

# PRIPRAVA BIOFILMOVA NA BAZI KITOZANA I PRAHA ROGAČA

---

**Gvozdrenović, Miloš**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2021**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Karlovac  
University of Applied Sciences / Veleučilište u Karlovcu**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:128:172551>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-09**



**VELEUČILIŠTE U KARLOVCU**  
Karlovac University of Applied Sciences

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Karlovac University of Applied  
Sciences - Institutional Repository](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

**VELEUČILIŠTE U KARLOVCU**  
**STRUČNI STUDIJ PREHRAMBENA TEHNOLOGIJA**  
**PRERADA MLJEKA/PIVARSTVO**

**MILOŠ GVOZDENOVIĆ**

**PRIPREMA BIOFILMA NA BAZI KITOZANA I PRAHA**  
**ROGAČA**

**ZAVRŠNI RAD**

**KARLOVAC, 2021.**



**Veleučilište u Karlovcu**  
Stručni studij prehrambena tehnologija  
Prerada mlijeka

Miloš Gvozdrenović

**Priprema biofilma na bazi kitozana i praha rogača**

Završni rad

Mentor: dr. sc. Jasna Halambek, v. pred.

Broj indeksa studenta: 0314615009

Karlovac, lipanj 2021.

## IZJAVA O AUTENTIČNOSTI ZAVRŠNOG RADA

Ja, **Miloš Gvozdrenović**, ovime izjavljujem da je moj završni rad pod naslovom **Priprema biofilma na bazi kitozana i praha rogača** rezultat vlastitog rada i istraživa te se oslanja se na izvore i radove navedene u bilješkama i popisu literature. Ni jedan dio ovoga rada nije napisan na nedopušten način, odnosno nije prepisan iz necitiranih radova i ne krši autorska prava.

Sadržaj ovoga rada u potpunosti odgovara sadržaju obranjenoga i nakon obrane uređenoga rada.

Karlovac, 01. lipanj 2021.

Miloš Gvozdrenović

---

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Veleučilište u Karlovcu  
Odjel prehrambene tehnologije  
Stručni studij prehrambena tehnologija

Završni rad

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

### PRIPREMA BIOFILMA NA BAZI KITOZANA I PRAHA ROGAČA

*Miloš Gvozdenović*

Rad je izrađen u kemijskom laboratoriju Veleučilišta u Karlovcu

Mentor: Dr.sc. Jasna Halambek, v. pred.

#### Sažetak

U ovom radu provedeno je ispitivanje o mogućnosti formiranja jestivih filmova od hidrokolooidnog materijala (kitozan) u ekstraktu brašna rogača, sa ciljem formiranja zaštitnih filmova poboljšanih svojstava. Rogač se tradicionalno koristi u prehrani ljudi dok se brašno sjemenki rogača (E 410) upotrebljava u prehrambenoj industriji kao sredstvo za ugušćivanje i stabilizaciju proizvoda. U radu su pripremani ekstrakti rogača sa tri komercijalno dostupna praha rogača i prahom dobivenim mljevenjem rogača sa otoka Korčule u otopinama 80% etanola, 70% acetona i destiliranoj vodi. Pripremljenim ekstraktima rogača određivana je pH vrijednost i količina ukupnih šećera te se nakon toga pristupilo pripremi otopina kitozana s ekstraktima rogača uz dodatak octene kiseline i glicerola. Otopinama kitozana s ekstraktom rogača mjerena je prividna viskoznost. Priprava filmova je izvršena izlivanjem i sušenjem dobivenih otopina. Najbolja elastična svojstva kao i najmanje promjene u debljini pokazao je kitozanski film dobiven od ekstrakta praha rogača proizvedenog u Italiji u destiliranoj vodi.

**Broj stranica:** 28

**Broj slika:** 13

**Broj tablica:** 3

**Broj literaturnih navoda:** 26

**Broj priloga:** -

**Jezik izvornika:** hrvatski

.

**Ključne riječi:** ekstrakcija, jestivi film, kitozan, rogač

**Datum obrane:** 01.06. 2021.

#### Stručno povjerenstvo za obranu:

1. dr. sc. *Ines Cindrić*, prof.v.š
2. dr. sc. *Marijana Blažić*, prof. v.š.
3. dr. sc. *Jasna Halambek*, v. pred.
4. dr. sc. *Bojan Matijević*, prof.v.š. (zamjena)

Rad je pohranjen u knjižnici Veleučilišta u Karlovcu, I. Meštrovića 10, 4700 Karlovac, Hrvatska.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

Karlovac University of Applied Sciences  
Department of Food Technology  
Professional Study of Food Technology

Final paper

Scientific Area: Biotechnical Sciences  
Scientific Field: Food Technology

### PREPARATION OF BIOFILM BASED ON CHITOSAN AND CAROB POWDER

*Miloš Gvozdenović*

Final paper performed at Chemical laboratory of Karlovac University of Applied Sciences

**Supervisor:** Ph.D. Jasna Halambek, sen. lecturer

#### Abstract

In this paper, a study on the possibility of forming edible films of hydrocolloid material (chitosan) in carob flour extract was performed, with the aim of forming protective films of improved properties. Carob is traditionally used in human consumption while carob seed flour (E 410) is used in the food industry as a thickener and product stabilizer. Carob extracts were prepared with three commercially available carob powders and powder obtained by grinding carob from the island of Korčula in solutions of 80% ethanol, 70% acetone and distilled water. The pH value and the amount of total sugars were determined with the prepared carob extracts, after which the preparation of chitosan solutions with carob extracts with the addition of acetic acid and glycerol was started. Apparent viscosity was measured with chitosan solutions with carob extract. Preparation of films was performed by pouring and drying the resulting solutions. The best elastic properties as well as the smallest changes in thickness were shown by the chitosan film obtained from carob powder extract produced in Italy in distilled water.

**Number of pages:** 28

**Number of figures:** 13

**Number of tables:** 3

**Number of references:** 26

**Original in:** Croatian

**Key words:** extraction, edible film, chitosan, carob

**Date of the final paper defense:** 01.06. 2021.

#### Reviewers:

1. Ph.D. *Ines Cindrić*, collage prof.
2. Ph.D. *Marijana Blažić*, collage prof.
3. Ph.D. *Jasna Halambek*, sen. lecturer
4. Ph.D. *Bojan Matijević*, collage prof. (substitute)

**Final paper deposited in:** Library of Karlovac University of Applied Sciences, I. Meštrovića 10, Karlovac, Croatia.

## Sadržaj

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1. Rogač</b> .....	<b>2</b>
2.1.1. Kemijski sastav ploda rogača .....	<b>3</b>
2.1.2. Bioaktivni sastav ploda rogača .....	<b>4</b>
2.1.3. Upotreba rogača u industriji .....	<b>4</b>
<b>2.2. Jestiva ambalaža u prehrambenoj industriji</b> .....	<b>5</b>
2.2.1. Postupci izrade jestivih filmova .....	<b>7</b>
2.2.2. Funkcionalni jestivi filmovi .....	<b>8</b>
<b>2.3. Hidrokoloidni materijali za dobivanje jestivih filmova</b> .....	<b>9</b>
2.3.1. Škrob .....	<b>10</b>
2.3.2. Alginat .....	<b>10</b>
2.3.3. Pektin .....	<b>10</b>
2.3.4. Kitozan .....	<b>11</b>
2.3.5. Proteini sirutke .....	<b>12</b>
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>13</b>
3.1. Materijali .....	<b>13</b>
3.2. Metode rada .....	<b>14</b>
3.2.1. Priprema ekstrakta rogača .....	<b>14</b>
3.2.2. Mjerenje pH vrijednosti otopina .....	<b>14</b>
3.2.3. Određivanje količine ukupnih šećera u ekstraktima rogača refraktometrom .....	<b>15</b>
3.2.4. Priprema otopina kitozana s ekstraktima rogača .....	<b>15</b>
3.2.5. Mjerenje viskoznosti pripremljenih otopina kitozana s ekstraktima rogača .....	<b>16</b>
3.2.6. Priprava filmova .....	<b>16</b>
3.2.7. Određivanje debljine filmova .....	<b>17</b>
<b>4. REZULTATI</b> .....	<b>18</b>
<b>5. RASPRAVA</b> .....	<b>22</b>
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>25</b>
<b>7. LITERATURA</b> .....	<b>26</b>



## 1. UVOD

Jestivi filmovi i premazi dva su vrlo često korištena izraza u pakiranju hrane, kojima se želi naglasiti da je površina namirnice prekrivena tankim slojem jestivog materijala na bazi biopolimera. Takvi filmovi i premazi kao biopolimerni materijali također se smatraju i perspektivnim biorazgradivim materijalima u razvoju ambalaže. Najčešće se dobivaju otapanjem hidrokoloida u vodi ili pogodnom otapalu uz dodatak različitih aditiva koji utječu na poboljšanje svojstava filma. Hidrokoloidi su heterogena dugolančana skupina polimera, uglavnom su to polisaharidi i proteini biljnog i životinjskog porijekla.

