane, važno je da neprozirnost filmova ne utječe značajno na izgled upakiranog proizvoda kako se kod potrošača ne bi stvorila predrasuda o promijenjenom izgledu i boji proizvoda.



Slika 9. Apsorbanca filmova od kitozana pri valnim duljinama od 200 nm do 800 nm

*CS – filmovi na bazi kitozana, CS0.5 – filmovi na bazi kitozana uz dodatak 0,5% (m/v) limonena, CS1 - filmovi na bazi kitozana uz dodatak 1% (m/v) limonena



Slika 10. Apsorbanca filmova od pektina pri valnim duljinama od 200 nm do 800 nm

*PEC – filmovi na bazi pektina, PEC0.5 – filmovi na bazi pektina uz dodatak 0.5% (m/v) limonena, PEC1 – filmovi na bazi pektina uz dodatak 1% (m/v) limonena

4.3. PROPUSNOST NA PLINOVE

Propusnost je svojstvo stabilnog stanja koje opisuje opseg do kojeg se određena tvar otapa, a zatim i brzinu kojom ona difundira kroz film, s pokretačkom silom povezanom s razlikom u koncentraciji te tvari između dviju strana filma. Propusnost na plinove jestivih filmova i prevlaka ovisi o nekoliko čimbenika kao što su cjelovitost filma, omjer između kristalnih i amorfni zona, hidrofilno-hidrofobni odnos i pokretljivost polimernog lanca te prisutnost plastifikatora ili drugih aditiva (Elsabee i Abdou, 2013).

Propusnost na kisik (PO_2) i ugljikov dioksid (PCO_2) prikazana je u tablici 4. Kod CS filmova može se primijetiti značajna razlika u propusnosti na ugljikov dioksid i kisik, gdje je propusnost na ugljikov dioksid značajno veća i iznosi $14,82 \pm 5,33 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ dan}^{-1} \text{ bar}^{-1}$. Propusnost kitozana na kisik je vrlo mala, što je slično rezultatima istraživanja Xu i sur. (2005). S dodatkom limonena, propusnost filma na bazi kitozana se smanjila, bez statističke značajne razlike između filmova s različitim koncentracijama limonena. Propusnost PEC na kisik i ugljikov dioksid nije bilo moguće izmjeriti. Razlog je ili prevelika propusnost filmova ili mikrooštećenja koja nisu zbog slabih mehaničkih svojstava filma ovog sastava u laboratorijskim uvjetima pripreme bila moguća za izbjeci. Stoga bi se ove pretpostavke trebale provjeriti u daljnjim istraživanjima. S dodatkom veće koncentracije limonena kod filmova PEC0.5 i PEC1, propusnost na kisik i ugljikov dioksid blago pada. Prema rezultatima istraživanja Zhang i sur. (2020) propusnost na kisik filma na bazi kitozana iznosila je $4 \cdot 10^3 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ dan}^{-1}$ i $6,55 \cdot 10^{-5} \text{ g m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Tablica 4. Propusnost pripremljenih filmova na plinove kisik i ugljikov dioksid

Uzorak	PO₂ ($\text{cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ dan}^{-1} \text{ bar}^{-1}$) · 10 ⁻⁵	PCO₂ ($\text{cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ dan}^{-1} \text{ bar}^{-1}$) · 10 ⁻⁵
CS	1,40 ± 0,80 ^a	14,82 ± 5,33 ^a
CS0.5	4,09 ± 1,63 ^a	2,40 ± 1,56 ^b
CS1	2,36 ± 0,68 ^a	3,36 ± 1,38 ^b
PEC	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^a
PEC0.5	4,79 ± 1,66 ^a	3,44 ± 1,76 ^a
PEC1	2,70 ± 2,08 ^{ab}	2,31 ± 0,84 ^a

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

*CS – filmovi na bazi kitozana, CS0.5 – filmovi na bazi kitozana uz dodatak 0,5% (m/v) limonena, CS1 - filmovi na bazi kitozana uz dodatak 1% (m/v) limonena, PEC – filmovi na bazi pektina, PEC0.5 – filmovi na bazi pektina uz dodatak 0.5% (m/v) limonena, PEC1 – filmovi na bazi pektina uz dodatak 1% (m/v) limonena

Iako je u ovom istraživanju korištena jednaka koncentracija plastifikatora za pripremu svih filmova, važno je napomenuti da i glicerol utječe na propusnost filmova na plinove. Cisse i sur. (2012) su pokazali kako ugradnja plastifikatora u formulaciju filma povećava propusnost kisika i ugljikovog dioksida. Dobra propusnost plina obično se ne smatra idealnim indeksom učinkovitosti filmova za pakiranje hrane. Međutim, dobro je poznato da je dobra propusnost na plinove kod polimera vrlo važna za postizanje performansi potrebnih za pakiranje u modificiranoj atmosferi tijekom skladištenja voća i povrća nakon berbe (Zhang i sur., 2020).

Mjerenje propusnosti kisika i ugljikovog dioksida jestivih filmova pruža važne informacije za primjenu istih s određenim proizvodom. Kisik je ključni čimbenik koji može uzrokovati oksidaciju, izazivajući nekoliko neželjenih promjena hrane kao što su promjene mirisa, boje i okusa, kao i propadanje hranjivih tvari. Stoga filmovi koji pružaju odgovarajuću barijeru za kisik mogu pomoći u poboljšanju kvalitete hrane i produljenju roka trajnosti hrane (Elsabee i Abdou, 2013). Ugljični dioksid koji se stvara u hrani zbog kvarenja i reakcija disanja treba ukloniti iz pakiranja kako bi se izbjeglo daljnje kvarenje hrane i/ili uništavanje pakiranja (Vermeiren i sur., 2003). Budući svojstva propusnosti plina prevlaka nakon nanošenja na voće nije lako izmjeriti, važno je pripremiti samostojeće filmove prije prevlaka te ih analizirati (Elsabee i Abdou, 2013).

4.4. PROPUSNOST NA VODENU PARU

WVTR je vrijednost koja opisuje brzinu prijenosa vodene pare kroz materijal, dok je propusnost na vodenu paru (WVP) definirana kao količina vodene pare koja se propušta kroz uzorak točno određene površine i debljine pod određenim uvjetima temperature i vlažnosti (Miranda i sur., 2004). Propusnost materijala na vodenu paru važno je svojstvo za pakiranje hrane. U tablici 5 dani su rezultati mjerenja WVP i WVTR parametara. Najveća brzina prijenosa vodene pare izmjerena je kod kitozana bez dodatka limonena i iznosi $13,77 \pm 1,50 \cdot 10^{-3} \text{ g m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. S dodatkom limonena se WVTR smanjuje, dok je najmanja brzina prijenosa vodene pare kod filma na bazi pektina. Statistički nezatno povećanje izmjereno je s dodatkom antioksidansa limonena.

Tablica 5. Propusnost na vodenu paru (WVP) i brzina prijenosa vodene pare (WVTR) pripremljenih filmova na bazi kitozana i pektina

Uzorak	WVP (g m⁻¹ s⁻¹ Pa⁻¹) · 10⁻¹⁰	WVTR (g m⁻² s⁻¹) · 10⁻³
CS	2,40 ± 0,26 ^b	13,77 ± 1,50 ^a
CS0.5	2,50 ± 0,08 ^b	11,98 ± 0,37 ^a
CS1	2,99 ± 0,03 ^a	11,81 ± 0,12 ^a
PEC	1,83 ± 0,16 ^a	10,41 ± 0,88 ^a
PEC0.5	3,13 ± 0,10 ^b	11,23 ± 0,34 ^a
PEC1	2,75 ± 0,14 ^c	10,76 ± 10,54 ^a

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

*CS – filmovi na bazi kitozana, CS0.5 – filmovi na bazi kitozana uz dodatak 0,5% (m/v) limonena, CS1 - filmovi na bazi kitozana uz dodatak 1% (m/v) limonena, PEC – filmovi na bazi pektina, PEC0.5 – filmovi na bazi pektina uz dodatak 0.5% (m/v) limonena, PEC1 – filmovi na bazi pektina uz dodatak 1% (m/v) limonena

