



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 SENSOR AMONIAKU PRO INTELIGENTNÍ
OBALY**

DISPOSABLE SENSOR OF AMMONIUM FOR INTELLIGENT PACKAGING

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Aneta Nentvichová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

RNDr. Mária Veselá, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1560/2020 Akademický rok: 2020/21
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Aneta Nentvichová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **RNDr. Mária Veselá, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Jednorázový sensor amoniaku pro inteligentní obaly

Zadání diplomové práce:

1. Vypracujte literární rešerši na téma chemické sensory pro inteligentní obaly s důrazem na sensory amoniaku.
2. Připravte tenké vrstvy polymerů s obsahem aktivních látek, schopných barevné odezvy na různé koncentrace amoniaku v prostředí.
3. Studujte rychlost barevné odezvy, intenzitu vybarvení a citlivost připravené vrstvy.
4. Výsledky vyhodnoťte a diskutujte.

Termín odevzdání diplomové práce: 30.7.2021:

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

Bc. Aneta Nentvichová
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 diplomová práce se zabývá přípravou jednorázových senzorů/indikátorů amoniaku v rámci problematiky inteligentních obalů a následnému měření barevnosti takto připravených senzorů/indikátorů pomocí barvového prostoru CIE $L^* a^* b^*$. Teoretická část diplomové práce se zaměřuje na aktivní a inteligentní obaly, v rámci inteligentních obalů je zde zaměření na senzory/indikátory amoniaku. Důraz je kladen na hlavní komponenty senzoru/indikátoru, tedy na chitosan, jako polymer a na barvivo kurkumin. Součástí teoretické části je také problematika znehodnocení masa, která hraje v této práci vcelku důležitou roli. Experimentální část byla rozdělena do dvou částí. První částí bylo připravit vrstvy, které budou barevně reagovat na různé koncentrace amoniaku. Připravené vrstvy byly citlivé na amoniak napříč všemi koncentracemi a na základě toho byla do kompozic aplikována kyselina askorbová pro docílení kalibrační zadrže zvoleného množství amoniaku. Druhou, minoritní částí experimentu, byla aplikace vybraných vrstev do balení s reálným masem.

KLÍČOVÁ SLOVA

Inteligentní obaly, senzor/indikátor, pH, znehodnocení masa, amoniak, chitosan, kurkumin

ABSTRACT

This diploma thesis is focused on the problematic of the smart packaging and deals with the preparation of disposable ammonia sensors/indicators and the subsequent color measurement of prepared sensors/indicators using the CIE $L^* a^* b^*$ color space. The theoretical part of the diploma thesis focuses on active and intelligent packaging, using ammonia sensors/indicators. The emphasis is placed on the main components of the sensor/indicator, i.e., chitosan as a polymer and curcumin as a dye. The theoretical part also includes the problematic of meat degradation, which plays a very important role in this thesis. The experimental part was divided into two parts. The first part was to prepare layers that will respond in different colors based on the concentrations of ammonia. Prepared layers were sensitive to ammonia across all concentrations, and based on this result, ascorbic acid was applied to compositions to achieve a calibration retention of the selected amount of ammonia. The second minor part of the experiment was the application of selected layers to packages with real meat.

KEYWORDS

Intelligent packaging, sensor/indicator, pH, meat spoilage, ammonia, chitosan, curcumin

CITACE

NENTVICOVÁ, Aneta. Jednorázový sensor amoniaku pro inteligentní obaly. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131426>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Mária Veselá.

PROHLÁŠENÍ

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

.....

podpis studentky

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych chtěla poděkovat především vedoucí mé diplomové práce RNDr. Márii Veselé, Ph.D. za cenné rady, odborné vedení a věnovaný čas. Dále bych chtěla poděkovat celému týmu laboratoře fotochemie, především vedoucímu laboratoře prof. Ing. Michalovi Veselému CSc. za veškerou pomoc a poskytnutí měřicí techniky, které byly klíčové pro experimentální část mé diplomové práce. Velké poděkování patří také mé rodině a blízkým, kteří mě v průběhu celého studia velmi podporovali.

Obsah

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1	Vývoj obalů	9
2.2	Legislativa.....	10
2.3	Změny v potravinách během zpracování a skladování.....	11
2.3.1	Fyziologické změny.....	11
2.3.2	Enzymové změny	11
2.3.3	Chemické změny	12
2.3.4	Mikrobiologické změny.....	12
2.4	Tradiční obaly a jejich funkčnost	12
2.5	Aktivní obaly	13
2.5.1	Aktivní systémy balení	13
2.6	Inteligentní obaly	18
2.6.1	Datové nosiče	18
2.6.2	Senzory	20
2.6.3	Indikátory.....	22
2.7	Jedlé filmy a povlaky	31
2.7.1	Chitosan	31
2.7.2	Barviva.....	35
2.7.3	Změkčovadla	38
2.8	Měření barevnosti vrstev	38
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	43
3.1	Laboratorní vybavení použité k měření	43
3.1.1	Chemikálie.....	43
3.1.2	Přístroje a pomůcky	43
3.1.3	Software.....	44
3.2	Příprava hlavních roztoků.....	44
3.2.1	Příprava roztoků chitosanu	44
3.2.2	Příprava roztoku barviva	44
3.3	Příprava pomocných roztoků	45
3.4	Příprava kompozic pro tvorbu vrstev	45

3.4.1	Příprava kompozic s 2% chitosanem.....	45
3.4.2	Příprava kompozic s 4% chitosanem.....	45
3.5	Příprava vrstev	46
3.6	Úvaha o balení s masem a navážky chloridu amonného	47
3.7	Zkušební způsoby provedení experimentu	48
3.7.1	Použití skleněné lahve s ventilkem.....	48
3.7.2	Použití uzavíratelného průhledného sáčku	50
3.8	Úkony se vzorkem provedené před měřením	50
3.9	Sestavení aparatury k měření a průběh měření	51
3.9.1	Sestrojení měřicí komory.....	51
3.9.2	Příprava k měření a nutná nastavení.....	52
3.10	Příprava experimentů s masem	53
3.10.1	Příprava experimentů s kuřecím masem.....	53
3.10.2	Příprava experimentu s rybou.....	54
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	55
4.1	Měření vrstev vyrobených z 2% chitosanu.....	55
4.1.1	Vrstvy bez přídavku glycerolu	55
4.1.2	Vrstvy s přídavkem 0,05 g glycerolu.....	58
4.1.3	Vrstvy s přídavkem 0,1 g glycerolu.....	61
4.1.4	Vrstvy s přídavkem 0,15 g glycerolu.....	64
4.2	Vliv glycerolu na kolorimetrické vlastnosti vrstev z 2% chitosanu	66
4.3	Způsoby snížení pH vrstev vyrobených z 2% chitosanu	68
4.3.1	Vpravení kyseliny citrónové do kompozice	68
4.3.2	Přetisk vrstev	69
4.4	Měření vrstev vyrobených z 4 % chitosanu.....	70
4.5	Měření vrstev vyrobených z 4% chitosanu s přídavkem kyseliny askorbové	74
4.5.1	Vrstvy s přídavkem 0,4109 g kyseliny askorbové.....	75
4.5.2	Vrstvy s přídavkem 0,2525 g kyseliny askorbové.....	78
4.5.3	Vrstvy s přídavkem 0,0786 g kyseliny askorbové.....	80
4.5.4	Vrstvy s přídavkem 0,0517 g kyseliny askorbové.....	83
4.6	Výsledky experimentů s masem	87
4.6.1	Výsledky experimentů s kuřecím masem uloženým v sáčcích	87
4.6.2	Výsledky experimentu s kuřecím masem uloženým v plastové nádobě ...	90

4.6.3	Výsledky experimentu s rybou skladovanou v termostatu	91
5	ZÁVĚR	93
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	94
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	107

1 ÚVOD

Balení potravin je neodmyslitelnou součástí výrobního procesu a hraje důležitou roli při zajišťování kvality a bezpečnosti potravin. V dnešní době se na trhu objevuje velká škála obalů z různých materiálů. Díky vcelku náročným požadavkům dnešních spotřebitelů, kteří požadují kvalitní čerstvou potravinu s co nejdelší trvanlivostí, vznikají různé typy inovativních obalů. Mezi tyto inovativní obaly patří i chytré obaly, ke kterým se řadí obaly aktivní a inteligentní. Aktivní obaly díky obsahu účinných látek interagují s danou potravinou a zajišťují potravině nejen prodloužení trvanlivosti, udržení kvality, ale především bezpečnost potravin. Inteligentní obaly naopak slouží k poskytování informací o dané potravine, případně pomocí inteligentních funkcí upozorňují na změny, ke kterým dochází v dané potravine. Díky inteligentním obalům dochází nejen k získání informací o čerstvosti potravin, ale také napomáhají k předcházení plýtvání potravin, ke kterému v dnešní době dochází v obrovském množství.

Maso a ryby se řadí mezi potraviny bohaté na bílkoviny a také potraviny, které nejsou dlouhodobě udržitelné, a navíc jsou velmi náchylné na změny. Díky celkovému složení masa, a především velkému obsahu vody je maso velmi náchylnou potravinou k osídlování mikroorganismů. Mikroorganismy způsobují kažení masa, které se projevuje osliznutím, tvorbou barevných skvrn a také tvorbou nepříjemného zápachu. Při procesu kažení masa dochází k postupnému rozkladu bílkovin a vznikají konečné produkty mimo jiné také amoniak. Amoniak je významným ukazatelem čerstvosti masa a podle obsahu amoniaku může být určena čerstvost masa. Díky narůstajícímu obsahu amoniaku v obalu s masem vzniká nejen silný zápach, ale také dochází k nárustu pH díky zásadité povaze amoniaku.

Barevné sensory/indikátory jsou stále předmětem zkoumání a stále dochází k novým poznatkům v této disciplíně. Díky jejich jednoduchosti, snadné aplikovatelnosti, rozmanitosti, a především pro snadné prokázání čerstvosti potravin si u spotřebitelů nachází čím dál tím větší pozornost. Barevný senzor/indikátor používaný pro inteligentní obaly je umístěn v balení dané potraviny a mění barvu díky změně pH, ke které dochází uvnitř obalu. K této změně pH dochází v důsledku vzniku metabolitů, vznikajících při kažení potraviny. A právě díky vybarvení daného senzoru/indikátoru můžeme určit, zda je potravina stále čerstvá nebo již není požitelná.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Vývoj obalů

Dříve lidé konzumovali suroviny, které si nasbírali (drobné plody, houby, semínka a další) nebo ulovili (maso, ryby a podobně). Ke konzumaci docházelo lokálně nebo ve velmi krátké době, z toho důvodu obal nebyl zapotřebí [1]. Později byla vynalezena metoda primitivního balení využitím přírodně dostupných materiálů: listy, tykve, dřevo, skořápky mořských plodů, zvířecí orgány, zvířecí kůže a traviny. S domestikací zvířat a rostlin se začaly objevovat první vesnice a spolu s nimi se zaváděly i komunity lidí, tím se samozřejmě zvýšila potřeba obalů na přepravu a skladování potravin. Tento pokrok vedl k posunu a vylepšení obalových technologií. Lidé vyráběli tkané pytle a koše dále také dřevěné bedýnky a zvířecí kůže byly upravovány pro tvarování nádob. Díky těmto pokrokům lidé mohli potraviny skladovat přes zimu, kdy produkce plodin je téměř nulová, přepravovat suroviny do jiných vesnic a chránit svoje zásoby před zvěří a škůdci [2]. Později došlo k rozvoji měst a tím i k ohromné inovaci v obalových technologiích. K přepravám potravin docházelo podstatně více a na delší vzdálenosti a také ve městech žilo více lidí než v tehdejších vesnicích, proto zásoby musely být daleko větší. Důležitým objevem této doby bylo foukané sklo, což umožnilo formování nádob různých tvarů na převoz tekutin, a to především alkoholu. Téměř ve stejném období došlo k vynálezu dřevěných sudů, které taktéž sloužily k přepravě alkoholu, ale i k přepravě a skladování suchého zboží [1] [2]. V Egyptě vznikal prapůvod dnešního papíru, a to tak zvaný papirus. Čína později začala vyrábět skutečnou podobu papíru, který se projevil jako vhodný a používaný materiál v obalových technologiích. S pádem Římanů následně došlo ke stagnaci obalových technik a vynálezů [2].

Spolu s průmyslovou revolucí nastal velký skok ve výrobě obalů. Ruční výroba byla nahrazena výrobou strojovou, navíc byly zavedeny efektivní balící techniky [1]. Nicolas Appert na vyžádání Napoleona Bonaparte, provedl a tím i objevil konzervaci plechovek kombinací tepelné sterilace a uskladnění v hermeticky uzavřené nádobě. Cílem mělo být delší a bezpečné uchování potravin pro vojska, ale dnes mu za tento objev vděčí celý svět. Poptávka byla spíše po individuálních menších obalech, což byl rozdíl, protože do této doby se používaly spíše velkoobjemové nádoby, koše a podobně. Na výrobu těchto individuálních menších obalů byl použit především papír, ale také se nezapomínalo na sklo [2]. Do konce druhé světové války se vyvíjely další obalové materiály, jako je například hliníková fólie. Novinkou byla i výroba jednorázových obalů s využíváním loga, které bylo vytisknuté na daný obal, což můžeme považovat za prvopočátky marketingu v balících technikách [1].

Na počátku 20. století nastal opět obrovský skok, a to díky zavedení plastů. V 60. letech byl vynalezen polyethylen, který je i dodnes jedním z nejpoužívanějších materiálů pro obaly potravin [1]. V dnešní době máme na trhu velké množství obalů, především těch plastových. Plasty jsou pro výrobce i nás jako spotřebitelé přijatelné, protože mají spoustu kladů pro balení potravin. Na druhou stranu díky své struktuře a pomalé rozložitelnosti se pro nás stávají ekologicky neúnosné. Z toho důvodu se začínají dělat různá opatření, především předcházení produkci odpadů, recyklace a také hledání a zkoušení různých alternativ plastů [3].

Obaly jsou neustále zdokonalovaným sektorem ve výrobě potravin, navíc balení potravin je neodmyslitelnou součástí výrobního procesu. Už nyní se začíná s inovacemi tradičních obalů v podobě chytrých a jiných atraktivních forem obalů.

2.2 Legislativa

K potravinovým obalům a obecně k potravinám se vztahuje celá řada zákonů, vyhlášek a nařízení. Legislativa potravinových obalů není dostatečně ucelená, stále se některé zákony a nařízení obnovují, jiné jsou teprve v přípravné fázi. Je nutností zmínit důležité zákony a nařízení, které se týkají problematiky potravinových obalů.

Zákon č. 110/1997 Sb., Zákon o potravinách a tabákových výrobcích, kde jsou kromě požadavků na tabák a tabákové výrobky také uvedeny požadavky na potraviny. Konkrétně je zde zmíněno uvádění potravin na trh, označování, klasifikace těl jatečných zvířat, ozařování potravin a dané podmínky [4].

Vyhláška č. 38/2001 Sb., Vyhláška Ministerstva zdravotnictví o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmy je rozdělena na tři hlavní části.

V první části je uveden výklad některých pojmů (celková a specifická migrace, kyselá a silně kyselá potravina, specifický migrační limit a další), požadavky na složení výrobků určených pro styk s potravinami, konstrukce výrobků určených pro styk s potravinami, plniva pro výrobky určené pro styk s potravinami, konstrukce výrobků určených pro styk s potravinami, kdy musí být zkonstruovány tak, aby bylo umožněno řádné čištění a také, aby povrchy výrobků byly bez jakéhokoliv porušení a nebyly náchylné k praskání, odlamování, či jiným defektům. Dále pak barvení, potiskování a dekorace výrobků určených pro styk s potravinami, kdy potištění může být pouze na plochách, které nepřichází do kontaktu s potravinou, a navíc nesmí být použity prostředky na základě sloučenin antimonu, arsenu, šestimocného chromu, kadmia, olova, rtuti a selenu [5].

Druhá část je poté zaměřena na hygienické požadavky na jednotlivé materiály, z nichž jsou vyrobeny výrobky určené pro styk s potravinami. Konkrétně jsou zde uvedeny požadavky na výrobky z plastů, elastomerů a materiálů na základě přírodního a syntetického kaučuku, požadavky na výrobky z kovových materiálů, výrobky ze silikátových materiálů, z papíru, kartonu a lepenky, požadavky na výrobky z celofánu a korku. Dále jsou zde uvedeny požadavky na povrchovou úpravu výrobků určených pro styk s potravinami, kdy tato úprava musí být souvislá, stejnoměrně nanesená a dobře lpící na výrobku [5].

Zákon č. 477/2001 Sb., Zákon o obalech, který se vztahuje na nakládání s obaly a odpady z obalů a stanovuje práva a povinnosti právnických i fyzických osob při uvádění obalů na trh, zpětném odběru obalů, označování, využití odpadu z obalů, ochranná a nápravná opatření [6].

Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1935/2004 o materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami. Cílem tohoto nařízení je chránit zdraví nás spotřebitelů, stanovení obecných pravidel pro obalové materiály a jiné předměty, které přicházejí přímo nebo nepřímo do styku s potravinami [7]. V tomto nařízení se vyskytují i aktivní a inteligentní materiály a předměty. Účelem aktivních látek je, aby se uvolňovaly do potravin nebo, aby docházelo pomocí aktivních látek k absorpci látek z potravin. Je brán zřetel na správný výrobní postup, aby nedocházelo k uvolňování látek do potravin v množství, které by nás, jako spotřebitele mohlo ohrozit. Nesmí docházet, díky použití těchto materiálů, ke změnám senzorických vlastností a také k maskování kazících procesů a jiných změn [8].

Nařízení komise (ES) č. 450/2009 o aktivních a inteligentních materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami. Zde uvedené nařízení jistým způsobem kooperuje s nařízením 1935/2004. Najdeme zde například podmínky pro zařazení látek na seznam, kdy musí být splněny i podmínky z nařízení 1935/2004. Daná látka, která se uvádí na seznam musí mít jisté nezbytné údaje, jako je například její funkce, identifikace nebo například její omezení. Můžeme zde najít i podmínky pro použití látek, které nejsou zařazeny na tento seznam [9].

2.3 Změny v potravinách během zpracování a skladování

Potraviny a obecně suroviny jsou neúdržné materiály. Podstatou zpracování a skladování potravin je vytvoření a udržení jejich nutriční a senzorické hodnoty ve stavu takovém, který spotřebitel očekává. Nejdůležitějším úkolem je zabránit tomu, aby nebylo ohroženo zdraví spotřebitele. Během celého cyklu zpracování podléhají potravinářské materiály různým změnám [10]:

2.3.1 Fyziologické změny

Nastávají u potravin během skladování a zpracování, a to nejběžněji u masa po porážce, ale také u čerstvého ovoce a zeleniny. Při běžném stavu probíhají fyziologické procesy organizovaně, avšak po přerušení rovnováhy dochází ke kumulaci reakčních produktů. Tyto reakční produkty nejsou dále metabolizovány. Nežádoucí změnou u ovoce či zeleniny je například poškození chladem, zatímco u masa se jedná o nesprávný průběh posmrtných změn po porážce. Tento nesprávný průběh může být zapříčiněn špatným zacházením se zvířetem, nebo také při nevhodném nakládání s masem po porážce [10].

2.3.2 Enzymové změny

K těmto změnám dochází při mechanickém narušení pletiva díky různorodým technologickým operacím například při krájení, loupání, lisování a taktéž při pomalém zmrazování, kdy dochází ke tvorbě velkých krystalů ledu a tím k porušení pletiv. Enzymové procesy jsou přerušeny inaktivací enzymů, které jsou přirozeně se vyskytující v dané surovině. K inaktivaci enzymů dochází nejčastěji záhřevem [10].

2.3.3 Chemické změny

Ke změnám potravin dochází při zpracování i skladování potravin, z toho důvodu je důležité dodržovat podmínky správného skladování, čistotu na pracovišti, vyškolené pracovníky a zajištění toho, aby nedocházelo k poškození obalů a následné kontaminaci potravin. K chemickým změnám dochází vzájemnými chemickými reakcemi jednotlivých složek potravin a také při reakcích s exogenními látkami, jako je například kyslík, aditivní látky, kontaminanty a ionty kovů. Exogenní látky se dostávají do potravin během jejich zpracování (reakce neenzymového hnědnutí, degradace aminokyselin, změny barvy) [10].

2.3.4 Mikrobiologické změny

Nejvýznamnější a zároveň nejméně bezpečné změny, z hlediska důsledků pro konzumenta, jsou právě zmíněné mikrobiologické změny. Za mikrobiologickými změnami stojí mikroorganismy, jako jsou bakterie, plísně a kvasinky. Součástí každého technologického zpracování je vždy konzervační zákrok (vhodně zvolený vzhledem k dané potravine), pro zastavení či zpomalení nežádoucího růstu mikroorganismů. Mikroorganismy mohou způsobovat změny senzorických vlastností potravin, snížení nutriční hodnoty, ale také mohou být původci alimentárních onemocnění a producenti toxických metabolitů, což může konzumentům způsobovat velké zdravotní potíže [10].

2.4 Tradiční obaly a jejich funkčnost

Obalové materiály a následné balení potravin hrají klíčovou roli pro zlepšení trvanlivosti potravin. Primární funkcí balení je tedy ochrana potravin, což umožňuje efektivní transport potravin v dodavatelském řetězci [11]. Obal potravině zajišťuje mnoho nezbytných funkcí jako například, že nedochází k jakémukoliv fyzickému poškození, ochrana před krádežemi a falšováním, dále udržení kvality potravin. Především je prioritní zajistit bezpečnost potravin, a to od počátku výroby až po konečnou spotřebu výrobku. Lépe řečeno je důležité zabránit nežádoucím fyzikálním, chemickým a biologickým změnám, které by vedly ke zkáze potravin [12]. Obal tedy působí nejen jako nádoba na potravinu, která umožňuje účinnou přepravu a manipulaci, ale slouží jako jistá bariéra pro ochranu potravin před vlivy prostředí. Mezi vlivy prostředí se řadí kyslík, vlhkost, světlo, prach, škůdci (hmyz a hlodavci), těkavé látky a také mikrobiologická kontaminace. Obaly nemají pouze ochranné a manipulační funkce, ale jedná se i o informativní a zároveň komunikační prostředek, který je důležitý pro spotřebitele, výrobce i jiné uživatele výrobků [12] [13].

Tradiční obaly poskytují potravinám pasivní ochranu, tím je myšlena ochrana výrobků před znečištěním a vlivy prostředí ovlivňující trvanlivost výrobků. Na trh se dostávají chytré obaly, které jsou inovací v obalových technologiích a obohacují tradiční obaly. Chytré obaly jsou budoucností obalových technologií, jejich hlavním principem je dodávat bezpečnější a kvalitnější výrobky, což je pro spotřebitele velmi přínosné. Chytré obaly pak lze rozdělit na obaly aktivní a inteligentní [14].

2.5 Aktivní obaly

Aktivní obaly jsou poměrně novým konceptem obalových materiálů. Principem aktivního balení je zvolení vhodného polymeru s vhodnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi a použití specifických látek, které můžeme vpravit do daného polymeru. Následně dochází k interakci potravin, obalu a prostředí pro zajištění bezpečnosti potravin, prodloužení životnosti a zanechání senzorických vlastností dané potravin. U tradičních obalů na rozdíl od aktivních obalů dochází k tomu, že obalový materiál je vůči balené potravine inertní. V dnešní době rapidně stoupá zájem spotřebitelů, aby organoleptické vlastnosti zakoupené potravin odpovídaly dané potravine dle očekávání spotřebitele a navíc, aby daná potravina byla, co nejčerstvější, zdravá a bez zbytečných konzervačních látek [15].

Jak již bylo řečeno, aktivní obaly interagují s danou potravinou a zajišťují potravine nejen prodloužení trvanlivosti, udržení kvality ale především bezpečnost potravin pro spotřebitele. Prodloužení životnosti je zajištěno pomocí začlenění aktivních materiálů. Aktivním materiálem mohou být antioxidanty nebo například antimikrobiální látky. Aktivní obaly přináší velmi pozitivní přínos i v oblasti odpadů. Používají se přírodní sloučeniny z odpadních materiálů, nebo vedlejší odpadní suroviny z výroby ke stálému zdokonalování obalových materiálů. Jako vedlejší odpadní suroviny se mohou používat například výtažky z mangové kůry nebo jádra, výlisky, odpad z krevet a další. Odpad ze zpracovaného ovoce a zeleniny lze považovat za zdroj antioxidantů a v některých případech také za zdroj antimikrobiálních látek. Tyto látky se mohou následně využívat při balení potravin a snížit tak používání syntetických konzervačních látek, které jsou spotřebitelem nechtěné. Využitím vedlejších produktů odpadu se vyřeší několik aspektů. Nadměrné plýtvání potravin, tím také zlepšení životního prostředí. V neposlední řadě ovoce a zelenina disponují velkým množstvím bioaktivních látek, které mají protinádorové, antivirové a antimikrobiální účinky [16].

2.5.1 Aktivní systémy balení

Aktivní systémy mohou používat sloučeniny, které jsou schopny absorbovat látky z vnitřní atmosféry obalu jako je kyslík, oxid uhličitý, ethylen, vlhkost, příchutě nebo pachy. Krom sloučenin, které jsou schopny absorbovat (absorbéry), mohou aktivní systémy obsahovat sloučeniny, které jsou schopny uvolňovat též emitovat (emitory). Rozeznáváme emitory oxidu uhličitého, antioxidantů, příchutí a antimikrobiálních látek, které zajišťují vhodné podmínky pro skladování potravin [17]. V neposlední řadě aktivní systémy mohou mít funkci adaptorů prostředí, což znamená, že neplní funkci absorbérů nebo emitorů, ale jejich funkce zajišťuje žádoucí chemické nebo biologické podmínky v zabaleném výrobku, a/nebo upravují stav mikrobiální populace v baleném výrobku či ve vnitřním prostředí obalu (např. přispívají ke snížení respirace nebo růstu mikroorganismů) [18].

2.5.1.1 Absorbéry kyslíku

Znehodnocení (kažení) potravin je ve většině případů způsobeno oxidací nebo napadením mikroorganismy, které jsou přítomné uvnitř potravinového obalu. K odstranění tohoto problému lze využít technologie balení v modifikované atmosféře. Kromě této technologie lze využít absorbéry kyslíku, které účinně zbavují potraviny od kyslíku, kdy zbytková koncentrace kyslíku v obalu je méně než 0,01 % [19]. Díky tomu dochází u potravin k co nejmenší ztrátě na kvalitě. Absorbéry mohou být aplikovány v podobě malých sáčků nebo mohou být aplikovány v podobě samolepicích štítků. Mezi látky, které absorbují kyslík, patří: železo (ve formě železného prášku, oxid železnatý, či železná sůl), kyselina askorbová, enzymy, soli, mastné kyseliny (kyselina olejová a kyselina linolenová), ale také například droždí. Činidla se mohou používat buď jednotlivě, nebo kombinací dvou a více činidel pro lepší účinnost. Absorbéry kyslíku jsou v dnešní době v potravinářském průmyslu hojně využívány. V balení potravin se používají především k zabránění nebo zpomalení snížení kvality potravin, v obalu zajišťují anaerobní podmínky a tím současně zabraňují růstu aerobních mikroorganismů, jako jsou například plísně [17].

2.5.1.2 Absorbéry vlhkosti

Vlhkost v potravinách způsobuje změny ve struktuře a vzhledu potravin. Se zvyšující se vlhkostí uvnitř obalu, jsou potraviny více náchylné k mikrobiálnímu kažení. Obsah vlhkosti a aktivita vody jsou faktory, které ovlivňují kvalitu a bezpečnost potravin. Pro zachování nezávadné a kvalitní potraviny se užívají absorbéry vlhkosti, které se používají nejen pro sušené potraviny, ale například u ovoce, zeleniny a baleného masa či ryb. Absorbéry vlhkosti se skládají ze dvou vrstev mikroporézního netkaného plastového filmu, kterým může být polyethylen nebo polypropylen. Mezi tyto dvě vrstvy je umístěn superabsorpční polymer, který dokáže absorbovat až pětiset násobek své hmotnosti. Typickými superabsorpčními polymery, které mají silnou afinitu k vodě, jsou polyakrylátové soli, karboxymethylcelulóza nebo kupříkladu škrobové kopolymery [11].

2.5.1.3 Absorbéry oxidu uhličitého

Nadměrné množství oxidu uhličitého může negativně ovlivnit chuť baleného výrobku. Absorbéry oxidu uhličitého jsou nejčastěji používány u pražených potravin, především u čerstvě pražené kávy. Při pražení kávy probíhá mnoho chemických reakcí a spolu s nimi také Streckerova degradace aminokyselin, při které dochází ke vzniku chuťových a vonných látek, ale také ke vzniku oxidu uhličitého [19]. Upražená káva i po zabalení stále produkuje oxid uhličitý, a to poměrně ve velkém množství. Proto kdyby byla káva zabalena do uzavřeného obalu, došlo by k následné explozi obalu. Naopak kdyby sáčky byly prodyšné nebo jistým způsobem otevřené, docházelo by k vytěkání požadovaných aromatických látek [20]. Z tohoto důvodu se používají zmíněné absorbéry oxidu uhličitého, které zabraňují tomu, aby nedošlo k poškození obalu a také aby nedošlo k negativnímu ovlivnění chuti kávy.

Absorbér je použit v podobě sáčku, který je vkládán volně do obalu. Aktivní látkou je tedy hydroxid vápenatý, který reaguje s oxidem uhličitým za vzniku uhličitanu vápenatého. Další možností odstranění oxidu uhličitého je užití aktivního uhlí [19].

2.5.1.4 Absorbéry ethylenu

Absorbéry ethylenu jsou využívány především při balení čerstvého ovoce a zeleniny, kdy jejich úkolem je snížit množství ethylenu na co nejmenší množství. Etylen je fytohormon, který nejen že iniciuje, ale také urychluje zrání ovoce a zeleniny, stárnutí pletiv a rozklad chlorofylu, navíc zkracuje dobu skladování těchto plodin. Absorbéry ethylenu mohou být v několika různých podobách. První variantou může být použití manganistanu draselného, který je ale bohužel toxický a z toho důvodu nemůže být aplikován do materiálu, který přijde do přímého styku s potravinou. Aby se tedy mohl manganistan draselný využít, je třeba aplikovat inertní látku s velkým povrchem, jako je například silikagel, oxid hlinitý, aktivní uhlí, perlit nebo vermikulit. Manganistanu draselného se přidává přibližně 4–6 %. Další variantou může být použití kovového katalyzátoru, jako je například palladium. Poslední systém pro odstranění ethylenu spočívá ve využití jemných minerálních látek, jako je pemza, zeolit nebo aktivní uhlí, které mají schopnost absorbovat ethylen. Tyto jemné minerální látky jsou vloženy do polyethylenových sáčků a následně přikládány k balení čerstvých plodin [17] [21].

2.5.1.5 Absorbéry zápachu a nežádoucích příchutí

Absorbéry zápachu a nežádoucích příchutí přispívají k senzoricky přijatelnějším potravinám pro nás jako spotřebitele. Tyto absorbéry jsou aplikovány pro odstranění aminů, které vznikají při oxidaci potravin bohatých na proteiny. Dále pro odstranění aldehydů, které vznikají oxidací mastných kyselin ve smažených produktech, cereáliích a také sušenkách. Dále také dochází k odstranění hořkých látek jako je například limonen, který najdeme v citrusových a obecně ovocných šťávách. Pachy lze vnímat již při nízkých koncentracích i za předpokladu, že je potravina stále bezpečná [11]. Aplikace těchto absorbérů v balení potravin je nižší oproti jiným absorbérům. Používají se především v balení s citrusovými šťávami. Důležitým požadavkem je, aby nedocházelo k překrývání chutí, či pachů, které probíhají spolu s kažením nebo jiným znehodnocením. Lze použít ty absorbéry, které vedou ke zlepšení kvality dané potraviny. Nejčastěji používanou aktivní látkou je triacetát celulózy, který je začleněn do obalového materiálu pomerančové šťávy. Díky této látce lze odstranit již zmíněný limonen, který je hořce chutnající složkou citrusových šťáv [21]. Nejznámějším komerčně dostupným absorbérem zápachu je Dri-Fresh® Fresh-Hold™. Nejčastěji jsou ve formě polštářků, kdy dochází k účinnému pohlcování zápachu. Polštářky nijak negativně neovlivňují potravinu, jsou odolné a velmi účinné při odstraňování zápachu. Další výhodou je, že mohou být začleněny prakticky do jakéhokoliv formátu balení. Kromě polštářků jsou dostupné také absorpční vložky, které působí nejen jako pohlcovače pachů, ale také vykazují antimikrobiální aktivitu, a to díky extraktům přírodního původu. Tyto extrakty obsahují velké množství prospěšných látek a jsou začleněny do této vložky. Jakmile dojde k aktivaci, která proběhne díky přítomné vlhkosti,

začnou tyto látky fungovat jako antioxidanty a antimikrobiální látky. Právě díky tomu dojde nejen k odstranění zápachu, ale také k eliminaci nežádoucích mikroorganismů [22].

2.5.1.6 Emitory oxidu uhličitého

Při nadměrném množství oxidu uhličitého v obalu, může být ovlivněna chuť výrobku. Oxid uhličitý má však i pozitivní vlastnosti, především kvůli své inhibiční aktivitě vůči aerobním bakteriím. V některých obalech jsou tedy jeho vysoké hladiny žádoucí, a to právě díky inhibici růstu mikroorganismů na povrchu potravin. Jedná se především o čerstvé potraviny jako je čerstvé maso, drůbež, ryby, sýry a jahody. Emitory oxidu uhličitého se tedy používají k prodloužení skladovatelnosti těchto čerstvých potravin, a navíc zajišťují inhibici mikroorganismů a tím i zdravotní nezávadnost potravin [23]. Emitory oxidu uhličitého jsou v praxi často kombinovány spolu s kyslíkovými absorbéry. Kyslík absorbovaný v obalu je vzápětí nahrazen stejným objemem oxidu uhličitého. Jeden z emitoreů je CO₂® Fresh Pads Emitter, tedy sáček, který obsahuje kyselinu citrónovou a hydrogen uhličitý sodný, což jsou látky, které v sáčcích oxid uhličitý vytvářejí. Tento sáček je umístěn mezi vrstvami absorpčního materiálu [24]. Dalším typem uspořádání obalu je Verifrais (od firmy SARL Codimer), kde je standardní podložka s falešně perforovaným dnem, kam je umístěn sáček obsahující hydrogen uhličitý sodný a askorbát sodný. Šťáva z čerstvé potraviny je uvolněna a odkapává na porézní sáček za současné emise oxidu uhličitého [25].

2.5.1.7 Emitory ethanolu

Emitory ethanolu jsou hojně využívány v Japonsku, a to především pro balení pečiva. Hlavním cílem emitoreů je zpomalit proces růstu plísní u pečiva a tím samozřejmě prodloužit jeho skladovatelnost. Nemusí se striktně jednat pouze o pečivo jako takové, ale také o produkty, jako jsou sušenky, pizza a další. Komerčně dostupný emitore ethanolu je Ethicarp, který se skládá z 55 % ethanolu a 10 % vody, které jsou adsorbovány na 35 % prášek oxidu křemičitého. Následně jsou naplněny do sáčku vyrobeného z laminové fólie z kopolymeru ethylen-vinylacetát (EVA). „Bylo zjištěno, že emitore ethanolu jsou schopny trvanlivost krájeného celozrnného žitného chleba, který byl balen do polyethylenu s vysokou hustotou, prodloužit z osmi na dvanáct až dvacet šest dní“ [26]. K eliminaci zápachu z alkoholu, je využívána vanilka nebo jiné požadované vůně. Dalším typem balení je užití sáčku, který vytváří ethanolové páry. Konzervační účinek ethanolu je považován za pozitivní vlastnost, avšak nevýhody spíše převažují. Při vyšších koncentracích ethanolu se tvoří nepříjemný zápach, pachut' a může docházet k absorpci ethanolu do potravin, což je ve většině případů nepřijatelné [17] [27].

2.5.1.8 Emitory oxidu siřičitého

Oxid siřičitý a některé jeho sloučeniny se používají jako konzervační prostředek, ale také slouží k inhibici reakcí enzymového a neenzymového hnědnutí a k bělení [28]. Emitory oxidu siřičitého se používají pro balení hroznů, aby se zabránilo napadení plísněmi. Emitorem mohou být polštářky, vyráběny společností QumicaOsku nebo plastové fólie od společnosti Food Science. Plastové fólie jsou vyráběny ze směsi organických kyselin a siřičitanu vápenatého. Z těchto fólií je následně uvolňován oxid siřičitý [29].

2.5.1.9 Antimikrobiální balení

Primární úlohou antimikrobiálního balení je inhibice růstu patogenních mikroorganismů. Tyto patogenní mikroorganismy jsou původci alimentárních onemocnění. Další funkcí těchto obalů je prodloužení trvanlivosti dané potraviny, což je u spotřebitelů žádoucí. K tvorbě antimikrobiálního balení je zapotřebí antimikrobiálního činidla. Tímto činidlem mohou být rostlinné extrakty, oleje, koření, organické kyseliny, antibiotika, ionty stříbra a další. Rozlišujeme několik způsobů přípravy antimikrobiálních balících fólií. Jedním z možných způsobů je vpravení sáčku, podložky nebo štítku obsahující antimikrobiální látky přímo do obalu. Antimikrobiální látka není v přímém kontaktu s potravinou, ale je stále součástí balení. Druhou možností je začlenění antimikrobiálních činidel během výroby daného obalu, to znamená, že antimikrobiální činidlo je začleněno do vícevrstvé struktury obalu. Dochází k tomu, že antimikrobiální činidlo se postupně uvolňuje z obalu k potravine nebo do prostoru kolem potraviny. Důležitou podmínkou pro antimikrobiální činidlo je, že nesmí být toxické. Poslední možností je začlenění antimikrobiálního činidla do jedlého filmu, který přichází do přímého kontaktu s potravinou. Z toho důvodu musí jedlý film splňovat jistá kritéria. Mělo by se jednat o bezbarvý materiál, bez chuti, zápachu, odolný vůči vlhkosti a uznávaný jako bezpečný, aby potravinu a nás jako spotřebitele nijak neohrožoval [30].

2.5.1.10 Antioxidační balení

Antioxidanty jsou látky prodlužující údržnost potravin. Znehodnocení potravin může způsobit několik faktorů, nejvýznamnější je napadení mikroorganismy, ale stejně důležité je věnovat pozornost oxidaci lipidů. Oxidace lipidů v potravinách způsobuje snížení trvanlivosti, změny chuti a/nebo zápachu, změnu textury a také snížení nutriční hodnoty potraviny. Této oxidaci můžeme zabránit dvěma způsoby. Prvním způsobem je použití kyslíkových absorbérů v obalu, nebo druhou možností je využití antioxidantů v balení. Používají se jak syntetické, tak přírodní antioxidanty, avšak v dnešní době se dává přednost spíše přírodním antioxidantům. Mezi syntetické monofenolové antioxidanty patří butylhydroxyanisol (BHA) a butylhydroxytoluen (BHT). Přírodní antioxidanty zahrnují různé byliny a koření, respektive výtažky nebo éterické oleje z těchto rostlin [31]. Výhodou zachycení antioxidantů v obalu oproti přímému přidávání k potravine je ta, že se může regulovat jejich postupné uvolňování. Pro zachycení se musí zvolit vhodný antioxidant, aby s obalovým

materiálem byli kompatibilní. V podstatě máme dva postupy k výrobě antioxidačních obalů. První z nich spočívá v přidání sáčku, podložky nebo štítku, které obsahují antioxidační látku a jsou odděleně od dané potraviny. Druhým postupem je vpravení antioxidační látky do stěn obalového materiálu [32].

