

Aktivni materijal na bazi biopolimera škroba s dodanim polifenolima jabuke

Pintarić, Morena

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:109:958061>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-04**

REPOZITORIJ

PTF OS

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

Morena Pintarić

**AKTIVNI MATERIJAL NA BAZI BIOPOLIMERA ŠKROBA S DODANIM
POLIFENOLIMA JABUKE**

Diplomski rad

Osijek, rujan 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.
Mentor: prof. dr. sc. Lidija Jakobek Barron
Pomoć pri izradi:

Aktivni materijal na bazi biopolimera škroba s dodanim polifenolima jabuke

Morena Pintarić, 0113145264

Sažetak:

Biopolimeri su polimeri koji se nalaze u prirodi. Istražuju se zbog mogućnosti izrade biorazgradive plastike. U biopolimerni materijal se kao aktivne komponente mogu dodati antioksidativni polifenolni spojevi iz voća. Dodatak polifenola čini materijal aktivnim materijalom. Cilj ovog rada je bio prirediti i istražiti aktivni materijal na bazi biopolimera škroba s inkorporiranim polifenolima jabuke. Polifenoli su ekstrahirani pomoću ultrazvučne kupelji, a pomoću visokodjelotvorne tekućinske kromatografije obrnutih faza (RP-HPLC) identificirani kao flavan-3-oli (procijanidin B1, (+)-katehin, procijanidin B2, (-)-epikatehin), fenolne kiseline (klorogenska kiselina, izomer klorogenske kiseline), flavonoli (kvercetin-3-galaktozid, kvercetin-3-glukozid i rutinozid, kvercetin derivat 1, kvercetin derivat 2, kvercetin-3-ksilozid, kvercetin-3-ramnozid), te antocijanini (cijanidin-3-galaktozid) u ukupnoj količini 351 mg kg⁻¹ (kora) i 29 mg kg⁻¹ (meso jabuke). U mesu jabuke najzastupljeniji su bili flavan-3-oli (87,0%), a u kori jabuke flavonoli (68%). Nakon što su se polifenoli iz ekstrakta adsorbirali na škrob, u adsorbiranim polifenolima mesa jabuke, najviše su bili zastupljeni flavan-3-oli (92%), a u adsorbiranim polifenolima kore flavonoli (74%). S porastom koncentracije polifenola u ekstraktu, rasla je i količina polifenola adsorbiranih na škrob (r^2 od 0,962 do 0,9938). Od pripremljenog škroba s adsorbiranim polifenolima jabuke uz dodatak plastifikatora glicerola pripremljena je folija koja može poslužiti kao aktivni ambalažni materijal. Svojstva folije i mogućnost pakiranja namirnica s folijom potrebno je dodatno istražiti.

Ključne riječi: ekološka prihvatljivost, aktivna ambalaža, biorazgradivost, jabuka, polifenolni spojevi
Rad sadrži: 47 stranica
32 slika
7 tablica
0 priloga
29 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: 22. rujna 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 Professor
Technical assistance:

Active Material Based on Starch Biopolymer with Incorporated Apple Polyphenols

Morena Pintarić, 0113145264

Summary:

Biopolymers are polymers found in nature. They are being studied for the possibility of making biodegradable plastic. Antioxidative polyphenolic compounds from fruits can be added to the biopolymer material as active components. The addition of polyphenols makes the material an active material. The aim of this work was to prepare and investigate an active material based on starch biopolymer with incorporated apple polyphenols. Polyphenols were extracted using an ultrasonic bath and identified as flavan-3-ols (procyanidin B1, (+)-catechin, procyanidin B2, (-)-epicatechin), phenolic acids (chlorogenic acid, isomer of chlorogenic acid), flavonols (quercetin-3-galactoside, quercetin-3-glucoside and rutinose, quercetin derivative 1, quercetin derivative 2, quercetin-3-xyloside, quercetin-3-rhamnoside), and anthocyanins (cyanidin-3-galactoside) in a total amount of 351 mg kg⁻¹ (peel) and 29 mg kg⁻¹ (apple flesh). Flavan-3-ols (87.0 %) were the most abundant in apple flesh, and flavonols (68 %) in apple peel. After the polyphenols from the extract were adsorbed onto the starch, flavan-3-ols (92 %) were the most abundant in the adsorbed polyphenols of the apple flesh, and flavonols (74 %) in the adsorbed polyphenols of the peel. With the increase in the concentration of polyphenols in the extract, the amount of polyphenols adsorbed on starch also increased (r^2 from 0.962 to 0.9938). From the prepared starch with adsorbed apple polyphenols with the addition of glycerol plasticizer, a film was prepared that can serve as an active packaging material. The properties of foil and the possibility of packaging food with foil need to be further investigated.

Keywords: ecofriendly packaging, active packaging, biodegradability, apple, polyphenolic compounds

Thesis contains: 47 pages
32 figures
7 tables
0 supplements
29 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: September 22nd, 2023

Zahvaljujem svojoj dragoj mentorici prof. dr. sc. Lidiji Jakobek Barron što mi je puno pomogla pri izradi i pisanju diplomskog rada. Zahvaljujem na svakom izlaženju u susret i pomaganju te dijeljenju znanja i korisnih savjeta. Iznimno mi je drago što mi je upravo ona bila mentorica.

Zahvaljujem svim asistentima i profesorima na prenesenom znanju i svim životnim savjetima koji su mi ukazali tijekom studiranja.

Zahvaljujem svojim kolegicama Klari, Aniti, Ivani i Matei koje su bile sa mnom od samoga početka i zbog kojih je studiranje bilo uvijek zabavno. Hvala im na svakoj pomoći, savjetu, zajedničkim druženjima i avanturama koje ću pamtiti za cijeli život.

Zahvaljujem svojim najboljim prijateljima Željku, Sandri, Mariji i Anji iz Koprivnice koji su uvijek bili uz mene i slavili svaki moj prolaz na ispitu. Posebno se zahvaljujem Sandri koja je ujedno bila moja cimerica svih 5 godina i uvijek me ohrabivala prije svakog pisanog i usmenog ispita. Posebno ću pamtiti svako naše druženje u stanu, te sve avanture koje su se dogodile tijekom studiranja.

Zahvaljujem svojim dragim roditeljima i bratu Filipu koji su mi bili najveća podrška tijekom studiranja kada je bilo najteže i koji su me uvijek podržavali i vjerovali u mene, a slavili svaki moj uspjeh s najvećim ponosom. Volim Vas najviše.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. Polimeri i polimerni materijali	4
2.1.1. Ekološki problem sintetskih polimernih materijala	4
2.2. Biorazgradiva ambalaža	5
2.2.1. Jestiva ambalaža	6
2.3. Biorazgradiva ambalaža na bazi škroba	7
2.4. Aktivna ambalaža	8
2.4.1. Biorazgradiva i aktivna ambalaža s dodanim polifenolnim spojevima	9
2.5. Jabuka kao izvor polifenola za aktivne, biorazgradive materijale	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	12
3.1. Zadatak	13
3.2. Materijal i metode	13
3.2.1. Kemikalije	13
3.2.2. Uzorci jabuke	14
3.2.3. Ekstrakcija polifenolnih spojeva	14
3.2.4. Priprema škroba s adsorbiranim polifenolnim spojevima	14
3.2.5. Analiza polifenolnih spojeva visokodjelotvornom tekućinskom kromatografijom	15
3.2.6. Količina adsorbiranih polifenola jabuke na škrob	15
3.2.7. Adsorpcija ulja i vode	16
3.2.8. Priprema biopolimerne folije bez ili s inkorporiranim polifenolima jabuke	16
3.2.9. Statistička analiza	16
4. REZULTATI	17
4.1. Identifikacija i kvantifikacija polifenolnih spojeva jabuke	18
4.2. Adsorpcija polifenolnih spojeva jabuke na škrob	24
4.3. Adsorpcija ulja i vode na materijal škrob-polifenolni spojevi	33
4.4. Biopolimerni materijal	33
5. RASPRAVA	38
6. ZAKLJUČAK	43
7. LITERATURA	435

1. UVOD

Ambalaža štiti proizvod od vanjskih utjecaja što joj daje zaštitnu ulogu. Daje i informaciju o zapakiranom proizvodu. No, kupci zahtijevaju da materijali za izradu ambalaže budu što manje štetni za okoliš. Na temelju zahtjeva kupaca dolazi do istraživanja i razvoja novih i poboljšanih materijala od kojih se izrađuje jestiva i/ili biorazgradiva ambalaža. Materijali za biorazgradivu ambalažu mogu biti prirodni polimeri (biopolimeri) koji ispunjavanju zahtjev za ekološku prihvatljivost (Jakobek Barron, 2020). Oni imaju i potencijal za zamjenu sintetičke plastike u industriji pakiranja hrane. Primjerice, polisaharidi kao što su škrob i celuloza predstavljaju veliki potencijal za proizvodnju filma za pakiranje hrane. Škrob se može iskoristiti za proizvodnju jestivih i biorazgradivih filmova koji mogu produljiti rok trajanja namirnica, kao što su voće, povrće i meso. Pozitivne strane škroba su velika i laka dostupnost jer se on može pronaći u korijenju, stabljici ili sjemenu biljaka te niska cijena. Najbitnija pozitivna strana škroba je što ne zagađuje okoliš kao sintetička plastika (Chen i sur., 2022; Nan i sur., 2023). Međutim, nedovoljna mehanička svojstva i jaka hidrofilnost škrobnog filma veliki su problem pri njegovoj primjeni u materijalu za pakiranje. Iz toga razloga škrob se miješa s drugim tvarima kako bi se pripremio materijal s poboljšanim mehaničkim svojstvima (Chen i sur., 2022).

Aktivna ambalaža predstavlja također novi pristup u razvoju ambalaže. Aktivna ambalaža produljuje rok trajanja prehrambenih proizvoda zadržavajući kvalitetu hrane, a može povećati i sigurnost hrane štiteći ju od mikrobiološke aktivnosti. Aktivna ambalaža sadrži aktivne tvari koje aktivno sudjeluju u poboljšavanju kvalitete i sigurnosti hrane. Prirodne tvari kao što su eterična ulja ili polifenolni spojevi mogu se koristiti kao aktivne tvari, a ujedno su i alternativa sintetičkim konzervansima (Han, 2005; Ordonez i sur., 2022).

Jabuke se smatraju jednim od najkonzumiranijih vrsta voća na svijetu, a sadrže i relativno visoku količinu polifenola. Osim polifenolnih spojeva, sadrže polisaharide, vitamine, pektine. Polifenolni spojevi nalaze se u mesu jabuke, ali i kori s nešto većim količinama. Pozitivna strana polifenolnih spojeva je što pokazuju dobru stabilnost nakon zagrijavanja. Posjeduju antimikrobno djelovanje te su korišteni u raznim prehrambenim proizvodima (Ran i sur., 2016). Polifenoli jabuke mogu se upotrijebiti kao aktivne tvari u ambalažnom materijalu.

Cilj ovog rada je napraviti i istražiti materijal na bazi biopolimera škroba u koji će se inkorporirati polifenolni spojevi iz kore i mesa jabuke kao aktivne tvari. Time je cilj napraviti materijal koji ima biorazgradivost, ali ujedno je i aktivni materijal.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Polimeri i polimerni materijali

U opisivanju materijala koji se upotrebljavaju za ambalažu pojavljuju se dva izraza. To su polimeri te polimerni materijali.

Polimeri su spojevi sastavljeni od linearnih, razgranatih ili umreženih makromolekula u kojima su međusobno povezane jednake ili različite strukturne ponavljajuće jedinice tj. monomeri. Molekula polimera može biti izgrađena od desetaka tisuća i više monomera. Makromolekule mogu biti prirodnog ili sintetskog podrijetla. Celuloza, lignin, polisaharidi i bjelančevine predstavljaju makromolekularne spojeve prirodnog podrijetla. Primjeri sintetskih polimera su: polietilen (PE), polipropilen (PP), polistiren (PS), poli(vinil-klorid) (PVC), poli(etilen-tereftalat) (PET), poliamidi (PA), polikarbonati (PC) (Vujković i sur., 2007).

Polimerni materijali ili plastični materijali (plastika) dobivaju se od polimera kojemu se dodaju spojevi male molekulske mase (aditivi) u cilju poboljšanja svojstava i omogućavanja lakše prerade i primjene. Ovakvi materijali upotrebljavaju se kao ambalažni materijali. Ukoliko se izrađuju od prirodnih polimera, tada se nazivaju biorazgradivim polimernim materijalima, a ukoliko se kao sirovina za proizvodnju koriste sintetski polimeri, tada su to tradicionalni polimerni (plastični) materijali koji su danas široko rasprostranjeni za pakiranje hrane. Ovisno o tome kako se sintetski polimerni materijali ponašaju na povišenoj temperaturi, oni se mogu podijeliti na plastomere, duromere i elastomere. Plastomeri zagrijavanjem omekšavaju tj. gube čvrstoću i prelaze u plastično stanje, što omogućava njihovo lakše oblikovanje. Hlađenjem očvrstnu i zadržavaju oblik koji im je dan u plastičnom stanju. Duromeri ne prelaze u plastično stanje jer se ne tope na povišenoj temperaturi. Elastomeri su elastični na uobičajenoj temperaturi. Plastomeri se koriste za izradu ambalaže. U manjoj mjeri se koriste duromeri, a elastomeri se koriste kao pomoćni materijali za hermetičko zatvaranje metalne ambalaže (Vujković i sur., 2007).

2.1.1. Ekološki problem sintetskih polimernih materijala

Posljednjih 50 godina globalna proizvodnja sintetskih polimera kontinuirano raste i očekuje se da će se njihova proizvodnja udvostručiti u sljedećih 20 godina. Zbog povećane proizvodnje sintetskih polimera te izrade tradicionalne plastike, dolazi do stvaranja velikih količina plastičnog otpada što predstavlja veliki ekološki problem, ali također i prijetnju ljudskom zdravlju (Acquavia i sur., 2021). Sirovine za proizvodnju sintetskih polimera potječu iz

industrije nafte koja je ograničen prirodni resurs i neobnovljivi izvor energije. Bitno je pravilno gospodariti naftom i prirodnim plinom jer kada u budućnosti više ne bude nafte i prirodnog plina, neće više biti niti sintetskih polimera (Vujković i sur., 2007).

Kada sintetski plastični (polimerni) materijal dospije u okolinu u obliku makroplastike, mikroplastike ili nanoplastike, može doći do kontaminacije i njenog nakupljanja u namirnicama (Acquavia i sur., 2021). Nezanemariv udio plastičnog otpada, nažalost, završi kao otpad u morskom okolišu, stvarajući različite utjecaje na okoliš, gospodarstvo i društvo. Morski okoliš i njegovi živi organizmi posebno su izloženi kontaminaciji plastičnim otpadom, a razne studije dokumentirale su njegove negativne posljedice. Velike i stalno rastuće količine plastičnih proizvoda i otpada nalaze se u otvorenom oceanu, bilo na površini ili u dubokim morima, kao i na obalama i u živim organizmima. Različite posljedice gutanja makroplastike i mikroplastike također su prijavljene i dobro dokumentirane za razne vrste, npr. ptice, kornjače, morske sisavce. Istraživanja organizama koji su bili izloženi mikroplastici, pokazala su da ti organizmi imaju tendenciju gutanja mikroplastike (Hahladakis i sur., 2018).

