

# Razvoj i karakterizacija filmova od kitozana, guma arabike i želatine s prirodnim antioksidansima (ekstrakt matičnjaka) za jestive prevlake

---

Soldo, Ana

Master's thesis / Diplomski 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:159:885132>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-07**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

# DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2024.

Ana Soldo

**RAZVOJ I KARAKTERIZACIJA FILMOVA  
OD KITOZANA, GUMA ARABIKE I  
ŽELATINE S PRIRODNIM  
ANTIOKSIDANSIMA (EKSTRAKT  
MATIČNJAKA) ZA JESTIVE PREVLAKE**

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



Ovaj je rad financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom "Održivi pristup u razvoju jestivih prevlaka u povećanju trajnosti svježje jadranske ribe" (HRZZ ActCoFISH, IP-2022-10-1837) čija je voditeljica izv. prof. dr. sc. Mia Kurek.

*Hvala mojoj dragoj mentorici, izv. prof. dr. sc. Miji Kurek, na prihvaćenom mentorstvu i prijateljskom pristupu od samog početka istraživanja.*

*Najveću zahvalu dugujem svojoj obitelji koja mi je pružala neizmjernu podršku i imala beskrajn izvor razumijevanja za svaki uloženi trenutak.*

*Posebno se želim zahvaliti svom Dominiku koji je bio moja mirna luka i bijeg od realnosti u studentskim danima.*

*Bože, hvala Ti.*

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

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

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Diplomski sveučilišni studij: Prehrambeno inženjerstvo

RAZVOJ I KARAKTERIZACIJA FILMOVA OD KITOZANA, GUMA ARABIKE I ŽELATINE S  
PRIRODNIM ANTIOKSIDANSIMA (EKSTRAKT MATIČNJAKA) ZA JESTIVE PREVLAKE

Ana Soldo, univ. bacc. ing. techn. aliment.

0058216394

### Sažetak:

Cilj ovog istraživanja bio je razviti jestive biorazgradive filmove na bazi kitozana, guma arabike i želatine te ispitati utjecaj dodatka ekstrakta matičnjaka (*Melissa officinalis* L.) na njihova fizikalno-kemijska, barijerna i antioksidativna svojstva. Pripremljeni su jednostavni i višekomponentni filmovi koristeći navedene biopolimere, a karakterizacija filmova obuhvatila je mjerenje debljine, boje, transparentnosti, topljivosti, propusnosti na plinove i vodenu paru, udio ukupnih polifenola te antioksidacijski kapacitet. Ekstrakt matičnjaka korišten je kao prirodni antioksidans, izvor bioaktivnih sastojaka za pripremu jestive aktivne ambalaže za pakiranje hrane. Dodavanje ekstrakta matičnjaka rezultiralo je povećanjem polifenola, topljivosti i poboljšanjem antioksidativnih svojstava. Značajan je i porast kod koeficijenta propusnosti na kisik i ugljikov dioksid dodavanjem ekstrakta kod svih filmova. Svi su filmovi bili transparentni, a dodavanjem ekstrakta matičnjaka smanjila se svjetlina filmova zbog tamnije boje ekstrakta. Filmovi su pokazali potencijal kao održiva alternativa tradicionalnim materijalima za pakiranje, smanjujući upotrebu plastike i doprinoseći očuvanju okoliša.

**Ključne riječi:** vodeni ekstrakt matičnjaka, kitozan, želatina, guma arabika, biorazgradivost

**Rad sadrži:** 45 stranica, 12 slika, 5 tablica, 92 literaturnih navoda, 0 priloga

**Jezik izvornika:** hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb.

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

### Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:

1. izv. prof. dr. sc. Mario Ščetar (predsjednik)
2. izv. prof. dr. sc. Mia Kurek (mentor)
3. izv. prof. dr. sc. Tibor Janči (član)
4. izv. prof. dr. sc. Nives Marušić Radovčić (zamjenski član)

**Datum obrane:** 30. rujna 2024.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

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

**Scientific area:** Biotechnical Sciences

**Scientific field:** Food Technology

**Graduate university study programme:** Food Engineering

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF CHITOSAN, GUM ARABIC, AND GELATIN FILMS  
WITH NATURAL ANTIOXIDANTS (LEMON BALM EXTRACT) FOR EDIBLE COATINGS

Ana Soldo, univ. bacc. ing. techn. aliment.  
0058216394

### **Abstract:**

The aim of this study was to develop edible biodegradable films based on chitosan, gum arabic and gelatin, and to investigate the effect of adding lemon balm extract (*Melissa officinalis* L.) on their physicochemical, barrier, and antioxidant properties. Simple and multicomponent films were prepared using these biopolymers, and the characterization of the films included measurements of thickness, color, transparency, solubility, gas and water vapor permeability, total polyphenol content, and antioxidant capacity. Lemon balm extract was used as a natural antioxidant and a source of bioactive compounds for the preparation of active edible packaging for food. The addition of lemon balm extract resulted in increased polyphenol content, solubility, and enhanced antioxidant properties. A significant increase in the permeability coefficient for oxygen and carbon dioxide was observed in all films with the addition of the extract. All films were transparent, but the addition of lemon balm extract reduced their brightness due to the darker color of the extract. The films demonstrated potential as a sustainable alternative to traditional packaging materials, reducing plastic use and contributing to environmental preservation.

**Keywords:** water extract of lemon balm, chitosan, gelatin, gum arabic, biodegradability

**Thesis contains:** 45 pages, 12 figures, 5 tables, 92 references, 0 supplements

**Original in:** Croatian

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

**Mentor:** Mia Kurek, PhD, Associate professor

### **Reviewers:**

1. Mario Ščetar, PhD, Associate professor (president)
2. Mia Kurek, PhD, Associate professor (mentor)
3. Tibor Janči, PhD, Associate professor (member)
4. Nives Marušić Radovčić, PhD, Associate professor (substitute)

**Thesis defended:** September 30<sup>th</sup>, 2024



# Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	2
<b>2.1. PAKIRANJE</b> .....	2
<b>2.2. BIOMATERIJALI ZA PAKIRANJE HRANE</b> .....	2
<b>2.3. JESTIVI MATERIJALI ZA PAKIRANJE HRANE / JESTIVI FILMOVI</b> .....	3
2.3.1. Kitozan.....	4
2.3.2. Želatina.....	6
2.3.3. Guma arabika.....	8
2.3.4. Plastifikatori .....	10
<b>2.4. JESTIVI FILMOVI S BIOAKTIVNIM DODACIMA</b> .....	11
2.4.1. <i>Melissa officinalis L.</i> (matičnjak) kao izvor bioaktivnih sastojaka .....	12
<b>2.5. BARIJERNA SVOJSTVA MATERIJALA</b> .....	13
<b>2.6. FIZIKALNO – KEMIJSKA SVOJSTVA MATERIJALA</b> .....	14
<b>2.7. ZAKONSKA REGULATIVA O MATERIJALIMA ZA PAKIRANJE HRANE</b> .....	15
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	17
<b>3.1. MATERIJALI</b> .....	17
<b>3.2. PRIPREMA JESTIVIH FILMOVA</b> .....	17
<b>3.3. METODE KARAKTERIZACIJE FILMOVA</b> .....	18
3.3.1. Debljina filmova.....	18
3.3.2. Određivanje boje filma .....	18
3.3.3. Mjerenje transparentnosti filmova .....	19
3.3.4. Određivanje topljivosti i udjela vode u filmovima .....	20
3.3.5. Mjerenje pH vrijednosti otopina polimera .....	20
3.3.6. Mjerenje propusnosti plinova kroz biopolimerni film .....	21
3.3.7. Mjerenje propusnosti vodene pare kroz biopolimerni film.....	21
3.3.8. Spektrofotometrijsko određivanje ukupnih fenola .....	22
3.3.9. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) metodom .....	23
3.3.10. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta FRAP metodom .....	23
<b>3.4. OBRADA PODATAKA</b> .....	24
<b>4. REZULTATI I RASPRAVA</b> .....	25
<b>4.1. BOJA FILMOVA I TRANSPARENTNOST</b> .....	25
<b>4.3. UDIO VODE, UDIO SUHE TVARI, TOPLJIVOST I BUBRENJE FILMOVA U VODI</b>	

4.4.	pH OTOPINA BIOPOLIMERA .....	30
4.5.	PROPUSNOST FILMOVA NA PLINOVE (O <sub>2</sub> I CO <sub>2</sub> ).....	31
4.6.	UDIO UKUPNIH POLIFENOLA U FILMOVIMA.....	32
4.7.	UDIO ANTIOKSIDACIJSKE AKTIVNOSTI I KAPACITETA FILMOVA (DPPH I FRAP) .....	33
5.	ZAKLJUČCI .....	35
6.	LITERATURA.....	36

# 1. UVOD

Pakiranje hrane služi u svrhu sigurnosti prehrambenih proizvoda te jednostavnog rukovanja i transporta. Idealno pakiranje sprječava kemijske kontaminacije i povećava rok trajanja što pruža pogodnost za potrošače. Razne su korištene vrste materijala, uključujući plastiku, staklo, metale i papire za pakiranje hrane. Međutim, zbog povećane svijesti potrošača o zdravlju obrade (recikliranja tradicionalnih) i razvoja novih materijala sve je veći značaj poznavanja prijenosa (migracije) potencijalno štetnih sastojaka iz materijala za pakiranje hrane u hranu (Alamri i sur., 2021).

Problem upotrebe plastike i gomilanja otpada, te zahtjevi kupaca za kvalitetnijim proizvodima s dužim rokom trajanja, doveli su do interesa za istraživanje alternativnih materijala za pakiranje hrane, zbog čega razvoj jestivih filmova dobiva na sve većoj važnosti. Filmovi na bazi biopolimera povezani su sa smanjenjem negativnog utjecaja na ekosustav i konceptom održivosti (Beikzadeh i sur., 2020).

Osim velikog ekološkog problema koje donosi, velika upotreba plastike može uzrokovati i štetne učinke na zdravlje potrošača. Posljednjih se godina u razvijenim zemljama promiče primjena tehnologija recikliranja i biorazgradive ambalaže od prirodnih materijala (Hounsou i sur., 2022).

Dobro pakiranje potrošaču pruža visokokvalitetan, siguran i prikladan prehrambeni proizvod. Istovremeno smanjuje bacanje hrane i kvarenje tijekom distribucije, također rješava pitanje okoliša (Shlush i Davidovich-Pinhas, 2022). Glavni cilj pakiranja je zaštita i očuvanje hrane od mogućih fizikalnih, kemijskih, mikrobioloških ili drugih opasnosti koje u konačnici mogu utjecati na njihovu kvalitetu i sigurnost (Alamri i sur., 2021).

U ovom diplomskom radu, predloženi su sljedeći ciljevi:

- Priprema jestivih, biorazgradivih filmova na bazi kitozana, guma arabike i želatine;
- Priprema jednostavnih i višekomponentnih filmova;
- Utjecaj dodatka ekstrakta matičnjaka (*Melissa officinalis* L.) na svojstva filmova;
- Karakterizacija i usporedba fizikalno-kemijskih, barijernih i antioksidativnih svojstava pripremljenih filmova.

## **2. TEORIJSKI DIO**

### **2.1. PAKIRANJE**

Glavna uloga pakiranja hrane je zaštita proizvoda hrane od vanjskih utjecaja i oštećenja, te pružanje potrošačima informacije o sastojcima i hranjivim vrijednostima. Cilj pakiranja hrane je održavati sigurnost hrane i minimalizirati utjecaj na okoliš. Pakiranje hrane može usporiti kvarenje proizvoda, zadržavati blagotvorne učinke obrade, produžiti rok trajanja te održati ili povećati kvalitetu i sigurnost hrane (Marsh i Bugusu, 2007).

Ostale važne funkcije pakiranja su zadržavanje upakiranog sadržaja praktičnost, marketing i komunikacija. Zadržavanje osigurava da proizvod nije namjerno proliven ili raspršen. Funkcija komunikacije služi kao poveznica između potrošača i proizvođača. Sadrži obavezne podatke kao što su težina, izvor, sastojke, nutritivnu vrijednost i mjere opreza koje su propisane zakonom. Promocija ili marketing proizvoda se postiže na mjestu kupnje (Brody i sur., 2008).

U 2020. globalna proizvodnja plastike procijenjena je na 367 milijuna metričkih tona. Oko 40 % plastike proizvedene u svijetu koristi se za pakiranje. Kada se proizvedena plastika koristi za pakiranje tople hrane, ona može uzrokovati štetne učinke na zdravlje potrošača. Kancerogeni spojevi poput slobodnih radikala mogu migrirati u hranu. Oni mogu ometati ili utjecati na metabolizam i aktivnost hormona, a s vremenom mogu uzrokovati i razvoj malignih bolesti, bolesti srca i probleme reproduktivnog sustava. Osim toga, zbog nedostatka tehnologija recikliranja, ponajviše u nerazvijenim zemljama, nakupljanje iskorištenog plastičnog otpada u prirodi predstavlja jedan od najvećih ekoloških problema ovog stoljeća (Hounsou i sur., 2022).

Unatoč ovim sigurnosnim problemima, uporaba plastike u pakiranju hrane nastavila je rasti zbog niske cijene materijala i funkcionalne prednosti (Marsh i Bugusu, 2007).

### **2.2. BIOMATERIJALI ZA PAKIRANJE HRANE**

Pri odabiru materijala za pakiranje hrane treba uzeti u obzir mnoge čimbenike, uključujući cijenu, kvalitetu proizvoda i njihovu sposobnost da održe svježinu proizvoda. Stil i dizajn pakiranja također mogu poboljšati imidž i prihvatljivost proizvoda (Alamri i sur., 2021).

Tehnologija i razvoj tržišta doveli su koncepte i dizajn pakiranja do novih dimenzija i namjena za označavanje hrane i preferencije potrošača. Tako su rješenja za pakiranje hrane postala čak jednako važna kao i zapakirana roba. Petrokemijska tehnologija dovela je do razvoja raznolikih vrsta ambalaže. U zemljama u razvoju plastika je postala problem javnih

vlasti. Na primjer, u nekoliko afričkih zemalja, uključujući Benin i Ruandu, upotreba ambalaže koja nije biorazgradiva nedavno je zabranjena. Prije velike uporabe plastične ambalaže za hranu, ljudi su za pakiranje koristili materijale iz okoliša. Mnoge afričke, azijske i latinoameričke zemlje imaju staru tradiciju korištenja lišća za umatanje hrane (Hounsou i sur., 2022).

Biopolimeri se prema načinu dobivanja dijele u 4 skupine:

- 1) ekstrahirani iz biomase (npr. škrob, pektin, kitozan, želatina);
- 2) kemijskom sintezom iz biomaterijala (npr. polilaktična kiselina (PLA), biopolijester);
- 3) nastali kao produkt aktivnosti mikroorganizama (npr. PHA (polihidroksialkanoat));
- 4) ekstrahirani kemijskom sintezom iz biomaterijala i monomera nafte (npr. poli(butilen sukcinat) (PBS), biološka tereftalna kiselina (TPA) (Grujić i sur., 2017).

Prema općoj definiciji, biorazgradiv je onaj materijal, koji se razgrađuje uz pomoć mikroorganizama (određene vrste bakterija, gljivica ili algi). Brzina razgradnje ovisi o temperaturi (50-70 °C), vlažnosti, broju i vrsti mikroorganizama. Biorazgradivi materijali za pakiranje moraju imati dovoljnu čvrstoću, povećanu otpornost na lomljenje i temperaturne promjene, povećanu izdržljivost i dugotrajnost. Biomaterijali imaju veliki potencijal za budućnost zbog proizvodnje iz održivih i obnovljivih izvora kao i mogućnosti biorazgradnje, čime se smanjuje količina otpada. Jednokomponentni biomaterijali često se kombiniraju sa drugim biopolimerima kako bi osigurali odgovarajuća barijerna i mehanička svojstva nužna za pakiranje prehrambenih proizvoda. (Tokić i sur., 2011).

Biorazgradivost je posebno važna u morskom okolišu u kojem otpad predstavlja opasnost za život u moru (Gupta i sur., 2022). Što se tiče utjecaja na okoliš, polimeri iz prirodnih izvora značajno smanjuju ugljični otisak konačnog proizvoda, ovisnost industrije o oskudnim resursima i dovode do niže emisije stakleničkih plinova i drugih toksičnih spojeva u atmosferu. Osim toga, procesi proizvodnje polimera na biološkoj osnovi energetski su i vremenski učinkovitiji. Sprječavanjem nakupljanja otpada smanjuje se emisija stakleničkih plinova i potrošnja energije te usporava globalno zatopljenje (Shlush i Davidovich-Pinhas, 2022).

### **2.3. JESTIVI MATERIJALI ZA PAKIRANJE HRANE / JESTIVI FILMOVI**

Jestivi filmovi i prevlake su tanki slojevi jestivih materijala koji se nanose na hranu premazivanjem, raspršivanjem ili potapanjem, ili postavljaju na ili između komponenti hrane. Njihova glavna uloga je spriječiti prijenos (permeaciju) vlage, plinova i aroma, poboljšavati mehaničku cjelovitost hrane ili olakšati rukovanje (Kumar i sur., 2022). Također služe kao nositelji funkcionalnih dodataka kojima se poboljšava nutritivna i organoleptička kvaliteta

proizvoda. U tu svrhu, ponajviše se koriste prirodni dodaci s antioksidativnim i/ili antimikrobnim svojstvima. Obogaćivanjem prevlaka i filmova aktivnim dodacima omogućuje se kreiranje u potpunosti novog funkcionalnog proizvoda.