2.6 Inteligentní obaly

Druhou skupinu chytrých obalů tvoří inteligentní obaly. Inteligentní obaly na rozdíl od aktivních obalů neslouží k prodloužení skladovatelnosti potravin. Jejich hlavní úlohou je především poskytování informací pomocí inteligentních funkcí, jako je detekce, snímání, záznam, sledování a komunikace. S těmito informacemi mohou nakládat všechny zúčastněné strany dodavatelského řetězce potravin, kam patří výrobci, obchodníci, a především my jako spotřebitelé. Inteligentní obaly lze například používat i ke kontrole účinnosti aktivních obalů, a navíc nám inteligentní obalové systémy poukazují na to, zda je potravina dostatečně čerstvá, nebo zda její trvanlivost již vypršela [33].

Dříve se koncept inteligentních obalů nezdál být příliš atraktivní, a to z toho důvodu, že nebyly tolik vyvinuty balící zařízení a počítačové sítě, vše bylo poměrně drahé a dosti omezené. Nástup výkonnějších a daleko dostupnějších technologií vedl také k rozkvětu inteligentních obalových systémů. Myšlenkou a záměrem kromě již uvedeného také bylo snížit plýtvání potravin, ke kterému v dnešní době dochází ve velkém množství [34].

Na základě funkce, složení, způsobu, jakým informují o vzniklé změně, množství a typu dat, jaké se mohou přenášet, a toho, jak jsou data zachycena a následně distribuována můžeme inteligentní obalové technologie rozdělit do tří hlavních kategorií [35]:

- datové nosiče
- senzory
- indikátory

2.6.1 Datové nosiče

Mezi nejčastěji používané datové nosiče patří štítky s čárovými nebo QR kódy a RFID (Radio Frequency Identification), česky identifikace na rádiové frekvenci. Funkcí těchto datových nosičů není pozorování kvality výrobků, ale postarat se o sledovatelnost, ochranu proti krádežím nebo paděláním [36].

2.6.1.1 Čárové kódy

Čárový kód můžeme definovat jako optický, strojově čitelný a graficky prezentovaný obraz souboru dat používaných k rozpoznání produktů [37]. Čárové kódy jsou nízkonákladové a jednoduše použitelné. Napomáhají v řízení dodavatelského řetězce a díky nim můžeme provádět evidenci zásob, zjišťovat kolik zboží bylo distribuováno a používat je k naskenování na pokladnách v obchodech. Kód je skenován pomocí laserového skeneru nebo například smartphonu. Čárové kódy mohou být rozděleny do dvou skupin na jednorozměrné a dvourozměrné, kdy jednotlivé typy se liší úložnou kapacitou [36] [37].

Jednorozměrný kód je generován pomocí rovnoběžných čar či lépe řečeno pruhů a mezer, které nabývají různých šířek. Různé uspořádání mezer a pruhů o různých šířkách poté vede ke specifickému kódování dat. Následně může být tento kód skenován pomocí laserového skeneru nebo například smartphonu, kteří dokáží příslušné informace z kódu získat [36].

Dvourozměrný kód je založený na maticovém kódu a je hojně využíván ve velké spoustě odvětví, mimo jiné i u potravin. Mezi dvourozměrné kódy patří QR kódy (quick response), které oproti těm jednorozměrným ukládají větší množství dat a poskytují nám rychlou odezvu. U QR kódů dochází ke kombinaci bodů nebo mezer, které jsou uspořádány do matice nebo pole čtvercového tvaru. Stejně jako u jednorozměrných kódů nám poskytují informace různé specializované skenery nebo smartphony [36] [37].

2.6.1.2 RFID

Radiofrekvenční identifikační systémy (RFID) jsou pokročilejší datové nosiče. Tyto systémy umožňují ukládání větších množství dat, a to konkrétně do jednoho MB. RFID shromažďují, ukládají a následně přenášejí dané informace v reálném čase do informačního systému uživatele [37]. RFID se skládá ze tří komponent. První částí je štítek, který je tvořen mikročipem a slouží pro ukládání informací. Druhou částí je čtečka, která vydává rádiové signály a přijímá odpovědi ze štítku, navíc slouží pro shromažďování informací. Poslední částí je software pro správu přijatých dat. Radiofrekvenční identifikační systémy, respektive dané štítky jsou oproti předešlým čárovým kódům dražší, a navíc vyžadují více výkonnou elektronickou informační síť. Tyto systémy se taktéž používají ve vícero odvětvích, důležité je vyzdvihnout především potravinářský průmysl. Tyto štítky mohou být připojeny k obalu, či paletě a na základě toho je lze monitorovat. Identifikují a umožňují sledovatelnost daného produktu v potravinovém řetězci, s tím souvisí i řízení zásob, a navíc podporují kvalitu a bezpečnost potravin [36]. V oblasti potravin dochází k neustálým pokrokům RFID štítků. Například RFID štítek se snímačem teploty, plynu, čtečkou a serverem, který poskytuje systém pro pozorování čerstvosti vepřového masa. Dalším příkladem je štítek se senzory, které jsou schopny měřit přítomnost těkavých aminových sloučenin, teplotu a vlhkost. Dalšími příklady jsou štítky se senzory na oxid uhličitý či kyslík pro sledování čerstvosti zeleniny. V neposlední řadě je důležitým pokrokem i systémové vyhodnocování čerstvosti baleného mléka v reálném čase [38].

2.6.2 Senzory

Senzor lze definovat jako zařízení sloužící k detekci, lokalizaci nebo kvantifikaci energie nebo hmoty poskytující signál pro detekci nebo měření fyzikálních nebo chemických vlastností, na které zařízení reaguje [39]. Senzor se skládá ze dvou součástí, receptoru a převodníku. Receptor slouží právě k detekci přítomnosti, aktivity, složení nebo i koncentraci dané chemické látky či fyzikálního analytu. Uvedená fyzikální či chemická informace je pomocí receptoru přeměněna na energii. Druhou částí, kterou je převodník, lze tuto energii měřit. Navíc převodník slouží k převodu měřeného signálu na analytický signál [36].

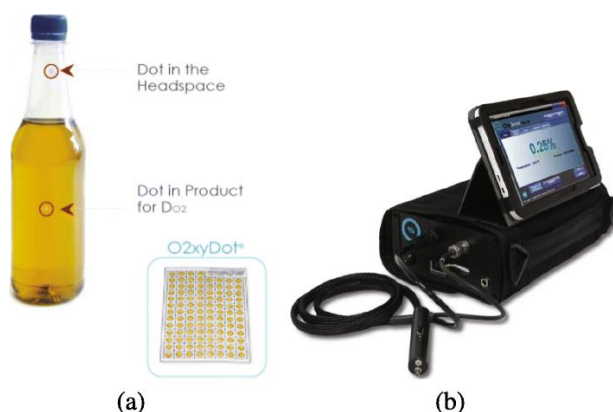
Pro vývoj inteligentních obalů jsou velmi přínosné malé chemické senzory, které jsou flexibilní a schopné monitorování těkavých organických sloučenin a také molekul plynů, jako například vodíku, amoniaku, oxidu uhličitého, kyslíku a dalších. Senzory jsou neustále vyvíjeny a je jistý předpoklad, že by mohly být alternativou k aktuálně používaným analytickým zařízením, jako je plynová chromatografie spolu s hmotnostní spektrometrií. Jak již bylo řečeno chemické senzory jsou stále zkoumány a vyvíjeny, a přestože jsou schopné detekovat určité množství sloučenin s vysokou citlivostí, mají i řadu nevýhod. Je snahou tyto nevýhody v průběhu vývoje minimalizovat a tím docílit, že se stanou skutečnou kvalitní alternativou, k již zmíněným analytickým metodám. Mezi nevýhody patří náročnost na energii, nedostatečná selektivita a nepřilíš tvárná struktura. Strukturou je myšlen fakt, že senzory nejsou příliš tvárné, nebo nemohou být dostatečně minimalizovány, aby mohly být začleněny do obalu potravin. Mezi nejpokročilejší technologie senzorů patří senzory plynů a biosenzory, které využívá inteligentní balení ke sledování kvality a bezpečnosti potravin [40].

2.6.2.1 Senzory plynů

Senzory plynů jsou zařízení, která monitorují, reverzibilně a kvantitativně mohou reagovat na přítomnost plynů v obalu změnou fyzikálních parametrů daného senzoru a následně dochází k zaznamenávání pomocí externího zařízení. Znehodnocení potravin lze určit dle koncentrace plynů například oxidu uhličitého či sulfanu [37].

Senzory oxidu uhličitého lze rozdělit na elektrochemické a optické, kdy záleží na typu převodníku. Elektrochemické potenciometrické senzory se díky své kompaktní struktuře, schopnosti nepřetržitého monitorování, vysoké selektivitě a nízkým nákladům řadí mezi nadějně metody pro měření oxidu uhličitého. Pro generaci signálu je však zapotřebí vysokých teplot dosahujících až 400 °C, a z toho důvodu nejsou vhodné pro balení potravin. Optické senzory oxidu uhličitého se dělí na dva typy. První typ funguje na základě kolorimetrické změny pH indikátoru a druhý typ funguje na principu změny fluorescence. Komerčně užívanými senzory oxidu uhličitého jsou senzory typu Severinghaus a nedistribuční infračervený senzor (NDIR). Tyto senzory slouží pro detekci plynného a rozpuštěného oxidu uhličitého. NDIR je velmi přesný, avšak má i své nevýhody. Jeho pořizovací cena je vysoká, je náchylný ke kontaminaci, rušení vodními parami a nabývá velkých objemů. Další podstatnou nevýhodou je, že pro měření oxidu uhličitého musí dojít k narušení obalu, což je nežádoucí [41].

Komerčně známým senzorem kyslíku je Oxy Dot (O2xyDot®), který je založen na bázi fluorescence. Tento senzor je upevněn z vnitřní strany v průhledné části obalu. Má tvar kulatého žlutého bodu, který nijak neovlivňuje senzoričké vlastnosti potraviny. Ke změření míry kyslíku je zapotřebí čtecí pero s optickým vláknem OxySense®, které obsahuje modrou světelnou diodu a fotodetektor. Při osvětlení daného bodu pulzním modrým světlem, dochází k tomu, že světlo je absorbováno bodem Oxy Dot, který následně vyzařuje červené světlo, a to je detekováno pomocí fotodetektoru. Fotodetektor umožňuje měření hladin kyslíku v obalu podle doby trvání fluorescence. Tento senzor se nejčastěji používá pro kontrolu kvality výrobků, kterými může být maso balené v upravené atmosféře nebo také častěji tekuté výrobky [42] [43].



Obrázek 1 Oxy Dot (O2xyDot®) a) senzor, b) přenosná optická čtečka [44]

2.6.2.2 Biosenzory

Biosenzory jsou zařízení používané k detekci, přenosu a záznamu informací, které se týkají biologických reakcí. Biosenzory se skládají z bioreceptoru, který rozpoznává cílový analyt. Druhou částí biosenzoru je převodník, který převádí biochemické signály na kvantifikovatelnou elektrickou odezvu. Bioreceptorem mohou být organické nebo biologické materiály, jako jsou enzymy, hormony, protilátky, či nukleové kyseliny. Převodníky mohou být elektrochemické, optické nebo akustické. Biosenzory jsou v literatuře řazeny mezi senzory, přestože nedochází ke kvantitativnímu měření dané veličiny, ale ke kvalitativnímu vyhodnocení nejčastěji pomocí změny barvy, z toho vyplývá, že se vlastně jedná o indikátor. V současné době existuje několik biosenzorů v potravinářském průmyslu, nejvíce jsou užívány v odvětví masa a ryb, které vcelku rychle podléhají zkáze. Jedním z biosenzorů je Food Sentinel System, za jehož vývojem stojí Společnost SIRA Technologies (USA). Uvedený biosenzor je nositelem specifických protilátek, které jsou připojené jako součást membrány, která tvoří biosenzor. Tyto membrány jsou připojené k čárovému kódu. V momentě, kdy se začnou vyskytovat patogenní bakterie, inkoust zabudovaný v biosenzoru začne zabarvovat tento čárový kód v podobě lokálních červených pruhů a tím bude znemožněno naskenování a přenos dat u daného výrobku. Funkcí zmíněného biosenzoru je tedy detekce patogenů v potravinách a tím i zajištění bezpečnosti

pro spotřebitele. Dalším komerčním biosenzorem je ToxinGuard® od firmy Toxin Alert v Kanadě, který taky pracuje jako vizuální systém, který detekuje patogeny nebo i jiné mikroorganismy, které nějakým způsobem kontaminují potraviny. Příkladem těchto kontaminantů je například *Salmonella*, *Listeria*, *Campylobacter* nebo *Escherichia coli* [39] [45].



Obrázek 2 Biosenzor Food Sentinel System od firmy SYRA. a) výrobek připraven ke konzumaci, b) výrobek již není určen ke spotřebě a je u něj znemožněno skenování [44]

2.6.3 Indikátory

Indikátory jsou v jistém slova smyslu zařízení, která ve srovnání se senzory nemohou poskytovat kvantitativní informace o veličinách, jako je koncentrace, či teplota. Poskytují kvalitativní a také často semikvantitativní informace, na základě reakce s vnitřními složkami potravy, metabolity vzniklé v prostoru obalu nebo s vnějšími faktory pomocí vizuální změny. Tato vizuální změna je okem zaznamatelná, a to v podobě změny barvy, či zvýšení intenzity dané barvy. Důležitým požadavkem, který je kladen na indikátor, je nevratnost změny barvy či intenzity barvy, a především informuje o dosažení koncentrace analytu, na kterou byl indikátor kalibrován. Při nedodržení tohoto požadavku by se ke spotřebitelům dostaly nepravdivé, či zavádějící informace, což je velmi nežádoucí. Indikátory lze vložit do obalu, nebo je lze připevnit na vnitřní nebo vnější stranu obalového materiálu [40] [46] [47].

Použití vizuálních indikátorů hraje také velkou roli pro předcházení plýtvání s potravinami. Tyto barevné štítky nás informují o aktuálním stavu balené potraviny, zatímco u normálních obyčejných obalů jsou přiřazena data, která najdeme na obalu často spojená se slovy: „minimální trvanlivost do“ nebo také „spotřebovat do“ a právě těmito daty se všechny strany obchodního řetězce řídí. Pokud dojde již po překročení uvedeného data spotřeby potravina je následně zlikvidována ať už spotřebitelem nebo obchodníkem. Potravina určená k likvidaci na základě uvedeného data spotřeby však může být nezávadná a stále ještě požitelná. Tímto způsobem dochází k masivnímu plýtvání potravin a zejména tyto barevné indikátory by mohly hrát zásadní roli v řešení této problematiky [48].

2.6.3.1 Indikátory času a teploty

Teplota je jeden z nejdůležitějších faktorů prostředí. Při kolísání teploty dochází ke zhoršování kvality a bezpečnosti potravin. Ztráta hygienických, výživových, senzorických vlastností potravin, či její znehodnocení závisí především na teplotě, ale samozřejmě i na čase. Z tohoto důvodu existují indikátory času a teploty, což jsou jednoduchá a levná zařízení připojená k přepravním kontejnerům nebo jednotlivým spotřebitelským balením. Indikátory monitorují a následně zaznamenávají čas, při kterém dochází ke kolísání teploty během putování potravin dodavatelským řetězcem. Dochází tedy k nepřetržitému sledování pomocí vizuálních změn. Indikátor je možné vložit přímo do balení, z toho důvodu je kladen požadavek, aby nevykazoval škodlivé účinky na zdraví i na životní prostředí [49] [50].

Indikátorů času a teploty, které se v současné době pohybují na trhu je vcelku dost. Například společnost 3M, která vyvinula indikátor teploty a času Monitor Mark, který slouží ke sledování podmínek skladování potravin, během jejich cesty v dodavatelském řetězci. Záznam je nevratný, poměrně dosti přesný a je snadno interpretovatelný. Dalším používaným indikátorem času a teploty je Fresh-Check® od společnosti Temptime Corporation. Jde o jednoduché samolepící zařízení, které je speciálně vyrobeno tak, aby odpovídalo trvanlivosti daného výrobku, ke kterému je připevněno. Jedná se o kruh, kdy v aktivním centru tohoto indikátoru dochází ke změně barvy, jak v průběhu času, ale také při vystavení různým teplotám. Dle zabarvení můžeme poznat, zda je potravina v pořádku nebo už není vhodná k použití. Indikátory času a teploty mohou být také integrovány spolu s RFID nebo čárovými kódy, kdy dochází k poskytnutí ještě kvalitnějších a plnohodnotnějších informací o produktu. Například FreshCode™ TTI Smart Barcode je jednorozměrný standardní čárový kód, který je tedy kódem, navíc také detekuje a zaznamenává zneužívání teploty v celém dodavatelském chladicím řetězci [49] [50].

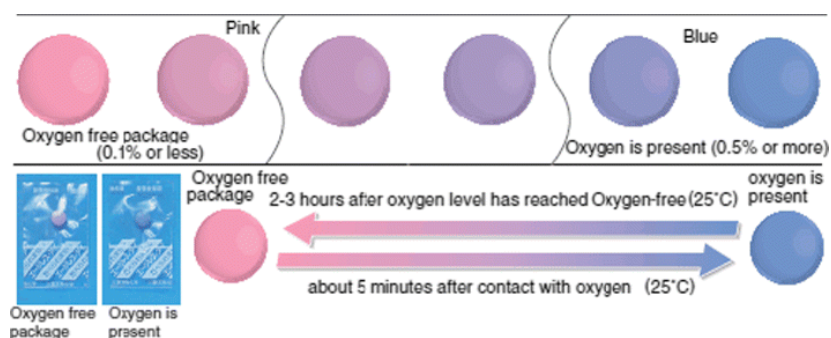


Obrázek 3 Indikátor času a teploty Fresh-Check®, kdy vlevo: potravina je v pořádku, uprostřed: potravina se musí, co nejrychleji spotřebovat, vpravo: potravina již není požitelná [51]

2.6.3.2 Indikátory plynů

Indikátory plynů jsou někdy také nazývány jako indikátory či ukazatele integrity. Integrita obalu je hlavní požadavek na udržení kvality a bezpečnosti potravin. Při porušení obalu, indikátory poskytují kvalitativní informace o změnách koncentrací plynů, jako je především kyslík a oxid uhličitý. Kvalitativní informace je poskytnuta pomocí vizuálních barevných změn [40]. Indikátory plynů nás však neinformují pouze o porušení či netěsnosti obalu, ale také o složení plynů v obalu, které se může měnit i díky jiným faktorům. Například záleží na podmínkách prostředí obalu, na povaze obalu, pokud je potravin znehodnocena mikroorganismy nebo nikoliv a na přenosu plynu obalovým materiálem. Indikátory plynů jsou součástí obalu a z toho důvodu jsou na něj kladeny jisté požadavky. Důležité je, aby tento indikátor nebyl rozpustný ve vodě a také aby nebyl toxický [45] [50].

Nejběžnějším indikátorem plynu je indikátor kyslíku. Většina potravin je balena s nízkým obsahem kyslíku, konkrétně se tato hladina kyslíku pohybuje mezi 0–2 %. Vysoké hladiny kyslíku nejsou žádoucí, protože kyslík zhoršuje kvalitu většiny potravin. Výjimkou je balení čerstvého masa, kdy je vyšší hladina kyslíku žádoucí kvůli zlepšení barvy masa. Indikátory kyslíku jsou kolorimetrické indikátory, které obsahují redoxní barvivo, čímž může být methylenová modř a silné redukční činidlo. Pokud je barvivo oxidováno kyslíkem dochází k barevné změně. Nevýhodou tohoto typu indikátoru je, že změna barvy je reverzibilní a vrací se do původní formy, pokud je snížena koncentrace kyslíku. Tento jev je nežádoucí při kontrole, či obal není porušen. Pokud obal je narušen, může docházet k tomu, že vstupující kyslík do obalu bude spotřebováván v důsledku mikrobiálního růstu, čímž může nastat situace, že nedojde ke změně barvy i přesto, že je obal narušen. Primární použití indikátorů kyslíku je spolu s absorberými kyslíku. Kombinací těchto dvou funkčních celků se docílí toho, že indikátor kyslíku nebude reagovat se zbytkovým kyslíkem uvnitř obalu. Velmi známé jsou tablety Ageless Eye® od firmy Mitsubishi Gas Chemical Company. Jedná se o reverzibilní indikátory kyslíku, které jsou v kombinaci s absorberými kyslíku. Při hladinách kyslíku $\leq 0,1\%$ je barva tablety růžová, při zvýšení koncentrace kyslíku na $\geq 0,5\%$ se barva mění na modrou [52] [53].



Obrázek 4 Pozorované změny barev u indikátoru kyslíku Ageless Eye® [44]

Dalším z ukazatelů pro hodnocení kvality a také bezpečnosti balené potraviny je oxid uhličitý. Po zabalení dané potraviny dochází v důsledku růstu mikrobů a plísní k produkci oxidu uhličitého. Jeho množství se odvíjí od typu balené potraviny, času a také teploty skladování. Zvýšená koncentrace oxidu uhličitého nám indikuje kažení dané potraviny. Indikátor oxidu uhličitého je stále ve fázi objevování, ale nyní se čím dál tím častěji objevuje ve spojitosti s balením potraviny Kimchi. Jedná se o fermentovanou potravinu, která se vyrábí přirozeným kvašením zeleniny. Při balení je Kimchi v nezralém stavu a po zabalení díky mikroorganismům v balení dochází k procesu fermentace, který probíhá při distribuci i při procesu skladování za vzniku oxidu uhličitého jako vedlejšího produktu. U takovéto potraviny nemá konečný zákazník informace o fázi zrání a má tendenci jíst potravinu ihned, i když potravina nemá ještě požadované sensorické vlastnosti, kterými má disponovat. Hlavními ukazateli kvality produktu jsou pH a kyselost. Optimální zralost nastává při pH 4,2–4,4 a při kyselosti 0,6–0,8 %. Při nedostatečné zralosti nebo naopak při přezrállosti může tato potravina vykazovat vyšší pH a nízkou kyselost nebo naopak příliš nízké pH a vysokou kyselost. Spotřebitel tedy nemá požadované informace o kvalitě produktu a optimální zralosti v reálném čase, a právě k tomu je nápomocen indikátor oxidu uhličitého, který je vyroben na bázi chitosanu. Oxid uhličitý, který je produkován mikroorganismy během procesu zrání činí chitosan rozpustným. Díky rozpouštění chitosanu při sníženém pH se z neprůhledného indikátoru stává průhledný a tím dochází k indikaci zralosti této potraviny [54] [49].

2.6.3.3 Indikátory čerstvosti

Indikátory čerstvosti jsou inteligentní zařízení, která kontrolují kvalitu potravin během přepravy a také následného skladování. Poskytují nám okamžité informace ohledně kvality daného produktu. Kvalita produktu vyplývá z mikrobiálního růstu, či chemických změn v produktu uvnitř obalu. Změny v potravinách nastávají nejčastěji nesprávným skladováním, kdy je produkt vystaven nevhodným podmínkám, nebo při překročení doby trvanlivosti [45]. Hlavní úlohou těchto indikátorů je tedy zachytit okamžik, kdy dochází k počátku znehodnocení daného produktu a tím i k jeho nepoživatelnosti. Indikátor je spolu s potravinou uvnitř obalu, je důležité, aby nebyl toxický a nijak potravinu neovlivňoval. V uzavřeném obalu dochází k tomu, že se po jisté době začne potravina kazit v důsledku mikrobiologických metabolitů či chemických změn. Metabolitem, který indikuje, že se s potravinou něco děje může být ethanol, těkavé sloučeniny dusíku, oxid uhličitý, biogenní aminy, sloučeniny síry a organické kyseliny. V průběhu času dochází ke změně pH v prostoru obalu díky vznikajícím metabolitům, či přidavkem jiných faktorů. Právě nárůst pH lze detekovat pomocí indikátoru, kdy klíčovým prvkem tohoto indikátoru je příslušné barvivo, které na základě změny pH, mění svoji barvu. Změnu barvy lze pozorovat pouhým okem, což může obeznámit účastníky obchodního řetězce, o čerstvosti nebo naopak o nepoživatelnosti dané potraviny, což je především u spotřebitelů velmi žádoucí. Jedním ze sektorů, kde mohou být indikátory čerstvosti hojně využívány, jsou v balení potravin bohatých na bílkoviny, čímž může být například maso, také ryby a mořské plody [36] [55].

Vlastnosti masa a jeho kažení způsobené mikroorganismy

Je důležité mít na paměti, že prvořadým bodem je zajistit bezpečnou potravinu, aby nijak neohrozila zdraví spotřebitele. Udržet maso, jako čerstvou potravinu v delším časovém intervalu je velmi náročnou disciplínou. Maso jako takové je zdrojem plnohodnotných bílkovin, ale také zdrojem tuků, minerálních látek a vitamínů. Mimo jiné maso obsahuje poměrně velké procento vody. Voda v potravinách představuje důležité reakční prostředí, a navíc výrazně ovlivňuje senzorycké vlastnosti masa. Obsah vody v mase kolísá dle anatomického původu, druhu, plemene, stáří, krmení a životních podmínek zvířete v rozmezí 46–78 % [56]. Pro mikroorganismy, které vodu ke svému životu potřebují, je důležité, zda je voda v potravine pro ně dosažitelná. Pro takovou vodu, která není vázaná a je k dispozici daným mikroorganismům byl zaveden termín aktivita vody. Obecně platí, že aktivita vody je určujícím faktorem, jestli v potravine může, či naopak nemůže dojít k pomnožení mikroorganismů. Jinak řečeno je aktivita vody faktorem, který nám určuje trvanlivost potravin. Aktivita vody ovlivňuje především mikrobiální změny, mimo jiné může také ovlivňovat rychlost enzymových a neenzymových reakcí a také souvisí s organoleptickými vlastnostmi daného produktu. Aktivita vody v mase dosahuje vysokých hodnot a díky tomu se maso řadí mezi potraviny velmi vlhké. Z tohoto důvodu je maso, kam spadají také ryby či mořské plody, obecně velmi náchylnou skupinou potravin k mikrobiální kontaminaci. Kromě aktivity vody jsou i další známé faktory, které ovlivňují růst mikroorganismů. Těmito faktory je dostupnost živin, teplota, čas, pH potraviny a také přístup vzduchu. Při nevhodných podmínkách skladování může ke znehodnocení produktu dojít ještě dříve než v předpokládaném čase [57] [58].

Kažení masa způsobené mikroorganismy může probíhat od povrchu do středu, což je častější případ nebo naopak od středu především v blízkosti kostí. Kažení masa může způsobovat řada mikroorganismů, kdy nejvíce známé jsou především bakterie rodu *Pseudomonas*, ale také *Acinetobacter-Moraxella*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* a *Bacillus*. Mikroorganismy se díky dobrému živnému prostředí, které jim maso dopřává mohou množit a díky svým proteolytickým a lipolytickým enzymům štěpí bílkoviny a tuky v mase. Proces kažení je doprovázen senzoryckými a také barevnými změnami dle mikrobiálního osídlení, které maso kontaminuje a také dle podmínek při kterých je potravina skladována. Dochází k povrchovému oslznutí masa, k tvorbě barevných skvrn a následně také k tvorbě intenzivního zápachu, který způsobuje především amoniak, sirovodík, methylmerkaptan, dimethylamin a trimethylamin. Nejen že vzniklé látky způsobují intenzivní zápach, ale díky nim dochází k nárůstu pH u kazícího masa. Tyto zmíněné látky vznikají právě rozkladem dusíkatých látek a jsou velmi senzorycky negativním a mnohdy i škodlivým faktorem pro spotřebitele. Popsané změny, které na mase můžeme pozorovat ať už se jedná o změny viditelné nebo pachové vznikají v důsledku mikrobiální aktivity a jejich počátek je zpozorován při počtu bakterií okolo 10^7 až 10^8 KJT·cm⁻² [59] [60]. Jak již bylo zmíněno teplota a také čas jsou dalšími důležitými faktory, které ovlivňují maso. Kombinací těchto faktorů, můžeme potravinu udržet déle čerstvou nebo naopak může dojít k rychlejší zkáze při nedodržení podmínek skladování. U masa platí, že čím nižší teplota je použita, tím delší je údržnost masa. Je potřeba dbát na to, že při teplotě od $-1,5$ °C začíná maso mrznout, takže teplota nesmí klesnout pod tuto hranici, pokud se jedná o maso chlazené. V Tabulce 1 a v Tabulce 2 můžeme

pozorovat rozdílné hodnoty $KTJ \cdot cm^{-2}$, v závislosti na různých teplotách, také v závislosti na počtu dní u drůbežího (Tabulka 1) a červeného masa (Tabulka 2) [61] [62].

Tabulka 1 Předpokládaný růst [$\log_{10} KTJ \cdot cm^{-2}$] pseudomonád u drůbežího masa skladovaného aerobně při různých teplotách a počtech dní [62]

Počet dní	Teplota skladování [°C]						
	1	2	3	4	5	6	7
-							
1	0,8	1,0	1,1	1,2	1,4	1,6	1,8
4	3,4	3,8	4,4	5,0	5,7	6,4	7,3
6	5,0	5,8	6,6	7,5	8,5	9,5	9,5
8	6,7	7,7	8,8	9,5	9,5	9,5	9,5
10	8,4	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5
12	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5

Tabulka 2 Předpokládaný růst [$\log_{10} KTJ \cdot cm^{-2}$] pseudomonád u červeného masa skladovaného aerobně při různých teplotách a počtech dní [62]

Počet dní	Teplota skladování [°C]						
	1	2	3	4	5	6	7
-							
1	0,4	0,5	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
4	1,6	1,8	2,1	2,4	2,7	3,1	3,5
6	2,4	2,8	3,2	3,6	4,1	4,6	5,2
8	3,2	3,7	4,2	4,8	5,5	6,2	7,0
10	4,0	4,6	5,3	6,0	6,8	7,7	8,7
12	4,8	5,5	6,3	7,2	8,2	9,3	9,5

Amoniak

Amoniak je v čistém stavu za normálních podmínek v podobě bezbarvého plynu s typickým štiplavým zápachem. Jedná se o látku zásadité povahy, která má dobrou rozpustnost ve vodě a je lehčí než vzduch. Amoniak je používán především k výrobě kyseliny dusičné, průmyslových hnojiv, výbušnin, farmaceutických výrobků a některých pesticidů. Amoniak představuje pro člověka vcelku velké riziko, ovšem záleží na daném množství amoniaku. Při vystavení člověka nadměrnému množství plynného amoniaku může být dokonce až smrtící. Vystavení mírnému až střednímu množství amoniaku v krátkodobém intervalu může způsobit podráždění kůže, sliznic, očí, a navíc může způsobovat kašel a jiné dýchací obtíže. Mimo jiné může způsobit gastrointestinální potíže, bolest hlavy a také závratě. V běžném prostředí je koncentrace amoniaku vcelku nízká, a proto nepředstavuje takové riziko, co se dýchacích potíží týče. Ovšem při konzumaci kazícího se masa se spotřebitel téměř nikdy nevyhne gastrointestinálním potížím, které se mohou projevat zvracením, průjmami a dalšími obtížemi

[63] [64]. Amoniak je významným ukazatelem čerstvosti masa a na základě jeho obsahu v mase můžeme určit, zda je potravina stále čerstvá, nebo již není požitelná. Se zvyšujícím obsahem amoniaku se potravina stává nežádoucí, a to nejen z hlediska jakosti potravin, ale i z hlediska zdravotní nezávadnosti potravin [65]. V Tabulce 3 můžeme pozorovat jednotlivé kategorie dle čerstvosti masa rozdělené na základě obsahu amoniaku.

Tabulka 3 Kategorie čerstvosti rozdělené na základě obsahu amoniaku [65]

Maso	Obsah amoniaku [mg·kg ⁻¹]
Čerstvé	120–170
Dosud nezávadné	170–250
Podezřelé	260–300
Začínající rozklad	310–350
Zkažené	nad 360

pH indikátory

Tvorbou pH indikátorů bylo docíleno mnoho pozitiv ve spoustě oblastí. První skvělou výhodou je, že dokáží ihned vizuálně tedy jednoduše informovat zákazníky o čerstvosti, a tedy i bezpečnosti potravin. Druhým pozitivem je, že se nemusí používat pouze mnohdy složité analytické techniky. Třetí výhodou je i redukce odpadů, protože se omezují plasty a je snahou je nahradit biodegradabilním materiálem na bázi polysacharidů a proteinů. Navíc se využívá odpadních materiálů, jako jsou například schránky živočichů, z kterých se získává chitin, či slupky z ovoce obsahující antioxidanty. Pozitiv je celá řada a stále jsou tyto pH senzory předmětem zkoumání [66].

Konstrukce balení s pH indikátorem je vcelku jednoduchá. Kolorimetrický indikátor je nedestruktivní a schopný měnit svoji barvu na základě reakce s těkavými sloučeninami, tedy i amoniakem, které vznikají v balení masa, jak již bylo řečeno. Dochází tedy k vybarvení indikátoru, na základě čehož spotřebitel pozná čerstvost dané potravin [58]. Většinou je indikátor integrován do struktur balení potravin pro sledování daných změn. Jako barvivo se používají syntetická i přírodní barviva. Jako zástupci syntetických acidobazických indikátorů jsou například alizarin, bromkresolová zeleň, methylenová červeň a bromthymolová modř. Syntetická barviva se stále používají, ale v poslední době se od nich ustupuje a preferují se především přírodní barviva, jako jsou anthokyany či například kurkumin, které na rozdíl od syntetických barviv nemají škodlivé účinky na životní prostředí a na lidské zdraví. Pro tvorbu obalu se využívají přírodní polymery z rostlin, živočichů a různých mikroorganismů, které jsou biologicky rozložitelné. Příkladem nejčastěji používaných polymerů je například škrob, chitosan či želatina. Díky jednoduchým úpravám, lze docílit

tvorby tenkých filmů, které jsou pružné, průhledné, a navíc umožňují i zabudování specifických látek, jako jsou například barviva anthokyany [67]. U balení masa do obalů na bázi přírodních polymerů s barevným indikátorem může nastat jeden velký problém, kterému je třeba se vyvarovat. Obal s masem má poměrně vysokou relativní vlhkost, což může způsobit, že hydrofilní polymer bude absorbovat vodu z vnitřního prostředí obalu, a tím může dojít k vyluhování barevných pigmentů z filmu. Tento problém by vedl k neřízenému a nepředvídatelnému kolísání obsahu pigmentu, a tím i k velkému ovlivnění vizualizace. Z toho důvodu je třeba tomuto problému předcházet [68].

Inteligentní balení spolu s indikátory čerstvosti jsou v neustálém vývoji, i když bylo popsáno několik těchto systémů, ve většině případů jejich komercializace je poměrně dosti vzácná. Příkladem takového indikátoru je například SensorQ™, který slouží jako pH indikátor za pomoci anthokyanů jako použitého barviva. Tento indikátor, který můžeme vidět na Obrázku 5, umí indikovat tvorbu biogenních aminů, které jsou mikrobiologického původu. Použití indikátoru je především pro balení čerstvých ryb a také masa. Pokud je balená potravina čerstvá, indikátor má oranžovou barvu. Ovšem pokud je potravina již zkažená, příčinou navýšení počtu bakterií uvnitř balení, indikátor se zbarví zeleně [38] [47].



Obrázek 5 SensorQ a viditelnost barev pro určení čerstvosti dané potraviny [69]

Byl publikován experiment na výrobu filmu citlivého na pH. Tento film byl úspěšně vyroben použitím kukuřičného škrobu, želatiny a anthokyanů izolovaných z červených ředkviček. Mimo tyto hlavní komponenty byl také přidán glycerol jako změkčovač. Změna barev filmů byla pozorována na různé pH v rozmezí od 2–12, kdy změna barev byla oranžová, přes růžovou a modrou až po žlutou barvu. Byla hodnocena barevná stabilita vyrobených filmů a také jejich barevná odezva. Vyrobený film, který vykazoval citlivost na pH byl aplikován pro sledování kažení krevety a kuřecího masa. Vzorky o hmotnosti 10 g byly přeneseny do plastových Petriho misek a film citlivý na pH byl připojen na horní část této Petriho misky. Experiment byl proveden po dobu 48 hodin při třech různých teplotách: pokojová (30 °C), teplota chlazení (4 °C) a teplota mrazu (0 °C). Dle výsledků studie bylo zjištěno, že barevná stabilita filmů při teplotě chlazení byla vyšší než u filmů s pokojovou teplotou. U vzorků v důsledku změn vznikaly dusíkaté látky, které souvisí se znehodnocením potravin bílkovinné povahy. Díky vznikajícím dusíkatým látkám, docházelo ke změně pH, což se projevilo změnou barvy. U vzorků krevet docházelo k barevným změnám dříve než u vzorků kuřecího masa. Z čehož

vyplývá, že ryby obecně podléhají zkáze dříve než maso. K největším změnám docházelo především u vzorků s pokojovou teplotou. Připravené filmy byly velmi stabilní, měly dobré mechanické vlastnosti a barevná odezva vykazovala dobrou přesnost. Vyrobené filmy citlivé na pH díky svým pozitivním vlastnostem mohou být v budoucnu uplatněny při sledování znehodnocení masa v potravinářském průmyslu [70].

Dle jiné studie byly připraveny filmy citlivé na pH, které obsahovaly kurkumin a anthokyany pro snímání čerstvosti ryb v reálném čase. Anthokyany byly izolovány z fialových sladkých brambor, zatímco kurkumin byl zakoupen. Kurkumin a anthokyany byly úspěšně imobilizovány do filmu, který byl vyroben ze škrobu, polyvinylalkoholu a také glycerolu. Filmotvorný roztok byl připraven z 2 % škrobu a 1 % polyvinylalkoholu, následně byl zahříván a míchán ve vroucí lázni do úplného rozpuštění a poté byl přidán 1 % roztok glycerolu. Barviva byla připravena následujícím způsobem a to $1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$, jak kurkuminu, tak anthokyanů v rozpouštědle, kterým byl okyselený ethanol. Tento okyselený ethanol se připravil smícháním ethanolu a $1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ kyseliny octové v poměru 17:3. Při začlenění barviv nedošlo ke změnám vlastností daného filmu, neměly vliv na obsah vlhkosti, rozpustnost ve vodě a ani na propustnost vodní páry, což je pozitivní výsledek. Při srovnání s vyrobeným kolorimetrickým filmem bez přídavku glycerolu, bylo zjištěno, že tento film je méně citlivý na těkavý amoniak, který se uvolňuje z ryb při procesu kažení, což je velmi nežádoucí, a proto je přídavek glycerolu chtěným komponentem. Zmíněná barevná reakce na těkavý amoniak byla zkoumána tak, že byly připraveny proužky filmů a byly zavěšeny do lahve o objemu 500 ml, a to 1 cm nad $0,008 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztok amoniaku při pokojové teplotě. Filmy s přírodními barvivy byly aplikovány na Kapra obecného při teplotě $4 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu deseti dnů a to tak, že vyrobený film byl vložen do polyethylentereftalátových táček tak, že nebyl v přímém kontaktu s rybou. Kurkumin vykazoval barevné variace, kdy při pH nižším, než osm byla barva žlutá, okolo pH 8 byla barva světle žlutá a v rozpětí pH mezi 9–11 byla barva červenohnědá. U anthokyanů bylo pozorováno barevné rozpětí při pH 5–6 byla barva růžovofialová při pH 7 fialová, při pH 8–9 modrá a při pH 10–11 zelená. Byly použity i směsi těchto dvou barviv v poměru 2:8, či 8:2. Smísením barevných indikátorů byl docílen větší rozsah barevných variací, který ne vždy může být přínosný. Kurkumin zabudován do filmu měl lepší barevnou stabilitu než anthokyany. Vzorky kapra byly čerstvé v den 0–2 (obsah celkového těkavého dusíku byl menší než $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), pak se staly středně čerstvými s obsahem celkového těkavého dusíku pod $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, což je horní hranice přijatelnosti pro sladkovodní ryby a v 8. den byl obsah celkového těkavého dusíku větší než $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, což naznačuje, že došlo k výraznému zhoršení kvality a kapr se stal zkaženým a tím i zároveň nepoživatelným. Tento typ filmu je tedy na základě této studie vhodný pro použití ke sledování čerstvosti ryb v reálném čase a je velmi pozitivním přínosem v problematice inteligentního balení [71].