Kitozan je polisaharid dobiven iz hitina ljuštore rakova. Koristi se u biomedicini, kemijskoj i prehrambenoj industriji zbog toga što je netoksičan i biorazgradiv. Kitozan se može koristiti kao sredstvo za bistrenje, antimikrobno sredstvo, barijera za plinove, zgušnjivač i kao i za apsorpciju teških metala. Kod pripreme filmova kitozan je potrebno otopiti u kiseloj sredini, a sami nastali kitozanski filmovi imaju slabu propusnost za plinove dok to nije slučaj za vodenu paru.

Upotreba rogača u prehrambenoj industriji je raznolika upravo zbog njegovih svojstava, te se nalazi u velikom broju proizvedenih namirnica kao što su konditorski proizvodi, energetske pločice, bezalkoholni napitci, pekarski proizvodi i alkoholna pića. Isto tako široku primjenu ima u proizvodnji džemova, želea i ostalih sličnih voćnih namaza, uključujući proizvode smanjene energetske vrijednosti. U većini tih prehrambenih proizvoda rogač ima ulogu zaslađivača, arome, ugušćivača ili stabilizatora. Brašno sjemenki rogača (Karuba guma) upotrebljava se također i u hrani za dojenčad i malu djecu. Jestivi filmovi mogu služiti i kao nosioci bioaktivnih spojeva te se tako mogu poboljšati funkcionalna svojstva hrane. Bioaktivni spojevi danas predstavljaju važnu skupinu spojeva odnosno dodataka prehrambenim proizvodima, a najčešće uključuju skupine spojeva kao što su karotenoidi, fenoli, glukozinolati, prehrambena vlakna, fitosteroli, monoterpeni i molekule poput askorbinske kiseline.

Cilj ovog rada je pripremiti filmove na bazi kitozana s ekstraktima rogača, odnosno odrediti utječe li primjenjeno otapalo (etanol 80%, aceton 70% i destilirana voda) za ekstrakciju i porijeklo rogača na viskoznost otopine i u konačnici na svojstva dobivenih filmova.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Rogač

Rogač je zimzeleno stablo ili grm iz roda rogač (*Ceratonia* L.) koji pripada porodici mahunarki (*Ceratonia siliqua* L.). U Hrvatskoj se koristi više naziva kao: rodoc, rožičak, rožić, karuba itd.. Za rogač je karakteristično da su sjemenke poprilično uniformne te su se u antičko doba koristile kao mjera za vaganje zlata te je naziv karat došao od naziva rogača. Plod rogača je mahuna tamno smeđe do crvenkaste boje, listovi su zelene boje, a stablo raste od 5 do 10 metara u visinu. Svaka mahuna rogača naraste 15 do 20 cm, a sadrži između 5 i 15 plosnatih sjemenki – čuvenih karata – s tvrdom ljuskom. Čim sazrije, mahuna se može jesti takva kakva jest, sa šećernom pulpom, žilavom, prekrivenom tankom smeđom kožicom, koja se također jede. Rogač slabo podnosi nisku temperaturu, ali dobro podnosi visoku temperaturu i sušu. Raste u području tople klime Libije, Tunisa, Egipta, Libanona, Izraela, Sirije, Turske, Grčke, Italije, Francuske, Portugala i Španjolske. U Hrvatskoj raste na području od granice sa Crnom Gorom preko Dubrovačkog primorja i na poluotoku Pelješcu te na otocima: Šipan, Lopud i Mljet. Također se može pronaći i na Visu, Lastovu, Korčuli, Hvaru, Braču i Šolti (Dragojević, 2017).



**Slika 1.** Mahune, sjemenke i brašno rogača (<https://www.zagreb.info>)-

### 2.1.1. Kemijski sastav ploda rogača

Komercijalno najznačajniji dio ploda rogača je pulpa koja čini 90% mase ploda i sjeme koje čini 10% mase ploda. Kao i kod ostalih biljnih vrsta kemijski sastav rogača varira i prvenstveno ovisno o uzgoju, ekološkim uvjetima uzgoja, sorti, genetskom utjecaju, podrijetlu i vremenu berbe.

Glavne sastavnice ploda rogača su ugljikohidrati, prehrambena vlakna, proteini i lipidi koji zajedno čine više od 50% sastava rogača, zatim aminokiseline i masne kiseline, minerali, vitamini, polifenoli, te voda i pepeo (Dragojević, 2017).

**Tablica 1.** Sastav ploda rogača (Dragojević, 2017)

Sastavnice	Udio (g/100g)
Voda	3,6 – 18,0
Proteini	1,0 – 7,6
Masti	0,2 – 2,3
Ugljikohidrati	48,0 – 88,9
Ukupni šećeri	32,0 – 60,0
Prehrambena vlakna	2,6 – 39,8
Polifenoli	0,5 – 20,0
Pepeo	1,0 – 6,0

Od šećera najzastupljeniji su saharoza sa 32-38% udjela, glukoza i fruktoza sa po 5% udjela te maltoza. Vitamini A, B6, C, E, folati, tiamin, riboflavin, niacin i pantotenska kiselina se nalaze u mahuni rogača, a još je pronađeno 7 aminokiselina; alanin, glicin, leucin, prolin, valin, tirozin i fenilalanin (Batlle i Tous, 1997).

U rogaču se nalazi približno jednak omjer broj zasićenih i nezasićenih masnih kiselina. Najzastupljenije masne kiseline su metil esteri oleinske kiseline i linolenska kiselina. U pulpi količina masti se kreće od 0,2-2,3 g/100 g uzorka (Gubbuk i suradnici, 2010). Udio proteina se kreće od 1,0-7,6 g/100 g uzorka sve ovisi o sorti, podrijetlu i poljoprivrednoj praksi (Owen i suradnici, 2003). Mahuna rogača može imati i do 89% ugljikohidrata.

U plodu rogača nalazi se i heterogena skupina spojeva prisutna najvećim dijelom u pulpi rogača, a to su polifenoli koji su zaslužni za visoki antioksidacijski potencijal ploda. Glavne skupine polifenolnih spojeva prisutnih u pulpi rogača su jednostavne fenolne kiseline, flavonoidi i tanini (Ayaz i suradnici, 2007).

### **2.1.2. Bioaktivni sastav ploda rogača**

Bioaktivni spojevi danas predstavljaju važnu skupinu spojeva odnosno dodataka prehranbenim proizvodima, a najčešće uključuju skupine spojeva kao što su karotenoidi, fenoli, glukozinolati, prehranbena vlakna, fitosteroli, monoterpeni i molekule poput askorbinske kiseline. Njihova upotreba je sve veća jer je dokazano njihovo pozitivno djelovanje na zdravlje ljudi. Iako su zbog toga poželjni u hrani, veliki nedostatak im je što su skloni brzom razgradnji i interakciji s drugim komponentama hrane što smanjuje funkcionalnost proizvoda (Barbosa-Pereira i sur., 2014).

Bioaktivni sastav rogača se odnosi na mineralne tvari, vitamine i polifenolne spojeve. Od mineralnih tvari rogač sadrži makroelemente: kalij, kalcij, fosfor i magnezij. Mogu se još pronaći i elementi u tragovima kao što su: željezo, mangan, cink i bakar. Od vitamina rogač sadrži A, B6, C, E, B9, B1, B2, B3 i B5. Polifenolni spojevi su važni zbog njihovog antioksidacijskog djelovanja. U plodu rogača najzastupljeniji polifenolni spojevi su: flavonoidi, fenolne kiseline i tanini. Polifenola ima najviše u nezreloj mahuni rogača, a antioksidacijski kapacitet je veći za 17-24 puta. Polifenolni sastav mahune rogača čine u najvećem udjelu elagitanini ( $0.51 \pm 0.125$  mg/g suhe tvari) i galotanini ( $0.44 \pm 0.122$  mg/g suhe tvari). Udio polifenola osim o zrelosti ovisi i o procesu prerade i prženju mahune rogača (Golub, 2016).

Fenolni spojevi, među kojima se nalaze i tanini, te vitamini i minerali su zaslužni za antioksidativno djelovanje rogačeva brašna. Oni sprečavaju oksidacijske reakcije inhibicijom slobodnih radikala te zbog toga imaju povoljan učinak na ljudsko zdravlje (Iipumbu, 2008).

### **2.1.3. Upotreba rogača u industriji**

Plod rogača može se koristiti u farmaceutskoj, kozmetičkoj i prehranbenoj industriji. U prehranbenoj industriji se koristi kao sirovina za proizvodnju karuba gume, šećera i alkohola. Najveći svjetski proizvođači rogača su: Španjolska, Italija, Portugal, Turska, Maroko, Grčka i Cipar, a godišnje proizvedu oko 310 000 tona. Plodovi rogača se usitnjavaju, te se odvaja sjeme i slatki viskozni dio odnosno pulpa. Od pulpe ploda dobiva se brašno koje se vrlo često koristi kao zamjena za kakao jer ne sadrži kofein i teobromin, a zbog visoke koncentracije šećera u takvim proizvodima smanjena je upotreba i dodanih šećera. Upravo zbog tih svojstava rogač

se koristi u brojnim tzv. funkcionalnim napitcima kao zamjena za kakao. Rogač sadrži i puno manje masti (maksimalno 2-3 %) u odnosu na kakao, te puno više prehrambenih vlakana. Plod rogača koristi se pri pripremi brojnih napitaka, likera, rakija i sirupa. Pulpa se koristi kao stočna hrana i u farmaceutske svrhe. U Hrvatskoj najznačajnija prerada rogača je na otoku Visu u Komiži. Tamo postoje višestoljetni nasadi komiškog velikog ili tustog rogača, a tradicija prerade postoji već gotovo 50 godina. (Dragojević, 2017).

