

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra Kvality a bezpečnosti potravin



Enkapsulované silice v potravinách

Bakalářská práce

Pavla Koubíková

Obor: Kvalita produkce

Vedoucí práce doc. Ing. Pavel Klouček, Ph.D.

©2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci Enkapsulované silice v potravinách jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 25.6.2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala panu doc. Ing. Pavlu Kloučkovi, Ph. D. za veškerou pomoc, trpělivost, odborné vedení a poskytnutí cenných rad při psaní bakalářské práce.

Velké poděkování patří také mým rodičům, celé rodině a nejbližším přátelům za podporu během studia a v průběhu sepisování bakalářské práce.

Enkapsulované silice v potravinách

Souhrn

Enkapsulace silic a jejich využití v potravinách je nový směr výzkumu přírodních konzervantů. Silice jsou rostlinné látky získané v podobě výtažků. K získání silic se využívá několik metod, např. destilace, lisování nebo extrakce. Silice se často používají ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu, aromaterapii, v zemědělství, i jako součást potravin. Jsou ceněné pro své antimikrobiální a antioxidační účinky. Vzhledem k tomu, že většina konzumentů vnímá syntetické konzervanty v potravinách negativně, silice se zdají být dobrou náhradou pro své vlastnosti.

Použitím enkapsulovaných silic dochází k jejich pozvolnému uvolňování z povlaku a dochází k prodloužení trvanlivosti potravin. Metody enkapsulace jsou např. koacervace, emulsifikace, sušení rozprašováním nebo nanoprecipitace. Některé silice mění chuť a vůni potravin. Proto se také využívá enkapsulace, aby se zmírnila nežádoucí chuť a vůně silic uvolňovaných do potravin. Dobře zvolený povlak a silice dokážou zmírnit mikrobiální a oxidační zkázu potravin, a zachovají jejich přijatelné sensorické vlastnosti pro konzumenta.

Bylo nalezeno 19 studií popisujících aplikaci enkapsulovaných silic do potravin. Jedná se o ovoce, zeleninu, masné a mléčné výrobky, pečivo a cukrářské výrobky. Na jednotlivé potraviny byly aplikovány silice z oregana, rozmarýnu, tymiánu, skořice, koriandru, hřebíčku a zázvoru. Množství použitých silic bylo vyjádřeno v mg/g potraviny, nebo byla uvedena koncentrace použité silice. Metody enkapsulace byly nejčastěji koacervace, emulsifikace, nanoprecipitace a sušení rozprašováním a nejčastěji použitý materiál pro vytvoření obalu byl β -cyklodextrin.

Antimikrobiální účinek se prokázal nejčastěji proti rodům *Staphylococcus*, *Esherichia*, *Listeria* a *Salmonella*. Např. v chlebu a u rajčatové šťávy došlo k potlačení růstu těchto rodů a také k potlačení růstu mikroskopických vláknitých hub. Chléb zůstal po dobu 21 dní mikrobiálně nezneškodnocen. V rajčatové šťávě došlo více k potlačení plísní než bakterií. Antioxidační účinky silic se projevíly hlavně u masných výrobků. Např. u šunkového salámu byla zaznamenána nízká změna oxidace tuků a patogenní mikroorganismy se objevily až po 28 dnech skladování. U mléka byla oxidace tuků díky enkapsulovaným silicím také mizivá a prodloužila se tak trvanlivost potraviny. Použití enkapsulované silice mělo pozitivní vliv na fermentační stabilitu mléka. Avšak sensorické vlastnosti mléka nevyhovovaly.

Technologie enkapsulace silic je slibná metoda pro prodloužení trvanlivosti potravin, ale je důležité vyřešit negativní vliv na senzorké vlastnosti produktů.

Klíčová slova: enkapsulace, silice, antimikrobiální, antioxidační, potraviny

Encapsulated essential oils in food

Summary

Encapsulation of essential oils and their use in food is a new direction of a research natural preservatives. The essential oils are obtained from plants as extracts. There are several methods of essential oils extraction, for example distillation, pressing and solvent extraction. The essential oils are often used in pharmaceutical and cosmetic industry, aromatherapy, agriculture and as food components. The essential oils are appreciated for their antimicrobial and antioxidant activity. Given that most of consumers negatively perceive synthetic preservatives in food, essential oils seems to be good choice for their properties.

Use of encapsulated essential oils causes slow transfer of essential oils from capsules to food and therefore shelf life of food is extended. Methods of encapsulation are for example coacervation, emulsification, spray drying and nanoprecipitation. Some essential oils change taste and smell of food. This is why is encapsulation used to defuse undesirable taste and smell of essential oils released to food. If we choose good encapsulation material and essential oil we can slow down spoilage of food caused by microorganisms and oxidation and preserve their acceptable sensory properties for consumers.

There was found 19 studies which describe application of encapsulated essential oils in food. They describe application to about fruit, vegetable, meat and dairy products, bakery and confectionery products. To individual food were applied the essential oils from herbs like oregano, rosemary, thyme, cinnamon, coriander, clove and ginger. Amount of essential oils were converted on mg/g of food or was mentioned concentration of used essential oils. The methods of encapsulation were mostly coacervation, emulsification, nanoprecipitation and spray drying and the most often used material for creation of capsules was β – cyclodextrin.

Most often antimicrobial activity was proven against *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Listeria* and *Salmonella*. For example: in bread and tomato juice were these pathogens and mould inhibited. The bread was not spoiled by microorganisms for 21 days. In the tomato juice

were mould inhibited more than bacteria. Antioxidant activity was detected especially in meat products. For example, in cooked ham low change of oxidation in fat was indicated, and pathogens appeared after 28 days of storage. The oxidation of fats in milk was also low and the shelf life of milk was extended. Encapsulated essential oil were positive impact on fermentation of milk. However sensory properties of milk were inconvenient.

Encapsulation technology of essential oils is promising method for extension of food shelf life but is important to solve negative effects on sensory properties of products.

Keywords: encapsulation, essential oils, antimicrobial, antioxidant, food

Obsah

1 Úvod	1
2 Cíl práce	2
3 Literární rešerše.....	3
3.1 Potraviny.....	3
3.1.1 Kažení potravin	4
3.2 Charakteristika silic	6
3.2.1 Vlastnosti silic	6
3.2.2 Složení silic	6
3.2.3 Využití silic.....	8
3.2.4 Metody získávání silic	10
3.3 Antioxidační účinky silic.....	13
3.4 Antimikrobiální účinky silic	14
3.4.1 Antimikrobiální účinky silic v potravinách	16
3.5 Enkapsulace	18
3.5.1 Metody enkapsulace silic.....	21
3.6 Studie na konkrétních potravinách	28
3.6.1 Rostlinné produkty (ovoce a zelenina)	28
3.6.2 Masné produkty.....	30
3.6.3 Pečivo a cukrářské výrobky	32
3.6.4 Mléčné produkty.....	33
3.7 Pohled legislativy	34
4 Závěr	40
5 Literatura	41
6 Seznam zkratk	48

1 Úvod

Silice jsou aromatické sloučeniny získané z rostlin, které se vyznačují velkou těkavostí. Obvykle se jedná o složité směsi látek. Vzhledem ke svým antimikrobiálním a antioxidačním vlastnostem jsou široce využívány ve farmacii, potravinářství, v zemědělství a kosmetických výrobcích (Bedoya-Serna et al. 2018). Nejčastěji se získávají z kůry, kořenů, listů, květů a bobulí rostlin (Tongnuanchan & Benjakul 2014).

Rostliny, které obsahují silice, se mohou také nazývat aromatické rostliny. Nejvíce silice se využívá z čeledí hluchavkovitých, vavřínovitých, routovitých, hvězdnicovitých, myrtovitých, lipnicovitých, cypřišovitých a pepřovníkovitých (Asbahani et al. 2015). Začátek používání rostlin, jako koření do jídel, k léčbě chorob nebo při náboženských obřadech, není přesně znám. Podle archeologických nálezů se období používání těchto rostlin a silic odhaduje do doby 10 000 let př.n.l. (Baser & Buchbauer 2010).

Silice se v potravinářství dají využít mnoha způsoby. Jedna z možností, jak silice použít, je zapouzdřit neboli enkapsulovat ji do jedlého povlaku a aplikovat na potravinu. Po aplikaci enkapsulované silice dochází k postupnému uvolňování siličné látky z povlaku na potravinu, a k regulaci nárůstu či k inhibici patogenních mikroorganismů. Existuje více metod, jak danou silici enkapsulovat a následně vpravit na potravinu (Đorđević et al. 2014). V posledních letech je zaznamenán nárůst studií, které zkoumají tuto technologii jako možnost pro prodloužení trvanlivosti potravin. Studie uvádí řadu různých rostlinných silic, které mají požadované vlastnosti k tomu, aby nedošlo ke znehodnocení potravin. Dobré účinky má například silice z oregana, rozmarýnu, hřebíčku nebo tymiánu.

Potraviny jsou jednou ze základních potřeb pro výživu a vývoj člověka. Při stále narůstajícím počtu obyvatel na planetě je snaha vyprodukovat co nejvíce potravin. Bohužel některé čerstvé potraviny, jako je zelenina, ovoce, maso či mléčné výrobky rychle podléhají zkáze, a pokud se nestihnou zpracovat či zkonzumovat včas, vyhodí se. Trvanlivé potraviny, na rozdíl od těch čerstvých, mají výhodu v tom, že mají delší trvanlivost, ale jsou často ošetřeny syntetickými konzervanty (Alboofetileh et al. 2014). Tyto konzervanty jsou brány pro většinu konzumentů jako škodlivé látky. Rostlinné extrakty v podobě silic mohou být jedním ze způsobů, jak prodloužit trvanlivost potravin (Granata et al. 2018).

2 Cíl práce

Cílem práce bylo vytvořit kritický přehled současných znalostí v oblasti používání enkapsulovaných silic v potravinářství. Jejich způsob získání, metody zapouzdření, aplikace, antibakteriální a antioxidační účinky či vlivu na senzorické vlastnosti potravin před a po použití enkapsulace. Dále vytvoření, shrnutí a vyhodnocení získaných poznatků, k dané problematice, uvedené v tabulce. Byla zpracována literární rešerše z experimentálních prací získaných z vědeckých databází Scopus, Web of Science, Science Direct, Google Scholar a dalších, pomocí klíčových slov.

3 Literární rešerše

3.1 Potraviny

Dnes se lidé stále více zajímají o kvalitu, spotřebu a zdravotní nezávadnost potravin a snaží se použít co nejméně přídavných látek při zpracování. Spotřebitel tyto rysy vnímá jako synonymum pro zdraví, kde hrají velkou roli při výběru potravin (Burt 2004). Význam agropotravinářského sektoru je dán především strategickým charakterem produkce – bezpečnými a kvalitními potravinami a komoditami potřebnými k jejich výrobě. Výroba potravin je v některých oblastech regulována národními i evropskými předpisy (www.eagri.cz/potraviny/potravinářskévýrobky).

Potravinami se rozumí látky, které jsou určeny k lidské konzumaci. Jsou v nezměněném nebo upraveném stavu jako jídlo nebo nápoje. Za potraviny se považují i přídavné látky, pomocné látky a látky určené k aromatizaci, které jsou určeny k prodeji spotřebiteli za účelem konzumace (Zákon o potravinách a tabákových výrobcích č. 110/1997 Sb.). Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002 říká, že potravinou je jakákoliv látka, nebo výrobek, zpracovaný, částečně zpracovaný, nebo nezpracovaný, určený ke konzumaci člověkem. Mezi potraviny patří nápoje, žvýkačky a látky, které se do potravin přidaly během výroby, přípravy nebo zpracování. Mikrobiologická kontaminace je jednou z hlavních příčin kažení potravin s následnou změnou nutričních, zdravotních a senzorických vlastností. V poslední době byl pozorován nárůst nemocí přenášených potravinami, související s mikrobiální kontaminací (Odeyemi et al. 2020).

Výrobci a zpracovatelé potravin se snaží omezit nárůst škodlivých mikroorganismů u potravinářských výrobků, protože škodlivé mikroorganismy přežívající v potravinách vedou ke znehodnocení a zhoršení kvality potravinářského výrobku a ke snížení bezpečnosti. Odhaduje se, že až 1/3 světové produkce potravin je každoročně mikrobiálně znehodnocena. Pomocí např. tepelného zpracování, biologického kvašení, ozařováním a vysokého tlaku byla zkoumána eliminace patogenních mikroorganismů v potravinách. Tyto metody ovšem nelze aplikovat na veškeré potraviny a některé metody na ně mají negativní vliv. Je proto nezbytné najít nové způsoby, jak udržet kvalitu potravin i během skladování. Enkapsulace, která obalením antimikrobiální látky do biologicky rozložitelného povlaku či filmu, může zamezit

znehodnocení potravin a snížit riziko povrchové kontaminace patogenními mikroorganismy (Alboofetileh et al. 2014).

Sanitace výrobního zařízení chemickými prostředky, jako jsou deriváty chlóru, jodofory, kyselina peroxyoctová a sloučeniny amoniaku, vždy nestačí. Bakterie vůči nim mohou být odolné. Spotřebitel upřednostňuje potraviny bez syntetických přísad a konzervačních látek. V této souvislosti jsou rostlinné silice obecně uznávané, jako přírodní a bezpečné sloučeniny mající antimikrobiální účinky, a mohou představovat přírodní alternativu k používání chemických látek určených ke konzervaci (Granata et al. 2018).

3.1.1 Kažení potravin

Zdravotně nezávadnými potravinami jsou potraviny, které splňují chemické, fyzikální a mikrobiologické požadavky na zdravotní nezávadnost (Zákon o potravinách a tabákových výrobcích č. 110/1997 Sb.) Potravinářský průmysl je nosným odvětvím zpracovatelského průmyslu. Význam potravinářské výroby je dán zabezpečením výživy obyvatelstva, výrobou a prodejem zdravotně nezávadných, bezpečných, kvalitních a převážně i cenově dostupných potravin (www.eagri.cz/potraviny). Co je to kažení?

Kažením se rozumí chemické reakce způsobující nepříjemné smyslové změny v potravinách. Jsou vyvolány řadou mikroorganismů, které využívají potraviny jako zdroj uhlíku a energie. Tyto organismy mají prokaryotický (bakterie), nebo eukaryotický (jednobuněčné kvasinky a mnohobuněčné plísně) typ buňky. Někteří mikroby se běžně vyskytují v mnoha druzích zkažených potravin, zatímco jiní jsou specializovaní na určité potraviny, které poškozují. Může se vyskytovat jeden určitý druh, který je primárně zodpovědný za způsobení nežádoucích pachů a příchutí u dané potraviny. Podle obsahu živin dochází k nárůstu, nebo poklesu patogenních mikroorganismů. Mikroorganismy, které způsobují zkázu potravin, se běžně vyskytují v půdě, vodách, ve střevním traktu zvířat a u hmyzu (Bruhn et al. 2004).

Mikroorganismy způsobující kažení

Bakterie jsou jednobuněčné organismy s průměrem buněk mezi 0,5 μm až 20 μm , a řadí se mezi prokaryotické organismy, protože jejich genetická informace není obklopena jadernou membránou. Bakterie lze obecně rozdělit podle Gramova barvení na Gram pozitivní (G+) a Gram negativní (G-). Rozdíly mezi těmito bakteriemi souvisí se strukturou buněčné stěny (Rawat 2015).

Podle serveru Bezpečnost potravin (MZe ČR) jsou bakterie považovány za největší hrozbu pro lidské zdraví, protože mohou napadat přímo lidské tkáně, nebo produkovat toxické látky, které mohou ovlivňovat tělesné funkce. Odborníci stanovili, že bakterie mají na svědomí 30 % onemocnění z potravin s potvrzenou příčinou, což např. v USA představuje více než 4 mil. případů ročně. Častými původci jsou rody *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* (Rasch et al. 2005).