Svojtvo filma za pakiranje kao barijere za vodenu paru igra važnu ulogu u izbjegavanju ili barem smanjenju izmjene vlage između zapakirane robe i okolne atmosfere (Ren i sur., 2017). Propusnost vodene pare filma je konstanta koja bi trebala biti neovisna o pokretačkoj sili na prijenos vodene pare. Kada je film pod različitim gradijentima tlaka vodene pare (na istoj temperaturi), protok vodene pare kroz film se razlikuje, ali njihova izračunata propusnost mora biti ista. Ovo se ponašanje ne događa s hidrofilnim jestivim filmovima gdje molekule vode stupaju u interakciju s polarnim skupinama u strukturi filma uzrokujući plastifikaciju ili bubrenje (Miranda i sur., 2004). Obično, uzorci s većom koncentracijom plastifikatora pokazuju veću WVP vrijednosti. Razlog tome su povećanja u slobodnom volumenu između polimernih lanaca. Kada su hidrofilni plastifikatori ugrađeni u film na bazi polisaharida, dolazi do smanjenja međumolekulskih sila, čineći polimernu mrežu manje gustom, a time i propusnijom (Fundo i sur., 2015). U ovom istraživanju korištene su jednake koncentracije glicerola prilikom pripreme filmova, stoga udio glicerola nije utjecao na WVP. Prema istraživanju Ren i sur. (2017) koji su ispitali filmove na bazi kitozana i škroba, te njihova mehanička svojstva, pokazano je da je najveći WVP bio kod CS filma, a može se pripisati većem broju slobodnih hidroksilnih skupina i dodatkom hidrofilnog glicerola. Istaknuto je kako slobodne hidroksilne skupine pojačavaju interakcije s molekulama vode, pogodujući prijenosu vodene pare kroz filmove, a glicerol može povećavati udaljenost među molekulama zbog čega mreža škroba postane manje gusta i pogodna za adsorpciju i desorpciju molekula vode. Iako je kitozan zbog svoje kemijske strukture hidrofilni polimer koji sadrži puno hidroksilnih i amino skupina, dodavanje kitozana rezultiralo je smanjenjem WVP za filmove na bazi kombinacije

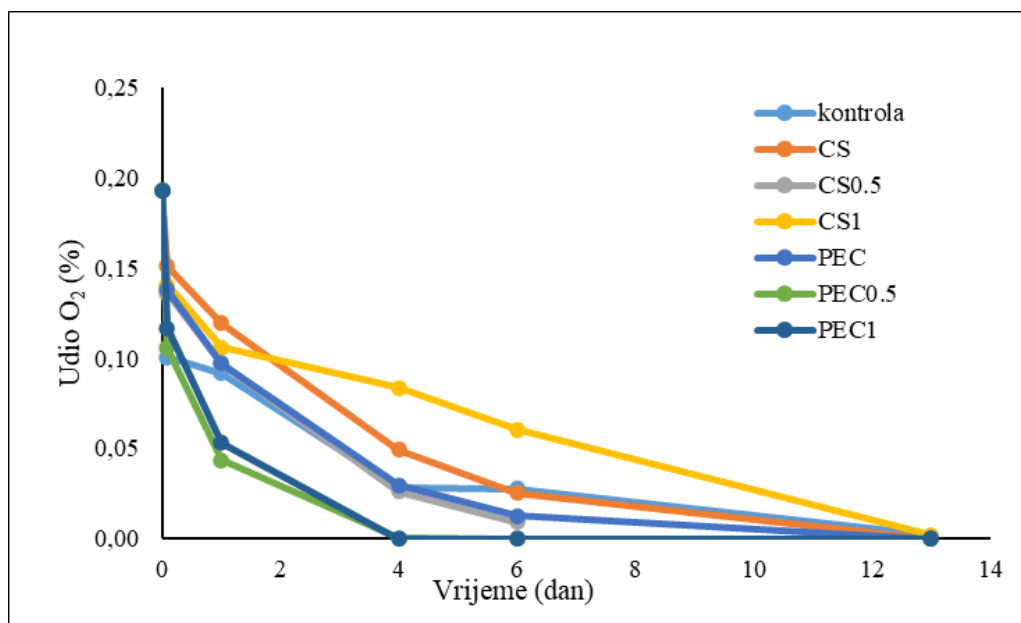
kitozana i škroba u usporedbi s onim na bazi samostalnog CS (Ren i sur., 2017). U ovom ispitivanju pokazalo se kako je došlo do blagog porasta propusnosti na vodenu paru prilikom dodatka limonena i povećanja njegove koncentracije za filmove na bazi pektina kao i kod kitozana.

4.5. ISPITIVANJA PROVEDENA NA PROIZVODU

Kako bi se pokazao utjecaj pripremljenih i ispitanih filmova na prehrambeni proizvod, u ovom istraživanju korištene su mandarine na koje su različiti filmovi aplicirani tehnikom premazivanja. Uzorci su čuvani tijekom 4 tjedna u zatvorenim vrećicama, te se u navedenom periodu skladištenja pratila respiracija proizvoda i promjene udjela kisika, ugljikovog dioksida i dušika. Također je mjerena boja mandarina, s ciljem praćenja na koji način pojedine formulacije prevlaka utječu na promjenu boje mandarina u odnosu na kontrolne (netretirane) uzorke. Iz pregleda znanstvene literature, najveći broj istraživanja filmova na bazi različitih biopolimera rađeno je upravo na raznolikom voću i povrću, iz razloga što je većina biopolimera i samo po sebi sastavni dio voća te se može sintetizirati iz otpada prilikom proizvodnje proizvoda na bazi voća i povrća što pogoduje ekološkoj prihvatljivosti i efikasnosti u iskorištavanju otpada. Istraživanja također pokazuju da bi se korištenjem pojedinih filmova mogla produljiti trajnost voća, pri čemu bi se otpadni materijal također trebao smanjiti.

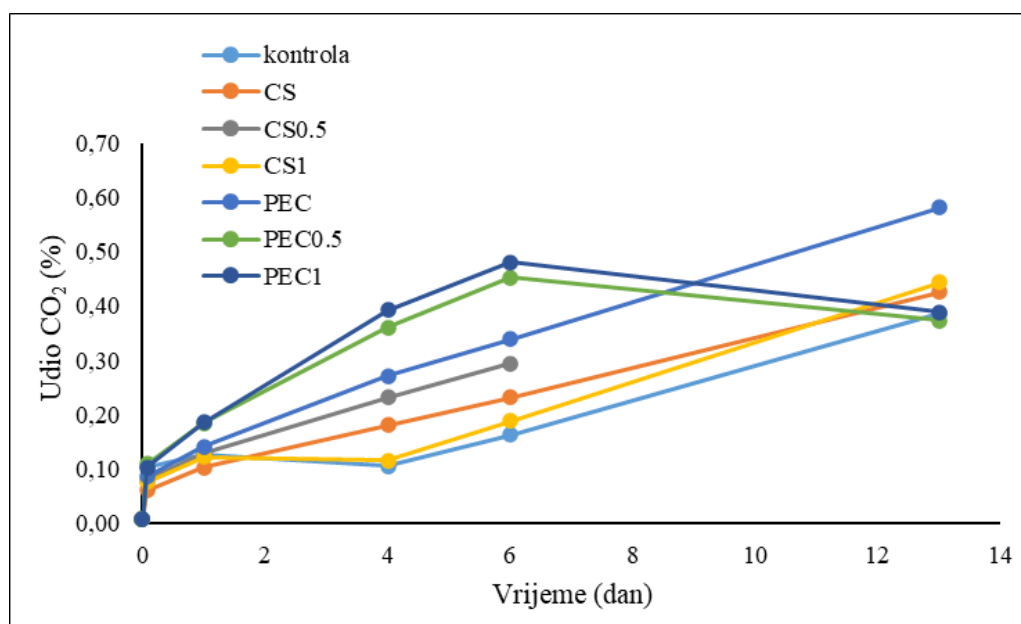
4.5.1. Respiracija

Slike 11., 12. i 13. pokazuju udio kisika, ugljikovog dioksida i dušika tijekom skladištenja mandarina. Na slici 11. ističe se uzorak CS1 kojemu udio kisika tijekom vremena ostaje najveći, posebno između 2. i 12. dana skladištenja. Također, vidljivo je kako uzorci na bazi kitozana pokazuju općenito više vrijednosti udjela kisika nego što je to kod uzoraka s prevlakama na bazi pektina. Između 6. i 12. dana kontrolni uzorak pokazuje više rezultate udjela kisika nego filmovi CS0.5, PEC, PEC0.5 i PEC1. Na slici 12. vidljiv je očekivani porast udjela CO₂ kroz vrijeme. Najveći porast i najveći konačan udio CO₂ vidljiv je kod kontrolnog uzorka. Značajno manje udjele između 2. i 6. dana skladištenja, imali su uzorci s prevlakama na bazi pektina u odnosu na uzorke s prevlakama na bazi kitozana. Na slici 14. vidljiv je pad udjela dušika, posebice između 4. i 14. dana.



