

Priprava aktivnog biopolimernog materijala s polifenolima jabuke

Pancer, Tajana

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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:109:988100>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-12**

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

Tajana Pancer

PRIPRAVA AKTIVNOG BIOPOLIMERNOG MATERIJALA S
POLIFENOLIMA JABUKE

DIPLOMSKI RAD

Osijek, rujan 2024.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Sveučilišni diplomski studij Prehrambeno inženjerstvo

Zavod za primijenjenu kemiju i ekologiju
Katedra za primijenjenu kemiju, biokemiju i instrumentalne metode
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Tema rada je prihvaćena na VIII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2022./2023. održanoj 22. svibnja 2023. godine.

Mentor: prof. dr. sc. Lidija Jakobek Barron

Komentor: dr. sc. Petra Matić, znanstveni suradnik

PRIPRAVA AKTIVNOG BIOPOLIMERNOG MATERIJALA S POLIFENOLIMA JABUKE

Tajana Pancer, 0113142012

Sažetak: Cilj rada bio je napraviti biopolimernu foliju od škroba s dodanim polifenolima jabuke, koja aktivnu funkciju ostvaruje otpuštanjem polifenola. Polifenoli su ekstrahirani iz jabuke ultrazvukom, a identificirani i kvantificirani primjenom visokodjelotvorne tekućinske kromatografije (HPLC). U ekstraktu jabuke identificirano je 10 spojeva iz skupine flavonola, fenolnih kiselina, flavan-3-ola te dihidrokalkona. Najzastupljeniji polifenoli u jabuci bili su flavonoli (55 %), te fenolne kiseline (23,5 %). Polifenoli su se adsorbirali na škrob. Polifenolne skupine koje su bile najzastupljenije u jabuci, adsorbirale su se na škrob u većem postotku (flavonoli 68 %, fenolne kiseline 20 %). Folije su pripravljene od škroba s adsorbiranim polifenolima jabuke te od čistog škroba i vodenog ekstrakta jabuke. Sadržaj vode u svim filmovima te njihova topljivost u vodi bili su slični ili su pokazali nešto više vrijednosti od filmova pripremljenih u ranijim istraživanjima. Primjećuje se trend porasta sadržaja vode i topljivosti u vodi s povećanjem količine plastifikatora glicerola. Polifenoli su pokazali otpuštanje iz folija u 50 %-tni etanol što pokazuje potencijal za aktivnom funkcijom folije. S obzirom na nešto bolju mogućnost otpuštanja polifenola, izrada folije od čistog škroba i vodenog ekstrakta polifenola pokazala se učinkovitijom metodom pripreme folije. Potrebna su intenzivna istraživanja osobina folija te poboljšanja stvarne aktivne funkcije.

Ključne riječi: aktivna ambalaža; polifenolni spojevi; jabuka

Rad sadrži: 46 stranica

17 slika

9 tablica

0 priloga

31 literaturnu referencu

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu rada:

1. prof. dr. sc. Dajana Gašo-Sokač
2. prof. dr. sc. Lidija Jakobek Barron
3. dr. sc. Petra Matić, znan. sur.
4. doc. dr. sc. Ivana Tomac

predsjednik
član-mentor
član-komentor
zamjena člana

Datum obrane: 27. rujan 2024.

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

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
University Graduate Study Food Engineering

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 Council of the Faculty of Food Technology at its session no. VIII held on 22 May 2023.

Mentor: Lidija Jakobek Barron, PhD, Full Professor
Co-mentor: Petra Matić, PhD, postdoc.

The Preparation of Active Biopolymer Material with Polyphenols from Apples

Tajana Pancer, 0113142012

Summary: The aim was to make a film based on biopolymer starch with added apple polyphenols, which achieves its active function by releasing polyphenols. Polyphenols were extracted from apples by using ultrasound, and identified and quantified with the high-performance liquid chromatography (HPLC). Ten compounds belonging to flavonols, phenolic acids, flavan-3-ols, and dihydrochalcones were identified in the apple extract. The most abundant polyphenols in apples were flavonols (55%) and phenolic acids (23.5%). Polyphenols were adsorbed onto the starch. Polyphenolic groups that were most abundant in apples were adsorbed on starch in a higher percentage (flavonols 68%, phenolic acids 20%). Foils were prepared from starch with adsorbed apple polyphenols, and from pure starch and aqueous apple extract. The water content of all films and their solubility in water were similar or showed slightly higher values than the films prepared in earlier studies. Water content and water solubility of foils showed the increase with the increase of the amount of glycerol. Polyphenols were released from the foils into 50 % ethanolic solution, which shows the potential for active function of foils. Given the slightly better ability to release polyphenols, the production of the film from pure starch and aqueous polyphenol extract proved to be a more effective method of film preparation. Intensive research into the properties of foils and improvement of the actual active function is needed.

Key words: active packaging; polyphenolic compounds; apple

Thesis contains: 46 pages

17 figures

9 tables

0 supplementary material

31 references

Original in: Croatian

Review and defence committee:

1. Dajana Gašo Sokač, PhD, Full Professor	chair person
2. Lidija Jakobek Barron, PhD, Full Professor	member-mentor
3. Petra Matić, PhD, postdoc.	member
4. Ivana Tomac PhD, Assistant Professor	stand-in

Defence date: 27 Septemeber 2024

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

DIPLOMSKI RAD JAVNO JE OBRANJEN DANA

27. rujna 2024. godine

TE OCIJENJEN USPJEHOM

izvrsnim (5)

Pred Povjerenstvom za obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Dajana Gašo-Sokač

predsjednik

Dajana Gašo-Sokač
(potpis)

2. prof. dr. sc. Lidija Jakobek Barron

član

L. Jakobek Barron
(potpis)

3. dr. sc. Petra Matić, znan. sur.

član

Petra Matić
(potpis)

Želim izraziti svoju zahvalnost svim osobama koje su na bilo koji način doprinijele stvaranju ovog diplomskog rada.

Posebnu zahvalnost upućujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Lidiji Jakobek Barron, koja mi je svojim stručnim savjetima, smjernicama i podrškom omogućila da uspješno završim ovaj rad. Njeno strpljenje i posvećenost bili su ključni za moj napredak i uspjeh.

Zahvaljujem se i članovima komisije, prof. dr. sc. Dajani Gašo Sokač, dr. sc. Petri Matić i doc. dr. sc. Ivani Tomac na njihovim korisnim komentarima i sugestijama koje su značajno doprinijele kvaliteti rada.

Zahvaljujem se i svim kolegama i prijateljima koji su me podržavali tijekom cijelog procesa, a ponajviše svojoj obitelji koja je uvijek bila uz mene i pružala mi potrebnu podršku i razumijevanje. Hvala vam za sve!

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. EKOLOŠKI ASPEKTI AMBALAŽE.....	4
2.2. PLASTIČNE FOLIJE OD BIORAZGRADIVIH POLIMERA	6
2.3. ŠKROB KAO BIORAZGRADIVI POLIMER	7
2.4. AKTIVNA AMBALAŽA	8
2.5. POLIFENOLNI SPOJEVI.....	9
2.6. POLIFENOLNI SPOJEVI JABUKE	10
2.7. POLIFENOLNI SPOJEVI KAO AKTIVNE KOMPONENTE U BIORAZGRADIVOM AMBALAŽNOM MATERIJALU	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO	13
3.1. ZADATAK RADA.....	14
3.2. MATERIJAL I METODE	14
3.2.1. <i>Kemikalije</i>	14
3.2.2. <i>Jabuke</i>	14
3.2.3. <i>Priprema ekstrakta polifenola jabuke</i>	15
3.2.4. <i>Adsorpcija polifenola jabuke na škrob</i>	15
3.2.5. <i>Analiza polifenola visokodjelotvornom tekućinskom kromatografijom (HPLC)</i>	15
3.2.6. <i>Računanje adsorpcijskog kapaciteta škroba</i>	16
3.2.7. <i>Priprema biorazgradivog materijala od škroba s adsorbiranim polifenolima jabuke</i>	16
3.2.8. <i>Određivanje debljine materijala, sadržaja vode te topljivosti u vodi</i>	17
3.2.9. <i>Otpuštanje polifenola iz materijala</i>	17
3.2.10. <i>Folin-Ciocalteu metoda za određivanje ukupnih polifenola</i>	18
3.2.11. <i>Priprema materijala s čistim škrobom i ekstraktom jabuke</i>	18
3.2.12. <i>Statistička analiza</i>	19
4. REZULTATI.....	20
4.1. POLIFENOLNI SPOJEVI JABUKE	21
4.2. ADSORPCIJA POLIFENOLNIH SPOJEVA JABUKE NA ŠKROB.....	27
4.3. OSOBINE MATERIJALA DOBIVENIH OD ŠKROBA S ADSORBIRANIM POLIFENOLIMA JABUKE.....	31
4.4. OSOBINE MATERIJALA DOBIVENOG OD ČISTOG ŠKROBA S VODENIM EKSTRAKTOM JABUKE	33
5. RASPRAVA	35
6. ZAKLJUČAK	40
7. LITERATURA.....	42

1. UVOD

Ambalaža je u današnje vrijeme iznimno važna u životu suvremenog čovjeka. Bez ambalaže i pakiranja namirnica, namirnice ne bi sačuvale svoju kvalitetu i nutritivne vrijednosti. Pod pojmom ambalaža podrazumijevaju se posude koje mogu biti različitih oblika i veličine, napravljene od različitih ambalažnih materijala poput drva, metala, stakla, plastike, tekstila i drugih sirovina (Vujković i sur., 2007). Ambalaža ima funkciju lakšeg transporta i skladištenja proizvoda. Važnost ambalaže je i u njezinoj kvaliteti. Što je ambalaža kvalitetnija, kvalitetnija je i namirnica koja je upakirana u takvu ambalažu. Kvalitetna ambalaža značajno ovisi o tržištu i potrebama potrošača. Ambalaža mora ispunjavati dva uvjeta da bi bila prihvaćena na tržištu, mora maksimalno očuvati kvalitetu proizvoda sa što dužim vijekom trajanja i mora imati idealan dizajn i oblik koji zadovoljava želje potrošača.

Biorazgradivi polimeri smatraju se prikladnom alternativom osnovnoj plastici. Razvoj različitih vrsta ambalažnih materijala od biorazgradivih polimera bilježi porast u posljednjih nekoliko godina. Upotrebom biorazgradivih polimera u pakiranju hrane može se osigurati fizička zaštita tijekom skladištenja i transporta te stvoriti odgovarajući fizikalno-kemijski uvjeti za očuvanje kvalitete i sigurnosti te za produljenje roka trajanja hrane (Vujković i sur., 2007).

Aktivna ambalaža je ambalaža koja otpušta aktivne komponente u hranu ili apsorbira tvari iz hrane, a cilj je produljiti trajnost te poboljšati uvjete skladištenja. Postoje dvije vrste aktivne ambalaže. Prva vrsta je ambalaža koja u ambalažnoj jedinici sadrži vrećice s aktivnim komponentama kao što su adsorberi koji uklanjaju kisik, vlagu, miris, ugljikov dioksid. Druga vrsta je ambalaža koja u osnovnom ambalažnom materijalu sadrži inkorporirane aktivne tvari koje djeluju antioksidativno ili antimikrobno, te time produljuju vijek trajanja namirnice. Takvi aktivni spojevi mogu biti polifenolni spojevi.

U ovom radu cilj je napraviti biorazgradivu foliju od biopolimera škroba s dodanim polifenolima jabuke, koja aktivnu funkciju ostvaruje otpuštanjem polifenola.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Ekološki aspekti ambalaže

Ambalaža za pakiranje postala je ključna za zaštitu hrane od različitih uvjeta okoline. Ovisno o vrsti hrane, ambalaža se može prilagoditi kako bi se spriječio ili inhibirao rast mikroorganizama, izbjeglo kvarenje hrane sprječavanjem ulaska svjetlosti, kisika i vlage ili čak kako bi se spriječilo kvarenje uzrokovano nametnicima. Inovativni načini pakiranja mogu dati razne informacije o kvaliteti zapakirane hrane, čime se u konačnici smanjuje bacanje hrane tijekom distribucije i transporta (Coles i sur., 2003).

Ekološki aspekti ambalaže postaju sve važniji u kontekstu održivog razvoja i smanjenja ekološkog otiska. Ambalaža predstavlja značajan izazov za životnu sredinu zbog svojih materijala, proizvodnje, upotrebe i odlaganja. Procjena ekološkog utjecaja ambalaže uključuje procjenu nekoliko ključnih aspekata kao što su procjena utjecaja materijala, biorazgradivosti i recikliranja na okolinu, te procjena cijelog životnog ciklusa ambalaže (Life Cycle Assessment – LCA) (Hottle i sur., 2013).

Procjena životnog ciklusa (LCA) je alat koji se koristi za kvantitativnu analizu ekološkog utjecaja ambalaže tijekom njezinog cjelokupnog životnog ciklusa - od ekstrakcije sirovina, preko proizvodnje, upotrebe, do krajnjeg odlaganja. LCA pruža uvid u područja gdje se mogu napraviti poboljšanja kako bi se smanjio loš utjecaj ambalaže na okolinu. Studije pokazuju da izbor materijala i proces recikliranja mogu značajno utjecati na ekološki otisak ambalaže (Hottle i sur., 2013).

Materijali koji se koriste za ambalažu imaju veliki utjecaj na životnu sredinu. Materijali, kao što su plastika, staklo, aluminij i papir, imaju različite ekološke profile. Plastična ambalaža, iako lagana i jeftina, predstavlja veliki problem zbog svoje dugotrajne razgradnje i potencijala za onečišćenje okoliša. Biorazgradivi materijali sve više se istražuju kao održive alternative, ali njihova primjena i dalje nosi određene izazove, uključujući ograničenu razgradnju u prirodnim uvjetima i potrebu za posebnim uvjetima kompostiranja.

