

Karakterizacija jestivog filma od kitozana s dodatkom vitamina C

Lenard, Ivan

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:159:917000>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivs 3.0 Unported / Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerađivanja 3.0](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-06**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2023.

Ivan Lenard

**KARAKTERIZACIJA JESTIVOG
FILMA OD KITOZANA S
DODATKOM VITAMINA C**

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

Zahvaljujem mentoru izv. prof. dr. sc. Mariju Ščetaru na ukazanom povjerenju, strpljenju te uloženom vremenu. Zahvaljujem na svim stručnim i životnim savjetima upućenim tijekom izrade diplomskog rada ali i tijekom studiranja.

Zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Miji Kurek na spretnosti, praktičnim savjetima i asistenciji tijekom izvođenja eksperimentalnog dijela rada.

Zahvaljujem svojim roditeljima, na čemu, ne treba se posebno naglašavati.

Na kraju, zahvaljujem i ovaj rad posvećujem sebi.

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: Nutricionizam

Diplomski sveučilišni studij: Nutricionizam

KARAKTERIZACIJA JESTIVOG FILMA OD KITOZANA S DODATKOM VITAMINA C

Ivan Lenard, univ. bacc. nutr.
0054034989

Sažetak: Porastom razumijevanja problematike i utjecaja petrokemijske ambalaže na okoliš sve se više istraživanja usmjerava prema pronalasku alternativnih materijala za izradu pakiranja. Jestivi filmovi jedno su od potencijalnih rješenja navedenog problema. Još jedan od problema današnjice koji se javlja je malnutricija i nizak unos vitamina i minerala koji su esencijalni za normalno funkcioniranje organizma. U ovom radu pripremljeni su jestivi filmovi od kitozana uz dodatak vitamina C kako bi se pokušalo ponuditi rješenje dvaju problema. Vitamin C je jedan od najvažnijih redoks kofaktora biljnih i životinjskih sustava, a najvažnija funkcija mu je reverzibilna oksidacija što znači da ima antioksidativno djelovanje. Rezultati ovog istraživanja pokazuju da su filmovi s dodatkom vitamina C veće debljine, više propusnosti na vodenu paru i kisik, tamniji, i manje transparentni, no veće topljivosti i bubrenja u odnosu na filmove bez dodatka vitamina C. Uvidom u rezultate analiziranih termičkih svojstva, uočeno je da je došlo i do promjena u kemijskoj strukturi filma.

Ključne riječi: *jestivi film, kitozan, vitamin C, kitozan askorbat*

Rad sadrži: 46 stranica, 6 slika, 5 tablica, 93 literaturna navoda, 0 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: izv. prof. dr. sc. Mario Ščetar

Pomoć pri izradi: izv. prof. dr. sc. Mia Kurek

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. izv. prof. dr. sc. Mia Kurek
2. izv. prof. dr. sc. Mario Ščetar
3. izv. prof. dr. sc. Irena Keser
4. izv. prof. dr. sc. Tomislava Vukušić Pavičić (zamjena)

Datum obrane: 26. rujna 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: Nutrition

Graduate university study programme: Nutrition

CHARACTERIZATION OF THE EDIBLE CHITOSAN FILM WITH THE ADDITION OF VITAMIN C

Ivan Lenard, univ. bacc. nutr.
0054034989

Abstract: With the increasing understanding of the issues and the impact of petrochemical packaging on the environment, more and more research is focused on finding alternative packaging materials. Edible films are one of the potential solutions to this problem. Another problem that occurs today is malnutrition and low intake of vitamins and minerals that are essential for the normal functioning of the body. In this paper, edible chitosan films with the addition of vitamin C were prepared in order to try to offer a solution to those problems. Vitamin C is one of the most important redox cofactors of plant and animal systems, and its most important function is reversible oxidation, which means that it has antioxidant activity. Results obtained in this study indicate that films enriched with vitamin C have higher thickness, higher permeability to water vapor and oxygen, they are darker and less transparent, and solubility and swelling were higher compared to films without vitamin C. By examining the differences observed in the DSC thermogram, it can be concluded that changes occurred in the chemical structure of the film.

Keywords: *edible film, chitosan, vitamin C, chitosan ascorbate*

Thesis contains: 46 pages, 6 figures, 5 tables, 93 references, 0 supplements

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: Mario Ščetar, PhD, Associate professor

Technical support and assistance: *Mia Kurek, PhD, Associate professor*

Reviewers:

1. Mia Kurek, PhD, Associate professor
2. Mario Ščetar, PhD, Associate professor
3. Irena Keser, PhD, Associate professor
4. Tomislava Vukušić Pavičić, PhD, Associate professor (substitute)

Thesis defended: September 26th, 2023

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. JESTIVA AMBALAŽA.....	2
2.1.1. Materijali za izradu jestive ambalaže	2
2.1.1.1. Hidrokoloidi.....	3
2.1.1.2. Voskovi, lipidi i derivati.....	4
2.1.1.3. Složeni sustavi (kompoziti).....	4
2.1.1.4. Aditivi.....	4
2.1.1.5. Plastifikatori	4
2.2. IZRADA FILMOVA.....	5
2.2.1. Ekstruzija.....	5
2.2.2. Lijevanje otopine jestivog filma.....	6
2.2.3. Premazivanje	6
2.2.4. Uranjanje	6
2.2.5. Prskanje	6
2.3. JESTIVI FILMOVI	7
2.3.1. Kitozan	7
2.4. FUNKCIONALNI JESTIVI FILMOVI.....	9
2.4.1. Učinak premaza od kitozana i vitamina C na primjeru voća papaje.....	9
2.4.1.1. Gubitak mase	10
2.4.1.2. Boja i izgled	10
2.4.1.3. Zrenje voća	10
2.4.1.4. Oksidativna oštećenja.....	10
2.4.1.5. Omekšavanje voća	11
2.5. SVOJSTVA JESTIVIH FILMOVA.....	11
2.5.1. Fizikalno-kemijska svojstva.....	12
2.5.1.1. Debljina jestivih filmova.....	12
2.5.1.2. Topljivost i udio vode jestivih filmova	12
2.5.2. Mehanička svojstva	12
2.5.3. Termička svojstva	13
2.5.4. Optička svojstva	13
2.5.5. Barijerna svojstva.....	13
2.5.5.1. Propusnost plinova i vodene pare	14
3. EKSPERIMENTALNI DIO	16

3.1. MATERIJALI	16
3.2. PRIPREMA FILMOVA	16
3.3. METODE	18
3.3.1. Debljina filmova.....	18
3.3.2. Mjerenje propusnosti vodene pare kroz polimerni film	18
3.3.3. Mjerenje propusnosti kisika kroz polimerni film	19
3.3.4. Određivanje boje polimernog filma	19
3.3.5. Mjerenje transparentnosti polimernog filma	21
3.3.6. Topljivost filmova u vodi i puferu kao imitaciji sline.....	21
3.3.7. Bubljenje filmova u vodi i puferu kao imitaciji sline	22
3.3.8. Mjerenje pH vrijednosti otopina polimera	23
3.3.9. Diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC).....	23
3.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA	23
4. REZULTATI I RASPRAVA	24
4.1. DEBLJINA FILMOVA.....	24
4.2. PROPUSNOST FILMOVA NA VODENU PARU	25
4.3. PROPUSNOST FILMOVA NA KISIK.....	27
4.4. BOJA JESTIVIH FILMOVA.....	28
4.5. TRANSPARENTOST JESTIVOG FILMA.....	29
4.6. TOPLJIVOST FILMOVA U VODI I PUFERU	30
4.7. BUBRENJE FILMOVA U VODI I PUFERU	32
4.8. ODREĐIVANJE pH VRIJEDNOSTI FILMOGENIH OTOPINA	33
4.9. DSC - DIFERENCIJALNA PRETRAŽNA KALORIMETRIJA	33
5. ZAKLJUČCI.....	36
6. LITERATURA.....	37

1. UVOD

Pakiranje hrane, važna disciplina u području prehrambene tehnologije, odnosi se na očuvanje i zaštitu svih vrsta hrane i njihovih sirovina od kvarenja. Petrokemijska plastika kao što su poliolefini, poliesteri, poliamidi itd. sve se više koristi kao ambalažni materijal zbog lake dostupnosti u velikim količinama, niskih troškova i povoljnih funkcionalnih karakteristika kao što su dobra savojna žilavost i čvrstoća, dobra barijerna svojstva na O₂ i spojeve arome i toplinska brtvljivost. Propusnost na vodenu paru im je niska, i što je najvažnije, nisu biorazgradivi, zbog čega uzrokuju onečišćenje okoliša, što predstavlja ozbiljne ekološke probleme. Stoga se njihova uporaba u bilo kojem obliku mora ograničiti ili možda čak i postupno napustiti kako bi se izbjegli problemi vezani uz odlaganje otpada (Tharanathan i Saroja, 2001). U posljednje vrijeme dolazi do promjene paradigme koju nameće rastuća ekološka svijest kako bi se pronašle alternative bolje za okoliš. U određenom smislu, biorazgradivost nije samo funkcionalni zahtjev, već i važan ekološki atribut. Dakle, koncept biorazgradivosti ima i korisnički i ekološki prihvatljive attribute. Sirovine su u osnovi izvedene iz poljoprivrednih sirovina koje se mogu obnoviti ili otpadaka iz morske i/ili prehrambene industrije. Time se kapitalizira iskorištavanje prirodnih resursa u ekološki prihvatljivoj i sigurnoj atmosferi. Dodatna prednost biorazgradivih ambalažnih materijala je u tome što kod biorazgradnje i kompostiranja mogu djelovati kao gnojivo i regeneratori tla te tako utjecati na bolji prinos usjeva. Hrana, bilo u prerađenom obliku ili u obliku sirovine, ovisno o aktivitetu vode i temperaturi skladištenja, vrlo je kvarljiva. Stoga je potrebna precizna tehnološka intervencija kako bi se produljio njen rok trajanja. Kvalitetno čuvanje hrane ozbiljan je problem u današnjim tehnološkim procesima prerade hrane. Gubici nakon žetve poljoprivrednih proizvoda, na primjer, voća i povrća, značajni su i to u rasponu od 15 do 20 %. Ti gubici uglavnom su posljedica neprimjerenog rukovanja i nepoželjnih tehnoloških praksi nakon žetve. Transport od proizvodnog centra do udaljenih prodajnih mjesta prouzrokuje dodatne gubitke uslijed kvarenja. Dostupnost svježih poljoprivrednih proizvoda s poboljšanim rokom trajanja, boljim okusom/aromom i teksturnim karakteristikama te većom nutritivnom vrijednošću potreba je današnjice. Cilj ovog rada bio je istražiti promijene karakteristika jestivog filma od kitozana nakon dodavanja vitamina C. Primjenom raznih metoda istraživanja poput mjerenja debljine filma, mjerenja propusnosti vodene pare i kisika kroz film, određivanja boje i transparentnosti filma, mjerenja topljivosti i bubrenja filma, mjerenja pH vrijednosti filmogenih otopina te primjenom diferencijalne pretražne kalorimetrije određene su promjene do kojih dolazi nakon dodavanja vitamina C.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. JESTIVA AMBALAŽA

Ambalaža za pakiranje hrane ima važnu ulogu u proizvodnom lancu te je bitan dio posljednjeg procesa. Jestivi filmovi i premazi jedna su od rastućih strategija u optimizaciji kvalitete hrane, a njihova korist mjeri se sposobnošću produljenja roka trajanja proizvoda, očuvanjem kvalitete proizvoda te doprinosom ekonomskoj efikasnosti materijala za pakiranje (Arsimendi i sur., 2013). Dodatno, potrošači zahtijevaju proizvode visoke kvalitete koji sadrže isključivo prirodne sastojke. Zbog toga su stvoreni novi materijali za ambalažu iz prirodnih izvora. Međutim, takvi materijali poznati su u primjeni samo s određenim vrstama hrane, tj. nisu univerzalni, što predstavlja izazov pri razvoju specifičnih filmova za sve vrste hrane. Karakteristike koje jestiva ambalaža mora zadovoljiti primarno ovise o prehrambenom proizvodu na kojem će se primjenjivati. Kako svaki proizvod ima određena kemijska i fizikalna svojstva, pa i specifičan proizvodni proces (npr. način berbe, transporta i skladištenja kod voća i povrća) jestiva ambalaža osigurava barijeru za plinove (poput kisika, ugljikovog dioksida, etilena i dr.), lipide, vodu (vodenu paru), sastojke arome iz okruženja te razne patogene ali i mehaničku zaštitu (faktore stresa) (Barbosa-Pereira i sur., 2014; Janjarasskul i sur., 2014). Te karakteristike treba prilagoditi primjenom različitih materijala (topljivost u vodenom ili uljnom mediju) i aditiva (plastifikatori, arome, antimikotne tvari, antioksidansi, probiotici i prebiotici) koji se dodaju u filmove i premaze radi poboljšanja mehaničkih, senzorskih i zaštitnih svojstava (Galić, 2009). Razlikujemo dvije vrste jestive ambalaže: jestivi premazi i jestivi filmovi. Glavna razlika između jestivog premaza i filma je u načinu nanošenja na proizvod. Jestivi premaz nastaje izravnim nanošenjem otopine na proizvod postupkom uranjanja, prskanja ili premazivanja, te se zatim suši pri čemu nastaje tanki sloj premaza na površini proizvoda. Pod pojmom jestivi film podrazumijevamo suhi film koji nastaje sušenjem otopine na supstratu. Nakon sušenja se film odvaja od supstrata i nanosi na proizvod kojeg želimo zaštititi (Otoni i sur., 2017). Jestivi filmovi i premazi mogu u potpunosti prekriti proizvod, ali mogu se koristiti i kao slojevi između komponenata hrane (Garcia i sur., 2016.). Glavna uloga jestivih filmova je povećati prirodnu barijeru voća i povrća dok u isto vrijeme moraju biti sigurni za ljudsku konzumaciju i ekološki prihvatljivi (Ali i sur., 2010). Međutim koriste se i u pakiranju drugih vrsta proizvoda poput ribe, sira, kobasica itd.

2.1.1. Materijali za izradu jestive ambalaže

Jestiva se ambalaža proizvodi od jestivih komponenti koje moraju biti odobrene za ljudsku konzumaciju od strane službenih institucija za sigurnost hrane i materijala u dodiru s hranom.

U Europskoj uniji tu funkciju obavlja Europska agencija za sigurnost hrane (engl. *European Food Safety Authority*, EFSA), a u Sjedinjenim Američkim Državama Agencija za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration*, FDA). Postoji velika raznolikost materijala koji se koriste u proizvodnji jestive ambalaže iz čega proizlaze i različita ponašanja pri formiranju istih. Proteini i polisaharidi formiraju filmove dobrih mehaničkih svojstava ali loše barijere za vlagu zbog svoje hidrofilne prirode. Funkcionalna svojstva lipida ovise o njihovoj kemijskoj strukturi (Rhim i Shellhammer, 2005) i njihovoj polarnosti, što dalje ovisi o distribuciji kemijskih grupa, duljine alifatskih lanaca, te stupnju saturacije. Zasićene masne kiseline su vrlo efikasne u kontroli prolaska vlage zbog niske polarnosti u usporedbi s nezasićenim masnim kiselinama (Morillon i sur., 2002). Kako bi se neka svojstva (mehanička, prozirnost, barijerna svojstva te propusnost na vodenu paru) ovih materijala poboljšala proizvode se različiti kompoziti. Temeljeno prema materijalu od kojega je jestivi film izgrađen (Skurtys i sur., 2010), jestivi filmovi se dijele na:

- Hidrokoloide koje stvaraju proteini i polisaharidi;
- Lipide;
- Kompozite, tj. kombinacije različitih materijala, npr. hidrokoloida i lipida.

2.1.1.1. Hidrokoloidi

Hidrokoloidni materijali korišteni u proizvodnji jestivih filmova definirani su kao hidrofilni polimeri biljnog, životinjskog, mikrobnog ili sintetskog podrijetla (Dhanapal i sur., 2012). Njihova zajednička karakteristika je velik broj hidroksilnih skupina što im daje povećanu sposobnost vezanja vode, a mogu imati i ionsku i/ili ionizabilnu grupu (npr. alginat, karagenan, karboksimetilceluloza, pektin, ksantan guma i kitozan) (Skurtys i sur., 2010). U prisutnosti vode hidrokoloidi su dispergirani pri čemu nastaje složeni sustav koloidnih svojstava, tj. sustav koji nije ni prava otopina, ali nije ni suspenzija, već nešto između (Milani i Maleki, 2012). Filmovi i premazi načinjeni od hidrokoloida topljivih u vodi, poput polisaharida i nekih proteina imaju dobra barijerna svojstva prema lipidima, te nižu propusnost za plinove, međutim zaštita od vlage je ograničena (Guilbert i sur., 1996). Zbog svoje jedinstvene strukture, proteinski filmovi pokazuju bolja svojstva od polisaharidnih i lipidnih filmova, međutim barijerno svojstvo prema vlazi je ograničeno. Kako bi se taj nedostatak izbjegao svojstva proteina se poboljšavaju kemijskim, fizikalnim i enzimskim procesima, te kombiniranjem s hidrofobnijim materijalima (Bourtoom, 2009). Polisaharidni jestivi filmovi i premazi nastaju interakcijama specifičnih dijelova dugačkih ugljikohidratnih lanaca tijekom otapanja u otapalu, te nastajanjem novih hidrofilnih veza uslijed isparavanja otapala. Zbog svojih odličnih barijernih svojstva prema

kisiku i lipidima, te zbog dobrih mehaničkih svojstava sve češće se koriste kao glavni materijal pri izradi jestivih filmova (Galić, 2009). Iako zbog svoje hidrofilnosti imaju slabiju otpornost na vodenu paru, svejedno mogu pridonijeti smanjenom gubitku vlage iz proizvoda (Kester i Fennema, 1986).