Mikroskopické vláknité houby neboli vláknité mikromycety, dříve také používaný výraz plísně, jsou velmi důležité pro recyklaci živočišných a rostlinných zbytků v přírodě, ale také napadají širokou škálu potravin a dalších materiálů. Obecně produkují spory, a pro své metabolické procesy vyžadují kyslík. Nejznámější rody jsou *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Aspergillus*, a *Fusarium*. *Penicillium* spolu s rodem *Aspergillus* dokáží produkovat mykotoxiny, jako jsou aflatoxiny, ochratoxiny, patulin a mnoho dalších (Rawat 2015).

Kvasinky jsou součástí velké skupiny organismů vláknitých mikromycet. Obecně se jedná o jednobuněčné organismy, které jsou přizpůsobeny pro život ve specifickém, obvykle kapalném prostředí a na rozdíl od některých mikroskopických vláknitých hub neprodukují toxické sekundární metabolity. Kvasinky mohou růst s kyslíkem, nebo bez kyslíku a jsou dobře známy pro své prospěšné kvašení u různých potravin a nápojů. Často kolonizují potraviny s vysokým obsahem cukru nebo soli, ale přispívají též ke znehodnocení zeleniny, masa či sýrů. K nežádoucím rodům patří *Zygosaccharomyces*, který kazí med, sušené ovoce, džemy nebo sójovou omáčku. Kvasinka *Debaryomyces hansenii* napadá uzené maso, sýry a olivy. *Dekkera/Brettanomyces* se zase převážně podílí na kažení fermentovaných potravin, včetně alkoholických nápojů a některých mléčných výrobků. Mohou produkovat fenolové sloučeniny odpovědné za zkaženou chuť. Kvasinky mohou také způsobit prasknutí nádob a zápach (Blackburn 2006).

Mikroorganismy obecně rostou rychleji v poškozené nebo nakrájené zelenině. Přítomnost vzduchu, vysoké vlhkosti, neutrální pH, vysoké vodní aktivity, vyšší teploty během skladování zvyšují šance na znehodnocení. Běžné znehodnocující vady jsou způsobeny plísněmi rodu *Penicillium*, *Alternaria*, *Botrytis* a *Aspergillus*. Z bakteriálních rodů jsou důležité *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Bacillus* a *Clostridium*. Mikrobiální kažení zeleniny je obecně popsáno běžnými termíny jako tzv. hniloba. Spolu se změnami vzhledu, jako je černá hniloba, šedá hniloba, měkká hniloba atd. V mléce se vyskytují sporotvorné rody *Bacillus* a *Clostridium*,

mohou přežít a později škodit i s dalšími nežádoucími mikroorganismy na pečivu, masu, sýrech a na dalších mléčných výrobcích. (Rawat 2015).

Fyzikální vlivy

Fyzikální vlivy patří mezi další činitele přispívající ke zkáze potravin. Oxidaci lze označit jako kombinaci fyzikálních a chemických procesů. Oxidace lipidů je proces, při kterém nenasycené mastné kyseliny reagují s kyslíkem. Prostřednictvím reakcí s volnými radikály vytvářejí mastné acylhydroperoxydy, obecně nazývané jako peroxidy, nebo primární produkty oxidace. Po primární autooxidaci následuje řada sekundárních reakcí, které vedou k degradaci a rozvoji žluknutí důsledkem oxidace lipidů (Morrissey et al. 2002). Oxidace bílkovin a sacharidů je velmi podobná oxidaci tuků, avšak při této reakci vzniká větší množství oxidačních produktů (Lund et al. 2011).

3.2 Charakteristika silic

3.2.1 Vlastnosti silic

Silice neboli esenciální oleje či aromatické oleje se vyskytují jako směsi přírodních rostlinných látek. Mají těkavý, olejovitý charakter a intenzivně voní. Jsou ve vodě těžko rozpustné, ale v tucích se rozpouští velice dobře. V čerstvém stavu jsou většinou bezbarvé. Při delším uchování lehce oxidují a mohou tak změnit barvu do tmavé, příkladem může být hřebíčková silice. Za běžné teploty jsou silice v tekutém stavu, ovšem jsou i výjimky, jako růžové silice či anýzové, které částečně tuhnou. Silice patří mezi opticky aktivní látky a stáčí rovinu polarizovaného světla. Obsahují nenasycené látky, díky kterým mají vysoký index lomu (Bacílková & Paulusová 2012).

3.2.2 Složení silic

Silice se skládají z velkého množství chemických sloučenin. Doposud bylo nalezeno přes 500 různých sloučenin a jedna silice může obsahovat i více než 50 látek (Spilková et al. 2016). Obvykle však obsahují 1–5 látek, jejichž obsah je majoritní a pro daný rostlinný druh typický. Často jsou pak tyto majoritní látky v synergickém vztahu s některou z dalších složek, obsaženou v silici a spolu významně zvyšují biologickou účinnost (Pavela & Bárnet 2011). Silice obsahují cca 99 % těkavých látek.

Nejvíce jsou zastoupeny látky s nižší molekulovou hmotností, menším počtem kyslíkatých funkčních skupin a bez glykosidní vazby na cukry (Baser & Buchbauer 2010). Terpenoidy jsou terpeny, které mají navázanou molekulu kyslíku (Sánchez-González et al. 2011).

Terpeny

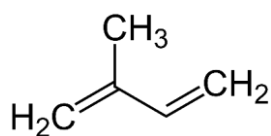
Terpeny jsou pro silice nejdůležitější skupinou látek, patří mezi ně monoterpeny a seskviterpeny (Baser & Buchbauer 2010). Běžnými složkami silic jsou i diterpeny a fenylypropany. Monoterpeny obsahují dvě izoprenové molekuly. Seskviterpeny tři izoprenové molekuly, diterpeny mají čtyři. Každá izoprenová molekula má pět atomů uhlíku. Jsou to sekundární metabolity rostlin (Dvořáková et al. 2011).

Konkrétně monoterpeny pro rostlinu postrádají funkci v základních rostlinných procesech. Rostlina je produkuje, aniž by je využívala jako zdroj energie nebo zásobní látky. Tyto látky slouží rostlině jako detoxikační faktory a obranné látky. Jsou syntetizovány v parenchymatických buňkách a následně uloženy ve vakuolách, v buněčné stěně nebo ve speciálních pletivech, jako třeba pryskyřičné buňky nebo žláznaté trichomy (Dvořáková et al. 2011). Monoterpeny tvoří zhruba 90 % silic (Sánchez-González et al. 2011).

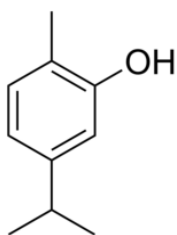
Seskviterpeny a monoterpeny se vyskytují v podobě acyklické, monocyklické, bicyklické a tricyklické. Dále jsou zastoupeny všechny organické sloučeniny, jako jsou:

- uhlovodíky jako α -terpinen, α -felandren nebo kadinen.
- alkoholy, například geraniol, citronelol, zingiberol, menthol.
- ketony, jako jsou karvon, menthon, piperiton, thujon.
- aldehydy, jako skořicový aldehyd, vanilin.
- fenoly, příkladem je karvakrol, eugenol a thymol.
- estery, jako různé acetáty terpineolu, geraniolu, methyl–salicylát.
- ethery, jako anethol a safrol

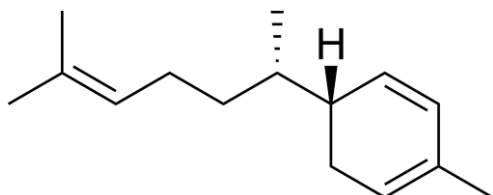
(Spilková et al. 2016)



Obr. č. 1: Vzorec izoprenu. Zdroj: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Izoprenoidy>



Obr. č. 2: Zástupce monoterpenů–karvakrol, Zdroj: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Karvakrol>



Obr. č. 3: Zástupce seskviterpenů–zingiberen (obsažen v zázvoru)

Zdroj: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Zingiberene>

3.2.3 Využití silic

Silice a siličné látky se dají využít v potravinářském průmyslu hlavně jako zdroje chutí a vůní. Využívají se dále ve farmaceutickém průmyslu, kosmetice, voňavkářství, toaletních potřebách, v čistých chemikáliích a aromaterapii. Nejznámějšími čeledi rostlin obsahující silice jsou: *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Cupressaceae*, *Hypericaceae*, *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Pinaceae*, *Zingiberaceae*, *Santalaceae*, *Zygophyllaceae*, *Piperaceae* (Başer 2007).

Odhaduje se, že je známo 3 000 druhů silic, z nichž se asi 300 používá ke komerčním účelům. Již výše zmíněné monoterpeny jsou významné především tím, že zprostředkovávají interakce mezi rostlinou a prostředím, zajišťují komunikaci mezi rostlinami, chrání rostlinu před vysycháním, napadením škůdců či lákají opylující hmyz. Silice jsou ceněny pro své aroma. Díky svým protinádorovým či antibakteriálním účinkům se řadí mezi tzv. „bioaktivní sloučeniny“. Používají se rovněž jako preventivní prostředky proti nachlazení a chřipce, působí proti srdečním chorobám a předchází osteoporóze a vykazují protiplísňové účinky. (Dvořáková et al. 2011). V rostlinách jsou uloženy v siličných buňkách, sekrečních kanálcích nebo dutinách žláznatých trichomů. Některé zdroje uvádí silice jako komplexní směs těkavých složek vznikající biosyntézou živých organismů. Nejedná se tedy jen o schopnost rostlin, ale i zvířat, které produkují silice pro obranu, signalizaci nebo součást sekundárního metabolismu. Patří mezi ně např. mořská zvířata, hmyz či mikroorganismy biosyntetizující těkavé sloučeniny (Başer 2007).

Pesticidní účinky

Dále se dají esenciální oleje využít jako přírodní pesticidy. Převážně jako insekticidy a herbicidy proti širokému spektru škůdců. Rychlý účinek proti některým škůdcům ukazuje na neurotoxický způsob působení. Vykazují širokospektrální účinky na hmyz. Kromě insekticidních účinků (ať už na akutní nebo chronickou toxicitu) byly u mnoha silic prokázány repelentní, protipožerové účinky, které doprovází znemožnění vývoje larev nebo možnost rozmnožování dospělců. Pro savce, ptáky a ryby je použití silic v nižších koncentracích neškodné. Ve Spojených státech amerických byla výroba insekticidů, které pocházely z rostlinných silic, usnadněna tím, že některé silice, které se běžně využívají při výrobě potravin a nápojů, byly odebrány z registrace. Touto možností začal vývoj pesticidů na bázi silic, určených pro zemědělské, průmyslové aplikace a pro spotřebitelský trh. Jedny z nejpoužívanějších látek jsou rozmarýnová silice, silice z hřebíčku a tymiánu (Pavela & Bárnet 2011).

Zájem o tyto přípravky je poměrně velký, používají se na ochranu zejména skleníkových kultur, při ochraně před parazity, u domácích a hospodářských zvířat, ale i v ochraně zeleniny a ovoce. Pro jejich charakter jsou využívány především v ekologickém zemědělství a drobnými pěstiteli (Pavela & Bárnet 2011).

Limity použití silic

Rostlinné silice působí na smyslové buňky, a vyvolávají u člověka pocit vůně nebo chuti. Celkový pocit, vyvolaný vonnými a chuťovými látkami, se označuje jako aroma. Aromatické látky způsobují u živých organismů, kromě rozpoznání vůně a chuti, také biologickou aktivitu. Ta působí na různých smyslových úrovních, a může vést k určitým žádoucím účinkům na naše zdraví v závislosti na konkrétním druhu silice. Avšak bioaktivita se neprojevuje pouze příznivě, může se projevit i naprosto opačně. Takové silice se vůbec nepoužívají, nebo jen v omezeném množství (Zrubecká a Ašenbrenerová. 2008.)

Evropskou komisí bylo zaregistrováno několik složek, které jsou součástí silic, a jsou bezpečné pro použití v potravinářství a v aromaterapii. Mezi tyto složky patří karvakrol, karvon, cinnamaldehyd, citral, p-cymen, eugenol, limonen, menthol a thymol. Estragol a methyl-eugenol byly ze seznamu vyškrtuty v roce 2001, protože mají genotoxické vlastnosti. Aby se nově získané látky daly bezpečně použít v EU, musí u nich dojít k otestování, zda nemají právě toxické účinky nebo nezpůsobují nějaká závažná onemocnění, a dají se označit jako bezpečné přídatné látky do potravin a nápojů. Toto otestování bývá velice finančně nákladné.

Z legislativního hlediska by bylo pro EU výhodnější používat tyto látky v podobě koření, silic, nebo celých rostlin (Burt 2004). Účinkují-li rostlinné silice svou biologickou aktivitou na člověka, jedná se o aromaterapii (Zrubecká a Ašenbrenerová 2008.). V aromaterapii se používají 2 % z celkové produkce světového trhu (Burt 2004).

3.2.4 Metody získávání silic

Lisování za studena

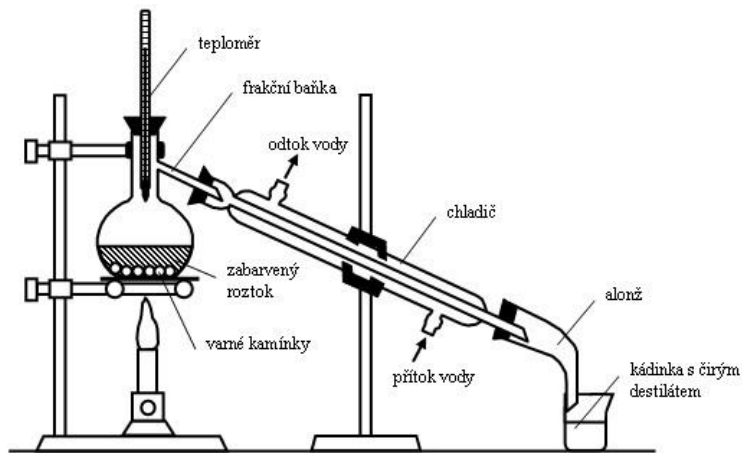
Lisování za studena je pravděpodobně jedna z nejstarších a nejpoužívanějších metod pro získávání silic. Byla praktikována dlouho před tím, než lidé objevili proces destilace. Pravděpodobně díky nástrojům, které vyráběli z kamenů a dřeva. Tyto nástroje byly vhodné k rozbití buněk silic, a mohlo tak dojít k uvolnění vonného obsahu. Lisováním za studena se nejčastěji získávají silice z kůry citrusů z rodu *Rutaceae*, mezi něž se řadí např. pomeranče, citróny, grapefruity a mandarinky. Největší oblast pěstování citrusů najdeme v Itálii, konkrétně na Sicílii, kde zdejší klima dokáže zajistit téměř celoroční produkci plodů (Baser & Buchbauer 2010).

Kůra citrusů obsahuje alifatické aldehydy. Jsou jimi např. heptanal, oktanal, nonanal, dekanal a dodekanal, které mohou oxidovat a vést tak k tvorbě zapáchajících karboxylových kyselin. Podobně jako u terpenoidních aldehydů, jako jsou neral, gerenial, citronellal a perillaldehyd, které jsou také náchylné na oxidaci. Mechanické zpracování silic z citrusové kůry je odůvodněno tepelnou nestálostí aldehydů a těkavých látek. Použití např. destilaci vodní parou by bylo nevhodné z důvodu chemických reakcí při vyšší teplotě. Došlo by k degradaci některých nestálých a těkavých látek, a tak k tvorbě nekvalitních produktů (Baser & Buchbauer 2010).