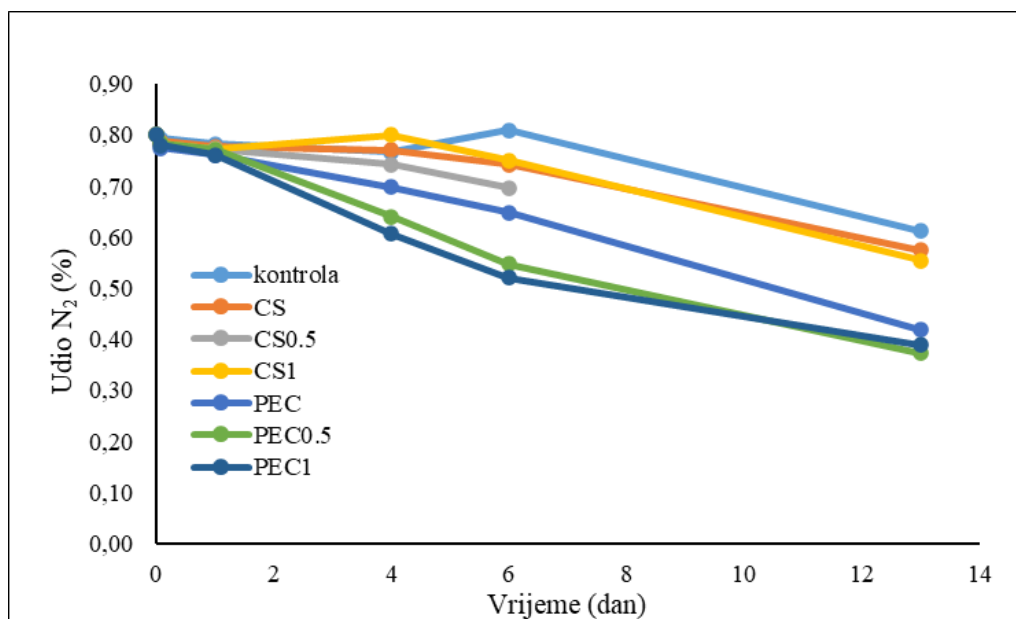
Slika 11. Promjena udjela O₂ kroz vrijeme

*kontrola – mandarine bez prevlaka, CS – mandarine s prevlakom na bazi kitozana, CS0.5 – mandarine s prevlakom na bazi kitozana uz dodatak 0,5% (m/v) limonena, CS1 – mandarine s prevlakom na bazi kitozana uz dodatak 1% (m/v) limonena, PEC – prevlake na bazi pektina, PEC0.5 – mandarine s prevlakom na bazi pektina uz dodatak 0.5% (m/v) limonena, PEC1 – mandarine s prevlakom na bazi pektina uz dodatak 1% (m/v) limonena



Slika 12. Promjena udjela CO₂ kroz vrijeme

*kontrola – mandarine bez prevlaka, CS – mandarine s prevlakom na bazi kitozana, CS0.5 – mandarine s prevlakom na bazi kitozana uz dodatak 0,5% (m/v) limonena, CS1 – mandarine s prevlakom na bazi kitozana uz dodatak 1% (m/v) limonena, PEC – prevlake na bazi pektina, PEC0.5 – mandarine s prevlakom na bazi pektina uz dodatak 0.5% (m/v) limonena, PEC1 – mandarine s prevlakom na bazi pektina uz dodatak 1% (m/v) limonena

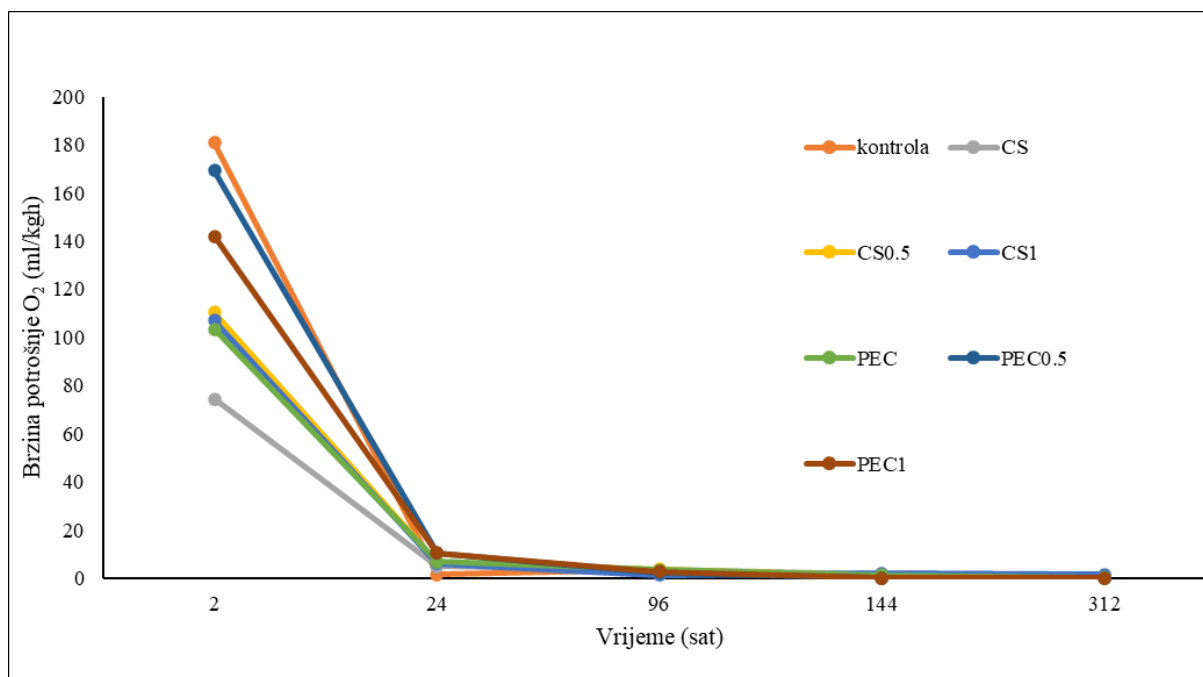


Slika 13. Promjena udjela N₂ kroz vrijeme

*kontrola – mandarine bez prevlaka, CS – mandarine s prevlakom na bazi kitozana, CS0.5 – mandarine s prevlakom na bazi kitozana uz dodatak 0,5% (m/v) limonena, CS1 – mandarine s prevlakom na bazi kitozana uz dodatak 1% (m/v) limonena, PEC – prevlake na bazi pektina, PEC0.5 – mandarine s prevlakom na premazane filmovima na bazi pektina uz dodatak 0.5% (m/v) limonena, PEC1 – mandarine s prevlakom na bazi pektina uz dodatak 1% (m/v) limonena