2.1.1.2. Voskovi, lipidi i derivati

Od svih jestivih filmova, zbog svojih strukturnih svojstva, filmovi od voskova imaju najbolju barijernu zaštitu od vlage. Pčelinji vosak pokazao je 25 puta manju permeaciju vode kroz film u odnosu s uljnim i čak 100-200 puta manju u odnosu na hidrokolooidne filmove (Galić, 2009). Međutim, kako niti jedan materijal nije savršen sam po sebi, tako i voštani filmovi pokazuju nepoželjna svojstva poput užeglosti i masnije površine proizvoda. Još neke poteškoće vezano uz ovakve vrste filmova su neunificirana površina filma (različita debljina, pukotine), te loša organoleptička svojstva (npr. voštani okus). Neki od tih nedostataka mogu se umanjiti naprašivanjem proizvoda škrobom prije nanošenja filma ili premaza (Galić, 2009).

2.1.1.3. Složeni sustavi (kompoziti)

Uloga složenih sustava je uklanjanje nepoželjnih pojava i negativnih svojstva materijala kombinacijom dvokomponentnih ili višekomponentnih filmova, na način da svaka komponenta doprinosi novim svojstvima i kvaliteti novonastalog filma. Neke od kombinacija materijala su škrob i alginati, guma i škrob, pektin i želatina, dekstrin i polisaharidne želatine. Npr. kako bi se poboljšala mehanička i organoleptička svojstva lipidnih filmova hidrofobne strukture kombiniraju se s polarnim polimerima. Takav novonastali film ima zaštitnu barijeru prema vodi (lipidna komponenta) i čvršću strukturu (polarna komponenta) (Galić, 2009).

2.1.1.4. Aditivi

Kako bi se poboljšala zaštitna, nutritivna i organoleptička svojstva u proizvodnji filmova se koriste razni aditivi. Dodavanjem bojila, zaslađivača, kiselina i soli podiže se kvaliteta senzorskih svojstva, te se uklanjaju nepoželjni i neugodni mirisi. Zaštitna svojstva filmova poboljšavaju se dodatkom antimikrobnih tvari poput organskih kiselina, sorbinske kiseline i tokoferola. Primjerice korištenjem limunske kiseline i otopinom natrijevog klorida može se spriječiti mikrobno kvarenje mesa (Galić, 2009). Za poboljšanje nutritivne vrijednosti hrane u filmove se dodaju određeni nutritivni aditivi (nutraceutici).

2.1.1.5. Plastifikatori

Plastifikatori se dodaju u filmove kako bi se smanjila njihova krhkost, te povećala fleksibilnost, žilavost i otpornost na pucanje tijekom rukovanja i skladištenja (Galić, 2009).

Zbog jednolike raspodjele plastifikatora unutar strukture polimera od kojega je načinjen film, on postaje savitljiviji i rastezljiviji (Skurtys i sur., 2010). Neki od plastifikatora koji se koriste u prehrambenoj industriji su:

- mono-, di- i oligo- saharidi (glukoza ili fruktozno-glukozni sirup, med);
- polioli (sorbitol, glicerol, gliceril derivati i polietilen glikol);
- lipidi i derivati lipida (masne kiseline, monogliceridi, derivati estera, fosfolipidi);
- voda.

Dodaju se ovisno o čvrstoći polimera, u količini od 10 do 60 % mase hidrokoloida (Skurtys i sur., 2010), a njihova učinkovitost se određuje iskustvom (Galić, 2009).

2.2. IZRADA FILMOVA

U sustavu hrana-jestivi film prisutne su dvije vrste sila: sile kohezije (djeluju među molekulama od kojega je sačinjen film) i sile adhezije (djeluju između filma i supstrata, tj. hrane). Svojstva filma (gustoća, kompaktnost, poroznost, permeabilnost, fleksibilnost i žilavost) određuje stupanj kohezije među molekulama polimera. Prilikom izrade filmova, najčešće se preporuča upotreba ugrijane otopine filma, ali vrlo je bitno voditi računa kako temperatura ne bi bila previsoka zbog povećane mogućnosti nastanka ne kohezivnog filma, ljuštenja te filma rupičaste strukture. Čvrstoća filma raste proporcionalno debljini filma do određene vrijednosti, no nakon što se ta vrijednost dosegne, čvrstoća filma ostaje ne promijenjena (Galić, 2009). Postoji nekoliko međusobno različitih procesa izrade filmova koji rezultiraju različitim svojstvima filmova, ali i vrsta filma određuje najpovoljniji proces izrade: ekstruzija, lijevanje otopine jestivog filma, premazivanje, uranjanje i prskanje (Pamuković, 2017; Garcia i sur., 2016; Novak, 2015; Donhowe i Fennema, 1994).

2.2.1. Ekstruzija

Ekstruzija je kontinuirani, učinkovit i ekonomski prihvatljiv proces, pogodan za proizvodnju većih količina jestivih filmova (Garcia i sur., 2016). Postupak se temelji na termoplastičnim svojstvima polimera. U polimer se dodaju plastifikatori, punila, stabilizatori, maziva i drugi aditivi kako bi dobili proizvod sa željenim svojstvima. Sastojci se pomoću jednog ili dva vijka postavljenih u cijevi guraju u kućište ekstrudera. Uslijed rotacije vijaka dolazi do postupnog povećanja tlaka i temperature te tako dolazi do sabijanja i miješanja sastojaka. Prilikom izlaska proizvoda dolazi do ekspanzije. U ovom je postupku važno kontrolirati ključne parametre poput brzine uvlačenja, brzine vrtnje, konfiguracije vijka, omjera

duljine i promjera vijka, temperature, oblika cijevi, itd. Filmovi proizvedeni postupkom ekstruzije pokazuju bolja mehanička, barijerna i mikrostrukturalna svojstva u odnosu na filmove dobiveni lijevanjem (Hernandez-Izquierdo i sur., 2008).

2.2.2. Lijevanje otopine jestivog filma

Lijevanje je najčešći postupak proizvodnje hidrokoloidnih filmova. Postupak se temelji na lijevanju otopine filma na prikladnu podlogu te se zatim suše u konvekcijskoj pećnici na određenoj temperaturi kroz određeno vrijeme. Sušenjem otapalo isparava te se dobiva film u krutom obliku. Poželjno je sušiti film do udjela vlage 5-10 %. U ovom postupku važno je odabrati prikladni supstrat kako bi se film nakon sušenja mogao odvojiti od podloge bez oštećenja. Konačan izgled i svojstva filma ne ovise samo o uvjetima sušenja (relativna temperatura i vlažnost zraka) već ovise i o sastavu otopine za lijevanje te debljini mokrog lijevanja.

2.2.3. Premazivanje

Premazivanje je postupak ručnog nanošenja otopine filma pomoću četke na željeni proizvod. Film nastaje skrućivanjem na sobnoj temperaturi ili sušenjem na povišenoj temperaturi. Premazivanje se pokazalo boljim od postupka uranjanja ili omatanja u smislu smanjenja gubitka vlage u proizvodu koji se želi zaštititi (Pamuković, 2017).

2.2.4. Uranjanje

Uranjanje je postupak u kojem jestivi film nastaje potapanjem proizvoda u jestivu otopinu te naknadnim cijedenjem. Postupak potapanja traje 5-30 sekundi, a obično se primjenjuje za namirnice nepravilnog oblika i kada je otopina filma vrlo viskozna. Kod ovakvog načina nanošenja filma debljina i pokrivenost filmom mogu biti manje jednolični nego kod ostalih postupaka (Pamuković, 2017).

2.2.5. Prskanje

Prskanje ili raspršivanje je najčešća tehnika koja se koristi za oblikovanje jestivog premaza (Skurtys i sur., 2010). Definira se kao postupak jednolikog nanošenja otopine filma sustavom raspršivanja na proizvod velike površine. Ovaj postupak nije pogodan za viskozne otopine jer se one teško ili uopće ne raspršuju. Sprej izlazi iz mlaznice kao dvodimenzionalni list tekućine koji se razbija u seriju cilindričnih vrpca (Novak, 2015) te tako nastaje tanki sloj filma s minimalnom količinom vode na proizvodu. Ova tehnika zahtjeva okretanje proizvoda kako bi se film nanio sa svih strana proizvoda.

2.3. JESTIVI FILMOVI

Jestivi zaštitni filmovi mogu se definirati kao tanki sloj materijala koji potrošač može konzumirati, a koji osigurava barijeru prema plinovima i vodenoj pari (Galić, 2009; Robertson, 2006).

Osim što imaju zaštitnu ulogu, jestivi filmovi mogu poboljšati kvalitetu hrane, te njenu trajnost i funkcionalnost. Upotrebljavaju se kao sloj između različitih komponenti hrane ukoliko se radi o heterogenoj hrani ili se proizvod u potpunosti može prekriti filmom. Suvremeni zaštitni filmovi trebaju zadovoljiti neke osnovne uvjete poput: (i) odgovarajuća barijerna svojstva (vlaga, plinovi, itd.); (ii) dobra mehanička svojstva; te (iii) dobra organoleptička svojstva (Galić, 2009). Tijekom prerade i skladištenja film je sklon raznim oštećenjima. Stoga je važno osigurati da film zadrži željena svojstva. Kako bi se to osiguralo, filmovi se mogu poboljšati raznim aditivima poput plastifikatora (omekšavala), tvari arome, antimikotnih tvari ili antioksidansa. Poželjno je da oni u međusobnim interakcijama ne narušavaju organoleptička svojstva samog proizvoda, a budući se uglavnom koriste u malim koncentracijama, smatra se da je taj utjecaj najčešće zanemariv (Zhao i McDaniel, 2005). Međutim, dodatkom aditiva u jestive filmove značajno se mogu poboljšati ne samo organoleptička svojstva hrane, već se čak mogu ukloniti neugodni mirisi kod nekih jestivih filmova (Galić, 2009). Ipak treba paziti da se njihovom primjenom ne smije maskirati neugodan miris hrane uzrokovan mikrobnim kvarenjem kako se ne bi zavaralo potrošača odnosno dovelo u pitanje zdravstvena ispravnost takvog proizvoda.

Primjena jestivih filmova uglavnom je ograničena na prehrambene proizvode s niskim ili srednjim udjelom vlage, kao i na smrznute proizvode (Galić, 2009). Proizvode pakirane u jestivu ambalažu je potrebno zaštititi dodatnim materijalom/pakiranjem kako bi se očuvala svojstva zaštitnog filma i kvaliteta takvog pakiranja. Jestivi film mora biti odabran prema specifičnoj namirnici, vrsti prehrambenog proizvoda i glavnom čimbeniku smanjenja kvalitete proizvoda kako bi se pružila maksimalna zaštita i produljio rok trajanja same namirnice (Petersen i sur., 1999).

2.3.1. Kitozan

Hitin, komponenta egzoskeleta kukaca i rakova, uključujući rakove i škampe, sastoji se od ostataka N-acetilglukozamina spojenih β -1,4-glikozidnim vezama. To je drugi najzastupljeniji biopolimer na svijetu nakon celuloze. Strukturno hitin (poli-N-acetilglukozamin) podsjeća na celulozu, osim što je supstituent atoma C-2 acetilirana aminokiselina (-NH-CO-CH₃) umjesto

hidroksilne (-OH) skupine. Interes za hitinom leži u činjenici da njegov deacetilirani proizvod nazvan kitozan pokazuje poželjne funkcionalne i biološke osobine, uključujući antimikrobna i antioksidativna svojstva (Friedman i Juneja, 2010). Deacetilacija se postiže izlaganjem hitina jakim otopinama NaOH ili enzimu hitinazi. Kitozan (poli- β (1,4)-2-amino-2-deoksi-D-glukopiranoza) je linearni kopolimer. Izgrađen je od dvije vrste ponavljajućih monomernih podjedinica N-acetil-2-amino-2-deoksi-D-glukopiranoza (acetilirana podjedinica) i 2-amino-2-deoksi-D-glukopiranoza (deacetilirana podjedinica) (Carneiro-da-Cunha i sur., 2010) koje su međusobno povezane β -(1 \rightarrow 4) glikozidnim vezama. Za razliku od hitina, kitozan je pogodan za pripremu jestivih filmova, biorazgradiv i biokompatibilan (Vuillemin i sur., 2019). Osim toga, kitozan pokazuje snažne antimikrobne učinke protiv različitih patogenih organizama koji uzrokuju kvarenje (Friedman i Juneja, 2010) uključujući gljive (kvasce i plijesni), Gram pozitivne i Gram negativne bakterije (van den Broek i sur., 2015; Friedman i Juneja, 2010; Kong i sur., 2010). Zbog svega navedenoga, kitozan je prepoznat kao potencijalni prirodni konzervans.

Čini se da glavni mehanizam koji upravlja bakteriostatskim i bakteriocidnim učincima kitozana uključuje vezanje njegovih pozitivno nabijenih amino (-NH₃) skupina na negativno nabijene karboksilne (-COO-) skupine smještene na površini bakterijskih staničnih membrana (Rabea i sur., 2003). Takvo elektrokemijsko vezanje može promijeniti raspodjelu negativnih i pozitivnih naboja na površinama staničnih membrana, što rezultira promjenama u propusnosti membrane, curenju staničnih komponenti, nakon čega slijedi stanična smrt (Jeon i sur., 2002).

Osim opisanih antimikrobnih učinaka u hrani, kitozan također pokazuje brojna terapijska svojstva (Amidi i sur., 2010; Yin i sur., 2009). To uključuje antikancerogena, antikolesterolna, antihipertenzivna, hemostatska, imunoprotektivna i neuroprotektivna svojstva.

Zapravo, kitozan je zajednički naziv za sve deacetilirane oblike hitina, koji se međusobno razlikuju po stupnju deacetilacije i molnoj masi, a gotovo sva funkcionalna svojstva kitozana ovise upravo o duljini polimernog lanca te o gustoći i raspodjeli naboja (Martinac i Filipović-Grčić, 2002). Na tržištu se može pronaći u obliku otopine, praška, kuglica ili vlakana, a koristi se u medicini, prehrambenoj i kemijskoj industriji.

Čisti kitozanski filmovi su kohezivni i kompaktni, a površina im je glatka, bez pora i pukotina (Skurtys i sur., 2010). Slabo su propusni za plinove (CO₂ i O₂) i imaju veliku propusnost vodene pare. Kako bi se poboljšala zaštitna svojstva propusnosti vode u kitozanske filmove se često dodaju hidrofobne komponente (Bourbon i sur., 2011).

2.4. FUNKCIONALNI JESTIVI FILMOVI

Jestivi filmovi i premaze predstavljaju obećavajuću i inovativnu vrstu pakiranja proizvoda, primarno hrane, koja može služiti kao sredstvo nosača aktivnih sastojaka poput antioksidansa, antimikrobnih tvari, bojila, aroma, te nutraceutika. S obzirom na ambivalentno svojstvo jestivih filmova kao hrane i kao pakiranja, oni moraju zadovoljiti vrlo specifične potrebe (navedene u poglavlju 2.2.). Dodatkom aditiva, tj. bioaktivnih tvari efikasnije se postižu potrebe za očuvanjem kvalitete, sigurnosti, te senzorskih svojstava hrane (Salgado i sur., 2015). Osim što mogu očuvati, aditivi mogu i poboljšati kvalitetu hrane. S obzirom na vrlo složenu i raznoliku strukturu jestivih filmova vrlo je bitno obratiti pozornost na to kako aditivi utječu na njihov integritet. Aditivi poboljšavaju svojstva filmova, međutim samo do jedne razine pri kojoj počinju interferirati s fizikalnim i mehaničkim svojstvima, te kompromitirati barijerna svojstva samih filmova (Ramos i sur., 2012).

2.4.1. Učinak premaza od kitozana i vitamina C na primjeru voća papaje

Jestivi premaz kitozana može održavati svježinu voća smanjenjem mikrobnog kvarenja, omekšavanja i oksidativnog stresa (Ghosh i sur., 2021; Gao i sur., 2013). Kitozanski premaz također usporava gubitak mase, čime su se zadržale čvrstoća kore i niže razine ukupnih topljivih tvari (engl. *total soluble solids*, TSS) plodova manga (Limon i sur., 2021). Primjenom kitozana odgođena je senescencija. To je posljedica inhibicije brzine disanja, pojačanog antioksidativnog sustava te povećane aktivnosti antioksidativnih enzima kao što su superoksid dismutaza (SOD), peroksidaza (POD), katalaza (CAT) i askorbat peroksidaza (APX), a dokazano je ukupnim sadržajem fenola i flavonoida te smanjenjem akumulacije vodikovog peroksida (H_2O_2) i malondialdehida (MDA) (Zhang i sur., 2019).