Destilace

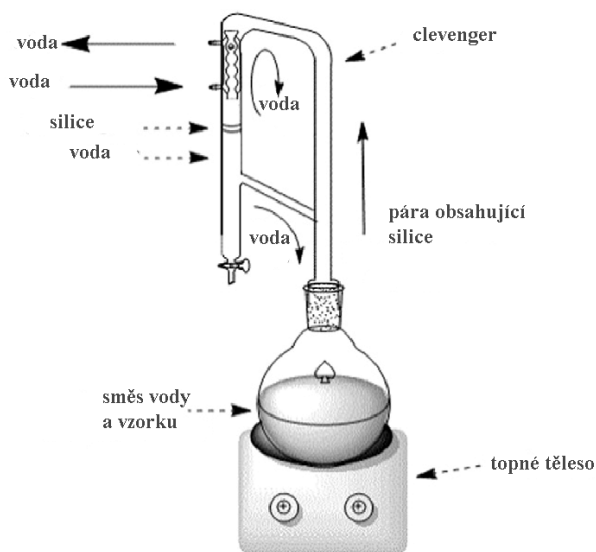
Destilace vodní parou je jedna z nepoužívanějších metod, sloužící k získání silic z rostlin. Tento způsob destilace dovede vyprodukovat vysoce kvalitní silice. Pojem „destilace“ je odvozena z latinského slova „distillare“ čili „stékání dolů“. Nejjednodušeji lze pojem destilace vyjádřit jako „odpařování a následná kondenzace kapaliny.“ Zvýšenou teplotou dochází k prasknutí stěn buněk se silicemi. Dochází tak k uvolnění silic, které jsou obsaženy např. ve žláznatých trichomech rostliny. Po uvolnění z buněk jsou silice odpařeny a unášeny proudem páry. Účinnost destilace není ovlivněna rychlostí odpařování, ale závisí na stupni jejich

rozpuštěnosti ve vodě (Baser & Buchbauer 2010). K destilaci vodní parou se dá použít aparatura prosté destilace, ale pro lepší zpracování silic se používá i Clevengerova aparatura.



Obr. č. 4. Schéma prosté vodní destilace

Zdroj: <https://eluc.kr-olomoucky.cz/verejne/lekce/2268>



Obr. č. 5. Schéma Clevengerovy aparatury

Zdroj: https://www.researchgate.net/figure/Hydro-distillation-Clevenger-apparatus-system_fig1_308574938

Subkritická vodní extrakce (SWE)

Nazývá se také jako tlaková extrakce horkou vodou (PHWE) nebo natlakovanou vodou s nízkou polaritou (PLPWE) (Eikani et al. 2007). Tato metoda je založena na použití vody jako extrakčního činidla, udržování teploty mezi 100 až 374 °C a za dostatečně vysokého tlaku, aby

byla zachována voda v kapalném stavu. SWE poskytuje rychlou extrakci za použití relativně nízkých teplot. Jiné zdroje uvádějí použití i za nižších teplot (Ozel et al. 2003).

Za těchto podmínek je voda mnohem méně polární a organické sloučeniny jsou v ní mnohem více rozpustné. Tím se zabrání ztrátě a degradaci těkavých a tepelně labilních sloučenin. Výhodou této metody jsou nízké náklady na použití a šetrnost k životnímu prostředí (Eikani et al. 2007).

Extrakce rozpouštědlem

Využívá se pro extrakci tepelně nestálých silic. Při použití této metody je rostlinný materiál umístěn do nádoby spolu s rozpouštědlem, který tento materiál rozpouští. Kapalná směs, obsahující silici a jiné složky, prochází někdy po extrakci ještě filtrací a destilací. Mezi používaná rozpouštědla patří alkoholy ethanol a methanol, hexan a petroléter. Hlavní výhodou oproti destilaci je použití nižší teploty během procesu. Snižuje se tak riziko negativních chemických změn, které mohou nastat právě díky vysoké teplotě, vyskytující se u destilace. Extrakce rozpouštědlem se považuje za levnou a rychlou metodu. Získaná silice obsahuje malé množství rozpouštědla a nedá se tak použít v potravinářství. Avšak použití potravinářského alkoholu, jako rozpouštědla, je pro konzumenta bezpečné a dá se tak extrahovaná silice použít. Tato metoda se často využívá ve voňavkářském průmyslu (Preedy 2015).

Superkritická fluidní extrakce (SFE)

V porovnání s ostatními metodami má SFE několik výhod. Je to flexibilní proces, díky nepřetržité úpravě výkonu rozpouštědla/selektivity superkritických tekutin. Umožňuje eliminaci znečišťujících organických rozpouštědel a následného nákladného zpracování extraktů po odstranění rozpouštědla. Mezi používaná rozpouštědla se řadí hexan, pentan, butan, oxid dusný, fluorid sírový a fluorované uhlovodíky. Nejoblíbenějším rozpouštědlem je oxid uhličitý, protože je bezpečný, snadno dostupný a náklady na jeho použití jsou nízké.

Dále je oxid uhličitý schopen poskytnout superkritické operace při relativně nízkém tlaku a při běžné teplotě. Při extrakci silic se tlak pohybuje mezi 85 až 100 bar a teploty od 40 °C do 50 °C. Při extrakci silic z rostliny se současně uvolňují i vosky na povrchu kutikuly, tzv. parafínové sloučeniny. Tyto sloučeniny se musí od silic oddělit několika dalšími extrakcemi za nižších teplot, protože se parafíny lépe vysráží a dochází k lepší separaci (Reverchon & De Marco 2006).

3.3 Antioxidační účinky silic

Antioxidanty mají velký význam, protože mohou snížit oxidační stres, který může způsobit poškození biologických membrán. Antioxidační sloučeniny hrají klíčovou roli v léčbě různých nemocí souvisejících s degenerativními poruchami. Jmenovitě kardiovaskulárních a mozkových onemocnění, artritidy, diabetu, rakoviny a oslabení imunitního systému. Tím, že působí jako lapače volných radikálů, snižují rozsah oxidačního poškození. Studie o antioxidačních látkách v potravinách, a o léčivých přírodních zdrojích, vzbudily zvýšený zájem v posledních desetiletích. Hodnocení vlastností silic pro vylučování radikálů a antioxidačních účinků je tedy pro farmaceutický a potravinářský průmysl komerčně zajímavé jako zdroje přírodních antioxidantů (Sepahvand et al. 2014).

Součástí silic jsou také dvě chemické skupiny terpenoidy a fenylypropanoidy. Obě skupiny obsahují fenolové sloučeniny, které se řadí mezi hlavní složky několika silic. Fenolové sloučeniny jak přírodní, tak syntetické působí jako antioxidační látky díky jejich vysoké reaktivitě s peroxylovými radikály, které se znehodnocují přenosem atomů vodíku. Terpenoidy mající vysoký obsah γ -terpinenu, α -phellandrenu, a α -terpinenu nebo podobných molekul se smísí v dostatečném množství s oxidovanou látkou a sníží rychlost oxidace (Amorati et al. 2013). Koření a bylinné rostliny patří mezi nejdůležitější zdroje přírodních antioxidantů. Silice se přidávají do potravin ve formě výtažků právě z těchto rostlin. Používají se samostatně nebo v kombinaci s jinými konzervačními metodami, z důvodu zlepšení smyslových vlastností a prodloužení trvanlivosti (Du & Li 2008).

Vzhledem k požadavkům na trhu je používání syntetických antioxidantů stále více nahrazováno přírodními antioxidanty z rostlinných zdrojů. V posledních letech bylo studováno mnoho zdrojů antioxidantů rostlinného původu, a bylo identifikováno mnoho typů antioxidantů s různými aktivitami (Kulisic et al. 2005).

Hashemi et al. (2017) použil silici z oregana na vařená krůtí prsa a silici z rozmarýnu použil na frankfurtský párek, významně se zvýšila oxidační stabilita těchto potravin a byla prodloužena doba trvanlivosti při uchovávání v chladničce. Silice z rostliny *Thymus haussknechtii* se prokázala po použití jako alternativa k syntetickým antioxidantům při výrobě másla. Velmi silnou antioxidační aktivitu během skladování másla projevila i silice z *Satureja cilicica* (Hashemi et al. 2017).

3.4 Antimikrobiální účinky silic

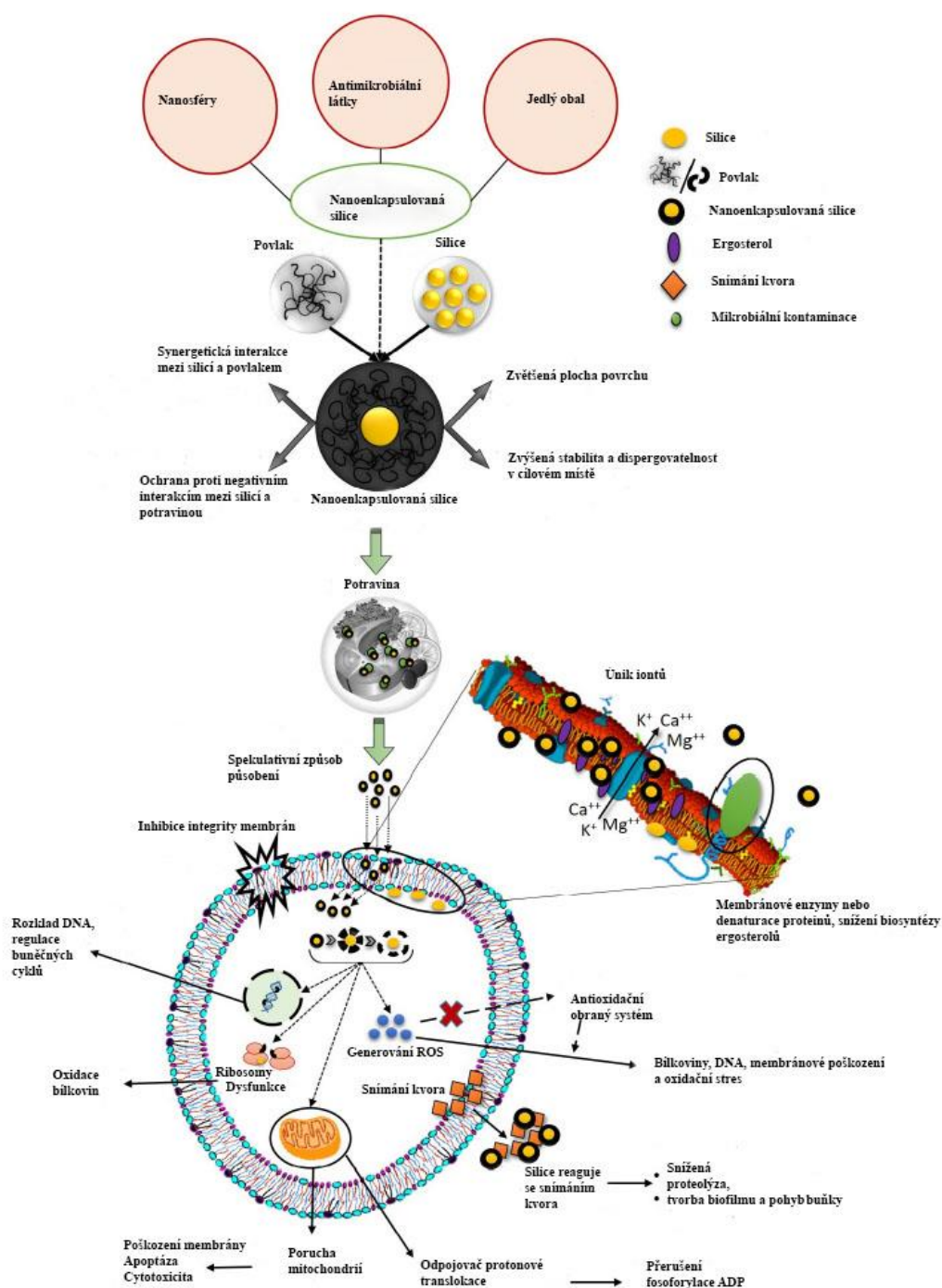
Antimikrobiální účinky silic jsou do značné míry ovlivňovány tím, z jaké zeměpisné polohy rostliny pochází, jakým způsobem byly vypěstovány a ve kterém období byly rostliny sklizeny. Způsob extrakce silic může také ovlivnit jejich účinek (Aminzare et al. 2016). Antimikrobiální aktivita silic a extraktů z rostlin vytvořila základ pro mnoho aplikací, včetně konzervování a zpracování potravin, farmaceutických přípravků, alternativní medicíny a přírodních terapií (Hammer et al. 1999).

První písemná zmínka o destilaci silic je připisována katalánskému lékaři Villanova (cca 1235–1311). V Evropě se silice začaly více rozšiřovat až v 16. století. Jednalo se nejčastěji o silice rostlin rozmarýnu, borového dřeva, levandule, hřebíčku, muškátového oříšku, anýzu a skořice. První experimentální měření baktericidních účinků výparů silic údajně provedl De la Croix v roce 1881 (Burt 2004). První vědecké záznamy o antimikrobiálních účincích skořicové silice byly hlášeny v 80. letech 20. století (Prakash et al. 2018). Silice dále vykazují jak antibakteriální, tak antimykotické účinky, které se liší v závislosti na druhu rostlin a koncentraci aplikované silice (Bakhtiarizade & Souri 2019).

Antimikrobiální účinky silic mohou být řízeny více než jedním mechanismem, který tuto aktivitu zajišťuje. Mechanismy účinku silic proti škodlivým mikroorganismům jsou poměrně složité. Mnoho vědců připisuje silicím schopnost proniknout buněčnou stěnou a cytoplazmatickou membránou dovnitř buňky a porušit buněčné struktury. Velice souvisejí s hydrofilními a lipofilními vlastnostmi daných složek. Terpeny, které patří mezi obsahové látky silic a vykazují lipofilní charakter, působí inhibičně na enzymy, katalyzujících vznik bakteriálních membrán. Některé složky silic působí jako „vypínač“, interferují s translokací protonů přes membránové váčky a blokují fosforylaci adenosin-difosfátu. Narušují tak primární energetický metabolismus bakteriální buňky. Silice, obsahující fenol, narušují membránu mikroorganismů. Za to je převážně odpovědná hydroxylová supina vyskytující se ve fenolech. Některé sloučeniny zasahují tak do enzymatických pochodů buněk, potlačují enzymatické aktivity nebo zastavují vyplavování potřebných enzymů, čímž dochází k usmrcení citlivé buňky (Hassan STS et al. 2015). Mezi fenolové složky patří např. karvakrol, eugenol či thymol. Dále inhibují syntézu DNA, RNA, proteinů a polysacharidů uvnitř buňky. Ostatní funkční skupiny jako jsou aldehydy, alkoholy a estery přispívají k celkovým antimikrobiálním

účinkům silic. Mají i více mechanismů účinku najednou a kombinací odlišných silic nebo jednotlivých látek dochází k synergismu a zesílení antimikrobiální aktivity (Rao et al. 2019).

Pomocí enkapsulovaných silic v potravinách se zlepšuje rozpustnost účinných antimikrobiálních látek ve vodě a zvětšuje se plocha kontaktu s patogeny. Pvlaky použité pro enkapsulaci uchovávají antimikrobiální aktivitu silic a postupně ji uvolňují do prostředí (Kfoury et al. 2019). Udrží tak vhodnou koncentraci aktivních složek během doby skladování. Enkapsulované silice se vyhnou nežádoucí interakci s potravinou a lépe zacílí na nežádoucí mikroorganismy (Froio et al. 2019). Díky odolnosti enkapsulačních povlaků vůči odpařování vody z potravin nedochází tolik k úbytku hmotnosti během skladování a přepravy (Sivakumar & Bautista-Baños 2014).