Autoři další studie připravili film citlivý na pH pomocí chitosanu a extraktu z arónie respektive z výlisků, což je zbytkový materiál po lisování šťávy. Čisté chitosanové filmy při pH 2 a při pH 4 byly po 24 hodinách zcela rozpuštěny naopak při pH větším než 6 k rozpuštění nedochází. Vzorky obsahující extrakt z arónie si zachovaly integritu i při kyselém pH a při vyšším množství extraktu byla pozorována vyšší odolnost vůči vodě, nedocházelo k bobtnání chitosanu a také byla snížena migrace barviv a tím docházelo k vyšší neprůhlednosti vrstev. Navíc barvivo

v chitosanu velmi dobře reagovalo na změnu pH a vykazovalo změnu barev v rozpětí pH od 1–10. Připravené filmy s extraktem z ovocných výlisků disponují vyšší pevností, ale naopak nižší pružností. Tato práce je dobrým podkladem k dalšímu zkoumání [72].

2.7 Jedlé filmy a povlaky

Jedlé filmy a povlaky jsou velkým přínosem. Napomáhají ke zlepšení kvality, bezpečnosti a funkčnosti potravin. Mají několik možností použití, mohou být použity jako jednotlivé obalové materiály, potahové materiály, nosiče účinných látek, či pro separaci jednotlivých oddílů heterogenních složek. Účinnost a funkční vlastnost filmů či povlaků je závislá na vlastnostech biopolymerů z kterých jsou vyrobeny. Biopolymery, které se využívají na výrobu těchto filmů a povlaků mohou být sacharidy, proteiny a lipidy. Filmy mohou tvořit různé sáčky, balíčky, kapsle, střívka a další možné obaly. Povlaky jsou jistá forma filmů, které se přímo nanášejí na povrch potravin v kapalné formě a poté se nechají zaschnout. Tyto filmy musí být vyrobeny z bezpečných látek, které nijak negativně neovlivní zdraví spotřebitelů. Výhodou je, že jsou biologicky odbouratelné, to znamená, že nejsou pouze přínosem v potravinách, ale také jsou šetrné k životnímu prostředí. Jedlé obaly se používají ke zlepšení mechanických vlastností potravin, k minimalizaci dýchání u ovoce a zeleniny a omezení pohybu vlhkosti a plynů. V neposlední řadě potravině poskytují antimikrobiální nebo často také antioxidační vlastnosti, a navíc také mohou zlepšit senzorické vlastnosti či prodloužit trvanlivost [73] [74].

Jak již bylo zmíněno v předešlém odstavci na výrobu filmů se používají biopolymery nejčastěji na bázi polysacharidů, ale také proteinů. Jejich výhodou je, že nejsou toxické, vcelku dostupné, za rozumnou cenu, a navíc nezatěžují životní prostředí. Filmy mohou být vyrobeny čistě z jednoho polymeru nebo v kombinaci dvou, či více polymerů. Jedná se například o želatinu, škrob, celulózu a také chitosan [75]. V experimentální části této práce je používán již zmíněný chitosan.

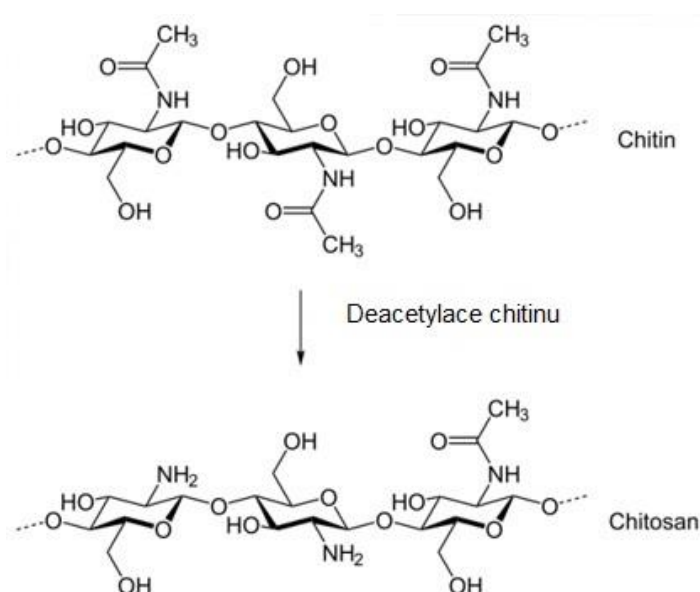
2.7.1 Chitosan

Chitosan je polysacharid, který je odvozený od chitinu. Chitin je přirozeně se vyskytující biopolymer a hned po celulóze je druhým nejčastěji se vyskytujícím přírodním polymerem na Zemi. Vyskytuje se především v živočišné sféře, jako stavební polysacharid exoskeletu (schránek) korýšů, hmyzu a dalších živočichů. Dále se chitin může nacházet i v některých řasách, buněčných stěnách hub, kvasinkách či v některých bakteriích [28].

Chitosan používaný v průmyslových nebo výzkumných aplikacích se z chitinu získává deacetylací. Deacetylace chitinu se provádí buď chemicky za alkalických podmínek nebo enzymaticky v přítomnosti enzymu chitin deacetylázy [76].

Chitosan je poměrně snadno rozpustný ve zředěných kyselých roztocích pod pH 6. Přítomnost aminoskupin ovlivňuje vlastnosti chitosanu. Při nízkých pH se tyto amino skupiny protonují

a stávají se pozitivně nabitými a díky tomu se z chitosanu stává ve vodě rozpustný kationtový polyelektrolyt. Naopak pokud se pH zvýší nad 6, amino skupiny se deprotonují a polymer přichází o svůj náboj a stává se nerozpustným [77]. Vlastnosti chitosanu jsou dále ovlivněny molekulovou hmotností, která je v rozmezí od 2 do více než 200 kDa. Dále jsou vlastnosti chitosanu ovlivněny stupněm deacetylace. Pokud je stupeň deacetylace vyšší než 55 %, chitosan se rozpustí v 1 % kyselině octové nebo chlorovodíkové [78]. Chitosan je biologicky odbouratelný, netoxický, hojně se vyskytující biopolymer s přirozeným původem. Díky těmto pozitivním vlastnostem má chitosan velkou škálu použití v různých odvětvích. Používá se v medicíně, potravinách, kosmetice, výživě a dalších oblastech [76]. Struktury obou těchto polymerů jsou znázorněny na Obrázku 6.



Obrázek 6 Deacetylace chitinu na chitosan [79]

Chitosan působí jako chelatační činidlo, což znamená, že dokáže vázat stopové kovy a tvoří s nimi komplexy. Je dokázáno, že vykazuje antioxidační účinky a také antimikrobiální aktivitu vůči patogenním nebo jakkoliv znehodnocujícím mikroorganismům při pH menším než 6. Mezi tyto mikroorganismy patří grampozitivní a gramnegativní bakterie, dále také kvasinky a plísně. Přesný mechanismus antimikrobiální aktivity není přesně znám, ale uvažuje se nad dvěma předpoklady. Prvním předpokladem je, že kladně nabitě amino skupiny přítomné v chitosanu interagují s negativně nabitými složkami buněčné membrány, jako jsou fosforylové skupiny. Zde uvedená interakce ovlivňuje propustnost a integritu membrány, transport živin. Tato interakce vede k narušení funkcí a následně k buněčné smrti mikroorganismu. Druhým předpokladem je, že dochází k interakci chitosanu s buněčnou DNA mikroorganismu, čímž se také zabrání probíhajícím dějům jako je transkripce DNA, translace RNA, či syntéza proteinů [80].

Když pomineme použití chitosanu v medicíně, kde má velké úspěchy, tak i v potravinách má slibné aplikace, a to v podobě jedlých filmových povlaků na potraviny. Nejen, že slouží jako bariéra před vnějšími vlivy, což koneckonců zajišťuje i tradiční obal, ale navíc může být chitosan použit jako nosič aktivních látek. Aktivními látkami mohou být barviva, konzervanty, či příchutě. Mimo jiné může výrazně prodlužovat trvanlivost balených potravin. Obaly vyráběné spolu s kyselinou octovou mají vyšší pevnost, zatímco při použití kyseliny citrónové, či jablečné se pevnost snižuje. Pro lepší pružnost těchto filmů je výhodné přidávat glycerol, či sorbitol, jako změkčovač. Je dokázáno, že tyto jedlé filmy na bázi chitosanu prodlužují trvanlivost ovoci a zelenině. Účinné byly tyto filmy i u masa, jak celistvého, tak mletého a také u ryb, které jsou považovány za nejvíce náchylnou potravinu na mikrobiální kontaminaci [78].

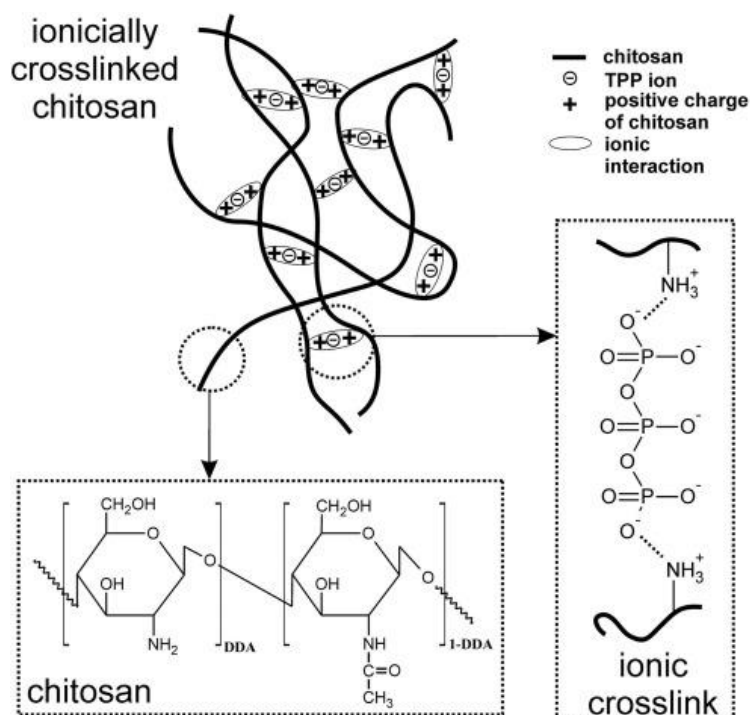
2.7.1.1 Sít'ování chitosanu a příslušná sít'ovací činidla

Ačkoliv je chitosan považován za velmi slibný polymer ve vícero odvětvích, bohužel má i určité nevýhody. Jednou z nevýhod je jeho poměrně vysoká rozpustnost ve vodě. Chitosanové filmy vodu absorbují a následně křehnou a bobtnají. To je velmi nežádoucí efekt, a proto v takové formě nemohou být použity jako balící prostředek pro potraviny. Účinnou metodou pro zlepšení vlastností těchto fólií je úprava zesílením. Sít'ováním chitosanu dochází ke zlepšení jeho mechanických vlastností a zvyšování odolnosti vůči vodě. Probíhá pomocí sít'ovacích činidel. Dle typu daného sít'ovacího činidla může proces zesílení probíhat pomocí kovalentních, iontových vazeb nebo slabších vazebných interakcí, například Van der Waalsovy síly [81].

Kovalentní zesílení vede k tvorbě velmi stabilních kovalentních vazeb mezi sít'ovacím činidlem a řetězci polysacharidu. Kovalentním sít'ovacím činidlem může být jakákoliv sloučenina, která má alespoň dvě funkční skupiny schopné kondenzační reakce s polymerem. Kovalentní zesílení chitosanu je nevratná reakce, navíc zesílený chitosan je stabilní ve velmi kyselém prostředí při pH 1. Nejběžnějším kovalentním sít'ovacím činidlem je glutaraldehyd, kdy jeho aldehydové skupiny reagují s primárními aminoskupinami v chitosanu, čímž jsou vytvořeny Shiffovy báze. Pro možné způsobení nežádoucích účinků na naše tělo není příliš vhodný pro výrobu potravinových filmů. Mezi další sít'ovací činidla patří taky epichlorhydrin nebo také ethylen glykol diglycidyl ether, což jsou sloučeniny obsahující epoxidové skupiny. Při zesílení dochází k rozrušení epoxidového kruhu a následně ke kondenzační reakci, která probíhá s hydroxylovými skupinami chitosanu [82]. Dalším sít'ovacím činidlem je také kyselina citrónová, kdy díky přítomnosti více funkčních skupin, je umožněna vazba s různými biomolekulami a následně tak dochází ke kontrolovatelnému získání stupně zesílení. Kyselina citrónová umožňuje zesílení nejen polysacharidů, ale také proteinů v různých formách. Navíc je prokázáno, že kyselina citrónová, která je použita jako sít'ovací činidlo může zlepšit nejen mechanické vlastnosti, ale také stabilitu vody [83]. Jako kovalentní sít'ovací činidlo lze užít například i vanilin, který je účinným sít'ovacím činidlem, a navíc není toxický, což je při tvorbě filmů, které jdou do kontaktu s potravinou zásadní [84].

Iontové zesílení vede k tvorbě iontových vazeb mezi zesíťovacím činidlem a polysacharidovými řetězci. Ve vodném roztoku má iontové sít'ovací činidlo opačný náboj

než polymer. Iontová síťovací činidla se spolu s polymerními řetězci přitahují, čímž je indikován účinek iontového zesíťování. Při porovnání chitosanu zesíťovaného iontově a kovalentně, je iontově zesíťovaný chitosan méně stabilní v kyselých roztocích. Rozpouští se při $\text{pH} < 3$ [82]. Vlastnosti zesíťovaného chitosanu jsou ovlivněny typem síťovacího činidla, ale také podmínkami, při kterých k síťování dochází, jako je teplota a pH . Příkladem iontového síťovacího činidla je například citrát trisodný, kyselina sulfosukcinová, kyselina šťavelová a trifosfát pentasodný. Kyselina šťavelová je prozatím méně používaným síťovacím činidlem ve srovnání s trifosfátem pentasodným. Je dokázáno, že kyselina šťavelová je ekologicky šetrným síťovacím činidlem, které nejen, že snižuje bobtnání, ale i zlepšuje chemickou stabilitu chitosanu při nízkém pH okolo 2,5. Oxalátové ionty interagují s aminoskupinami na chitosanu za vzniku zesíťené struktury [85]. Dalším síťovacím činidlem je již zmíněný trifosfát pentasodný, což je jeden z nejpoužívanějších aniontových síťovacích činidel pro polysacharid chitosan. Trifosfát pentasodný je netoxický, a proto ho lze bezpečně používat, aniž by negativně ovlivňoval naše zdraví. Negativně nabitě fosfátové skupiny trifosfátu pentasodného interagují s aminoskupinami v chitosanu za vzniku iontově zesíťovaných struktur [86]. Na Obrázku 7, je možné vidět iontové síťování chitosanu pomocí síťovacího činidla trifosfátu pentasodného.



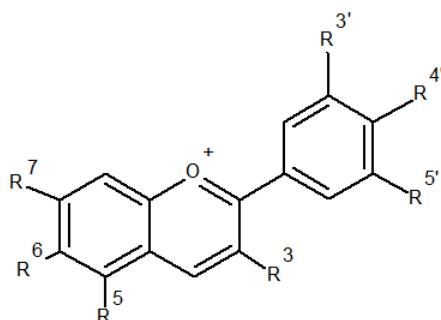
Obrázek 7 Iontové síťování chitosanu pomocí trifosfátu pentasodného (tripolyfosfát) [87]

2.7.2 Barviva

K výrobě filmů reagujících na změnu pH je zapotřebí nejen použití vhodného polymeru, ale samozřejmě také vhodného barviva reagujícího na změnu pH viditelnou barevnou odezvou. Zhoršování, či kažení potravin je doprovázeno změnou pH, kdy tato změna je jedním z ukazatelů kvality dané potraviny. Indikátory čerstvosti nám poskytují informace o kvalitě produktu, která vyplývá z mikrobiálního růstu, či chemických změn, které se dějí v potravine. Při reakci metabolitů mikroorganismů s indikátorem, dochází ke kolorimetrické změně indikátoru, kdy tato barevná změna je viditelná pouhým okem. Při výrobě indikátoru je důležité zvolit daný polymer či kombinaci několika polymerů ve vhodném poměru a samozřejmě barvivo schopné reagovat na změnu pH. Jako barevné pigmenty pro výrobu těchto indikátorů se mohou používat syntetická či přírodní barviva. Od syntetických barviv se v poslední době dosti ustupuje z důvodu možné toxicity, což by mohlo způsobit nejen poškození životního prostředí, ale především zdraví spotřebitelů [88]. Velkou skupinu přírodních barviv tvoří především anthokyany dále pak také kurkumin, betalainy, karotenoidy a také chlorofyly. Přírodní barviva jsou extrahována nejčastěji z rostlin, ovoce, či zeleniny a jejich barva se významně mění při různých podmínkách (teplota, vlhkost, přítomnost různých plynů či změna pH). Přírodní barviva mají velký potenciál pro vývoj pH indikátorů právě z důvodu jejich změny barev při různých hodnotách pH. Přírodní barviva nám poskytují i další benefity, a to v podobě zlepšení organoleptických vlastností daného produktu, ale také zvýšení nutriční hodnoty [89].

2.7.2.1 Anthokyany

Anthokyany jsou přírodní ve vodě rozpustná barviva, které řadíme do skupiny flavonoidů, kterým jsou nadřazené polyfenoly. Vyskytují se ve vakuolách rostlinných buněk ve formě glykosidů. Jejich přirozený výskyt je v ovoci, zelenině a dále také v květinách, kdy jim dodávají bohaté zbarvení. Škála zbarvení je různorodá od červené přes fialovou až po modrou barvu. Mimo jiné jsou anthokyany silnými antioxidanty a bojují proti volným radikálům. Jejich dalšími příznivými vlastnostmi jsou protizánětlivé, antivirové, antimikrobiální a také protirakovinné účinky, z čehož vyplývá, že k jejich konzumaci dochází při prevenci proti onemocněním. Barva anthokyanů se mění v závislosti na pH a díky tomu se dají využít, jako acidobazické indikátory [90] [91]. Při pH 1-6 je barva červená, v neutrálních roztocích pH=7 barva přechází do fialové až modré a v zásaditých roztocích pH 8-14 je barva až zelená. Barvivo je využíváno k barvení především kyselých potravin, protože v kyselém prostředí je jejich stabilita vcelku přijatelná, zatímco při jiných podmínkách jsou poměrně nestabilní. Příkladem kyselých potravin, kde může být barvivo využíváno je například víno, džusy či jogurty. U těchto barviv nejsou známy nežádoucí účinky, naopak jsou součástí lidské potravy a jsou vnímány velmi pozitivně [92].

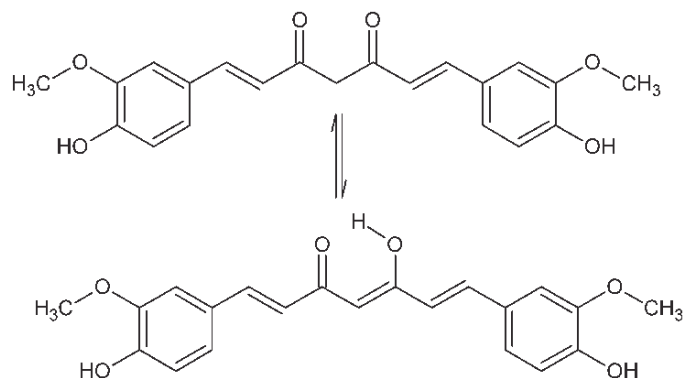


Obrázek 8 Základní struktura anthokyanů

Anthokyany, využívané pro výrobu pH indikátorů, jsou nejčastěji izolovány z tradičních a námi dostupných surovin: červeného zelí, borůvek, ostružinových výlisků a z ředkviček. Používány jsou také netradiční zdroje, jako například fialové sladké brambory, které vykazují barevné variace od sytě růžové barvy při pH 2 po tmavě zelenou barvu při pH 10. Dalším netradičním zdrojem anthokyanů je černá mrkev, bobule čínská, či ovoce Jambolan [93].

2.7.2.2 Kurkumin

Koření kurkuma pochází z oddenků rostliny *Kurkuma longa*. Má jasně žluto-oranžovou barvu, která je způsobena hlavně díky polyfenolickým pigmentům, které jsou rozpustné v tucích. Tyto pigmenty nesou název kurkuminoidy. Mezi kurkuminoidy patří hlavní neaktivnější složka, což je kurkumin a dále pak demethoxykurkumin a bisdemethoxykurkumin. Kurkumin je přírodní barvivo, jehož typický výskyt je především v koření kari, ale najdeme jej i v jiném koření a potravinách. V potravinářském průmyslu můžeme kurkumin najít pod označením E 100. V dnešní době díky nechtěnosti syntetických barviv je snahou žluté barvivo tartrazin nahradit právě již zmíněným kurkuminem, jako přírodním barvivem. Kurkumin má antioxidační, protizánětlivé a protinádorové účinky. Díky svým funkčním vlastnostem, kterými jsou mimo jiné také zvýšená mechanická pevnost, ochrana proti UV záření, antioxidační a antimikrobiální aktivita je o kurkumin čím dál tím větší zájem a snaha jej, co nejlépe zakomponovat při výrobě barevných indikátorů využitelných v obalových technikách. Kurkumin je dobře rozpustný v ethanolu, a naopak špatně rozpustný ve vodě. Mimo jiné kurkumin vykazuje změny barev v reakci na změnu pH. K barevnému přechodu z jasně žluté barvy na barvu vínovou dochází při pH 7,8-9,2 [48] [94] [95]. Kurkumin existuje ve dvou molekulárních konfiguracích, též známé jako tautomery. První konfigurací je bis-keto forma, která se převážně nachází v neutrálních a kyselých podmínkách a v pevné fázi. Druhou konfigurací je pak enolátová forma, která je převážně v alkalických podmínkách [96].



Obrázek 9 Chemická struktura kurkuminu-bis-keto forma (nahore) a enol forma (dole) [97]

2.7.2.3 Betalainy

Betalainy jsou přírodní ve vodě rozpustná barviva, která můžeme rozdělit do dvou skupin. První skupinou jsou červenofialové betakyaniny a druhou skupinou jsou žluté betaxantiny. Betalainy jsou nejčastěji získávané z červené řepy, ale dalším významným zdrojem je také červená pitaya a opuncie. Na rozdíl od anthokyanů se betalainy nevyskytují tak hojně, ale i přesto jsou pro nás velmi významné. Díky své výrazné přirozené červené barvě jsou hojně využívány v potravinářském průmyslu k barvení, či zlepšování barvy potravin. Nejčastěji se tohoto barviva z červené řepy využívá u výrobků, jako je: víno, zmrzlina, jogurty, marmelády a také cukrovinky. Právě díky tomu, že se jedná o přírodní barviva jsou spotřebiteli velmi vítány, navíc disponují i dalšími benefity v podobě antioxidační a antimikrobiální aktivity [98]. Betalainy jsou stabilní v poměrně širokém rozmezí pH (3–7). Při přechodu do alkalické oblasti dochází ke změně barvy z červené na barvu žlutou. Bylo zjištěno, že kombinace betalainů z kůry červené pitayi a škrob jsou pro výrobu filmů vhodné. Tyto filmy vykazovaly citlivost na amoniak, navíc měly dobré mechanické vlastnosti, a také vykazovaly antioxidační vlastnosti. Tento typ filmu byl vhodný pro použití sledování znehodnocování krevet [93].

2.7.2.4 Další barviva

Spotřebitelé preferují spíše použití přírodních barviv, u kterých nejsou známy nežádoucí účinky na naše tělo, ba naopak přináší pozitivní benefity v podobě protizánětlivých, či jiných účinků. Syntetická barviva nejsou spotřebiteli tolik oblíbená díky jejich možnému negativnímu účinku, který se může projevovat na našem těle v podobě alergických reakcí, vyrážek ale také mohou negativně ovlivňovat životní prostředí, či mít i jiné negativní vlastnosti. I přes jejich neoblíbenost u spotřebitelů jsou v potravinářském průmyslu stále požívána díky jejich intenzitě, stabilitě, ale především díky nízkým nákladům ve srovnání s přírodními barvivy. Každopádně je snahou v průběhu času od nich zcela ustoupit, jak jen to bude možné. Těchto syntetických barviv je velká spousta, jedná se například o bromkrezolovou zeleň, methylovou červeň, či bromthymolovou modř. Co se týče bromkresolové zelené její barevný přechod je při pH 3,8–5,4 ze žluté barvy na modrou. Uvedená látka není klasifikována jako nebezpečná podle

nařízení (ES) č. 1272/2008. Methylová červeň jejíž barevný přechod je při 4,4–6,2 z barvy červené na žlutou. Dle nařízení (ES) č. 1272/2008 látka není klasifikována jako nebezpečná. Bromthymolová modř má barevný přechod při pH 6,0–7,6 ze žluté barvy na modrou. Tato látka nespĺňuje kritéria pro klasifikaci jako nebezpečná látka, a to podle nařízení (ES) č.1272/2008 [99] [100].

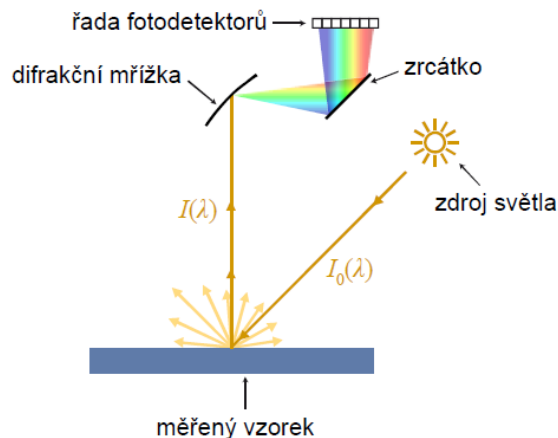
2.7.3 Změkčovadla

I když má chitosan dobré vlastnosti pro tvorbu filmů, přesto vzniklá vrstva může být křehká. Tomuto problému může zabránit změkčovadlo, které se přidává za zlepšením především mechanických vlastností polymeru. Jedná se o malé molekuly, které se prolínají mezi polymerními řetězci, čímž narušují vodíkové vazby a také roztahují řetězce od sebe. Přidávání změkčovadel vede k materiálům se sníženou křehkostí i tuhostí, a naopak se zvýšenou pružností, roztažností a houževnatostí. Mezi nejčastěji používaná změkčovadla pro tvorbu filmů, které jdou do kontaktu s potravinou, jsou nejčastěji glycerol, dále pak sorbitol [101] [102].

2.8 Měření barevnosti vrstev

K vyhodnocení barevnosti objektů je třeba tří základních elementů: zdroj světla, pozorovaný objekt a pozorovatel. Světelný zdroj vyzařuje světlo v rozsahu vlnových délek viditelných lidským okem o různé intenzitě. Toto světlo dopadá na dané objekty, které v závislosti na svých vlastnostech materiálu světlo pohlcuje, respektive odráží. Odražené světlo dopadá na fotoreceptory lidského oka a v závislosti na spektrálním složení je pak signál po excitaci fotoreceptorů dále zpracováván v dalších buňkách sítnice. Následně lidský mozek po vyhodnocení signálu interpretuje vjem barvy. K objektivnímu popisu barev je využívána kolorimetrie, která se snaží popsat barvu pomocí jistých spojitých funkcí, či parametrů a ty následně můžeme porovnávat. K vyhodnocení barevnosti objektů je zapotřebí definovat zdroj světla, pozorovaný objekt a pozorovatele [103].

Dopadající světlo charakterizujeme intenzitou světla na každé vlnové délce $I_0(\lambda)$. Světlo odražené od objektu pak má intenzitu $I(\lambda)$. Poměrem intenzity světla odraženého od objektu ku intenzitě světla dopadajícího na objekt dostaneme tak zvanou reflektanci $R(\lambda)$. Reflektance nám říká, jak moc daný objekt světlo o dané vlnové délce odráží. Pokud tento parametr zjistíme pro všechny vlnové délky v intervalu přibližně 380–730 nm, tak získáme reflexní spektrum, které charakterizuje daný objekt. K naměření reflexního spektra se využívá reflexní spektrofotometr [103]. Schéma tohoto spektrofotometru je možné vidět na Obrázku 10.



Obrázek 10 *Obecné schéma reflexního spektrofotometru [103]*

Na závěr k vyhodnocení barevnosti objektů je zapotřebí pozorovatele. Proces vjemu barvy probíhá tak, že světlo se šíří optickým prostředím oka a postupně proniká na sítnici, kde se nacházejí fotoreceptory. Fotoreceptory převádějí tuto světelnou energii na pohyb atomů, následně chemická změna přejde v nervový vzruch, který je poslán do mozku. Mezi fotoreceptory řadíme tyčinky a čípky, které na sítnici nejsou rovnoměrně rozmístěny. Tyčinek je daleko více než čípků, zajišťují vidění za šera a nerozlišují barvy. Zatímco čípky umožňují vnímání barev. Největší koncentrace čípků je v oblasti žluté skvrny, což je také místo s neostřejším viděním [104].

I když počátky kolorimetrie byly již za dob Newtona, moderní a praktická kolorimetrie se datuje až na začátku 20. století. V roce 1931 byla založena CIE (Commission Internationale de l'Eclairage), která definovala barevné prostory, normy a mimo jiné také dva standardizované pozorovatele. Tím, že lidé vnímají barvy různě bylo zapotřebí stanovit definice vlastností standardního pozorovatele pomocí výzkumu působení barev na průměrného člověka. Známe dva typy pozorovatelů podle úhlu vstupu paprsku do oka a podle plochy sítnice, kterou daný pozorovatel vnímá. 10° pozorovatel vnímá barvu celou sítnicí, zatímco 2° pozorovatel vnímá barvu nejcitlivější částí oka, což je již zmíněná žlutá skvrna. Uvedené pozorovatele komise CIE definovala pomocí tří funkcí, které jsou nazývány trichromatické členitelé \bar{x} , \bar{y} , \bar{z} . Tyto funkce byly získány experimentálně [103] [105].

Ve smyslu barevného vjemu je možné jednoznačně definovat barvu pomocí tří čísel: trichromatických složek X , Y a Z , vypočítaných ze spektrální reflektance barevného vzorku $R(\lambda)$, spektrální distribuce osvětlení $\Phi^0(\lambda)$ a funkcí trichromatických členitelů \bar{x} , \bar{y} , \bar{z} podle vztahů:

$$X = K \sum_{380}^{730} \phi^0(\lambda) \cdot R(\lambda) \cdot \bar{x}(\lambda) \quad (1)$$

$$Y = K \sum_{380}^{730} \phi^0(\lambda) \cdot R(\lambda) \cdot \bar{y}(\lambda) \quad (2)$$

$$Z = K \sum_{380}^{730} \phi^0(\lambda) \cdot R(\lambda) \cdot \bar{z}(\lambda) \quad (3)$$

$$K = \frac{100}{\phi^0(\lambda) \cdot \bar{y}(\lambda)} \quad (4)$$

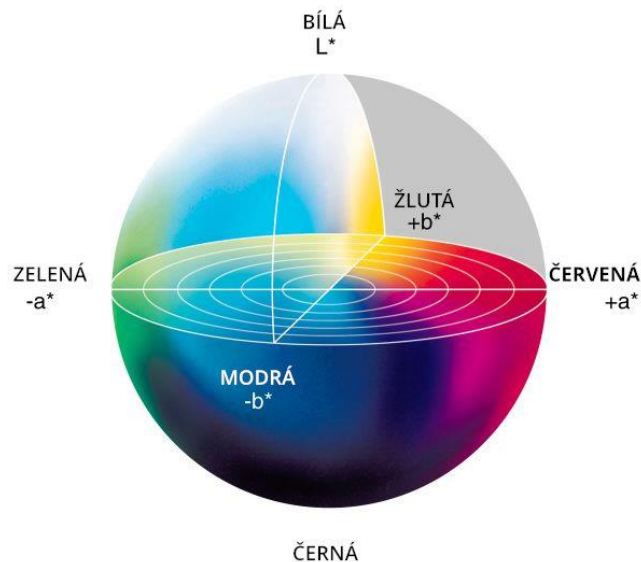
CIE v roce 1976 definovala barvový prostory CIE $L^*a^*b^*$. Hodnoty souřadnic L^* , a^* a b^* udávají polohu barvy v třírozměrném barvovém prostoru a získají se přepočtem z trichromatických složek podle rovnic:

$$L^* = 116 \cdot (Y/Y_n)^{1/3} - 16 \quad (5)$$

$$a^* = 500 \cdot [(X/X_n)^{1/3} - (Y/Y_n)^{1/3}] \quad (6)$$

$$b^* = 200 \cdot [(Y/Y_n)^{1/3} - (Z/Z_n)^{1/3}] \quad (7)$$

Kdy X_n, Y_n, Z_n jsou trichromatické složky použitého světla [106].



Obrázek 11 Grafické znázornění $L^*a^*b^*$ modelu [107]

Barvový prostor $L^*a^*b^*$ můžeme vidět na Obrázku 11, kde parametr L^* je parametr měrné světlosti, tedy určuje, jestli se jedná o světlou nebo tmavou barvu. Na ose a^* se nachází

barvy od zelené po červenou a na ose b^* jsou barvy od modré po žlutou. Všechny barvy, které můžeme nebo lépe řečeno jsme schopni vnímat, můžeme přiřadit konkrétní souřadnice v tomto prostoru. Při porovnání dvou barev, musíme vypočítat vzdálenost (barvovou odchylku) v tomto prostoru. Barvová odchylka se značí ΔE^*_{ab} a lze ji vypočítat pomocí rovnice [103]:

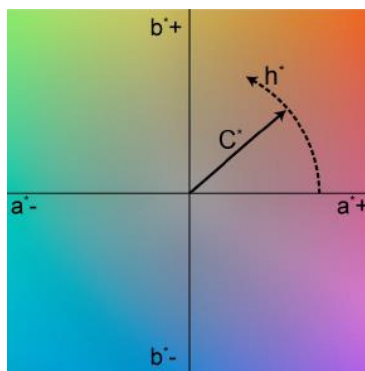
$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (8)$$

Díky ΔE^*_{ab} lze vcelku dobře hodnotit rozdíly barev. Pro snadnou orientaci v rozdílech těchto barev je zde uvedena stupnice pro hodnocení barvových odchylek, která je uvedena v Tabulce 4.

Tabulka 4 Stupnice pro hodnocení barvových odchylek [108]

ΔE^*_{ab}	Rozdíl
0–0,2	nepostřehnutelný
0,2–0,5	velmi slabý
0,5–1,5	slabý
1,5–3,0	jasně postřehnutelný
3,0–6,0	střední
6,0–12,0	výrazný
12,0–16,0	velmi výrazný
větší než 16,0	rušící

Kromě již uvedených rovnic disponují chromatické souřadnice a^* a b^* u výpočtu taktéž velmi důležitých veličin jako je chroma C^*_{ab} (sytnost) a měrný úhel barevného tónu h°_{ab} (barevný tón, odstín). Chroma nám udává vzdálenost od středu chromatické roviny a^* a b^* , navíc se zvyšující se hodnotou chromy se zvyšuje i sytnost dané barvy. Měrný úhel barevného tónu se udává ve stupních a jedná se o úhel jehož počátek najdeme na kladné ose a^* . Zaznačení veličin chroma a měrný úhel barevného tónu můžeme vidět na Obrázku 12 [108]. Další veličinou je také odchylka odstínu ΔH^* , jejíž výpočet je uveden níže.



Obrázek 12 Zobrazení barvového prostoru L^* , a^* , b^* v prostoru [103]

Sytost, měrný úhel barevného tónu a odchylku odstínu můžeme vypočítat podle rovnic:

$$C_{ab}^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (9)$$

$$h_{ab}^\circ = \arctg\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (10)$$

$$\Delta H^* = \sqrt{(\Delta E^*)^2 - (\Delta C^*)^2 - (\Delta L^*)^2} \quad (11)$$

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Laboratorní vybavení použité k měření

3.1.1 Chemikálie

- Glycerin bezvodý p.a., PENTA
- Kurkumin, MERCK
- Chitosan, SIGMA-ALDRICH
- Kyselina octová 99 %, LACHEMA
- Hydroxid sodný (pecky, čistý), PENTA
- Chlorid amonný (čistý), LACHEMA
- Ethanol absolutní p.a., PENTA
- Heptahydrát síranu zinečnatého (krystalický), LACHEMA
- Kyselina citrónová bezvodá, PENTA
- Libra Print 910 lak – pojivo, SERVIS CENTRUM a.s.
- Kyselina askorbová, LACHEMA
- Dowanol, PENTA

3.1.2 Přístroje a pomůcky

- Běžné laboratorní sklo
- Plastové pomůcky
- Automatické pipety
- Teploměr
- Parafilm® M (Bemis, USA)
- Oboustranná lepící páska, klasická průhledná lepící páska
- Bílé keramické destičky, ELCERAM
- Transparentní PET fólie Tenolan (Fatra a.s.)
- Vakuovací sáčky a fólie (Maxxo)
- Síta pro sítotisk
- Exikátor
- Magnetická míchačka, (Heidolph, Německo)
- Laboratorní míchačka HS-50 A (Witeg, Německo)
- Analytické váhy Sartorius Entris 224I – 1 S
- Odstředivka Hettich EBA 30
- Spektrometr USB 650 UV (Ocean Insight)
- Automatický aplikátor filmů TQC (Gamin s.r.o.)
- Bakerovo natahovací pravítko
- 3D tiskárna 3D WOX 1 (Sindoh, Korea)
- Sítotiskový stroj RokuPrint
- Řezačka na PET fólie (BLS 46, Německo)
- Vakuová balička a svářečka Maxxo VM Profi
- Mobilní telefon s fotoaparátem (Xiaomi, Čína)
- Osobní počítač (Packard Bell, Nizozemsko)

3.1.3 Software

- Microsoft Word
- Microsoft Excel
- Origin 2019 64 Bit
- Ocean View (Ocean Optics)
- Adobe Photoshop CS2
- Print 3D

3.2 Příprava hlavních roztoků

3.2.1 Příprava roztoků chitosanu

Byl připraven 2% roztok kyseliny octové do 100 ml odměrné baňky tak, že byly 2 ml kyseliny octové napipetovány do odměrné baňky a následně byla tato baňka doplněna destilovanou vodou po rysku. Z této odměrné baňky bylo odebráno 90 ml a přeneseno do skleněné lahve o celkovém objemu 100 ml s plastovým víčkem. V této lahvi probíhala příprava a následně i uchování připraveného polymeru. Skleněná láhev s roztokem kyseliny octové byla zahřívána a současně míchána na magnetické míchačce. Mezi tím do plastové lodičky na vážení byly naváženy 2 g chitosanu (pro přípravu 2% roztoku chitosanu) a 4 g chitosanu (pro přípravu 4% roztoku chitosanu). Následně při dosažení teploty 40 °C u zahřívání roztoku, byl postupně přidáván navážený chitosan. Po přidání zhruba poloviny naváženého chitosanu bylo potřeba použít výkonnější laboratorní míchačku z důvodu velké hustoty daného roztoku. Následně míchání probíhalo do úplného rozpuštění chitosanu cca 1 hodinu (pro 2% roztok chitosanu) a cca 2 hodiny (pro 4% roztok chitosanu). Připravený roztok chitosanu byl doplněn do 99 ml pomocí roztoku kyseliny octové s destilovanou vodou a následně byl přidán 1 ml bezvodého glycerinu. Celá směs byla ještě jednou promíchána bez dalšího zahřívání a následně byla ponechána v této lahvi pro další použití. Připravený 4% roztok chitosanu byl velmi viskózní v porovnání s 2% roztokem chitosanu a z toho důvodu bylo nanášení směsi se 4% chitosanem nepatrně obtížnější.