Askorbinska kiselina (ASK) ima široku primjenu kao redukcijsko sredstvo u prehrambenoj industriji, uglavnom kako bi se spriječile neželjene reakcije kao što je enzimsko posmeđivanje hrane. ASK ima antioksidativnu aktivnost i sposobnost smanjenja pH vrijednosti vode za pranje. Održava visok sadržaj fenola, visoku aktivnost antioksidativnih enzima, uključujući SOD, POD i polifenol oksidazu (PPO), antioksidativni kapacitet (vitamin C, ukupni šećeri i flavonoidi, ukupni fenoli i antocijani) te nisku stopu kvarenja voća (Saleem i sur., 2021; Zhao i sur., 2019).

Zhou i sur. (2022) prikazali su nekoliko faktora na koje je primjena kombiniranog filma od kitozana i vitamina C na voću papaje imala pozitivne ishode. Razmotrit ćemo ih u slijedećem dijelu.

2.4.1.1. Gubitak mase

Degradacija i skupljanje tkiva voća nakon žetve može biti posljedica gubitka mase zbog gubitka vlage (Ghosh i sur., 2021). U studiji Ghosh i sur. (2021), ASK i CTS (kitozan) zasebno su smanjili gubitak mase u različitim omjerima, a u kombinaciji održali na niskoj razini. Tretiranjem površine ploda kitozanom nastaje jestivi premaz koji služi kao barijera za plinove (sprečava razmjenu kisika i ugljičnog dioksida) i usporava stopu disanja (Qiu i sur., 2013). Prema Ghosh i sur. (2021) primjenom jestivih premaza voće se može zaštititi od gubitka vlage. Slično tome, kriške korijena biljke lotusa tretirane s ASK imale su smanjen gubitak mase (Ali sur., 2020). U studiji Ali i sur. (2020), primjena ASK s CTS bila je učinkovita u smanjenju gubitka mase papaje. Kombinacijom ASK i CTS inhibiran je gubitak vode i odgođeno sazrijevanje i senescencija plodova papaje.

2.4.1.2. Boja i izgled

Najvažnije karakteristike voća su boja i izgled jer su to prve stvari na koje se kupci fokusiraju, a imaju moć utjecati na njihov odabir pri kupnji (Ali i sur., 2011). Stupanj zrenja i smeđe boje u plodovima može se procijeniti pomoću L^* , a^* i b^* koordinata prema CIELAB sustavu brojanog vrednovanja boje (Lama i sur., 2020; Ali i sur., 2011). Primjenom ASK, CTS i ASK/CTS zabilježene su smanjene vrijednosti L^* , a^* i b^* . To upućuje na odgođenu senescenciju i tamnjenje ploda. Kombinacijom ASK i CTS izmjereno je niži indeks smeđe boje.

2.4.1.3. Zrenje voća

Kombinacijom ASK i CTS-a smanjen je sadržaj TSS-a tijekom razdoblja skladištenja. Smanjenje TSS-a može biti povezano s brzinom disanja i potrošnjom šećera tijekom ovog procesa (Moreira i sur., 2006). Jedan od osnovnih markera za zrenje voća je sadržaj šećera. I prije i nakon zrenja nereducirajući šećeri, uglavnom disaharidi, pretvaraju se u jednostavne šećere, od kojih je većina reducirajućih šećera (Kou i Wu, 2018). Međutim, pokazalo se da premazi usporavaju disanje i metabolizam, što zauzvrat usporava zrenje i snižava stope pri kojima se nereducirajući šećeri pretvaraju u reducirajuće šećere. Voće papaje premazano CTS i ASK s CTS imalo je niži sadržaj reducirajućih šećera i veći sadržaj topljivih šećera.

2.4.1.4. Oksidativna oštećenja

Jedna od poznatih reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) odgovornih za oksidativna oštećenja u plodovima je H_2O_2 , koji nastaje zbog uvjeta skladištenja nakon berbe. Nastanak ROS-a u voću pokreće antioksidativni sustav koji pomaže u smanjenju oksidativnih oštećenja (Ghosh i sur., 2021; Ali i sur., 2012). Primjena ASK s CTS smanjila je nakupljanje H_2O_2 i oksidativna oštećenja, što je produljilo rok trajanja tretiranih plodova papaje i poboljšalo njihovu kvalitetu.

CTS premaz funkcionira kao polupropusna barijera koja ograničava prijenos kisika u tkiva voća, što smanjuje peroksidaciju lipida i smanjuje oksidativna oštećenja (Nguyen i sur., 2020). ASK služi kao antioksidans i smanjuje oksidativni stres u svježem povrću tretiranom s ASK (Ali i sur., 2020).

Atmosferski uvjeti (relativna vlažnost zraka, temperatura, omjeri plinova, itd.) nakon berbe dovode do pojave oksidativnog stresa, što pokreće stvaranje ROS-a i rezultira oksidativnim oštećenjem tkiva voća (Ali i sur., 2021). Antioksidativni enzimi (SOD, POD, CAT i APX) i antioksidansi (ASK, ukupni fenolni i karotenoid) aktiviraju se u biljnim tkivima kao dio obrambenog sustava za čišćenje ROS-a (Soares i sur., 2021; Imahori i sur., 2016). U studiji Zhou i sur. (2022) rezultati su pokazali da su plodovi tretirani ASK s CTS imali visoke razine ukupnih fenolnih tvari i visoku potrošnju askorbinske kiseline, što je rezultiralo visokom antioksidacijskom aktivnošću. Oni su bili u skladu s prethodnim istraživanjima (Ali i sur., 2020; Lin i sur., 2020).

2.4.1.5. Omekšavanje voća

Na kvalitetu voća nakon berbe značajno utječe čvrstoća voća, a ključna je karakteristika. Omekšavanje voća prvenstveno je uzrokovano otapanjem pektina, gubitkom galaktoze i arabinoze te depolimerizacijom ksiloglukana tijekom zrenja i nakon berbe (Brummell, 2006). Razgradnja polisaharida stanične stijenke uzrok je povećane aktivnosti enzima koji razgrađuju staničnu stijenku kao što su PG (poligalakturonaza), PME (pektin metil esteraza) i β -GAL (β -galaktozidaza). Navedeni enzimi smanjuju čvrstoću i kohezivnost ploda promijenom strukture stanične stijenke (Zhao i sur., 2019; Yang i sur., 2018). Kombinacija ASK i CTS održava čvrstoću voća reguliranjem enzima koji razgrađuju stanične stijenke. Kombinacijom ASK s CTS smanjena je aktivnost i genetska ekspresija PG, PME i β -GAL u različitim stupnjevima u ranim i kasnim fazama skladištenja. Kada se premazi nanose na površinu ploda, stvaraju barijeru koja smanjuje protok kisika i usporava aktivnost enzima koji razgrađuju staničnu stijenku, čime se poboljšava integritet membrane (Lin i sur., 2018).

2.5. SVOJSTVA JESTIVIH FILMOVA

Učinkovitost i funkcionalnost jestivih filmova u direktnoj su ovisnosti s njegovim fizikalno-kemijskim, mehaničkim, optičkim i barijernim svojstvima. Karakteristike jestivih filmova povezane su s mehaničkim svojstvima filma: obično su krhkiji i zahtijevaju više pažnje pri rukovanju u usporedbi s plastičnim filmovima. Još jedna od karakteristika je njihova visoka

osjetljivost na vlagu i temperaturu te se stoga posebna pozornost mora posvetiti kontroli temperature i relativne vlažnosti (Guillard i sur., 2016).

2.5.1. Fizikalno-kemijska svojstva

2.5.1.1. Debljina jestivih filmova

Rok trajanja proizvoda na kojega se nanosi jestivi film direktno ovisi o debljini filma. Debljina jestivog filma kontrolira se volumenom otopine i koncentracijom suhe tvari (Liu, 2005), ali ovisi i o viskoznosti otopine i tehnici koja se koristi. Za određivanje debljine filma postoje dvije metode, kontaktna i ne-kontaktna, a konačna debljina filma mora biti manja od 0,25 mm. Kontaktna metoda provodi se mikrometrom, jednostavnija je, a nedostatak je mogućnost oštećenja uzorka. Ne-kontaktna metoda je djelotvornija, ne dolazi do oštećenja uzorka, ali je složenija.

2.5.1.2. Topljivost i udio vode jestivih filmova

Topljivost ili netopljivost filma u vodi karakterizira ponašanje i stabilnost filma u vodenom okruženju. Ovisno o kemijskom sastavu filma, film može biti hidrofilan, tj. topljiv ili hidrofoban tj. netopljiv u vodi. Hidrofobnost je fenomen kojim dominira snažna samo asocijacija molekula vode, te isključuje vezanje i solubilizaciju nepolarnih otopina (Vogler, 1998). Logično, kemijski sastav namirnice koja se želi zaštititi diktirat će odabir vrste filma. Namirnice osjetljive na migraciju vode bolje će biti zaštićene hidrofobnim jestivim filmovima jer oni pružaju bolju zaštitu od utjecaja vlage. Hidrofilni filmovi sprječavaju oksidaciju lipida i drugih osjetljivih sastojaka.

Udio vode je faktor koji predstavlja ukupni volumen vode inkorporiran u polimernu strukturu filma (Buljan, 2020).

2.5.2. Mehanička svojstva

Mehanička svojstva jednako su važna za jestive filmove kao i barijerna svojstva, a mogu ublažiti oštećenja hrane tijekom rukovanja i transporta. Jestivi filmovi imaju slabija mehanička svojstva u usporedbi sa sintetičkim, a hidrokoloidni filmovi imaju bolja mehanička svojstva u usporedbi s lipidnim filmovima. Dodatkom stabilizatora, aditiva, plastifikatora i/ili emulgatora može se utjecati na njihovo poboljšanje. Teoretski gledano, bio materijali mogu postići čvrstoću sličnu sintetičkim polimerima (Iguchi i sur, 2000). Integritet filma tijekom rukovanja, pakiranja i ostalih tehnoloških procesa može se evaluirati tek nakon definiranja mehaničke otpornosti i deformabilnosti jestivih filmova (Debeaufort i sur., 1998). Posebna se pažnja posvećuje savojnoj žilavosti (engl. *impact strength*), savojnoj čvrstoći (engl. *flexural strength*), otpornosti

na odljepljivanje, fleksibilnosti (engl. *flexibility*), termostabilnosti te otpornosti na vanjske utjecaje i fizičke stresove (Galić, 2009). Međutim, tri su parametra koji definiraju mehanička svojstva filmova: (1) Young-ov modul (modul elastičnosti), (2) vlačna čvrstoća i (3) postotak produljenja prije pucanja (Skurtys i sur., 2010).

2.5.3. Termička svojstva

Što se tiče širokog spektra primjene biopolimera, čini se da je točno poznavanje njihove toplinske razgradnje od velike važnosti za definiranje primjena takvih materijala. Termalno ponašanje može se promatrati primjenom nekih fizikalno-kemijskih metoda, osobito metoda toplinske analize, kao što su diferencijalna pretražna kalorimetrija (engl. *differential scanning calorimetry*, DSC), termogravimetrijska analiza (engl. *thermogravimetric analysis*, TGA), diferencijalna toplinska analiza (engl. *differential thermal analysis*, DTG) i dinamičko mehanička analiza (engl. *dynamic mechanical analysis*, DMA) (Bonilla i sur., 2017).

Što se tiče čistih kitozanskih filmova, Sánchez-González i sur. (2011) proučavali su učinak hidratacije u strukturi kitozanskih filmova uz pomoć DSC-a. Autori su izvijestili o dva termička događaja (engl. *glass transition temperature*, T_g na 54 °C i engl. *melting temperature*, T_m na 88 °C) u prvom zagrijavanju jer je djelomično kristalni dio regija bogatih acetatom osigurao dovoljnu mobilnost kako bi se omogućilo djelomično oslobađanje zarobljene octene kiseline. Tijekom drugog zagrijavanja, činilo se da se film sastoji od dvije različite amorfne faze osjetljive na sadržaj vode koje su se pojavile na nižim temperaturama od prvog zagrijavanja ($T_{g1} = 16$ °C i $T_{g2} = 56$ °C). Toffey i Glasser (2001) izmjerili su T_g kitozanskih filmova u rasponu od 60-93 °C, ovisno o kiselini koja se koristila (butirat, propionat, acetat i format) za pripremu filma (Bonilla i sur., 2017).

2.5.4. Optička svojstva

Različite kategorije ambalažnog materijala nude različite stupnjeve zaštite od promjena izazvanih svjetlom zbog razlika u refleksiji, prozirnosti i propusnosti kisika određene molekularnim sastavom materijala, debljinom filma, uvjetima obrade filma i obojenju filma.

Filmovi u boji karakteriziraju se Hunterovim sustavom: L (svjetlina), a (crvenilo) i b (žutost) vrijednosti. Ukupna razlika u boji (ΔE) objašnjava koliko su udaljene dvije boje u prostoru boja i na njih utječu vrijednosti L , a i b (Rao i sur., 2010).

2.5.5. Barijerna svojstva

Ukratko, glavna uloga jestivih filmova i premaza je regulacija prijenosa mase između proizvoda i atmosfere koja ga okružuje te između različitih slojeva samog proizvoda. Kvarenje

hrane usko je povezano s gubitkom kvalitete hrane zbog mikrobne kontaminacije, neoptimalnih organoleptičkih svojstava (tj. gubitka teksture, okusa i/ili mirisa, boje i izgleda), a u manjoj mjeri i gubitka nutritivne vrijednosti. Fenomen prijenosa mase između okolne atmosfere i prehrambenog proizvoda potiče te reakcije kvarenja. Kvaliteta hrane mijenja se s vremenom skladištenja zbog fizikalnih, kemijskih ili bioloških reakcija uglavnom potaknutih prijenosom kisika i vodene pare iz okoline. Na primjer, prijenos kisika snažno utječe na brzinu oksidacije spojeva osjetljivih na kisik, kao što su vitamini ili masne kiseline. To dovodi do gubitka nutritivnih svojstava i ubrzanog rasta aeroba. Drugi primjer kvarenja hrane odnosi se na prijenos vlage. U svim navedenim primjenama fenomen difuzije prisutan je i u filmovima i većinu vremena u samoj hrani. Učinkovitost jestivog filma stoga snažno ovisi o njegovoj sposobnosti da permeant difundira te o brzini same difuzije. Svojstva svake klase materijala koji se koriste za proizvodnju jestivih filmova i premaza direktno utječu na barijerne sposobnosti. Ovisno o njihovoj mehaničkoj otpornosti, materijali na bazi lipida pokazuju dobra barijerna svojstva za vlagu, dok proteini i polisaharidi pružaju dobru barijeru za O₂ i aromu, međutim, vrlo su osjetljivi na vlagu (Cerqueira i sur., 2016). Stoga pri odabiru jestivog filma treba uzeti u obzir svojstva proizvoda te tako odabrati adekvatan film.

2.5.5.1. Propusnost plinova i vodene pare

Prijenos mase kroz jestive filmove ili premaze obično karakteriziraju Fickovi zakoni koji podrazumijevaju poznavanje tri glavna parametra: adsorpcija, difuzija i propusnost ili permeacija. Transport plinova u jestivim filmovima se odvija u 3 koraka: i) adsorpcija plina na površinu jestivog filma; ii) difuzija adsorbiranih čestica od jedne do druge strane filma; iii) desorpcija čestica plina iz filma. Topljivost opisuje maksimalnu količinu tvari koja bi se mogla sorbirati u određenom mediju. Za plin ili vodenu paru ta količina ovisi o okolnom parcijalnom tlaku određenog plina ili vodene pare. Koncentracija i parcijalni tlak povezani su Henryjevim zakonom pri zadanoj temperaturi i ukupnom tlaku. Henryjev zakon obično se primjenjuje za razrijeđene sustave i za plinove pri okolnom atmosferskom tlaku do 1 atm. Topljivost se dobiva inverzijom Henryjeva koeficijenta. Oba su termodinamički parametri. Međutim za vodenu paru, Henryjev zakon nije primjenjiv. Koeficijent difuzije ili difuzivnost nije termodinamički kinetički parametar, a koji opisuje mobilnost molekula u određenom mediju. Ovaj prijenos mase je posljedica prisutnosti gradijenta koncentracije razmatrane molekule. Obično se opisuje poznatim Fickovim drugim zakonom, koji povezuje lokalne promjene koncentracije (kg m⁻³) kao funkciju vremena. U ravnotežnom stanju i za jednosmjernan prijenos mase primjenjuje se prvi Fickov zakon.

Jednadžba Fickovog zakona je [1] i [2]:

$$J = -D \left(\frac{\partial C}{\partial x} \right) \quad [1]$$

gdje su:

J - tok, neto količina otopljene tvari koja difundira kroz jedinicu površine u jedinici vremena (g m^{-2} ili $\text{mL m}^{-2} \text{s}^{-1}$), D - koeficijent difuzije ili difuzivnost ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$), C - koncentracija tvari koja difundira (g m^{-3} ili mL m^{-3}), x - debljina filma (m)

ili

$$J = D \frac{C_2 - C_1}{x} = \frac{Q}{(A \cdot t)} \quad [2]$$

gdje su:

Q - količina plina koji difundira kroz film (g ili mL), A - površina filma (m^2), t - vrijeme (s)

Kombinirajući Fickov prvi zakon i Henryjev zakon, pojavljuje se novi parametar u Fickovom zakonu, propusnost ili koeficijent propusnosti (P) gdje je propusnost rezultat difuzije i topljivosti [3].

$$\frac{Q}{A \cdot t} = D \cdot S \frac{p_2 - p_1}{x} = P \frac{\Delta p}{x} \quad [3]$$

gdje su:

S - Henryjeva konstanta topljivosti (mol atm^{-1}), Δp - razlika parcijalnog tlaka plina kroz film (Pa), P - propusnost ($\text{mL ili g m m}^{-2} \text{s Pa}$).