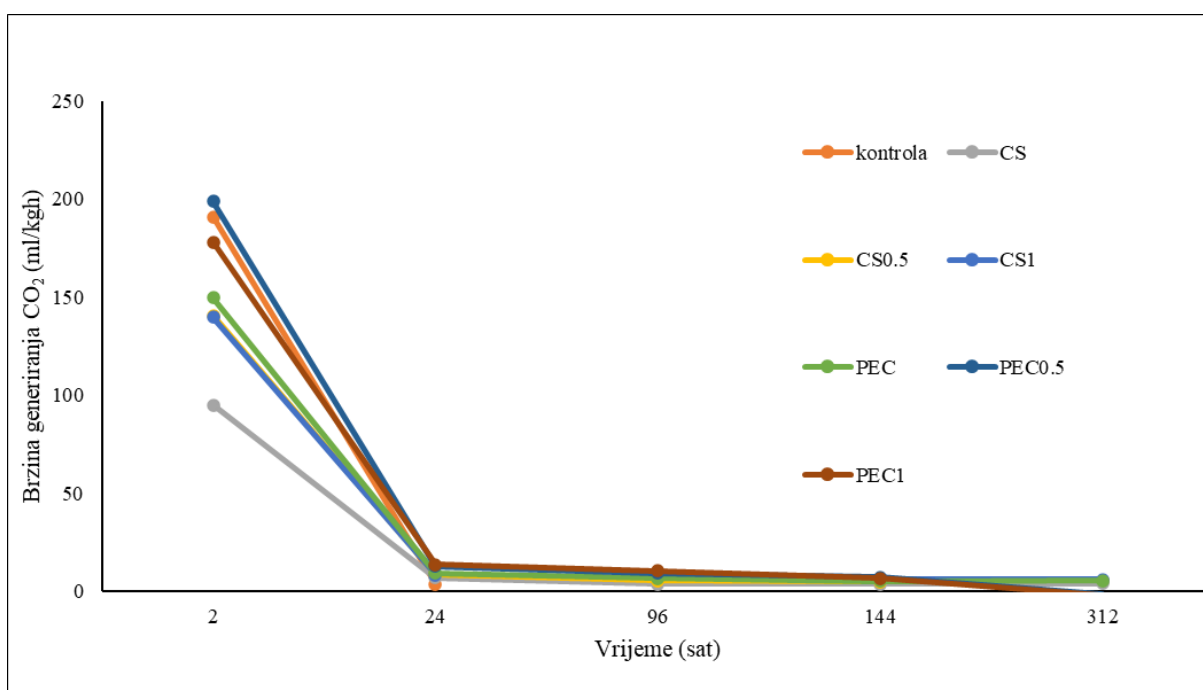
Najveća brzina potrošnje kisika bila je u prvih 24 sata u vrećicama kontrolnih uzoraka, odnosno kod netretiranih mandarina (bez prevlaka). Najmanja potrošnja kisika izmjerena je kod uzoraka s prevlakama od CS, a s porastom udjela limonena u prevlakama, potrošnja kisika raste. To se može objasniti time što je u limonen antioksidans koji „veže“ / oksidira kisik, te je na taj način njegova prisutnost utjecala na brzinu potrošnje kisika. Sličan rezultat, odnosno ponašanje uzoraka izmjereno je i za uzorke s prevlakama od pektina, gdje PEC0.5 i PEC1 pokazuju veću brzinu potrošnje kisika nego kod PEC filma bez dodatka limonena. Nakon 24 sata skladištenja, uzorci ne pokazuju značajnu razliku u brzini potrošnje kisika. Brzine generiranja ugljikovog dioksida također pokazuju slične rezultate, gdje je brzina generiranja ugljikovog dioksida najmanja u prvih 24 sata za film CS.

Na slici 16. može se vidjeti prikaz razlike respiracijskog kvocijenta nakon 2 sata te nakon 24 sata gdje se jasno može vidjeti kako je iznos respiracijskog kvocijenta približno jednak nakon 2 sata skladištenja uzoraka dok je nakon 24 sata najznačajniji rast kod kontrolnog uzorka što pokazuje da su svi primijenjeni filmovi imali utjecaj na smanjenje respiracijskog kvocijenta u prvih 24 sata skladištenja uzoraka.



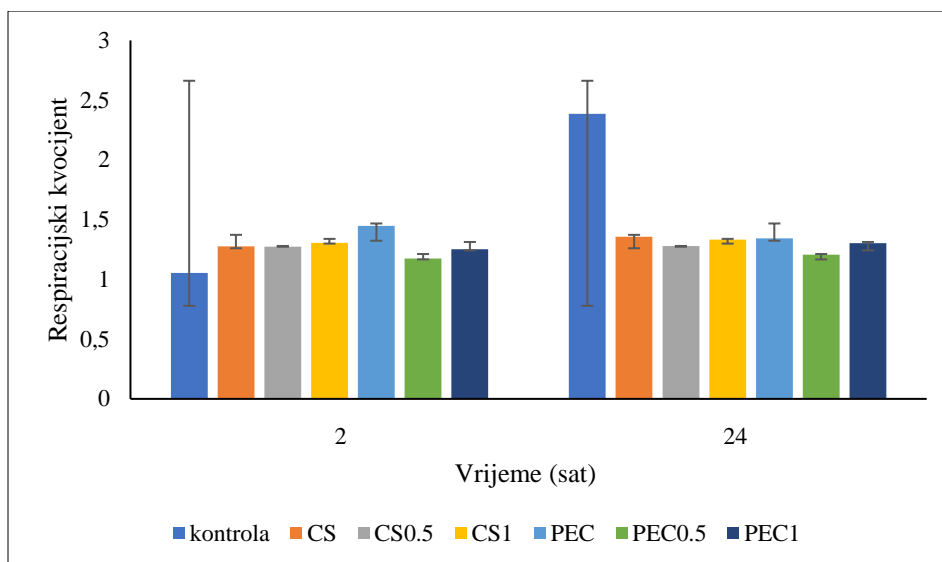
Slika 14. Brzina potrošnje kisika kroz vrijeme

*kontrola – mandarine bez prevlaka, CS – mandarine s prevlakom na bazi kitozana, CS0.5 – mandarine s prevlakom na bazi kitozana uz dodatak 0,5% (m/v) limonena, CS1 – mandarine s prevlakom na bazi kitozana uz dodatak 1% (m/v) limonena, PEC – prevlake na bazi pektina, PEC0.5 – mandarine s prevlakom na bazi pektina uz dodatak 0.5% (m/v) limonena, PEC1 – mandarine s prevlakom na bazi pektina uz dodatak 1% (m/v) limonena



Slika 15. Brzina generiranja ugljikovog dioksida kroz vrijeme

*kontrola – mandarine bez prevlaka, CS – mandarine s prevlakom na bazi kitozana, CS0.5 – mandarine s prevlakom na bazi kitozana uz dodatak 0,5% (m/v) limonena, CS1 – mandarine s prevlakom na bazi kitozana uz dodatak 1% (m/v) limonena, PEC – prevlake na bazi pektina, PEC0.5 – mandarine s prevlakom na bazi pektina uz dodatak 0.5% (m/v) limonena, PEC1 – mandarine s prevlakom na bazi pektina uz dodatak 1% (m/v) limonena