Obr. č. 6. Schematické znázornění pravděpodobného působení nanoenkapsulovaných silic proti potravinářským mikrobům. Zdroj: (Prakash et al. 2018)

3.4.1 Antimikrobiální účinky silic v potravinách

Z dostupných pramenů je patrné, že se silice pomalu stávají součástí potravin nejen jako dochucující složka v podobě koření či bylin, ale i jako součást konzervačního procesu.

Postupně dochází k rozvoji potenciálu antimikrobiálních účinků silic. Níže je uvedeno, ve kterých potravinářských odvětvích se silice nejčastěji používají.

Maso a masné výrobky jsou vážně ovlivněny mikrobiálním poškozením a jejich kvalita a bezpečnost jsou ohroženy nesprávnou manipulací a skladováním. Bylo provedeno mnoho studií a testů, kde silice extrahované z rostlin byly použity na patogenní mikroorganismy v mase a v masných výrobcích nebo na zkažené masné výrobky. Většina testů prokázala pozitivní účinky těchto výtažků na tyto potraviny (Jayasena & Jo 2013).

Mezi hlavní faktory, které mohou mít vliv na antimikrobiální aktivitu silic v masných potravinách, patří obsah bílkovin a tuku, vody, antioxidanty, pH, sůl a vnější faktory, jako je teplota, balení, skladování a mikroorganismy. Vysoká hladina tuku a bílkovin zamezuje průniku silic do bakteriálních buněk. Obecně se bakteriální citlivost na silice zvyšuje s nižším pH, s nižším obsahem kyslíku a teploty. Při nízkém pH se zvyšují hydrofobní vlastnosti, a to umožňuje silicím, se snadno rozpustit v lipidové vrstvě buněčné membrány bakterií (Aminzare et al. 2016).

Rostlinné výtažky a silice stále obsahují jen několik konzervačních látek a mohou být použity se syntetickými aditivy jako antimikrobiální látky v mase a masných výrobcích (Aminzare et al. 2016). Pro jeden typ uzeniny je koncentrace bylinných silic, potřebných pro vyvolání podobných účinků jako syntetických přísad, 10krát vyšší. Silice z oregana, rozmarýnu, tymiánu, hřebíčku, meduňky, zázvoru, koriandru a majoránky se doposud vyznačovaly lepšími antimikrobiálními účinky na maso a masných výrobcích ve srovnání s jinými rostlinnými extrakty. Hlavními složkami jsou fenolické sloučeniny, jako je karvakrol, tymol a eugenol (Jayasena & Jo 2013).

Studie od Sivakumar & Bautista-Baños (2014) popisuje účinky silic na avokádu. Popisuje zde, jak enkapsulovaná tymianová silice zpomalila růst nežádoucích mikroorganismů, snížila odpařování vody a prodloužila tak trvanlivost potraviny. Obecně se může říci, že enkapsulované silice aplikované na zeleninu a ovoce snižují úbytek hmotnosti, pozastavují růst patogenních mikroorganismů a prodloužují jejich trvanlivost (Sivakumar & Bautista-Baños 2014).

Pekařské výrobky včetně chleba, dortů, koláčů, sušenek a jiného pečiva jsou běžnou součástí lidské stravy. Chleba hraje důležitou roli při stravování téměř každé kultury a každé národnosti. Předpokládá se, že většina evropské společnosti patří mezi první zpracovatele obilovin. Pekárenský průmysl, jako jeden z důležitých odvětví, trpí kažením. A proto je důležité

zajistit jejich nezávadnost a bezpečnost pro konzumenty. Podle studií (viz kapitola 3.6) by použití silic do výrobků mohlo prodloužit trvanlivost výrobku a pozastavit kažení potravin. Druh a koncentrace chemických konzervačních látek povolených pro pekárenské výrobky jsou omezeny především kvůli jejich možným vedlejším účinkům na lidské zdraví. Mohou mít vliv na hormonální nerovnováhu, karcinogenitu, reziduální toxicitu a spermatotoxicitu (Gavahian et al. 2020).

Chemické konzervanty patří v současné době k nejpohodlnějším přípravkům. Patří mezi ně např. kyselina sorbová, benzoát sodný, diacetát sodný, propylparaben, propionáty, kyselina propionová (Gavahian et al. 2020). Dále byl objeven vznik pravděpodobných alergických reakcí na benzoáty, které se běžně používají jako konzervační látky. Mnoho spotřebitelů se dnes obává možných škodlivých účinků syntetických konzervačních látek na lidské zdraví. V důsledku toho se potravinářský průmysl mění podle poptávky zákazníků (Kokina et al. 2019).

Kažení a otravy způsobené patogenními mikroorganismy v potravě je celosvětový problém, který doposud nebyl zcela vyřešen. Najít co nejlepší podmínky pro skladování potravin by bylo prospěšné jak z ekonomického hlediska, tak pro lidské zdraví. Enkapsulované silice mohou představovat revoluci potravinového průmyslu, protože by mohly nahradit syntetické konzervační látky (Froio et al. 2019).

3.5 Enkapsulace

Enkapsulace neboli zapouzdření je předmětem zájmu v celé řadě vědeckých a průmyslových oblastí, od pesticidů, enzymů, farmaceutického průmyslu, až po zemědělství. Tato technologie spolu s řízeným uvolňováním je nejrozvinutější v oblasti léčiv, ale proniká i do potravinářského a voňavkářského průmyslu (Barbosa-Canovas et al. 2014). Používá se především k zamezení zhoršování kvality aktivních látek. Tato relativně pokročilejší metoda je založena na myšlence potahování požadované účinné látky povlakem.

Co se týče např. rozmarýnové silice je enkapsulace z jednou neúčinnějších technik, jak ji uchovat. Jde o proces, při kterém se malé pevné částice, kapalné nebo plynné složky potahují nebo zachycují v jiném inertním obalovém materiálu, který chrání materiál jádra před faktory okolního prostředí (Turasan et al. 2015).

Obecně je možné rozlišovat mezi dvěma hlavními formami enkapsulovaných systémů, jmenovitě typu jádro (obal, kapsle) a maticového typu (koule). V prvním typu materiál jádra tvoří spojitou fázi uzavřenou ve skořápce (kapalina nebo pevná látka), zatímco typ matice má

aktivní sloučeniny rovnoměrně distribuované uvnitř homogenní matrice pevné fáze (viz obr. č. 8). Tvar částic závisí na aktivních a enkapsulačních materiálech a na technice použité při jejich přípravě. V současné době je enkapsulace předmětem mnoha složek, které zahrnují různé antioxidantní sloučeniny (Gómez et al. 2018). K enkapsulaci opravdu malých částic lze použít techniky mikroenkapsulace a nanoenkapsulace.

Mikroenkapsulace

Mikroenkapsulace je definována jako technologie balení pevných látek, kapalin nebo plyných materiálů do miniaturních uzavřených tobolek, které mohou za určitých podmínek uvolňovat svůj obsah do prostředí, a to určitou rychlostí. Tobolky mohou mít velikost od submikronu (někdy se používá pro rozdělení částice jednotka nanometr) do několika milimetrů a mohou mít různé tvary v závislosti na použitých materiálech a metodách jejich přípravy (Rahman 2007). Jedná se o potahování nebo zachycení jedné či více látek, nazývaných též jako materiál jádra, aktivní náplň nebo vnitřní užitečná fáze. Enkapsulace chrání aktivní jádro před nepříznivým prostředím. Zároveň umožňuje malým molekulám procházet jak dovnitř, tak ven skrz membránu (Kailasapathy 2009). Stručně řečeno, mikroenkapsulace spočívá v technologickém procesu pro začlenění sloučeniny (látek) do jiné látky, za vzniku velmi malého „balíčku“ (Gómez et al. 2018). Aby se dosáhlo úspěšného procesu mikroenkapsulace, musí být pečlivě vybrán potahový materiál, homogenizační technika a metoda enkapsulace (Turasan et al. 2015).

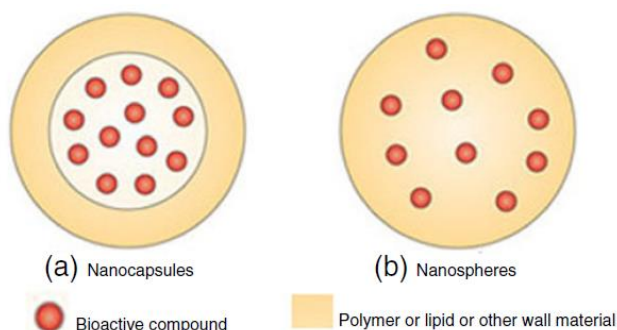
Mikroenkapsulované výrobky mohou zamaskovat nežádoucí chuť živin a látek, zmírňují problémy se zpracováním a prodlužují trvanlivost potravinářských výrobků (Rahman 2007). Mikroenkapsule mají dvě hlavní funkce: udržování a ochrana obsahu tobolky uvnitř obalu během skladování a uvolňování daného obsahu ve správný čas z tobolky ven. Uvolňování může probíhat čtyřmi různými způsoby: frakturací, difúzí, rozpouštěním, táním nebo biodegradací. (Barbosa-Canovas et al. 2014)

Nanoenkapsulace

Nanoenkapsulace je definována jako technologie pro zapouzdření látek do nanoměřítek. Používá se pro zpracování bioaktivních látek v rozsahu nanočástic. Jejimi předpoklady jsou zvýšení biologické dostupnosti, zlepšení řízeného uvolňování a možnost přesného zacílení na bioaktivní sloučeniny ve větší míře než mikroenkapsulace (Ezhilarasi et al. 2013). Malá velikost částic o rozmezí 10^{-9} m nanoenkapsulovaných silic zvyšuje plochu povrchu na jednotku

objemu. Z toho důvodu reagují efektivněji s buněčnou membránou a způsobují smrt buňky. Takto enkapsulovaná silice je transportována přes buněčnou membránu a poté uvolňuje svůj obsah v optimálních dávkách, který působí na vnitřní stranu cytoplazmatické membrány (Prakash et al. 2018). Nanokapsle, na rozdíl od nanosfér, mají bioaktivní sloučeninu (silici) udrženu v dutině a obalenou jednou polymerní membránou, zatímco nanosféry jsou maticové systémy, kde je bioaktivní sloučenina (silice) rovnoměrně dispergována (viz obr. č. 7).

S nanoenkapsulací se pojí i pojem nanoemulze, což je koloidní disperze obsahující dvě nemísitelné kapaliny, z nichž jedna je rozptýlena ve druhé (Ezhilarasi et al. 2013). Nanoemulze jsou považovány za ideální nosiče pro nanoenkapsulaci, protože jsou schopny zlepšit rozpustnost ve vodě, a zabránit tak degradaci bioaktivních složek v potravinách. Nanoemulze typu olej ve vodě (O/W) je vhodná pro začlenění lipofilních látek. Naopak emulze vody v oleji (W/O) také může být použita k zapouzdření hydrofilních sloučenin, včetně většiny polyfenolů (Mahdi Jafari 2017).



Obr. č. 7. Schéma nanokapsle (a) a nanosféry (b)

Zdroj: (Ezhilarasi et al. 2013)

Technologie enkapsulace je stále oblíbenější mezi dodavateli potravinových přísad a výrobci potravin. V potravinářském průmyslu se proces zapouzdření používá déle jak 75 let. Enkapsulace znamená také potažení drobných částic (např. kyselinotvorných látek, kvasnic, sladidel, minerálních látek, vitamínů, antioxidantů, silic, bioaktivních látek atd., tak i drobných kousků potravin, jako jsou ořechy, rozinky nebo cukrářské výrobky (Rahman 2007).

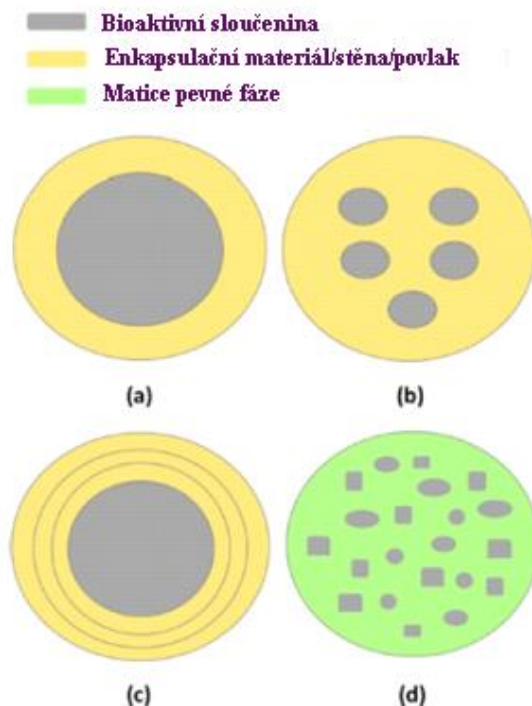


Fig. 2. Different forms of encapsulated systems: a) simple core-shell or capsule, b) multi-core capsule, c) multi-walled structure, and d) matrix type or sphere.

Obr. č. 8. Různé formy enkapsulovaných systémů: a) jednoduché jádro–obal nebo kapsle, b) více dávkové kapsle, c) více stěnná struktura, d) maticový typ nebo koule.

Zdroj: (Gómez et al. 2018)

3.5.1 Metody enkapsulace silic

Existuje několik tradičních metod pro enkapsulaci, ale jednotlivá metoda nemusí být kompatibilní s daným materiálem. Metody jsou stanoveny podle aplikace a parametrů, např. velikosti částic, fyzikálně–chemických vlastností, vnějšího a vnitřního obsahu, mechanismů uvolňování, celkové náklady atd. (Mahdi Jafari 2017).

Pro enkapsulaci silic se používají různé techniky, které splňují tři obecné kroky: formování obalu kolem silice, znemožnění dřívějšího propuštění silice ven z obalu a zamezení proniknutí nežádoucích látek a materiálů dovnitř kapsule (Gibbs et al. 1999). Většina procesů, které se používají, jsou založeny na mokré a suché cestě. Při použití mokrého způsobu se kromě vody dají použít i organická rozpouštědla a horký tavící materiál. Technologie enkapsulace mohou být rozděleny na chemické a fyzikální. Mezi chemické patří: koacervace, emulgace, molekulární inkluze, nanoprecipitace, ko–krystalizace a pro fyzikální metody jsou typické třeba sušení rozprašováním, lyofilizace a vytlačování (Kailasapathy 2009).

K zapouzdření nelze použít jakýkoliv potahový materiál. Ten vhodný by měl splňovat následující vlastnosti:

- 1) dobré mechanické vlastnosti látek při vysokých koncentracích a během procesu zapouzdření;
- 2) schopnost dispergovat nebo emulgovat aktivní materiál a stabilizovat takto vyrobenou emulzi;
- 3) nesmí docházet k reakci mezi enkapsulovanou silicí a obalovým materiálem během procesu zpracování i při delším skladování;
- 4) schopnost udržet a zapečetit enkapsulovanou silici ve své struktuře během zpracování a skladování;
- 5) úplné uvolnění rozpouštědla nebo jiných materiálů, které se používají během procesu enkapsulace, pomocí sušení nebo jiných způsobů
- 6) zajistit maximální ochranu enkapsulované silice vůči vnějším podmínkám, jako je např. kyslík, teplota, světlo a vlhkost;
- 7) rozpustnost v potravinářských rozpouštědlech (voda, ethanol);
- 8) nízké náklady.

V praxi se potahové materiály používají v kombinaci s modifikátory, jako jsou lapače kyslíku, antioxidanty, chelatační činidla a povrchově aktivní látky, neboť žádný jednotlivý potahový materiál nesplňuje výše uvedená kritéria (Rahman 2007). Potahový materiál je také nazýván jako zeď, skořápka, membrána, nosič, obal nebo povlak. Je to vnější vrstva či vrstvy, které pokrývají materiál jádra. Může být vyroben z přírodních nebo polysyntetických a syntetických polymerů (Barbosa-Canovas et al. 2014). V tabulce č. 1 jsou uvedeny názorné příklady potahových materiálů použité na enkapsulaci jádra. Níže je uveden stručný popis běžně používaných metod v praxi.

