



**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA CHEMICKÁ**

FACULTY OF CHEMISTRY

**ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ**

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**CHARAKTERIZACE JEDLÝCH OBALŮ PRO POTENCIÁLNÍ  
POUŽITÍ PŘI BALENÍ POTRAVIN**

CHARACTERIZATION OF EDIBLE FILMS WITH THE POTENTIAL USAGE IN FOOD PACKAGING

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

MASTER'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

**Bc. Simona Jančíková**

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

**RNDr. Mária Veselá, Ph.D.**

**BRNO 2019**

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1297/2018  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Studentka: **Bc. Simona Jančíková**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie  
Vedoucí práce: **RNDr. Mária Veselá, Ph.D.**  
Akademický rok: 2018/19

### Název diplomové práce:

Charakterizace jedlých obalů pro potenciální použití při balení potravin

### Zadání diplomové práce:

1. Vypracování rešerže na zadané téma.
2. Charakterizace materiálů a aditiv pro výrobu jedlých obalů.
3. Výroba jedlých obalů s přídatkem aditiv.
4. Analýza chemických a fyzikálních vlastností vyrobených jedlých obalů.
5. Ověření jejich antimikrobiálních vlastností.
6. Diskuse a zhodnocení výsledků.

### Termín odevzdání diplomové práce: 10.5.2019

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

-----  
Bc. Simona Jančíková  
student(ka)

-----  
RNDr. Mária Veselá, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Jedlé obaly jsou v posledních letech velmi rozvíjející se skupinou a možnou potenciální náhradou syntetických materiálů pro balení potravin. Také mohou potravinu pozitivně ovlivňovat pomocí svých aktivních vlastností, popřípadě může pomáhat spotřebitelům díky svým inteligentním vlastnostem, které mohou monitorovat změny v potravine. V teoretické části byla zpracována legislativa týkající se obecně balení potravin, ale i se zaměřením na jedlé obaly. Dále byly popsány látky, ze kterých se jedlé obaly vyrábí a také přídatné látky, které mohou zlepšit vlastnosti jedlých obalů. V této části byly také shrnuty nežádoucí druhy mikroorganismů vyskytující se v potravinách a také kapitoly týkající se aktivních a inteligentních vlastností jedlých obalů. Předmětem práce byla především praktická výroba jedlých obalů/filmů z furcellaranu a hydrolyzované želatiny s přidavkem vodného extraktu z čerstvého a sušeného rozmarýnu v koncentraci 5 %, 10 % a 20 %. V praktické části byla u obalů provedena fyzikální charakteristika – texturální vlastnosti jako je pružnost a pevnost v tahu, také obsah vody a tloušťka filmů. V rámci chemických charakteristik byla provedena analýza celkového počtu polyfenolů i analýza polyfenolů na HPLC, antioxidační aktivita, optické vlastnosti filmů a antimikrobiální aktivita filmů.

Bylo zjištěno, že celkový počet polyfenolů a antioxidační aktivita byla nejvyšší u 20%DR (TPC:  $6,79 \pm 0,06$  mg kys.galové/g; DPPH:  $87,84 \pm 0,07$  %). Také u vzorků 20%DR a 20%FR byla zaznamenána změna barvy v prostředí o různém pH (3 a 12). Antimikrobiální aktivita byla negativní. Práce ukázala, že je vhodné do jedlých obalů přidávat rostlinné extrakty, díky kterým obsahují jedlé obaly více polyfenolů a mohou dokonce fungovat i jako bariéra proti UV záření.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

jedlé obaly, rozmarýn, extrakt, polyfenoly, antioxidační aktivita, aktivní vlastnosti, inteligentní vlastnosti

## **ABSTRACT**

In the last years, the edible packaging has been gaining popularity due to the potential usage as the packaging for food instead of synthetic materials. The edible packaging can positively affect the packaged food by the active properties or due to its intelligent properties can monitor the changes in food. In theory, the legislation about the packaging of food and edible packaging was described. The substances for edible films preparation and additives, which can improve the properties of the edible films, were described too. In this part, the undesirable microorganisms occur in food and the chapters about active and intelligent properties of the edible films were summarized. The main aim of the thesis was the practical preparation of edible packaging/films made from furcellaran, gelatin hydrolysate with the addition of water dried or fresh rosemary extracts in concentrations 5 %, 10 %, and 20 %. In the experimental part, the physical analysis was done – textural parameters such as tensile strength and elongation at break, water content, and thickness. In the chemical analysis the total polyphenols content, determination of polyphenols by HPLC, antioxidant activity, optical properties and antimicrobial activity of the prepared edible films were done.

There were found out, that the total polyphenols content and antioxidant activity were the highest in the 20%DR (TPC:  $6,79 \pm 0,06$  mg gallic acid/g; DPPH:  $87,84 \pm 0,07$  %). Also, the 20%DR and 20%FR changed color in different pH (3 and 12). The antimicrobial activity was negative. The thesis showed that the addition of natural extracts to edible films can increase the polyphenols content and they can also work as the UV protector.

## **KEY WORDS**

Edible packaging, rosemary, extract, polyphenols, antioxidant activity, active properties, intelligent properties

JANČÍKOVÁ, Simona. Charakterizace jedlých obalů pro potenciální použití při balení potravin. Brno, 2019. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/115926>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Mária Veselá.

## **PROHLÁŠENÍ**

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

.....  
podpis studenta

## **PODĚKOVÁNÍ**

Na tomto místě bych chtěla poděkovat vedoucí své diplomové práce RNDr. Márii Veselé, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, ochotu a připomínky při psaní diplomové práce. Také bych ráda poděkovala svému konzultantovi MSc. Danimu Dordevici, Ph.D. za rady při zpracování teoretické části i za pomoc v laboratoři a se zpracováním výsledků. Dále bych chtěla poděkovat doc. MVDr. Bohuslavě Tremlové, Ph.D. a celkově všem kolegům z Ústavu hygieny a technologie potravin rostlinného původu na VFU Brno za umožnění zpracování většiny analýz z experimentální části a za podporu během studia. Také děkuji naší fakultě a MŠMT za finanční pomoc pro vykonání stáže v Polsku. V neposlední řadě bych také chtěla poděkovat své rodině, která mi studium umožnila a plně mě během studia podporovala.

## OBSAH

1	ÚVOD.....	8
2	TEORETICKÁ ČÁST .....	9
2.1	Historie obalů.....	9
2.2	Obaly v potravinářství.....	9
2.3	Legislativa k obalům potravin.....	10
2.4	Jedlé obaly z pohledu ekonomiky a ekologie .....	11
2.5	Jedlé obaly a jejich složení.....	12
2.6	Suroviny pro výrobu jedlých obalů.....	13
2.6.1	Polysacharidy .....	13
2.6.2	Proteiny .....	17
2.6.3	Lipidy .....	19
2.6.4	Další aditiva .....	19
2.7	Nežádoucí mikroorganismy vyskytující se v potravinách .....	23
2.7.1	Bakterie .....	23
2.7.2	Kvasinky .....	26
2.7.3	Plísně.....	26
2.8	Použití jedlých obalů.....	27
3	Inteligentní a aktivní obal .....	28
3.1	Inteligentní obal .....	28
3.2	Aktivní obal.....	29
4	Kapalinová chromatografie.....	31
5	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	33
5.1	Použité chemikálie .....	33
5.2	Přístroje .....	33
5.3	Charakteristika použitých mikroorganismů .....	34
5.4	Příprava vzorků .....	34
5.5	Analýzy fyzikálních vlastností jedlých obalů .....	36
5.5.1	Tloušťka filmů .....	36
5.5.2	Obsah vody a rozpustnost .....	36
5.5.3	Pevnost v tahu a pružnost .....	37
5.5.4	UV-Vis absorpční spektroskopie a transmitance.....	37
5.6	Analýza chemických vlastností jedlých obalů .....	37

5.6.1	Celkový počet polyfenolů .....	37
5.6.2	Metoda FRAP pro stanovení antioxidační aktivity.....	38
5.6.3	Metoda DPPH pro stanovení antioxidační aktivity .....	38
5.6.4	Jedlý film jako inteligentní materiál .....	39
5.6.5	Stanovení polyfenolů pomocí HPLC .....	39
5.7	Metoda testování antimikrobiálních vlastností .....	40
5.8	Statistické zpracování dat.....	41
6	VÝSLEDKY A DISKUZE .....	42
6.1	Obsah vody, rozpustnost a tloušťka filmů .....	42
6.2	Pevnost v tahu a pružnost.....	44
6.3	UV-Vis absorpční spektroskopie a transmitance .....	45
6.4	Stanovení celkového počtu polyfenolů .....	46
6.5	Stanovení antioxidační aktivity metodou FRAP.....	47
6.6	Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH .....	49
6.7	Jedlý film jako inteligentní materiál .....	49
6.8	HPLC analýza polyfenolických sloučenin v obalech .....	50
6.9	Testování antimikrobiálních vlastností .....	51
6.10	Analýza základních komponentů .....	52
7	ZÁVĚR .....	53
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....	54
9	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	64

# 1 ÚVOD

Vývoj jedlých obalů zaznamenává v posledních letech obrovský nárůst, a to zejména kvůli jejich biodegradabilitě. Kdy se stále častěji řeší otázka znečištění životního prostředí a je snaha toto znečištění snížit za použití rozložitelných materiálů. Například do moří a oceánů se dostává 4,8-12,7 milionů tun plastů za rok [1].

