

Aktivni materijal na bazi biopolimera škroba s dodanim polifenolima aronije

Galušić, Katarina

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:803868>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](#) / [Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

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

REPOZITORIJ

PTF

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Katarina Galušić

**Aktivni materijal na bazi biopolimera škroba s dodanim
polifenolima aronije**

Diplomski rad

Osijek, siječanj 2023.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za primijenjenu kemiju i ekologiju
Katedra za primijenjenu kemiju, biokemiju i instrumentalne metode
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski studij: Prehrambeno inženjerstvo
Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Ambalaža i pakiranje hrane
Tema rada: je prihvaćena na VIII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2021./2022. održanoj 27. svibnja 2022 godine.
Mentor: prof. dr. sc. Lidija Jakobek Barron

Aktivni materijal na bazi biopolimera škroba s dodanim polifenolima aronije

Katarina Galušić, 0113144683

Sažetak: Polimerni materijali su materijali koji se uobičajeno upotrebljavaju u prehrambenoj industriji za izradu ambalaže. Ukoliko dospiju u okolinu predstavljaju problem za okoliš zbog dugog vremena razgradnje. Kako bi se riješio problem polimerne ambalaže, istraživanja su usmjerena na razvoj materijala pripremljenih od biopolimera koji se mogu brže razgraditi. Materijali izrađeni od prirodnih biopolimera te uz dodatak aktivne komponente poput polifenolnih spojeva postaju aktivni biopolimerni materijali. U ovom radu cilj je bio prirediti i istražiti aktivni materijal na bazi biopolimera škroba s inkorporiranim polifenolima aronije (*Aronia melanocarpa*). Polifenoli iz aronije dobiveni su ultrazvukom potpomognutom ekstrakcijom. Pomoću visokodjelotvorne tekućinske kromatografije obrnutih faza (RP-HPLC) u ekstraktima su identificirani kao antocijanini (cijanidin-3 galaktozid, cijanidin-3 -glukozid, cijanidin-3-arabinozid i cijanidin-3-ksilozid), fenolne kiseline (neoklorogenska i klorogenska kiselina) i flavonoli (kvercetin-3-rutinozid, kvercetin-3-galaktozid i kvercetin-3-glukozid). Njihova ukupna količina iznosila je 1072 mg/kg. Polifenoli aronije adsorbirali su se na škrob u ukupnoj količini 2,2 ili 1,6 mg/g škroba (za dva pripremljena materijala škrob-polifenoli 1 i škrob-polifenoli 2). U najvećem postotku adsorbirali su se antocijanini (49,4 %) i fenolne kiseline (47 %), a u manjem flavonoli (3,6 %). S porastom koncentracije polifenola u ekstraktu, rasla je i količina polifenola adsorbiranih na škrob ($r^2 = 0,9895$ do $0,995$). Od pripremljenog škroba s adsorbiranim polifenolima aronije uz dodatak plastifikatora pripremljena je folija koja može poslužiti kao aktivni ambalažni materijal. Svojstva folije i mogućnost pakiranja namirnica potrebno je dodatno istražiti.

Ključne riječi: biorazgradljiva ambalaža, aktivna ambalaža, antioksidacijska aktivnost, ekološka prihvatljivost

Rad sadrži: 38 stranica
17 slika
6 tablica
0 priloga
22 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- | | |
|--|---------------|
| 1. prof. dr. sc. Ivica Strelec | predsjednik |
| 2. prof. dr. sc. Lidija Jakobek Barron | član-mentor |
| 3. doc. dr. sc. Valentina Bušić | član |
| 4. doc. dr. sc. Ivana Tomac | zamjena člana |

Datum obrane: 27.01.2023.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Applied Chemistry and Ecology
Subdepartment of Applied Chemistry, Biochemistry and Instrumental Methods
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program: Food Engineering
Scientific area: Biotechnical sciences
Scientific field: Food technology
Course title: Food packaging
Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VIII. held on May 27. 2022.
Mentor: Lidija Jakobek Barron, PhD, Full Prof.

Active Material Based on Starch Biopolymer with Incorporated Aronia Polyphenols

Katarina Galušić, 0113144683

Summary: Polymer materials are materials that are commonly used in the food industry for packaging. If a released into the environment, polymer materials pose a problem for the environment due to the long decomposition time. In order to solve the problem of polymer packaging, research is focused on the development of materials prepared from natural biopolymers that can be easily decomposed. Materials made from natural biopolymers and with the addition of active components such as polyphenolic compounds become active biopolymer materials. This work aimed to prepare and investigate an active material based on starch biopolymer with incorporated chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenols. Aronia polyphenols were obtained by ultrasound - assisted extraction. Using reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC), they were identified as anthocyanins (cyanidin-3-galactoside, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-arabinoside and cyanidin-3-xyloside), phenolic acids (neochlorogenic and chlorogenic acids) and flavonols (quercetin-3-rutinoside, quercetin-3-galactoside and quercetin-3-glucoside). Their total amount was 1072 mg/kg. Aronia polyphenols were adsorbed on starch in a total amount of 2.2 or 1.6 mg/g of starch (for the two prepared materials starch-polyphenols 1 and starch-polyphenols 2). Anthocyanins (49.4%) and phenolic acids (47%) were adsorbed in the highest percentage, and flavonols (3.6%) in a smaller percentage. The amount of polyphenols adsorbed on starch increased as the concentration of polyphenols in the extract increased ($r^2 = 0.9895$ to 0.995). A film was prepared from the starch with adsorbed chokeberry polyphenols and with the addition of a plasticizer. It can serve as an active packaging material. The properties of the film and the possibility of food packaging need to be investigated further.

Keywords: biodegradable packaging, active packaging, antioxidant activity, environmentally friendly

Thesis contains: 38 pages
17 figures
6 tables
0 supplements
22 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | | |
|----|--|--------------|
| 1. | <i>Ivica Strelec</i> , PhD, Full Professor | chair person |
| 2. | <i>Lidija Jakobek Barron</i> , PhD, Full Professor | supervisor |
| 3. | <i>Valentina Bušić</i> , PhD, Assistant Professor | member |
| 4. | <i>Ivana Tomac</i> , PhD, Assistant Professor | stand-in |

Defense date: 27.01.2023.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

Iskreno se zahvaljujem,

svojoj dragoj mentorici prof.dr.sc. Lidiji Jakobek Barron, na ukazanom povjerenju , vodstvu , prenesenom znanju te korisnim savjetima tijekom studiranja i pisanja diplomskog rada.

Veliko hvala mojim prijateljima i kolegama uz koje su studentski dani proletjeli.

Najveće hvala mojoj obitelji na beskrajnoj ljubavi, potpori i vjeri u mene.

Sadržaj

1.UVOD	1
2.TEORIJSKI DIO.....	3
2.1 Polimerni materijali	4
2.1.1 Plastični ambalažni materijali	5
2.2 Ekološka prihvatljivost ambalažnih materijala.....	5
2.2.1. Biorazgradljiva ambalaža.....	6
2.2.1.1. Biopolimeri.....	6
2.2.1.2. Jestivi polimeri.....	7
2.3. Škrob kao biorazgradljivi materijal.....	7
2.4. Aktivna ambalaža.....	8
2.4.1. Aktivna ambalaža izrađena od biopolimera s dodanim polifenolnim spojevima.....	9
2.4.1.1. Aktivna ambalaža s polifenolima aronije.....	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	11
3.1. Zadatak.....	12
3.2. Materijal i metode.....	12
3.2.1. Kemikalije.....	12
3.2.2. Uzorci aronije.....	13
3.2.3. Ekstrakcija polifenolnih spojeva.....	13
3.2.4. Priprema škroba s polifenolnim spojevima.....	13
3.2.5. Analiza polifenolnih spojeva visokodjelotvornom tekućinskom kromatografijom.....	13
3.2.6. Količina adsorbiranih polifenola aronije na škrob.....	14
3.2.7. Adsorpcija ulja i vode.....	14
3.2.8. Priprema biopolimerne folije bez ili s inkorporiranim polifenolima aronije.....	14
3.2.9. Statistička analiza.....	15
4. REZULTATI.....	16
4.1. Polifenolni spojevi aronije.....	17
4.2. Adsorpcija polifenolnih spojeva aronije na škrob.....	22
4.3. Adsorpcija ulja i vode na materijal škrob-polifenolni spojevi.....	25
4.4. Biopolimerni materijal.....	26
5. RASPRAVA.....	29

6. ZAKLJUČAK.....	34
7. LITERATURA.....	36

1. UVOD

Današnji trendovi u industriji pakiranja hrane odgovor su na preferencije potrošača uzrokovane promjenom životnog stila i njihovom osviještenosti o zagađenju okoliša i ograničenosti prirodnih izvora. Stoga je industrija pakiranja hrane u stalnom pronalasku i razvoju novih rješenja kako bi ispunila zahtjeve tržišta bez ugrožavanja sigurnosti i kvalitete hrane (Alves i sur., 2022).

Većina trenutnih istraživanja usmjerena je na razvoj biorazgradljive i aktivne ambalaže. Biorazgradljiva ambalaža proizvodi se od materijala koji se brže razgrađuju u odnosu na polimerne plastične materijale. Jedna od mogućnosti stvaranja biorazgradljive ambalaže je njihova proizvodnja od prirodnih biopolimera. Biopolimeri su polimeri koji nastaju iz obnovljivih prirodnih izvora, dobivaju se pomoću bioloških sustava kao što su mikroorganizmi, biljke i životinje ili ekstrakcijom iz biomase poput škroba ili celuloze (Mangaraj i sur., 2019). Da bi bili biorazgradljivi, ovi materijali moraju imati svojstvo biorazgradljivosti nakon što se odbace.

Unatoč svojstvima biorazgradljivosti i ekološke prihvatljivosti, biorazgradljivi materijali često ne ispunjavaju sve kriterije potrebne za izradu ambalažnog materijala te se njihova svojstva moraju poboljšati dodatkom aktivnih komponenti. Dodatkom aktivne komponente kao što su polifenolni spojevi, materijal se tada može promatrati i kao aktivna ambalaža (Westlake i sur., 2022). Aktivni ambalažni sustavi zamišljeni su tako da otpuštaju aktivne tvari u proizvod ili apsorbiraju štetne tvari s ciljem da kontroliraju mikroklimu unutar pakiranja kako bi produljili rok trajanja namirnice. Aktivne komponente mogu imati funkcije poput adsorpcije vlage, etilena, uklanjanja kisika, izračivanja etilena te antioksidativno i antimikrobno djelovanje (Miao i sur., 2021). Iz dosadašnjih istraživanja vidljivo je da takvi materijali posjeduju potencijal u komercijalnoj upotrebi za pakiranje hrane (Jakobek 2019).

U ovom radu cilj je bio prirediti i istražiti aktivni materijal na bazi škroba s inkorporiranim polifenolima aronije kao aktivnim komponentama, poznatim po svojim antioksidativnim svojstvima.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Polimerni materijali

Pojam *polimer* podrazumijeva osnovni makromolekularni spoj koji nastaje povezivanjem velikog broja malih monomernih jedinica. S druge strane, *polimerni materijal* je izgrađen od molekula polimera, ali se u sastav materijala dodaju spojevi male molekulske mase s ciljem poboljšanja svojstava te lakše prerade i primjene (Vujković i sur., 2007).

Polimeri mogu biti prirodnog i sintetskog podrijetla. Prirodni polimeri često se nazivaju biopolimerima jer čine znatan udio suhe tvari biljnog i životinjskog svijeta. Primjeri prirodnih organskih makromolekularnih spojeva su: bjelančevine i polisaharidi. Za razliku od prirodnih polimera, sintetski polimeri stvoreni su umjetno iz petrokemijskih sirovina. Koriste se za izradu ambalaže i ambalažnih materijala, a neki od primjera sintetskih polimera su plastične mase kao što su polietilen, polipropilen ili poli(etilen-tereftalat) (Vujković i sur., 2007).