Prema Park i Chinnan (1995) propusnost kisika, ugljikovog dioksida i vodene pare može se izračunati pomoću jednadžbe [4]:

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

gdje su:

P - propusnost ($\text{mL ili g m m}^{-2} \text{s Pa}$), Q - količina plina koji difundira kroz film (g ili mL), x - debljina filma (m), A - površina filma (m^2), t - vrijeme (s), Δp - razlika parcijalnog tlaka plina kroz film (Pa).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

Za pripremu jestivih filmova korišten je prirodni polimer kitozan (France Chitin, Francuska, tip 652, molekulske mase 165 kDa, stupanj deacetiliranja iznad 85 %). Za pripremu funkcionalnih filmova korišten je vitamin C (vitamin C prah, l-askorbinska kiselina, Poljo-Evelin d.o.o., Hrvatska). Za pripremu otapala korištena je destilirana voda i octena kiselina (ledena octena kiselina 100 %, Merck, Darmstadt, Njemačka) te biljni glicerol (minimalne čistoće 99,5 %, Glaconchemie Gmbh, Merseburg, Njemačka) kao plastifikator.

3.2. PRIPREMA FILMOVA

U ovom radu pripremljeni su filmovi od kitozana (K0), i kitozana s dodatkom različitih količina vitamina C (K2, K4 i K6) uz dodatak glicerola. Za usporedbu pripremljeni su uzorci od kitozana (K0) i glicerola koji su korišteni kao slijepa proba u provedenim metodama. Koncentracije su navedene dalje u opisu metoda.

Aparatura i pribor:

- 1.) Analitička vaga (KERN KB 2000-2N)
- 2.) Staklene čaše (250 mL)
- 3.) Menzura (100 mL)
- 4.) Tikvica (1000 mL)
- 5.) Pipeta (10 mL)
- 6.) Magnetska miješalica i magneti (Witeg ms-mp8, Njemačka)
- 7.) Petrijeve zdjelice (promjer 11,8 cm)
- 8.) Ultra turrax (IKA T18 digital, Njemačka)
- 9.) Ventilirana klima komora (HPP110, Memmert, Njemačka)
- 10.) Eksikator
- 11.) Lađica za vaganje
- 12.) Špatula, pinceta
- 13.) Filter papir

Postupak pripreme:

S obzirom da kitozan nije topljiv u vodi, kao otapalo koristi se 1 % (v/v) vodena otopina octene kiseline. Pripremana su četiri različita filma od kojih je K0 korišten kao slijepa proba, a K2, K4 i K6 su temeljeni na K0 uz dodatke različitih masa vitamina C (kako bi se postigla konc. od 2, 4 i 6 % (m/v)). Otopina kitozana (K0) dobivena je otapanjem 2 g kitozana u 100 mL 1 % octene kiseline, K2 isto kao i K0 uz dodatak 2 g vitamina C, K4 uz dodatak 4 g vitamina C, te K6 uz dodatak 6 g vitamina C. Filmogene otopine se pripremaju na način da se 100 mL vodene otopine octene kiseline ulije u čašu od 250 mL u koju se stavi magnet i zatim se sve zajedno stavi na magnetnu miješalicu, te se broj okretaja podesi na 450 rpm. Potom se uz upaljenu magnetsku miješalicu u vodenu otopinu octene kiseline postepeno dodaje odvagana količina kitozana (2 g) kako bi se omogućilo bolje otapanje polimera, a spriječilo zgrušavanje kitozana, te u konačnici dobio homogeniji film. Za filmogene otopine s vitaminom C nakon dodavanja kitozana u otopinu, postepeno se dodaje odvagana količina vitamina C (2, 4 i 6 g). Nakon 15 min broj okretaja na magnetnoj miješalici podignut je na 530 rpm, te je nastavljeno miješanje otopine još 2 h. Prije izlijevanja filmogenih otopina u Petrijeve zdjelice, u otopine se dodaje biljni glicerol (30 % suhe mase kitozana, tj. 0,6 g/100 mL) kako bi se osigurala elastičnost filma, te se kontinuirano miješa kroz 10 minuta. Radi boljeg povezivanja polimera i homogenije smjese, filmogene otopine se dodatno homogeniziraju pomoću Ultra-turrax-a, 3 minute pri 3000 rpm. Filmovi se formiraju izlijevanjem točno 30 g filmogene otopine u Petrijevu zdjelicu promjera 11,8 cm, te sušenjem u ventiliranoj komori 36 h pri kontroliranim uvjetima temperature (25 °C) i relativne vlažnosti (50 % RH). Nakon sušenja, formirani filmovi pažljivo se odvoje od podloge kako ne bi došlo do oštećenja i pucanja filma. Do provedbe analiza filmovi se čuvaju u košuljicama napravljenim od filter papira u eksikatoru pri kontroliranim uvjetima vlage (50 % RH).

3.3. METODE

3.3.1. Debljina filmova

Debljina filmova mjerena je kontaktnom metodom pomoću digitalnog mikrometra (Helios Preisser DIGI-MET, Njemačka) s preciznošću 0,001 mm. Debljina svakog filma izmjerena je na 10 nasumičnih mjesta, a kao rezultat debljine svakog filma uzeta je srednja vrijednost tih mjerenja. Rezultati su izraženi u mikrometrima (μm) kao srednja vrijednost mjerenja s pripadajućom standardnom devijacijom.

3.3.2. Mjerenje propusnosti vodene pare kroz polimerni film

Propusnost vodene pare kroz polimerni film mjerena je gravimetrijski koristeći modificiranu ASTM E96-80 standardnu metodu (Crosby, 1989).

Aparatura i pribor:

- 1.) Čašice s teflonskim prstenom za mjerenje propusnosti na vodenu paru
- 2.) Ventilirana klima komora (Memmert HPP110, Memmert Njemačka)
- 3.) Analitička vaga (ABS320-4N, Kern, Njemačka)
- 4.) Menzura volumena 20 mL

Postupak:

Prije svega film je potrebno izrezati u obliku kruga točno određenog promjera kako bi pristajao otvoru mjerne čašice. U čašice se ulije po 20 mL destilirane vode, zatim se rub otvora čašice namaže vakumskom kremom te se na njega postavlja uzorak filma, površ filma stavlja se teflonski prsten koji se učvrsti zatvaračem s otvorom. Na taj način osigurano je da vodena para prolazi isključivo kroz uzorak filma. Međutim, treba paziti da ne dođe do oštećenja filma ili da se uzorak ne kontaminira vakumskom kremom jer bi to smanjilo površinu za mjerenje i u konačnici bi utjecalo na rezultate. Prije nego što se uzorci stave u ventiliranu klima komoru, izmjeri se početna masa na analitičkoj vagi. Uzorci se drže u komori 5 dana. Masa svakog uzorka mjeri se svakih 24 h. Uvjeti u klima komori kontrolirani su na 25 °C i 30 % RH. Propusnost na vodenu paru (WVP) izračuna se pomoću formule [5]:

$$WVP = \frac{\Delta m}{\Delta t \cdot A \cdot \Delta p} \cdot x \quad [5]$$

gdje je:

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 strane filma (Pa).

3.3.3. Mjerenje propusnosti kisika kroz polimerni film

Mjerenje propusnosti filmova provedeno je manometrijskom metodom na uređaju Brugger, GDP - C (Brugger Feinmechanik GmbH, Njemačka). Filmovi se postavljaju na za to predviđeno mjesto u uređaju, između gornjeg i donjeg djela permeacijske ćelije. Vakuum pumpom se evakuira zrak iz volumena permeacijske ćelije, a potom se mjerni plin pod tlakom od 5 bara i protokom od 80 mL/min propušta s jedne strane ispitivanog uzorka filma. Razlika tlakova uzrokuje difundaciju mjernog plina kroz uzorak filma. Računalo automatski bilježi postepeni porast tlaka u djelu ćelije, suprotnom od izvora mjernog plina. Dobivena vrijednost se naziva permeanca ($\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{d}^{-1} \text{bar}^{-1}$).

Propusnost na kisik (PO_2) i ugljikov dioksid (PCO_2) dobiveni su kao aritmetički produkt debljine filma i permeance izraženo kao $\text{cm}^3 \text{m}^{-1} \text{dan}^{-1} \text{Pa}^{-1}$, prema sljedećem izrazu [6]:

$$PO_2 = q * d \quad [6]$$

gdje je:

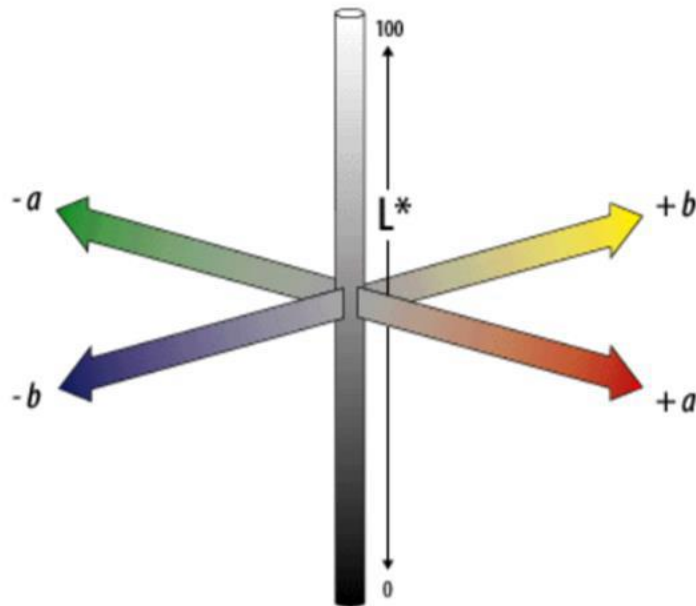
q - permeanca ($\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{d}^{-1} \text{bar}^{-1}$);

d - debljina filma (μm).

3.3.4. Određivanje boje polimernog filma

CIELAB prostor boja, također poznat kao $L^* a^* b^*$, je prostor boja koji je definirala Međunarodna komisija za osvjetljenje (skraćeno CIE od International Commission on Illumination) 1976. godine. Ona izražava boju kao tri vrijednosti: L^* za perceptivnu svjetlinu, te a^* i b^* za četiri jedinstvene boje ljudskog vida: crvena, zelena, plava i žuta. CIELAB prostor boja je trodimenzionalan i pokriva cijelu skalu (raspon) ljudske percepcije boja. Temelji se na teoriji suprotnih parova boja ljudskog vida, gdje crvena i zelena formiraju suprotan par, te plava i žuta formiraju suprotan par. Akromatska os svjetline, L^* definira crno pri vrijednosti 0 i bijelo

pri vrijednosti 100. Os a^* predstavlja zeleno-crvene boje, s negativnim vrijednostima prema zelenoj i pozitivnim vrijednostima prema crvenoj. Os b^* predstavlja plavo-žute boje, s negativnim brojevima prema plavoj i pozitivnim prema žutoj (Slika 1).



Slika 1. CIELAB prostor boja

Postupak:

Boja pripremljenih filmova određena je pomoću kolorimetra (Konica Minolta Spectrophotometer CM3500d). Prije mjerenja, potrebno je kalibrirati uređaj na bijeloj površini. Za svaki pojedinačni film mjerenje je provedeno na 8 različitih mjesta pri čemu se očitaju L^* , a^* i b^* vrijednosti na uređaju. Kod mjerenja se uzorak filma namjesti na otvor kolorimetra koji mjeri reflektiranje u vidljivom spektru. Rezultati se izražavaju kao srednja vrijednost mjerenja uz pripadajuću standardnu devijaciju. Kolorimetrijska razlika (ΔE^*) definira odstupanje reflektirane boje od kalibrirane nulte vrijednosti, a računa se prema izrazu [7]:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2} \quad [7]$$

$$\Delta L = L_0 - L_1$$

$$\Delta a = a_0 - a_1$$

$$\Delta b = b_0 - b_1$$

gdje su:

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

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

3.3.5. Mjerenje transparentnosti polimernog filma

Mjerenje transparentnosti filma provelo se uz pomoć UV/VIS spektrometra (Perkin Elmer Lambda 25, SAD), mjerenjem apsorbancije uzoraka pri valnoj duljini od 600 nm i 650 nm, a kao slijepa proba korištena je prazna kiveta. Iz dobivenih podataka o apsorbanciji uzoraka izračuna se transparentnost filma prema slijedećoj jednadžbi [8]:

$$T = \text{Abs}_{(\text{nm})}/l \quad [8]$$

gdje su:

T – transparentnost;

Abs – apsorbancija (vrijednost kod 600 i 650 nm);

l – prosječna debljina filma (mm).

3.3.6. Topljivost filmova u vodi i puferu kao imitaciji sline

Aparatura i pribor:

- 1.) Aluminijske posudice
- 2.) Staklene čaše (100 mL)
- 3.) Analitička vaga
- 4.) Sušionik
- 5.) Eksikator
- 6.) Pinceta
- 7.) Plastične posudice

Postupak:

Priprema se vodena otopina pufera ($\text{pH}(\text{H}_2\text{O})=5,79$) za simulaciju topljivosti filma u ustima. Uzorci filma režu se na komadiće u obliku pravokutnika (1 cm x 2 cm). Uzorci su prije određivanja čuvani u eksikatoru pri kontroliranim uvjetima vlažnosti (50 % RH). Zatim se uzorci važu i suše 3 h na 105 °C. Nakon sušenja uzorci se ponovno važu te se umaču u 30 mL destilirane vode i 30 mL vodenog pufera 24 h na sobnoj temperaturi (23 ± 2 °C), a plastične posudice se prekriju parafilmom. Nakon 24 h uzorci se pincetom vade iz plastičnih posudica,

te se pažljivo uklanja višak vode ili pufera uz pomoć filter papira. Aluminijske se posudice označe i stave u sušionik na 105 °C do postizanja konstantne mase, te se hlade u desikatoru. Ocijedeći uzorci stavljaju se u ohlađene aluminijske posudice te se zajedno važu. Nakon vaganja stavljaju se u sušionik na 105 °C do postizanja konstante mase, pri tome aluminijske posudice moraju biti malo otklopljene. Konačno slijedi posljednje vaganje uzoraka zajedno s aluminijskim posudicama.

Topljivost filma (FS) se može izračunati pomoću formule [9]:

$$FS(\%) = \frac{W_i - W_f}{W_i} \cdot 100 \quad [9]$$

gdje su:

FS – topljivost filma (%);

W_i – početni sadržaj suhe tvari (g);

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

3.3.7. Bubrenje filmova u vodi i puferu kao imitaciji sline

Kapacitet bubrenja (engl. *swelling ratio*, SW) filmova određen je standardnom metodom ASTM D2765-95C. Bubrenje filmova provedeno je paralelno uz određivanje topljivosti filma u vodi i puferu. Uzorci filma se nakon 24 h namakanja u vodi i puferu izvade, ocijede od viška tekućine te važu prije sušenja do konstantne mase. Dobivena masa je masa uzorka nakon bubrenja (W_s). Kapacitet bubrenja određen je za sve filmove jer nije došlo do potpunog otapanja uzoraka.

Kapacitet bubrenja izračunat je pomoću sljedećeg izraza [10]:

$$SW(\%) = \frac{W_s - W_d}{W_d} * 100 \quad [10]$$

gdje su:

W_s – masa uzoraka nakon bubrenja;

W_d – masa suhog uzorka.

3.3.8. Mjerenje pH vrijednosti otopina polimera

pH vrijednost je negativni dekadski logaritam množinske koncentracije vodikovih iona u otopini, a daje informaciju o kiselosti (aciditetu) ili lužnatosti (alkalitetu) otopine. pH vrijednost pripremljenih filmogenih otopina izmjerena je pH metrom. Kombinirana elektroda, koja je prethodno kalibrirana u destiliranoj vodi, uranja se u otopinu te se pH vrijednost očitava na ekranu uređaja. Nakon svakog mjerenja, elektroda se ispiru destiliranom vodom i mjeri se pH vrijednost destilirane vode. Za svaki uzorak provedena su 3 paralelna mjerenja, a za rezultat se izražava kao srednja vrijednost i standardna devijacija.

3.3.9. Diferencijalna pretražna kalorimetrija (DSC)

Termička svojstva filma analizirana su diferencijalnom pretražnom kalorimetrijom (DSC 214 Polyma diferencijalni skenirajući kalorimetar, NETZSCH-Gerätebau GmbH, Njemačka). Kao inertna referenca korištena je prazna kapsula, a kalibracija je provedena primjenom indij standarda. Kao nosivi plin za grijanje korišten je dušik (protok 40 ml/min). Temperaturni program bio je u rasponu od 25 °C do 340 °C za sve uzorke, a postavljen je na sljedeći način: a) uravnoteživanje na 25 °C i zagrijavanje do 340 °C brzinom od 10 °C/min, b) hlađenje do 25 °C, c) ponovno zagrijavanje do 340 °C te d) finalno hlađenje do 25 °C. Provedena su dva ponavljanja za svaki uzorak, a prosječna masa uzorka bila je oko 8 mg.

