

Priprema i karakterizacija jestivog pektinskog filma s ekstraktom kore mandarine

Gotal, Nina

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

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:159:531591>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-20**



Repository / Repozitorij:

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



**Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Biotehnologija**

Nina Gotal

0058219349

**PRIPREMA I KARAKTERIZACIJA JESTIVOG PEKTINSKOG FILMA
S EKSTRAKTOM KORE MANDARINE**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Analitička kemija

Mentor: izv. prof. dr. sc. Maja Dent

Zagreb, 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Biotehnologija

Zavod za kemiju i biokemiju
Laboratorij za analitičku kemiju

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Biotehnologija

Priprema i karakterizacija jestivog pektinskog filma s ekstraktom kore mandarine

Nina Gotal, 0058219349

Sažetak: U ovom radu su pripremljeni jestivi pektinski filmovi s ekstraktom kore mandarine s i bez enzima te je provedena analiza fizikalnih i kemijskih svojstva (udio ukupnih fenola, vlaga, topljivost, moć bubrenja filma, boja, tekstura) u odnosu na kontrolne filmove bez dodatka ekstrakta. Dobiveni rezultati su pokazali da dobiveni jestivi pektinski film s ekstraktom kore mandarine ima maseni udio ukupnih fenolnih spojeva od 3,81 mg GAE g⁻¹ do 11,06 mg GAE g⁻¹. Pektinski filmovi s ekstraktima kore mandarine imaju veći udio vlage u odnosu na kontrolne uzorke, indeks vezanja vode i moć bubrenja vode iznose 100 %, a indeks topljivosti u vodi se kreće do 99,92 %. Dodatak ekstrakta kore mandarine s enzimima smanjuje moć bubrenja jestivih pektinskih filmova (1,20 do 0,39 %) te ima izrazit učinak na promjenu boje ($\Delta E=18,86$). Priprema jestivih pektinskih filmova s vodenim ekstraktom kore mandarine s i bez enzima, a naročito s puferkim ekstraktom kore mandarine s enzimima pridonosi poboljšanju teksturnih svojstva gotovih pektinskih filmova s vrijednostima utrošenog rada od 28,74 Nmm, prekidne sile od 10 N i postotne deformacije od 86,70 %.

Ključne riječi: pektin, jestivi film, kora mandarine, fizikalno-kemijska svojstva

Rad sadrži: 29 stranica, 8 slika, 9 tablica, 43 literaturnih navoda, 0 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: izv. prof. dr. sc. Maja Dent

Datum obrane: 16. rujna 2024.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Biotechnology

Department of Chemistry and Biochemistry
Laboratory for Analytical Chemistry

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Food Technology or Biotechnology or Nutrition

Preparation and characterization of edible pectin film with the extract of mandarin peel

Nina Gotal, 0058219349

Abstract:

In this study, edible pectin films were produced with mandarin peel extract with and without enzymes and an analysis of the physical and chemical properties (total phenolic content, moisture, solubility, swelling capacity of the film, color, texture) was carried out in comparison to control films without added extract. The results showed that the edible pectin film produced with mandarin peel extract had a mass fraction of phenolic compounds ranging from 3.81 mg GAE g⁻¹ to 11.06 mg GAE g⁻¹. Compared to control samples, edible pectin films with mandarin peel extracts have a higher moisture content, the water binding index and the water swelling capacity are 100 %, and the water solubility index is up to 99.92 %. The addition of mandarin peel extract with enzymes reduces the swelling capacity of edible pectin films (1.20 to 0.39 %) and has a significant effect on the color change ($\Delta E=18.86$). The production of edible pectin films with water extract of mandarin peel with and without enzymes and especially with the buffer extract of mandarin peel with enzymes contributes to the improvement of the textural properties of the final pectin films, with values of work consumed of 28.74 Nmm, breaking force of 10 N and percentage deformation of 86.70%.

Keywords: pectin, edible film, mandarin peel, physical-chemical properties

Thesis contains: 29 pages, 8 figures, 9 tables, 43 references, 0 supplements

Original in: Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: Maja Dent, PhD, Associate Professor

Thesis defended: September 16th, 2024

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. MANDARINA	2
2.2. JESTIVI FILMOVI	3
2.3. PEKTIN	4
2.4. UV/VIS SPEKTROSKOPIJA	5
2.5. KOLORIMETRIJA	5
2.6. TEKSTURNA SVOJSTVA	6
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	7
3.1. MATERIJALI	7
3.2. METODE	8
3.2.1. PREDTRETMAN KORE MANDARINE S ENZIMIMA	8
3.2.2. CLEVENGER VODENA DESTILACIJA	8
3.2.3. PRIPREMA JESTIVOG PEKTINSKOG FILMA S VODENIM OSTATKOM KORE MANDARINE.....	9
3.2.4. SPEKTROFOTOMETRIJSKO ODREĐIVANJE UKUPNIH FENOLA	10
3.2.5. ODREĐIVANJE UDJELA VLAGE U JESTIVOM PEKTINSKOM FILMU	13
3.2.6. ODREĐIVANJE INDEKSA TOPLJIVOSTI JESTIVOG PEKTINSKOG FILMA	14
3.2.7. ODREĐIVANJE MOĆI BUBRENJA JESTIVOG PEKTINSKOG FILMA U VODI.....	14
3.2.8. ODREĐIVANJE MOĆI BUBRENJA JESTIVOG PEKTINSKOG FILMA U ULJU	15
3.2.9. ODREĐIVANJE BOJE JESTIVOG PEKTINSKOG FILMA.....	15
3.2.10. ODREĐIVANJE TEKSTURE JESTIVOG PEKTINSKOG FILMA	16
4. REZULTATI I RASPRAVA	17

4.1.	SPEKTROFOTOMETRIJSKO ODREĐIVANJE UKUPNIH FENOLA	17
4.2.	ODREĐIVANJE UDJELA VLAGE JESTIVOG PEKTINSKOG FILMA	18
4.3.	ODREĐIVANJE INDEKSA TOPLJIVOSTI JESTIVOG PEKTINSKOG FILMA U VODI.....	19
4.4.	ODREĐIVANJE MOĆI BUBRENJA JESTIVOG PEKTINSKOG FILMA U VODI I ULJU.....	20
4.5.	ODREĐIVANJE BOJE JESTIVOG PEKTINSKOG FILMA.....	21
4.6.	ODREĐIVANJE TEKSTURE JESTIVOG PEKTINSKOG FILMA	22
5.	ZAKLJUČCI	24
6.	POPIS LITERATURE	25

1. UVOD

Mandarina (lat. *Citrus reticulata*) je biljka iz porodice *Rutaceae*, a pripada rodu *Citrusa*. Mandarina se najčešće konzumira svježa, ali se koristi i u proizvodnji sokova, džemova, želiranih proizvoda, eteričnih ulja i dr. Kora mandarine čini oko 25 - 40 % ukupne mase ploda i predstavlja vrijedan nusprodukt u industriji. Kora mandarine, koja se obično smatra otpadom, bogata je bioaktivnim kemijskim spojevima, među kojima su fenolni spojevi, karotenoidi, dijetalna vlakna, proteini, vitamini, minerali i dr.

S obzirom na to da se sve veći broj istraživanja fokusira na smanjenje otpada, maksimalno iskorištenje sirovina i industrijskih nusproizvoda, kora mandarine ima velik potencijal kao sirovina u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji (Rafiq i sur, 2018).

Brojna znanstvena istraživanja usmjerena su i na razvoj novih materijala kao što su jestivi filmovi na bazi polisaharida s dodatkom plastifikatora i sredstva za umrežavanje. Tako dobivene jestive filmove moguće je iskoristiti za pakiranje raznih prehrambenih proizvoda kako bi se očuvala organoleptička svojstva i nutritivna vrijednost

U ovom radu cilj je pripremiti jestive pektinske filmove s vodenim ekstraktima kore mandarine s i bez enzima i puferskim ekstraktom kore mandarine s enzimom. Za procjenu utjecaja dodatka vodenog i puferskog ekstrakta s enzimima biti će napravljeni i kontrolni pektinski filmovi s dodatkom samo vode i pufera u vodi i limunskom puferu (pH=5) te s ekstraktom kore mandarine bez predtretmana.

Karakterizacija jestivih pektinskih filmova će se provesti određivanjem fizikalno - kemijskih svojstava (udio vlage, indeks topljivosti, moć bubrenja filma u vodi i ulju) gravimetrijskim metodama, boje filmova kolorimetrom, udio ukupnih fenolnih spojeva spektrofotometrijski a teksture filma korištenjem analizatora strukture.

2. TEORIJSKI DIO

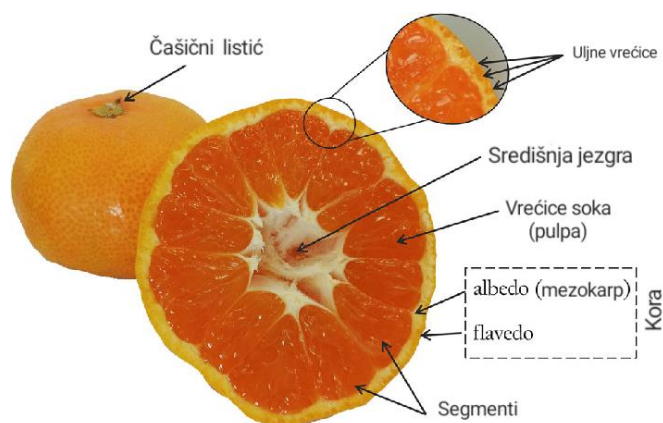
2.1. MANDARINA

Mandarina (lat. *Citrus reticulata*) je zimzeleno stablo iz porodice Rutaceae. Stablo je obično nisko, grmoliko i široke krošnje u odnosu na ostale biljke iz roda Citrusa. Ovisno o sorti lišće može biti okruglo i široko ili tanko i zašiljeno na vrhu. Cvjetovi mogu rasti pojedinačno ili po nekoliko njih zajedno u pazušcima listova (Morton, 1987).