Današnja prehrambena industrija uvelika koristi rogač u proizvodnji velikog broja namirnica, a posebno u proizvodnji konditorskih proizvoda, energetskih pločica, bezalkoholnih napitaka, pekarskih proizvoda, alkoholnih pića, džemova, voćnih pripravaka, dječje hrane itd. U većini tih proizvoda rogač ima ulogu zaslađivača, arome, ugušćivača ili stabilizatora.

Guma rogača se još naziva i karuba guma ili guma sjemenki rogača, a koristi se kao prehrambeni aditiv E410 (Battle i Tous, 1997). Veliku primjenu ima u proizvodnji pekarskih proizvoda posebice kolača i keksa, no koristi se i kao zgušnjivač u kečapu i senfu, prašku za pudinge, kreme, deserte, bezalkoholnim osvježavajućim napitcima, koncentratima za juhe i umake itd.

## **2.2. Jestiva ambalaža u prehrambenoj industriji**

Pod jestivom ambalažom danas se uglavnom najviše primjenjuju jestivi zaštitni filmovi i premazi koji se mogu definirati kao tanki sloj materijala koji potrošač može konzumirati, a koji osigurava barijeru prema plinovima i vodenoj pari. Prednosti primjene jestivih zaštitnih filmova u odnosu na ostale zaštitne filmove su mnogobrojne od kojih su najznačajnije da osim što se jestivi film može konzumirati, troškovi njegove proizvodnje su relativno niski, a istovremeno se njihovom upotrebom smanjuje udio otpadnog materijala što doprinosi zaštiti okoliša. S druge strane takvi filmovi mogu poboljšati ne samo organoleptička svojstva hrane, već i mehanička ili nutritivna svojstva zaštićene namirnice, te pružaju zaštitu pojedinačnim manjim porcijama hrane odnosno čine barijeru između komponenti hrane (Galić, 2009).

Jestivi filmovi i premazi dva su vrlo često korištena izraza u pakiranju hrane, kojima se želi naglasiti da je površina namirnice prekrivena tankim slojem jestivog materijala na bazi biopolimera. Takvi filmovi i premazi kao biopolimerni materijali također se smatraju i perspektivnim biorazgradivim materijalima u razvoju ambalaže.

Filmovi i premazi mogu se dobiti od proteina, polisaharida i/ili lipida. Općenito, lipidi se koriste za smanjenje prijenosa vode; polisaharidi se koriste za kontrolu prijenos kisika i drugih plinova, dok proteinski filmovi pružaju mehaničku stabilnost. Ovi se materijali mogu koristiti pojedinačno ili u obliku mješovitih kompozitnih smjesa filmova pod uvjetom da ne utječu na okus hrane. Jestivi filmovi predstavljaju barijeru za plinove, vodenu paru, ulja i arome. Kod određivanja djelotvornosti filma određuju mu se barijerna svojstva koja ovise o kemijskom sastavu i strukturi polimera od kojeg je građen, karakteristikama proizvoda i uvjetima skladištenja (Singh i Singh, 2005).

Vrlo je bitna i debljina filma koja ovisi o koncentraciji čvrste faze i količini otopine, te znatno ovisi o tehnici primjene i viskozitetu otopine (Lui, 2005). Debljina jestivog filma može biti do 0,25 mm, a ona je veća kod visoko viskoznih otopina jer se teško razlijevaju. Debljina filma se može mjeriti kontaktnim i ne-kontaktnim metodama. Ne-kontaktne metode imaju prednost u primjeni zbog toga što kod kontaktnih postoji mogućnost oštećenja filma (Pamuković, 2017).

Jestivi filmovi posjeduju određena mehanička, barijerna i optička svojstva, no dokazano je da imaju slabija mehanička svojstva u odnosu na sintetičke filmove. Mehanička svojstva se određuju pomoću tri parametra, a to su: Young-ov modul (modul elastičnosti), vlačna čvrstoća i postotak produljenja prije pucanja (Skurtys i suradnici, 2010.). Optička svojstva jestivih filmova su sjaj, prozirnost i boja. Optička svojstva jestivih filmova ovise o sastavu filma i postupku izrade kao i o drugim vanjskim faktorima (temperatura, relativna vlažnost) (Rhim i Shellhammer, 2005).

### 2.2.1. Postupci izrade jestivih filmova

Postupci izrade jestivih filmova podrazumijevaju postupak ekstruzije, lijevanja, premazivanja, prskanja i uranjanja, stoga je viskoznost vrlo koristan parametar tijekom proizvodnje i primjene jestivog filma.

Filmovi koji se dobivaju lijevanjem zapravo nastaju isparavanjem otapala, a prisutni polimerni lanci hidrokoloida se međusobno isprepliću, prolaze kroz stanje gela, da bi se u konačnici formirala membrana filma procesom sušenja. Struktura nastalog filma ovisi o relativnoj temperaturi sušenja, vlažnosti zraka, debljini mokrog lijevanja i o sastavu otopine za lijevanje. Lijevanje otopine jestivog filma je najčešće korištena tehnika proizvodnje hidrokoloidnih filmova. Sadržaj vlage u ovakvom filmu je bitan parametar i poželjno je da on bude između 5 i 10% w/v.

*Postupkom ekstruzije smanjuje se utrošak vremena i energije koji su potrebni da se ukloni voda odnosno primjenjeno otapalo iz filma. Prije ekstrudiranja polimer odnosno hidrokoloid se pomiješa s aditivima odnosno plastifikatorima, punilima, stabilizatorima, mazivima u cilju dobivanja proizvoda sa željenim svojstvima. Ekstruzija zapravo mora osigurati potpuno taljenje i dovoljno miješanje da se izbjegne degradacija u svrhu dobivanja homogene taljevine, o čemu u konačnici i ovisi kvaliteta i svojstva dobivenog jestivog filma (Garcia i suradnici, 2016).*

*Postupak premazivanja je zapravo najjednostavniji postupak nanošenja filma odnosno na ovaj način se dobivaju prevlake direktno na namirnici, a podrazumijeva razmazivanje otopine pomoću kista ili valjka na željeni proizvod. Otopina s kojom se premazuje zahtjeva skrućivanje na sobnoj temperaturi ili pomoću zagrijavanja. Premazivanje se pokazalo boljim od postupka uranjanja ili omatanja u smislu smanjenja gubitka vlage u proizvodu koji se želi zaštititi (Pamuković, 2017).*

*Uranjanje je postupak pogodan za proizvode nepravilnih oblika kao i za primjenu visoko viskoznih otopina filma. Nedostatak je što debljina i pokrivenost filmom mogu biti manje jednolični nego kod ostalih postupaka.*

*Prskanje ili raspršivanje sastoji se od nanošenja otopine filma na proizvod sustavom raspršivanja koji osigurava jednoliku prevlaku s minimalnom količinom vode. Nedostatak ovog postupka je okretanje proizvoda da bi se i donja strana izložila otopini filma. Prskanje je*

pak s druge strane moguće za otopine filmova male viskoznosti kojom će nastati tanki sloj filma i za proizvode koji imaju veliku površinu (Pamuković,2017).

### **2.2.2. Funkcionalni jestivi filmovi**

Jestivi filmovi i omotači mogu utjecati na poboljšanje okusa i boje (pigmenti), nutritivnih sastojaka, te mogu sadržavati različite antioksidanse, kao i antimikrobna sredstva čime se mogu spriječiti i/ili usporiti neželjene reakcije na površini hrane. Oni zapravo mogu biti najbolja alternativa za različita zaštitna antimikrobna i antioksidativna sredstva koja se nanose na površinu namirnice u te svrhe. Jestivi filmovi mogu služiti i kao nosioci bioaktivnih spojeva te se tako postižu funkcionalna svojstva hrane. Vrlo često se kao bioaktivni spojevi koji se inkorporiraju u filmovi koriste razni antioksidansi. Antioksidansi se mogu dodati kao čisti spojevi, eterična ulja ili kao ekstrakti. Eteričnim uljima može se utjecati na zaštitu od propusnosti vodene pare jer su hidrofobna. Dodatak različitih ekstrakata kao što su ekstrakti čaja, voća, povrća i drugih biljnih vrsta utječe na poboljšanje antioksidacijskih svojstava i time na kvalitetu proizvoda, te isto tako produljuje rok trajanja i usporava oksidaciju lipida (Bourbon i sur., 2011).

Dokazano je također da dodani aditivi poboljšavaju svojstva filmova, međutim samo do jedne razine pri kojoj počinju interferirati s fizikalnim i mehaničkim svojstvima, te kompromitirati barijerna svojstva samih filmova (Ramos i sur., 2012).