Jestiva pakiranja se proizvode od jestivih polimera, kao što su proteini, polisaharidi i lipidi, te prehrambenih aditiva. Potpuno su probavljivi, biorazgradivi i netoksični. Iako su jestivi filmovi i premazi korišteni stoljećima za zaštitu prehrambenih proizvoda i produljenje njihovog roka trajanja, posljednja dva desetljeća interes za novitetima i istraživanjima u ovom području svrstavaju se na vrh ljestvice znanstvenih prioriteta. Neki od dobro poznatih primjera su npr. želatinski filmovi korišteni za zaštitu mesnih proizvoda, ili voštane prevlake na tvrde sireve. Iako se primjenom ove metode pakiranja uspješno produžuje rok trajanja proizvoda, često javljaju pitanja koja se tiču njihovog učinka na organoleptička i senzorska svojstva. Današnji sve veći zahtjevi potrošača za kvalitetnom, svježom i sigurnom hranom, ekološki prihvatljivim alternativama za pakiranje dovode do proizvodnje komercijalnih jestivih filmova koji će zadržati nutritivne vrijednosti proizvoda, produžiti im rok trajanja, uz minimalne negativne utjecaje na okoliš (Shlush i Davidovich-Pinhas, 2022).

Jestivi filmovi rade se od sastojaka koje imaju svojstva stvaranja filma. Tijekom proizvodnje, filmogeni sastojci se otapaju u vodi, alkoholu ili kombinaciji vode i alkohola, nakon čega se izlijeva na odgovarajuću površinu te suši pri točno određenoj temperaturi i relativnoj vlažnosti. Materijali koji stvaraju film mogu biti hidrofilne ili hidrofobne prirode, a ako bi se poboljšala njegova funkcionalna svojstva, dodaju se plastifikatori (polioli poput glicerola, sorbitola itd.), sredstva za umrežavanje i poboljšanje mehaničkih svojstava (vlakna, enzimi npr. transglutaminaza, limunska kiselina itd.), emulgatori za stabilizaciju (soli masnih kiselina, lecitin), i funkcionalni dodaci za poboljšanje kvalitete, stabilnosti i sigurnosti upakirane hrane (antioksidansi, antimikrobna sredstva, arome i bojila). Antioksidativni jestivi filmovi mogu spriječiti oksidaciju hrane, razvoj neugodnih mirisa i okusa, kao i nutritivne gubitke. Antimikrobna sredstva mogu spriječiti kvarenje od bakterija koje se prenose hranom, kao i organoleptička kvarenja koja rezultiraju proliferacijom mikroorganizama (Hassan i sur., 2018).

### 2.3.1. Kitozan

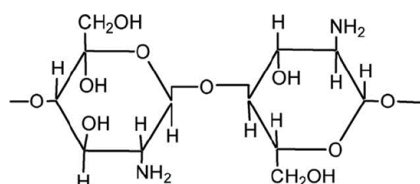
Kitozan je prirodan polimer bez alergena, dobiven obradom nusproizvoda hrane, tj. kitinskih ljuštura rakova (*Crustacea*). Alternativni izvori kitina, točnije kitozana, smatraju se kukci, gljive, kvasac, zelene mikroalge i protozoe (Azeredo i sur., 2010). Zbog svoje biokompatibilnosti često se koristi u farmaceutskoj industriji i biomedicini, a u prehrambenoj industriji uglavnom zbog svojih strukturnih svojstava koja omogućuju formiranje kontinuiranog sloja prevlaka na hrani. Kitozan je strukturno sličan celulozi, jedina razlika je da je hidroksilna

skupina na drugom atomu ugljika heks-ozu ponovljene jedinice supstituirana uz pomoć acetamidne skupine (slika 1.). Kitozan je kopolimer dobiven deacetilacijom kitina upotrebom alkalne otopine koja sadrži ( $\beta$ -(1-4)-2-acetamido-D-glukozu), a te jedinice kasnije prelaze 80 %. Kitozan je uobičajeno definiran u smislu stupnja deacetilacije. Filmovi napravljeni iz vodene otopine kitozana obično su transparentni, savitljivi, posjeduju dobru barijeru za kisik ( $O_2$ ) i ugljikov dioksid ( $CO_2$ ), i imaju izvrsna antimikrobna svojstva (Hassan i sur., 2018).

Filmovi napravljeni od kitozana prozirni su i fleksibilni, a sa svojim antimikrobnim svojstvima pridonose sigurnosti i očuvanju hrane. Kitozan je jedan od najčešće proučavanih biopolimera u posljednje tri godine kada su u pitanju jestivi filmovi i premazi. Sami kitozanski filmovi imaju ograničenu otpornost na vodu i plinove, što znači da se često kombiniraju s drugim polimerima ili se uključuju bioaktivni spojevi kako bi se poboljšale te karakteristike. Filmovi od kitozana također pokazuju dobru biorazgradivost, što ih čini pogodnima za upotrebu u održivim ambalažnim rješenjima, uz smanjenje utjecaja na okoliš nakon korištenja (Martins i sur., 2024).

Filmovi od kitozana obogaćeni ekstraktom maqui bobica pokazali su značajna antioksidativna i antibakterijska svojstva. Učinkovitost ovih filmova bila je koncentracijski ovisna, s većim inhibicijskim zonama kod veće koncentracije ekstrakta (Genskowsky i sur., 2015).

Kitozan je svestran materijal s brojnim korisnim svojstvima koja se mogu dodatno prilagoditi kroz različite procese proizvodnje i dodavanje bioaktivnih spojeva, što omogućuje izradu filmova s ciljanom primjenom. Metode sušenja mogu utjecati na boju, prozornost i kristalnost filmova, pri čemu se različite metode sušenja koriste za postizanje različitih svojstava. Kitozanski filmovi pružaju dobru barijeru protiv kisika ( $O_2$ ) i, u manjoj mjeri, protiv vodene pare. Ova svojstva su ključna za očuvanje svježine hrane. Međutim, barijerna svojstva mogu varirati ovisno o metodi sušenja i dodacima, kao što je prikazano u studiji (Thakhiew i sur., 2013).



**Slika 1.** Kemijska struktura kitozana (Hassan i sur., 2018)

Filmovi se uglavnom proizvode izlivanjem iz otopina, pri čemu se kitozan u prahu otapa u kiselom mediju s pH nižim od 4,6, poput vodene otopine octene, limunske ili mliječne kiseline. Dobivena otopina se izliva na odabrane podloge, najčešće staklene Petrijeve zdjelice, i suši se tijekom točno određenog vremenskog perioda. Nakon sušenja, filmovi se

odvajaju od podloge i koriste za produženje trajnosti različitih namirnica, uključujući voće, povrće, meso i mesne prerađevine, kao i ribu i riblje proizvode (Priyadarshi i Rhim, 2020).

Glavna prepreka industrijskoj proizvodnji filmova i prevlaka od kitozana je ta što iako kitozan može proizvesti savršene filmove metodom lijevanja otopine, ne može se miješati u industrijskim ekstruderima. Štoviše, hidrofилnost kitozana čini ga nekompatibilnim s većinom sintetičkih polimera (Giannakas i sur., 2019).

Primjeri primjene kitozanskih filmova (Priyadarshi i Rhim, 2020):

- Antimikrobni filmovi - filmovi obogaćeni antimikrobnim dodacima, poput eteričnih ulja ili metalnih nanomaterijala (npr. srebro, cinkov oksid), kako bi se poboljšala inhibicija rasta patogenih mikroorganizama. Ovi filmovi se često koriste za produženje roka trajanja svježih proizvoda poput mesa, ribe i povrća.
- Jestive prevlake: Kitozanski filmovi se mogu koristiti kao jestive prevlake za voće i povrće kako bi se smanjio gubitak vlage i usporila oksidacija, što pomaže u očuvanju svježine i kvalitete proizvoda tijekom skladištenja.
- Kombinacija (eng. *blend*) s drugim polimerima: npr. škrob ili celuloza, za izradu filmova koji imaju poboljšana mehanička svojstva i otpornost na vlagu, što ih čini pogodnima za primjenu u pakiranju različitih prehrambenih proizvoda.
- Filmovi s nanomaterijalima: dodatak nanomaterijala poput nanoceluloze ili nanogлина može dodatno poboljšati mehanička i barijerna svojstva kitozana, čineći još učinkovitijim za pakiranje hrane.

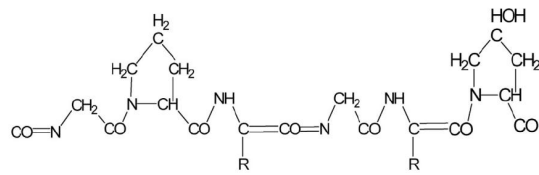
### 2.3.2. Želatina

Filmovi formirani korištenjem izvora želatine kao primarnog biopolimera poželjniji su za proizvodnju jer su jeftini i lako dostupni. Filmovi proizvedeni od želatine pokazuju dobru prozirnost te mehanička i barijerna svojstva. Želatina nastaje hidrolizom fibroznog hidrofobnog proteina. Aminokiseline su prisutne u dobro definiranom rasporedu u želatini (slika 2.). Značajke želatine su visoki udjel aminokiselina glicina, prolina i hidroksi-prolina, dok je u želatini također prisutna mješavina jednostrukih i dvostrukih razmotanih lanaca koji imaju hidrofилna svojstva. U procesu geliranja lanci prolaze kroz konformacijsku tranziciju odmotavanja i nastoje ponovno zadobiti oblik trostruke spirale kolagena (Hassan i sur., 2018).

Želatina, biopolimer dobiven iz kolagena, naširoko se koristi u prehrambenoj industriji zbog svojih izvrsnih funkcionalnih svojstava. Međutim, njena primjena u ambalaži za hranu je ograničena zbog osjetljivosti na vlagu, što može uzrokovati otapanje, bubrenje ili raspadanje folija kada su izložene vodi. Kako bi se prevladali ti nedostaci, u folije od želatine se dodaju različiti prirodni i sintetički materijali kako bi se poboljšala njihova mehanička i termalna



stabilnost, elastičnost, fleksibilnost te svojstva barijere protiv kisika i svjetlosti. Iako folije na bazi želatine pokazuju veliki potencijal, potrebna su daljnja istraživanja i razvoj kako bi se ove folije uspješno implementirale u industrijskoj ambalaži za hranu (Luo i sur., 2022).



**Slika 2.** Kemijska struktura želatine (Hassan i sur., 2018)

Primjeri dodataka kako bi se poboljšala svojstva želatinskih filmova (Luo i sur., 2022):

- Prirodni polimeri – riboza, kako bi se postigle Maillardove reakcije što povećava zaštitu od UV zračenja i poboljšava boju folija, i kitin – kombiniran sa želatinom radi poboljšanja mehaničke čvrstoće i svojstava barijere.
- Enzimi – mikrobna transglutaminaza (MTGase) za povećanje mehaničke čvrstoće i otpornosti na oksidaciju.
- Proteini iz jaja i mlijeka - poboljšana struktura gela i mehanička svojstva filma.
- Biljni fenolni spojevi – tanin, radi poboljšanja antioksidativnih svojstava, i antocijani za povećanje mehaničke čvrstoće i barijernih svojstava filma.
- Nanomaterijali - nanočestice srebra s titan-dioksidom (TiO<sub>2</sub>-Ag NPs), koje povećavaju otpornost na vlagu i poboljšavaju antioksidativna svojstva filma.
- Eterična ulja i druge biljne esencije - esencijalno ulje đumbira, timijana, zbog svojih antimikrobnih i antioksidativnih svojstava, što produžuje rok trajnosti hrane i poboljšava barijerna svojstva filma.
- Soli i drugi kemijski agensi - fosfati, kao što je natrijev trimetafosfat (STMP), koji se koriste se za poboljšanje mehaničkih svojstava i stabilnosti emulzija.

Intenzivna su istraživanja i razvoj materijala za aktivno pakiranje hrane:

- Želatinski filmovi dobiveni iz kože skuše obogaćeni ekstraktom lista smokve (*Ficus carica* L.) - poboljšana vlačna čvrstoća, rastezljivost, smanjena topljivost i propusnost vodene pare, kao i povećana antioksidativna i antibakterijska aktivnost; koriste se za pakiranje hrane koja je osjetljiva na UV zračenje i oksidaciju, poput proizvoda bogatih mastima (Fauzan i sur., 2023).
- Želatinski filmovi obogaćeni ekstraktom zelenog čaja (Green Tea Extract, GTE) - poboljšana vlačna čvrstoća i smanjena propusnost vodene pare, što ih čini pogodnima za

pakiranje hrane koja zahtijeva zaštitu od vlage i oksidacije; ekstrakt zelenog čaja također pruža antioksidativna svojstva, pomažući u očuvanju svježine hrane (Wu i sur., 2013).

- Želatinski filmovi obogaćeni ekstraktom *Lepidium sativum* - za pakiranje prehrambenih proizvoda koji zahtijevaju zaštitu od mikrobiološke kontaminacije; dodavanjem ovog ekstrakta poboljšava se antimikrobna otpornost filma (Salem i sur., 2021).
- Želatinski filmovi obogaćeni pektinom i eteričnim uljem limunske trave - za pakiranje mesa kako bi se produžio rok trajanja i očuvala kvaliteta mesa; antimikrobna svojstva koja mogu smanjiti rast bakterija na površini mesa (Azizah i sur., 2023).
- Želatinski filmovi obogaćeni ekstraktom Ginkgo biloba - za pakiranje hrane koja treba dodatnu zaštitu od oksidacije i mikrobiološke kontaminacije; ekstrakt Ginkgo biloba poboljšava antioksidativna i antimikrobna svojstva filmova, čime se produžuje svježina upakirane hrane (Hu i sur., 2019).
- Želatinski filmovi obogaćeni ekstraktom groždanih sjemenki i eteričnim uljem lavande - koriste se za pakiranje proizvoda koji zahtijevaju dodatnu zaštitu od UV zračenja i oksidacije (Jamróz i sur., 2018).
- Želatinski filmovi obogaćeni ekstraktom *Centella asiatica* - pogodni za pakiranje hrane koja je osjetljiva na oksidaciju, poput masnih proizvoda (Suderman i sur., 2019).

Generalno, aktivni i inteligentni filmovi na bazi želatine obogaćeni su prirodnim ekstraktima, esencijalnim uljima i nanomaterijalima kako bi se poboljšale njihove funkcionalnosti, kao što su otpornost na UV zračenje, propusnost vodene pare, i sposobnost blokiranja svjetlosti. Želatina animalnog podrijetla pokazala je bolja mehanička svojstva i svojstva barijere prema svjetlosti u usporedbi s želatinom ribljeg podrijetla. Korištenje želatinskih filmova može značajno doprinijeti smanjenju upotrebe tradicionalnih plastičnih materijala iz petrokemijskih izvora, čime se smanjuje utjecaj na okoliš i promovira održivost u industriji pakiranja hrane (Said i Sarbon, 2022).

### 2.3.3. Guma arabika

Guma arabika (Slika 3.) je prirodni polisaharidni polimer dobiven uglavnom iz stabala *Acacia Senegal* i *Acacia Seyal*. Zbog svojih svojstava emulgiranja, stabiliziranja, vezivanja i produljenja roka trajanja, guma arabika je postala popularna u prehrambenoj industriji kao jestiva prevlaka koji se koristi za očuvanje svježine voća i povrća. Ova prevlaka se pokazala vrlo učinkovita u održavanju kvalitete proizvoda i produženju njihovog vijeka trajanja nakon žetve. Različite kombinacije gume arabike i dodataka koriste se za poboljšanje učinkovitosti

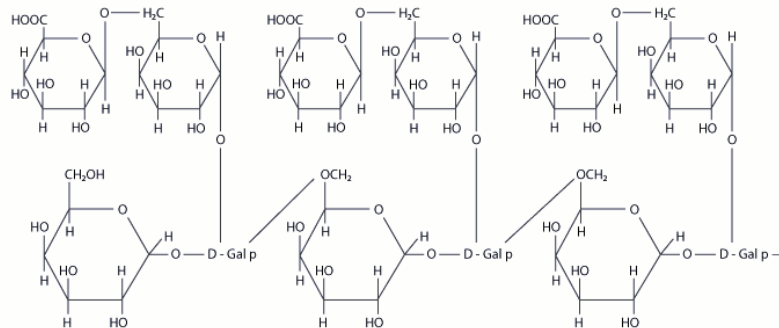
jestivih filmova u očuvanju svježine, kvalitete i sigurnosti voća i povrća tijekom skladištenja (Tihamiyu i sur., 2023).