Postoje različite sorte mandarine, ali zajednička karakteristika su plodovi u kojima se među korom i kriškama nalaze isprepletene mrežaste niti. Plod mandarine sastoji se od nekoliko morfološki različita dijelova (slika 1). Kora (perikarp) se sastoji od flaveda obojenog karotenoidima s vanjske strane, te od spužvastog bijelog albeda s unutrašnje strane. Jestivi dio ploda naziva se endokarp i sastoji se od brojnih segmenata vezanih vezivnim tkivom na dio membrane, a unutar njih nalaze se vrećice soka.

Mandarina zauzima 22 % svjetske proizvodnje citrusa (FAO, 2017). Prema podacima USDA (United States Department of Agriculture) svjetska godišnja proizvodnja i potrošnja mandarina 2020. godine je iznosila 31,6 milijuna tona, dok je u Republici Hrvatskoj iznosila 39 440 tona (USDA-FAS, 2020; MPŠR, 2020). Najveći proizvođači mandarina su Kina, Španjolska, Turska i Japan (Lota i sur., 2000).

Mandarine se najčešće konzumiraju svježe, a mogu se koristiti u proizvodnji sokova, želiranih proizvoda, eteričnih ulja ili za aromatiziranje prehrambenih proizvoda (Morton, 1987). Kora mandarine je vrijedan nusprodukt u industriji, a čini 25 - 40 % ukupne mase ploda.



Slika 1. Plod mandarine i presjek ploda (prema Bureš i sur., 2023)

2.1.1. KEMIJSKI SASTAV KORE MANDARINE

Kora mandarine izvor je brojnih vrijednih bioaktivnih komponenti s antioksidativnim, antimikrobnim i terapeutskim svojstvima, što ju čini vrijednom sirovinom za prehrambenu, kozmetičku i farmaceutsku industriju (Chen i sur., 2022). Kemijski sastav kore mandarine prikazan je u tablici 1.

Tablica 1. Kemijski sastav kore mandarine (Senser i Scherz, 1991; Kimball, 1991).

Sastojak	Masa / (%)
Voda	78,0
Proteini	1,0
Lipidi	2,3
Ugljikohidrati	2,6
minerali	1,3

Svježa kora obično sadrži 75 - 85 % vode, dok ostatak čini suha tvar. Kora mandarine izvor je topivih dijetalnih vlakana, te pektina koji se često koristi kao aditiv u prehrambenoj industriji (Larrauri i sur., 1996). Od vitamina najzastupljeniji je vitamin C, a prisutni su i vitamini B kompleksa, biotin te provitamin A. Mineralni sastav kore mandarine obilježava visok udio željeza, dok su od ostalih minerala u značajnim količinama prisutni i kalij, kalcij, mangan, bakar, magnezij, natrij i stroncij (Bakarić, 1983). Flavonoidi poput hesperidina i narirutina zaslužni su za antioksidativna i protuupalna svojstva kore mandarine (Lv i sur., 2015).

Zbog brojnih uljnih vrećica u flavedu, kora mandarine može se koristiti za dobivanje eteričnog ulja. Najzastupljeniji spojevi u eteričnom ulju kore mandarine su limonen i β -pinen (Lota i sur., 2000). Nosioći karakteristične arome mandarine su timol i metil-*N*-metil antranilat. U manjem udjelu prisutni su i γ -terpinen, dekanal, oktanal, α -sinensal te acetaldehid i etanol, koji sinergističkim djelovanjem pridonose tipičnoj aromi (Mazza, 1987).

2.2. JESTIVI FILMOVI

Jestivi filmovi ili premazi su sastavljeni su od prirodnih biopolimera (lipida, polisaharida ili proteina) koji se mogu koristiti kao ekološki prihvatljivija zamjena za plastične ambalažne materijale koji zagađuju okoliš i štete ljudskom zdravlju. Osim biopolimera, glavna strukturna komponenta jestivog filma su još i plastifikator i sredstvo za umrežavanje. Osim toga moguće

je dodati još i površinski aktivne tvari ili aditive. Fizikalno-kemijska svojstva jestivog filma uvelike ovise o vrsti korištenog biopolimera (Han, 2013).

Tijekom pripreme jestivih filmova plastifikatori se dodaju kako bi se smanjile interakcije ili međumolekulske sile među biopolimerima koje su odgovorne za krutu strukturu. Time se postiže veća fleksibilnosti i elastičnost jestivog filma (Ribeiro i sur., 2021). Poželjna je uporaba hidrofilnih plastifikatora koji smanjuju gubitak vode iz materijala. Najčešće se kao plastifikatori koriste glicerol ili sorbitol (Han, 2014).

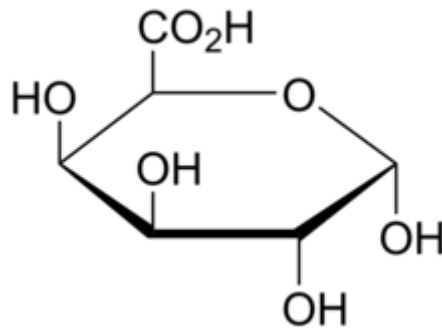
Sredstva za umrežavanje stvaraju kovalentne ili nekovalentne veze između biopolimera. Nekovalentna veza se stvara vodikovim vezama ili ionskim interakcijama (Chaudhary i sur., 2020). Time se dobiva čvrsta matrica na površini supstrata. Kao sredstvo za umrežavanje često se koristi kalcijev klorid, koji smanjuje topljivost i povećava kohezivnost (Espitia i sur., 2014).

Vrlo je raširena uporaba jestivih filmova, izrađenih od prirodnih polimera, poput polisaharida i proteina zbog njihovih dobrih svojstava želiranja i jednostavne modifikacije.

2.3. PEKTIN

Pektin je prirodan heteropolisaharid i jedan je od glavnih sastojaka stanične stijenke biljaka koji se nalazi u unutarstaničnom sloju. Posebno je zastupljen u voću kao što su jabuke i citrusi (Picot-Allain i sur., 2022). Pektin ima primjenu u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji zbog pozitivnog učinka na zdravlje te sposobnosti zgušnjavanja, želiranja i emulgiranja (Li i sur., 2021).

Struktura pektina je vrlo složena. Monomerne jedinice pektina čini *D*-galakturonska kiselina, a povezane su α -1,4-galaktozidnom vezom (slika 2). Karboksilne grupe *D*-galakturonske kiseline mogu biti amidirane ili esterificirane. Pektin kao polimer sadrži tri glavna tipa polisaharida, a to su poligalakturonan, ramnogalakturonan I i ramnogalakturonan II. Poligalakturonan se sastoji od ponovljenih monomernih jedinica *D*-galakturonske kiseline. Ramnogalakturonan I je građen od monomera *L*-ramnoze i *D*-galakturonske kiseline. Ramnogalakturonan II čine vrlo razgranati polisaharidi (Bonnin i sur., 2014).



Slika 2. α -1,4-*D*-galakturonska kiselina (Anonymus 1)

2.4. UV/VIS SPEKTROSKOPIJA

UV/Vis spektroskopija eksperimentalna metoda koja se koristi u analitičkoj kemiji za mjerenje količine svjetlosti apsorbirane ili propuštene kroz uzorak. Relativno je jeftina i lako primjenjiva, visoke osjetljivosti i prihvatljive točnosti te se stoga često koristi u analizama. Mjerenje je moguće provoditi na različitim valnim duljinama ultraljubičastog i vidljivog dijela spektra. Ultraljubičasto zračenje obuhvaća valne duljine od 200 do 400 nm, dok je vidljiv dio spektra od 400 do 800 nm. Ukoliko analizirani uzorak ne apsorbira u UV/Vis području potreban je dodatak kromogenog reagensa koji analit prevodi u oblik pogodan za spektrofotometrijsko mjerenje. Uređaj za mjerenje mjeri apsorbanciju i naziva se spektrofotometar. Apsorbancija se naziva još i optička gustoća, a to je zapravo količina svjetlosti koju apsorbira analit u uzorku. Definirana je Lambert-Beerovim zakonom (jednadžba 1), prema kojem je količina apsorbirane energije linearno proporcionalna duljini puta i koncentraciji analita u uzorku.

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \quad [1]$$

A - apsorbancija

ε - molarni apsorpcijski koeficijent ($\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

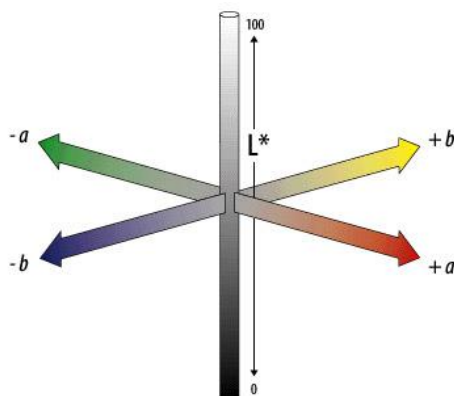
b - duljina puta svjetlosti kroz uzorak (cm)

c - množinska koncentracija uzorka (mol dm^{-3}) (Skoog i sur., 1976).

2.5. KOLORIMetrija

Za mjerenje spektralnog sastava boja koristi se spektrometar. Na temelju provedenih mjerenja boje je moguće prikazati raznim modelima boja, te odrediti karakteristike. Najčešće korišteni model za prikaz vrijednosti je CIE $L^*a^*b^*$ model boja. To je trodimenzionalni prostorni sustav.

Temelj koordinata tog sustava boja je Heringova teorija suprotnih parova boja, koje su ujedno i koordinate sustava (slika 3).