Jedlé obaly jsou obecně vyráběny z jedlých složek, tedy ze polysacharidů, lipidů a proteinů, kdy tyto látky mohou být použity samostatně nebo mohou být různě kombinovány. Dále je nutné přidávat i plastifikátory (např. glycerol), které zajistí, že obal nebude tolik křehký [2].

U jedlých obalů je ale také možnost vytvořit biodegradabilní obal s přidanou hodnotou, tedy jako aktivní nebo inteligentní materiál. V případě aktivního materiálu obal, který pozitivně ovlivňuje potravinu migrací látek z něj a v případě inteligentního materiálu obal, který svou změnou zbarvení informuje spotřebitele například o špatném skladování potraviny, o jejím kažení apod. [3].

Ke změně těchto vlastností dochází především přidávkem rostlinných materiálů, jako jsou extrakty, popřípadě esenciální oleje. Tyto látky obsahují polyfenolické sloučeniny, antioxidanty a antimikrobiální látky schopné pozitivně ovlivnit potravinu [2]. Rostlinné extrakty obsahují i pigmenty jako jsou chlorofyly nebo karotenoidy, které dokáží měnit svoje zbarvení v závislosti na pH prostředí [3].

Cílem této práce bylo shrnout informace o jedlých obalech a obalech obecně, se zaměřením na jejich aktivní a inteligentní vlastnosti a dále vyrobit jedlé obaly se základní recepturou obsahující polysacharid furcellaran, hydrolyzovanou želatinu a glycerol s přidávkem vodného extraktu z čerstvého a sušeného rozmarýnu a zkoumat jejich fyzikální a chemické změny projevující se s různým procentuálním přidávkem extraktu a také otestovat, zda mají i antimikrobiální vlastnosti.



## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Historie obalů

Balení potravin je známo ve společnosti prakticky odjakživa. Toto vylepšení uchovávání potravin souviselo hlavně s tím, že se lišilo místo spotřeby potravin s místem výroby potravin. Během 19. století se pak už začala vyvíjet průmyslová výroba obalů. Mezi nejstarší suroviny pro výrobu obalů patří dřevo a sklo. Později se začaly vyrábět i plechovky, jejich produkce se postupem času mnohonásobně zvýšila. V 1. polovině 19. století se vyrábělo v průměru 60 kusů plechovek na den. Na přelomu 19. a 20. století už to bylo 1200 kusů za den a v dnešní době se vyrábí více než 500 kusů plechovek za minutu.

Papír jako obalový materiál se používal až od poloviny 19. století, kdy byl učiněn objev chemického zpracování dřeva, později se také začaly vyrábět i plastové obaly, které tvoří významnou část znečištění životního prostředí [1].

Historie jedlých obalů začíná už počátkem 12. století, kdy byl v Číně na pomeranče a citróny aplikován voskový obal pro snížení ztráty vody během přepravy. Dále v 15. století v Japonsku byl vyroben jedlý film za použití bílkovin ze sójového mléka. V 19. století byl udělen první patent pro želatinový film, který měl ochraňovat masné produkty. Pro ochranu oříšků se používaly povlaky ze sacharózy a dalších cukerných derivátů, které měly za úkol poskytovat prevenci proti žluknutí díky tomu, že omezovali průnik plynu přes povlak.

Jak už bylo zmíněno výše, během 19. století se začala výroba obalů rozvíjet až do průmyslových rozměrů, v rámci jedlých obalů se komerční použití začalo rozvíjet ve 30. letech 20. století, kdy se datují začátky komerčního použití vosků a dalších lipidických látek pro ochranu ovoce a zeleniny.

V pozdější historii se zájem průmyslu soustředil spíše na obaly vyráběné z ropy z důvodu nižší ceny, ale i přes tento fakt bylo od 90. let minulého století do počátku roku 2018 uděleno více než 90 patentů týkajících se jedlých obalů a bylo publikováno zhruba 220 vědeckých článků o použití jedlých obalů na balení potravin [5].

### 2.2 Obaly v potravinářství

Obaly jsou v potravinářství velmi důležité z hlediska mnoha důvodů, díky kterým zlepšují vlastnosti balených potravin. Slouží především jako ochrana výrobku, kdy výrobek chrání před nepříznivými vlivy okolí. Obal tak dokáže prodloužit údržnost potravin a také pomáhá k zajištění hygienických nároků jak během výroby, tak i skladování a distribuce.

Také díky obalu vytváříme tzv. racionální manipulační jednotku, která je přizpůsobená hmotností a tvarem požadavkům jak obchodu, tak i spotřebitele.

Nakonec pak obal plní úlohu vizuálně komunikační, protože obal sám o sobě nese řadu důležitých informací pro spotřebitele, ale i estetický vzhled má velmi vysoký význam na uplatnění výrobku na trhu [6].

Obal musí být vyroben tak, aby odpovídal požadavkům výrobce, obchodních společností, ale i samotného spotřebitele. Výrobci kladou důraz na to, aby byl obal vyroben vhodně pro další technologické zpracování balené potraviny (např. aby byl dostatečně termostabilní – u obalů termosterilovaných potravin nebo také u zmrazovaných potravin. Mezi další důležité vlastnosti patří také to, aby byly obaly vhodné pro dopravní a manipulační systémy a samozřejmě je důležité i maximální snížení nákladů na systémy balení.

Obchodní společnosti pak kladou důraz na estetiku obalu, aby vzbudil zájem u zákazníka. Také dávají důraz na to, aby se v přepravních obalech mohl výrobek přímo prodávat i v prodejnách a na obalu musí být též značení čárovým kódem (tzv. EAN).

Výroba obalu musí být nejlépe uzpůsobena potřebám spotřebitele, protože ten je v konečném důsledku nejdůležitější článek celého procesu dovedení potraviny na trh. Například je vhodné potraviny balit po jedné porci nebo pak do rodinných balení, aby byla pro zákazníka co nejjednodušší manipulovat s potravinou. Důležitými vlastnostmi jsou i snadná otevíratelnost, pohodlné dávkování, vyprazdňování, opětovné uzavření atd. Obal by také měl být vyroben tak, aby nešel otevřít a opětovně uzavřít bez zjevných vizuálních postřehů. Spotřebitelé také kladou důraz na využitelnost obalu po zkonzumování potraviny, také jaká je jeho lákavost a zda jsou na něm uvedené všechny potřebné informace.

Pokud se zaměříme na používání jedlých obalů, pak jejich hlavní uplatnění nacházíme především ve formě měkkých obalů (fólií) nebo povlaků. Jejich použití se dá praktikovat dvěma způsoby. Prvním z nich je jejich aplikace jako spotřebitelského obalu, tedy obalu, který chrání potravinu před vnějšími nečistotami a před požitím potraviny se obal odstraní a vyhodí. Druhou možností je, že se potravina zkonzumuje spolu s obalem, a to buď v původním stavu nebo po povaření, rozpuštění apod. Mezi často používané požitelné obaly patří klihovková střeva, která se vyrábí z tzv. štípenkové klihovky, tedy spodní části kůže hovězí a nebo vepřové. Vepřová kůže se ale používá méně, díky většímu obsahu tuků. Do klihovkových střev se balí především masné výrobky jako jsou párky a další uzeniny [6].

### **2.3 Legislativa k obalům potravin**

Obalů používaných v potravinářství se týká celá řada zákonů. První a nejobecnější z nich je zákon č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích, který specifikuje, jaké vlastnosti by měly obaly potravin mít, tedy například, že musí potravinu chránit před znehodnocením a také, že musí znemožňovat záměnu nebo změnu obsahu balení, aniž by bylo zboží otevřeno. Zákon také uvádí, jaké povinnosti má výrobce potraviny, pokud je pro její prodej nutné ji z obalu vyjmout, tedy že např. díky tomuto kroku musí upravit datum minimální trvanlivosti nebo použitelnosti a uvádí také informace, které musí být uvedeny na obalu potraviny [7].

Další je nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1935/2004 o materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami, kde se zmiňuje například, že do obalu potravin mohou být přidávány i různé látky, které se postupně uvolňují do potraviny a mění tak pozitivně její vlastnosti [8].

Dále pak vyhláška ministerstva zdravotnictví č. 38/2001 Sb., kde jsou specifikovány různé hygienické požadavky na látky přicházející do styku s potravinami, například jakou mají mít konstrukci, jak může být provedeno barvení, potiskování výrobků, které přichází do styku s potravinami apod. [9].

Zákon č. 258/2000 Sb. o ochraně veřejného zdraví pojednává z hlediska obalů hlavně o jejich bezpečnosti [10].