Primjeri takvih jestivih filmova su:

- Guma arabika s 3 % kalcijevim kloridom - koristi se za smanjenje proizvodnje etilena u mangu produžujući njegov rok trajanja tijekom skladištenja na niskim temperaturama, smanjen gubitak težine i poboljšana čvrstoća ploda (Khaliq i sur., 2016).
- Guma arabika s kitozanom - filmovi na bazi 10 % gume arabike i 1 % kitozana korišteni su za odgodu promjene boje i očuvanje čvrstoće banana tijekom hladnog skladištenja, ova kombinacija stvara barijeru koja ograničava prodor kisika i ugljičnog dioksida, usporavajući proces zrenja i kvarenja (Maqbool i sur., 2011).
- Guma arabika s esencijalnim uljima - timijan i ružmarinza kontrolu gljivične truleži kod šljiva, filmovi izrađeni od ove kombinacije pokazali su značajno smanjenje propadanja plodova i očuvanje njihove kvalitete tijekom skladištenja (Andrade i sur., 2017).
- Nano-formulacija na bazi gume arabike (GA)- 1,5 % GA korištena je za očuvanje čvrstoće i boje rajčice tijekom skladištenja, sposobnost zadržavanja titrabilne kiselosti i smanjenja respiratorne stope plodova (Paladugu i sur., 2017).
- Guma arabika s ekstraktom moringe - kombinacija 10 % GA i 10 % ekstrakta moringe korištena je za premazivanje guave, što je rezultiralo očuvanjem ukupne antioksidativne aktivnosti i manjim gubitkom težine tijekom skladištenja (El-Gioushy i sur., 2022).
- Guma arabika u kombinaciji s drugim komponentama poput natamicina također doprinosi razvoju jestivih premaza s antibakterijskim svojstvima koji su sigurni za ljudsku potrošnju i ekološki prihvatljiviji u usporedbi s tradicionalnim metodama konzerviranja. Istraživanje je pokazalo da višekomponentni jestivi filmovi koji sadrže gumu arabiku, natrijev alginat, glicerol i natamicin mogu učinkovito poboljšati očuvanje hrane, posebno slatkih krumpira, tijekom skladištenja (Yuan i sur., 2022).
- GA u kombinaciji s biljnim ekstraktima, poput ekstrakta galangala, stvara bio-kompozitne filmove s dodatnim antioksidativnim i antibakterijskim svojstvima. Učinkovitost u produženju vijeka trajanja prehrambenih proizvoda, kao što su gljive *Agaricus bisporus*, smanjujući promjene u boji i čvrstoći tijekom skladištenja (Gomaa i sur., 2022).

Guma arabika se koristi u prehrambenoj industriji zbog svojih odličnih emulgirajućih, stabilizirajućih, zgušnjavajućih i otapajućih svojstava. U novijim istraživanjima, guma arabika je korištena kao dio višekomponentnih jestivih filmova zajedno s drugim supstancama, poput natamicina i glicerola. Ovi filmovi, koji uključuju gumu arabiku, pokazali su značajna poboljšanja u mehaničkim svojstvima, barijernim karakteristikama i termalnoj stabilnosti. Guma arabika poboljšava disperziju i stabilnost aktivnih sastojaka, poput esencijalnih ulja i prirodnih

antimikrobnih agensa, čime doprinosi boljoj učinkovitosti u očuvanju kvalitete i produljenju roka trajanja proizvoda i time značajno smanjiti gubitke uzrokovane mikrobnim kvarenjem i fiziološkim promjenama tijekom skladištenja hrane (Yuan i sur., 2022).



**Slika 3.** Kemijska struktura guma arabice (BYJU, 2024.)

#### 2.3.4. Plastifikatori

Plastifikatori se dodaju kako bi povećali fleksibilnost i elastičnost filmova i prevlaka te kako bi poboljšali njihovu mehaničku čvrstoću i otpornost na lomljenje. Djeluju tako da smanjuju molekulske sile između polimernih lanaca, čime se povećava njihova pokretljivost i dolazi do povećanja fleksibilnosti i izdržljivosti materijala. Primjerice, u filmu bez plastifikatora deformacija na granici elastičnosti iznosi 30,5 %, dok sa dodatkom plastifikatora ta vrijednost iznosi > 80 % (Fama i sur., 2005).

Uobičajeni plastifikatori koji se koriste su glicerol (glicerol) i sorbitol. Oni su popularni zbog svojih svojstava omekšavanja i kompatibilnosti s mnogim biopolimerima, a karakterizira ih nehlapljivost i topljivost u vodi (Prateepchanachai i sur., 2019).

Dodavanje plastifikatora može značajno utjecati na svojstva materijala, uključujući debljinu, sadržaj vlage i sposobnost upijanja vlage. Na primjer, u istraživanju Aguirre - Joya i sur. (2018), filmovi od kitozana s dodatkom glicerina pokazali su povećanu debljinu i sadržaj vlage. Plastifikatori također utječu na mehanička svojstva, kao što su elongacija i elastičnost. Kitozanski filmovi s plastifikatorima pokazali su različite stupnjeve mehaničkih svojstava ovisno o koncentraciji i vrsti plastifikatora (glicerol u koncentracijama od 10 % do 30 % - *m/m* u odnosu na kitozan; polisorbitol 80 u koncentracijama od 0,5 % do 1,5 % - *V/V* u otopini; sorbitol se koristi u koncentracijama od 20 % do 40 % - *m/m*; propilen glikol u rasponu od 5 % do 15 % - *m/m*). Plastifikatori su ključni u razvoju jestivih filmova i prevlaka koji moraju zadovoljavati specifične zahtjeve fleksibilnosti i izdržljivosti za primjenu na hranu koja je izrazito kompleksnog sastava i oblika. Njihova pravilna upotreba omogućuje stvaranje materijala koji su ne samo funkcionalni već i sigurni za kontakt s hranom (Aguirre - Joya i sur., 2018).

Prema Prateepchanachai i sur. (2019) dodatkom plastifikatora glicerola dolazi do narušavanja intra- i međumolekularnih interakcija između lanaca kitozana i sprječavanje nastajanja vodikovih veza susjednih lanaca kitozana. Na taj način nastaje više vodikovih veza između molekula glicerola i glukozaminskih jedinica kitozana. Porastom koncentracije plastifikatora u jestivim filmovima raste vrijednost deformacije na granici elastičnosti i vlačna čvrstoća (Wan i sur., 2006).

## **2.4. JESTIVI FILMOVI S BIOAKTIVNIM DODACIMA**

S ciljem smanjenja upotrebe kemijskih dodataka u prehrambenoj industriji, u posljednje vrijeme poraslo je zanimanje za korištenjem prirodnih dodataka hrane s antimikrobnim i antioksidativnim karakteristikama koje nemaju negativan učinak na ljudsko zdravlje. Eterična ulja ekstrahirana iz biljaka i začina pokazuju antimikrobno i antioksidativno djelovanje, što ih čini interesantnim dodacima u prehrambenoj industriji. Budući da su lipofilne prirode, smatra se da pokazuju aktivnost smanjenja propusnosti vodene pare hidrofilnih filmova/prevlaka, tako da imaju veliki učinak na strukturne karakteristike filma i pružanje antimikrobnog i antioksidativnog djelovanja, pojačavajući funkcionalnost filmova u zaštiti hrane od kvarenja (Hassan i sur., 2018).

Aktivnom, odnosno interaktivnom ambalažom, nazivaju se one ambalaže koje ulaze u aktivnu interakciju s upakiranim proizvodom. Aktivni jestivi filmovi i prevlake mogu imati dva različita mehanizma djelovanja: jedan uključuje oslobađanje sastojaka na prehrambeni proizvod, kao što su antioksidansi i antimikrobna sredstva, dok drugi mehanizam uključuje uklanjanje neželjenih spojeva iz pakiranja, poput O<sub>2</sub> i CO<sub>2</sub> (Ribeiro i sur., 2021).

Uporaba prirodnih aktivnih spojeva, poput biljnih ekstrakata, izazvala je sve veću pozornost prehrambenih znanstvenika zbog štetnih učinaka sintetskih aditiva na sigurnost hrane i ljudsko zdravlje (Tayebi i sur., 2024).

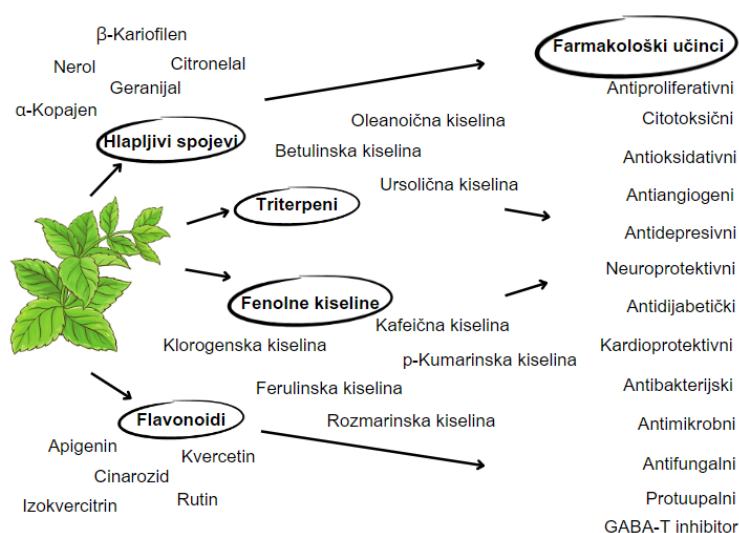
Filmovi se nazivaju funkcionalnima kada se bioaktivni spojevi inkorporiraju u jestivi film, pod uvjetom da jedna ili više bioaktivnih komponenti jestivih filmova pozitivno djeluju na ljudsko zdravlje. Prednosti ugradnje aktivnih sastojaka u film, u usporedbi s njihovim izravnim dodavanjem u namirnice, uključuju: potrebu za manjom količinom aktivnih spojeva, usmjeravanje aktivnosti na površinu hrane, produljeni učinak antioksidansa zbog kontrolirane migracije iz filma u matricu hrane, te smanjenje potrebe za dodatnim koracima u obradi hrane (Sanches-Silva i sur., 2014).

#### 2.4.1. *Melissa officinalis* L. (matičnjak) kao izvor bioaktivnih sastojaka

*Melissa officinalis*, poznata i kao matičnjak ili melisa, pripada obitelji metvice, *Lamiaceae*. Poznato je da ima nekoliko farmakoloških aktivnosti, uključujući antidiabetesna, antidepresivna, anksiolitička i antitumorska svojstva. Uprava za hranu i lijekove (FDA) priznala je matičnjak kao sigurnog (GRAS) i on se koristi u prehrambenoj i kozmetičkoj industriji. Ova aromatična biljka pokazuje antibakterijsko, antifungalno i antioksidativno djelovanje. Svoja aktivna svojstva matičnjak pripisuje fenolnim kiselinama i flavonoidima, stoga se smatra potencijalnom prirodnom djelatnom tvari za pakiranje hrane (Tayebi i sur., 2024).

*Melissa officinalis* L. je višegodišnja zeljasta biljka koja živi najmanje tri godine. Visoka je oko 1 metar, s mekim, dlakavim listovima dugim od 2 do 8 cm i srcolikog oblika. Površina lista je hrapava i s dubokim žilama. Rub lista je češljast ili nazubljen. Ljeti proizvodi bijele ili blijedo ružičaste cvjetove u malim grozdovima od 4-12. Naziv matičnjak pripisuje zbog svoje arome i mirisa poput limuna. Raste do 1800 m nadmorske visine po šumskim čistinama, grmlju, makiji, rubovima potoka, pustinjama i cestama (Bağdat i Coşge, 2006). Tradicionalno su se koristili samo nadzemni dijelovi biljke, a manje se pažnje posvećivalo korijenu. Važno je napomenuti da su pripravci *Melisse officinalis* uglavnom u obliku čaja i infuze kako bi se spriječilo raspadanje i očuvali aktivni sastojci, posebno komponente eteričnog ulja (Shakeri i sur. 2016).

Kemijska istraživanja sastava *Melisse officinalis* pokazala su da uglavnom sadrži flavonoide, terpenoide, fenolne kiseline, tanine i eterično ulje. Glavni aktivni sastojci su hlapljivi spojevi (geranija, neral, citronelal), triterpeni (ursolna kiselina i oleanolna kiselina), fenolni spojevi (ružmarinska kiselina, kofeinska kiselina i protokatehuinska kiselina) i flavonoidi (kvercetin, luteolin). Bogata je biološki aktivnim tvarima, stoga ekstrakti ističu specifična svojstva (slika 4.) (Petrisor i sur., 2022).



**Slika 4.** Sastav *Melissa officinalis* i njeni farmakološki učinci (prema Petrisor i sur., 2022).

*Melissa officinalis* ima karakterističan miris zbog eteričnog ulja koje sadrži. Udio eteričnog ulja varira između 0,01-0,25 %. U kemijskom sastavu eteričnog ulja glavne komponente su citronelal (2-40 %) i citral (10-30 %) (Hazman i sur., 2023).

Hidroetanolni ekstrakti iz biljaka kao što je *Melissa officinalis* L. mogu istaložiti svoje sastojke kada se ugrade u polimernu otopinu (Rechia i sur., 2010).

Matičnjak se tradicionalno koristio zbog svojih svojstava jačanja pamćenja, ali danas se više koristi kao sedativ ili sredstvo za smirenje. Ekstrakt *Melisse officinalis* je vrijedan u liječenju blage do umjerene Alzheimerove bolesti i ima pozitivan učinak na agitaciju kod takvih pacijenata (Bağdat i Coşge, 2006). Dokazalo se da matičnjak ima inhibicijski učinak na različite stanice raka, uključujući stanice raka dojke, u *in vivo* i *in vitro* pokusima (Bitgen i sur., 2022). Smatra se kardioprotektivnom biljkom. Brojni su i neuroprotektivni učinci, naziva se biljkom za psihozu i antidepresiju (Shakeri i sur., 2016). Aktivni spojevi iz matičnjaka mogu se zabilježiti i sustavno potvrditi za jačanje imunološkog sustava. Različite kombinacije i brojna ljekovita svojstva njezina ekstrakta, ulja i lišća zahtijevaju dalja i veća istraživanja o drugim korisnim i nepoznatim svojstvima ove višenamjenske biljke (Abdellatif i sur., 2023).

Također je dokazano kako skupina u kojoj je primijenjena *Melissa officinalis* pozitivno djelovala na antioksidacijski sustav i smanjila ukupni oksidacijski sustav. Uočen je i učinak *Melisse officinalis* na snižavanje kolesterola (Hazman i sur., 2023).

Što se tiče funkcionalnih svojstava na realni prehrambeni proizvod, nano vlakna s *Melissom officinalis* pokazala su zadovoljavajuću antioksidacijsku i antifungalnu aktivnost i mogla su očuvati kvalitetu gljiva bolje od drugih uzoraka (Tayebi i sur., 2024).

## **2.5. BARIJERNA SVOJSTVA MATERIJALA**

Barijerna svojstva su temeljna za efikasnost jestivih filmova i prevlaka u primjenama pakiranja hrane, gdje je cilj usporiti kvarenje hrane i produljiti njezin rok trajanja, čuvajući pritom njenu svježinu i kvalitetu. Pakiranje hrane uključuje poznavanje propusnosti materijala na vodenu paru, plinove (ponajviše O<sub>2</sub> i CO<sub>2</sub>), tvari arome i masti. Ovisno o materijalima i sastavu, neki filmovi mogu biti bolji u sprječavanju prolaska CO<sub>2</sub>, što može biti korisno u pakiranju proizvoda poput svježeg voća i povrća koji proizvode CO<sub>2</sub> tijekom respiracije. Filmovi i prevlake mogu djelovati i kao barijera na plinove, što je posebno bitno kod pakiranja u modificiranoj atmosferi gdje smanjujući dostupnost kisika unutar pakovine posljedično rezultira smanjenom proizvodnjom CO<sub>2</sub> (Senturk Parreidt i sur., 2018).

Kisik ima dvostruku ulogu kada je u pitanju čuvanje hrane. Može biti koristan, ali i štetan, ovisno o vrsti namirnice i uvjetima čuvanja. Mnogo je degradacijskih procesa u hrani za koje

je odgovoran kisik kod namirnica kao što su meso i riba, masnoće i ulja, prerađene namirnice i grickalice. Kontrola izloženosti kisiku ključna je za očuvanje kvalitete i produljenje roka trajanja hrane, bilo kroz primjenu tehnologija pakiranja koje smanjuju količinu kisika ili kroz primjenu jestivih premaza koji služe kao barijere protiv kisika. Materijali koji se koriste za izradu jestivih filmova i prevlaka mogu imati znatna barijerna svojstva koja pomažu u smanjenju propusnosti kisika i time štite hranu od oksidacije i kvarenja. Barijerna svojstva se također mijenjaju ovisno o uvjetima okoline, kao što su temperatura i relativna vlažnost. Visoka temperatura i relativna vlažnost mogu smanjiti efikasnost barijere protiv kisika jer vlažnost omekšava film, čineći ga više propusnim. S druge strane, niska temperatura i relativna vlažnost mogu povećati efikasnost ovih barijera (Bonilla i sur., 2012).

Nadalje, uloga prevlaka i jestivih filmova je minimizirati prijenos vlage iz hrane u okoliš i obrnuto. Mnogi faktori utječu na propusnost na vodenu paru kao što su debljina filma, udio slobodne vode, vlažnost i sastav komponenti filma. Prilikom mjerenja propusnosti materijala na vodenu paru, mjeri se porast mase uzorka s vremenom. Hidrofilniji materijali generalno imaju veću propusnost za vodenu paru zbog svoje sposobnosti da privlače i vežu vodene molekule. Veća debljina filma može pružiti veći otpor protoku vodene pare, dok filmovi s nejednolikom strukturom ili većim porama mogu dopustiti lakši prijenos vodene pare (Gutierrez i sur., 2015). Jestive filmove karakterizira lošija propusnost na vodenu paru od konvencionalnih, plastičnih materijala. Ovisno od kojeg biopolimera su filmovi napravljeni vrijednosti propusnosti na vodenu paru jako osciliraju, te se stoga ovo svojstvo mora odrediti za svaki tip polimera kao i ovisno o zahtjevima proizvoda na koji će se nanijeti.

