



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

JEDNORÁZOVÝ SENZOR PH

DISPOSABLE PH SENSOR

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Sabina Dvořáčková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

RNDr. Mária Veselá, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1685/2020 Akademický rok: 2020/21
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Sabina Dvořáčková**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie
Vedoucí práce: **RNDr. Mária Veselá, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Jednorázový senzor pH

Zadání bakalářské práce:

1. Vypracujte rešerši na téma obaly v potravinářství, chytré obaly potravin, a to včetně legislativního rámce.
2. Připravte vrstvy přírodních polymerů s přídavkem aktivních látek schopných barevné reakce na pH prostředí.
3. K přípravě vrstev využijte techniky materiálového tisku.
4. Výsledky vyhodnoťte a diskutujte.

Termín odevzdání bakalářské práce: 30.7.2021:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Sabina Dvořáčková
student(ka)

RNDr. Mária Veselá, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá tenkými polymerními vrstvami obsahující látky schopné reakce při změnách pH. V teoretické části jsou zpracovány informace o chytrých obalech včetně legislativy týkající se obecně balení potravin. Jsou zde popsány i přírodní látky tvořící základ pro tvorbu jedlých filmů. Byl zde studován indikátor amoniaku na kompozici z PVA a anthokyanů z červeného zelí. Připravené vrstvy byly testovány na plynný NH_3 . Vrstvy obsahující anthokyaniny reagovaly velmi intenzivním barevným přechodem z fialové a modré barvy až do tyrkysové.

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with thin polymer layers containing substances capable of reacting to changes in the pH. In theory are processed informations of smart packaging including legislation of general food packaging. Natural substances forming the basis for the production of edible films are also described. An indicator of ammonia in composition of PVA and red cabbage anthocyanins was studied here. The prepared layers were tested for gaseous NH_3 . Layers containing anthocyanins responded with a very intense color transition from purple and blue to turquoise.

KLÍČOVÁ SLOVA

chytré obaly, pH, indikátor, PVA, anthokyaniny

KEY WORDS

smart packaging, pH, indicator, PVA, anthocyanins

DVOŘÁČKOVÁ, Sabina. *Jednorázový senzor pH*. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131429>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Mária Veselá.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

Podpis studenta

Poděkování:

Ráda bych tímto poděkovala vedoucí mé bakalářské práce RNDr. Márii Veselé, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, veškerou pomoc, ochotu a věnovaný čas.

OBSAH

1	ÚVOD.....	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	Obaly v potravinářství.....	8
2.2	Chytré obaly	8
2.2.1	Aktivní obaly	9
2.2.2	Inteligentní obaly	10
2.2.3	Senzory	13
2.2.4	Indikátory.....	14
2.2.4.1	Indikátory pH.....	15
2.2.4.2	Polyfenoly	15
2.2.4.3	Anthokyany.....	16
2.3	Jedlé filmy.....	19
2.4	Suroviny pro výrobu jedlých obalů.....	20
2.4.1	Proteiny	20
2.4.2	Lipidy	21
2.4.3	Polysacharidy.....	21
2.4.4.1	Chitosan	21
2.4.4.2	Zesíťování chitosanu.....	23
2.5	Přírodní polymery	25
2.6	Měření barevnosti	26
2.7	Legislativa balení potravin.....	29
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	31
3.1	Použité chemikálie	31
3.2	Použité přístroje	31
3.3	Použitý software.....	31
3.4	Příprava pufrů	32
3.5	Měření spektra roztoku pufrů.....	32
3.6	Příprava filmů	33
3.7	Měření barevnosti po změně pH.....	34
4	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	36
4.1	Spektra roztoku pufrů.....	36
4.2	Spektra zásobních roztoků	38

4.3 Příprava roztoků ke tvorbě polymerních vrstev	38
4.4 Měření barevnosti vrstev	39
5 ZÁVĚR	46
6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	47

1 ÚVOD

Obaly potravin v posledních letech zažívají značný inovativní růst především v oblasti rozvoji aktivních a inteligentních obalů. Tento typ obalů plní řadu funkcí, jejichž cílem je vylepšování stavu a udržování kvality balené potravin. Mezi jednu z mnoha výhod patří bezpochyby jejich biodegradabilita, díky níž nezatěžují životní prostředí v tak značné míře, jako je tomu u obalů vyráběných z plastů. Aktivní obaly napomáhají prodloužení životnosti či celkovému zlepšení sensorických vlastností a stavu balené potravin, zatímco inteligentní obaly informují spotřebitele změnou barvy o špatném skladování, zkažení či poškození potravin.

Základ pro výrobu jedlých filmů tvoří především jedlé složky, tedy polysacharidy, lipidy a proteiny. Jedním ze zástupců polysacharidů schopných prodlužovat trvanlivost potravin je chitosan. Tento polymer je díky svým příznivým vlastnostem čím dál častěji využíván pro tvorbu již zmíněných filmů.

Cílem této práce bylo shrnout obecné informace o obalech v potravinářství, o inteligentních a jedlých aktivních obalech včetně zahrnuté legislativy balení potravin. Byly zde popsány i vlastnosti látky chitosan tvořící základ pro tvorbu polymerních vrstev. Úkolem bylo připravit polymerní vrstvy, do nichž byly během přípravy přidány aktivní látky schopné barevné reakce. Experimentální část spočívala ve výrobě polymerních filmů s přídavkem aktivních látek schopných reagovat na změnu pH.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Obaly v potravinářství

Potravinářským obalem je označován obalový prostředek či soubor prostředků zabezpečující ochranu potravin před poškozením a znehodnocením. Ochrannou funkcí se rozumí omezení, popř. modifikace vnějších vlivů, přičemž vlastní funkce obalu může být pasivní, ale i aktivní. Z hlediska zdravotní nezávadnosti a bezpečnosti potravin jeho význam především spočívá v ochraně potravin před vnějšími vlivy, čímž zabraňuje kontaminaci mechanickým, fyzikálním, chemickým a mikrobiologickým působením a tím tak prodlužuje její údržnost. Zároveň obaly oddělují potraviny od vnějšího prostředí, umožňují jejich oběh, prodej a usnadňují jejich spotřebu a manipulaci přímo u spotřebitele. [2]

Způsob balení potravin může tak vést k prodloužení nejen jejich bezpečnosti, ale i kvality. Úkolem každého obalu je i vizuální komunikace při oběhu zboží a v konečné fázi mezi výrobcem/dovozcem a spotřebitelem/zákazníkem. V dnešní době ale stále více nabývá na významu informační neboli komunikační funkce obalu z hlediska zdravotního dopadu z konzumace potravin.

Obaly lze na základě různých kritérií rozdělit podle:

- funkčního dělení obalů na spotřebitelské (prodejní), skupinové, manipulační a přepravní (distribuční)
 - základní funkce spotřebitelského obalu na ochranné (ochrana před nežádoucími vlivy – patří sem i aktivní a inteligentní obaly), manipulační (usnadňují manipulaci s produktem), informační a marketingové (propagace)
 - funkce manipulačního obalu na manipulační, ochranné, informační a marketingové
 - funkce přepravního obalu na přepravní (umožňují a racionalizují přepravu výrobku), ochranné (chrání výrobek během přepravy) a informační
- četnosti jejich používání na obaly jednorázové nebo opakovaně použitelné
- mechanických vlastností na měkké (flexibilní), polotuhé a tuhé
- látkového složení na plastové, skleněné, papírové, kovové či kombinované.

Jakmile obal přestane plnit svůj účel, pro který byl vyroben, stává se z něj odpad. Mnohé obalové odpady mohou ale dále sloužit jako vstupní suroviny pro zpracování jiných výrobků, například dalších obalů. Aby byl proces recyklace co nejúčinnější, je potřeba odpady z obalů třídít na jednotlivé složky podle jejich materiálového složení. [1]

2.2 Chytré obaly

Balená potravina je definována jako samostatná prodejní jednotka skládající se z potravin a obalu, do něhož byla potravina vložena před samotným uvedením do prodeje. Potravina může být v obalu zcela uzavřena, nebo uzavřena pouze z části, aniž by došlo ke změně obsahu obalu. Obal musí mimo jiné splňovat požadavek na ochranu potravin před jejich znehodnocením a typ materiálu, který je určený pro styk s potravinami. [1]

Obal nejen chrání potravinu před znehodnocením, ale zároveň je zdrojem důležitých informací pro spotřebitele. Některé údaje a informace na obalech jsou povinné ze zákona, jiné jsou povinné jen v některých případech nebo zcela nepovinné. Etikety obalů však primárně obsahují název a typ výrobku, informace o složení, nutriční specifikaci, množství, informace o době použitelnosti, datum minimální trvanlivosti, podmínky skladování, uvedení výrobce, popř. dovozce či údaje o způsobu použití. [3],[41]

V posledních letech zažívají potravinářské obaly prudký nárůst inovací. Jde především o snahu vylepšit několik základních funkcí obalů, jako jsou – ochranná, manipulační, informační či uživatelská. Hlavním cílem je zajistit nejen zvýšení trvanlivosti, ale i indikace nezávadnosti potraviny uvnitř obalu. Ideálním řešením pak bude obal, u kterého nebude důležitý termín trvanlivosti, ale indikátor nezávadnosti na obalu potraviny. [4]

Z tohoto důvodu se začaly vyvíjet takzvané chytré obaly rozdělující se na aktivní a inteligentní obaly, které jsou schopny aktivně ovlivňovat vlastnosti uchovávaných objektů a zároveň komunikovat se spotřebitelem. Ačkoliv mají aktivní a inteligentní obaly podobné struktury, existuje mezi nimi řada podstatných rozdílů.

2.2.1 Aktivní obaly

Aktivní obaly aktivně mění podmínky, ve kterých je daná balená potravina uchovávána. Na základě toho tak mohou prodlužovat její údržnost, bezpečnost, ale také senzorkové (chuť, vůně, vzhled, texturu) nebo nutriční vlastnosti. Mohou uvolňovat aktivní činidla (konzervanty, antioxidanty), absorbovat nežádoucí látky (kyslík, oxid uhličitý, ethylen, vlhkost, pachy), regulovat vlhkost nebo mít antimikrobiální účinky. [8]

Aktivní obaly lze rozdělit do několika skupin podle způsobu, kterým ovlivňují vlastnosti balené potraviny. Obecně se ale nejčastěji vyskytují ve dvou formách, často označovaných jako migrační a nemigrační obaly. V prvním případě jsou to materiály, které dokážou z okolí atmosféry eliminovat nežádoucí plyny (*scavengers* – „zachytávače, lapače“), jsou tudíž schopny z okolí potravin odstraňovat například kyslík, oxid uhličitý, vlhkost, ale také ethylen (hormon regulující zrání ovoce) či zápachy často vyvolané těkavými aldehydy a aminy. [5]

Aktivní látka je u nemigračních obalů umístěna v sáčku nebo v podložce, se kterou přichází potravina do kontaktu. Nejznámějšími příklady jsou absorbéry kyslíku, kde se jako aktivní látka nejčastěji používá práškové železo nebo askorbová kyselina. Použitím práškového železa může docházet k redukci koncentrace kyslíku na nižší hodnoty, než které zanechává balení potravin vakuem. Ethylen vzniká během procesu zrání ovoce, jelikož jeho přítomnost katalyzuje samotné zrání, současně ale urychluje dýchání, což vede k měknutí rostlinných pletiv. Absorbéry ethylenu proto využívají jako aktivní látku především manganistan draselný, který dokáže ethylen oxidovat až na oxid uhličitý a vodu. Jeho nevýhodou je však jeho toxicita, díky které nesmí dojít k přímému kontaktu s balenou potravinou a zároveň se může KMnO_4 používat jen v nízkých koncentracích. Absorbéry vlhkosti mají aktivní látku vkládanou do obalů ve formě sáčků či mikroporézních sáčků, kde slouží ke kontrole a redukci vlhkosti. Jelikož vlhkost způsobuje větší náchylnost k mikrobiálnímu kažení, může docházet ke změnám struktury, vzhledu, a tím ke snížení trvanlivosti. U některých produktů je ale vysoká úroveň relativní vlhkosti žádoucí, jelikož zabraňuje vysušování produktu (ryby, maso, ovoce, zelenina, ...).

Tabulka 1: Základní typy absorbérů v aktivních obalech [5]

typ absorbérů	příklad využití	aktivní látky
kyslíku	sýry, pečivo, ořišky, sušené mléko, káva, čaj, fazole, aj.	sloučeniny na bázi železa, askorbová kyselina, enzymy
vlhkosti	pečivo, maso, ryby, drůbež, aj.	glycerol, silikagel, polyakryláty
ethylenu	ovoce např. banány, jablka, mango, zelenina, květák, aj.	oxid hlinitý, manganistan draselný, zeolit
zápachu	jídlo snadno podléhající oxidaci (např. potraviny obsahující rybí tuk)	kyselina citrónová, estery celulózy

Druhým typem aktivních obalů jsou materiály obsahující nebo produkující látky, které migrují do prostoru mezi potravinou a obalem, případně přímo do potraviny. Tyto látky pak mohou mít různý efekt. Aktivní látka je v tomto případě přímo včleněna do balicího materiálu. [9]

Tabulka 2: Základní typy emitérů v aktivních obalech [5]

typ emitérů	příklad využití	Efekt
oxidu uhličitého	maso, drůbež	inhibice růstu některých bakterií
	zelenina a ovoce	prodloužení životnosti
ethanolu	pečivo, sušené rybí produkty	inhibice růstu bakterií
organických kyselin	různorodé	antimikrobní účinek
oxidů síry	sušená zelenina a ovoce	odbarvující účinek
	různé předvařené suroviny	antioxidační účinek
oxidů síry	různorodý	antimikrobiální účinek

Speciální skupinou emitérů jsou materiály uvolňující do potravin aditiva, chuťově aktivní látky či různé potravinové ingredience (cukry, škrob, sůl, aj.). [5]

2.2.2 Inteligentní obaly

Inteligentní obaly přímo neovlivňují vlastnosti potravin, ale monitorují jejich stav. Jsou tudíž schopné monitorovat různé fyzikální veličiny, kterým je potravina v průběhu času vystavena. Díky tomu mohou spotřebitele informovat o její kvalitě, zda je čerstvá nebo už zkažená, jelikož

využívají komunikační funkce k indikování změn ve vnitřním a vnějším prostředí balené potraviny. [10]

Obecně můžeme inteligentní obaly rozdělit do 3 skupin podle využívaných technologií – indikátory poskytující informace o kvalitě potraviny, nosiče dat a senzory pro kvantifikaci analytů v potravinách. Indikátory mohou být zabudovány do materiálu nebo umístěny na jeho povrchu. Některé naopak vyžadují přímý kontakt s potravinou, ale není to vždy podmínkou. [5]

Tabulka 3: Základní typy indikátorů v inteligentních obalech [5]

typ indikátoru	Efekt
časově – teplotní	poskytují informaci o teplotní historii a průběhu teploty (např. při skladování)
kyslíku	Dokážou odhalit mechanické poškození obalu
oxidu uhličitého	informují o množství oxidu uhličitého (užitečné v případech použití modifikované atmosféry)
barevné indikátory aktuální teploty	informují o aktuální teplotě uvnitř obalu (především pro potraviny určené k přípravě v mikrovlnné troubě)
patogenní mikroflóry	odhalí případnou nežádoucí kontaminaci
zlomení	indikují zlomení obalu

Inteligentní obaly se vyznačují především indikací změny stavu potraviny na základě změny barvy daného indikátoru. Většina z nich reaguje na přítomnost metabolitů, které vznikají v průběhu kažení potraviny. Mohou také indikovat přítomnost biogenních aminů vznikajících enzymatickou dekarboxylací nebo degradací proteinů v potravinách až na aminokyseliny. [6] Materiál transparentních inteligentních obalů může být vybaven časově-teplotním indikátorem k uchování chlazených potravin (TTI neboli *time-temperature indicator*). Na základě sledování teploty v čase indikátor dokáže spolehlivě určit čerstvost potraviny, jelikož nejčastější příčinou kažení chlazených potravin je právě vystavení potraviny nevhodným teplotám a tím nedodržení teplotního režimu. A právě taková nedodržení dokážou obaly vybaveny TTI spolehlivě odhalit.

Většina inteligentních obalů indikuje svůj stav vizuálně, ale v poslední době se do balení potravin vpravují inovativnější technologie, a to konkrétně technologie informační. Jedná se o chytrá zařízení spolupracující s inteligentním obalem, která mohou být stěžejná pro přepravce, skladníky, konečné prodejce a i zákazníky, jelikož mohou ukládat zásadní informace či celou historii produktu, jako je typ výrobce, doba výroby, teplotní historie produktu, složení vnitřní atmosféry, mechanický stav obalu a další. [11] Jedním z takových příkladů mohou být již zmíněné TTI indikátory pracující na principu RFID (radio frequency identification tags), tzv. radiofrekvenčních identifikačních štítků, které dokážou odesílat data

pouze v blízkosti vysílače. Samotný štítek nevysílá žádné signály, ale jakmile se v jeho blízkosti objeví vysílač, který periodicky vysílá signály do okolí, dokáže štítek využít přijímaný signál ke svému nabití a následně k odeslání odpovědi nesoucí obrovskou škálu informací. [5],[14]

V okolí potravin je dále možné detekovat změny obsahu plynných látek, kdy při změně koncentrace např. kyslíku nebo CO₂ indikátory změni barvu v důsledku chemické nebo enzymatické reakce. [4]

Existují také indikátory schopné reagovat na vystavení balené potravin UV záření. Čím více záření na indikátor bude dopadat, tím intenzivnější bude změna barvy. [7]

V dnešní době se nově vyvíjené inteligentní obaly skládají z materiálů tvořených z velké části polyesterem vytvářejícím matici, ve které jsou distribuovány nanočástice pigmentu BBS (bis(benzoxazolyl)stilben). Pigment BBS je derivát stilbenu, který je zvláště vhodný pro termochromní polymerní kompozity jako jsou luminiscenční chromofory. Má velmi dobrou tepelnou stabilitu při tavení polymerních materiálů, a navíc splňuje legislativní podmínky pro užívání v obalové potravinové technice. Jeho užitečnou vlastností je schopnost zelené fluorescence pod UV světlem. Když molekula fluoreskuje, pohlcuje světlo dané vlnové délky a vyzařuje světlo o jiné vlnové délce, tudíž ho řadíme mezi fluorofory (látky schopné fluorescence). [34] Jedná se o jev charakteristický emisí záření z dané látky, jelikož při něm dojde z excitovaného stavu molekuly k samovolnému vyzáření fotonu, tzv. emisí záření. Tato emise záření nastává jako odezva na dodání určitého množství energie, kterou je daný fluorofor schopný absorbovat a poté postupně část přijaté energie vyrazovat po určitý časový úsek do svého okolí. Absorbci určitého kvanta záření nesoucí určité množství energie se daný fluorofor dostane do tzv. excitovaného stavu, tedy stavu o vyšší energii, než je energie základního stavu. Po excitaci se pak snaží daný fluorofor dostat zpět z vyšších obsazených energetických hladin do rovnovážného stavu pomocí zářivých přechodů (vyzařovaná energie je ve formě fotonu). Fluorescence je tedy spinově dovolený zářivý přechod. [35]

Pokud je obalový materiál poškozen, nebo prošel nežádoucím tepelným zákrokem, dojde k barevné změně fluorescence u BBS na modrou, díky čemuž je poměrně snadné odlišit nevhodnou potravinu.