Unatoč značajnom svjetskom napretku u upravljanju, obradi i recikliranju plastičnog otpada u posljednja tri desetljeća, najveći dio plastičnog otpada još uvijek završava na odlagalištima ili se otvoreno spaljuje. Spaljivanje plastičnog otpada znatno smanjuje količinu otpada. Vjeruje se da se postotak smanjenja nastao zbog spaljivanja plastike kreće od 80 do 95 %. Međutim, tijekom sagorijevanja dolazi do otpuštanja ugljikovog monoksida, ugljikovog dioksida, te otrovnih tvari poput dioksina (Acquavia i sur., 2021; Hahladakis i sur., 2018).

2.2. Biorazgradiva ambalaža

U zemljama u kojima postoji gospodarenje otpadom, stavlja se veći naglasak na korištenje biorazgradive ambalaže (Huang i sur., 2019). Biorazgradiva ambalaža je podložna biorazgradnji ili kompostiranju. Biorazgradnja je prirodni proces koji uključuje enzimske procese izazvane mikroorganizmima. Fizički čimbenici, poput sunčeve svjetlosti, temperature ili vlage također mogu intervenirati kako bi se određeni polimeri pretvorili u održive supstrate za mikroorganizme (Ordonez i sur., 2022).

Najčešći prirodni polimeri za biorazgradivu ambalažu su polisaharidi, kao što su škrob, celuloza i pektin, te proteini, kao što je želatina, kazein, proteini sirutke ili proteini soje. Biljke, životinje, mikroorganizmi i poljoprivredni otpad mogu biti sirovine od kojih se dobivaju prirodni

polimeri (Baranwal i sur., 2022). Korištenje biorazgradivih polimera može smanjiti emisiju ugljikovog dioksida, količinu komunalnog čvrstog otpada i oslanjanje na resurse temeljene na nafti (Baranwal i sur., 2022). Biorazgradivi polimeri mogu biti kemijski sintetizirani iz prirodnih izvora, kao što je polimer mliječne kiseline ili izrađeni od mikrobiološki proizvedenih materijala kao što su polihidroksibutirat (Kuorwel i sur., 2011; Ordonez i sur., 2022).

Polimer mliječne kiseline (poli(mliječna kiselina) smatra se jednim od najperspektivnijih i ekološki najprihvatljivijih polimera zbog izvrsnih fizičkih i kemijskih svojstava, uključujući obnovljivost i biorazgradivost. Međutim, jedan od njegovih glavnih nedostataka je visoka propusnost za plin i paru što dovodi do ograničene upotrebe samo za kratkotrajne namirnice. Celuloza je najrasprostranjeniji prirodni polimer koji se može ekstrahirati iz kukuruza te drugih poljoprivrednih proizvoda. Filmovi izrađeni od celuloze privukli su veliku pozornost zbog mogućnosti recikliranja i biorazgradivosti. Međutim, visoka cijena i osjetljivost na vodu ograničavaju upotrebu celuloze. Škrob se može koristiti kao sirovina za biorazgradivi ambalažni materijal. Filmovi od kitozana produljuju rok trajanja namirnice i čuvaju svježinu namirnice zahvaljujući dobroj antimikrobnoj aktivnosti (Huang i sur., 2019).

Ovakvi biorazgradivi polimeri se istražuju za razne svrhe kao što su proizvodnja jestivih filmova, emulzija ili materijala za ambalažu u prehrambenoj industriji (Baranwal i sur., 2022). Razvoj dugotrajnih, netoksičnih, ekološki prihvatljivih, jestivih premaza s antimikrobnim svojstvima kojima se premazuje površina voća važan je za produljenje vijeka trajanja i nutritivnu vrijednost voća (Baranwal i sur., 2022). Međutim, primjena biorazgradivih polimera u pakiranju hrane još uvijek je u ranoj fazi istraživanja zbog njihovih relativno loših mehaničkih svojstava, niske otpornosti na toplinu i loših barijernih svojstava (Hu i sur., 2023).

2.2.1. Jestiva ambalaža

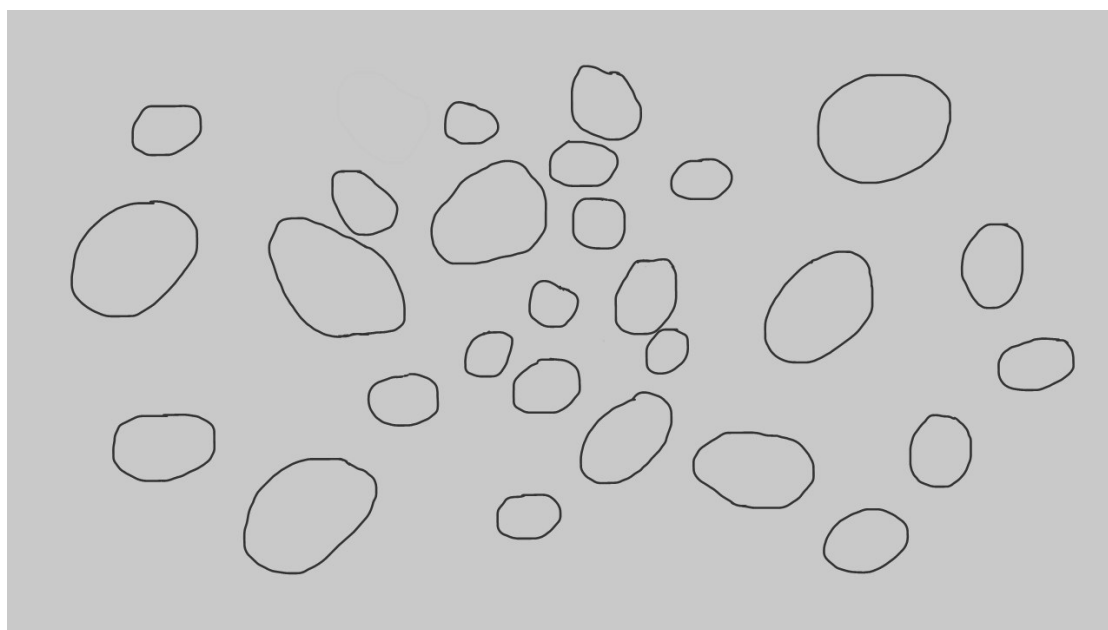
Jestivi biorazgradivi materijali su izgrađeni od prirodnih polimera i prehrambenih aditiva (Han, 2005; Jakobek Barron, 2020). Razlikuju se dvije vrste jestivih materijala, a to su jestive prevlake i jestivi filmovi. Jestive prevlake mogu se nanositi na površinu hrane, a jestivi filmovi služe za zamatanje hrane (Jakobek Barron, 2020). Jestive folije su osjetljive na utjecaj vode i vodene pare te mogu izgubiti svoja mehanička svojstva i integritet. Ukoliko se to desi, namirnica može izgubiti kvalitetu tijekom skladištenja (Jakobek Barron, 2020; Farhan i sur.,

2020). Jestiva folija za pakiranje može se učiniti aktivnom uključivanjem bioaktivnih spojeva u materijal. Jestivo, ljekovito bilje jedno je od najvažnijih izvora bioaktivnih spojeva koji se mogu sigurno ugraditi u jestivim filmovima kako bi ih pretvorili u aktivne filmove (Farhan i sur., 2020).

2.3. Biorazgradiva ambalaža na bazi škroba

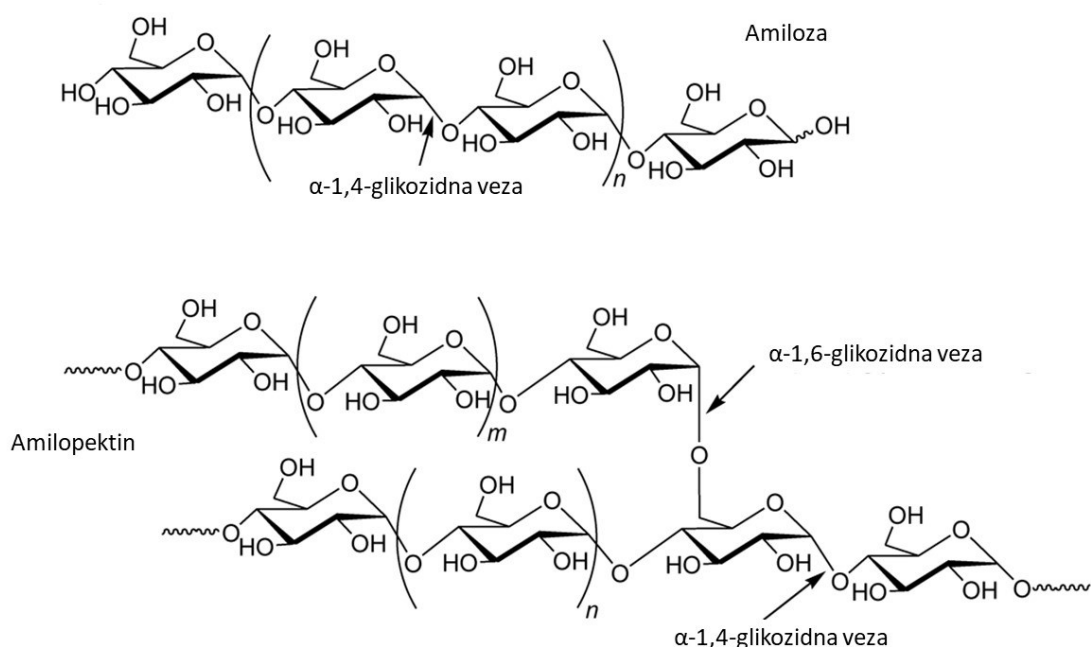
Škrob služi kao rezervni ugljikohidrat u biljkama i nalazi se u stanicama u obliku granula. Granule škroba mogu biti različitog oblika i veličine od 2 do 150 μm (Pokhrel, 2015). Na **Slici 1** su prikazane različite granule škroba pšenice. Škrob se dobiva iz poljoprivrednih proizvoda kao što su kukuruz, riža, krumpir ili soja. Koristi se zbog svoje široke zastupljenosti, lake dostupnosti, netoksičnosti, te biorazgradivosti i jestivosti (Han, 2005; Hu i sur., 2023; Jakobek, 2020b).

Biorazgradivi materijali na bazi škroba pokazuju dobru barijeru za kisik i potencijalno sprječavaju rast mikroorganizama, prozirni su, bez mirisa i okusa (Han, 2005). Međutim, imaju slaba barijerna svojstva na vlagu i lošija mehanička svojstva. Kako bi se poboljšala mehanička svojstva, mogu se ugraditi plastifikatori ili nanočestice. Primjer plastifikatora koji se može ugraditi je glicerol. Osim toga, kombinacijom škroba s kitozanom može se smanjiti osjetljivost na vodu i povećati čvrstoća filma. Također, mogu se dodati i antimikrobne tvari kako bi se ostvario željeni antimikrobni učinak.



Slika 1 Granule škroba pšenice

Škrob se sastoji od amiloze i amilopektina. Kemijske strukture amiloze i amilopektina su prikazane na **Slici 2**. Amiloza je ravnolančani polimer u kojemu su jedinice α -D-glukoze povezane α -(1,4) glikozidnim vezama. Amiloza može biti izgrađena od 250 do 350 jedinica glukoze (Pokhrel, 2015). Amilopektin je razgranati polimer u kojemu su jedinice glukoze povezane α -(1,4) glikozidnim vezama, a na mjestima grananja α -(1,6) glikozidnim vezama. Amilopektin je odgovoran za zgušnjavanje tijekom pripreme škroba, a amiloza igra važnu ulogu u stvaranju filma (Hu i sur., 2023; Pokhrel, 2015). Prisutnost većeg udjela amiloze uzrokuje stvaranje koherentnog i čvrstog filma, dok škrob s većim udjelom amilopektina stvara lomljivi film. Dodatno, škrob s većim udjelom amiloze pokazuje bolja termoplastična svojstva, te ga zbog toga razloga treba preferirati za proizvodnju materijala za ambalažu (Hu i sur., 2023).



Slika 2 Kemijska struktura amiloze i amilopektina

2.4. Aktivna ambalaža

U svim fazama lanca opskrbe hranom, uključujući proizvodnju, transport i potrošnju, hrana može biti kontaminirana zbog djelovanja vanjskih utjecaja iz okoline ili tijekom rukovanja hranom. Ambalaža djeluje kao fizička barijera te sprječava kontaminaciju hrane. Da bi se poboljšala učinkovitost ambalaže, dolazi do potrebe za korištenjem aktivne ambalaže.

Aktivna ambalaža otpušta aktivne komponente u hrani ili ih apsorbira iz hrane s ciljem produljenja trajnosti ili održavanja kvalitete hrane ili poboljšavanja uvjeta pakiranja (Hu i sur., 2023; Vujković i sur., 2007;). Aktivna ambalaža ne smije mijenjati sastav ili organoleptička

svojstva hrane te ne smije sadržavati tvari s namjerom prikrivanja procesa kvarenja hrane (Vujković i sur., 2007). Nadalje, aktivna ambalaža je nastala na temelju zahtjeva za povećanjem trajnosti proizvoda te zbog negativnog stava potrošača prema konzervansima (Vujković i sur., 2007).

Za aktivnu ambalažu koriste se aktivne komponente za uklanjanje kisika, apsorpciju ili razvijanje ugljikovog dioksida, apsorpciju etilena ili apsorpciju vlage. Adsorberi kisika u aktivnoj ambalaži su željezov prah, soli metala, organometalni spojevi ili enzimi. Ove tvari stavljaju se u zasebnu vrećicu te u ambalažu. Adsorberi kisika mogu se koristiti za razne vrste namirnica. Dodatak ugljikovog dioksida u ambalažu može se provesti uvođenjem ugljikovog dioksida u ambalažnu jedinicu prije zatvaranja ambalaže ili razvijanjem plina tijekom skladištenja. Kada se ugljikov dioksid nalazi u prevelikoj količini, može biti nepoželjan. U tom slučaju prevelika količina ugljikovog dioksida može se smanjiti upotrebom kalcijevog hidroksida kao aktivne tvari. Kalcijev hidroksid reagira s ugljikovim dioksidom te smanjuje njegovu koncentraciju. Drugi način smanjenja ugljikovog dioksida je primjena ambalaže s ugrađenim jednosmjernim ventilom koji sprječava ulazak kisika, a omogućava izlazak ugljikovog dioksida (Vujković i sur., 2007). Adsorbens vlage može biti silikagel. Primjenjuju se za pakiranje higroskopskih proizvoda. Etilen predstavlja prirodni biljni hormon koji ima središnju ulogu u odvijanju procesa „starenja“ voća i povrća. Adsorbensi etilena pomažu u odgađanju faze „starenja“. Aluminijski oksid, kalijev permanganat, aktivni ugljen, zeolit kontroliraju udio etilena.

Aktivna ambalaža u koju su inkorporirane antimikrobne ili antioksidativne aktivne tvari može imati antimikrobni ili antioksidativni učinak. Antimikrobna ambalaža može inhibirati rast mikroorganizama ili smanjiti njihovu koncentraciju i održati mikrobiološku kvalitetu upakiranog sadržaja. Aktivna ambalaža u koju su inkorporirani antioksidansi može zaštititi hranu sprečavanjem oksidacijskih procesa u hrani kao što je oksidacija lipida. Oksidacija lipida predstavlja jedan od glavnih procesa razgradnje u svježem i prerađenom mesu te dovodi do stvaranja neugodnih okusa sa štetnim učincima na organoleptička svojstva (Vujković i sur., 2007; Contini i sur., 2013).