3.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Statistička obrada podataka provedena je analizom varijance (ANOVA) pomoću Xlstat-Pro (win) 7.5.3. (Addinsoft, New York). Podaci su rangirani te su statističke razlike ocijenjene u redovima s jednosmjernom analizom varijance (ANOVA) i Tukeyovim višestrukim usporednim testovima. Vrijednost $p < 0,05$ statistički je značajna.

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovome radu pripremljeni su filmovi od kitozana, bez dodatka i s dodatkom vitamina C u tri različite koncentracije koji služi kao izvor bioaktivnih sastojaka. Cilj ovog rada bio je ispitati osnovna fizikalno-kemijska svojstva pripremljenih filmova (debljina filma, barijerna svojstva tj. propusnost na vodenu paru i kisik, boja i transparentnost filma, topljivost i bubrenje filma, pH vrijednost filmogene otopine, te termička svojstva uz pomoć DSC-a) te usporediti utjecaj dodatka vitamina C na navedena svojstva filmova. Dobiveni rezultati su prikazani grafički i tablično (tablice 1. do 5. i slike 2 do 7.).

4.1. DEBLJINA FILMOVA

Izmjerena debljina pripremljenih filmova nalazi se u tablici 1. Debljina filma važno je svojstvo koje direktno utječe na mehanička i barijerna svojstva filmova. Povećanjem debljine jestivog filma pomaže u smanjenju stope difuzije. Općenito, debljina filma ovisi o sastavu i metodama njegove pripreme, kao što su sušenje, vrijeme isparavanja otapala, relativna vlažnost i površina podloge. Iz dobivenih rezultata (tablica 1) može se uočiti da se dodatkom vitamina C debljina filma povećala. Iako su svi filmovi bili lijevani u Petrijeve zdjelice jednakog promjera i u jednakoj masi povećanjem koncentracije dodanog vitamina C debljina filma je rasla. Prema tome debljina K2, K4 i K6 veća je od K0 za 58 %, 111 % te 267 %. Ovakav rezultat suprotan je rezultatima istraživanja Tan i sur. (2019) koji nisu zamijetili statistički značajnu promjenu u prosječnoj debljini filmova čistog kitozana i filmova s različitim koncentracijama vitamina C. Razlog suprotnim rezultatima moguć je zbog različitog načina pripreme filmogenih otopina gdje su Tan i sur. (2019) kitozan askorbatne otopine pripremali bez dodatka acetata. Riaz i suradnici (2018) ispitivali su utjecaj ugradnje polifenola iz kore jabuke na fizikalna i antimikrobna svojstva proteinskih jestivih filmova na bazi kitozana te su također izvijestili o značajnom povećanju debljine jestivih filmova u koje su ugrađeni polifenoli iz kore jabuke u odnosu na kontrolni uzorak bez polifenola. S povećanjem koncentracije polifenola povećale su se interakcije između polifenola i kitozana (uključujući vodikove veze i hidrofobne interakcije), što je uzrokovalo čvršće vezanje polifenola i kitozana. Na taj način polifenoli mogu djelovati kao most. Oni se vežu s više od jednom molekulom kitozana zbog prisutnosti polihidroksilnih skupina u molekularnim strukturama. Stoga je udaljenost između molekula kitozana postala kraća, posljedično čineći strukturu filma kompaktnijom, a time debljom i gušćom.

Nadalje, u studiji Kumar i sur. (2021) ispitali su svojstva filma kitozana obogaćenog ekstraktom kore nara. Kontrolni uzorci filma pokazali su manju debljinu u usporedbi s drugim

testiranim uzorcima. Ti su rezultati otkrili da se debljina jestivog filma povećala s povećanjem koncentracije ekstrakta kore nara zbog među molekularnih interakcija između funkcionalnih skupina. Međutim ugradnja ekstrakata kore nara nije značajno ($p < 0,05$) utjecala na debljinu filmova na bazi kitozana.

Očito je da prilikom formiranja filmova na bazi kitozana obogaćenih aktivnim tvarima dolazi do molekularnih interakcija koje u konačnici mogu manje ili više utjecati na debljinu samog filma. Kako bismo u potpunosti razumjeli zbog čega su ispitani filmovi pokazali vrlo veliko povećanje u debljini u odnosu na kontrolni uzorak potrebno je provesti dodatna istraživanja.

Tablica 1. Debljina pripremljenih filmova

Uzorak	K6	K4	K2	K0
Debljina filma (μm)	149,87 \pm 2,18 ^a	86,30 \pm 22,15 ^b	64,77 \pm 10,94 ^c	40,83 \pm 8,75 ^d

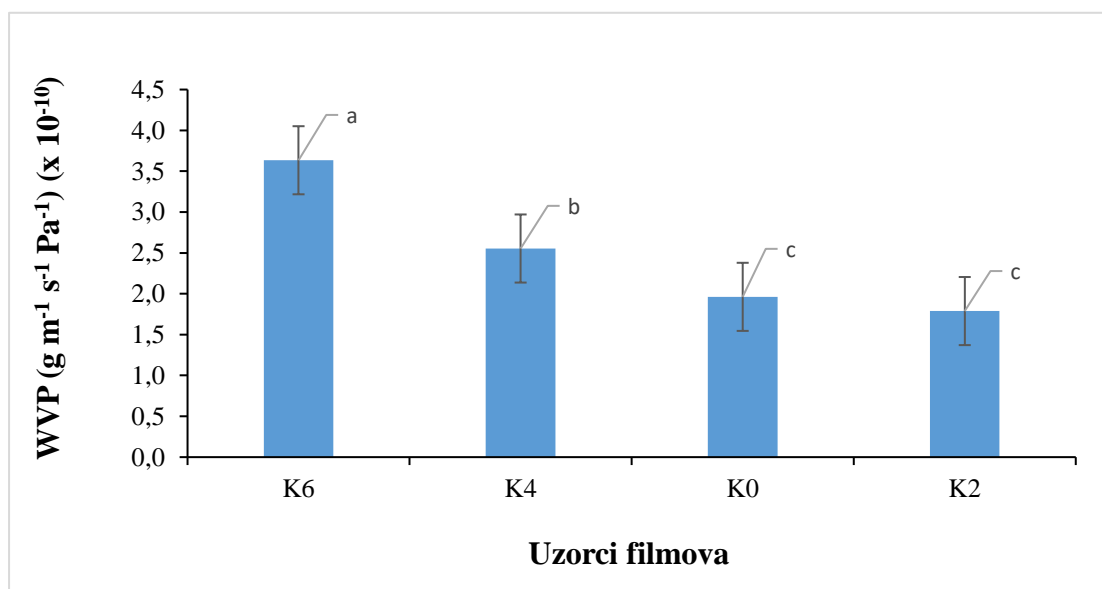
KO – Kitozan, K2 – Kitozan i vitamin C (2 g), K4 - Kitozan i vitamin C (4 g), K6 - Kitozan i vitamin C (6 g). Različiti eksponenti (a-d) unutar stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ($p < 0,05$).

4.2. PROPUSNOST FILMOVA NA VODENU PARU

Propusnost vodene pare (engl. *water vapor permeability*, WVP) važan je parametar kod pakiranja hrane, a ukazuje na svojstva barijere prema propuštanju vode. WVP filma igra važnu ulogu u produljenju roka trajanja prehrambenih proizvoda potičući smanjenje prijenosa vlage. WVP jestivog filma može se odrediti na temelju mehanizama prijenosa mase različitih komponenti između hrane i okoline jestivog pakiranja, kao i na temelju interakcija između jestivih materijala i komponenti hrane. Debljina i ujednačenost jestivog filma važni su parametri na kojima se temelji pouzdanost određivanja svojstava barijere kao što je propusnost vodene pare. Niska propusnost na vodenu paru poželjno je svojstvo svakog ambalažnog materijala jer velika količina vodene pare potencijalno dovodi do mikrobiološkog kvarenja upakiranog proizvoda. Pojam propusnost vodene pare obično podrazumijeva sorpciju, difuziju i adsorpciju. Prijašnja istraživanja pokazala su da je propusnost vodene pare za filmove na bazi kitozana uključivala dva procesa: adsorpciju i difuziju. Vlaga se može lako adsorbirati u polimernu mrežu slobodnim hidrofilnim skupinama kitozana, nakon čega slijedi poboljšana difuzija. Niža vrijednost WVP karakterizira bolju barijeru filma na vodenu paru. Rezultati mjerenja prikazani su grafički na slici 2. Tan i sur. (2019) zamijetili su da su vrijednosti WVP kitozan askorbatnih filmova značajno niže ($p < 0,05$) nego kod kitozan acetatnih filmova. Međutim, nije bilo značajnih razlika ($p > 0,05$) u vrijednosti WVP detektiranoj s porastom

sadržaja askorbata. Ionske i vodikove veze u molekuli kitozan askorbata zauzimale su veliku količinu hidrofilnih skupina kitozana, što je u konačnici dovelo do smanjenja afiniteta kitozan askorbatnih filmova prema vodi. U prikazanim rezultatima vidljivo je da testirani filmovi pokazuju drugačija svojstva od onih koje možemo vidjeti kod Tan i sur. (2019). Povećanjem udjela askorbata (uzorci K4 i K6) WVP vrijednost je rasla i bila je veća nego kod filma bez dodatka askorbata (K0), osim kod uzorka K2. Ovakvo ponašanje moglo bi se protumačiti gubitkom mehaničkih svojstava filmova s većom koncentracijom vitamina C, a i mogućim mikro oštećenjima filma kao posljedicom toga.

Rezultati u studiji Riaz i sur. (2018) pokazali su da ekstrakt kore jabuke ima značajan učinak smanjenja ($p < 0,05$) na WVP kitozanskih filmova. WVP filmova je smanjena kako se koncentracija ekstrakta povećala s 0 na 1,0 % što sugerira da bi dodavanje ekstrakta kore jabuke moglo poboljšati svojstvo vodonepropusnosti filma. Unakrsno povezivanje koje proizlazi iz



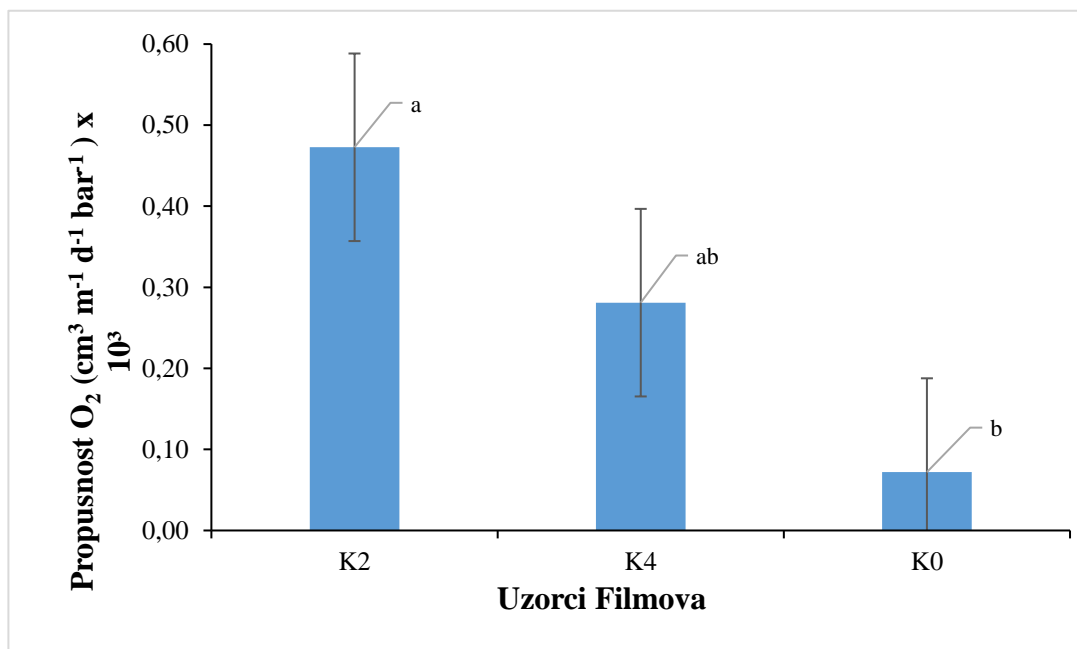
Slika 2. Propusnost vodene pare filmova bez dodatka vitamina C (K0) i filmova s dodatkom vitamina C (K2, K4, K6).

KO – Kitozan, K2 – Kitozan i vitamin C (2 g), K4 - Kitozan i vitamin C (4 g), K6 - Kitozan i vitamin C (6 g). Različite oznake (a-c) iznad stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ($p < 0,05$).

interakcija između ekstrakta, kitozana i glicerola moglo bi smanjiti slobodni volumen u polimernoj mreži, uzrokujući manje interakcija između molekula vode u filmovima. To povećanje barijernih svojstva za vodu može se pripisati povećanoj debljini i gustoći filmova, zbog čega se molekule vodene pare lakše blokiraju izvana (ili je potrebno dulje vrijeme da molekule vodene pare prodru kroz film). S druge strane u istraživanju Kumar i sur. (2021) propusnost vodene pare filmova na bazi kitozana s ekstraktom kore nara blago se povećala u odnosu na kontrolni film ($p > 0,05$) zbog prisutnosti fenolnih frakcija u ekstraktu kore nara. Ovi

fenolni spojevi kore nara formirali su alternativne puteve i pukotine u kemijskim vezama mreže filma. Takvi alternativni putevi i pukotine mogle bi biti razlog povećane WVP ispitanih filmova u ovom radu.

4.3. PROPUSNOST FILMOVA NA KISIK



Slika 3. Propusnost filmova na O₂

KO – Kitozan, K2 – Kitozan i vitamin C (2 g), K4 - Kitozan i vitamin C (4 g), K6 - Kitozan i vitamin C (6 g). Različite oznake (a, ab, b) iznad stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ($p < 0,05$).

Propusnost za kisik važan je čimbenik koji može ubrzati razgradnju zdravih komponenti hrane, posebice oksidacijom i promjenama senzorskih svojstava. Na barijerna svojstva jestivih filmova značajno utječe priroda materijala i dodataka koji se koriste u njihovoj pripremi. Propusnost ispitivanih filmova prikazana je na slici 3. Najmanju propusnost imali su uzorci bez dodatka vitamina C (K0). Film s dodatkom vitamina C (K2) pokazao je statistički značajan porast propusnosti, dok film K4 nije bio statistički značajan. Do porasta propusnosti uzoraka s dodatkom vitamina C vjerojatno dolazi zbog smanjene kompaktnosti i strukturnih promjena u filmu. Ove hipoteze trebale bi se dodatno ispitati u daljnjim istraživanjima uz pomoć preciznijih i detaljnijih metoda za ispitivanje struktura biopolimera. Zbog pucanja filma K6 prilikom odvajanja od podloge koji je bio izrazito lomljiv nije bilo moguće izmjeriti propusnost na kisik. Kurek i sur. (2021) ispitali su utjecaj dodatka ekstrakta bodljikave kruške (*Opuntia ficus-Indica* L.) na fizikalno kemijska svojstva jestivih filmova uključujući i propusnost na kisik. Propusnost filma od kitozana bila je $2,82 \pm 1,19 \times 10^{-3} \text{ cm}^3 \text{ m}^{-1} \text{ d}^{-1} \text{ bar}^{-1}$ što je znatno manje od propusnosti koju smo izmjerili u ovom istraživanju. Dodatkom ekstrakta propusnost filma blago se

smanjila, potencijalno ukazujući na stvaranje novih veza ili interakcija između ekstrakata i polimera.

4.4. BOJA JESTIVIH FILMOVA

Promjene u optičkim svojstvima filma ovise uglavnom o ugrađenim bioaktivnim spojevima. Različite studije su izvijestile da bi ugradnja biljnog ekstrakta mogla utjecati na optička svojstva (prozirnost, neprozirnost i boja) filmova povećanjem vrijednosti žutila i crvenila, kao i smanjenjem svjetline. Slična pojava zamijećena je i u testiranim filmovima s dodatkom vitamina C. Boja jestivih filmova određena je CIE $L^*a^*b^*$ prostornim modelom boja. Rezultati ispitivanja kolorimetrijskih parametara uzoraka prikazani su u tablici 2. Kao kontrolna skupina, kitozan acetatni film (K0) bio je bezbojan i proziran. Međutim, filmovi kitozan askorbata (K2, K4, K6) imali su žućkastosmeđu boju u usporedbi s filmom kitozan acetata i došlo je do promjena u svim parametrima boje. Vrijednost parametra L^* opisuje svjetlinu filma, tj. $L^* = 0$ je tamno (crno), a $L^* = 100$ je svjetlo (bijelo). Porastom koncentracije askorbata u filmu zamijećeno je smanjenje L^* vrijednosti što nam govori o tome da je došlo do tamnjenja filma. Vrijednost a^* opisuje položaj između crvenog i zelenog gdje negativne vrijednosti označavaju zeleno, a pozitivne vrijednosti crveno. Filmovi s dodatkom vitamina C pokazali su porast u crvenilu (Tablica 2). Vrijednost b^* opisuje položaj između žute i plave gdje negativne vrijednosti označavaju plavu, a pozitivne žutu. Filmovi s dodatkom vitamina C pokazali su porast u žutilu. Filmovi K2 i K6 imali su sličnu vrijednost b^* . Rastuća vrijednost ΔE govori da su u konačnici dobiveni obojaniji filmovi u odnosu na kontrolni film (K0). Slične rezultate dobili su Tan i sur. (2019) koji su izvijestili o promjeni L^* , a^* i b^* parametara u uzorcima filma s vitaminom C u odnosu na kontrolni uzorak bez vitamina C. U njihovom istraživanju porastom udjela vitamina C, L^* vrijednosti se također smanjila, a^* vrijednost je rasla isto kao i b^* vrijednost.