Uobičajeni materijali koji se koriste za pakiranje hrane su papir, staklo, metal i plastika. Takvi materijali danas se češće koriste zato što su dostupni i imaju dobre karakteristike za pakiranje hrane, kao što su mehanička čvrstoća, prozirnost i svojstva barijere (Vujković i sur., 2007). Najčešće korišteni polimeri dobiveni iz petrokemijskih sirovina mogu se podijeliti u različite skupine:

- poliolefini su polipropilen (PP) ili polietilen (PE). Poliolefini se često koriste za izradu čaša, vrećica za višekratnu upotrebu i samostojećih vrećica, a zamjene za olefine popularno se koriste u prozirnim folijama;
- kopolimeri etilena, kao što su etilen/vinil acetat (EVA) i etilen/vinil alkohol (EVOH), koriste se za izradu folija za poklopce za pladnjeve i zaštitne međuslojeve;
- poliesteri, kao što je poli(etilen-tereftalat) (PET) i drugi poliesteri, uglavnom se koriste prilikom izrađivanja boca;
- poliamidi (PA) se obično koriste u filmovima ili pladnjevima za prehrambene proizvode koji su vrlo osjetljivi na kisik (Coles i sur., 2003).

Procesi proizvodnje ambalaže troše značajne količine energije i resursa. Proizvodnja plastike, na primjer, ovisi o fosilnim gorivima, što doprinosi emisiji stakleničkih plinova i globalnom zatopljenju. Korištenje recikliranih materijala može smanjiti potrebu za novim sirovinama i energijom. Istraživanja pokazuju da se recikliranjem plastične ambalaže može značajno smanjiti njen ekološki otisak, uključujući uštede u energiji i smanjenje emisija ugljikovog dioksida (Hottle i sur., 2013).

Jedan od najvećih izazova je odlaganje ambalaže. Biorazgradivi materijali, kao što su PLA (polilaktid), mogu pomoći u smanjenju otpada, ali njihova efikasnost ovisi o postojanju odgovarajuće infrastrukture za kompostiranje. Nadalje, stope reciklaže ambalaže variraju širom svijeta, ovisno o sustavu upravljanja otpadom. Recikliranje papira, stakla i metala je efikasnije i češće implementirano nego recikliranje plastike (Moshood i sur., 2022).

Dizajn ambalaže igra ključnu ulogu u njezinom ekološkom utjecaju. Ambalaža koja koristi manje materijala (*engl.* lightweighting), ambalaža koja je dizajnirana za jednostavno recikliranje (mono-materijalna ambalaža) i ambalaža koja se može ponovno koristiti (npr. staklene boce) su neki od pristupa koji mogu smanjiti ekološki otisak. Optimalan dizajn ambalaže uključuje balans između funkcionalnosti, troškova i ekoloških aspekata (Hottle i sur., 2013).

Kao alternativa plastici, biorazgradivi polimeri imaju značajan potencijal za primjenu u pakiranju hrane. To bi pomoglo u smanjenju utjecaja sintetičkog plastičnog otpada na okoliš zbog brže razgradnje plastike na bazi biorazgradivih polimera (Vujković i sur., 2007). Biopolimeri se razgrađuju enzimskom aktivnošću mikroorganizama koji se prirodno nalaze u okolišu kao što su alge, bakterije i gljivice te kemijskim procesima kao što je kemijska hidroliza.

Biorazgradivi polimeri se sastoje od cijelog niza materijala s različitim svojstvima i primjenama (Vujković i sur., 2007; Athanassiou 2021).

Razumijevanje i unapređenje ekoloških aspekata ambalaže je ključno za održiv razvoj. Povećanje upotrebe biorazgradivih materijala i materijala koji se mogu reciklirati, optimizacija procesa proizvodnje, poboljšanje sustava reciklaže i dizajn za održivost su koraci koji mogu smanjiti negativan utjecaj ambalaže na životnu sredinu. Održivi pristupi ambalaži ne samo da doprinose očuvanju prirodnih resursa, već i podržavaju ekonomske i društvene aspekte održivog razvoja (Hottle i sur., 2013).

2.2. Plastične folije od biorazgradivih polimera

Biorazgradivi polimeri definirani su kao oni polimerni materijali čija se fizikalna i kemijska svojstva narušavaju i dovode do potpune razgradnje kada se polimeri izlože enzimskom djelovanju mikroorganizama ili utjecaju iz okoline (voda, kisik) (Athanassiou 2021). Razvoj materijala na osnovi ovakvih polimera novo je područje. Biorazgradnja je prirodni proces kojim se organske tvari u okolišu pretvaraju u jednostavnije spojeve, mineraliziraju i redistribuiraju kroz elementarne cikluse. Mikroorganizmi igraju središnju ulogu u procesu biorazgradnje. U odgovarajućim uvjetima vlage, temperature i dostupnosti kisika, biorazgradnja je relativno brz proces (Chandra i sur., 1998). Biorazgradivi polimeri se koriste u vrećama za smeće, omotima, pjenastim materijalima za jastučenje, spremnicima za hranu, u higijenskim proizvodima (pelene, vateni štapići) i kao poljoprivredni alati (malč folije, žardinjere) (Malathi i sur., 2014). Biorazgradivi polimeri korisni su za različite primjene u medicini (Chandra i sur., 1998).

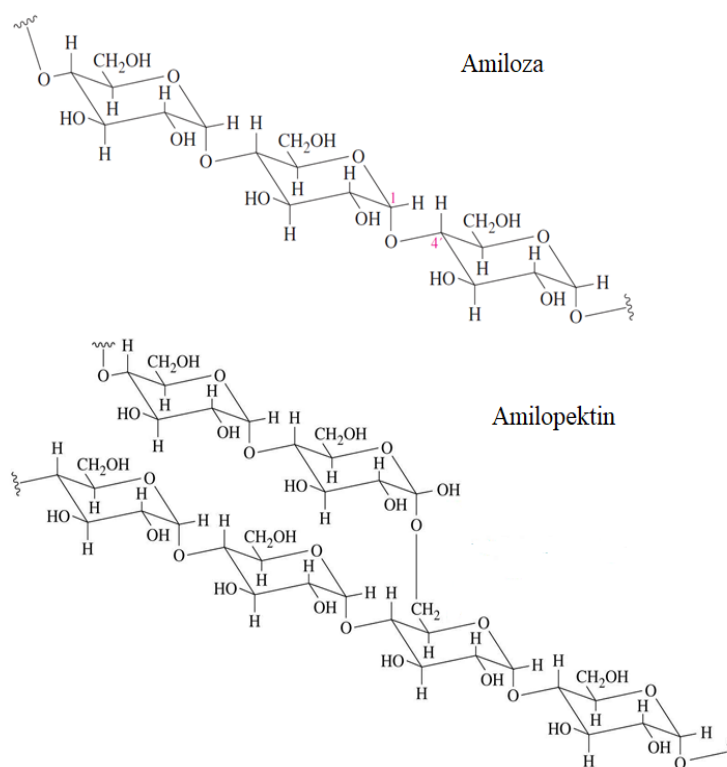
Filmovi na bazi polisaharida i proteina pokazuju slaba svojstva barijere za vlagu zbog svoje hidrofilne prirode, međutim, imaju dobru sposobnost stvaranja filma zajedno s dobrom barijerom za plin (O_2 , CO_2) (Rojas-Graü i sur., 2008). S druge strane, lipidi pokazuju bolju barijeru za vodenu paru od polisaharida i proteina zbog svoje hidrofobne prirode, ali nisu sposobni stvarati samonosive strukture jer su slabi u stvaranju fleksibilnih filmova (Kupervaser i sur., 2023). Dakle, da bi se dobili filmovi sa željenom funkcionalnošću, polisaharidi, proteini i lipidi obično se kombiniraju kako bi se proizveli kompozitni filmovi (Chen i sur., 2019). Glavna težnja u području razvoja kompozitnih filmova su poboljšanje barijernih svojstava za plinove, povećanje funkcionalnosti filma i pojačanje mehaničkih svojstava. Na učinkovitost

takvih filmova utječu kemijske funkcionalne skupine te hidrofobnost polimera. Stoga treba uzeti u obzir hidrofilnu/hidrofobnu prirodu osnovnih polimera koji čini strukturu materijala (Kupervaser i sur., 2023).

2.3. Škrob kao biorazgradivi polimer

Škrob se smatra jednim od najperspektivnijih prirodnih materijala za stvaranje biorazgradive ambalaže zahvaljujući svojoj dostupnosti, biorazgradivosti i niskim cijenama. Škrob je polimer koji se pojavljuje u biljkama. Glavni usjevi koji se koriste za njegovu proizvodnju uključuju žitarice poput krumpira, kukuruza i riže. U svim ovim biljkama škrob se nalazi u obliku granula, koje se razlikuju po veličini i ovise o biljci. Škrob se sastoji od amiloze i amilopektina (**Slika 1**). Amiloza je linearna molekula, a jedinice glukoze povezane su α -1-4 glikozidnom vezom. Amilopektin je visoko razgranati polimer koji sadrži kratke bočne lance. Molekule amilopektina mogu sadržavati do dva milijuna jedinica glukoze povezanih α -1-4 glikozidnom vezom i α -1-6 glikozidnom vezom. Amiloza je kristalna i može imati prosječni broj molekula težine čak 500 000, ali je topiva u kipućoj vodi. Za primjenu u biorazgradivoj plastici, škrob se zadržava netaknutim, ili se topi i miješa s drugim polimerima. U bilo kojem obliku, frakcija škroba može se razgraditi enzimima (Chandra i sur., 1998).

Škrob i njegovi derivati imaju široku primjenu u proizvodnji ambalažnih filmova. S vremenom su filmovi škroba postigli značajna poboljšanja što se tiče mehaničke čvrstoće. Lomljivost škrobnih filmova može se smanjiti upotrebom plastifikatora kao što su glicerol i sorbitol. Omjer amiloze i amilopektina snažno utječe na reološka svojstva/svojstva istezanja filmova (Kupervaser i sur., 2023). Materijali koji se temelje na škrobu smatraju se atraktivnim alternativama uglavnom zbog svoje ekološke prirode (Ortega-Toro i sur., 2017). Materijali na bazi škroba mogu se i kombinirati s dodacima poput antimikrobnih sredstava, antioksidansa i aktivnih nanomaterijala. Dodavanje aktivnog ili antioksidativnog materijala u polimernu osnovu može produžiti vijek trajanja proizvoda. Stoga bi dodatak prirodnih polifenolnih spojeva bio od velike važnosti za razvoj materijala za pakiranje s antibakterijskim i antioksidativnim djelovanjem (Zhang i sur., 2021).



Slika 1 Kemijska struktura škroba

2.4. Aktivna ambalaža

Aktivna ambalaža je ambalaža koja pruža zaštitu hrani i postiže kontrolu kvalitete zapakirane hrane. Može se definirati kao sustav pakiranja koji ima integrirane tvari koje emitiraju ili apsorbiraju tvari u ili iz zapakirane hrane, s ciljem poboljšanja kvalitete namirnice (Singh i sur., 2022). Aktivna ambalaža predstavlja inovativan pristup u pakiranju hrane i drugih proizvoda, čiji je cilj produženje vijeka trajanja, poboljšanje sigurnosti i kvalitete proizvoda te očuvanje njihove svježine. Ova vrsta ambalaže uključuje materijale i tehnologije koje aktivno djeluju sa sadržajem ili okolinom ambalaže, pružajući dodatne funkcionalnosti u odnosu na već poznatu ambalažu. Aktivna ambalaža može uključivati aktivne tvari kao što su antimikrobne tvari, adsorberi kisika, emiteri ugljikovog dioksida, regulatori vlage i druge komponente koje direktno utječu na atmosferu unutar ambalaže (Brody i sur., 2001).

Jedan od ključnih aspekata aktivne ambalaže je sposobnost da smanji mikrobiološki rast i degradaciju proizvoda. Na primjer, antimikrobni filmovi mogu sadržavati prirodne ili sintetičke

antimikrobne agense koji inhibiraju rast patogenih mikroorganizama, čime se produljuje vijek trajanja i poboljšava sigurnost hrane (Rooney, 1995).

Adsorberi kisika predstavljaju još jednu važnu komponentu aktivne ambalaže, koja se koristi za kontrolu oksidacije i smanjenje oksidativnog kvarenja proizvoda. Oksidacija može dovesti do promjene boje, okusa i nutritivne vrijednosti hrane. Adsorberi kisika uklanjaju preostali kisik iz unutrašnjosti ambalaže, čime se sprečava oksidativni stres i produljuje svježina proizvoda (Brody i sur., 2001).

Regulacija vlage je također ključni aspekt aktivne ambalaže. Vлага unutar ambalaže može dovesti do razvoja plijesni i bakterija, te pogoršanja teksture proizvoda. Aktivne ambalaže koje sadrže adsorbere ili emitere vlage mogu pomoći u održavanju optimalnog nivoa vlage, čime se produljuje rok trajanja i očuvanje kvalitete proizvoda. Na primjer, ambalaža s integriranim adsorberima vlage može pomoći u očuvanju hrskavosti žitarica i sprječavanju kondenzacije u pakiranjima svježeg voća i povrća (Brody i sur., 2001).

Sve ove tehnologije čine aktivnu ambalažu snažnim alatom za poboljšanje očuvanja hrane, smanjenje otpada i povećanje sigurnosti hrane. Međutim, važno je napomenuti da je razvoj i implementacija aktivne ambalaže povezan s izazovima kao što su regulacija, troškovi proizvodnje i prihvatljivost potrošača. S obzirom na sve veće zahtjeve za sigurnijom i trajnijom hranom, aktivna ambalaža predstavlja perspektivno rješenje za mnoge izazove u prehrambenoj industriji (Vujković i sur, 2007).