Termochromní materiály vykazují významnou změnu fluorescenčních vlastností v reakci na vnější stimulaci. Při tepelné stimulaci dochází ke konformační změně páteře polymeru či variabilních intermolekulárních interakcí mezi polymerními řetězci. BBS vykazuje reverzibilní termochromní přechod mezi zelenou a modrou fluorescencí. Kompozit emituje zelené světlo po UV excitaci při pokojové teplotě, ale pokud dojde ke změně teploty nad hodnotu referenční, změni se emitované záření na modré. Jestliže teplota překročí hodnotu teploty tání daného kompozitu, jsou pak molekuly BBS izolovány makromolekulami kompozitu a rovnoměrně dispergovány v polymerní matici, což vede k emisí modré fluorescence. Termochromní barevná konverze tudíž pochází z disperze molekul barviva v kompozitu. Změna barvy na modrou je obecně také předpokládána v důsledku fluorescenčního příspěvku molekulární agregace BBS k izolovaným formám BBS. [34]

Při mechanickém napětí dochází k poškození agregace BBS spojenou s rozpadem interakcí mezi chromoforickými molekulami, což je následováno modrou emisí záření.

Semikrystalická polymerní matrice hraje důležitou roli v disperzi organických barviv, protože se molekuly barviva nacházejí pouze v amorfni fázi polymeru nebo v absorbovaných stavech na površích polymerních krystalitů. [34],[41]

Další výhodou takového materiálu je matrice tvořená biodegradabilním materiálem, tudíž poté, co obal splní svou funkci, se snadno a přirozeně rozpadá. [5]

2.2.3 Senzory

Neustálý technologický pokrok v oblasti tištěné a hybridní elektroniky zaznamenává poslední dobou rozsáhlý vývoj nové generace senzorů. Senzor je zařízení sloužící k detekci, lokalizaci nebo kvantifikaci energie nebo hmoty tím, že dává signál pro detekci nebo měření fyzikálních či chemických vlastností, na které zařízení reaguje. Většina senzorů se skládá ze 4 hlavních částí. První je tzv. snímací část tvořená receptorem představujícím senzorkou vrstvu schopnou reagovat na přítomnost určité látky, specifického analytu. Další částí je měřicí část senzoru, tzv. převodník (transducer – transdukční část) sloužící pro převod biologického materiálu na výstupní signál, který je převáděn na měřitelnou elektrickou odpověď. Součástí senzoru je také elektronika zpracování signálu a jednotka zobrazení signálu. [7],[36]

Pro komercializaci senzorů je ale důležité překonat řadu faktorů, jako je zlepšení pružnosti, snížení nákladů na výrobu, zvýšení citlivosti a schopnosti odolávat vnějším vlivům (světlo, mechanické namáhání, teplota) včetně zajištění bezpečnosti při styku s potravinami. Pokrok v tištěné elektronice umožnil vývoj nových senzorů, které mohou být vytištěny na různých substrátech, jsou lehce ohybatelné a mohou být tištěné v různě velkých plochách.

Pozornost je kromě tradičních senzorů pro měření teploty, vlhkosti nebo pH několik posledních let spíše zaměřena na senzory chemické, konkrétně senzory elektrochemické. Ty představují důležitou podtřídu senzorů založených na redoxních reakcích probíhajících na rozhraní elektrody a analytu při aplikaci napětí. Ačkoliv flexibilní potištěné chemické senzory integrované do balení potravin, sloužící pro kontrolu kažení potravin a integritu obalu, mají slibnou budoucnost, nejpokročilejší technologie inteligentních zařízení v potravinářských obalech představují biosenzory a senzory plynů. [36]

Hlavní rozdíl mezi chemickými senzory a biosenzory tkví v rozpoznávací vrstvě. U chemických senzorů je receptorem chemická sloučenina, zatímco u biosenzorů je tato vrstva vyrobena z biologických materiálů (enzymy, protilátky, antigeny, nukleové kyseliny a další). Opakovaně použitelné biosenzory slouží především pro detekci kontaminace potravin a jejich značná výhoda spočívá nejen v rychlosti stanovování, ale také v jejich selektivitě. [6]

Senzory plynů kvantitativně a reverzibilně reagují na plynné analyty. Největší pozornost je věnována vývoji inteligentních kyslíkových senzorů sloužící ke kvantifikaci prostupu kyslíku skrz obal. Tyto senzory jsou vysoce citlivé, poskytují přesnější kvantitativní měření a zakládají se na luminiscenční detekci. Umožňují navíc rychlé reakce bez spotřeby analytu a nutnosti využití elektrického připojení. I když je kyslík hlavním faktorem při degradaci mnoha potravin, po zavedení balicích systémů s modifikovanou atmosférou je senzorům sloužícím k detekci oxidu uhličitého v obalech věnována větší pozornost. [36]

2.2.4 Indikátory

Indikátory řadíme mezi základní funkční prvky systémů inteligentních balení sdělující informace související s přítomností či nepřítomností látky, s koncentrací konkrétní látky či skupiny látek a s rozsahem reakce mezi dvěma nebo více látkami. Tyto informace jsou indikovány okamžitými vizuálními změnami ať už pomocí různých intenzit barev, či difúzí barviva. Na rozdíl od detektoru tudíž nepracují s elektrickým signálem, ale změnu stavu vykazují změnou barvy. Závisí ale i na typu zahrnutých informací, které mohou být kvantitativní nebo semikvantitativní povahy. [36]

I přes velkou rozmanitost indikátorů obecně spadají do systémů pro zvyšování kvality a hodnoty produktů. U potravinářských produktů se využívají převážně k indikaci teploty, složení atmosféry (O_2 , CO_2 , relativní vlhkost), které mohou být označovány i jako indikátory neporušenosti obalů, k indikaci čerstvosti zabaleného produktu a mnoho dalších. Indikátory teploty dávají přehled o tom, zda byl výrobek vystaven teplotám nad nebo pod referenční hodnotu, jelikož při vyšších teplotách se kvalita potravin snižuje vlivem biochemických reakcí (např. denaturace bílkovin) a mikrobiálního růstu. Pro indikaci teplot se v praxi nejvíce využívá změna barvy, jelikož indikátory monitorují buď okamžitou úroveň teploty, již byl výrobek vystaven v reálném čase (vratná hodnota), nebo zaznamenává její extrém (nevratná hodnota). Sledovaným parametrem u teplotních indikátorů je i rychlost jejich odezvy. V poslední době jsou velmi uplatňované TTI integrátoři času a teploty. U těchto časově – teplotních indikátorů se porušení teplotního režimu projevuje změnou barvy a spotřebitel tak může přímo posoudit čerstvost potravin a nemusí se tak spoléhat na datum spotřeby.

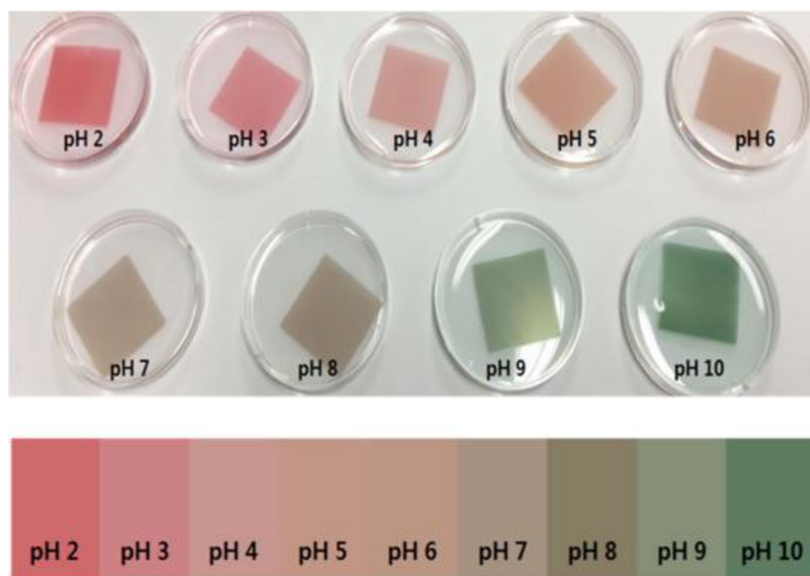
Indikátory netěsnosti obalu monitorují změny v obsahu kyslíku, CO_2 a někdy i relativní vlhkosti. Bývají umístěny uvnitř obalu, aby sledovaly změny vnitřních koncentrací plynů pomocí změny barvy čidla v důsledku jevů, které vznikly díky prostupu obalového materiálu, mikrobiálního růstu, či která je výsledkem chemické nebo enzymové reakce na potravinářské matrici. Pokud je obal poškozen a v důsledku porušení obalu se změní koncentrace plynu uvnitř, indikátor tak při vyšší koncentraci kyslíku, než je zvolená hodnota, nevratně mění barvu a tím varuje spotřebitele o závadnosti obalu. CO_2 a dusík se obecně používají v baleních s modifikovanou atmosférou, jelikož mají bakteriostatické účinky. Uvnitř takových obalů je obvykle nižší koncentrace kyslíku (do 2 %) a vysoká koncentrace CO_2 . Pokud dojde k překročení povolené koncentrace kyslíku, indikátor signalizuje překročení limitní hodnoty nevratnou změnou barvy. Většina zařízení je založena na redoxních barvivech (nejčastěji methylenová modř), redukční (redukující cukry) či alkalické sloučenině (NaOH). Nevýhodou těchto indikátorů je však vyluhování barviva při kontaktu s vlhkostí v horním prostoru obalu. Vzhledem ke zvyšující se poptávce vycházející z požadavků spotřebitelů po zdravých a čerstvých potravinách se v posledních letech velmi uplatňují indikátory čerstvosti. Tato zařízení umožňují sledovat kvalitu potravinářských výrobků během skladování a jejich přepravy, při kterých bývá pokles čerstvosti důsledkem vystavení potravin škodlivým podmínkám jako je mikrobiální růst či různé chemické změny (množství těkavého zásaditého dusíku, těkavých aminů, sirovodíku vznikajícího během stárnutí masa, množství různých metabolitů a další). [36]

2.2.4.1 Indikátory pH

Změny pH jsou důležitým faktorem informujícím o znehodnocení mnoha potravinářských výrobků. Na základě toho byly vyvinuty vizuální indikátory pH jakožto jeden z typů inteligentního systému balení potravin, který dokáže monitorovat a informovat spotřebitele o stavu potravin v reálném čase. Jejich výhodami je malá velikost, velká citlivost a nízké náklady.

Vizuální indikátory pH se skládají z barviva citlivého na pH a z pevné matrice sloužící k imobilizaci barviva pH. K imobilizaci přírodních pH barviv byla studována řada přírodních a biodegradabilních polymerů, včetně chitosanu a jiných polymerů. Tyto indikátory obsahují barviva měnící barvu při jakékoliv změně hodnoty pH. Změna barvy je založena na oxidačně-redukčních změnách barviv v důsledku posunu pH, ale souvisí také se změnou chemické struktury indikátoru, k níž dochází při určitém pH.

V posledních letech velký potenciál prokázala přírodní barviva využívaná v systémech balení potravin, jelikož bývají zřídka kdy toxická, jsou biologicky rozložitelná, snadno se přepravují a neobsahují nečistoty. Jedná se zejména o nejrozšířenější skupinu rostlinných pigmentů zvaných anthokyany. [37]



Obrázek 1: Změny zbarvení kolorimetrických indikátorových filmů pH při různém pH prostředí [37]

2.2.4.2 Polyfenoly

Polyfenoly jsou širokou skupinou bioaktivních látek, které díky své silné antioxidační a antiradikálové aktivitě chrání buňky před oxidačním poškozením a podporují ochrannou činnost organismu. Zahrnují např. aminokyseliny, éterické oleje, ale v rostlinné potravě jsou nejvíce zastoupeny fenolovými kyselinami a flavonoidy. Rostlinné polyfenoly obsahují několik tisíc látek a rozdělují se do 4 základních skupin: fenolové kyseliny, flavonoidy, stilbeny a lignany. 2/3 z celkového množství polyfenolů tvoří právě flavonoidy. [42]

Mnohé flavonoidy jsou významná rostlinná barviva obsahující především žluté flavony, flavonoly, chalkony a aurony, bezbarvé nebo nažloutlé flavanony, flavanonoly a specifickou

skupinou jsou červená, fialová, modrá, žlutá i oranžová rostlinná přírodní barviva anthokyany, pro něž je typická citlivá barevná reakce na široké rozmezí pH. [37],[42]

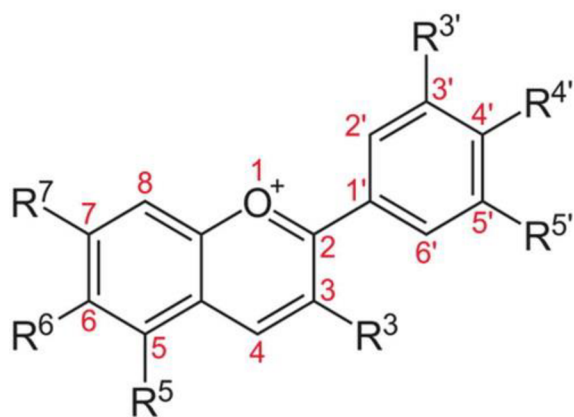
2.2.4.3 Anthokyany

Anthokyany patří mezi značně rozšířené rostlinné pigmenty, jejichž účinky mají pozitivní vliv na lidské zdraví. Vyznačují se především svými antioxidačními, antibakteriálními, antivirotickými, antikarcinogenními a imunostimulačními účinky. Mimo jiné dokážou redukovat i koronární onemocnění a mají protizánětlivé účinky. Tato přírodní barviva se tradičně používají jako léky k léčbě různých nemocí, proto jsou kromě přírodních pigmentů anthokyany extrahované z jedlých rostlin potenciálními farmaceutickými přísadami. K izolaci anthokynů se využívá extrakce na bázi vody, jelikož voda považována za ekologičtější způsob extrakce na rozdíl od obecně bezpečného extrakčního média ethanolu. Pigmenty lze také extrahovat přidáním oxidu siřičitého do vody pro stabilizaci anthokyanové struktury. [45]

Kromě toho jsou tyto ve vodě rozpustné sloučeniny uplatňovány pro barvení různých potravinářských produktů, jelikož mají schopnost vytvářet širokou škálu barev. Barviva vyráběná z těchto pigmentů patří mezi schválené potravinářské přídatné přísady získávané ze zahradnických plodin (zejména ovoce a hlízy) a celé řady květin. [47]

Jedná se o přírodní barviva vyskytující se v rostlinách v podobě glykosidů, jejichž necukerná část (aglykon) se označuje jako anthokyanidin. Anthokyany jsou glykosylovanou formou anthokyanidinů, tedy pokud se anthokyanidiny spojí s cukry, vytvářejí se anthokyany. Naopak anthokyanidiny vyskytující se v glykosidové formě nazýváme anthokyaniny. Cukernou složku (glykon) tvoří různé sacharidy (mono-, di-, tri-), které jsou nejčastěji navázány na anthokyanidiny v poloze C-3 a C-5, zřídka C-7 (nejběžnější je glukosa). Podle počtu takto navázaných sacharidů se anthokyany dělí do několika skupin, z nichž nejčastěji vyskytující jsou kyanidin-3-glykosidy, které se nacházejí ve většině rostlin. Vzhledem k tomu, že cukry mohou být spojeny na různých místech a v rostlinách je přítomno velké množství různých cukrů, lze tak vytvořit velmi široký rozsah anthokyanů. Druh cukru však nemá velký vliv na chemické vlastnosti barviv, jelikož je mnohem významnější poloha, ve které je daný cukr vázán. Rozmanitost anthokyanů lze zvyšovat chemickou kombinací cukrů s organickými kyselinami, tudíž cukerná část může být acylována například kyselinou kumarovou, kávovou, jablečnou, octovou, šťavelovou atd. [42],[43],[45]

Struktura je založena na uhlíkové kostře (C₁₅) skládající se z cyklicky uspořádaného aromatického chromanového kruhu nesoucího v poloze 2 druhý heterocyklický kruh obsahující kyslík a tento kruh je spojený s dalším aromatickým kruhem. Jejich stavba je charakterizována uhlíkatým skeletem C₆-C₃-C₆, jelikož cyklické struktury jsou uspořádány právě podle již zmíněného vzorce. Díky tomu jsou zařazovány mezi flavonoidní rostlinné fenoly. Anthokyany jsou založeny na jediné základní jádrové struktuře – flavyliový iont (nebo také fenylobenzopyryliový). Jedná se tak o polyhydroxyderiváty a polymethoxyderiváty tohoto iontu nesoucího 7 různých postranních skupin tvořených buď atomem uhlíku, hydroxidem, nebo methoxyskupinou v různých kombinacích. [43]



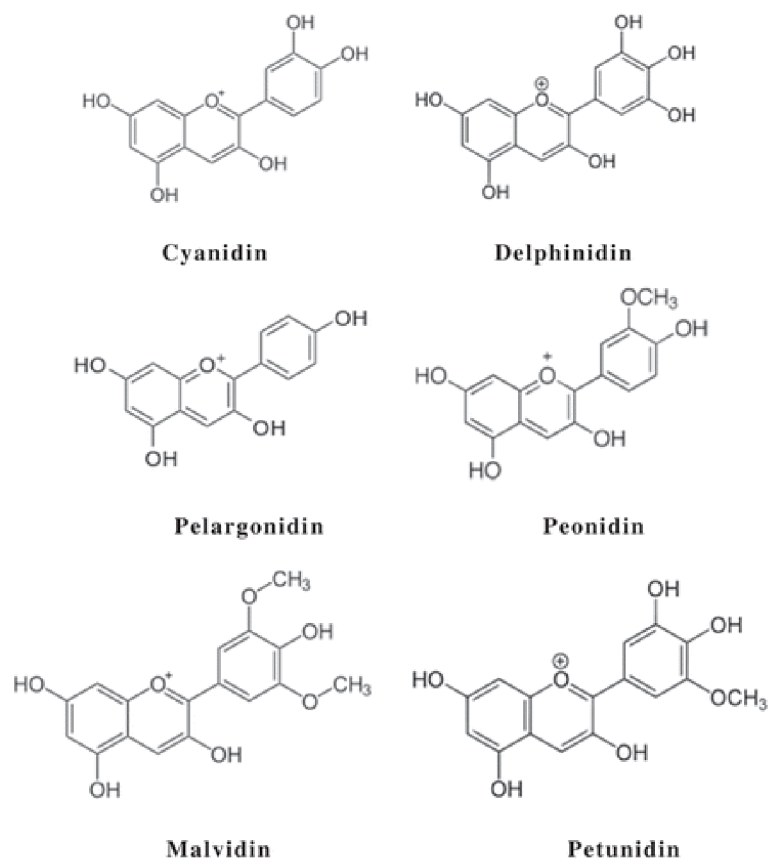
Obrázek 2: Základní jednotka anthokyanů [45]

Anthokyaniny vykazují vysokou rozmanitost, všechny jsou však založeny na sníženém počtu základních anthokyanidinových struktur. Takovou rozmanitost přirozených barviv je možné vytvořit chemickou kombinací základní struktury anthokyanidinu C6-C3-C6 se sacharidy nebo acylovanými skupinami. K získání anthokyanu tak musí být anthokyanidin kombinován s alespoň jednou molekulou cukru, díky čemuž jsou anthokyaniny klasifikovány také podle počtu molekul cukru ve svých strukturách. Barva je také ovlivněna počtem hydroxylových a methoxylových skupin: pokud je více hydroxylových skupin, směřuje pak barva k více modravému odstínu, ale pokud je více methoxylových skupin, barva směřuje k červenému odstínu. Barva mimo jiné závisí na interakci anthokyanových molekul s jinými molekulami či s prostředím, z čehož lze vyvodit, že velký počet chemických kombinací vysvětluje široký rozsah přírodních barev. [46],[43]