Tablica 2. Parametri boje (L^* , a^* , b^* , ΔE) jestivog filma sačinjenog od kitozana (K0) te kitozana i vitamina C u različitim koncentracijama (K2, K4, K6).

Uzorak	L^*	a^*	b^*	ΔE
K0	94,04 ± 0,74 ^a	-1,69 ± 0,17 ^c	9,98 ± 0,94 ^c	0,00 ^c
K2	80,92 ± 2,90 ^b	1,55 ± 2,33 ^b	36,69 ± 3,50 ^b	30,04 ± 4,44 ^b
K4	81,47 ± 1,61 ^b	2,75 ± 1,29 ^a	43,95 ± 5,85 ^a	36,58 ± 5,61 ^a
K6	76,53 ± 2,83 ^c	3,16 ± 1,14 ^a	36,02 ± 6,34 ^b	32,01 ± 5,67 ^b

KO – Kitozan, K2 – Kitozan i vitamin C (2 g), K4 - Kitozan i vitamin C (4 g), K6 - Kitozan i vitamin C (6 g). Različiti eksponenti (a-c) unutar stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ($p < 0,05$).

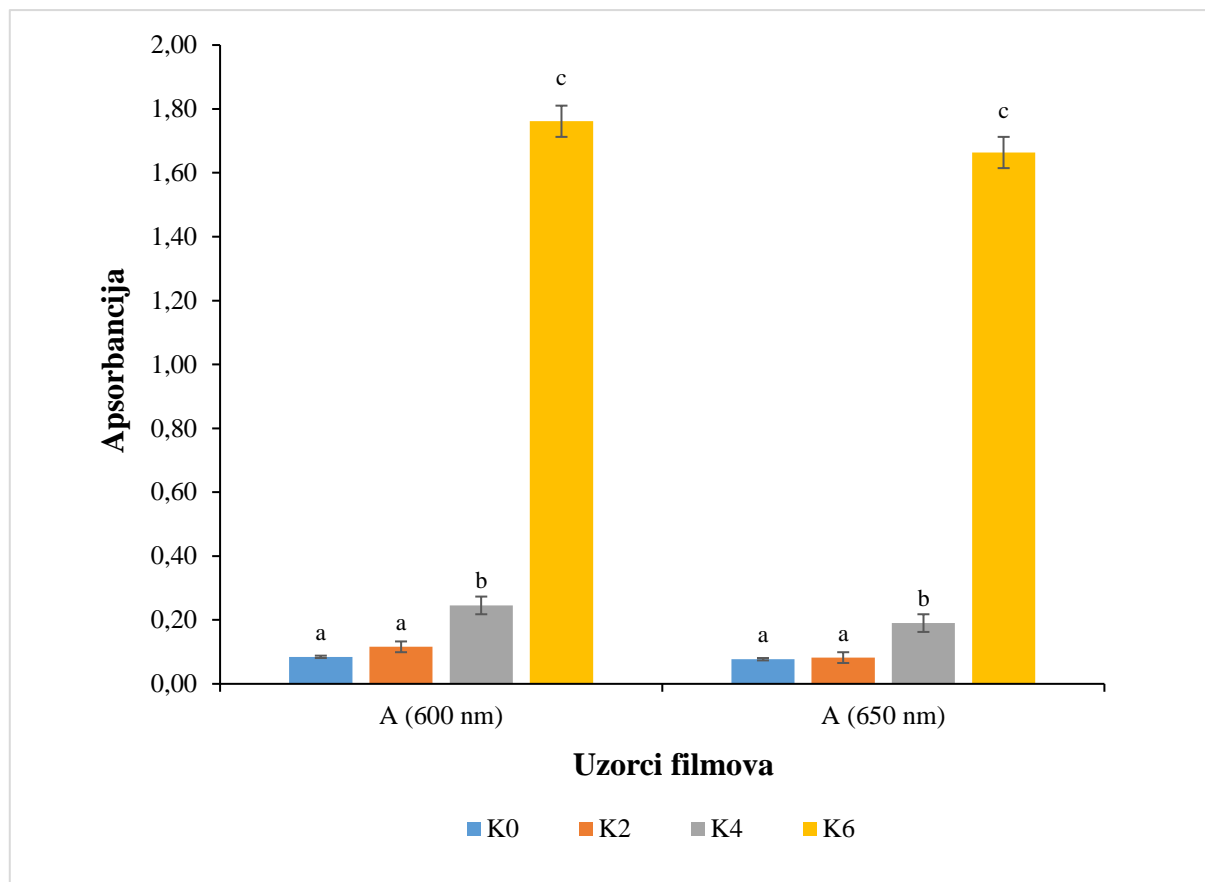
4.5. TRANSPARENTOST JESTIVOG FILMA

Transparentnost (T) ili prozirnost je važno fizikalno svojstvo filma za pakiranje, koje opisuje svojstvo prozirnosti ili sprječavanje prijenosa svjetlosti. Transparentnost odnosno propusnost filma na svjetlost utječe na zaštitu proizvoda od svjetlosti sprečavajući neželjene reakcije u hrani. UV i vidljivi spektar svjetlosti mogu katalizirati proces oksidacije zapakirane hrane, a prevelika izloženost UV-vis svjetlu može ubrzati kvarenje hrane i gubitak hranjivih tvari. Što je vrijednost T niža, to je transparentnost filma manja zbog činjenice da manje vidljive svjetlosti može proći kroz film. Poželjno je da jestivi film u upotrebi kao ambalažni materijal ima nisku T.

T je najvažnije svojstvo jestivih filmova, jer oni izravno utječu na prihvatljivost potrošača, posebno ako će se film koristiti kao površinski premaz hrane ili za poboljšanje izgleda proizvoda. T jestivih filmova važna je jer utječe na vidljivost pakiranog proizvoda potrošačima. T bilo kojeg materijala je pokazatelj stupnja u kojem svjetlost može proći kroz njega (Saurabh i sur., 2015). Svjetlosna propusnost pakiranja utječe na brzinu oksidacije lipida, a time i na kvalitetu hrane. Najizraženiji štetni učinci svjetlosti na hranu uzrokovani su ultraljubičastim svjetlom (Bekbölet, 1990). Ovisno o karakteristikama prijenosa svjetlosti ambalažnih materijala, odgovarajući ambalažni materijal može pružiti zaštitu pakirane hrane apsorpcijom ili refleksijom cijelog ili dijela spektra svjetlosti. Katalitički učinci svjetlosti najizraženiji su za svjetlost u nižim valnim duljinama vidljivog/ultraljubičastog spektra (Lennersten i Lingert, 1998; Bekbolet, 1990). Povećanje intenziteta svjetlosti, tj. fotonskog toka, ubrzava oksidaciju izazvanu svjetlom (Hong i sur., 1995; Deger i Ashoor, 1987).

Dobiveni rezultati prikazani su grafički na slici 4. Iz rezultata možemo vidjeti da su pojedini filmovi imali podjednaku apsorbanaciju pri valnim duljinama od 600 nm i 650 nm. Film bez dodatka vitamina C, logično je imao najveću T, odnosno najmanju apsorbanaciju što ukazuje na to da njegova zaštitna svojstva nisu pogodna. Nadalje film s dodatkom vitamina C K2 nije imao znatno bolja svojstva od K0. Međutim već K4 film pokazuje značajno veće vrijednosti apsorbanacije. Dok film s najvećim udjelom vitamina C (K6) ima jako veliku vrijednost apsorbanacije u odnosu na ostala tri filma iz čega se može zaključiti da su njegova zaštitna svojstva na svjetlost najbolja od svih testiranih uzoraka. U usporedbi s K0 apsorbanacija K6 je i do 20 puta veća (ovisno o valnoj duljini). Također možemo primijetiti da je vrijednost A rasla porastom koncentracije vitamina C. Taj veći kapacitet blokiranja svjetlosti mogao bi biti posljedica kapaciteta apsorpcije askorbata prema UV svjetlu. Naši podaci pokazali su da filmovi od kitozana s dodatkom vitamina C imaju dobar kapacitet blokiranja UV-vis svjetlosti.

Tan i sur. (2019) dobili su slične rezultate u kojima je porastom udjela vitamina C u kitozanskim filmovima rasla i apsorbancija, odnosno vrijednost A je bila veća.



Slika 4. Transparentnost K0, K2, K4 i K6 filmova pri 600 nm i 650 nm

KO – Kitozan, K2 – Kitozan i vitamin C (2 g), K4 - Kitozan i vitamin C (4 g), K6 - Kitozan i vitamin C (6 g). Različite oznake (a-c) iznad stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ($p < 0,05$).

4.6. TOPLJIVOST FILMOVA U VODI I PUFERU

Kontaktni kut (θ) filmova jedan je od indikatora za izravno određivanje hidrofilitnosti ili hidrofobnosti filmova (Galus i Kadzińska, 2016). Zbog hidrofobnog karaktera filmova s većim brojem molekula lipida, povećanjem sadržaja lipida povećava se i kontakti kut. Adsorpcija kapljica vode na hidrokolooidnim filmovima povezana je s hidrofilnom prirodom takvih materijala (Kokoszka i sur., 2010). Ovaj fenomen je posljedica topljivosti površine filma u dodiru s vodom. Općenito, filmovi s višim θ (kontaktnim kutom) pokazuju višu površinsku hidrofobnost (Ramos i sur., 2013; Tang i Jiang, 2007). Kvantitativna diferencijacija između hidrofobnih i hidrofilnih površina doista se temelji na tome je li $\theta > 65$ stupnjeva ili $\theta < 65$ stupnjeva (Vogler, 1998).

Svojstva namirnice koju želimo zaštititi filmom direktno će utjecati na odabir jestivog filma. Različite namirnice imaju zahtjev za različitim svojstvima zaštitnih ambalaža. Jedno od tih

svojstava je topljivost filmova u vodi. To svojstvo je važno jer namirnice s visokim udjelom vode mogu uzrokovati otapanje filma (ukoliko je topljiv u vodi) korištenog za pakiranje i posljedično smanjiti njegova zaštitna svojstva. Ukoliko film pokazuje veću topljivost u vodi to znači da je manje otporan na vodu. Za jestive filmove, prevencija izmjene vode između zapakirane hrane i vanjskog okruženja može učinkovito produljiti njihov rok trajanja. Stoga je u ovom radu bilo vrlo bitno ispitati svojstva topljivosti filma u vodi, a budući da je ambalaža namijenjena za konzumaciju ispitali smo i topljivost u puferu koji je simulirao uvjete u usnoj šupljini. Rezultati ispitivanja prikazani su u tablici 3 od uzorka s najvećom FS (engl. *film solubility*, FS) prema filmu s najnižom FS. Prema rezultatima vidljiv je trend veće topljivosti filmova u puferu u odnosu na vodu. Također, porastom udjela vitamina C u filmu rasla je i topljivost filma. Prema tome, film s najvećim udjelom vitamina C (K6) imao je najveće FS vrijednosti u puferu i u vodi, a film bez vitamina C (K0) najniže. Hidrofilno svojstvo askorbatne skupine u kitozanskim okosnicama i ometanje unutarmolekularnih ili međumolekularnih mreža vodikovih veza mogle bi biti odgovorne za veću topljivost askorbatnih filmova kitozana u vodi i puferu. Ovi rezultati u skladu su s rezultatima koje su izvijestili Tan i sur. (2019). Značajnu stopu u porastu topljivosti filmova s dodatkom ekstrakta kore jabuke prijavili su i Riaz i sur. (2018). Međutim, Kumar i sur. (2021) primijetili su niži postotak topljivosti filmova s dodatkom ekstrakta kore nara u odnosu na kontrolni film. Tan i sur. (2019) u svom su istraživanju pokazali suprotan trend. Porastom koncentracije vitamina C stupanj bubrenja bio je manji. Oni ovaj rezultat pripisuju reakciji stvaranja soli i vezanja vodika u interakciji molekula kitozana i askorbinske kiseline, što bi moglo uzrokovati nedostatak slobodnih hidrofilnih skupina, kao što su amino i hidroksilne skupine, u okosnicama kitozana koje bi s vodom stvarale vodikove veze.

Tablica 3. Topljivost filmova (FS) u vodi i puferu.

Uzorak	FS (%)
K6 - p	64,70 ± 4,40 ^a
K6 - v	51,21 ± 8,34 ^b
K4 - p	49,62 ± 0,05 ^b
K4 - v	47,10 ± 0,78 ^b
K2 - p	46,86 ± 0,80 ^b
K2 - v	43,06 ± 0,02 ^b
K0 - p	31,15 ± 2,25 ^c
K0 - v	26,05 ± 4,44 ^c

KO – Kitozan, K2 – Kitozan i vitamin C (2 g), K4 - Kitozan i vitamin C (4 g), K6 - Kitozan i vitamin C (6 g), p – topljivost filma u puferu, v – topljivost filma u vodi. Različiti eksponenti (a-d) unutar stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ($p < 0,05$).

4.7. BUBRENJE FILMOVA U VODI I PUFERU

Bubrenje podrazumijeva sposobnost filma da zadržava vodu u svom matriksu, a povezano je s prisutnošću hidrofilnih skupina, poput karboksilne i hidroksilne, u strukturi polimera koje mogu stupiti u interakciju s vodom. Na bubrenje uzorka utječe i prisutnost glicerola koji je hidrofilne prirode, a potreban je u svojstvu plastifikatora. Rezultati su prikazani u tablici 4. Najveći postotak bubrenja pokazao je film bez dodatka vitamina C, zatim K4 te K6 i K2. Također, može se primijetiti da je postotak bubrenja bio manji u otopini pufera, osim kod filma K2 koji je u puferu pokazao 8 % veći SW (engl. *swelling*, SW). Za tumačenje rezultata postotka bubrenja jako je važno uzeti u obzir i topljivost samog filma, budući da su topljivost i bubrenje određivani paralelno. U procesu namakanja filmova (24 sata u vodi i otopini pufera) paralelno se odvijaju dva procesa: i bubrenje ali i otapanje. To znači da se tijekom tog procesa dio filma otopi, dok onaj dio filma koji se nije otopio na sebe nakuplja maksimalnu količinu vode. U konačnici filmovi koji su bili najmanje topljivi pokazivati će i veći kapacitet za bubrenjem dok će oni filmovi koji su se u većoj mjeri otopili logično pokazivati i manji kapacitet bubrenja. Prema tome, rezultati vjerodostojno opisuju ovu povezanost jer je film koji je pokazao najniži FS (K0) imao i najveći SW, a film koji je imao najviši FS imao je i niži SW. Kao iznimka se javlja film K2, a to se može protumačiti boljom inkorporacijom vitamina C u matriks kitozana i glicerola čime je došlo do kompaktnije i otpornije strukture samog filma. Kod filma K2 su i topljivost i bubrenje bili niski u odnosu na druge filmove.

Tablica 4. Bubrenje filmova (SW) u vodi i puferu

Uzorak	SW(%)
K0 - v	143,36 ± 27,07 ^a
K0 - p	79,66 ± 9,96 ^b
K4 - v	38,85 ± 16,38 ^c
K4 - p	36,08 ± 20,64 ^{cd}
K6 - v	14,73 ± 13,79 ^{cde}
K2 - p	12,02 ± 0,03 ^{cde}
K2 - v	4,12 ± 3,96 ^{de}
K6 - p	-7,80 ± 5,83 ^e

KO – Kitozan, K2 – Kitozan i vitamin C (2 g), K4 - Kitozan i vitamin C (4 g), K6 - Kitozan i vitamin C (6 g), p – topljivost filma u puferu, v – topljivost filma u vodi. Različiti eksponenti (a-e) unutar stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ($p < 0,05$).

4.8. ODREĐIVANJE PH VRIJEDNOSTI FILMOGENIH OTOPINA

Kod pripreme filmova od kitozana pH vrijednost bitan je faktor obzirom da se kitozan ne otapa u destiliranoj vodi, već isključivo u blago kiselim uvjetima (1 % otopini octene kiseline). pH vrijednost nam govori da li je nešto kiselo ($\text{pH} < 7$) odnosno lužnato ($\text{pH} > 7$). Izmjerene pH vrijednosti filmogenih otopina prikazane su u tablici 5. Sve otopine pokazale su pH vrijednost manju od 7 što se moglo i pretpostaviti zbog prirode pripreme filma u kiselim uvjetima. Također dodatkom vitamina C, tj. askorbinske kiseline, pH vrijednost se smanjivala. Zapravo dodavanjem askorbinske kiseline otopine su se dodatno zakiseljavale pa je tako filmogena otopina s najnižim pH bila otopina za film K6 s najvećim udjelom vitamina C. U budućim pripremama kitozanskih filmova s dodatkom vitamina C mogao bi se izbjeći dodatak octene kiseline, već iskoristiti samu askorbinsku kiselinu u ulozi zakiseljavanja otopine kako bi se kitozan mogao otopiti te na taj način dobiti film s neutralnijim pH.