Han i sur. (2004) istraživali su povezanost dodatka kalcijevih iona i vitamina E u filmove na bazi kitozana, te dokazali da isti mogu vezati relativno visoke koncentracije kalcijevih kationa ili vitamina E, što bi se moglo iskoristiti u povećanju njihova sastava u svježim i smrznutim jagodama i malinama. Istraživana je i mogućnost dodataka probiotskih bakterija u jestive filmove u svrhu premazivanja svježe narezanih jabuka i papaje čime je pokazana mogućnost inkorporiranja probiotika u filmovima korištenim za svježe narezano voće (Tapia i sur., 2007).

Danas se u proizvodnji jestivih filmova i premaza osim osnovnog hidrokoloida i plastifikatora u jestivi film dodaju i različiti aktivni sastojci koji utječu ne samo na povećanje stabilnosti i kvalitete upakirane hrane već i na povećanje njene nutritivne vrijednosti. Iako je ne tako davno rogač bio u potpunosti zanemarena i zaboravljena namirnica, danas rogač zbog svog bogatog nutritivnog i bioaktivnog sastava pronalazi svoju primjenu u prehrambenoj industriji ne samo kao zaslađivač, aroma, ugušćivač ili stabilizator, već su znanstveno utvrđene spoznaje ukazale i na veliki potencijal rogača u proizvodnji funkcionalne hrane.



### **2.3. Hidrokoloidni materijali za dobivanje jestivih filmova**

Hidrokoloidi su zapravo hidrofilni polimeri koji mogu biti biljnog, životinjskog ili sintetskog podrijetla. Njihova karakteristika je da obično sadrže velik broj hidroksilnih skupina te mogu biti polielektroliti (Skurtys i suradnici, 2010). Hidrokoloidi kao što su polisaharidi i proteini imaju široku primjenu u formiranju jestivih filmova pri čemu imaju utjecaj na teksturu, aromu i rok trajanja proizvoda.

Hidrokoloidni materijali koji se koriste za pripremu jestivih filmova su djelomično ili u potpunosti topljivi u vodi, a njihova uloga može biti i u povećanju viskoznosti vodene faze kao sredstvo za zgušnjavanje ili geliranje. Hidrokoloidi mogu imati i ulogu emulgatora jer njihov stabilizirajući učinak na emulzije potječe od povećanja viskoznosti vodene faze jestivih filmova (Skurtys i suradnici, 2010).

Dokazano je da hidrokoloidi koji su topljivi u vodi poput polisaharida i proteina predstavljaju manje učinkovitu barijeru za migraciju vode. Međutim, njihova propusnost za plinove je često niža nego kod sintetičkih materijala, te su dobra barijera za ulja i masti. Od najveće važnosti za jestive filmove proizvedene od hidrokoloida je poboljšanje barijernih svojstava na vodu (Guilbert i suradnici, 1996). Polisaharidi kao biopolimeri sastavljeni su od većeg broja mono- ili disaharida povezanih glikozidnim vezama, a nastaju interakcijom između segmenata dugih lanaca polisaharida tijekom otapanja i stvaranjem novih intermolekulskih hidrofilnih veza nakon isparavanja otapala (Garcia i suradnici, 2016).

Proteini su makromolekule sa specifičnim aminokiselinskim sekvencama i molekulskom strukturom. Sekundarna, tercijarna i kvaterna struktura proteina mogu se lako modificirati toplinskom denaturacijom, zračenjem, tlakom, mehaničkom obradom, kemijskom hidrolizom, kiselinama, lužinama, solima i kemijskim umrežavanjem. Proteini za proizvodnju proteinskih filmova dobivaju se iz različitih životinjskih i biljnih izvora, kao što su životinjska tkiva, mlijeko, jaja, žitarice i uljarice (Krochta, 2002).

### **2.3.1. Škrob**

Jedan od najrasprostranjenijih polisaharida u prirodi je svakako škrob. Sastoji se od dva polimera glukoze: ravnolančane amiloze (25% škroba) i razgranatog amilopektina (75% škroba). Prilikom pripreme otopine škroba za proizvodnju filmova važno je izbjeći hidrolizu i oksidaciju škroba. U slučaju male koncentracije suhe tvari (<4%), otopina sa potpuno otopljenim škrobnim polimerima se teško gelira, uzrokujući probleme formiranja neprekidnog, dovoljno debelog filma. Međutim, ako je koncentracija velika (>30%), otopina je previše viskozna da bi se ravnomjerno razlila stoga je predložena koncentracija za formiranje škrobnih filmova i ona iznosi 10-15% (Liu, 2005).

Škrob se u pravilu najviše upotrebljava kod proizvodnje ovih filmova zbog svojih dobrih barijernih svojstava na kisik, no i zbog činjenice da su filmovi na bazi škroba puno jeftiniji od ostalih filmova. Učinkovitost filmova na bazi škroba je promjenjiva zbog dostupnosti različitih vrsta škroba i njihovog kapaciteta za fizikalnim i/ili kemijskim modifikacijama (Ellis i suradnici, 1998). Filmovi od škroba najčešće se koriste za pekarske proizvode, bombone i proizvode od mesa.

### **2.3.2. Alginat**

Alginat je polisaharid dobiven ekstrakcijom iz smeđih algi poznatih kao Phaeophyceae, a topljiv je u vodi, odnosno daje u vodi topljive filmove. Upravo zbog tog svojstva za njega je dokazano da može smanjiti dehidraciju proizvoda, ali i smanjiti oksidaciju nepoželjnih okusa. Filmovi izrađeni od alginata pokazuju visoku krutost i nisku deformabilnost. Svojstva alginatnih filmova mogu se poboljšati dodatkom ulja (origano, češnjak), škroba i probiotika (Skurtys i suradnici, 2010).

### **2.3.3. Pektin**

Pektin je polisaharid sastavljen od D-galakturonske kiseline kao monomera povezanih  $\beta$ -1,4 vezama. U prehrambenoj industriji odavno se koristi najviše kao sredstvo za geliranje, stabilizaciju i zgušnjavanje proizvoda poput džemova, jogurta, sladoleda itd. Karboksilne grupe galakturonske kiseline mogu biti poput ili djelomično esterificirane metanolom, pa tako

razlikujemo viskoesterificirane i niskoesterificirane pektine. Dokazano je da stupanj esterifikacije može utjecati na svojstva pektina odnosno njihovih otopina, pogotovo na svojstvo geliranja. Kod pripreme jestivih filmova poželjni su viskoesterificirani pektini jer formiraju filmove odličnih svojstava (Lacroix i Tien, 2005). Takvi filmovi imaju dobra barijerna svojstva za plinove, te mogu čak i spriječiti rast bakterija u hrani. Pektinski jestivi filmovi su ekološka prihvatljiva alternativa, biorazgradivi, dostupni i jeftini, kao i ostali filmovi formirani od biopolimera kao baze, te se mogu koristiti i u kombinaciji s drugim polimerima (Espitia i suradnici, 2013).

#### **2.3.4. Kitozan**

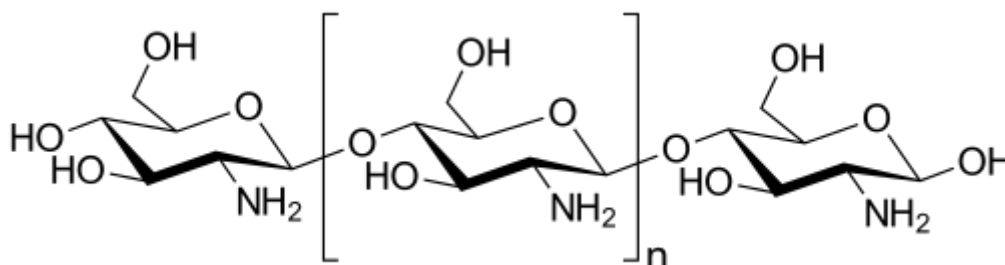
Kitozan je polisaharid vezan  $\beta$ -1,4 glikozidnim vezama, a dobiven je deacetilacijom hitina, prisutnog u rakovima ili različitim gljivama u lužnatim uvjetima. Sastoji se od  $\beta$ -(1-4)-2-acetamido-D-glukoze i  $\beta$ -(1-4)-2-amino-D-glukoze. Kitozan je jedini poznati pozitivno nabijeni polisaharid (Arvanitoyannis i suradnici, 1998).

Kitozan je tako biopolimer s dobrim antimikrobnim svojstvima, te djeluje protiv mnogih patogena i mikroorganizama kvarenja. Spriječava rast raznih mikroorganizama kao što su bakterije, gljivice i kvasci. Antimikrobna aktivnost kitozana ovisi o molekularnoj težini, stupnju polimerizacije i acetilacije (Han, 2005).

Kitozanski filmovi pripremaju se otapanjem kitozana u kiselini, a najčešće je to otopina octene kiseline. Kitozan se može koristiti kao sredstvo za bistrenje, zgušnjivač, kao barijera za plinove, sredstvo za liječenje rana i antimikrobno sredstvo. Kitozanski filmovi imaju vrlo dobra barijerna svojstva za plinove. Međutim, kao i kod drugih jestivih filmova sa polisaharidnom bazom imaju veliku propusnost vodene pare. Kitozan pokazuje i svojstvo apsorpcije teških metalnih iona koje može imati ulogu u smanjenju oksidacijskih procesa u hrani kataliziranoj sa slobodnim metalima (Han, 2005).