## **2.6. FIZIKALNO – KEMIJSKA SVOJSTVA MATERIJALA**

### **2.6.1. Debljina filma**

Poznavanje debljine materijala u pakiranju je ključno jer debljina utječe na propusnost plinova i vodene pare kroz materijal, što direktno utječe na očuvanje kvalitete i trajnosti zapakiranih proizvoda. Deblji materijali obično pružaju bolju barijeru protiv kisika i vlage, čime se smanjuje rizik od oksidacije, kvarenja ili promjene okusa proizvoda. U kontekstu prehrambenih proizvoda, adekvatna debljina materijala osigurava duži rok trajanja i očuvanje svježine, što je važno za održavanje sigurnosti i kvalitete hrane tijekom skladištenja i transporta (Zabihzadeh Khajavi i sur., 2020).

Debljina jestivih filmova ovisi o koncentraciji polimera i količini izlivenog otopine, a s obzirom na primjenu obično je manja od 0,3 mm. S povećanjem debljine filma dolazi do



smanjenja brzine difuzije. Osim toga, debljina filma može utjecati na izgled i okus proizvoda. Ako se jestiva zaštitna prevlaka koristi zajedno s proizvodom, potrebno ga je nanijeti u minimalnoj količini kako ne bi nepovoljno utjecao na izvorni okus proizvoda (Pavlath i Orts, 2009).

#### 2.6.2. Topljivost i udio vode

U kontekstu jestivih filmova, topljivost je važna jer utječe na otpornost na vlagu i mehaničku stabilnost filmova i tako je povezana s mogućim primjenama jestivih filmova. To je mjera hidrofilitnosti filma koja pokazuje kako se film ponaša u doticaju s vodom. Nekada je poželjno da film bude topljiv u vodi, dok bi u nekim slučajevima to kvarilo njegovu kvalitetu. Svojstva filmova trebaju biti pažljivo razmotrena kako bi se osiguralo da njihova topivost odgovara specifičnim zahtjevima njihove primjene. Kod pakiranja hrane, topljivost materijala može utjecati na barijerna svojstva, kao što su propusnost na vodu i plinove, te na stabilnost i zaštitu proizvoda unutar pakiranja (Sutharsan i sur., 2022).

Udio vode predstavlja sadržaj vlage u materijalima poput filmova. Razumijevanje i kontrola sadržaja vlage su ključni za optimizaciju njihove upotrebe u aplikacijama kao što su prehrambeni proizvodi i ambalaža. Hidrofobnost, odnosno hidrofilitnost, određuje udio vode u filmu. Film i aktivna komponenta smatraju se kompatibilnima ako su istog karaktera, npr. hidrofobni su. Kontrola sadržaja vode je ključna jer može utjecati na čvrstoću i fleksibilnost filmova, a time i na njihovu učinkovitost kao barijernog materijala za pakiranje hrane. Na primjer, povećani udio vode može omekšati film, dok smanjeni udio vode može povećati njegovu krhkost i propusnost za plinove (Gökkaya Erdem i sur., 2021).

### **2.7. ZAKONSKA REGULATIVA O MATERIJALIMA ZA PAKIRANJE HRANE**

Prema Pravilniku o zdravstvenoj ispravnosti materijala i predmeta koji dolaze u neposredan dodir s hranom (NN 125/2009), materijalima se smatraju: metali i njihove slitine, emajl, cement, keramika i porculan, staklo, polimerni materijali (plastika uključujući lakove, premaze i prevlake, celuloza i elastomeri) drvo uključujući i pluto te tekstil. Uredbom (EZ) br. 450/2009, aktivni materijali i predmeti se smatraju onima čija je namjena povećati trajnost, održavati ili poboljšavati uvjete zapakirane hrane. Ovi materijali sadrže komponente koje oslobađaju ili apsorbiraju tvari u ili iz upakiranog proizvoda ili okoline koja okružuje hranu. Inteligentni materijali i predmeti su definirani kao oni koji registriraju uvjete u pakovanju ili okolini koja okružuje hranu. Oni pružaju informacije o stanju hrane bez da izravno mijenjaju njen sastav ili organoleptička svojstva.

Pravilnik o ambalaži i otpadnoj ambalaži (NN 88/2015) govori kako smanjiti problem gomilanja otpada. Pravilnik postavlja sljedeće ciljeve recikliranja za kalendarsku godinu: odvojeno sakupiti i oporaviti materijalno ili energetski minimalno 60 % ukupne mase otpadne ambalaže, reciklirati najmanje 55 % do najviše 80 % ukupne mase otpadne ambalaže namijenjene materijalnoj uporabi, postići minimalne stope recikliranja za pojedine vrste materijala: 60 % mase za staklo, 60 % mase za papir i karton, 50 % mase za metale, 22,5 % mase za plastiku, računajući isključivo materijal koji je recikliran natrag u plastiku, i 15 % mase za drvo. Povratna naknada u Pravilniku je detaljno opisana i primjenjuje se kao sustav gospodarenja jednokratnom ambalažom i djeluje kao stimulativna mjera za poticanje odvajanja otpadne ambalaže od ostalog otpada.

Propisi o ambalaži hrane značajno se razlikuju među različitim regijama širom svijeta, odražavajući različite prioritete i pristupe zdravlju, sigurnosti i utjecajima na okoliš (Jeya i sur., 2020).

U Europskoj uniji, a samim time u Republici Hrvatskoj, svi prehrambeni proizvodi na tržištu moraju biti u skladu s Uredbom (EZ) br. 178/2002 Europskog parlamenta i Vijeća kojom su definirana opća načela i uvjeti zakona o hrani.

Prema Uredbi (EZ) br. 1831/2003, svi materijali i predmeti koji dolaze u dodir s hranom trebaju ispunjavati četiri osnovna zahtjeva: ne smiju ugrožavati zdravlje ljudi, ne smiju mijenjati sastav hrane na neprihvatljiv način, ne smiju mijenjati okus, miris ili teksturu hrane, moraju biti proizvedene u skladu s dobrom proizvođačkom praksom (DPP). Ova uredba osigurava da materijali budu odobreni za ambalažu hrane samo ako ne predstavljaju rizik za ljudsko zdravlje.

Uredba (EU) br. 1831/2003 o prehranbenim aditivima i Pravilnik o prehranbenim aditivima (NN 62/2010), zahvaljujući prehranbenim aditivima koji se dodaju u aktivno pakiranje, tretiraju jestive filmove kao integralni dio hrane koja se konzumira. U regulativama poput onih u Sjedinjenim Američkim Državama, svi sastojci koji se koriste za izradu jestivih filmova moraju biti priznati kao sigurni (GRAS status) prema regulativama Uprave za hranu i lijekove (FDA).

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. MATERIJALI

U ovom radu kao osnovni materijali za izradu jestivih filmova, korišteni su prirodni biopolimeri kitozan (kitozan tip 652, molekulske mase 165 kDa, stupanj deacetiliranja iznad 85 %, France Chitin, Marseille, Francuska), želatina (ribljeg podrijetla, Louis Francois, Croissy Beaubourg, Francuska) i guma arabika (Enologica vason s.p.a., San Pietro in Carino, Italija). Kao dodatci korišteni su biljni glicerol u ulozi plastifikatora (minimalne čistoće 99,5 %, E422, Dekorativna točka d.o.o, Hrvatska) te matičnjak (*Melissa officinalis* L.) koji služi kao izvor bioaktivnih sastojaka. Korištena otapala su: destilirana voda za želatinu i gumu arabiku, i vodena otopina octene kiseline (1 % (m/V) iz ledene octene kiseline, J.T. Baker, Schwerte, Njemačka) za kitozan. Magnezijev nitrat ( $Mg(NO_3)_2$ , Sigma - Aldrich, SAD) korišten je za pripremu zasićene otopine za održavanje relativne vlažnosti atmosfere u eksikatoru od 53 % RH.

Matičnjak je nabavljen u obliku sušenih listića (100 % list matičnjaka (*Melissa officinalis*), Suban, Samobor, Hrvatska). Vodeni ekstrakt pripremljen je metodom zelene ekstrakcije potpomognute mikrovalovima (MAE) (Milestone Start S, Milestone™ Srl, Sorisole, Italija).

#### 3.2. PRIPREMA JESTIVIH FILMOVA

Otopina kitozana (CS) dobivena je otapanjem 2,5 g kitozana u 1 % (V/V) vodenoj otopini octene kiseline kako bi se dobila 2,5 % (m/V) otopina za formiranje filma. Otopina kitozana miješala se na ultra turexu i magnetskoj mješalici kako bi se polimer u potpunosti otopio. Otopina želatine (GEL) dobivena je otapanjem 10 g praha želatine u destiliranoj vodi kako bi se dobila 10 % (m/V) otopina za formiranje filma koja se zagrijava uz miješanje na 60 °C tijekom 20 minuta kako bi došlo do denaturacije lanca. Otopina guma arabike (GA) dobivena je otapanjem 10 g guma arabike u destiliranoj vodi kako bi se dobila 10 % (m/V) otopina za formiranje filma. Otopina guma arabike miješala se na homogenizatoru (IKA Ultra turax T18) i magnetskoj mješalici radi dispergiranja polimera. Za pripremu otopine mješavine kitozana i guma arabike (CS – GA) pripremi se odvojeno 2 % (m/V) otopina kitozana i 10 % (m/V) otopina guma arabike. Potom se otopine miješaju i ostave na magnetskoj mješalici (1200 rpm) 30 minuta. Za pripremu otopine mješavine kitozana i želatine (CS - GEL) pripremi se odvojeno 2 % (m/V) otopina kitozana i 1 % (m/V) otopina želatine. Aktivni filmovi od kitozana, kitozana i

guma arabice, te kitozana i želatine pripremljeni su dodatkom vodenog ekstrakta matičnjaka kao aktivne tvari. Za izradu takvih filmova koristilo se 10 ml određenog otapala (vodena otopina octene kiseline/destilirana voda) te se dodalo 10 ml vodenog ekstrakta matičnjaka (E). Ostatak postupka je isti kao i kod filmova od kitozana, kitozana i guma arabice, kitozana i želatine bez dodatka vodenog ekstrakta matičnjaka.

Potom se otopine miješaju i ostave na magnetskoj mješalici (1200 rpm) 30 minuta. U sve otopine dodan je glicerol, koji je imao funkciju plastifikatora. U otopinu kitozana i otopinu želatine je dodan u količini od 20 % (*m/pdm* (*suha tvar polimera*)), u otopinu guma arabice 10 % (*m/pdm*), u kombinaciju kitozana i želatine 20 % (*m/pdm*), a u kombinaciju kitozana i gume arabike 10 % (*m/pdm*). Točno određena količina pripremljene otopine se izlije u Petrijeve zdjelice (određenih dimenzija); i to tako da se kitozan izlijeva u staklene Petrijeve zdjelice, a želatina, guma arabika, kombinacija kitozan/želatina i kombinacija kitozan/guma arabika u plastične Petrijeve zdjelice. Sušenje se provodilo u ventiliranoj klima komori (HPP110, Memmert, Njemačka; i BinderKBF240, Binder, Njemačka) pri kontroliranim uvjetima temperature od 30 °C i relativne vlažnosti 40 % tijekom 24 sata. Nakon sušenja filmovi su odlijepljeni sa Petrijevih zdjelica i čuvani su u eksikatoru, koji je bio napunjen  $Mg(NO_3)_2$ , kako bi relativna vlažnost bila RH 53 % i pri  $23 \pm 2$  °C.

### 3.3. METODE KARAKTERIZACIJE FILMOVA

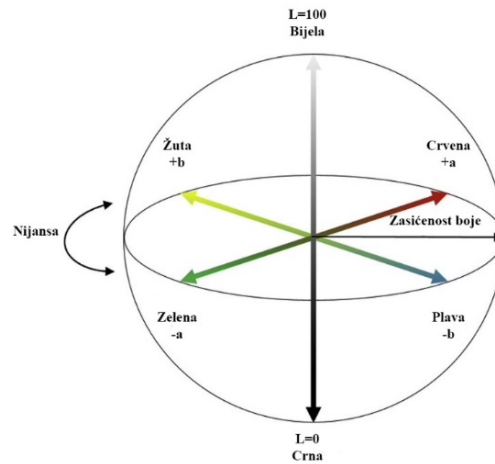
#### 3.3.1. Debljina filmova

Za mjerenje debljine filmova korišten je digitalni mikrometar preciznosti do 0,001 mm (Digimet, HP, Helios Preisser, Njemačka). Od svakog tipa pripremljenih filmova uzeta su tri uzorka kojima je izmjerena debljina na pet različita mjesta, a rezultat je prikazan kao srednja vrijednost sa standardnom devijacijom ( $\mu\text{m}$ ).

#### 3.3.2. Određivanje boje filma

Boja filma određena je uz pomoć kolorimetra (Konica Minolta Spectrophotometer CM3500d, Langenhagen, Njemačka), koji radi na principu CIE  $L^*a^*b^*$  prostornog modela. CIE  $L^*a^*b^*$  je trodimenzionalni prostor boja temeljen na objektivnom vrjednovanju boja i najbliži je vizualnoj percepciji. Tri su parametra koja definiraju boju:  $L^*$ ,  $a^*$  i  $b^*$ . Vrijednost  $L^*$  predstavlja

svjetlinu boje, odnosno raspon 0 (crna) - 100 (bijela). Vrijednost  $a^*$  predstavlja raspon boja crveno - zeleno, dok se  $b^*$  odnosi na raspon boja žuto - plavo. Uređaj se kalibrira i uzorak se stavlja ispod otvora. Mjerenje se provodi na 10 različitih mjesta na svakom filmu, a rezultati su izraženi kao srednja vrijednost s pripadajućom standardnom devijacijom.



**Slika 5.** Prikaz CIELAB dijagrama (Ly i sur., 2020)

Kolorimetrijska razlika ( $\Delta E$ ) pokazuje odstupanje reprodukcije od originala, a računa se kao srednja vrijednost razlika između  $L$ ,  $a$  i  $b$  vrijednosti standarda (referentna vrijednost) i vrijednosti izmjerene na uzorku, prema sljedećoj jednadžbi [1]:

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

$$\text{sa } \Delta L = L_0 - L_1, \Delta a = a_0 - a_1, \Delta b = b_0 - b_1$$

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 (Ly i sur., 2020).

### 3.3.3. Mjerenje transparentnosti filmova

Mjerenje transparentnosti se provelo na UV/VIS spektrometru (Perkin - Elmer Lambda 25, SAD), mjerenjem apsorbancije uzoraka pri valnoj duljini od 600 nm. Uz pomoć vrijednosti apsorbancije se izračuna transparentnost filma prema sljedećoj jednadžbi [2]:

$$T = \frac{Abs_{600}}{l} \quad [2]$$

gdje su:

$T$  – transparentnost;

$Abs_{600}$  – apsorbancija pri 600 nm;

$l$  - debljina filma (mm).

#### 3.3.4. Određivanje topljivosti i udjela vode u filmovima

Topljivost filmova definira se sadržajem suhe tvari otopljene u destiliranoj vodi, nakon uranjanja od 24 h. Nakon što se osuše na 105 °C, filmove određenih dimenzija (2 x 2 cm), potrebno je odvagati na analitičkoj vagi zbog određivanja početnog udjela suhe tvari ( $W_i$ ). Izvagnani filmovi ostave se u 30 mL destilirane vode pri  $23 \pm 1$  °C, tijekom 24 h. Zatim se filmovi ponovno suše u sušioniku na 105 °C do konstantne mase. Hlade se i važu kako bi odredili masu suhe tvari neotopljene u vodi ( $W_f$ ).

Topljivost filma računa se prema sljedećoj jednadžbi [3]:

$$FS (\%) = \frac{W_i - W_f}{W_i} * 100 [3]$$

gdje je:

$FS$  – topljivost filma (%),

$W_i$  – početni sadržaj suhe tvari (g),

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

Za svaki uzorak provedena su 3 mjerenja, a udio vode određen je razlikom mase nakon sušenja ( $W_f$ ) i početnog sadržaja suhe tvari ( $W_i$ ).

#### 3.3.5. Mjerenje pH vrijednosti otopina polimera

pH vrijednost određuje se uz pomoć uređaja pH metra FiveGO (Mettler Toledo, Greifensee, Švicarska). Nakon pripremljenih otopina filmova, 3 puta se izmjeri pH vrijednost za svaki uzorak i uzima se srednja vrijednost dobivenih rezultata. Za mjerenje su korištene svježe pripremljene otopine, te su provedena po 3 ispitivanja po uzorku.