2.5. Polifenolni spojevi

Polifenoli se smatraju prirodnim antioksidansima koji su povezani s potencijalnim protuupalnim učincima, antimikrobnim učincima i prevencijom bolesti. Polifenoli kao prirodni spojevi izrazito su rasprostranjeni u prirodi i uvelike prisutni u ljudskoj ishrani. Igraju ključnu ulogu u zaštiti biljaka od ultraljubičastog zračenja i patogena (Scalbert i sur., 2005). U ljudskoj ishrani, polifenoli su povezani s potencijalnim smanjenim rizika od različitih kroničnih bolesti, uključujući kardiovaskularne bolesti, dijabetes tipa 2 i određene vrste raka. Osobito su prisutni u voću, povrću, čaju, crnom vinu i čokoladi. Međutim polifenoli se razlikuju po kemijskoj strukturi, topljivosti, bioaktivnosti i funkcionalnim učincima kod ljudi (Granato, 2021).

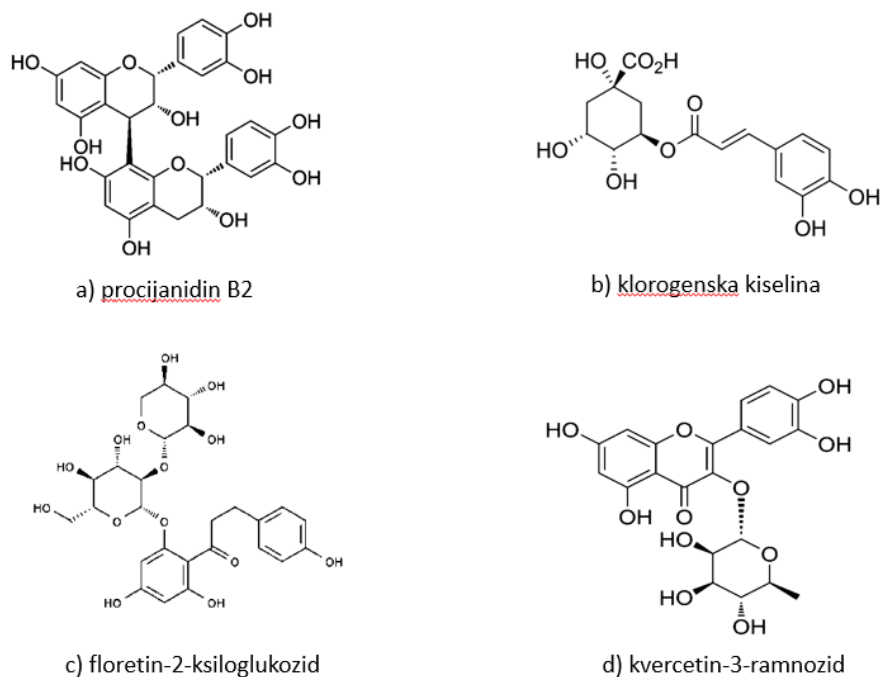
Polifenoli nalaze primjenu u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji:

- **prehrambena industrija:** polifenoli se koriste kao prirodni konzervansi zbog svojih antimikrobnih i antioksidativnih svojstava. Također se dodaju funkcionalnim namirnicama i dodacima ishrani,
- **farmaceutska industrija:** polifenoli se istražuju kao potencijalne aktivne tvari za različite bolesti
- **kozmetička industrija:** polifenoli se koriste u proizvodima za njegu kože zbog svojih antioksidativnih svojstava, koja pomažu u zaštiti kože od oštećenja izazvanih UV zračenjem i starenjem (Fernandes de Araújo i sur., 2021).

Polifenoli predstavljaju važnu grupu prirodnih spojeva sa širokim spektrom bioloških aktivnosti i značajnim potencijalom za primjenu u različitim industrijama. Potrebna su dodatna istraživanja kako bi se potpuno razumjeli mehanizmi djelovanja polifenola i kako bi njihova primjena u industriji i medicini bila učinkovitija.

2.6. Polifenolni spojevi jabuke

Polifenoli u jabukama djeluju kao antioksidansi i na taj način štite plod od UV zračenja, insekata, patogena i gljivičnih infekcija (Scalbert i sur., 2005). Polifenolne skupine u jabukama su flavan-3-oli, dihidrokalkoni, fenolne kiseline, flavonoli i antocijanini. Flavan-3-oli su pokazali nekoliko zdravstvenih blagotvornih učinaka djelujući kao antioksidansi, antikarcinogeni i antimikrobni agensi (Aron i Kennedy, 2008). Fenolne kiseline su široko rasprostranjene u cijelom biljnom carstvu. Interes za fenolne kiseline proizlazi iz njihove potencijalne zaštitne uloge, kroz unos voća i povrća, protiv bolesti uzrokovanih oksidativnim oštećenjima (Robbins, 2003).



Slika 2 Kemijska struktura određenih polifenola prisutnih u jabukama. a) flavan-3-ol; b) fenolna kiselina; c) dihidrokalkon; d) flavonol

2.7. Polifenolni spojevi kao aktivne komponente u biorazgradivom ambalažnom materijalu

Polifenolni spojevi mogu se koristiti kao aktivne komponente u aktivnoj ambalaži. Važni izvori polifenola mogu biti različiti biljni materijali ili nusproizvodi ili otpadni proizvodi iz prehrambene industrije koji su bogati polifenolima.

Polifenoli se mogu ugraditi u biorazgradive i jestive materijale za pakiranje izrađene od biopolimera kao što su polisaharidi (alginati, hitozan, glukomanan ili pektin) što tim materijalima daje poboljšana antioksidativna svojstva i aktivnu ulogu. Ranije studije pokazale su da se ekstrakti zelenog čaja ili ekstrakti sjemenki grožđa mogu ugraditi u alginatne filmove ili u filmove kalcijevog alginata (Biao i sur., 2019). Te su studije pokazale da su dodani polifenolni spojevi poboljšali antioksidacijsku aktivnost filmova (Biao i sur., 2019). U jestive filmove sastavljene od pektina i konjac glukomanana ugrađeni su polifenoli čaja (Lei i sur., 2019). U tim je filmovima također pojačana antioksidativna aktivnost. Drugi primjer je ugradnja polifenola kore jabuke (Riaz i sur., 2018) ili polifenola mlade jabuke (Sun i sur., 2018) u jestive filmove od kitozana gdje su pojačali antioksidacijsku aktivnost filma od kitozana.

Ekstrakti polifenola mogu se ugraditi u biorazgradive i jestive višeslojne filmove kao u slučaju kombinacije želatine i natrijevog alginata. Polifenoli čaja ispitivani su kao aktivna tvar u tim materijalima (Dai i sur., 2022) gdje su poboljšali antioksidativno djelovanje. Osim toga, u antimikrobnim filmovima na bazi kitozana korištena je kombinacija inkapsuliranog eteričnog ulja limuna (LEO) i sok od brusnice. Rezultati su pokazali da je ovaj materijal imao poboljšanu barijeru na UV zračenje, kao i antioksidacijsku aktivnost (Odjo i sur., 2022).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Zadatak rada

Zadatak diplomskog rada je bio napraviti biopolimernu foliju od škroba s dodanim polifenolima jabuke, koja aktivnu funkciju ostvaruje otpuštanjem polifenola. Prema zadatku cilj je bio:

- ekstrahirati polifenolne spojeve iz jabuke pomoću vode ultrazvučnom ekstrakcijom,
- identificirati i kvantificirati polifenolne spojeve pomoću visokodjelotvorne tekućinske kromatografije,
- provesti adsorpciju polifenola na škrob,
- odrediti adsorpcijski kapacitet škroba (q_e) za pojedine polifenole i polifenolne skupine,
- pripremiti biopolimernu aktivnu foliju na dva načina: od škroba koji ima već adsorbirane polifenole te od čistog škroba i vodenog ekstrakta polifenola,
- ispitati debljinu folije, sadržaj vode, topljivost u vodi,
- ispitati aktivnu funkciju otpuštanjem polifenola u 50 % etanolu te u 75 % etanolu,
- ocijeniti realnu mogućnost pripreme aktivnog biopolimera na dva ispitana načina pripreme.

3.2. Materijal i metode

3.2.1. Kemikalije

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

3.2.2. Jabuke

Jabuke (*Malus domestica*) su kupljene u lokalnoj trgovini. Prije pripreme ekstrakta, jabuke su izrezane na četvrtine, odstranjena im je sredina zajedno s košticama. Jabuke su zatim

usitnjene i homogenizirane štapnim mikserom. Nakon stavljanja u plastičnu vrećicu, uzorak je uskladišten u zamrzivaču na $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ jedan dan.

3.2.3. Priprema ekstrakta polifenola jabuke

U laboratorijsku čašu dodano je 50 g homogenizirane jabuke i 250 ml destilirane vode. Polifenoli su ekstrahirani stavljanjem smjese u ultrazvučnu kupelj (Bandelin Sonorex RK 100, Berlin, Njemačka) 30 min. Nakon ultrazvučne kupelji, dobiveni ekstrakt je profiltriran kroz filter papir. Cijeli postupak ekstrakcije ultrazvukom ponovljen je s dodatnih 50 g jabuke. Dva pripremljena ekstrakta su spojena, te je konačan volumen ekstrakta bio oko 500 ml. 1 ml je filtriran kroz PTFE filter ($0,2\text{ }\mu\text{m}$) te analiziran na HPLC uređaju (engl. High-Performance Liquid Chromatography) kako bi se identificirali polifenoli jabuke u ekstraktu te kako bi se odredila njihova količina prije adsorpcije na škrob ($c_0\text{ (mg l}^{-1}\text{)}$). Pripremljen ekstrakt upotrijebljen je za adsorpciju polifenola jabuke na škrob.

3.2.4. Adsorpcija polifenola jabuke na škrob

Polifenoli jabuke adsorbirani su na škrob tijekom 24 h, prema sljedećem postupku. U laboratorijsku čašu stavljeno je 100 g škroba, 500 ml ekstrakta jabuke, te je mješavina stavljena na tresilicu (IKA KS 130 Basic, Staufen, Njemačka) 24 h. Ekstrakt je odvojen od škroba, a škrob s adsorbiranim polifenolima je sušen u inkubatoru (IN 30 Memmert, Schwabach, Njemačka) na 50°C do konstantne mase. Ekstrakt zaostao nakon adsorpcije filtriran je (PTFE filter, $0,2\text{ }\mu\text{m}$), te analiziran je na HPLC uređaju da bi se odredila količina polifenolnih spojeva nakon adsorpcije ($c_e\text{ (mg l}^{-1}\text{)}$). Škrob s adsorbiranim polifenolima jabuke upotrijebljen je za pripravu biopolimernog, aktivnog materijala.

3.2.5. Analiza polifenola visokodjelotvornom tekućinskom kromatografijom (HPLC)

Ekstrakti polifenola jabuke prije i nakon adsorpcije na škrob analizirani su na uređaju 1260 Infinity II (Agilent Technology, Santa Clara, Kalifornija, Sjedinjene Američke Države). Uređaj se sastoji od kvarterne pumpe, PDA detektora (engl. photodiodearray detector, PDA) i vialsamplera, kolone Poroshell 120 EC C-18 (unutrašnjeg promjera $4,6\text{ x }100\text{ mm}$, promjer

čestica 2,7 μm) koja je zaštićena pretkolonom (Poroshell 120 EC-C18, 4,6 mm) (Agilent technology, Santa Clara, Kalifornija, Sjedinjene Američke Države). Da bi se razdvojili polifenoli, korištena je 0,1 % fosfatna kiselina (mobilna faza A) i 100 %-tni metanol (mobilna faza B), a primijenjen je gradijent koji uključuje povećanje postotka mobilne faze B do 80 % te smanjenje na početne uvjete (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) Protok je uspostavljen s 0,5 ml min⁻¹. Uzorci su injektirani u volumenu 10 μl . Polifenoli su identificirani prema UV/Vis spektrima (200 do 600 nm) te vremenima zadržavanja autentičnih standarda. Za kvantifikaciju su korišten kalibracijske krivulje autentičnih standarda polifenola ranije konstruirane.

3.2.6. Računanje adsorpcijskog kapaciteta škroba

Adsorpcijski kapacitet (q_e (mg g⁻¹) koji predstavlja količinu polifenola adsorbiranih na škrob (mg polifenola po g škroba) izračunat je pomoću **formule (1)**:

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

gdje je c_0 masena koncentracija polifenola jabuke u ekstraktu prije adsorpcije na škrob (mg l⁻¹), c_e masena koncentracija polifenola jabuke u ekstraktu nakon adsorpcije na škrob (mg l⁻¹), V_m je ukupan volumen reakcijske smjese (l), m je masa škroba (g) u reakcijskoj smjesi.

3.2.7. Priprema biorazgradivog materijala od škroba s adsorbiranim polifenolima jabuke

Priprema materijala odvijala se u dva seta eksperimenata. U prvom setu eksperimenata materijal je pripreman od 2,5 g škroba s adsorbiranim polifenolima. Četiri reakcijske smjese sastojale su se od 2,5 g škroba s adsorbiranim polifenolima jabuke i 50 ml vode, i miješane su na vodenoj kupelji (Grant JB Academy, Shepreth Cambridgeshire, Ujedinjeno Kraljevstvo) na 100 °C 15 min. Nakon 15 minuta, u pojedinu reakcijsku smjesu dodan je plastifikator glicerol u različitoj količini (0,5, 1, 2 i 2,5 glicerola). Smjese su kuhane još 5 minuta te nakon toga izlivena u staklenu Petrijevu zdjelicu. U drugom setu eksperimenata, materijal je pripreman od 5 g škroba s adsorbiranim polifenolima. U četiri reakcijske smjese dodano je 5 g škroba s

adsorbiranim polifenolima i 50 ml vode. Smjere su miješane u vodenoj kupelji na 100 °C 15 min. Nakon 15 minuta, u pojedinu reakcijsku smjesu dodan je plastifikator glicerol u različitoj količini (0,5, 1, 2 i 2,5 glicerola). Smjese su kuhane još 5 minuta te nakon toga izliveno u staklenu Petrijevu zdjelicu. Nakon sušenja na zraku, određena je debljina svih osam folija, sadržaj vode te topljivost u vodi.