Zdrojem anthokyanů je řada rostlinných čeledí, např. révovité (vinná réva), růžovité (třešně, švestky, jahody, jablka atd.), lilkovité (lilek), lomikamenovité (rybíz, angrešt), brukvovité (červené zelí, ředkvičky), slézovité (ibišek), routovité (červený pomeranč, grapefruit), vřesovcovité (borůvky, brusinky) a další. Pro extrakci barviv se však nejvíce používá červené zelí, černá mrkev, fialové brambory, borůvky nebo bezinky. [42],[43]

V přírodě bylo dosud identifikováno kolem 500 anthokyanů a spousta rostlin jim vděčí za svoji barvu. Druh anthokyanidinu obsaženého v rostlině do značné míry určuje její barvu, ale mnoho rostlin obsahuje kromě anthokyanů i další barviva (kvercetin, chlorofyl, karotenoidy atd.), které ovlivňují barvu výslednou. [42],[43]

V přírodě se nejčastěji vyskytují glykosidy kyanidinu (fialový), delfinidinu (purpurově modrý), malvidinu (purpurový), pelargonidinu (šarlatově červený), peonidinu (fialový) a petunidinu (purpurově modrý). Kyanidin je červenofialový až purpurový pigment nacházející se především v bobulích a zelenině červené barvy (červené brambory, fialová kukuřice). Delfinidin se v rostlině jeví jako modro-fialový či fialový pigment a způsobuje modrý odstín květů. Pelargonidin je červeně zbarvený pigment, který dodává květinám oranžový odstín a některým druhům ovoce a bobulovin odstín červený. Některé rostliny obsahují anthokyaniny odvozené od jediného anthokyanidinu (např. jablka, červené zelí a černý bez obsahují glykosidy kyanidinu), jiné naproti tomu obsahují různé glykosidy více druhů anthokyanidinů. [42],[45]

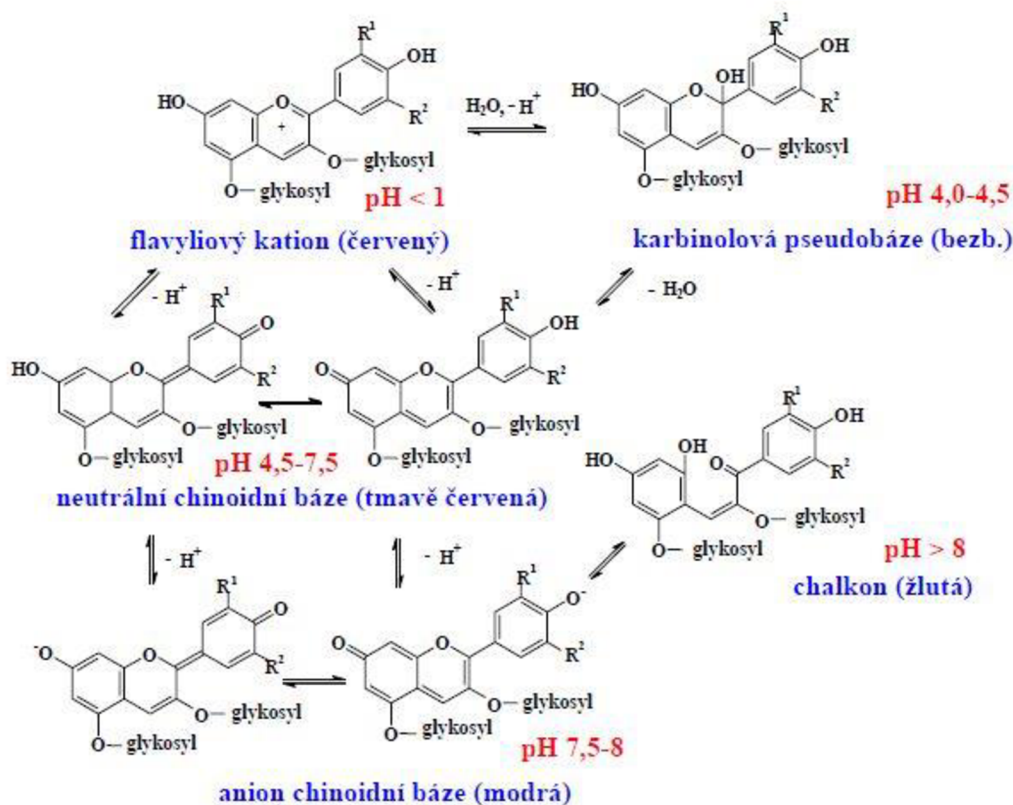


Obrázek 3: Hlavní anthokyanidiny v rostlinách [45]

Barevný odstín a stabilita anthokyanů závisí na jejich vnitřní stavbě a vnějších faktorech (pH, světlo, teplota), díky čemuž je pro ně charakteristické velké množství barevných odstínů. Barva je silně ovlivněna kyselostí či zásaditostí daného prostředí, ve kterém se vyskytují. Při nízkém pH se mnohé anthokyaniny zbarvují do červena, při vysokém pH naopak do modra. Anthokyanidiny jsou všeobecně nestabilní a hůře rozpustné ve vodě než anthokyaniny. Glykosidace aglykonu (necukerné složky) ale napomáhá ke stabilizaci a rozpustnosti molekuly barviva. [46]

Anthokyaniny se chovají jako pH indikátory. Jak již bylo řečeno výše, jejich typickou vlastností je změna jejich barvy v závislosti na pH vodného prostředí. Postupně mění barvu od červené přes fialovou, modrou, zelenou až po žlutou stejně tak, jako roste pH. Dochází tak k postupné přeměně na 5 různých struktur aglykonů. Ve velmi kyselém prostředí se vyskytují výhradně ve formě červených flavyliových kationtů. Při rostoucím pH postupně vzniká bezbarvá karbinolová pseudobáze, jež se stabilizuje, stávající červená barva pomalu slábne a při pH kolem 4-4,5 dochází k úplnému odbarvení. Dalším zvyšováním pH vzniká neutrální chinoidní báze nesoucí purpurově červené zbarvení. Při pH 7-8 vzniká její modře zbarvený aniont. S dalším růstem pH se postupně vytrácí modré zbarvení, následně dochází k otevření pyranového kruhu a vznikají žluté chalkony.

Přechody červených flavyliových solí ve fialové chinoidní bázi a jejich modré anionty jsou při změnách pH velmi rychlé a vratné, transformace chalkonu je však pomalá a neprobíhá již kvantitativně. [42],[44],[45]



Obrázek 4: Závislost zbarvení anthokyanů na pH prostředí [48]

Anthokyaniny jsou nejstabilnější při pH 3-4,5, jelikož při nižším pH probíhá především hydrolyza glykosidické vazby. Už při pH > 5 začíná docházet k jejich oxidaci a v zásaditém prostředí se rozkládají. [42],[45]

2.3 Jedlé filmy

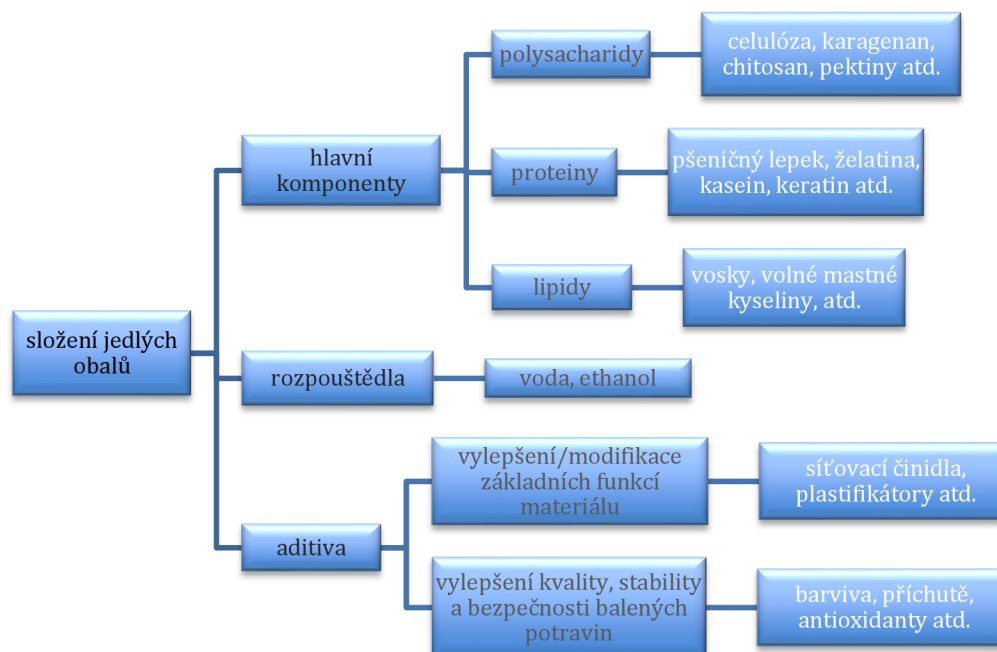
Výroba potravin a potravinářských obalů v posledních letech získala větší pozornost vzhledem ke snaze vylepšit jejich složení, produkci a současně být šetrný k okolí. Stále více je jejich výroba totiž řešena především z hlediska dopadu na životní prostředí. Obecně známým materiálem, držícím se neustále na postu světové jedničky jakožto hlavního produktu pro výrobu obalů, jsou plasty. Konvenční obaly z plastů jsou nejčastěji vyráběny z ropných produktů, a i když jsou cenově výhodné, nemají příznivý dopad na životní prostředí. [10]

Pomalou a jistě ale vyrůstá jejich konkurence v bioplastech. Tyto materiály získali na atraktivitě především díky své přirozené biologické rozložitelnosti. Biodegradabilní materiály jsou vyráběny z přírodních jedlých látek, jako jsou polysacharidy, bílkoviny, lipidy apod. Jakmile obaly přestanou plnit funkci, dokážou se rozložit v půdě do zhruba dvou týdnů, aniž by tím zatěžovaly životní prostředí. Další z výhod produkce jedlých filmů je možnost na jejich výrobu používat i vedlejší produkty vznikající během potravinářské výroby. [5]

Jedlé filmy představují tenké vrstvy materiálu, které je možné konzumovat společně s potravinou. Pokrývají povrch potravin ve formě povlaku, obalu nebo mikrokapslí. Musí mít ale dostatečnou tloušťku, aby potravinu ochránila a zároveň splňovala všechny vlastnosti bezpečného produktu. Filmy mají především ochrannou funkci, jelikož dokážou uchovávat čerstvost potravin a tím zajišťovat jejich kvalitu a prodlužovat trvanlivost. Jedlé filmy disponují

mnoha vlastnostmi. Mají schopnost chránit potravinu před vlivy vnějšího prostředí, zvyšují kvalitu potravin ochranou před fyzikálními, chemickými a mechanickými vlivy, jelikož zabraňují pronikání vznikajících plynů (vodních par, kyslíku, CO₂), enzymatickému hnědnutí, oxidaci lipidů či mikrobiální kontaminaci. Účinně kontrolují řadu látek vznikajících při procesu konzervace, aniž by ovlivnily chuť, vůni či vzhled potraviny. Bylo však dokázáno, že vzhled naopak mohou vylepšit, stejně jako sensorické vlastnosti spolu s inhibicí růstu mikroorganismů či minimalizací změn pevnosti obalu. [12],[13]

2.4 Suroviny pro výrobu jedlých obalů



Obrázek 5: Základní složení jedlých obalů [52]

2.4.1 Proteiny

Proteinové obaly se dají vyrábět dvěma způsoby. První z nich je tzv. rozpouštědlový způsob, při kterém obal vzniká až po odpaření rozpouštědla, zatímco u druhého způsobu, termoplastifikace, dojde ke vzniku kaučukovité hmoty, ze které se poté formuje požadovaný výrobek, jež získá svůj stabilní tvar po vychladnutí dané hmoty.

Zásobní proteiny z obilovin, prolaminy, patří mezi látky se skvělými vlastnostmi, jako je například schopnost tvorby kyslíkových bariér. Nejběžnějším zdrojem prolaminů je pšeničný lepek. Z fosfoproteinů se používá především kasein. Tato globulární bílkovina je netoxická, levná a vysoce stabilní. Velkou výhodou jedlých obalů vyrobených z mléčných proteinů jsou jejich dobré nutriční vlastnosti, flexibilita, že jsou bez chuti a transparentní. Želatina jakožto štěpný produkt kolagenu je další dobrý obalový materiál na ovoce, zeleninu, chlazené či mražené potraviny, u nějž je vyžadována vysoká čistota a průzračnost. Keratin se od ostatních proteinů odlišuje hlavně tím, že má vysoký obsah cysteinu. Tento fibrilární protein se získává z odpadních produktů při zpracování masa a vyznačuje se nerozpustností ve vodě či odolností vůči proteolytickým enzymům. [15]

2.4.2 Lipidy

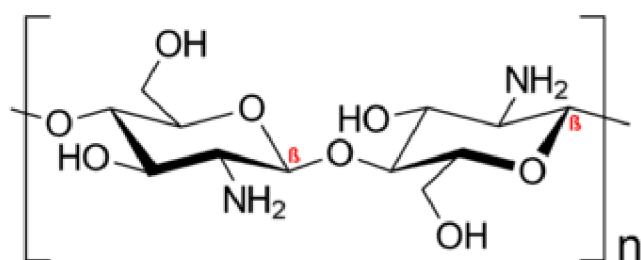
Lipidy či vosky jsou v potravinářském průmyslu využívány ve formě povlaků používaných na ovoce a zeleninu, jelikož vylepšují lesk potravin a zvyšují tak spotřebitelskou produkci. Můžeme se také setkat s pryskyřicemi, které jsou stejně jako lipidy a vosky aplikovány na potraviny v podobě povlaků. Nejvíce se používají na balení citrusových plodů či plodů, u nichž se nekonzumuje slupka, ale jejich nevýhodou je špatná propustnost plynů, což může způsobovat nežádoucí změny. [15]

2.4.3 Polysacharidy

Prvním z hojně využívaných polysacharidů je škrob složený z podjednotek glukózy. Při zahřívání ztrácí svoji semikrystalickou strukturu, díky čemuž dochází ke tvorbě gelu. Je možné jej používat na výrobu ovocných produktů (marmelády) nebo třeba jako zahušťovadlo. Nevýhodou škrobových filmů je křehkost a malá odolnost vůči vodě. Uplatňují se na výrobu sáčků na ovoce, zeleninu nebo pečivo. Celulóza je stavební polysacharid nerozpustný v polárních rozpouštědlech, tudíž byly zkoumány metody pro rozpuštění celulózy a následné využití pro vznik filmů. [16] Karagenan využívaný jako povlak na zmrazené a chlazené potraviny tvoří filmy s dobrou flexibilitou, ale s nízkou pevností. [17] Klasickým příkladem je aplikace tohoto typu obalu pro konzervaci vysoce tučných ryb za účelem prodloužení jejich trvanlivosti. Je možné vyrábět i pektinové filmy, jelikož pektin slouží jako rosolovadlo pro potraviny s vysokým obsahem tuku. Po celulóze je druhým nejhojněji se vyskytujícím polysacharidem chitosan. [15]

2.4.4.1 Chitosan

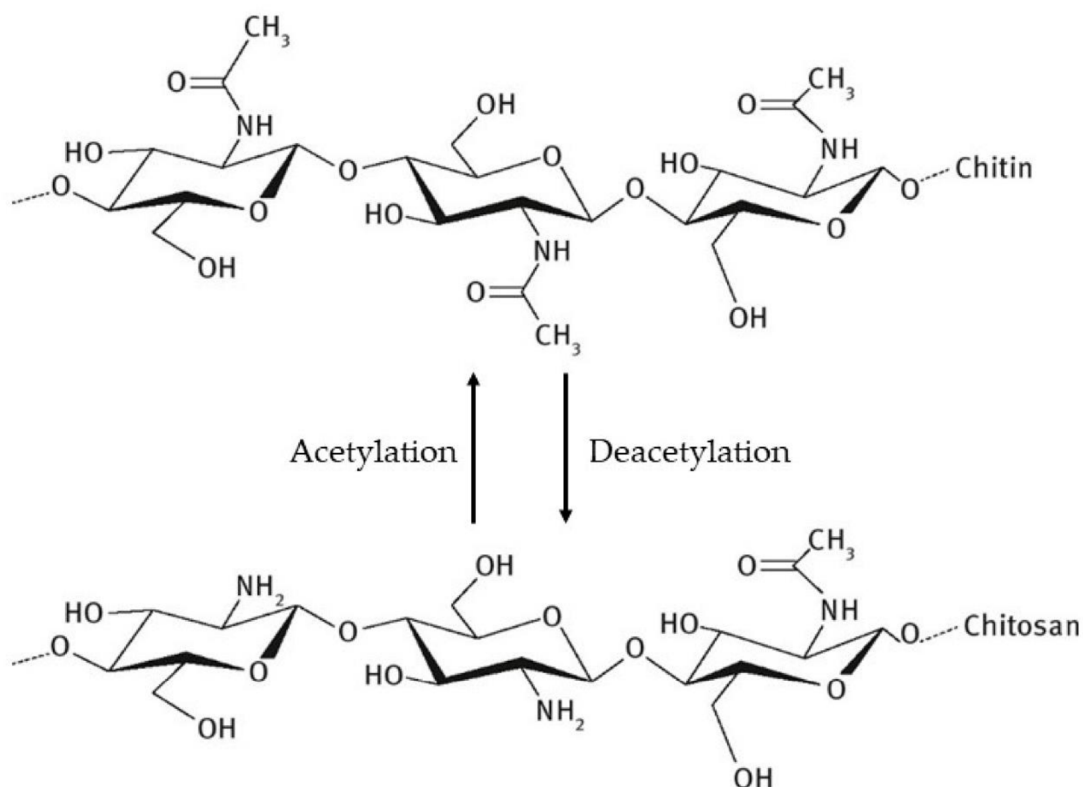
Hned po celulóze je druhým nejhojněji vyskytujícím se přírodním polymerem chitosan. Tento biologicky rozložitelný biokompatibilní polymer je získáván z přírodních obnovitelných zdrojů. Jedná se o kopolymer skládající se z β -(1-4)-2-acetamido-D-glukózy a β -(1-4)-2-amino-D-glukózy (acetylglukosamin a glukosamin). [18]



Obrázek 6: Strukturální jednotka chitosanu [32]

Vzniká alkalickou N-deacetylací chitinu buď enzymatickým působením N-deacetylasy, nebo několikahodinovým varem s 50% hydroxidem sodným, ale může být získán i z jiných zdrojů (kvasinky). 100 % deacetylovaný chitosan však v přírodě nenalezneme. Chitin je přirozeně se vyskytující biopolymer nacházející se v exoskeletu mořských korýšů, v houbových buněčných stěnách či v jiných biologických materiálech. Jedná se především o poly(β -(1-4)-2-acetamido-D-glukózu), která je strukturálně identická s celulózou s tím rozdílem, že sekundární hydroxyl na druhém atomu uhlíku hexózy je nahrazen

skupinou acetamidu. Stupeň deacetylace určuje rozpustnost, biologickou rozložitelnost a agregační vlastnosti. Rozsáhlé studie potvrdily, že rozpustnost klesá se snižujícím se stupněm deacetylace a že je řízena především elektrostatickými interakcemi, zatímco molekuly vody zprostředkovávají agregaci polymerů (molekuly vody reagují s acetylovými nebo s protonovanými aminoskupinami). Hydrolyza chitosanu ovlivňuje jeho krystalickou strukturu. [19],[20]