Slika 3. CIE $L^*a^*b^*$ prostorni sustav boja

Na osi a nalazi se raspon boja od crvene do zelene, na osi b od žute do plave, a na osi L od bijele do crne boje. Koordinate boja je moguće usporediti s bilo kojim drugim mjerenim uzorkom. Na temelju dobivenih vrijednosti moguće je izračunati odstupanja boje uzorka od referentnog uzorka, tj. kolorimetrijsku razliku (Petrović i sur., 2013).

2.6. TEKSTURNA SVOJSTVA

Analiza teksturnih svojstava obuhvaćaju niz varijabli, najčešće su to postotna deformacija ϵ (%), prekidna sila F (N) i utrošeni rad W (Nmm). Odnos sile i deformacije ovisan je o vremenu. Materijal koji je podvrgnut djelovanju vanjske sile mijenja oblik, a ta promjena ovisna je o unutarnjim svojstvima materijala. Na temelju toga moguće je razlikovati elastične i plastične materijale. Savršeno elastični materijali nakon djelovanja vanjske sile poprimaju svoj početni oblik. Za razliku od njih, savršeno plastični materijali nakon djelovanja sile zadržavaju deformirani oblik. Postotna deformacija predstavlja sposobnost rastezanja filma, tj. njegov otpor prije pucanja. Prekidna sila je maksimalna sila koju film podnosi prije nego što pukne.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Sirovine

- Svježa oguljena kora mandarine je ručno usitnjena na komadiće i zamrznuta do provođenja predtretmana enzimima i vodene destilacije po Clevengeru.

3.1.2. Kemikalije

- Enzimi: Ksilanaza, Pektinaza i Celulaza (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Njemačka)
- Etanol (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Folin-Chiocalteu reagens (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Njemačka)
- Galna kiselina (Sigma-Aldrich Production GmbH, Švicarska)
- Glicerol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Njemačka)
- Jabučni pektin (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- Kalcijev klorid (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Natrijev karbonat (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Suncokretovo ulje (Zvijezda plus d.o.o., Zagreb, Hrvatska)

3.1.3. Aparatura i pribor

- Analitička vaga (GR-200-EC, A&D Instruments Ltd., Tokyo, Japan)
- Analizator teksture (TA.HDPlus (Stable Mycro System, Engleska)
- UV/Vis spektrofotometar (PERKIN-ELMER, Lambda 25, Massachusetts, USA)
- Kolorimetar CM - 3500d (Konica - Minolta, Japan)
- Magnetska miješalica (IKA, RH basic 2, Boutersem, Belgija)
- Vortex miješalica (Metron, Zagreb, Hrvatska)
- Sušionik (Instrumentaria, Zagreb, Hrvatska)
- Aparatura za destilaciju po Clevengeru
- Automatske pipete volumena 100-1000 µL
- Eksikator
- Filter papir
- Graduirane pipete od 1, 2, 5 mL
- Grijač
- Menzure od 10 i 100 mL

- Odmjerne tikvice od 50, 100 i 1000 mL
- Petrijeve zdjelice
- Pinceta
- Posudica s poklopcem od aluminiija
- Propipeta
- Staklene čaše od 50, 150 i 500 mL
- Staklene epruvete
- Staklene kivete
- Stakleni lijevci
- Stakleni štapići
- Stalak za epruvete
- Špatula
- Tikvica s okruglim dnom od 500 mL

3.2. METODE

3.2.1. Predtretman kore mandarine s enzimima

Predtretman kore mandarine je proveden primjenom enzima (pektinaza: celulaza: ksilanaza= 1: 1: 1) u pročišćenoj vodi i limunskom puferu (pH=5). U Erlenmeyerovu tikvicu volumena 250 mL odvaže se 20 g kore mandarine, zatim po 55 mg enzima (pektinaza: celulaza: ksilanaza= 1: 1: 1) te se doda 250 mL pročišćene vode ili limunskog pufera (pH=5). Sadržaj tikvice dobro se promiješa, stavi se vodeno hladilo i zagrijava se na magnetskoj miješalici 120 minuta pri 50 °C uz konstanto miješanje. Po završetku enzimske ekstrakcije sadržaj Erlenmeyerove tikvice se prenese u tikvicu s okruglim dnom volumena 500 mL te se započne vodena destilacija po Clevengeru.

3.2.2. Clevenger vodena destilacija

Vodena destilacija po Clevengeru je provedena primjenom kore mandarine nakon provedenog predtretmana enzimima (pektinaza: celulaza: ksilanaza= 1: 1: 1) u pročišćenoj vodi i limunskom puferu pH 5 te kore mandarine bez prethodnog predtretmana.

Vodena destilacija se provodi na način da se u tikvicu s okruglim dnom volumena 500 mL odvaže 20 g kore mandarine ili prenese kora mandarine nakon provedenog predtretmana enzimima te se doda 250 mL pročišćene vode. Sadržaj tikvice se zagrijava na aparaturi po Clevengeru (slika 4) dok ne zavrije te nakon toga vodena destilacija traje 2 sata. Nakon

završene vodene destilacije sadržaj tikvice potrebno je ostaviti da se ohladi 30 minuta, nakon čega se izdvaja filtracijom biljni i vodeni ostatak te eterično ulje i hidrolat.



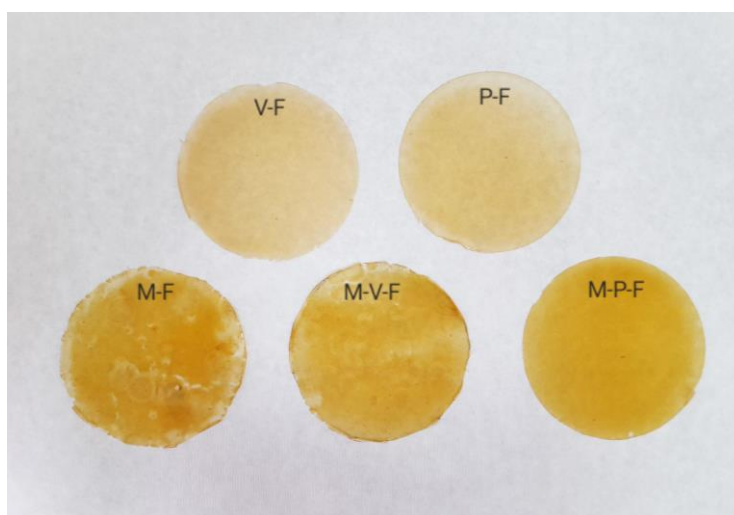
Slika 4. Aparatura za vodenu destilaciju po Clevengeru (vlastita fotografija)

3.2.3. Priprema jestivog pektinskog filma

Jestivi pektinski film je pripremljen na način da se otopi 2 g pektina (2 %, w/w) u 100 mL vode, pufera ili u ekstraktima kore mandarine. Otopina se zagrijava na temperaturi do 50 °C uz konstantno miješanje pri 1000 rpm kroz 4 sata kako bi se otopio sav pektin i razbili svi mjehurići zraka. Doda se 1 g glicerola (50 %, v/v) te pri kraju otapanja 40 mg kalcijeva klorida (2 %, w/v). Za pripremu kontrolnih filmova umjesto 100 mL ekstrakta kore mandarine doda se isti volumen pročišćene vode, odnosno limunskog pufera (pH=5). Nakon potpunog otapanja svih sastojaka, viskozna otopina se izlije tehnikom izlijevanja u Petrijevu zdjelicu, suši na sobnoj temperaturi minimalno 72 sati i nakon toga se dobiveni jestivi pektinski film izvadi iz Petrijeve zdjelice. U tablici 2 su prikazani pripremljeni jestivi pektinski filmovi s i bez dodatka ekstrakta kore mandarine te kontrolni filmovi, a pripremljeni filmovi su vidljivi na slici 5.

Tablica 2. Pripremljeni jestivi pektinski filmovi s i bez dodatka ekstrakta kore mandarine

Oznaka	Opis
V-F	Jestivi pektinski film s vodom (kontrolni uzorak)
P-F	Jestivi pektinski film s puferom (kontrolni uzorak)
M-F	Jestivi pektinski film s dodatkom vodenog ekstrakta kore mandarine
M-V-F	Jestivi pektinski film s dodatkom vodenog ekstrakta kore mandarine s enzimima
M-P-F	Jestivi pektinski film s dodatkom puferskog ekstrakta kore mandarine s enzimima



Slika 5. Pripremljeni jestivi pektinski filmovi (vlastita fotografija)

3.2.4. Spektrofotometrijsko određivanje ukupnih fenola

Osnova metode spektrofotometrijskog mjerenja ukupnih fenola je kolorna reakcija fenola s Folin-Ciocalteu reagensom te mjerenjem nastalog plavog obojenja pri valnoj duljini 765 nm (Singleton i Rossi, 1965). Folin-Ciocalteu reagens se sastoji od fosfovolframove i fosfomolibdene kiseline. U blago alkalnim uvjetima dolazi do oksidacije fenolnih spojeva, dok se kiseline reduciraju u volframov oksid i molibdenov oksid koji su plave boje. Redukcija ovih kiselina, odnosno nastajanje relativno stabilnog kompleksa plave boje, bit će intenzivnija što je veća prisutnost hidroksilnih skupina ili oksidirajućih grupa u fenolnim spojevima (Jakopić i sur., 2009).

- **Priprema otopina za određivanje ukupnih fenola**

Otopina Folin-Ciocalteu reagensa pripremi se tako da se reagens razrijedi s deioniziranom vodom u omjeru 1:2, (v/v).

Zasićena otopina natrijeva karbonata (20 %, w/v) pripremi se tako da se 200 g anhidrida natrijeva karbonata otopi u 800 mL vruće destilirane vode, zatim ohladi na sobnu temperaturu te se doda nekoliko kristalića natrijeva karbonata i nadopuni u odmjernoj tikvici od 1000 mL. Nakon 24 sati se profiltrira.

Standardna otopina galne kiseline pripremi se tako da se odvaži 250 mg galne kiseline u posudici za vaganje te se pomoću 10 mL 96 %-tnog etanola prenese u odmjernu tikvicu od 50 mL. Otopi se u datom volumenu i nadopuni deioniziranom vodom do oznake.