Tablica 5. pH vrijednosti filmogenih otopina bez dodatka vitamina C (K0) i s dodatkom vitamina C (K2, K4, K6).

Uzorak	pH
K0	$4,76 \pm 0,02^a$
K2	$4,11 \pm 0,01^b$
K4	$3,78 \pm 0,01^c$
K6	$3,53 \pm 0,01^d$

KO – Kitozan, K2 – Kitozan i vitamin C (2 mg), K4 - Kitozan i vitamin C (4 mg), K6 - Kitozan i vitamin C (6 mg). Različiti eksponenti (a-d) unutar stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ($p < 0,05$).

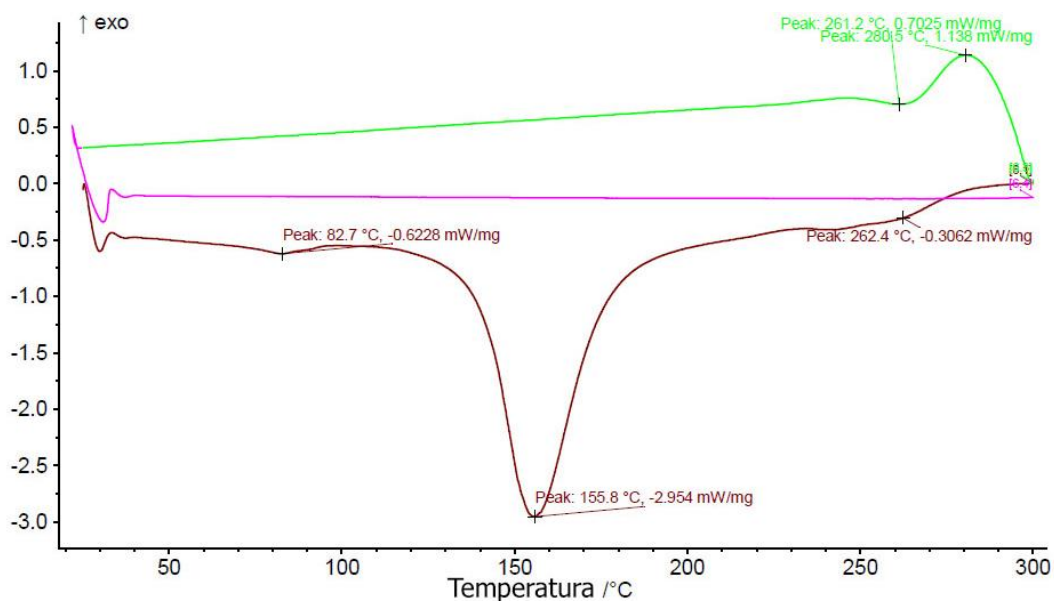
4.9. DSC - DIFERENCIJALNA PRETRAŽNA KALORIMETRIJA

DSC je prikladna toplinska metoda kojom se mjeri razlika toplinskog toka između referentnog materijala i uzorka za vrijeme izlaganja kontroliranom temperaturnom programu i atmosferi, tj. mjeri apsorbiranu odnosno otpuštenu toplinu iz materijala kao funkciju temperature ili vremena (izotermno) (Šuman, 2015). DSC pruža informacije o stabilnosti, razgradnji, gelaciji, te o važnim toplinskim karakteristikama poput ukupne entalpije (ΔH), tališta (engl. *melting temperature*, T_m), temperature staklenog prijelaza ili "staklišta" (engl. *glass transition temperature*, T_g) i temperature kristalizacije (T_k) biopolimera koji se koriste u ambalaži za hranu podložnih toplinskim promjenama. Rezultat DSC analize dobiva se u obliku termograma iz kojega je moguće očitati temperaturu ispitivanog uzorka, toplinski tok u ili iz uzorka (dH/dt), te parcijalna ili ukupna entalpija (ΔH). Za polisaharide i poliole tijekom toplinske razgradnje javljaju se dva fenomena: uklanjanje lanaca (engl. *chain stripping*), što je uzrokovano uklanjanjem molekula vode (dehidracija), nakon čega slijedi cijepanje lanca i raspadanje. Najvažniji čimbenici koji utječu na termička svojstva jestivih filmova uključuju

sadržaj vlage, strukturna svojstva korištenog polimera, koncentraciju biopolimera i koncentraciju te vrstu plastifikatora. Plastifikatori smanjuju T_g vrijednost u jestivim filmovima što se može objasniti teorijom slobodnog volumena tj. slobodnog prostora među molekulama. Plastifikatori mogu inducirati kretanje polimerne mreže s većom udaljenosti između polimernih lanaca i smanjiti vrijednost T_g poticanjem grupiranja molekula vode, tzv. segmentalna mobilnost polimernih lanaca (Zibaei i sur., 2021).

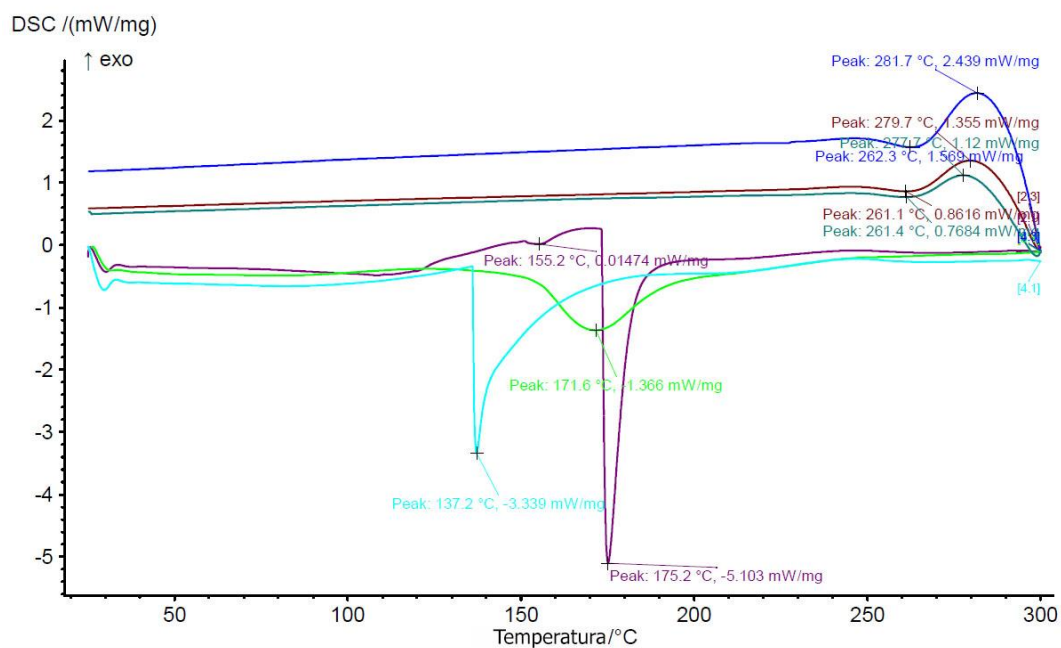
Rezultati DSC mjerenja prikazani su na slici 5 i slici 6. Promjene u nagibu osnovne linije bile su vrlo slabe u svim ciklusima mjerenja, tako da se nije mogla izmjeriti temperatura staklenog prijelaza ni za kitozan ni za kitozan askorbat. Samo je kitozan u prahu pokazao endotermni maksimum oko 82,7 °C, pripisan kao temperatura dehidracije, T_d (temperatura dehidracije) i pripisan je malim količinama vode apsorbirane tijekom rukovanja prije mjerenja (Kurek i sur., 2012.). Za ostale uzorke nisu se mogli vidjeti vrhovi ispod 100 °C, vjerojatno zbog kondicioniranja uzorka s niskom RH prije mjerenja (Molnar i sur., 2023). Drugi endotermni maksimum za kitozan u prahu izmjeren je na 186,8 °C. Temperature prijelaza promijenile su se nakon formiranja filma i u filmovima na bazi kitozana bile su niže nego za kitozan u prahu (156,8 °C za jednostavni film od kitozana i 137,2 °C za K4 te 175,2 °C za K6 film).

U znanstvenoj literaturi ovi endotermni prijelazi poznati su kao temperatura disocijacije (T_{DS}). Opisuje se kao proces disocijacije među lančanih vodikovih veza kitozana, promjena faze iz krutog u gumasto stanje i gubitak kristalizacijske vode u GA (Sani Mamman i sur., 2020.). Kao što se očekivalo, ovi vrhovi su nestali u drugom ciklusu zagrijavanja (Chuang i sur., 1999). Nešto više vrijednosti (3 – 4 °C) izmjerene su u KC mješavinama. To bi moglo značiti da postoji slaba molekularna interakcija između kitozana i C vitamina (askorbinske kiseline).



Slika 5. DSC termogram praha kitozana (K0)

1. 25°C/10.0(K/min)/300°C, 2. 300°C/50.0(K/min)/25°C, 3. 25°C/10.0(K/min)/300°C.



Slika 6. DSC termogram jestivih filmova od kitozana i dodatkom C vitamina; K2, K4 i K6

K2 - 25°C/10.0(K/min)/300°C, K2 - 300°C/50.0(K/min)/25°C; K4 - 25°C/10.0(K/min)/300°C, K4 - 300°C/50.0(K/min)/25°C; K6 - 25°C/10.0(K/min)/300°C, K6 - 300°C/50.0(K/min)/25°C.

5. ZAKLJUČCI

1. Filmovi od kitozana s dodatkom vitamina C veće su debljine u odnosu na filmove bez dodatka vitamina C. Debljina K0 = $40,83 \pm 8,75^d$ μm u odnosu na K6 = $149,87 \pm 2,18^a$ μm .
2. Propusnost filmova na vodenu paru veća je kod uzoraka s dodatkom vitamina C u odnosu na uzorke bez dodatka, osim filma K2 koji je imao nižu propusnost. K0 = $1,96^c \times 10^{-10}$ $\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$, K2 = $1,78^c \times 10^{-10}$ $\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$, K6 = $3,63^a \times 10^{-10}$ $\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$.
3. Dodatak vitamina C u filmovima izazvao je porast propusnosti kisika. K0 = $0,07^b \times 10^3$ $\text{cm}^3 \text{m}^{-1} \text{d}^{-1} \text{bar}^{-1}$, K2 = $0,47^c \times 10^3$ $\text{cm}^3 \text{m}^{-1} \text{d}^{-1} \text{bar}^{-1}$.
4. Filmovi s dodatkom vitamina C pokazali su nižu L^* vrijednost u odnosu na film bez dodatka. Filmovi s dodatkom vitamina C pokazali su porast u crvenilu (a^*) i žutilu (b^*). Ukupna razlika u obojenosti rasla je slijedećim redom : $K2 \leq K6 < K4$, i to s vrijednostima $\Delta E(K2) = 30,04 \pm 4,44^b$, $\Delta E(K4) = 36,595 \pm 5,61^a$, $\Delta E(K6) = 32,01 \pm 5,67^b$.
5. Transparentnost filmova smanjivala se porastom koncentracije vitamina C. U odnosu na film bez dodatka vitamina C (K0) film s najvišom koncentracijom vitamina C (K6) ima i do 20 puta veću apsorbanciju. $A(600\text{nm})[K0] = 0,08^a$, $A(650\text{nm})[K0] = 0,07^a$, $A(600\text{nm})[K6] = 1,76^c$, $A(650\text{nm})[K6] = 1,66^c$.
6. Topljivost svih uzoraka pokazala se većom u otopini pufera nego u destiliranoj vodi. Također, povećanjem koncentracije vitamina C rasla je i topljivost filma. Film bez dodatka vitamina C bio je najmanje topljiv. K0 - v = $26,06 \pm 4,44^c$, K0 - p = $31,15 \pm 2,25^c$, K6 - v = $51,21 \pm 8,34^b$, K6 - p = $64,70 \pm 4,40^a$.
7. Bubrenje svih uzoraka bilo je veće u destiliranoj vodi u odnosu na bubrenje u otopini pufera. Zbog veće topljivosti filmova s dodatkom vitamina C postajao je i manji kapacitet za vezanje vode u matriks uzoraka s porastom koncentracije. Izuzetak je film K2 koji je imao gotovo najniže vrijednosti. K0 - v = $143,36 \pm 27,07^a$, K0 - p = $79,67 \pm 9,96^b$, K2 - v = $4,12 \pm 3,96^{de}$, K2 - p = $12,02 \pm 0,03^{cde}$.
8. Porastom udjela vitamina C u filmogenim otopinama došlo je do smanjenja pH vrijednosti. $\text{pH}(K0) = 4,76 \pm 0,02^a$, $\text{pH}(K6) = 3,53 \pm 0,01^d$.
9. Temperature prijelaza (DSC termogrami) promijenile su se nakon formiranja filma i u filmovima na bazi kitozana bile su niže nego za kitozan u prahu. $T_g(K0) = 156,8$ $^\circ\text{C}$, $T_g(K4) = 137,2$ $^\circ\text{C}$, $T_g(K6) = 175,2$ $^\circ\text{C}$.

6. LITERATURA

Ali A, Maqbool M, Ramachandran S, Alderson PG (2010) Gum arabic as a novel edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. *Postharvest Biol Technol* **58**, 42 – 47. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.05.005>.

Ali A, Muhammad MTM, Sijam K, Siddiqui Y (2011) Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage. *Food Chem* **124**(2), 620–626. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.085>.

Ali S, Anjum MA, Nawaz A, Naz S, Hussain S, Ejaz S, Sardar H (2020) Effect of pre-storage ascorbic acid and Aloe vera gel coating application on enzymatic browning and quality of lotus root slices. *J Food Biochem* **44**(3), e13136. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13136>.

Amidi M, Mastrobattista E, Jiskoot W, Hennink WE (2010) Chitosan-based delivery systems for protein therapeutics and antigens. *Adv Drug Delivery Rev* **62**(1), 59–82. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.11.009>.

Ângelo M, Nuno R, Pereira C, Leandro Ó, Ramos DS, António J, Teixeira C, Augusto Vicente A (2016) Edible Food Packaging: Materials and Processing Technologies, 1. izd., CRC Press, Boca Raton. <https://doi.org/10.1201/b19468>.

Arismendi C, Chillo S, Conte A, Del Nobile MA, Flores S, Gerschenson LN (2013) Optimization of physical properties of xanthan gum/tapioca starch edible matrices containing potassium sorbate and evaluation of its antimicrobial effectiveness. *Lebensm Wiss u Technol* **53**, 290–296. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.01.022>.

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

Barbosa-Pereira L, Angulo I, Lagarón JM, Paseiro-Losada P, Cruz JM (2014) Development of new active packaging films containing bioactive nanocomposites. *Innov Food Sci Emerg Technol* **26**, 310–318. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.06.002>.

Bekbölet M (1990) Light effects on food. *J Food Prot* **53**(5), 430–440. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-53.5.430>

Bonilla J, Bittante AMQB, Sobral PJA (2017) Thermal analysis of gelatin–chitosan edible film mixed with plant ethanolic extracts. *J Therm Anal Calorim* **130**, 1221–1227. <https://doi.org/10.1007/s10973-017-6472-4>

Bonilla J, Bittante AMQB, Sobral PJA (2017) Thermal analysis of gelatin–chitosan edible film mixed with plant ethanolic extracts. *J Therm Anal Calorim* **130**(2), 1221–1227. <https://doi.org/10.1007/s10973-017-6472-4>.

Bourbon AI, Pinheiro AC, Cerqueira MA, Rocha CMR, Avides MC, Quintas MAC, Vicente AA (2011) Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. *J Food Eng* **106**, 111-118. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.03.024>.

Bourtoom T (2009) Edible protein films: properties enhancement. *Int Food Res J* **16**, 1-9.

Brummell DA (2006) Cell wall disassembly in ripening fruit. *Funct Plant Biol* **33**(2), 103. <https://doi.org/10.1071/FP05234>

Buljan J (2020) Barijerna i mehanička svojstva jestivih filmova od kitozana s ekstraktom sjemenki grožđa (diplomski rad), Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Carneiro-da-Cunha MG, Cerqueira MA, Souza BWS, Carvalho S, Quintas MAC, Teixeira JA, Vicente AA (2010) Physical and thermal properties of a chitosan/alginate nanolayered PET film. *Carbohydr Polym* **82**, 153-159. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.04.043>.

Cerqueira MA, Fabra MJ, Castro-Mayorga JL, Bourbon AI, Pastrana LM, Vicente AA, Lagaron JM (2016) Use of electrospinning to develop antimicrobial biodegradable multilayer systems: Encapsulation of cinnamaldehyde and their physicochemical characterization. *Food Bioprocess Technol* **9**, 1874–1884. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1772-4>.

Chuang WY, Young TH, Ya CH, Chiu WY (1999) Properties of the poly (vinyl alcohol)/chitosan blend and its effect on the culture of fibroblast in vitro. *Biomaterials* **20**(16), 1479–1487. [https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(99\)00054-x](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(99)00054-x)

Crosby PM (1989) A test method for determination of moisture vapor transmission rate. Patent US4862730.