Prema sastavu polimerni materijali mogu biti homogeni ili kompozitni. Homogeni polimerni materijali izgrađeni su od jedne vrste polimera dok kompozitne materijale čine smjesa dva ili više polimera te im se obično dodaju punila ili su poboljšani nekim anorganskim dodacima. Kako bi podjela polimernih materijala bila prihvatljiva i dovoljno sveobuhvatna, podjela se temelji na utjecaju povišene temperature na polimerne materijale te se dijele na:

- **Plastomere (termoplaste)** - zagrijavanjem dolazi do omekšanja ovih materijala i prelaska u plastično stanje. U plastičnom stanju se mogu oblikovati, hlađenjem očvrstu i zadržavaju oblik. Ovi materijali mogu se ponovo zagrijavanjem dovesti u plastično stanje,
- **duromere (termoreaktivne polimere)** - ne prelaze u plastično stanje na povišenoj temperaturi, netopivi su u vodi te ne bubre u otapalima , te
- **elastomere** - elastični na sobnoj temperaturi pri temperaturi staklišta koja je niža od temperature primjene gube svoja karakteristična svojstva postaju lomljivi, neelastični (Vujković i sur., 2007).

Prilikom proizvodnje ambalažnih materijala i ambalaže koriste se gotovo isključivo termoplastični polimerni materijali odnosno plastomere. Elastomere se koriste kao pomoćni materijal za hermetičko zatvaranje metalne ambalaže. Danas se polimerni materijali ubrajaju u najvažnije tehničke materijale, a osim u proizvodnji ambalaže primjenjuju se u kemijskoj industriji, avio - industriji, građevinarstvu te poljoprivredi (Vujković i sur., 2007).

2.1.1. Plastični ambalažni materijali

Za pakiranje hrane najčešće se koriste plastični materijali poput poliolefina, poliestera te vinilnih plastičnih masa. Zbog svojih svojstava, plastika zamjenjuje metalnu, staklenu, papirnu i tekstilnu ambalažu. Plastična ambalaža je lakša, jeftinija, kemijski inertna te se oblikuje znatno brže i uz manji utrošak energije u odnosu na navedene materijale (Muhamedbegović i sur., 2015).

Većina plastičnih materijala dobro propušta svjetlo, slabo propušta plinove te se smatraju električnim izolatorom zbog slabog provođenja struje. Kemijske promjene plastičnih materijala koje se događaju pod utjecajem klimatskih faktora nazivaju se starenje. Starenje je proces koji u najvećem broju slučajeva dovodi do depolimerizacije tj. mijenjanja strukture makromolekula. Ovaj proces dovodi do mijenjanja mehaničkih i fizičkih svojstava. Na brzinu promjena utječu svjetlost i toplina, a usporava se dodatkom stabilizatora (Muhamedbegović i sur., 2015).

2.2. Ekološka prihvatljivost ambalažnih materijala

Porast ukupnog broja stanovnika, životnog standarda, produženje vijeka trajanja proizvoda te više faza prerade, samo su neki od razloga koji su doveli do povećanja opsega potrošnje ambalaže. Tijekom industrijske revolucije nastala je ambalaža kakvu danas poznajemo, a označila je početak industrijske proizvodnje hrane i drugih proizvoda. Tijekom druge polovice 20. stoljeća uvode se polimerni (plastični) materijali za pakiranje hrane uz uobičajene materijale poput drveta, stakla i metala (Vujković i sur., 2007).

Utjecaj ambalažnih materijala na životnu okolinu rezultat je svih procesa koji se odvijaju da se dobije gotova ambalaža, te se zatim nastavlja odbacivanjem ambalaže. Prema tome, kako bi se procijenio ukupan utjecaj određene ambalaže na okolinu, potrebno je procijeniti utjecaj dobivanja sirovina za proizvodnju ambalažnog materijala, utjecaj procesa proizvodnje same ambalaže, procesa pakiranja proizvoda na okolinu, te na kraju utjecaj ambalažnog otpada na okolinu (Muhamedbegović i sur., 2015). Proces prerade i proizvodnje ambalaže u manjoj ili većoj mjeri zagađuje životnu okolinu. Zagađenje može biti fizičko kao posljedica izdvajanja čvrstih čestica ili kemijsko kao posljedica primjena kemikalija u navedenim postupcima (Vujković i sur., 2007).

Postupak dobivanja energije za proizvodnju sirovina koje se upotrebljavaju za dobivanje ambalaže, izradu same ambalažu te preradu odbačene ambalaže, jedan je od zagađivača okoline zbog toga što se prilikom proizvodnje energije otpušta visoka koncentracija ugljikovog (II) dioksida. S obzirom na tu činjenicu pokušava se smanjiti udio energije u svim fazama koji se odnose na proizvodnju ambalaže te također smanjiti masu ambalaže po jedinici mase upakiranog sadržaja (Vujković i sur., 2007). Na tržištu se posljednjih desetljeća razvija nova vrsta ambalaže koja je biorazgradljiva. Takva vrsta ambalaže i dalje mora ispunjavati osnovnu funkciju ambalaže, a to je zaštititi proizvod od kvarenja i utjecaja okoline. Upravo je biorazgradljiva ambalaža koja je proizvedena od prirodnih materijala, a može se primjerice koristiti za pakiranje mesa i mesnih proizvoda, ambalaža koja može pomoći smanjenu mase odbačene ambalaže. Prednosti takve vrste ambalaže su lakša razgradnja u prirodi te bolja ekološka prihvatljivost (Jakobek, 2020).

2.2.1. Biorazgradljiva ambalaža

Ambalaža ima važnu ulogu u prevenciji kontakta hrane s okolišnim faktorima poput kisika, vlage, svjetlosti i mikroorganizma kako bi održala kvalitetu i produžila rok trajanja zapakirane namirnice (Zhang i sur., 2021). Zbog osviještenosti potrošača o zagađenju okoliša, ograničenosti prirodnih izvora i pitanju sigurnosti hrane, pokušava se razviti ambalažni materijal koji je biorazgradljiv (Sun i sur., 2018). Jedna od mogućnosti stvaranja biorazgradljive ambalaže je proizvodnja ambalaže od biopolimera.

2.2.1.1. Biopolimeri

S obzirom na podrijetlo i način proizvodnje, biopolimere koji se koriste kao ambalažni materijali mogu se podijeliti u tri skupine. Prvoj skupini pripadaju polimeri direktno ekstrahirani ili izolirani iz biomase poput škroba, celuloze i proteina. Ovi materijali predstavljaju odličnu barijeru plinovima u ambalažnom obliku, no nedostatak im je svojstvo hidrofilnosti, što im ograničava primjenu u širokoj proizvodnji jer nisu pogodni za pakiranje namirnica s visokim udjelom vode. Drugoj skupini pripadaju biopolimeri proizvedeni klasičnom kemijskom sintezom uz korištenje obnovljivih biomonomera poput poli(mliječne kiseline), a za čiju proizvodnju se koristi monomer mliječne kiseline dobiven uz pomoć mikroorganizama iz sirovina poput kukuruza, pšenice ili melase (Mangaraj i sur., 2019). Treću skupinu čine

biopolimeri koje proizvode mikroorganizmi i genetski modificirane bakterije, a najpoznatiji predstavnici ove skupine su bakterijska celuloza i polihidroksialkanoati (Muhamedbegović i sur., 2015).

2.2.1.2. Jestivi polimeri

Jestivi polimer izrađen je od prirodnog polimernog materijala, a označava tanki sloj materijala koji potrošač može konzumirati. Takav film može prekriti proizvod u cijelosti ili se može primijeniti kao sloj između komponenti hrane. Jestivi zaštitni film mora osigurati barijeru prema kisiku i vlazi (Šuput i sur., 2015). Dodatkom aditiva poput plastifikatora, arome, antioksidansa ili antimikrobnih tvari moguće je poboljšati mehanička, organoleptička i zaštitna svojstva namirnice (Vujković i sur., 2007). Organoleptička svojstva jestivih filmova i prevlaka trebala bi biti neutralna, transparentna odnosno bez mirisa i okusa dok u pogledu mehaničkih i reoloških svojstava jestivi filmovi moraju biti otporni na lom i abraziju (Muhamedbegović i sur., 2015). Prednosti primjene jestivih filmova u odnosu na nejestive filmove su: niski troškovi proizvodnje te smanjenje udjela otpadnog materijala (Vujković i sur., 2007).

2.3. Škrob kao biorazgradljivi materijal

Škrob kao prirodni polimer predstavlja obećavajuću biorazgradljivu sirovinu za proizvodnju ambalaže. Nalazi se u biljnim materijalima. Zbog njegove široke rasprostranjenosti, niskih troškova proizvodnje te obnovljivosti smatra se potencijalno dobrom, održivom zamjenom za plastiku. Namirnice poput voća, povrća, grickalica te proizvoda s niskim udjelom vode mogle bi se pakirati u materijale koji sadrže škrob. Postoje tri načina proizvodnje škrobnog biorazgradljivog filma. Prvi način je upotreba kombinacija male količine škroba i umjetnih plastičnih materijala. Na taj način moguće je poboljšati biorazgradljivost tradicionalnog materijala. Drugi način je priprema škrobne smjese sa sadržajem škroba koji čini više od polovice mase. Posljednji način je obrada smjese granuliranog škroba procesom ekstruzije. Unatoč brojnim prednostima, nedostatak škroba kao materijala su slaba mehanička svojstva, krhkost, te osjetljivost na vlagu zbog hidrofilnog karaktera (Onyeaka i sur., 2022).

2.4. Aktivna ambalaža

Aktivna ambalaža predstavlja novost u svijetu tehnologije pakiranja, označava materijal koji otpušta aktivne komponente ili ih adsorbira iz hrane kako bi se poboljšali uvjeti pakiranja te produžio rok trajanja (Miao i sur., 2021). Takav materijal ambalaže ne smije mijenjati sastav ili organoleptička svojstva hrane niti sadržavati tvari s ciljem prikrivanja procesa kvarenja hrane (Vujković i sur., 2007). U **tablici 1** prikazani su primjeri aktivnih komponenti dodanih u ambalažne materijale (Vujković i sur., 2007). Glavne funkcije aktivne ambalaže su adsorpcija vlage, etilena, uklanjanje kisika, izračivanje etilena te adsorpcija ili razvijanje ugljikovog dioksida, antioksidativno i antimikrobno djelovanje (Miao i sur., 2021).

Adsorberi kisika, tj. tvari koje vežu kisik, imaju jednu od najvažnijih uloga u aktivnoj ambalaži. Omogućavaju uklanjanje zaostalog kisika iz unutrašnjosti ambalaže te pospješuju barijerna svojstva materijala. Prisutnost kisika unutar ambalažnog oblika ubrzava procese oksidacije masti i vitamina, omogućuje razvoj mikroorganizama poput aerobnih bakterija i plijesni. Navedene promjene uzrokuju nepoželjan okus, aromu te promjenu boje upakirane namirnice. Kako bi se uklonio kisik unutar ambalaže razvijene su tehnike poput vakuum pakiranja te pakiranja unutar modificirane atmosfere, međutim nisu dovoljno učinkovite jer male količine kisika i dalje mogu zaostati unutar pakiranja (Alves i sur., 2022). Zbog toga se razvijaju adsorbensi kisika upakiranih u vrećice („sachet“), najčešće u obliku željezovog praha (Vujković i sur. 2007).