Obrázek 7: N-deacetylace chitosanu [33]

Chitosan je netoxický, biokompatibilní a biodegradabilní. Je možné ho snadno modifikovat a je schopen tvořit komplexy s kovovými ionty a enzymy. Má všestranné fyzikální a chemické vlastnosti, vysokou molekulární hmotnost, velkou dostupnost, přítomnost funkčních skupin pro chemické modifikace, vysokou biokompatibilitu, biologickou rozložitelnost a inherentní antibakteriální aktivitu. Je ale vysoce hydrofilní díky přítomnosti hydroxylových a aminových skupin, které mimo jiné poskytují velmi vysokou sorpční kapacitu pro ionty kovů. Má však několik omezení, které znemožňují jeho použití (vysoká sorpce vody, slabá mechanická stabilita, snadná rozpustnost v kyselém prostředí). Kromě toho má chitosan přirozenou antimikrobiální vlastnost (antibakteriální a antifugální činnost) a schopnost působit proti širokému spektru mikroorganismů. Předpokládá se, že antimikrobiální účinek je pravděpodobně zprostředkován elektrostatickými silami mezi protonovanou aminoskupinou ($-NH_2$) v chitosanu a negativními rezidui na buněčných plochách. Počet protonovaných aminoskupin ($-NH_2$) přítomných v chitosanu se zvyšuje se zvýšeným stupněm deacetylace, který ovlivňuje antimikrobiální aktivitu. Mimo tento fakt se však uvádí, že baktericidní aktivita chitosanu je způsobena elektrostatickou interakcí mezi NH_3^+ skupinami chitosanu

a fosforylovými skupinami fosfolipidové složky buněčné membrány. To by pak znamenalo, že protonovaný NH_3^+ není převládajícím faktorem antibakteriálních schopností chitosanu. [18] Chitosan je rozpustný ve zředěných organických a anorganických kyselinách (octová, mravenčí, chlorovodíková atd.) díky protonaci přítomných aminoskupin, ale nerozpustný ve vodě, kyselině sírové, fosforečné a ve většině organických rozpouštědel. Rozpustnost je ovlivněna faktory jako je úroveň acetylace, pH, iontová koncentrace, intramolekulární vodíkové vazby a distribuce acetylových skupin v celém řetězci. [21]

Chitosan lze uplatnit v mnoha oborech jako je zemědělství, balení, biotechnologie potravin, léčiva, farmaceutika, aj., ve kterých přináší obranný mechanismus v rostlinách, působí jako flokulant k čištění odpadních vod, pomáhá při odstraňování kovových iontů, působí jako zahušťovadlo a stabilizátor pro různé potravinářské výrobky. Je považován za hemostatickou a antikoagulační látku, a proto se používá v chirurgických stezích, zubních implantátech nebo v substrátech pro umělou kůži. [26] Další výhodou je schopnost chitosanu vytvářet hydrogely schopné bobtnat absorpcí vody, a zároveň si zachovat svůj původní tvar a zůstat nerozpustné. Kromě mnoha způsobů využití v potravinářství a zemědělství vykazuje schopnost tvořit filmy, které zlepšují kvalitu a trvanlivost potravin. Chitosanové filmy mají selektivní propustnost pro plyny (CO_2 a O_2) a dobré mechanické vlastnosti, jsou však vysoce propustné pro vodní páry. To omezuje jejich použití, jelikož většina potravin, zejména ve vlhkém prostředí, mají tendenci propouštět vlhkost. To vedlo ke snaze zvýšit hydrofobní vlastnosti povrchu filmů přidáním různých látek, jako jsou neutrální lipidy, mastné kyseliny, vosky, jíl, aj., ale tyto látky ohrožovaly chemickou a mechanickou stabilitu těchto filmů. [18],[21]

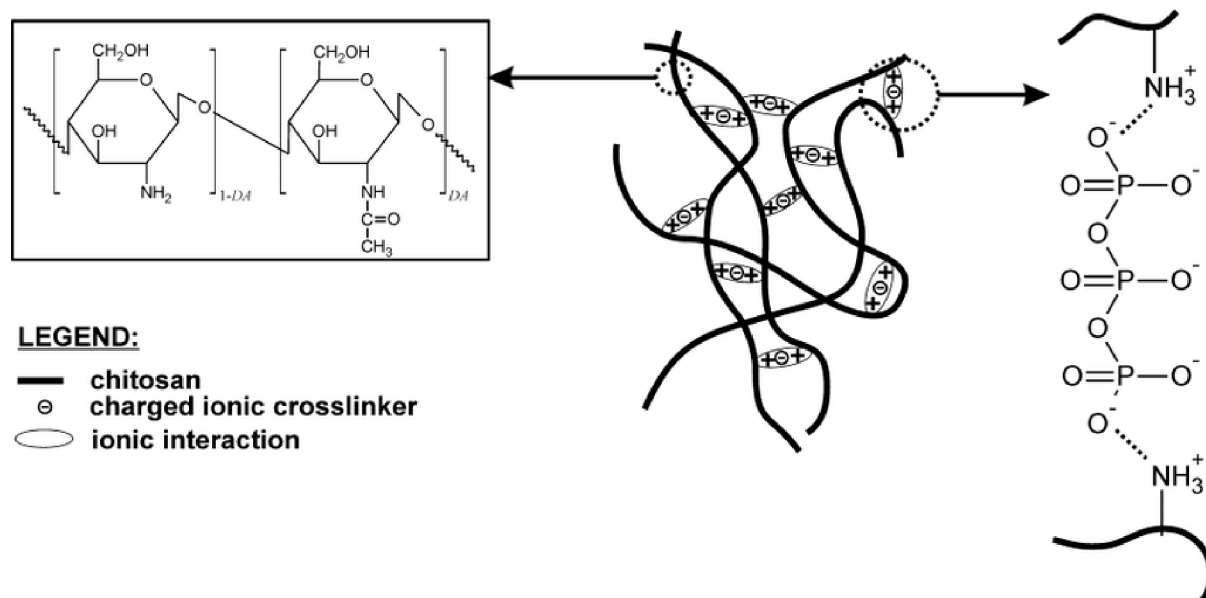
2.4.4.2 Zesíťování chitosanu

Jednou z nevýhod chitosanu je jeho vysoká hydrofilita ve vodě způsobená přítomností hydroxylových skupin a aminoskupin. Za tím účelem bylo provedeno několik úprav chitosanu s cílem překonat jeho nevýhody a vyrábět tak více chemicky a mechanicky stabilní výrobky z chitosanu. Jednou z těchto úprav ke zlepšení vlastností a stability biopolymerních materiálů jsou chemické a fyzikální modifikace – zejména síťování. [26]

Síťování je chemická modifikace struktury vláken chitosanu, při němž zavedením síťovacího činidla dochází ke spojování polymerů různými vazebnými silami a ke tvorbě 3D sítě. Vzhledem k velké délce polymerních řetězců postačuje k vytvoření trojrozměrné sítě jen malé množství síťovacího činidla. Takové polymery mohou být vytvořeny komplexací s iontovým polymerem nebo agregací po zesíťování chitosanu. Síťovací činidla jsou molekuly nízkých molekulárních hmotností, které jsou mnohem menší než molekuly řetězců mezi dvěma po sobě jdoucími příčnými vazbami v řetězci. Nejčastěji používanými síťovadly jsou dialdehydy jako je glyoxal a glutaraldehyd. Nevýhodou těchto reakcí je ale to, že jsou obecně považovány za toxické, jelikož je glutaraldehyd neurotoxický a glyoxal mutagenní. Zesíťovaný chitosan může také vzniknout přímou interakcí mezi polymerními řetězci bez přidání síťovacího činidla. Pokud bychom předpokládali např. tvorbu gelujícího roztoku, vyskytoval by se v něm chitosan jako kladně nabitý biokoloid, jelikož patří mezi katioaktivní zástupce biokoloidních sloučenin. Došlo by tak k nábojové interakci mezi kationaktivním chitosanem a anionaktivní látkou vedoucí ke tvorbě slabých fyzikálních vazeb v podobě uzlů, v nichž by docházelo ke vzájemnému spojování molekul. Tato interakce by ale byla velmi slabá a bylo by ji možné

rozrušit i lehkým mechanickým namáháním. V případě gelujícího roztoku by tak došlo k rozpuštění a přerušení interakcí pouhým zamícháním. [27]

Propojení polymerů vede k vytvoření stálé kovalentní sítě, která může způsobit volnou difuzi vody, či ke vzniku bioaktivních materiálů. Takto zesíťované polymery pak společně vykazují nové vlastnosti, ale zároveň si zachovávají jejich původní charakteristické vlastnosti. Modifikovaný chitosan má pak odlišné vlastnosti, než má původní chitosan. [27]

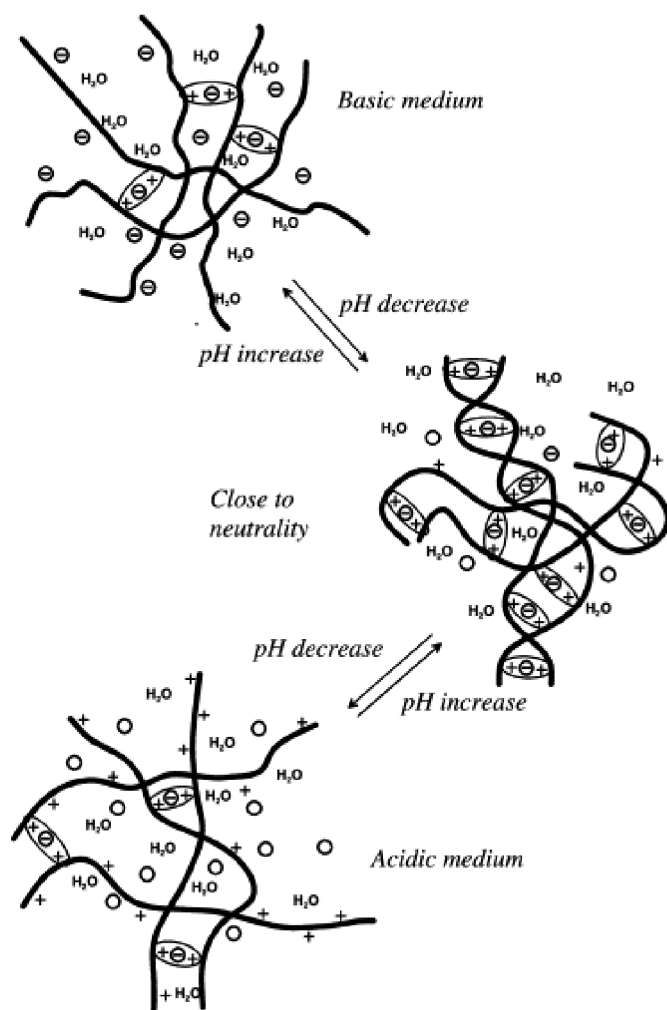


Obrázek 8: Iontově zesíťovaný chitosan pomocí TPP [39]

Na základě typu síťování a požadovaného stupně vylepšení vlastností se využívají různé typy síťovadel a metod síťování (thiolace, roubování, karboxymethylace, sukcinylace či kopolymerace). [26] Je však důležité optimalizovat podmínky síťovací reakce, jelikož určují a umožňují modulace hustoty síťování, jež jsou hlavním parametrem ovlivňující různé vlastnosti zesíťovaného chitosanu. Bylo prokázáno, že použití peroxodisíranu draselného jakožto katalyzátoru je velmi účinné pro degradaci a síťování chitosanu. Peroxodisíran draselný při 60 °C podléhá tepelné degradaci, díky čemuž vznikají volné radikály peroxodisíranových aniontů, které následně napadají kationtové aminoskupiny na C2 uhlíku glukosaminové části chitosanu. Kvůli elektrostatické přitažlivosti radikál poté napadá C4 uhlík a přenáší radikál na C4 uhlík sousedního zbytku, který by oslabil nebo přerušil vazbu C–O. Díky tomu je chitosanový řetězec degradován na 2 nebo více kratších řetězců. Nicméně tato degradace je spojena se vznikem radikálů, které se dále spojují, čímž prosíťují makromolekuly chitosanu. Reakce katalyzovaná peroxodisíranem ale může vést ke konformačním změnám chitosanu, stejně jako tomu je u sekundární interakce způsobující vyšší stupeň krystalinity vyvolávající konformační změny v molekule (vodíkové můstky, hydrofobní interakce mezi acetylovanými a neacetylovanými jednotkami chitosanu). [27]

Modifikací chitosanu je možné vytvářet fyzikální i chemické hydrogely. Tvorba hydrogelů vyžaduje použití vhodného síťovacího činidla (síťovadla), což obvykle bývá bifunkční molekula s nízkou molekulární hmotností (např. aldehydy, genipin či organické kyseliny). Hydrogely jsou děleny podle typu zesíťování na chemické hydrogely skládající se z polymerních řetězců vzájemně propojených kovalentními vazbami, a na fyzikální

hydrogely, které se při tvorbě sítě propojují elektrostatickými silami, vodíkovými vazbami či Van der Waalsovými interakcemi. [28]



Obrázek 9: Bobtnání iontově zesíťovaného chitosanového hydrogelu obsahujícího iontovou molekulu jako síťovadlo citlivé na pH [40]

Kovalentně zesíťovaný chitosan má uplatnění především jako systém dodávání léčiv umožňující snadné uvolňování bioaktivních materiálů difuzí a jako nosič buněk pro kultivaci kultur v buněčné kultuře. [27]

2.5 Přírodní polymery

Polymery jsou makromolekulární látky skládající se z velkého počtu vzájemně propojených molekul jednoho nebo více druhů atomů nebo skupin atomů do dlouhých řetězců pravidelně opakujících se stavebních jednotek, tedy monomerů. Počet stavebních jednotek udává polymerační stupeň. Sloučeniny s nízkým polymeračním stupněm se nazývají oligomery, zatímco sloučeniny s vysokým polymeračním stupněm nazýváme polymery. Vzhledem k faktu, že se tyto molekuly sestávají z tak velkého počtu molekul, řada fyzikálních a chemických vlastností této látky se nezmění přidáním či odebráním jedné nebo několika konstitučních jednotek. [22]

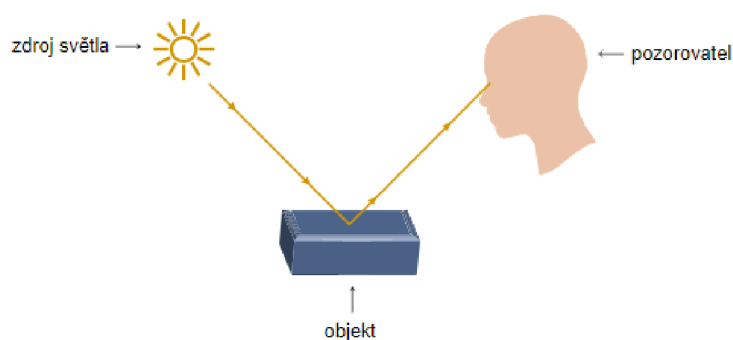
Polymery se od jiných materiálů odlišují především řetězcovou strukturou jejich molekul, tedy dlouhou lineární řadou vzájemně spojených atomů nebo skupin atomů představujících převažující strukturní motiv, který může (ale nemusí) být přerušen místy větvení. Polymery obvykle vznikají polymerizací, polyadací nebo polykondenzací. Polymery biologického původu nazýváme biopolymery nebo biomakromolekulární látky. Podle původu je rozlišujeme na *syntetické* a *přírodní* polymery. Jedná se o velké molekuly, které vznikají vzájemným spojením stavebních jednotek zvaných monomery (malé molekuly). Mohou mít lineární strukturu, větvit se nebo se dokonce síťovat. Mezi jednotlivými makromolekulami mohou působit fyzikální interakce nebo vzniknout kovalentní vazby, které vedou k vytvoření trojrozměrné sítě z makromolekulární struktury. [23]

Přírodní polymery lze dále rozdělit na *původní* a *modifikované* (chemicky upravené polymery). Od syntetických polymerů se liší především stavbou polymerního řetězce a složitější strukturou svých molekul. Mezi biopolymery patří:

- a) polysacharidy (škrob, celulóza) – stavebními jednotkami jsou jednoduché sacharidy neboli monosacharidy
- b) bílkoviny (proteiny) – stavebními jednotkami jsou aminokyseliny
- c) nukleové kyseliny – stavebními jednotkami jsou nukleotidy
- d) polyterpeny (přírodní kaučuk) – stavební jednotkou je isopren(2-methylbuta-1,3-dien)

2.6 Měření barevnosti

Kolorimetrie je optická metoda sloužící k objektivnímu popisu barev. Ta se snaží barvu popsat pomocí určitých spojitých parametrů, které je pak možné vzájemně porovnávat. Abychom byli schopni objektivně vyhodnotit barevnost objektů, je nejdříve nutné definovat 3 základní elementy – zdroj světla, pozorovaný objekt a pozorovatele. Světlo různých zdrojů má odlišnou barevnost, jelikož každý světelný zdroj vyzařuje ve viditelné oblasti na každé vlnové délce v různé intenzitě. Dopadem tohoto světla na objekty dochází k jeho pohlcování, respektive odražení, které se liší v závislosti na vlastnostech materiálu daného objektu. Při odrazu světla od objektu dopadá toto světlo na fotoreceptory lidského oka a v závislosti na spektrálním složení záření dochází po excitaci fotoreceptorů k dalšímu zpracování signálu v dalších buňkách sítnice. Signál je následně vyhodnocován v mozku a interpretován jako vjem barvy. Ten ale nelze přímo změřit, tudíž je nutné využít již zmíněnou kolorimetrii umožňující barevné vjemy vnímané lidským okem popsat čísly. [49]

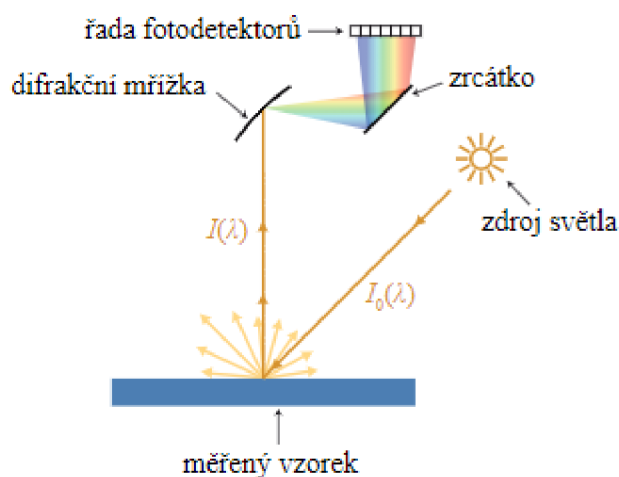


Obrázek 10: Tři základní elementy barevného vidění [49]