### 3.3.6. Mjerenje propusnosti plinova kroz biopolimerni film

Provedeno je mjerenje propusnosti filmova manometrijskom metodom na uređaju Brugger, GDP - C (Brugger Feinmechanik GmbH, Munich, Njemačka). Filmovi su postavljeni na za to predviđeno mjesto u uređaju, između gornjeg i donjeg dijela permeacijske ćelije. Vakuum pumpa evakuira zrak iz volumena permeacijske ćelije, a potom se mjerni plin ( $O_2$  ili  $CO_2$ ) pod tlakom od 5 bara i protokom od 80 mL/min propušta s jedne strane ispitivanog uzorka filma. Zbog prisutnosti razlike tlakova, plin difundira kroz ispitivani uzorak (film), te se na računaru bilježi postepeni porast tlaka. Rezultati su prikazani kao vrijednost permeacije ( $cm^3 m^{-2} d^{-1} bar^{-1}$ ), a koeficijent propusnosti  $O_2$  ( $O_2TR$ ) i koeficijent propusnosti  $CO_2$  ( $CO_2TR$ ) (izražen u  $cm^3 m^{-1} dan^{-1} Pa^{-1}$ ), izračunati su kao aritmetički produkt permeacije i debljine filma, prema sljedećim jednadžbama [4] i [5]:

$$O_2TR = q \times d \text{ [4]}$$

$$CO_2TR = q \times d \text{ [5]}$$

gdje je:

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

$d$  - debljina filma ( $\mu m$ ).

### 3.3.7. Mjerenje propusnosti vodene pare kroz biopolimerni film

Propusnost filmova na vodenu paru određena je gravimetrijskom metodom prema ASTM E96 - 80 standardu (1980), koja je prilagođena za jestive materijale (Debeaufort i sur., 1993). Uzorci se prije mjerenja čuvaju u eksikatoru pri kontroliranim uvjetima vlage (53 % RH). Uzorci filmova izrežu se u obliku kruga (promjera 41 mm) te se mjerna čašica napuni s 20 mL destilirane vode. Na otvor čašice nanosi se vakuumska mast na koju se postavi teflonski prsten te potom uzorak koji se zatim učvrsti drugim teflonskim prstenom i poklopcem (slika 6.). Tijekom rukovanja uzorcima potrebno je koristiti zaštitne rukavice. Za svaki uzorak mjerenje je ponovljeno 9 puta.

Propusnost na vodenu paru  $WVP$  ( $g m^{-1} s^{-1} Pa^{-1}$ ) izračunata je iz promjene mase posude u odnosu na vrijeme u stacionarnom stanju, koristeći sljedeću jednadžbu [6]:

$$WVP = \frac{\Delta m}{\Delta t * A * \Delta p} * \chi \quad [6]$$

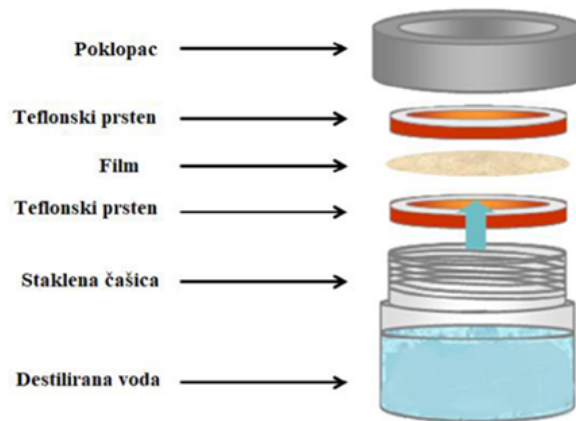
gdje je:

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

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

$x$  – debljina filma (m);

$\Delta p$  – razlika tlaka vodene pare između dvije strana filma (Pa).



**Slika 6.** Čašica sa sastavnim elementima za mjerenje propusnosti materijala na vodenu paru (Kurek, 2012)

Uzorci (slika 7.) se pohranjuju u klima komori (Mettler HPP110, Mettler, Njemačka) pri  $23 \text{ }^\circ\text{C}$  i relativnoj vlažnosti od 30 %. Uzorci se važu na analitičkoj vagi (KERN ABS320-4N, KERN&SOHN GmbH, Balingen, Njemačka) do relativnog ustaljenja promjene u gubitku mase.

### 3.3.8. Spektrofotometrijsko određivanje ukupnih fenola

Određivanje ukupnih fenola provodi se s Folin – Ciocalteu reagensom koji je smjesa fosfowolframove i fosfomolibdenske kiseline. Ova metoda funkcionira na principu kolorimetrijske reakcije u kojoj fenoli reduciraju FC reagens, stvarajući plavo obojenje koje je proporcionalno koncentraciji fenola te se mjeri pri  $765 \text{ nm}$ . Za provođenje analize, u staklene epruvete dodaje se po  $200 \text{ }\mu\text{L}$  FC reagensa,  $2 \text{ mL}$  deionizirane vode i  $20 \text{ }\mu\text{L}$  otopine otopljenih filmova. Nakon 3 minute, dodaje se  $1 \text{ mL}$  zasićene otopine  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  te je uzorke potrebno promiješati na vorteksu. Uzorci se termostatiraju u vodenoj kupelji na  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  tijekom 30 minuta, a nakon kupelji mjeri se apsorbancija na  $765 \text{ nm}$ . Slijepa proba priprema se na isti način kao i uzorci, s tom razlikom da umjesto ekstrakta sadrži jednaku količinu otapala za ekstrakciju,



destilirane vode, te služi kao kontrola. Uz pomoć krivulje baždarnog pravca izračunava se udio ukupnih fenola.

### 3.3.9. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) metodom

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) metoda koristi se za procjenu antioksidativne aktivnosti spojeva na temelju hvatanja slobodnih radikala. Uzorci su stavljeni u staklene epruvete i uronjeni u 0,004 % otopinu DPPH na sobnoj temperaturi tijekom 30 minuta, bez pristupa svjetlosti. Reakcijom antioksidansa s DPPH radikalima nastaju stabilne molekule, što dovodi do promjene boje iz tamnoljubičaste u blijedožutu. Intenzitet ljubičaste boje DPPH otopine obrnuto je proporcionalan antioksidativnoj aktivnosti uzoraka. Inicijalna proba sadržavala je samo otopinu DPPH. Nakon 30 minuta, apsorbancija je izmjerena na 517 nm. Postotak inhibicije izračunava se prema sljedećem izrazu [7]:

$$\% \text{ inhibicije} = \frac{A_K - A_U}{A_K} \times 100 \% [7]$$

gdje su:

$A_K$  - apsorbancija kontrole;

$A_U$  – apsorbancija uzorka.

### 3.3.10. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta FRAP metodom

FRAP metoda temelji se na reakciji redukcije žuto obojenog kompleksa željezo-2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ). Pri tome nastaje plavo obojeni kompleks fero-tripiridiltriazin s apsorpcijskim maksimumom pri 593 nm (Shortle i sur., 2014).

Metoda pripada grupi koja se temelji na prijenosu elektrona, pri čemu antioksidansi ne samo da doniraju elektrone slobodnim radikalima, već i metalima te karbonilnim spojevima. Reakcija je popraćena smanjenjem intenziteta obojenja, koje je u izravnoj proporcionalnosti s koncentracijom antioksidansa. Odvija se u kiselom mediju pri pH 3,6, čime se osigurava dobra topivost željeza i niži ionizacijski potencijal, što omogućuje prijenos elektrona, dok istovremeno povećava redoks potencijal, dodatno potičući reakciju prijenosa elektrona. Reakcije prijenosa

elektrona odvijaju se relativno brzo, obično u trajanju od 4 do 6 minuta, pa se njome učinkovito opisuju antioksidacijski kapaciteti fenolnih spojeva koji brzo ulaze u reakciju. To je metoda koja ne zahtijeva posebnu opremu, brza je i povoljna (Benzie i Strain, 1996).

U staklene epruvete se postupno dodaje 300  $\mu\text{L}$  ekstrakta (ili uzorka filma pripremljenog prema 3.3.8.) i 2250  $\mu\text{L}$  FRAP reagensa, zatim se smjesa dobro promiješa i termostatira 10 minuta u vodenoj kupelji na temperaturi od 37 °C. Nakon toga, mjeri se apsorbancija na 593 nm. Potrebno je pripremiti i slijepu probu koja sadrži sve komponente osim uzorka; umjesto uzorka dodaje se otapalo u kojem je uzorak ekstrahiran. Uzorke je potrebno razrijediti tako da apsorbancije u razrijeđenim ekstraktima budu u rasponu od 0,1 do 0,9, ukoliko izmjerene apsorbancije prelaze vrijednost 1,0. Rezultat se izražava u obliku baždarnog pravca.

### **3.4. OBRADA PODATAKA**

Statistička analiza podataka provedena je analizom varijance (ANOVA) pomoću Xlstat - Pro 7.5.3. (Addinsoft, SAD). Podaci su rangirani i statističke razlike su ocijenjene u redovima s jednosmjernom analizom varijance (ANOVA) i Tukey - ovim višestrukim usporednim testovima. U svim slučajevima vrijednost  $p < 0,05$  se smatra statistički značajnom.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

U sklopu ovog rada pripremljeni su biorazgradivi filmovi na bazi kitozana, gume arabike i želatine, kompozitni filmovi koji su dobiveni miješanjem kitozana i gume arabike, kitozana i želatine, bez dodatka i s dodatkom ekstrakta matičnjaka koji služi ako izvor bioaktivnih sastojaka. Određivani su fizikalno – kemijski filmogenih otopina (pH, viskoznost) i filmova (debljina) i barijerni (plinovi i vodena para) i optički (boja, transparentnost) parametri, kao i udio ukupnih fenola i antioksidacijska aktivnost filmova kako bi se spoznale karakteristike pripremljenih filmova te mogućnost daljnje primjene za pakiranje prehrambenih proizvoda. Dobiveni rezultati su prikazani tablično i grafički.

### 4.1. BOJA FILMOVA I TRANSPARENTNOST

Boja filmova predstavlja veliku ulogu za potrošače kako bi prihvatili hranu koja se pakira. U tablici 1. prikazani su dobiveni parametri boje ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), ukupna razlika u obojenosti ( $\Delta E$ ) i njihova transparentnost ( $T_{600}$ ).

**Tablica 1.** Parametri boje ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $\Delta E$ ) i transparentnost ( $T_{600}$ ) u različitim uzorcima filmova

Uzorak	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E$	$T_{600}$
<b>CS - CS</b>	89,77 ± 0,46 <sup>a</sup>	-0,60 ± 0,35 <sup>b</sup>	3,35 ± 1,53 <sup>c</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>c</sup>	1,09 ± 0,11 <sup>ab</sup>
<b>CS - CS E</b>	72,66 ± 2,91 <sup>b</sup>	0,37 ± 0,28 <sup>ab</sup>	13,80 ± 1,87 <sup>b</sup>	20,06 ± 3,45 <sup>b</sup>	2,00 ± 0,20 <sup>a</sup>
<b>CS - GA</b>	89,88 ± 0,84 <sup>a</sup>	-0,16 ± 0,94 <sup>b</sup>	1,48 ± 3,66 <sup>c</sup>	3,49 ± 2,36 <sup>c</sup>	1,67 ± 0,17 <sup>ab</sup>
<b>CS - GA E</b>	69,79 ± 3,92 <sup>c</sup>	2,90 ± 1,66 <sup>a</sup>	20,44 ± 4,95 <sup>a</sup>	26,44 ± 6,29 <sup>a</sup>	2,10 ± 0,21 <sup>a</sup>
<b>CS - GEL</b>	90,46 ± 0,46 <sup>a</sup>	-0,51 ± 0,14 <sup>b</sup>	0,21 ± 1,59 <sup>c</sup>	3,31 ± 1,65 <sup>c</sup>	0,68 ± 0,07 <sup>b</sup>
<b>CS - GEL E</b>	74,90 ± 0,69 <sup>b</sup>	0,11 ± 0,39 <sup>b</sup>	14,41 ± 0,63 <sup>b</sup>	21,06 ± 0,91 <sup>b</sup>	1,35 ± 0,13 <sup>ab</sup>

**CS – CS** – filmovi od kitozana; **CS – CS E** – filmovi od kitozana s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; **CS – GA** – filmovi od kitozana i guma arabice; **CS – GA E** – filmovi od kitozana i guma arabice s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; **CS – GEL** – filmovi od kitozana i želatine; **CS – GEL E** – filmovi od kitozana i želatine s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*.

Različiti eksponenti (<sup>a-c</sup>) unutar stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ( $p < 0,05$ ).

Svi filmovi su, promatrani golim okom, bili prozirni i bez vidljivih nepravilnosti na površini. Povećanje  $L^*$  vrijednosti označava svjetliju boju, a njegovo smanjenje označava tamnjenje boje. Iz instrumentalnih mjerenja (tablica 1.) vidljivo je da se vrijednost  $L^*$ , koja označava svjetlinu uzorka, kreće između 70 i 90, što pokazuje da su svi uzorci svijetli, s najvišim vrijednostima za najsvjetlije filmove CS – CS, CS – GA i CS – GEL, između kojih nema statistički značajne razlike. Dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis* svjetlina filma, odnosno vrijednost  $L^*$ , se značajno smanjila jer je otopina ekstrakta matičnjaka vidno tamnije boje. Vrijednosti parametra  $a^*$  su negativne kod filmova bez ekstrakta, što upućuje na prisutnost zelenog spektra, dok se značajno povećavaju u pozitivne vrijednosti kod uzoraka s dodatkom ekstrakta ukazujući na promjenu boje filma. Vrijednosti parametra  $b^*$  su pozitivne u svim uzorcima, što ukazuje na prisutnost žute boje što je uskladu s literaturom gdje je potvrđeno da filmovi od kitozana pokazuju žuti ton (Pirsa i sur., 2020). Vrijednosti parametra  $b^*$  se značajno povećavaju dodatkom ekstrakta, ukazujući na žuto-smeđi ton boje aktivnih filmova. Kao i kod parametra svjetline, ovo se pripisuje prisutstvu ekstrakta matičnjaka koji je tamnije boje.

Parametar  $\Delta E$  predstavlja ukupnu razliku u obojanosti i izmjeren je u odnosu na referentni uzorak CS – CS film. Kako bi se procijenile uočene razlike u boji za promatrača, vrijednosti  $\Delta E$  između dva ambalažna materijala mogu se klasificirati u nekoliko kategorija:  $0 < \Delta E < 1$  neprimjetno;  $1 < \Delta E < 2$  primjetno za iskusnog promatrača;  $2 < \Delta E < 3,5$  primjetno i za neiskusnog promatrača;  $3,5 < \Delta E < 5$  značajno primjetno;  $\Delta E > 5$  sugerira da se radi o dvije potpuno različite boje (Hawthorne i sur., 2020). U ovom radu, vrijednosti  $\Delta E$  u rasponu su od 3 do 26, što ukazuje da su svi filmovi bili različite boje uočljive golim okom. Najveću  $\Delta E$  vrijednost ima CS – GA E film. Nema statistički značajne razlike između uzoraka CS - GA i CS – GEL, kao ni između uzoraka CS – CS E i CS – GEL E nema statistički značajne razlike.

Transparentnost omogućuje potrošačima vizualan pregled sadržaja te njegovu procjenu. Upravo zato se smatra vrijednom značajkom za potrošače (Eldesouky i sur., 2015). Ambalažni materijal mora zadovoljavati niske vrijednosti transparentnosti koje ukazuju na nisku propusnost filma na svjetlost. Na taj način sprječavaju se neželjene reakcije fotooksidacije i refleksije, odnosno veće odbijanje svjetlosti. Vrijednost  $T_{600}$  definira se i kao neprozirnost koja je omjer između apsorbancije na 600 nm i debljine uzorka u mm. Visoke vrijednosti transparentnosti dokazuju da uzorak ima nisku transparentnost, što u ovom istraživanju nije slučaj (Hermawan i sur., 2019). Što je manja vrijednost transparentnosti, uzorak je transparentniji. Najtransparentniji je film od kitozana i želatine vrijednosti  $T_{600}$  0,68, dok je najmanje transparentan CS-GA E. Iz navedenog je vidljiva korelacija između  $\Delta E$  i  $T_{600}$ , gdje je primjerice uočena najveća razlika za CS-GA E uzorak koji je ujedno i najmanje transparentan ali i najtamniji.

## 4.2. DEBLJINA FILMOVA I PROPUSNOST FILMOVA NA VODENU PARU

Debljina filma važna je kako za njegovu primjenu, tako i za barijerna i mehanička svojstva materijala. Propusnost plinova na vodenu paru predstavlja barijerno svojstvo filma. Prijenos vlage između prehrambenog proizvoda i atmosfere potrebno je svesti na minimum kako ne bi utjecao na smanjenje kvalitete zapakiranog proizvoda. Upravo zbog toga potrebno je paziti da propusnost vodene pare bude niska. Smatra se da proces prijenosa vodene pare ovisi o broju polarnih (-OH) skupina unutar polimera, te da se odvija kroz hidrofilni dio filma (Bourbon i sur., 2011).

U tablici 2. prikazani su rezultati mjerenja debljine, propusnost na vodenu paru (*WVP*) i brzina prijenosa vodene pare (*WVTR*).