Dle zákona č. 477/2001 Sb. o obalech, který pojednává o kontrole obalů uváděných na trh, o požadavcích na recyklaci a také například o tom, že Státní zemědělská a potravinářská inspekce se zabývá kontrolou obalů uváděných na trh [11].

Pro obaly existují i normy ČSN ze třídy 77 – Obaly a obalová technika. Dle normy 77 0000 je obal definovaný jako soubor obalových prostředků umožňující pojmoutí (uložení), manipulaci, ochranu a dodání výrobku/výrobků [12].

Další normou týkající se použití obalů je norma ČSN EN 13193, která definuje oblast obaly a životní prostředí a vysvětluje terminologii z této oblasti, např., že biodegradace je působení biologické aktivity, zejména činností enzymů, která vede k významné změně chemické struktury materiálu [13].

Dále také byla vydána směrnice Evropského parlamentu a rady (EU) 2018/852, kterou se změnila směrnice 94/62/ES o obalech a obalových odpadech. Ve směrnici je specifikováno, že by se mělo maximálně předcházet vzniku odpadů z obalových materiálů. Dokonce do 31. 12. 2030 musí být alespoň 70 % hmotnosti veškerých obalových odpadů recyklováno [14].

## **2.4 Jedlé obaly z pohledu ekonomiky a ekologie**

V posledních letech se stále více řeší ekologický dopad spotřebních věcí běžně používaných lidmi. Běžně používané obaly vyráběné z ropných produktů jsou sice cenově výhodné, ale představují velkou zátěž pro životní prostředí a během posledních let je také diskutováno, zda už se neblížíme ke konci zásob veškerých zdrojů ropy [15].

Díky jedlým obalům může obyvatelstvo chránit životní prostředí, neboť jedlé obaly jsou vyrobené z biodegradabilních materiálů, jako jsou polysacharidy proteiny nebo lipidy [16]. Pokud jsou obaly předány do půdy, pak se rozloží do dvou týdnů, tedy nezatěžují životní prostředí [3]. Výroba jedlých obalů také nabývá významnosti díky tomu, že se k jejich výrobě mohou používat vedlejší produkty vznikající během potravinářské výroby, například bylo zkoumáno použití vedlejších produktů vzniklých při minimálním zpracování mrkve, kdy odřezky a nejednotné zbytky byly zmrazeny, rozemlety na prášek a přidány do film formujícího roztoku [15].

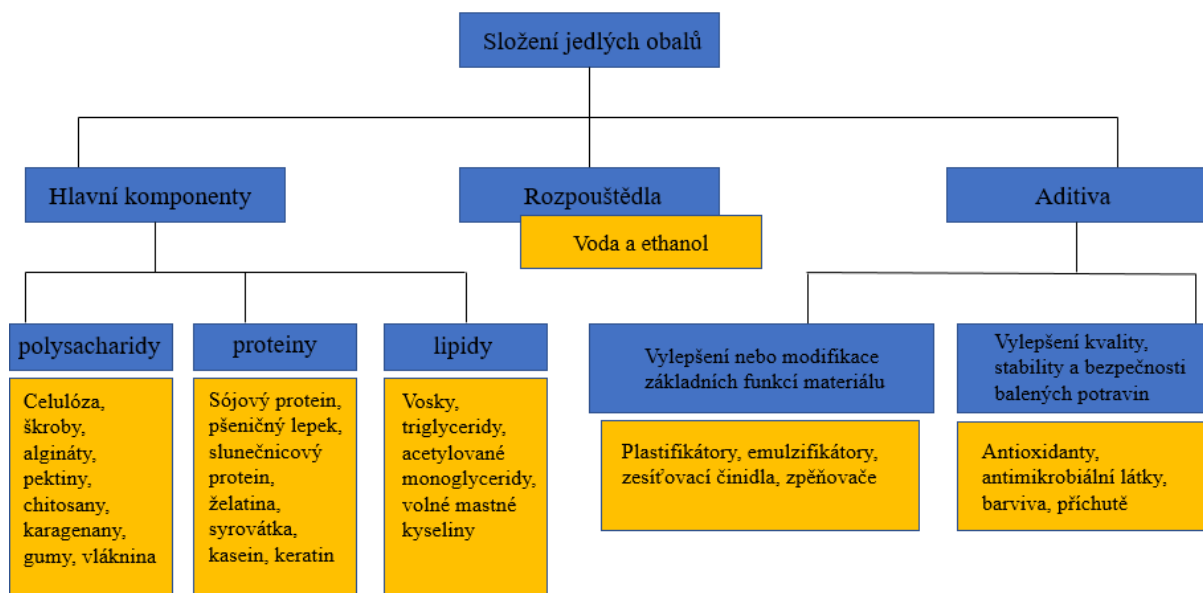
## 2.5 Jedlé obaly a jejich složení

Jedlé obaly se připravují tak, že nejprve vznikne smícháním základních komponentů tzv. film formující roztok, se kterým se následně pracuje podle toho, jaká výsledná forma obalu je požadována. Obecně se používají dvě formy, první z nich je film, který se připravuje tzv. odléváním (casting method) např. do Petriho misek, na které se nalije tenká vrstva, nechá se uschnout a pak se s vzniklým filmem pracuje dál, anebo se potravina přímo namáčí do roztoku, kdy tedy vzniká povlak na celém povrchu potraviny [2].

Složky, ze kterých jsou jedlé obaly vyrobeny se řadí do 3 skupin (viz. *Obrázek 1*). První z nich jsou hlavní komponenty, kam spadají polysacharidy, proteiny a lipidy, tyto složky se mohou mezi sebou i míchat.

Především proteiny jak rostlinného nebo živočišného původu (např. sójový protein) a polysacharidy (např. celulóza, škroby apod.) mají výborné bariérové vlastnosti, a to proti přestupu kyslíku, lipidů a aroma. Lipidy (např. včelí vosk, karnaubský vosk apod.) zase fungují jako účinná ochrana proti ztrátě vody. Pro co nejlepší vlastnosti vzniklého obalu se proto tyto složky mixují, popřípadě se tvoří tzv. dvouvrstvé filmy.

Vzniklý film formující roztok může být hydrofilní nebo hydrofobní, ale pro to, aby byl obal jedlý se jako rozpouštědlo může používat jen voda nebo ethanol. Dále se mohou přidávat různá aditiva, která zlepšují další vlastnosti vzniklého obalu. Patří sem například plastifikátory (glycerol, sorbitol, propylen glykol apod.), zesíťovací činidla (genipin, kyselina citronová), zpěňovače (vláknina, škrobové nanokrystaly), ale také antioxidanty, příchutě apod. [2].



Obrázek 1: Schéma základních surovin pro výrobu jedlých obalů [2]

## 2.6 Suroviny pro výrobu jedlých obalů

### 2.6.1 Polysacharidy

#### Škrob

Prvním hojně používaným polysacharidem je škrob (viz *Obrázek 2*). Jedná se o polysacharid složený z podjednotek glukózy. Škrob se skládá ze dvou typů, a to z amylozy, která tvoří zhruba 20 % a amylopektinu, který tvoří 80 %, toto procentuální zastoupení se však může u různých druhů rostlin lišit.

Amylóza je složka rozpustná ve vodě a je tvořena maltosovými jednotkami spojenými  $\alpha$ -1,4 glykosidovými vazbami, které tvoří dlouhé lineární řetězce helikálně svinuté. Zatímco amylopektin je ve vodě nerozpustný a má rozvětvenou strukturu, která vzniká větvením řetězce pomocí vzniku  $\alpha$ -1,6 glykosidových vazeb vždy po 20 až 30 glukózových jednotkách [17].

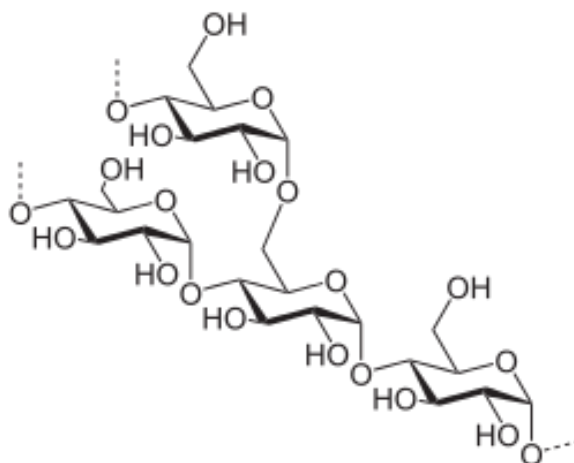
Proběhl i výzkum zabývající se tím, jak obsah amylozy ve škrobu může ovlivnit vlastnosti vzniklého obalu. Byl použit pšeničný škrob s obsahem amylozy 25 %, kukuřičný škrob s obsahem amylozy 27 % a bramborový škrob s obsahem amylozy 20 %. Ze získaných výsledků bylo zjištěno, že při použití kukuřičného škrobu, tedy škrobu s nejvyšším obsahem amylozy docházelo k menšímu propouštění kyslíku [18].