Prednosti upotrebe kitozana su netoksičnost, biorazgradivost, biokompatibilnost, antimikrobna aktivnost i inhibitorno djelovanje na rast raznih bakterija. Kao komponenta jestivih filmova je dobar zbog mogućnosti stvaranja filmova i dobrih mehaničkih svojstava. Kitozanski filmovi su kompakni i kohezivni odnosno drže ostale komponente na okupu dok im je površina glatka i bez pukotina (Skurtys i sur., 2010).

Kitozanski filmovi ovisno o potrebama se mogu modificirati i miješati sa drugim polimerima. Primjer je miješanje kitozana i želatine koji ima bolja barijerna, mehanička i antimikrobna svojstva. Kitozanski filmovi bi mogli pronaći široku primjenu u zaštiti sirovih jaja i svježeg voća poput malina, jagoda i breskve (Buljan, 2020).



**Slika 2.** Kemijska struktura kitozana (<https://commons.wikimedia.org>)

### 2.3.5. Proteini sirutke

Proteini sirutke imaju odlična prehrambena i funkcionalna svojstva i vrlo dobar potencijal za proizvodnju jestivih filmova. Proteini sirutke predstavljaju oko 20% ukupnih proteina mlijeka. Oni su snažni antioksidansi tako da se mogu koristiti u zaštiti protiv oksidacije sastojaka prehrambenih proizvoda. Koriste se u prehrambenim proizvodima ne samo zbog svoje visoke prehrambene vrijednosti, već i zbog njihove sposobnosti da formiraju gelove, emulzije ili pjene (Sothornvit i Krochta, 2001). Pokazalo se da proteini sirutke proizvode transparentne i fleksibilne jestive filmove, s odličnim barijerama za kisik i ulje, te bez okusa i mirisa. Jestivi filmovi proizvedeni od proteina sirutke bez ikakvih modifikacija imaju veliku propusnost za vlagu i relativno slaba mehanička svojstva u usporedbi sa sintetičkim ili drugim materijalima za pakiranje hrane te s toga imaju ograničenu primjenu (Pamuković, 2017).

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. Materijali

U eksperimentalnom dijelu rada koristile su se 3 vrste komercijalno dostupnog brašna rogača i to mljeveni rogač (Šafram), komiški rogač (bio&bio), rogač u prahu (Nutrigold-porijeklo Italija) i brašno koje je dobiveno mljevenjem mahuna rogača uzgojenog na Korčuli (2019. godine). Kao materijal za izradu jestivih filmova koristio se kitozan (Sigma Aldrich), dok se ekstrakcija aktivnih sastojaka rogača provodila u 80% (v/v) otopini etanola, 70% (v/v) otopini acetona i destiliranoj vodi.



Slika 3. Mljeveni rogač Šafram ([www.safraM.hr](http://www.safraM.hr))



Slika 4. Komiški rogač ([www.biobio.hr](http://www.biobio.hr)).



**Slika 5.** Rogač u prahu proizveden u Italiji ([www.nutrigold.hr](http://www.nutrigold.hr)).

## **3.2. Metode rada**

### **3.2.1. Priprema ekstrakta rogača**

Otopinama 80% etanola, 70% acetona i destiliranoj vodi dodavan je prah (brašno) rogača u količini od 10 g na 150 ml pojedine otopine. Ekstrakcija aktivnih komponenti iz rogača provedena je u ultrazvučnoj kupelji ASonic (Pro50). Ekstrakcija u 70% otopini acetona provedena je na temperaturi od 65°C u trajanju od 30 minuta pri frekvenciji od 40 kHz. Ekstrakcije u 80 % etanolu i destiliranoj vodi provedene su na isti način (frekvenciji i vrijeme trajanja) dok je temperatura povećana na 80°C. Nakon ekstrakcije otopine su filtrirane te su hlađene na sobnu temperaturu.

### **3.2.2. Mjerenje pH vrijednosti otopina**

Dobivenim ekstraktima rogača pH vrijednosti izmjerene su nakon hlađenja otopina na sobnu temperaturu na pH metru Hach sensION+ PH3.

### 3.2.3. Određivanje količine ukupnih šećera u ekstraktima rogača refraktometrom

Određivanje količine ukupnih šećera u dobivenim ekstraktima rogača provodilo se na Abbeovom refraktometru sa cirkulacijskim termostatom AR4 (Krüss) (slika 6). Količina šećera se očitava u °Bx (slika 7). Određivanje količine šećera se provodi tako što se par kapi pojedine otopine nanese na vidno polje refraktometra te se očita količina šećera u °Bx. Mjerenja su provedena pri sobnoj temperaturi.



**Slika 6.** Abbeov refraktometar



**Slika 7.** Očitavanje količine šećera

### 3.2.4. Priprema otopina kitozana s ekstraktima rogača

U 50 mL svakog pripremljenog ekstrakta rogača dodan je 1 g kitozana te je uz konstantno miješanje na magnetskoj miješalici pH svake pripremljene otopine podešen na pH 3 primjenom 60% octene kiseline. Otopinama se također dodaje 2% (w/v) glicerola (plastiifikatora), te se sve dobro homogenizira na magnetskoj miješalici pri sobnoj temperaturi tijekom sljedeća 24 sata.

### 3.2.5. Mjerenje viskoznosti pripremljenih otopina kitozana s ekstraktima rogača

Viskoznost, tj. prividna viskoznost otopina kitozana s ekstraktima rogača nakon 24 sata homogenizacije je mjerena na rotacijskom viskozimetru First plus LR, Lamy Rheology instruments (slika 8). Na uređaj se postavi odgovarajući mjerni cilindar (L-2) te se uroni u otopinu. Brzina vrtnje mjernog cilindra je 250 rpm u vremenu trajanja od 30 sekundi. Mjerenje je provedeno u 15 mjernih točaka, a dobivene vrijednosti predstavljaju srednju vrijednost tih 15 mjernih točaka.



**Slika 8.** Rotacijski viskozimetar

### 3.2.6. Priprava filmova

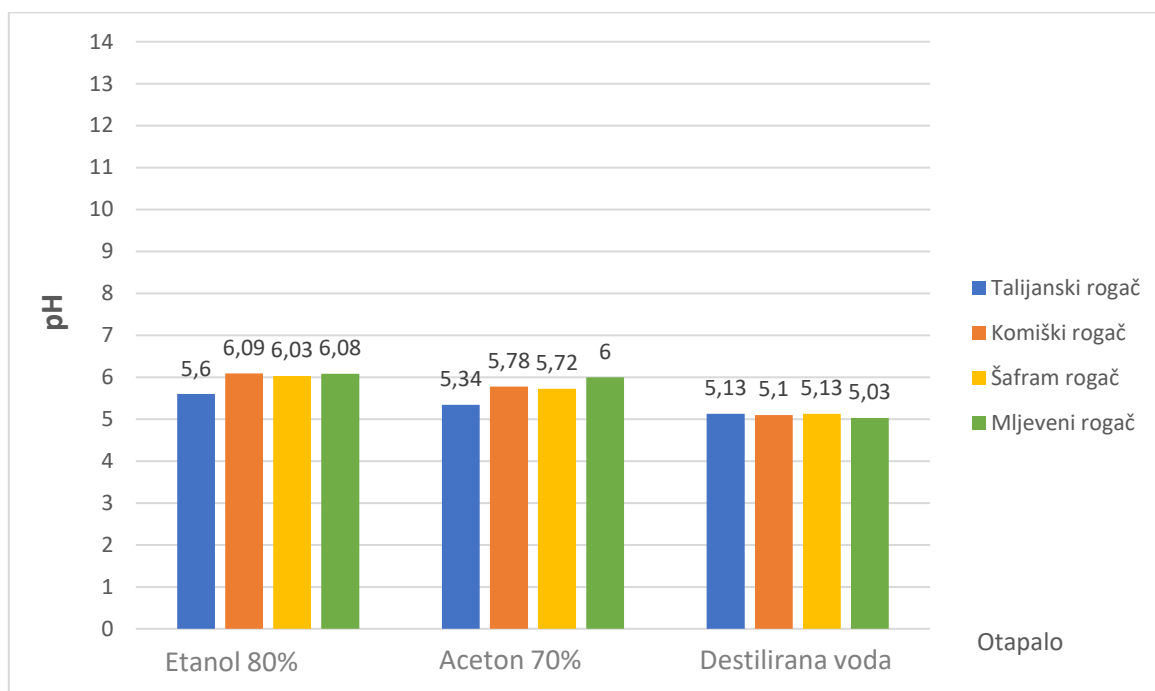
Nakon pripreme otopina kitozana pripremani su filmovi lijevanjem otopine kitozana s različitim ekstraktima rogača u Petrijeve zdjelice promjera 10 cm. U svaku Petrijevu zdjelicu pomoću staklene pipete izlijeva se 40 mL pripremljene otopine. Nakon izlijevanja otopina, Petrijeve zdjelice stavljaju se u termostat i suše na temperaturi od 30°C tijekom 4 dana. Nakon 4 dana filmovi se uklanjaju iz Petrijevih zdjelica pomoću špatule i čuvaju u eksikatorima do analize.