- Debeaufort F, Quezada-Gallo JA, Voilley A (1998) Edible films and coatings: Tomorrow's packagings: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr* **38**(4), 299-313. <https://doi.org/10.1080/10408699891274219>
- Deger D, Ashoor SH (1987) Light-induced changes in taste, appearance, odor, and riboflavin content of cheese. *J Dairy Sci* **70**, 1371-1376. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(87\)80158-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(87)80158-3)
- Dhanapal A, Sasikala P, Rajamani L, Kavitha V, Yazhini G, Shakila Banu M (2012) Edible films from polysaccharides. *Food sci qual manag* **3**, 9-18.
- Donhowe GI, Fennema OR (1994) Edible films and coatings: Characteristics, formation, definitions, and testing methods. U: Krochta JM, Baldwin EA, Nisperos-Carriedo MO (ured.) *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, Technomic Publishing, Lancaster, str. 1-24.
- Friedman M, Juneja VK (2010) Review of antimicrobial and antioxidative activities of chitosans in food. *J Food Prot* **73**(9), 1737-1761. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-73.9.1737>.
- Galić K (2009) Jestiva ambalaža u prehrambenoj industriji. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam* **4** (1-2), 23-31.
- Galus S, Kadzińska J (2016) Whey protein edible films modified with almond and walnut oils. *Food Hydrocol* **52**, 78–86. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.06.013>
- Gao P, Zhu Z, Zhang P (2013) Effects of chitosan–glucose complex coating on postharvest quality and shelf life of table grapes. *Carbohydr Polym* **95**(1), 371–378. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.03.029>.
- Garcia MPM, Gomez-Guillen MC, Lopez-Caballero M, Barbosa-Canovas GV (2016) *Edible Films and Coatings: Fundamentals and Applications*, 1. izd., Taylor & Francis, Boca Raton. <https://doi.org/10.1201/9781315373713>.
- Ghosh A, Saha I, Debnath SC, Hasanuzzaman M, Adak MK (2021) Chitosan and putrescine modulate reactive oxygen species metabolism and physiological responses during chili fruit ripening. *Plant Physiol Biochem* **163**, 55–67. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.03.026>.

Guilbert S (1986) Technology and application of edible protective films. U: Mathalouthi M (ured.) Food packaging and preservation, Elsevier Applied Science publishers Ltd, London, str. 371-394.

Guillard V, Guillaume C, Kurek M, Gontard N (2016) Mass Transfer Measurement and Modeling for Designing Protective Edible Films. U: Ribero Cerqueira MAP, Correia Pereira, RN, da Silva Ramos OL, Cuto Teixeira JA, Vicente AA (ured.) Edible Food Packaging Materials and Processing Technologies, Taylor & Francis Group, Boca Raton, str. 181-214. <https://doi.org/10.1201/b19468-7>

Han C, Zhao Y, Leonard SW, Traber MG (2004) Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria × ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest Biol Technol* **33**(1), 67–78. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.01.008>.

Hernandez-Izquierdo VM, Reid DS, McHugh TH, Berrios JDJ, Krochta JM (2008) Thermal transitions and extrusion of glycerol-plasticized whey protein mixtures. *J Food Sci* **73**(4), 169–175. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00735.x>.

Hong CM, Wendorff WL, Bradley Jr RL (1995) Effects of packaging and lighting on pink discoloration and lipid oxidation of annatto-colored cheeses. *J Dairy Sci* **78**, 1896-1902. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(95\)76814-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(95)76814-X).

Iguchi M, Yamanaka S, Budhioni A (2000) Bacterial cellulose – a masterpiece of nature’s arts. *J Mater Sci* **35**, 1–10. <https://doi.org/10.1023/A:1004775229149>

Imahori Y, Bai J, Baldwin E (2016) Antioxidative responses of ripe tomato fruit to postharvest chilling and heating treatments. *Sci Hort* **198**, 398–406. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.12.006>

Janjarasskul T, Rauch DJ, McCarthy KL, Krochta JM (2014) Barrier and tensile properties of whey proteincandelilla wax film/sheet. *Lebensm Wiss u Technol* **56**, 377–382. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.11.034>.

Jeon YJ, Kamil JY, Shahidi F (2002) Chitosan as an edible invisible film for quality preservation of herring and atlantic cod. *J Agric Food Chem* **50**(18), 5167–5178. <https://doi.org/10.1021/jf011693l>.

Kester JJ, Fennema OR (1986) Edible films and coatings: A review. *Food Technol* **40**(12), 47-59.

Kittur FS, Saroja N, Habibunnisa, Tharanathan RN (2001) Polysaccharide-based composite coating formulations for shelf-life extension of fresh banana and mango. *Eur Food Res Technol* **213**, 306–311. <https://doi.org/10.1007/s002170100363>.

Kokoszka S, Debeaufort F, Lenart A, Voilley A (2010) Water vapour permeability, thermal and wetting properties of whey protein isolate based edible films. *Int Dairy J* **20**(1), 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.07.008>

Kong M, Chen XG, Xing K, Park HJ (2010) Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of art review. *Int J Food Microbiol* **144**(1), 51-63. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.012>.

Kou X, Wu M (2018) Characterization of climacteric and non-climacteric fruit ripening. U: Guo Y (ured.) Plant senescence, Methods in Molecular Biology, vol 1744, Humana Press, New York, str. 89-102. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7672-0_7.

Kumar N, Pratibha, Trajkovska Petkoska A, Khojah E, Sami R, Al-Mushhin AAM (2021) Chitosan edible films enhanced with pomegranate peel extract: Study on physical, biological, thermal, and barrier properties. *Materials* **14**(12), 3305. <https://doi.org/10.3390/ma14123305>.

Kurek M, Benbettaieb N, Ščetar M, Chaudy E, Elez-Garofulić I, Repajić M, Klepac D i sur. (2021) Novel functional chitosan and pectin bio-based packaging films with encapsulated *Opuntia-ficus indica* waste. *Food Biosci* **41**, 100980. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100980>

Kurek M, Brachais C-H, Nguimjeu CM, Bonnotte A, Voilley A, Galić K, Couvercelle JP, Debeaufort F (2012) Structure and thermal properties of a chitosan coated polyethylene bilayer film. *Polym Degrad Stab* **97**(8), 1232–1240. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2012.05.039>

Lama K, Harlev G, Shafran H, Peer R, Flaishman MA (2020) Anthocyanin accumulation is initiated by abscisic acid to enhance fruit color during fig (*Ficus carica* L.) ripening. *J Plant Physiol* **251**, 153192. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2020.153192>.

- Lennersten M, Lingert H (1998) Influence of different packaging materials on lipid oxidation in potato crisps exposed to fluorescent light. *Lebensm Wiss u Technol* **31**, 162-168. <https://doi.org/10.1006/fstl.1997.0332>
- Limon T, Birke A, Monribot-Villanueva JL, Guerrero-Analco JA, Altúzar-Molina A, Carrión G, Goycoolea FM, Moerschbacher BM, Aluja M (2021) Chitosan coatings reduce fruit fly (*Anastrepha obliqua*) infestation and development of the fungus *Colletotrichum gloeosporioides* in Manila mangoes. *J Sci Food Agric* **101**(7), 2756–2766. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10903>.
- Lin Y, Chen G, Lin H, Lin M, Wang H, Lin Y (2020) Chitosan postharvest treatment suppresses the pulp breakdown development of longan fruit through regulating ROS metabolism. *Int J Biol Macromol* **165**, 601–608. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.194>
- Lin Y, Lin Y, Lin H, Lin M, Li H, Yuan F, Chen Y, Xiao J (2018) Effects of paper containing 1-MCP postharvest treatment on the disassembly of cell wall polysaccharides and softening in Younai plum fruit during storage. *Food Chem* **264**, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.031>
- Liu Z (2005) Edible films and coatings from starches. U: Han JH (ured.) *Innovations in Food Packaging*, Elsevier Science & Technology Books, London, str. 318-332.
- Martinac A, Filipović-Grčić J (2002) Kitozan – biopolimer 21. stoljeća. *Farmaceutski glasnik* **58**, 1-10. <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:632991>
- Milani J, Maleki G (2012) *Hydrocolloids in Food Industry*. U: Valdez B (ured.) *Food Industrial Processes- Methods and Equipment*, InTechOpen Ltd, London, str. 17-38.
- Molnar D, Novotni D, Kurek M, Galić K, Iveković D, Bionda H, Ščetar M (2023) Characteristics of edible films enriched with fruit by-products and their application on cookies. *Food hydrocolloids* **135**, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108191>
- Moreira MdR, Ponce AG, del Valle CE, Ansorena R, Roura SI (2006) Effects of abusive temperatures on the postharvest quality of lettuce leaves: Ascorbic acid loss and microbial growth. *J Appl Hort* **8**(2), 109–113. <https://doi.org/10.37855/jah.2006.v08i02.25>.
- Morillon V, Debeaufort F, Blond G, Capelle M, Voilley A (2002) Factors affecting the moisture permeability of lipid-based edible films: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* **42**(1), 67–89. <https://doi.org/10.1080/10408690290825466>.

Nguyen VTB, Nguyen DHH, Nguyen HVH (2020) Combination effects of calcium chloride and nano-chitosan on the postharvest quality of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Postharvest Biol Technol* **162**, 111103. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.111103>

Novak J (2015) Primjena prirodnih biopolimera za formiranje jestivih zaštitnih filmova. Završni rad, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Otoni CG, Avena-Bustillos RJ, Azeredo HMC, Lorevice MV, Moura MR, Mattoso LHC, McHugh TH (2017) Recent advances on edible films based on fruits and vegetables-A review. *Comprehensive Rev Food Sci Food Saf* **16**(5), 1151-1169. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12281>.

Pamuković F (2017) Razvoj jestivih filmova s bioaktivnim sastojcima ružmarina (*Rosmarinus officinalis* L.). Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Park HJ, Chinnan MS (1995) Gas and water vapor barrier properties of edible films from protein and cellulosic material. *J Food Eng* **25**, 497-507. [https://doi.org/10.1016/0260-8774\(94\)00029-9](https://doi.org/10.1016/0260-8774(94)00029-9).

Petersen K, Nielsen PV, Bertelsen G, Lawther M, Olsen MB, Nilssonk NH, Mortenseny G (1999) Potential of biobased materials for food packaging. *Trends Food Sci Technol* **10**, 52-68. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(99\)00019-9](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(99)00019-9).

Qiu M, Jiang H, Ren G, Huang J, Wang X (2013) Effect of chitosan coatings on postharvest green asparagus quality. *Carbohydr Polym* **92**(2), 2027–2032. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.11.070>.

Rabea EI, Badawy ME, Stevens CV, Smaghe G, Steurbaut W (2003) Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromol* **4**(6), 1457–1465. <https://doi.org/10.1021/bm034130m>.

Ramos O'L, Reinas I, Silva SI, Fernandes JC, Cerqueira MA, Pereira RN, Vicente AA i sur. (2013) Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. *Food Hydrocol* **30**(1), 110-122. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.05.001>

Ramos ÓL, Fernandes JC, Silva SI, Pintado ME, Malcata FX (2012) Edible films and coatings from whey proteins: A review on formulation, and on mechanical and bioactive properties. *Crit Rev Food Sci Nutr* **52**(6), 533–552. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.500528>.

Rao MS, Kanatt SR, Chawla SP, Sharma A (2010) Chitosan and guar gum composite films: preparation, physical, mechanical and antimicrobial properties. *Carbohydr Polym* **81**, 1243–1247. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.06.058>.

Rhim JW, Shellhammer TH (2005) Lipid-based edible films and coatings. U: Han JH (ured.) *Innovations in Food Packaging*, Academic Press, London, str. 362–383.

Riaz A, Lei S, Akhtar HMS, Wan P, Chen D, Jabbar S, Abid M i sur. (2018) Preparation and characterization of chitosan-based antimicrobial active food packaging film incorporated with apple peel polyphenols. *Int J Biol Macromol* **114**, 547–555. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.126>.

Robertson GL (2006) *Food Packaging Principles and Practice*, 2. izd., CRC Press, Boca Raton. <https://doi.org/10.1201/9781420056150>.

Sa´nchez-Gonza´lez L, Vargas M, Gonza´lez-Marti´nez C, Chiralt A, Cha´fer M (2011) Use of essential oils in bioactive edible coatings: a review. *Food Eng Rev* **3**, 1–16. <https://doi.org/10.1007/s12393-010-9031-3>

Saleem MS, Anjum MA, Naz S, Ali S, Hussain S, Azam M, Sardar H, Khaliq G, Canan I, Ejaz S (2021) Incorporation of ascorbic acid in chitosan-based edible coating improves postharvest quality and storability of strawberry fruits. *Int J Biol Macromol* **189**, 160–169. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.051>.

Salgado PR, Ortiz CM, Musso YS, Di Giorgio L, Mauri AN (2015) Edible films and coatings containing bioactives. *Curr Opin Food Sci* **5**, 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.09.004>.

Sa´nchez-Gonz´alez L, Vargas M, Gonz´alez-Mart´inez C, Chiralt A, Ch´afer A (2011) Use of Essential Oils in Bioactive Edible Coatings: A Review. *Food Eng Rev* **3**, 1–16. <https://doi.org/10.1007/s12393-010-9031-3>.

Sani Mamman I, Teo YY, Misran M (2020) Synthesis, characterization and rheological study of Arabic gum-grafted-poly (methacrylic acid) hydrogels. *Polym Bull* **78**, 3399–3423. <https://doi.org/10.1007/s00289-020-03267-4>

Saurabh CK, Gupta S, Bahadur J, Mazumder S, Variyar PS, Sharma A (2015) Mechanical and barrier properties of guar gum based nano-composite films. *Carbohydr Polym* **124**, 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.02.004>.

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

Soares CG, do Prado SBR, Andrade SCS, Fabi JP (2021) Systems biology applied to the study of papaya fruit ripening: The influence of ethylene on pulp softening. *Cells* **10**(9), 2339. <https://doi.org/10.3390/cells10092339>

Šuman M (2015) Toplinske analize polimernih materijala (završni rad), Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb.

Tan W, Dong F, Zhang J, Zhao X, Li Q, Guo Z (2019) Physical and antioxidant properties of edible chitosan ascorbate films. *J Agric Food Chem* **67**(9), 2530-2539. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b04567>.

Tang CH, Jiang Y (2007) Modulation of mechanical and surface hydrophobic properties of food protein films by transglutaminase treatment. *Food Res Int* **40**(4), 504-509. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.09.010>

Toffey A, Glasser WG (2001) Chitin Derivatives III Formation of Amidized Homologs of Chitosan. *Cellulose* **8**, 35–47. <https://doi.org/10.1023/A:1016695522968>.

Van den Broek LAM, Knoop RJI, Kappen FHJ, Boeriu CG (2015) Chitosan films and blends for packaging material. *Carbohydr Polym* **116**, 237-242. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.07.039>.

Vogler EA (1998) Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. *Adv Colloid Interface Sci* **74**, 69–117. [https://doi.org/10.1016/s0001-8686\(97\)00040-7](https://doi.org/10.1016/s0001-8686(97)00040-7)

Vuillemin ME, Michaux F, Muniglia L, Linder M, Jasniewski J (2019) Gum Arabic and chitosan self-assembly: Thermodynamic and mechanism aspects. *Food Hydrocol* **96**, 463-474. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.05.048>.

Yang H, Liu J, Dang M, Zhang B, Li H, Meng R, Qu D, Yang Y, Zhao Z (2018) Analysis of β -galactosidase during fruit development and ripening in two different texture types of apple cultivars. *Front Plant Sci* **9**, 539. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00539>

Yin H, Du Y, Zhang J (2009) Low molecular weight and oligomeric chitosans and their bioactivities. *Curr Top Med Chem* **9**(16), 1546–1559. <https://doi.org/10.2174/156802609789909795>.

- Zhang W, Zhao H, Zhang J, Sheng Z, Cao J, Jiang W (2019) Different molecular weights chitosan coatings delay the senescence of postharvest nectarine fruit in relation to changes of redox state and respiratory pathway metabolism. *Food Chem* **289**, 160–168. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.047>.
- Zhao H, Liu S, Chen M, Li J, Huang D, Zhu S (2019) Synergistic effects of ascorbic acid and plant-derived ceramide to enhance storability and boost antioxidant systems of postharvest strawberries. *J Sci Food Agric* **99**(14), 6562–6571. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9937>.
- Zhao Y, McDaniel M. (2005) Sensory quality of foods associated with edible film and coating systems and shelf-life extension. U: Jung HH (ured.) *Innovations in Food Packaging*, Elsevier, Kanada, str. 434-453. <https://doi.org/10.1016/B978-012311632-1/50056-5>.
- Zhou Y, Hu L, Chen Y, Liao L, Li R, Wang H, Mo Y, Lin L, Liu K (2022) The combined effect of ascorbic acid and chitosan coating on postharvest quality and cell wall metabolism of Papaya Fruits. *Lebensm Wiss u Technol* **171**, 114134. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114134>.
- Zibaei R, Hasanvand S, Hashami Z, Roshandel Z, Rouhi M, Guimarães JdT, Mortazavian AM i sur. (2021) Applications of emerging botanical hydrocolloids for edible films: A review. *Carbohydr Polym* **256**, 117554. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117554>.

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja IVAN LENARD 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