Při tvorbě obalu, kdy je film formující roztok zahříván se normálně nerozpustný škrob začíná rozpouštět, dochází k tomu tak, že během zahřívání granule škrobu ztrácí svou semikrystalickou strukturu a tím dochází ke vzniku gelu. Pro různé druhy škrobu je potřeba k želatinizaci jiná teplota. Např. pro pšeničný škrob je tato teplota 62°C a pro kukuřičný 72°C.

Škrob nachází uplatnění v celé řadě podoborů potravinářského průmyslu, např. při výrobě ovocných výrobků, jako jsou například marmelády, se škrob používá jako zahušťovadlo, stejnou funkci má i při výrobě majonéz a salátových dresinků.

Filmy vyrobené ze škrobu se připravují z vodného roztoku škrobu s přidaným plastifikátorem a síťovadlem (např. HCHO, 0,8 %). Vzniklý roztok se poté zahřívá a následně nalévá na podložku. U škrobových filmů je nevýhoda, že bývají křehké a málo odolné proti vodě. Aby tato vlastnost byla vylepšena, existuje celá řada metod, mezi které patří například náhrada vody méně hydrofilním plastifikátorem nebo také laminace škrobových filmů biodegradabilním a zároveň i voděodolným polymerem (např. hydroxybutyrátem).

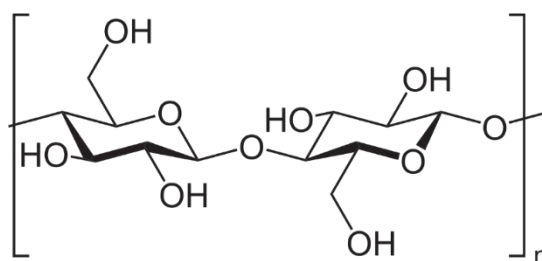
Škrobové obaly se využívají jako sáčky na ovoce, zeleninu nebo pečivo. Výrobky ze škrobu se také mohou využít v podnicích rychlého občerstvení, kde mohou nahrazovat příbory, tácky nebo pohárky [19].



Obrázek 2: Chemická struktura škrobu [20]

## Celulóza

Celulóza patří mezi významné stavební polysacharidy, tvoří část buněčných stěn rostlin a také funguje jako součást podpurných tkání rostlin. Jedná se o homopolysacharid tvořený jednotkami D-glukózy spojenými  $\beta$ -1,4 glykosidovými vazbami (viz Obrázek 3) [17]. Celulóza může být získávána z různých zdrojů, např. ze dřeva, bavlny a konopí [21]. Celulóza je nerozpustná v polárních rozpouštědlech. Při výrobě jedlých obalů proto byly zkoumány metody pro rozpuštění celulózy a její následné využití pro vznik film formujícího roztoku. Byly použity rozpouštědla jako vodný roztok hydroxidu sodného, dimethyl sulfoxid, hydráty anorganických solí ( $\text{LiI} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) nebo také další sloučeniny ( $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4](\text{OH})_2$ ) apod. [22]. Celulóza se může získávat i kultivací bakterií, takto získaná celulóza má stejnou chemickou strukturu jako rostlinná celulóza, ale bakteriální celulóza je čistší a má také lepší vlastnosti, jako je mechanická síla nebo hydrofilita [23].

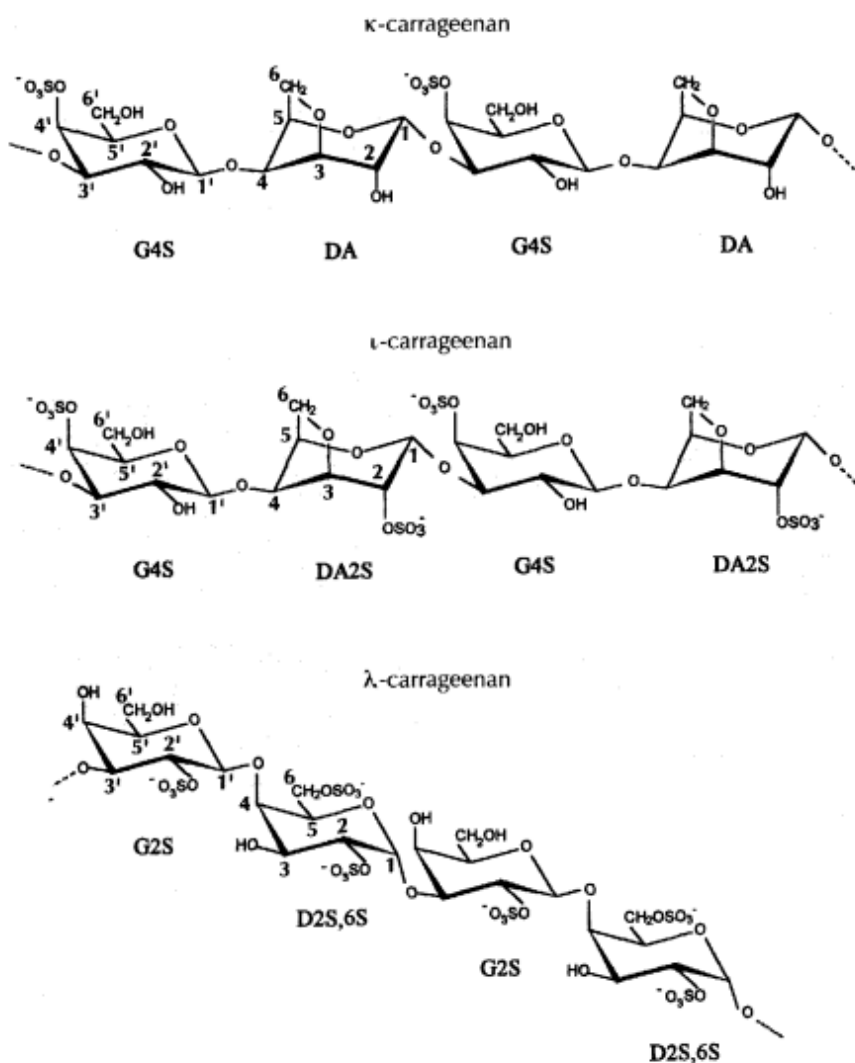


Obrázek 3: Chemická struktura celulózy [24]

## Karagenan

V případě karagenanu se jedná o lineární polysacharid s navázanými sulfátovými skupinami (viz Obrázek 4). Základní řetězec tvoří opakující se dimery  $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 4) D-galaktopyranózy (D) nebo 3,6-anhydro-D-galaktopyranózových zbytků (DA) a  $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4) D-galaktopyranózových zbytků (G). U  $\kappa$ -karagenanu je na 4. uhlíku u  $\beta$ (1 $\rightarrow$ 4) D-galaktopyranózy navázána sulfátová skupina, v případě  $\iota$ -karagenanu sulfátová skupina navázána stejně jako u  $\kappa$ -karagenanu a další sulfátová skupina je navázána na 2. uhlíku 3,6-anhydro-D-galaktopyranózy.

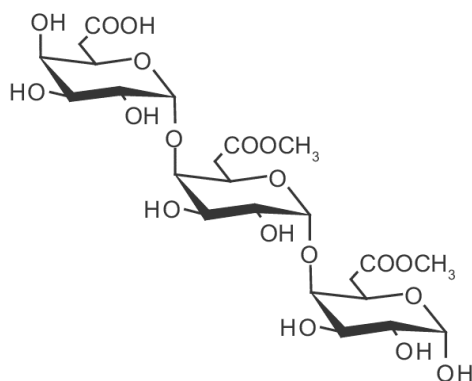
U  $\lambda$ -karagenanu je sulfátová skupina navázána na 2. uhlíku  $\beta(1\rightarrow4)$  D-galaktopyranózy a poté na 2. a 6. uhlíku  $\alpha(1\rightarrow4)$  D-galaktopyranózy, která se u předešlých dvou typů nevyskytuje [25]. Karagenan se získává extrakcí z některých druhů červených mořských řas nebo i z irských mechů. Proces pobíhá tak, že se nejprve provede extrakce horkou slabě alkalizovanou vodou. Po ochlazení roztoku dochází ke tvorbě gelu, a pokud se roztok nalije na podložku, pak po ochlazení vznikne film. Karagenanové filmy bývají flexibilní, opaleskující, mají ale nízkou pevnost. Tento typ obalu se používá jako povlak na zmrazené nebo chlazené potraviny. Typické je použití u vysoce tučných ryb, např. makrel, kde se povlak používá pro prodloužení trvanlivosti. Ryby se namáčí v 1% roztoku karagenanu, poté se zmrazí na teplotu  $-18^{\circ}\text{C}$  a při této teplotě se skladují. Takto upravené ryby mají trvanlivost až 5 měsíců, kdy i po této době neztrácí dobré sensorické vlastnosti. Pokud se do roztoku karagenanu přidají i antioxidační látky, pak se doba uchování ryb bez ztrát sensorických vlastností může prodloužit až na 8 měsíců. Karagenany se v potravinářství používají také jako zahušťovadla a stabilizátory do pudingů nebo zmrzlin [19].