Slika 16. Prikaz respiracijskog kvocijenta nakon 2 sata i nakon 24 sata

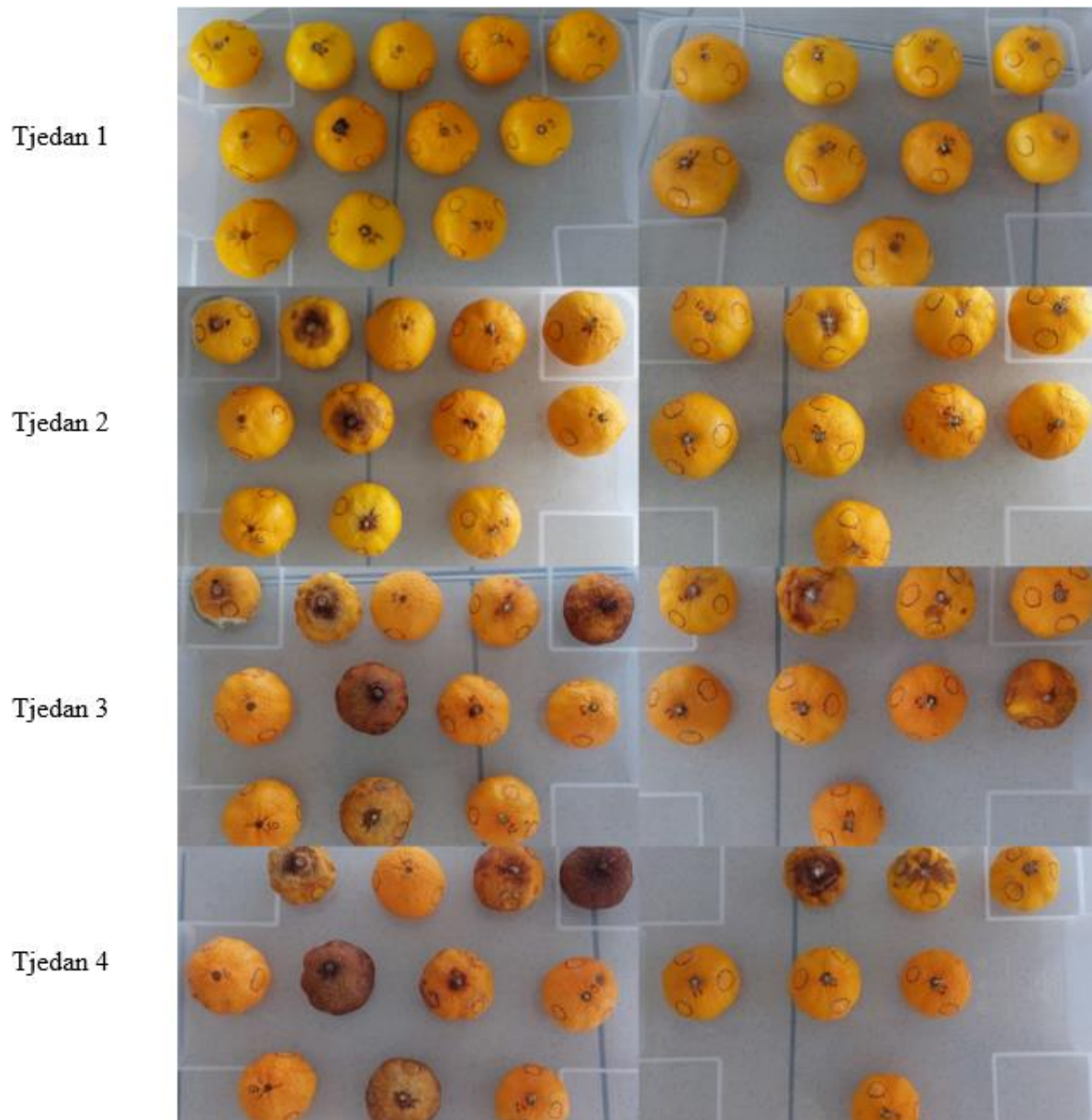
*kontrola – mandarine bez prevlaka, CS – mandarine s prevlakom na bazi kitozana, CS0.5 – mandarine s prevlakom na bazi kitozana uz dodatak 0,5% (m/v) limonena, CS1 – mandarine s prevlakom na bazi kitozana uz dodatak 1% (m/v) limonena, PEC – prevlake na bazi pektina, PEC0.5 – mandarine s prevlakom na bazi pektina uz dodatak 0.5% (m/v) limonena, PEC1 – mandarine s prevlakom na bazi pektina uz dodatak 1% (m/v) limonena

Mnogi su autori istraživali filmove od kitozana i pektina te ispitivali njihov potencijal za poboljšanje kvalitete i produljenje roka trajanja prehrambenih proizvoda. Elsabee i sur. (2008) koristili su modificirane polipropilenske filmove s višeslojnim kitozanom/pektinom kao oblik pakiranja za skladištenje i produljenje roka trajanja rajčice. Koristili su vrećice 20·20 cm s 12 slojeva (sastavljenih od kitozana/pektina). Iz rezultata navedenog istraživanja, može se zaključiti kako uzorci čuvani u vrećicama od polipropilena, kao i oni čuvani na zraku, potpuno propali, dok je uzorak u vrećici tretiranoj pektinom/kitozanom ostao gotovo netaknut bez vidljivog propadanja ploda rajčice.

4.5.2. Promjena boje

Na slici 17. prikazane su mandarine ispitivane u ovome radu tijekom 4 tjedna. Odmah nakon nanošenja prevlaka na plodove mandarina, moglo se primijetiti kako su filmovi doprinijeli sjaju i boljem izgledu mandarina, što može pozitivno utjecati na stavove potrošača o takvim proizvodima. Također, moglo se primijetiti kako su mandarine na koje su nanoseni filmovi na bazi kitozana sjajnije od onih na kojima su se koristili filmovi na bazi pektina. Promatrajući izgled i promjene na mandarinama tijekom perioda od 4 tjedna, zamijećeno je kako su se na nekima u značajnoj količini razvile plijesni ili je došlo do posmeđivanja i truljenja proizvoda. Dvije kontrolne mandarine već nakon tjedan dana pokazale su značajan rast plijesni i posmeđivanje, dok je treći kontrolni uzorak zadržao približno isti izgled i nakon 4 tjedna. Na mandarinama prekrivenima filmovima na bazi

kitozana došlo je do posmeđivanja uzoraka u jednoj od tri paralele za svaki film, dok su vizualno bolji izgled zadržale mandarine prekrivene filmovima na bazi pektina, posebice onih uz dodatak limonena.



Slika 17. Prikaz uzoraka mandarina za ispitivanje promjene boje kroz vremenski period od 4 tjedna (vlastita fotografija)

U istraživanju Pen i Jiang (2003) prikazano je kako je prevlaka od kitozana na plod kineskog kestena (lat. *Castanea mollissima*) omogućila odgodu diskoloracije kao što je i povećanje koncentracije kitozana u prevlakama utjecalo na inhibiciju promjene boje i održavanje boljeg izgleda kroz duži vremenski period. Osim toga, primijećeno je kako je prevlaka od kitozana utjecala na inhibiciju bolesti svježe rezanih kestena. Durango i sur. (2006) su proveli istraživanje na mrkvi

(lat. *Daucus carota L.*) koja se vrlo često susreće s problemom brze degradacije i propadanja tijekom skladištenja. Za potrebe istraživanja pripremljene su prevlake od škroba i pektina te su korištene na minimalno procesiranoj mrkvi. Rezultati pokazuju da je kitozan doprinio mikrobiološkoj sigurnosti mrkve kao i produljenju roka trajnosti.

Chien i sur. (2007.) tretirali su ručno narezani mango s vodenim otopinama 0 %, 0,5 %, 1 % ili 2 % kitozana. Pokazalo se kako je kitozan usporio gubitak vode i degradaciju senzorske kvalitete, povećavajući sadržaj topljive krute tvari, kiselost i sadržaj askorbinske kiseline. Također je inhibirao rast mikroorganizama. Autori su zaključili da primjenom prevlaka od kitozana učinkovito se povećala svojstva kvaliteta i produljio rok trajnosti narezanog ploda manga. Hernandez-Munoz i sur. (2008) proučavali su učinak premaza od kitozana u kombinaciji s kalcijevim glukonatom na jagodi i promjenu kvalitete tijekom skladištenja u hladnjaku. Jagode su tretirane 1 %-tnom ili 1,5 %-tnom otopinom kitozan acetata, uz ili bez dodatka kalcijevog glukonata. Procjena tretmana je temeljila se na uočenoj pojavi gljivica, brzini disanja, svojstvima kvalitete i vizualnog izgleda jagoda čuvanih 6 dana na 10 °C. Ukratko, pokazalo se da prevlake od kitozana usporavaju starenje voća i propadanje plodova jagoda skladištenih na 10 °C i 70 ± 5 % relativne vlažnosti zraka.

U tablicama 6. i 7. prikazane su vrijednosti parametara L^* , a^* i b^* za kontrolne uzroke i uzorke s prevlakama na bazi kitozana mjerene tijekom 4 tjedna u vremenskim intervalima od točno 7 dana kako bi se pratila promjena boje proizvoda.