2.4.1. Biorazgradiva i aktivna ambalaža s dodanim polifenolnim spojevima

Polifenolni spojevi su sekundarni metaboliti biljaka. Predstavljaju veliku grupu prirodnih spojeva (Jakobek, 2019). Štite biljku od stresa poput UV svjetla, odvrću od napada štetočina i pružaju boju za privlačenje insekata (Williamson, 2017). Pokazalo se da polifenolni

spojevi imaju potencijal za antibakterijsko i antioksidativno djelovanje te razne potencijalno pozitivne učinke na ljudsko zdravlje. Nalaze se u različitim voću i povrću, a mogu se pronaći i u piću kao što su kava i čaj (Baranwal i sur., 2022; Williamson, 2017).

Polifenolni spojevi se kao aktivne tvari mogu dodati u biorazgradive polimerne materijale čime se dobije ambalaža s dvostruko poboljšanom funkcijom: biorazgradiva je i aktivna (Jakobek, 2019). Aktivna, biorazgradiva ambalaža inovativna je alternativa konvencionalnoj plastičnoj ambalaži jer pokušava utjecati na smanjenje problema odbačene plastike, a ujedno poboljšati zaštitnu funkciju ambalaže (Hu i sur., 2023). Dodana aktivna komponenta aktivno sudjeluje u zaštiti zapakirane namirnice od kvarenja te produžuje njen vijek trajanja (Jakobek, 2019). Ovakvi materijali već se istražuju. Provedeno je istraživanje biorazgradivog materijala na bazi kitozana s dodanim polifenolima jabuke za pakiranje ribe. Provedeno istraživanje pokazalo je da je materijal zaštitio ribu od mikrobiološkog kvarenja, inhibirao oksidaciju lipida i proteina te spriječio promjene u boji (Sun i sur., 2018). Osim toga, biorazgradivi polimeri koji su izgrađeni na bazi škroba, a sadrže polifenolne spojeve, imaju i inteligentnu funkciju. Provedeno je istraživanje za pakiranje mesa. Koristio se biorazgradivi polimer na bazi škroba s dodanim antocijanima. Pokazalo se da takav materijal može reagirati na način da mijenja boju s obzirom na svježinu ispitivanog mesa što predstavlja inteligentnu funkciju ovog materijala (Qin i sur., 2019).

2.5. Jabuka kao izvor polifenola za aktivne, biorazgradive materijale

Jabuka (**Slika 3**) predstavlja namirnicu koja je dobar izvor polifenola u svakodnevnoj prehrani (Jakobek i sur., 2020a). Polifenoli u jabuci su raspoređeni u kori i mesu jabuke. Sadržaj i sastav polifenolnih spojeva jako ovisi o sorti jabuke, području uzgoja te vremenu i godini berbe (Gerhauser, 2008). Polifenoli iz jabuke pokazali su potencijal za razna blagotvorna djelovanja na ljudski organizam (Gerhauser, 2008; Nisar i sur., 2019; Jakobek i sur., 2020a). Oni pokazuju antimikrobno i antioksidativno djelovanje te odgađaju početak oksidacije lipida i proteina (Nisar i sur., 2019). Provedeno je istraživanje koje je pokazalo da su polifenoli iz kore jabuke, koji su bili dodani u jestivi film od kitozana, pojačali antioksidacijsku aktivnost filma od kitozana te smanjili propusnost vodene pare (Sun i sur., 2017).



Slika 3 Jabuke

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Zadatak

Zadatak diplomskog rada je bio prirediti aktivni materijal na bazi biopolimera škroba s inkorporiranim polifenolima mesa i kore jabuke kao aktivnom komponentom. Zadatak je uključivao sljedeće korake:

- ekstrakcija polifenolnih spojeva iz kore i mesa jabuke,
- analiza ekstrakata pomoću tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti (engl. High-Performance Liquid Chromatography HPLC) te identifikacija i kvantifikacija polifenolnih spojeva iz kore i mesa jabuke,
- adsorpcija polifenola jabuke na škrob, određivanje količine adsorbiranih polifenola iz jabuke na škrob tj. adsorpcijski kapacitet škroba,
- priprema materijala škrob-polifenoli jabuke,
- adsorpcija ulja i vode na materijal škrob-polifenoli jabuke,
- priprema materijala (folije) na bazi škroba s različitim udjelom plastifikatora i
- priprema aktivnog materijala (folije) od škroba s dodanim polifenolima mesa i kore jabuke kao aktivnim komponentama.

3.2. Materijal i metode

3.2.1. Kemikalije

Za aktivni materijal na bazi biopolimera škroba s inkorporiranim polifenolima jabuke korištene su sljedeće kemikalije:

- orto-fosforna kiselina 85 % (Fluka, Buchs, Švicarska),
- metanol (J.T. Baker, Gliwice, Poljska),
- floretin (Extrasynthese, Genay, Francuska),
- procijanidin B1 (Extrasynthese, Genay, Francuska),
- cijanidin-3-galaktozid klorid (Extrasynthese, Genay, Francuska),
- procijanidin B2 (Extrasynthese, Genay, Francuska),
- kvercetin-3-galaktozid (Extrasynthese, Genay, Francuska),
- kvercetin-3-ramnozid (Extrasynthese, Genay, Francuska),
- floretin-2-glukozid (Extrasynthese, Genay, Francuska),
- (-)-epikatehin (Sigma - Aldrich, St.Louis, MO, Sjedinjene Američke Države),

- klorogenska kiselina (Sigma - Aldrich, St.Louis, MO, Sjedinjene Američke Države),
- (+)-katehin (Sigma - Aldrich, St.Louis, MO, Sjedinjene Američke Države),
- kvercetin (Sigma - Aldrich, St.Louis, MO, Sjedinjene Američke Države),
- kvercetin-3-glukozid (Sigma - Aldrich, St.Louis, MO, Sjedinjene Američke Države).

3.2.2. Uzorci jabuke

Uzorci jabuka kupljeni su u lokalnoj trgovini. Jabuke (oko 1 kg) su oguljene, a kora je sakupljena i samljevena u mlincu za kavu. Iz mesa jabuke uklonjene su koštice, nakon čega je meso jabuka narezano te homogenizirano štapnim mikserom. Uzorci su uskladišteni u zamrzivaču na -18 °C jedan dan.

3.2.3. Ekstrakcija polifenolnih spojeva

Ekstrakcija je provedena ultrazvukom. Ukratko, laboratorijska čaša s 20 g mesa jabuke, te 150 ml H₂O stavljena je u ultrazvučnu kupelj (Bandelin Sonorex RK 100, Berlin, Njemačka) na 30 minuta. Nakon ekstrakcije, uzorak se istaložio, a ekstrakt je odvojen od taloga filtracijom preko naboranog filter papira. 1 ml ekstrakta je filtriran kroz 0,2 μm PTFE filter i analiziran HPLC metodom da bi se odredila količina polifenola mesa jabuke prije adsorpcije na škrob (c_0 mg l⁻¹). Izračunata je i količina polifenola u mesu jabuke (mg kg⁻¹ svježe mase voća).

Istim postupkom je provedena ekstrakcija polifenola iz kore jabuke (5 g kore u 37,5 ml vode).

3.2.4. Priprema škroba s adsorbiranim polifenolnim spojevima

U laboratorijsku čašu odvagano je 30 g škroba, dodano 150 ml ekstrakta mesa jabuke. Otopina je miješana na tresilici (IKA KS 130 Basic, Staufen, Njemačka) 20 sati te filtrirana kroz naborani filter papir. Na filter papiru zaostao je materijal škrob s adsorbiranim polifenolima mesa jabuke koji je sušen u inkubatoru (IN 30 Memmert, Schwabach, Njemačka) na 50 °C. Na ovaj način pripremljena su dva materijala škrob-polifenol (škrob-polifenoli mesa jabuke 1 i škrob-polifenoli mesa jabuke 2).

Materijal škrob-polifenoli kore jabuke 1 i 2 pripremljen je istim postupkom od 7,5 g škroba i 37,5 ml ekstrakta polifenola kore.

Ekstrakt zaostao nakon adsorpcije polifenola na škrob (1 ml) filtriran je kroz 0,2 µm PTFE filter i analiziran HPLC metodom da bi se odredila količina polifenola mesa i kore jabuke zaostala nakon adsorpcije na škrob (c_e mg l⁻¹).

3.2.5. Analiza polifenolnih spojeva visokodjelotvornom tekućinskom kromatografijom

HPLC uređaj 1260 Infinity II (Agilent Technology, Santa Clara, Kalifornija, Sjedinjene Američke Države) korišten je za identifikaciju i kvantifikaciju polifenolnih spojeva u ekstraktima prije i nakon adsorpcije na škrob. Sastoji se od kvarterne pumpe, PDA detektora (photodiodearray detector) i vialsamplera. Za razdvajanje polifenola korištena je kolona Poroshell 120 EC C-18 (unutrašnjeg promjera 4,6 x 100 mm, promjer čestica 2,7 µm koja je zaštićena pretkolonom (Poroshell 120 EC-C18, 4,6 mm) (Agilent technology, Santa Clara, Kalifornija, Sjedinjene Američke Države). Mobilne faze: A - 0,1 % fosfatna kiselina; B - 100 %-tni metanol. Polifenoli su razdvojeni prema gradijentu: 5 % B 0 min, 25 % B 5 min, 34 % B 14 min, 37 % B 25 min, 40 % B 30min, 49 % B 34 min, 50 % B 35 min, 51 % B 58 min, 55 % B 60 min, 80 % B 62min, 80 % B 65 min, 5 % B 67 min i 5 % B 72 min, s protokom 0,5 ml min⁻¹, te volumenom injektiranja 10 µl. Za identifikaciju polifenola korišteni su podaci za UV/Vis spektar i vremena zadržavanja autentičnih standarda.

3.2.6. Količina adsorbiranih polifenola jabuke na škrob

Za izračun količine polifenola mesa i kore jabuke adsorbiranih na masu škroba (mg g⁻¹ škroba) korištena je sljedeća jednačba:

$$q_e = \frac{(c_0 - c_e) \times V_m}{\gamma_a V_a}$$

gdje je c_0 masena koncentracija polifenola mesa ili kore jabuke u ekstraktu prije adsorpcije na škrob (mg l⁻¹), c_e masena koncentracija polifenola mesa ili kore jabuke u ekstraktu nakon adsorpcije na škrob (mg l⁻¹), V_m je ukupan volumen reakcijske smjese (l), γ_a je masena koncentracija škroba (g l⁻¹), a V_a je je volumen dodanog škroba u reakcijsku smjesu (l).

3.2.7. Adsorpcija ulja i vode

U tri plastične kivete odvagano je 0,15 g škroba, škroba s adsorbiranim polifenolima mesa jabuke ili škroba s adsobiranim polifenolima kore jabuke, te je u svaku dodano 1,5 ml vode. U dodatne tri kivete odvagano je 0,15 g škroba, škroba s adsorbiranim polifenolima mesa jabuke ili škroba s adsobiranim polifenolima kore jabuke te u svaku dodano 1,5 ml ulja. Kivete su stavljene na tresilicu 30 min pri sobnoj temperaturi te zatim centrifugirane 5 minuta (Eppendorf Minispin, Hamburg, Njemačka) (8000 okretaja po minuti za vodu; 3000 okretaja po minuti za ulje). Iz kiveta je otpipetirana voda ili ulje. Iz razlike mase suhog škrobnog materijala i škroba s vodom ili uljem, izračunata je masa adsorbirane vode ili ulja. Eksperiment je proveden dva puta sa čistim škrobom te jedan put sa svakom paralelom materijala škrob-polifenoli jabuke.

3.2.8. Priprema biopolimerne folije bez ili s inkorporiranim polifenolima jabuke

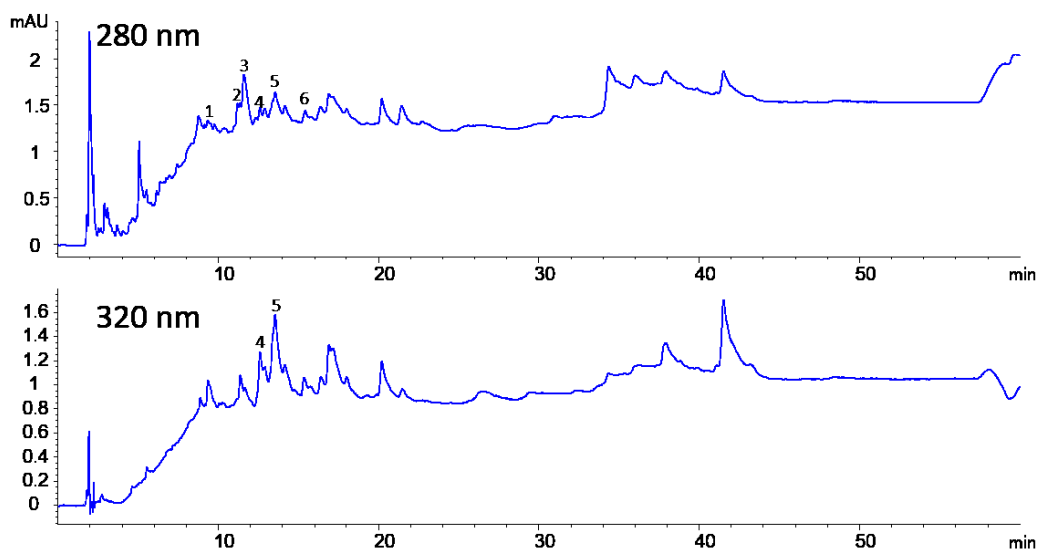
Smjese sastavljene od škroba i vode (5 g škroba i 100 ml vode; 5 g škroba s adsorbiranim polifenolima mesa jabuke i 100 ml vode; 2,5 g škroba s adsorbiranim polifenolima kore jabuke i 50 ml vode) miješane su na vodenoj kupelji (Grant JB Academy, Shepreth Cambridgeshire, UK) na 100 °C 15 min. Potom je u nastali materijal dodan plastifikator glicerol u različitim količinama (1.65, 3 i 5 g u smjesu sa škrobom, 5 g u smjesu sa škrobom s adsorbiranim polifenolima). Smjese su miješane na vodenoj kupelji dodatnih 5 minuta, izliveno u petrijevu zdjelicu te sušene na zraku.