Tvari koje kontroliraju koncentraciju ugljikovog dioksida produžuju rok trajnosti proizvoda zbog mikrostatske aktivnosti ili smanjenja respiracije (voće i povrće) (Vujković i sur., 2007). Koncentracija plina unutar ambalaže regulira se aktivnim i pasivnim načinom. Ukoliko je potrebna veća količina ugljikovog dioksida u pakiranju, plin se može uvesti u ambalažni jedinicu prije zatvaranja ambalaže ili se može razviti unutar ambalaže. Ukoliko je potrebno smanjiti količinu CO₂, za uklanjanje ugljikovog dioksida koriste se vrećice koje najčešće sadrže kalcijev hidroksid koji reagira s ugljikovim dioksidom pri čemu nastaje kalcijev karbonat (Vujković i sur. 2007).

Adsorberi etilena kontroliraju udio etilena, biljnog hormona povezanog s procesom „starenja“ voća pri malim koncentracijama. Adsorpcija etilena moguća je primjenom kalijevog permanganata i aktivnog ugljena unutar filma ili vrećice (Alves i sur., 2022).

Antimikrobne tvari unutar ambalaže mogu biti inkorporirane u ambalažu ili se mogu nalaziti u prevlakama. Glavna uloga im je inhibirati rast mikroorganizama, smanjiti

kontaminaciju te održati mikrobiološku kvalitetu zapakirane namirnice (Muhamedbegović i sur., 2015). Aktivna ambalaža je sve prisutnija u prehrambenoj industriji zbog učinkovitosti produljenja roka trajnosti posebice lako pokvarljivih namirnica poput ribe, mesa, voća i povrća (Alves i sur., 2022).

Tablica 1 Primjena aktivne ambalaže (Vujković i sur., 2007)

Funkcija	Aktivne komponente	Primjena
Antimikrobni učinci <i>Antimicrobial effects</i>	Antibiotici (nisin) Aluminijev silikat Srebro Bakar Sintetski zeolit Mangan Nikal Cinkov oksid Magnezijev oksid	Riba Svježe voće
Antioksidativni učinci <i>Antioxidative effects</i>	BHT (butilhidroksitoulen)	Žitarice
Enzimatski učinci <i>Enzymatic effects</i>	Kolesterol oksidaza Glukoza oksidaza	Mlijeko Sve vrste hrane

2.4.1. Aktivna ambalaža izrađena od biopolimera s dodanim polifenolnim spojevima

Polisaharidi poput škroba, celuloze, te kitozana imaju dobra mehanička svojstva te sposobnost formiranja filma. Kako bi im se poboljšala antioksidativna i antimikrobna aktivnost često im se dodaju prirodni izvori antioksidansa poput polifenola i esencijalnih ulja (Sun i sur., 2018). Primjer materijala na bazi škroba je materijal pripremljen od škroba s dodanom galnom kiselinom. Materijal je pokazao mogućnost inhibicije *Listeria monocytogenes* na mesnim proizvodima odnosno šunki pri uvjetima skladištenja na 4 °C tijekom 28 dana (Zhao i sur., 2019). Film izrađen od kitozana s inkorporiranim polifenolima jabuke zaštitio je ribu od oksidacije lipida i proteina te spriječio promjenu boje (Sun i sur., 2018). Također višeslojni film izrađen od kitozana i alginata s dodatkom ulja crnog kima produljio je rok trajnosti pilećih prsa zbog antimikrobne aktivnosti prema *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* (Takma i Korel, 2019). Ambalaža od biopolimera osim ekološke prednosti ima ista ili bolja funkcionalna

svojstva u odnosu na tradicionalne polimere. Biopolimeri sprječavaju gubitak vlage, poboljšavaju okus hrane, smanjuju oksidaciju te povećaju mikrobiološku stabilnost (Vujković i sur., 2007).

2.4.1.1. Aktivna ambalaža s polifenolima aronije

Aronija je voće vrlo bogato polifenolnim spojevima. Zbog antioksidativnih osobina, polifenoli aronije mogu se upotrijebiti kao aktivna komponenta u biopolimerima. Prilikom izbora antioksidansa pri samom vrhu su ekstrakti voća i biljaka. Osim što obiluju antioksidansima, potrošači im daju prednost zbog prirodnog podrijetla (Contini i sur., 2013).

Aronija (*Aronia Melanocarpa*) pripada porodici *Rosaceae*. Vrlo je otporna na nepovoljne uvjete poput niskih temperatura, suše i bolesti štetnika (Tolić i sur., 2015). Poznata je po tome što ima visok udio polifenola poput fenolnih kiselina, antocijana te flavan-3-ola. Upravo zbog visokog udjela navedenih bioaktivnih komponenti, provedena su istraživanja koja su bila usmjerena na pozitivne učinke polifenolnih spojeva na bolesti poput dijabetesa, hipertenzije i hiperkolesterolemije. Dokazano je da polifenoli aronije mogu reducirati rizik od razvoja metaboličkog sindroma te inhibirati lipazu što može biti ključno u prevenciji pretilosti. Polifenolni spojevi mogu stupiti u interakciju s ugljikohidratima, mastima i proteinima iz hrane koja se nalazi u probavnom traktu, što dovodi do brojnih učinaka. Jedan od njih je utjecaj na udio biorasploživih polifenola za apsorpciju u probavnom traktu. Dijetalna vlakna mogu djelovati kao nosači bioaktivnih komponenti kroz probavni sustav, no i dalje su predmet istraživanja (Jakobek i sur., 2021). Biopolimerni filmovi također mogu djelovati kao nosači bioaktivnih komponenti s inkorporiranim antimikrobnim i antioksidativnim spojevima (Šuput i sur. 2015). Jedan od takvih primjera dokazan je u istraživanju Wang i sur. (2023) u kojem je zadatak bio izraditi i ispitati funkcionalna svojstva antioksidativnog i pH osjetljivog filma izrađenog od škroba biljke Strelice (*Sagittaria sagittifolia*) s ekstraktom aronije kao aktivnom komponentom te pratiti kvarenja pilećih prsa pakiranih u film. Rezultati su pokazali da se dobiveni film može upotrebljavati kao aktivna ambalaža u prehrambenoj industriji zbog snažnog antioksidativnog djelovanja. U radu Oun i sur. (2022) izrađen je kompozitni film od materijala polivinila i kitozana s inkorporiranim nanokristalima celuloze, ekstraktom aronije te ekstraktom sjemenki grejpa. Dobiveni film također je pokazao antioksidativnu i antimikrobnu aktivnost ali i pH osjetljivost, nisku propusnost vodene pare te poželjna mehanička svojstva.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Zadatak

U ovom radu cilj je bio prirediti i istražiti aktivni materijal na bazi biopolimera škroba s inkorporiranim polifenolima aronije kao aktivnom komponentom. Specifični zadaci bili su:

- ekstrahirati polifenolne spojeve iz aronije (*Aronia melanocarpa*)
- analizirati ekstrakt pomoću tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (engl. high-performance liquid chromatography HPLC) te identificirati i kvantificirati polifenolne spojeve u aroniji
- provesti adsorpciju polifenola aronije na škrob, odrediti količinu adsorbiranih polifenola iz aronije na škrob tj. adsorpcijski kapacitet škroba te pripremiti materijal škrob-polifenoli aronije
- provesti adsorpciju ulja i vode na materijal škrob-polifenoli aronije
- pripremiti biopolimerni materijal (foliju) na bazi škroba s različitim udjelom plastifikatora
- pripremiti biopolimerni aktivni materijal (foliju) od škroba s dodanim polifenolima aronije

3.2. Materijal i metode

3.2.1. Kemikalije

Za izradu ovog rada korištene su sljedeće kemikalije:

- Orto-fosforna kiselina 85 % (Fluka, Buchs, Švicarska)
- Acetonitril (Fischer Scientific, Loughborough, UK)
- Klorogenska kiselina (Sigma - Aldrich, St.Louis, MO, USA)
- Kvercetin-3-rutinozid (Sigma - Aldrich, St.Louis, MO, USA)
- Kvercetin-3-glukozid (Sigma- Aldrich, St.Louis ,MO, USA)-
- Cijanidin-3-galaktozid klorid (Extrasynthese, Genay, Francuska)
- Cijandin-3-glukozid klorid (Extrasynthese, Genay, Francuska)
- Kvercetin-3-galaktozid (Extrasynthese, Genay, Francuska)

3.2.2. Uzorci aronije

Jedan kg aronije (*Aronia melanocarpa*) dobiven iz voćnjaka u Hrvatskoj (Orahovica) smrznut je neposredno poslije berbe te uskladišten na $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Prije upotrebe aronija je homogenizirana štapnim mikserom.

3.2.3. Ekstrakcija polifenolnih spojeva

Za ekstrakciju je odvagano 20 g aronije te je dodano 150 ml H_2O u laboratorijsku čašu. Čaše su stavljene u ultrazvučnu kupelj (Bandelin Sonorex RK 100, Berlin, Njemačka) na 30 minuta. Nakon ekstrakcije ultrazvukom, čaša s ekstraktom je ostavljena da stoji dok se uzorak ne istaloži. Tekući ekstrakt je filtriran pomoću naboranog filter papira da bi se odvojio voćni ostatak od ekstrakta. Dobiveni ekstrakt je korišten za daljnje analize. 1 ml ekstrakta je filtriran kroz $0,22\text{ }\mu\text{m}$ PTFE filter i analiziran HPLC metodom da bi se odredila količina polifenola aronije prije adsorpcije na škrob ($c_0\text{ mg l}^{-1}$). Osim toga, izračunata je količina polifenola u aroniji i izražena u mg kg^{-1} svježe mase voća.

3.2.4. Priprema škroba s adsorbiranim polifenolnim spojevima

Za pripremu škroba s polifenolnim spojevima odvagano je 30 g škroba te dodano 150 ml ekstrakta aronije. Potom je uzorak miješan na tresilici (IKA KS 130 basic, Staufen, Njemačka) 20 h pri sobnoj temperaturi. Uzorak je filtriran kroz naborani filter papir. Zaostali materijal škrob-polifenol je sušen u inkubatoru (IN 30 Memmert, Schwabach, Njemačka) na $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ do konstantne mase. Na ovaj način pripremljena su dva materijala škrob-polifenol (škrob-polifenoli aronije 1 i škrob-polifenoli aronije 2). Ekstrakt nakon adsorpcije filtriran je kroz $0,22\text{ }\mu\text{m}$ PTFE filter i analiziran HPLC metodom da bi se odredila količina polifenola koja se nije adsorbirala na škrob ($c_e\text{ mg l}^{-1}$).

3.2.5. Analiza polifenolnih spojeva visokodjelotvornom tekućinskom kromatografijom

Analiza polifenolnih spojeva prije i nakon adsorpcije na škrob izvedena je na HPLC analitičkom sustavu (1260 Infinity II, Agilent Technology, Santa Clara, SAD) koji se sastoji od kvarterne pumpe, PDA detektora (photodiodearray detector) i vialsamplera. Separacija polifenolnih spojeva izvedena je na Poroshell 120 EC C-18 koloni (unutrašnjeg promjera $4,6\text{ x}$

100 mm, promjer čestica 2,7 μm) koja je zaštićena pretkolonom (Poroshell 120 EC-C18, 4,6 mm) primjenom 0.5 % fosforne kiseline kao mobilne faze A te 100 %-nog acetonitrila kao mobilne faze B. Polifenoli su razdvojeni prema gradijentu: 5 % B 0 min, 11 % B 5 min, 15 % B 7,5 min, 17,5 % B 17,5 min, 20 % B 20 min, 30 % B 30 min, 70 % B 32 min, 70 % B 34 min, 5 % B 36 min, 5 % B 38 min. Protok je iznosio 0,8 ml/min, a volumen injektiranja 10 μl . Polifenolni spojevi karakterizirani su na osnovi usporedbe UV/Vis spektara te vremena zadržavanja s onima autentičnih standarda.