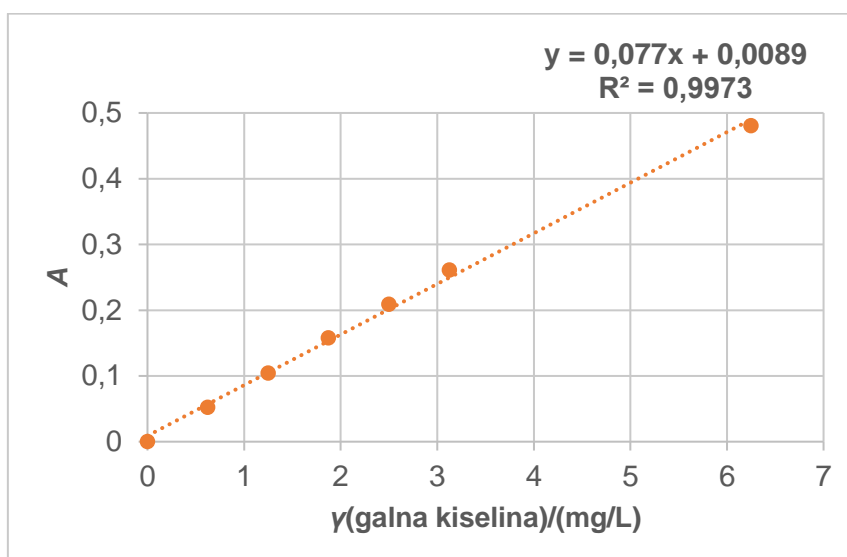
- **Izrada baždarnog dijagrama**

Za određivanje masenog udjela ukupnih fenolnih spojeva u vodenim i puferskim ekstraktima kore mandarine te jestivog pektinskog filma prethodila je izrada baždarnog dijagrama iz standarda galne kiseline ($\gamma = 5 \text{ g L}^{-1}$). Pripremljen je niz standardnih otopina galne kiseline, masenih koncentracija od 50, 100, 150, 200, 250 i 500 mg L^{-1} . Za mjerenje apsorbancije svake pojedinačne standardne otopine galne kiseline, u staklenu epruvetu kvantitativno je preneseno 125 μL otopine galne kiseline određene koncentracije, 625 μL Folin-Ciocalteu reagensa i 10 mL destilirane vode. Nakon 3 minute doda se 1,9 mL zasićene otopine natrijeva karbonata. Sadržaj epruvete se promiješa pomoću Vortexa. Za slijepu probu se umjesto otopine galne kiseline dodaje 125 μL destilirane vode. Zatim se uzorci termostatiraju 25 minuta u kupelji pri temperaturi od 50 °C te se mjeri apsorbancija svakog uzorka paralelnim određivanjem mjerenja dviju apsorbancija pri valnoj duljini od 765 nm. Na temelju izmjerenih vrijednosti nacrtava se baždarni dijagram ovisnosti apsorbancije pri 765 nm o masenoj koncentraciji galne kiseline (mg L^{-1}) (slika 6) i izračuna se jednadžba pravca. Na temelju dobivene jednadžbe pravca izračuna se masena koncentracija ekvivalenta galne kiseline u izmjerenim uzorcima. Izračunate masene koncentracije ukupnih fenola prikazane su u tablici 3.

Tablica 3. Masene koncentracije (γ) pojedinačnih standardnih otopina galne kiseline sa pripadajućim vrijednostima apsorbancija izmjerenih pri $\lambda = 765 \text{ nm}$

γ (galna kiselina) / (mg L^{-1})	$A \pm SD$
0	0,0000 \pm 0,0000
0,625	0,0525 \pm 0,0007
1,25	0,1045 \pm 0,0007
1,875	0,1580 \pm 0,0014
2,5	0,2090 \pm 0,0010
3,125	0,2610 \pm 0,0010
6,25	0,4805 \pm 0,0080

$N = 2$, SD = standardna devijacija



Slika 6. Baždarni dijagram ovisnosti apsorbancije izmjerene pri $\lambda = 765 \text{ nm}$ o koncentraciji galne kiseline

○ **Postupak određivanja ukupnih fenola u vodenom i puferskom ekstraktu**

U vodenim ekstraktima kore mandarine bez (M) i nakon predtretmana enzimima u vodi (M-V) i puferu (M-P) određeni su ukupni fenoli na način da se u staklenu epruvetu odpipetira 125 μL uzorka (vodenog ili puferskog ekstrakta kore mandarine), 625 μL Folin-Ciocalteu reagensa i 10 mL deionizirane vode. Nakon 3 minute doda se 1,9 mL zasićene otopine natrijeva karbonata. Sadržaj epruvete promiješa se pomoću Vortexa, te se uzorci termostatiraju 25 minuta u vodenoj kupelji pri temperaturi od 50 $^{\circ}\text{C}$. Slijepa proba priprema se tako da se umjesto uzorka doda deionizirana voda. Nakon termostatiranja uzorcima se izmjeri

apsorbancija paralelnim mjerenjem pri valnoj duljini od 765 nm. Iz jednadžbe pravca izračuna se masena koncentracija ekvivalenta galne kiseline u vodenim i puferkim ekstraktima kore mandarine te se rezultat izrazi kao maseni udio ukupnih fenola (mg GAE u g kore mandarine).

- **Postupak određivanja ukupnih fenola u pektinskom filmu**

U jestivom pektinskom filmu priređenom dodatkom vodenog ekstrakta kore mandarine (M-F) te u filmu pripremljenom u vodenom (M-V-F) i puferkom (M-P-F) ekstraktu kore mandarine nakon predtretmana enzimima određeni su ukupni fenolni spojevi na način da se prethodno osušeni i izvagani pektinski film otopi u 40 mL deionizirane vode stajanjem kroz 24 sata. Nakon otapanja pektinskog filma, sadržaj se promiješa i profiltrira. Za određivanje ukupnih fenola se koristi filtrat. U staklenu epruvetu kvantitativno se prenese 125 µL uzorka filtrata, 625 µL Folin-Ciocalteu reagensa i 10 mL deionizirane vode. Nakon 3 minute doda se 1,9 mL zasićene otopine natrijeva karbonata. Sadržaj epruvete promiješa se pomoću Vortexa, te se uzorci termostatiraju 25 minuta u vodenoj kupelji na temperaturi od 50 °C. Slijepa proba priprema se tako da se umjesto uzorka doda deionizirana voda. Nakon termostatiranja, uzorcima se izmjeri apsorbanacija paralelnim mjerenjem pri valnoj duljini od 765 nm. Iz jednadžbe pravca izračuna se masena koncentracija ekvivalenta galne kiseline u filtratu jestivog pektinskog filma kore mandarine te se rezultat izrazi kao maseni udio ukupnih fenola (mg GAE u g jestivog pektinskog filma).

3.2.5. Određivanje udjela vlage u jestivom pektinskom filmu

Udio vlage u jestivom pektinskom filmu je određen standardnom AOAC metodom (AOAC, 1999; metoda 930.15). U aluminijsku posudicu s poklopcem koja je prethodno osušena u sušioniku, ohlađena u eksikatoru i izvagana odvaži se jestivi pektinski film veličine 2 cm × 2 cm. Posudica s filmom se stavi sušiti u sušionik 2 sata pri temperaturi od 105 °C. Nakon sušenja, posudica s poklopcem se izvadi, ohladi u eksikatoru i izvaži te se sadržaj vlage i suha tvar u uzorku izračunaju prema formuli 1.

$$w \text{ (vode)} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \cdot 100 \% \quad [1]$$

m1 - masa prazne aluminijske posudice (g)

m2 - masa aluminijske posudice s uzorkom prije sušenja (g)

m3 - masa aluminijske posudice s uzorkom nakon sušenja (g)

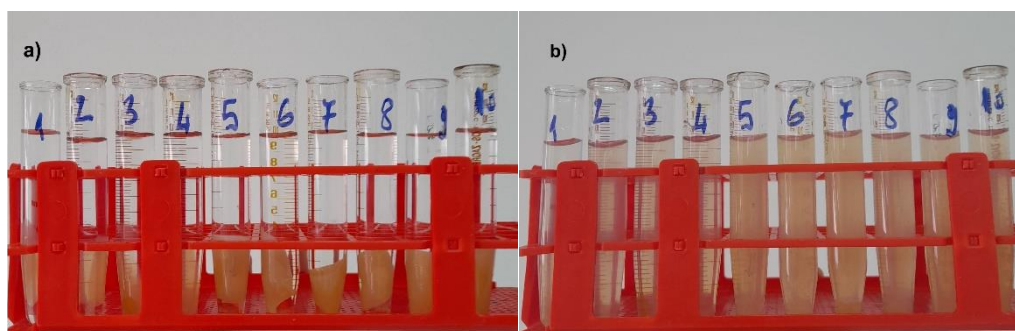
3.2.6. Određivanje indeksa topljivosti jestivog pektinskog filma

Indeks topljivosti (*eng.* water solubility index, WSI) jestivog pektinskog filma je određen prethodno opisanom metodom (Irissin-Mangata i sur., 2001; Brnčić i sur., 2009). U prethodno osušenu i izvaganu kivetu stavi se osušen, izvagan i izrezan jestivi pektinski film veličine 2 cm × 2 cm i doda se 10 mL deionizirane vode. Film se ostavi stajati pri sobnoj temperaturi 24 sata te se potom provede centrifugiranje uzoraka ($\omega = 3000 \text{ o min}^{-1}$, $t = 15 \text{ min}$). Jestivi pektinski film se u potpunosti otopio u vodi te je kiveta s otopljenim jestivim pektinskim filmom sušena u sušioniku pri 105 °C do konstantne mase te izvagana na analitičkoj vagi. Na temelju početne mase uzorka jestivog filma i mase supernatanta nakon sušenja izračuna se indeks topljivosti, WSI jestivog pektinskog filma prema formuli 2.

$$\text{WSI (film)} = \frac{m(\text{supernatant})}{m(\text{uzorak})} \cdot 100 \% \quad [2]$$

3.2.7. Određivanje moći bubrenja jestivog pektinskog filma u vodi

Moć bubrenja vode (*eng.* swelling degree, SD) jestivog pektinskog filma je određen prethodno opisanom metodom (Xu i sur., 2003). U kivetu se stavi osušen, izvagan i izrezan jestivi pektinski film veličine 2 cm × 2 cm i doda se 10 mL deionizirane vode. Film se ostavi stajati pri sobnoj temperaturi 24 sata. Nakon 24 sata pažljivo se izvadi pločica jestivog pektinskog filma i osuši između dva lista filter papira te se važe na analitičkoj vagi. S obzirom da se jestivi pektinski film u potpunosti otopio u vodi, pločicu nije bilo moguće izvaditi te je zaključak da je moć bubrenja vode jestivih pektinskih filmova pripremljenih na način opisan u ovom radu 100 %. Na slici 7 su prikazani rezultati provedenog određivanja moći bubrenja jestivih pektinskih filmova u vodi.