3.2.2 Příprava roztoku barviva

Po ověření rozpustnosti a kompatibility kurkuminu s chitosanem, byl připraven nasycený roztok kurkuminu v bezvodém ethanolu při 25 °C navážením 0,5 g kurkuminu a 12 g absolutního ethanolu. Směs byla důsledně promíchána a následně byla odstředěna dvakrát po dobu 5 minut při 2500 otáčkách za minutu. Poté pomocí plastové stříkačky a jehly byl supernatant odebrán tak, aby nedošlo k rozvíření precipitátu. Roztok barviva byl takto ponechán ve skleněné lahvičce s uzávěrem při laboratorní teplotě.

3.3 Příprava pomocných roztoků

Bylo připraveno 100 g 8% roztoku hydroxidu sodného. Dále bylo připraveno přibližně 250 ml nasyceného roztoku síranu zinečnatého při teplotě 25 °C postupným rozpouštěním heptahydrátu síranu zinečnatého ve 100 ml vody až do dosažení rovnováhy mezi roztokem a nerozpuštěným podílem. Takto připravený nasycený roztok byl uchováván v uzavíratelné plastové lahvi.

3.4 Příprava kompozic pro tvorbu vrstev

Do skleněných uzavíratelných lahviček bylo postupně naváženo a odměřeno potřebné množství daných komponent, které byly nezbytné pro tvorbu kompozice na výrobu vrstev.

3.4.1 Příprava kompozic s 2% chitosanem

Byl připraven základ kompozice pro tvorbu vrstev tak, že byly naváženy 2 g roztoku chitosanu (2%) dle postupu v odstavci 3.2.1, poté bylo přidáno 1,5 ml roztoku barviva, jehož příprava je uvedena v odstavci 3.2.2. Následně byly k takto připraveným základům přidávány různé typy dalších komponent. Takto namíchané kompozice byly následně označeny písmeny pro lepší orientaci. Přehled těchto kompozic, jejich složení a také označení je uvedeno v Tabulce 5. Dále v textu budou tyto kompozice označovány přiřazenými písmeny.

Tabulka 5 Kompozice s 2% chitosanem pro tvorbu vrstev

	2 % Chitosan [g]	Barvivo [ml]	Glycerol [g]
A	2	1,5	-
B	2	1,5	0,05
C	2	1,5	0,10
D	2	1,5	0,15

3.4.2 Příprava kompozic s 4% chitosanem

Byl připraven základ kompozice pro tvorbu vrstev tak, že byly naváženy 2 g chitosanu (4%) dle postupu v odstavci 3.2.1, poté bylo přidáno 1,5 ml roztoku barviva, jehož příprava je uvedena v odstavci 3.2.2. Následně byly k takto připraveným základům přidávány různé typy dalších komponent. Takto namíchané kompozice byly následně označeny písmeny pro lepší orientaci viz. Tabulka 6.

Tabulka 6 Kompozice s 4% chitosanem pro tvorbu vrstev

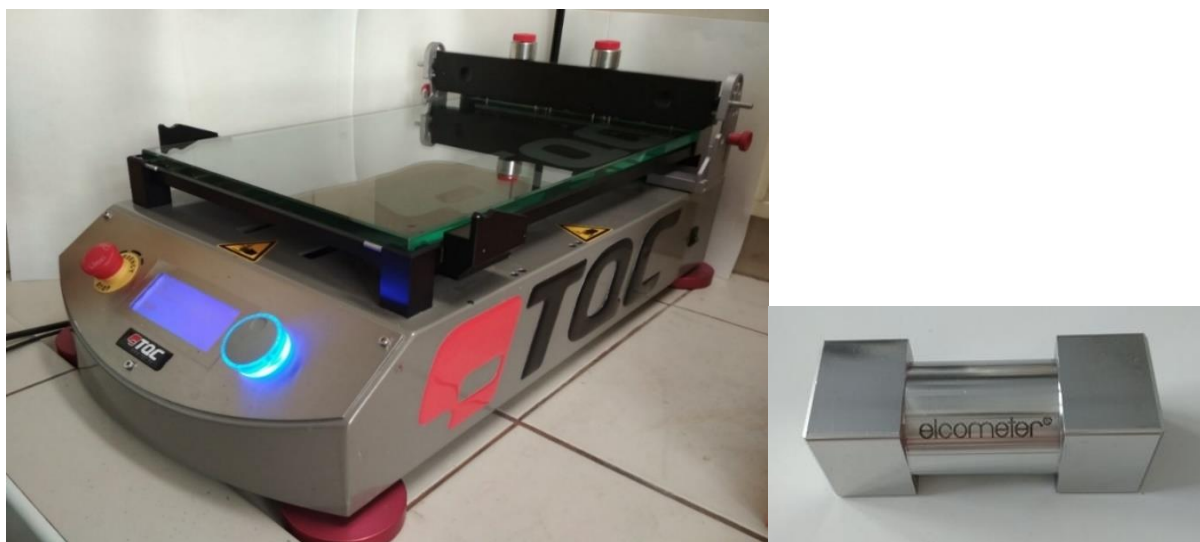
	4 % Chitosan [g]	Barvivo [ml]	Glycerol [g]	Kyselina askorbová [g]
E	2	1,5	0,15	-
F	2	1,5	0,15	0,4109
G	2	1,5	0,15	0,2525
H	2	1,5	0,15	0,0786
I	2	1,5	0,15	0,0517

Byly připraveny i další kompozice a z nich i následně vrstvy, které budou pouze vzpomenuty v kapitole 4.3 a dále už nebudou komentovány, protože pro své vlastnosti nebyly dále používány.

3.5 Příprava vrstev

Tenké vrstvy byly tvořeny za pomoci Bakerova natahovacího pravítka, vyrobeného z nerezové oceli, a automatického aplikátoru TQC. Díky automatickému aplikátoru TQC mohlo docházet k rovnoměrnému a velmi přesnému nanášení vrstev. Bakerovo natahovací pravítko je sestaveno z aplikačního válce obklopeného čtvercovými stěnami. Otáčením Bakerova pravítka vždy o 90° mohlo být docíleno přípravy vrstev o tloušťce 30, 60, 90 a 120 μm .

Byla nařezána PET fólie na požadovanou velikost, následně byla uchycena do automatického TQC aplikátoru a takto přichycená fólie byla očištěna ethanolem a saténovou bezprachovou utěrkou. Následně bylo na tuto fólii položeno Bakerovo natahovací pravítko, které bylo předem očištěno. Připravená a řádně promíchaná směs byla nanášena pomocí Pasteurovy pipety na PET folii těsně k Bakerovu pravítku. Bylo nanášeno přiměřené množství směsi tak, aby vrstvy byly celistvé, a naopak, aby nedocházelo k zatékání směsi pod pravítko. Následně byly tvořeny tenké vrstvy o velikosti 2,5×15 cm a tloušťce 60 μm . Tyto vrstvy byly sušeny při laboratorní teplotě.



Obrázek 13 Automatický aplikátor vrstev TQC (vlevo) a Bakerovo natahovací pravítko (vpravo)

3.6 Úvaha o balení s masem a navážky chloridu amonného

Hlavní úvahou je, že máme krabičku s masem, která má dané rozměry viz. Obrázek 14. Dle uvedených rozměrů jsme schopni vypočítat objem této krabičky:

$$V_{\text{krabička}} = a \cdot b \cdot c = (200 \cdot 100 \cdot 50) \text{ mm}^3 = 1\,000\,000 \text{ mm}^3 = 1 \text{ dm}^3 = 1 \text{ l} = 1000 \text{ ml}$$

Objem krabičky s masem je tedy 1 litr a hmotnost masa uvnitř dané krabičky je 250 gramů.

Předpoklad: $1 \text{ g} = 1 \text{ ml} \rightarrow V_{\text{maso}} = 250 \text{ ml}$

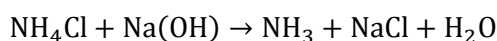
$$V_{\text{nad masem}} = (V_{\text{krabička}} - V_{\text{maso}}) \text{ ml} = 750 \text{ ml}$$

S kažením masa vzniká společně plynný amoniak a dle [65] je hranice vzniklého amoniaku při kažení masa $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Při přepočtu a vztažení na 250 g masa je hraniční hodnota vzniklého amoniaku 75 mg.



Obrázek 14 Rozměry krabičky s masem dle uvedené úvahy [109]

Amoniak byl připraven působením roztoku hydroxidu sodného na chlorid amonný podle rovnice:



Na základě reakce a množství požadovaného amoniaku byla spočítána hmotnost chloridu amonného, kterou bylo třeba navážít. Zde uveden příklad výpočtu pro hraniční hodnotu amoniaku, která je 75 mg. Další navážky pro dané množství amoniaku jsou znázorněny v Tabulce 7.

$$n(\text{NH}_4\text{Cl}) = n(\text{NH}_3)$$

$$\frac{m_{\text{NH}_4\text{Cl}}}{M_{\text{r}(\text{NH}_4\text{Cl})}} = \frac{m_{\text{NH}_3}}{M_{\text{r}(\text{NH}_3)}} \rightarrow m_{\text{NH}_4\text{Cl}} = \left(\frac{0,075}{17,031} \cdot 53,491 \right) \text{ g} = 0,2356 \text{ g}$$

Pro následné vyhodnocování výsledků byl proveden přepočet množství amoniaku na koncentrace. Zde je uveden příklad výpočtu koncentrace pro hraniční hodnotu amoniaku, tedy pro 75 mg. Další vypočtené koncentrace jsou uvedeny taktéž v Tabulce 7.

$$c = \frac{n}{V} = \left(\frac{m_{\text{NH}_4\text{Cl}}}{M_{\text{rNH}_3}} \cdot \frac{1}{V_{\text{komory}}} \right) \text{mol} \cdot \text{l}^{-1} = \left(\frac{0,075}{17,031} \cdot \frac{1}{0,550} \right) \text{mol} \cdot \text{l}^{-1} = 0,0080 \text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$$

Tabulka 7 Hmotnost chloridu amonného, které je potřeba navázat na potřebné množství amoniaku a přepočítané koncentrace plynného amoniaku

Množství amoniaku [mg]	Hmotnost chloridu amonného [g]	Koncentrace plynného amoniaku [mol·l ⁻¹]
75	0,2356	0,0080
50	0,1570	0,0053
25	0,0785	0,0027
20	0,0628	0,0021
15	0,0471	0,0016
10	0,0314	0,0001
5	0,0157	0,0005
3	0,0094	0,0003
1	0,0031	0,0001

3.7 Zkušební způsoby provedení experimentu

Po vytvoření vhodných vrstev pomocí Bakerova natahovacího pravítka a automatického aplikátoru vrstev TQC bylo klíčové vytvoření vhodné měřicí aparatury pro proměření daných vrstev vyrobených dle předešlého postupu.

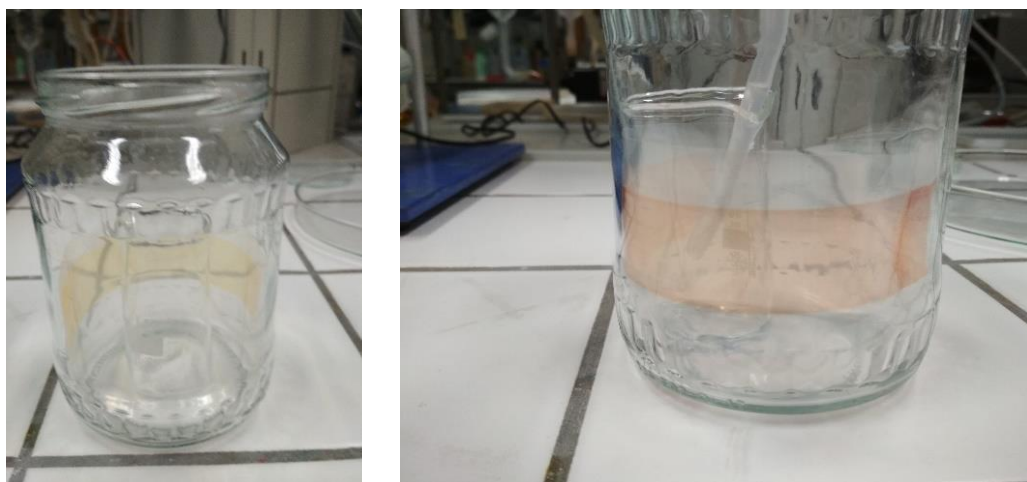
3.7.1 Použití skleněné lahve s ventilkem

Pro experiment byla využita průhledná skleněná lahev s víčkem typu Twist off pro uzavření a dobré utěsnění. Do víčka byl vyvrtán otvor pro vstup silikonové hadičky zakončené regulovatelným plastovým ventilkem. Po vložení silikonové hadičky byl zbytek vyvrtaného otvoru utěsněn pomocí bílé lepící hmoty. Do vnitřku skleněné lahve byla vložena vhodná kádinka s navázkou chloridu amonného pro hraniční množství amoniaku a také připravená vrstva. Poté byla tato skleněná lahev uzavřena tak, aby ústí silikonové hadičky směřovalo do kádinky. Ventilky byl nejprve uzavřen a mezi tím bylo do injekční stříkačky odebráno 5 ml předem připraveného roztoku hydroxidu sodného. Injekční stříkačka s roztokem hydroxidu sodného byla naražena do silikonové hadičky, mezi tím byl ventilky otevřen a obsah stříkačky byl jednorázově vpraven do skleněné kádinky. Následně byl ventilky uzavřen a stříkačka zůstala zaražena v silikonové hadičce pro dokonalé utěsnění. Byl pozorován průběh reakce a vybarvení připravené vrstvy.



Obrázek 15 Zkonstruovaná skleněná lahev s plastovým ventilkem

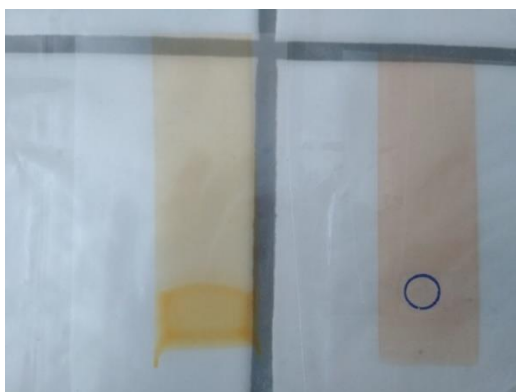
Byl pozorován celý průběh reakce a bylo zaznamenáno vybarvení vrstvy z barvy žluto-oranžové do světle červené při hraniční hodnotě amoniaku (tedy množství 75 mg) během 3 minut. Výhodou tohoto typu prostředku k měření byla především jeho jednoduchá manipulace, dobré utěsnění, a především jasná a okamžitá viditelnost vybarvení dané vrstvy. Tento prostředek nemohl být bohužel vybrán k měření z toho důvodu, že nebyla možnost, jak změnu barvy ve skleněné lahvi měřit. Měření přes silnou, a navíc zaoblenou skleněnou plochu nemohlo být provedeno, navíc by bylo potřeba vrstvu měřit oproti bílé podložce, což nebylo možné zajistit. Dále se nabízela možnost otevření skleněné lahve za účelem proměření dané vrstvy. I přes velmi rychlou manipulaci došlo téměř k okamžitému zpětnému vybarvení na původní barvu vrstvy, což bylo hlavní překážkou při měření, a z toho důvodu byl tento způsob zavrhnut.



Obrázek 16 Změna barvy zkušební vrstvy při hraniční hodnotě amoniaku (75 mg) ve skleněné lahvi s ventilkem

3.7.2 Použití uzavíratelného průhledného sáčku

Připravená vrstva byla rozdělena na tři části, kdy každá část měřila 5×2,5 cm. Jedna takto připravená část byla nalepena lepicí páskou do vnitřní a zároveň vrchní části sáčku. Poté bylo do plastového víčka naváženo množství chloridu amonného pro hraniční hodnotu amoniaku. Následně bylo plastové víčko zakápnuto pár kapkami chitosanu a bylo ponecháno k zaschnutí. Takto připravené víčko s danou navázkou bylo pomalu vloženo do vnitřního cípu uzavíratelného sáčku. Byla odměřena a poté ustřižena silikonová hadička, kdy ústí této hadičky sahalo do víčka a druhá část hadičky vedla ven ze sáčku. Následně bylo do injekční stříkačky odebráno 5 ml předem připraveného roztoku hydroxidu sodného. Ve dvou fázích a rychle byl obsah injekční stříkačky vpraven do silikonové hadičky, která ústila do víčka vespodu sáčku, následně byla hadička i se stříkačkou zastrčena dovnitř sáčku a na závěr byl sáček rychle uzavřen, aby nedocházelo k unikání plynného amoniaku. Byl pozorován průběh reakce a vybarvení připravené vrstvy z barvy žluto-oranžové do světle červené při hraniční hodnotě amoniaku (75 mg) během 3 minut. Výhodou tohoto typu prostředku byla možnost okamžitého měření pomocí spektrometru i1 X-Rite, eye-one Pro přes průhledný sáček, při položení vrstvy umístěné v sáčku na rovnou bílou podložku. Tento prostředek však nebyl vhodný pro proměření většího množství vrstev z důvodu velmi komplikované a nepraktické manipulace a také z důvodu nepříliš kvalitního těsnění sáčku, kdy mohlo docházet k unikání vzniklého amoniaku a tím i ke zkreslení daného měření.



Obrázek 17 Změna barvy zkušební vrstvy při hraniční hodnotě amoniaku (75 mg) v uzavíratelném průhledném sáčku

3.8 Úkony se vzorkem provedené před měřením

Byly připraveny vrstvy, podle již popsaného postupu. Po řádném zaschnutí, byly tyto vrstvy nastříhány na velikost 3 cm a byly opatrně nalepeny pomocí oboustranné pásky na bílou keramickou destičku o velikosti 26×76×0,635 mm. Takto připravené vzorky byly řádně popsány a poté byly vloženy do exikátoru, kde byla pomocí nasyceného roztoku síranu zinečnatého udržována relativní vlhkost 90 %. Tímto způsobem bylo simulováno prostředí v balení s masem, ve kterém by se mohla vrstva-indikátor potenciálně nacházet.

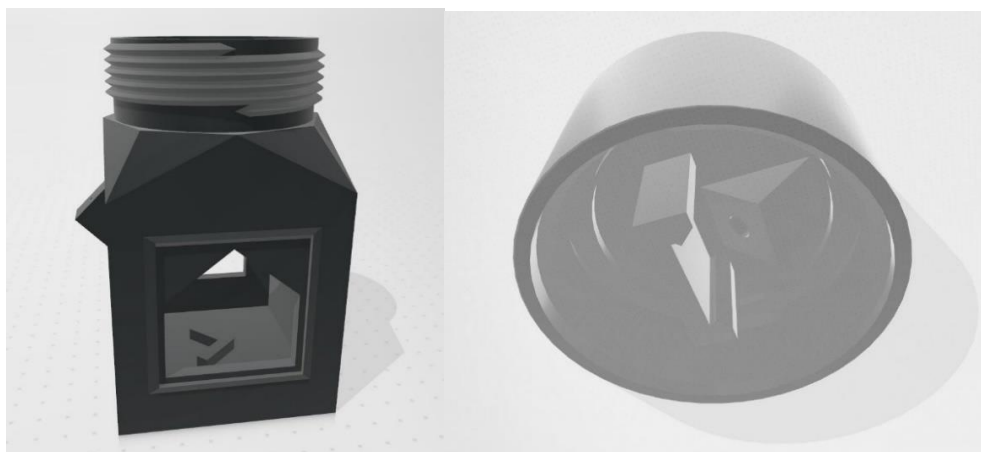


Obrázek 18 Exikátor s přichystanými vrstvami k měření při relativní vlhkosti 90 % (vlevo) a připravená vrstva podlepena na keramickou destičku oboustrannou páskou (vpravo)

3.9 Sestavení aparatury k měření a průběh měření

3.9.1 Sestrojení měřicí komory

Jednou z hlavních komponent k měření byla měřicí komora, jejíž nákres byl proveden v programu 3D Print. Následně dle předem vytvořeného nákresu proběhl tisk na 3D tiskárně 3D WOX 1 od firmy Sindoh. Nejdříve byla vytisknuta měřicí komora a následně víčko. Nákres i tisk byl proveden týmem z laboratoře fotochemie.



Obrázek 19 Nákres měřicí komory (vlevo) a víčka (vpravo) v programu 3D Print

Po vytažení z 3D tiskárny byla do měřicí komory z boční strany zaražena jehla, která byla i následně zalepena, aby došlo k dobrému utěsnění. Z přední i zadní strany měřicí komory byla do čtvercových otvorů nalepena vhodně velká čtvercová sklička, aby došlo taktéž k dobrému utěsnění. Do měřicí komory byl na dno dán nasycený roztok heptahydrátu síranu zinečnatého pro udržení relativní vlhkosti 90 %. Do víčka byla na pevno pod úhlem 45° zasazena měřicí sonda od přístroje Spektrometr USB 650 UV od firmy Ocean Insight. Takto vyrobená měřicí komora byla připravena k dalšímu použití.

3.9.2 Příprava k měření a nutná nastavení

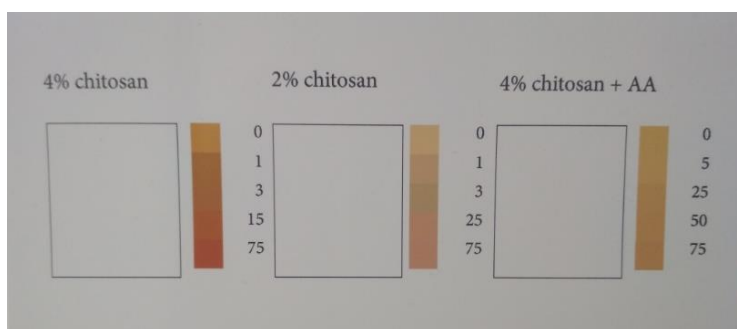
Před samotným měřením byl nejdříve zapojen spektrometr a současně byl spuštěn program Ocean View. Z exikátoru byla vytažena keramická destička, kdy z jedné strany byl nalepen daný vzorek o délce 3 cm v podobě připravené vrstvy a zbylá plocha destičky zůstala přirozeně bílá. Destička z bílé strany byla zasunuta do vnitřní strany víčka a byla podlepena průhlednou lepící páskou ze zadní strany. Těsně k destičce směřovala sonda pod úhlem 45° . V programu Ocean View došlo k vynulování na bílou barvu (blank, reflektance 100%). Dále bylo v programu nastaveno, aby v průběhu následujícího měření docházelo k automatickému snímání hodnot reflektance a vlnové délky po dobu 30 minut každý 30. sken. Poté byla keramická destička vyjmuta z vnitřní strany víčka a byla otočena na stranu, kde byl podlepen vzorek. Opět došlo k zalepení této destičky, aby při měření nedošlo k jejímu uvolnění. Do vnitřní strany měřicí komory byla vložena kádinka o objemu 10 ml s příslušnou navázkou chloridu amonného. Na vrchní část měřicí komory bylo umístěno těsnění a poté bylo víčko i s uchyceným vzorkem pomalu zašroubováno k měřicí komoře. Následně bylo do injekční stříkačky nabráno 5 ml předem připraveného roztoku hydroxidu sodného. Byly manuálně zaznamenány L^* , a^* , b^* hodnoty dále také C^* , h^* v čase 0 minut. Poté byla z boku měřicí komory zaražena injekční stříkačka do předem upevněné jehly. Objem injekční stříkačky byl dávkován do měřicí komory, současně bylo zapnuto předem nastavené měření a současně také byly zapnuty stopky. Hodnoty L^* , a^* , b^* dále také C^* , h^* byly manuálně snímány v dalších časech až do 30. minuty, kdy bylo měření ukončeno. Data byla následně vyhodnocena. Z toho důvodu, že nebylo možné vidět změnu barvy u připravené vrstvy během měření, byla na základě hodnot L^* , a^* , b^* provedena barevná vizualizace pomocí programu Adobe Photoshop CS2.



Obrázek 20 Aparatura připravena k měření

3.10 Příprava experimentů s masem

Pro experimenty s masem byly vybrány vrstvy, které byly vyrobeny z kompozic: D, E, G. Tyto vrstvy byly následně nastříhány na stejnou velikost, jako při měření na 3×2,5 cm a byly ponechány k dalšímu použití. Následně byl na základě předešlého měření a barevných vizualizací vytvořen štítek v programu Photoshop. Tento štítek byl vytisknut ve čtyřech kopiích na lesklý fotopapír formátu A6 na barevné tiskárně Epson. Připravené vrstvy byly podlepeny na vytisknuté štítky pomocí oboustranné lepicí pásky.



Obrázek 21 Vytisknutý štítek připravený na nalepení zvolených vrstev

3.10.1 Příprava experimentů s kuřecím masem

3.10.1.1 Použití sáčků

Pro první sadu experimentů bylo zakoupeno 500 g kuřecích prsou v řetězci Steinhauser, s.r.o. Maso bylo rozděleno a odváženo na dvě poloviny o stejné hmotnosti, kdy každá část měla hmotnost 250 g. Takto odvážené maso bylo opatrně vloženo do vakuovacího sáčku Maxxo tak, aby nedošlo ke znečištění vnitřní strany sáčku. Následně byl podlepen štítek s vybranými vrstvami z vnitřní vroubkované strany sáčku pomocí průhledné lepicí pásky. Takto připravený sáček byl zataven pomocí vakuové baličky a svářečky Maxxo VM Profi, sáček byl pouze zataven nikoliv zavakuován. Takto připravený sáček byl vložen do plastové vaničky. Byly celkem dva takovéto sáčky, které byly popsány a následně vyfoceny. První sáček byl vložen do lednice, kde byla udržována teplota 8 °C. Druhý sáček byl vložen do termostatu, kde byla tma a byla udržována teplota 26 °C. Díky tomu, že bylo maso uloženo v termostatu, nedocházelo k vystavení masa dennímu světlu, což by mohlo výrazně ovlivnit experiment. K focení takto připravených sáčků docházelo vždy jednou denně a ve stejný čas.

3.10.1.2 Použití plastové nádoby

Pro druhou sadu experimentu bylo zakoupeno 250 g kuřecích prsních filet v řetězci Steinhauser, s.r.o. Do plastové otevřené nádoby bylo odváženo 15,2091 g hydroxidu sodného a následně byla tato nádoba vložena do větší plastové nádoby. Kolem nádoby s hydroxidem bylo opatrně vloženo navážené maso a následně byl do vrchní části podlepen štítek s danými vrstvami. Nádoba byla řádně uzavřena, zalepena páskou a uchovávána ve tmě při teplotě 26 °C. Stejně jako v předešlém případě docházelo k pořizování snímků ve stejných časových intervalech jednou denně.

3.10.2 Příprava experimentu s rybou

Pro daný experiment byl v rybárně zakoupen čerstvý pstruh o hmotnosti 250 g, který byl prodejcem vykuchán. Pstruh byl důkladně umyt, vysušen a následně byl opatrně vložen do vakuovací fólie Maxxo, která byla předem zatavena ze spodní strany. Bylo dbáno na to, aby nedošlo ke znečištění vnitřní strany sáčku. Následně byl podlepen štítek s vybranými vrstvami z vnitřní vroubkované strany sáčku pomocí průhledné lepící pásky. Takto připravený sáček byl zataven pomocí vakuové baličky a svářečky Maxxo VM Profi, sáček byl pouze zataven nikoliv zavakuován. Takto připravený sáček byl vložen do plastové vaničky a následně do termostatu, kde byla tma a současně byla udržována teplota 26 °C. K focení takto připravených sáčků docházelo vždy jednou denně a ve stejný čas.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Převážnou většinou experimentální části bylo měření barevnosti připravených vrstev za pomoci Spektrometru USB 650 UV. Konkrétně se jednalo o snímání L^* , a^* , b^* , C^* , h^*_{ab} hodnot v časových intervalech 0–30 minut a za působení různé koncentrace amoniaku. Druhou částí experimentu byla následná aplikace vybraných vrstev do balení s reálným vzorkem masa. Tyto vzorky s masem byly v pravidelných časových intervalech foceny a na základě těchto pořízených fotografií byla vyhodnocena jejich barevná změna.

4.1 Měření vrstev vyrobených z 2% chitosanu

Z 2% roztoku chitosanu, jehož přípravu najdeme v kapitole 3.2.1 byly připraveny celkem čtyři kompozice (A, B, C, D), jejichž složení můžeme najít v Tabulce 5. Z takto připravených kompozic byly připraveny kompaktní vrstvy žluto-oranžové barvy dle postupu v kapitole 3.5. Následně bylo s vrstvami nakládáno dle postupu v kapitole 3.8 a 3.9.

4.1.1 Vrstvy bez přídavku glycerolu

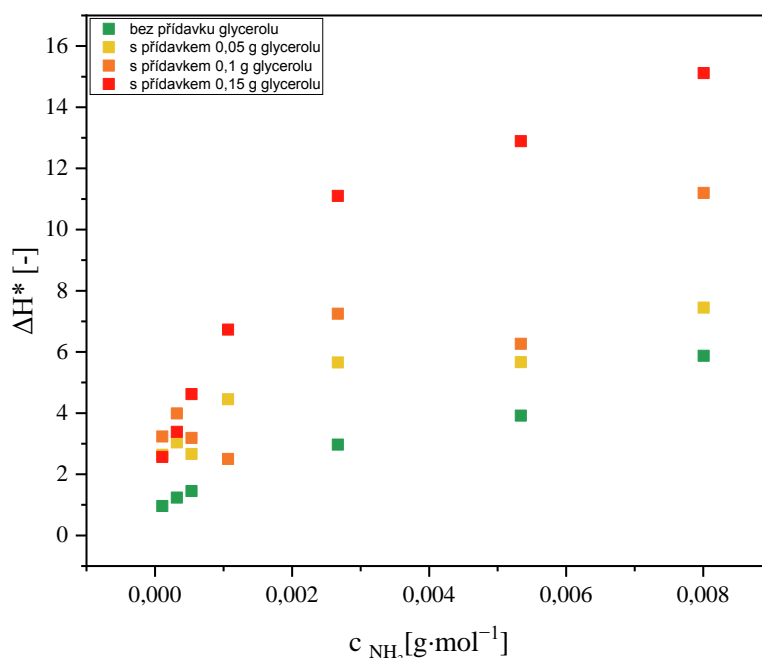
Vrstvy vyrobené z kompozice A (tedy z kompozice, která obsahovala pouze chitosan a kurkumin) byly postupně proměřeny v přítomnosti různých množství amoniaku (75, 50, 25, 5, 3 a 1 mg). Během měření docházelo ke snímání již zmíněných L^* , a^* , b^* , C^* , h^*_{ab} hodnot v časovém rozpětí nejdříve deset minut, následně bylo toto časové rozpětí zvýšeno na třicet minut. Z takto naměřených hodnot byl vždy vypočítán rozdíl hodnot v čase 0 od hodnot v čase 30 minut. Výsledky z těchto výpočtů byly nezbytné pro další použití například pro výpočet barvové odchylky (ΔE^*_{ab}), či odchylky odstínu (ΔH^*), které byly používány pro posouzení citlivosti vyrobených vrstev. Výpočet barvové odchylky a odchylky odstínu byl proveden dle rovnic (8) a (11). Výsledky těchto výpočtů z naměřených dat pro vrstvu bez přídavku glycerolu mohou být pozorovány v Tabulce 9.

Tabulka 8 Vypočítané hodnoty z naměřených dat pro vrstvy z 2% chitosanu bez přídavku glycerolu

bez přídavku glycerolu								
m_{NH_3} [mg]	c_{NH_3} [mol·l ⁻¹]	ΔL	Δa	Δb	ΔC	Δh	ΔE^*_{ab}	ΔH^*
75	0,0080	-2,24	4,91	-5,18	-4,06	-7,74	7,48	5,87
50	0,0053	0,39	3,86	-0,67	0,18	-6,28	3,94	3,91
25	0,0027	-0,47	2,36	-4,21	-3,81	-3,87	4,85	2,97
5	0,0005	-3,77	0,85	-6,63	-4,48	-2,08	6,04	1,45
3	0,0003	-1,01	1,12	-1,11	-0,97	-1,82	1,87	1,24
1	0,0001	1,55	0,92	-0,40	-0,29	-1,36	1,85	0,96

Na základě vypočítaných hodnot můžeme vidět, že u některých měření dochází k výraznějšímu kolísání měrné světlosti L^* u připravených vrstev. Největší výkyv byl zaznamenán při měření v přítomnosti 5 mg amoniaku a dále pak při 75 mg amoniaku. Kolísání měrné světlosti se poté projevilo i na barvové odchylce, která vychází mimo hodnoty a^* a b^* i právě z měrné světlosti. Na základě barvové odchylky a Tabulky 4 můžeme usoudit, že v přítomnosti 75 mg amoniaku je barevná změna výrazná a okem vcelku dobře postřehnutelná. V přítomnosti 50, 25 a 5 mg amoniaku byla barevná změna středně velká a okem stále postřehnutelná. Při nižších množstvích amoniaku byla barevná změna postřehnutelná ovšem nijak výrazná. Protože se při reakci s amoniakem mění poměrně výrazně i měrná světlost, je použití veličiny odchylky odstínu ΔH^* vhodnější než použití barvové odchylky ΔE^*_{ab} . Bylo využito odchylky odstínu ΔH^* pro vynesení závislosti na koncentraci amoniaku. Tato závislost byla vynesena u vrstev z 2% chitosanu nejdříve bez přídavku glycerolu a s následným postupným přidáním glycerolu v množství 0,05, 0,1 a 0,15 g. Pro větší přehlednost byly tyto závislosti vloženy do jednoho grafu, který je znázorněn na Obrázku 22. Na tuto závislost bude odkazováno v textu v rámci vrstev s postupným přidáváním glycerolu. Na základě této závislosti byla hodnocena citlivost připravených vrstev.

Součástí měření byla i chroma, která udává sytost, či brilanci barvy. Na základě naměřených a následně i vypočítaných hodnot bylo zjištěno, že v průběhu času se současným působením daného množství amoniaku na měřenou vrstvu, dochází k poklesu chromy. Brilance či sytost barvy tedy klesá, ale ke změně odstínu i přesto dochází.



Obrázek 22 Závislost odchylky odstínu na koncentraci amoniaku pro vrstvy z 2% chitosanu bez přídavku glycerolu a s postupným přidáváním 0,05, 0,1 a 0,15 g glycerolu

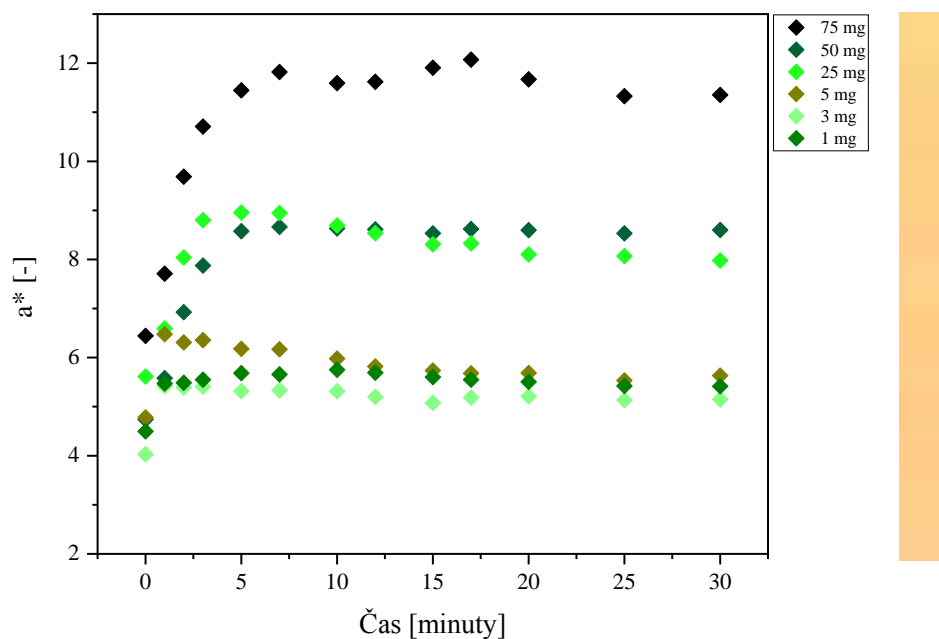
Na Obrázku 22 může být pozorováno, že závislost odchylky odstínu na koncentraci amoniaku pro vrstvu bez přídavku glycerolu je téměř lineární, z toho může být vyvozeno, že s rostoucím množstvím přítomného amoniaku, roste také odchylka odstínu. Lépe řečeno, čím je více přítomného amoniaku, tím je vybarvení vrstvy větší a dobře postřehnutelné. Kromě barvové odchylky a odchylky odstínu byla důležitým parametrem pro hodnocení vrstev především hodnota a^* .

Na základě hodnoty a^* byla posuzována barevná odezva připravených vrstev a v kombinaci s časem byla také sledována rychlost této barevné odezvy. Při představě barvového prostoru může být předem nastíněno, v jaké části se budou vzorky nacházet. Žádaný přechod je ze žluté barvy do červených odstínů, bude se tedy jednat o rychlost červenání. Osa b^* (modrá – žlutá) a osa a^* (zelená – červená). Požadovaná barva je červená, hodnota a^* tedy bude narůstat do kladných hodnot a tím, že vrstva bude červenat, bude naopak ubývat barvy žluté, hodnota b^* bude tedy naopak klesat. Naměřené hodnoty a^* v uvedených časech při různém množství amoniaku pro vrstvy bez přídavku glycerolu jsou uvedeny v Tabulce 10.

Tabulka 9 Hodnota a^* naměřená v jednotlivé časy při různých množstvích amoniaku pro vrstvy z 2% chitosanu bez přídavku glycerolu

Množství NH ₃ [mg]	75	50	25	5	3	1
Čas [minuty]	a^* [-]					
0	6,44	4,74	5,62	4,78	4,03	4,50
1	7,71	5,58	6,59	6,48	5,42	5,47
2	9,69	6,93	8,04	6,31	5,39	5,49
3	10,71	7,87	8,80	6,36	5,41	5,55
5	11,45	8,58	8,96	6,18	5,32	5,68
7	11,82	8,66	8,95	6,17	5,33	5,66
10	11,59	8,63	8,69	5,98	5,31	5,75
12	11,62	8,61	8,53	5,82	5,20	5,69
15	11,91	8,53	8,31	5,74	5,08	5,60
17	12,07	8,62	8,33	5,68	5,19	5,55
20	11,67	8,60	8,10	5,69	5,21	5,51
25	11,33	8,53	8,07	5,53	5,13	5,42
30	11,35	8,60	7,98	5,63	5,15	5,42

Na základě Tabulky 10 je znatelné, že v počátku měření docházelo k nárůstu hodnoty a^* v čase. Postupně docházelo k ustálení těchto hodnot, které pokračovalo až do ukončení měření. Dle číselných hodnot uvedených v Tabulce 10 a následně i přiloženého grafu na Obrázku 23 může být pozorováno, že nejvyšších hodnot a^* bylo dosaženo v přítomnosti 75 mg amoniaku a následně docházelo s ubývajícím množstvím amoniaku k postupnému snižování hodnoty a^* . Největší vybarvení vrstvy docházelo tedy v přítomnosti 75 mg amoniaku. Na základě L^* , a^* , b^* hodnot byly provedeny barevné vizualizace. Byl vybrán barevný přechod vrstvy v přítomnosti 75 mg amoniaku v čase 0–30 minut, tato barevná vizualizace je přiložena vedle grafu na Obrázku 23.



Obrázek 23 Závislost a^* na čase u vrstev z 2% chitosanu bez přídavku glycerolu a barevná vizualizace vrstvy v přítomnosti 75 mg amoniaku v časovém rozpětí 0–30 minut

Připravená vrstva byla citlivá na přítomný amoniak, a to i při nižších koncentracích, avšak barevná odezva byla vcelku malá. Z toho důvodu byly zvoleny další postupy v podobě přidání glycerolu, od kterého bylo očekáváno, že způsobí daleko znatelnější vybarvení vrstev.