Tablica 6. Promjena parametara boje (L^* , a^* i b^*) kroz 4 tjedna skladištenja mandarina bez i s prevlakama na bazi kitozana

Parametar	L^*				a^*				b^*			
	0	7	14	28	0	7	14	28	0	7	14	28
Kontrola	74,20 ± 3,06 ^a	72,21 ± 1,51 ^a	69,31 ± 2,28 ^a	65,96 ± 4,51 ^a	10,48 ± 2,66 ^c	14,01 ± 2,81 ^b	14,52 ± 3,70 ^a	17,71 ± 4,79 ^a	46,65 ± 3,85 ^a	46,20 ± 3,12 ^a	41,76 ± 5,27 ^a	38,86 ± 7,66 ^a
CS	71,61 ± 3,25 ^{ab}	70,67 ± 3,51 ^a	64,73 ± 7,57 ^a	58,58 ± 9,59 ^a	15,04 ± 1,47 ^{ab}	18,05 ± 0,99 ^a	16,27 ± 4,17 ^a	15,72 ± 6,43 ^a	43,49 ± 4,39 ^a	42,71 ± 4,46 ^a	33,49 ± 11,84 ^a	26,98 ± 14,69 ^a
CS0.5	70,88 ± 1,68 ^b	70,31 ± 2,84 ^a	65,35 ± 8,98 ^a	60,44 ± 9,85 ^a	16,65 ± 2,42 ^a	18,63 ± 3,01 ^a	16,81 ± 5,80 ^a	17,51 ± 6,66 ^a	43,49 ± 2,41 ^a	42,57 ± 3,54 ^a	34,01 ± 14,00 ^a	29,25 ± 14,95 ^a
CS1	74,03 ± 1,48 ^{ab}	72,44 ± 1,69 ^a	66,91 ± 6,97 ^a	63,92 ± 7,62 ^a	13,10 ± 2,77 ^{bc}	15,95 ± 2,77 ^{ab}	15,71 ± 4,59 ^a	17,79 ± 5,55 ^a	47,27 ± 1,71 ^a	41,64 ± 10,23 ^a	35,98 ± 11,87 ^a	34,22 ± 12,82 ^a

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

*kontrola – mandarine bez prevlaka, CS – mandarine s prevlakama na bazi kitozana, CS0.5 – mandarine s prevlakama na bazi kitozana uz dodatak 0,5% (m/v) limonena, CS1 – mandarine s prevlakama na bazi kitozana uz dodatak 1% (m/v) limonena

Tablica 7. Promjena parametara boje (L^* , a^* i b^*) kroz vrijeme za mandarine bez i s prevlakama na bazi pektina

Parametar	L^*				a^*				b^*				
	Dani	0	7	14	28	0	7	14	28	0	7	14	28
Kontrola		74,20 ± 3,06 ^a	72,21 ± 1,51 ^{ab}	69,31 ± 2,2 ^a	65,96 ± 4,51 ^a	10,48 ± 2,66 ^b	14,01 ± 2,81 ^b	14,52 ± 3,70 ^a	17,71 ± 4,79 ^{bc}	46,65 ± 3,85 ^a	46,20 ± 3,12 ^{ab}	41,76 ± 5,27 ^a	38,86 ± 7,66 ^a
PEC		75,33 ± 0,99 ^a	73,70 ± 1,98 ^a	70,08 ± 5,25 ^a	54,65 ± 5,93 ^b	11,14 ± 2,05 ^b	16,28 ± 1,84 ^{ab}	15,71 ± 4,59 ^a	13,41 ± 3,47 ^c	48,42 ± 1,25 ^a	47,90 ± 3,19 ^a	42,86 ± 8,42 ^a	21,86 ± 9,21 ^b
PEC0.5		72,58 ± 2,29 ^a	71,94 ± 2,35 ^{ab}	70,73 ± 1,65 ^a	66,87 ± 2,57 ^a	14,42 ± 1,35 ^a	17,89 ± 2,12 ^a	13,77 ± 1,94 ^a	20,98 ± 2,98 ^{ab}	45,48 ± 3,26 ^a	45,52 ± 3,73 ^{ab}	43,76 ± 2,82 ^a	40,05 ± 4,46 ^a
PEC1		72,78 ± 2,44 ^a	69,98 ± 2,62 ^b	66,24 ± 4,83 ^a	65,61 ± 3,96 ^a	15,36 ± 2,53 ^a	19,03 ± 2,50 ^a	16,60 ± 6,62 ^a	25,01 ± 2,48 ^a	46,16 ± 2,78 ^a	42,95 ± 3,61 ^b	38,06 ± 6,97 ^a	38,13 ± 6,45 ^a

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

*kontrola – mandarine bez prevlaka, PEC – prevlake na bazi pektina, PEC0.5 – mandarine s prevlakama na bazi pektina uz dodatak 0.5% (m/v) limonena, PEC1 – mandarine s prevlakama na bazi pektina uz dodatak 1% (m/v) limonena

Prema rezultatima prikazanim na tablici 6., vidljivo je kako kod svih uzoraka s vremenom dolazi do pada vrijednosti parametra L^* , te se ne ističe razlika između kontrolnih uzoraka i uzoraka s prevlakama na bazi kitozana. Parametar a^* za kontrolni uzorak u prvom tjednu je najmanji i iznosi $10,48 \pm 2,66$, dok je najveći za CS0.5 i iznosi $16,65 \pm 2,42$. Nakon 4 tjedna parametri a^* za dva navedena proizvoda iznose $17,71 \pm 4,79$ i $17,51 \pm 6,66$. Parametar b^* bio je najveći nakon 4 tjedna za kontrolni uzorak, dok se s prevlakama na bazi kitozana smanjio, a najmanji bio za uzorak CS i iznosio je $26,98 \pm 14,69$. Kod parametra L^* za primjenu na uzorcima s prevlakama na bazi pektina, nakon 4 tjedna, najmanji je bio kod PEC i iznosio je $54,65 \pm 5,93$. Parametar a^* najmanje se promijenio kod uzorka s pektinom bez limonena, a najviše kod pektina s dodatkom 1 % limonena. Parametar b^* najmanje je iznosio kod uzorka s pektinom bez limonena nakon 4 tjedna, dok kod ostalih uzoraka ne pokazuje značajniju razliku. Boja prevlaka može promijeniti cjelokupni izgled hrane unutar pakiranja. Prisutnost obojenih prevlaka može utjecati i na senzorsku kvalitetu hrane dok je hrana izložena na tržištu i kvalitetu hrane zbog izlaganja vanjskom svjetlu. Stoga svojstvo boje zaslužuje pažljiv dizajn filmova za bolju praktičnu primjenu i veće prihvaćanje od strane kupaca (Wang i sur., 2021).

Istraživanje provedeno od strane Gao i sur. (2018) pokazalo je kako kompozitni premaz kitozan-cinamaldehyd korišten za tretiranje agruma prije skladištenja, utječe na promjenu boje na sobnoj temperaturi. Rezultati pokazuju da kompozitna prevlaka kitozana s 1,5 % cinamaldehyda inhibira promjenu boje kore citrusa. Međutim, prevlake od 0,5 % i 1,0 % cinamaldehyd-kitozana imale su bolje učinke očuvanja citrusa bez utjecaja na promjenu boje voća. Ne samo da su smanjili stopu raspadanja ploda, stopu gubitka težine i intenzitet disanja, već su i učinkovito odgodili aktivnost katalaze, peroksidaze i superoksid dismutaze. Kompozitne prevlake s niskom koncentracijom cinamaldehyda i kitozana pokazale su se učinkovitima za primjenu u očuvanju i skladištenju voća kako bi se izbjegli veliki gubici prinosa. Također, istraživanje Ngo i sur. (2021) pokazalo je kako je prevlaka od pektina/nanokitozana imala bolji učinak od nanokitozana na očuvanje manga. Prevlaka od pektina/nanokitozana produljila je rok trajanja ploda manga smanjujući gubitak vode. Primjenom prevlaka održana je čvrstoća i kvaliteta plodova sprječavajući promjenu boje i smanjenje ukupnih topljivih čvrstih tvari. Pozitivan učinak pektina/nanokitozana na kvalitetu plodova manga nakon berbe bio je najveći kod koncentracije od 2 % korištenog uz nisku temperaturu skladištenja.