3.2.6. Količina adsorbiranih polifenola aronije na škrob

Količina polifenola aronije adsorbiranih na masu škroba (mg g^{-1} škroba) izračunata je prema sljedećoj jednadžbi:

$$q_e = \frac{(c_0 - c_e) \cdot V_m}{m}$$

gdje je c_0 koncentracija polifenola aronije u ekstraktu prije adsorpcije na škrob (mg l^{-1}), c_e koncentracija polifenola aronije u ekstraktu nakon adsorpcije na škrob (mg l^{-1}), V_m je ukupan volumen reakcijske smjese (l), m je masa škroba u reakcijskoj smjesi (g).

3.2.7. Adsorpcija ulja i vode

0,15 g škroba ili škroba s adsorbiranim polifenolima aronije te 1,5 ml vode dodani su u plastičnu kivetu. Kivete su postavljene na tresilicu 30 min pri sobnoj temperaturi. Potom su uzorci u kivetama centrifugirani na 8000 rpm 5 minuta (Eppendorf Minispin, Hamburg, Njemačka). Iz kivete je otpipetirana voda. Iz razlike mase suhog škrobnog materijala i škroba s vodom, izračunata je masa adsorbirane vode. Eksperiment je proveden dva puta sa čistim škrobom te jedan put sa svakom paralelom materijala škrob-polifenoli aronije. Adsorpcija ulja provedena je na isti način, jedina razlika bila je centrifugiranje na 3000 rpm 5 min.

3.2.8. Priprema biopolimerne folije bez ili s inkorporiranim polifenolima aronije

Za pripremu biopolimernog materijala (folije) odvagano je 5 g škroba te je dodano 100 ml H_2O . Dobivena smjesa miješana je na vodenoj kupelji (Grant JB Academy, Shepreth Cambridgeshire, UK) na 100°C 15 min. Potom je u nastali materijal dodan plastifikator glicerol

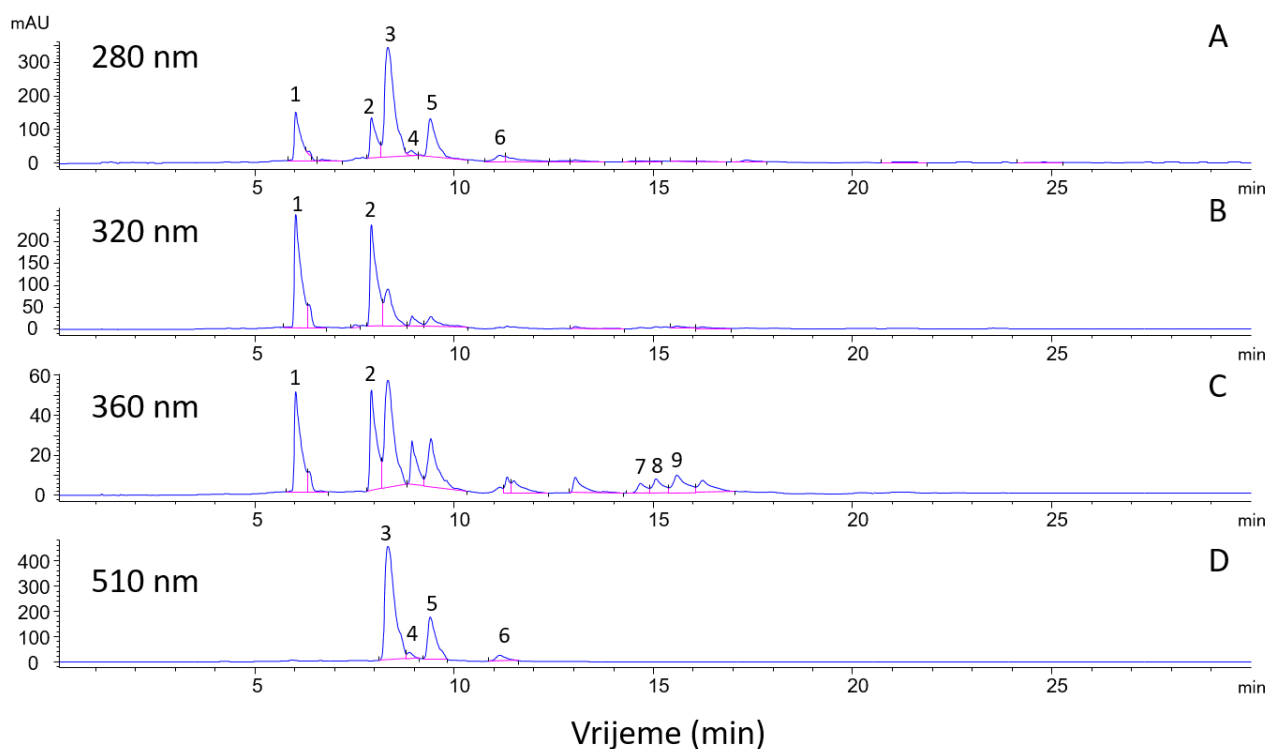
u različitim količinama (1,65, 3 i 5 g). Smjesa je miješana na vodenoj kupelji dodatnih 15 minuta. Zatim je smjesa izlivena u petrijevu zdjelicu te je sušena na zraku. Na isti način pripremljen je bioplastični materijal s polifenolima aronije. U pripremi ovog materijala korišten je materijal škrob-polifenoli aronije, a plastifikator glicerol dodan je u količini 5 g.

3.2.9. Statistička analiza

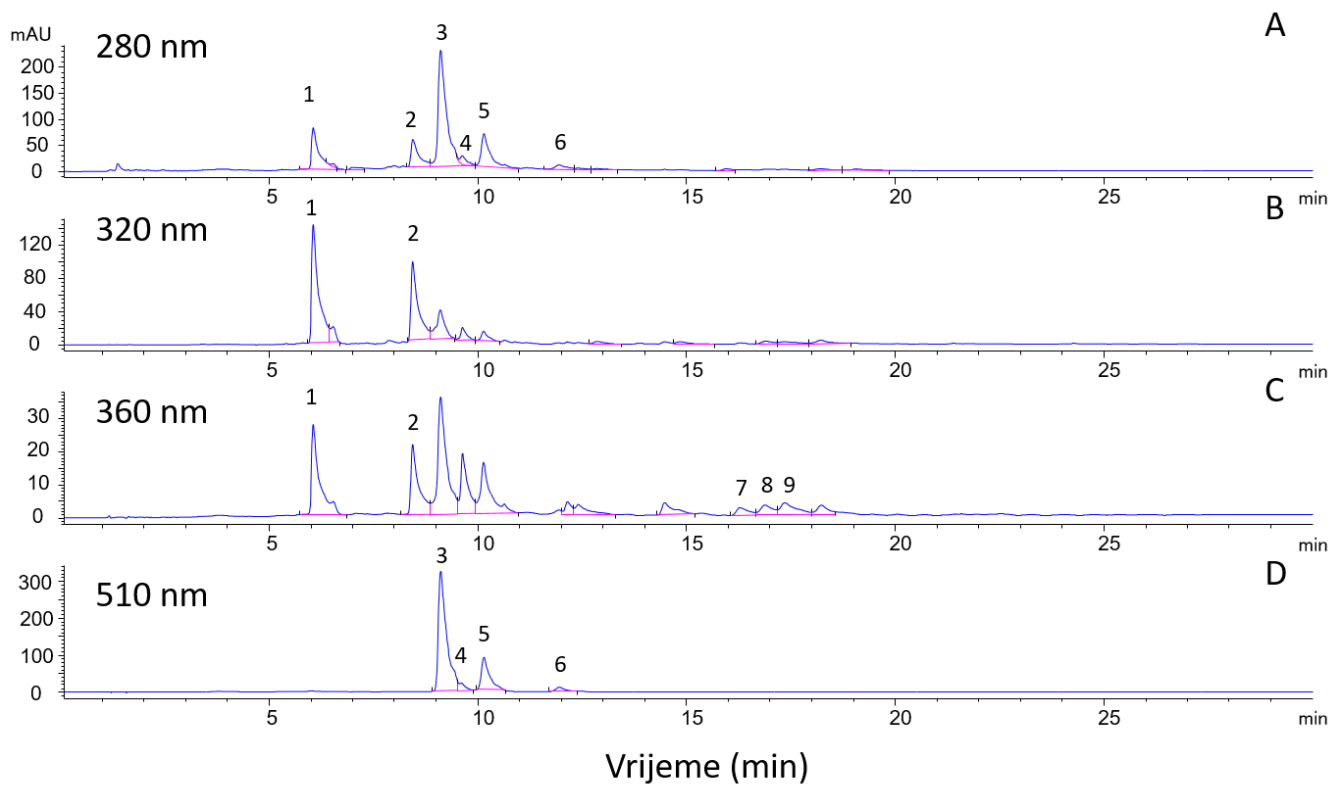
Pripremljena su dva ekstrakta aronije i svaki je analiziran dva puta pomoću HPLC metode (n=4). Svaki od dva polifenolna ekstrakta aronije, adsorbiran je na škrob jedan put tako da su dobivena dva materijala (škrob-polifenoli aronije 1 i škrob-polifenoli aronije 2). Nakon adsorpcije zaostali ekstrakt analiziran je dva puta HPLC metodom (n=2). Rezultati su prikazani kao srednja vrijednost \pm standardno odstupanje. Korelacija je provedena pomoću programske podrške (MS Excel, Redmond, Washington, SAD).

4. REZULTATI

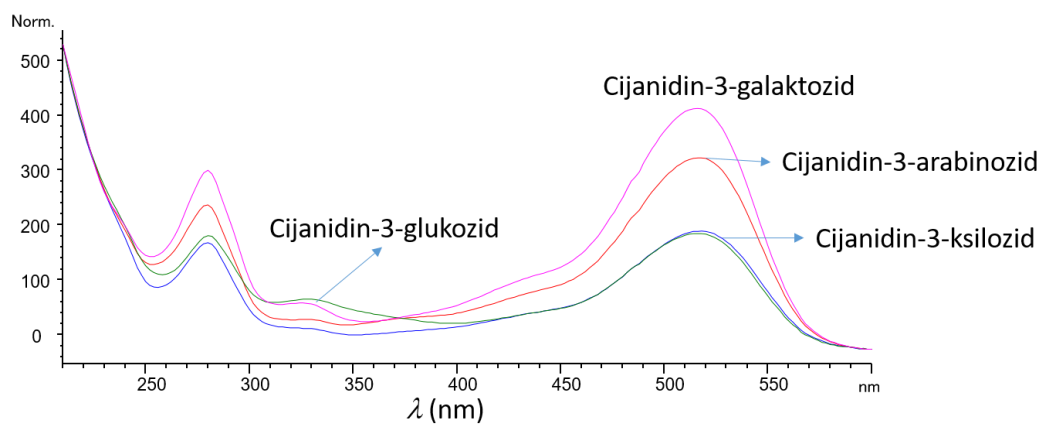
4.1. Polifenolni spojevi aronije



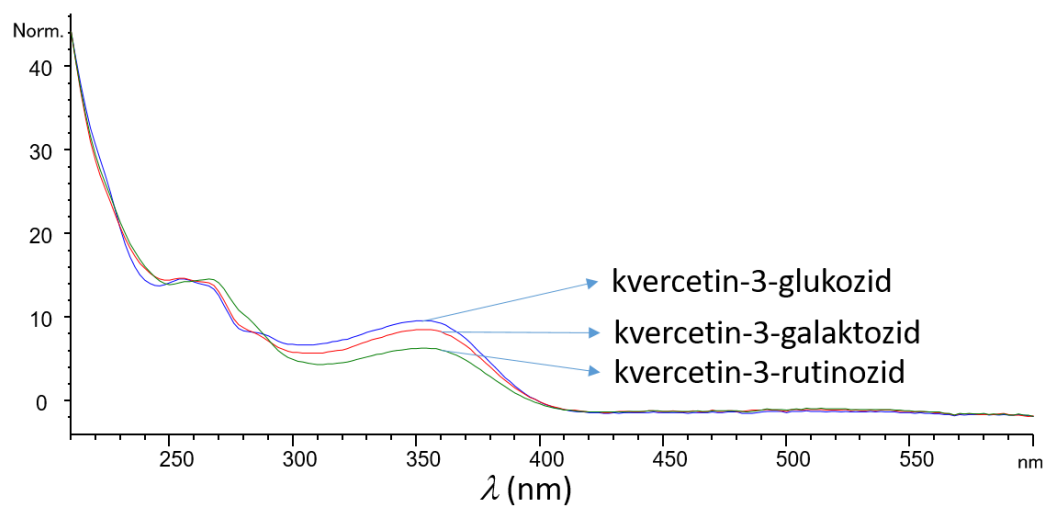
Slika 1 Kromatogram ekstrakta aronije sniman na A) 280 nm, B) 320 nm, C) 360 nm, D) 510 nm s identificiranim spojevima 1* – neoklorogenska kiselina, 2 – klorogenska kiselina, 3 – cijanidin-3-galaktozid, 4 – cijanidin-3-glukozid, 5* – cijanidin-3-arabinozid, 6* – cijanidin-3-ksilozid, 7 – kvercetin-3-rutinozid, 8 – kvercetin-3-galaktozid, 9 – kvercetin-3-glukozid (* djelomična identifikacija)