4.1.2 Vrstvy s přídavkem 0,05 g glycerolu

Vrstvy vyrobené z kompozice B (tedy z kompozice, která obsahovala chitosan, kurkumin a přídavek 0,05 g glycerolu) byly také postupně proměřeny v přítomnosti různých množství amoniaku (75, 50, 25, 10, 5, 3 a 1 mg). Během měření docházelo ke snímání již zmíněných L^* , a^* , b^* , C^* , h^*_{ab} hodnot v časovém rozpětí 30 minut. Zpracování výsledků probíhalo na stejném principu jako u vrstev bez přídavku glycerolu. Zpracované výsledky a následné výpočty z naměřených dat mohou být pozorovány v Tabulce 11.

Tabulka 10 Vypočítané hodnoty z naměřených dat pro vrstvy z 2% chitosanu s přidavkem 0,05 g glycerolu

s přidavkem 0,05 g glycerolu								
m_{NH_3} [mg]	c_{NH_3} [mol·l ⁻¹]	ΔL	Δa	Δb	ΔC	Δh	ΔE^*_{ab}	ΔH^*
75	0,0080	0,50	6,66	-4,48	-3,01	-7,67	8,05	7,45
50	0,0053	-1,98	4,29	-8,38	-7,52	-5,50	9,62	5,66
25	0,0027	-1,88	5,65	-5,26	-5,26	-6,98	7,94	5,65
10	0,0011	-0,52	4,17	-2,15	-1,48	-4,42	4,72	4,45
5	0,0005	-5,85	1,08	-8,85	-8,51	-3,05	10,67	2,67
3	0,0003	-1,20	2,50	-3,30	-2,82	-3,76	4,31	3,04
1	0,0001	-3,80	1,89	-4,55	-4,16	-3,26	6,22	2,64

I v tomto případě může být na základě vypočítaných hodnot pozorováno, že docházelo ke kolísání měrné světlosti L^* . V případě vrstvy vystavené 5 mg amoniaku docházelo k největší změně měrné světlosti. Při posouzení barvové odchylky bylo pozorováno, že u vrstev v přítomnosti 3 a 10 mg amoniaku docházelo ke střednímu rozdílu barev za časové rozpětí 30 minut. Vrstvy vystavené zbylým množstvím amoniaku dosahovaly hodnot barvové odchylky v intervalu 6–12, u těchto vzorků může být konstatováno, že byl barevný rozdíl výrazný. Byla vynesena závislost odchylky odstínu na koncentraci amoniaku, kterou je možné vidět na Obrázku 22. I zde je patrné, že k vybarvení vrstev dochází, ale při hodnocení chromy můžeme vidět, že klesá sytost připravených vrstev.

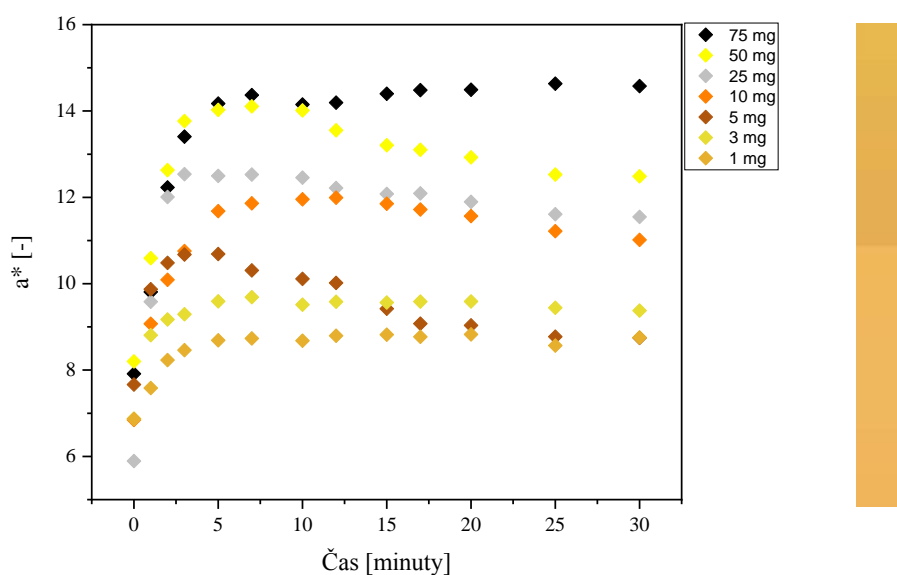
Na Obrázku 22 a dle vypočítaných odchylek odstínu můžeme vidět, že u vrstev v přítomnosti nižšího množství amoniaku, tím je myšleno 5, 3 a 1 mg amoniaku, je odchylka odstínu téměř stejná. Následně dochází s rostoucím množstvím amoniaku k nárůstu odchylky odstínu, avšak například mezi 25 a 50 mg amoniaku není tento nárůst příliš znatelný naopak mezi 50 a 75 mg amoniaku je tento nárůst lépe viditelný. Na základě i nepatrného nárůstu odchylky odstínu v závislosti na koncentraci amoniaku, může být konstatováno, že čím je koncentrace přítomného amoniaku vyšší, tím je připravená vrstva citlivější a vybarvení vrstvy je dobře postřehnutelné. Důležitým naměřeným parametrem byla opět hodnota a^* . Naměřené hodnoty a^* v jednotlivé časy za působení daných množství amoniaku jsou uvedeny v Tabulce 12.

Tabulka 11 Hodnota a^* naměřená v jednotlivé časy při různých množstvích amoniaku pro vrstvy z 2 % chitosanu s přidavkem 0,05 g glycerolu

Množství NH ₃ [mg]	75	50	25	10	5	3	1
Čas [minuty]	a^* [-]						
0	7,91	8,20	5,90	6,85	7,67	6,87	6,87
1	9,81	10,59	9,58	9,07	9,87	8,81	7,59
2	12,23	12,63	12,01	10,09	10,48	9,17	8,23
3	13,41	13,77	12,54	10,76	10,68	9,30	8,46
5	14,17	14,03	12,50	11,68	10,69	9,59	8,69
7	14,37	14,11	12,53	11,86	10,31	9,69	8,73
10	14,15	14,01	12,46	11,96	10,11	9,52	8,68
12	14,19	13,55	12,22	11,99	10,02	9,58	8,79
15	14,40	13,21	12,08	11,85	9,42	9,57	8,82
17	14,48	13,10	12,09	11,72	9,08	9,59	8,77
20	14,49	12,93	11,90	11,57	9,04	9,59	8,83
25	14,63	12,53	11,61	11,22	8,78	9,44	8,57
30	14,58	12,49	11,55	11,02	8,75	9,38	8,76

V Tabulce 12 můžeme vidět postupný nárůst hodnot a^* spolu s časem, kdy ve většině případů dochází k nárůstu zhruba do 10. minuty a poté nastane ustálení příslušné barvy až do ukončení měření. V některém případě docházelo k lehkému poklesu hodnot a^* , což může být zapříčiněno drobnou netěsností měřicí komory. Na základě hodnot a^* můžeme vidět, že v přítomnosti 75 mg amoniaku docházelo k největší barevné změně především v porovnání při působení nižších množstvích amoniaku. U vrstev docházelo k nárůstu hodnot a^* a naopak k poklesu hodnot b^* , u vrstev tedy docházelo k postupnému červenání v čase, a naopak vrstva ubírala na žluté barvě. Na Obrázku 24 byla vynesena závislost a^* na čase při jednotlivých množstvích amoniaku a byla provedena barevná vizualizace na základě L^* , a^* , b^* hodnot. Byl vybrán barevný přechod vrstvy v přítomnosti 75 mg amoniaku v čase 0–30 minut, tato barevná vizualizace je přiložena vedle grafu na Obrázku 24.

Na Obrázku 24 může být pozorováno, že k barevné odezvě vrstev docházelo i v přítomnosti 1 mg amoniaku, z čehož můžeme usuzovat, že připravené vrstvy byly na amoniak velmi citlivé i na takto malé množství amoniaku. U jednotlivých vrstev v přítomnosti amoniaku docházelo k nárůstu hodnot a^* spolu s časem a poté docházelo k následnému ustálení hodnot až do ukončení měření. U měření vrstvy v přítomnosti 5 mg amoniaku však došlo k nárůstu hodnot a^* do přibližně 5. minuty a následoval mírný pokles na místo ustálení daných hodnot. Podobně tomu tak bylo i u vrstev v přítomnosti 50 mg amoniaku. Tento jev může být vysvětlen tím, že patrně došlo ke špatnému utěsnění měřicí komory, nebo slabé adsorpci amoniaku na připravenou vrstvu. Vrstvy připravené s přidavkem 0,05 g glycerolu byly kompaktní a reagovaly na vznikající amoniak ovšem barevná změna stále nebyla tolik výrazná, z toho důvodu byly připraveny další vrstvy s vyšším přidavkem glycerolu.



Obrázek 24 Závislost a^* na čase u vrstev z 2 % chitosanu s přidavkem 0,05 g glycerolu a barevná vizualizace vrstvy v přítomnosti 75 mg amoniaku v časovém rozpětí 0–30 minut

4.1.3 Vrstvy s přidavkem 0,1 g glycerolu

Vrstvy vyrobené z kompozice C (tedy z kompozice, která obsahovala chitosan, kurkumin a přidavek 0,1 g glycerolu) byly postupně proměřeny v přítomnosti různých množství amoniaku (75, 50, 25, 10, 5, 3 a 1 mg) obdobně jako u předešlých vrstev. Během měření docházelo ke snímání již zmíněných L^* , a^* , b^* , C^* , h^*_{ab} hodnot v časovém rozpětí 30 minut. Zpracování výsledků probíhalo na stejném principu jako u předešlých vrstev. Zpracované výsledky a následné výpočty z naměřených dat můžeme vidět v Tabulce 13.

Tabulka 12 Vypočítané hodnoty z naměřených dat pro vrstvy z 2% chitosanu s přidavkem 0,1 g glycerolu

s přidavkem 0,1 g glycerolu								
m_{NH_3} [mg]	C_{NH_3} [mol·l ⁻¹]	ΔL	Δa	Δb	ΔC	Δh	ΔE^*_{ab}	ΔH^*
75	0,0080	-3,64	9,71	-9,08	-7,17	-12,06	13,78	11,19
50	0,0053	-3,38	6,00	-6,91	-6,66	-8,05	9,75	6,27
25	0,0027	-3,33	5,54	-10,21	-9,08	-8,60	12,08	7,25
10	0,0011	-0,09	1,92	-5,17	-4,92	-2,72	5,52	2,50
5	0,0005	0,28	3,11	-0,80	-0,37	-3,38	3,22	3,19
3	0,0003	-3,11	3,20	-6,68	-6,24	-4,54	8,03	3,99
1	0,0001	0,97	3,09	-1,44	-1,09	-3,49	3,55	3,24

U vrstev s přísávkem 0,1g glycerolu docházelo obdobně jako u předešlých vrstev ke kolísání měrné světlosti, což se projevílo u některých měření na výsledcích barvové odchylky. U vrstev opět docházelo k poklesu chromy, z čehož můžeme usoudit, že u vrstev klesala sytost barev. Na základě barvové odchylky může být pozorováno, že při 75 a 25 mg přítomného amoniaku v měřicí komoře byl rozdíl barev po 30 minutách velmi výrazný. Dokonce i u nižších množstvích byla pozorována barevná změna ovšem ne tak zřatelná jako v přítomnosti vyššího množství amoniaku. Může to být vysvětlen tím, že vznikající amoniak pronikal do měřené vrstvy pomaleji, ale následně při proniknutí vytvořil alkalické prostředí, které vedlo ke změně barvy přítomného barviva kurkuminu. Byla spočítána odchylka odstínu, jejíž závislost na koncentraci amoniaku byla vynesena do grafu, který může být pozorován na Obrázku 22.

Dále na Obrázku 22 lze pozorovat, že u nižších koncentrací amoniaku (tím je myšleno rozmezí od 1–10 mg amoniaku) nabývají odchylky odstínu velmi podobných hodnot. Až u vyšších koncentrací amoniaku dochází k nárůstu odchylek odstínu. U těchto vrstev byla i na základě hodnot barvových odchylek vyhodnocena zřatelná až velmi výrazná barevná odezva.

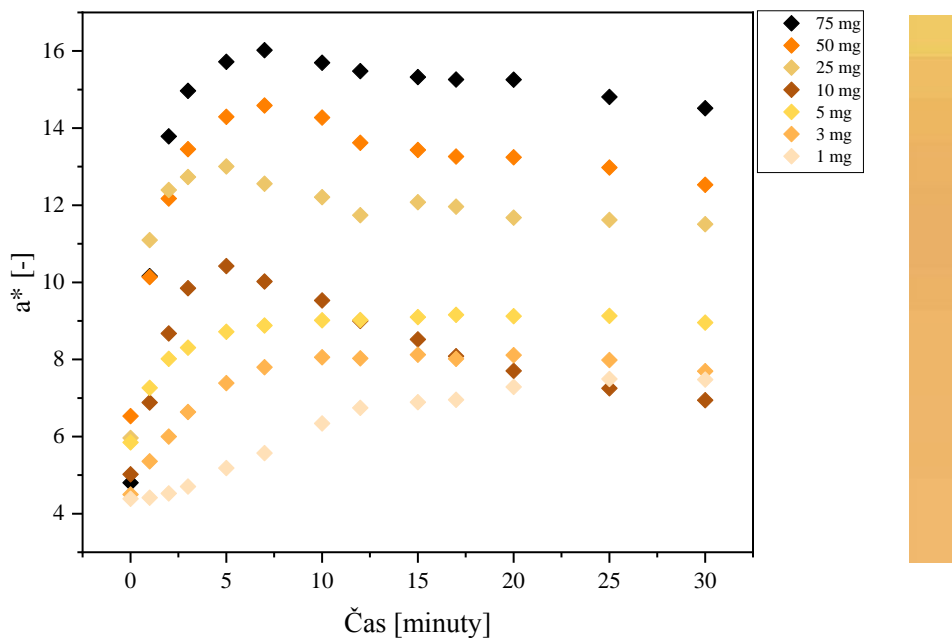
Důležitým naměřeným parametrem byla opět hodnota a^* , která nám udává, jak vrstvy červení v čase. Naměřené hodnoty a^* v jednotlivé časy za působení daných množstvích amoniaku jsou uvedeny v Tabulce 14.

Tabulka 13 *Hodnota a^* naměřená v jednotlivé časy při různých množstvích amoniaku pro vrstvy z 2% chitosanu s přísávkem 0,1 g glycerolu*

Množství NH ₃ [mg]	75	50	25	10	5	3	1
Čas [minuty]	a^* [-]						
0	4,80	6,53	5,97	5,02	5,85	4,50	4,39
1	10,16	10,14	11,10	6,89	7,26	5,36	4,41
2	13,79	12,18	12,39	8,67	8,02	6,00	4,53
3	14,97	13,45	12,73	9,85	8,30	6,64	4,70
5	15,72	14,29	13,01	10,42	8,72	7,39	5,18
7	16,02	14,59	12,56	10,02	8,88	7,80	5,57
10	15,70	14,27	12,21	9,53	9,02	8,06	6,34
12	15,48	13,62	11,74	9,00	9,02	8,03	6,74
15	15,33	13,43	12,08	8,52	9,10	8,12	6,89
17	15,26	13,27	11,96	8,09	9,16	8,02	6,96
20	15,26	13,24	11,68	7,70	9,12	8,11	7,29
25	14,81	12,98	11,62	7,25	9,13	7,99	7,49
30	14,51	12,53	11,51	6,94	8,96	7,70	7,48

V Tabulce 14 lze pozorovat nárůst hodnot a^* spolu s časem. Můžeme postřehnout, že u vrstev docházelo k nárůstu hodnot a^* do přibližně 10. minuty a následně docházelo k ustálení těchto hodnot do ukončení měření. Ve výjimečných případech došlo k mírnému poklesu hodnot a^* , což mohlo být způsobeno špatným utěsněním měřicí komory. Nejvyšších hodnot a^* dosahovala vrstva vystavena nejvyššímu množství amoniaku, což bylo 75 mg naopak nejnižších hodnot a^* dosahovala vrstva v přítomnosti 1 mg amoniaku. Dle výsledků můžeme usoudit, že s rostoucím množstvím amoniaku, dochází k nárůstu hodnot a^* a tedy i k červení vrstev v závislosti

na čase. Závislost hodnot a^* na čase u vrstev s přidavkem 0,1 g glycerolu je znázorněna na Obrázku 25.



Obrázek 25 Závislost a^* na čase u vrstev z 2 % chitosanu s přidavkem 0,1 g glycerolu a barevná vizualizace vrstvy v přítomnosti 75 mg amoniaku v časovém rozpětí 0–30 minut

Na Obrázku 25 může být pozorováno, že k barevné odezvě vrstev docházelo v přítomnosti všech naměřených množství amoniaku. Ovšem vrstva v přítomnosti 1 mg amoniaku reagovala velmi pozvolným nárůstem v porovnání s barevnou odezvou vrstvy vystavené 75 mg amoniaku. U měření vrstvy v přítomnosti 10 mg amoniaku došlo k nárůstu hodnot a^* do 7. minuty a následoval mírný pokles na místo ustálení daných hodnot. Tento jev může být vysvětlen tím, že patrně došlo ke špatnému utěsnění měřicí komory, nebo slabé adsorpci amoniaku na připravenou vrstvu. U ostatních vrstev lze vidět pěkný kaskádový růst hodnot a^* s časem v přítomnosti daných množství amoniaku. Docházelo k červenání vrstev v čase a následnému ustálení dané barvy. Součástí Obrázku 25 je barevná vizualizace vrstvy, která byla provedena na základě L^* , a^* , b^* hodnot. Jednalo se o vrstvu, která byla měřena v přítomnosti 75 mg amoniaku v časovém rozpětí 0–30 minut.

4.1.4 Vrstvy s přidavkem 0,15 g glycerolu

Vrstvy vyrobené z kompozice D (tedy z kompozice, která obsahovala chitosan, kurkumin a přidavek 0,15 g glycerolu) byly postupně proměřeny v přítomnosti různých množství amoniaku (75, 50, 25, 10, 5, 3 a 1 mg) obdobně jako u předešlých vrstev. Během měření docházelo ke snímání již zmíněných L^* , a^* , b^* , C^* , h^*_{ab} hodnot v časovém rozpětí 30 minut. Zpracování výsledků probíhalo na stejném principu jako u předešlých vrstev. Zpracované výsledky a následné výpočty z naměřených dat můžeme vidět v Tabulce 15.

Tabulka 14 Vypočítané hodnoty z naměřených dat pro vrstvy z 2% chitosanu s přidavkem 0,15 g glycerolu

s přidavkem 0,15 g glycerolu								
m_{NH_3} [mg]	c_{NH_3} [mol·l ⁻¹]	ΔL	Δa	Δb	ΔC	Δh	ΔE^*_{ab}	ΔH^*
75	0,0080	-8,09	12,80	-11,00	-7,50	-18,82	18,71	15,12
50	0,0053	-7,39	10,50	-10,74	-7,71	-15,04	16,74	12,89
25	0,0027	-11,84	9,50	-8,54	-6,31	-13,33	17,42	11,10
10	0,0011	-4,33	5,63	-6,31	-5,12	-7,86	9,50	6,73
5	0,0005	-6,97	3,82	-6,19	-5,62	-5,35	10,07	4,62
3	0,0003	-4,76	2,65	-5,33	-4,90	-4,04	7,62	3,39
1	0,0001	-2,23	1,79	-5,69	-5,38	-2,97	6,37	2,57

U vrstev s přidavkem 0,15 g glycerolu docházelo obdobně jako u předešlých vrstev ke kolísání měrné světlosti, což se projevilo na výsledcích barvové odchylky. U vrstev opět docházelo k poklesu chromy, díky tomu může být řečeno, že u vrstev klesala sytost (brilance) barev, avšak nikoliv k tomu, že by nedocházelo k barevné odezvě.

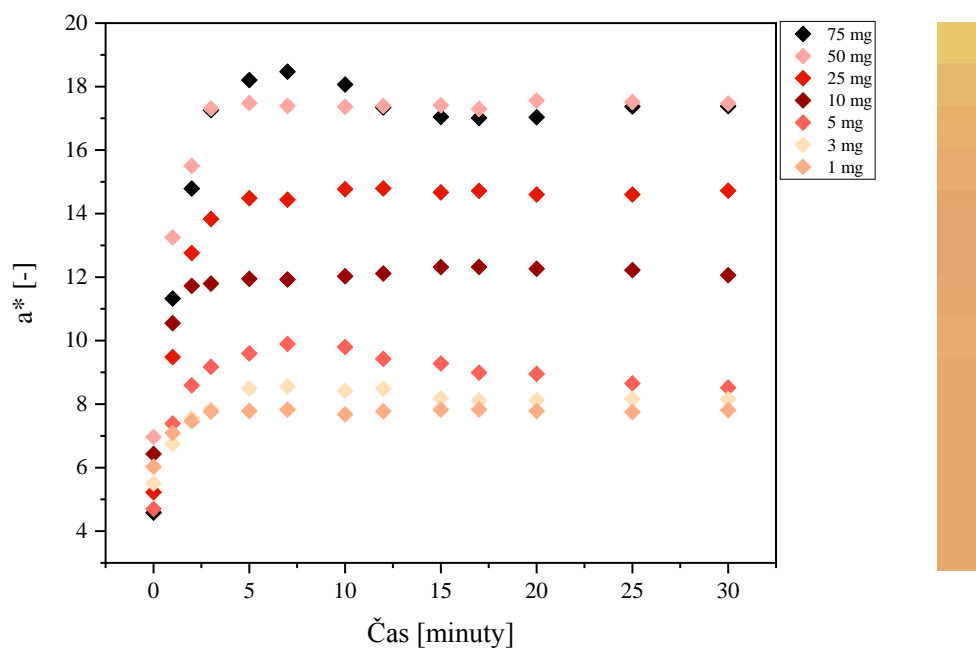
Na základě barvové odchylky může být pozorováno, že při 75, 50 a 25 mg přítomného amoniaku byl rozdíl barev za časový interval 30 minut velmi výrazný až rušící. U ostatních vrstev byl rozdíl taktéž výrazný, ovšem patrně méně než u vyšších množstvích amoniaku. Na základě vypočítané odchylky odstínu byla vynesena závislost této odchylky odstínu na koncentraci amoniaku. Tato závislost je uvedena na Obrázku 22, kde může být pozorováno, že odchylka odstínu roste s koncentrací amoniaku u vrstev s přidavkem 0,15 g glycerolu. Vrstvy byly citlivé na přítomný amoniak napříč množstvím od 75 mg do 1 mg amoniaku. U vrstev byla i na základě hodnot barvových odchylek vyhodnocena velmi výrazná až rušící barevná odezva.

Důležitým naměřeným parametrem byla opět hodnota a^* , která nám udává, jak vrstvy červenají v čase. Naměřené hodnoty a^* v jednotlivé časy za působení daných množstvích amoniaku jsou uvedeny v Tabulce 16.

Tabulka 15 Hodnota a^* naměřená v jednotlivé časy při různých množstvích amoniaku pro vrstvy z 2% chitosanu s přídavkem 0,15 g glycerolu

Množství NH ₃ [mg]	75	50	25	10	5	3	1
Čas [minuty]	a^* [-]						
0	4,58	6,96	5,22	6,43	4,70	5,50	6,03
1	11,32	13,25	9,48	10,55	7,39	6,75	7,09
2	14,79	15,50	12,76	11,72	8,59	7,56	7,46
3	17,26	17,31	13,83	11,80	9,17	7,84	7,76
5	18,21	17,48	14,49	11,95	9,60	8,49	7,78
7	18,47	17,39	14,44	11,93	9,89	8,56	7,83
10	18,07	17,36	14,77	12,03	9,80	8,42	7,68
12	17,34	17,39	14,80	12,11	9,42	8,49	7,77
15	17,04	17,41	14,67	12,32	9,28	8,18	7,83
17	17,01	17,30	14,72	12,32	8,99	8,12	7,83
20	17,04	17,56	14,60	12,26	8,95	8,12	7,79
25	17,37	17,51	14,60	12,22	8,65	8,16	7,75
30	17,38	17,47	14,72	12,06	8,52	8,15	7,81

V Tabulce 16 může být pozorován nárůst hodnot a^* spolu s časem. Může být postřehnuto, že u vrstev docházelo k nárůstu hodnot a^* do přibližně 7.–10. minuty a následně docházelo k ustálení těchto hodnot do ukončení měření. Ve výjimečných případech došlo k mírnému poklesu hodnot a^* , což mohlo být způsobeno špatným utěsněním měřicí komory. Nejvyšších hodnot a^* dosahovala vrstva vystavena nejvyššímu množství amoniaku, což bylo 75 mg, naopak nejnižších hodnot a^* dosahovala vrstva v přítomnosti 1 mg amoniaku. Dle výsledků může být usouzeno, že s rostoucím množstvím amoniaku, dochází k nárůstu hodnot a^* v závislosti na čase. Závislost hodnot a^* na čase u vrstev s přídavkem 0,15 g glycerolu je znázorněna na Obrázku 26.

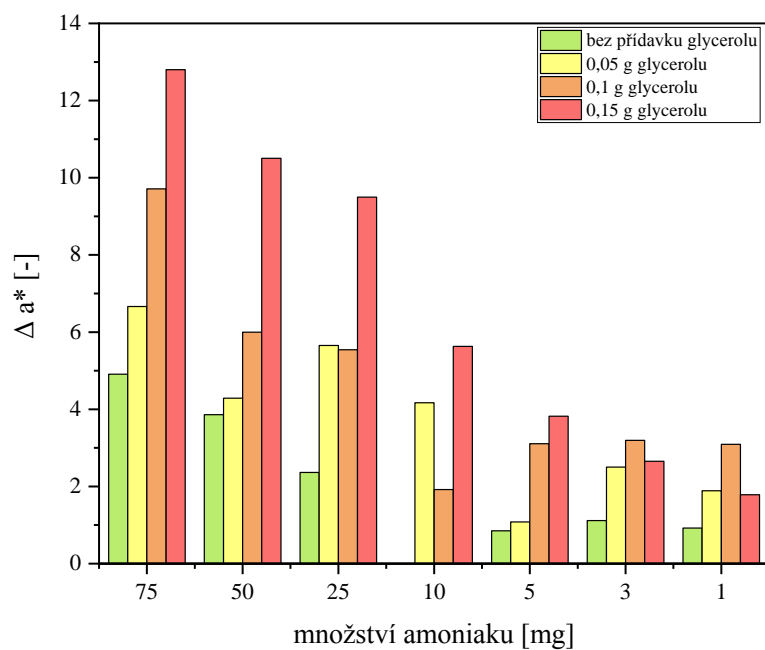


Obrázek 26 Závislost a^* na čase u vrstev z 2 % chitosanu s přidavkem 0,15 g glycerolu a barevná vizualizace vrstvy v přítomnosti 75 mg amoniaku v časovém rozpětí 0–30 minut

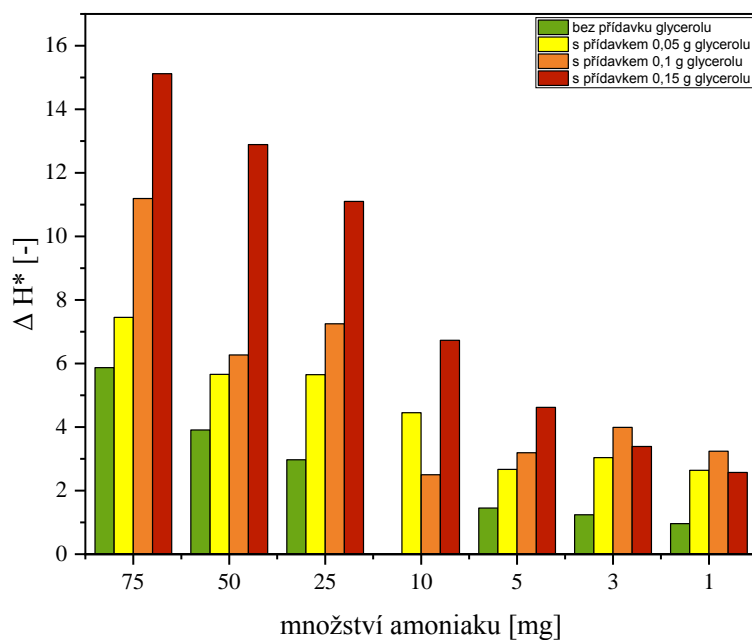
Na Obrázku 26 může být pozorováno, že k barevné odezvě vrstev docházelo v přítomnosti všech naměřených množství amoniaku. U vrstev lze vidět vcelku pěkný kaskádový růst hodnot a^* s časem v přítomnosti daných množství amoniaku. Docházelo k červenání vrstev v čase a následnému ustálení dané barvy. Součástí Obrázku 26 je vložena barevná vizualizace vrstvy, která byla provedena na základě L^* , a^* , b^* hodnot. Jednalo se o vrstvu, která byla měřena v přítomnosti 75 mg amoniaku v časovém rozpětí 0–30 minut a je zde vidět vcelku pěkně barevný přechod vrstev v závislosti na čase.

4.2 Vliv glycerolu na kolorimetrické vlastnosti vrstev z 2% chitosanu

Glycerol byl zvolen jako součást vrstev pro své vhodné vlastnosti. V první řadě se jedná o změkčovadlo a jeho přidáním do kompozice bylo zajištěno zlepšení mechanických vlastností vrstev. Glycerol je totiž hygroskopickou látkou a váže na sebe vodu. Použití glycerolu jako změkčovadla bylo z důvodu jeho dostupnosti a především proto, že v takto malém množství není pro člověka škodlivý. Takto připravené vrstvy tedy mohou přijít do kontaktu s potravinou. Z důvodu porovnání byla vynesena do sloupcového grafu závislost hodnot Δa^* na množství amoniaku pro vrstvy bez přidavku glycerolu a následně pro vrstvy s postupným přidavkem glycerolu. Tato závislost může být pozorována na Obrázku 27. Do druhého sloupcového grafu byla vynesena závislost hodnot ΔH^* na množství amoniaku pro tytéž vrstvy. Tato závislost může být pozorována na Obrázku 28.



Obrázek 27 Porovnání závislosti Δa^* na množství amoniaku pro vrstvy z 2% chitosanu bez glycerolu a vrstvy z 2% chitosanu s postupným přidavkem glycerolu



Obrázek 28 Porovnání závislosti ΔH^* na množství amoniaku pro vrstvy z 2% chitosanu bez glycerolu a vrstvy z 2% chitosanu s postupným přidavkem glycerolu

Při porovnání Obrázků 27 a 28 může být pozorováno, že dochází k téměř totožnému trendu. Je patrné, že u vrstev s přídavkem 0,15 g glycerolu docházelo k největšímu vybarvení především u vrstev v přítomnosti vyšších množství amoniaku. Naopak také můžeme vidět, že u vrstev bez přídavku glycerolu docházelo v porovnání s ostatními k velmi malému vybarvení. Z uvedeného grafu vyplývá, že glycerol měl významný vliv na vybarvení připravených vrstev. Připravené vrstvy z kompozice A, B, a C byly kompaktní, celistvé a barevně reagovaly na vzniklý amoniak, ale díky měření byla vrstva z kompozice D, tedy vrstva s přídavkem 0,15 g glycerolu vyhodnocena, jako vrstva s největší barevnou odezvou, s velkou citlivostí na přítomný amoniak, a navíc s dobrou strukturou. Na základě těchto měření o vlivu glycerolu, byl během dalších příprav vrstev zohledněn tento fakt a ve většině případů byly dále připravovány vrstvy s přídavkem 0,15 g glycerolu. O studování vlivu glycerolu na intenzitu vybarvení vrstev se v minulosti zabývalo několik autorů.

Ve studiích [71], [110], [111] byl popsán vliv glycerolu na vybarvení vrstev ze škrobu, dále blendu chitosanu se želatinou a polyvinylalkoholu. U vrstev na bázi jakéhokoliv polymeru s přídavkem glycerolu docházelo k tomu, že vrstvy byly hladké a vzhledově přijatelné, a především u nich docházelo ke znatelnějšímu vybarvení. Tento jev byl vysvětlen tím, že glycerol se zakomponuje do příslušného polymeru a pomůže zvýšit vzdálenost mezi danými řetězci. Tím, že dojde ke zvýšení vzdálenosti mezi řetězci, tak se současně sníží přitažlivost vodíkových vazeb mezi řetězci, což má za následek usnadnění pohybu řetězce, slabší strukturu řetězce a díky tomu i větší flexibilitu výsledné vrstvy. Díky větší pohyblivosti řetězců polymeru se výrazně zvýší difúzní koeficient plynů do vrstev, a tím je umožněna rychlejší reakce s barvivem.

4.3 Způsoby snížení pH vrstev vyrobených z 2% chitosanu

Připravené vrstvy z 2% chitosanu byly tedy citlivé na přítomný amoniak a na základě přítomnosti amoniaku docházelo k vybarvení daných vrstev i při nízkých koncentracích amoniaku. Z toho důvodu byla provedena kalibrace připravených vrstev, kdy mělo být docíleno toho, že dojde k jisté zádrži amoniaku pomocí okyselujícího komponentu. A teprve poté dojde k barevné změně. Jako okyselující komponent, byla vyzkoušena kyselina citrónová, či použití tiskařského laku, jejichž výsledky jsou uvedeny dále.

4.3.1 Vpravení kyseliny citrónové do kompozice

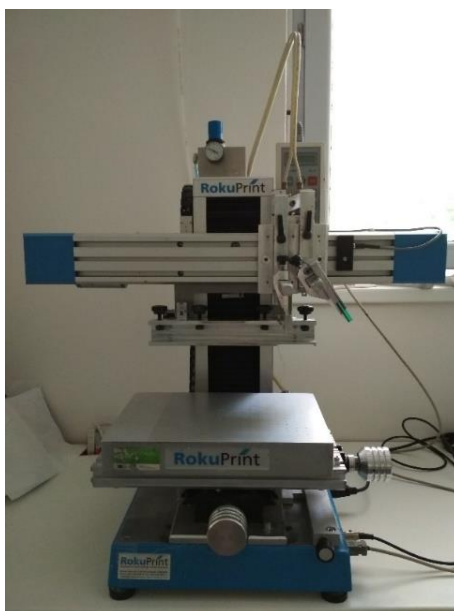
Vrstvy sestávající z chitosanu, barviva kurkuminu a glycerolu byly citlivé na plynný amoniak, avšak jejich citlivost byla výrazná i při nižších koncentracích amoniaku. Z toho důvodu byly hledány způsoby pro potlačení barevné změny v podobě přidání nejdříve kyseliny citrónové, či později použití tiskařského laku.

Nejdříve byla do kompozice B a C přidávána bezvodá kyselina citrónová v postupně zvyšujícím množstvím až do hmotnosti 1,13 g. Kyselina citrónová byla první volbou pro řešení této problematiky, protože je v potravinách běžně používán jako regulátor kyselosti a také jako konzervant. Plní tedy požadovanou funkci, že snižuje pH, navíc není zdraví škodlivá a bez problémů tedy může přijít do styku s potravinou. Při vpravení kyseliny přímo do směsi

došlo k jejímu úplnému rozpuštění a z této směsi byly připraveny celistvé vrstvy. Potíž byla ve velké lepivosti připravených vrstev, což způsobovalo velké problémy, jak při manipulaci, tak při samotném měření. I přes tyto problémy, byly vrstvy vytvořené z kompozice B s přídavkem 0,15 g kyseliny citrónové proměřeny a bylo zjištěno, že dochází k potlačení barevné změny ze začátku měření, což je pozitivní přínos, ale barevná odezva na základě hodnoty a^* není bohužel výrazná ani při vysokých množstvích amoniaku, kdy by mělo dojít k výraznému vybarvení. Bohužel tento způsob kalibrace musel být zavrhnut právě kvůli malé barevné odezvě, a především kvůli velké lepivosti vrstev, která velmi komplikovala dané měření.

4.3.2 Přetisk vrstev

U některých vrstev byl zvolen takový postup, že po nanesení a následném uschnutí byly vrstvy přetisknuty pomocí namíchané kompozice, vhodně zvoleného typu síta a sítotiskového stroje RokuPrint, který je zobrazen na Obrázku 29.



Obrázek 29 Sítotiskový stroj RokuPrint

Po zkušenosti s vpravením kyseliny přímo do kompozice byl zvolen jiný postup. Byla připravena kompozice C ovšem v trojnásobném množství. Následně bylo vybráno vhodné síto konkrétně 90–48Y. Následně pomocí připravené kompozice byly natisknuty vrstvy. Následně tyto vrstvy byly přetisknuty další vrstvou a postupně vznikly 1–4 vrstvé filmy. Tyto vrstvy byly ponechány ke schnutí při laboratorní teplotě a následně byly přetisknuty pomocí kompozice, která sestávala z 2 g chitosanu smíchaného s 1,130 g kyseliny citrónové. Bohužel ani tento postup nebyl vhodný. Vrstvy byly velmi bledé a lepivost byla opět velmi vysoká, tak že bylo dokonce znemožněno měření. Navíc samotný tisk těchto vrstev byl dosti obtížný, protože připravená kompozice byla poměrně tekutá a docházelo k protékání přes síto dříve, než došlo k samotnému tisku. Z těchto důvodů byl tento experiment s kalibrací vrstev z 2 % chitosanu ukončen.

V tento moment byl připraven 4 % chitosan, z toho důvodu, že připravené vrstvy budou silnější v porovnání s 2 % chitosanem. Díky silnější vrstvě bude docházet k pomalejšímu průniku amoniaku do vrstev a tím i zpomalení tvorby alkalického prostředí a následného vybarvení. Z 4 % chitosanu konkrétně z kompozice E (opět ve větším množství) byly připraveny vrstvy pomocí automatického aplikátoru a Bakerova pravítka. Tentokrát bylo použito pravítko větší, a to o velikosti 10 cm. Následně byly tyto vrstvy ponechány ke schnutí při laboratorní teplotě. Poté byly připravené vrstvy pouze přetisknuty pomocí síta 140–31Y a také pomocí tiskařského laku Libra Print 910. Hned po přetisknutí došlo k výrazné změně barvy z oranžové na jasně žlutou barvu, bylo tedy předpokládáno, že došlo k výraznému okyselení vrstvy. U těchto vrstev došlo k až příliš velkému okyselení, což potvrdilo i samotné měření. Barevná změna těchto vrstev byla nepatrná i při vysokých hodnotách vzniklého amoniaku a přecházela z lehce zelenkavě–žluté do tmavší žluté barvy.

Následně byly použity vrstvy z kompozice E opět pro přetisk. Tentokrát za použití síta 180–27Y. Pro přetisk byla namíchána směs tiskařského laku Libra Print 910 a dowanolu v poměru 2:1, kdy na 20 g tiskařského laku bylo použito 10 g dowanolu. I v tomto případě došlo již na pohled k výraznému okyselení vrstev, což indikovala výrazná barevná změna z oranžové na jasně žlutou barvu. Při proměření na hraniční hodnotu amoniaku (tedy 75 mg NH₃) opět nedošlo k výrazné barevné změně, téměř k žádné. Především z tohoto důvodu bylo od tiskařských laků upuštěno. Dalším problémem je fakt, že tyto laky nejsou vhodné pro kontakt s potravinou.