3.2.9. Statistička analiza

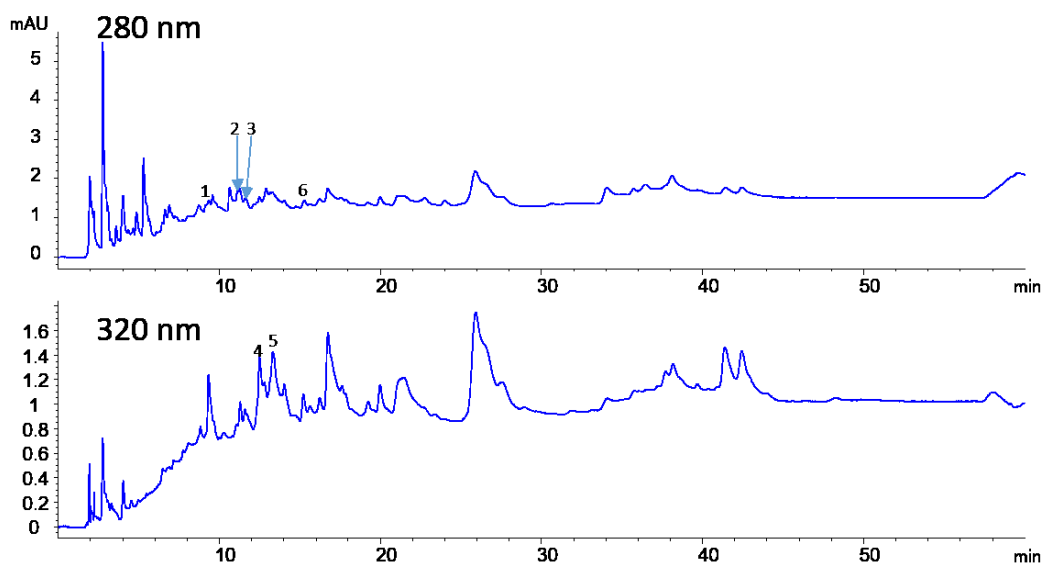
Pripremljena su dva ekstrakta mesa jabuke i dva ekstrakta kore jabuke, svaki je analiziran dva puta pomoću HPLC metode (n=4). Svaki od dva polifenolna ekstrakta iz mesa i kore jabuke, adsorbiran je na škrob jedanput tako da su dobivena dva materijala (škrob-polifenoli mesa jabuke 1 i škrob-polifenoli mesa jabuke 2 te škrob-polifenoli kore jabuke 1 i škrob-polifenoli kore jabuke 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, Sjedinjene Američke Države).

4. REZULTATI

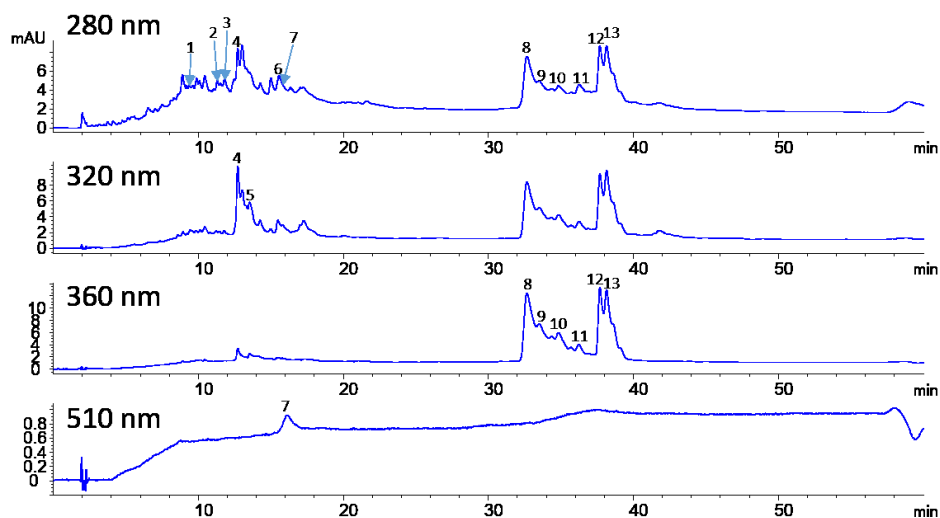
4.1. Identifikacija i kvantifikacija polifenolnih spojeva jabuke



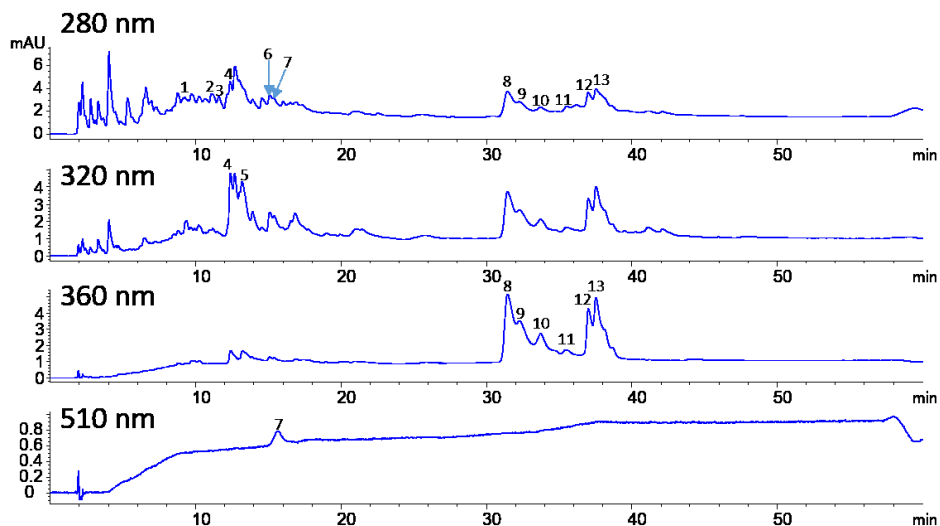
Slika 4 Kromatogram ekstrakta mesa jabuke sniman na 280 nm, 320 nm s identificiranim spojevima 1 – procijanidin B1, 2 – (+)-katehin, 3 – procijanidin B2, 4 – klorogenska kiselina, 5 – izomer klorogenske kiseline*, 6 – (-)-epikatehin (*djelomično identificirani spoj)



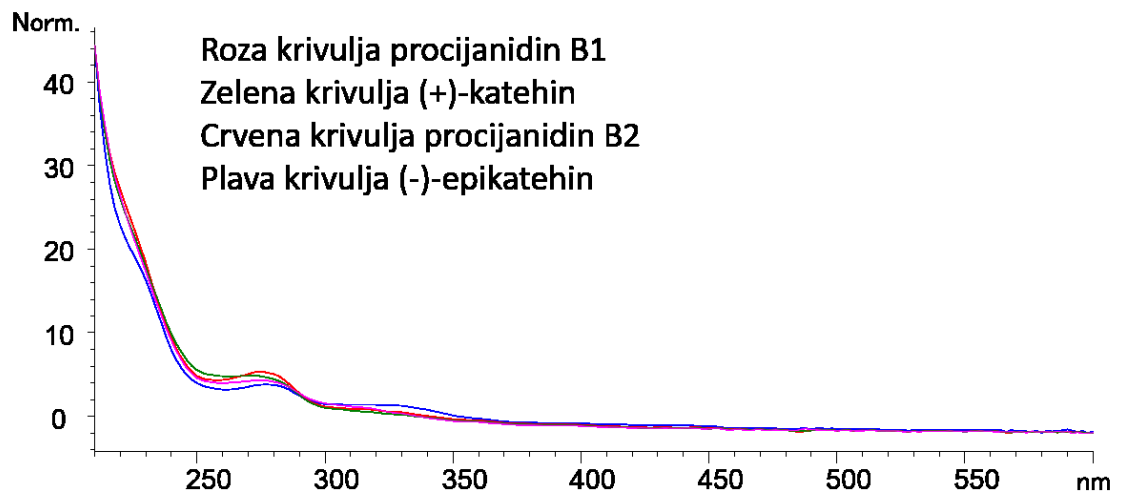
Slika 5 Kromatogram ekstrakta mesa jabuke nakon adsorpcije sniman na 280 nm, 320 nm s identificiranim spojevima 1 – procijanidin B1, 2 – (+)-katehin, 3 – procijanidin B2, 4 – klorogenska kiselina, 5 – izomer klorogenske kiseline*, 6 – (-)-epikatehin (*djelomično identificirani spoj)



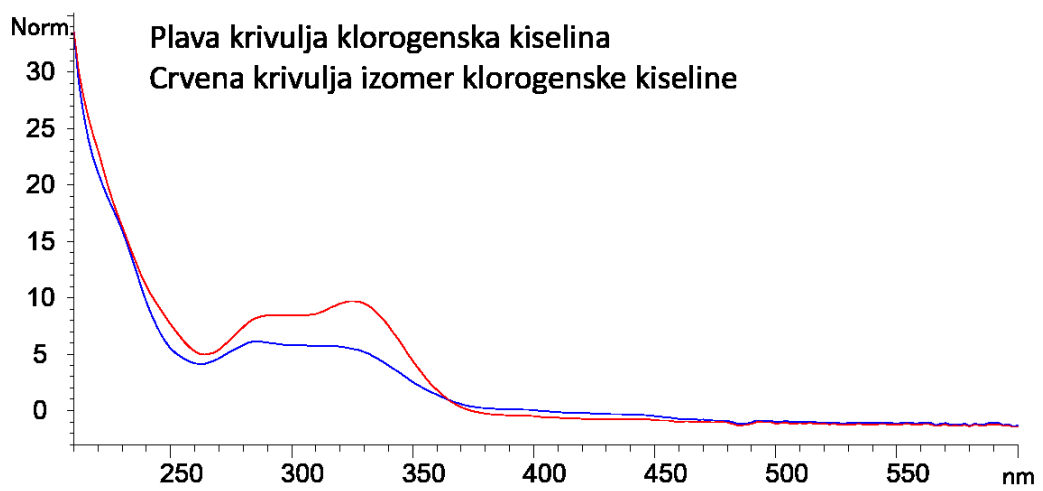
Slika 6 Kromatogram ekstrakta kore jabuke sniman na 280 nm, 320 nm, 360 nm, 510 nm s identificiranim spojevima 1 – procijanidin B1, 2 – (+)-katehin, 3 – procijanidin B2, 4 – klorogenska kiselina, 5 – izomer klorogenske kiseline*, 6 – (-)-epikatehin, 7 – cijanidin-3-galaktozid, 8 – kvercetin-3-galaktozid, 9 – kvercetin-3-glukozid i rutinozid*, 10 – derivat kvercetina 1*, 11-derivat kvercetina 2*, 12 – kvercetin-3-ksilozid*, 13 – kvercetin-3-ramnozid (*djelomično identificirani spoj)



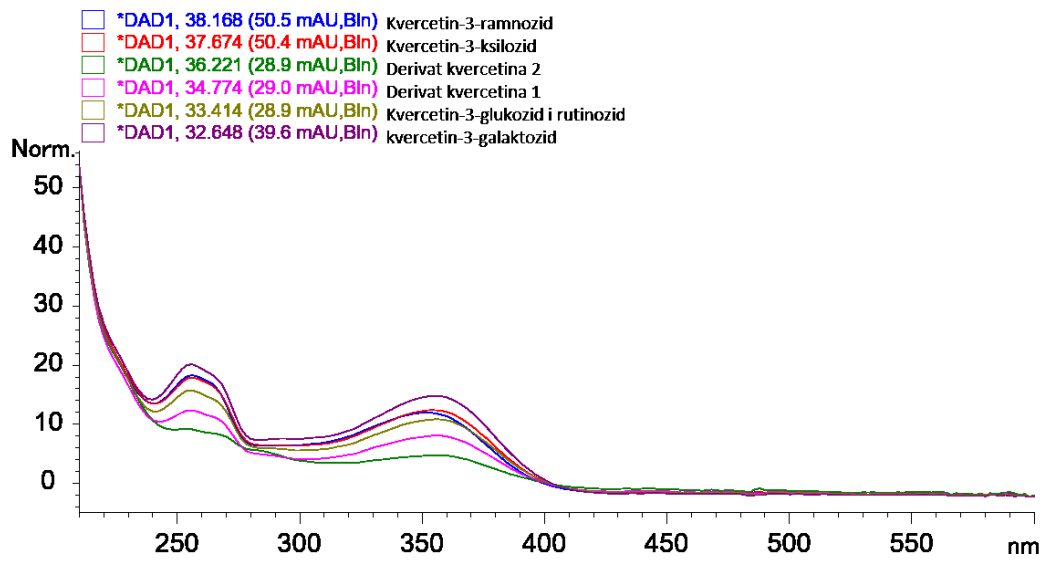
Slika 7 Kromatogram ekstrakta kore jabuke nakon adsorpcije na škrob sniman na 280 nm, 320 nm, 360 nm, 510 nm s identificiranim spojevima 1 – procijanidin B1, 2 – (+)-katehin, 3 – procijanidin B2, 4 – klorogenska kiselina, 5 – izomer klorogenske kiseline*, 6 – (-)-epikatehin, 7 – cijanidin-3-galaktozid, 8 – kvercetin-3-galaktozid, 9 – kvercetin-3-glukozid i rutinozid*, 10 – derivat kvercetina 1*, 11-derivat kvercetina 2*, 12 – kvercetin-3-ksilozid*, 13 – kvercetin-3-ramnozid (*djelomično identificirani spoj)



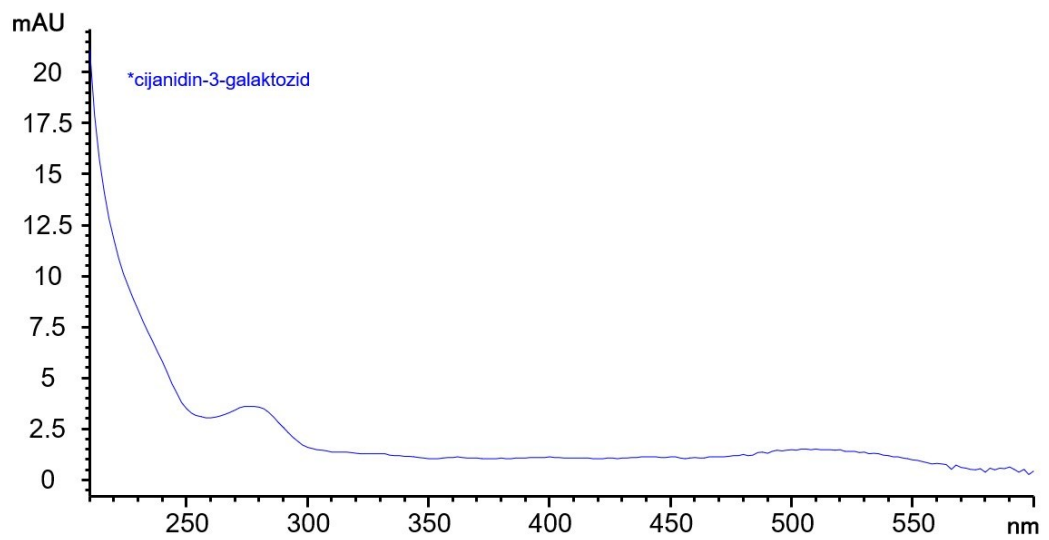
Slika 8 UV/Vis spektri flavan-3-ola jabuke



Slika 9 UV/Vis spektri fenolnih kiselina jabuke



Slika 10 UV/Vis spektri flavonola jabuke



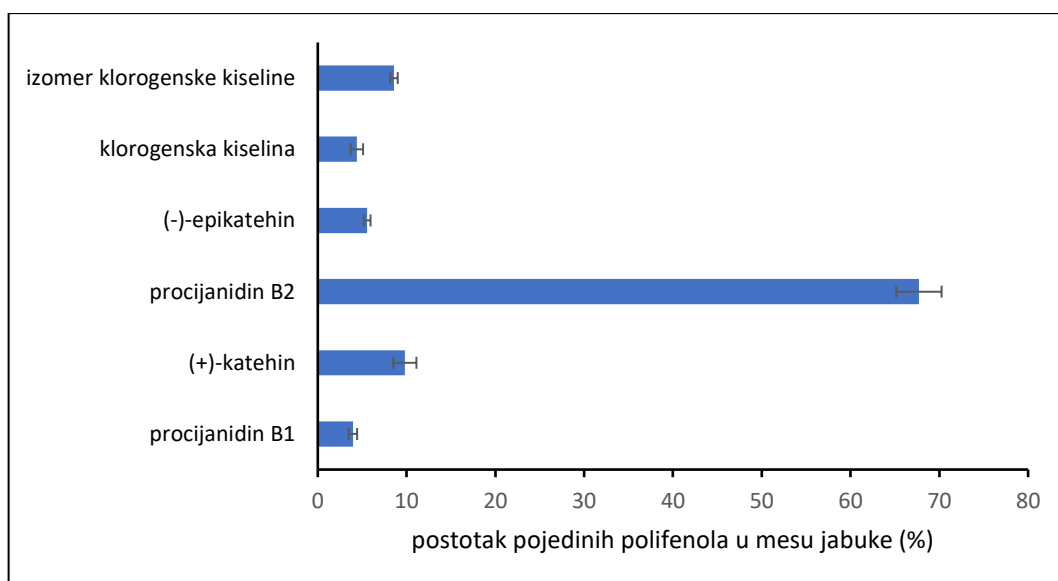
Slika 11 UV/Vis spektri antocijanina jabuke