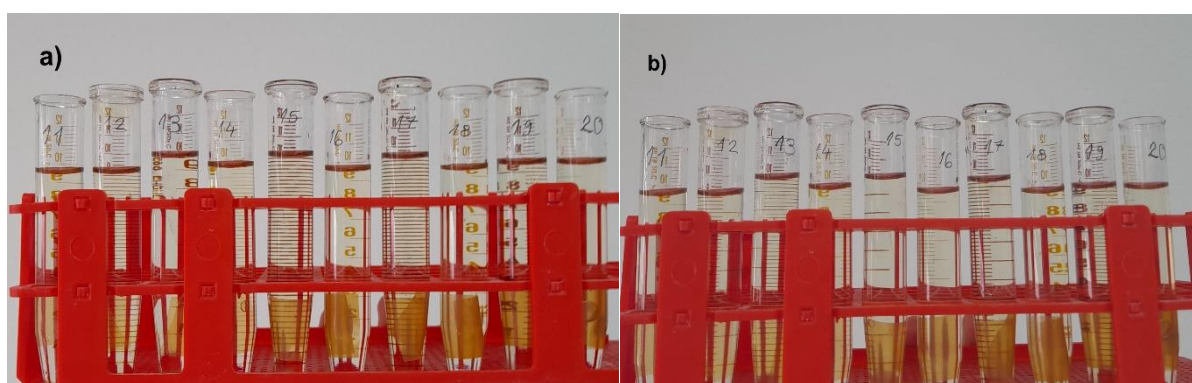


Slika 7. Određivanje moći bubrenja jestivih pektinskih filmova u vodi a) na početku i b) nakon 24 sata (1, 2 – V-F; 3, 4 – P-F; 5, 6 – M-V; 7, 8 – M-V-F; 9, 10 – M-P-F) (vlastita fotografija)

3.2.8. Određivanje moći bubrenja pektinskog filma u ulju

Moć bubrenja jestivog pektinskog filma u ulju je određena prema istoj metodi kao i moć bubrenja vode. U laboratorijsku čašu stavi se osušen, izvagan i izrezan jestivi pektinski film veličine 2 cm x 2 cm i doda se 10 mL suncokretovog ulja. Film se ostavi stajati pri sobnoj temperaturi 24 sata. Nakon 24 sata pažljivo se izvadi pločica jestivog pektinskog filma i osuši između dva lista filter papira te se važe na analitičkoj vagi. Moć bubrenja jestivog pektinskog filma u ulju se izračuna prema formuli 3. Na slici 8 su prikazani rezultati analize provedenog određivanja moći bubrenja jestivih pektinskih filmova u vodi.

$$\text{Moć bubrenja u ulju} = \frac{m(\text{pločice nakon bubrenja u ulju}) - m(\text{pločice})}{m(\text{pločice})} \cdot 100 \% \quad [3]$$



Slika 8. Određivanje moći bubrenja jestivih pektinskih filmova u ulju a) na početku bubrenja i b) nakon 24 sata (11, 12 – V-F; 13, 14 – P-F; 15, 16 – M-V; 17, 18 – M-V-F; 19, 20 – M-P-F) (vlastita fotografija)

3.2.9. Određivanje boje jestivog pektinskog filma

Boja uzorka jestivog pektinskog filma se određuje pomoću kolorimetra CM-3500d (Konica - Minolta, Japan). Mjerenje se provodi tako da se izrezan jestivi pektinski film namjesti na otvor uređaja i zatvori poklopcem. Kao kontrolni uzorci koriste se filmovi pripremljeni s pročišćenom vodom, odnosno s limunskim puferom pH 5. Pomoću računalnog programa SpectraMagic NX (Konica - Minolta, Japan) se podese sve potrebne postavke, a pomoću računalnih programa SpectraMagicTM NX Ver. 1.7 i Color Data Software CM - S100 W očitaju se L , a i b vrijednosti, te se računaju ukupna razlika u boji ΔE prema slijedećim formulama:

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

$$\Delta L = L_0 - L_1$$

$$\Delta a = a_0 - a_1$$

$$\Delta b = b_0 - b_1$$

Na temelju izračunatih ΔL , Δa i Δb vrijednosti uzorak se uspoređuje sa standardom:

$-\Delta L$ - uzorak je tamniji od standarda

$+\Delta L$ - uzorak je svjetliji od standarda

$-\Delta a$ - uzorak je zeleniji od standarda

$+\Delta a$ - uzorak je crveniji od standarda

$-\Delta b$ - uzorak je plavlji od standarda

$+\Delta b$ - uzorak je žući od standarda

3.2.10. Određivanje teksture jestivog pektinskog filma

Analiza teksture jestivog pektinskog filma provedena je na analizatoru teksture TA.HDPlus (Stable Mycro System, Engleska). Uzorak filma dimenzija 3 cm × 1 cm stavlja se okomito između dviju čeljusti razmaknute 10 mm. Tijekom mjerenja donja čeljust je statična, dok se gornja pomiče prema gore zadanom brzinom. Mjerenje se provodi do točke pucanja uzorka filma. Time se dobiva dijagram ovisnosti sile F o vremenu t . Svi uzorci su analizirani dva puta i rezultat je izražen kao srednja vrijednost dva paralelna mjerenja \pm S.D. Iz dijagrama se zatim očitaju vrijednosti prekidne sile F (N) pri kojoj dolazi do pucanja pektinskog filma, postotne deformacije ε (%) te utrošenog rada W (Nmm).

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu pripremljeni su jestivi pektinski filmovi s dodatkom vodenog i puferskog ekstrakta kore mandarine nakon predtretmana enzimima (pektinaza: celulaza: ksilanaza= 1: 1: 1), zatim dodatkom vodenog ekstrakta kore mandarine bez predtretmana te kontrolni filmovi (vodeni i puferski). Jestivi pektinski filmovi su karakterizirani određivanjem fizikalnih svojstava (udio vlage, indeks topljivosti, moć bubrenja filma u vodi i ulju) gravimetrijskim metodama, a mehaničkih svojstava (tekstura filma) korištenjem analizatora strukture. Nadalje, boja pektinskih filmova kolorimetrom, a udio ukupnih fenolnih spojeva u ekstraktu kore mandarine i jestivom pektinskom filmu spektrofotometrijski.

4.1. Spektrofotometrijsko određivanje ukupnih fenola

Rezultati spektrofotometrijskog određivanja ukupnih fenola u ekstraktima kore mandarine te u jestivim pektinskim filmovima prikazani su u tablici 4.

Tablica 4. Rezultati UV/Vis spektrofotometrijskog određivanja ukupnih fenola u vodenim i puferskim ekstraktima kore mandarine te u jestivim pektinskim filmovima

Uzorak	<i>A ± SD</i>	w / (mg GAE/ g kore mandarine)
M	0,332 ± 0,001	4,19 ± 0,009
M-V	0,289 ± 0,001	3,64 ± 0,018
M-P	0,429 ± 0,009	5,45 ± 0,119
	<i>A ± SD</i>	w / (mg GAE/ g filma)
M-F	0,098 ± 0,006	11,06 ± 0,794
M-V-F	0,081 ± 0,008	6,90 ± 0,750
M-P-F	0,055 ± 0,004	3,81 ± 0,351

Iz dobivenih rezultata vidljivo je da se maseni udjeli ukupnih fenola u ekstraktima kore mandarine kreće u rasponu od 3,64 mg GAE g⁻¹ do 5,45 mg GAE g⁻¹. Dobiveni rezultati usporedivi su s istraživanjem različitih vrsta citrusa koja su proveli Gorinstein i suradnici (2001), gdje su vrijednosti ukupnih fenola bile u rasponu od 1,95 do 4,50 mg GAE g⁻¹. Najveći maseni udio ukupnih fenola određen je u puferskom ekstraktu kore mandarine (M-P), dok je najmanji maseni udio ukupnih fenola određen u vodenom ekstraktu kore mandarine (M-V). Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da predtretman kore mandarine enzimima u puferu optimalnog pH povećava enzimsku aktivnost u odnosu na predtretman enzimima u

vodi. Enzimi zbog toga uspješnije razgrađuju komponente stanične stijenke kore mandarine i time olakšavaju ekstrakciju fenolnih spojeva iz kore u otopinu te je određen najveći maseni udio ukupnih fenola u puferskom ekstraktu kore mandarine (M-P) (5,45 mg GAE g⁻¹).