Tabulka č. 1. Enkapsulační metody a jejich činidla

Metoda	Enkapsulační činidlo/ potahový materiál
Koacervace	želatina, syrovátkové bílkoviny, arabská guma, maltodextrin, Tween 60 a 80, glutaraldehyd, tripolyfosfát sodný, sójová izolovaná bílkovina, algináty, agar, pektiny, karagenany,
Kokrystalizace	sacharóza

Molekulární inkluze cyklodextrinem	cyklodextriny, β -cyklodextrin
Sušení mrazem	β -cyklodextrin, polykaprolakton, ethylacetát, poly- ϵ -kaprolakton, želatina, dextroza, D-manitol, D-sorbitol, rostlinné oleje, Tween 20, Tween 80, polyethylen glykol, chitosan, maltodextrin, syrovátkové bílkoviny, laktóza,
Sušení rozprašováním	sacharidy, arabská guma, modifikovaný škrob, maltodextrin, n-oktenylsukcinátový škrob, ethylacetát, syrovátkový protein, Tween 20, chitosan, syrovátkové bílkoviny, β -cyklodextrin,
Vytlačování	kukuřičný sirup, maltodextrin, modifikované potravinářské škroby,
Koprecipitace	modifikovaný škrob
Nanoprecipitace	Zein
Nanoemulze	Rostlinné oleje
Emulsifikace	Syrovátková bílkovina, modifikovaný škrob, sójová bílkovina, kaseinát, želatina, Tween 20 a 80; glukóza, zein

Zdroje: (Barbosa-Canovas et al. 2014), (Encina et al. 2016), (Xiao et al. 2014) , (Martin et al. 2010), (Fang & Bhandari 2012)

Metody enkapsulace

Sušení rozprašováním

Tryskou jsou vytvářeny malé kapičky. Tyto kapičky jdou do kontaktu s teplým vzduchem a z povrchu kapiček se začíná vypařovat voda. Rychlost odpařování vody je brzy omezena kvůli tvorbě obalu. Obal se vytváří obvykle 5–20 ms v závislosti na velikosti kapiček. Složky s nízkou rozpustností se vysráží dříve a mají tak větší uplatnění na povrchu částic (Millqvist-Fureby 2009). V případě nanoenkapsulace je tato metoda schopna převést suspenzi koloidních nanočástic na nanostrukturovanou práškovou formu. Tato metoda se kromě silic používá i pro enkapsulaci potravinových aromat, barviv, tuků, vitamínů, minerálů, olejů a ostatních látek, které ochrání potravinu před okolními vlivy a prodlouží trvanlivost při skladování (Tiwari et al. 2020).

Sušení mrazem

Sušení mrazem neboli lyofilizace se používá k dehydrataci materiálů citlivých na teplo a aroma. Proces má více stupňů: zmrazení, sublimace (primární sušení), desorpční fáze (sekundární sušení) a konečné skladování (Ezhilarasi et al. 2013). Lyofilizace se provádí za nízkých teplot ve vakuu, aby se zabránilo oxidaci a přechodu do vodné fáze. Výsledná směs se rozemele na malé částice (Kailasapathy 2009).

V současné době je lyofilizace široce používanou technikou pro odstraňování vody z povrchu nanoenkapsulí bez změny jejich struktury a tvaru. Nevýhodou lyofilizace je energetická náročnost, otevřená porézní struktura a dlouhé zpracování. Technika sušení rozprašováním a zmrazením však může být účinnou alternativou k běžné technice sušení mrazem. Zmenší se póry a doba sušení (Fang & Bhandari 2012).

Nanoprecipitace

Tato metoda je založena na přenosu rozpouštědla a na srážení polymeru z organické fáze (složeného z organického rozpouštědla, polymeru a bioaktivních látek) po přidání vodné fáze (složené ze směsi polymerních antirozpouštědel spolu s povrchově aktivními látkami). Polymery jako poly-laktid (PLA), poly-kaprolakton (PCL) a polylaktid-ko-glykolid (PLGA) jsou jedny z nepoužívanějších látek pro tuto metodu. Nanoprecipitace je velice vhodná pro enkapsulaci hydrofobních látek (silic) ve srovnání s hydrofilním jádrem. Kromě toho je i rychlá a ekonomicky nenáročná (Tiwari et al. 2020).

Ko-krystalizace

Enkapsulace ko-krystalizací v sacharóзовé matrici je relativně nová, jednoduchá a ekonomicky výhodná metoda. V tomto procesu je účinná látka vložena do přesyceného sacharóзовého sirupu, aby se dosáhlo současné krystalizace obou složek, jakož i zachycení aktivní složky v sacharóзовé matrici. Při krystalizaci je krystalická struktura sacharózy modifikována z dokonalého na nepravidelný aglomerovaný krystal, za vzniku porézní matrice, do které může být vložena účinná složka (silice). Sacharóza v matrici zajišťuje spolehlivý průběh procesu a zlepšuje funkčnost ko-krystalizovaného produktu. Obecně ko-krystalizace zlepšuje rozpustnost, smáčivost, homogenitu, dispergovatelnost, hydrataci proti spékání a stabilitu zapouzdřených materiálů (Sardar & Singhal 2013).

Koprecipitace

Vznik této metody je založen na mnoha různých procesech srážení. Procesy souvisí s různými superkritickými tekutinami, které vykonávají různou funkci jako rozpouštědlo (Rychlé rozšíření superkritických roztoků–RESS), antirozpouštědlo (superkritické antirozpouštědlo srážení–SAS), spolurozpouštědlo nebo solut (částice z roztoků nasycených plynem-PGSS) a pohonné látky (rozprašovač podporovaný oxidem uhličitým pomocí sušičky). Původně bylo mnoho z těchto procesů navrženo pro výrobu pevných částic, ale po úpravách lze některé použít pro vytvoření mikroenkapsule se silicí uvnitř. Konkrétně metoda PGSS je pro toto vhodná. Super kritický oxid uhličitý je za mírného tlaku rozpuštěn v mnoha lipidech či polymerech. V prvním kroku, za vysokého tlaku je rozpuštěná látka nasycena oxidem uhličitým. Druhý krok spočívá v expanzi nasyceného plynného roztoku pomocí trysky. Vše probíhá ve statickém mixéru, kde je přítomná silice. Potahový materiál a oxid uhličitý je přimíchán do mixéru a vytvoří se emulze. Potahový materiál během expanze ztuhne a vytvoří obal silice. Tento proces je vhodný pro výrobu enkapsulovaných silic, dochází k 66% účinnosti mikroenkapsulí o velikosti 80–130 μm (Martin et al. 2010).

Koacervace

Obecně je definována jako separace dvou kapalných fází v koloidním roztoku. Jedna fáze je bohatá na polymer a nazývá se koacervátová fáze. Další fáze neobsahuje polymer a nazývá se rovnovážný roztok. V případě jednoduché koacervace existuje pouze jeden polymer, zatímco komplexní koacervace zahrnuje interakci dvou opačně nabitých koloidů (Asbahani et al. 2015). Jednoduchá koacervace začíná jako běžná emulze s polymerem adsorbovaným na mezifázi, mezi emulgovanou fází a rozpouštědlem. Následně se teplota a pH upraví tak, aby se polymer stal nerozpustným v rozpouštědle a vytvořil samostatnou fázi (koacervát), která potahuje emulgovanou fázi. Pro komplexní koacervaci se používají dva nebo více typů polymerů. Například pro mikroenkapsulaci silic se dá použít jako povlak směs syrovátkové bílkoviny a arabské gumy (Kailasapathy 2009). S arabskou gumou se často míchá i želatina, protože při nízkém pH má každá opačný náboj, což způsobuje přitažlivost a tvorbu nerozpustného komplexu. Koacervace se považuje za účinnou, avšak drahou metodu (Gibbs et al. 1999).

Emulsifikace

Tato technologie se obecně používá pro enkapsulaci bioaktivních látek ve vodných roztocích, které mohou být použity přímo v kapalném stavu nebo mohou být sušeny za vzniku prášku při emulgaci. Ve své podstatě se emulze stává z alespoň dvou nemísitelných kapalin, jako je olej a voda. Jedna kapalina je rozptýlena v podobě malých kapiček ve druhé. Nejčastěji se můžeme setkat s emulzí oleje ve vodě (O/W) nebo vody v oleji (W/O). Může nastat i více emulzí, jako je olej ve vodě, a ještě v oleji nebo emulze vody v oleji, a ještě ve vodě. K dosažení stabilního roztoku se do těchto systémů obvykle přidávají stabilizátory. Např. emulgátory nebo modifikátory pro udržení textury. Průměry emulzních kapiček se pohybují v rozmezí 0,1 až 100 μm . Emulze se míchá ve vysokotlakém homogenizátoru. Výhodou této metody je relativně snadná příprava a nízká cena. Tato technika je ve skutečnosti součástí enkapsulačního procesu. Například při zapouzdření a lyofilizaci mohou být materiály jádra stěny připraveny emulzní technikou před konečným sušením. Emulzní kapičky mohou být také připraveny jako šablony pro koacervační metodu či vytlačování (Fang & Bhandari 2012).

Nanoemulze

Tato metoda je podobná emulsifikaci. Nanoemulze je stabilní koloidní systém připravený ze dvou nemísitelných kapalin, např. vody a oleje, které jsou stabilizovány pomocí emulgátoru nebo povrchově aktivních částic. Metoda se v zásadě používá k zapouzdření hydrofobních látek (silic) pro zlepšení jejich stability a biologické aktivity (Tiwari et al. 2020).

Vytlačování

Tento proces spočívá v rozprášení materiálu jádra (silice) v roztavené uhlovodíkové hmotě a následném vytlačení skrz řadu lisovacích forem do lázně s kapalinou. Po kontaktu s kapalinou potahový materiál, který tvoří enkapsulační matici, ztvrdne a zachytí materiál jádra (silici). Vytlačená vlákna se pak oddělí od kapalně lázně, vysuší a roztřídí (Barbosa-Canovas et al. 2014).

Jako enkapsulační povlak se často používá kukuřičný sirup a kombinace sacharózy a maltodextrinu. K nahrazení maltodextrinu lze použít modifikované potravinářské škroby s emulgačními vlastnostmi, čímž se získá produkt bez cukru, který má určité výhody při uvádění potravin na trh. Další výhodou je ochrana před oxidací a delší trvanlivost výrobku. Nevýhodou vytlačování jsou relativně vysoké náklady a nízká rozpustnost ve studené vodě a

nestabilita při aplikaci do nápojů kvůli poměrně velkým částicím. V porovnání se sušícími metodami, se můžou náklady odhadem vyšplhat až na dvojnásobek (Harrington & Schaefer 2014).

Molekulární inkluze cyklodextrinem

Inkluze do cyklodextrinů je jedinou metodou enkapsulace, která probíhá na molekulární úrovni. Cyklodextriny mohou být produkovány enzymaticky rodem *Bacillus macerans* a *Bacillus cirulans*. Enzymy v těchto bakteriích, které se nazývají cyklodextrintransglykosidáza, přeměňují částečně hydrolyzovaný škrob na tři typické cyklodextriny: alfa, beta a gama-cyklodextriny a obsahují šest, sedm nebo osm glukózových jednotek v kruhu (Fang & Bhandari 2012).

Nejvíce vzniká β -cyklodextrin a je nejvhodnější pro inkluzi molekul. Široká řada organických molekul je schopna tvořit komplexy s cyklodextriny. Poskytují velmi dobrou ochranu před odpařováním a oxidací, udržují dobré sensorické vlastnosti po dobu několika let skladování. β -cyklodextrin se vykazuje různou afinitou k různým aromatickým sloučeninám. Používá se k odstranění látek z pomerančových a grapefruitových šťáv, nežádoucích příchutí ze staré rýže, ze sójových produktů a nebo pro maskování hořké chuti chmele (Barbosa-Canovas et al. 2014).

Každá metoda může představovat své výhody i nevýhody. Mezi nevýhody se ve většině případů řadí složitost postupu, nízká účinnost enkapsulace, drahé náklady na provedení či časová náročnost. Například koacervace představuje vysokou účinnost enkapsulace a kontrolu částic, ale je to nákladná metoda. Emulgace je spojená s vysokou produkcí zbytkových rozpouštědel a nízkou účinností enkapsulace a jedná se o časově náročnou metodu, ale má nízké provozní náklady. Sušení rozprašováním se ze všech enkapsulačních metod stala úspěšnou průmyslovou metodou, protože dochází ke snadné aplikaci, rychlému odpařování vody a nízkým provozním nákladům (Gómez et al. 2018).

3.6 Studie na konkrétních potravinách

V dostupných pramenech lze nalézt několik studií, které se enkapsulací silic zabývají a zkoumají ji na různých potravinách. Popisují metodiku, lze z nich vypožorovat jejich klady, ale i některé nedostatky. Veškeré studie, které jsou zde popsány, odkazují na tabulku č. 2 „Potraviny ošetřené enkapsulovanými silicemi“, která zobrazuje stručný souhrn uvedených informací.

3.6.1 Rostlinné produkty (ovoce a zelenina)

Silice z hřebíčku byla enkapsulovaná do liposomů o koncentraci 5 mg/ml a při míchaná do kašovitě hmoty z tofu. Vytvořily se vzorky, které byly naočkovány patogenními mikroorganismy. K jednomu vzorku byla přimíchána enkapsulovaná silice a jeden se nechal jako kontrolní vzorek. Působením hřebíčkové silice, kde je eugenol považován za hlavní účinnou složku, bylo prokázáno během 24 hodin snížení populace *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) a *Escherichia coli* (*E. coli*) o 99,87 % v porovnání s kontrolním vzorkem. Po 120 hodinách se jednalo o snížení populace o 99,99 % (Cui et al. 2015).

V jiné studii od Alvarez (2019) byla enkapsulovaná silice z rozmarýnu a oregana použita na čerstvou brokolici. Silice byly enkapsulované do pektinového povlaku o různé koncentraci. Oreganová 0,48 mg/ml; rozmarýnová 1,82 mg/ml a kombinace oreganové a rozmarýnové 0,24 mg a 0,91 mg/ml. Takto enkapsulované silice byly rozmíchány ve 100 ml destilované vody. Tři různé vzorky brokolice o hmotnosti 120 g byly namáčeny v tomto roztoku a následně inkubovány a vyhodnoceny. Ve výsledku došlo k poklesu nárůstu mezofilních bakterií o cca 3,5 log CFU/g. Ukázal se také větší pozitivní antioxidační účinek rozmarýnové silice oproti oreganové, to mohlo být odůvodněno větším obsahem rozmarýnové silice v jádře enkapsule. Naopak z pohledu sensoriky byla lepší silice z oregana, která při hodnocení tolik neovlivnila chuť a barvu, a byla uznána za přijatelnou. Kombinace obou silic na jednom vzorku měla stejný vliv na chuť a barvu jako samostatná silice z oregana (Alvarez et al. 2019).