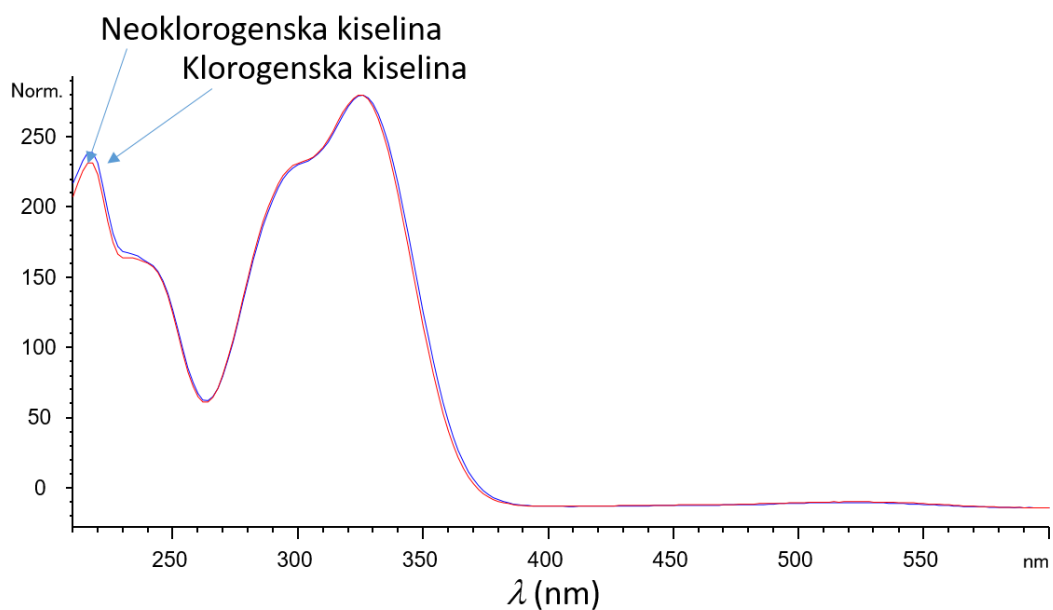
Slika 2 Kromatogram ekstrakta aronije nakon adsorpcije na škrob sniman na A) 280 nm, B) 320 nm, C) 360 nm, D) 510 nm s identificiranim spojevima 1* – neoklorogenska kiselina, 3 – cijanidin-3-galaktozid, 4 – cijanidin-3-glukozid, 5* – cijanidin-3-arabinozid, 6* – cijanidin-3-ksilozid, 7 – kvercetin-3-rutinozid, 8 – kvercetin-3-galaktozid, 9 – kvercetin-3-glukozid (* djelomična identifikacija)



Slika 3 UV/Vis spektri antocijanina iz ekstrakta aronije



Slika 4 UV/Vis spektri flavonola iz ekstrakta aronije



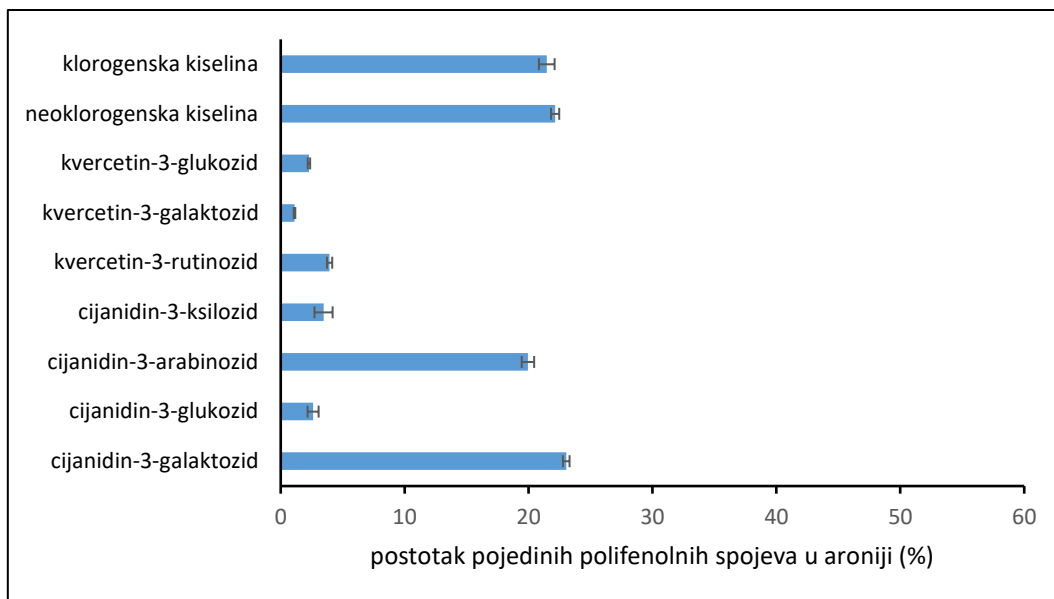
Slika 5 UV/Vis spektri fenolnih kiselina iz ekstrakta aronije

Tablica 2 Količina polifenolnih spojeva u aroniji (mg/kg svježe mase)

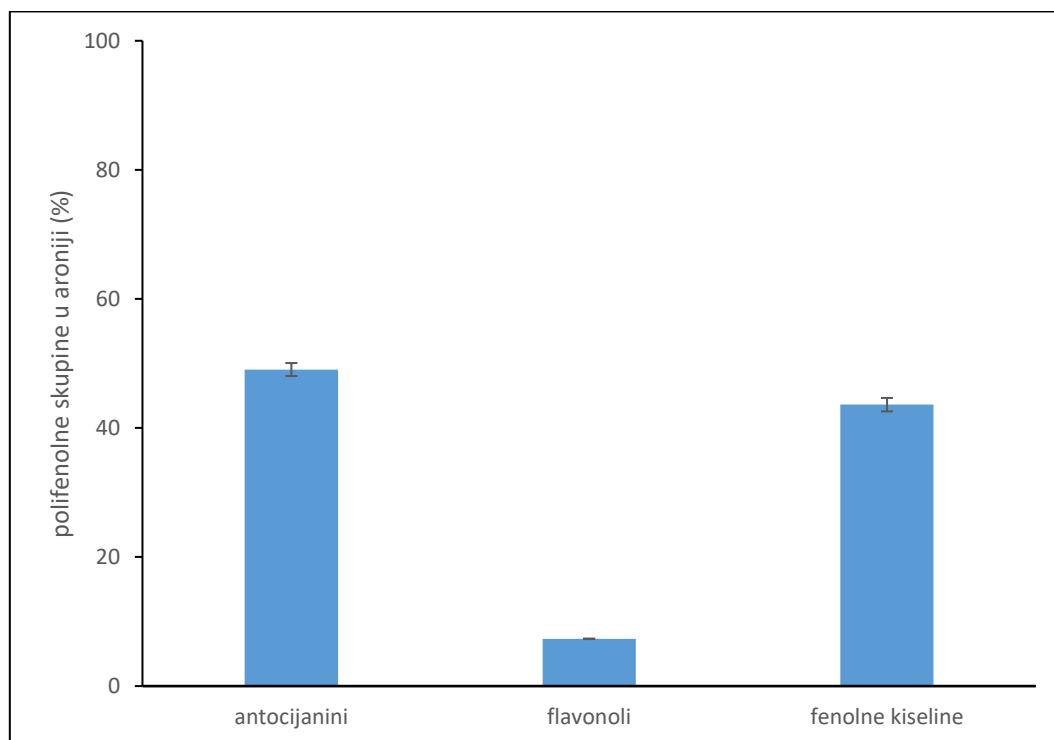
Polifenolni spojevi	Koncentracija mg/kg
antocijanini	
cijanidin-3-galaktozid	246,8 ± 19,5
cijanidin-3-glukozid	27,9 ± 4,3
cijanidin-3-arabinozid*	214,1 ± 23,3
cijanidin-3-ksilozid*	37,5 ± 10,7
ukupno	526,3 ± 57,7
Flavonoli	
kvercetin-3-rutinozid	42,4 ± 5,6
kvercetin-3-galaktozid	11,9 ± 0,4
kvercetin-3-glukozid	24,4 ± 1,7
ukupno	78,6 ± 7,6
fenolne kiseline	
neoklorogenska kiselina*	237,1 ± 17,3
klorogenska kiselina	229,7 ± 13,2
ukupno	466,8 ± 30,5
UKUPNO	1071,6 ± 95,8

* djelomično identificirani spojevi

Dva ekstrakta, svaki analiziran dva puta na RP-HPLC uređaju (n=4)



Slika 6 Postotna raspodjela pojedinih polifenolnih spojeva u ekstraktu aronije



Slika 7 Postotna raspodjela polifenolnih skupina u ekstraktu aronije

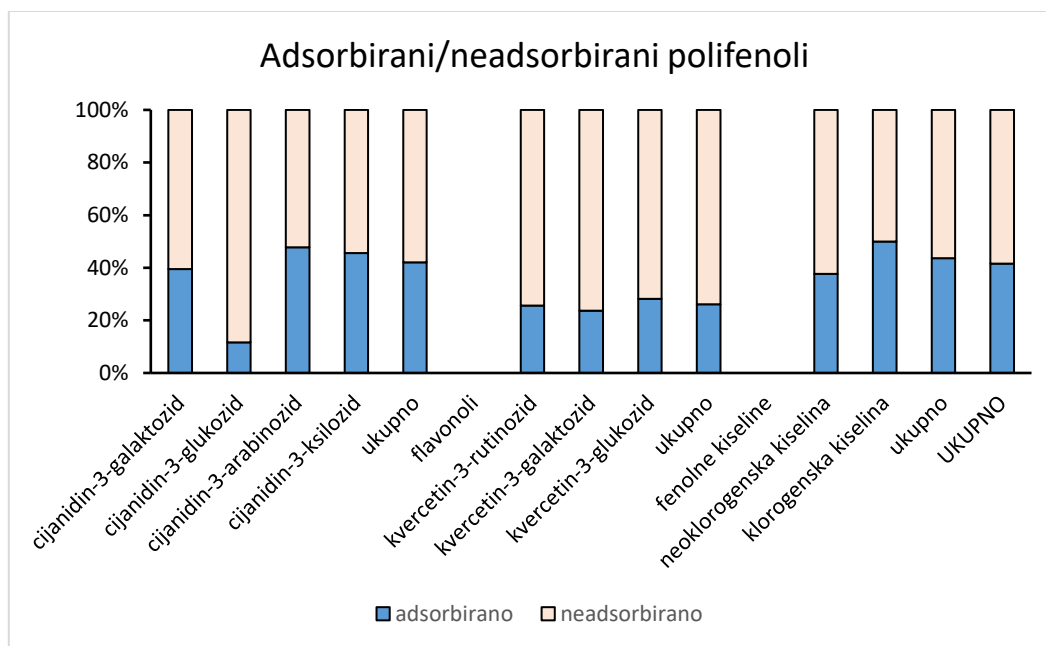
4.2. Adsorpcija polifenolnih spojeva aronije na škrob