Maseni udio ukupnih fenola u jestivim pektinskim filmovima kreće se u rasponu od 3,81 mg GAE g⁻¹ do 11,06 mg GAE g⁻¹. Najveći maseni udio ukupnih fenola određen je u filmu s vodenim ekstraktom kore mandarine (M-F) (11,06 mg GAE g⁻¹), a najmanji u filmu s puferskim ekstraktom kore mandarine s enzimima (M-P-F) (3,81 mg GAE g⁻¹). U istraživanju koje su proveli Fishman i suradnici (2000) vrijednost ukupnih fenola u pektinskim filmovima s korom citrusa iznosila je oko 2,50 mg GAE g⁻¹. U ovom radu su vrijednosti ukupnih fenola u filmovima znatno veće, a s obzirom da su više od vrijednosti dobivenih za ekstrakte kore mandarine od kojih su pripremljeni jestivi pektinski filmovi, može se zaključiti da su zaostali mogući interferenti kao što su dio pektinskog filma, šećeri i dr. te bi svakako trebalo provesti dodatnu analitičku analizu HPLC-om kako bi se s točnošću mogle utvrditi točne količine eventualno zaostalih interferenata i točne vrijednosti udjela fenolnih spojeva.

4.2. Određivanje udjela vlage jestivog pektinskog filma

U jestivim pektinskim filmovima je određen udio vlage i suhe tvari. Udio vlage je bitan parametar koji pokazuje koliko je vode u nekom materijalu, te može znatno utjecati na fizikalno – kemijska svojstva materijala. Rezultati gravimetrijskog određivanja udjela vlage i suhe tvari u jestivim pektinskim filmovima su prikazani u tablici 5.

Tablica 5. Udio vlage i suhe tvari u jestivim pektinskim filmovima

Uzorak	w(vode) / (%)	Suha tvar / (%)
V-F	12,91	87,09
P-F	16,54	83,46
M-F	15,93	84,07
M-V-F	20,44	79,56
M-P-F	20,99	79,01

Udio vlage u jestivim pektinskim filmovima se kreće u rasponu od 12,91 % do 20,99 %. Najmanji udio vlage u filmovima s ekstraktima kore mandarine prisutan je u jestivom pektinskom filmu koji je pripremljen s vodenim ekstraktom kore mandarine (M-F), a najveći udio vlage u jestivom pektinskom filmu pripremljenim s puferskim ekstraktom kore mandarine s enzimima (M-P-F). Također, film pripremljen s vodenim ekstraktom kore mandarine s

enzimima (M-V-F) sadrži visoki udio vlage (20,44 %). S obzirom da film pripremljen s puferskim ekstraktom kore mandarine (M-P-F) sadrži veći udio vlage, sigurno utjecaj ima pH vrijednost i veća koncentracije H_3O^+ iona koja utječe na ionsku jakost i interakcije između pektinskih lanaca, te samim time i na njihovu konformaciju (Psomiadou i sur., 1996), te na veću količinu topljivih higroskopskih molekula koje zadržavaju vodu i doprinose većem udjelu vlage u filmu (Peressini i sur., 2003). Udio vlage u kontrolnom uzorku jestivog pektinskog filma (V-F) je značajno niži (12,91 %) u odnosu na filmove pripremljene dodatkom pufera ili dodatkom vodenog ili puferskog ekstrakta kore mandarine. Pektinski filmovi pripremljeni s vodenim (M-V-F) i puferskim (M-P-F) ekstraktom kore mandarine s enzimima sadrže veći udio vlage u odnosu na kontrolne filmove (V-F i P-F) i film primljen s vodenim ekstraktom kore mandarine (M-V). Dobiveni rezultati udjela vlage u jestivim pektinskim filmovima se slažu s rezultatima istraživanja Khalil i suradnici (2024) koji su koristeći pektin iz citrusa dobili filmove s udjelom vlage od 13,70 do 15,81 %. U istraživanju Jiang i suradnici (2023) jestivi filmovi sa pektinom iz citrusa sadržavali su udio vlage od 18,50 do 20,81 %. Ipak, dodatkom ekstrakta kore mandarine, udio vlage se povećao u svim pripremljenim pektinskim filmovima u odnosu na kontrolne uzorke što je u skladu s istraživanjima drugih autora. Roy i Rhim (2021) su u svom istraživanju također istaknuli da je udio vlage u jestivim pektinskim i agarnim filmovima bio povećan nakon dodatka ekstrakta sjemenki grejpa.

4.3. Određivanje indeksa topljivosti jestivog pektinskog filma u vodi

Rezultati gravimetrijskog određivanja indeksa topljivosti (WSI) u vodi prikazani u tablici 6.

Tablica 6. Indeks topljivosti kontrolnih (WSI) pektinskih filmova

Uzorak	WSI / (%)
V-F	99,59 ± 0,47
P-F	99,92 ± 0,03
M-F	99,92 ± 0,01
M-V-F	99,90 ± 0,02
M-P-F	99,87 ± 0,00

Vrijednosti indeksa topljivosti jestivog pektinskog filma (WSI) kreću se od 99,59 % do 99,92 %. Najnižu vrijednost WSI ima kontrolni pektinski film pripremljen s vodom (V-F) (99,59 %), dok najveći WSI ima pektinski film pripremljen s vodenim ekstraktom kore mandarine (M-F)

(99,92 %). Također, kontrolni pektinski film pripremljen s puferom (P-F) ima brojčano jednak WSI (99,92 %) kao i pektinski film pripremljen s vodenim ekstraktom kore mandarine (M-F). Razlog ovako visokih vrijednosti indeksa topljivosti u vodi je hidrofilna prirode pektina, a dodatak plastifikatora dodatno povećava afinitet za vezanje vode (McHugh i sur., 1994). Može se zaključiti da pripremljeni jestivi pektinski filmovi s dodatkom vodenog ili puferskog ekstrakta kore mandarine, ali i kontrolni uzorci imaju visoke vrijednosti indeksa topljivosti u vodi. U istraživanju Khalil i suradnika (2023) vrijednosti indeksa topljivosti u vodi pektinskih filmova s ekstraktima kore citrusa su nešto niže (79,20 % do 90,62 %) nego dobivenih u ovome radu. Analize su pokazale da općenito pektinski filmovi imaju visoki indeks topljivosti u vodi, zbog čega se oni brzo razgrađuju u vodi ili na zraku. Također, dodatak higroskopskog glicerola dodatno povećava fleksibilnost i propusnost jestivog pektinskog filma zbog smanjenja vodikovih veza između polimernih lanaca, čime se povećava međumolekulski prostor i propusnost za vlagu, a time se povećava topljivost filmova (McHugh i sur., 1994). Stoga je svrha brojnih istraživanja poboljšanje barijernih svojstava jestivih pektinskih filmova, s ciljem prilagodbe dodanog udjela plastifikatora i kalcijeva klorida koji isto doprinose konačnim fizikalno – kemijskim svojstvima gotovog jestivog filma (Jakobek, 2019).

4.4. Određivanje moći bubrenja jestivog pektinskog filma u vodi i ulju

Jestivi pektinski filmovi su se u potpunosti otopili u vodi nakon 24 h stajanja na sobnoj temperaturi te je stoga moć bubrenja jestivih pektinskih filmova u vodi 100 %. Potpuna topljivost jestivih pektinskih filmova s dodatkom vodenog i puferskog ekstrakta kore mandarine, ali i kontrolnih filmova je zbog velikog broja negativno nabijenih karboksilnih grupa koje su razlog dobre topljivosti u vodi (Xie i sur., 2021). Srednja vrijednost moći bubrenja pektinskih filmova u ulju prikazane se u tablici 7.

Tablica 7. Rezultati moći bubrenja jestivih pektinskih filmova u ulju nakon 24 h

Uzorak	Moć bubrenja filma u ulju / (%)
V-F	0,93 ± 0,16
P-F	1,01 ± 0,24
M-F	1,20 ± 0,18
M-V-F	0,69 ± 0,26
M-P-F	0,39 ± 0,05

Moć bubrenja jestivih pektinskih filmova u ulju kreće se od 0,39 do 1,20 %. Najmanje vrijednosti moći bubrenja jestivog pektinskog filma u ulju pokazuju filmovi pripremljeni s vodenim i puferskim ekstraktom kore mandarine nakon predtretmana enzimima (M-V-F i M-P-F) (0,39 i 0,69 %), dok najveću sposobnost bubrenja u ulju od 1,20 % ima pektinski film sa vodenim ekstraktom kore mandarine (M-V). Može se zaključiti da priprema jestivog pektinskog filma s dodatkom vodenog i puferskog ekstrakta kore mandarine nakon predtretmana s enzimima ima manju moć bubrenja filma u ulju u odnosu na kontrolne uzorke što mu daje određenu prednost u daljnjoj primjeni.

4.5. Određivanje boje jestivog pektinskog filma

Parametri boje pripremljenih jestivih pektinskih filmova s vodenim i puferskim ekstraktom kore mandarine određeni su mjerenjem vrijednosti L , a i b te je izračunata ukupna promjena boje ΔE uspoređujući ju sa kontrolnim jestivim pektinskim filmovima priređenim s vodom i puferom. Rezultati mjerenja i izračunate ukupne promjene boje ΔE su prikazani u tablici 8.

Tablica 8. Rezultati određivanja parametara boje u jestivim pektinskim filmovima

Uzorak	L^*	a^*	b^*	ΔL	Δa	Δb	ΔE
V-F	70,86	6,56	19,33	0	0	0	0
P-F	80,35	3,60	26,21	0	0	0	0
M-F	78,56	2,71	12,57	-7,7	3,85	6,76	10,95
M-V-F	85,49	1,34	8,64	-14,63	5,22	10,69	18,86
M-P-F	88,84	-4,58	30,67	-8,49	8,18	-4,46	12,60

Iz prikazanih rezultata u tablici 8 može se vidjeti da jestivi pektinski filmovi pripremljeni dodatkom vodenog i puferskog ekstrakta kore mandarine s enzimima imaju utjecaja na parametre boje jestivog pektinskog filma. Jestivi pektinski film s puferskim ekstraktom kore mandarine s enzimima (M-P-F) ima izraženu zelenu komponentu boje (negativna a vrijednost), dok svi ostali filmovi imaju izraženiju crvenu komponentu boje. Najveću b vrijednost ima jestivi pektinski film s vodenim ekstraktom kore mandarine s enzimima (M-V-F) te ima najizraženiju žutu nijansu boje. Najmanju b vrijednost ima jestivi pektinski film s vodenim ekstraktom kore mandarine s enzimima (M-V-F).