**Tablica 2.** Debljina filmova, propusnost na vodenu paru (*WVP*) i brzina prijenosa vodene pare (*WVTR*)

Uzorak	Debljina filma ( $\mu\text{m}$ )	<i>WVP</i> ( $\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1} \text{Pa}^{-1}$ ) $\times 10^{-10}$	<i>WVTR</i> ( $\text{g m}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) $\times 10^{-3}$
CS – CS	69,50 $\pm$ 20,02 <sup>c</sup>	2,92 $\pm$ 0,31 <sup>a</sup>	9,24 $\pm$ 0,99 <sup>a</sup>
CS – CS E	73,00 $\pm$ 17,22 <sup>bc</sup>	1,47 $\pm$ 1,98 <sup>a</sup>	10,20 $\pm$ 1,05 <sup>a</sup>
CS - GA	70,60 $\pm$ 17,87 <sup>c</sup>	2,20 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	6,98 $\pm$ 0,50 <sup>a</sup>
CS – GA E	112,75 $\pm$ 10,24 <sup>a</sup>	3,47 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	6,79 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>
CS - GEL	120,50 $\pm$ 31,71 <sup>a</sup>	4,01 $\pm$ 0,42 <sup>a</sup>	7,32 $\pm$ 0,78 <sup>a</sup>
CS – GEL E	107,50 $\pm$ 10,71 <sup>ab</sup>	3,70 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	7,58 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>

CS – CS – filmovi od kitozana; CS – CS E – filmovi od kitozana s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; CS – GA – filmovi od kitozana i guma arabice; CS – GA E – filmovi od kitozana i guma arabice s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; CS – GEL – filmovi od kitozana i želatine; CS – GEL E – filmovi od kitozana i želatine s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*.

Različiti eksponenti (<sup>a-c</sup>) unutar stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ( $p < 0,05$ ).

Prema rezultatima, najtanji su filmovi CS - CS te CS - GA, koji se statistički značajno razlikuju od debljih filmova. CS – CS E i CS – GA se međusobno statistički ne razlikuju, ali se razlikuju od ostalih uzoraka. Također, do povećanja debljine dolazi i dodatkom ekstrakta, što ukazuje na različito pakiranje polimernih lanaca u kristalnoj rešetki polimera i povećanje slobodnog prostora (volumena) u kombiniranim (složenim) formulacijama. Dodavanje

ekstrakta *Melissa officinalis* (E) uglavnom povećava debljinu filmova, osobito u kombinacijama s gumom arabikom i želatinom. Najdeblji filmovi su CS – GA E te CS - GEL, koji se statistički značajno razlikuju od tanjih filmova poput CS - CS te CS - GA. Ove razlike mogu utjecati na propusnost materijala.

Sposobnost filma da spriječi prolazak vodene pare kroz njega je ključna, jer visok stupanj propusnosti može dovesti do smanjenja roka trajanja hrane zbog veće izloženosti vlazi i mogućeg rasta mikroorganizama. Kitozansko-želatinski kompozitni filmovi obično imaju bolja svojstva barijere na vodenu paru nego filmovi od čistog kitozana. To je rezultat formiranja gustih mreža u kompozitnim filmovima koje smanjuju difuziju molekula vode. Intermolekularna vezivanja, kao što su vodikove i elektrostatske veze između kitozana i želatine, doprinose smanjenju slobodnog volumena i gustoći strukture, što dodatno snižava stopu propusnosti vode kroz film. Dodavanje različitih funkcionalnih materijala, poput nanomaterijala, može dodatno poboljšati svojstva barijere na vodenu paru, smanjujući apsorpciju vlage i poboljšavajući ukupne karakteristike filma za očuvanje hrane (Wang i sur., 2021).

Dodatak nano-silike značajno je smanjio propusnost filma na vodenu paru (WVP). Ovo smanjenje se pripisuje jačanju međumolekularnih interakcija unutar trodimenzionalne mreže kompozitnog polimera, što stvara jače veze i povećava stabilnost filma u vlažnim uvjetima. Smanjena propusnost na vodenu paru povećava učinkovitost filma kao barijere protiv vlage, čime se može produžiti rok trajanja hrane ili drugih proizvoda pakiranih u ove biokompozitne materijale (Xia i sur., 2022). Nema statistički značajnih razlika u propusnosti na vodenu paru i brzini prijenosa vodene pare među analiziranim uzorcima. Rezultati su sličnog reda veličine u usporedbi sa znanstvenom literaturom (Wang i sur., 2021; Xia i sur., 2022).

#### **4.3. UDIO VODE, UDIO SUHE TVARI, TOPLJIVOST I BUBRENJE FILMOVA U VODI**

U tablici 3. prikazan je udio vode, udio suhe tvari, postotak bubrenja (*SW*) i topljivost (*FW*) pripremljenih filmova. Udio vode najviši je u filmovima od kitozana, dok se u složenim formulacijama smanjuje. Dodatkom ekstrakta dolazi do povišenja udjela vode kod kitozana, vjerojatno zbog hidrofilne prirode ekstrakta, no kod drugih formulacija nije zabilježena statistički značajna razlika. Otpornost jestivih filmova na vlagu smatra se iznimno važnim svojstvom za njegovu uporabu. Da bi se poboljšala otpornost na vodu i integritet proizvoda, netopljivost filma je svakako poželjna karakteristika (Aguirre-Loredo i sur., 2015). Zbog svojih hidrofobnih svojstava, filmovi na bazi kitozana manje su topivi od filmova na bazi želatine.

Dodatak plastifikatora također utječe na topljivost i bubrenje filmova. Plastifikatori smanjuju broj interakcija između polimera. Filmu se tada povećava topljivost jer on posjeduje više slobodnih hidroksilnih skupina za interakciju s molekulama vode i stvara više slobodnog prostora za absorpciju vode. Zbog interakcija između kitozana i želatine, poput vodikovih veza i elektrostatskih sila, topljivost kompozita se smanjila (Pereda i sur., 2011). Iz rezultata vidimo da veću topljivost pokazuju filmovi s dodanim ekstraktom *Melissa officinalis* u usporedbi s filmovima bez dodataka. Filmovi od želatine su se skroz otopili, no dodatkom ekstrakta dolazi do promjene u strukturi filma te su filmovi postojaniji u vodenom mediju. Ovo ukazuje na utjecaj sastojaka iz ekstrakta (polifenoli) na umrežavanje polimernih lanaca želatine (eng. *crosslinking*), čime se postiže stabilnija struktura filma. Uzorak kitozanskog filma s dodatkom ekstrakta matičnjaka pokazuje značajno veći udio vode i najmanji postotak bubrenja, što sugerira slabiju strukturu u usporedbi s ostalim filmovima.

Svi filmovi su pokazali visok kapacitet bubrenja. Zahvaljujući prisutnosti hidrofilnih skupina koje lako stupe u interakciju s vodom, bubrenje predstavlja zadržavanje vode u matriksu filma. Sa svojom hidrofilnom prirodom, glicerol također utječe na bubrenje filma. Uzorci CS-GEL, te CS-GEL E pokazuju najveći postotak bubrenja te upijanja više vode.

**Tablica 3.** Udio vode, udio suhe tvari, postotak bubrenja (*SW*) i topljivost (*FW*) pripremljenih filmova

Uzorak	Udio vode (%)	Udio suhe tvari (%)	SW (%)	FW (%)
CS - CS	19,76 ± 0,70 <sup>b</sup>	80,24 ± 0,70 <sup>b</sup>	687,13 ± 217,98 <sup>ab</sup>	34,89 ± 0,84 <sup>a</sup>
CS – CS E	24,51 ± 2,43 <sup>a</sup>	75,49 ± 2,43 <sup>c</sup>	466,24 ± 144,22 <sup>b</sup>	37,80 ± 3,37 <sup>a</sup>
CS - GA	15,66 ± 0,19 <sup>c</sup>	84,34 ± 0,19 <sup>a</sup>	595,57 ± 92,20 <sup>ab</sup>	33,12 ± 4,15 <sup>a</sup>
CS – GA E	14,22 ± 0,59 <sup>c</sup>	85,78 ± 0,59 <sup>a</sup>	1032,79 ± 186,97 <sup>ab</sup>	36,69 ± 5,83 <sup>a</sup>
CS - GEL	13,19 ± 0,28 <sup>c</sup>	86,81 ± 0,28 <sup>a</sup>	/	/
CS – GEL E	14,26 ± 1,10 <sup>c</sup>	85,74 ± 1,10 <sup>a</sup>	1038,85 ± 15,67 <sup>a</sup>	39,63 ± 0,57 <sup>a</sup>

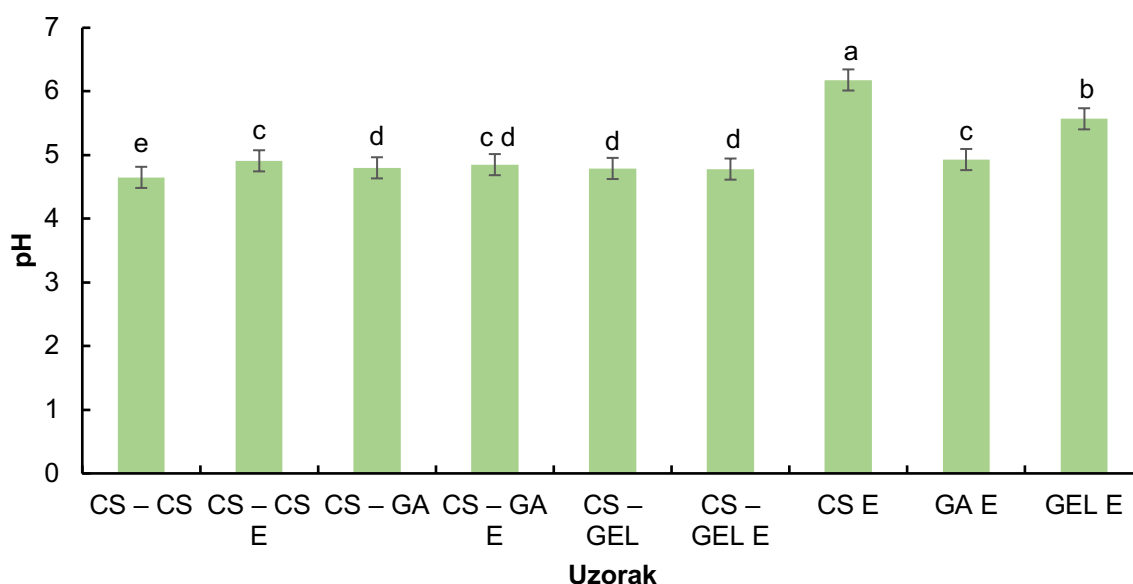
CS – CS – filmovi od kitozana; CS – CS E – filmovi od kitozana s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; CS – GA – filmovi od kitozana i guma arabice; CS – GA E – filmovi od kitozana i guma arabice s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; CS – GEL – filmovi od kitozana i želatine; CS – GEL E – filmovi od kitozana i želatine s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*.

Različiti eksponenti (<sup>a-c</sup>) unutar stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ( $p < 0,05$ ).

#### 4.4. pH OTOPINA BIOPOLIMERA

Izmjerene pH vrijednosti dane su na slici 9. Najniže pH vrijednosti izmjerene su kod otopine kitozana, što je i za očekivati budući je kao otapalo korištena 1 % (V/V) vodena otopina octene kiseline jer je kitozan s svojim pKa 4.6 topljiv isključivo u blago kiselom mediju. Dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis* pH vrijednosti otopine kitozana su porasle. Također, dodatkom gume arabike ili želatine, u složenim formulacijama dolazi do povećanja pH vrijednosti filmogenih otopina. Slično kao i kod kitozana, dodatkom ekstrakta dolazi do povišenja i pH složenih filmogenih otopina.

Uz pomoć pH procjenjujemo topljivost polimera pri pripremi filmogenih otopina.



Slika 9. pH vrijednosti otopina biopolimera

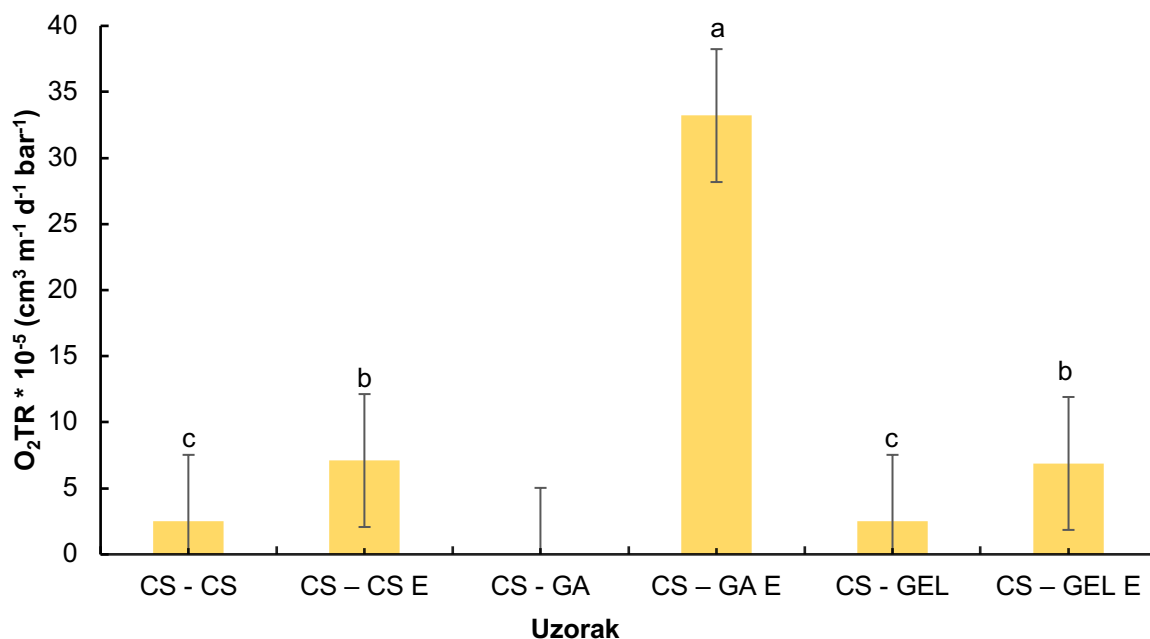
**CS – CS** – otopina biopolimera od kitozana; **CS – CS E** – otopina biopolimera od kitozana s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; **CS – GA** – otopina biopolimera od kitozana i guma arabice; **CS – GA E** – otopina biopolimera od kitozana i guma arabice s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; **CS – GEL** – otopina biopolimera od kitozana i želatine; **CS – GEL E** – otopina biopolimera od kitozana i želatine s ekstraktom *Melissa officinalis*; **CS E** – otopina kitozana s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; **GA E** – otopina guma arabice s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; **GEL E** – otopina želatine s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*.

Različiti eksponenti (<sup>a-c</sup>) unutar grafa ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ( $p < 0,05$ ).



#### 4.5. PROPUSNOST FILMOVA NA PLINOVE (O<sub>2</sub> I CO<sub>2</sub>)

Rezultati mjerenja propusnosti filmova na O<sub>2</sub> i CO<sub>2</sub> dani su na slikama 10 i 11. Vrlo je važno kontrolirati propusnost na plinove kod biomaterijala jer to svojstvo utječe na trajnost hrane (Benbettaieb i sur., 2014). Plastifikatori imaju utjecaj i na propusnost kisika na način da stvaraju više slobodnog prostora kroz koji kisik može prolaziti. Zbog rasporeda polimernih lanaca i svoje strukture, filmovi od kitozana trebaju imati nižu propusnost na kisik (Kurek i sur., 2018).



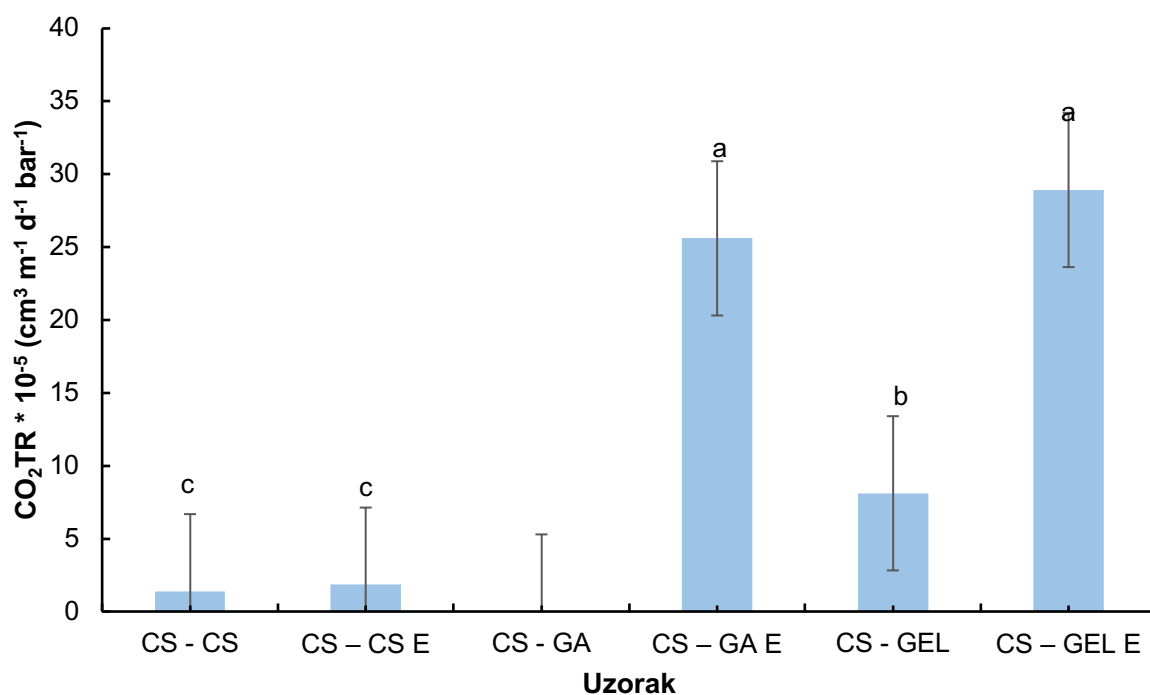
**Slika 10.** Koeficijent propusnosti materijala na kisik (O<sub>2</sub>TR)

**CS – CS** – filmovi od kitozana; **CS – CS E** – filmovi od kitozana s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; **CS – GA** – filmovi od kitozana i guma arabice; **CS – GA E** – filmovi od kitozana i guma arabice s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; **CS – GEL** – filmovi od kitozana i želatine; **CS – GEL E** – filmovi od kitozana i želatine s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; **nm** – nije izmjereno.