Kolorimetrie k vyhodnocování používá tabelované hodnoty standardizovaných zdrojů, jež jsou definovány Mezinárodní komisí pro osvětlení CIE (Commission internationale de l'éclairage). Každý ze světelných zdrojů je charakterizován parametrem spektrální intenzity vyzařování $Me(\lambda)$, který umožňuje určit intenzitu vyzařování určitého zdroje na určité vlnové délce. [49] Některé složky světla jsou při dopadu na objekt pohlceny (světlo se tak bude méně odrážet), zatímco jiné složky se nepohltí vůbec (dojde tak k většímu odrazu). Dopadající světlo je charakterizováno intenzitou světla $I_0(\lambda)$ na každé vlnové délce, díky čemuž je možné zjistit, jak intenzivně $I(\lambda)$ a na které vlnové délce daný objekt odráží. Poměr intenzity světla odraženého od objektu k intenzitě světla dopadajícího na objekt udává parametr reflektance $R(\lambda)$:

$$R(\lambda) = \frac{I(\lambda)}{I_0(\lambda)} \quad (1)$$

Reflektance pro všechny vlnové délky v námi stanoveném intervalu poskytne reflexní spektrum charakterizující objekt. K naměření reflexního spektra se využívá reflexní spektrofotometr (viz *Obrázek 11*). Abychom zjistili intenzitu odraženého světla $I(\lambda)$ pro jednotlivé vlnové délky, musíme světlo rozložit pomocí difrakční mřížky. Toto rozložené světlo je pak zachyceno řadou fotodetektorů proměňujících světlo na elektrický signál. Před samotným měřením je ale nutné přístroj kalibrovat na absolutní bílou, jelikož potřebujeme získat intenzitu dopadajícího světla $I_0(\lambda)$. Tu je možné získat právě změřením dokonale bílé plochy nepohlcující žádné světlo. Přístroj pak pro všechny vlnové délky dá do poměru intenzitu odraženého světla od měřeného objektu s intenzitou dopadajícího světla, díky čemuž získá reflexní spektrum. [49]



Obrázek 11: Schéma spektrofotometru [49]

Třetím definovaným elementem je pozorovatel. Vjem barvy vzniká v našem mozku po vyhodnocení signálu z fotoreceptorů stimulovaných dopadajícím světlem. Lidské oko obsahuje 4 druhy fotoreceptorů, z nichž prvním druhem jsou tzv. tyčinky. Ty jsou odpovědné za vnímání jasu při nízkých intenzitách osvětlení (černobílé vidění). Jako další jsou 3 druhy čípků ρ, γ, β , které jsou citlivé na červenou, zelenou a modrou oblast viditelného záření. Fotoreceptory jsou na sítnici rozloženy tak, že největší koncentrace čípků je v centrální části zvané fovea. Tato oblast je odpovědná za nejlepší vjem barev a detailů. Zároveň

zde nenalezneme žádné tyčinky. Se zvětšující se vzdáleností od této centrální části prudce klesá počet čípků a postupně vzrůstá počet tyčinek. [49]

Komise CIE definovala 2 standardizované pozorovatele (dvoustupňového a desetistupňového) pomocí tří experimentálně získaných funkcí nazývaných jako trichromatické členitelé \bar{x} , \bar{y} , \bar{z} . Tyto funkce vyjadřují citlivost pozorovatele a jejich hodnoty jsou tabelované, tudíž je potřebné určit, které budou využity pro výpočet kolorimetrických parametrů. Pro získání dvoustupňového pozorovatele bylo potřebné provést experiment, při němž pozorovatelé měli pomocí červeného, zeleného a modrého světla namíchat takovou barvu, která by se shodovala s barvou monochromatického světla o určité vlnové délce. Obraz při experimentu dopadal jen na centrální část oční sítnice, kde se vyskytují pouze čípky. Desetistupňový pozorovatel byl zjišťován obdobným experimentem s tím rozdílem, že obraz dopadal na sítnici pozorovatelů, a i na oblast výskytu tyčinek. [49]

Pro samotný výpočet kolorimetrických parametrů musíme nejdříve vypočítat trichromatické hodnoty XYZ pomocí několika následujících rovnic udávajících, jak velkou odezvu v pozorovateli způsobí od objektu odražené světlo.

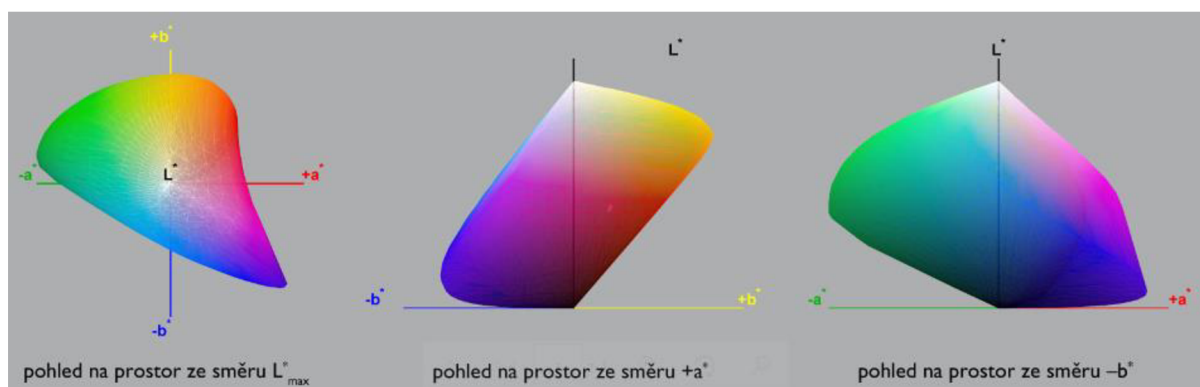
$$\begin{aligned} X &= k \sum M_e(\lambda)R(\lambda)\bar{x}(\lambda) \\ Y &= k \sum M_e(\lambda)R(\lambda)\bar{y}(\lambda) \\ Z &= k \sum M_e(\lambda)R(\lambda)\bar{z}(\lambda) \end{aligned} \quad (2)$$

$$k = \frac{100}{\sum M_e(\lambda)\bar{y}(\lambda)}$$

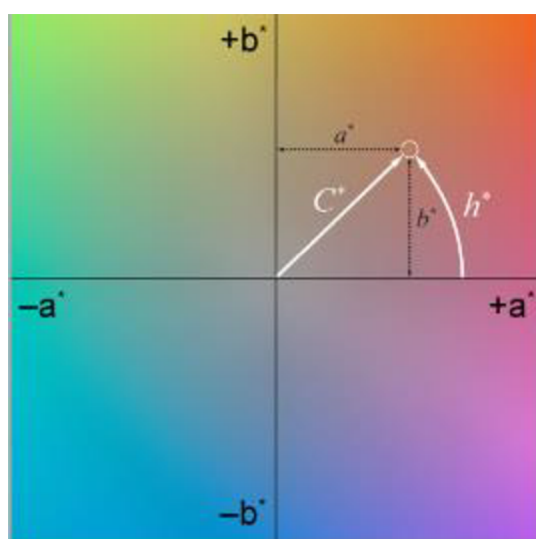
Tyto parametry jsou pak složitějšími funkcemi převedeny na souřadnice barvového prostoru CIE $L^*a^*b^*$. L^* představuje parametr měrné světlosti, který určuje, zda se jedná o světlou nebo tmavou barvu, na ose a^* nalezneme barvy od zelené po červenou, zatímco na ose b^* jsou barvy od modré po žlutou. Všem pozorovatelům vnímatelných barev jsme tudíž schopni přiřadit konkrétní souřadnice v tomto prostoru. Pokud chceme porovnat 2 barvy, musíme vypočítat vzdálenosti v $L^*a^*b^*$ prostoru. Vzdálenost je charakterizována pomocí tzv. barvové odchylky ΔE^*_{ab} , kterou je možné vypočítat podle rovnice:

$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (3)$$

Ze souřadnic a^* a b^* je možné vypočítat další atributy barev, mezi které patří chroma a odstín. Chroma C^* vyjadřuje pestrost barvy a zvětšuje se se zvětšující vzdáleností od osy L^* , zatímco odstín h^* je dán úhlem mezi úsečkou chromy a osou a^* . Dolní *Obrázek 13* znázorňuje bod, kterému odpovídá určitá barva v $L^*a^*b^*$ prostoru a jehož souřadnice jsou vyjádřeny právě pomocí chromy C^* a odstínu h^* . [49]



Obrázek 12: Různé pohledy na barvový prostor CIE $L^*a^*b^*$ [49]



Obrázek 13: Řez barvovým prostorem pro jedno L^* [49]

2.7 Legislativa balení potravin

Legislativní rámec potravinářských obalů v dnešní době zahrnuje celou řadu zákonů a požadavků týkajících se baleného zboží, které je při práci s nimi nutné dodržovat.

Základním právním předpisem, kterým se musí řídit každý výrobce materiálů přicházejících do kontaktu s potravinami, je nařízení 178/2002/ES stanovující obecné zásady a požadavky potravinového práva, které zahrnuje povinnost zavést systém sledovanosti materiálů a předmětů určených pro styk s potravinami, za účelem informování spotřebitele o stavu produktu. [11]

Jelikož některé látky mohou být nebezpečné pro lidské zdraví, stanovuje proto zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích výrobcům potravin povinnost používat takové obaly a obalové prostředky, jež budou chránit potravinu před znehodnocením, aniž by došlo ke změnám obsahu nebo otevření samotného balení výrobku. Takto vyrobený obal ale nesmí sensoricky, ani jiným způsobem ovlivňovat balenou potravinu a musí splňovat požadavky všech právních předpisů vztahujících se na výrobky, které se dostávají do přímého kontaktu s potravinami. Mimo jiné uvádí informace, které musí být uvedeny na obalu potravin (název potravin, seznam složek, země či místo původu, datum minimální trvanlivosti, třídu jateční jakosti, název potravinářského podniku, aj.). [29]

Účelem zákona o obalech č. 477/2001 je především snaha chránit životní prostředí před odpady vznikajícími z použitých obalů, čehož lze dosáhnout snížením hmotnosti, objemu a celkové škodlivosti obalů. Mimo jiné stanovuje podmínky při nakládání s obaly a s jejich uváděním na trh. Pojednává také o nakládání s obaly po jejich využití. [30]

V Evropské Unii na běžný obalový materiál potravin stanovuje požadavky také nařízení 1935/2004/ES o materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami. Toto nařízení vychází z toho, že jakýkoliv materiál určený pro přímý styk či nepřímý styk s potravinami musí být dostatečně stabilní, aby zamezil vniknutí látek do potravin v takovém množství, které by mohlo ohrozit lidské zdraví nebo by způsobilo zásadní změnu vlastností a složení dané potraviny. „Aktivní materiály a předměty“ jsou zde charakterizovány jako materiály a předměty, které mají prodloužit životnost a zachovat či zlepšit stav balených potravin. Mají být navrženy tak, aby záměrně obsahovaly složky uvolňující či absorbující látky do nebo z balených potravin či jejich prostředí. „Inteligentní materiály a předměty“ jsou naopak definovány jako materiály a předměty, které sledují stav balených potravin či prostředí obklopující potraviny. [31]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

Hydroxid sodný pecky čistý, PENTA
Glycin, Serva
Ethanol
Fosforečnan sodný dihydrát, Lachema, n. p. Brno
Chlorid draselný, Lachema, o. p. Brno
Chlorid amonný, Lachema, o. p. Brno
Kyselina citronová monohydrát, Lach-Ner, s. r. o.
Kyselina chlorovodíková 35%, PENTA
Kyselina octová 99%, Lachema
Chitosan, Sigma-Aldrich
Trifosforečnan pentasodný, Sigma-Aldrich
Síran amonný čistý, Lachema, o. p. Brno
Síran zinečnatý krystalický, Lachema, n. p. Brno
Mowiol 8-88, Sigma-Aldrich
Betanin, Sigma-Aldrich

3.2 Použité přístroje

Magnetická míchačka
Míchadlo
Analytické váhy Sartorius Entris 224I-IS
Centrifuga Hettich, EBA 30
Spektrofotometr Helios α , Spectronic Unicam
Automatický aplikátor filmu TQC
Bakerovo natahovací pravítko
Ocean Optics spektrofotometr

3.3 Použitý software

Microsoft Excel
Microsoft Word
Ocean View
Vision V3.50

3.4 Příprava pufrů

Za účelem proměření spekter barviva při různých pH byly připraveny roztoky pufrů s hodnotami pH od 1 do 13. Dle tabulky (*Tabulka 4*) bylo pokaždé naváženo vypočítané množství dané látky, které bylo ve 100 ml odměrné baňce doplněno destilovanou vodou po rysku a ze vzniklých roztoků byly připraveny podle předepsaných objemů pufrů pro konkrétní hodnoty pH (viz *Tabulka 5*).

Tabulka 4: Vypočítané navážky jednotlivých látek na 100 ml roztoku

Látka	navážka na 100 ml
	[g]
glycin 0,1 M	0,7507
hydroxid sodný 0,1 M	0,3999
kyselina citronová 0,1 M	2,1008
hydrogenfosforečnan sodný dodekahydrát 0,2 M	3,5600
chlorid draselný 0,2 M	1,4910
kyselina chlorovodíková 0,2 M	2,0827

Tabulka 5: Objemy jednotlivých roztoků potřebných k přípravě pufrů s hodnotami pH od 1 do 13

pH	kyselina chlorovodíková	chlorid draselný
	[ml]	[ml]
1	48,5	25
2	5,3	25
	kyselina citronová	hydrogenfosforečnan sodný
	[ml]	[ml]
3	20,55	79,45
4	38,55	61,45
5	51,50	48,50
6	63,15	36,85
7	82,35	17,65
8	97,25	2,75
	glycin	hydroxid sodný
	[ml]	[ml]
9	89,0	11,0
10	62,5	37,5
11	51,2	48,8
12	46,0	54,0
13	7,5	92,5

3.5 Měření spektra roztoku pufrů

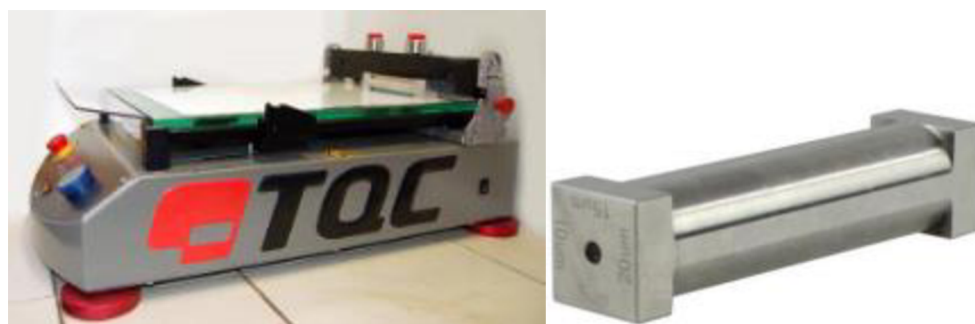
Nejdříve byl připraven roztok barviva. Do malé vialky bylo naváženo 15 mg Betaninu a toto množství bylo rozpuštěno v 1,5 ml destilované vody.

K proměření spektra byl použit spektrofotometr, na němž byly nejprve nastaveny výchozí hodnoty pro měření a do přístroje byly následně vloženy 2 křemenné kyvety s destilovanou vodou. Voda byla použita jako blank (měření bylo vynulováno „voda proti vodě“). Absorpční spektrum jednotlivých vzorků pufrů s hodnotami pH od 1 do 13 bylo poté měřeno v rozsahu vlnových délek od 400 do 780 nm, kdy do křemenné semi-mikro kyvety bylo pomocí mikropipety napipetováno 100 μ l roztoku barviva a 900 μ l pufru. Naměřené hodnoty byly zaznamenány a byl sestrojen graf spektra.

3.6 Příprava filmů

Na počátku byl připraven 2% roztok chitosanu rozpuštěním 2 g chitosanu v 2% roztoku kyseliny octové. Roztok kyseliny octové byl získán smícháním 98,08 ml destilované vody, do které bylo následně přidáno 1,92 ml 99% kyseliny octové. Do předem zvážené borosilikátové laboratorní lahvičky s víčkem a míchadlem bylo napipetováno cca 95 ml námi vytvořeného 2% roztoku kyseliny octové a lahvička s roztokem byla zahřívána na magnetické míchačce. Mezitím byly naváženy 2 g chitosanu a po dosažení teploty 70 °C byly postupně přidávány do zahřívajícího roztoku do úplného rozpuštění chitosanu (teplota byla pak udržována kolem 80–90 °C). Po vychladnutí byl do roztoku ještě přidán 1 g glycerinu a lahvička byla doplněna do 100 g destilovanou vodou. Dále byl do čisté 100 ml odměrné baňky odvážen 1 g trifosforečnanu pentasodného, která byla poté doplněna destilovanou vodou až po rysku. Roztok na přípravu vrstev byl připraven do malé vialky, do níž bylo naváženo 150 mg Betaninu, 2 g 2% roztoku chitosanu a 0,2 g 1% roztoku trifosforečnanu. Tato směs byla dobře promíchána.

Podklad tenkého polymerního filmu tvořila polyethyltereftalátová fólie, jejíž povrch byl před každým použitím ještě očištěn ethanolem a mikrovláknovou utěrkou k odstranění prachových částic. Každá z fólií byla pak umístěna na horní část přístroje a pomocí seřizovacího kolečka byl nastaven přístroj a poloha posuvného ramene. Před posuvné rameno bylo poté položeno Bakerovo natahovací pravítko otočené na takovou stranu, jakou byla zvolená tloušťka vrstvy. Rozmíchaná směs vzorku byla pak nanášena Pasteurovou pipetou do mezery pod válcovým tělem Bakerova pravítka. Tímto speciálním pravítkem pak byly vytvořeny filmy v podobě 15 cm dlouhých pásů o tloušťkách 60–120 nm. Fólie s filmy byly pak volně ponechány schnout do druhého dne.



Obrázek 14: Automatický aplikátor filmů TQC [50] a Bakerovo natahovací pravítko [51]

Kromě roztoku chitosanu byl připraven i 9,5% roztok PVA 8-88. Navážené množství PVA 8-88 bylo za intenzivního míchání a zahřívání při 70–90 °C přidáno do předem odváženého

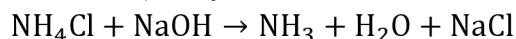
množství destilované vody. Po rozpuštění veškerého PVA byl roztok doplněn destilovanou vodou na hmotnost tak, aby koncentrace roztoku byla 9,5 %.

Z vodního výluhu anthokyaninů z červeného zelí byl připraven zásobní roztok 1 tak, že do vialky byly aplikovány 2 g pasty, k nimž bylo přidáno 9 g destilované vody. Tato směs byla dobře rozmíchána a po přelití do centrifugační zkumavky zvážena. Do druhé zkumavky bylo naváženo stejné množství vody a ta byla poté vložena naproti vzorku směsi do centrifugy, kde byl vzorek odstředován 5 minut při 5500 otáčkách za minutu. Po odstředění byl roztok přelit do malé vialky, ze které bylo mikropipetou napipetováno 100 μ l do křemenné kyvety spolu s 3 ml destilované vody a byla proměřena absorbance roztoku proti vodě na spektrofotometru od 300 do 800 nm. Stejným způsobem byl připraven i zásobní roztok 2, 3 s tím rozdílem, že zásobní roztok 2 se skládal z 1 g pasty a 2 g vody, zatímco zásobní roztok 3 z 1 g pasty a 1 g vody. Oba roztoky byly odstředěny stejným způsobem a bylo u nich změřeno absorpční spektrum na spektrofotometru.

Do malé vialky bylo naváženo 0,5 g zásobního roztoku (1, 2 nebo 3), k němuž byly Pasteurovou pipetou převedeny 2 g 9,5% PVA 8-88. Bylo tak připraveno 5 rozdílných vzorků ze 3 zásobních roztoků, přičemž první tři vzorky byly ještě zalkalizovány přidavkem 4 μ l 8% roztoku NaOH. První vzorek byl připraven ze zásobního roztoku 1, druhý ze zásobního roztoku 2, zatímco 3., 4. a 5. vzorek ze zásobního roztoku č. 3. Zásobní roztok 3 byl připravován celkem 2 \times dle stejného postupu i poměru obsažených látek, přičemž 3. a 4. vzorek byly připraveny z prvního zásobního roztoku č. 3 a 5. vzorek z druhého zásobního roztoku č. 3. Čtvrtý vzorek byl na rozdíl od prvních tří vzorků zalkalizován přidavkem 20 μ l 8% roztoku NaOH a 5. vzorek 40 μ l NaOH. Takto připravená směs byla před samotným nanášením vždy důkladně promíchána. Vrstvy byly nanášeny stejným způsobem, jako tomu bylo i u směsi s chitosanem.