4.4 Měření vrstev vyrobených z 4 % chitosanu

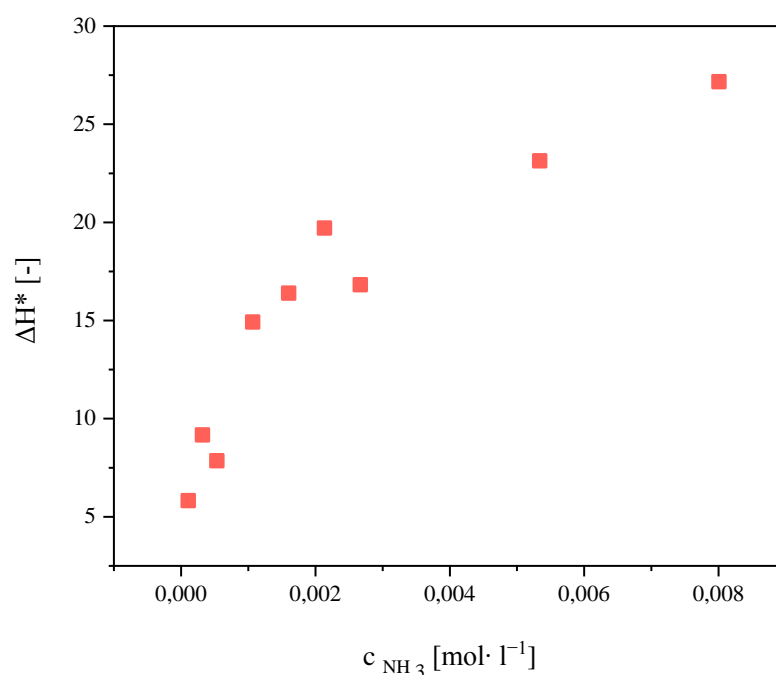
Byly vyrobeny vrstvy z kompozice E (tedy z kompozice, která obsahovala chitosan (tentokrát 4%), kurkumin a přídavek 0,15 g glycerolu). Připravené vrstvy byly postupně proměřeny v přítomnosti různých množství amoniaku (75, 50, 25, 20, 15, 10, 5, 3 a 1 mg). Během měření docházelo ke snímání již zmíněných L^* , a^* , b^* , C^* , h^*_{ab} hodnot v časovém rozpětí 30 minut. Z takto naměřených hodnot byl vždy vypočítán rozdíl hodnot v čase 0 od hodnot v čase 30 minut. Výsledky z těchto výpočtů byly nezbytné pro další použití například pro výpočet barvové odchylky (ΔE^*_{ab}), či odchylky odstínu (ΔH^*). Zpracování výsledků probíhalo na stejném principu jako u předešlých vrstev. Zpracované výsledky a následné výpočty z naměřených dat můžeme vidět v Tabulce 17.

Tabulka 16 Vypočítané hodnoty z naměřených dat pro vrstvy z 4% chitosanu s přidavkem 0,15 g glycerolu

s přidavkem 0,15 g glycerolu								
m_{NH_3} [mg]	c_{NH_3} [mol·l ⁻¹]	ΔL	Δa	Δb	ΔC	Δh	ΔE^*_{ab}	ΔH^*
75	0,0080	-14,56	20,92	-20,77	-11,43	-20,12	32,88	27,17
50	0,0053	-17,16	17,67	-16,67	-7,41	-14,24	29,74	23,13
25	0,0027	-13,00	14,34	-9,91	-4,57	-12,31	21,74	16,82
20	0,0021	-16,92	13,19	-23,14	-17,92	-13,42	31,56	19,71
15	0,0016	-13,83	11,53	-16,68	-11,93	-12,15	24,54	16,40
10	0,0011	-6,90	11,40	-13,70	-9,74	-10,16	19,11	14,92
5	0,0005	-6,18	7,07	-3,67	-1,34	-5,93	10,08	7,86
3	0,0003	-10,07	5,23	-14,20	-12,04	-7,09	18,18	9,17
1	0,0001	-10,42	2,17	-14,33	-13,27	-4,23	17,84	5,83

U vrstev ze 4% chitosanu dochází k výrazným výkyvům měrné světlosti L^* , které se projevují i na barvové odchylce ΔE^*_{ab} . V průběhu měření docházelo k poklesu chromy stejně jako v případě vrstev z 2% chitosanu. Tím, že docházelo k poklesu chromy, může být řečeno, že barva vrstvy ztrácela na sytosti. To, že vrstva byla méně sytá ovšem neznamená, že nedocházelo k barevné odezvě vrstev. Při pohledu na barvovou odchylku v Tabulce 17 může být pozorováno, že barevná odezva na základě přítomnosti daného množství amoniaku je opravdu velmi výrazná až rušící. O barevné odezvě a citlivosti vrstev svědčí i odchylka odstínu, která byla vynesena v závislosti na koncentraci amoniaku. Tato závislost může být pozorována na Obrázku 30.

Dále na Obrázku 30 mohou být pozorovány změny odchylek odstínu v závislosti na koncentraci přítomného amoniaku. Spolu se změnou barvové odchylky dochází i k nárůstu odchylky odstínu v závislosti na koncentraci amoniaku. Připravené vrstvy byly citlivé na přítomný amoniak napříč všemi koncentracemi amoniaku, kterými byly vrstvy vystaveny.



Obrázek 30 Závislost odchylky odstínu na koncentraci amoniaku pro vrstvy z 4 % chitosanu s přidavkem 0,15 g glycerolu

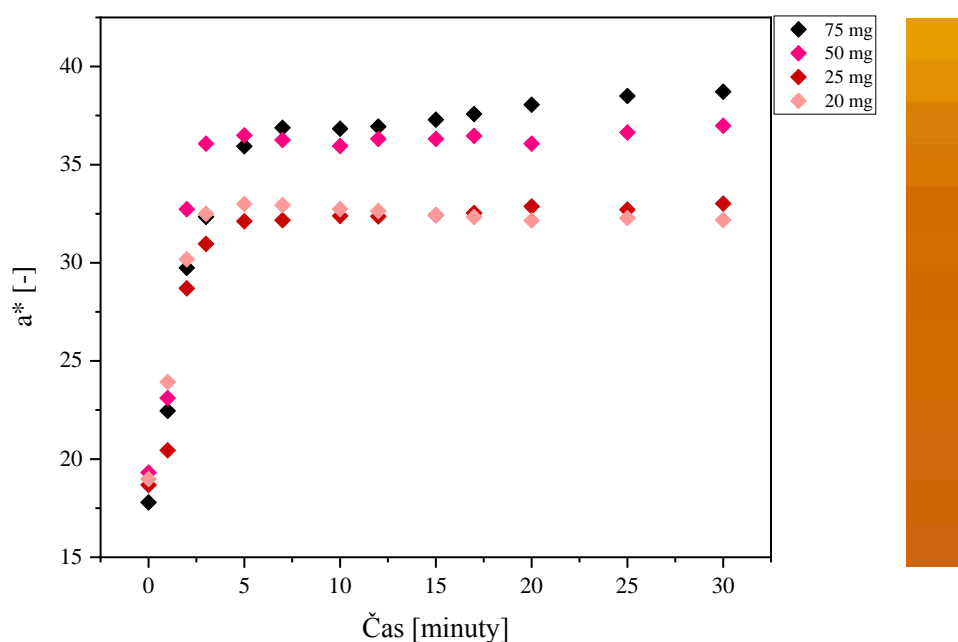
Dále byla velmi důležitým parametrem hodnota a^* , která v kombinaci s časem udává rychlost červení měřených vrstev. Naměřené hodnoty a^* v přítomnosti různých množství amoniaku spolu s čase jsou uvedeny v Tabulce 18.

Tabulka 17 Hodnota a^* naměřená v jednotlivé časy při různých množstvích amoniaku pro vrstvy z 4% chitosanu s přidavkem 0,15 g glycerolu

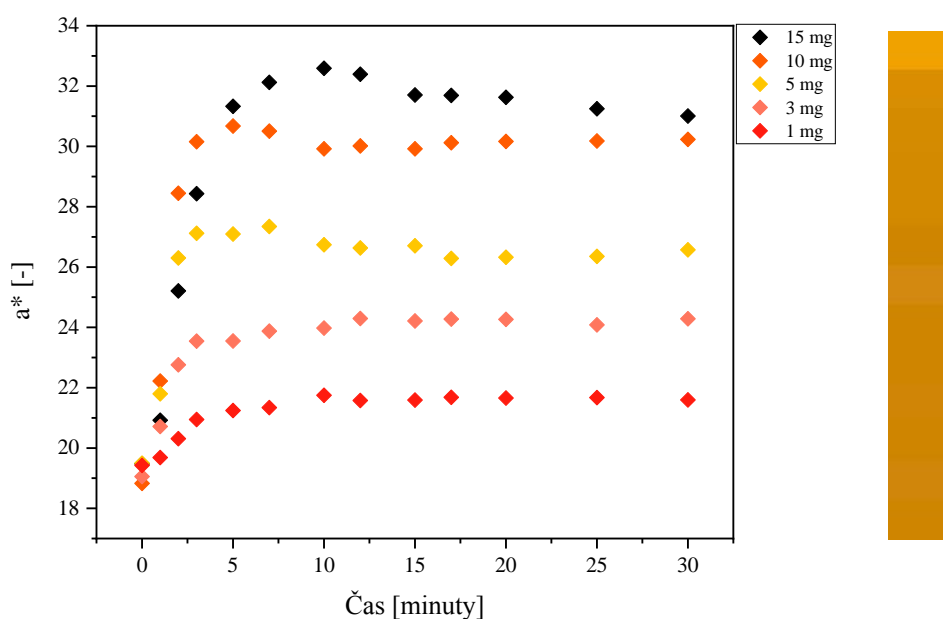
Množství NH ₃ [mg]	75	50	25	20	15	10	5	3	1
Čas [minuty]	a^* [-]								
0	17,80	19,31	18,68	18,99	19,48	18,83	19,50	19,06	19,43
1	22,46	23,11	20,45	23,93	20,92	22,22	21,80	20,71	19,69
2	29,74	32,73	28,70	30,18	25,21	28,45	26,30	22,76	20,31
3	32,34	36,07	30,97	32,50	28,43	30,16	27,12	23,54	20,95
5	35,94	36,49	32,12	33,00	31,33	30,68	27,10	23,55	21,24
7	36,88	36,26	32,17	32,95	32,12	30,51	27,35	23,87	21,34
10	36,83	35,95	32,39	32,74	32,59	29,92	26,74	23,98	21,75
12	36,95	36,31	32,37	32,64	32,40	30,02	26,63	24,30	21,58
15	37,29	36,31	32,43	32,44	31,71	29,92	26,71	24,21	21,59
17	37,58	36,47	32,53	32,34	31,69	30,12	26,29	24,28	21,68
20	38,05	36,07	32,87	32,16	31,63	30,16	26,33	24,27	21,66
25	38,50	36,64	32,71	32,28	31,25	30,18	26,35	24,08	21,67
30	38,72	36,98	33,02	32,18	31,01	30,23	26,57	24,28	21,60

V Tabulce 18 může být pozorován nárůst hodnot a^* spolu s časem, kdy k největšímu vybarvení dochází cca do 10. minuty a poté následuje ustálení hodnot a^* . Na nárůstu hodnot a^* spolu s časem má samozřejmě vliv přítomného amoniaku. V tabulce 18 může být pozorováno, že se zvyšujícím se množstvím amoniaku v měřicí komoře, dochází k intenzivnějšímu červenání. U vrstev docházelo k nárůstu červené barvy, a naopak k úbytku barvy žluté. Byla vynesena závislost hodnot a^* na čase u vrstev vyrobených ze 4% chitosanu s přídavkem 0,15 g glycerolu. Z toho důvodu, že koncentrací amoniaku bylo více než v předešlých měřeních, byly tyto závislosti rozděleny do dvou grafů pro lepší orientaci. Na Obrázcích 31 a 32 tedy mohou být pozorovány závislosti hodnot a^* na čase.

Na Obrázku 31 a 32 mohou být pozorovány nárůsty hodnot a^* s časem a následné ustálení dané barvy. Dále může být pozorován kaskádový postup v závislosti na množství amoniaku, že čím více je přítomného amoniaku, tím k většímu vybarvení dochází. Byly provedeny i barevné vizualizace vrstev na základě L^* , a^* a b^* hodnot. Vedle grafu na Obrázku 31 byla vložena barevná vizualizace vrstvy v přítomnosti 75 mg amoniaku a vedle grafu na Obrázku 32 byla vložena barevná vizualizace v přítomnosti 1 mg amoniaku. Dle vizualizací může být pozorováno, že i v přítomnosti 1 mg amoniaku docházelo k pěkně okem postřehnutelnému barevnému přechodu. Ovšem u vrstvy v přítomnosti 75 g amoniaku můžeme vidět, že se zde jednalo o přechod do výrazně červených odstínů, což udával právě nárůst hodnot a^* v čase.



Obrázek 31 Závislost a^* na čase u vrstev z 4 % chitosanu s přídavkem 0,15 g glycerolu pro množství amoniaku 75, 50, 25 a 20 mg a barevná vizualizace vrstvy v přítomnosti 75 mg amoniaku v časovém rozpětí 0–30 minut



Obrázek 32 Závislost a^* na čase u vrstev z 4% chitosanu s přidavkem 0,15 g glycerolu pro množství amoniaku 15, 10, 5, 3 a 1 mg a barevná vizualizace vrstvy v přítomnosti 1 mg amoniaku v časovém rozpětí 0–30 minut

U vrstev ze 4% roztoku chitosanu docházelo k výraznějšímu vybarvení vrstev v porovnání s vrstvami z 2% roztoku chitosanu. Díky tomu, že roztok 4% chitosanu má v porovnání s 2% chitosanem větší obsah sušiny, tak poskytuje i tlustší vrstvy. Barvivo kurkumin je vázáno na polymer s větší tloušťkou polymerní vrstvy a tím je poskytnuta i větší optická hustota suchého filmu a také k výraznějšímu vybarvení.

4.5 Měření vrstev vyrobených z 4% chitosanu s přidavkem kyseliny askorbové

V rámci kalibrace připravených vrstev mělo být docíleno jisté kalibrační zádrže navázání amoniaku pomocí okyselujícího komponentu. Jako látka v rámci kalibrace byla zvolena kyselina askorbová, která není zdraví škodlivá (při dodržení denního příjmu), ba naopak se jedná o antioxidantní látku, která se záměrně přidává do nápojů nebo do výrobků pekárenského, či masného průmyslu. Právě u masa a masných výrobků kyselina askorbová snižuje oxidaci tuků a brání vzniku zdraví škodlivých rakovinotvorných látek. Mimo jiné má kyselina askorbová také využití jako konzervační látka. Lidskému tělu přispívá svými pozitivními účinky, jako je správná funkce kostí, chrupavek, kůže a cév [112].

Při zvolení vhodného množství kyseliny askorbové do kompozice byly na kyselinu kladeny velké nároky. Důležitým a vcelku zásadním bodem bylo, aby množství kyseliny bylo takové, co se rozpustí v dané kompozici a nebude tvořit sraženiny, či jiné defekty, které by negativně ovlivnily výrobu i celkový vzhled vrstev a díky tomu by bylo znemožněno měření. Dalším požadavkem bylo, aby při měření bylo dosaženo jisté kalibrační zádrže amoniaku a následně, aby došlo k vybarvení, které bude okem dobře viditelné. U nízkého množství amoniaku

(1–3 mg), které jsou dobře cítit, což není u balení s masem pro zákazníka vhodné a přijatelné, chtělo být docíleno toho, aby vrstva na tyto množství amoniaku nijak barevně nereagovala. Byla provedena úvaha o zvolení vhodné navážky kyseliny askorbové do kompozice pro potlačení nízkých koncentrací amoniaku. Byly brány v potaz rozměry vrstev a počet vrstev, které se z dané kompozice připraví. Touto úvahou bylo odhadnuto množství 0,41 g kyseliny askorbové, následující zvolené množství kyseliny askorbové bylo děláno odhadem na základě výsledků měření.

4.5.1 Vrstvy s přidavkem 0,4109 g kyseliny askorbové

Vrstvy vyrobené z kompozice F (tedy z kompozice, která obsahovala chitosan, kurkumin, přídavek 0,15 g glycerolu a 0,4109 g kyseliny askorbové) byly postupně proměřeny v přítomnosti různých množství amoniaku (75, 50, 25 a 5 mg). Během měření docházelo ke snímání již zmíněných L^* , a^* , b^* , C^* , h^*_{ab} hodnot v časovém rozpětí 30 minut. Zpracování výsledků probíhalo na stejném principu jako u předešlých vrstev. Zpracované výsledky a následné výpočty z naměřených dat můžeme vidět v Tabulce 19.

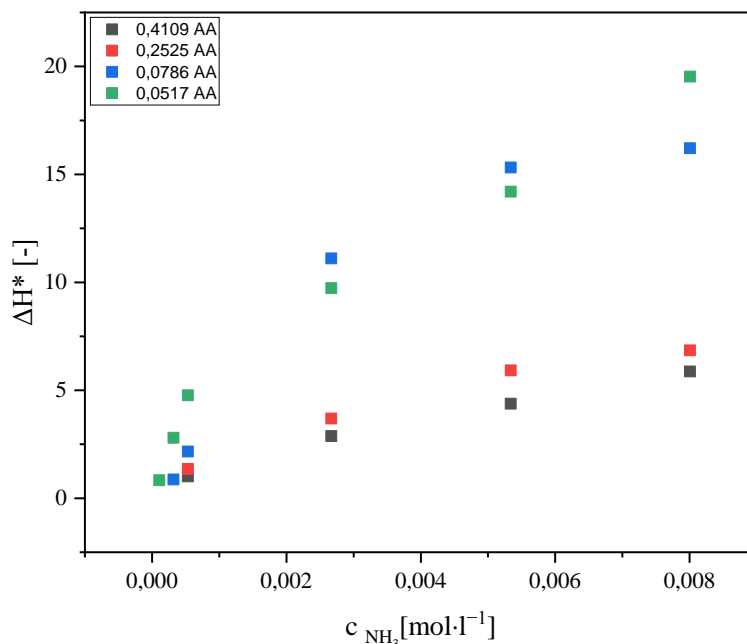
Tabulka 18 *Vypočítané hodnoty z naměřených dat pro vrstvy z 4% chitosanu s přidavkem 0,4109 g kyseliny askorbové*

s přidavkem 0,4109 g kyseliny askorbové								
m_{NH_3} [mg]	c_{NH_3} [mol·l ⁻¹]	ΔL	Δa	Δb	ΔC	Δh	ΔE^*_{ab}	ΔH^*
75	0,0080	-0,90	4,80	-7,68	-6,90	-5,83	9,10	5,87
50	0,0053	-4,88	3,32	-8,80	-8,32	-4,21	10,59	4,38
25	0,0027	-4,86	1,72	-10,39	-10,13	-2,87	11,60	2,88
5	0,0005	-1,33	0,10	-8,81	-8,76	-0,97	8,91	1,01

U vrstev vystavených 50 a 25 mg amoniaku docházelo k větším výkyvům měrné světlosti než u vrstev vystavených 75 a 5 mg amoniaku. Výkyvy u těchto měření se projeví na barvové odchylce. Dle Tabulky 4 a hodnot barvové odchylky bylo vyhodnoceno, že u měřených vrstev byl vcelku výrazný rozdíl. U vrstev vystavených 75 a 50 mg amoniaku se jednalo o přechod ze žluté do světle oranžové barvy a u vrstev vystavených 25 a 5 mg amoniaku se jednalo o přechod ze světle žluté do tmavší žluté. Co se týče chromy, tak dochází opět k jejímu poklesu, můžeme tedy tvrdit, že u vrstev dochází k úbytku brilance.

Byla vynesena závislost odchylky odstínu na koncentraci amoniaku napříč všemi vrstvami 4% chitosanu s jednotlivými přídávky kyseliny askorbové, tedy vrstvy z kompozic F, G, H a I. Tato závislost byla provedena pro lepší orientaci a může být pozorována na Obrázku 33. V rámci následujících vrstev s přídávky kyseliny askorbové, bude na tuto závislost v textu odkazováno. Pro vrstvu z kompozice F je v tomto grafu na první pohled vidět, že závislost odchylky odstínu na koncentraci amoniaku je lineární. S rostoucí koncentrací amoniaku, roste

také odchylka odstínu. Čím nižší koncentrace amoniaku je v měřicí komoře, tím méně dochází k vybarvení dané vrstvy a ke změně jejího odstínu.



Obrázek 33 Závislost odchylky odstínu na koncentraci amoniaku pro vrstvy ze 4% chitosanu s postupným přidavkem kyseliny askorbové

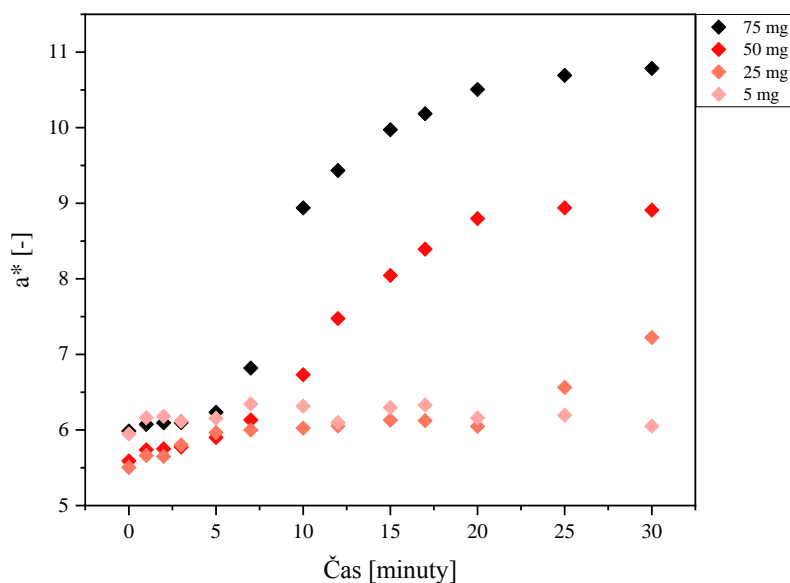
V Tabulce 20 mohou být pozorovány naměřené hodnoty a^* v přítomnosti 75, 50, 25 a 5 mg amoniaku v čase do 30 minut. Z tabulky je patrné, že u vrstev v přítomnosti 75 a 50 g amoniaku docházelo nejdříve k potlačení průniku amoniaku vrstvou a poté k nárůstu hodnot a^* , což může být vysvětleno následným průnikem amoniaku měřenou vrstvou a tím i způsobení zvýšení pH u měřené vrstvy. Právě díky nárůstu pH docházelo k vybarvení vrstvy. U vrstev v přítomnosti 25 mg amoniaku byla citlivost na přítomný amoniak znatelně nižší, avšak i přesto docházelo k barevné odezvě, i když k velmi malé. Vrstvy v přítomnosti 5 mg amoniaku, již nebyly citlivé na přítomný amoniak a z toho důvodu nedošlo k červenání vrstev, hodnota a^* byla téměř neměnná od počátku až do konce měření.

Tabulka 19 Hodnota a^* naměřená v jednotlivé časy při různých množstvích amoniaku pro vrstvy z 4% chitosanu s přidavkem 0,4109 g kyseliny askorbové

Množství NH ₃ [mg]	75	50	25	5
Čas [minuty]	a^* [-]			
0	5,99	5,59	5,50	5,95
1	6,07	5,74	5,66	6,16
2	6,09	5,75	5,65	6,18
3	6,10	5,78	5,80	6,12
5	6,24	5,90	5,97	6,16
7	6,82	6,13	6,00	6,35
10	8,94	6,73	6,02	6,32
12	9,43	7,48	6,05	6,10
15	9,97	8,04	6,13	6,30
17	10,18	8,39	6,13	6,33
20	10,51	8,80	6,05	6,16
25	10,69	8,94	6,56	6,20
30	10,79	8,91	7,23	6,05

Při měření s vrstvou s přidavkem 0,4109 g kyseliny askorbové bylo prokázáno, že již množství 5 mg amoniaku neovlivní vybarvení vrstvy. Z tohoto poznatku bylo vyvozeno, že navážka kyseliny askorbové, přidané do kompozice na výrobu vrstev, byla příliš velká. Jak bylo řečeno na začátku, jednalo se o pouhý odhad tohoto množství. K dalšímu měření bylo využito těchto poznatků a byl zvolen další postup.

Na základě Tabulky 20 byla sestrojena závislost hodnoty a^* na čase, kterou můžeme vidět na Obrázku 34.



Obrázek 34 Závislost a^* na čase u vrstev z 4% chitosanu s přidavkem 0,4109 g kyseliny askorbové a barevná vizualizace vrstvy v přítomnosti 75 mg amoniaku v časovém rozpětí 0–30 minut

Na Obrázku 34 může být pozorováno, že u vrstev v přítomnosti 75 a 50 mg amoniaku docházelo cca 5 minut k potlačení a následně docházelo k nárůstu hodnot a^* , které se ke konci měření začalo opět ustalovat. U vrstvy v přítomnosti 25 mg amoniaku došlo taktéž k potlačení tentokrát skoro 20 minut a následně došlo jen k velmi malé změně hodnoty a^* . Vrstvy v přítomnosti 5 mg amoniaku byly po celou dobu měření stálé, co se týče hodnot a^* . Byly opět provedeny barevné vizualizace. Součástí Obrázku 34 byla vložena barevná vizualizace pro vrstvu měřenou v přítomnosti 75 mg amoniaku, kde mohou být pozorovány barevné změny ovšem ne nijak výrazné.

4.5.2 Vrstvy s přidavkem 0,2525 g kyseliny askorbové

Vrstvy vyrobené z kompozice G (tedy z kompozice, která obsahovala chitosan, kurkumin, přídavek 0,15 g glycerolu a 0,2525 g kyseliny askorbové) byly postupně proměřeny v přítomnosti různých množství amoniaku (75, 50, 25 a 5 mg). Během měření docházelo ke snímání již zmíněných L^* , a^* , b^* , C^* , h^*_{ab} hodnot v časovém rozpětí 30 minut. Zpracování výsledků probíhalo na stejném principu jako u předešlých vrstev. Zpracované výsledky a následné výpočty z naměřených dat můžeme vidět v Tabulce 21.

Tabulka 20 Vypočítané hodnoty z naměřených dat pro vrstvy z 4% chitosanu s přidavkem 0,2525 g kyseliny askorbové

s přidavkem 0,2525 g kyseliny askorbové								
m_{NH_3} [mg]	c_{NH_3} [mol·l ⁻¹]	ΔL	Δa	Δb	ΔC	Δh	ΔE^*_{ab}	ΔH^*
75	0,0080	-2,99	6,09	-5,44	-4,45	-6,39	8,70	6,85
50	0,0053	-2,59	5,21	-5,21	-4,39	-5,44	7,81	5,92
25	0,0027	-1,67	3,28	-3,21	-2,73	-3,42	4,88	3,69
5	0,0005	0,02	0,92	-4,47	-4,36	-1,25	4,57	1,36

Dle Tabulky 21 může být pozorováno, že dochází k poklesu chromy, čímž může být řečeno, že u měřených vrstev docházelo k úbytku sytosti měřených vrstev. Co se týče hodnot barvové odchylky, tak u vrstev vystavených 75 a 50 mg amoniaku byl rozdíl vcelku výrazný ze žluté do oranžové barvy. U vrstev vystavených 25 a 5 mg amoniaku byl rozdíl barev spíše střední na základě hodnocení dle barvové odchylky. Navíc dle výsledků může být řečeno, že s nárůstem koncentrace amoniaku roste i barvová odchylka. Stejně jako u předešlých vrstev byla vynesena závislost odchylky odstínu na koncentraci amoniaku, kterou můžeme vidět na Obrázku 33.

Dle Obrázku 33 může být pozorováno na první pohled, že závislost odchylky odstínu na koncentraci amoniaku je téměř lineární. S rostoucí koncentrací amoniaku, roste také odchylka odstínu. Čím nižší koncentrace amoniaku je v měřicí komoře, tím méně dochází k vybarvení dané vrstvy a také ke změně jejího odstínu.

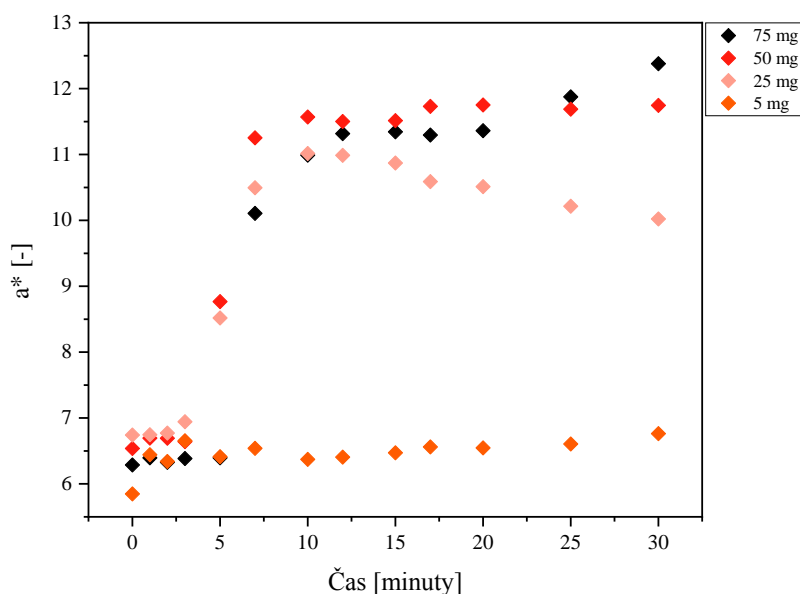
V Tabulce 22 mohou být pozorovány naměřené hodnoty a^* v přítomnosti 75, 50, 25 a 5 mg amoniaku a v časovém intervalu od 0 do 30 minut. Z tabulky je patrné, že u vrstev v přítomnosti 75, 50 a 25 mg amoniaku docházelo k potlačení a následně k nárůstu hodnot a^* . Vrstvy v přítomnosti 5 mg amoniaku, byly téměř zanedbatelně citlivé na přítomný amoniak a z toho důvodu nedošlo k červenání vrstev, hodnota a^* byla více méně neměnná od počátku až do konce měření.

Tabulka 21 *Hodnota a^* naměřená v jednotlivé časy při různých množstvích amoniaku pro vrstvy z 4% chitosanu s přídavkem 0,2525 g kyseliny askorbové*

Množství NH ₃ [mg]	75	50	25	5
Čas [minuty]	a^* [-]			
0	6,29	6,54	6,74	5,85
1	6,40	6,70	6,75	6,44
2	6,33	6,69	6,77	6,34
3	6,39	6,64	6,94	6,65
5	6,40	8,77	8,52	6,41
7	10,11	11,25	10,50	6,54
10	10,99	11,57	11,02	6,37
12	11,32	11,50	10,99	6,41
15	11,34	11,52	10,87	6,47
17	11,30	11,73	10,59	6,56
20	11,36	11,75	10,51	6,55
25	11,87	11,69	10,22	6,61
30	12,38	11,75	10,02	6,76

Při měření s vrstvou s přídavkem 0,2525 g kyseliny askorbové bylo prokázáno, že množství 5 mg amoniaku téměř neovlivní vybarvení vrstvy. Z tohoto poznatku bylo vyvozeno, že navážka kyseliny askorbové, přidané do kompozice na výrobu vrstev, byla pravděpodobně stále velká a bylo potřeba snížit navážku kyseliny askorbové.

Na základě Tabulky 22 byla sestrojena závislost hodnoty a^* na čase, která může být pozorována na Obrázku 35.



Obrázek 35 Závislost a^* na čase u vrstev z 4% chitosanu s přídávkem 0,2525 g kyseliny askorbové a barevná vizualizace vrstvy v přítomnosti 75 mg amoniaku v časovém rozpětí 0–30 minut

Na Obrázku 35 může být pozorováno že u vrstev v přítomnosti 75 a 50 mg amoniaku docházelo cca 3–5 minut k potlačení a následně docházelo k nárůstu hodnot a^* , které se ke konci měření začalo opět ustalovat. U vrstvy v přítomnosti 25 mg amoniaku došlo taktéž k potlačení 3 minuty a následně došlo jen ke změně hodnoty a^* . Vrstvy v přítomnosti 5 mg amoniaku byly po celou dobu měření téměř stejné, co se týče hodnot a^* . Byly opět provedeny barevné vizualizace. Součástí Obrázku 35 je vložená barevná vizualizace pro vrstvu měřenou v přítomnosti 75 mg amoniaku, kde můžeme vidět barevný přechod ze žluté barvy do oranžové.

4.5.3 Vrstvy s přídávkem 0,0786 g kyseliny askorbové

Vrstvy vyrobené z kompozice H (tedy z kompozice, která obsahovala chitosan, kurkumin, přídavek 0,15 g glycerolu a 0,0786 g kyseliny askorbové) byly postupně proměřeny v přítomnosti různých množství amoniaku (75, 50, 25, 5 a 3 mg). Během měření docházelo ke snímání již zmíněných L^* , a^* , b^* , C^* , h^*_{ab} hodnot v časovém rozpětí 30 minut. Zpracování výsledků probíhalo na stejném principu jako u předešlých vrstev. Zpracované výsledky a následné výpočty z naměřených dat můžeme vidět v Tabulce 23.

Tabulka 22 *Vypočítané hodnoty z naměřených dat pro vrstvy z 4% chitosanu s přidavkem 0,0786 g kyseliny askorbové*

s přidavkem 0,0786 g kyseliny askorbové								
m_{NH_3} [mg]	c_{NH_3} [mol·l ⁻¹]	ΔL	Δa	Δb	ΔC	Δh	ΔE^*_{ab}	ΔH^*
75	0,0080	-8,91	16,09	-2,45	1,40	-14,36	18,56	16,21
50	0,0053	-10,62	14,78	-4,08	-0,52	-12,49	18,65	15,32
25	0,0027	-13,07	9,82	-7,54	-5,45	-9,64	18,00	11,11
5	0,0005	-0,44	1,86	-2,51	-2,25	-1,98	3,15	2,16
3	0,0003	1,65	0,89	0,10	0,21	-0,81	1,88	0,87

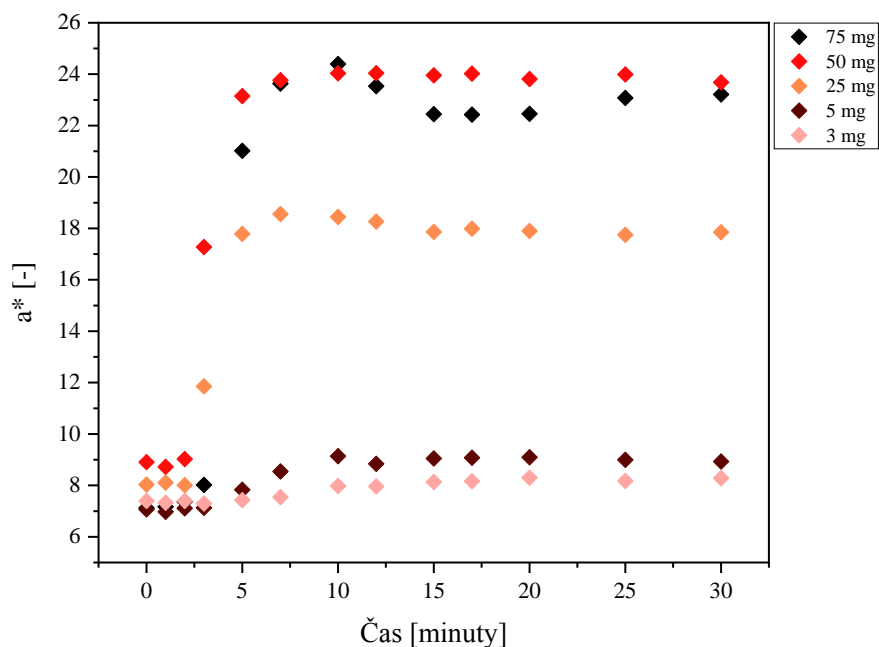
Dle Tabulky 23 může být pozorováno, že dochází u vrstev v přítomnosti 50, 25 a 5 mg amoniaku k poklesu hodnot chromy, což nám říká, že u měřených vrstev docházelo k úbytku sytosti měřených vrstev. To, že docházelo k úbytku sytosti vrstev neznamena, že nedocházelo u těchto vrstev ke změně barvy. U vrstev v přítomnosti 3 mg docházelo k téměř zanedbatelnému nárůstu chromy a u vrstev v přítomnosti 75 mg amoniaku docházelo k nárůstu chromy, což znamená, že docházelo k nárůstu sytosti u měřené vrstvy. Při pohledu na barvové odchylky může být pozorováno, že u vrstev v přítomnosti 75, 50 a 25 mg amoniaku barvová odchylka nabývá téměř shodných hodnot. U těchto vrstev při působení větších množství amoniaku dochází k velmi výrazné změně až rušící. Při nižších množstvích amoniaku (5 a 3 mg) dochází u vrstev k výraznému poklesu barvové odchylky a může být řečeno, že změna barvy není okem dobře postřehnutelná. Byla vynesena závislost odchylky odstínu na koncentraci amoniaku, kterou je možné pozorovat na Obrázku 33. Na základě hodnot odchylky odstínu a Obrázku 33 může být konstatováno, že s rostoucí koncentrací amoniaku roste také odchylka odstínu. U nižších koncentrací amoniaku klesá také vybarvení vrstev i citlivost těchto připravených vrstev. V tomto případě se jedná o vrstvu v přítomnosti 3 mg amoniaku.

V Tabulce 24 můžeme pozorovat naměřené hodnoty a^* v přítomnosti 75, 50, 25, 5 a 3 mg amoniaku a v časovém intervalu od 0 do 30 minut. U vrstev v přítomnosti 75–5 mg amoniaku docházelo k počátečnímu potlačení, avšak v porovnání s vrstvami s přidavkem 0,4109 g a 0,2525 g kyseliny askorbové bylo potlačení po kratší dobu pouze 2 minuty u vrstvy v přítomnosti 5 mg bylo potlačení o minutu delší. Vrstvy v přítomnosti 3 mg amoniaku, byly téměř zanedbatelně citlivé na přítomný amoniak a z toho důvodu nedošlo k červenání vrstev. V porovnání s vrstvami v prostředí s vyšším množstvím amoniaku, kde došlo k výrazné barevné změně a červenání vrstev.

Tabulka 23 Hodnota a^* naměřená v jednotlivé časy při různých množstvích amoniaku pro vrstvy z 4% chitosanu s přidavkem 0,0786 g kyseliny askorbové

Množství NH ₃ [mg]	75	50	25	5	3
Čas [minuty]	a^* [-]				
0	7,12	8,91	8,03	7,07	7,39
1	7,17	8,72	8,11	6,97	7,32
2	7,37	9,02	8,01	7,11	7,39
3	8,02	17,28	11,86	7,13	7,30
5	21,02	23,15	17,78	7,83	7,42
7	23,64	23,77	18,56	8,54	7,54
10	24,40	24,03	18,45	9,14	7,98
12	23,53	24,04	18,26	8,84	7,96
15	22,44	23,96	17,86	9,05	8,13
17	22,43	24,02	17,99	9,08	8,16
20	22,46	23,81	17,90	9,10	8,30
25	23,08	23,99	17,75	8,99	8,18
30	23,21	23,68	17,85	8,93	8,28

Při měření s vrstvou s přidavkem 0,0786 g kyseliny askorbové bylo prokázáno, že množství 3 mg amoniaku téměř neovlivní vybarvení vrstvy. Z tohoto poznatku bylo vyvozeno, že navážka kyseliny askorbové, přidané do kompozice na výrobu vrstev, byla stále větší, než by měla být. Bylo tedy potřeba opět snížit navážku kyseliny askorbové. Na základě Tabulky 24 byla sestrojena závislost hodnoty a^* na čase, kterou můžeme vidět na Obrázku 36.