Tablica 3 Koncentracija polifenolnih spojeva prije i nakon adsorpcije na škrob

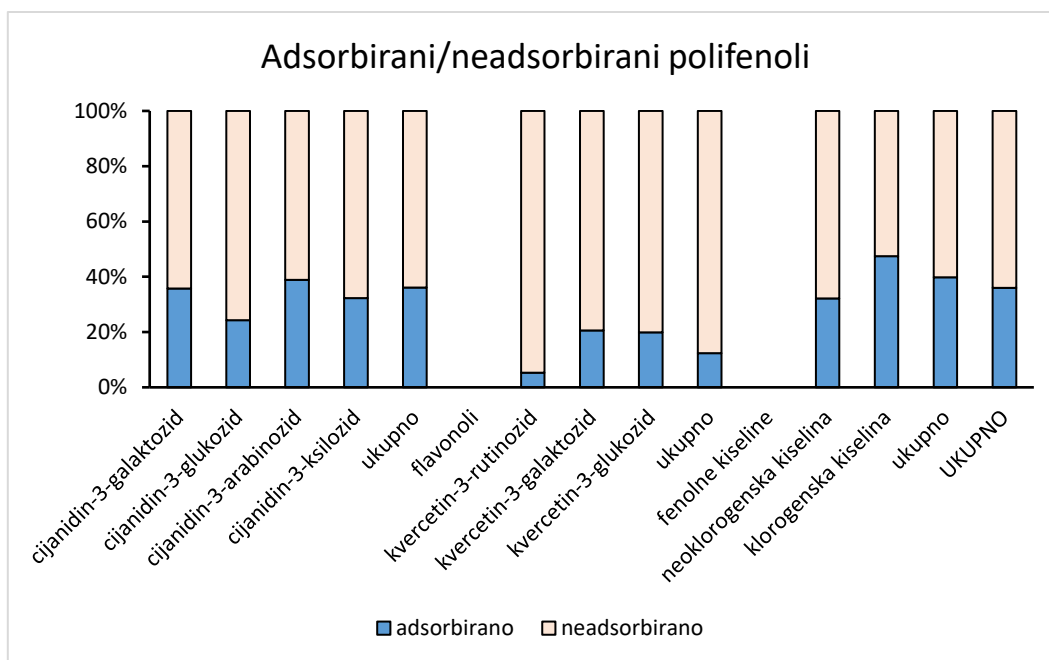
Polifenolni spojevi	Prije adsorpcije mg/l	Nakon adsorpcije mg/l	Prije adsorpcije mg/l	Nakon adsorpcije mg/l
Antocijanini				
cijanidin-3-galaktozid	35,9 ± 0,7	21,7 ± 0,2	30,8 ± 0,2	19,8 ± 0,6
cijanidin-3-glukozid	3,8 ± 0,2	3,4 ± 0,9	3,7 ± 1,0	2,8 ± 0,3
cijanidin-3-arabinozid*	31,9 ± 0,5	16,7 ± 0,0	26,0 ± 0,1	15,9 ± 0,1
cijanidin-3-ksilozid*	6,3 ± 0,1	3,4 ± 0,3	3,8 ± 0,8	2,6 ± 0,0
ukupno	78,0 ± 1,5	45,2 ± 1,5	64,3 ± 2,0	41,0 ± 1,1
flavonoli				
kvercetin-3-rutinozid	6,4 ± 0,5	4,7 ± 0,0	5,1 ± 0,0	4,8 ± 0,0
kvercetin-3-galaktozid	1,7 ± 0,0	1,3 ± 0,0	1,5 ± 0,0	1,2 ± 0,0
kvercetin-3-glukozid	3,5 ± 0,1	2,5 ± 0,1	3,1 ± 0,1	2,5 ± 0,0
ukupno	11,5 ± 0,7	8,5 ± 0,1	9,7 ± 0,1	8,5 ± 0,1
fenolne kiseline				
neoklorogenska kiselina*	34,3 ± 0,8	21,4 ± 0,0	29,8 ± 0,0	20,2 ± 0,3
klorogenska kiselina	32,9 ± 0,1	16,4 ± 0,4	29,2 ± 0,0	15,3 ± 0,3
ukupno	67,2 ± 0,9	37,8 ± 0,4	59,0 ± 0,0	35,5 ± 0,6
UKUPNO	156,8 ± 3,0	91,6 ± 2,0	133,0 ± 2,1	85,1 ± 1,8

* djelomično identificirani spojevi

Ekstrakt analiziran dva puta na RP-HPLC uređaju (n=2)



Slika 8 Postotna raspodjela adsorbiranih i neadsorbiranih polifenolnih spojeva u prvom materijalu Škrob-aronija 1



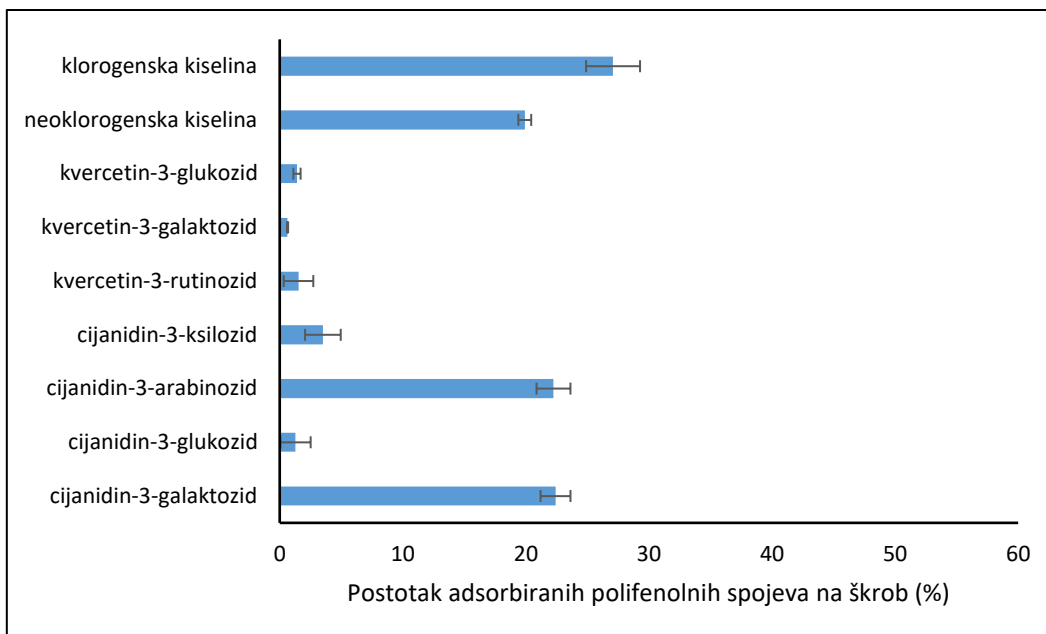
Slika 9 Postotna raspodjela adsorbiranih i neadsorbiranih polifenolnih spojeva u materijalu Škrob-aronija 2

Tablica 4 Količina polifenolnih spojeva adsorbiranih na škrob (adsorpcijski kapacitet) (mg/g škroba)

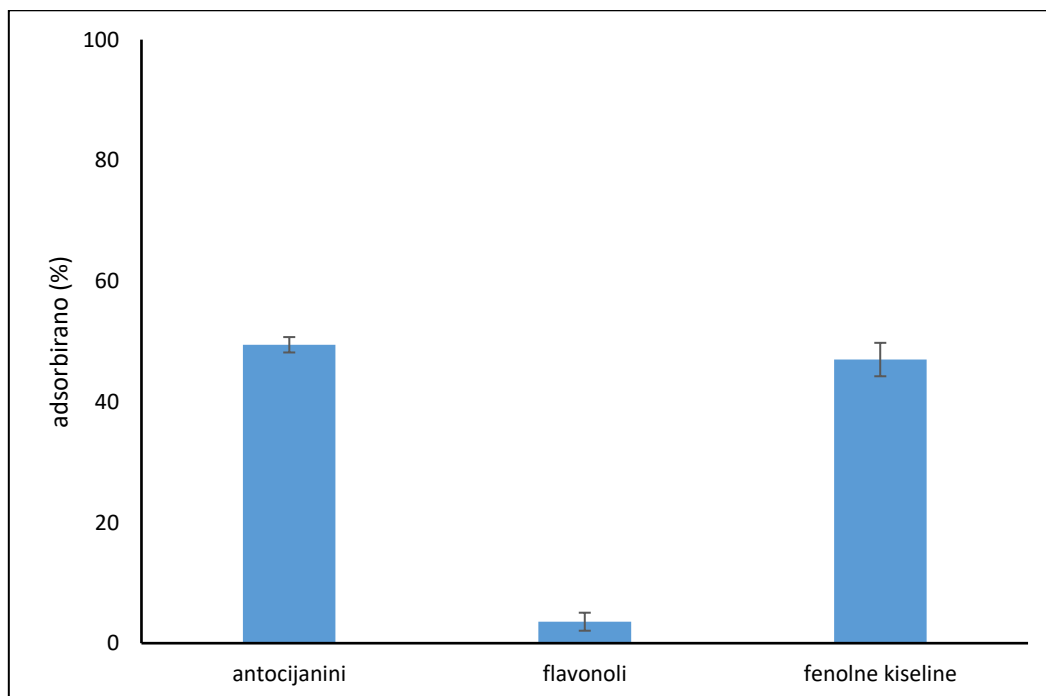
Polifenolni spojevi	Adsorpcijski kapacitet	
	mg/g	mg/g
antocijanini		
cijanidin-3-galaktosid	0,473 ± 0,030	0,361 ± 0,025
cijanidin-3-glukozid	0,015 ± 0,025	0,029 ± 0,021
cijanidin-3-arabinozid*	0,509 ± 0,018	0,330 ± 0,003
cijanidin-3-ksilozid*	0,096 ± 0,013	0,041 ± 0,024
ukupno	1,093 ± 0,087	0,761 ± 0,073
flavonoli		
kvercetin-3-rutinozid	0,054 ± 0,018	0,009 ± 0,001
kvercetin-3-galaktosid	0,013 ± 0,000	0,010 ± 0,001
kvercetin-3-glukozid	0,033 ± 0,007	0,020 ± 0,004
ukupno	0,100 ± 0,026	0,039 ± 0,006
fenolne kiseline		
neoklorogenska kiselina*	0,431 ± 0,026	0,313 ± 0,011
klorogenska kiselina	0,547 ± 0,010	0,454 ± 0,009
ukupno	0,978 ± 0,037	0,768 ± 0,020
UKUPNO	2,171 ± 0,149	1,568 ± 0,099