Tablica 1 Količina polifenolnih spojeva u kori i mesu jabuke (mg kg⁻¹ svježe mase)

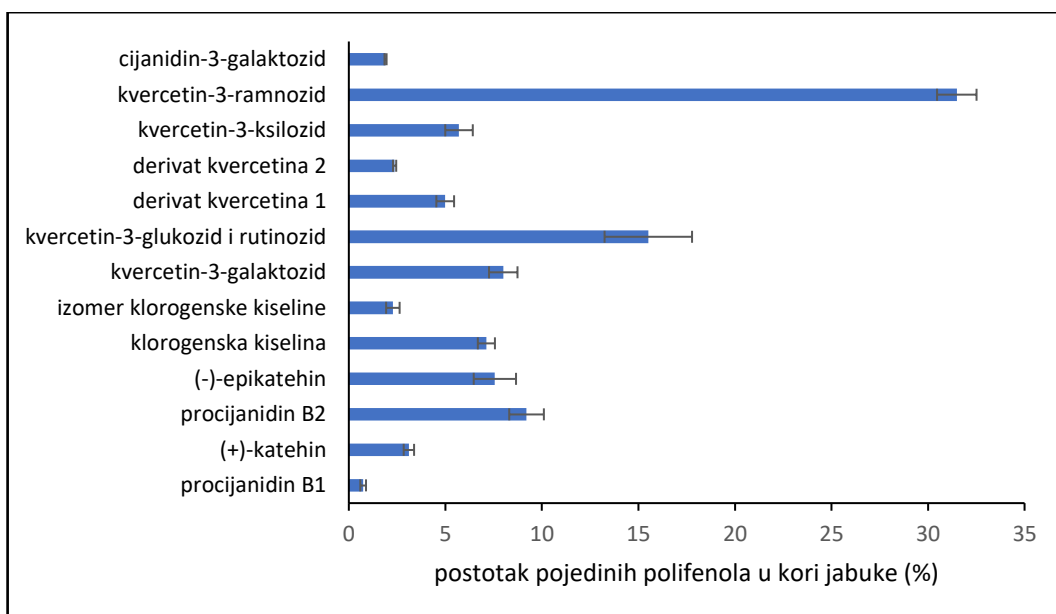
Polifenolni spoj	Kora mg kg ⁻¹	Meso mg kg ⁻¹
flavan-3-oli		
procijanidin B1	2,6 ± 0,5	1,2 ± 0,2
(+)-katehin	10,9 ± 0,9	2,9 ± 0,4
procijanidin B2	32,3 ± 2,9	19,7 ± 0,7
(-)-epikatehin	26,5 ± 3,7	1,6 ± 0,1
Ukupno	72,3 ± 7,5	25,4 ± 1,3
fenolne kiseline		
klorogenska kiselina	25,0 ± 1,5	1,3 ± 0,2
izomer klorogenske kiseline*	8,0 ± 1,3	2,5 ± 0,1
Ukupno	33,0 ± 1,4	3,8 ± 0,3
flavonoli		
kvercetin-3-galaktozid	28,0 ± 2,4	
kvercetin-3-glukozid i rutinozid*	54,4 ± 8,4	
kvercetin derivat 1*	17,5 ± 1,7	
kvercetin derivat 2*	8,3 ± 0,3	
kvercetin-3-ksilozid*	20,0 ± 2,4	
kvercetin-3-ramnozid	110,5 ± 4,3	
Ukupno	238,8 ± 10,0	
antocijanini		
cijanidin-3-galaktozid	6,7 ± 0,1	
Ukupno	6,7 ± 0,1	
UKUPNO	350,7 ± 3,1	29,1 ± 1,7

* djelomično identificirani spojevi

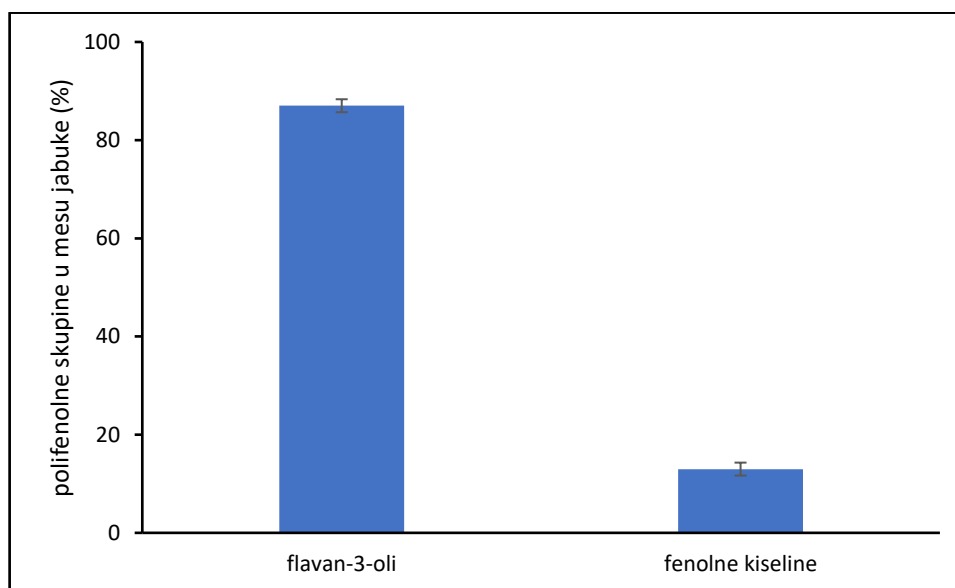
Dva ekstrakta, svaki analiziran dva puta na RP-HPLC uređaju (n=4)



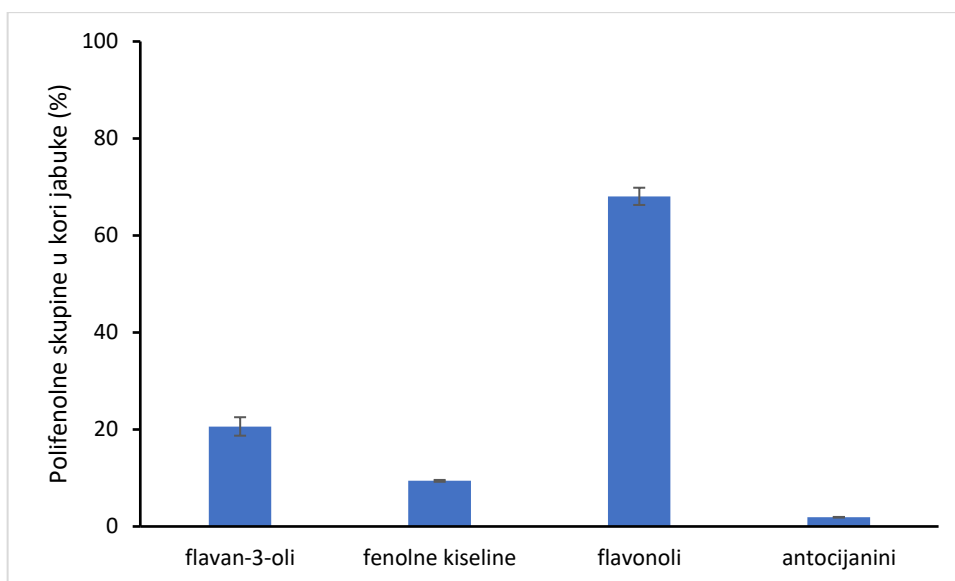
Slika 12 Postotna raspodjela pojedinih polifenolnih spojeva u mesu jabuke



Slika 13 Postotna raspodjela pojedinih polifenolnih spojeva u kori jabuke



Slika 14 Postotna raspodjela polifenolnih skupina u mesu jabuke



Slika 15 Postotna raspodjela polifenolnih skupina u kori jabuke

4.2. Adsorpcija polifenolnih spojeva jabuke na škrob

Tablica 2 Koncentracija polifenolnih spojeva iz mesa jabuke prije i nakon adsorpcije na škrob

Polifenolni spojevi	Prvi materijal		Drugi materijal	
	Prije adsorpcije mg l ⁻¹	Nakon adsorpcije mg l ⁻¹	Prije adsorpcije mg l ⁻¹	Nakon adsorpcije mg l ⁻¹
flavan-3-oli				
procijanidin B1	0,15 ± 0,00	0,26 ± 0,01	0,16 ± 0,03	0,18 ± 0,09
(+)-katehin	0,37 ± 0,01	0,28 ± 0,00	0,40 ± 0,08	0,30 ± 0,00
procijanidin B2	2,75 ± 0,00	0,47 ± 0,11	2,57 ± 0,05	0,51 ± 0,16
(-)-epikatehin	0,21 ± 0,02	0,29 ± 0,01	0,23 ± 0,00	0,23 ± 0,02
ukupno	3,49 ± 0,03	1,30 ± 0,13	3,35 ± 0,17	1,21 ± 0,27
fenolne kiseline				
klorogenska kiselina	0,15 ± 0,00	0,18 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,16 ± 0,01
izomer klorogenske kiseline*	0,33 ± 0,00	0,17 ± 0,00	0,35 ± 0,00	0,12 ± 0,01
ukupno	0,48 ± 0,00	0,35 ± 0,01	0,54 ± 0,01	0,28 ± 0,02
UKUPNO	3,96 ± 0,04	1,66 ± 0,14	3,90 ± 0,18	1,49 ± 0,29

* djelomično identificirani spojevi

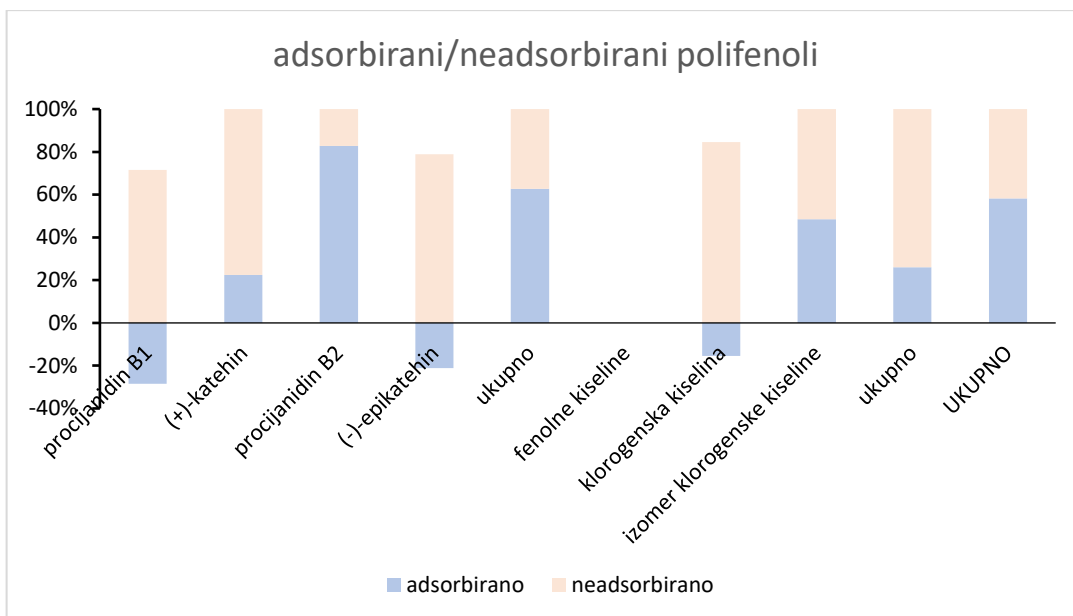
Ekstrakt analiziran dva puta na RP-HPLC uređaju (n=2)

Tablica 3 Koncentracija polifenolnih spojeva iz kore jabuke prije i nakon adsorpcije na škrob

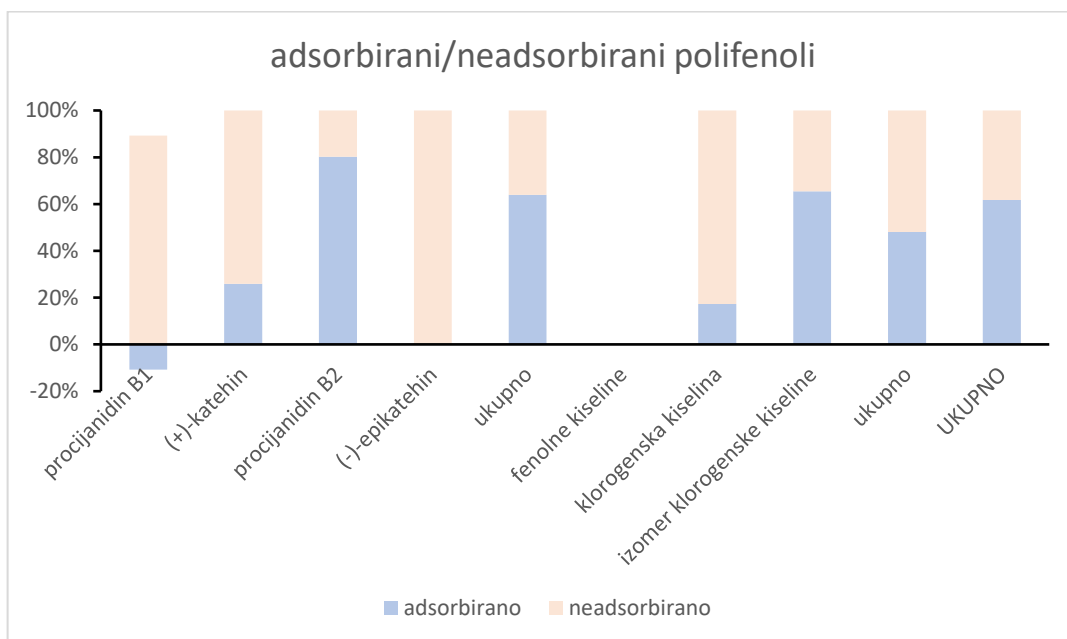
Polifenolni spojevi	Prvi materijal		Drugi materijal	
	Prije adsorpcije mg l ⁻¹	Nakon adsorpcije mg l ⁻¹	Prije adsorpcije mg l ⁻¹	Nakon adsorpcije mg l ⁻¹
flavan-3-oli				
procijanidin B1	0,36 ± 0,10	0,29 ± 0,02	0,35 ± 0,07	0,31 ± 0,17
(+)-katehin	1,51 ± 0,03	0,94 ± 0,05	1,48 ± 0,21	1,07 ± 0,03
procijanidin B2	4,64 ± 0,14	2,28 ± 0,02	4,20 ± 0,48	1,95 ± 0,11
(-)-epikatehin	3,92 ± 0,18	2,05 ± 0,42	3,34 ± 0,60	1,87 ± 0,10
ukupno	10,42 ± 0,45	5,56 ± 0,51	9,37 ± 1,36	5,20 ± 0,41
fenolne kiseline				
klorogenska kiselina	3,40 ± 0,15	1,59 ± 0,05	3,44 ± 0,33	1,68 ± 0,01
izomer klorogenske kiseline*	1,00 ± 0,08	0,91 ± 0,11	1,20 ± 0,22	0,75 ± 0,06
ukupno	4,40 ± 0,23	2,49 ± 0,16	4,64 ± 0,55	2,43 ± 0,07
flavonoli				
kvercetin-3-galaktozid	4,03 ± 0,02	1,48 ± 0,00	3,65 ± 0,38	1,42 ± 0,01
kvercetin-3-glukozid i rutinozid*	6,67 ± 0,18	3,27 ± 0,06	8,25 ± 1,29	2,94 ± 0,04
kvercetin derivat 1*	2,26 ± 0,04	0,90 ± 0,02	2,54 ± 0,32	1,01 ± 0,01
kvercetin derivat 2*	1,11 ± 0,00	0,45 ± 0,08	1,17 ± 0,06	0,36 ± 0,02
kvercetin-3-ksilozid*	2,88 ± 0,04	0,96 ± 0,02	2,60 ± 0,47	0,90 ± 0,00
kvercetin-3-ramnozid	14,75 ± 0,25	5,48 ± 0,30	15,51 ± 0,76	5,00 ± 0,43
Ukupno	31,70 ± 0,54	12,54 ± 0,48	33,72 ± 3,29	11,63 ± 0,50
antocijanini				
cijanidin-3-galaktozid	0,92 ± 0,00	0,87 ± 0,01	0,90 ± 0,00	0,88 ± 0,00
Ukupno	0,92 ± 0,00	0,87 ± 0,01	0,90 ± 0,00	0,88 ± 0,00
UKUPNO	47,45 ± 1,22	21,47 ± 1,15	48,63 ± 5,20	20,14 ± 0,99