3.2.8. Određivanje debljine materijala, sadržaja vode te topljivosti u vodi

Debljina pripremljenih materijala mjerena je pomoću mjerača debljine (Mini digital thickness gauge). Da bi se odredio sadržaj vode i topljivost u vodi, odrezani su komadi površine 1 cm² od svakog pripremljenog materijala te izvagani (m_0). Materijali su sušeni na 80 °C 24 h u inkubatoru i izvagani (m_1). Osušeni materijali stavljeni su u 2 ml 50 % etanola na 24 h. Nakon što su izvađeni iz 50 % etanola, sušeni su u inkubatoru (80 °C, 24 h) i izvagani (m_2).

Sadržaj vode određen je prema **formuli (2)**:

$$\text{sadržaj vode} = \frac{m_0 - m_1}{m_0} * 100$$

Topljivost u vodi određen je prema **formuli (3)**:

$$\text{topljivost u vodi} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} * 100$$

3.2.9. Otpuštanje polifenola iz materijala

Da bi se pratilo otpuštanje polifenola u vremenu, odrezan je 1 g jednog odabranog materijala (materijal pripremljen od 5 g škroba i 2,5 g glicerola), izrezan na male komadiće te stavljen u plastičnu kivetu. U kivetu je otpipetirano 3 ml 50 % etanola. Smjesa je stavljena na tresilicu 180 minuta. Iz ekstrakta su uzimani alikvoti od 30 µl nakon određenih vremenskih perioda (5, 10, 20, 30, 60, 120 i 180 min). Alikvoti su analizirani Folin-Ciocalteu metodom kojom se određuje količina ukupnih polifenola.

Da bi se odredila ukupna količina otpuštenih polifenola iz materijala, 1 g istog materijala izrezan je na manje komadiće te stavljen u plastičnu kivetu. U kivetu je otpipetirano 3 ml 75 % etanola, nakon čega je kiveta stavljena u ultrazvučnu kupelj na 30 minuta da bi se učinkovito

otпусти polifenoli. Ekstrakt je odekantiran, a alikvot od 30 μl je upotrijebljen za određivanje polifenola Folin-Ciocalteu metodom.

3.2.10. Folin-Ciocalteu metoda za određivanje ukupnih polifenola

U staklenu kivetu otpipetirani su reagenski i uzorak (2370 μl H_2O , 30 μl uzorka, 150 μl Folin-Ciocalteu reagensa te 450 μl natrijevog karbonata (200 g l^{-1})). Nakon 30 minuta u inkubatoru ($40 \text{ }^\circ\text{C}$) 30 min, u smjesi je izmjerena A na 765 nm na spektrofotometru (UV 1280, Shimadzu, Kyoto, Japan) prema slijepoj probi. Pomoću kalibracijske krivulje galne kiseline, određena je ukupna količina polifenola u ekstraktu (mg l^{-1}).

3.2.11. Priprema materijala s čistim škrobom i ekstraktom jabuke

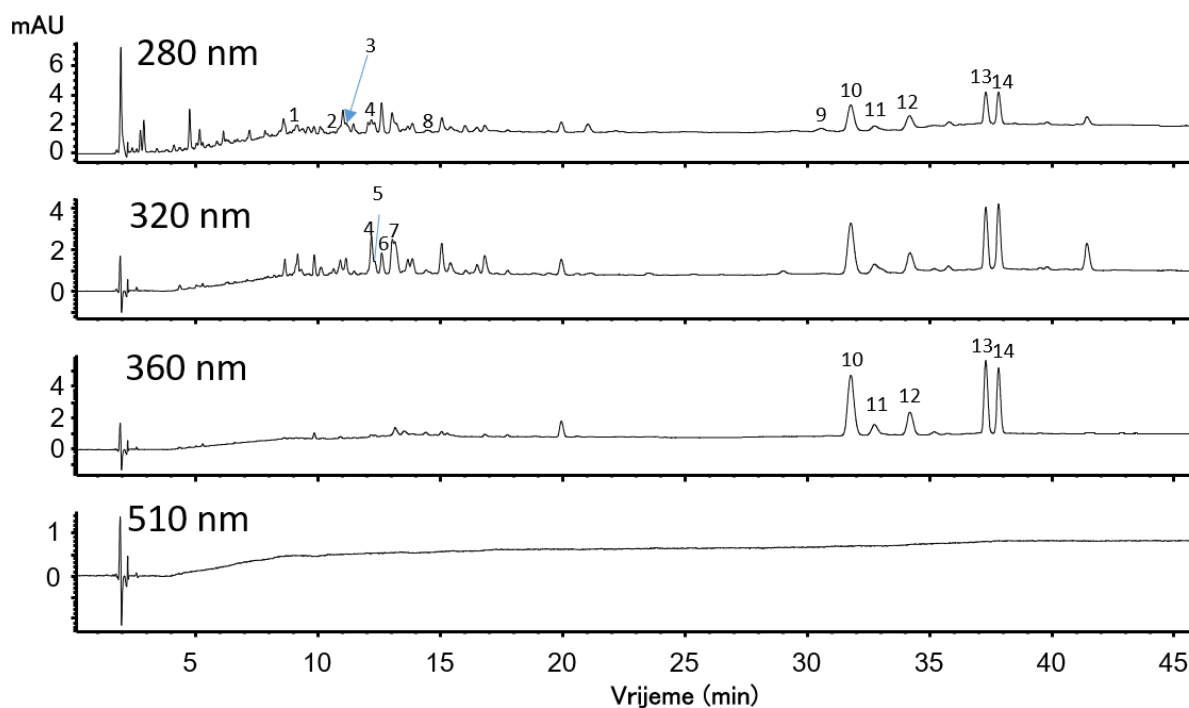
Ekstrakt jabuke pripremljen je ponovo na isti opisani način, ali od čistog škroba u koji je dodan ekstrakt jabuke. Biorazgradivi materijal pripremljen je u dva seta eksperimenata. Prvi je uključivao pripremu materijala s 2,5 g škroba, a drugi s 5 g škroba. U prvom setu eksperimenata, dvije reakcijske smjese sastojale su se od 2,5 g čistog škroba i 50 ml ekstrakta jabuke, i miješane su u vodenoj kupelji (Grant JB Academy, Shepreth Cambridgeshire, Ujedinjeno Kraljevstvo) na $100 \text{ }^\circ\text{C}$ 15 min. Nakon 15 minuta, u pojedinu reakcijsku smjesu dodan je plastifikator glicerol u različitoj količini (2,5 i 5 g glicerola). Smjese su kuhane još 5 minuta te nakon toga izliveno u staklenu Petrijevu zdjelicu. U drugom setu eksperimenata, dvije reakcijske smjese sastojale su se od 5 g čistog škroba i 50 ml ekstrakta jabuke, i miješane su u vodenoj kupelji na $100 \text{ }^\circ\text{C}$ 15 min. Nakon 15 minuta, u pojedinu reakcijsku smjesu dodan je plastifikator glicerol u različitoj količini (2,5 i 5 g glicerola). Smjese su kuhane još 5 minuta te nakon toga izliveno u staklenu Petrijevu zdjelicu. Nakon sušenja na zraku, određena je debljina svih folija, sadržaj vode te topljivost u vodi prema prije opisanom postupku. Također je proveden eksperiment otpuštanja polifenola u 50 % etanol tijekom 240 min te ukupnog otpuštanja polifenola u 75 % etanol, prema prije opisanom postupku, u svakom od četiri pripremljena materijala.

3.2.12. Statistička analiza

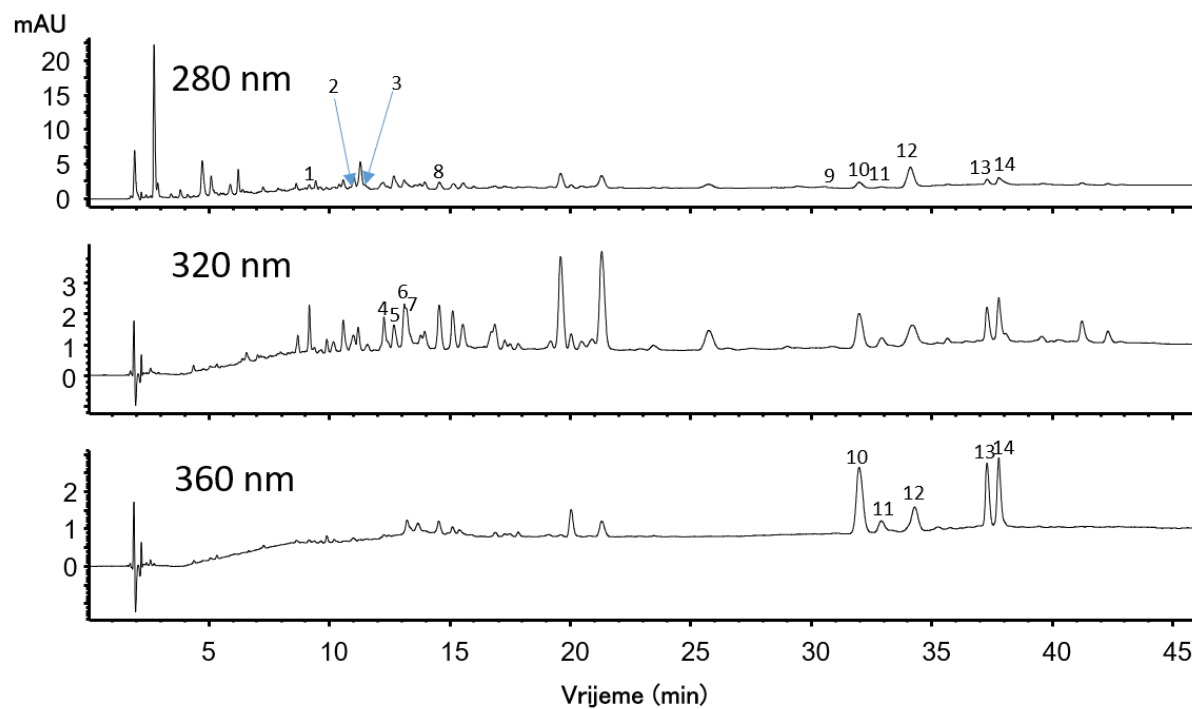
Identifikacija i kvantifikacija polifenola na HPLC sustavu provedena je za svaki uzorak dva puta (n=2). Eksperiment otpuštanja polifenola iz biorazgradivih materijala pripremljenih od škroba s adsorbiranim polifenolima i vodom proveden je u dvije paralele, svaka mjerena dva puta na spektrofotometru (n=4). Eksperiment otpuštanja polifenola iz materijala koji su pripremljeni od čistog škroba s ekstraktom jabuke, izveden je za svaki pripremljeni materijal, dva puta (n=2). Svi rezultati prikazani su kao srednja vrijednost \pm standardno odstupanje.

4. REZULTATI

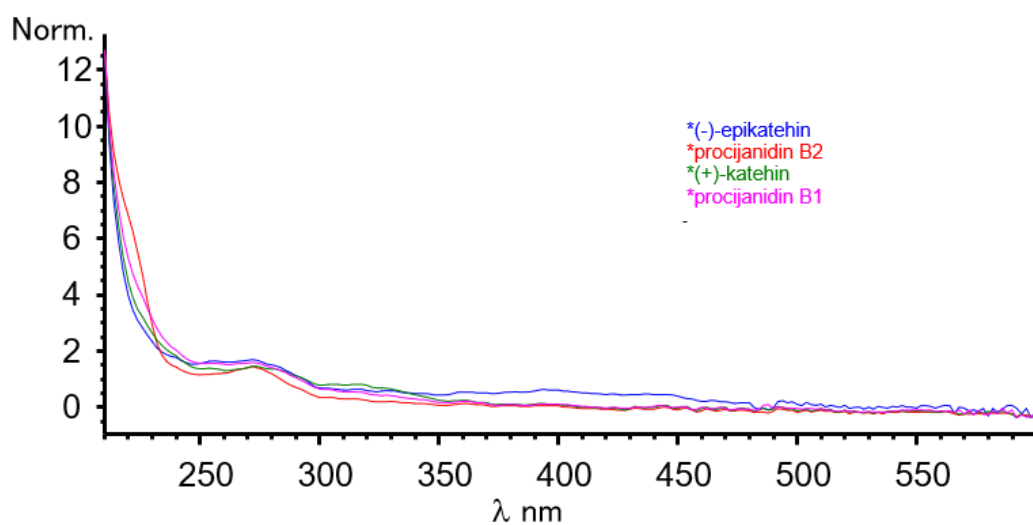
4.1. Polifenolni spojevi jabuke



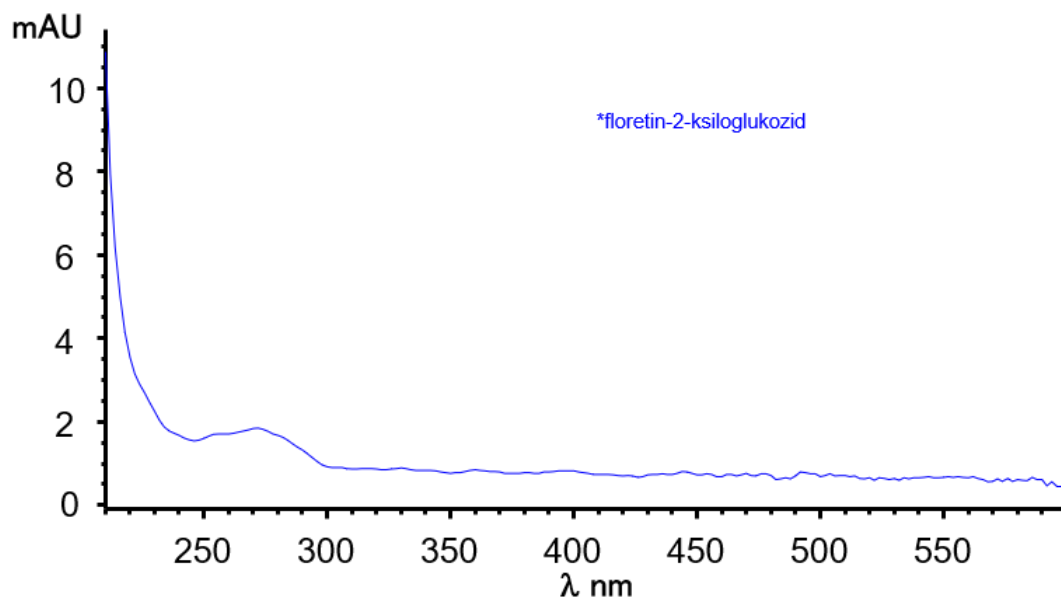
Slika 3 Kromatogram ekstrakta jabuke sniman na 280, 320, 360 i 510 nm s identificiranim spojevima 1 – procijanidin B1, 2 – (+)-katehin, 3 – procijanidin B2, 4 – klorogenska kiselina, 5 – fenolna kiselina 1, 6 – fenolna kiselina 2, 7 – izomer klorogenske kiseline, 8 – (-)-epikatehin, 9 – floretin-2-ksiloglukozid, 10 – kvercetin-3-galaktozid, 11 – kvercetin-3-glukozid + kvercetin-3-rutinozid, 12 – derivat kvercetina, 13 – kvercetin-3-ksilozid, 14 – kvercetin-3-ramnozid