3.7 Měření barevnosti po změně pH

Z každého vzorku bylo připraveno několik vrstev o různých tloušťkách (60–120 nm), které byly po uschnutí nastříhány na menší proužky a přilepeny na bílé křemenné destičky (bylo vhodné destičky s vrstvami uzavřít do malých označených uzavíratelných ZIP sáčků). Do malých kádinek (podle počtu vzorků) bylo naváženo vypočítané množství 0,2356 g NH_4Cl ke tvorbě 75 mg plynného NH_3 o koncentraci 0,0080 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ během reakce při měření. Každá kádinka byla poté uzavřela parafilmem, aby chlorid neabsorboval vzdušnou vlhkost. Do 100 ml odměrné baňky bylo následně odváženo 8 g pecek NaOH a baňka byla doplněna destilovanou vodou až po rysku. Takto připravený 8% roztok NaOH byl po 5 ml při každém měření pomocí injekční stříkačky aplikován skrz otvor v láhvi do kádinky s naváženým NH_4Cl (kádinka byla umístěna na vymezeném místě v láhvi), díky čemuž docházelo k reakci dle následující rovnice:



K měření byla využívána speciální láhev, na jejímž dně se nacházel přesycený roztok síranu zinečnatého, jehož úkolem bylo během reakce udržovat 90% relativní vlhkost prostředí. Po odšroubování víčka této 550 ml láhve byl nejdříve zapojen do elektrické sítě spektrofotometr, jehož snímací sonda byla součástí druhého víčka, které bylo využíváno k měření. Toto víčko bylo přizpůsobeno na vložení destičky s nalepenou vrstvou přesně před snímací sondu. Na počítači byl poté spuštěn program Oceanview, ze kterého byla průběžně kopírována data do Excelu.

Destička s vrstvou byla vložena do víčka bílou stranou k sondě, přilepena ze zadní strany páskou a po umístění kruhového těsnění na hrdlo láhve, kam bylo přiloženo nachystané víčko, byly otáčivým pohybem lahve (nikoli víčka) obě části zašroubovány do sebe. Měření bylo nejdříve nutné vynulovat na bílou barvu a po nastavení všech údajů byla lahev odšroubována od víčka. Destička byla poté otočena barevnou stranou k sondě, opět byla přilepena páskou, do láhve byla pomocí pinzety na vyznačené místo umístěna kádinka s naváženým NH_4Cl a lahev byla opět uzavřena. Do injekční stříkačky bylo poté nabráno 5 ml 8% roztoku NaOH a stříkačka byla umístěna z vnější strany do otvoru k tomu určenému. Současně pak byly spuštěny stopky, měření v programu OceanView a obsah stříkačky byl skrz otvor aplikován do kádinky v láhvi. Měření každého vzorku trvalo 30 minut, během něhož byla kopírována data z barvového prostoru $L^*a^*b^*$ do připraveného Excelu po 1, 2, 3, 5, 10, 15, 20, 25 a 30 minutách. Po měření byla kádinka vylita, byla vyjmuta destička s vrstvou a při měření dalších vzorků bylo postupováno stejným způsobem.



Obrázek 15: Speciální láhev a víčko s měřicí sondou

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Úkolem této práce bylo připravit směs ke tvorbě tenkých polymerních filmů obsahujících aktivní látku schopnou barevně na pH prostředí. Po vytvoření polymerních vrstev připravených ze směsi polyvinylalkoholu (PVA) a roztoku vody s extraktem z červeného byly tyto vrstvy vystaveny účinku plynného NH_3 . Během měření byla pak zaznamenána barevná reakce jednotlivých vzorků a tyto změny byly poté vyhodnoceny.

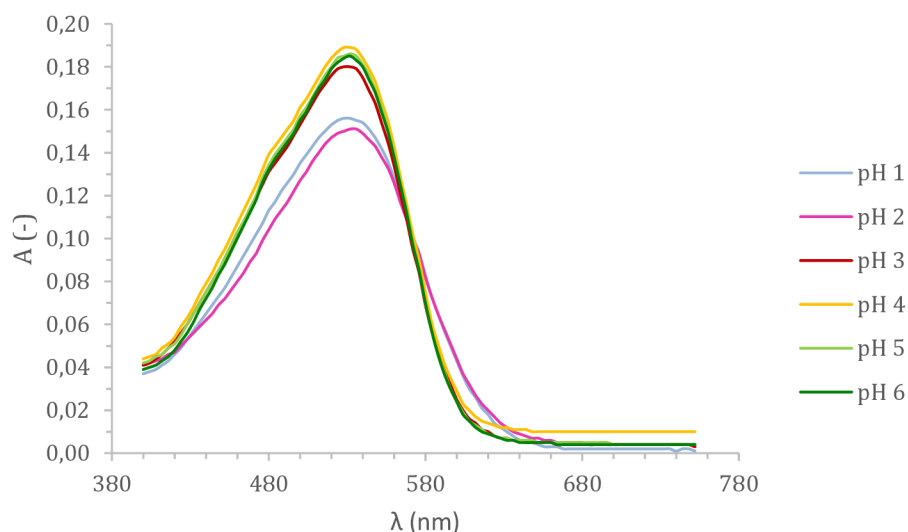
Byly připraveny polymerní vrstvy z 2% roztoku chitosanu, 150 mg barviva Betaninu a 0,2 g zředěného 1% roztoku trifosforečnanu pentasodného. Takto vytvořené vrstvy byly následně vystaveny účinku 75 mg NH_3 . Roztok trifosforečnanu byl nakonec vyřazen ze směsi, jelikož zesíťováním chitosanu nebyly vytvářeny ideální vrstvy. Samotným měřením bylo mimo jiné dosaženo nepříznivých výsledků, jelikož na základě vytvořených spekter bylo pozorováno, že nedošlo k žádné barevné změně. Jako další bylo testováno zalkalizování roztoku chitosanu s Betaninem pomocí triethanolaminu, který ale po kontaktu s chitosanem způsoboval vznik globulárních gelových shluků, tudíž byl stejně jako trifosforečnan vyřazen. Mezi dalšími pokusy bylo například zalkalizování roztoku na přípravu filmů pomocí 8% roztoku NaOH. Po zalkalizování bylo dosaženo změny červenorůžového roztoku na světle žlutý, který byl poté zpětně okyselován přidávkou 3% roztoku kyseliny citronové. Cílem bylo dosáhnout návratu barvy roztoku na růžovou, díky čemuž by bylo získáno takové pH, jež by i při malém množství NH_3 způsobovalo barevnou změnu. Roztok kyseliny citronové ale způsobil pouhý přechod do oranžové barvy, díky čemuž byl i tento pokus považován za neúspěšný.

Jako poslední možnost bylo zvolení nových látek pro přípravu polymerních vrstev. Roztok chitosanu byl nahrazen 9,5% roztokem PVA 8-88 a Betanin byl nahrazen extraktem z červeného zelí bohatého na anthokyaniny. Z extraktu byly připraveny 4 tmavě fialové zásobní roztoky o různých poměrech extraktu a vody (2:9; 2:1; 2× 1:1; (w)), které byly následně odstředěny. Celkem bylo připraveno 5 vzorků skládajících se 0,5 g zásobního roztoku a 2 g PVA, kdy každý z nich byl posléze okyselen určitým množstvím přidaného 8% roztoku NaOH. Zalkalizováním 4. vzorku byla původní fialová barva změněna na tmavě modrou. Barva některých modrých vrstev byla však navrátna zpět na fialovou hned po natažení, zatímco byl u zbylých vrstev pozorován barevný návrat až po úplném uschnutí. U 5. vzorku zalkalizovaný roztok zmodral, a i natažené vrstvy zůstaly tmavě modré (i po uschnutí vrstev). Připravené vrstvy byly poté proměřovány během vystavení účinku 75 mg plynného NH_3 .

4.1 Spektra roztoku pufrů

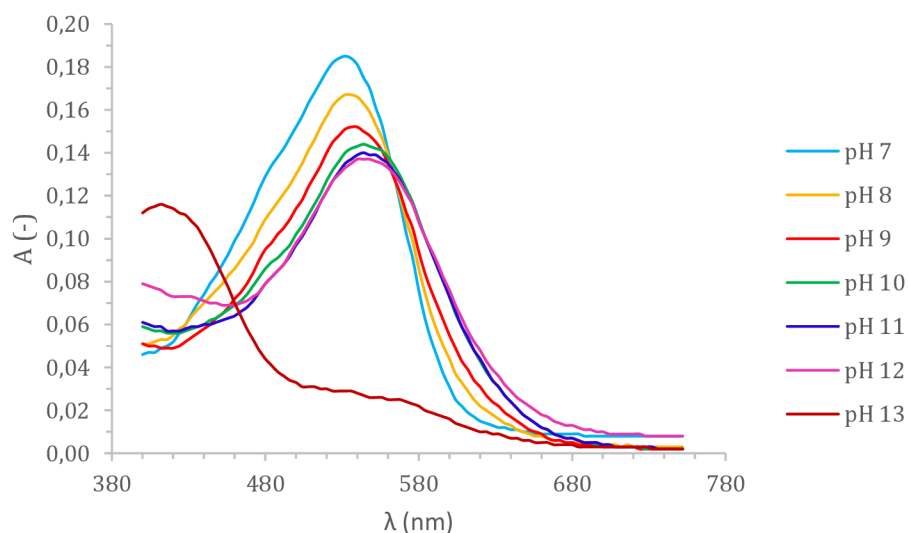
Bylo připraveno 13 rozdílných roztoků pufrů s hodnotami pH od 1 do 13 dle postupu uvedeného v kapitole 3.4. Cílem bylo zjistit, jakou barevnou změnu lze zaznamenat u barviva Betaninu při různém pH prostředí. Na obrázku (*Obrázek 16*) lze pozorovat graf závislosti absorbance na vlnové délce pufrů s hodnotami pH 1–6. Betanin je sytě červený prášek, který po rozpuštění ve vodě vytváří červenorůžový roztok. Při nejnižších hodnotách pH byl roztok pufru s roztokem barviva světle růžový, od pH 3 do 8 měl mírně tmavší červenorůžovou barvu, ale od pH 9 byla po přidávku pufru s obsahem hydroxidu sodného v kombinaci s glycinem

zaznamenána první barevná změna. Při pH 9 roztok lehce tmavnul, při pH 10 a 11 byla pozorována světle fialová barva, zatímco u pH 12 bylo možné vidět světle oranžovorůžový roztok, který při pH 13 přešel do světle žluté.



Obrázek 16: Závislost absorbance na vlnové délce pufrů s hodnotami pH od 1 do 6

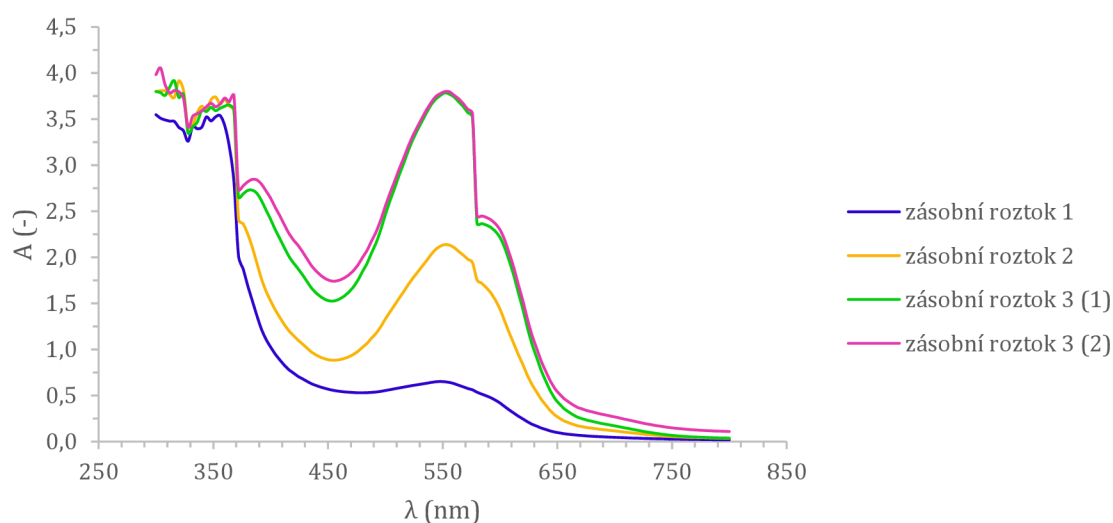
Na prvním grafu se hodnoty absorpčních píků pohybovaly kolem hodnoty 535–540 nm a u všech znázorněných pH byl roztok zbarven růžově. Růžové roztoky měly mezi sebou minimální barevné rozdíly. Na obrázku (Obrázek 17) jsou spektra Betaninu v pufrch s hodnotami pH od 7 do 13. Na základě znázorněných maxim absorpčních spekter je možné vidět posun píků jednotlivých spekter pro pH 8 až 12 směrem doprava na ose x, přičemž absorpční pik pro pH 12 se dostal k hodnotě kolem 560 nm. Bylo tak pozorováno fialové zbarvení roztoku. Roztok s hodnotou pH 13 byl jako jediný žlutý, tudíž se absorpční spektrum přesunulo v grafu na levou stranu a při vlnové délce okolo 415 nm byla jeho barva světle žlutá.



Obrázek 17: Závislosti absorbance na vlnové délce pufrů s hodnotami pH od 7 do 13

4.2 Spektra zásobních roztoků

Pomocí spektrofotometru byly proměřeny 4 zásobní roztoky (1, 2 a dva 3) připravované dle postupu v kapitole 3.6 v rozsahu vlnových délek od 300 do 800 nm. Připravené zásobní roztoky byly nejdříve odstředěny a mikropipetou bylo poté do křemenné květy napipetováno po 100 μ l roztoku spolu s 3 ml destilované vody. Tyto roztoky byly poté proměřeny proti vodě ve spektrofotometru, díky čemuž bylo získáno spektrum. Na obrázku (Obrázek 18) je vyjádřena závislost absorpance A na vlnové délce λ . Absorpční píky jednotlivých zásobních roztoků dosáhly hodnot kolem 560 nm, což bylo pozorováno na sytě růžovo-fialovém zbarvení roztoků.



Obrázek 18: Závislost absorpance na vlnové délce zásobních roztoků 1, 2, 3 (1) a (2)

4.3 Příprava roztoků ke tvorbě polymerních vrstev

Směs ke tvorbě polymerního filmu se původně měla skládat z 5 g 2% roztoku chitosanu, 150 mg Betaninu a z 0,2 g 1% roztoku trifosforečnanu pentasodného. Ten ale při styku s chitosanem způsoboval jeho značné zesíťování a natahované vrstvy nebyly „čistě“ průhledné, proto bylo rozhodnuto o vyřazení trifosforečnanu ze směsi určené na přípravu filmů.

Další alternativou bylo přidání látky triethanolamin (TEA). V předchozích měřeních nebyl na základě vytvořených spekter zaznamenán žádný znatelnější barevný posun, jelikož roztok v kyselém prostředí udržoval stále růžovou barvu, zvolila se tato silně zásaditá látka. Ke 2 g polymeru bylo tak do vialky přidáno 0,02 g TEA spolu se 150 mg Betaninu. Betanin vytvářel červenorůžové zbarvení roztoku a v případě, že by došlo k zežloutnutí vlivem přídavku TEA, bylo by do směsi přidáno několik kapiček 3% roztoku kyseliny citronové sloužící k okyselení roztoku (abychom získali zpět růžovou barvu). I tak malé množství TEA však způsobovalo vznik globulárních gelových shluků, které bylo velmi obtížné rozmíchat. Se zvyšujícím se obsahem TEA docházelo ke vzniku čím dál kompaktnějších globulárních útvarů, které už poté nebylo možné rozmíchat ve zbylé směsi. TEA byl tak po prvních pokusech, stejně jako trifosforečnan, vyřazen.

Po neúspěchu trifosforečnanu i TEA byla provedena další úprava připravovaného roztoku. Do vialky bylo naváženo 150 mg Betaninu, ke kterému byly přidány 2 g 2% roztoku chitosanu. K této směsi bylo poté pomalu pomocí mikropipety pipetováno po 10 μl 8% roztoku NaOH, dokud nebylo dosaženo zalkalizování směsi (barva roztoku přešla do žluté). Jakmile došlo ke změně barvy na žlutou, bylo opět mikropipetou přidáváno po 10 μl tentokrát 3% roztoku kyseliny citronové, dokud by nedošlo k opětovné změně barvy na růžovou. Takto bychom měli připravený roztok o takovém pH, při kterém by i malé množství NH_3 způsobilo barevný přechod do žluté ve vytvořeném spektru po měření. Během alkalizování bylo dosaženo změny barvy roztoku z růžové na žlutou, ale s přibývajícimi přísadkami roztoku kyseliny bylo dosaženo pouze změny ze žluté na oranžovou, tudíž byl tento pokus považován opět za neúspěšný.

Po řadě měření byl nakonec vyřazen i samotný chitosan, jelikož kyselina octová, z níž byl 2% roztok chitosanu vytvořen, udržovala určitou kyselost, díky které nedocházelo k barevným změnám ani po kontaktu se vzniklým NH_3 . Její přítomnost tak neumožňovala docílit požadovaných barevných přechodů z proměřovaných vrstev vytvořených ze zásobních roztoků se zadanými poměry dílčích látek.

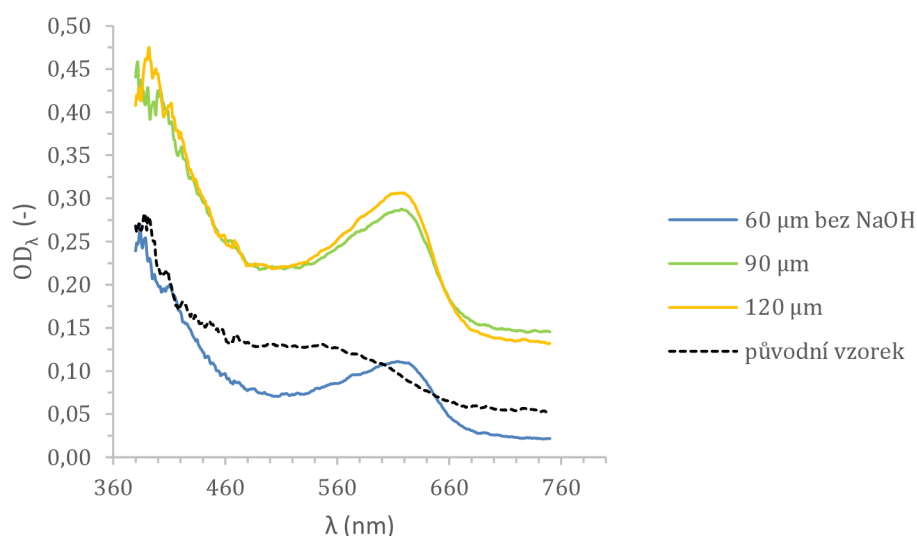
Po řadě neúspěchů bylo tak rozhodnuto na základě nové strategie o využití zcela odlišných látek. Betanin tak nahradil extrakt z červeného zelí obsahující ze zelí vyextrahované anthokyaniny pomocí směsi ethanolu a vody, zatímco 2% roztok chitosanu nahradil 9,5% PVA 8-88.