5. ZAKLJUČCI

U ovome radu pripravljene su formulacije jestivih filmova i prevlaka na bazi kitozana i pektina uz dodatak 0,5 % i 1 % limonena. Određena su fizikalno-kemijska i barijerna svojstva samostojećih filmova te je provedeno i ispitivanje promjene boje i respiracije plodova mandarina na koje su nanese pripravljene formulacije prevlaka. Iz dobivenih rezultata proizlaze sljedeći zaključci:

1. Povećanjem udjela limonena povećava se udio suhe tvari, što doprinosi povećanju debljine pripremljenih filmova. Najmanja debljina zabilježena je kod CS te iznosi $38,30 \pm 5,29 \mu\text{m}$, dok je najveća debljina zabilježena kod uzorka PEC0.5 $61,40 \pm 19,57 \mu\text{m}$.
2. Limonen nije utjecao na povećanje topljivosti filmova, ali je utjecao na povećanje kapaciteta bubrenja kod filmova na bazi kitozana. Kapacitet bubrenja porastao je od $2,62 \pm 0,13 \%$ za CS, do $5,46 \pm 2,42 \%$ za CS1.
3. Limonen utječe na promjenu boje filmova, posebice kod kitozana, gdje je najveća razlika iznosila $5,09 \pm 0,84$ za uzorak CS0.5 koja je vidljiva ljudskom oku. Najmanja razlika u boji zabilježena je kod PEC0.5 koja je iznosila $2,47 \pm 0,28$.
4. Limonen je utjecao na smanjenje propusnosti CO_2 kod filmova na bazi kitozana s najvećom propusnošću kod CS koja je iznosila $14,82 \pm 5,33 (\text{cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ dan}^{-1} \text{ bar}^{-1}) \cdot 10^{-5}$. Također je pokazao kako povećanjem koncentracije dolazi do smanjenja propusnosti na O_2 i CO_2 za filmove na bazi pektina. Najmanja propusnost zabilježena je kod PEC1, a iznosila je $2,31 \pm 0,84 (\text{cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ dan}^{-1} \text{ bar}^{-1}) \cdot 10^{-5}$.
5. Propusnost na vodenu paru povećala se s dodatkom limonena. Najmanja je kod uzorka PEC $1,83 \pm 0,16 (\text{g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}) \cdot 10^{-10}$, a najveća kod PEC0.5 iznosi $3,13 \pm 0,10 (\text{g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}) \cdot 10^{-10}$. Brzina prijenosa vodene pare nije pokazala statistički značajnu razliku među uzorcima.
6. S dodatkom limonena, brzina potrošnje kisika i generiranja ugljikovog dioksida raste kod mandarina s prevlakama od pektina i kitozana.
7. Svjetlina mandarina, mjerena parametrom L^* nije pokazala značajniju razliku pri primjeni različitih prevlaka. Najmanja promjena parametra a^* primijećena je kod uzorka s prevlakama CS0.5 i PEC, dok se parametar b^* najmanje promijenio kod PEC. Vizualno je primijećen bolji izgled mandarina nakon 4 tjedna na koje su nanese prevlake na bazi pektina.

6. LITERATURA

Aleksanyan KV (2023) Polysaccharides for Biodegradable Packaging Materials: Past, Present, and Future (Brief Review). *Polymers* **15**(2), 451. <https://doi.org/10.3390/polym15020451>

Anandakumar P, Kamaraj S, Vanitha MK (2020) D-limonene: A multifunctional compound with potent therapeutic effects. *J. Food Biochem* **45**(1), 1-10. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13566>

Anonymous 1 (2004) <https://www.agroklub.com/sortna-lista/voce/mandarina-16/> Pristupljeno 9. rujna 2023.

Anonymous 2 (2018) https://www.researchgate.net/figure/Pectin-chemical-structure-35_fig1_327744451 Pristupljeno 9. listopada 2023.

ASTM Standard Test Method E96 – 80, Water Vapor Transmission of Materials (1980).

ASTM-D2765-95 Standard Test Methods. Determination of Gel Content and Swell Ratio of Crosslinked Ethylene Plastics (2016).

Balau L, Lisa G, Popa MI, Tura V, Melnig, VJ (2004) Physico-chemical properties of chitosan films. *Cent Eur J Chem* **2**, 638-647. <https://doi.org/10.2478/BF02482727>

Chandel V, Biswas D, Roy S, Vaidya D, Verma A, Gupta, A (2022) Current Advancements in Pectin: Extraction, Properties and Multifunctional Applications. *Foods* **11**(17), 2683. <https://doi.org/10.3390/foods11172683>

Chien PJ, Sheu F, Yang FH (2007) Effects of edible chitosan coating on quality and shelf life of sliced mango fruit. *J Food Eng* **78**(1), 225-229. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.09.022>

Chudy S, Biliska, A, Kowalski R, Teichert, J (2020) Colour of milk and milk products in CIE L* a* b* space. *Med Weter* **76**(2), 77-81. <https://doi.org/10.21521/mw.6327>

Cissé M, Montet D, Loiseau G, Ducamp-Collin MN (2012) Influence of the concentrations of chitosan and glycerol on edible film properties showed by response surface methodology. *J Polym Environ* **20**, 830-837. <https://doi.org/10.1007/s10924-012-0437-2>

De Yao K, Liu J, Cheng GX, Lu XD, Tu HL, Da Silva JAL (1996) Swelling behavior of pectin/chitosan complex films. *J Appl Polym Sci* **60**(2), 279-283. [https://doi-org.ezproxy.nsk.hr/10.1002/\(SICI\)1097-4628\(19960411\)60:2<279::AID-APP16>3.0.CO;2-0](https://doi-org.ezproxy.nsk.hr/10.1002/(SICI)1097-4628(19960411)60:2<279::AID-APP16>3.0.CO;2-0)

Durango AM, Soares NF F, Andrade N J (2006) Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. *Food Cont* **17**(5), 336-341. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.10.024>

Eddin LB, Jha NK, Meeran MN, Kesari KK, Beiram R, Ojha S (2021) Neuroprotective potential of limonene and limonene containing natural products. *Molecules* **26**(15), 4535. <https://doi.org/10.3390/molecules26154535>

El Barnossi A, Moussaid F, Housseini AI (2021) Tangerine, banana and pomegranate peels valorisation for sustainable environment: A review. *Biotechnol Rep* **29**, e00574. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00574>

El-Otmani M, Ait-Oubaho, A, Zacarías L (2011) *Citrus* spp.: Orange, mandarin, tangerine, clementine, grapefruit, pomelo, lemon and lime. In Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits. 437-516. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9780857092762.437>

Elsabee MZ, Abdou ES (2013) Chitosan based edible films and coatings: A review. *Mater Sci Eng C* **33**(4), 1819-1841. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.01.010>

Elsabee MZ, Abdou ES, Nagy KS, Eweis M (2008) Surface modification of polypropylene films by chitosan and chitosan/pectin multilayer. *Carbohydr Polym* **71**(2), 187-195. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.05.022>

Erasto P, Viljoen AM (2008) Limonene - a review: biosynthetic, ecological and pharmacological relevance. *Nat Prod Commun* **3**(7), 1193-1202. <https://doi.org/10.1177/1934578X0800300728>

Finger JA, Santos IM, Silva GA, Bernardino MC, Pinto UM, Maffei DF (2023) Minimally Processed Vegetables in Brazil: An Overview of Marketing, Processing, and Microbiological Aspects. *Foods* **12**(11), 2259. <https://doi.org/10.3390/foods12112259>

Freitas CMP, Coimbra JSR, Souza VGL, Sousa RCS (2021) Structure and applications of pectin in food, biomedical, and pharmaceutical industry: A review. *Coatings* **11**(8), 922. <https://doi.org/10.3390/coatings11080922>

Fundo JF, Galvis-Sanchez AC, Delgadillo I, Silva CL, Quintas MA (2015) The effect of polymer/plasticiser ratio in film forming solutions on the properties of chitosan films. *Food Biophys* **10**, 324-333. <https://doi.org/10.1007/s11483-015-9394-3>

Gao HX, He Z, Sun Q, He Q, Zeng WC (2019) A functional polysaccharide film forming by pectin, chitosan, and tea polyphenols. *Carbohydr. Polym.* **215**,1-7. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.029>

Gao Y, Kan C, Chen M, Chen C, Chen Y, Fu Y, Wan C, Chen, J (2018). Effects of chitosan-based coatings enriched with cinnamaldehyde on Mandarin fruit cv. Ponkan during room-temperature storage. *Coatings* **8**(10), 372. <https://doi.org/10.3390/coatings8100372>

Gontard N, Thibault R, Cuq B, Guilbert S (1996) Influence of relative humidity and film composition on oxygen and carbon dioxide permeabilities of edible films. *J Agric Food Chem* **44**(4), 1064–1069. <https://doi.org/10.1021/jf9504327>

González-Lopez ME, Calva-Estrada SDJ, Gradilla-Hernández MS, Barajas-Alvarez P (2023) Current trends in biopolymers for food packaging: a review. *Front Sustainable Food Syst* **7**, 1225371. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1225371>