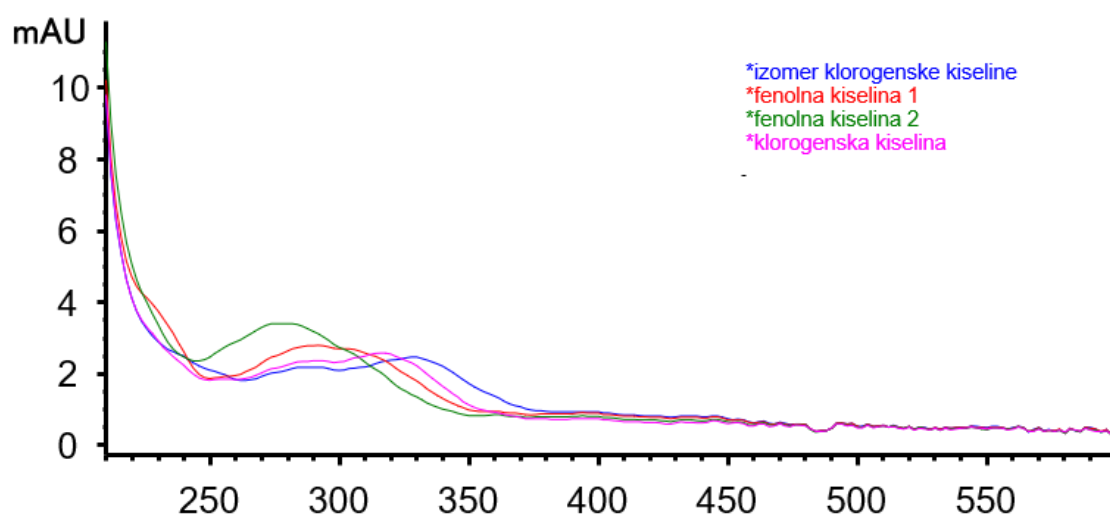
Slika 4 Kromatogram ekstrakta jabuke nakon adsorpcije na škrob sniman na 280, 320 i 360 nm s identificiranim spojevima 1 – procijanidin B1, 2 – (+)-katehin, 3 – procijanidin B2, 4 – klorogenska kiselina, 5 – fenolna kiselina 1, 6 – fenolna kiselina 2, 7 – izomer klorogenske kiseline, 8 – (-)-epikatehin, 9 – floretin-2-ksiloglukozid, 10 – kvercetin-3-galaktozid, 11 – kvercetin-3-glukozid + kvercetin-3-rutinozid, 12 – derivat kvercetina, 13 – kvercetin-3-ksilozid, 14 – kvercetin-3-ramnozid



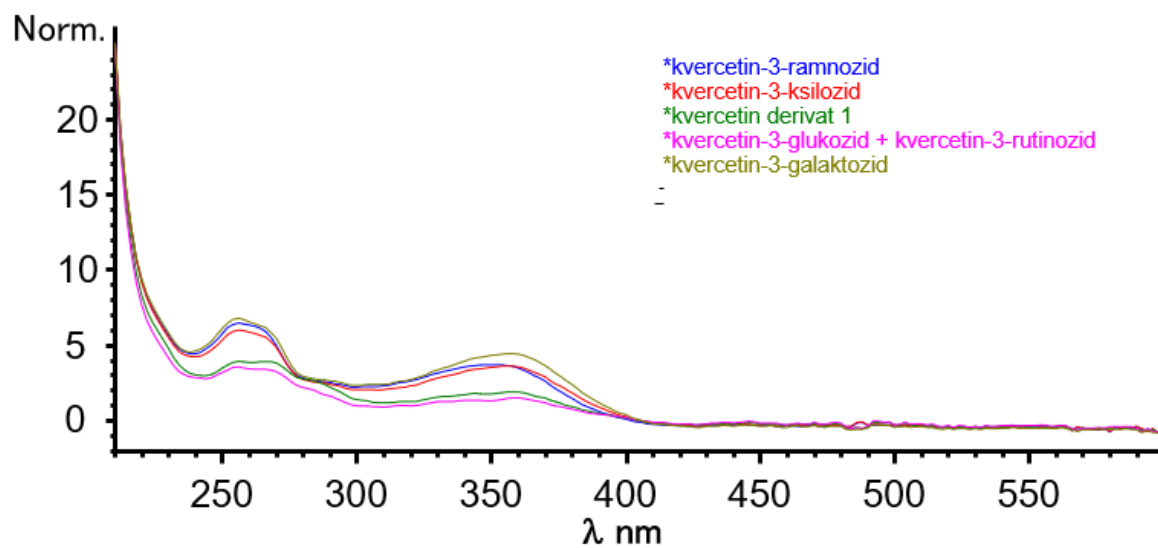
Slika 5 UV/Vis spektri flavan-3-ola jabuke



Slika 6 UV/Vis spektar dihidrokalkona jabuke



Slika 7 UV/Vis spektri fenolnih kiselina jabuke



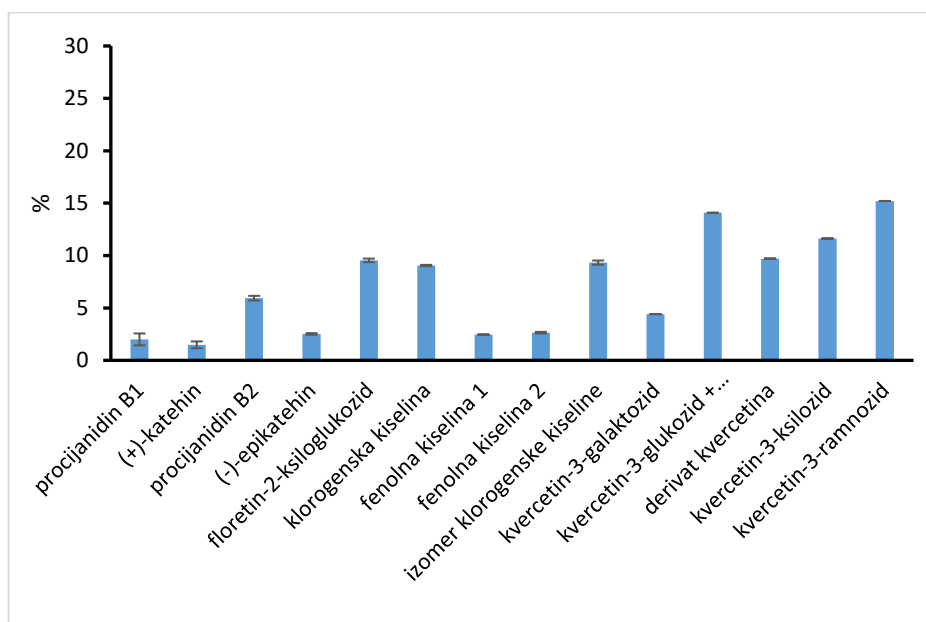
Slika 8 UV/Vis spektri flavonola jabuke

Tablica 1 Količina polifenolnih spojeva u jabuci
(mg kg⁻¹ svježe mase)

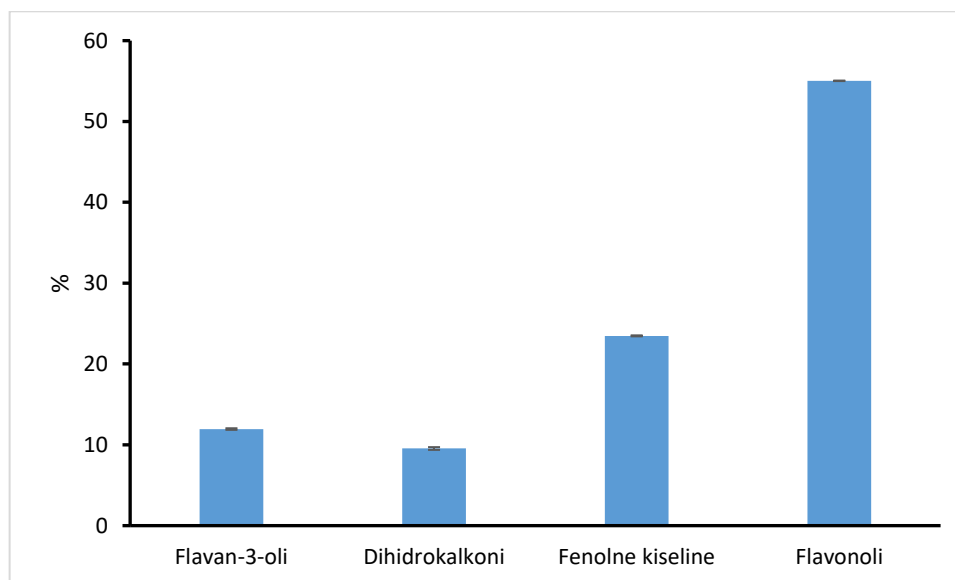
Polifenolni spoj		Količina mg kg ⁻¹
Flavan-3-oli		
	procijanidin B1	1,41 ± 0,40
	(+)-katehin	1,04 ± 0,23
	procijanidin B2	4,17 ± 0,15
	(-)-epikatehin	1,77 ± 0,05
	ukupno	8,40 ± 0,83
Dihidroalkoni		
	floretin-2-ksiloglukozid*	6,71 ± 0,12
	Ukupno	6,71 ± 0,12
Fenolne kiseline		
	klorogenska kiselina	6,36 ± 0,04
	fenolna kiselina 1*	1,73 ± 0,00
	fenolna kiselina 2*	1,86 ± 0,05
	izomer klorogenske kiseline*	6,55 ± 0,14
	Ukupno	16,50 ± 0,24
Flavonoli		
	kvercetin-3-galaktozid	3,10 ± 0,00
	kvercetin-3-glukozid + kvercetin-3-rutinozid	9,90 ± 0,01
	derivat kvercetina*	6,82 ± 0,00
	kvercetin-3-ksilozid*	8,17 ± 0,01
	kvercetin-3-ramnozid	10,69 ± 0,00
	Ukupno	38,67 ± 0,02
	UKUPNO	70,27 ± 1,21

* djelomično identificirani spojevi

Jedan ekstrakt, analiziran dva puta na RP-HPLC uređaju (n=2)



Slika 9 Postotna raspodjela pojedinih polifenolnih spojeva u jabuci



Slika 10 Postotna raspodjela polifenolnih skupina u jabuci

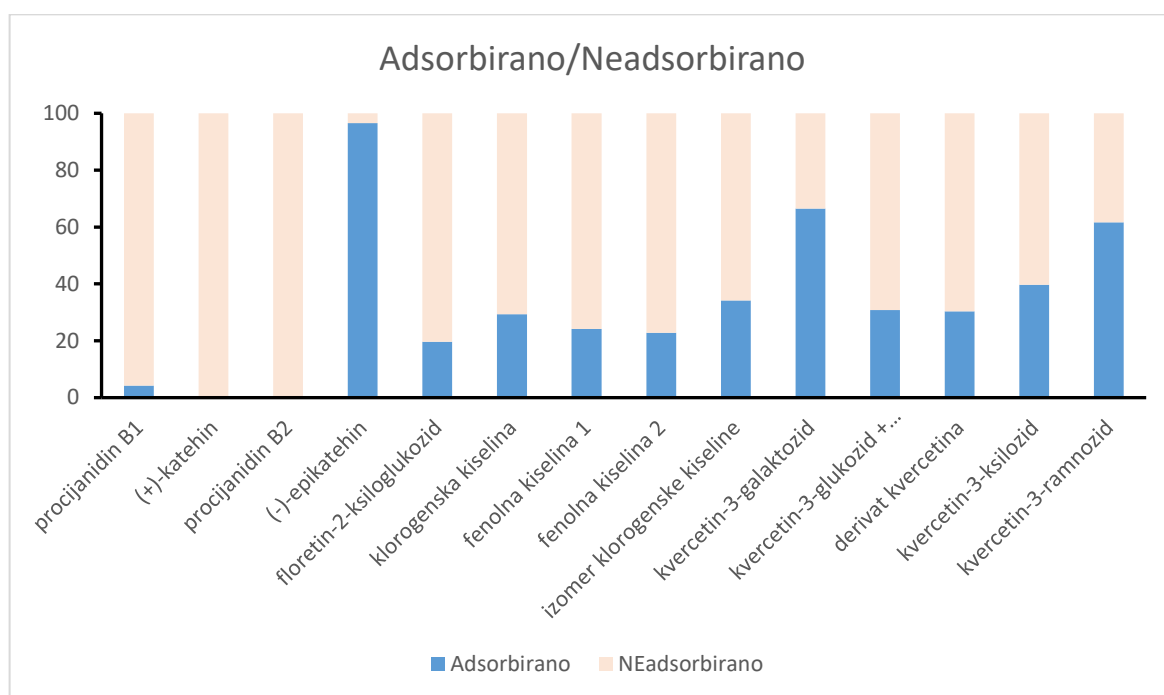
4.2. Adsorpcija polifenolnih spojeva jabuke na škrob