4.4 Měření barevnosti vrstev

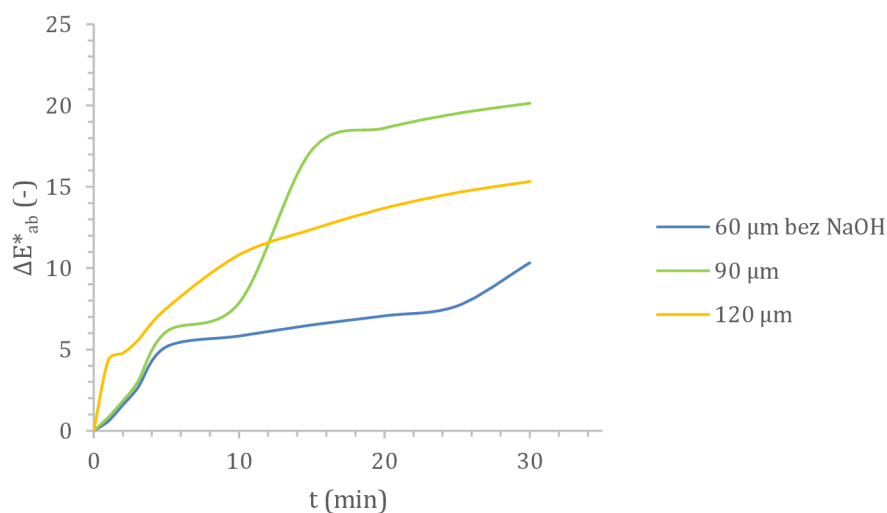
Ze 4 zásobních roztoků bylo připraveno 5 rozdílných vzorků (viz *Tabulka 6*), ze kterých byly na polyethylentereftalových fóliích pomocí automatického aplikátoru a Bakerova pravítka vytvořeny tenké polymerní vrstvy. U každého vzorku bylo z naměřených dat vytvořeno spektrum po kontaktu se vzniklým NH_3 , které je uvedeno v podobě grafů závislosti spektrální optické hustoty OD_λ na vlnové délce λ . V každém grafu bylo tečkovanou čarou vyznačeno spektrum původního vzorku v čase 0 minut. Na základě změřených souřadnic barvového prostoru CIE $L^*a^*b^*$ byly vypočítány barvové odchylky ΔE^*_{ab} , které byly následně vloženy do grafu v závislosti na čase t . Dále jsou zde uvedeny souřadnice chromy C^* a odstínu h^* pro každý vzorek na počátku a na konci expozice NH_3 .

Tabulka 6: Složení jednotlivých vzorků

vzorek	zásobní roztok (ZR)	ZR	9,5% PVA 8-88	přídavek 8% NaOH
		[g]	[g]	[μl]
1.	1	0,5	2	4
2.	2	0,5	2	4
3.	3 (1)	0,5	2	4
4.	3 (1)	0,5	2	20
5.	3 (2)	0,5	2	40



Obrázek 19: Závislost spektrální optické hustoty na vlnové délce pro 1. vzorek



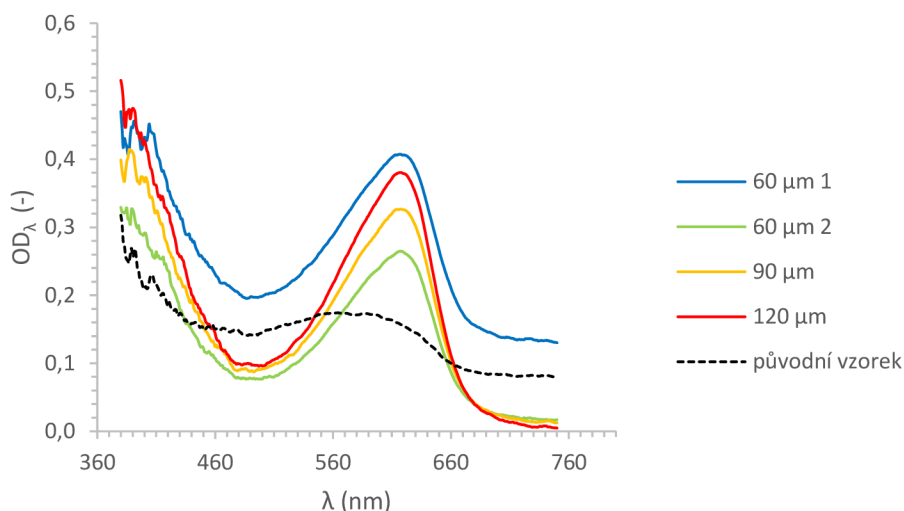
Obrázek 20: Závislost barvé odchytky ΔE^*_{ab} na čase pro 1. vzorek

Tabulka 7: Hodnoty C^* , h^* , L^* , a^* , b^* na počátku a po 30minutové expozici amoniakem pro 1. vzorek

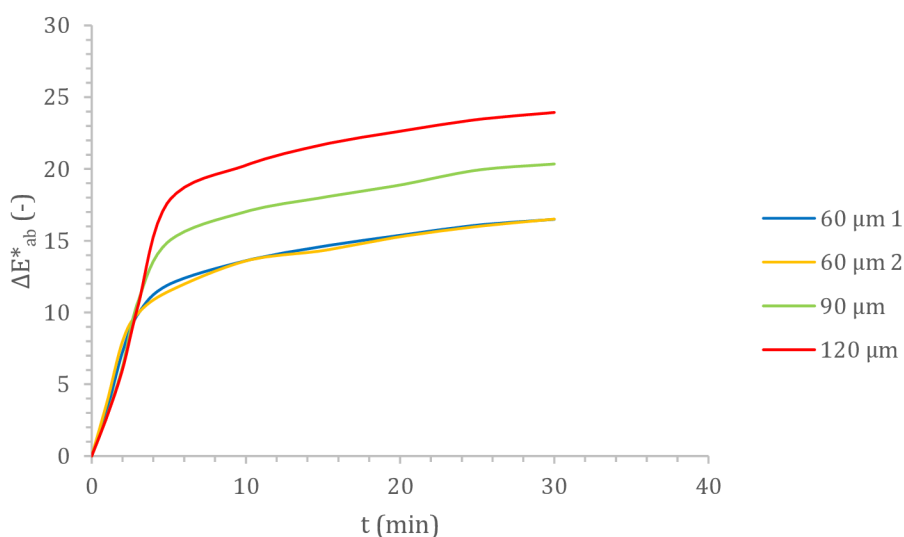
tloušťka vrstvy	C^* [-]		h^* [°]		L^* [-]		a^* [-]		b^* [-]	
	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$
[μm]	[min]		[min]		[min]		[min]		[min]	
60 _{bezNaOH}	3,7	4,0	53,6	148,4	98,6	90,0	2,2	-3,4	3,0	2,1
90	5,0	6,4	61,0	147,6	98,6	80,1	2,4	-5,4	4,4	3,4
120	4,9	6,5	54,2	160,1	91,7	79,4	2,9	-6,1	4,0	2,2

Barevná reakce na plynný amoniak byla u 1. vzorku poměrně výrazná, jelikož z absorpčního maxima původního purpurového roztoku o hodnotě 552 nm došlo k posunu až na 620–633 nm (viz Obrázek 19). Byla tak pozorována změna barvy do zelenomodré (více do zelena).

Absorbance se více lišila u 60 a 90 μm vrstvy, než tomu bylo u vrstev 90 a 120. 60 μm vrstva měla nejmenší tloušťku, docházelo tak nejspíše k intenzivnějším odrazům záření. Naměřená reflektance dosahovala nejvyšších hodnot ze všech 3 vrstev a její absorbance byla naopak nejnižší. Míra čistoty barevného tónu C^* nebyla příliš vysoká u žádného ze vzorků (vybarvení bylo světlejší). Všechny kolorimetrické souřadnice jsou uvedeny v tabulce (Tabulka 7).



Obrázek 21: Závislost spektrální optické hustoty na vlnové délce pro 2. vzorek



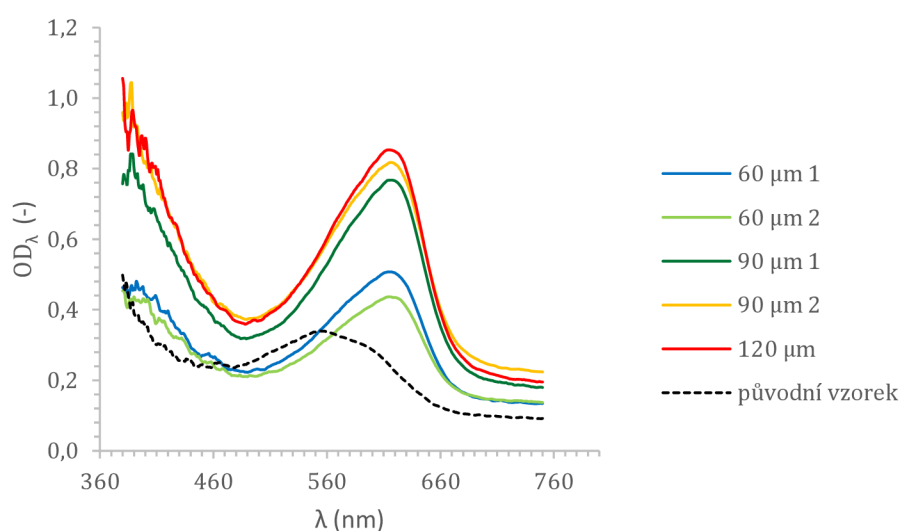
Obrázek 22: Závislost barvové odchylky ΔE^*_{ab} na čase pro 2. vzorek

Tabulka 8: Hodnoty C^* , h^* , L^* , a^* , b^* na počátku a po 30minutové expozici amoniakem pro 2. vzorek

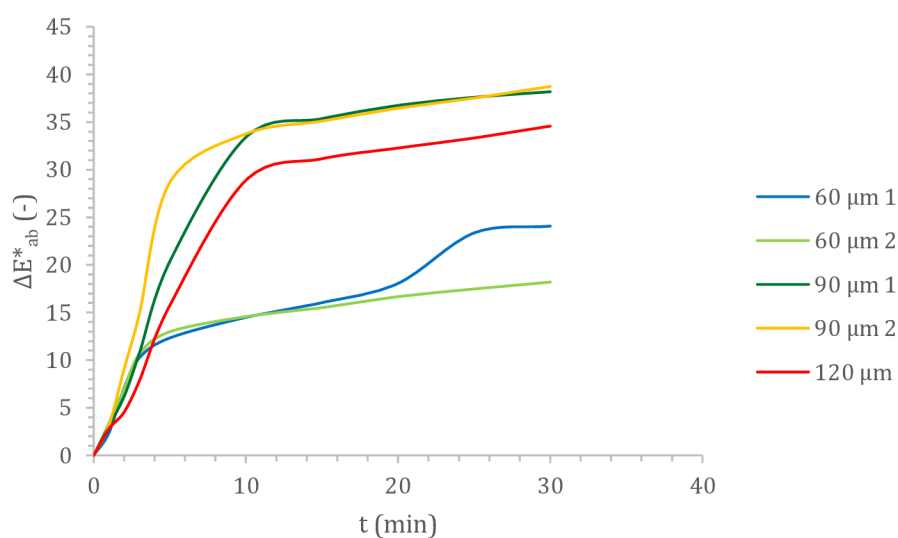
tloušťka vrstvy	C^* [-]		h^* [°]		L^* [-]		a^* [-]		b^* [-]	
	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$
[μm]	[min]		[min]		[min]		[min]		[min]	
60 1	2,1	12,6	314,2	201,1	86,5	77,1	1,5	-11,7	-1,5	-4,5
60 2	2,4	12,6	324,4	199,2	95,5	86,9	2,0	-11,9	-1,4	-4,1

tloušťka vrstvy	C^* [-]		h^* [°]		L^* [-]		a^* [-]		b^* [-]	
	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$
[μm]	[min]		[min]		[min]		[min]		[min]	
90	3,5	15,4	334,3	202,0	94,0	84,5	3,1	-14,3	-1,5	-5,8
120	5,4	18,1	335,5	201,5	91,6	82,6	4,9	-16,9	-2,2	-6,6

Absorpční pík 2. sytě fialového vzorku zaznamenal posun z 564 nm k hodnotám 623–624 nm, což bylo doprovázeno změnou do zelenomodré barvy. Vzorek vrstvy 60 μm 1 byl špatně proměřen, jelikož absorbance dosahovala namísto nejnižších hodnot těch nejvyšších. 120 μm vrstva byla proti zbylým 3 vzorkům sytější zbarvena (nejvyšší C^*). Z obrázku (Obrázek 22) je patrné, že rychlost vybarvování jako reakce na absorpci amoniaku ve vrstvě a změnu její pH hodnoty je stejná pro všechny studované tloušťky vrstvy.



Obrázek 23: Závislost spektrální optické hustoty na vlnové délce pro 3. vzorek

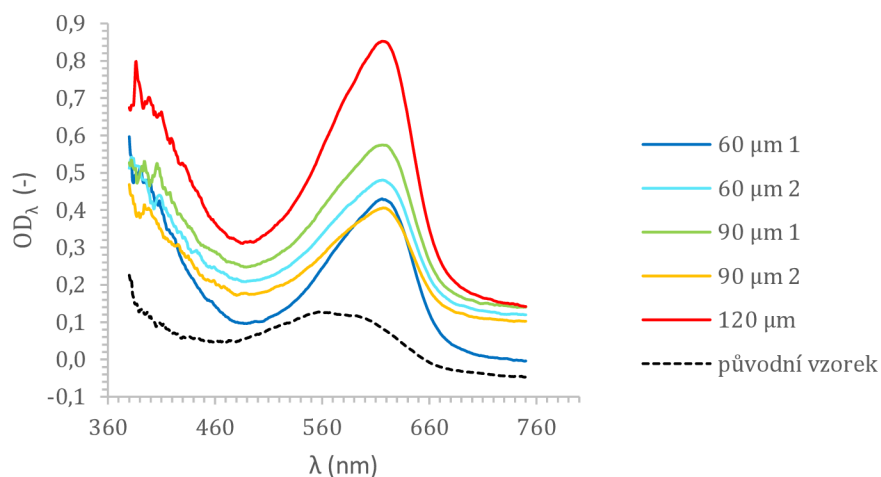


Obrázek 24: Závislost barvé odchytky ΔE^*_{ab} na čase pro 3. vzorek

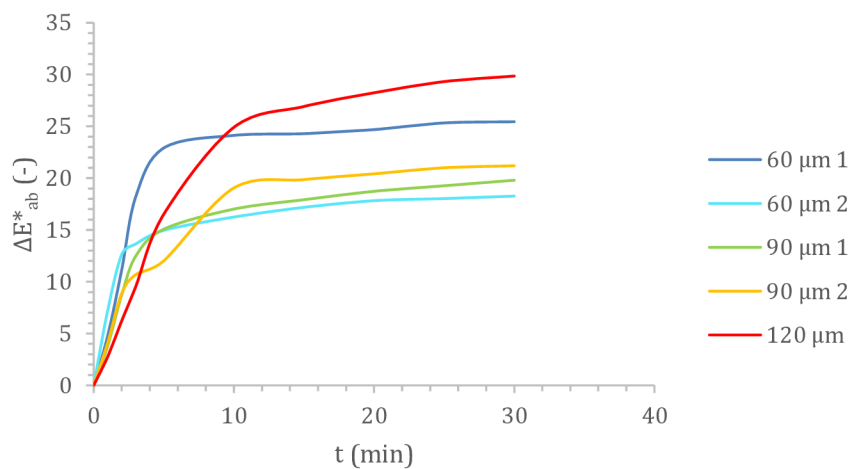
Tabulka 9: Hodnoty C^* , h^* , L^* , a^* , b^* na počátku a po 30minutové expozici amoniakem pro 3. vzorek

tloušťka vrstvy	C^* [-]		h^* [°]		L^* [-]		a^* [-]		b^* [-]	
	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$
[μm]	[min]		[min]		[min]		[min]		[min]	
60 1	4,1	15,7	281,8	213,5	91,9	72,8	0,8	-13,1	-4,1	-8,6
60 2	3,9	13,0	329,1	209,3	85,3	75,4	3,3	-11,3	-2,0	-6,3
90 1	10,2	21,8	329,5	207,9	88,1	62,7	8,8	-19,2	-5,2	-10,2
90 2	7,9	20,5	334,8	208,4	88,1	59,4	7,2	-18,0	-3,4	-9,8
120	11,1	22,3	329,2	208,7	76,8	58,9	9,5	-19,6	-5,7	-10,7

I 3. vzorek zaznamenal větší posun píku z hodnoty 564 nm do 623–630 nm, což bylo pozorováno změnou fialového zbarvení na zelenomodré. Absorbance 90 1, 90 2 a 120 μm vrstev dosahovala nejvyšších hodnot. Chroma C^* se u většiny vzorků vrstev pohybovala kolem hodnoty 20. Čím vyšší byla tato hodnota, tím sytější bylo vybarvení vzorku.



Obrázek 25: Závislost spektrální optické hustoty na vlnové délce pro 4. vzorek

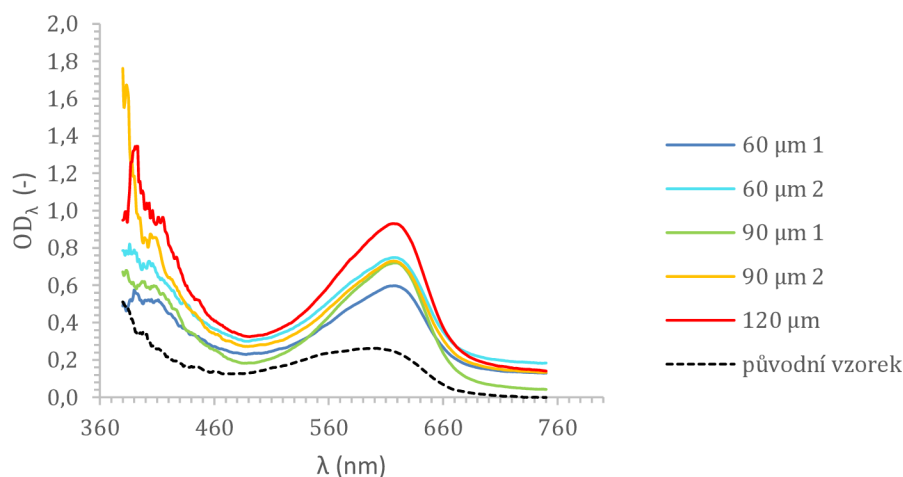


Obrázek 26: Závislost barvové odchylky ΔE^*_{ab} na čase pro 4. vzorek

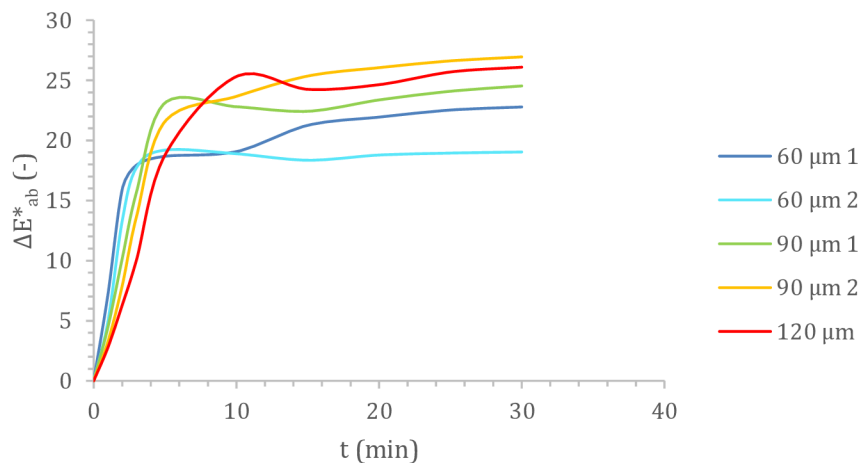
Tabulka 10: Hodnoty C^* , h^* , L^* , a^* , b^* na počátku a po 30minutové expozici amoniakem pro 4. vzorek

tloušťka vrstvy [μm]	C^* [-]		h^* [$^\circ$]		L^* [-]		a^* [-]		b^* [-]	
	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$
	[min]		[min]		[min]		[min]		[min]	
60 1	7,3	20,5	308,4	205,5	91,4	81,0	4,5	-18,5	-5,7	-8,8
60 2	5,0	15,5	306,0	213,1	82,2	74,4	3,0	-13,0	-4,1	-8,5
90 1	6,3	17,5	289,8	214,8	80,1	70,0	2,1	-14,4	-6,0	-10,0
90 2	4,7	13,8	302,8	209,5	93,2	78,0	2,5	-12,0	-3,9	-6,8
120	9,8	25,3	299,5	212,1	74,6	61,3	4,8	-21,4	-8,5	-13,4

Barevná reakce byla obdobná i u 4. vzorku, kde byl posun píku prakticky stejný jako tomu bylo u 3. vzorku. Modré vrstvy, u nichž po schnutí došlo k návratu fialové barvy, zaznamenaly posun z 564 nm do 620–625 nm. Byla opět pozorována změna do tyrkysové. Jednotlivé vrstvy byly odlišeny i vzájemnou sytostí zbarvení (především 60 a 90 μm), což bylo patrné ze změřených dat C^* a i na obrázku (Obrázek 25). 120 μm vrstva byla nejsytěji zbarvena.