Obrázek 4: Chemická struktura  $\kappa$ -,  $\iota$ - a  $\lambda$ -karagenanu [25]

## Pektin

Pektiny se často vyskytují v rostlinných materiálech jako jsou kořeny, listy nebo také ovocné šťávy. Jedná se o polysacharid, který je tvořen galakturonovými kyselinami a existuje hned několik druhů pektinů dle jejich stavby, například homogalakturonany jsou tvořeny lineárními řetězci  $\alpha(1\rightarrow4)$  D-galakturonové kyseliny (viz *Obrázek 5*). Izolace pektinu se provádí extrakcí vodou nebo také zředěnými kyselinami. Co se týká jejich použití v potravinářství, využívají se jako rosolovadla při výrobě ovocných šťáv a marmelád. V balení potravin se používá jako povlak pro potraviny s vysokým obsahem tuku, např. pro oříšky, vyrábí se z něj i pektinové filmy [19].

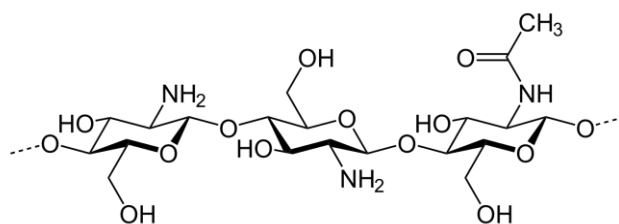


*Obrázek 5:* Chemická struktura pektinu [27]

## Chitosan

Po celulóze patří mezi nejhojněji se vyskytující polysacharidy v přírodě chitosan. Chitosan se získává alkalickou N-deacetylací chitinu, který se nachází v exoskeletu hmyzu nebo korýšů. Chitosan má tak velkou výhodu, že může být získáván z odpadu, který vzniká při zpracování korýšů pro potravinářský průmysl [28]. Chemicky se u chitosanu jedná o polysacharid skládající se z 2-amino-deoxy- $\beta$ -D-glukanu spojených 1,4 glykosidovými vazbami (viz *Obrázek 6*). Chitosan je netoxický, biodegradabilní a biokompatibilní [29].

Mezi nejlepší vlastnosti chitosanu patří, že může fungovat jako potravinářský konzervant, protože vykazuje antimikrobiální aktivitu proti různým druhům hub, kvasinek a bakterií [30]. Chitosan je nerozpustný ve vodě a také v běžných organických rozpouštědlech, jeho rozpustnost ale závisí na stupni acetylace a na molekulové hmotnosti, je lehce rozpustný v kyselých roztocích pod pH 6,3 [31].



*Obrázek 6:* Chemická struktura chitosanu [32]



## Furcellaran

Obdobně jako karagenan je furcellaran získáván z mořských řas *Furcellaria lumbicalis*. Chemicky se jedná o negativně nabitou sloučeninu skládající se z fragmentů 1-3  $\beta$ -D-galaktopyranózy se sulfátovými skupinami na C4 a 3-6-anhydro- $\alpha$ -D-galaktopyranózy [33].

Bylo prokázáno, že furcellaran je svou chemickou strukturou velmi podobný karagenanu. Podle legislativy evropské unie týkající se označování aditiv přidávaných do jídel je spolu s karagenanem označený kódem E407. Ze začátku nesl pojmenování Dánský agar, protože byl získáván na území Baltského moře a měl velmi podobné vlastnosti agaru – tvořil velmi pevný gel. Později ale bylo zjištěno, že agar a furcellaran mají jiné chemické složení. Furcellaran obsahuje 16–20 % sulfátu zatímco agar ho obsahuje 1,5–2,5 %, takže došlo k jeho pojmenování na furcellaran a později k zařazení do skupiny s karagenanem [34].

### 2.6.2 Proteiny

Proteinové obaly se dají vyrábět dvěma způsoby, první z nich je tzv. rozpouštědlový způsob. Při tomto způsobu výroby se nejprve samotný protein rozpustí nebo disperguje v rozpouštědle. Následně se vzniklý roztok lije do forem, sprejuje nebo se do něj namáčí výrobek, který chceme obalit a samotný obal vzniká následným odpařením rozpouštědla. Proteiny se obvykle rozpouští ve vodě nebo v ethanolu, a to při nízkém nebo naopak vysokém pH a zároveň za vyšší teploty, tyto podmínky výrazně zvyšují rozpustnost proteinů. Při výrobě obalů se používá koncentrace proteinů do 20 hm. %. Postup přípravy filmů se skládá z několika kroků, nejprve se v rozpouštědle rozpustí samotný protein za zvýšené teploty a úpravy pH, následně se přidají další složky, mezi které spadají například povrchově aktivní látky, síťovadla apod. Vzniklá směs se homogenizuje a poté se nalije na desku, která může být např. ze skla nebo silikonu a po odpaření vzniká film.

Druhým způsobem výroby je thermoplastifikace. Jedná se o velmi zajímavou přípravu filmů, protože proteiny vykazují i termoplastické vlastnosti. V průběhu této metody se oproti rozpouštědlovému způsobu vyhneme odpařování rozpouštědla sušením. Dojde ke vzniku kaučukovité hmoty, ze které se následně formuje požadovaný výrobek, který pak po působení chladu získá stabilní tvar [19].

### Proteiny z obilovin

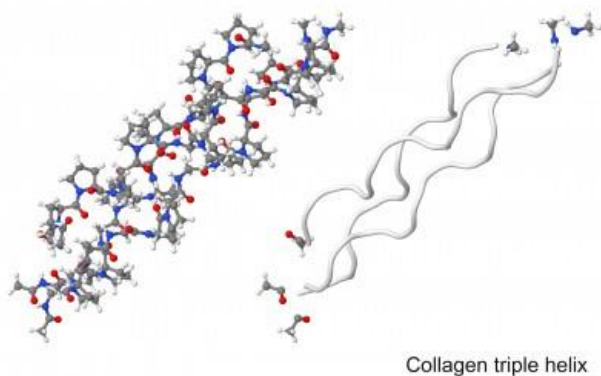
Zásobní proteiny obilovin, prolaminu, mohou fungovat jako velmi dobrý zdroj pro výrobu jedlých obalů. Patří mezi látky s vynikajícími vlastnostmi mezi které patří například to, že tvoří kyslíkové bariéry, jsou tedy velmi dobré pro využití v potravinářském odvětví, kde dochází k degradaci potravin díky přítomnosti kyslíku. Mezi nejběžnější zdroje prolaminů patří pšeničný lepek, jedná se o směs dvou druhů bílkovin, gluteninů a gliadinů. Gluteninové filmy jsou silnější a mají lepší bariérové vlastnosti než gliadiny nebo samotný lepek. Gliadinové filmy ale vykazují lepší optické vlastnosti, nejsou ovšem voděodolné, k tomu dochází díky přítomnosti jednoduchých polypeptidových řetězců spojených vodíkovou vazbou a hydrofobními interakcemi [35].

## Mléčné proteiny

Velká výhodou jedlých obalů vyrobených z mléčných proteinů je, že jsou bez chuti, flexibilní a transparentní, vykazují také velmi dobré nutriční vlastnosti. Z mléčných proteinů se používá především kasein. Kasein je netoxický, snadno dostupný, levný a vysoce stabilní. Jedná se o tzv. fosfoprotein, který má schopnost srážet se při pH 4,6. Kasein patří mezi globulární bílkoviny. V mléce se vyskytuje ve 4 formách, a to jako  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$ . Ovoce balené do kaseinového obalu vykazuje nižší ztráty hmotnosti během skladování [35].

## Kolagen

Kolagen (viz *Obrázek 7*) se nachází v celé řadě potravinářských výrobků, můžeme jej najít například v masě nebo uzeninách. Kolagen se získává z odřezků hovězích nebo i vepřových kůží. A poté se používá do jelit, tlačenek nebo do salámů. V potravinářství se používá především jako pojídlo, plnivo nebo také ke zvýšení výživové hodnoty, další jeho aplikace spočívá v jeho použití jako jedlého obalu pro uzeniny, pro balení masa, ryb a dalších výrobků [19].