Tablica 2 Koncentracija polifenolnih spojeva nakon adsorpcije na škrob (mg kg^{-1} svježe mase)

Polifenolni spoj	Količina mg kg^{-1}
Flavan-3-oli	
procijanidin B1	$1,35 \pm 0,05$
(+)-katehin	$1,09 \pm 0,48$
procijanidin B2	$6,49 \pm 0,66$
(-)-epikatehin	$0,06 \pm 0,00$
ukupno	$8,99 \pm 1,19$
Dihidrochalkoni	
floretin-2-ksiloglukozid*	$5,38 \pm 0,02$
Ukupno	$5,38 \pm 0,02$
Fenolne kiseline	
klorogenska kiselina	$4,49 \pm 0,00$
fenolna kiselina 1*	$1,31 \pm 0,00$
fenolna kiselina 2*	$1,43 \pm 0,01$
izomer klorogenske kiseline*	$4,32 \pm 0,03$
Ukupno	$11,55 \pm 0,03$
Flavonoli	
kvercetin-3-galaktozid	$1,04 \pm 0,00$
kvercetin-3-glukozid + kvercetin-3-rutinozid	$6,85 \pm 0,12$
derivat kvercetina*	$4,75 \pm 0,00$
kvercetin-3-ksilozid*	$4,93 \pm 0,00$
kvercetin-3-ramnozid	$4,09 \pm 0,00$
Ukupno	$21,65 \pm 0,13$
UKUPNO	$47,58 \pm 1,38$

* djelomično identificirani spojevi

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



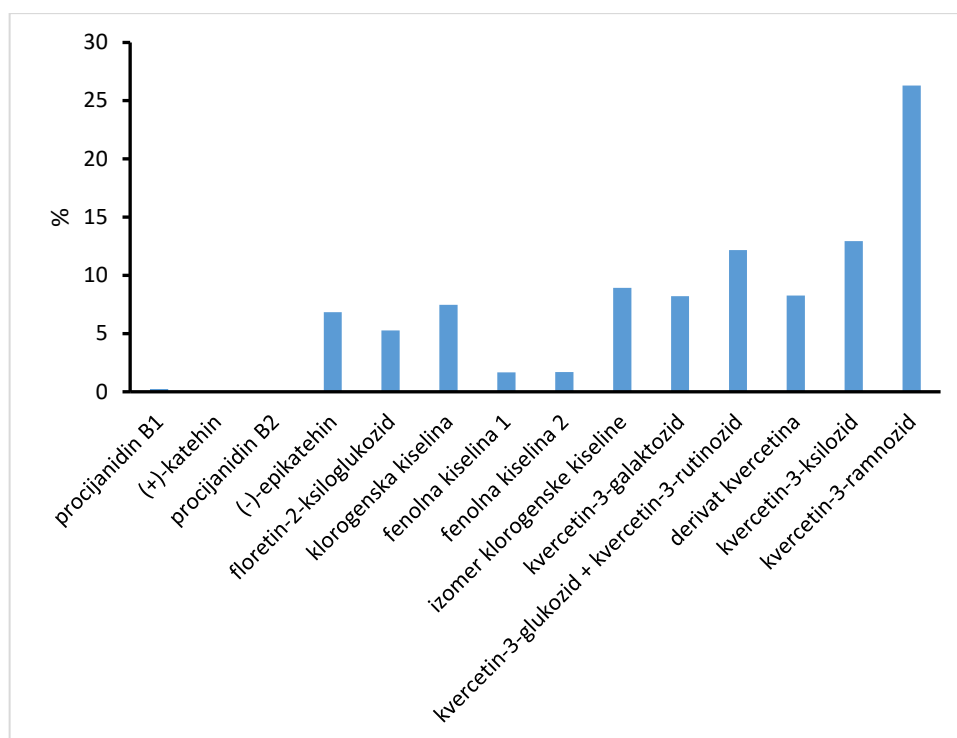
Slika 11 Postotna raspodjela adsorbiranih i neadsorbiranih polifenolnih spojeva na škrob. Postotak računat s obzirom na količinu polifenola (mg kg^{-1} svježe mase voća) prije i nakon adsorpcije

Tablica 3 Količina polifenolnih spojeva prije i nakon adsorpcije te količina polifenolnih spojeva adsorbiranih na škrob (adsorpcijski kapacitet) (mg g^{-1} škroba)

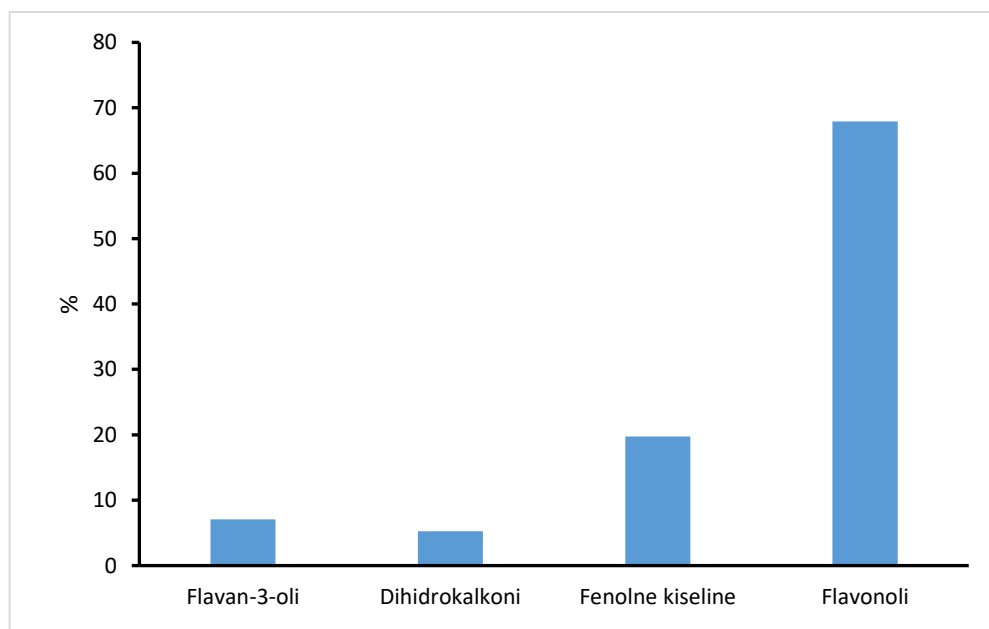
Polifenolni spoj	Prije adsorpcije mg	Nakon adsorpcije mg	Adsorpcijski kapacitet mg g^{-1}
Flavan-3-oli			
procijanidin B1	0,141 ± 0,040	0,135 ± 0,005	0,0001
(+)-katehin	0,104 ± 0,023	0,109 ± 0,048	
procijanidin B2	0,417 ± 0,015	0,649 ± 0,066	
(-)-epikatehin	0,177 ± 0,005	0,006 ± 0,000	0,0017
ukupno	0,840 ± 0,083	0,899 ± 0,119	0,002
Dihidrokaloni			
floretin-2-ksiloglukozid*	0,670 ± 0,012	0,538 ± 0,002	0,0013
Ukupno	0,670 ± 0,012	0,538 ± 0,002	0,001
Fenolne kiseline			
klorogenska kiselina	0,636 ± 0,004	0,449 ± 0,000	0,0019
fenolna kiselina 1*	0,173 ± 0,000	0,131 ± 0,000	0,0004
fenolna kiselina 2*	0,186 ± 0,005	0,143 ± 0,001	0,0004
izomer klorogenske kiseline*	0,655 ± 0,014	0,432 ± 0,003	0,0022
Ukupno	1,650 ± 0,024	1,155 ± 0,003	0,005
Flavonoli			
kvercetin-3-galaktozid	0,310 ± 0,000	0,104 ± 0,000	0,0021
kvercetin-3-glukozid + kvercetin-3-rutinozid	0,989 ± 0,001	0,685 ± 0,012	0,0030
derivat kvercetina*	0,682 ± 0,000	0,475 ± 0,000	0,0021
kvercetin-3-ksilozid*	0,817 ± 0,001	0,493 ± 0,000	0,0032
kvercetin-3-ramnozid	1,069 ± 0,000	0,409 ± 0,000	0,0066
Ukupno	3,867 ± 0,002	2,165 ± 0,013	0,017
UKUPNO	7,027 ± 0,121	4,757 ± 0,138	0,025

* djelomično identificirani spojevi

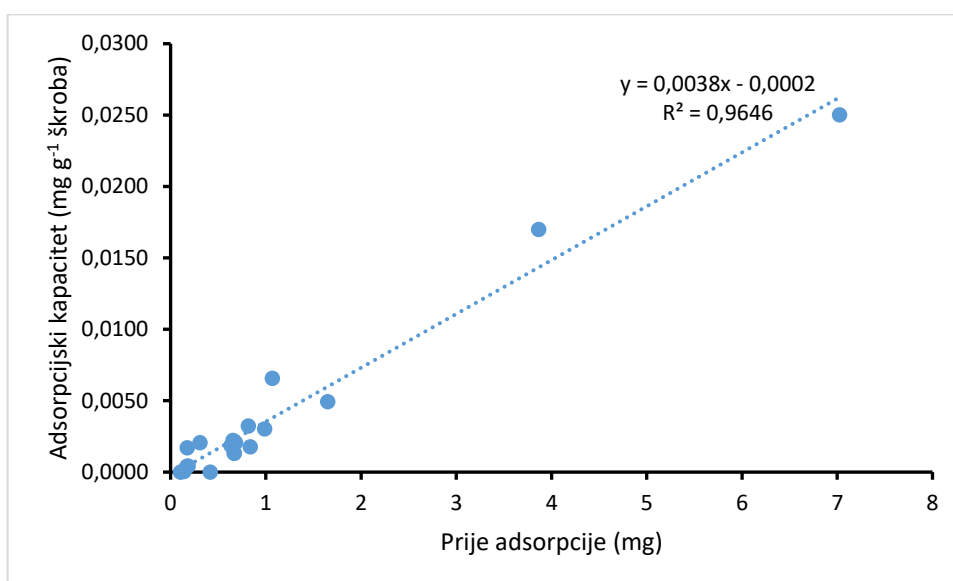
Ekstrakt analiziran dva puta na RP-HPLC uređaju (n=2)



Slika 12 Postotna raspodjela polifenolnih spojeva iz jabuke u ukupnom adsorpcijskom kapacitetu



Slika 13 Postotna raspodjela polifenolnih skupina iz jabuke u ukupnom adsorpcijskom kapacitetu



Slika 14 Korelacija između mase pojedinih polifenolnih spojeva, polifenolnih skupina i ukupnih polifenola prisutnih u otopini prije adsorpcije (mg) i njihove količine adsorbirane na škrob (mg g⁻¹ škroba)

4.3. Osobine materijala dobivenih od škroba s adsorbiranim polifenolima jabuke

Tablica 4 Debljina materijala

Škrob %	Glicerol g	Debljina filma mm
5	0,5	
5	1	0,42
5	2	0,47
5	2,5	0,57
10	0,5	1,31
10	1	0,67
10	2	0,75
10	2,5	0,87

Materijal dobiven različitim udjelima škroba s adsorbiranim polifenolima (%) u vodi (50 ml) te različitom masom plastifikatora glicerola (g)

Tablica 5 Sadržaj vode i topljivost u vodi dobivenih materijala

Škrob %	Glicerol g	Sadržaj vode %	Topljivost u vodi %
5	0,5		
5	1	5,8	44,3
5	2	24,6	59,9
5	2,5	5,4	58,7
10	0,5	6,4	14,4
10	1	8,7	21,8
10	2	5,7	33,3
10	2,5	9,9	45,2

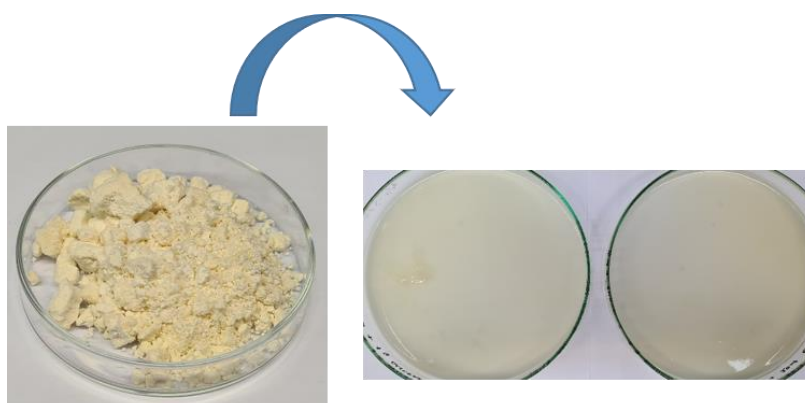
Materijal dobiven različitim udjelima škroba s adsorbiranim polifenolima (%) u vodi (50 ml) te različitom masom plastifikatora glicerola (g)

Tablica 6 . Otpuštanje ukupnih polifenola u 50 % etanolu tijekom vremena te ukupno otpušteni polifenoli u 75 % etanolu

Vrijeme Min	Prva paralela mg/g	Druga paralela mg/g
5	0,044 ±0,000	-0,017 ±0,002
10	0,011 ±0,001	0,041 ±0,002
20	0,034 ±0,001	0,006 ±0,000
30	0,047 ±0,001	0,082 ±0,001
60	0,033 ±0,001	0,040 ±0,001
120	0,034 ±0,000	0,030 ±0,000
180	0,044 ±0,001	0,032 ±0,000
Ukupno otpušteni	0,03 ±0,000	

Otpuštanje tijekom vremena provedeno je u 50 % etanolu.