Obrázek 27: Závislost spektrální optické hustoty na vlnové délce pro 5. vzorek



Obrázek 28: Závislost barvé odchytky ΔE^*_{ab} na čase pro 5. vzorek

Tabulka 11: Hodnoty C^* , h^* , L^* , a^* , b^* na počátku a po 30minutové expozici amoniakem pro 5. vzorek

tloušťka vrstvy	C^* [-]		h^* [°]		L^* [-]		a^* [-]		b^* [-]	
	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$	$t = 0$	$t = 30$
[μm]	[min]		[min]		[min]		[min]		[min]	
60 1	9,6	20,2	257,0	206,2	86,7	70,4	-2,1	-18,1	-9,3	-8,9
60 2	10,3	22,4	249,2	210,3	74,6	63,9	-3,7	-19,3	-9,7	-11,3
90 1	13,3	28,3	257,4	209,8	81,0	69,5	-2,9	-24,6	-13,0	-14,1
90 2	8,3	23,4	263,8	200,5	82,8	66,0	-0,9	-22,0	-8,2	-8,2
120	10,3	28,1	258,8	201,2	69,3	59,6	-2,0	-26,2	-10,1	-10,2

Nejvíce zalkalizovaný 5. vzorek zaznamenal nejméně výraznou barevnou změnu. Jelikož byla zachována tmavě modrá barva vrstev i po jejich natažení a vysušení, došlo k posunu absorpčního píku z hodnoty kolem 600 nm do 623–627 nm. Modrá barva byla tak změněna na zelenomodrou (spíše do zelené). U všech vrstev byla měrná čistota barevného tónu větší než 20, tudíž jednotlivé vzorky byly sytěji vybarveny.

5 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo připravit vrstvy přírodních polymerů, do nichž byla přidána aktivní látka schopná barevné reakce při změnách pH prostředí.

Byly připraveny polymerní vrstvy z 2% roztoku chitosanu, 150 mg barviva Betaninu a 0,2 g zředěného roztoku trifosforečnanu pentasodného. Takto vytvořené červenorůžové vrstvy byly ponechány volně schnout na vzduchu a byly z nich poté připraveny vzorky. Ty byly následně vystaveny účinku 75 mg plynného NH_3 ($0,0080 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$) za účelem barevné reakce při změnách pH prostředí. Bylo zkoumáno i odlišné složení připravovaných vrstev, které byly připravovány ze směsi 2 g 9,5% PVA 8-88 a 0,5 g zásobního roztoku obsahující extrakt z červeného zelí. Roztok byl zbarven do sytě purpurové barvy. Polymerní vrstvy s PVA a extraktem z červeného zelí byly připraveny a testovány stejným způsobem, jako tomu bylo u vrstev s chitosanem. Během vystavení vrstev plynnému amoniaku probíhalo kontinuální měření odrazových spekter, z nichž byly vyjádřené kolorimetrické veličiny. Na jejich základě byly připravené vrstvy hodnoceny.

Bylo zjištěno, že vrstvy připravované z chitosanu a Betaninu nevykazovaly žádnou barevnou změnu ani při změně pH vlivem působícího plynného NH_3 . Vrstvy tvořené z PVA a extraktu z červeného zelí naopak zaznamenaly poměrně výrazné barevné přechody z původních sytě fialových vzorků do modrého až zeleného zbarvení. To bylo patrné zejména ze spekter závislosti optických hustot na vlnových délkách, kde píky přecházely z hodnot okolo 560 nm až k hodnotám 630 nm. To dokazuje i výrazná změna kolorimetrických souřadnic $L^*a^*b^*$ barvového prostoru, rostoucí chroma a změna odstínu až o 90° . Dále bylo zjištěno, že první 4 vzorky vykazovaly prakticky stejné barevné přechody sytě fialové barvy do tyrkysové. Nejmenší barevný posun spektra byl pozorován u 5. vzorku, který přecházel z modré barvy do tyrkysové. Jednotlivé vzorky vrstev tohoto nejvíce zalkalizovaného vzorku o tmavě modrém zbarvení ale vykazovaly nejsytější vybarvení na základě změřených hodnot chromy C^* . Bylo také zjištěno, že extrakt z červeného zelí reaguje barevně na amoniak mnohem lépe než Betanin, extrakt z červené řepy. Ukázalo se, že anthokyany z červeného zelí mohou poskytnout dobře kalibrovatelné indikátory amoniaku s výrazným a velmi rychlým barevným přechodem a mají vysoký aplikační potenciál pro indikátor čerstvosti potravin.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] Obecně o potravinářských obalech. Státní zdravotní ústav. *Národní zdravotnický informační portál* [online]. Praha: Ministerstvo zdravotnictví ČR a Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, 2021 [cit. 2021-01-25]. Dostupné z: <https://www.nzip.cz/clanek/836-obecne-o-potravinarskych-obalech>
- [2] Ochranná funkce potravinářského obalu. Státní zdravotní ústav. *Národní zdravotnický informační portál* [online]. Praha: Ministerstvo zdravotnictví ČR a Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, 2021 [cit. 2021-01-25]. Dostupné z: <https://www.nzip.cz/clanek/838-ochranna-funkce-potravinarskeho-obalu>
- [3] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002. ISBN 80-708-0509-9.
- [4] GHAANI, Masoud, Carlo A. COZZOLINO, Giulia CASTELLI a Stefano FARRIS. *An overview of the intelligent packaging technologies in the food sector* [online]. 2016, **51**, 1-11 [cit. 2021-01-25]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2016.02.008
- [5] Gate2Biotech: Biotechnologický portál - Vše o biotechnologiích na jednom místě. *Gate2Biotech* [online]. Jihočeská agentura pro podporu inovačního podnikání, 2007, 29. 11. 2007 [cit. 2021-01-26]. Dostupné z: <http://www.gate2biotech.cz/potravinove-obaly-chrani-informuji-spotrebitele/>
- [6] ROBERTSON, Gordon L. *Food packaging: principles and practice* [online]. Third edition. Boca Raton, [2012] [cit. 2021-01-26]. ISBN 978-1-4398-6241-4.
- [7] PEREIRA DE ABREU, D. A., J. M. CRUZ a P. PASEIRO LOSADA. Active and Intelligent Packaging for the Food Industry. *Food Reviews International* [online]. 2012, **28**(2), 146-187 [cit. 2021-01-26]. ISSN 8755-9129. Dostupné z: doi:10.1080/87559129.2011.595022
- [8] WYRWA, Joanna a Anetta BARSKA. Innovations in the food packaging market: active packaging. *European Food Research and Technology* [online]. 2017, **243**(10), 1681-1692 [cit. 2021-01-26]. ISSN 1438-2377. Dostupné z: doi:10.1007/s00217-017-2878-2
- [9] YILDIRIM, Selçuk, Bettina RÖCKER, Marit Kvalvåg PETTERSEN, et al. Active Packaging Applications for Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2018, **17**(1), 165-199 [cit. 2021-01-26]. ISSN 15414337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12322
- [10] Inteligentní a aktivní obaly. *Agris: Agrární www portál* [online]. 2008 [cit. 2021-01-26]. Dostupné z: <http://www.agris.cz/clanek/159249>
- [11] *Svět balení* [online]. Praha: ATOZ STUDIO, 2009 [cit. 2021-01-26]. Dostupné z: <https://www.svetbaleni.cz/2009/03/01/sb-2-2009-hlavn-tma-baleni-potravin-legislativa-obaly-potravin-pod-mikroskopem/>
- [12] TOKATLI, Kader a Aslıhan DEMIRDÖVEN. Effects of chitosan edible film coatings on the physicochemical and microbiological qualities of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Scientia Horticulturae* [online]. 2020, **259** [cit. 2021-01-26]. ISSN 03044238. Dostupné z: doi:10.1016/j.scienta.2019.108656
- [13] YOUSUF, Basharat, Ovais Shafiq QADRI a Abhaya Kumar SRIVASTAVA. Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application

- of different edible coatings: A review. *LWT* [online]. 2018, **89**, 198-209 [cit. 2021-01-26]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2017.10.051
- [14] ZABALA, S., J. CASTÁN a C. MARTÍNEZ. Development of a time–temperature indicator (TTI) label by rotary printing technologies. *Food Control* [online]. 2015, **50**, 57-64 [cit. 2021-01-27]. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2014.08.007
- [15] MOKREJŠ, Pavel a Ferdinand LANGMAIER. *Aplikace přírodních polymerů* [online]. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008 [cit. 2021-01-27]. ISBN 978-80-7318-674-6.
- [16] VODRÁŽKA, Zdeněk. *Biochemie* [online]. 2. opr. vyd. Praha: Academia, 1996 [cit. 2021-01-27]. ISBN 80-200-0600-1.
- [17] DE RUITER, Gerhard A. a Brian RUDOLPH. *Carrageenan biotechnology* [online]. 1997, **8**(12), 389-395 [cit. 2021-01-27]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/S0924-2244(97)01091-1
- [18] ELSABEE, Maher Z. a Entsar S. ABDU. Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2013, **33**(4), 1819-1841 [cit. 2021-01-27]. ISSN 09284931. Dostupné z: doi:10.1016/j.msec.2013.01.010
- [19] RAVI KUMAR, Majeti N.V. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers* [online]. 2000, **46**(1), 1-27 [cit. 2021-01-28]. ISSN 13815148. Dostupné z: doi:10.1016/S1381-5148(00)00038-9
- [20] CHO, Yong-Woo, Jinho JANG, Chong Rae PARK a Sohk-Won KO. Preparation and Solubility in Acid and Water of Partially Deacetylated Chitins. *Biomacromolecules* [online]. 2000, **1**(4), 609-614 [cit. 2021-01-28]. ISSN 1525-7797. Dostupné z: doi:10.1021/bm000036j
- [21] ZHANG, Zhi-Hong, Zhong HAN, Xin-An ZENG, Xia-Yu XIONG a Yu-Jia LIU. Enhancing mechanical properties of chitosan films via modification with vanillin. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2015, **81**, 638-643 [cit. 2021-01-28]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2015.08.042
- [22] Makromolekulární látky (POLYMERY). In: *Malloc* [online]. [cit. 2021-01-27]. Dostupné z: <https://www.malloc.cz/chemie/mml.pdf>
- [23] Organická chemie: Makromolekulární látky. In: *MojeChemie* [online]. [cit. 2021-01-27]. Dostupné z: <https://www.mojechemie.cz/Organick%C3%A1%20Chemie:Makromolekul%C3%A1rn%C3%AD%20l%C3%A1tky>
- [24] KRIS-ETHERTON, Penny M, Kari D HECKER, Andrea BONANOME, Stacie M COVAL, Amy E BINKOSKI, Kirsten F HILPERT, Amy E GRIEL a Terry D ETHERTON. Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine* [online]. 2002, **113**(9), 71-88 [cit. 2021-01-27]. ISSN 00029343. Dostupné z: doi:10.1016/S0002-9343(01)00995-0
- [25] MACKENZIE, Kenneth J. D., Nils RAHNER, Mark E. SMITH a Alan WONG. Calcium-containing inorganic polymers as potential bioactive materials. *Journal of Materials Science* [online]. 2010, **45**(4), 999-1007 [cit. 2021-01-27]. ISSN 0022-2461. Dostupné z: doi:10.1007/s10853-009-4031-5

- [26] NATARAJ, Divya, Seema SAKKARA, Murlidhar MEGHWAL a Narendra REDDY. Crosslinked chitosan films with controllable properties for commercial applications. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2018, 120, 1256-1264 [cit. 2021-01-29]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.08.187
- [27] HARISH PRASHANTH, Keelara V. a Rudrapatnam N. THARANATHAN. Crosslinked chitosan—preparation and characterization. *Carbohydrate Research* [online]. 2006, 341(1), 169-173 [cit. 2021-01-29]. ISSN 00086215. Dostupné z: doi:10.1016/j.carres.2005.10.016
- [28] VALDERRUTEN, N.E., J.D. VALVERDE, F. ZULUAGA a E. RUIZ-DURÁNTEZ. Synthesis and characterization of chitosan hydrogels cross-linked with dicarboxylic acids. *Reactive and Functional Polymers* [online]. 2014, 84, 21-28 [cit. 2021-01-29]. ISSN 13815148. Dostupné z: doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2014.08.006
- [29] *Zákon č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů* [online]. *Zákony pro lidi*, 1997 [cit. 2021-04-10]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1997-110/zneni-20200520>
- [30] *Zákon č. 477/2001 Sb. o obalech a o změně některých zákonů (zákon o obalech)* [online]. *Zákony pro lidi*, 2001 [cit. 2021-04-10]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-477/zneni-20210101>
- [31] *Narřízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1935/2004: o materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami a o zrušení směrnic 80/590/EHS a 89/109/EHS* [online]. EUR-Lex, 2004 [cit. 2021-04-10]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A02004R1935-20210327&qid=1618073499521>
- [32] Chitosan: Structure of completely deacetylated chitosan. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. 2020 [cit. 2021-01-29]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/Chitosan#/media/File:Chitosan_chair.png
- [33] Seafood Waste as Attractive Source of Chitin and Chitosan Production and Their Applications. In: *MDPI: International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2020 [cit. 2021-01-29]. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/12/4290/htm>
- [34] BAO, Suping, Bin FEI, Jianhua LI, Xing YAO, Xinkun LU a John H. XIN. Reversible thermochromic switching of fluorescent poly(vinylidene fluoride) composite containing bis(benzoxazolyl)stilbene dye. *Dyes and Pigments* [online]. 2013, **99**(1), 99-104 [cit. 2021-02-24]. ISSN 01437208. Dostupné z: doi:10.1016/j.dyepig.2013.04.005
- [35] LAKOWICZ, Joseph R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 2nd Ed. New York: Kluwer Academic Publishers, 1999, 698 s. ISBN 0-306-46093-9.
- [36] GHAANI, Masoud, Carlo A. COZZOLINO, Giulia CASTELLI a Stefano FARRIS. *An overview of the intelligent packaging technologies in the food sector* [online]. 2016, **51**, 1-11 [cit. 2021-02-25]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2016.02.008
- [37] CHOI, Inyoung, Jun Young LEE, Monique LACROIX a Jaejoon HAN. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food Chemistry* [online]. 2017, **218**, 122-128 [cit. 2021-02-28]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2016.09.050

- [38] Jak fungují indikátorové papírky na měření pH a jaké je jejich složení? *PŘÍRODOVĚDCI.CZ* [online]. [cit. 2021-03-01]. Dostupné z: <https://www.prirodovedci.cz/zeptejte-se-prirodovedcu/167>
- [39] Iontově zesíťovaný chitosan. In: *ResearchGate* [online]. 2016 [cit. 2021-04-11]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-chitosan-and-TPP-crosslinked-chitosan_fig1_308816930
- [40] BERGER, J., M. REIST, J.M. MAYER, O. FELT, N.A. PEPPAS a R. GURNY. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* [online]. 2004, **57**(1), 19-34 [cit. 2021-04-11]. ISSN 09396411. Dostupné z: doi:10.1016/S0939-6411(03)00161-9
- [41] Balení potravin. *Ukp.vscht.cz* [online]. Praha, 2004 [cit. 2021-04-10]. Dostupné z: <https://ukp.vscht.cz/files/uzel/0029134/c0rMSc07vFahIL-kKLEsMw8A.pdf?redirected>
- [42] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 1*. 2. upr. vyd. Tábor: OSSIS, 2002, 331 s. ISBN 80-86659-03-8.
- [43] DELGADO-VARGAS, Francisco a Octavio PAREDES-LOPEZ. Natural colorants for food and nutraceutical uses. *Scitech Book News* [online]. Portland: Ringgold, 2003, **27**(2), n/a [cit. 2021-04-12]. ISSN 01966006. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/200044149/>
- [44] HENDRY, G. A. F. a J. D. HOUGHTON. *Natural food colorants: 2nd. ed.* Food science and technology (CRC Press), 1996. ISBN 07-514-0231-1.
- [45] KHOO, Hock Eng, Azrina AZLAN, Sou Teng TANG a See Meng LIM. *Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits* [online]. 2017, **61**(1) [cit. 2021-04-12]. ISSN 1654-6628. Dostupné z: doi:10.1080/16546628.2017.1361779
- [46] BALÍK, Josef. *Anthokyaninová barviva v hroznech a vínech: Anthocyanin pigments in grapes and wines* [online]. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2010 [cit. 2021-04-13]. Folia Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis. ISBN 978-80-7375-412-.
- [47] AHMADIANI, Neda, Rebecca J. ROBBINS, Thomas M. COLLINS a M. Monica GIUSTI. Molar absorptivity (ϵ) and spectral characteristics of cyanidin-based anthocyanins from red cabbage. *Food Chemistry* [online]. 2016, **197**, 900-906 [cit. 2021-04-13]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2015.11.032
- [48] Vliv pH na anthokyany. In: *WikiSkripta* [online]. [cit. 2021-04-13]. Dostupné z: <https://www.wikiskripta.eu/w/Anthokyany#/media/File:Vliv-ph-na-antokyany.jpg>
- [49] PANÁK, Ondřej. Měření barevnosti. *Věda pro papírové artefakty (VEPA)*. Dostupné z: CZ.1.07/2.3.00/20.0236
- [50] Automatický aplikátor filmu TQC. *DocPlayer.cz* [online]. [cit. 2021-7-10]. Dostupné z: <https://docplayer.cz/86503727-Vysoke-uceni-technicke-v-brne-fakulta-chemicka.html>
- [51] Film Aplicator. *Alibaba.com* [online]. [cit. 2021-7-10]. Dostupné z: https://www.alibaba.com/product-detail/4-Paths-Micron-Precision-Film-Applicator_60824478498.html

- [52] JANČÍKOVÁ, Simona. *Charakterizace jedlých obalů pro potenciální použití při balení potravin* [online]. [cit. 2021-7-11]. Dostupné z: https://www.vutbr.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=188542