* djelomično identificirani spojevi

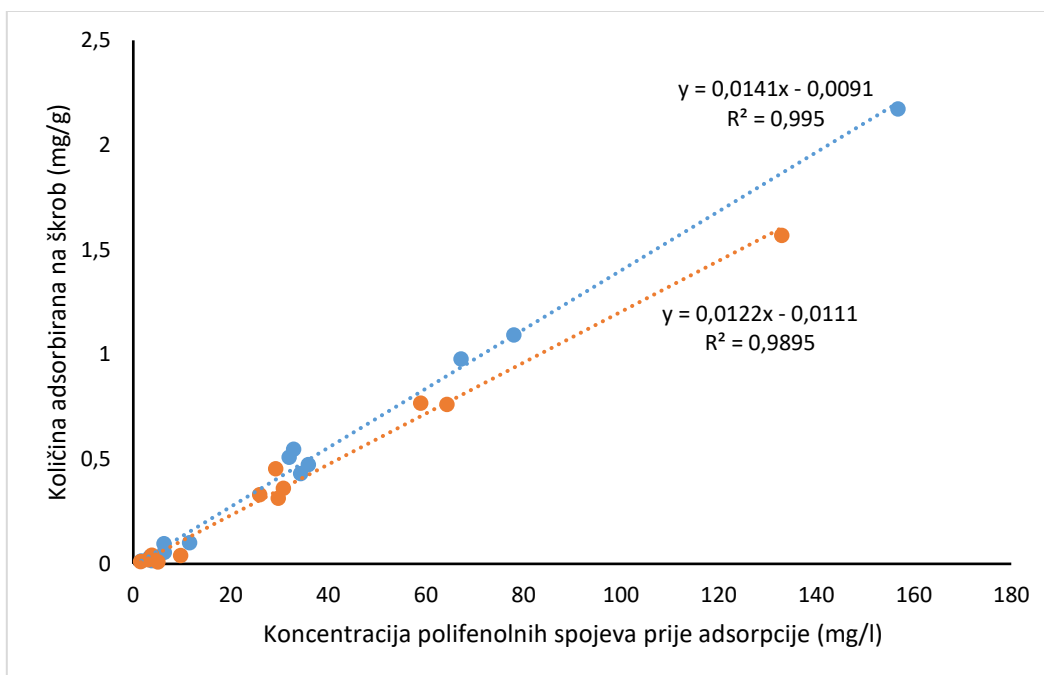
Ekstrakt analiziran dva puta na RP-HPLC uređaju (n=2)



Slika 10 Postotna raspodjela polifenolnih spojeva iz aronije adsorbiranih na škrob. Postotci su izračunati s obzirom na ukupnu adsorbiranu količinu polifenola, a srednja su vrijednost za mjerenja adsorpcije u dva eksperimenta



Slika 11 Postotna raspodjela polifenolnih skupina iz aronije adsorbiranih na škrob. Postotci su izračunati s obzirom na ukupnu adsorbiranu količinu polifenola, a srednja su vrijednost za mjerenja adsorpcije u dva eksperimenta



Slika 12 Korelacija između koncentracije svih pojedinih polifenolnih spojeva prisutnih u otopini prije adsorpcije (mg/l) i njihove količine adsorbirane na škrob (mg/g škroba) (plava crta – prvi materijal škrob-polifenoli aronija 1, smeđa crta – drugi materijal škrob-polifenoli aronije 2)

4.3. Adsorpcija ulja i vode na materijal škrob-polifenolni spojevi

Tablica 5 Količina adsorbiranog ulja i vode na škrob (adsorpcijski kapacitet) (g ulja ili vode po g škroba)

	Adsorpcijski kapacitet g/g škroba
Adsorpcija ulja	
škrob	1,19 ± 0,23
škrob polifenoli aronije	1,37 ± 0,01
škrob polifenoli aronije	1,48 ± 0,15
Adsorpcija vode	
škrob	1,21 ± 0,19
škrob polifenoli aronije	1,44 ± 0,10
škrob polifenoli aronije	1,28 ± 0,21

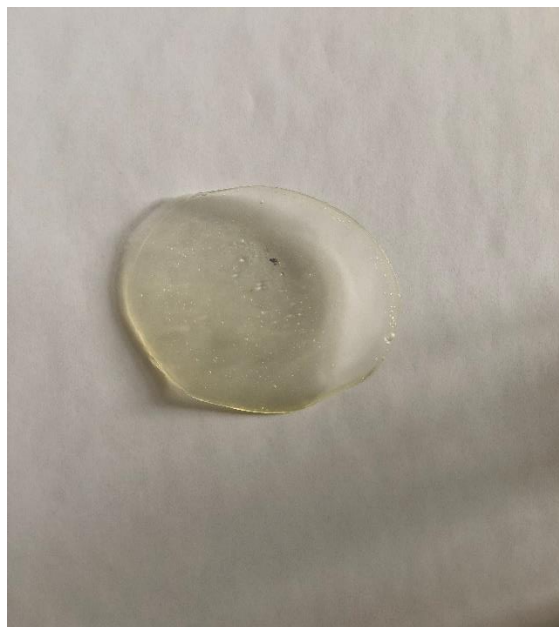
4.4. Biopolimerni materijal



Slika 13 Biopolimerni materijal (folija) napravljen od škroba s dodanih 1,6 g plastifikatora (glicerol)



Slika 14 Biopolimerni materijal (folija) napravljen od škroba s dodanih 3 g plastifikatora (glicerol)



Slika 15 Biopolimerni materijal (folija) napravljen od škroba s dodanih 5 g plastifikatora (glicerol)



Slika 16 Biopolimerni materijal (folija) napravljen od materijala škrob-polifenoli aronije 1



Slika 17 Biopolimerni materijal (folija) napravljen od materijala škrob-polifenoli aronije 2

Tablica 6 Debljina biopolimernih materijala

Materijal	Debljina mm
škrob s 1,6 g glicerola	1,77 ± 0,17
škrob s 3 g glicerola	0,67 ± 0,37
škrob s 5 g glicerola	0,75 ± 0,22
Škrob s aronijom 1 (5 g glicerola)	1,24 ± 0,48
Škrob s aronijom 2 (5 g glicerola)	0,77 ± 0,12

5. RASPRAVA

Biopolimeri su polimeri prirodnog podrijetla koji se mogu upotrebljavati u prehrambenoj industriji za pripremu ambalažnih materijala. Jedna od mogućih prednosti u odnosu na konvencionalnu ambalažu je biorazgradljivost i ekološka prihvatljivost. No, biorazgradljivi materijali često nemaju dovoljno dobra svojstva potrebna za pakiranje namirnica, te se njihova svojstva moraju poboljšati da bi mogli imati masovniju primjenu (Westlake i sur., 2022). Drugo vrlo atraktivno područje u razvoju ambalažnih materijala je aktivna ambalaža. Dodatkom aktivne tvari u biopolimer moguće je dobiti potencijalnu aktivnu ambalažu, a kao aktivne tvari istražuju se prirodne tvari kao što su polifenolni spojevi. Povezivanje dvije funkcije, biorazgradljivosti i aktivnosti, pripada najmodernijim istraživanjima u području ambalažnih materijala i smatra se „state-of-the-art“ tehnologijom (Westlake i sur., 2022). Cilj ovog rada bio je spojiti ova dva pristupa te napraviti ambalažni materijal od škroba koji kao prirodni materijal ima svojstvo biorazgradljivosti te kao aktivnu komponentu u materijal inkorporirati polifenole aronije.

Aronija je voće koje se ističe visokom koncentracijom polifenola čak 2 do 4 puta većom s obzirom na ostale vrste voća poput maline, višnje, kupine te jagode. Polifenoli pokazuju antioksidacijsku aktivnost djelujući različitim mehanizmima, a antioksidacijska aktivnost temelji se na njihovoj sposobnosti hvatanja slobodnih radikala pri čemu polifenoli djeluju kao reducensi odnosno mogu donirati elektron slobodnom radikalu, a radikali polifenola pri tome postaju stabilne molekule. Na taj način značajno inhibiraju ili odgađaju oksidaciju nekog supstrata. Zbog antioksidacijske aktivnosti mogu se upotrebljavati kao aktivne tvari u ambalažnim materijalima (Jakobek 2007).

Nakon ekstrakcije polifenola iz aronije, ispitan je ekstrakt aronije da bi se identificirali i kvantificirali pojedini polifenoli. Na **Slici 1** prikazan je kromatogram ekstrakta aronije sniman na 280, 320, 360 i 510 nm na kojem se mogu vidjeti identificirani polifenolni spojevi aronije. U aroniji su identificirani: neoklorogenska kiselina, klorogenska kiselina koje ulaze u skupinu fenolnih kiselina, zatim cijanidin-3-galaktozid, cijanidin-3-glukozid, cijanidin-3-arabinozid i cijanidin-3-ksilozid koji pripadaju skupini antocijanina, te kvercetin-3-rutinozid, kvercetin-3-galaktozid i kvercetin-3-glukozid koji pripadaju skupini flavonola. Identificirani polifenolni spojevi slažu se s podacima iz prethodnih istraživanja autora Koponen i sur. (2007) te Wu i sur. (2006). Na **slici 2** prikazan je kromatogram ekstrakta aronije nakon adsorpcije na škrob sniman pri istim valnim duljinama pri čemu su identificirani isti spojevi kao i prije adsorpcije na škrob.

Dodatna potvrda identifikacije polifenolnih spojeva dobivena je uvidom u UV/Vis spektre pojedinih polifenola. Na **slikama 3, 4 i 5** prikazani su UV/Vis spektri antocijanina, flavonola i fenolnih kiselina aronije. Spektri antocijanina prikazuju 2 tipična maksimuma na 280 i 520 nm (**slika 3**). Tipičan spektar flavonola pokazuje dva maksimuma, jedan u području 260 do 270 nm, a drugi u području oko 350 do 360 nm (**Slika 4**). Fenolne kiseline pokazuju karakterističan maksimum na području 320 do 330 nm (**Slika 5**). Spektri spojeva iz aronije slažu se sa spektrima autentičnih standarda.

Nakon identifikacije spojeva, određena je njihova količina (**Tablica 2**). Ukupna količina antocijanina u aroniji iznosila je 526,3 mg/kg, a dva antocijanina koja se mogu istaknuti s većom količinom su cijanidin-3-galaktozid i cijanidin-3-arabinozid. Flavonoli su pronađeni u aroniji u ukupnoj količini 78,6 mg/kg, a najzastupljeniji je kvercetin-3-rutinozid. Fenolne kiseline pronađene su u ukupnoj količini od 466,8 mg/kg, a pojedine fenolne kiseline, neoklorogenska i klorogenska kiselina, bile su prisutne u vrlo sličnoj količini. Ukupna količina svih polifenola u ekstraktu iznosila je 1071,6 mg/kg. **Slike 6 i 7** prikazuju postotnu raspodjelu pojedinih polifenolnih spojeva i polifenolnih skupina u aroniji. Najzastupljeniji pojedinačni spojevi su cijanidin-3-galaktozid i cijanidin-3-arabinozid te neoklorogenska i klorogenska kiselina (**Slika 6**). Najzastupljenije skupine u ekstraktu aronije su antocijanini (49 %) i fenolne kiseline (43,6 %). Flavonoli su prisutni u malom postotku (7,3 %) (**Slika 7**).

Nakon karakterizacije polifenola iz aronije, provedena je adsorpcija polifenola aronije na škrob u dva odvojena eksperimenta da bi se dobila dva materijala; škrob-polifenoli aronije 1 i škrob-polifenoli aronije 2. Određena je njihova koncentracija prije i nakon adsorpcije, a rezultati su prikazani u **Tablici 3**. Može se zaključiti da se koncentracija svih pojedinačnih polifenola te polifenolnih skupina nakon adsorpcije na škrob u oba eksperimenta smanjila. Ovo smanjenje koncentracije pokazuje da su se polifenoli aronije adsorbirali na škrob. Pojedinačni spojevi ili skupine su se adsorbirali od 11,6 do 50 % (prvi materijal) (**Slika 8**) ili od 5,3 do 47,5 % (drugi materijal) (**Slika 9**) s obzirom na početnu količinu prije adsorpcije.