Grönman K, Soukka R, Järvi-Kääriäinen T, Katajajuuri JM, Kuisma M, Koivupuro HK, Ollila M, Pitkänen M, Miettinen O, Silvenius F, Thun R (2013) Framework for sustainable food packaging design. *Packag Technol Sci* **26**(4), 187-200. <https://doi-org.ezproxy.nsk.hr/10.1002/pts.1971>

- Hernandez-Munoz P, Almenar E, Del Valle V, Velez D, Gavara R (2008) Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria × ananassa*) quality during refrigerated storage. *Food chem* **110**(2), 428-435. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.020>
- Jridi M, Hajji S, Ayed HB, Lassoued I, Mbarek A, Kammoun M, Souissi N, Nasri M (2014) Physical, structural, antioxidant and antimicrobial properties of gelatin–chitosan composite edible films. *Int J Biol Macromol* **67**, 373–379. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.03.05>
- Kaczmarek-Szczepańska B, Zasada L, Grabska-Zielińska S (2022) The physicochemical, antioxidant, and color properties of thin films based on chitosan modified by different phenolic acids. *Coatings* **12**(2), 126. <https://doi.org/10.3390/coatings12020126>
- Kaleb M (2014) Razvoj uzgoja mandarina i ostalih agruma u dolini Neretve. *Agronomski glasnik: Glasilo Hrvatskog agronomskog društva*, **76**(4-5), 219-238.
- Kamal GM, Ashraf MY, Hussain AI, Shahzadi A, Chughtai MI (2013) Antioxidant potential of peel essential oils of three Pakistani citrus species: *Citrus reticulata*, *Citrus sinensis* and *Citrus paradisi*. *Pak J Bot* **45**(4), 1449-1454.
- Kocira A, Kozłowicz K, Panasiewicz K, Staniak M, Szpunar-Krok E, Hortyńska P (2021) Polysaccharides as edible films and coatings: Characteristics and influence on fruit and vegetable quality—A review. *Agronomy* **11**(5), 813. <https://doi.org/10.3390/agronomy11050813>
- Liu T, Li J, Tang Q, Qiu P, Gou D, Zhao J (2022) Chitosan-based materials: An overview of potential applications in food packaging. *Foods* **11**(10), 1490. <https://doi.org/10.3390/foods11101490>
- Ly BCK, Dyer EB, Feig JL, Chien AL, Del Bino S (2020) Research techniques made simple: cutaneous colorimetry: a reliable technique for objective skin color measurement. *J Invest Dermatol* **140**(1), 3-12. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2019.11.003>
- Mehraj S, Sistla, YS (2022) Optimization of process conditions for the development of pectin and glycerol based edible films: Statistical design of experiments. *Electron J Biotechnol.* **55**, 27-39. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2021.11.004>
- Miranda S, Garnica O, Lara-Sagahon V, Cárdenas G (2004) Water vapor permeability and mechanical properties of chitosan composite films. *J Chil Chem Soc* **49**(2), 173-178. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072004000200013>
- Miteluț AC, Popa EE, Drăghici MC, Popescu PA, Popa VI, Bujor OC, Ion VA, Pop ME (2021) Latest developments in edible coatings on minimally processed fruits and vegetables: A review. *Foods* **10**(11), 2821. <https://doi.org/10.3390/foods10112821>
- Mohamed SA, El-Sakhawy M, El-Sakhawy MAM (2020) Polysaccharides, protein and lipid-based natural edible films in food packaging: A review. *Carbohydr Polym* **238**, 116178. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116178>
- Murugachandran SI, Sanz ME (2022) Interactions of limonene with the water dimer. *Phys Chem Chem Phys* **24**(43), 26529-26538. <https://doi.org/10.1039/D2CP04174J>

Ngo TMP, Nguyen TH, Dang TMQ, Do TVT, Reungsang A, Chaiwong N, Rachtanapun P (2021) Effect of pectin/nanochitosan-based coatings and storage temperature on shelf-life extension of “Elephant” Mango (*Mangifera indica* L.) *Fruit. Polymers* **13**(19), 3430. <https://doi.org/10.3390/polym13193430>

Ozdemir M, Floros JD (2004) Active food packaging technologies. *Crit Rev Food Sci Nutr* **44**(3), 185-193. <https://doi.org/10.1080/10408690490441578>

Pravilnik (2009) Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti materijala i predmeta koji dolaze u neposredan dodir s hranom. Narodne novine 125, Zagreb. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009_10_125_3092.html Pristupljeno 07. listopada 2023.

Pen LT, Jiang YM (2003) Effects of chitosan coating on shelf life and quality of fresh-cut Chinese water chestnut. *LWT Food Sci Technol* **36**(3), 359-364. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00024-0](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00024-0)

Ren L, Yan X, Zhou J, Tong J, Su X (2017) Influence of chitosan concentration on mechanical and barrier properties of corn starch/chitosan films. *Int J Biol Macromol* **105**, 1636-1643. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.02.008>

Rodríguez-Rojas A, Arango Ospina A, Rodríguez-Vélez P, Arana-Florez R (2019) What is the new about food packaging material? A bibliometric review during 1996–2016. *Trends Food Sci Technol* **85**, 252–261. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.016>

Singh R, Giri SK, Kulkarni SD (2013) Respiratory behavior of turning stage mature tomato (*Solanum lycopersicum* L.) under closed system at different temperature. *Croat J Food Sci Technol* **5**(2), 78-84.

Srinivasa PC, Ramesh MN, Kumar K, Tharanathan RN (2003) Properties and sorption studies of chitosan–polyvinyl alcohol blend films. *Carbohydr Polym* **53**(4), 431-438. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(03\)00105-X](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(03)00105-X)

Srinivasa PC, Tharanathan RN (2007) Chitin/chitosan - Safe, ecofriendly packaging materials with multiple potential uses. *Food Rev Int* **23**(1), 53-72. <https://doi.org/10.1080/87559120600998163>

Stanescu VN, Olteanu M, Florea-Spiroiu M, Pincu E, Meltzer V (2011) Starch/chitosan film forming hydrogel. *Rev Roum Chim* **56**(8), 827-832.

Ștefănescu BE, Socaciu C, Vodnar DC (2022) Recent progress in functional edible food packaging based on gelatin and chitosan. *Coatings* **12**(12), 1815. <https://doi.org/10.3390/coatings12121815>

Stefanowska K, Woźniak M, Dobrucka R, Ratajczak I (2023) Chitosan with Natural Additives as a Potential Food Packaging. *Materials* **16**(4), 1579. <https://doi.org/10.3390/ma16041579>

Vermeiren L, Heirlings L, Devlieghere F, Debevere J (2003) Oxygen, ethylene and other scavengers. *Novel food packaging techniques* 49.

Weatherall IL, Coombs BD (1992) Skin color measurements in terms of CIELAB color space values. *J Invest Dermatol* **99**(4), 468-473. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12616156>

Xie Q, Zheng X, Li L, Ma L, Zhao Q, Chang S, You L (2021) Effect of curcumin addition on the properties of biodegradable pectin/chitosan films. *Molecules* **26**(8), 2152. <https://doi.org/10.3390/molecules26082152>

Xu YX, Kim KM, Hanna MA, Nag D (2005) Chitosan–starch composite film: preparation and characterization. *Ind Crops Prod* **21**(2), 185-192. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2004.03.002>

Yadav M, Behera K, Chang YH, Chiu FC (2020) Cellulose nanocrystal reinforced chitosan based UV barrier composite films for sustainable packaging. *Polymers* **12**(1), 202. <https://doi.org/10.3390/polym12010202>

Younis HGR, Zhao G (2019) Physicochemical properties of the edible films from the blends of high methoxyl apple pectin and chitosan. *Int J Biol Macromol* **131**, 1057–1066. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.096>

Zhang X, Lian H, Shi J, Meng W, Peng Y (2020) Plant extracts such as pine nut shell, peanut shell and jujube leaf improved the antioxidant ability and gas permeability of chitosan films. *Int J Biol Macromol* **148**, 1242-1250. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.108>

Zhang W, Zhang Y, Cao J, Jiang W (2021) Improving the performance of edible food packaging films by using nanocellulose as an additive. *Int J Biol Macromol* **166**, 288-296. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.185>

IZJAVA O IZVORNOSTI

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

Vlastoručni potpis