Obrázek 36 Závislost a^* na čase u vrstev z 4 % chitosanu s přidavkem 0,0786 g kyseliny askorbové a barevná vizualizace vrstvy v přítomnosti 75 mg amoniaku v časovém rozpětí 0–30 minut

Na Obrázku 36 může být pozorováno, že u vrstev v přítomnosti 75, 50 a 25 mg amoniaku docházelo cca 2 minuty k potlačení a následně docházelo k nárůstu hodnot a^* , které se ke konci měření začalo opět ustalovat. U vrstvy v přítomnosti 25 mg amoniaku je patrné, že nedosahovala takového vybarvení v porovnání s vrstvami v přítomnosti 75 a 50 mg amoniaku. U vrstev v přítomnosti 5 mg amoniaku je taktéž patrný markantní pokles vybarvení v porovnání s vrstvami při 25 mg amoniaku. Na základě hodnot a^* můžeme vidět, že k vybarvení docházelo, i když k velmi malému. U vrstev v přítomnosti 3 mg amoniaku nedocházelo téměř k žádnému nebo zanedbatelnému vybarvení, což může být posouzeno na základě ΔH^* hodnot, ale také na základě barevné vizualizace, kde nebyla pozorována změna barvy. Součástí Obrázku 36 je barevná vizualizace, provedená na základě L^* , a^* a b^* hodnot pro vrstvu v přítomnosti 75 mg amoniaku. Na této vizualizaci může být pozorováno potlačení v podobě žluté barvy a poté následné velmi výrazné vybarvení do tmavě oranžové barvy.

4.5.4 Vrstvy s přidavkem 0,0517 g kyseliny askorbové

Vrstvy vyrobené z kompozice I (tedy z kompozice, která obsahovala chitosan, kurkumin, přídavek 0,15 g glycerolu a 0,0517 g kyseliny askorbové) byly postupně proměřeny v přítomnosti různých množství amoniaku (75, 50, 25, 5, 3 a 1 mg). Během měření docházelo ke snímání již zmíněných L^* , a^* , b^* , C^* , h^*_{ab} hodnot v časovém rozpětí 30 minut. Zpracování výsledků probíhalo na stejném principu jako u předešlých vrstev. Zpracované výsledky a následné výpočty z naměřených dat můžeme vidět v Tabulce 25.

Tabulka 24 Vypočítané hodnoty z naměřených dat pro vrstvy z 4% chitosanu s přidavkem 0,0517 g kyseliny askorbové

s přidavkem 0,0517 g kyseliny askorbové								
m_{NH_3} [mg]	c_{NH_3} [mol·l ⁻¹]	ΔL	Δa	Δb	ΔC	Δh	ΔE^*_{ab}	ΔH^*
75	0,0080	-11,74	19,64	-2,37	3,15	-18,50	23,00	19,53
50	0,0053	-8,55	14,04	-2,38	0,99	-13,81	16,60	14,20
25	0,0027	-9,21	9,55	-1,87	-0,13	-8,88	13,40	9,73
5	0,0005	-4,08	4,98	1,00	1,73	-4,58	6,51	4,77
3	0,0003	-4,37	2,12	-5,51	-5,19	-2,66	7,34	2,80
1	0,0001	-0,22	1,07	2,02	2,13	-0,82	2,30	0,83

Dle Tabulky 25 může být pozorováno, že u vrstev v přítomnosti 3 mg amoniaku dochází k poklesu hodnot chromy, u takto měřené vrstvy docházelo k úbytku sytosti barvy. To, že docházelo k úbytku sytosti barev u vrstev ovšem neznamená, že nedocházelo ke změně barvy. U ostatních vrstev docházelo k ne nijak markantnímu nárůstu chromy v některých případech téměř k zanedbatelné změně chromy. Nárůst chromy značí nárůst brilance

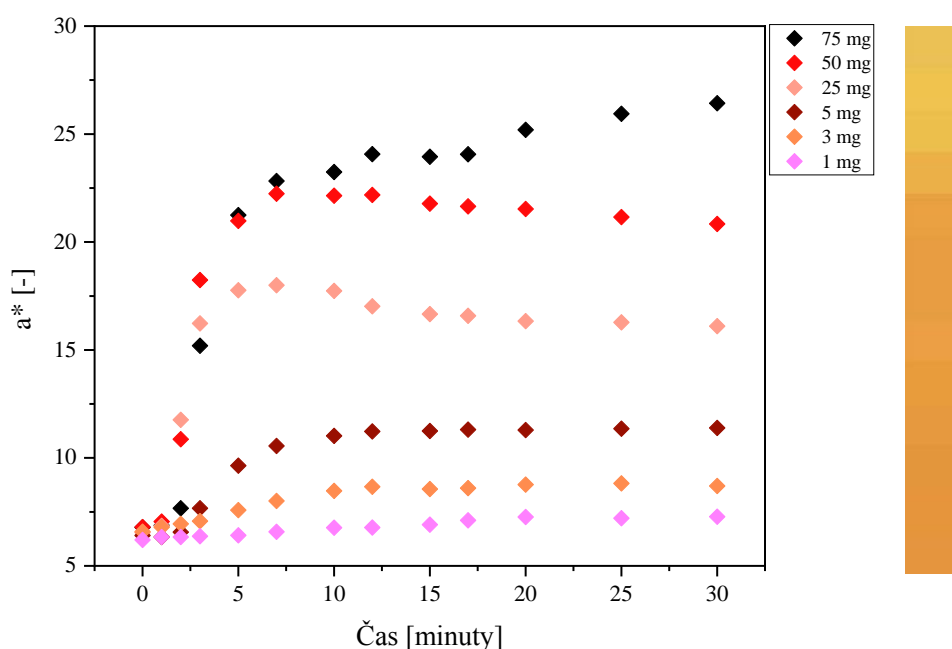
u příslušných vrstev. Při pohledu na barvové odchylky můžeme vidět, že barvová odchylka téměř postupně roste s rostoucí koncentrací amoniaku. U vrstev při 75 a 50 mg amoniaku došlo ke změně velmi výrazné až rušící. U množství 25, 5 a 3 mg amoniaku je barevná změna vrstvy ještě stále výrazná. U vrstvy v přítomnosti 1 mg amoniaku může být na základě barvové odchylky řečeno, že barevná změna byla jasně postřehnutelná, i když na základě barevné vizualizace tomu, tak nebylo. To může být vysvětleno tím, že sestavená stupnice barvových odchylek byla vytvořena na oko cvičené, které tyto barvy dokáže rozlišit. Byla vynesena závislost odchylky odstínu na koncentraci amoniaku, kterou můžeme vidět na Obrázku 33.

Na základě hodnot odchylky odstínu a Obrázku 33 může být pozorováno, že s rostoucí koncentrací amoniaku roste také odchylka odstínu. U nižších koncentrací amoniaku klesá také vybarvení vrstev i citlivost těchto připravených vrstev. V tomto případě se jedná o vrstvu v přítomnosti 1 mg amoniaku.

V Tabulce 26 mohou být pozorovány naměřené hodnoty a^* v přítomnosti 75, 50, 25, 5, 3 a 1 mg amoniaku a v časovém intervalu od 0 do 30 minut. U vrstev v přítomnosti 75-3 mg amoniaku docházelo k potlačení, ovšem doba tohoto potlačení se opět zkrátila na 1–2 minuty v porovnání s ostatními vrstvami s kyselinou askorbovou. Vrstvy v přítomnosti 1 mg amoniaku, byly téměř zanedbatelně citlivé na přítomný amoniak a z toho důvodu nedošlo k červenání vrstev. V porovnání s vrstvami v prostředí s vyšším množstvím amoniaku, kde došlo k výrazné barevné změně a červenání vrstev. V tomto měření bylo docíleno potlačení 1 mg amoniaku na vrstvách s přídatkem 0,0517 g kyseliny askorbové. Na základě Tabulky 26 byla sestavena závislost hodnoty a^* na čase, kterou můžeme vidět na Obrázku 37.

Tabulka 25 Hodnota a^* naměřená v jednotlivé časy při různých množstvích amoniaku pro vrstvy z 4% chitosanu s přídatkem 0,0517 g kyseliny askorbové

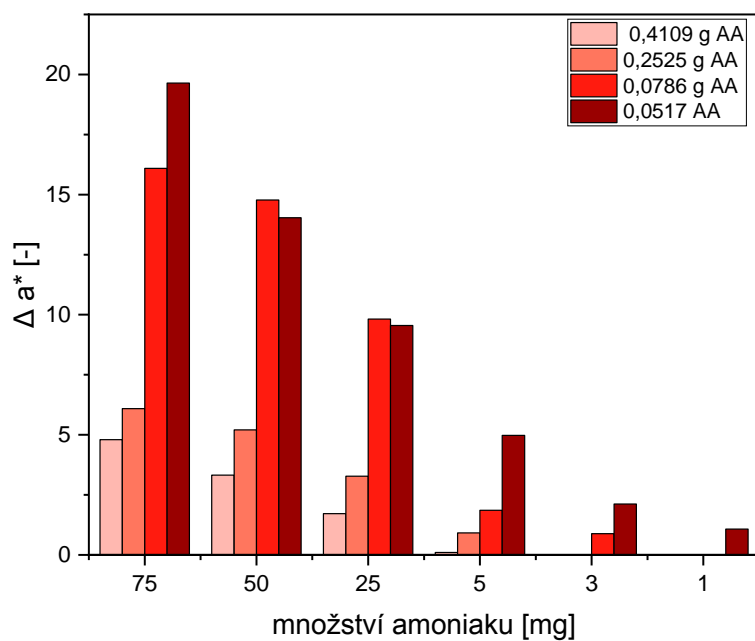
Množství NH ₃ [mg]	75	50	25	5	3	1
Čas [minuty]	a^* [-]					
0	6,78	6,80	6,55	6,41	6,58	6,21
1	6,88	7,05	6,86	6,34	6,79	6,33
2	7,67	10,87	11,77	6,57	6,94	6,34
3	15,19	18,24	16,23	7,67	7,07	6,38
5	21,25	20,98	17,77	9,64	7,59	6,41
7	22,83	22,24	18,00	10,55	8,01	6,58
10	23,24	22,14	17,74	11,02	8,48	6,77
12	24,07	22,18	17,02	11,23	8,66	6,78
15	23,95	21,78	16,66	11,25	8,56	6,91
17	24,06	21,65	16,58	11,31	8,60	7,11
20	25,19	21,53	16,34	11,29	8,77	7,27
25	25,94	21,15	16,28	11,35	8,82	7,21
30	26,43	20,83	16,10	11,39	8,70	7,28



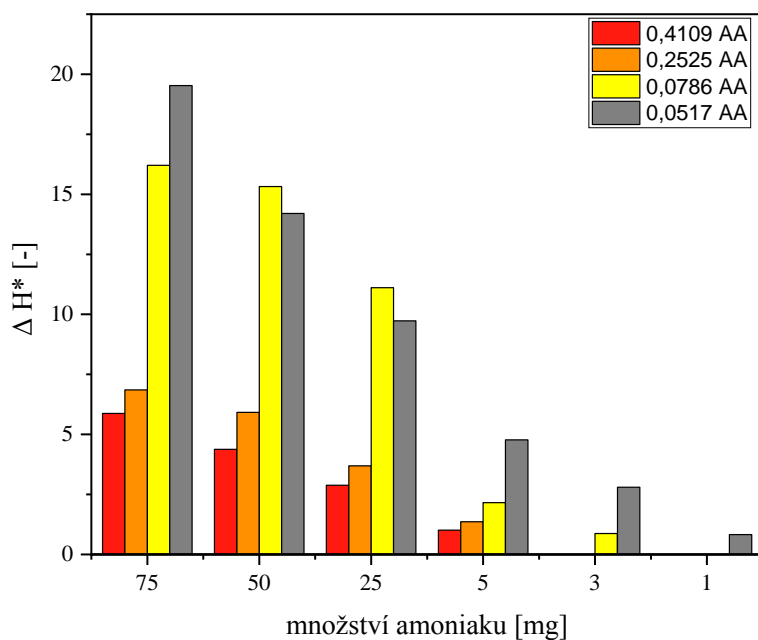
Obrázek 37 Závislost a^* na čase u vrstev z 4% chitosanu s přidavkem 0,0517 g kyseliny askorbové a barevná vizualizace vrstvy v přítomnosti 75 mg amoniaku v časovém rozpětí 0–30 minut

Na Obrázku 37 může být pozorováno, že u vrstev v přítomnosti 75, 50 a 25 mg amoniaku docházelo cca 1–2 minuty k potlačení a následně docházelo k nárůstu hodnot a^* , které se ke konci měření začalo opět ustalovat. U vrstvy v přítomnosti 25 mg amoniaku je patrné, že nedosahovala takového vybarvení v porovnání s vrstvami v přítomnosti 75 a 50 mg amoniaku. U vrstev v přítomnosti 5 a 3 mg amoniaku je taktéž patrný výrazný pokles vybarvení v porovnání s vrstvami při 25 mg amoniaku. U vrstev v přítomnosti 1 mg amoniaku nedocházelo téměř k žádnému nebo zanedbatelnému vybarvení, což můžeme posoudit na základě a^* hodnot, ale také na základě barevné vizualizace, kde nebyla pozorována změna barvy. Součástí Obrázku 37 je barevná vizualizace provedená na základě L^* , a^* a b^* hodnot pro vrstvu v přítomnosti 75 mg amoniaku. Na této vizualizaci můžeme vidět potlačení v podobě žluté barvy a poté následné vybarvení ze světle oranžové do tmavě oranžové barvy. Toto vybarvení je výrazné a okem velmi dobře postřehnutelné.

Na základě postupných přidavků kyseliny askorbové do kompozic, ze kterých byly tvořeny příslušné vrstvy, byly uvedeny sloupcové grafy pro porovnání vybarvení těchto vrstev na základě hodnot Δa^* a také na základě hodnot odchylky odstínu ΔH^* a množství amoniaku. Tyto grafy je možné pozorovat na Obrázku 38 a 39.



Obrázek 38 Porovnání závislosti Δa^* na množství amoniaku pro vrstvy z 4% chitosanu s postupným přidávkem kyseliny askorbové



Obrázek 39 Porovnání závislosti ΔH^* na množství amoniaku pro vrstvy z 4% chitosanu s postupným přidávkem kyseliny askorbové

Z Obrázků 38 a 39 je patrné, že u vrstev s přídavkem 0,0517 g a 0,0786 g kyseliny askorbové docházelo k největšímu vybarvení především u vrstev v přítomnosti vyšších množství amoniaku. Naopak také může být pozorováno, že u vrstev s přídavkem 0,4109 g kyseliny askorbové docházelo v porovnání s ostatními vrstvami k velmi malému vybarvení. Vrstvy s přídavkem kyseliny askorbové byly kompaktní bez znatelných defektů a reagovaly dle původních požadavků tak, že docházelo v rámci kalibrace k prvotnímu zadržení a následně poté k vybarvení, které bylo dobře viditelné. Jako nejlépe zvolené množství se jevil přídavek 0,0517 g kyseliny askorbové. Toto množství kyseliny askorbové se zcela rozpustilo v připravované kompozici a vrstvy byly vzhledem a funkčností velmi přijatelné.

V zahraniční studii [71] studovali již zmíněné filmy na bázi škrobu a polyvinylakoholu spolu s barvivy kurkuminem a anthokyany. Kromě mechanických vlastností byla prostudována taky barevnost vrstev a barevná odezva vrstev na přítomný amoniak. S ohledem na téma této práce, budou posouzeny pouze vrstvy s barvivem kurkuminem. U vrstev pouze s obsahem kurkuminu bez přídavku glycerolu docházelo k nejnižší citlivosti na přítomný amoniak. Naopak při přidání glycerolu byla barevná odezva daleko znatelnější. Bohužel autoři nezveřejňují tabulku s naměřenými hodnotami pro lepší porovnání. Ovšem zdá se, že využití polymeru polyvinylakoholu v kombinaci se škrobem je taktéž dobrou volbou pro studování barevné odezvy na přítomný amoniak.

V jiné studii [113] připravovali vrstvy na základě želatiny jako polymeru a kurkuminu jako barviva. Vrstvy vystavovaly pH 6 a pH 11, kdy toto pH regulovaly pomocí kyseliny chlorovodíkové a hydroxidu sodného. Přechod byl jasně viditelný, kdy při pH 6 byly vrstvy žluté a následně při pH 11 oranžovo-červené. Jako rozpouštědlo používali vodu nebo směs vody a ethanolu, kdy směs vody a ethanolu se jako rozpouštědlo velmi osvědčilo, protože díky němu došlo k intenzivnějšímu zbarvení připravených filmů.

4.6 Výsledky experimentů s masem

Vyhodnocení výsledků s masem probíhalo na základě pořízených fotografií, kdy byl hodnocen stav masa a následně barva indikátorů na vloženém štítku.

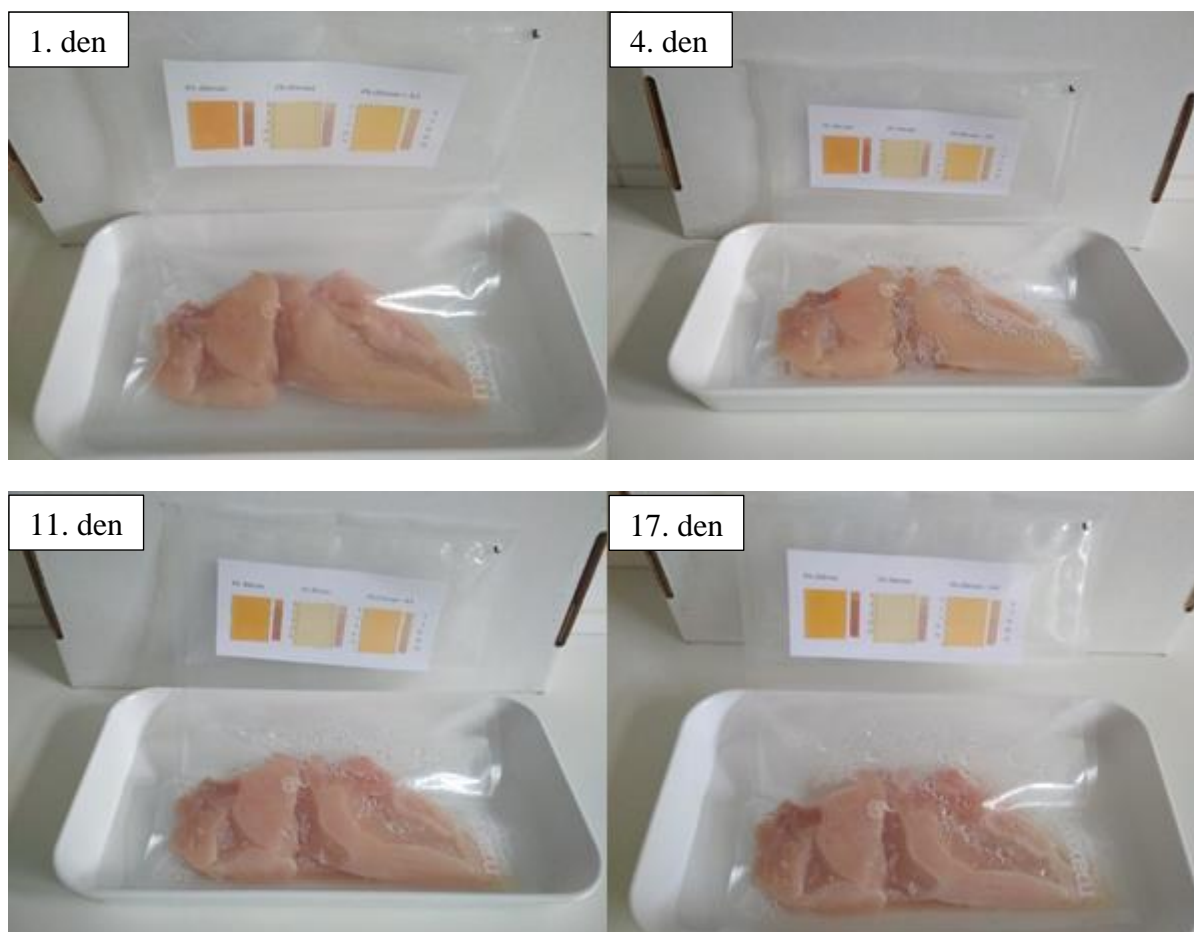
4.6.1 Výsledky experimentů s kuřecím masem uloženým v sáčcích

Prvním experimentem bylo pozorování vybarvení daných indikátorů ve dvou totožně sestavených baleních s masem ve vakuovacích sáčcích Maxxo. Rozdílem u těchto dvou sáčků byl jejich způsob skladování, kdy jedno balení s masem bylo skladováno v lednici při teplotě 8 °C a druhé balení bylo uchováváno ve tmě v termostatu při teplotě 26 °C.

4.6.1.1 Balení s kuřecím masem skladované v lednici

Tento typ balení byl skladován v lednici po dobu 17 dní. Maso bylo po celou dobu focení téměř neměnné. Barva masa byla téměř stálá růžové barvy bez jakéhokoliv vzniku pigmentů a vzniku

nadměrného množství tekutiny. Tak stejně indikátory vložené v podobě podlepeného štítku byly po celou dobu focení téměř neměnné, což může být vysvětleno tím, že nedocházelo ke vzniku amoniaku nebo k němu docházelo pouze v zanedbatelném množství, které neovlivnilo změnu barvy u přítomných indikátorů. Pokud by se uvolňoval například jen CO₂, došlo by k okyselení vrstev, jejich blednutí bez změny odstínu. Další příčinou toho, že nedošlo k barevné změně, mohla být také netěsnost použitých sáčků. Ze všech pořízených fotografií byly vybrány ty, které byly pořízeny 1., 4., 11. a 17. den. Tyto fotografie mohou být pozorovány na Obrázku 40.

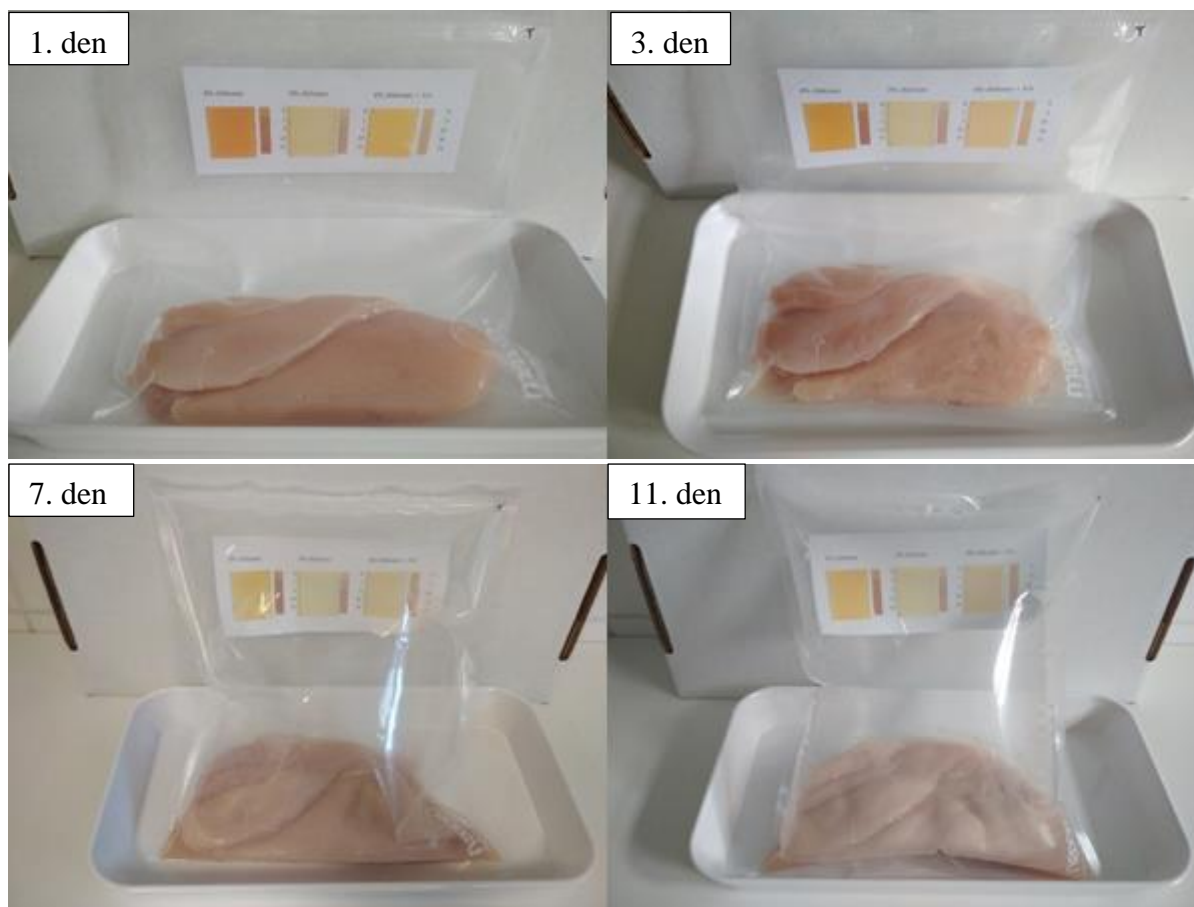


Obrázek 40 Balení s kuřecím masem skladované v lednici, kdy fotografie byly pořízeny 1., 4., 11. a 17. den

4.6.1.2 Balení s kuřecím masem skladované v termostatu

Tento typ balení byl skladován v termostatu ve tmě po dobu 11 dní. Třetí den skladování byla barva masa stále růžová, ale z masa se začala uvolňovat tekutina a vrstva připravená z kompozice G (tedy s přidavkem kyseliny askorbové) se začala jemně vybarvovat do lehce červené barvy. Toto vybarvení přetrvávalo ještě do čtvrtého dne. I přesto, že došlo k vybarvení ve třetí den, což by mohlo odpovídat počínajícímu kažení masa při teplotě 26 °C, tak vybarvení bylo málo viditelné. Následující dny se z masa uvolňovalo více tekutiny a projevil se počínající zápach, který pronikal i skrz obal. Maso začalo postupně měnit barvu, především poslední dny mělo šedivou barvu v porovnání s prvním dnem, kdy maso mělo růžovou barvu. Kromě

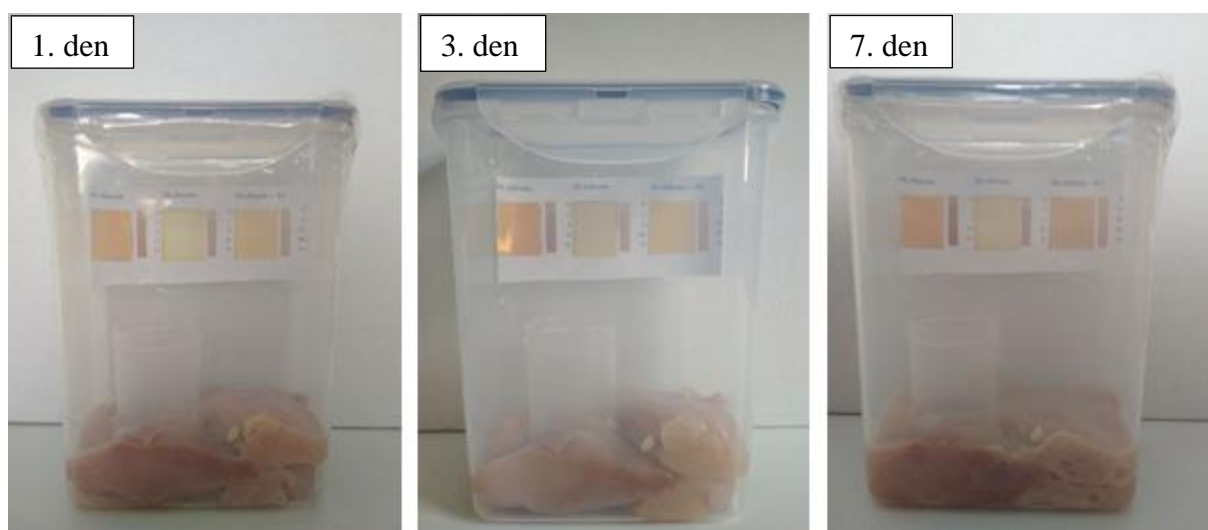
již zmíněných změn také docházelo k postupnému nafukování obalu, což bylo přisuzováno postupně vznikajícímu a zvyšujícímu se množství plynů, které pravděpodobně produkovaly vyskytující se druhy mikroorganismů. Protože byl obal zcela uzavřený, tak vznikající plyny neměly kam uniknout a hromadily se uvnitř obalu, což se projevilo postupným nafouknutím obalu. V poslední tedy 11. den byl obal zcela nafouklý a nebyly zde žádné rezervy pro další plyny, z toho důvodu byl experiment ukončen, protože byla obava z poškození daného obalu. Co se týče vybarvení daných vrstev, od pátého dne začaly barvy na vložených vrstvách blednout a vybarvovat se spíše do žlutých odstínů, což nebylo žádoucí. Příčinou tohoto vybarvování do žluté barvy byl s největší pravděpodobností vznikající oxid uhličitý, kterého bylo více než vznikajícího amoniaku. Dle [114] se oxid uhličitý rozpouští v potravíně, ovlivňuje její pH a tím i nepřímo ovlivňuje růst mikroorganismů. Z toho vyplývá, že pravděpodobně v obalu s masem docházelo ke vzniku nadměrného množství oxidu uhličitého, který způsobil snížení pH a následně došlo k vybarvení vrstev s kurkuminem do žluté barvy, což nebylo žádoucí. Naopak mělo docházet ke vzniku amoniaku, který by pH naopak zvýšil a došlo by k vybarvení vrstev do červena. Z fotek pořízených z prvních dnů je patrné, že docházelo ke vzniku amoniaku, avšak poté nastal zlom a oxid uhličitý pravděpodobně zaujal pozici dominantního plynu v balení s masem. Ze všech pořízených fotografií byly vybrány ty, které byly pořízeny 1., 3., 7., a 11. den. Tyto fotografie mohou být pozorovány na Obrázku 41.



Obrázek 41 Balení v sáčku s kuřecím masem skladované v termostatu, kdy fotografie byly pořízeny 1., 3., 7. a 11. den

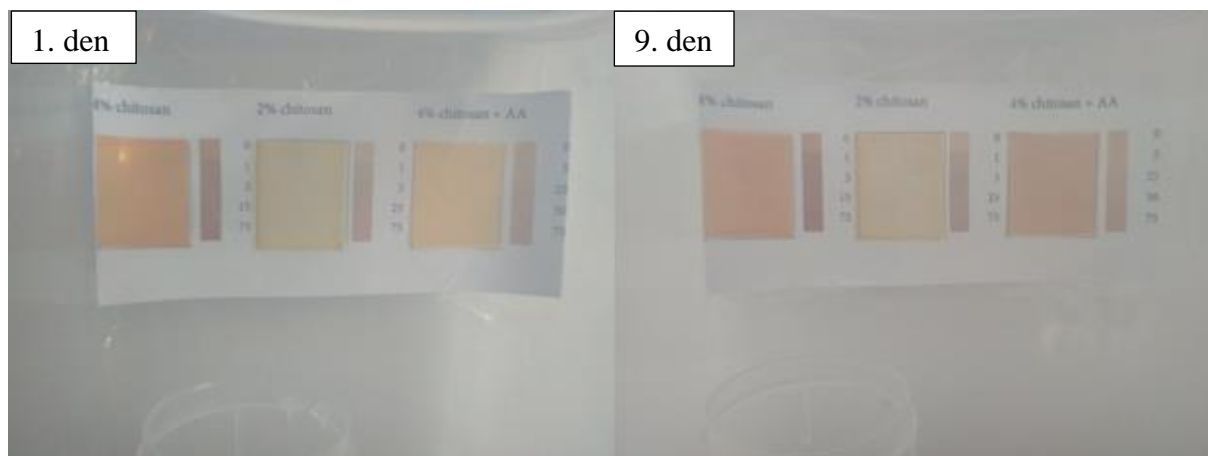
4.6.2 Výsledky experimentu s kuřecím masem uloženým v plastové nádobě

Toto balení bylo skladováno ve tmě po dobu 9 dní. Na rozdíl od předešlých experimentů zde byl použit hydroxid sodný, který měl sloužit jako pokusný absorbér oxidu uhličitého, jelikož komerční absorbér oxidu uhličitého nemohl být poskytnut. Díky tomuto pokusnému absorbéru mělo být předejito předešlé zkušenosti se vznikem nadměrného množství oxidu uhličitého a díky němu i nechtěnému posunu pH. První dva dny u masa nedocházelo k žádným výrazným barevným změnám, taktéž u indikátorů nedošlo k žádné barevné změně. Třetí den se začala z masa vypouštět tekutina, ale indikátor byl totožný s prvním dnem. Čtvrtý den se začaly indikátory vybarvovat, což může být přisuzováno pravděpodobně vznikajícímu amoniaku. K největší změně došlo u vrstvy z kompozice G (tedy vrstva s kyselinou askorbovou), u vrstvy z kompozice E došlo k mírnému ztmavnutí a u prostřední vrstvy došlo spíše k lehkému vybarvení do lehce červené barvy. Další dny docházelo k ještě výraznějšímu vybarvení především u vrstvy s kyselinou askorbovou. Spolu s dalšími dny docházelo také ke vzniku bělavých pigmentů na kuřecím masu a vzniku pěny. Bohužel i přes dobré utěsnění i u tohoto experimentu pronikal silný zápach z nádoby ven. Díky tomuto experimentu bylo usouzeno, že nádoba na rozdíl od předešlých sáčků lépe těsní a také bych pozitivní výsledek částečně přisuzovala pokusnému absorbéru oxidu uhličitého, který pravděpodobně zabránil posunu pH do kyselé oblasti a tím naopak podpořil vliv amoniaku, který naopak zapříčinil chtěný posun pH do bazické oblasti, což způsobilo vcelku pěkné a okem dobře viditelné červené vybarvení.



Obrázek 42 Balení v plastové nádobě s kuřecím masem skladované v termostatu, kdy fotografie byly pořízeny 1., 3. a 7. den

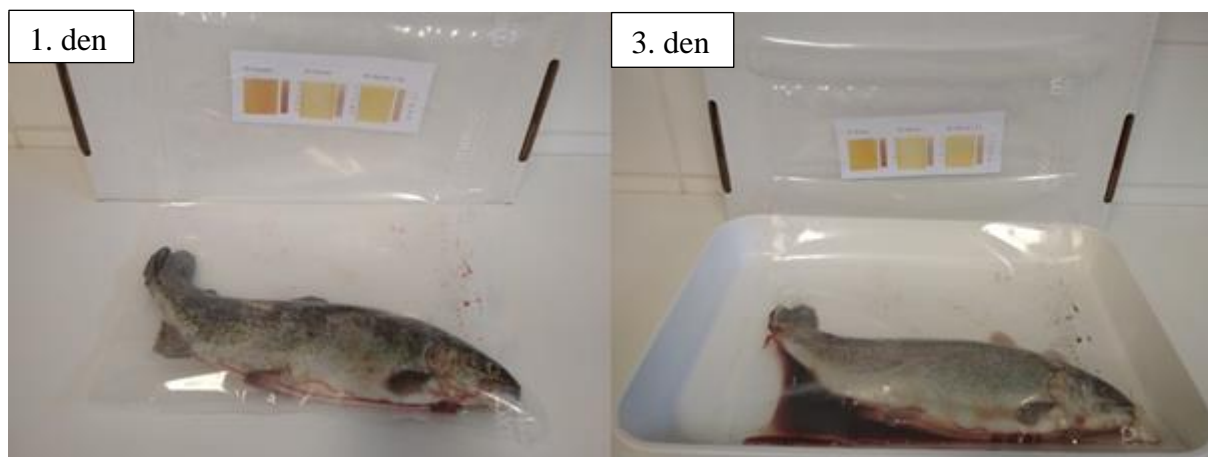
Na Obrázku 42 jsou uvedené fotografie snímané v 1., 3. a 7. den. Níže jsou zobrazeny na Obrázku 43 indikátory vyfocené v detailu, kde dochází ke srovnání fotografií pořízených v 1. den a také v poslední tedy 9. den.

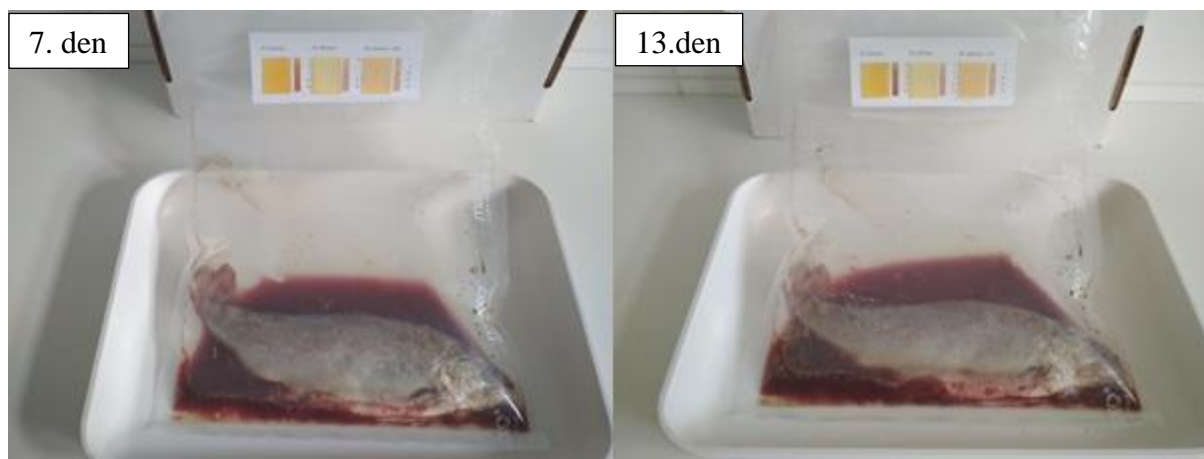


Obrázek 43 Porovnání barevné změny u vložených indikátorů v balení s kuřecím masem na počátku a na konci experimentu

4.6.3 Výsledky experimentu s rybou skladovanou v termostatu

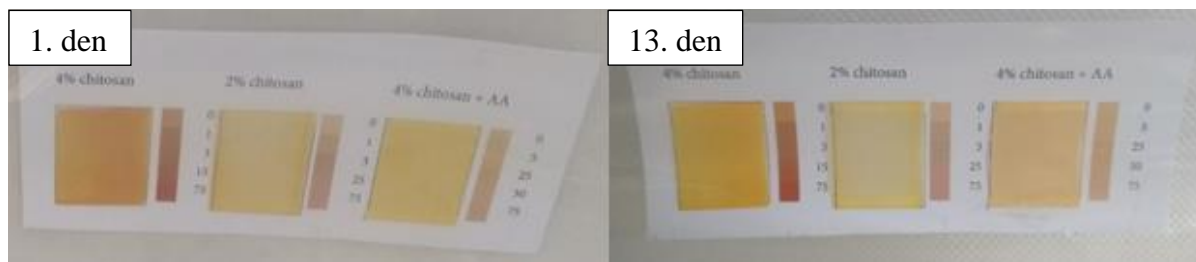
Tento typ balení byl skladován v termostatu po dobu 13 dní. Pro experiment byla zvolena ryba konkrétně pstruh. Ryba byla zvolena z důvodu toho, že u ní a také u plodů moře dochází k rychlejší zkáze a mají taktéž vysoký obsah bílkoviny. U pstruha docházelo k obdobnému průběhu jako u kuřecího masa v sáčku skladovaném v termostatu viz. kapitola 4.4.1.2. Taktéž docházelo ke žloutnutí vrstev, avšak u vrstvy z kompozice G docházelo k lehkému zčervenání do lehce červené barvy, ovšem po vcelku dlouhé době, tudíž jde usuzovat, že oxid uhličitý vznikl ve větším množství nebo pouze vznikl sám s jinými plyny bez přítomnosti amoniaku. Amoniak byl tedy nejdříve potlačován, avšak později po pěti dnech se projevil jeho nárůst v balení s rybou a docházelo k vybarvení vrstvy z kompozice G. Zbarvení sice nebylo nijak markantní, avšak okem postřehnutelné, především v porovnání s 1. dnem. Na Obrázku 44 můžeme vidět uvedené fotografie pořízené 1., 3., 7. a 13. den.





Obrázek 44 Balení s rybou v sáčku skladované v termostatu, kdy fotografie byly pořízeny 1., 3., 7. a 13. den

Na Obrázku 45 jsou uvedené fotografie, kde jsou z detailu vyfocené indikátory z balení se pstruhem, které byly pořízeny v 1. den a poslední tedy 13. den.