Uzorci jestivih pektinskih filmova s vodenim ekstraktima kore mandarine s enzimima su tamniji od kontrolnih uzoraka ($L = 85,49$ i $88,84$). Kontrolni pektinski film pripremljenom s vodom ima

nižu vrijednost $L = 70,86$, što je u skladu s istraživanjima drugih autora (Ninčević Grassino i sur., 2021) koji su u komercijalnom jabučnom pektinu odredili parametre boje $L = 69,55$, $a = 6,52$ i $b = 19,13$.

Vrijednost ukupne razlike boje (ΔE) pokazuje koliko se boja pojedinog filma razlikuje u odnosu na kontrolni jestivi pektinski film. Najveća razlika je određena u jestivom pektinskom filmu pripremljenim s vodenim ekstraktom kore mandarine s enzimima (M-V-F), te iznosi 18,86. Najmanju razliku boje u odnosu na kontrolni pektinski film pokazuje uzorak jestivog pektinskog filma s vodenim ekstraktom kore mandarine (M-F). U istraživanju Špalj (2020) također je pokazano da dodatak ekstrakta otpadaka kave u pektinske filmove rezultira promjenom boje, na što utječe udio fenolnih spojeva u uzorku. Zbog toga je najveća promjena boje u odnosu na standard očekivana u pektinskim filmovima s vodenim ekstraktima kore mandarine s enzimima, što se slaže s dobivenim rezultatima. Razlog tome je što se djelovanjem enzima oslobađa veća količina obojenih tvari koje doprinose izraženijoj obojenosti tih filmova.

4.6. Određivanje teksture jestivog pektinskog filma

Uzorcima jestivih pektinskih filmova određena je tekstura pomoću analizatora teksture te iz dobivenog dijagrama ovisnosti sile o vremenu iščitane su vrijednosti prekidne sile F (N), postotne deformacije ε (%) i utrošenog rada W (Nmm). Dobiveni rezultati prikazani su u tablici 9.

Tablica 9. Rezultati određivanja parametara teksture u jestivim pektinskim filmovima

Uzorak	F / (N) \pm SD	ε / (%) \pm SD	W / (Nmm) \pm SD
V-F	11,56 \pm 0,95	42,17 \pm 6,04	25,92 \pm 1,93
P-F	3,99 \pm 0,41	86,70 \pm 6,84	20,94 \pm 0,43
M-F	12,62 \pm 2,49	20,16 \pm 6,12	15,63 \pm 6,45
M-V-F	8,60 \pm 0,98	15,46 \pm 5,45	9,05 \pm 1,02
M-P-F	10,21 \pm 0,70	53,68 \pm 11,66	28,74 \pm 4,53

Prekidna sila predstavlja maksimalnu silu koju film može podnijeti prije nego što pukne. U jestivim pektinskim filmovima prekidna sila se kreće od 3,99 do 12,62 N. Najmanju prekidnu silu od 3,99 N ima kontrolni jestivi pektinski film s puferom (P-F). Značajno veću prekidnu silu od ostalih uzoraka ima jestivi pektinski film s vodenim ekstraktom kore mandarine (M-F) i

iznosi 12,62 N. Iz prikazanih rezultata može se zaključiti da veću prekidnu silu mogu podnijeti jestivi pektinski filmovi pripremljeni s vodom u odnosu na pufer.

U jestivim pektinskim filmovima postotna deformacija se kreće od 15,46 do 86,70 %. Najmanja postotna deformacija postignuta je u jestivom pektinskom filmu s vodenim ekstraktom kore mandarine s enzimima (M-V-F) i iznosi 15,46 %, a najveća u kontrolnom pektinskom filmu s puferom (P-F) i iznosi 86,70 %. Iz prikazanih rezultata se može zaključiti da najveću postotnu deformaciju može izdržati kontrolni pektinski film s puferom (P-F). Priprema pektinskog filma s vodenim ekstraktom kore mandarine s i bez enzimima nije doprinijela povećanju postotne deformacije pektinskih filmova, nego je čak bila niža od kontrolnih uzoraka (20,16 % za M-F i 15,46 % za M-V-F),

U jestivim pektinskim filmovima utrošeni rad se kreće od 9,05 do 28,54 Nmm. Najmanji rad od 9,05 Nmm je utrošen kod jestivog pektinskog filma s vodenim ostatkom kore mandarine s enzimima (M-V-F). Najveći utrošeni rad iznosi 28,74 Nmm i izmjeren je u pektinskom filmu s puferskom ekstraktom kore mandarine s enzimima (M-P-F). Međutim, kontrolni pektinski filmovi pripremljeni s vodom i puferom pokazuju veliki utrošeni rad (V-F od 25,92 Nmm i P-F od 20,94 Nmm) što je nešto niže od pektinskog filma pripremljenog s puferskim ekstraktom kore mandarine s enzimima (M-P-F). Što je utrošeni rad veći, to je film čvršći. Također je u većini uzoraka vidljiva recipročna ovisnost utrošenog rada i prekidne sile. Naime, što je utrošeni rad veći, to je prekidna sila manja. Jestivi pektinski filmovi s vodenim ekstraktima kore mandarine s i bez enzima (M-F i M-V-F) imaju najslabija svojstva. Stoga, možemo zaključiti da priprema jestivih pektinskih filmova s vodenim ekstraktom kore mandarine s i bez enzima (M-F i M-V-F), a naročito s puferskim ekstraktom kore mandarine s enzimima (M-P-F) pridonosi poboljšanju teksturnih svojstva gotovih pektinskih filmova.

Go i suradnici (2020) su dodatkom ekstrakta citrusa u pektinske filmove povećali rastezljivost filmova što pripisuju šećerima koji djeluju kao plastifikatori, te uzrokuju slabljenje veza između polimera i povećanje slobodnog volumena. Također, fenolni spojevi imaju pozitivan učinak na mehanička svojstva jestivih pektinskih filmova uslijed stvaranja vodikovih veza između hidroksilne i karboksilne skupine pektina i fenolnih spojeva (Talón i sur., 2017; Shivangi i sur., 2021).

5. ZAKLJUČCI

1. Maseni udio ukupnih fenola u ekstraktima kore mandarine kreće se u rasponu od 3,64 mg GAE g⁻¹ do 5,45 mg GAE g⁻¹. Najveći maseni udio ukupnih fenola određen je u filmu vodenim ekstraktom kore mandarine (M-F) (11,06 mg GAE g⁻¹) a najmanji u filmu s puferskim ekstraktom kore mandarine s enzimima (M-P-F) (3,81 mg GAE g⁻¹).
2. Udio vlage u jestivim pektinskim filmovima se kreće u rasponu od 12,91 % do 20,99 %. Najmanji udio vlage je prisutan u jestivom pektinskom filmu koji je pripremljen s vodenim ekstraktom kore mandarine (M-F), a najveći udio vlage u jestivom pektinskom filmu pripremljenim s puferskim ekstraktom kore mandarine s enzimima (M-P-F). Pektinski filmovi pripremljeni s vodenim (M-V-F) i puferskim (M-P-F) ekstraktom kore mandarine s enzimima sadrže veći udio vlage u odnosu na kontrolne filmove (V-F i P-F) i film primljen s vodenim ekstraktom kore mandarine (M-V). Dakle, dodatkom ekstrakta kore mandarine s enzimima, udio vlage se povećao u svim pripremljenim pektinskim filmovima u odnosu na kontrolne uzorke.
3. Moć bubrenja jestivih pektinskih filmova pripremljenih s vodenim ili puferskim ekstraktom s i bez enzima, te kontrolnih uzoraka u vodi je 100 % zbog potpunog otapanja filmova u vodi.
4. Moć bubrenja jestivih pektinskih filmova u ulju kreće se od 0,39 do 1,20 %. Najmanje vrijednosti sposobnosti bubrenja jestivog pektinskog filma u ulju pokazuju filmovi pripremljen s vodenim i puferskim ekstraktom kore mandarine s enzimima (M-V-F i M-P-F) (0,39 i 0,69 %), dok najveću sposobnost bubrenja u ulju od 1,20 % ima pektinski film sa vodenim ekstraktom kore mandarine (M-V). Dakle, priprema jestivog pektinskog filma s dodatkom vodenog i puferskog ekstrakta kore mandarine s enzimima ima manju moć bubrenja filma u ulju u odnosu na kontrolne uzorke.
5. Vrijednosti indeksa topljivosti (WSI) u vodi pripremljenih jestivih pektinskih filmova s vodenim i puferskim ekstraktom kore mandarine s i bez enzima, kao i kontrolnih uzoraka u vodi su vrlo visoke zbog hidrofilne prirode pektina, te se kreću u rasponu od 99,59 % do 99,92 %.
6. Jestivi pektinski filmovi pripremljeni dodatkom vodenog i puferskog ekstrakta kore mandarine s enzimima imaju utjecaja na parametre boje jestivog pektinskog filma. Najveća razlika u boji (ΔE) je određena u jestivom pektinskom filmu pripremljenim s vodenim ekstraktom kore mandarine s enzimima, te iznosi 18,86. Najmanju razliku boje (ΔE) u odnosu na kontrolni pektinski film pokazuje uzorak jestivog pektinskog filma s vodenim ekstraktom kore mandarine (10,95).