Ukupno otpuštanje polifenola provedeno je u 75 % etanolu te uz pomoć ultrazvučne kupelji 30 min



Slika 15 Priprava biorazgradivog materijala na bazi škroba s adsorbiranim polifenolima jabuke

4.4. Osobine materijala dobivenog od čistog škroba s vodenim ekstraktom jabuke

Tablica 7 Debljina materijala

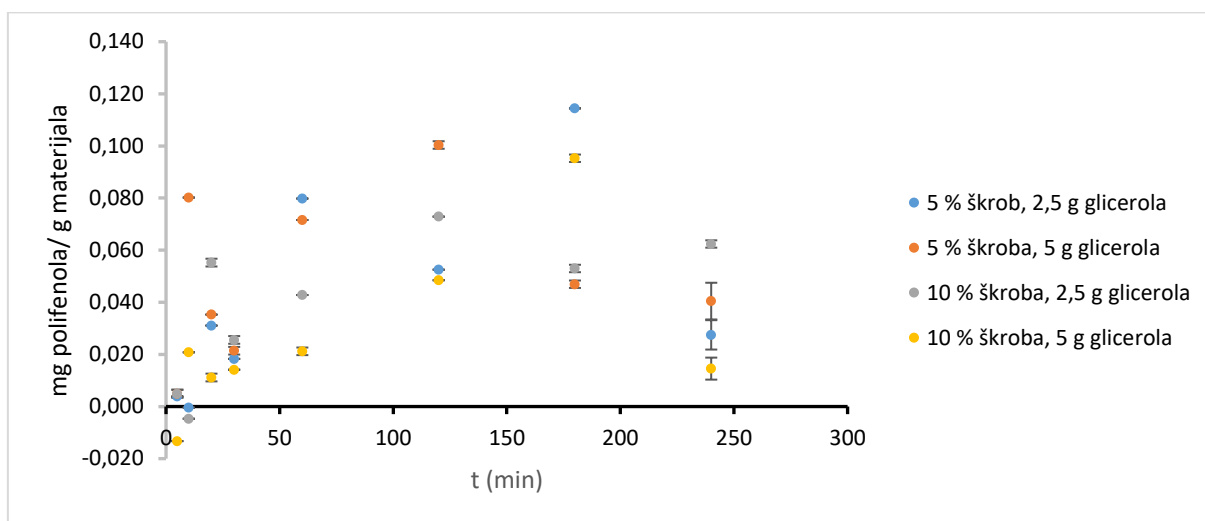
škrob %	glicerol g	Debljina filma mm
5	2,5	1,5
5	5	1,3
10	2,5	0,9
10	5	0,2

Materijal dobiven različitim udjelima škroba (%) u ekstraktu jabuke (50 ml) te različitom masom plastifikatora glicerola (g)

Tablica 8 Sadržaj vode i topljivost u vodi dobivenih materijala

Škrob %	glicerol g	sadržaj vode %	topljivost u vodi %
5	2,5	7,0	7,5
5	5	6,0	62,1
10	2,5	6,1	10,5
10	5	6,8	45,9

Materijali dobiveni različitim udjelima škroba (%) u ekstraktu jabuke (50 ml) te različitom masom plastifikatora glicerola (g)



Slika 16 Otpuštanje ukupnih polifenola u 50 % etanolu u vremenskom periodu 240 min iz materijala. Materijali su dobiveni različitim udjelima škroba (%) u ekstraktu jabuke (50 ml) te različitom masom plastifikatora glicerola (g)

Tablica 9 Ukupno otpušteni polifenoli u 75 % etanolu uz pomoć ultrazvuka

Škrob %	Glicerol g	Ukupni polifenoli mg g^{-1} materijala
5	2,5	$0,184 \pm 0,000$
5	5	$0,096 \pm 0,000$
10	2,5	$0,057 \pm 0,000$
10	5	$0,066 \pm 0,000$



Slika 17. Materijal pripremljen od 5 % škroba s dodatkom vodenog ekstrakta jabuke, te s 2,5 % glicerola, s upotrebom Petrijeve zdjelice većih dimenzija

5. RASPRAVA

Slika 3 prikazuje kromatogram ekstrakta jabuke sniman na 280, 320, 360 i 510 nm s prikazom identificiranih spojeva. U ekstraktu su identificirani procijanidin B1, (+)-katehin, procijanidin B2 i (-)-epikatehin koji pripadaju skupini flavan-3-ola. Sljedeća skupina spojeva koja je identificirana je skupina fenolnih kiselina iz koje je identificirana klorogenske kiselina. Osim toga, u ekstraktu su pronađene neidentificirane fenolne kiseline (fenolna kiselina 1, fenolna kiselina 2 i izomer klorogenske kiseline). Od flavonola su identificirani , kvercetin-3-galaktozid, kvercetin-3-glukozid i kvercetin-3-rutinozid koji su imali isto vrijeme zadržavanja na koloni, kvercetin-3-ksilozid i kvercetin-3-ramnozid. Uočen je jedan nepoznati derivat kvercetina. U ekstraktu je identificiran jedan dihidrokalkon, floretin-2-ksiloglukozid. **Slika 4** prikazuje kromatogram ekstrakta jabuke sniman na 280, 320 i 360 nakon adsorpcije. Nakon adsorpcije identificirani su isti spojevi kao i kod prije adsorpcije. UV/VIS spektri identificiranih polifenola jabuke prikazani su na **Slikama 5-8** i prikazuju karakteristične maksimume apsorpcije. Za flavan-3-ole karakterističan je jedan maksimum na oko 280 nm, slično kao i za dihidrokalkone. Identificirana klorogenska kiselina pokazuje tipičan maksimum apsorpcije na oko 320 nm sa „shoulderom“ na oko 290 nm. Vrlo sličan UV/Vis spektar ima i izomer klorogenske kiseline. Dvije neidentificirane kiseline imaju maksimume apsorpcije na oko 300 nm i 280 nm. Svi flavonoli pokazuju tipične maksimume apsorpcije na oko 250 do 260 nm te na oko 350 do 360 nm. Identifikacija polifenolnih spojeva u jabuci i UV/Vis spektri u skladu su s ranijim istraživanjima (Jakobek i sur., 2020a; Jakobek i sur., 2020b).

U **Tablici 1** prikazana je količina polifenolnih spojeva u jabuci i količine ukupnih polifenola jabuke. Količina flavan-3-ola u jabuci iznosila je 8,40 mg kg⁻¹, dihidrokalkona 6,71 mg kg⁻¹, fenolnih kiselina 16,50 mg kg⁻¹ i flavonola 38,67 mg kg⁻¹. Ukupno se u jabuci nalazilo 70,27 mg kg⁻¹ polifenola. Količine su nešto niže nego u ranijim istraživanjima. Razlog tome je upotreba vode kao ekstrakcijskog otapala, u usporedbi s organskim otapalima koja se uobičajeno koriste (Jakobek i sur., 2020a; Jakobek i sur., 2020b). U ovom istraživanju korištena je voda kao otapalo zbog toga što se vodeni ekstrakt može direktno upotrijebiti za pripremu biorazgradivog materijala.

Postotna raspodjela polifenola i polifenolnih skupina u jabuci prikazana je na **Slikama 9 i 10**. Od pojedinačnih polifenolnih skupina flavonoli su s 55 % najzastupljeniji, a najviše prisutni pojedinačni flavonoli u jabuci bili su kvercetin-3-glukozid zajedno s kvercetin-3-rutinozidom, te kvercetin-3-ramnozid. Nakon flavonola pretežito su rasprostranjene fenolne kiseline – 23,5 % od kojih većinu čine klorogenske kiseline, pa flavan-3-oli – 11,9 %. Najmanje

zastupljeni polifenoli u jabuci su dihidrokalkoni – 9,5 %. Raspodjela polifenola i polifenolnih skupina u skladu je s ranijim istraživanjima (Jakobek i sur., 2020c).

Nakon toga je provedena adsorpcija polifenolnih spojeva iz jabuke na škrob. U **Tablici 2** prikazana je količina polifenola nakon adsorpcije na škrob. Od polifenolnih spojeva nakon adsorpcije najzastupljeniji su bili flavonoli s 21,65 mg kg⁻¹, zatim fenolne kiseline s 11,55 mg kg⁻¹, flavan-3-oli s 8,99 mg kg⁻¹ i dihidrokalkoni s 5,38 mg kg⁻¹. Dobiveni rezultati prikazuju prisutnost manjih količina polifenola nakon adsorpcije (47,58 mg kg⁻¹) nego prije adsorpcije (70,27 mg kg⁻¹). **Slika 11** prikazuje postotnu raspodjelu adsorbiranih i neadsorbiranih polifenolnih spojeva na škrob. Postotak adsorpcije pojedinih polifenola iznosio je od 0 do 97 %. Pojedini spojevi adsorbirali su se gotovo u potpunosti kao (-)-epikatehin koji se adsorbirao 97 %. U visokom postotku adsorbirali su se pojedini flavonoli (kvercetin-3-galaktozid 67 %, kvercetin-3-ramnozid 62 %). Pojedine fenolne kiseline adsorbirale su se od 23 do 34 %. Adsorpcija procijanidina i (+)-katehina bila je niska. Može se primijetiti da su se polifenolne skupine koje su najzastupljenije u jabuci (flavonoli i fenolne kiseline), adsorbirale u većem postotku.

Količina polifenolnih spojeva prije i nakon adsorpcije te količina polifenolnih spojeva adsorbiranih na škrob prikazani su u **Tablici 3**. Vidljivo je smanjenje količine polifenolnih spojeva nakon adsorpcije što upućuje na adsorpciju polifenola na škrob. Iznimka su flavan-3-oli. Ukupni adsorpcijski kapacitet iznosio je 0,025 mg g⁻¹ što je vrlo nisko. Na **Slici 12** prikazana je postotna raspodjela polifenolnih spojeva iz jabuke u ukupnom adsorpcijskom kapacitetu. Polifenol koji je s najvišim postotkom sudjelovao u ukupnom kapacitetu adsorpcije je kvercetin-3-ramnozid (26 %). Ostali flavonoli su u ukupnom kapacitetu sudjelovali od 8 do 13 %. Svi ostali polifenoli manje su zastupljeni. **Slika 13** prikazuje postotnu raspodjelu polifenolnih skupina u ukupnom adsorpcijskom kapacitetu. U ukupnom adsorpcijskom kapacitetu najviše su bili zastupljeni flavonoli (68 %), a slijede ih fenolne kiseline s 20 %, flavan-3-oli sa 7 % te dihidrokalkoni s 5 %.

Iz **Slike 13** može se zaključiti da je postotna raspodjela polifenolnih skupina iz jabuke u ukupnom adsorpcijskom kapacitetu slična postotnoj raspodjeli polifenolnih spojeva prije adsorpcije. Zbog toga je količina polifenola prije adsorpcije stavljena u korelaciju s adsorpcijskim kapacitetom. **Slika 14** prikazuje korelaciju između mase pojedinih polifenolnih spojeva, polifenolnih skupina i ukupnih prisutnih polifenola u otopini prije adsorpcije s adsorpcijskim kapacitetom (mg g⁻¹). Korelacija je visoka i iznosi 0,9646 što znači da su se više adsorbirali polifenoli koji su u ekstraktu bili zastupljeni u većoj količini.

Nakon ispitivanja škroba s polifenolima jabuke, pripremljeni su materijali od ovih škrobova (**Slika 15**). U tablicama koje slijede prikazani su podaci za osobine materijala dobivenih od škroba s adsorbiranim polifenolima jabuke. U **Tablici 4** prikazana je debljina materijala dobivenog s različitim udjelima škroba s apsorbiranim polifenolima i različitom masom plastifikatora glicerola. Materijal napravljen od 5 g škroba s 0.5 g glicerola bio je previše krhak te njegove osobine nisu dalje mjerene. Debljina ostalih filmova varirala je od 0,42 mm (5 % škroba i 1 g glicerola) do 1,31 mm (10 % škroba i 0,5 g glicerola). Debljina je nešto veća nego debljina materijala iz ranijih istraživanja (Luo i sur., 2022; Mendes i sur., 2020; Miao i sur., 2021). Sadržaj vode i topljivost u vodi prikazani su u **Tablici 5**. Sadržaj vode je iznosio od 5,4 % (5 % škroba i 2,5 g glicerola) do 24,6 % (5 % škroba i 2 g glicerola). Ove vrijednosti su slične vrijednostima sadržaja vode u materijalima pripremljenim kroz ranija istraživanja (20 do 24 %) (Miao i sur., 2021). Topljivost u vodi iznosila je od 14,4 % (10 % škroba i 0,5 g glicerola) do 59,9 % (5 % škroba i 2 g glicerola), što je slično ili nešto više od vrijednosti dobivenih u ranijem istraživanju (15 do 16 %) (Miao i sur. 2021). Vidljiv je trend porasta sadržaja vode i topljivosti u vodi s povećanjem količine plastifikatora glicerola. Glicerol je higroskopan te može privlačiti vodu što objašnjava veći sadržaj vode u materijalu s više glicerola. Osim toga, zbog svoje higroskopnosti, utječe na veću topljivost materijala u vodi.