* djelomično identificirani spojevi

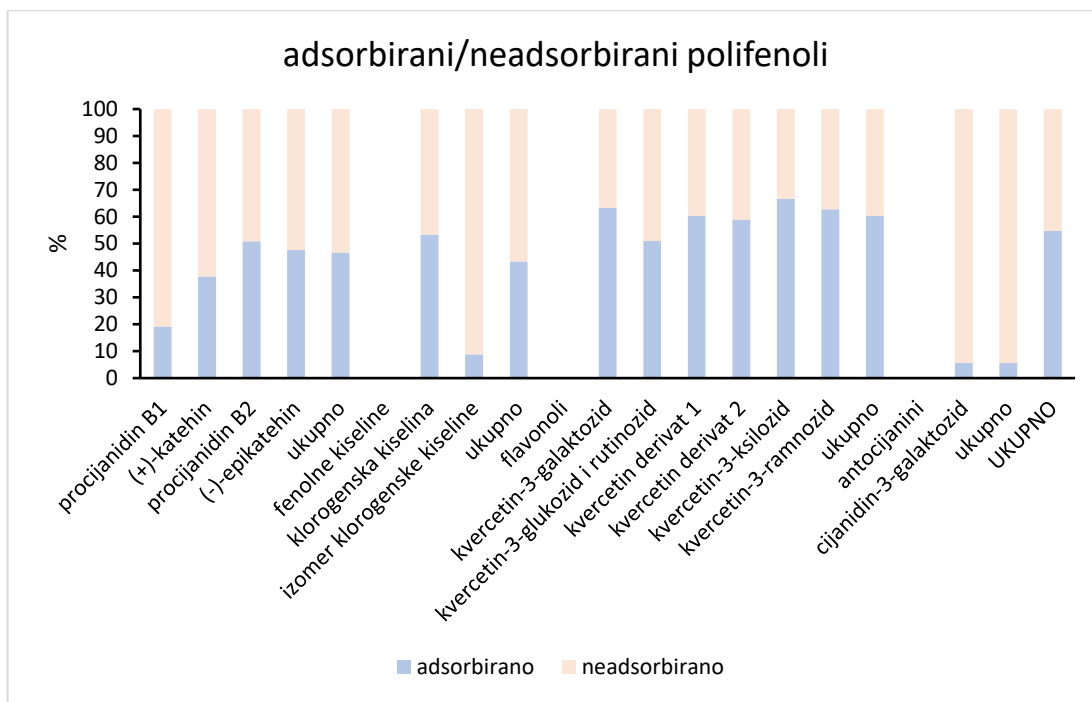
Ekstrakt analiziran dva puta na RP-HPLC uređaju (n=2)



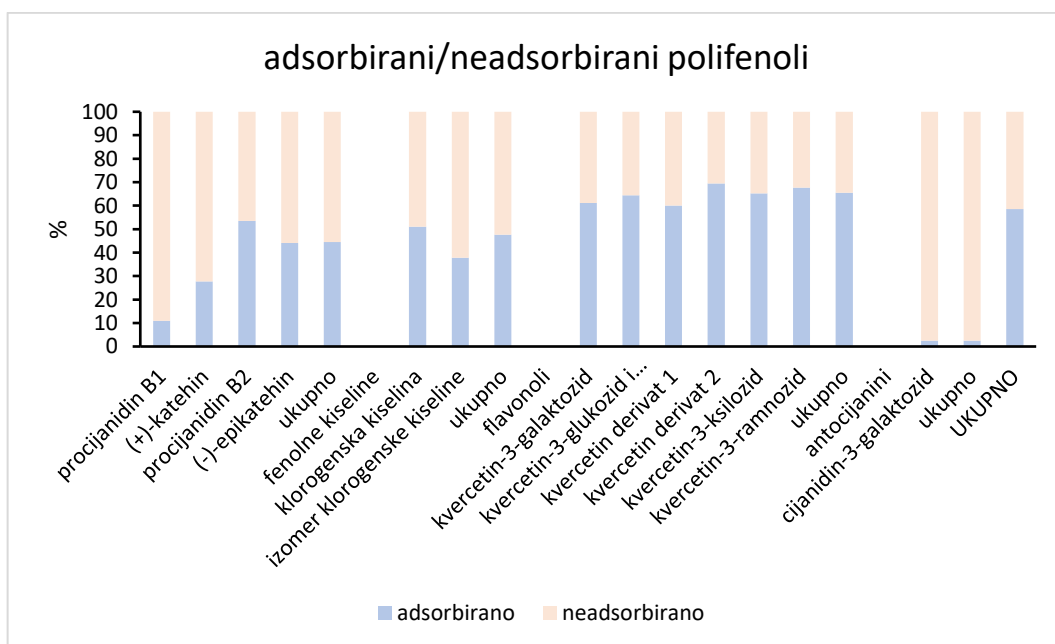
Slika 16 Postotna raspodjela adsorbiranih i neadsorbiranih polifenolnih spojeva u prvom materijalu Škrob-meso jabuke 1



Slika 17 Postotna raspodjela adsorbiranih i neadsorbiranih polifenolnih spojeva u drugom materijalu Škrob-meso jabuke 2



Slika 18 Postotna raspodjela adsorbiranih i neadsorbiranih polifenolnih spojeva u prvom materijalu Škrob-kora jabuke 1



Slika 19 Postotna raspodjela adsorbiranih i neadsorbiranih polifenolnih spojeva u drugom materijalu Škrob-kora jabuke 2

Tablica 4 Količina polifenolnih spojeva mesa jabuke adsorbiranih na škrob (adsorpcijski kapacitet) (mg g^{-1} škroba)

Polifenolni spoj	Adsorpcijski kapacitet			
	Prvi materijal mg g^{-1}		Drugi materijal mg g^{-1}	
flavan-3-oli				
procijanidin B1	-0,003	$\pm 0,000$	-0,001	$\pm 0,004$
(+)-katehin	0,003	$\pm 0,000$	0,003	$\pm 0,003$
procijanidin B2	0,075	$\pm 0,004$	0,067	$\pm 0,004$
(-)-epikatehin	-0,003	$\pm 0,000$	0,000	$\pm 0,001$
ukupno	0,071	$\pm 0,005$	0,070	$\pm 0,011$
fenolne kiseline				
klorogenska kiselina	-0,001	$\pm 0,000$	0,001	$\pm 0,001$
izomer klorogenske kiseline*	0,005	$\pm 0,000$	0,007	$\pm 0,000$
ukupno	0,004	$\pm 0,000$	0,009	$\pm 0,001$
UKUPNO	0,075	$\pm 0,005$	0,078	$\pm 0,012$

* djelomično identificirani spojevi

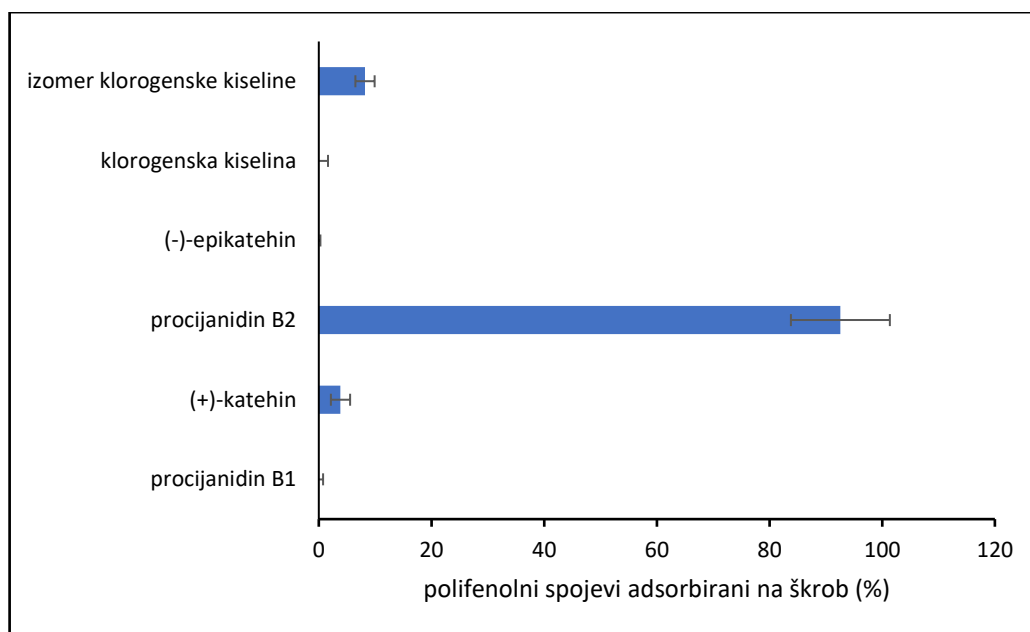
Ekstrakt analiziran dva puta na RP-HPLC uređaju (n=2)

Tablica 5 Količina polifenolnih spojeva kore jabuke adsorbiranih na škrob (adsorpcijski kapacitet) (mg g^{-1} škroba)

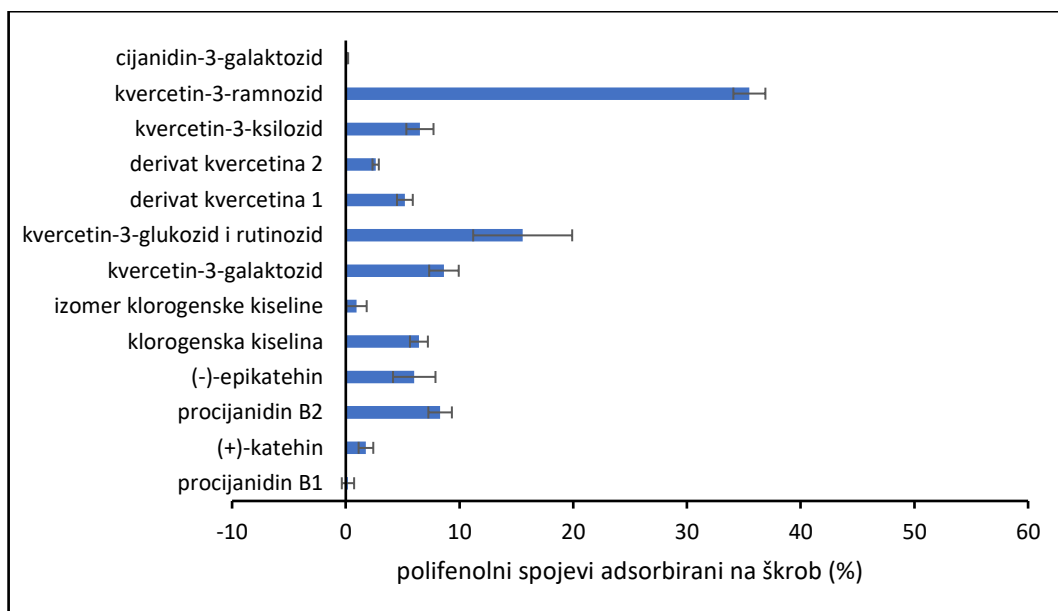
Polifenolni spoj	Adsorpcijski kapacitet	
	Prvi materijal	Drugi materijal
	mg g^{-1}	mg g^{-1}
flavan-3-oli		
procijanidin B1	0,009 ± 0,016	0,005 ± 0,031
(+)-katehin	0,075 ± 0,011	0,055 ± 0,032
procijanidin B2	0,311 ± 0,021	0,298 ± 0,050
(-)-epikatehin	0,246 ± 0,079	0,195 ± 0,066
ukupno	0,641 ± 0,126	0,553 ± 0,179
fenolne kiseline		
klorogenska kiselina	0,240 ± 0,026	0,233 ± 0,042
izomer klorogenske kiseline*	0,012 ± 0,026	0,060 ± 0,021
ukupno	0,251 ± 0,051	0,293 ± 0,063
flavonoli		
kvercetin-3-galaktozid	0,337 ± 0,002	0,296 ± 0,052
kvercetin-3-glukozid i rutinozid*	0,448 ± 0,032	0,703 ± 0,175
kvercetin derivat 1*	0,180 ± 0,003	0,202 ± 0,042
kvercetin derivat 2*	0,086 ± 0,011	0,108 ± 0,006
kvercetin-3-ksilozid	0,254 ± 0,003	0,224 ± 0,063
kvercetin-3-ramnozid	1,222 ± 0,006	1,392 ± 0,043
ukupno	2,526 ± 0,057	2,925 ± 0,381
antocijanini		
cijanidin-3-galaktozid	0,007 ± 0,001	0,003 ± 0,001
ukupno	0,007 ± 0,001	0,003 ± 0,001
UKUPNO	3,426 ± 0,235	3,774 ± 0,623