Na plody jahod byla aplikována silice z rozmarýnu a tymiánu. Silice byly enkapsulovány koacervací do povlaku z β -cyklodextrinu. Byly vytvořeny vzorky po třech, kde v prvním bylo použito 0,2 g rozmarýnové silice, ve druhém bylo 0,2 g tymiánové silice ve třetím vzorku bylo 0,1 g rozmarýnové + 0,1 g tymiánové silice. Mikroenkapsule byly aplikovány na 100 g jahod

pomocí plynné fáze. Během 9 dnů skladování a při teplotě 5 °C jahody s přídavkem silic prokázaly prodloužení trvanlivosti oproti kontrolnímu vzorku. Mikroenkapsule zpomalily povrchové kažení o 17 % a udržely dobré sensorické vlastnosti. Nejvíce účinné byly mikroenkapsule, které obsahovaly oba druhy silic. Autoři studie se domnívají, že uvolňování silic z mikroenkapsule může být ovlivněno obsahem polárních sloučenin. V tymiánové silici vysoký obsah polárních sloučenin napomáhá k lepšímu způsobu enkapsulace a následně pomalejšímu uvolňování silic z mikroenkapsule (Alikhani & Daraei Garmakhany 2012).

V jiné studii byla použita silice z perily křovité (*Perilla frutescens*) a enkapsulována do alginátu sodného. Jahody byly skladovány při 4 °C. Citlivost byla testována proti druhu *E. coli*, *S. aureus* a *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*). Výsledky ukazují různé stupně citlivosti bakterií na mikroenkapsule. Studie také prokázala zpomalení kažení a přijatelné sensorické vlastnosti (Li et al. 2018).

Zázvorová silice byla použita na plody cícimku čínského (*Ziziphus jujuba*) neboli na čínské datle. Množství silice bylo 0,075 mg/g datlí a byla enkapsulovaná do matrice z chitosanu a karboxymethylcelulózy (v poměru 1:1) pomocí plynné fáze a postupně docházelo k uvolňování silic. Datle byly skladovány při pokojové teplotě 14 dnů. Výsledky studie prokázaly snížení oxidace antokyanů, protiplísňové účinky a také zvýšení rezistence vůči chorobám. Došlo k uchování určitých sensorických vlastností, zejména vzhledu, kdy nedošlo ke změně barvy z červené na hnědou, zachování pevnosti a šťavnatosti. Podobné účinky nastaly ve studii od Agarwal et al. (2001) kde bylo kuřecí maso potaženo nanoemulzí. Postupné uvolňování silice z mikroenkapsule na povrch ovoce zajistilo jeho nezávadnost a bezpečnou konzumaci (Ban et al. 2020).

Rozmarýnová silice byla použita do rajčatové šťávy. Silice byla enkapsulována do enkapsulační matrice z β -cyklodextrinu. Množství použité silice bylo 1,3 mg/ml šťávy. Mikroenkapsule byly zamíchány do rajčatové šťávy a šťáva byla pasterována. Po pasteraci byla teplota snížena na 25 °C a šťáva byla naočkovaná mikroorganismy. Enkapsulovaná silice prokázala větší antimykotickou aktivitu než antibakteriální. Při tepelném ošetření rajčatové šťávy povlak z β -cyklodextrinu zajistil tepelnou ochranu pro enkapsulovanou rozmarýnovou silici a nedošlo tak k porušení, či snížení antimikrobiální aktivity silice. Tento povlak, pro své termostabilní účinky, je vhodný pro enkapsulaci silic a dá se použít do potravin s tepelným ošetřením do 100 °C (Garcia-Sotelo et al. 2019).

Oreganová a rozmarýnová silice byla použita také na čerstvý celer. Kromě těchto dvou silic byla enkapsulována také silice ze skořice. Enkapsulace byl provedena metodou nanoemulzifikace. Množství enkapsulované silice bylo 100 mg/l roztoku. Plátky celeru se namáčely v roztoku, který obsahoval enkapsulovanou silici. Vzorky se poté nechaly oschnout. Nanoemulzifikace se osvědčila jako vhodná enkapsulační metoda pro své efektivní uvolňování silic z obalu. Silice z oregana vykazovala nejefektivnější antibakteriální účinek proti *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) a *E. coli*. Bakterie byly inhibovány a jejich počet klesl do 1 hodiny pod 5 log CFU/g. Co se týče sensorických vlastností, nejpříjemnější pro degustátory byly vzorky ošetřené skořicovou silicí, poté oreganovou a nakonec rozmarýnovou silicí (Dávila-Rodríguez et al. 2019).

Silice ze šeříku obecného (*Syringa*), která obsahuje jako nejúčinnější složku eugenol, byla enkapsulovaná do potahového materiálu z β -cyklodextrinu a Tweenu 80 a aplikovaná pomocí plynné fáze na broskve. Množství použité silice bylo 3,3 mg/g ovoce. Broskve byly skladovány po dobu 35 dní při 20 °C. Během skladování byl sledován vliv silice na ovoce. Prokázaly se inhibičními účinky proti plísni druhu *Alternaria alternata* (*A. alternata*) a *Botrytis cinerea* (*B. cinerea*). Na konci skladování došlo také ke snížení ethylenu, které ovoce produkuje a způsobuje jeho měknutí a dozrávání. Vliv silic na sensorické vlastnosti nejsou bohužel uvedeny (Yang et al. 2019).

3.6.2 Masné produkty

Enkapsulace rozmarýnové silice na hovězí svíčkovou prokázala antimikrobiální účinky proti *Salmonella thyphimurium* (*S. thyphimurium*). Množství enkapsulované silice bylo 2 mg/g masa. Silice byla enkapsulována do nanoemulze z chitosanu s kyselinou benzoovou. Maso bylo potřeno nanoenkapsulovanou silicí a bylo skladováno 12 dní při teplotě 4°C. Během této doby došlo ke snížení počtu kolonií *S. thyphimurium* z 3,3 log CFU/g na 2,5 log CFU/g. Sensorické změny se projeví zejména u barvy, kdy během procesu oxidace dochází k blednutí. Po použití enkapsulované rozmarýnové silice mělo maso velice podobnou barvu jako při prvním dnu skladování, tedy červenou (Hadian et al. 2017).

Silice z koriandru spolu s novým kořením byly enkapsulovány do potahového materiálu z β -cyklodextrinu pomocí metody koprecipitace do několika vzorků šunkového salámu. Účinné množství enkapsulované silice bylo 0,2 mg/g šunkového salámu. Mikroenkapsule byly aplikovány přímo do díla salámů při výrobě. Toto množství prokázalo během 28 dní skladování

při teplotě 3 °C sníženou oxidaci tuků ve vzorku šunkového salámu. Výskyt mezofilních aerobních bakterií a *Enterobacteriace* byl prokázán až po 28 dnech. Nejmenší nárůst těchto mikroorganismů byl pozorován u vzorku s ne-enkapsulovanou silicí, avšak u vzorku s enkapsulovanou silicí byl nárůst jen o jeden řád vyšší. Toto zvýšení má za následek pomalé uvolňování silic z obalu. Z hlediska sensorického vnímání u enkapsulovaných silic nedošlo po dobu 28 dnů k velkým rozdílům a šunkový salám se považoval za přijatelný (Dima et al. 2014).

Do kuřecí paštiky byla použita enkapsulovaná silice z oregana do matrice z polyethoxyleny metodou nanoemulgace. Účinné množství enkapsulované silice bylo 0,6 mg na 1 g paštiky. Nanoenkapsule byly přidány do díla. Během 90 dnů skladování byla pozorována antibakteriální účinnost proti *S. aureus* a *E. coli*. Vyšší účinnost se prokázala proti *E. coli*. Nanoenkapsule s obsahem 0,6 mg silice měly nejstabilnější konzervační potenciál ze všech vzorků po dobu 45 dnů skladování. Poté docházelo k nižší účinnosti oreganové silice ve všech vzorcích. Začlenění nanoenkapsule do kuřecí paštiky nezměnilo fyzikálně-chemické vlastnosti ani sensorické vlastnosti masného produktu a prodloužilo jeho trvanlivost (Moraes-Lovison et al. 2017).

Silice z oregana použitá na burgery ze štikozubce (*Merluccius hubbsi*) měla podobné účinky. Byla přimíchána v množství 0,08 mg/g mletých rybích filet. Po dobu 14 dnů skladování při teplotě 4 °C nedošlo k rozvoji bakterií či jiných mikroorganismů způsobujících zkázu. Během skladování, použitím enkapsulované silice došlo ke snížení hodnoty oxidace u tuků než bez použití silice, a tudíž nanoenkapsule chrání burgery před poškozením a prodloužují jejich trvanlivost. (Asensio et al. 2019). V podobné studii byla do hovězích burgerů přimíchána silice z byliny *Zataria multiflora* Boiss v množství 0,03 mg/g masa. Po dobu 12 dní skladování při 4°C došlo k poklesu nárůstu psychrotrofních bakterií, kvasinek a plísní (Torab et al. 2015).

Oreganová silice byla také použita na sušené hovězí maso. Vytvořilo se několik vzorků a naočkovaly se rody *Salmonella enteritidis* (*S. enteritidis*) a *E. coli*. Před ventilátor se připevnil celulósový filtr s dávkami 0,75 ml (0,014 ml/l vzduchu); 1,5 ml (0,028 ml/l vzduchu); 2 ml (0,038 ml/l vzduchu) a 3 ml (0,057 ml/l vzduchu) oreganové silice a také se vytvořil vzorek zvlášť pro kontrolu s NaNO₂. Pomocí plynné fáze se dostala silice na vzorky masa. Maso bylo sušeno po dobu 4–6 hodin při teplotě 55 °C Nejúčinnější antibakteriální aktivitu po 6 hodinách sušení vykazovala silice v dávce 1,5 ml a 2 ml na *S. enteritidis* (pokles z 4,88 log CFU/g na 1,24 log CFU/g). Silice v dávce 1,5 ml měla také největší účinnost na *E. coli* (pokles na 1,16 log CFU/g). Naopak z pohledu sensorických vlastností se tato koncentrace projevila jako

štiplavá, svíravá a hořká chuť, naproti tomu koncentrace 0,75 ml vykazovala příjemnou chuť a intenzivní šťavnatost. Celkově byla hodnotiteli považována za přijatelnou a v masě zlepšovala organoleptické vlastnosti (Hernández et al. 2017).

3.6.3 Pečivo a cukrářské výrobky

Do sušenkového těsta bylo přidáno 1,6 mg enkapsulované skořicové silice na 1 g těsta, potahový materiál byl vytvořen z maltodextrinu. Po upečení se sušenky nechaly vychladit a skladovaly se při teplotě 20 °C v uzavřeném obalu po dobu 90 dnů. Během této doby byly pozorovány senzorické změny sušenek. Enkapsulovaná skořicová silice měla významně vyšší vliv na zachování barvy po celou dobu skladování. Po 45 dnech skladování došlo k poklesu aroma, avšak v porovnání s kontrolním vzorkem byl pokles velice mírný. Atribut křupavosti nevykazoval významný pokles během celé doby skladování. Co se týče chuti, sušenky s enkapsulovanou skořicovou silicí si uchovaly své chuťové vlastnosti dvakrát déle než kontrolní vzorek. Celková senzorická přijatelnost sušenek s enkapsulovanou silicí byla více preferována hodnotiteli než sušenky s ne-enkapsulovanou silicí (Fadel et al. 2019).

Gonçalves et al. (2017) ve své studii použil enkapsulovanou tymiánovou silice na dortový piškot. Bylo použito 0,6 mg/ml těsta. Silice byly enkapsulované metodou koacervace do obalu z arabské gumy a želatiny. Po dobu skladování 30 dnů při teplotě 25 °C docházelo k porovnání vzorku piškotu s obsahem silice a kontrolním vzorkem bez ošetření. U vzorku, ve kterém byla obsažena enkapsulovaná silice, nedošlo k nárůstu bakterii, plísní a kvasinek, a tudíž si výrobek zachoval stejné vlastnosti jako na začátku. Zatímco u kontrolního vzorku došlo k vysokému nárůstu plísní a kvasinek, zejména plísně rodu *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*), která způsobuje závažné onemocnění plic. Tymiánová silice prokázala inhibici proti *S. aureus* a *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) a představuje potenciál pro použití jako přírodní konzervant (Gonçalves et al. 2017).

Oreganová a tymiánová silice byly enkapsulovány do kukuřičného proteinu zvaného zein a přidány do chleba. Jako metoda enkapsulace byla použita nanoprecipitace a množství bylo 1,4 mg/g oreganové silice a 1,3 mg/g tymiánové silice. Tyto silice prokázaly několik pozitivních účinků na testované potraviny. Během 21 skladovaných dní a teplotě 20 °C nedošlo k objevení plísní a kvasinek a došlo k inhibici G+ bakterii *S. aureus* a *Listeria innocua* (*L. innocua*). Studie prokázala, že oreganová silice měla větší antioxidační aktivitu než tymiánová. Výsledky studie popisují nanokapsle ze zeinu (kukuřičného proteinu) jako vhodnou ochranu

enkapsulovaných silic. Během pečení při 200 °C nebyly složky silic poškozeny. To ukazuje na skutečnost, že vyrobené nanoenkapsule jsou vysoce tepelně stabilní. Jak působily nanoenkapsule silic na sensorické vlastnosti chleba, není bohužel ve studii uvedeno (Gonçalves da Rosa et al. 2020).

3.6.4 Mléčné produkty

Rozmarýnová silice byla použita při skladování sýra Minas frescal, enkapsulovaná pomocí metody sušení rozprašováním do enkapsulační matrice ze syrovátkové bílkoviny a inulinu. Množství enkapsulované silice bylo cca 20 mg/g sýra a mikroenkapsule v podobě prášku byly přidány do sýra po odstranění syrovátky a před začátkem formování. Enkapsulace prokázala během 15 dní skladování při teplotě 6 °C snížení počtu mezofilních a koliformních bakterií v sýru. K většímu snížení počtu došlo u mezofilních bakterií. Enkapsulované silice zamezují růstu mikroorganismů během skladování v chladu a prodlužují tak trvanlivost sýra. Povlakový materiál ze syrovátkové bílkoviny s kombinací inulinu se prokázal jako vhodný enkapsulační materiál. Syrovátková bílkovina vytváří stabilní emulzi, dobře reaguje s vodou a má emulgační vlastnosti. Vede tak k vyšší účinnosti enkapsulace, a tím se snižují ztráty těkavých látek. Inulin je zase ceněn pro své probiotické vlastnosti, nižší energetickou hodnotu, funkční a technologické vlastnosti. (Fernandes et al. 2016).

Do mléka byla přidána nanoemulze tymiánové silice se sójovým olejem. Silice byla enkapsulována v množství 2 mg/g mléka. Mléko bylo polotučné a ošetřené UHT. Před použitím enkapsulované silice byly vzorky očkované bakteriemi. Prokázala se účinnost proti *S. aureus*, *Enterococcus hirae* (*E. hirae*) a *Bacillus licheniformis* (*B. licheniformis*). Ohledně antioxidačních účinků bylo zjištěno, že přítomnost enkapsulované silice zabránila oxidaci mléčného tuku. Díky tomu došlo k prodloužení trvanlivosti a bezpečné konzumaci mléka. Přidání tymiánové silice má také pozitivní vliv na fermentační stabilitu mléka. Avšak z pohledu sensoriky se jedná o velmi silný aromatický produkt a není zcela přijatelný pro konzumenty (Ben Jemaa et al. 2017).

Na plátky nízkotučného sýra byla použita silice z oregana, která byla enkapsulovaná do nanoemulze. Povlak byl vytvořen ze směsi Tweenu 80, mandarinkové vlákniny a alginátu sodného. Množství oreganové silice byla 1,5 mg/g; 2 mg/g a 2,5 mg/g. Plátky sýra byly namáčeny do nanoemulze a po zaschnutí byly skladovány při teplotě 4 °C po dobu 24 dnů. Ošetřené vzorky množstvím větším jako 2 mg/g dokázaly po 15 dnech snížit výskyt *S. aureus*.