### **3.2.7. Određivanje debljine filmova**

Debljina pripremljenih kitozanskih filmova određena je digitalnim mikrometrom (Insize, 3109-50A). Debljina filmova određena je tako da se za svaki film debljina mjeri na nekoliko različitih mjesta (min. 6) te u sredini filma, a kao rezultat je uzeta srednja vrijednost s pripadajućom devijacijom ( $\mu\text{m}$ ).

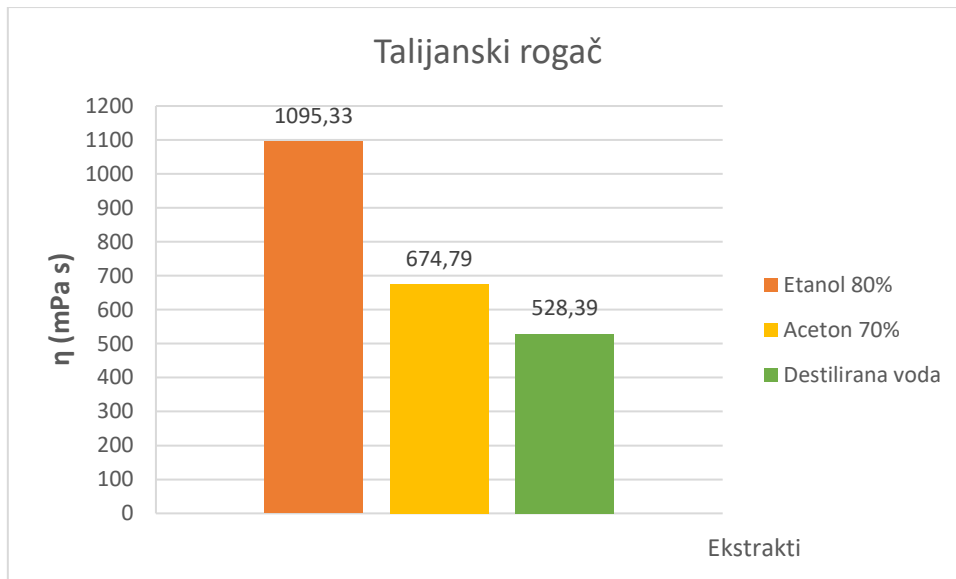
## 4. REZULTATI



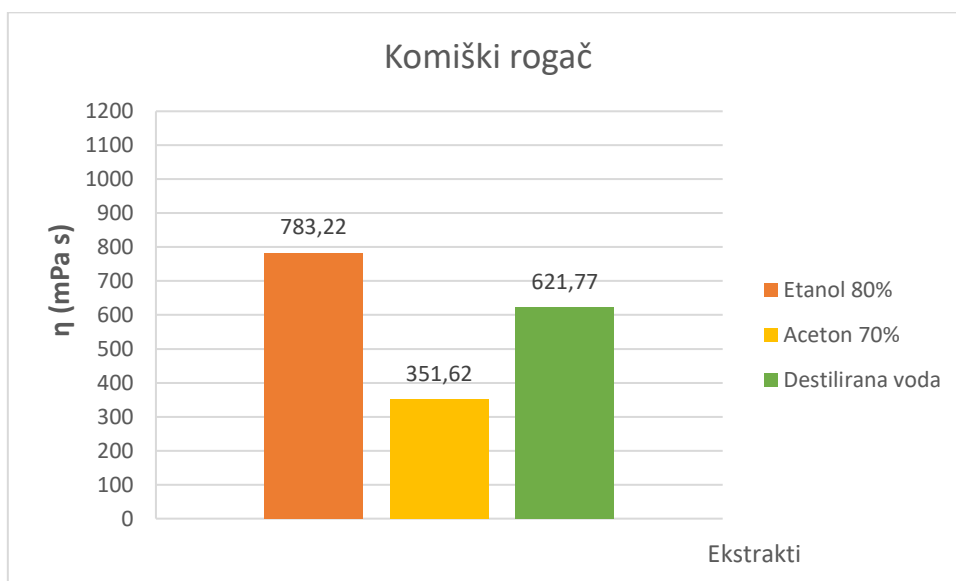
**Slika 9.** pH vrijednosti izmjerene u dobivenim ekstraktima rogača pri 25°C.

**Tablica 2.** Ukupni šećeri u ekstraktima rogača određeni refraktometrijski.

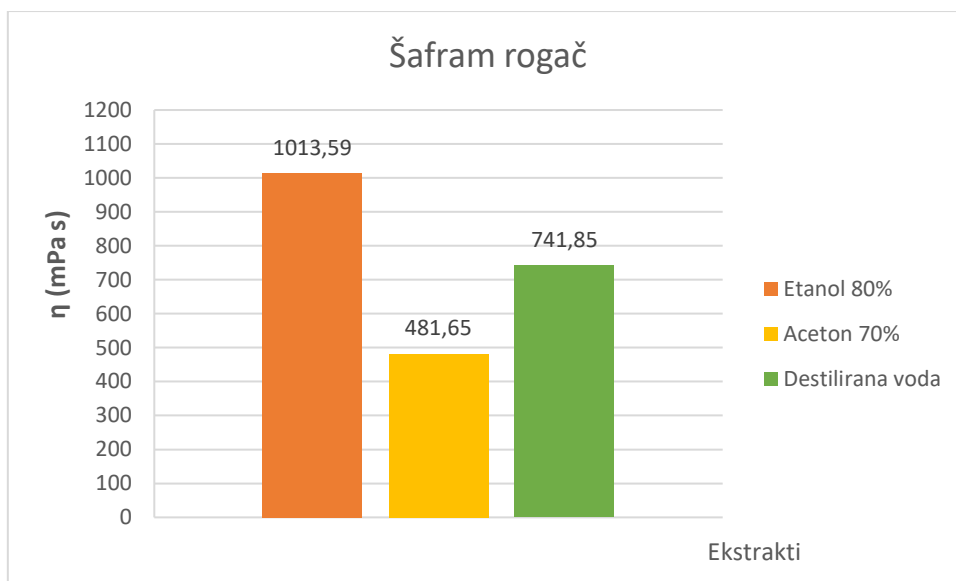
Uzorak rogača	Otopalo	Količina šećera	
		°Bx	g/l
Talijanski	Etanol 80%	23	223,5
	Aceton 70%	18,8	177,0
	Destilirana voda	2,8	28,3
Komiški	Etanol 80%	23	223,5
	Aceton 70%	20,2	192
	Destilirana voda	3,2	32,4
Šafram	Etanol 80%	23,8	231,0
	Aceton 70%	20	189,5
	Destilirana voda	3,2	32,4
Mljeveni rogač (Korčula)	Etanol 80%	22,8	221,0
	Aceton 70%	22,4	216,5
	Destilirana voda	3,9	39,6



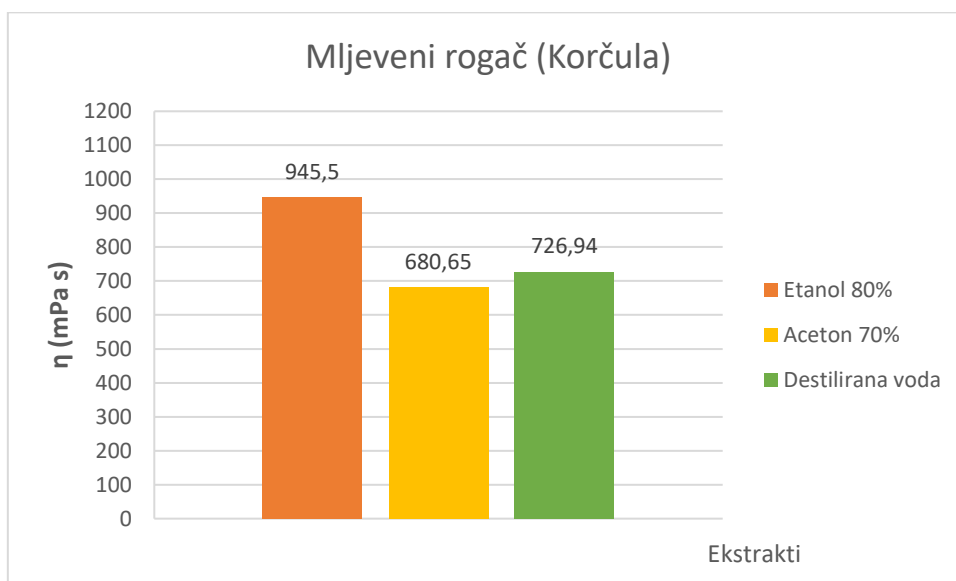
**Slika 10.** Izmjerene vrijednosti prividne viskoznosti,  $\eta$  (mPa s) u otopinama kitozana s ekstraktima talijanskog rogača pri 25°C.



**Slika 11.** Izmjerene vrijednosti prividne viskoznosti,  $\eta$  (mPa s) u otopinama kitozana s ekstraktima komiškog rogača pri 25°C.



**Slika 12.** Izmjerene vrijednosti prividne viskoznosti,  $\eta$  (mPa s) u otopinama kitozana s ekstraktima šaframovog rogača pri 25°C.