* djelomično identificirani spojevi

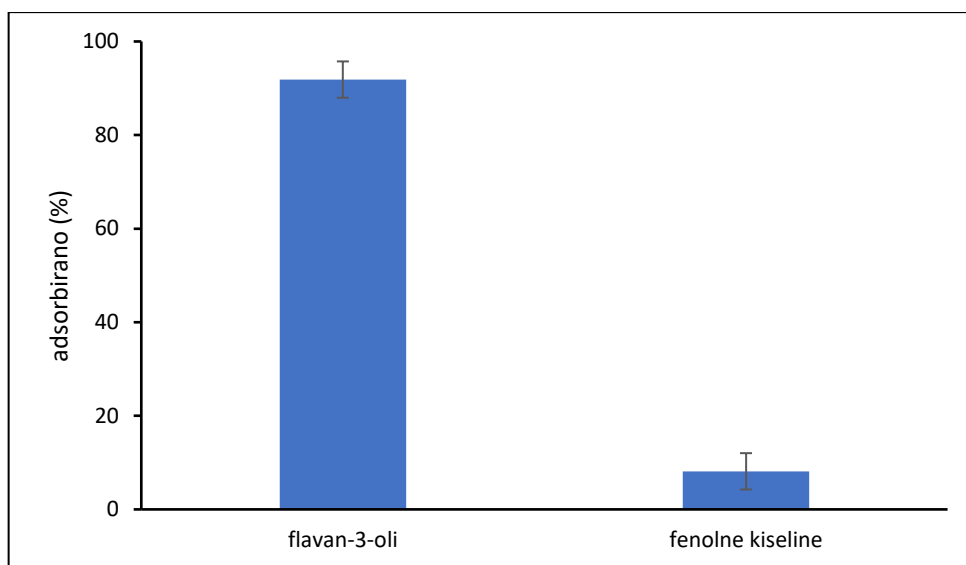
Ekstrakt analiziran dva puta na RP-HPLC uređaju (n=2)



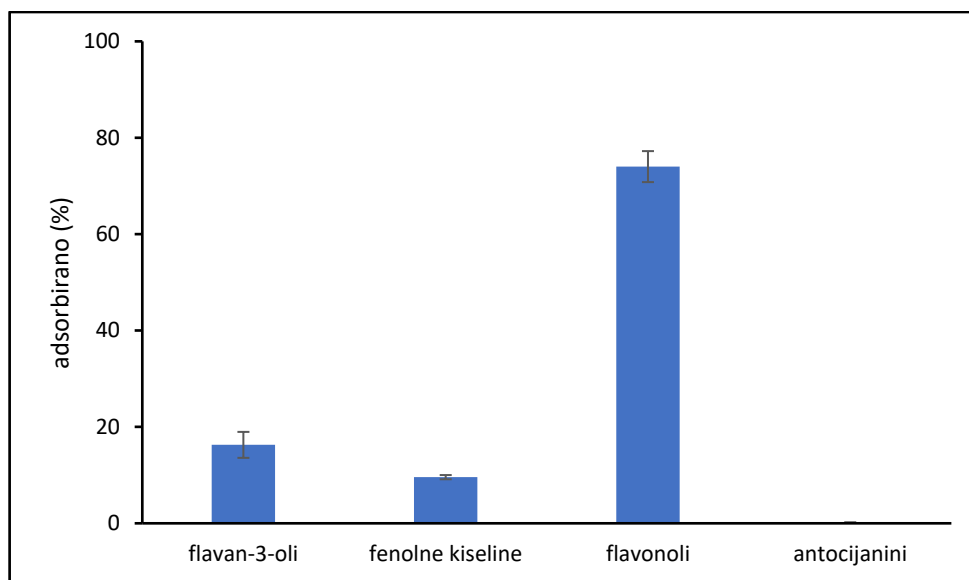
Slika 20 Postotna raspodjela polifenolnih spojeva iz mesa jabuke adsorbiranih na škrob



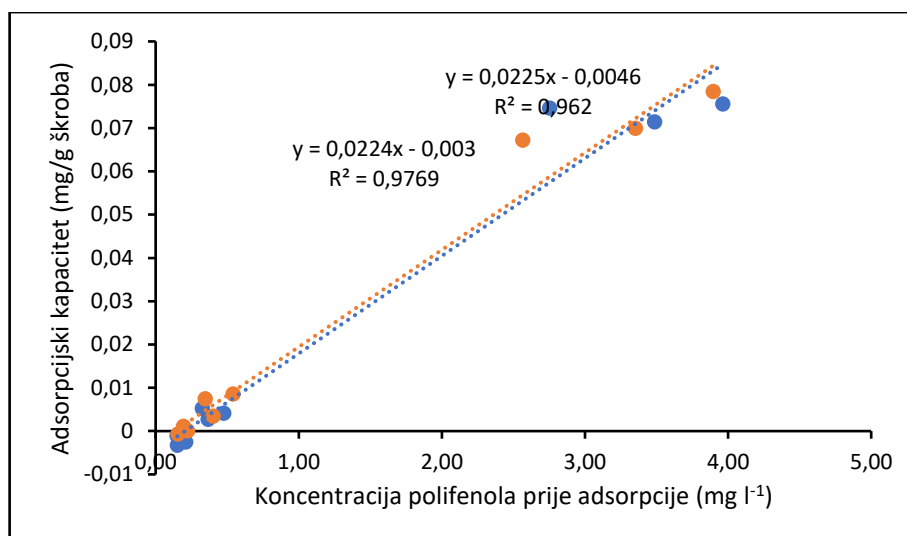
Slika 21 Postotna raspodjela polifenolnih spojeva iz kore jabuke adsorbiranih na škrob



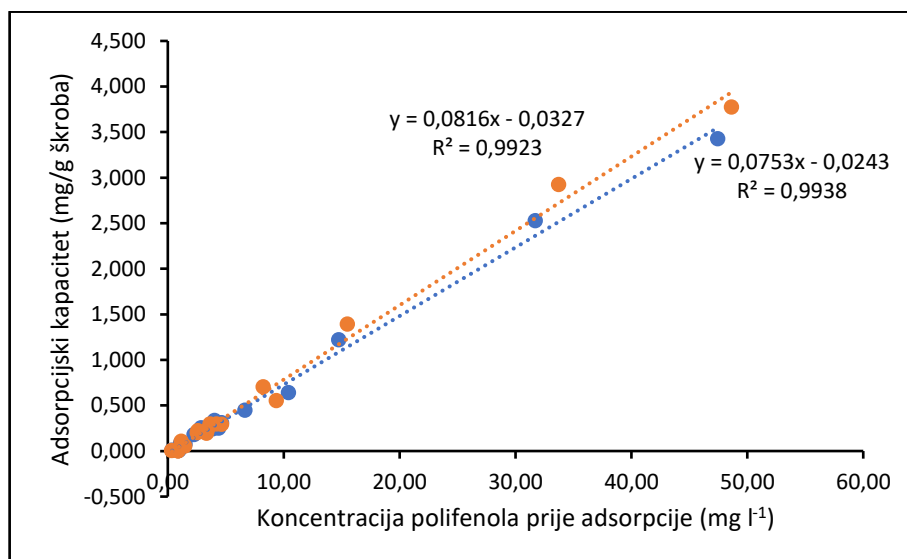
Slika 22 Postotna raspodjela polifenolnih skupina iz mesa jabuke adsorbiranih na škrob



Slika 23 Postotna raspodjela polifenolnih skupina iz kore jabuke adsorbiranih na škrob



Slika 24 Korelacija između koncentracije svih pojedinih polifenolnih spojeva i ukupnih polifenola prisutnih u otopini prije adsorpcije (mg l^{-1}) i njihove količine adsorbirane na škrob (mg g^{-1} škroba) (plava crta – prvi materijal škrob-polifenoli mesa jabuke 1, smeđa crta – drugi materijal škrob-polifenoli mesa jabuke 2)



Slika 25 Korelacija između koncentracije svih pojedinih polifenolnih spojeva i ukupnih polifenola prisutnih u otopini prije adsorpcije (mg l^{-1}) i njihove količine adsorbirane na škrob (mg g^{-1} škroba) (plava crta – prvi materijal škrob-polifenoli kore jabuke 1, smeđa crta – drugi materijal škrob-polifenoli kore jabuke 2)

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

Tablica 6 Količina adsorbiranog ulja i vode na škrob (adsorpcijski kapacitet) (g ulja ili vode po g škroba)

		Adsorpcijski kapacitet	
		kora g g ⁻¹ škroba	meso g g ⁻¹ škroba
Adsorpcija ulja			
	škrob	0,65 ± 0,01	0,65 ± 0,01
	škrob polifenoli jabuke	1,22 ± 0,10	0,92 ± 0,00
	škrob polifenoli jabuke	1,24 ± 0,05	1,02 ± 0,00
Adsorpcija vode			
	škrob	0,73 ± 0,01	0,73 ± 0,01
	škrob polifenoli jabuke	1,12 ± 0,04	0,74 ± 0,38
	škrob polifenoli jabuke	0,97 ± 0,00	0,53 ± 0,04

4.4. Biopolimerni materijal



Slika 26 Biopolimerni materijal napravljen od škroba s dodanih 1,6 g plastifikatora (glicerol)



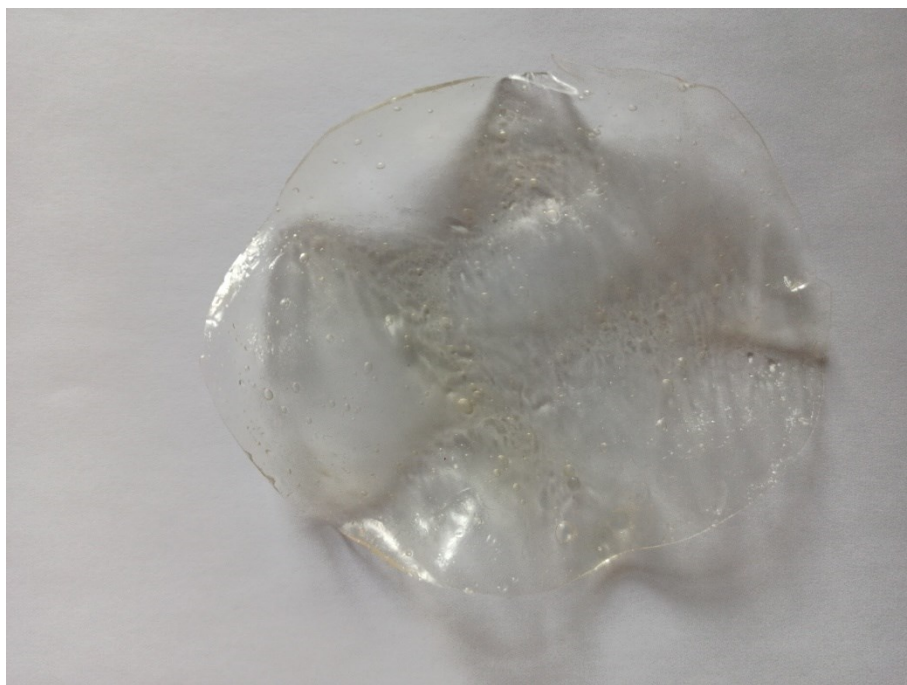
Slika 27 Biopolimerni materijal napravljen od škroba s dodanih 3 g plastifikatora (glicerol)



Slika 28 Biopolimerni materijal napravljen od škroba s dodanih 5 g plastifikatora (glicerol)



Slika 29 Biopolimerni materijal napravljen od materijala škrob-polifenoli mesa jabuke 1



Slika 30 Biopolimerni materijal napravljen od materijala škrob-polifenoli mesa jabuke 2



Slika 31 Biopolimerni material napravljen od materiala škrob-polifenoli kore jabuke 1



Slika 32 Biopolimerni material napravljen od materiala škrob-polifenoli kore jabuke 2

Tablica 7 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 mesom jabuke 1 (5 g glicerola)	0,48 ± 0,07
Škrob s mesom jabuke 2 (5 g glicerola)	0,75 ± 0,24
Škrob s korom jabuke 1 (5 g glicerola)	0,63 ± 0,25
Škrob s korom jabuke 2 (5 g glicerola)	1,13 ± 0,37

5. RASPRAVA

Tijekom eksperimentalnog dijela provedena je ekstrakcija polifenolnih spojeva iz mesa i kore jabuke, a zatim su se dobiveni ekstrakti dodatno analizirani visokodjelotvornom tekućinskom kromatografijom (HPLC) kako bi se identificirali i kvantificirali pojedini polifenolni spojevi. **Slika 4** prikazuje kromatogram ekstrakta mesa jabuke prije adsorpcije na škrob koji je sniman na 280 i 320 nm. Na kromatogramu se mogu vidjeti identificirani polifenolni spojevi. U ekstraktu mesa jabuke identificirani su sljedeći polifenoli: procijanidin B1, (+)-katehin, procijanidin B2, klorogenska kiselina, izomer klorogenske kiseline i (-)-epikatehin. **Slika 5** prikazuje kromatogram ekstrakta mesa jabuke nakon adsorpcije na škrob koji je sniman na 280 i 320 nm. Nakon adsorpcije su identificirani isti polifenolni spojevi kao i prije adsorpcije.

Slika 6 prikazuje kromatogram ekstrakta kore jabuke prije adsorpcije na škrob koji je sniman na 280, 320, 360 i 510 nm s identificiranim polifenolnim spojevima. Identificirani su: procijanidin B1, (+)-katehin, procijanidin B2, klorogenska kiselina, izomer klorogenske kiseline, (-)-epikatehin, cijanidin-3-galaktozid, kvercetin-3-galaktozid, kvercetin-3-glukozid i kvercetin-3-rutinozid koji su imali isto vrijeme zadržavanja, derivat kvercetina 1, derivat kvercetina 2, kvercetin-3-ksilozid i kvercetin-3-ramnozid. **Slika 7** prikazuje kromatogram ekstrakta kore jabuke nakon adsorpcije na škrob sniman na istim valnim duljinama. Identificirani su isti spojevi kao i u ekstraktu kore jabuke prije adsorpcije. Identificirani polifenolni spojevi u ovome diplomskom radu su slični polifenolnim spojevima koji su identificirani u prethodno istraživanom radu (Jakobek, 2020a).

UV/Vis spektri pojedinih polifenolnih spojeva koji pripadaju skupinama flavan-3-ola, fenolnih kiselina, flavonola i antocijanina jabuke prikazani su na **Slikama 8, 9, 10 i 11**. Maksimumi i izgledi spektara odgovaraju spektrima autentičnih spojeva što potvrđuje njihovu identifikaciju. UV/Vis spektri flavan-3-ola prikazuju maksimum u području oko 270-280 nm, fenolnih kiselina oko 320-330 nm te tzv. „shoulder“ oko 280 nm. UV/Vis spektri flavonola prikazuju dva maksimuma u području oko 260 nm i 350-360 nm, a antocijanina na 280 i oko 520 nm.

Nakon što su se identificirali polifenolni spojevi, određena je njihova količina. **Tablica 1** prikazuje količinu polifenolnih spojeva u kori i mesu jabuke. Meso jabuke sadrži 25,4 mg kg⁻¹ flavan-3-ola u čijoj je ukupnoj količini najviše procijanidina B2 (19,7 mg kg⁻¹), te fenolne kiseline (3,8 mg kg⁻¹). Ukupna količina polifenolnih spojeva u mesu iznosila je 29,1 mg kg⁻¹. Usporedivši rezultate dobivene kroz ranija znanstvena istraživanja (Belviso i sur., 2013), može

se vidjeti da su količine u ovom radu slične. Svaka sorta jabuke je jedinstvena jer čimbenici kao što su genetska varijacija, razdoblje rasta, vremenski uvjeti sezone berbe, zemljopisni položaj, zrelost plodova i mnogi drugi čimbenici znatno utječu na koncentraciju polifenola u jabuci. Kora jabuke sadrži 72,3 mg kg⁻¹ flavan-3-ola, u čijoj se ukupnoj količini nalazi najviše procijanidina B2 (32,3 mg kg⁻¹). U kori se nalazi 33,0 mg kg⁻¹ fenolnih kiselina, te 238,8 mg kg⁻¹ flavonola s isticanjem količine kvercetin-3-ramnozida (110,5 mg kg⁻¹) te kvercetin-3-glukozida i rutinozida (54,4 mg kg⁻¹). Pronađena je mala količina antocijanina (6,7 mg kg⁻¹). Ukupna količina polifenolnih spojeva u kori iznosila je 350,7 mg kg⁻¹. Prema dobivenim rezultatima, može se potvrditi tvrdnja da je više polifenolnih spojeva koncentrirano u kori jabuke (Ran i sur, 2016). **Slika 12** i **Slika 13** prikazuju postotnu raspodjelu pojedinih polifenolnih spojeva u mesu i kori jabuke. U mesu jabuke najveći je postotak procijanidina B2 (67,7 %), a u kori jabuke kvercetin-3-ramnozida (31,5 %) i kvercetin-3-glukozida i rutinozida (15,5 %). **Slika 14** i **Slika 15** prikazuju postotnu raspodjelu polifenolnih skupina u mesu i kori jabuke. U mesu jabuke najzastupljeniji su flavan-3-oli (87,0 %) (**Slika 14**), a u kori jabuke flavonoli (68 %) (**Slika 15**). Identificirani polifenolni spojevi i količine polifenolnih spojeva su slične polifenolnim spojevima iz prethodno istraživanog rada autora Kapp i sur. (2023).