Nárůst klesl z 6 log CFU/g na 4,5 log CFU/g. Množství 2,5 mg/g inhibovaly nárůst psychrofilních bakterií, kvasinek a vláknitých hub od 6. do 24. dne skladování. Vzhled sýra byl zachován. Nižší množství 1,5 mg/g mělo pozitivní vliv na barvu. Po 13 dnech skladování se vybarvila barva sýra více do žluta. Vyšší množství (2 a 2,5 mg/g) barvu nijak neovlivnilo (Artiga-Artigas et al. 2017).

3.7 Pohled legislativy

Látky, které tvoří povlaky pro silice a jsou uvedeny v těchto studiích, jsou legislativně uznány jako přídatné látky do potravin, a tudíž se mohou použít a být vyznačeny na obalu. Vyhláška č 122/2011 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin, příloha jedna až deset určuje, která přídatná látka se může přidat do konkrétní potraviny. Ale Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách, článek 3, část 2 a ii), nepovažuje silice za přídatné látky. Z toho vyplývá, že podle výše uvedeného nařízení se označení např. antioxidant (konzervant): oreganová silice, nesmí uvést na obal potraviny. Dále podle stanoviska MZe a v souladu s požadavky nařízení (ES) č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách a nařízení (EU) č. 1169/2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům není možné potravinu označit slovy „bez E“ a vyjádřením s podobným významem nebo „bez přídatných E“ a vyjádřením s podobným významem: pokud je do výrobku přidán extrakt, který není obvykle jako takový určen ke spotřebě jako potravina a který je schopný v potravině plnit technologickou funkci přídatné látky (např. špenátový extrakt-náhrada E250-dusitan sodný).

Enkapsulované silice se tedy do potravin použít mohou, jen se nesmí označovat jako konzervant či antioxidant ve složení. Legislativa tak neumožňuje zvýhodňování výrobců, které používají pouze přírodní extrakty jako konzervační přídatné látky.

Tabulka č. 2. Potraviny ošetřené enkapsulovanými silicemi.

Potravina	Silice	Potahový materiál	Účinky proti:	*Množství silice, účinné látky / množství potraviny	Efekt	Reference
Rostlinné produkty						
tofu	hřebíčková	liposomy ^a	<i>S. aureus</i>	5 mg/ml	přimíchání do kašovitě hmoty-prodloužení trvanlivosti	(Cui et al. 2015)
brokolice	oreganová + rozmarýnová	pektin ^a	<i>E. coli</i> , <i>S. choleraesuis</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i>	0,24 mg/ml a 0,91 mg/ml	oplach-antioxidační účinky, snížení mezofilních bakterií, prodloužení trvanlivosti	(Garcia-Sotelo et al. 2019a)
	oreganová	pektin ^a	<i>E. coli</i> , <i>S. choleraesuis</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i>	0,48 mg/ml	oplach-antioxidační účinky, snížení mezofilních bakterií, prodloužení trvanlivosti	(Garcia-Sotelo et al. 2019a)
	rozmarýnová	pektin ^a	<i>E. coli</i> , <i>S. choleraesuis</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i>	1,82 mg/ml	oplach-antioxidační účinky, snížení mezofilních bakterií, prodloužení trvanlivosti	(Garcia-Sotelo et al. 2019a)
jahody	rozmarýnová	B-cyklodextrin ^b	neuveдено	2 mg/g	plynná fáze-prodloužení trvanlivosti, zachování sensorických vlastností	(Alikhani & Daraei Garmakhany 2012)

	tymiánová	B-cyklodextrin ^b	neuveдено	2 mg/g	plynná fáze-prodloužení trvanlivosti a zachování senzoričkých vlastností	(Alikhani & Daraei Garmakhany 2012)
	rozmarýn +tymián	β-cyklodextrin ^b	neuveдено	1 mg + 1 mg/g	plynná fáze-prodloužení trvanlivosti a zachování senzoričkých vlastností	(Alikhani & Daraei Garmakhany 2012)
čínské datle	zázvorová	chitosan a carboxymetyl celulóza ^d	neuveдено	0,075 mg/g	uvolňování plynné fáze-prodloužení trvanlivosti, snížení antikyánové oxidace, protiplísňové účinky,	(Ban et al. 2020)
rajčatová šťáva	rozmarýnová	β-cyklodextrin ^a	<i>plísň,</i> <i>S. typhimurium,</i> <i>L. monocytogenes</i>	1,3 mg/ml	přimícháno ke vzorku-termostabilita mikrokapsle, antimykotické a antibakteriální účinky	(Garcia-Sotelo et al. 2019b)
celer	skořicová, oreganová a rozmarýnová	Tween 80 ^c	<i>L. monocytogenes,</i> <i>E. coli</i>	0,1 mg/ml	oplach-antibakteriální účinky,	(Dávila-Rodríguez et al. 2019b)
broskve	Šeříková	Tween 80 + β-cyklodextrin ^e	<i>A. alternata</i> <i>B. cinerea</i>	3,3 mg/g	plynná fáze-proti plísňové účinky, snížení produkce ethylenu	(Yang et al. 2019)
Masné produkty						
hovězí svíčková	rozmarýnová	Chitosan a β-cyklodextrin nanogel ^a	<i>S. typhimurium</i>	2 mg/g	nátěr-prodloužení trvanlivosti, antioxidační účinky, antimikrobiální účinky	(Hadian et al. 2017)

šunkový salám	Koriandrová + z nového koření	B-cyklohextrin ^b	mezofilní bakterie a rod <i>Enterobacteriaceae</i>	0,2 mg/g	přimíchány do díla-prodloužení trvanlivosti, zpomalení oxidačních procesů, zachování sensorických vlastností.	(Dima et al. 2014)
kuřecí paštika	oreganová	polyethoxylen ^a	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>	0,6 mg/g	přimíchány do díla-antioxidační účinky a zachování sensorických vlastností	(Moraes-Lovison et al. 2017)
rybí burger	oreganová	sójový lecitin ^c	<i>L. helveticus</i> , <i>S. termophilus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Salmonella sp.</i> , <i>E. coli</i>	0,08 mg/g	přimíchání do mletých filet-prodloužení trvanlivosti, antioxidační účinky, antimikrobiální účinky	(Asensio et al. 2019)
sušené hovězí maso	oreganová	dusitan sodný + Tween 80 ^a	<i>S. enteritidis</i> , <i>E. coli</i> .	** ¹ 0,014μl/l ^{2,3} 0,028μl/l 0,038μl/l	plynná fáze- ^{2,3} antimikrobiální účinky, ¹ použití nejnižší koncentrace přijatelné sensorické vlastnosti	(Hernández et al. 2017)
hovězí burger	Zataira multiflora	liposomy ^a	Psychrofilní bakterie, kvasinky a plísňe	0,03 mg/g	Přimíchání do mletého masa-snížení nárůstu patogenních mikroorganismů, zvýšení antioxidační aktivity	(Torab et al. 2015)
Pečivo a cukrářské výrobky						
sušenky	skořicová	maltodextrin ^a	neuveveno	1,6 mg/g	Přimícháno do těsta-lepší sensorické vlastnosti (aroma, křupavost, chuť)	(Fadel et al. 2019)

dortový piškot	tymiánová	arabská guma + želatina ^b	<i>E. faecium</i> , <i>S. aureus</i>	0,6 mg/ml	uchování po dobu 30 dnů bez přítomnosti patogenů	(Gonçalves et al. 2017)
chleba	oreganová	Zein ^d	<i>S. aureus</i> , <i>L. innocua</i> plísňe	1,4 mg/g	přimícháno do těsta- prodloužení trvanlivosti, antibakteriální a proti plísňové účinky, tepelná stabilita nanokapsle	(Gonçalves da Rosa et al. 2020)
	tymiánová	Zein ^d	<i>S. aureus</i> , <i>L. innocua</i>	1,3 mg/g	přimícháno do těsta- prodloužení trvanlivosti, tepelná stabilita nanokapsle	(Gonçalves da Rosa et al. 2020)
Mléčné výrobky						
sýr Minas Frscal	rozmarýnová	syrovátková bílkovina + inulin ^e	mezofilní a koliformní bakterie	20 mg/g	přimíchán do sýra-snížení počtu mezofilních a koliformních bakterií	(Fernandes et al. 2016)
mléko	tymiánová	sójový olej ^c	<i>E. hirae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. licheniformis</i> ,	2 mg/ml	přimícháno do mléka- antimikrobiální aktivita, špatná sensorika, ochrana před oxidací tuku	(Ben Jemaa et al. 2017)
nízkotučný sýr	oreganová	Tween 80 + mandarinková vláknina + alginát sodný ^f	<i>S. aureus</i> , kvasinky, plísňe, psychrofilní bakterie	1,5 mg/g 2 mg/g 2,5 mg/g	Namáčení do roztoku – snížení počtu bakterií o 1,5 log CFU/g, inhibice kvasinek a plísňí, lepší barva	(Artiga-Artigas et al. 2017)

*Množství použité silice vyjádřeno v mg / množství potraviny v ml či v g.

** Koncentrace použité silice

Použití metody enkapsulace: ^aneuveveno; ^bkoacervace; ^cemulsifikace; ^dnanoprecipitace; ^esušení rozprašováním; ^fnanoemulze

Mikroorganismy: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella choleraesui*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinera*, *Penicillium expansum*, *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus termophilus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus hirae*

4 Závěr

Enkapsulované silice použité na různé druhy potravin a enkapsulované do různých potahových materiálů prokázaly podle jednotlivých studií antimikrobiální a antioxidační účinky. Antimikrobiální účinky byly prokázány téměř na všech testovaných potravinách. Především proti vláknitým houbám, kvasinkám a také bakteriím. U bakterií se prokázal větší účinek silic proti G+ než proti G- bakteriím, pravděpodobně z důvodu rozdílné stavby buněčné stěny. Antioxidační účinky silic dokázaly zmírnit proces oxidace tuků především u masných výrobků. Díky malé velikosti enkapsulí může dojít ke zvýšení pasivních absorpčních buněčných mechanismů, čímž se zvýší antimikrobiální aktivita. Výsledky různých studií se shodovaly v použití oreganové silice jako silice s nejlepšími inhibičními účinky proti škodlivým mikroorganismům.

Přímé použití silic do potravin může mít negativní technologický vliv kvůli vysoké těkavosti některých složek. Působením enkapsulovaných silic o větší koncentraci docházelo ke změnám sensorických vlastností, a potravina tak ve většině případů nebyla vhodná ke konzumaci. Použitím nízké koncentrace silic se sensorické vlastnosti potravin sice změnily, ale pro hodnotitele byly stále přijatelné. Ovšem nízké koncentrace silic často neudržely potravinu nezávadnou a neprodloužily tak její trvanlivost.

Pokud zvolíme silici, která se smyslově hodí k dané potravíně, může být efekt opačný a větší množství nemusí být na škodu. Např. u sušenek došlo k mnohem delšímu uchování a zlepšení chuťových vlastností na 90 dní, to je cca dvakrát více oproti neošetřenému vzorku.

Postupným uvolňováním dochází k rovnoměrnému účinku silic v potravíně během delší doby a dochází tak k prodloužení její trvanlivosti. Významnou roli zde hrají i potahové materiály. Jejich složení má velký vliv na uvolňování a také na výsledné sensorické vlastnosti. Je proto snaha najít vhodnou kombinaci potahového materiálu a silice, která udrží potravinu co nejdéle nezávadnou a nebude mít nežádoucí vliv na sensorické vlastnosti.

Do budoucna je tedy vhodné najít způsob, jakým budou enkapsulované silice použity, aby byly účinné proti znehodnocení a zároveň negativně nenarušovaly sensorické vlastnosti potravin. Důležitá bude také otázka legislativy, která použití enkapsulovaných silic do potravin nezakazuje, ale neumožňuje označit použitou silici na obalu potraviny jako konzervant či antioxidant.

5 Literatura

- Agarwal M, Walia S, Dhingra S, Khambay BPS. 2001. Insect growth inhibition, antifeedant and antifungal activity of compounds isolated/ derived from *Zingiber officinale Roscoe* (ginger) rhizomes. *Pest Management Science* **57**:289–300.
- Alboofetileh M, Rezaei M, Hosseini H, Abdollahi M. 2014. Antimicrobial activity of alginate/clay nanocomposite films enriched with essential oils against three common foodborne pathogens. *Food Control* **36**:1–7.
- Alikhani M, Daraei Garmakhany A. 2012. Effect of microencapsulated essential oils on storage life and quality of strawberry (*Fragaria ananassa cv. Camarosa*). *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods* **4**:106–112.
- Alvarez M V., Ortega-Ramirez LA, Silva-Espinoza BA, Gonzalez-Aguilar GA, Ayala-Zavala JF. 2019. Antimicrobial, antioxidant, and sensorial impacts of oregano and rosemary essential oils over broccoli florets. *Journal of Food Processing and Preservation* **43**:1–10.
- Aminzare M, Hashemi M, Hassanzad Azar H, Hejazi J. 2016. The use of herbal extracts and essential oils as a potential antimicrobial in meat and meat products. *Journal of Human, Environment, and Health Promotion* **1**:63–74.
- Amorati R, Foti MC, Valgimigli L. 2013. Antioxidant activity of essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**:10835–10847.
- Artiga-Artigas M, Acevedo-Fani A, Martín-Belloso O. 2017. Improving the shelf life of low-fat cut cheese using nanoemulsion-based edible coatings containing oregano essential oil and mandarin fiber. *Food Control* **76**:1–12.
- Asbahani A El, Miladi K, Badri W, Sala M, Aït Addi E.H, Casabianca H, Mousadik A. El, Hartmann D, Jilale A, Renaud F.N.R., Elaissari A. 2015. Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics* **483**:220–243.
- Asensio CM, Quiroga PR, Huang Q, Nepote V, Grosso NR. 2019. Fatty acids, volatile compounds and microbial quality preservation with an oregano nanoemulsion to extend the shelf life of hake (*Merluccius hubbsi*) burgers. *International Journal of Food Science and Technology* **54**:149–160.
- Bacílková B, Paulusová H. 2012. Vliv silic a jejich hlavních účinných látek na mikroorganismy a na archivní materiál. *Národní archiv, Praha*
- Bakhtiarizade M, Sourì MK. 2019. Beneficial effects of rosemary, thyme and tarragon essential oils on postharvest decay of Valencia oranges. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* **6**:1–8.
- Ban Z, Zhang J, Li L, Luo Z, Wang Y, Yuan Q, Zhou B, Liu H. 2020. Ginger essential oil-based microencapsulation as an efficient delivery system for the improvement of Jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) fruit quality. *Food Chemistry* **306**:1-8.
- Barbosa-Canovas, Gustavo V. Ortega-Rivas E, Juliano P, Yan H. 2014. *Food powders: physical properties, processing, and functionality*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

- Başer K. 2007. Chemistry of essential oils. Pages 43-44 in Berger RG editors, Flavours and Fragrances: Chemistry, bioprocessing and sustainability. Springer-Verlag, Berlin.
- Baser KHC, Buchbauer G. 2010. Handbook of essential oils: science, technology, and applications. CRC Press, Boca Raton.
- Bedoya-Serna CM, Dacanal GC, Fernandes AM, Pinho SC. 2018. Antifungal activity of nanoemulsions encapsulating oregano (*Origanum vulgare*) essential oil: in vitro study and application in Minas Padrão cheese. Brazilian Journal of Microbiology **49**:929–935.
- Ben Jemaa M, Falleh H, Neves MA, Isoda H, Nakajima M, Ksouri R. 2017. Quality preservation of deliberately contaminated milk using thyme free and nanoemulsified essential oils. Food Chemistry **217**:726–734.
- Bezpečnost potravin A - Z: Bakterie* [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství [cit. 2019-11-30]. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76694.aspx>
- Blackburn de C. 2006. Food spoilage microorganisms. Boca Raton, Cambridge.
- Bruhn JB, Christensen AB, Flodgaard LR, Nielsen KF, Larsen TO, Givskov M, Gram L. 2004. Presence of acylated homoserine lactones (AHLs) and AHL-producing bacteria in meat and potential role of AHL in spoilage of meat. Applied and Environmental Microbiology **70**:4293–4302.
- Burt S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. International Journal of Food Microbiology **94**:223–253.
- Cui H, Zhao C, Lin L. 2015. The specific antibacterial activity of liposome-encapsulated clove oil and its application in tofu. Food Control **56**:128–134.
- Dávila-Rodríguez M, López-Malo A, Palou E, Ramírez-Corona N, Jiménez-Munguía MT. 2019. Antimicrobial activity of nanoemulsions of cinnamon, rosemary, and oregano essential oils on fresh celery. LWT - Food Science and Technology **112**:1-8.
- Dima C, Neagu C, Cercel F, Alexe P. 2014. Sensory, physico-chemical and microbiological properties of cooked ham with beta-cyclodextrin loaded with coriander and pimento essential oils. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies **20**:319–329.
- Đorđević V, Bugarski B, Lević S, Trifković K, Belščak-Cvitanović A, Balanč B, Nedović V, Kalušević A, Kostić I, Komes D. 2014. Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds. Food Engineering Reviews **7**:452-490.
- Du H, Li H. 2008. Antioxidant effect of cassia essential oil on deep-fried beef during the frying process. Meat science **78**:461–468.
- Dvořáková M, Valterová I, Vaněk T. 2011. Monoterpeny v rostlinách. Chemicke listy **105**:839–845.
- Eikani MH, Golmohammad F, Rowshanzamir S. 2007. Subcritical water extraction of essential oils from coriander seeds (*Coriandrum sativum* L.). Journal of Food Engineering **80**:735–740.
- Encina C, Vergara C, Giménez B, Oyarzún-Ampuero F, Robert P. 2016. Conventional spray-drying and future trends for the microencapsulation of fish oil. Trends in Food Science and Technology **56**:46–60.