Obrázek 45 Porovnání barevné změny u vložených indikátorů v balení s rybou na počátku a na konci experimentu

Dle studie [71] byly připraveny vrstvy na bázi škrobu a polyvinylalkoholu v různých kombinacích barviv kurkuminu a anthokyanů a samozřejmě s přísadou glycerolu pro lepší vybarvení vrstev. Tyto vrstvy byly vloženy do balení s rybou konkrétně Kaprem velkookým. Ryba byla skladována při teplotě 4 °C po dobu deseti dnů. Nejdrastičtější změna byla pozorována u vrstev s kurkuminem a přísadou glycerolu. Přejít barev byl ze žluté, kdy je rybí maso čerstvé, do žluto-hnědých odstínů (4. až 6. den, kdy je rybí maso středně čerstvé). K největší změně docházelo 8. až 10. den, kdy barva byla hnědá, a tím také docházelo k indikaci zkaženého masa.

V jiné studii [115] byly aplikovány vrstvy na bázi blendu polyvinylalkoholu a tara gummy spolu s kurkuminem, jako použitým barvivem do balení s krevetami. Krevety byly skladovány při teplotě okolí a již po uplynutí tří dnů došlo k barevnému přechodu indikátoru ze žluté do oranžovo-červené.

5 ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo připravit vrstvy, které budou schopné barevné odezvy v přítomnosti různých koncentrací amoniaku. Pro přípravu vrstev byly zvoleny dva základní stavební kameny, a to byl polymer chitosan a barvivo kurkumin. V obou případech se jedná o látku na přírodní bázi a díky tomu tyto vrstvy bez problémů mohou přijít do kontaktu s potravinou. Experiment byl rozdělen na dvě části.

V první a také hlavní části experimentu byla věnována pozornost výrobě vrstev a následnému měření barevnosti připravených vrstev pomocí barvového prostoru CIE $L^* a^* b^*$. 3D tiskem byla připravena měřicí komora s definovanou relativní vlhkostí s vyvíjením amoniaku při současném měření odrazových spekter vzorku vláknovým spektrofotometrem. Byl studován vliv změkčovadla polymerní vrstvy na vybarvení vrstvy indikátoru i vliv tloušťky vrstvy. Dále byl studován proces kalibrace vrstvy indikátoru přidáváním kyseliny askorbové. V poslední fázi experimentů byl proveden reálný test uchovávání masa v chladu a při 26 °C s připravenými indikátory.

Z provedených experimentů bylo zjištěno, že:

1. Lze za pomoci polymeru chitosanu a vhodně namíchaného barviva vytvořit vrstvy, které jsou celistvé a měřitelné.
2. Množství glycerolu má výrazný vliv na vybarvení připravené vrstvy.
3. Připravené vrstvy z chitosanu a kurkuminu jsou citlivé na přítomný amoniak ve škále od 75–1 mg amoniaku a reagují barevnou odezvou do oranžové až lehce červené barvy v závislosti na množství amoniaku.
4. Použitá kyselina askorbová v kombinaci s 4 % chitosanem dokáže potlačit amoniak v rámci kalibrační zadržky, a navíc tyto vrstvy v přítomnosti vyššího množství amoniaku vykazují vcelku velkou barevnou odezvu.
5. Za použití těsnější nádoby a zkušebního absorbéru oxidu uhličitého dochází k dobře viditelnému vybarvení vrstev i na reálném vzorku s kuřecím masem.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] DESIGNHILL. The Evolution Of Packaging Design. *The Evolution Of Packaging Design* [online]. 2018 [cit. 2020-10-22]. Dostupné z: <https://www.designhill.com/design-blog/the-evolution-of-packaging-design/>
- [2] *The History of Packaging* [online]. [cit. 2020-10-27]. Dostupné z: <https://uspackagingandwrapping.com/blog/the-history-of-packaging.html>
- [3] PLASTOVÉ OBALY A JEJICH ALTERNATIVY. *Samosebou.cz* [online]. 2019 [cit. 2020-10-27]. Dostupné z: <https://www.samosebou.cz/2019/11/28/plastove-obaly-a-jejich-alternativy/>
- [4] *Zákon č. 110/1997 Sb. Zákon o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů.* In: . 1997, ročník 1997, číslo 110. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1997-110>
- [5] *Vyhláška č. 38/2001 Sb. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmy.* In: . 2001, ročník 2001, číslo 38. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-38>
- [6] *Zákon č. 477/2001 Sb. Zákon o obalech a o změně některých zákonů (zákon o obalech).* In: . 2001, číslo 477. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-477>
- [7] Bezpečnost potravin — bezpečné obaly. *Eur-lex.europa.eu* [online]. 2016 [cit. 2020-11-10]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/LSU/?uri=CELEX%3A32004R1935>
- [8] Nové nařízení ES o o materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami. *Bezpecnostpotravin.cz* [online]. 2004 [cit. 2020-11-02]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/nove-narizeni-es-o-o-materialech-a-predmetech-urcenyh-pro-styk-s-potravinami.aspx>
- [9] NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 450/2009 ze dne 29. května 2009 o aktivních a inteligentních materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami. *Eur-lex.europa.eu* [online]. 2009 [cit. 2020-11-10]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:135:0003:0011:CS:PDF>
- [10] Přehled změn probíhající v potravinářských surovinách a potravinách během zpracování a skladování. *Ukp.vscht.cz* [online]. [cit. 2020-10-27]. Dostupné z: <https://ukp.vscht.cz/files/uzel/0007649/0025~~Principy%20C3%BAchovy%20potra%20vin%20-%201.%20C4%8D%C3%A1st.pdf?redirected>

- [11] KUMAR, K Vinay Pramod, Jessie SUNEETHA W a B Anila KUMARI. Active packaging systems in food packaging for enhanced shelf life. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. India, 2018, **2018**(76, 2044-2046.
- [12] YILDIRIM, Selçuk, Bettina RÖCKER, Marit Kvalvåg PETTERSEN et al. Active Packaging Applications for Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2018, **17**(1), 165-199. ISSN 15414337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12322
- [13] PRASAD, Priyanka a Anita KOCHHAR. Active Packaging in Food Industry: A Review. *Journal of Enviromental Science, Toxicology and Food Technology*. 2014, (8), 2319-2399.
- [14] 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. 2020-10-20]. ISSN 8755-9129. Dostupné z: doi:10.1080/87559129.2011.595022
- [15] STÁTNÍ ZDRAVOTNÍ ÚSTAV. *Obecně o potravinářských obalech* [online]. [cit. 2020-10-20]. Dostupné z: <https://www.nzip.cz/clanek/836-obecne-o-potravinarskych-obalech>
- [16] NUR HANANI, Z.A., A.B. AELMA HUSNA, S. NURUL SYAHIDA, M.A.B NOR KHAIZURA a B. JAMILAH. Effect of different fruit peels on the functional properties of gelatin/polyethylene bilayer films for active packaging. *Food Packaging and Shelf Life*. 2018, **18**, 201-211. ISSN 22142894. Dostupné z: doi:10.1016/j.fpsl.2018.11.004
- [17] KUSWANDI, Bambang a JUMINA. Active and intelligent packaging, safety, and quality controls. *Fresh-Cut Fruits and Vegetables* [online]. Elsevier, 2020, , 243-294 [cit. 2020-10-29]. ISBN 9780128161845. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-816184-5.00012-4
- [18] AKTIVNÍ OBALY. *ActInPak* [online]. [cit. 2020-04-03]. Dostupné z: http://www.actinpak.eu/wp-content/uploads/2018/06/Active_packaging_Czech.pdf
- [19] DOBIÁŠ, Doc. Ing. Jaroslav. Aktivní systémy balení při výrobě potravin. *Potravinainfo.cz* [online]. 2009 [cit. 2020-10-29]. Dostupné z: https://www.potravinainfo.cz/33/aktivni-systemy-baleni-pri-vyrobe-potravin-uniqueidmRRWSbk196FNf8-jVUh4EtI668NLI3LvIX67uH9PXD_VRYFLS2WAvA/
- [20] Balení kávy. *Cafe Eternity* [online]. [cit. 2020-04-05]. Dostupné z: <https://www.cafeeternity.cz/clanek/baleni-kavy>

- [21] Aktivní a inteligentní obalové systémy pro balení potravin. *Vědecký výbor pro potraviny* [online]. 2008 [cit. 2020-04-05]. Dostupné z: http://czvp.szu.cz/vedvybor/dokumenty/informace/info_2007_22_deklas_FCM.pdf
- [22] The Sirane guide to absorbency and absorbent food packaging solutions. *Sirane* [online]. [cit. 2021-01-08]. Dostupné z: https://s3-ap-southeast-2.amazonaws.com/img-admin.exponews.com.au/exhibitors/c/absorbentpackagingguidelowres_18112821.pdf
- [23] Antimicrobial Food Packaging. *Antimicrobial Food Packaging* [online]. San Diego, United States: Elsevier Science Publishing Co Inc, 2016, s. 320 [cit. 2020-10-29]. ISBN 978-0-12-800723-5. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=iFydBgAAQBAJ&pg=PA320&lpg=PA320&dq=emitters+of+carbon+dioxide+in+active+packaging&source=bl&ots=ZKg5oAgrnK&sig=ACfU3U0Y1ZE7KapMApnpYrV6KzzwAnvCRQ&hl=en&sa=X&ved=2ahUKEwjfjozBk9boAhWMYqQKH4-Co04HhDoATAIegQIDBAy#v=onepage&q=emitters%20of%20carbon%20dioxide%20in%20active%20packaging&f=false>
- [24] 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. 2020-10-29]. ISSN 1438-2377. Dostupné z: [doi:10.1007/s00217-017-2878-2](https://doi.org/10.1007/s00217-017-2878-2)
- [25] Food Packaging. ROBERTSON, Gordon L. *Food packaging: principles and practice* [online]. Third edition. Boca Raton: Taylor & Francis Inc, 2012, s. 405 [cit. 2020-10-29]. ISBN 978-1439862414. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=BizOBQAAQBAJ&pg=PA405&lpg=PA405&dq=CO2+%C2%AE+Fresh+Pads&source=bl&ots=uGmw83FQqK&sig=ACfU3U0TiZesDaEre3_3URqt8r6AJdT9cg&hl=en&sa=X&ved=2ahUKEwiOhLCoqtboAhVF2KQKHbqGBmY4ChDoATABegQICxAt#v=onepage&q=CO2%20%C2%AE%20Fresh%20Pads&f=false
- [26] PASQUALONE, Antonella. Bread Packaging: Features and Functions. *Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention* [online]. Elsevier, 2019, , 211-222 [cit. 2020-10-29]. ISBN 9780128146392. Dostupné z: [doi:10.1016/B978-0-12-814639-2.00017-4](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814639-2.00017-4)
- [27] NEETOO, H., H. CHEN a D.G. HOOVER. Emerging methods for post-packaging microbial decontamination of food. *Microbial Decontamination in the Food Industry*. Elsevier, 2012, , 746-787. ISBN 9780857090850. Dostupné z: [doi:10.1533/9780857095756.4.746](https://doi.org/10.1533/9780857095756.4.746)
- [28] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-808-6659-152.

- [29] SINGH, Bijendra a Sudhir SINGH. Advances in Postharvest Technologies of Vegetable Crops. *Advances in Postharvest Technologies of Vegetable Crops* [online]. 1 st. ed. Apple Academic Press, 2018, s. 255 [cit. 2020-10-29]. ISBN 9781771886192. Dostupné z: https://books.google.cz/books?hl=en&lr=&id=Pv5cDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA249&dq=sulfur+dioxide+emitters+in+active+packaging&ots=3dFmZ1WdV2&sig=8farCi-WhD0LwQjxSRaQ3Yv10qE&redir_esc=y#v=onepage&q=sulfur%20dioxide&f=false
- [30] SURWADE, Sachin A a Khan CHAND. Antimicrobial food packaging: An overview. *European Journal of Biotechnology and Bioscience* [online]. 2017, **5**(5), 85-90 [cit. 2020-10-29]. ISSN 2321-9122.
- [31] Smart Pckaging: Active Packaging Part II. *The Packaging Blog* [online]. 2019 [cit. 2020-04-08]. Dostupné z: <https://www.thepackagingblog.com/active-packaging-antimicrobial-antioxidant-nanotechnolgy-controlled-release-packaging/>
- [32] GÓMEZ-ESTACA, Joaquín, Carol LÓPEZ-DE-DICASTILLO, Pilar HERNÁNDEZ-MUÑOZ, Ramón CATALÁ a Rafael GAVARA. *Advances in antioxidant active food packaging* [online]. 2014, **35**(1), 42-51 [cit. 2020-10-29]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2013.10.008
- [33] GREGOR-SVETEC, Diana. Intelligent Packaging. *Nanomaterials for Food Packaging* [online]. Elsevier, 2018, , 203-247 [cit. 2020-04-10]. ISBN 9780323512718. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-51271-8.00008-5
- [34] YAM, Kit L., Paul T. TAKHISTOV a Joseph MILTZ. Intelligent Packaging: Concepts and Applications. *Journal of Food Science* [online]. 2005, **70**(1), 1-10 [cit. 2020-11-08]. ISSN 00221147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2621.2005.tb09052.x
- [35] CERQUEIRA, Miguel A., Maristiina NURMI a Diana Gregor SVETEC. INTELLIGENT PACKAGING. *Actinpack.eu* [online]. [cit. 2020-11-08]. Dostupné z: http://www.actinpak.eu/wp-content/uploads/2018/10/Full_text_intelligent_download.pdf
- [36] MÜLLER, Patricia a Markus SCHMID. Intelligent Packaging in the Food Sector: A Brief Overview. *Foods* [online]. 2019, **8**(1) [cit. 2020-11-08]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods8010016
- [37] CHOWDHURY, E.U. a A. MOREY. Intelligent Packaging for Poultry Industry. *Journal of Applied Poultry Research* [online]. 2019, **28**(4), 791-800 [cit. 2020-11-09]. ISSN 10566171. Dostupné z: doi:10.3382/japr/pfz098

- [38] FUERTES, Guillermo, Ismael SOTO, Raúl CARRASCO, Manuel VARGAS, Jorge SABATTIN a Carolina LAGOS. Intelligent Packaging Systems: Sensors and Nanosensors to Monitor Food Quality and Safety. *Journal of Sensors* [online]. 2016, **2016**, 1-8 [cit. 2020-11-13]. ISSN 1687-725X. Dostupné z: doi:10.1155/2016/4046061
- [39] BIJI, K. B., C. N. RAVISHANKAR, C. O. MOHAN a T. K. SRINIVASA GOPAL. Smart packaging systems for food applications: a review. *Journal of Food Science and Technology* [online]. 2015, **52**(10), 6125-6135 [cit. 2020-11-13]. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-015-1766-7
- [40] VANDERROOST, Mike, Peter RAGAERT, Frank DEVLIEGHERE a Bruno DE MEULENAER. *Intelligent food packaging: The next generation* [online]. 2014, **39**(1), 47-62 [cit. 2020-11-13]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2014.06.009
- [41] PULIGUNDLA, Pradeep, Junho JUNG a Sanghoon KO. Carbon dioxide sensors for intelligent food packaging applications. *Food Control* [online]. 2012, **25**(1), 328-333 [cit. 2020-11-14]. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2011.10.043
- [42] How Oxygen is Measured Within a Package / PET Bottle. *Oxysense.com* [online]. [cit. 2020-11-14]. Dostupné z: <https://www.oxysense.com/how-oxysense-works.html>
- [43] DRAGO, Emanuela, Roberta CAMPARDELLI, Margherita PETTINATO a Patrizia PEREGO. Innovations in Smart Packaging Concepts for Food: An Extensive Review. *Foods* [online]. 2020, **9**(11) [cit. 2021-01-08]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods9111628
- [44] MOHEBI, Ehsan a Leorey MARQUEZ. Intelligent packaging in meat industry: An overview of existing solutions. *Journal of Food Science and Technology* [online]. 2015, **52**(7), 3947-3964 [cit. 2021-03-03]. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-014-1588-z
- [45] 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. 2020-11-13]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2016.02.008
- [46] LATOS-BROZIO, Malgorzata a Anna MASEK. The application of natural food colorants as indicator substances in intelligent biodegradable packaging materials. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2020, **135** [cit. 2020-11-21]. ISSN 02786915. Dostupné z: doi:10.1016/j.fct.2019.110975
- [47] POYATOS-RACIONERO, Elisa, Jose Vicente ROS-LIS, José-Luis VIVANCOS a Ramón MARTÍNEZ-MÁÑEZ. Recent advances on intelligent packaging as tools to reduce food waste. *Journal of Cleaner Production* [online]. 2018, **172**, 3398-3409 [cit. 2020-11-21]. ISSN 09596526. Dostupné z: doi:10.1016/j.jclepro.2017.11.075

- [48] PRIYADARSHI, Ruchir, Parya EZATI a Jong-Whan RHIM. *Recent Advances in Intelligent Food Packaging Applications Using Natural Food Colorants* [online]. 2021, 1(2), 124-138 [cit. 2021-04-09]. ISSN 2692-1944. Dostupné z: doi:10.1021/acsfoodscitech.0c00039
- [49] MOHEBI, Ehsan a Leorey MARQUEZ. Intelligent packaging in meat industry: An overview of existing solutions. *Journal of Food Science and Technology* [online]. 2015, 52(7), 3947-3964 [cit. 2020-11-22]. ISSN 0022-1155. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-014-1588-z
- [50] FANG, Zhongxiang, Yanyun ZHAO, Robyn D. WARNER a Stuart K. JOHNSON. *Active and intelligent packaging in meat industry* [online]. 2017, 61, 60-71 [cit. 2020-11-22]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2017.01.002
- [51] AYHAN, Zehra. Packaging and Preservation Methods of Minimally Processed Produce. *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables* [online]. Boston, MA: Springer US, 2017, , 239-268 [cit. 2021-03-03]. Food Engineering Series. ISBN 978-1-4939-7016-2. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4939-7018-6_7
- [52] REALINI, Carolina E. a Begonya MARCOS. Active and intelligent packaging systems for a modern society. *Meat Science* [online]. 2014, 98(3), 404-419 [cit. 2020-11-08]. ISSN 03091740. Dostupné z: doi:10.1016/j.meatsci.2014.06.031
- [53] ROYA, Amiri Qandashtani a Mahdian ELHAM. Intelligent food packaging: Concepts and innovations. *International Journal of ChemTech Research* [online]. 2016, 9(6), 669-676 [cit. 2020-11-22]. ISSN 2455-9555. Dostupné z: [http://sphinxesai.com/2016/ch_vol9_no6/3/\(669-676\)V9N6CT.pdf](http://sphinxesai.com/2016/ch_vol9_no6/3/(669-676)V9N6CT.pdf)
- [54] JUNG, Junho, Kyuho LEE, Pradeep PULIGUNDLA a Sanghoon KO. Chitosan-based carbon dioxide indicator to communicate the onset of kimchi ripening. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 2013, 54(1), 101-106 [cit. 2021-03-15]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2013.05.004
- [55] KUSWANDI, Bambang, Yudi WICAKSONO, JAYUS, Aminah ABDULLAH, Lee Yook HENG a Musa AHMAD. Smart packaging: sensors for monitoring of food quality and safety. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety* [online]. 2011, 5(3-4), 137-146 [cit. 2020-11-24]. ISSN 1932-7587. Dostupné z: doi:10.1007/s11694-011-9120-x
- [56] KAMENÍK, CSC., MBA, MVDr. Josef, Doc. MVDr. Bohumíra JANŠTOVÁ, PH.D. a Ing. Alena SALÁKOVÁ, PH.D. *Technologie a hygiena potravin živočišného původu* [online]. 1. vyd. Brno, 2014 [cit. 2021-03-08]. ISBN ISBN 978-80-7305-723-7. Dostupné z: <https://fvhe.vfu.cz/files/technologie-a-hygiena-potravin-zivocisneho-puvodu.pdf>

- [57] Aktivita vody. *Bezpečnostpotravin.cz* [online]. [cit. 2021-03-08]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76457.aspx>
- [58] KUSWANDI, Bambang a Arjun NURFAWAIDI. On-package dual sensors label based on pH indicators for real-time monitoring of beef freshness. *Food Control* [online]. 2017, **82**, 91-100 [cit. 2020-11-24]. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2017.06.028
- [59] DRDÁK, M. *Základy potravinářských technologií: spracovanie rastlinných a živočišných surovín cereálne a fermentačné technológie uchovávanie, hygiena a ekológia potravín*. Bratislava: Malé centrum, 1996. ISBN 80-967-0641-1.
- [60] KALHOTKA, PH.D., Ing. Libor. *Potravinářská mikrobiologie pro Zahradnickou fakultu: Díl 2. Speciální část* [online]. 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2014 [cit. 2020-11-24]. ISBN 978-80-7509-017-1. Dostupné z: https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty/files/23/23-potravinarska_mikrobiologie_pro_zahradnickou_fakultudil2specialni_cast.pdf
- [61] KAMENÍK CSC., MVDr. Josef. Jak poznáme, že se maso začíná kazit?. *Vyživapol.cz* [online]. 2016 [cit. 2021-03-16]. Dostupné z: <https://www.vyzivapol.cz/jak-pozname-ze-se-maso-zacina-kazit/>
- [62] Growth of spoilage bacteria during storage and transport of meat. *EFSA Journal* [online]. 2016, **14**(6) [cit. 2021-03-16]. ISSN 18314732. Dostupné z: doi:10.2903/j.efsa.2016.4523
- [63] PRAJITNA, Sely. *EVALUATION AND AN TION AND ANALYSIS OF BEEF CON SIS OF BEEF CONTAMINATION BY LOW LEVELS OF AMMONIA* [online]. University of Nebraska - Lincoln, 2011 [cit. 2021-03-09]. Dostupné z: <https://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1012&context=foodscidis>. Disertační práce. Food Science and Technology University of Nebraska - Lincoln. Vedoucí práce Randy L. Wehling.
- [64] Amoniak. *Irz.cz* [online]. [cit. 2021-03-09]. Dostupné z: <https://irz.cz/repository/latky/amoniak.pdf>
- [65] KOPŘIVA, PH.D., MVDr. Vladimír, MVDr. Martin HOSTOVSKÝ, MVDr. Tomáš NEKVAPIL PH.D., RNDr. Vladimír BOUDNÝ, CSC. a Doc. MVDr. Ladislav MALOTA, CSC. *Vybrané instrumentální metody v biochemických cvičeních – inovované úlohy* [online]. 1. vyd. Brno, 2012 [cit. 2021-03-09]. ISBN 978-80-7305-627-8. Dostupné z: <https://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/Kopriva-skripta-II-web.pdf>

- [66] DING, Lei, Xiang LI, Lecheng HU et al. A naked-eye detection polyvinyl alcohol/cellulose-based pH sensor for intelligent packaging. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2020, **233** [cit. 2020-11-24]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2020.115859
- [67] PRIETTO, Luciana, Taiane Correa MIRAPALHETE, Vânia Zanella PINTO, Jessica Fernanda HOFFMANN, Nathan Levien VANIER, Loong-Tak LIM, Alvaro Renato GUERRA DIAS a Elessandra DA ROSA ZAVAREZE. PH-sensitive films containing anthocyanins extracted from black bean seed coat and red cabbage. *LWT* [online]. 2017, **80**, 492-500 [cit. 2020-11-24]. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2017.03.006
- [68] ZHAI, Xiaodong, Xinyu WANG, Junjun ZHANG et al. Extruded low density polyethylene-curcumin film: A hydrophobic ammonia sensor for intelligent food packaging. *Food Packaging and Shelf Life* [online]. 2020 [cit. 2020-11-24]. ISSN 22142894. Dostupné z: doi:10.1016/j.fpsl.2020.100595
- [69] TAOUKIS, P. a T. TSIRONI. Smart Packaging for Monitoring and Managing Food and Beverage Shelf Life. *The Stability and Shelf Life of Food* [online]. Elsevier, 2016, , 141-168 [cit. 2021-03-15]. ISBN 9780081004357. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-100435-7.00005-8
- [70] CHAYAVANICH, Kasitnun, Pattara THIRAPHIBUNDET a Apichat IMYIM. Biocompatible film sensors containing red radish extract for meat spoilage observation. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* [online]. 2020, **226** [cit. 2020-11-25]. ISSN 13861425. Dostupné z: doi:10.1016/j.saa.2019.117601
- [71] CHEN, Hui-zhi, Min ZHANG, Bhesh BHANDARI a Chao-hui YANG. Novel pH-sensitive films containing curcumin and anthocyanins to monitor fish freshness. *Food Hydrocolloids* [online]. 2020, **100** [cit. 2020-11-25]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2019.105438
- [72] HALÁSZ, Katalin a Levente CSÓKA. Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) pomace extract immobilized in chitosan for colorimetric pH indicator film application. *Food Packaging and Shelf Life* [online]. 2018, **16**, 185-193 [cit. 2020-11-25]. ISSN 22142894. Dostupné z: doi:10.1016/j.fpsl.2018.03.002
- [73] A. PASCALL, Melvin. *The Application of Edible Polymeric Films and Coatings in the Food Industry* [online]. 2012, **04**(02) [cit. 2020-11-20]. ISSN 21577110. Dostupné z: doi:10.4172/2157-7110.1000e116

- [74] SHUKLA, Preeti a Suresh BHISE. Role of Biodegradable Edible Films and Coatings in Food Industry. *ACTA SCIENTIFIC NUTRITIONAL HEALTH* [online]. India, 2019, **3**(5), 138-147 [cit. 2020-11-20]. Dostupné z: <https://actascientific.com/ASNH/pdf/ASNH-03-0261.pdf>
- [75] BENABID, F.Z. a F. ZOUAI. NATURAL POLYMERS: CELLULOSE, CHITIN, CHITOSAN, GELATIN, STARCH, CARRAGEENAN, XYLAN AND DEXTRAN. *Algerian Journal of Natural Products* [online]. Algérie, 2016, , 348-357 [cit. 2021-05-08]. ISSN 2353-0391. Dostupné z: doi:10.5281/zenodo.199036
- [76] IBRAHIM, H.M. a E.M.R. EL-ZAIRY. Chitosan as a Biomaterial — Structure, Properties, and Electrospun Nanofibers. *Concepts, Compounds and the Alternatives of Antibacterials* [online]. InTech, 2015 [cit. 2020-11-16]. ISBN 978-953-51-2232-6. Dostupné z: doi:10.5772/61300
- [77] PILLAI, C.K.S., Willi PAUL a Chandra P. SHARMA. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science* [online]. 2009, **34**(7), 641-678 [cit. 2020-11-16]. ISSN 00796700. Dostupné z: doi:10.1016/j.progpolymsci.2009.04.001
- [78] KABANOV, V. L. a L. V. NOVINYUK. CHITOSAN APPLICATION IN FOOD TECHNOLOGY: A REVIEW OF RESENT ADVANCES. *Food systems* [online]. 2020, **3**(1), 10-15 [cit. 2020-11-16]. ISSN 2618-7272. Dostupné z: doi:10.21323/2618-9771-2020-3-1-10-15
- [79] *Deacetylase chitinu na chitosan.* [online]. In: . [cit. 2020-11-16]. Dostupné z: <http://www.drpetry.com.cn/Upload/Images/20130621/201306211700587810002.jpg>
- [80] HAGHIGHI, Hossein, Fabio LICCIARDELLO, Patrizia FAVA, Heinz Wilhelm SIESLER a Andrea PULVIRENTI. Recent advances on chitosan-based films for sustainable food packaging applications. *Food Packaging and Shelf Life* [online]. 2020, **26** [cit. 2020-11-16]. ISSN 22142894. Dostupné z: doi:10.1016/j.fpsl.2020.100551
- [81] RYAN, Catherine, Emma ALCOCK, Finbarr BUTTIMER, Michael SCHMIDT, David CLARKE, Martyn PEMBLE a Maria BARDOSOVA. Synthesis and characterisation of cross-linked chitosan composites functionalised with silver and gold nanoparticles for antimicrobial applications. *Science and Technology of Advanced Materials* [online]. 2017, **18**(1), 528-540 [cit. 2020-11-17]. ISSN 1468-6996. Dostupné z: doi:10.1080/14686996.2017.1344929

- [82] JÓZWIAK, Tomasz, Urszula FILIPKOWSKA, Paula SZYMCZYK, Joanna RODZIEWICZ a Artur MIELCAREK. Effect of ionic and covalent crosslinking agents on properties of chitosan beads and sorption effectiveness of Reactive Black 5 dye. *Reactive and Functional Polymers* [online]. 2017, **114**, 58-74 [cit. 2020-11-17]. ISSN 13815148. Dostupné z: doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2017.03.007
- [83] 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. 2021-01-09]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.08.187
- [84] WANG, Guang, Pu Wang LI, Zheng PENG, Mao Fang HUANG a Ling Xue KONG. Formulation of Vanillin Cross-Linked Chitosan Nanoparticles and its Characterization. *Advanced Materials Research* [online]. 2011, **335-336**, 474-477 [cit. 2020-11-17]. ISSN 1662-8985. Dostupné z: doi:10.4028/www.scientific.net/AMR.335-336.474
- [85] PÉREZ-CALDERÓN, John, M. Victoria SANTOS a Noemí ZARITZKY. Synthesis, characterization and application of cross-linked chitosan/oxalic acid hydrogels to improve azo dye (Reactive Red 195) adsorption. *Reactive and Functional Polymers* [online]. 2020, **155** [cit. 2021-01-09]. ISSN 13815148. Dostupné z: doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2020.104699
- [86] HELBLING, Ignacio M., Carlos A. BUSATTO, Silvana A. FIORAMONTI, Juan I. PESOA, Liliana SANTIAGO, Diana A. ESTENOZ a Julio A. LUNA. Preparation of TPP-crosslinked chitosan microparticles by spray drying for the controlled delivery of progesterone intended for estrus synchronization in cattle. *Pharmaceutical Research* [online]. 2018, **35**(3) [cit. 2021-01-09]. ISSN 0724-8741. Dostupné z: doi:10.1007/s11095-018-2363-z
- [87] RAVISHANKAR, Kartik a Raghavachari DHAMODHARAN. *Advances in chitosan-based hydrogels: Evolution from covalently crosslinked systems to ionotropically crosslinked superabsorbents* [online]. In: . 2020 [cit. 2020-11-17]. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S1381514819311423>
- [88] BALBINOT-ALFARO, Evellin, Débora Vieira CRAVEIRO, Karina Oliveira LIMA, Helena Leão Gouveia COSTA, Danielle Rubim LOPES a Carlos PRENTICE. Intelligent Packaging with pH Indicator Potential. *Food Engineering Reviews* [online]. 2019, **11**(4), 235-244 [cit. 2020-11-19]. ISSN 1866-7910. Dostupné z: doi:10.1007/s12393-019-09198-9

- [89] MOHAMMADIAN, Esmail, Mahmood ALIZADEH-SANI a Seid Mahdi JAFARI. Smart monitoring of gas/temperature changes within food packaging based on natural colorants. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2020, **19**(6), 2885-2931 [cit. 2021-01-09]. ISSN 1541-4337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12635
- [90] 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. 2020-11-19]. ISSN 1654-6628. Dostupné z: doi:10.1080/16546628.2017.1361779
- [91] Anthokyaniny v rostlinách. *Studium chemie* [online]. [cit. 2020-11-19]. Dostupné z: <https://studiumchemie.cz/experiment/anthokyaniny-v-rostlinach/>
- [92] KALTHUM IB, Ummi, Ida IDAYU MUHA a Ruzitah MOHD SALLE. The Effect of pH on Color Behavior of Brassica oleracea Anthocyanin. *Journal of Applied Sciences* [online]. 2011, **11**(13), 2406-2410 [cit. 2021-03-03]. ISSN 18125654. Dostupné z: doi:10.3923/jas.2011.2406.2410
- [93] BHARGAVA, Nitya, Vijay Singh SHARANAGAT, Rahul S MOR a Kshitiz KUMAR. *Active and intelligent biodegradable packaging films using food and food waste-derived bioactive compounds: A review* [online]. 2020, **105**, 385-401 [cit. 2021-05-08]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2020.09.015
- [94] E100–Kurkumin. *FÉR potravina* [online]. [cit. 2021-05-03]. Dostupné z: <https://www.ferpotravina.cz/seznam-ecek/E100>
- [95] KURKUMIN. *P-lab* [online]. [cit. 2021-03-03]. Dostupné z: <https://www.p-lab.cz/kurkumin>
- [96] DRAKE, PH.D., Victoria J. Drake, Ph.D. a Barbara DELAGE, PH.D. Curcumin. *Oregon State University* [online]. Oregon State University: Linus Pauling Institute, c 2005-2020 [cit. 2020-11-19]. Dostupné z: <https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/curcumin>
- [97] AL-ALI, Khalil, Hala Salah ABDEL FATAH a Yaser Abdel MOEMEN EL-BADRY. Dual Effect of Curcumin–Zinc Complex in Controlling Diabetes Mellitus in Experimentally Induced Diabetic Rats. In: *ResearchGate* [online]. 2016 [cit. 2020-11-19]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/309594840_Dual_Effect_of_Curcumin-Zinc_Complex_in_Controlling_Diabetes_Mellitus_in_Experimentally_Induced_Diabetic_Rats

- [98] SAWICKI, Tomasz, Natalia BaCZEK a Wieslaw WICZKOWSKI. Betalain profile, content and antioxidant capacity of red beetroot dependent on the genotype and root part. *Journal of Functional Foods* [online]. 2016, **27**, 249-261 [cit. 2021-05-08]. ISSN 17564646. Dostupné z: doi:10.1016/j.jff.2016.09.004
- [99] PH indicator. *Wikipedia* [online]. [cit. 2021-03-03]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/PH_indicator#Naturally_occurring_pH_indicators
- [100] *Nariženi Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1272/2008*. In: . 2008, ročník 2008, číslo 1272. Dostupné také z: [https://www.mpo.cz/dokument54046.html#:~:text=V%20%C3%9A%C5%99edn%C3%ADm%20v%C4%9Bstn%C3%ADku%20Evropsk%C3%A9%20unie,zm%C4%9Bn%C4%9B%20na%C5%99%C3%ADzen%C3%AD%20\(ES\)%20%C4%8D](https://www.mpo.cz/dokument54046.html#:~:text=V%20%C3%9A%C5%99edn%C3%ADm%20v%C4%9Bstn%C3%ADku%20Evropsk%C3%A9%20unie,zm%C4%9Bn%C4%9B%20na%C5%99%C3%ADzen%C3%AD%20(ES)%20%C4%8D).
- [101] RODRÍGUEZ-NÚÑEZ, Jesús R., Tomás J. MADERA-SANTANA, Dalia I. SÁNCHEZ-MACHADO, Jaime LÓPEZ-CERVANTES a Herlinda SOTO VALDEZ. Chitosan/Hydrophilic Plasticizer-Based Films: Preparation, Physicochemical and Antimicrobial Properties. *Journal of Polymers and the Environment* [online]. 2014, **22**(1), 41-51 [cit. 2020-11-19]. ISSN 1566-2543. Dostupné z: doi:10.1007/s10924-013-0621-z
- [102] OTONI, Caio G., Roberto J. AVENA-BUSTILLOS, Henriette M. C. AZEREDO, Marcos V. LOREVICE, Márcia R. MOURA, Luiz H. C. MATTOSO a Tara H. MCHUGH. Recent Advances on Edible Films Based on Fruits and Vegetables-A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2017, **16**(5), 1151-1169 [cit. 2020-11-19]. ISSN 15414337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12281
- [103] PANÁK, Ing. Ondřej. *Věda pro papírové artefakty (VEPA), CZ.1.07/2.3.00/20.0236*. Dostupné také z: https://www.upce.cz/sites/default/binary_www_old/fcht/kpf/studenti-kpf/merenibarevnosti.pdf
- [104] Biochemie procesu vidění. *Wikiskripta.eu* [online]. 2019 [cit. 2020-11-23]. Dostupné z: https://www.wikiskripta.eu/w/Biochemie_procesu_vid%C4%9Bn%C3%AD
- [105] ŠULCOVÁ, Petra. *VYJADŘOVÁNÍ A HODNOCENÍ BAREV* [online]. Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, [cit. 2020-11-23]. Dostupné z: <https://konference.osu.cz/svk/sbornik2012/pdf/budoucnost/chemie/sulcova.pdf>
- [106] HUNT, R.W.G. a M.R. POINTER. *Measuring colour: fundamentals and applications*. 3rd ed. Kingston-upon-Thames: Fountain, 1998. ISBN 08-634-3387-1.
- [107] Barevný prostor LAB. In: *Kopina* [online]. 2018 [cit. 2020-11-26]. Dostupné z: <https://kopina.cz/terminologie/36958/lab/>

- [108] ZMEŠKAL, O., M. ČEPPAN a P. DZIK. *Barevné prostory a správa barev* [online]. [cit. 2021-06-20]. Dostupné z: http://imagesci.fch.vut.cz/download/stud06_rozn02.pdf
- [109] RÔTI DE PALETTE AVEC OS. In: *MONTPAK INTERNATIONAL* [online]. [cit. 2021-06-05]. Dostupné z: <http://www.montpak.ca/produits/map/veau-de-grain-2/roti-de-palette-avec-os/>
- [110] BASIAK, Ewelina, Andrzej LENART a Frédéric DEBEAUFORT. How Glycerol and Water Contents Affect the Structural and Functional Properties of Starch-Based Edible Films. *Polymers* [online]. 2018, **10**(4) [cit. 2021-07-12]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym10040412
- [111] PRATEEPCHANACHAI, Sarinya, Wasina THAKHIEW, Sakamon DEVAHASTIN a Somchart SOPONRONNARIT. *Improvement of Mechanical and Heat Sealing Properties of Chitosan Films via the Use of Glycerol and Gelatin Blends in Film-Forming Solution* [online]. 2017, , 30-35 [cit. 2021-07-12]. Dostupné z: <http://www.tsae.asia/downloads/2017proceeding/Proceedingst2017-048-053.pdf>
- [112] E300 - Kyselina askorbová. *FÉR potravina* [online]. [cit. 2021-07-14]. Dostupné z: <https://www.ferpotravina.cz/seznam-ecek/E300>
- [113] MUSSO, Yanina S., Pablo R. SALGADO a Adriana N. MAURI. *Smart edible films based on gelatin and curcumin* [online]. [cit. 2021-07-14]. Dostupné z: doi:doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.11.007
- [114] DOBIÁŠ, Jaroslav. Svět balení. *Svět balení* [online]. 2007 [cit. 2021-07-08]. Dostupné z: <https://www.svetbaleni.cz/2007/03/01/sb-2-2007-hlavn-tma-baleni-potravin-baleni-potravin-v-ma/>
- [115] MA, Qianyun, Lin DU a Lijuan WANG. Tara gum/polyvinyl alcohol-based colorimetric NH₃ indicator films incorporating curcumin for intelligent packaging. *Sensors and Actuators B: Chemical* [online]. 2017, **244**, 759-766 [cit. 2021-07-20]. ISSN 09254005. Dostupné z: doi:10.1016/j.snb.2017.01.035

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

EVA	ethylenvinylacetát
BHA	butylhydroxyanisol
BHT	butylhydroxytoluen
TM	Trademark
®	Registrovaná ochranná známka
QR	Quick Response
RFID	Radio Frequency Identification
NDIR	Nondispersive infrared sensor
TTI	Time-Temperature Indicator
KTJ	kolonii tvořící jednotka
kDa	Kilodalton
MB	Megabyte
$I(\lambda)$	intenzita světla
$R(\lambda)$	spektrální reflektance barevného vzorku
$\Phi^0(\lambda)$	spektrální distribuce osvětlení
$\bar{x}, \bar{y}, \bar{z}$	trichomatičtí členitelé
CIE	Commission internationale de l'éclairage (Mezinárodní komise pro osvětlování)
L^*	měrná světlost
a^*	osa zelená – červená
b^*	osa modrá – žlutá
X_n, Y_n, Z_n	trichromatické složky použitého světla
ΔE^*_{ab}	barvová odchylka
ΔH^*	odchylka odstínu