Izračunata je i količina adsorbiranih polifenola po masi adsorbensa škroba (mg/g škroba) (**Tablica 4**). U prvom materijalu škrob-polifenoli aronije 1 pojedini antocijanini adsorbirali su se u rasponu od 0,015 do 0,509 mg/g, pojedini flavonoli u rasponu od 0,013 do 0,054 mg/g, dok je raspon adsorbiranih fenolnih kiselina iznosio 0,431 do 0,547 mg/g. Ukupni antocijanini (1,093 mg/g) te fenolne kiseline (0,978 mg/g) adsorbirane su se u većoj količini u usporedbi s ukupnim flavonolima (0,100 mg/g). Slični rezultati vidljivi su za adsorpciju

polifenola u drugom materijalu škrob-polifenoli aronije 2. Koncentracija adsorbiranih ukupnih antocijanina (0,761 mg/g), te ukupnih fenolnih kiselina (0,768 mg/g) bila je veća od mase adsorbiranih flavonola (0,039 mg/g).

Slike 10 i 11 prikazuju postotnu raspodjelu adsorbiranih polifenolnih spojeva i skupina. S obzirom na ukupnu količinu adsorbiranih polifenola po masi adsorbensa, u najvećem postotku su se adsorbirali cijanidin-3-galaktozid (22,4 %), cijanidin-3 arabinozid (22,2 %), neoklorogenska (19,9 %) te klorogenska kiselina (27,1 %) (**Slika 10**). S obzirom na polifenolne skupine, vidljivo je da su se u najvećem postotku adsorbirali antocijanini (49,4 %) i fenolne kiseline (47 %), a tek u malom postotku flavonoli (3,6 %) (**Slika 11**).

Iz količine i postotka adsorbiranih pojedinih polifenola ili polifenolnih skupina, može se vidjeti da su se polifenoli koji se u ekstraktu aronije nalaze u većoj količini, i adsorbirali na škrob u većoj količini. Da bi se ova pretpostavka potvrdila, provedena je korelacija između koncentracije svih pojedinih polifenolnih spojeva prisutnih u otopini prije adsorpcije (mg/l) i njihove količine adsorbirane na škrob (mg/g škroba). Prema **slici 12** vidljivo je da je korelacija visoka, za prvi materijal škrob-polifenoli aronije 1 koeficijent determinacije iznosio je $R^2=0,995$ dok je za materijal škrob-polifenoli aronije 2 R^2 iznosio 0,9895. Porastom koncentracije polifenola u ekstraktu prije adsorpcije, raste i količina adsorbiranih polifenola na škrob.

Tablica 5 prikazuje adsorpcijski kapacitet ulja i vode na škrob te na materijale škrob-polifenoli aronije. Kapacitet adsorpcije ulja na škrob bio je manji (1,19 g/g) od kapaciteta adsorpcije ulja na prvi materijal škrob aronija (1,37 g/g) te na drugi materijal škrob aronija (1,48 g/g). Adsorpcijski kapacitet škroba za vodu (1,21 g/g), bio je manji nego adsorpcijski kapacitet materijala škrob aronija za vodu (prvi materijal 1,44 g/g, drugi materijal 1,28 g/g).

Nakon ispitivanja adsorpcije polifenola aronije na škrob, izrađen je biopolimerni materijal (folija). S obzirom na činjenicu da svojstva materijala ovise o dodatku plastifikatora, napravljeni su materijali (folije) od škroba s 1,6 g, 3 g i 5 g plastifikatora (glicerola) (**slike 13, 14 i 15**). Najbolju fleksibilnost pokazao je materijal s 5 g plastifikatora u odnosu na prethodna dva materijala što je očekivano s obzirom da je uloga plastifikatora povećati obradivost i rastezljivost materijala. S obzirom na to, priprava materijala je nastavljena s dodavanjem 5 g plastifikatora. **Slike 16 i 17** prikazuju biopolimere napravljene od materijala škrob-polifenoli aronije 1 te škrob-polifenoli aronije 2. I od ovih škrobova s adsorbiranim polifenolima aronije napravljeni su biopolimerni materijali (folije). Debljina folija od škroba iznosila je 0,67 do 1,77

mm, a folija od škroba s polifenolima aronije 1,24 i 0,77 mm (**Tablica 6**). Mogućnost dobivanja biopolimerne folije od škroba s dodanim polifenolima u skladu je s ranijim istraživanjima. Zhao i sur. (2019) u svom istraživanju ispitivali su materijal na bazi škroba s dodatkom galne kiseline kao aktivne tvari. Materijal je pokazao mogućnost inhibicije *Listerie monocytogenes* na šunki tijekom 28 dana skladištenjem na 4 °C. Također u istraživanju Zhang i sur. (2021) škrob se koristio kao biopolimerni materijal, a ulogu aktivnih komponenti imali su polifenoli ekstrahirani iz čaja. U ovom radu rezultati su pokazali da je moguće dobiti biopolimerni materijal na bazi škroba s dodanim polifenolima aronije kao aktivnim tvarima. Buduća istraživanja trebaju biti usmjerena na ispitivanja svojstava ovog materijala te stvarnu aktivnu funkciju.

6. ZAKLJUČAK

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. U ekstraktu aronije prije i nakon adsorpcije na škrob identificirani su isti polifenolni spojevi: neoklorogenska kiselina, klorogenska kiselina koje ulaze u skupinu fenolnih kiselina, zatim cijanidin-3-galaktozid, cijanidin-3-glukozid, cijanidin-3-arabinozid i cijanidin-3-ksilozid koji pripadaju skupini antocijanina, te kvercetin-3-rutinozid, kvercetin-3-galaktozid i kvercetin-3-glukozid koji pripadaju skupini flavonola.

2. Koncentracija svih pojedinačnih polifenola te polifenolnih skupina se smanjila nakon adsorpcije na škrob. Smanjenje koncentracije pokazuje da su se polifenoli aronije adsorbirali na škrob. Pojedinačni spojevi ili skupine su se adsorbirali od 11,6 do 50 % (prvi materijal) te od 5,3 do 47,5 % (drugi materijal) s obzirom na početnu količinu prije adsorpcije.

3. U najvećem postotku, s obzirom na ukupnu količinu adsorbiranih polifenola po masi adsorbensa, adsorbirali su se cijanidin-3-galaktozid (22,4 %), cijanidin-3 arabinozid (22,2 %), neoklorogenska (19,9 %) te klorogenska kiselina (27,1 %).

4. Porastom koncentracije polifenola u ekstraktu prije adsorpcije, raste i količina adsorbiranih polifenola na škrob što je vidljivo iz korelacije između koncentracije svih pojedinih polifenolnih spojeva prisutnih u otopini prije adsorpcije (mg/l) i njihove količine adsorbirane na škrob (mg/g škroba).

5. U ovom radu u skladu s ranijim istraživanjima, uspješno je dobiven biopolimerni materijal tj. folija od škroba s dodanim polifenolima iz aronije kao aktivnom komponentom. Najbolju fleksibilnost pokazao je materijal s najvećom koncentracijom plastifikatora od 5 g glicerola.

7. LITERATURA

Alves J, Gaspar PD, Lima TM, Silva PD : What's the role of active packaging in the future of food sustainability. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2022.

Contini C, Valzacchi S, O'Sullivan M, Simoneau C, Dowling DP, Monahan FJ: Overall migration and kinetics of release of antioxidant compounds from citrus extract-based active packaging. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 61:12155–12163, 2013.

Jakobek L: Karakterizacija polifenola u voću i njihov utjecaj na antioksidacijsku aktivnost voća. Doktorska disertacija. Prehrambeno tehnološki fakultet, Osijek, 2007.

Jakobek L : Ambalažni materijali s polifenolima kao aktivnim spojevima. *Meso* 21: 469-474, 2019.

Jakobek L: Novi trendovi u pakiranju mesa-biopolimeri s inkorporiranim polifenolnim spojevima. *Meso* 22:75-81, 2020.

Jakobek L, Matić P, Ištuk J, Barron AR: Study of interactions between individual phenolics of Aronia with barley β -Glucan. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 71:187-196, 2021.

Koponen JM, Happonen AM, Mattila PH, Törrönen AR: Contents of anthocyanins, and ellagitannins in selected foods consumed in Finland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:1612-1619, 2007.

Mangaraj S, Yadav A, Bal LM, Dash SK, Mahanti NK: Application of biodegradable polymers in food packaging industry. *Journal of Packaging Technology and Research* 3: 77–96, 2019.

Miao Z, Zhang Y, Lu P: Novel active starch films incorporating tea polyphenols-loaded porous starch as food packaging materials. *International Journal of Biological Macromolecules* 192:1123-1133, 2021

Muhamedbegović B, Juul NV , Jašić M: Ambalaža i pakiranje hrane. OFF-SET d.o.o., Tuzla, 2015.

Onyeaka H, Oibileke K, Makaka G, Nwokolo N: Current research and applications of starch-based biodegradable films for food packaging. *Polymers* 14:1126, 2022

Sun L, Sun J, Liu D, Fub M, Yanga X, Guoa Y: The preservative effects of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols on the quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets during cold storage: Correlation between the preservative effects and the active properties of the film. *Food Packaging and Shelf Life* 17:1-10, 2018.

Šuput D, Lazić L, Popović S, Hromiš N: Edible films and coatings – sources, properties and application. *Food and Feed Research* 42:11-22, 2015.

Takma DK, Korel F: Active packaging films as a carrier of black cumin essential oil: Development and effect on quality and shelf-life of chicken breast meat. *Food Packaging and Shelf Life* 19:210-217, 2019.

Tolić MT, Jurčević I, Panjkota Krbavčić I, Marković K, Vahčić N: Phenolic content, antioxidant capacity and quality of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) products. *Food Technology and Biotechnology* 53:171-179, 2015.

Vujković I, Galić K, Vereš M: Ambalaža za pakiranje namirnica. Tectus, Zagreb, 2007.

Zhang D, Chen L, Cai J, Dong Q, Din Z, Hu Z, Wang GZ, Ding WP, He JR, Yuan Cheng S: Starch/tea polyphenols nanofibrous films for food packaging application: From facile construction to enhance mechanical, antioxidant and hydrophobic properties. *Food Chemistry* 360:129922, 2021.

Zhao Y, Teixeira JS, Saldana MDA, Gänzle MG: Antimicrobial activity of bioactive starch packaging films against *Listeria monocytogenes* and reconstituted meat microbiota on ham. *International Journal of Food Microbiology* 305:108253, 2019.

Westlake JR, Tran MW, Jiang Y, Zhang X, Burrows AD. Biodegradable active packaging with controlled release: principles, progress and prospects. *ACS Food Science and Technology* 2:1166-1183, 2022.

Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL: Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:4069-4075, 2006

Wang C , Cao J, Liu T , Jin L , Hang C , Zhang C , Qian X, Jiang D , Jiang C : Preparation and characterization of antioxidant and pH-sensitive films based on arrowhead (*Sagittaria sagittifolia*) starch, κ -carrageenan and black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) extract for monitoring spoilage of chicken wings. *International Journal of Biological Macromolecules* 224: 544-555,2023.

Oun AA , Shin GH, Kim JT : Aronia or black chokeberry (*Aronia melanocarpa*), cellulose nanocrystals (CNCs), and grapefruit seed extract (GSE) were used for the preparation of multifunctional polyvinyl alcohol/chitosan (PVA/CS) composite films with pH-sensitivity, antimicrobial, antioxidant, and UV-barrier properties. *International Journal of Biological Macromolecules* 213:381-393,2022.