Proveden je eksperiment otpuštanja polifenola u 50 % etanolu s ciljem procjene potencijalne aktivne funkcije materijala. Ukupno otpuštanje polifenola provedeno je u 75 % etanolu te uz pomoć ultrazvučne kupelji na 30 min. U **Tablici 6** prikazane su količine oslobođenih polifenola. Jedan gram ispitivanog materijala otpuštao je od 0,011 do 0,047 mg ukupnih polifenola ili od 0.006 do 0.082 mg polifenola. Te količine bile su niske, ali treba ispitati da li su dovoljne da omoguće aktivnu funkciju materijala.

S obzirom na niske količine oslobođenih polifenola, cilj je bio unaprijediti materijal i poboljšati njegovu aktivnu funkciju. U tom cilju, izrađeni su novi materijali koji su dobiveni od čistog škroba s vodenim ekstraktom jabuke. U **Tablicama 7 i 8** prikazani su rezultati debljine, topljivosti u vodi i sadržaja vode u dobivenim materijalima. Debljina materijala iznosila je od 0,2 mm (10 % škroba i 5 g glicerola) do 1,5 mm (5 % škroba i 2,5 g glicerola), topljivost u vodi od 7,5 % (5 % škroba i 2,5 g glicerola) do 62,1 % (5 % škroba i 5 g glicerola), a sadržaj vode od 6,0 % (5 % škroba i 5 g glicerola) do 7,0 % (5 % škroba i 2,5 g glicerola). Topljivost u vodi pokazala je trend porasta s povećanjem sadržaja glicerola.

Ovi materijali su pokazali značajno bolju sposobnost oslobađanja polifenola. **Slika 16** prikazuje otpuštanje ukupnih polifenola u 50 % etanolu u vremenskom periodu od 240 minuta,

pri čemu se može uočiti da se s produženjem vremena reakcije povećava količina oslobođenih polifenola. Najveća količina otpuštenih polifenola iznosila je $0,114 \text{ mg g}^{-1}$ što je više od polifenola otpuštenih iz materijala pripremljenih od škroba s adsorbiranim polifenolima (**Tablica 6**). **Tablica 9** prikazuje ukupno otpuštene polifenole u 75 % etanolu uz pomoć ultrazvuka. Količina ukupno otpuštenih polifenola iz materijala dobivenih od 5 % škroba i 2,5 i 5 g glicerola iznosila je od $0,096$ do $0,184 \text{ mg g}^{-1}$. Kod materijala dobivenih od 10 % škroba i 2,5 i 5 g glicerola količina ukupno otpuštenih polifenola iznosila je od $0,057$ do $0,066 \text{ mg g}^{-1}$.

S obzirom na dobivene rezultate koji su pokazali da se nešto veća količina polifenola otpušta od materijala napravljenog od čistog škroba s vodenim ekstraktom jabuke, kao konačni rezultat napravljen je takav materijal (5 % čistog škroba, vodeni ekstrakt jabuke, 2,5 % glicerola). Materijal je sušen u Petrijevoj zdjelici većih dimenzija radi dobivanja tanjeg materijala, a prikazan je na **Slici 17**.

Rezultati ovog istraživanja pokazali su da se mogu dobiti materijali od škroba s adsorbiranim polifenolima te od čistog škroba s vodenim ekstraktom polifenola jabuke. No, na škrob su se adsorbirale male količine polifenola jabuke. Zbog toga se može predložiti da se materijali pripravljaју od čistog škroba, uz dodatak ekstrakta bogatog polifenolima. Osim toga, adsorpciju polifenola u većim količinama na škrob potrebno je dodatno istražiti. Glicerol kao plastifikator pokazao je utjecaj na osobine pripremljenih materijala. Materijali s većom količinom glicerola, imali su veći sadržaj vode te veći stupanj topljenja u vodi. Sadržaj glicerola treba prilagoditi zahtjevima namirnice za koju se ovakav materijal može primijeniti. Iz pripremljenih materijala otpuštali su se polifenolni spojevi. No aktivna funkcija ovakvih materijala zahtjeva dodatno istraživanje koje bi pokazalo antioksidativnu i antimikrobnu aktivnost. Osim toga, buduća istraživanja trebaju uključiti mogućnost pakiranja pojedinih namirnica u ovakve materijale.

6. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja, može se izvesti nekoliko zaključaka:

1. U jabuci su identificirani polifenoli koji pripadaju u skupine flavan-3-ola (procijanidin B1, (+)-katehin, procijanidin B2, (-)-epikatehin), dihidrokalkona (floretilin-2-ksiloglukozid), fenolnih kiselina (klorogenska kiselina) i flavonola (kvercetin-3-galaktozid, kvercetin-3-glukozid + kvercetin-3-rutinozid, kvercetin-3-ksilozid i kvercetin-3-ramnozid). Osim identificiranih spojeva, u jabuci su bile prisutne fenolne kiseline te derivat kvercetina koji nisu mogli biti identificirani sa sigurnošću.
2. Najzastupljeniji polifenoli u jabuci bili su flavonoli (55 %), a od njih kvercetin-3-glukozid zajedno s kvercetin-3-rutinozidom te kvercetin-3-ramnozid. Nakon flavonola, rasprostranjene su fenolne kiseline – 23,5 %, flavan-3-oli – 11,9 % te dihidrokalkoni – 9,5 %. Rezultati količine i zastupljenosti polifenola u jabuci u skladu su s ranijim istraživanjima.
3. Proveden je postupak adsorpcije polifenola jabuke na škrob. Isti polifenoli koji su identificirani u jabuci, identificirani su i nakon adsorpcije na škrob.
4. Može se primijetiti da su se polifenolne skupine koje su najzastupljenije u jabuci (flavonoli i fenolne kiseline), adsorbirale na škrob u većem postotku. U ukupnom adsorpcijskom kapacitetu najviše su bili zastupljeni flavonoli (68 %), a slijede ih fenolne kiseline s 20 %, flavan-3-oli sa 7 % te dihidrokalkoni s 5 %. No adsorpcijski kapacitet bio je nizak.
5. Materijali su pripremljeni od škroba s adsorbiranim polifenolima jabuke te od čistog škroba i vodenog ekstrakta jabuke. Sadržaj vode u svim ovim materijalima te njihova topljivost u vodi bili su slični ili su pokazali nešto više vrijednosti od materijala pripremljenih u ranijim istraživanjima. Vidljiv je trend porasta sadržaja vode i topljivosti u vodi s povećanjem količine plastifikatora glicerola.
6. Iz materijala su se otpuštali polifenolni spojevi u 50 % etanol. Nešto bolju karakteristiku otpuštanja polifenola pokazali su materijali pripremljeni od čistog škroba s vodenim ekstraktom polifenola jabuke. S obzirom na to, buduća istraživanja mogla bi biti usmjerena na istraživanje materijala pripremljenog od čistog škroba. Ukoliko se materijali pripremaju od škroba s adsorbiranim polifenolima, potrebno je povećati količinu polifenola koja se adsorbira na škrob. Aktivnu funkciju ovih materijala potrebno je dodatno istražiti. Potrebno je istražiti antioksidativnu i antimikrobnu funkciju materijala.
7. Daljnja istraživanja trebala bi biti usmjerena na detaljnije ispitivanje karakteristika materijala (biorazgradivost, tvrdoća, vlačna čvrstoća, propusnost svjetlosti u UV i Vis području, barijerne karakteristike) i njihove aktivne funkcije.

7. LITERATURA

- Aron, P.M., Kennedy, J.A. (2008) „Flavan-3-ols: Nature, occurrence and biological activity“, *Molecular Nutrition & Food Research*, 52(1), 79–104.
- Athanassiou, A. (2021) . *Sustainable Food Packaging Technology*. Weinheim: Wiley-VCH.
- Biao, Y., Cao, Y., Tang, O., Zigi, Y., Yourong, Z., McClements, D.J., Chongjiang, C. (2019) „Enhanced performance and functionality of active edible films by incorporating tea polyphenols into thin calcium alginate hydrogels“, *Food Hydrocolloids*, 97, 105197.
- Brody, A. L., Strupinsky, E. R, Kline, L. R. (2001) *Active packaging for food applications*. Boca Raton: CRC Press.
- Chandra R., Rustgi, R. (1998) „Biodegradable polymers“, *Progress in Polymer Science*, 23, 1273-1335.
- Chen, G., Dong, S., Zhao, S., Li, S., Chen, Y. (2019) „Improving functional properties of zein film via compositing with chitosan and cold plasma treatment“, *Industrial Crops and Products*, 129, 318–26.
- Coles, R., McDowell, D., Kirwan, M. J. (2003), *Food packaging technology*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd
- Dai, J., Sameen, D. E., Zeng, Y., Li, S., Qin, W., Liu. Y. (2022) „An overview of tea polyphenols as bioactive agents for food packaging applications“. *LWT Food Science and Technology*, 167, 113845.
- Fernandes de Araújo, F., Farias, D. P., Neri-Numa, I. A., Pastore, G. M. (2021) „Polyphenols and their applications: An approach in food chemistry and innovation potential“, *Food Chemistry*, 338, 127535.
- Granato, D. (2021) *Application of Polyphenols in Foods and Food Models*, First edition. Cambridge, MA San Diego, CA Kidlington, Oxford London: Academic Press.
- Hottle, T. A., Bilec, M. M., Landis, A. E. (2013) „Sustainability assessments of bio-based polymers“, *Polymer Degradation and Stability*, 98(9), 1898–1907.
- Jakobek, L, Buljeta, I., Ištuk, J., Barron, R.A. (2020a) ‘Polyphenols of traditional apple varieties in Interaction with barley β -glucan: A study of the adsorption process’, *Foods*, 9(9), 1278.

- Jakobek, L., Ištuk J., Buljeta I., Voća S., Šic Žlabur J., Skendrović Babojelić M. (2020b) 'Traditional, indigenous apple varieties, a fruit with potential for beneficial effects: Their quality traits and bioactive polyphenol contents', *Foods*, 9(1), 52.
- Jakobek, L., Ištuk, J., Buljeta, I., Voća, S., Šic Žlabur, J., Lesičar, J., Skendrović Babojelić, M. (2020c) „Polyphenol content, profile, and distribution in old, traditional apple varieties“ *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 12, 110-117.
- Kupervaser, M. G., Traffano-Schiffo, M. V., Dellamea, M. L., Flores, S. K., Sosa, S. K. (2023) „Trends in starch-based edible films and coatings enriched with tropical fruits extracts: A review“. *Food Hydrocolloids for Health*, 4, 100138.
- Luo, D., Xie, Q., Gu, S., Xue, W. (2022) 'Potato starch films by incorporating tea polyphenols and MgO nanoparticles with enhanced physical, functional and preserved properties', *International Journal of Biological Macromolecules*, 221, 108-120.
- Lei, Y., Wu, H., Jiao, C., Jiang, Y., Liu, R., Xiao, D., Lu, J., Zhang, Z., Shen, G., Li, S. (2019) „Investigation of the structural and physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of pectin-konjac glucomannan composite edible films incorporated with tea polyphenol“, *Food Hydrocolloids*, 94, 128-135
- Malathi, A. N., Santhosh, K. S., Udaykumar, N. (2014) „Recent trends of biodegradable polymer: Biodegradable films for food packaging and application of nanotechnology in biodegradable food packaging“. *Current Trends in Technology and Science* 3(2), 2279-0535.
- Mendes, J.F., Norcino L.B., Martins H.H.A., Manrich, A., Otoni, C.G., Carvalho, E.E.N., Piccoli, R.H., Oliveira, J.E., Pinheiro, A.C.M., Mattoso, A.C.M. (2020) 'Correlating emulsion characteristics with the properties of active starch films loaded with lemongrass essential oil', *Food Hydrocolloids*, 100, 105428.
- Miao, Z., Zhang, Y., Lu, P. (2021) 'Novel active starch films incorporating tea polyphenols-loaded porous starch as food packaging materials', *International Journal of Biological Macromolecules*, 192, 1123-1133.

- Moshood, T. D., Nawanir, G., Mahmud, F., Mohamad, F., Ahmad, M. H., AbdulGhani, A. (2022) „Sustainability of biodegradable plastics: New problem or solution to solve the global plastic pollution“, *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 5, 100273
- Odjo, K., Al-Maqtari, Q. A., Yu, H., Xie, Y., Guo, Y., Li, M., Du, Y., Liu, K., Chen, Y., Yao, W. (2022) „Preparation and characterization of chitosan-based antimicrobial films containing encapsulated lemon essential oil by ionic gelation and cranberry juice“. *Food Chemistry*, 397, 133781.
- Ortega-Toro, R., Bonilla, J., Talens, P., Chiralt, A. (2017) „Future of Starch-Based Materials in Food Packaging“, *Starch-Based Materials in Food Packaging*, 257-312.
- Riaz, A., Lei, S., Akhtar, H. M. S., Wan, P., Chen, D., Jabbar, S., Abid, M., Hashim, M. M., Zeng, X. (2018) „Preparation and characterization of chitosan-based antimicrobial active food packaging film incorporated with apple peel polyphenols“. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 547–555.
- Robbins, R. J. (2003) „Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology“, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2866–87.
- Rojas-Graü, M. A., Tapia, M. S., Martín-Belloso, O. (2008) „Using polysaccharide-based edible coatings to maintain quality of fresh-cut Fuji apples“, *LWT - Food Science and Technology*, 41(1), 139–47.
- Rooney, M. L. (1995) *Active food packaging*. London: Chapman & Hall.
- Scalbert, A., Johnson, I. T., Saltmarsh, M. (2005) „Polyphenols: antioxidants and beyond 2“, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 215S-217S.
- Singh, A. K., Kim, J. Y., Lee, Y. S. (2022) „Phenolic compounds in active packaging and edible films/coatings: Natural bioactive molecules and novel packaging ingredients“, *Molecules*, 27(21), 7513
- Sun, L., Sun, J., Liu, D., Fu, M., Yang, X., Guo, Y. (2018) „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.

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

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