*Obrázek 7:* Chemická struktura kolagenu [36]

## Želatina

Jedná se o štěpný produkt kolagenu, který se získává extrakcí kolagenních materiálů, a to vodou při teplotě vyšší než 40°C. V praxi se želatina rozděluje na dva druhy, a to na želatinu typu A, která je získána kyselou extrakcí a na želatinu typu B získanou naopak extrakcí alkalickou. Pro potravinářský průmysl se u želatiny vyžaduje, aby byla měla vysokou čistotu a průzračnost. V případě průzračnosti je tato vlastnost nejvíce ovlivněna tím, jaký se použije typ kolagenního materiálu a také tepelnými podmínkami během extrakce. Průzračnost je možné vylepšit použitím odbarvovacích prostředků, popřípadě filtrací nebo také použitím adsorbentů či iontoměničů. Mezi její další vlastnosti patří i to, že je schopná tvořit film. V potravinářství se používá jako jedlý obalový materiál na ovoce, zeleninu, chlazené a mražené potraviny atd. Co se týká mechanických vlastností filmů, jsou ovlivněny především způsobem přípravy filmů, pokud je film vyrobený odpařováním při teplotách vyšších než 60°C, pak vykazují nižší pevnost v tahu a také nižší procentuální prodloužení. Zatímco filmy připravené odpařováním při nižších teplotách spolu s přísadkou plastifikátorů do hodnoty 25 % měly v těchto oblastech lepší vlastnosti [19].

## **Keratin**

Od ostatních proteinů se keratin odlišuje hlavně tím, že má vysoký obsah cysteinu. Keratin se získává z odpadního materiálu při zpracování masa, tedy především z štětín, srsti, rohů, kopyt a podobně. V případě keratinu se jedná o fibrilární protein, skládá se z řady lišících se bílkovin, které mají společné vlastnosti, mezi které patří nerozpustnost ve vodě, odolnost vůči proteolytickým enzymům a přítomností příčných disulfidických vazeb. Keratinové filmy se vyznačují hladkým povrchem a také hustě zesíťovanou strukturou [19].

## **Sójový protein**

Sója se řadí mezi významné olejniny, její produkce stále stoupá, pěstuje se hlavně v USA, bílkoviny obsahuje ze zhruba 38–44 %, kdy převažují hlavně globulární bílkoviny. Pro výrobu filmů musí být provedena izolace bílkoviny z plodu sóji, výsledná koncentrace bílkoviny se pohybuje kolem 90 % a zároveň i aroma je neutrálnější. Samotné filmy ze sójového proteinu se připravují litím zhruba 10% roztoku bílkoviny. Často se přidávají plastifikátory, jako např. glycerol, které ovlivňují flexibilitu vzniklého obalu [19].

### **2.6.3 Lipidy**

Využití lipidů nebo také vosků v potravinářském průmyslu jako obalových materiálů se praktikuje už od 30. let 20. století. Jejich aplikace se provádí především jako povlaky na potravinách, které se vytváří máčením, pokapáváním nebo také sprejováním. Povlaky z lipidů se používají především na ovoce a zeleninu, kdy se tak zvýší lesk potravin a jsou tedy spotřebiteli lépe přijímány. Povlaky se však používají i v masném průmyslu na zmrazené polotovary nebo chlazená masa a masové polotovary, případně se používají i při výrobě cukroví. Často se používá pro balení potravin i pryskyřice, která se obdobně jako lipidy a vosky používá jako povlak. Nejvíce se používá při balení citrusových plodů, kde se nekonzumuje slupka. Pryskyřice má vysoký lesk, ale mezi její nevýhody patří, že velmi špatně propouští plyny, to může vést k výskytu nežádoucích anaerobních změn [19].

### **2.6.4 Další aditiva**

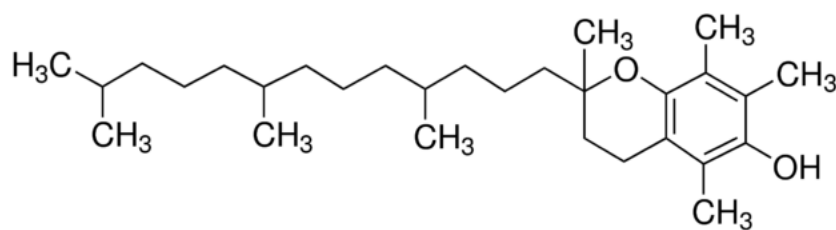
#### **Antioxidační látky**

Jako antioxidační látky v jedlých obalech by se měly používat přírodní antioxidanty, jelikož u syntetických antioxidačních látek nedokážeme odhadnout jejich bezpečnost. Do potravin se velmi často přidává různé koření a byliny, které obsahují velké množství polyfenolických sloučenin, které mohou fungovat jako prevence proti oxidaci díky své vysoké schopnosti darovat atom vodíku. Mezi tyto rostliny patří například rozmarýn, oregano, majoránka a další byliny, významným antioxidantem je i čaj [37]. Ideální antioxidant by měl snadno absorbovat a inhibovat volné radikály [38]. Do potravin se mohou koření a byliny přidávat i ve formě extraktů nebo esenciálních olejů. Hlavní dělení antioxidačních látek spočívá v rozdělení do 4 skupin: fenolické kyseliny (kyselina gallová, kyselina protokatechinová, kyselina kávová a rozmarýnová kyselina); fenolické diterpeny (karnosol a kyselina karnosová; flavonoidy (kvercetin a katechin); těkavé oleje (eugenol, karvakrol, thymol, menthol) [39].

Esenciální oleje se získávají destilací nebo extrakcí pomocí organických rozpouštědel nebo superkritickou extrakcí za použití CO<sub>2</sub>. Destilace se typicky používá pro aromatické byliny a koření. Esenciální oleje také vykazují antimikrobiální vlastnosti. Extrakty mnoha rostlin a koření mají vysoký obsah polyfenolických sloučenin. Mezi nejběžnější způsoby extrakce polyfenolických sloučenin patří extrakce v organických rozpouštědlech nebo ve vodě. Nejčastěji se jako rozpouštědla používá již dříve zmíněná voda dále aceton, ethyl acetát, methanol, ethanol nebo i jejich směsi. Záleží také na polaritě rozpouštědel, např. ethyl acetát a aceton, které jsou nepolární, dobře extrahují flavonoidy (luteolin, apigenin) nebo terpenoidy (thymol, karvakrol). Zatímco alkoholy, voda, a hydroalkoholy patří mezi dobrá rozpouštědla pro fenolové kyseliny (caffeic, rosmarinic) a také pro flavonoidy (rutin) [37].

### Vitamín E

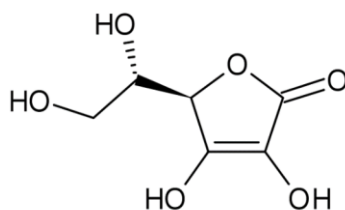
Vitamín E (viz *Obrázek 8*) patří do skupiny vitamínů rozpustných v tucích a vyskytuje se v osmi různých formách. Funguje především jako ochrana proti peroxidaci lipidů [38]. Nachází se především v listech rostlin, kde je umístěn v tylakoidních membránách v blízkosti fosfolipidů. Významně zabraňuje prooxidaci tuků, ale také proteinů [39].



*Obrázek 8:* Chemická struktura vitamínu E [40]

### Kyselina askorbová

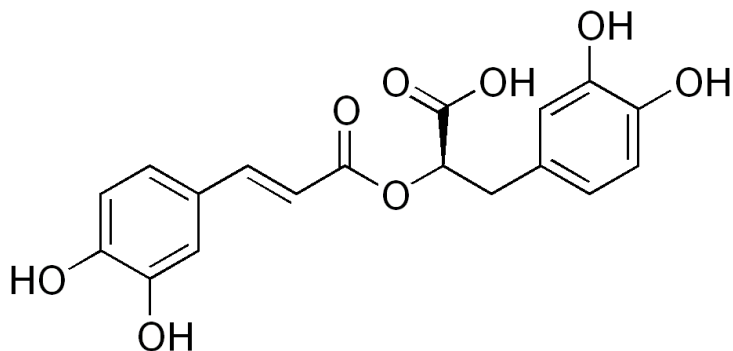
Kyselina askorbová neboli vitamín C má 4 hydroxylové skupiny, které mohou darovat atom vodíku (viz *Obrázek 9*) [39]. Může se vyskytovat ve formě 4 izomerů, z nichž se aktivitou vitamínu C vykazuje pouze L-askorbová kyselina. Je typická tím, že pomáhá udržovat stabilitu i vitamínu A a E. Lidé nejsou schopni syntetizovat vitamín C z glukózy, proto je jeho konzumace v potravinách nezbytná [41].



*Obrázek 9:* Chemická struktura kyseliny askorbové [42]

## Rozmarýnová kyselina

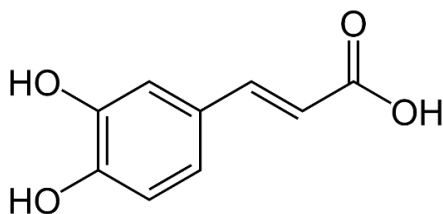
Rozmarýnová kyselina patří mezi neaktivnější antioxidační sloučeniny, které se nachází v rozmarýnu, ale také v oregánu [39]. Vyznačuje se tím, že na každém svém aromatickém kruhu má navázány 2 hydroxylové skupiny (viz *Obrázek 10*), které jsou schopny darovat vodíkový radikál. Bylo také zjištěno, že příkrmováním ovcí vedlejšími produkty vznikajícími při výrobě rozmarýnového esenciálního oleje zlepšilo antioxidační aktivitu masa [43].