**Slika 13.** Izmjerene vrijednosti prividne viskoznosti,  $\eta$  (mPa s) u otopinama kitozana s ekstraktima mljevenog rogača s Korčule pri 25°C.

**Tablica 3.** Debljina kitozanskih filmova dobivenih sa različitim ekstraktima rogača nakon 4 dana sušenja pri 30°C i nakon 4 mjeseca u eksikatoru pri 25°C.

Uzorak rogača	Otapalo	4 dana pri 30°C		4 mjeseca pri 25°C	
		Debljina filma (µm)	Opaska	Debljina filma (µm)	Opaska
Talijanski	Etanol 80%	301	Nema elastičnosti	288	Krhak, puca
	Aceton 70%	260	Nema elastičnosti	232	Nije promijenio svojstva
	Destilirana voda	158	Vrlo elastičan	150	Vrlo elastičan
Komiški	Etanol 80%	292	Nema elastičnosti	275	Nije promijenio svojstva
	Aceton 70%	204	Elastičan	188	Smanjena elastičnost
	Destilirana voda	281	Elastičan	252	Krhak, puca
Šafram	Etanol 80%	330	Elastičan	313	Krhak, puca
	Aceton 70%	244	Elastičan	218	Nije promijenio svojstva
	Destilirana voda	325	Elastičan	308	Krhak, puca
Mljeveni rogač (Korčula)	Etanol 80%	328	Elastičan	305	Krhak, puca
	Aceton 70%	307	Elastičan	288	Krhak, puca
	Destilirana voda	270	Krhak, puca	-	Raspao se u potpunosti

## 5. RASPRAVA

Cilj ovog rada bio je pripremiti filmove na bazi kitozana s ekstraktima rogača, odnosno odrediti utječe li primijenjeno otapalo (etanol 80%, aceton 70% i destilirana voda) za ekstrakciju i porijeklo rogača na viskoznost otopina i u konačnici na svojstva dobivenih filmova.

Na slici 9. prikazane su izmjerene pH vrijednosti dobivenih ekstrakata rogača primjenom ultrazvuka. Iz slike je jasno vidljivo da se pH vrijednosti u ekstraktima rogača u 80% etanolu kreću u rasponu od 5,6 do 6,08 za ispitane uzorke brašna rogača. Slične vrijednosti pH dobivene su i za ekstrakte rogača u 70% acetonu (od 5,34 do 6,0), dok su vrijednosti pH izmjerene u ekstraktima s destiliranom vodom bile podjednake i kretale se oko pH 5. Ovakvi rezultati ukazuju da u 80% etanolu i 70% acetonu dolazi do otapanja sastojaka koji utječu na blago povećanje pH vrijednosti u odnosu na čistu destiliranu vodu.

S obzirom da je poznato da je rogač namirnica prvenstveno bogata šećerima (32,0 – 60,0 g/100 g) (Dragojević, 2017.), a također je poznato da pojedini sastojci mogu pozitivno utjecati na formiranje umrežene strukture pojedinog hidrokoloida, u svim ekstraktima određena je ukupna količina šećera Abbeovim refraktometrom. Dobiveni rezultati prikazani u Tablici 2. u °Brixa, odnosno u g/L šećera. Iz tablice je vidljivo da se ekstrakcijom u 80% otopini etanola dobivaju ekstrakti rogača s najvećom količinom ukupnih šećera i to u rasponu od 221 g/L do 231 g/L. Slične rezultate daje i ekstrakcija u 70% acetonu gdje se ukupni šećeri kreću u rasponu od 177 g/L za talijanski rogač do 216 g/L za rogač s Korčule. Najmanja količina šećera ekstrahirana je u destiliranoj vodi, pa se tako sadržaj ukupnih šećera za sve ispitivane uzorke rogača kreće između 28,3 g/L (talijanski rogač) do 39,6 g/L mljeveni korčulanski rogač.

Prividna viskoznost otopina koje su dobivene dodatkom 2% kitozana u pripremljene ekstrakte rogača, te uz dodatak 2% glicerola kao plastifikatora izmjerena je nakon 24 sata homogenizacije na rotacijskom viskozimetru pri brzini vrtnje mjernog cilindra od 250 rpm. Mjerenja su provedena u 15 mjernih točaka, a utvrđena vrijednost prividne viskoznosti otopina predstavlja srednju vrijednost svih 15 mjernih točaka. Sva mjerenja provedena su na 25 °C. Izmjerene vrijednosti prividne viskoznosti prikazane su na Slikama 10., 11. 12. i 13.

Izmjerene vrijednosti prividne viskoznosti,  $\eta$  (mPa s) u otopinama kitozana s ekstraktima talijanskog rogača pri 25°C prikazane su na slici 10. Iz slike je jasno vidljivo da je prividna viskoznost pripremljenih otopina najveća kod otopine koja je pripremljena s ekstraktom rogača

u 80% etanolu i to od 1095,3 mPa s, za 70% aceton ta vrijednost iznosi 647,8 mPa s, dok je najmanja viskoznost zabilježena kod ekstrakta dobivenog u destiliranoj vodi (528,4 mPa s).

Na slici 11. prikazane su izmjerene vrijednosti prividne viskoznosti,  $\eta$  (mPa s) u otopinama kitozana s ekstraktima komiškog rogača pri 25°C. Kod ovog rogača izmjerena je znatno manja vrijednost prividne viskoznosti u otopini dobivenoj iz etanolnog ekstrakta (783,2 mPa s), a slična vrijednost je zabilježena i za ekstrakt u destiliranoj vodi od 621,7 mPa s. Kod komiškog rogača s druge strane, najmanje viskoznu otopinu s kitozonom formira ekstrakt rogača u 70% acetonu i to od svega 351,6 mPa s.

Na slici 12. koja prikazuje izmjerene vrijednosti prividnih viskoznosti u otopinama kitozana s različitim ekstraktima brašna rogača proizvođača Šafram, vidljivo je da se i ove viskoznosti kreću u sličnom rasponu, odnosno najveću viskoznost ima otopina kitozana s ekstraktom rogača u etanolu (1013,6 mPa s), dok je i u ovom slučaju kao i kod komiškog rogača najmanja viskoznost određena za otopinu pripravljenu sa ekstraktom rogača u 70% acetonu i to od 481,7 mPa s.

I kod otopina kitozana pripremljenih iz ekstrakata mljevenog rogača s Korčule (slika 13.), vrijednosti prividne viskoznosti kreću se između 680,6 mPa s (70% aceton) do 945,5 mPa s za 80% etanol.

Ono što je također vidljivo iz dobivenih podataka za viskoznost jest da najviskoznije otopine kitozan stvara u ekstraktima rogača dobivenima u 80% etanolu (oko 1000 mPa s), a najmanje viskozne otopine u 70% acetonu, osim kod talijanskog rogača kod kojeg je ovakav rezultat primjećen kod ekstrakta dobivenog u destiliranoj vodi.

U tablici 3. dane su vrijednosti debljine dobivenih filmova na bazi kitozana i ekstrakata rogača nakon 4 dana sušenja pri 30°C i nakon 4 mjeseca skladištenja u eksikatoru na 25°C. U tablici su također dane i opaske koje se odnose na vizualni i taktilni pregled dobivenih i čuvanih filmova. Poznato je da kod filmova koji se pripremaju izlivanjem u Petrijeve zdjelice, debljina prvenstveno ovisi o volumenu i viskozitetu pripravljene otopine hidrokoloida kao i o promjeru posude u koju se film izliva. Također, viskozna otopina se teško razlijeva i na taj način se u pravilu dobivaju i deblji filmovi (Liu, 2005).

Pregledom izmjerenih debljina filmova nakon 4 dana sušenja na 30°C može se primjetiti da kod talijanskog rogača najdeblji film nastaje u otopini 80% etanola (301  $\mu\text{m}$ ), slijedi ga ekstrakt u 70% acetonu (260  $\mu\text{m}$ ), dok je najtanji film formiran kod destilirane vode kao otapala u

ekstrakciji rogača i debljina iznosi 158  $\mu\text{m}$ . Ako se ove vrijednosti usporede s izmjerenim vrijednostima viskoznosti pripremljenih otopina na bazi kitozana, tada su ovakvi rezultati i očekivani s obzirom da se i viskoznost otopina kitozana u navedenim otapalima povećava kako slijedi: 80% etanol > 70% aceton > destilirana voda.

Komiški rogač, šaframov rogač i korčulanski rogač odnosno otopine kitozana pripremljene iz različitih ekstrakata navedenih rogača dale su filmove čija se debljina također kreće u sličnom rasponu vrijednosti i to od 204  $\mu\text{m}$  do 330  $\mu\text{m}$ . Debljina filma i u ovom slučaju je u ovisnosti o viskoznosti otopine pa su i ovdje one otopine koje su pokazivale veće vrijednosti viskoznosti utjecale na dobivanje debljih filmova. Ako se usporede vrijednosti filmova izmjerene nakon 4 mjeseca čuvanja u eksikatoru vidljivo je da je dužim stajanjem filmova došlo do neznatnog smanjenja debljine filmova što je i za očekivati s obzirom da tijekom određenog vremenskog perioda još uvijek dolazi do isparavanja eventualno zaostalog otapala u strukturi nastalog filma.