Ekstrahirani polifenolni spojevi podvrgnuti su adsorpciji na škrob u dva odvojena eksperimenta da bi se dobila dva materijala škroba s adsorbiranim polifenolima mesa jabuke te dva materijala s adsorbiranim polifenolima kore jabuke. **Tablica 2** i **3** prikazuju koncentraciju polifenolnih spojeva iz mesa i kore jabuke prije i nakon adsorpcije na škrob. Koncentracije pojedinih i ukupnih spojeva nakon adsorpcije manje su od koncentracija prije adsorpcije što ukazuje na to da su se polifenolni spojevi adsorbirali na škrob. Izuzetak su procijanidin B1, (-)-epikatehin te klorogenska kiselina iz mesa jabuke (**Tablica 2**). U škrobu s adsorbiranim polifenolima mesa, pojedini polifenoli su se adsorbirani od 0 do 83 % (prvi materijal) ili od 0 do 80 % (drugi materijal), a ukupan postotak iznosio je 58 i 62 % adsorbiranih polifenola (redosljedom prvi i drugi materijal) (**Slike 16 i 17**). U škrobu s adsorbiranim polifenolima kore jabuke, postotak adsorbiranih pojedinih polifenola iznosio je 6 do 67 % (prvi materijal) te 3 do 69 % (drugi materijal), a ukupno je bilo adsorbirano 55 i 59 % polifenola (redosljedom prvi i drugi materijal) (**Slike 18 i 19**). Adsorpcijski kapacitet škroba za polifenole mesa iznosio je 0,075 i 0,078 mg g⁻¹ škroba, a za polifenole kore 3,4 i 3,8 mg g⁻¹ škroba (**Tablica 4 i 5**). Ove vrlo niske količine mogu biti razlog velikoj količini škroba koji je bio u kontaktu s ekstraktom polifenola za vrijeme adsorpcije. Moguće je da bi se bolji rezultati adsorpcije polifenola postigli

s manjom količinom škroba, što povećava kontaktnu površinu između škroba i polifenola i kao posljedicu može donijeti veću količinu polifenola adsorbiranih po masi škroba. U ukupnoj količini adsorbiranih polifenola mesa jabuke po gramu škroba, najveći postotak zauzima je procijanidin B2, a u količini adsorbiranih polifenola kore jabuke kvercetin-3-ramnozid te kvercetin-3-glukozid i kvercetin-3-rutinozid (**Slike 20 i 21**). U skladu s tim, od polifenolnih skupina, u adsorbiranoj količini polifenola mesa, najviše su bili zastupljeni flavan-3-oli (92 %), a u adsorbiranoj količini polifenola kore flavonoli (74 %) (**Slika 22 i 23**).

Prema dobivenim rezultatima može se primijetiti poveznica između količine polifenola u ekstraktima kore i mesa jabuke te količine adsorbiranih polifenola na škrob. Polifenoli koji su bili identificirani u većim količinama su se također u većoj količini adsorbirali na škrob. Kako bi se ova tvrdnja provjerila, provedena je korelacija između koncentracije svih pojedinih polifenolnih spojeva prisutnih u otopini prije adsorpcije (mg l^{-1}) i njihove količine adsorbirane na škrob (mg g^{-1} škroba). **Slika 24** prikazuje visoku korelaciju za prvi i drugi materijal škrob-polifenoli mesa jabuke 1 i 2. Koeficijent determinacije iznosio je 0,962 za prvi materijal, a 0,9769 za drugi materijal. **Slika 25** prikazuje visoku korelaciju za prvi i drugi materijal škrob-polifenoli kore jabuke 1 i 2. Koeficijent determinacije za prvi materijal iznosio je 0,9938, a za drugi materijal 0,9923. Dobiveni rezultati su slični rezultatima dobivenim u prethodno istraživanom radu (Jakobek, 2020a).

Tablica 6 prikazuje količinu adsorbiranog ulja i vode na škrob, materijale škrob-kora jabuke 1 i 2, te škrob-meso jabuke 1 i 2. Kapacitet škroba za adsorpciju ulja bio je manji za razliku od kapaciteta materijala škrob-kora jabuke 1 i 2, te materijala škrob-meso jabuke 1 i 2. Slično tome, kapacitet škroba za adsorpciju vode bio je manji od kapaciteta materijala škrob-kora jabuke 1 i 2, te škrob-meso jabuke 1 i 2.

Nakon provedenih ispitivanja adsorpcije polifenola jabuke na škrob, uspješno je izrađen biopolimerni materijal (folija) (**Slika 26, Slika 27, Slika 28**). Svojstva materijala ovise o dodatku plastifikatora koji služi za povećanje obradivosti i rastezljivosti materijala (Jakobek-Barron, 2020). Kao plastifikator koristio se glicerol u količini 1,6 g, 3 g i 5 g. Najbolju fleksibilnost pokazao je materijal s 5 g plastifikatora, te se zbog toga koristilo 5 g plastifikatora za izradu biopolimera napravljenih od materijala škrob-polifenoli mesa jabuke 1 (**Slika 29**) i škrob – polifenoli mesa jabuke 2 (**Slika 30**), te za materijale škrob-polifenoli kore jabuke 1

(Slika 31) i škrob-polifenoli kore jabuke 2 (Slika 32). Debljina pripremljenih biopolimernih materijala je iznosila od 0,48 mm do 1,13 mm (Tablica 7).

Istraživanja su pokazala kako je moguće napraviti biopolimerni materijal na bazi škroba s inkorporiranim polifenolima jabuke kao aktivnim tvarima, međutim buduća istraživanja trebaju biti usmjerena na ispitivanjima svojstava navedenog biopolimera te njegovu stvarnu aktivnu funkciju. Rezultati se slažu s ranijim istraživanjima (Nan i sur., 2023; Shiekh i sur., 2022) u kojima je škrob bio ispitivan kao biorazgradivi materijal s dodanom aktivnom komponentom te pokazao da može produžiti kvalitetu hrane. Jabuka koja je imala premaz na bazi od rižinog škroba, zadržala je boju, čvrstoću te antioksidativno djelovanje. Premaz od kukuruznoga škroba s ekstraktom *Moringa oleifera* smanjio je gubitak težine i zadržao čvrstoću te sadržaj askorbinske kiseline u naranči. Premaz od škroba kasave s eteričnim uljem kore cimeta inhibirao je rast *Staphylococcus aureus* i *Salmonella choleraesuis* na jabuci sorte „*Malus domestica Borkh*” tijekom skladištenja na temperaturi od 5 °C (Shiekh i sur., 2022). Nan i sur. (2023) istraživali su foliju od krumpirovog škroba s polifenolima čaja na borovnicama i svježe narezanim bananama. Otkrili su da bi navedeni film mogao poboljšati kvalitetu skladištenja borovnica i spriječiti enzimsko tamnjenje svježe narezanih banana. Jestivi premazi na bazi škroba su bez mirisa, okusa, boje, netoksični, djeluju kao dobra barijera za plinove (ugljični dioksid, kisik).

6. ZAKLJUČAK

Nakon provedenog eksperimentalnog dijela mogu se zaključiti sljedeće stavke:

1. U ekstraktu mesa i kore jabuke prije i nakon adsorpcije na škrob, identificirani su sljedeći polifenolni spojevi: od flavan-3-ola identificirani su procijanidin B1 i procijanidin B2, (+)-katehin, (-)-epikatehin, od fenolnih kiselina klorogenska kiselina i izomer klorogenske kiseline. U kori jabuke su dodatno pronađeni flavonoli (kvercetin-3-galaktozid, kvercetin-3-glukozid i rutinozid, kvercetin derivat 1, kvercetin derivat 2, kvercetin-3-ksilozid, kvercetin-3-ramnozid). U skupini antocijanina u kori je identificiran cijanidin-3-galaktozid.
2. U mesu jabuke najzastupljeniji su bili flavan-3-oli (87,0 %), a u kori jabuke flavonoli (68 %).
3. Koncentracija svih pojedinačnih polifenola te polifenolnih skupina se smanjila nakon što su se adsorbirali na škrob. Iz dobivenih rezultata može se pretpostaviti da su se polifenoli kore i mesa jabuke adsorbirali na škrob.
4. Određen je adsorpcijski kapacitet škroba za polifenolne spojeve mesa i kore jabuke po masi škroba (mg g^{-1}). U ukupno adsorbiranim polifenolima mesa jabuke, najviše su bili zastupljeni flavan-3-oli (92 %), a u adsorbiranim polifenolima kore flavonoli (74 %).
5. Količina adsorbiranih polifenolnih skupina iz ekstrakta kore i mesa jabuke na škrob ovisila je o količini polifenolnih skupina prije adsorpcije. Na to ukazuje dobivena visoka korelacija između koncentracije svih pojedinih polifenolnih spojeva prisutnih u otopini prije adsorpcije (mg l^{-1}) i njihove količine adsorbirane na škrob (mg g^{-1} škroba) (r^2 od 0,962 do 0,9938).
6. Uspješno je dobiven biopolimerni materijal (folija) od škroba s inkorporiranim polifenolima iz jabuke kao aktivnom komponentom i glicerola kao plastifikatora. Koristila se količina od 5 g plastifikatora jer je navedena količina pokazala najveću fleksibilnost u usporedbi s 1,6 g i 3 g.
7. Dodatna istraživanja trebaju potvrditi adsorpciju polifenola jabuke na škrob, otpuštanje polifenola iz folije što dokazuje aktivnu funkciju folije te mogućnost pakiranja namirnice u foliju praćenjem kvalitete upakirane namirnice.

7. LITERATURA

- Acquavia MA, Pascale R, Martelli G, Bondoni M, Bianco G: Natural Polymeric Materials: A solution to plastic pollution from the agro-food sector. *Polymers* 13:158, 2021.
- Baranwal J, Barse B, Fais A, Delogu GL, Kumar A: Biopolymer: A sustainable material for food and medical applications. *Polymers* 14:983, 2022.
- Belviso S, Scursatone B, Re G, Zeppa G: Novel data on apple polyphenol content. *International Journal of Food Properties* 16:1507-1515, 2013.
- Chen Q, Wei L, Lai Y, Liu Y: Preparation and characterization of tea polyphenols-chitosan-based nanoparticles and their application in starch films. *BioResources* 17:4306-4322, 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 and Food Chemistry* 61:12155-12163, 2013.
- Farhan A, Hani MN: Active edible films based on semi-refined κ -carrageenan: Antioxidant and color properties and application in chicken breast packaging. *Food Packaging and Shelf Life* 24:100476, 2020.
- Gerhauser C: Cancer chemopreventive potential of apples, apple juice, and apple Components. *Planta Medica* 74:13, 2008.
- Hahladakis NJ, Velis AC, Weber R, Iacovidou E, Purnell P: An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *Journal of Hazardous Materials* 344:179-199, 2018.
- Han J: *Innovations in Food Packaging*. Elsevier Science & Technology Books, 2005.
- Hu X, Lu C, Tang H, Pouri H, Joulin E, Zhang J: Active food packaging made of biopolymer-based composites. *Materials* 6:279, 2023.
- Huang T, Qian Y, Wei J, Zhou C: Polymeric antimicrobial food packaging and its applications. *Polymers* 11:3, 2019.
- Jakobek Barron L: Jestivi biopolimeri za pakiranje mesnih proizvoda. *Meso* 22:182-184, 2020.
- Jakobek L, Buljeta I, Ištuk J, Barron R. A: Polyphenols of traditional apple varieties in Interaction with barley β -glucan: A study of the adsorption process. *Foods* 9:9, 2020a.
- Jakobek L: Food packaging materials with polyphenols as active compounds. *Meso* 21:469-474, 2019
- Jakobek L: Novi trendovi u pakiranju mesa-biopolimeri s inkorporiranim polifenolnim spojevima. *Meso* 22:75-81, 2020b.

- Kadokawa J: Preparation and Applications of Amylose Supramolecules by Means of Phosphorylase-Catalyzed Enzymatic Polymerization. *Polymers* 4:116-133, 2012.
- Kapp K, Kalder K, Kikas A, Univer T, Püssa T, Ain R: Polyphenolic compounds in apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars grown in Estonia. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences* 72:154-166, 2023.
- Kuorwel KK, Cran MJ, Sonneveled K, Miltz J, Bigger SW: Antimicrobial activity of biodegradable polysaccharide and protein-based films containing active agents. *Journal of Food Science* 76:3, 2011.
- Nan C, Gao HX, He Q, Zeng WC: Potato starch-based film incorporated with tea polyphenols and its application in fruit packaging. *Polymers* 15:588, 2023.
- Nisar T, Wang Z, Alim A, Iqbal M, Yang X, Sun L, Guo Y: Citrus pectin films enriched with thinned young apple polyphenols for potential use as bio-based active packaging. *CyTA - Journal of Food* 17:1, 2019.
- Ordonez R, Atares L, Chiralt A: Biodegradable active materials containing phenolic acids for food packaging applications. *Comprehensive review in Food Science and Food Safety* 21:5, 2022.
- Pokhrel S: A Review On Introduction And Applications Of Starch And Its Biodegradable Polymers. *International Journal of Environment* 4:114-125, 2015.
- Qin Y, Liu Y, Yong H, Liu J, Zhang X, Liu J: Preparation and characterization of active and intelligent packaging films based on cassava starch and anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. *International Journal of Biological Macromolecules* 134:80-90, 2019.
- Ran J, Sun H, Xu Y, Wang T, Zhao R: Comparison of Antioxidant Activities and High Performance Liquid Chromatography Analysis of Polyphenol from Different Apple Varieties. *International Journal of Food Properties* 19:2396-2407, 2016.
- Shiekh KA, Kittaporn N, Wirongrong T: Polysaccharide-Based Active Coatings Incorporated with Bioactive Compounds for Reducing Postharvest Losses of Fresh Fruits. *Coatings* 12:8, 2022.
- Sun L, Sun J, Chen L, Niu P, Yang X, Guo Y: Preparation and characterization of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols as an active packaging material. *Carbohydrate Polymers* 163:81-91, 2017.
- Sun L, Sun J, Liu D, Fu M, Yang X, Guo 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.
- Vujković I, Galić K, Vereš M: Ambalaža za pakiranje namirnica. Tectus, Zagreb, 2007.
- Williamson G: The role of polyphenols in modern nutrition. *Nutrition Bulletin* 42:3, 2017.