*Obrázek 10:* Chemická struktura rozmarýnové kyseliny [44]

## Kávová kyselina

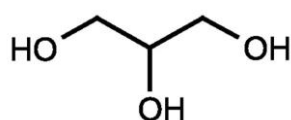
Obdobně jako rozmarýnová kyselina se kávová kyselina (viz *Obrázek 11*) nachází v rozmarýnu, kde patří k neaktivnějším polyfenolickým kyselinám [39]. Nachází se také v dalších potravinových zdrojích jako jsou káva, borůvky a jablka. Funguje jako ochránce  $\alpha$ -tocopherolu v LDL (nízko hustotní lipoprotein) [45].



*Obrázek 11:* Chemická struktura kávové kyseliny [46]

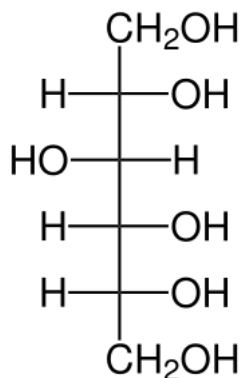
## Plastifikátory

Mezi nejvíce používané plastifikátory při výrobě jedlých obalů patří glycerol (viz *Obrázek 12*). Je používán díky tomu, že vzniklý film je mnohem ohebnější a méně křehčí [16]. Glycerol patří mezi bezbarvé sloučeniny, je bez zápachu a má sladkou chuť. Při laboratorní teplotě je vysoce viskózní. Byl objeven švédským vědcem K.W. Scheelem, jeho teplota tání je při 17,8°C a jeho bod varu při 290°C. Díky přítomnosti tří hydroxylových skupin je glycerol velmi hygroskopický a dokáže tedy absorbovat vlhkost ze vzduchu. Používá se často jako humektant v kosmetickém i potravinářském průmyslu. Je rozpustný ve vodě, jeho hydroxylové skupiny tvoří vodíkové vazby s molekulami vody. V potravinářství se glycerol díky své nízké toxicitě, absenci zápachu a nevýrazné chuti používá jako emulzifikátor [47].



*Obrázek 12:* Chemická struktura glycerolu [48]

Další látkou, která se používá jako plastifikátor je sorbitol, cukerný alkohol (viz *Obrázek 13*). Používá se jako náhrada cukru v potravinách pro diabetiky, ale může se používat i pro slazení konvenčních potravin, kdy se používá pro změnu sensorických vlastností, jako je textura nebo snížení barevnosti. K jeho výhodám patří dobrá tvárnost a také trvanlivost, je velmi dobrý humektant, díky této vlastnosti tak prodlužuje i trvanlivost potravinářských výrobků [49].



*Obrázek 13:* Chemická struktura sorbitolu [49]

## **Antimikrobiální látky**

Antimikrobiální látky mohou na mikroorganismus účinkovat dvěma způsoby. Prvním z nich je, že pozastavují růst a rozmnožování mikroorganismů, potom se jedná o tzv. mikrobiostatické látky nebo mohou mikroorganismy přímo usmrcovat, to se jedná o tzv. mikrobiocidní látky.

Dále se antimikrobiální látky dělí dle toho, zda působí na bakterie nebo kvasinky a plísně. V případě bakterií jsou to pak látky bakteriostatické nebo baktericidní a u kvasinek a plísňů fungistatické nebo fungicidní.

Dle svého účinku se antimikrobiální látky dělí do 3 skupin: V prvním případě látky poškozující buněčnou stěnu nebo cytoplazmatickou membránu, mohou však poškozovat i další struktury v buňce, například další membrány, nebo také mitochondrie, ribozomy apod. Do druhé skupiny se řadí antimikrobiální látky, které působí na enzymy mikroorganismů a v poslední třetí skupině jsou látky, které reagují s DNA [50].

Do film formujících roztoků se často přidávají i antimikrobiální látky, které mají za úkol zabránit růstu mikroorganismů v balené potravíně. Z výše zmíněných látek byly prokázány antimikrobiální i antifungální vlastnosti u chitosanu. V případě, že je tedy jako hlavní komponenta použit chitosan už není teoreticky potřeba přídavek žádné další antimikrobiální látky. Chitosan mění propustnost samotné buňky díky interakcím mezi aminovými skupinami chitosanu a elektronegativním nábojem na povrchu buňky.

Dokonce některé odpadní produkty nebo meziprodukty agrárního průmyslu mohou poskytovat antimikrobiální vlastnosti. Patří sem například esenciální oleje a extrakty, které mohou nahradit syntetické konzervanty [50]. V případě esenciálních olejů je zajímavé, že jejich antimikrobiální aktivita je vyšší než když se jen čistě smíchají jejich hlavní složky vykazující antimikrobiální efekt, z toho vyplývá, že pro dobrou antimikrobiální schopnost je kritická přítomnost i minoritních složek. Jako další látky mohou být přidávány organické kyseliny – kyselina mléčná, octová, propionová apod. nebo také bakteriociny, tedy látky produkující bakterie mléčného kvašení (lactic acid bacteria). Jedná se o peptidy a řadí se sem například nisin [51].

## **2.7 Nežádoucí mikroorganismy vyskytující se v potravinách**

### **2.7.1 Bakterie**

V případě potravinářského průmyslu se bakterie využívají jak k pozitivním činnostem jako je produkce metabolitů a dalších složek buněčné hmoty. Větší problém je ale s jejich negativním dopadem, který je způsobený hlavně jejich dobrou schopností rychlého množení a růstu. Nebezpečné jsou zejména vzhledem k přítomnosti proteolytických enzymů, díky nimž se hojně vyskytují na potravinách s vysokým obsahem bílkovin (maso a masné polotovary). Určité druhy bakterií dokáží rozkládat i lipidy, kdy dochází ke vzniku nežádoucích mastných kyselin a také oxidačních zplodin s nežádoucím zápachem.

U kyselých potravin (ovocné šťávy, kysané zelí, okurky) dochází k napadení bakteriemi jen velmi vzácně. U zeleniny napadají pouze mechanicky poškozená pletiva. Některé bakterie způsobují nepříjemnou cizí vůni a zápach a také nepřírozené zbarvení.

Aerobní bakterie z rodu *Pseudomonas* jsou používány i v průmyslovém měřítku pro oxidaci organických sloučenin, této vlastnosti se hojně používá při výrobě léků. Některé druhy dokáží tvořit fenanzinová barviva o modrém, zeleném, žlutém nebo červeném zbarvení. Barviva bakterie uvolňuje do prostředí, může tedy docházet k nežádoucímu zbarvení potravin. V potravinách také mohou vyvolávat vznik cizích vůní a pachů nebo pachutí, potravina tak může mít ovocný či rybí zápach, popř. mýdlovou pachutí. Velmi dobře rozkládají bílkoviny, proto se velmi často vyskytují na povrchu masa. Uplatňují se také při kažení tuků, protože mají i lipolytické vlastnosti [50].

Další skupinou mikroorganismů vyskytujících se v potravinách je čeleď *Halobacteriaceae*. Jedná se o skupinu halofilních tyčinek a koků, které rostou v prostředí s obsahem chloridu sodného alespoň 8–15 %, optimální pro růst je prostředí s obsahem chloridu sodného o koncentraci 20–26 %. Mikroorganismy z této skupiny mají velmi dobré proteolytické vlastnosti, jako zdroj energie využívají aminokyseliny. Z potravin rozkládají silně solené maso, a to hlavně solené ryby.

Do rodu *Acetobacter* patří aerobní bakterie, které oxidují ethanol na octovou kyselinu. Tyto bakterie se používají především pro výrobu octa, ale dochází i k jejich nežádoucímu výskytu. Při výrobě vína nebo piva může díky těmto bakteriím docházet k jejich octovatění, nežádoucí je i kontaminace při výrobě droždí.

Mikroorganismy z rodu *Gluconobacter* obdobně jako rod *Acetobacter* oxidují ethanol na acetát. K jejich nežádoucímu výskytu dochází při výrobě droždí, piva, vína, ale i jiných nápojů a způsobují také kažení jablek a hrušek.

Dalším rozšířeným rodem je rod *Flavobacterium*, který se hojně vyskytuje na syrovém mase, také v mléce, a i dalších potravinách.

Rod *Escherichia* je důležitý z hlediska hygieny, především bakterie *Escherichia coli*, která se nachází ve střevním traktu člověka, ale i teplokrevných zvířat. *Escherichia coli* se nachází i ve výkalech, pokud je tedy přítomna v potravine, dá se předpokládat, že došlo ke kontaminaci výkaly. Tato bakterie se často nachází v potravinářských surovinách, které byly v kontaktu s hnojenou půdou [50].

Bakterie rodu *Salmonella* patří k velmi často vyskytujícím se bakteriím v potravinách, nachází se a množí se především v potravinách živočišného původu. Mohou způsobovat břišní tyfus, který je infekční a projevuje se bolestmi břicha, vysokou horečkou a malátností. Dále bakterie rodu *Salmonella* způsobují tzv. salmonelózu, jde o průjmové onemocnění doprovázené zvracením. Jedná se spíše o lehčí onemocnění, ale může být smrtelná u slabších jedinců, především u kojenců a menších dětí.