Različiti eksponenti (a-c) unutar grafa ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima (p < 0,05).

S dodatkom antioksidansa došlo je do značajnog porasta kod koeficijenta propusnosti na kisik i ugljikov dioksid, kod svih filmova. Mjerenje propusnosti kod CS – GA filma nije bilo moguće izmjeriti. Zahvaljujući slabim mehaničkim svojstvima od razlike u tlaku tijekom analize CS – GA film bi se raspao. Najveću vrijednost propusnosti na oba ispitivana plina ima CS – GA E zbog strukturnih promjena u samom materijalu. Najniža propusnost na kisik (O<sub>2</sub>TR) zabilježena je kod filmova CS – CS i CS – GEL, a najnižu propusnost na ugljikov dioksid (CO<sub>2</sub>TR) imao je CS – CS film. Vrijednosti propusnosti na CO<sub>2</sub> značajno su niže za CS – CS, CS – CS E i CS – GA E film od propusnosti na O<sub>2</sub>. Suprotno tome, propusnost na CO<sub>2</sub> viša je

od propusnosti na O<sub>2</sub> za CS – GEL i CS – GEL E filmove. Razlog je što želatina ima vrlo nisku propusnost za kisik, čineći je iznimno efikasnom u očuvanju proizvoda koji su osjetljivi na oksidaciju (Tyuftin i sur., 2021). Ove razlike u propusnosti sugeriraju da sastav i dodaci u filmovima značajno utječu na njihova barijerna svojstva, što je važno pri odabiru materijala za specifične potrebe pakiranja.



**Slika 11.** Koeficijent propusnosti materijala na ugljikov dioksid (CO<sub>2</sub>TR)

**CS – CS** – filmovi od kitozana; **CS – CS E** – filmovi od kitozana s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; **CS – GA** – filmovi od kitozana i guma arabice; **CS – GA E** – filmovi od kitozana i guma arabice s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; **CS – GEL** – filmovi od kitozana i želatine; **CS – GEL E** – filmovi od kitozana i želatine s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; **nm** – nije izmjereno.

Različiti eksponenti (a-c) unutar grafa ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima (p < 0,05).

#### 4.6. UDIO UKUPNIH POLIFENOLA U FILMOVIMA

Dobiveni rezultati mjerenja ukupnih fenola prikazani su u tablici 4. Udio ukupnih fenola usko je povezan s antioksidacijskim kapacitetom (Bajić i sur., 2019). Najnižu vrijednost polifenola ima film CS – GA, koji se statistički razlikuje od svih drugih, i sugerira da kombinacija s gumom arabikom ne doprinosi značajno povećanju ukupnog udjela polifenola. Dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis* filmovi imaju povećan udio polifenola, posebno u kombinaciji sa želatinom (CS – GEL E), gdje je učinak na sadržaj polifenola najizraženiji. Aktivna komponenta

se dodavala u filmovima CS – CS E, CS – GA E i CS – GEL E pa je očekivano da su njihove vrijednosti ukupnih fenola veće od filmova bez dodatka prirodnih antioksidansa. Statističke razlike među uzorcima označene su eksponentima, pri čemu CS – GEL E ima najvišu koncentraciju polifenola, a CS – GA najnižu. Filmovi CS – CS, CS – CS E, CS – GA E i CS – GEL nemaju statistički značajnu razliku. Ovi rezultati ukazuju da izbor sastojaka u formulaciji filma značajno utječe na sadržaj bioaktivnih spojeva kao što su polifenoli, što može imati važan utjecaj na antioksidativna svojstva filmova.

**Tablica 4.** Ukupni udio polifenola u uzorcima filmova

Uzorak	mg TCP / g filma
CS - CS	2,53 ± 0,87 <sup>ab</sup>
CS – CS E	3,27 ± 0,22 <sup>ab</sup>
CS - GA	1,30 ± 0,30 <sup>b</sup>
CS – GA E	2,27 ± 0,19 <sup>ab</sup>
CS - GEL	2,24 ± 0,08 <sup>ab</sup>
CS – GEL E	4,15 ± 1,91 <sup>a</sup>

CS – CS – filmovi od kitozana; CS – CS E – filmovi od kitozana s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; CS – GA – filmovi od kitozana i guma arabice; CS – GA E – filmovi od kitozana i guma arabice s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; CS – GEL – filmovi od kitozana i želatine; CS – GEL E – filmovi od kitozana i želatine s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*.

Različiti eksponenti (<sup>a-c</sup>) unutar stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ( $p < 0,05$ ).

#### 4.7. UDIO ANTIOKSIDACIJSKE AKTIVNOSTI I KAPACITETA FILMOVA (DPPH I FRAP)

Tablica 5. pokazuje antioksidacijsku aktivnost određenu DPPH metodom i antioksidacijski kapacitet određenog FRAP metodom. Samostalni kitozanski film pokazuje nisku antioksidacijsku aktivnost prema obje metode. Dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis* antioksidacijska aktivnost značajno je porasla. Što se tiče antioksidacijskog kapaciteta proizvedenih filmova, nema statistički značajne razlike među filmovima. Također, antioksidacijski kapacitet filmova znatno je porastao dodatkom matičnjaka. Uzorak CS-CS E ima najvišu antioksidacijsku aktivnost prema obje metode, što ga čini najboljim u hvatanju slobodnih radikala i reduciranju oksidansa. Film s želatinom pokazuje najnižu aktivnost prema DPPH metodi i nisku aktivnost prema FRAP metodi, i statistički je značajno različit i slabije

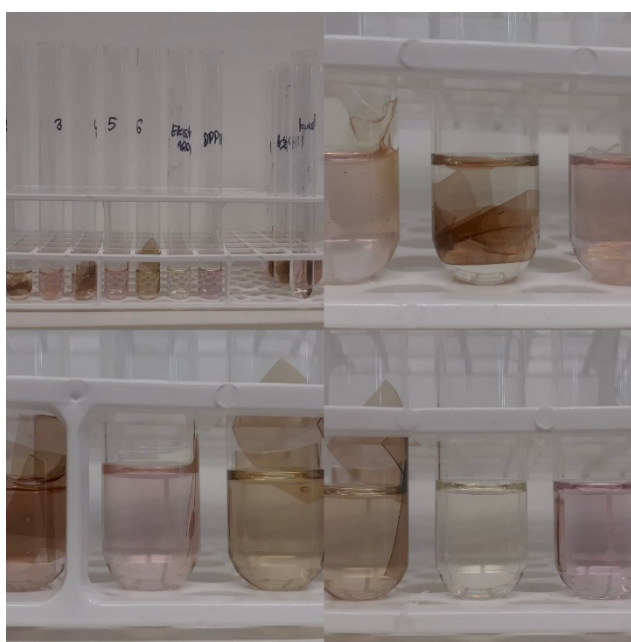
aktivnosti u usporedbi s većinom drugih uzoraka. CS – GA i CS – GEL uzorci bez ekstrakta imaju nisku do umjerenu aktivnost, što ukazuje na manji utjecaj gume arabike i želatine na antioksidacijska svojstva kada su sami.

**Tablica 5.** Ukupni udio antioksidacijske aktivnosti (DPPH metoda) i antioksidacijskog kapaciteta (FRAP metoda)

Uzorak	DPPH (%)	FRAP (mg AAE / g filma)
CS - CS	14,71 ± 4,12 <sup>de</sup>	6,93 ± 2,68 <sup>b</sup>
CS – CS E	59,06 ± 3,35 <sup>a</sup>	44,05 ± 10,94 <sup>a</sup>
CS - GA	23,82 ± 0,39 <sup>cd</sup>	8,57 ± 1,06 <sup>a</sup>
CS – GA E	37,92 ± 2,16 <sup>b</sup>	41,23 ± 1,06 <sup>a</sup>
CS - GEL	8,16 ± 2,35 <sup>e</sup>	5,33 ± 1,23 <sup>a</sup>
CS – GEL E	29,49 ± 2,35 <sup>bc</sup>	36,90 ± 6,46 <sup>a</sup>

CS – CS – filmovi od kitozana; CS – CS E – filmovi od kitozana s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; CS – GA – filmovi od kitozana i guma arabice; CS – GA E – filmovi od kitozana i guma arabice s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; CS – GEL – filmovi od kitozana i želatine; CS – GEL E – filmovi od kitozana i želatine s dodatkom ekstrakta *Melissa officinalis*; E – otopina ekstrakta *Melissa officinalis*.

Različiti eksponenti (<sup>a-c</sup>) unutar stupca ukazuju na statistički značajne razlike među uzorcima ( $p < 0,05$ ).



**Slika 12.** Filmovi nakon provedene DPPH metode (vlastita fotografija)

## 5. ZAKLJUČCI

- Svi su filmovi, promatrani golim okom, bili prozirni, transparentni i bez vidljivih nepravilnosti na površini.
- Dodavanje ekstrakta matičnjaka značajno je smanjilo svjetlinu filmova ( $L^*$ ) zbog tamnije boje ekstrakta. Parametar  $a^*$  pokazuje negativne vrijednosti kod filmova bez ekstrakta (prisutnost zelenog spektra). Vrijednosti parametra  $b^*$  su pozitivne kod svih uzoraka (prisutnost žute boje), a dodatak ekstrakta dodatno povećava ove vrijednosti, stvarajući žuto-smeđi ton filmova.
- Dodatkom ekstrakta dolazi do povećanja udjela vode u kitozanskim filmovima.
- Filmovi s dodatkom ekstrakta matičnjaka pokazuju veću topljivost i promjenu u strukturi. Filmovi od želatine, uz dodatak ekstrakta, postaju postojaniji u vodenom mediju.
- pH vrijednosti otopina biopolimera porasle su dodatkom ekstrakta matičnjaka.
- Dodatkom antioksidansa došlo je do značajnog porasta kod koeficijenta propusnosti na kisik i ugljikov dioksid, kod svih filmova.
- Povećava se udio polifenola u filmovima dodatkom ekstrakta matičnjaka.
- Antioksidacijska aktivnost značajno je porasla dodatkom ekstrakta matičnjaka.

## 6. LITERATURA

Abdellatif F, Begaa S, Messaoudi M, Benarfa A, Ouakouak H., Hassani A, i sur. (2023) HPLC–DAD analysis, antimicrobial and antioxidant properties of aromatic herb *Melissa officinalis* L., aerial parts extracts. *Food Anal Meth.* **16**(1), 45-54. <https://doi.org/10.1007/s12161-022-02385-1>

Aguirre – Loredó RY, Rodríguez – Hernández AI, Morales – Sánchez E, Gómez – Aldapa CA, Velázquez G (2016) Effect of equilibrium moisture content on barrier, mechanical and thermal properties of chitosan films. *Food Chem.* **196**, 560 - 566. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.065>

Aguirre-Joya JA, De Leon-Zapata MA, Alvarez-Perez OB, Torres-León C, Nieto-Oropeza DE, Ventura-Sobrevilla, i sur. (2018) Basic and applied concepts of edible packaging for foods. U: Grumezescu AM, Holban AM (ured.) Food packaging and preservation Academic Press, str. 1-61. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-811516-9.00001-4>

Alamri MS, Qasem AA, Mohamed A A, Hussain S, Ibraheem M A, Shamlan G, i sur. (2021) Food packaging's materials: A food safety perspective. *Saudi J Biol Sci.* **28**(8), 4490-4499. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.04.047>

Andrade SC, Baretto TA, Arcanjo NM, Madruga MS, Meireles B, Cordeiro ÂM, i sur. (2017) Control of Rhizopus soft rot and quality responses in plums (*Prunus domestica* L.) coated with gum arabic, oregano and rosemary essential oils. *J Food Proc Pres* **41**(6), e13251. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13251>

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

Azeredo HMC, Mattoso LHC, Avena-Bustillos RJ, Filho GC, Munford ML, Wood D, McHugh TH (2010) Nanocellulose reinforced chitosan composite films as affected by nanofiller loading and plasticizer content. *J Food Sci* **75**(1), 1–7. <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1750-3841.2009.01386.x>

Azizah, F., Nursakti, H., Ningrum, A., & Supriyadi. (2023) Development of edible composite film from fish gelatin–pectin incorporated with lemongrass essential oil and its application in chicken meat. *Polymers*, **15**(9), 2075. <https://doi.org/10.3390/polym15092075>

- Bağdat, R. B, & Coşge, B (2006) The essential oil of lemon balm (*Melissa officinalis* L.), its components and using fields. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, **21**(1), 116-121. <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/187608>
- Bajić M, Jalšovec H, Travan A, Novak U, Likozar B (2019) Chitosan-based films with incorporated supercritical CO<sub>2</sub> hop extract: Structural, physicochemical, and antibacterial properties. *Carbohydr Polym.* **219**, 261–268. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.05.003>
- Beikzadeh S, Ghorbani M, Shahbazi N, Izadi F, Pilevar Z, & Mortazavian AM (2020) The effects of novel thermal and nonthermal technologies on the properties of edible food packaging. *Food Engineering Reviews*, **12**, 333-345. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09227-y>
- Beikzadeh S, Khezerlou A, Jafari SM, Pilevar Z, & Mortazavian, AM (2020) Seed mucilages as the functional ingredients for biodegradable films and edible coatings in the food industry. *Adv col interface sci* **280**, 102164. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102164>
- Ben Aicha, B, Rouabhi, R, Gasmi, S, Bensouici, C, Mohammedi, H, & Mennai, I (2020) LC-MS Analysis and Antioxidant Activity of the Hydro-alcoholic Extract of *Melissa officinalis* L. *From Algeria. Chem. J. Mold*, **15**, 78-87. <https://doi.org/10.19261/cjm.2020.778>
- Benbettaieb, N, Kurek, M, Bornaz, S, Debeaufort, F (2014) Barrier, structural and mechanical properties of bovine gelatin – chitosan blend films related to biopolymer interactions. *J. Sci. Food Agr.* **94** (12), 2409 – 2419. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6570>
- Benzie, IF, & Strain, JJ (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, **239**(1), 70-76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bitgen, NAZMIYE, Baran, M, Önder, GÖ, Suna, PA, Gürbüz, PERİHAN, & Arzu, YAY (2022) Effect of *Melissa officinalis* L. on human breast cancer cell line via apoptosis and autophagy. *Cukurova Medical Journal*, **47**(2), 765-775. <https://doi.org/10.17826/cumj.1090930>
- Bonilla, J, Atarés, L, Vargas, M, & Chiralt, A (2012) Edible films and coatings to prevent the detrimental effect of oxygen on food quality: Possibilities and limitations. *Journal of Food Engineering*, **110**(2), 208-213. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.05.034>
- 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** (2), 111 – 118. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.03.024>

Brody, AL, Bugusu, B, Han, JH, Sand, CK, & McHugh, TH (2008) Innovative food packaging solutions. *Journal of food science*, **73**(8), 107-116. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00933.x>

Butler, BL, Vergano, PJ, Testin, RF, Bunn, JM, & Wiles, JL (1996) Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. *Journal of food science*, **61**(5), 953-956. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1996.tb10909.x>

BYJU'S The Learning App (2024) Gum Arabic - Structure, Molecular Mass, Properties and Uses. <https://byjus.com/chemistry/gum-arabic/>

Caner, CENGİZ, Vergano, PJ, & Wiles, JL (2006) Chitosan film mechanical and permeation properties as affected by acid, plasticizer, and storage. *Journal of food science*, **63**(6), 1049-1053. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1998.tb15852.x>

Choi, WS, & Han, JH (2001) Physical and mechanical properties of pea-protein-based edible films. *Journal of Food Science*, **66**(2), 319-322. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb11339.x>

Debeaufort, F, Martin-Polo, M, & Voilley, A (1993) Polarity homogeneity and structure affect water vapor permeability of model edible films. *Journal of food science*, **58**(2), 426-429. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb04290.x>

Eldesouky, A, Pulido, AF, & Mesias, FJ (2015) The role of packaging and presentation format in consumers' preferences for food: an application of projective techniques. *Journal of sensory studies*, **30**(5), 360-369. <https://doi.org/10.1111/joss.12162>

El-Gioushy, SF, Abdelkader, MF, Mahmoud, MH, Abou El Ghit, HM, Fikry, M, Bahloul, AM i sur. (2022) The effects of a gum arabic-based edible coating on guava fruit characteristics during storage. *Coatings*, **12**(1), 90. <https://doi.org/10.3390/coatings12010090>