7. Najbolja teksturna svojstva ima jestivi pektinski film pripremljen s puferskim ekstraktom kore mandarine s enzimima koji pokazuje najveći utrošen rad od 28,74 Nmm i postotak deformacije od 86,70 %, dok prekidna sila iznosi 10 N. Jestivi pektinski filmovi s vodenim ekstraktima kore mandarine s i bez enzima imaju najslabija svojstva. Stoga, možemo zaključiti da priprema jestivih pektinskih filmova s vodenim ekstraktom kore mandarine s i bez enzima, a naročito s puferskim ekstraktom kore mandarine s enzimima pridonosi poboljšanju teksturnih svojstva gotovih jestivih pektinskih filmova.

6. POPIS LITERATURE

Anonymus 1, Slika α -1,4-D-galakturonske kiseline, https://en.wikipedia.org/wiki/D-Galacturonic_acid. Pristupljeno 21.5.2024.

AOAC International (1999) Official Methods of Analysis of AOAC International, Method 930.15, 16. izd., The Association, Gaithersburg, MD.

Bonnin E, Garnier C, Ralet MC (2014) Pectin-modifying enzymes and pectin-derived materials: Applications and impacts. *Appl Microbiol Biotechnol* **98**, str. 519-532.
<https://doi.org/10.1007/s00253-013-5388-6>

Bureš MS, Maslov Bandić L, Vlahoviček-Kahlina K (2023) Determination of Bioactive Components in Mandarin Fruits: A Review. *Crit Rev Anal Chem* **53**, str. 1489-1514.

<https://doi.org/10.1080/10408347.2022.2035209>

Chaudhary S, Kumar S, Kumar V, Sharma R (2020) Chitosan nanoemulsions as advanced edible coatings for fruits and vegetables: Composition, fabrication and developments in last decade. *Int J Biol Macromol* **152**, str. 154-170. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.02.276>

Chen J, Han X, Wu Y, Liu L, Yu J, Li J i sur. (2022) Comparative study on characteristics of mandarin peel extracts by biological processing. *Arch Microbiol* **204**, str. 5-7.

<https://doi.org/10.1007/s00203-022-03124-0>

Espitia PJP, Du WX, Avena-Bustillos R de J, Soares N de FF, McHugh TH (2014) Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties - A review. *Food Hydrocoll*, str. 287-296. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.005>

Fishman ML, Coffin DR, Konstance RP, Onwulata CI (2000) Extrusion of pectin/starch blends plasticized with glycerol. *Carbohydr Polym*, str. 317-325. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(99\)00117-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(99)00117-4)

Go EJ, Song KB (2020) Development and Characterization of Citrus Junos Pomace Pectin Films Incorporated With Rambutan (*Nephelium Lappaceum*) Peel Extract. *Coatings* **10**, str. 1-15. <https://doi.org/10.3390/COATINGS10080714>

Gorinstein S, Martín-Belloso O, Park YS, Haruenkit R, Lojek A, Číž M, i ostali (2001) Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chem* **74**, str. 309-315. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00157-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00157-1)

Han JH, Aristippos G (2005) Edible films and coatings: a review. *Innov Food Packag*, str. 239-262. <https://doi.org/10.1016/B978-012311632-1/50047-4>

Irissin-Mangata J, Bauduin G, Boutevin B, Gontard N (2001) New plasticizers for wheat gluten films. *Eur Polym J* **37**, str. 1533-1541. [https://doi.org/10.1016/S0014-3057\(01\)00039-8](https://doi.org/10.1016/S0014-3057(01)00039-8)

Jakobek L (2019) Food packaging materials with polyphenols as active compounds. *MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu* **21**, str. 469-474. <https://doi.org/10.31727/m.21.5.3>

Jakopič J, Veberič R, Štampar F (2009) Ekstrakcija fenolnih snovi iz zelenih plodov oreha z različnimi topili. *Acta Agric Slov* **93**, str. 11-15. <https://doi.org/10.2478/v10014-009-0002-4>

Jiang H, Zhang W, Khan MR, Ahmad N, Rhim JW, Jiang W i ostali (2023) Film Properties of Pectin Obtained from Various Fruits' (Lemon, Pomelo, Pitaya) Peels. *J Compos Sci* **7**, str. 366. <https://doi.org/10.3390/jcs7090366>

Khalil RKS, Sharaby MR, Abdelrahim DS (2023) Novel active edible food packaging films based entirely on citrus peel wastes. *Food Hydrocoll* **137**, str. 7. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107961>

Kimball DA (1991) Citrus Processing. U: *Quality Control and Technology*, Van Nostrand Reinhold, New York, NY.

Larrauri JA, Rupérez P, Bravo L, Saura-Calixto F (1996) High dietary fibre powders from orange and lime peels: Associated polyphenols and antioxidant capacity. *Food Res Int* **29**, str. 757-762. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(97\)00003-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(97)00003-3)

Li D qiang, Li J, Dong H lin, Li X, Zhang J qi, Ramaswamy S, i ostali (2021) Pectin in biomedical and drug delivery applications: A review. *Int J Biol Macromol* **185**, str. 49-65. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.088>

Lota ML, De Rocca Serra D, Tomi F, Casanova J (2000) Chemical variability of peel and leaf essential oils of mandarins from Citrus reticulata Blanco. *Biochem Syst Ecol* **28**, str. 61-78. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(99\)00036-8](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(99)00036-8)

Lv X, Zhao S, Ning Z, Zeng H, Shu Y, Tao O, i sur. (2015) Citrus fruits as a treasure trove of active natural metabolites that potentially provide benefits for human health. *Chem Cent J* **9**, str. 68.

Mazza G (1987) Gas chromatography and mass spectrometry study of the aromatic composition of mandarin essential oil, *Sciences des Aliments* **7**, str. 459-479.

McHugh TH, Krochta JM (1994) Sorbitol-vs Glycerol-Plasticized Whey Protein Edible Films: Integrated Oxygen Permeability and Tensile Property Evaluation. *J Agric Food Chem* **42**, str. 841-845. <https://doi.org/10.1021/jf00040a001>

MPŠR (2020) Godišnje izvješće o stanju poljoprivrede u 2020. godini. Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i ribarstva, https://poljoprivreda.gov.hr/UserDocsImages/dokumenti/poljoprivredna_politika/zeleno_izvjesce/2024_08_21%20Zeleno%20izvje%C5%A1%C4%87e%202023_3.pdf Pristupljeno 4. rujna 2024.

Morton JF (1987) Mandarin orange: Fruits of warm climates, str. 142-145.

- Ninčević Grassino A, Ostojić J, Miletić V, Djaković S, Bosiljkov T, Zorić Z, i sur. (2020) Application of high hydrostatic pressure and ultrasound-assisted extractions as a novel approach for pectin and polyphenols recovery from tomato peel waste. *Innov Food Sci Emerg Technol* **64**, str. 1-42. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102424>
- Peressini D, Bravin B, Lapasin R, Rizzotti C, Sensidoni A (2003) Starch- methylcellulose based edible films: Rheological properties of film-forming dispersions. *J Food Eng* **59**, str. 25-32. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00426-0](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00426-0)
- Petrović V, Milković M, Valdec D (2013) Komparacija karakteristika ink-jet otisaka dobivenih vodenim, solventnim i UV bojilima. *Tehnički glasnik* **7**, str. 191-197.
- Picot-Allain MCN, Ramasawmy B, Emmambux MN (2022) Extraction, Characterisation, and Application of Pectin from Tropical and Sub-Tropical Fruits: A Review. *Food Rev Int* **38**, str. 282-312. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1733008>
- Psomiadou E, Arvanitoyannis I, Yamamoto N (1996) Edible films made from natural resources; microcrystalline cellulose (MCC), methylcellulose (MC) and corn starch and polyols - Part 2. *Carbohydr Polym* **31**, str. 193-204. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(96\)00077-X](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(96)00077-X)
- Rafiq S, Kaul R, Sofi SA, Bashir N, Nazir F, Ahmad Nayik G (2018) Citrus peel as a source of functional ingredient: A review. *J Saudi Soc Agric Sci* **17**, str. 351-358. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.07.006>
- Ribeiro AM, Estevinho BN, Rocha F (2021) Preparation and Incorporation of Functional Ingredients in Edible Films and Coatings. *Food Bioprocess Technol* **14**, str. 209-231. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02528-4>
- Roy S, Rhim JW (2021) Fabrication of pectin/agar blended functional film: Effect of reinforcement of melanin nanoparticles and grapefruit seed extract. *Food Hydrocoll* **118**. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106823>
- Senser F, Scherz H (1991) *Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft*, mbH Stuttgart, str. 373.
- Shivangi S, Dorairaj D, Negi PS, Shetty NP (2021) Development and characterisation of a pectin-based edible film that contains mulberry leaf extract and its bio-active components. *Food Hydrocoll* **121** <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107046>
- Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* **16**, str. 144-158.

Skoog DA, West DM, Holler FJ, Crouch SR (2014) Fundamentals of analytical chemistry, 9. izd., Brooks/Cole, str. 650-721.

Špalj S. (2020) Pektinski biofilmovi s ugrađenim polifenolnim ekstraktima otpada espresso kave „Karoma“. Diplomski rad, Prehrambeno- biotehnološki fakultet

Talón E, Trifkovic KT, Nedovic VA, Bugarski BM, Vargas M, Chiralt A i sur. (2017) Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme extracts. *Carbohydr Polym* **157**, str. 1153-1161. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.080>

USDA-FAS (2020) Mandarin. USDA Foreign Agricultural Service, <https://fas.usda.gov/data/production/commodity/0571220>. Pristupljeno 4. rujna 2024.

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

Xu JB, Bartley JP, Johnson RA (2003) Preparation and characterization of alginate-carrageenan hydrogel films crosslinked using a water-soluble carbodiimide (WSC). *J Memb Sci* **218**, str. 131-146. [https://doi.org/10.1016/S0376-7388\(03\)00165-0](https://doi.org/10.1016/S0376-7388(03)00165-0)

Izjava o izvornosti

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

Nina Gotal

Vlastoručni potpis