Eur-lex: Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 ze dne 16. prosince 2008 o potravinářských přídatných látkách [online]. Evropský parlament a Rada ES, 2008, 16.12.2008 [cit. 2020-06-15]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A02008R1333-20160525>

- Ezhilarasi PN, Karthik P, Chhanwal N, Anandharamakrishnan C. 2013. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: A Review. *Food and Bioprocess Technology* **6**:628–647.
- Fadel HHM, Hassan IM, Ibraheim MT, Abd El Mageed MA, Saad R. 2019. Effect of using cinnamon oil encapsulated in maltodextrin as exogenous flavouring on flavour quality and stability of biscuits. *Journal of Food Science and Technology* **56**:4565–4574.
- Fang Z, Bhandari B. 2012. Encapsulation techniques for food ingredient systems. Pages 320–348 in Bhandrari B, Roos YH editors. *Food materials science and engineering*. Blackwell publishing Ltd, New Jersey.
- Fernandes RVB, Guimarães IC, Ferreira CLR, Botrel DA, Borges S V., de Souza AU. 2016. Microencapsulated rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil as a biopreservative in Minas Frescal cheese. *Journal of Food Processing and Preservation* **41**:1–9.
- Froio F, Mosaddik A, Morshed MT, Paolino D, Fessi H, Elaissari A. 2019. Edible polymers for essential oils encapsulation: application in food preservation. *Industrial and Engineering Chemistry Research* **58**:20932–20945.
- García-Sotelo D, Silva-Espinoza B, Perez-Tello M, Olivas I, Alvarez-Parrilla E, González-Aguilar GA, Ayala-Zavala JF. 2019. Antimicrobial Activity and thermal stability of rosemary essential oil: β -cyclodextrin capsules applied in tomato juice. *LWT- Food Science and Technology* **111**:837-845.
- Gavahian M, Chu YH, Lorenzo JM, Mousavi Khaneghah A, Barba FJ. 2020. Essential oils as natural preservatives for bakery products: understanding the mechanisms of action, recent findings, and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **60**:310–321.
- Gibbs BF, Kermasha S, Alli I, Mulligan CN. 1999. Encapsulation in the food industry: A review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **50**:213–224.
- Gómez B, Barba FJ, Domínguez R, Putnik P, Bursac Kovačević D, Pateiro M, Toldrá F, Lorenzo JM. 2018. Microencapsulation of antioxidant compounds through innovative technologies and its specific application in meat processing. *Trends in Food Science and Technology* **82**:135–147.
- Gonçalves da Rosa C, Zapelini de Melo AP, Sganzerla WG, Machado MH, Nunes MR, Vinicius de Oliveira Brisola Maciel M, Bertoldi FC, Manique Barreto PL. 2020. Application in situ of zein nanocapsules loaded with *Origanum vulgare* Linneus and *Thymus vulgaris* as a preservative in bread. *Food Hydrocolloids* **99**:1-10.
- Gonçalves ND, Pena F de L, Sartoratto A, Derlamelina C, Duarte MCT, Antunes AEC, Prata AS. 2017. Encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil used as a natural preservative in bakery product. *Food Research International* **96**:154–160.
- Granata G, Stracquadanio S, Leonardi M, Napoli E, Consoli GML, Cafiso V, Stefani S, Geraci C.

2018. Essential oils encapsulated in polymer-based nanocapsules as potential candidates for application in food preservation. *Food Chemistry* **269**:286–292.
- Hadian M, Rajaei A, Mohsenifar A, Tabatabaei M. 2017. Encapsulation of *Rosmarinus officinalis* essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antibacterial activity in beef cutlet against *Salmonella typhimurium* during refrigerated storage. *LWT - Food Science and Technology* **84**:394–401.
- Hammer KA, Carson CF, Riley T V. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology* **86**:985–90.
- Harrington J, Schaefer M. 2014. Extrusion-based microencapsulation for the food industry. Pages 81-84 in Gaonkar AG, Vasisht N, Khare AR, Sobel R editors. *Microencapsulation in the food industry*. Academic Press, ISBN: 9780124045682 Elsevier Inc. DOI: 10.1016/b978-0-12-404568-2.00008-x
- Hashemi SMB, Khorram SB, Sohrabi M. 2017. Antioxidant activity of essential oils in foods. Pages 247-265 in Hashemi SMB, Khaneghah AM, Souza Sant'Ana A editors. *Essential oils in food processing: chemistry, safety and application*. John Wiley & Sons Ltd
- Hassan STS, Majerová M, Šudomová M, Berchová K. 2015. Antibacterial activity of natural compounds - essential oils | Antibakteriální účinky přírodních látek - silice. *Česká a Slovenská farmacie* **64**:243–253.
- Hernández H, Fraňková A, Sýkora T, Klouček P, Kouřimská L, Kučerová I, Banout J. 2017. The effect of oregano essential oil on microbial load and sensory attributes of dried meat. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **97**:82–87.
- Jayasena DD, Jo C. 2013. Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science and Technology* **34**:96–108.
- Kailasapathy K. 2009. Encapsulation technologies for functional foods and nutraceutical product development. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture Veterinary Science Nutrition and Natural Resources* **4**:1-19.
- Kfoury M, Auezova L, Greige-Gerges H, Fourmentin S. 2019. Encapsulation in cyclodextrins to widen the applications of essential oils. *Environmental Chemistry Letters* **17**:129–143.
- Kokina M, Salević A, Kalušević A, Lević S, Pantić M, Pljevljakušić D, Šavikin K, Shamtsyan M, Nikšić M, Nedović V. 2019. Characterization, antioxidant and antibacterial activity of essential oils and their encapsulation into biodegradable material followed by freeze-drying. *Food Technology and Biotechnology* **57**:282–290.
- Kulisic T, Radonic A, Milos M. 2005. Inhibition of lard oxidation by fractions of different essential oils. *Grasas y Aceites* **56**:284–291.
- Li N, Zhang ZJ, Li XJ, Li HZ, Cui LX, He DL. 2018. Microcapsules biologically prepared using *Perilla frutescens* (L.) Britt. essential oil and their use for extension of fruit shelf life. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **98**:1033–1041.
- Lund MN, Heinonen M, Baron CP, Estévez M. 2011. Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition and Food Research* **55**:83–95.
- Mahdi Jafari S. 2017. Nanoencapsulation technologies for the food and nutraceutical industries an overview of nanoencapsulation techniques and their classification. Pages

- 1-34 in Mahdi Jafari S editor. Nanoencapsulation technologies for the food and nutraceutical industries. Gorgan University of agricultur sciences and natural resources, Goran, Iran.
- Martin A, Varona S, Navarrete A, Cocero MJ. 2010. Encapsulation and co-precipitation processes with supercritical fluids: applications with essential oils. *The Open Chemical Engineering Journal* **4**:31–41.
- Millqvist-Fureby A. 2009. Approaches to encapsulation of active food ingredients in spray-drying. *ACS Symposium Series* **1007**:233–245.
- Ministerstvo zdravotnictví. 2011. Vyhláška ze dne 2. května 2011, kterou se mění vyhláška č. 4/2008 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extračních rozpouštědel při výrobě potravin ve znění vyhlášky č. 130/2010 Sb. Pages 1221-1246 in *Sbírka zákonů České republiky, 2011, částka 47. Česká republika.*
- Moraes-Lovison M, Marostegan LFP, Peres MS, Menezes IF, Ghiraldi M, Rodrigues RAF, Fernandes AM, Pinho SC. 2017. Nanoemulsions encapsulating oregano essential oil: production, stability, antibacterial activity and incorporation in chicken pâté. *LWT - Food Science and Technology* **77**:233–240.
- Morrissey PA, Kerry JP, Galvin K. 2002. Lipid oxidation in muscle foods. *ACS Symposium Series* **836**:188–200.
- Odeyemi OA, Alegbeleye OO, Strateva M, Stratev D. 2020. Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **19**:311–331.
- Ozel MZ, Gogus F, Lewis AC. 2003. Subcritical water extraction of essential oils from *Thymbra spicata*. *Food Chemistry* **82**:381–386.
- Parlament České republiky. 1997. Zákon ze dne 24. dubna 1997 o potravinách a tabákových výrobcích a o změně některých souvisejících zákonů. Pages 2178-2192 in *Sbírka zákonů České republiky, 1997, částka 38. Česká republika*
- Pavela R, Bárnet M. 2011. Alternativní plodina saturejka zahradní (*Satureja hortensis* L) pěstování, význam, využití a ochraně rostlin. *Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha 6 - Ruzyně.*
- Potraviný: Výroba potravin v České republice* [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství [cit. 2020-06-15]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/potravinny/?fullArticle=1>
- Potraviný: Potravinářské výrobky* [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství [cit. 2020-06-15]. Dostupné z: <http://eagri.cz/public/web/mze/potravinny/potravinarske-komodity/>
- Prakash B, Kujur A, Yadav A, Kumar A, Singh PP, Dubey NK. 2018. Nanoencapsulation: An efficient technology to boost the antimicrobial potential of plant essential oils in food system. *Food Control* **89**:1–11.
- Preedy VR. 2015. *Essential oils in food preservation, flavor and safety*. Academic Press, London.
- Rahman MS. 2007. *Chemistry - Handbook Of Food Preservation*. CRC Press, Boca Raton.
- Rao J, Chen B, McClements DJ. 2019. Improving the efficacy of essential oils as antimicrobials in foods: mechanisms of action. *Annual Review of Food Science and Technology*

- 10**:365–387.
- Rasch M, Andersen JB, Nielsen KF, Flodgaard LR, Christensen H, Givskov M, Gram L. 2005. Involvement of bacterial quorum-sensing signals in spoilage of bean sprouts. *Applied and Environmental Microbiology* **71**:3321–3330.
- Rawat S. 2015. Food Spoilage: Microorganisms and their prevention. Pelagia research library *Asian Journal of Plant Science and Research* **5**:47–56.
- Reverchon E, De Marco I. 2006. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *Journal of Supercritical Fluids* **38**:146–166.
- Sánchez-González L, Vargas M, González-Martínez C, Chiralt A, Cháfer M. 2011. Use of Essential oils in bioactive edible coatings: A review. *Food Engineering Reviews* **3**:1–16.
- Sardar BR, Singhal RS. 2013. Characterization of co-crystallized sucrose entrapped with cardamom oleoresin. *Journal of Food Engineering* **117**:521–529.
- Sepahvand R, Delfan B, Ghanbarzadeh S, Rashidipour M, Veiskarami GH, Ghasemian-Yadegari J. 2014. Chemical composition, antioxidant activity and antibacterial effect of essential oil of the aerial parts of *Salvia sclareoides*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* **7**:S491–S496.
- Sivakumar D, Bautista-Baños S. 2014. A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. *Crop Protection* **64**:27–37.
- Spilková, Jiřina , Martin, Jan, Siatka, Tomáš, Tůmová, Lenka, Kašparová M. 2016. *Farmakognozie*. Charles University in Prague, Karolinum Press, 2016, Praha. Dostupné z https://books.google.cz/books?id=2dSpDAAAQBAJ&dq=složení+silic&source=gbs_navlinks_s.
- Státní zemědělská a potravinářská inspekce: Stanovisko MZe (SVS a SZPI) ke způsobu dobrovolného označování „bez E“ nebo „bez přidaných E“ a vyjádření s podobným významem ke dni 1. 4. 2020* [online]. Praha: Ministerstvo zemědělství, 30.10.2019 [cit. 2020-06-15]. Dostupné z: <https://www.szpi.gov.cz/clanek/stanovisko-mze-svs-a-szpi-ke-zpusobu-dobrovolneho-oznacovani-bez-e-nebo-bez-pridanych-e-a-vyjadreni-s-podobnym-vyznamem-ke-dni-1-4-2020.aspx>
- Tiwari S, Singh BK, Dubey NK. 2020. Encapsulation of Essential Oils - A booster to enhance their bio-efficacy as botanical preservatives. *Journal of Scientific Research* **64**:175–178.
- Tongnuanchan P, Benjakul S. 2014. Essential Oils: Extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of Food Science* **79**: 1231-1249.
- Torab M, Basti AA, Khanjari A. 2015. Effect of free and nanoencapsulated forms of *Zataria multiflora* Boiss. essential oil on some microbial and chemical properties of beef burger. *Carpathian Journal of Food Science and Technology* **9**:93-102.
- Turasan H, Sahin S, Sumnu G. 2015. Encapsulation of rosemary essential oil. *LWT -Food Science and Technology* **64**:112–119.
- Xiao Z, Liu W, Zhu G, Zhou R, Niu Y. 2014. A review of the preparation and application of flavour and essential oils microcapsules based on complex coacervation technology. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **94**:1482–1494.

Yang W, Wang L, Ban Z, Yan J, Lu H, Zhang X, Wu Q, Aghdam MS, Luo Z, Li L. 2019. Efficient microencapsulation of Syringa essential oil; the valuable potential on quality maintenance and storage behavior of peach. *Food Hydrocolloids* **95**:177–185.

Zrubecká Adéla, Ašenbrenerová Ivana. et al. 2008 "Aromaterapie v životě ženy." Mladá fronta a. s.. 239p. ISBN 978-80-204-1938-5.

6 Seznam zkratek

% - procenta
°C – stupně Celsia
μl - mikrolitr
μm – mikrometr
atd. – a tak dále
bar - jednotka tlaku
cca – přibližně
CFU – Kolonie tvořící jednotka (KTJ)
č. - číslo
DNA – Deoxyribonukleová kyselina
EU – Evropská unie
g – gram
G- - Gram negativní bakterie
G+ - Gram pozitivní bakterie
l – litr
log – logaritmická funkce
m - metr
mg – miligram
ml – mililitr
ms – mikrosekund
např. – například
obr. – obrázek
př. n. l. – před naším letopočtem
RNA – Ribonukleová kyselina
tj. – to jest
tzv. – tak zvaně