Fama, L, Rojas, AM, Goyanes, S, Gerschenson, L (2005) Mechanical properties of tapioca – starch edible films containing sorbates. *LWT – Food Sci. Technol.* **38** (6), 631 – 639. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.07.024>

Fauzan, HR, Ningrum, A, & Supriyadi, S (2023) Evaluation of a Fish Gelatin-Based Edible Film Incorporated with *Ficus carica* L. Leaf Extract as Active Packaging. *Gels*, **9**(11), 918. <https://doi.org/10.3390/gels9110918>

Genskowsky, E, Puente, LA, Pérez-Álvarez, J A, Fernandez-Lopez, J, Muñoz, LA, & Viuda-Martos, M (2015) Assessment of antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with maqui berry (*Aristotelia chilensis*). *LWT-Food Science and Technology*, **64**(2), 1057-1062. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.026>



- Giannakas, A, Salmas, C, Leontiou, A, Tsimogiannis, D, Oreopoulou, A, & Braouhli, J (2019) Novel LDPE/chitosan rosemary and melissa extract nanostructured active packaging films. *Nanomaterials*, **9**(8), 1105. <https://doi.org/10.3390/nano9081105>
- Gökkaya Erdem, B, Dıblan, S, & Kaya, S (2021) A comprehensive study on sorption, water barrier, and physicochemical properties of some protein-and carbohydrate-based edible films. *Food and Bioprocess Technology*, **14**(11), 2161-2179. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02712-0>
- Gomaa, MM, Fadly, EE, Salama, MA, & Abdin, M (2022) Production of bio-composite films from gum Arabic and Galangal extract to prolong the shelf life of *Agaricus bisporus*. *Journal of Polymers and the Environment*, **30**(11), 4787-4799. <https://doi.org/10.1007/s10924-022-02551-w>
- Grujić, R, Vujadinović, D, & Savanović, D (2017) Biopolymers as food packaging materials. *Advances in applications of industrial biomaterials*, 139-160. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-62767-0\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-62767-0_8)
- Gupta, V, Biswas, D, & Roy, S. (2022) A comprehensive review of biodegradable polymer-based films and coatings and their food packaging applications. *Materials*, **15** (17), 5899. <https://doi.org/10.3390/ma15175899>
- Hassan, B, Chatha, SAS, Hussain, AI, Zia, KM, & Akhtar, N (2018) Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *International journal of biological macromolecules*, **109**, 1095-1107. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.097>
- Hawthorne, LM, Beganović, A, Schwarz, M, Noordanus, AW, Prem, M, Zapf, L i sur. (2020) Suitability of biodegradable materials in comparison with conventional packaging materials for the storage of fresh pork products over extended shelf-life periods. *Foods*, **9**(12), 1802. <https://doi.org/10.3390/foods9121802>
- Hazman, Ö, Göçeri, ME, Fıçıcı, İ, Demirer, B, & Aksoy, L (2023) The effect of *Melissa officinalis* on diet-induced hyperlipidemia, hypercholesterolemia, oxidative stress and inflammation. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, **74**(4), 6383-6390. <https://doi.org/10.12681/jhvms.30235>
- Hermawan D, Kiat Lai T, Jafarzadeh S, Gopakumar DA, Hasan M, Owolabi FAT, Sri Aprilia NA, Rizal S, Abdul Khalil HPS (2019) Development of seaweed-based bamboo microcrystalline cellulose films intended for sustainable food packaging applications. *BioResources* **14**(2), 3389-3410. <https://bioresources.cnr.ncsu.edu/wp->

[content/uploads/2019/03/BioRes\\_14\\_2\\_3389\\_Hermawan\\_LJGMTARK\\_Devel\\_Seaweed Bamboo\\_MCC\\_Films\\_Food\\_Packaging\\_15172.pdf](https://content/uploads/2019/03/BioRes_14_2_3389_Hermawan_LJGMTARK_Devel_Seaweed_Bamboo_MCC_Films_Food_Packaging_15172.pdf)

Hounsou, M, Dabadé, DS, Götz, B, Hounhouigan, MH, Honfo, FG, Albrecht, A i sur. (2022) Development and use of food packaging from plant leaves in developing countries. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, **17**(4), 315-339. <https://doi.org/10.1007/s00003-022-01390-0>

Hu, X, Yuan, L, Han, L, Li, S, & Song, L (2019) Characterization of antioxidant and antibacterial gelatin films incorporated with Ginkgo biloba extract. *RSC advances*, **9**(47), 27449-27454. <https://doi.org/10.1039/c9ra05788a>

Jamróz, E, Juszczak, L, & Kucharek, M (2018) Investigation of the physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of ternary potato starch-furcellaran-gelatin films incorporated with lavender essential oil. *International journal of biological macromolecules*, **114**, 1094-1101. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.014>

Jeevahan, J, & Chandrasekaran, M (2019) Nanoedible films for food packaging: A review. *Journal of Materials Science*, **54**(19), 12290-12318. <https://doi.org/10.1007/s10853-019-03742-y>

Jeya JJ, Chandrasekaran M, Venkatesan SP, Sriram V, Britto JG, Mageshwaran G, Durairaj RB (2020) Scaling up difficulties and commercial aspects of edible films for food packaging: A review. *Trends Food Sci Tech* **100**, 210–222. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.04.014>

Khaliq, G, Mohamed, MTM, Ding, P, Ghazali, HM, & Ali, A (2016) Storage behaviour and quality responses of mango (*Mangifera indica* L.) fruit treated with chitosan and gum arabic coatings during cold storage conditions. *International Food Research Journal*, **23**, S141. <https://www.proquest.com/scholarly-journals/storage-behaviour-quality-responses-mango/docview/1866457391/se-2?accountid=27513>

Kumar, L, Ramakanth, D, Akhila, K, & Gaikwad, KK (2022) Edible films and coatings for food packaging applications: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 1-26. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01339-z>

Kurek M (2012) Comprehensive study of the effects of formulation and processing parameters on structural and functional properties of active bio-based packaging films. *Doktorska disertacija*. <https://theses.hal.science/tel-01624565/>

Kurek, M, Garofulić, IE, Bakić, MT, Ščetar, M, Uzelac, VD, Galić, K (2018) Development and evaluation of a novel antioxidant and pH indicator film based on chitosan and food waste

sources of antioxidants. *Food Hydrocolloid*. **84**, 238 – 246.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.05.050>

Luo, Q, Hossen, MA, Zeng, Y, Dai, J, Li, S, Qin, W, & Liu, Y (2022) Gelatin-based composite films and their application in food packaging: A review. *Journal of Food Engineering*, **313**, 110762. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110762>

Ly, BCK, Dyer, EB, Feig, JL, Chien, AL, & Del Bino, S (2020) Research techniques made simple: cutaneous colorimetry: a reliable technique for objective skin color measurement. *Journal of Investigative Dermatology*, **140**(1), 3-12.  
<https://doi.org/10.1016/j.jid.2019.11.003>

Maqbool, M, Ali, A, Alderson, PG, Zahid, N, & Siddiqui, Y (2011) Effect of a novel edible composite coating based on gum arabic and chitosan on biochemical and physiological responses of banana fruits during cold storage. *Journal of agricultural and food chemistry*, **59**(10), 5474-5482. <https://doi.org/10.1021/jf200623m>

Marsh, K, & Bugusu, B (2007) Food packaging—roles, materials, and environmental issues. *Journal of food science*, **72**(3), R39-R55. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00301.x>

Martins, VFR, Pintado, ME, Morais, RMSC, & Morais, AMMB (2024) Recent highlights in sustainable bio-based edible films and coatings for fruit and vegetable applications. *Foods*, **13** (2), Article 318. <https://doi.org/10.3390/foods13020318>

Md Nor S, Ding P (2020) Trends and advances in edible biopolymer coating for tropical fruit: A review. *Food Res Int* 109208. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109208>

Nair MS, Tomar M, Punia S, Kukula-Koch W, Kumar M (2020) Enhancing the functionality of chitosan- and alginate-based active edible coatings/films for the preservation of fruits and vegetables: A review. *Int J Biol Macromol* **164**, 304-320.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.083>

Paladugu, K, & Gunasekaran, K (2017) Development of gum arabic edible coating formulation through Nanotechnological approaches and their effect on physico-chemical change in tomato (*Solanum lycopersicum* L) fruit during storage. *International Journal of Agriculture Sciences*, ISSN, 0975-3710. <http://www.bioinfopublication.org/jouarchive.php?opt=&jouid=BPJ0000217>

Pavlath, AE, & Orts, W (2009) Edible films and coatings: why, what, and how?. *Edible films and coatings for food applications*, 1-23. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-92824-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-0-387-92824-1_1)

- Pereda, M, Ponce, AG, Marcovich, NE, Ruseckaite, RA, & Martucci, JF (2011) Chitosan-gelatin composites and bi-layer films with potential antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids*, **25**(5), 1372-1381. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.01.001>
- Petrisor, G, Motelica, L, Craciun, LN, Oprea, OC, Fikai, D, & Fikai, A (2022) Melissa officinalis: Composition, pharmacological effects and derived release systems—A review. *International journal of molecular sciences*, **23**(7), 3591. <https://doi.org/10.3390/ijms23073591>
- Pirsa, S, Karimi Sani, I, Pirouzifard, MK, & Erfani, A (2020) Smart film based on chitosan/Melissa officinalis essences/pomegranate peel extract to detect cream cheeses spoilage. *Food Additives & Contaminants: Part A*, **37**(4), 634-648. <https://doi.org/10.1080/19440049.2020.1716079>
- Prateepchanachai, S, Thakhiew, W, Devahastin, S, & Soponronnarit, S (2019) Improvement of mechanical and heat-sealing properties of edible chitosan films via addition of gelatin and CO<sub>2</sub> treatment of film-forming solutions. *International journal of biological macromolecules*, **131**, 589-600. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.067>
- Pravilnik o ambalaži i otpadnoj ambalaži (2015) Narodne novine 88, Zagreb. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2015\\_08\\_88\\_1735.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2015_08_88_1735.html)
- Pravilnik o prehrambenim aditivima (2010) Narodne novine 62, Zagreb. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010\\_05\\_62\\_1981.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2010_05_62_1981.html)
- Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti materijala i predmeta koji dolaze u neposredan dodir hranom (2009) Narodne novine 125, Zagreb. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009\\_10\\_125\\_3092.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2009_10_125_3092.html)
- Prior, RL, Wu, X, & Schaich, K (2005) Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, **53**(10), 4290-4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Priyadarshi, R, & Rhim, JW (2020) Chitosan-based biodegradable functional films for food packaging applications. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **62**, 102346. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102346>
- Rechia, LM, Morona, JBDJ, Zepon, KM, Soldi, V, & Kanis, LA (2010) Mechanical properties and total hydroxycinnamic derivative release of starch/glycerol/Melissa officinalis extract films. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **46**, 491-497. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502010000300012>

- Ribeiro, AM, Estevinho, BN, & Rocha, F (2021) Preparation and incorporation of functional ingredients in edible films and coatings. *Food and Bioprocess Technology*, **14**, 209-231. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02528-4>
- Said, NS, & Sarbon, NM (2022) Physical and mechanical characteristics of gelatin-based films as a potential food packaging material: A review. *Membranes*, **12**(5), 442. <https://doi.org/10.3390/membranes12050442>
- Salem, A, Jridi, M, Abdelhedi, O, Fakhfakh, N, Nasri, M, Debeaufort, F, & Zouari, N (2021) Development and characterization of fish gelatin-based biodegradable film enriched with *Lepidium sativum* extract as active packaging for cheese preservation. *Heliyon*, **7**(10). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08099>
- Sanches-Silva, A, Costa, D, Albuquerque, TG, Buonocore, GG, Ramos, F, Castilho, MC i sur. (2014) Trends in the use of natural antioxidants in active food packaging: A review. *Food Additives & Contaminants: Part A*, **31**(3), 374-395. <https://doi.org/10.1080/19440049.2013.879215>
- Senturk Parreidt, T, Müller, K, & Schmid, M (2018) Alginate-based edible films and coatings for food packaging applications. *Foods*, **7**(10), 170. <https://doi.org/10.3390/foods7100170>
- Shakeri, A, Sahebkar, A, & Javadi, B (2016) *Melissa officinalis* L.—A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of ethnopharmacology*, **188**, 204-228. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.05.010>
- Shlush, E, & Davidovich-Pinhas, M (2022) Bioplastics for food packaging. *Trends in Food Science & Technology*, **125**, 66-80. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.04.026>
- Shortle, E, O'grady, MN, Gilroy, D, Furey, A, Quinn, N, & Kerry, JP (2014) Influence of extraction technique on the anti-oxidative potential of hawthorn (*Crataegus monogyna*) extracts in bovine muscle homogenates. *Meat science*, **98**(4), 828-834. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.07.001>
- Suderman, N, & Sarbon, NM (2019) Preparation and characterization of gelatin-based films with the incorporation of *Centella asiatica* (L.) urban extract. *Food Res*, **3**(5), 306-314. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.3\(5\).045](https://doi.org/10.26656/fr.2017.3(5).045)
- Sutharsan, J, Boyer, CA, & Zhao, J (2022) Physicochemical properties of chitosan edible films incorporated with different classes of flavonoids. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, **4**, 100232. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2022.100232>
- Tayebi, L, Mahboubi, A, Bayat, F, Moayeri-Jolandan, S, & Haeri, A (2024) Photo-Cross-Linked Nanofibers Containing *Melissa Officinalis* Extract as a Novel Active Food Packaging: An Eco-

Friendly Alternative for Plastic Packaging. *Journal of Polymers and the Environment*, 1-20. <https://doi.org/10.1007/s10924-024-03209-5>

Thakhiew, W, Devahastin, S, & Soponronnarit, S (2013) Physical and mechanical properties of chitosan films as affected by drying methods and addition of antimicrobial agent. *Journal of food engineering*, **119**(1), 140-149. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.05.020>

Tiamiyu, QO, Adebayo, SE, & Yusuf, AA (2023) Gum Arabic edible coating and its application in preservation of fresh fruits and vegetables: A review. *Food Chemistry Advances*, **2**, 100251. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100251>

Tkalec, K, Lozačinski, L, Cvrtila, Ž (2018) Ambalaža za pakiranje hrane životinjskog podrijetla, Meso: Prvi hrvatski časopis o mesu **20** (1), 66 – 72. <https://www.meso.hr/wp-content/uploads/2021/12/Ambala%C5%BEa-za-pakiranje-hrane-%C5%BEivotinjskog-podrijetla.pdf>

Tokić, I, Fruk, G, & Jermić, T (2011) Biodegradable packaging for storage of fruit and other horticultural products: materials, properties and its effect on fruit quality. *Journal of Central European Agriculture*. <https://doi.org/10.5513/jcea.v12i1.949>

Tyufin, AA, & Kerry, JP (2021) Gelatin films: Study review of barrier properties and implications for future studies employing biopolymer films. *Food Packaging and Shelf Life*, **29**, 100688. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2021.100688>

UREDBA (EU) br. 1331/2008 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA o uspostavi zajedničkog postupka odobravanja prehrambenih aditiva, prehrambenih enzima i prehrambenih aroma.

UREDBA (EZ) br. 178/2002 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA o utvrđivanju općih načela i uvjeta zakona o hrani, osnivanju Europske agencije za sigurnost hrane te utvrđivanju postupaka u područjima sigurnosti hrane.

UREDBA (EZ) br. 1935/2004 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA o materijalima i predmetima koji dolaze u dodir s hranom i stavljanju izvan snage direktiva 80/590/EEZ i 89/109/EEZ.

UREDBA (EZ) br. 450/2009 EUROPSKOG PARLAMENTA I VIJEĆA o aktivnim i inteligentnim materijalima i predmetima koji dolaze u dodir s hranom.

- Wan, CH, Kim, MS, Lee, SY (2006) Water vapor permeability and mechanical properties of soy protein isolate edible films composed of different plasticizers combinations. *J. Food Sci.* **70** (6), 387 – 391. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb11443.x>
- Wang, H, Ding, F, Ma, L, & Zhang, Y (2021) Edible films from chitosan-gelatin: Physical properties and food packaging application. *Food Bioscience*, **40**, 100871. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100871>
- Wu, J, Chen, S, Ge, S, Miao, J, Li, J, & Zhang, Q (2013) Preparation, properties and antioxidant activity of an active film from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin incorporated with green tea extract. *Food hydrocolloids*, **32**(1), 42-51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.11.029>
- Xia, Y, Meng, F, Wang, S, Li, P, Geng, C, Zhang, X i sur. (2022) Tough, antibacterial fish scale gelatin/chitosan film with excellent water vapor and UV-blocking performance comprising liquefied chitin and silica sol. *International Journal of Biological Macromolecules*, **222**, 3250-3260. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.10.097>
- Yuan, Y, Wang, H, Fu, Y, Chang, C, & Wu, J (2022) Sodium alginate/gum arabic/glycerol multicomponent edible films loaded with natamycin: Study on physicochemical, antibacterial, and sweet potatoes preservation properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, **213**, 1068-1077. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.06.040>
- Zabihzadeh Khajavi, M, Ebrahimi, A, Yousefi, M, Ahmadi, S, Farhoodi, M, Mirza Alizadeh, A, & Taslikh, M (2020) Strategies for producing improved oxygen barrier materials appropriate for the food packaging sector. *Food Engineering Reviews*, **12**, 346-363. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09235-y>

## IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja ANA SOLDI 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