Ono što se može primijetiti je također da je vizualnim i taktilnim pregledom ustanovljeno da najbolja svojstva elastičnosti i homogenosti pokazuje kitozanski film pripremljen iz ekstrakta talijanskog rogača u destiliranoj vodi, a ujedno je isti film i najtanji. Ako se uzmu u obzir i svojstva filmova koja su primijećena nakon 4 mjeseca skladištenja u eksikatoru tada je jasno da je isti film zadržao svoja svojstva i navedenim dužim stajanjem. Najlošija svojstva su pokazali filmovi dobiveni iz ekstrakata mljevenog rogača što se može pripisati činjenici da su suhe mahune ovog rogača samljevene na mlinu za domaćinstvo i dobiveno brašno nije frakcionirano (ekstrakcija provedena sa različitim veličinama čestica rogača), odnosno očito je da iz ovakvog rogača nije došlo do dobre ekstrakcije sastojaka koji mogu utjecati na umreženost i stvaranje dobre strukture kitozanskog filma.



## 6. ZAKLJUČCI

Cilj ovog rada bio je pripremiti biofilme na bazi kitozana s ekstraktima rogača, a na temelju dobivenih rezultata zaključeno je sljedeće:

1. Ekstrakcijom brašna rogača različitog porijekla u 80% otopini etanola dobivaju se ekstrakti s najvećom količinom ukupnih šećera i to u rasponu od 221 g/L do 231 g/L. Slične rezultate daje i ekstrakcija u 70% acetonu, dok je najmanja količina šećera izmjerena u ekstraktima koji su pripremljeni u destiliranoj vodi (od 28,3 g/L do 39,6 g/L).
2. Najviskoznije otopine kitozan stvara u ekstraktima rogača dobivenima u 80% etanolu (oko 1000 mPa s), a najmanje viskozne otopine u 70% acetonu (između 350 mPa s i 680 mPa s), osim kod talijanskog rogača kod kojeg je ovakav rezultat primjećen kod ekstrakta dobivenog u destiliranoj vodi (530 mPa s).
3. Debljina filma uvjetovana je viskoznošću pripremljene otopine na bazi kitozana te je dokazano da što je otopina viskozija nastali film je deblji.
4. Najdeblji filmovi nastaju iz otopina koje su pripravljene iz ekstrakata u 80% etanolu (preko 300  $\mu\text{m}$ ), dok je najtanji film formiran kod destilirane vode kao otapala u ekstrakciji rogača i to talijanskog i debljina iznosi 158  $\mu\text{m}$ .
5. Ako se usporede vrijednosti filmova izmjerene nakon 4 mjeseca čuvanja u eksikatoru vidljivo je da je dužim stajanjem filmova došlo do neznatnog smanjenja debljine filmova što je i za očekivati s obzirom da tijekom određenog vremenskog perioda još uvijek dolazi do isparavanja eventualno zaostalog otapala u strukturi nastalog filma.
6. Najbolja svojstva elastičnosti i homogenosti pokazuje kitozanski film pripremljen iz ekstrakta talijanskog rogača u destiliranoj vodi, dok su najlošija svojstva pokazali filmovi dobiveni iz ekstrakata korčulanskog mljevenog rogača (dobiveno brašno nije frakcionirano).

## 7. LITERATURA

1. Arvanitoyannis, I. S., Nakayama, A., Aiba, S. (1998): Chitosan and gelatin based edible films: state diagrams, mechanical and permeation properties. *Carbohydr. Polym.* 37, 371-382.
2. Ayaz, F.A., Torun, H., Ayaz, S., Correia, P.J., Alaiz, M., Sanz, C., Gruz, J., Strnad, M. (2007): Determination of chemical composition of Anatolian carob pod (*Ceratonia siliqua* L.): sugars, amino and organic acids, minerals and phenolic compounds, *Journal of Food Quality* 30, 1040–1055.
3. Barbosa-Pereira, L., Angulo, I., Lagarón, J. M., Paseiro-Losada, P., Cruz, J. M. (2014): Development of new active packaging films containing bioactive nanocomposites *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 26, 310–318.
4. Batlle, I. and Tous, J. (1997): Carob Tree. *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy
5. Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Cerqueira, M. A., Rocha, C. M. R., Avides, M.C., Quintas, M. A. C., Vicente, A. A. (2011): Physico-chemical characterization of chitosan-based edible films incorporating bioactive compounds of different molecular weight. *Journal of Food Engineering* 106, 111-118.
6. Buljan, J.(2020):Barijerna i mehanička svojstva jestivih filmova od kitozana s dodanim ekstraktom sjemenki grožđa, Diplomski rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
7. Dragojević Müller I. (2017): Morfološke, genetske i fitokemijske značajke populacije rogača u Hrvatskoj, Doktorski rad, PMF, Sveučilišteu Zagrebu.
8. Ellis, R.P., Cochrane, M.P., Dale, M.F.B., Duffus, C.M., Lynn, A., Morrison, I.M., Prentice, R.D., Swanston, J.S., Tiller, S.A. (1998): Starch production and industrial use. *J. Sci. Food Agric.* 77, 289-311.
9. Espitia, P.J.E., Du, W.X., Avena-Bustillos, R.J., Soares, N.F.F., McHugh, T.H. (2013): Edible films from pectin: Physical-machanical and antimicrobial properties- A review. *Food Hydrocolloid* 35, 287-296.
10. Galić, K. (2009): Jestiva ambalaža u prehrambenoj industriji. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*, str. 23-31.

11. Garcia, M.P.M., Gomez-Guillen, M.C., Lopez-Caballero, M., Barbosa-Canovas, G.V. (2016): *Edible Films and Coatings: Fundamentals and Applications*, Taylor & Francis, Boca Raton.
12. Golub, N.(2016): Utjecaj sastava sirovine i veličine čestica na bioaktivna svojstva ekstrakata rogača, Završni rad , Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu
13. Gubbuk, H., Kafkas, E., Guven, D., Gunes, E. (2010): Physical and phytochemical profile of wild and domesticated carob (*Ceratonia siliqua* L.) genotypes, *Spanish Journal of Agricultural Resin* 8 (4), 1129 – 1136.
14. Guilbert, S., Gontard, N., Gorris, L.G.M. (1996): Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *Lebensm.-Wiss. Technol.* 29, 10-17.
15. Han C., Zhao Y., Leonard S. W., and Traber M. G. (2004): Edible coatings to improve storability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest Biology and Technology* 33, 67–78.
16. Iipumbu, L. (2008): *Compositional Analysis of Locally Cultivated Carob (Ceratonia siliqua) Cultivars and Development of Nutritional Food Products for a Range of Market Sectors*. University of Stellenbosch, Stellenbosch.
17. Lacroix, M., Tien, C.L. (2005): Edible films and coating from non-starch polysaccharides. U: *Innovations in Food Packaging*, (Han, J.H., ured.), Elsevier Science & Technology Books, London, str. 338-355.
18. Liu, Z., (2005): Edible films and coatings from starches. U: *Inovations in Food Packaging* (Han, J.H., ured), Elsevier Science & Technology Books, London, str.318-332
19. Owen R W, Haubner R, Mier W, Giacosa A, Hull W E, Spiegelhalder B, Bartsch H (2003): Isolation, structure elucidation and antioxidant potential of the major phenolic and flavonoid compounds in brined olive drupes. *Food and Chemical Toxicology* 41: 703 – 717.
20. Pamuković, F. (2017): *Razvoj jestivih filmova s bioaktivnim sastojcima ružmarina*, Diplomski rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
21. Ramos Ó.L., Fernandes J.C., Silva S.I., Pintado M.E., and Malcata F.X. (2012): *Edible Films and Coatings from Whey Proteins: A Review on Formulation, and on Mechanical*

- and Bioactive Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 52(6), 533–552.
22. Rhim, J.W., Shelhammer, T.H. (2005): Lipid-based edible films and coatings. U: *Innovations in Food Packaging* (Han, J.H., ured.), Elsevier Science & Technology Books, London, str. 362-380
  23. Singh, R., Singh, N. (2005): Quality of packaged foods. U: *Innovations in Food Packaging* (Han, J.H., ured.), Elsevier Science & Technology Books, London, str.24-40.
  24. Skurtys, O., Acevedo, C., Pedreschi, F., Enrione, J., Osorio, F., Aguilera, J.M. (2010): Food hydrocolloid edible films and coatings. U: *Food Hydrocolloids: Characteristics, Properties and Structures* (Hollingworth, C.S., ured.), Nova Science Publishers, Inc., New York, str. 41-80.
  25. Sothornvit, R., Krochta, J.M. (2001): Plasticizer effect on mechanical properties of beta-lactoglobulin films. *J.Food Eng.* 50,149-155
  26. Tapia, M. S., Rojas-Grau, M. A., Carmona, A., Rodriguez, F. J., Soliva-Fortuny, R., and Martin-Belloso, O. (2008): Use of alginate and gellan-based coatings for improving barrier, texture and nutritional properties of fresh-cut papaya. *Food Hydrocolloids* 22, 1493–1503.