Rody *Photobacterium* a *Lucibacterium* se vyskytují v prostředí s vyšším obsahem chloridu sodného (0,5–5,0 %). Najdeme je tedy především v mořské vodě a dále i ve skladovaném mase a solených rybách.

Mezi hojně se vyskytující rod patří i rod bakterií *Micrococcus*. Bakterie dokáží růst i v prostředí s obsahem NaCl až k 5 %. Vyskytují se obdobně jako předchozí skupina mikroorganismů v solených potravinách, kde se jejich přítomnost může projevit růstem žlutých, oranžových nebo i intenzivně růžových kolonií, kdy je zbarvení způsobeno přítomnými nerozpustnými karotenoidními barvivy, které dokáží mikroorganismy ochránit před působením UV záření.

Dalším rodem, který snáší vyšší přítomnost NaCl je rod *Planococcus*, který se nachází na potravinách s obsahem soli až 20 %.

Bakterie rodu *Staphylococcus* jsou schopny jak aerobního, tak i anaerobního metabolismu, mohou vytvářet žluté až oranžové kolonie, ale mohou se objevovat i kolonie se zbarvením do bíla. Bakterie tohoto rodu způsobují angínu, ale i hnisání ran. Do potravin se dostávají právě především z hnisavých ložisek pracovníků, kteří připravují dané potraviny nebo také i kašláním a kýčáním. Bakterie v potravinech produkují enterotoxiny, které mohou způsobit až smrtelné otravy. K jejich inaktivaci je nejlepší potravinu vystavit delším varu, nebezpečí otrav tedy hrozí především u potravin, které se již dále tepelně neupravují, tedy majonézy, saláty, zmrzliny nebo i krémy v cukrářských výrobcích.

Rod *Bacillus* je v přírodě velmi rozšířený, zástupce *Bacillus cereus* je schopný tvořit toxiny, které mohou způsobit otravy. Bakterie se vyskytuje v potravinách bohatých na bílkoviny a škrob (polévky, pudíngy, bramborové kaše, vařená rýže nebo i játrová paštika).

U rodu *Clostridium* jeho některé druhy způsobují tvorbu nebezpečných toxinů, kde z hlediska potravin je nejdůležitější *Clostridium botulinum*, který tvoří tzv. botulotoxiny. Botulotoxin patří k velmi účinným jedům, smrtelná dávka pro 16 000 lidí tvoří pouze 1 mg. Jedná se o bílkovinný toxin, proto k jeho inaktivaci stačí zvýšená teplota (100°C po dobu 15–20 minut). Otrava se projevuje po 6 až 72 hodinách, kdy dochází k bolestem hlavy, nevolnosti, zvracení, dvojitému vidění a postupně i k ochrnutí dýchacího svalstva. Otrava končí v 30 až 65 % smrtí.

V případě rodu *Listeria* se jeho zástupci vyskytují především ve fekáliích a mohou vyvolat encefalitidu (onemocnění jater) u slabých jedinců, tedy dětí, těhotných žen, lidí v rekonvalescenci a starších lidí. Přenáší se nepasterovaným mlékem.

Druh *Brochothrix thermosphacta* je tolerantní i k vyššímu obsahu soli (6,5 %) a způsobuje kažení masných výrobků. Bakterie rodu *Kurthia* rostou optimálně při 25–30°C, vyskytují se především na povrchu syrového masa, které bylo uchováváno v nesprávných podmínkách, tedy při teplotách nad 12°C [50].

### 2.7.2 Kvasinky

Kvasinky jsou typické především svou schopností využít cukry, mají výborné sacharolytické schopnosti a vyskytují se tedy typicky na materiálech s vyšším obsahem cukrů (ovoce – hrozny, švestky) a v cukernatých potravinách. Nejsou schopny štěpit bílkoviny a z tohoto důvodu nedochází k jejich výskytu na masě a jiných potravinách s vysokým obsahem bílkovin. Některé druhy kvasinek způsobují kažení sladového výtažku, plněných čokoládových bonbonů, ale i medu.

Rozmnožují se pomaleji než bakterie, pokud jim mají konkurovat, tak jen v podmínkách, které jsou velmi nepříznivé pro růst bakterií. Kvasinky tedy způsobují především kažení kompotů, ovocných moštů a slazených limonád a kyselých minerálních vod.

Kvasinky rodu *Pichia* se vyskytují při kontaminaci piva a vína, ke které dochází zvláště u špatně uzavřených lahví [50].

### 2.7.3 Plísně

Plísně se vyskytují hlavně v půdě, ze které se dostávají do vzduchu a poté na organický materiál především rostlinného původu, ale i na exkrementy a další materiál uložený ve vlhku. Mají velmi rozmanitý enzymatický aparát, a proto jsou schopni napadat celou řadu materiálů, dokonce i kůži, tkaninu nebo i některé plasty.

Velmi dobře se mohou množit i na potravinách, které mají nízkou vodní aktivitu prostředí. Napadají tak velmi často povrchy potravin jako jsou džemy, marmelády, pečivo, mouku, obilí, sóju. Plísně ke svému růstu potřebují minimální obsah vody kolem 15 %, což je zvýhodňuje oproti bakteriím a kvasinkám, které rostou v prostředí s obsahem vody od 30 %. Plísně velmi často tvoří mykotoxiny a mohou způsobovat i alergické reakce.

Rod *Geotrichum* tvoří bílé kolonie se sametovými až vatovitými koloniemi. Často se vyskytují jako kontaminace mléčných výrobků, droždí, kysaného zelí a tukových tkání masa.

Z řad plísní je významným rodem *Mucor*. Vyskytuje se na celé řadě potravin (chléb, maso, ovoce, zelenina), na kterých tvoří bělavý povlak s kulovitými nahnědlými sporangii. Některé druhy rodu *Mucor* se objevují i na masě a mléčných výrobcích z důvodu, že obsahují proteolytické enzymy. Mohou produkovat i mykotoxiny.

Mezi další rozšířené rody patří rod *Rhizopus*, který způsobuje kažení ovoce ale i dalších potravin. Plísně rodu *Thamnidium* mají velmi dobré proteolytické schopnosti a mají psychrofilní povahu, k jejich růstu a množení tedy často dochází při chladírenském uchovávání masa.

Další druhy rodu *Penicillium* tvoří žlutozeleně až modrozeleně zbarvené kolonie. Na potravinách se projevují jako zelené, sametové povlaky. Rod *Penicillium* způsobuje kažení ovoce a zeleniny a některé jeho druhy mohou produkovat mykotoxiny nebo mohou způsobovat alergické reakce [50].

Rod *Scopulariopsis* tvoří bílé až žlutohnědé kolonie. Některé kmeny našly použití při výrobě plísňových trvanlivých salámů, některé druhy zase mohou způsobovat onemocnění nehtů, mykózy nehtů.

Velmi rozšířeným rodem je rod *Aspergillus*. Jeho zástupci jsou vybaveni celou řadou enzymů (amylolytické, pektolytické, proteolytické), takže se vyskytují na celé škále potravin. Mezi významné zástupce patří *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*, kteří produkují aflatoxiny. Aflatoxiny mohou způsobit rakovinu jater. Jiní zástupci způsobují plesnivění džemů, ale i chleba a dalších potravin (obilí, sušeném mase, sušeném ovoci a zelenině).

Rod *Fusarium* způsobuje kažení jablek, rajčat a brambor. Některé druhy mohou produkovat i toxiny. Velmi často dochází k napadení obilí, které je pak v důsledku přítomnosti mykotoxinů nepoužitelné [50].

## 2.8 Použití jedlých obalů

Jedlé obaly, jak už bylo částečně zmíněno u složek, ze kterých může být vyráběn, slouží k balení mnoha druhů potravin.

Mezi potraviny, které jsou baleny do jedlých obalů, patří často ovoce a zelenina. Průběh celého procesu je následující. Ovoce a zelenina jsou nejprve umyty, případně i vyčištěny. Dále může být balen celý plod nebo dojde k jeho rozkrájení a jsou baleny až vzniklé kousky. Balení se nejčastěji provádí, že jsou tedy buď celý plod, nebo jednotlivé kousky ponořeny do roztoku obsahující látky, které mají potravinu ochránit a tvoří konečný jedlý obal potraviny. Následuje případně další balení a skladování v chladících prostorech.

Jedlé obaly u ovoce a zeleniny slouží hlavně k tomu, aby prodloužily dobu, kdy tyto druhy potravin budou obsahovat maximální množství prospěšných látek pro výživu člověka a zároveň budou i sensoricky přijatelné [52]. Ovoce a zelenina jsou typické tím, že po jejich sběru dochází k postupné degradaci organických kyselin, proteinů i tuků [53].

Po čase tedy dochází k tomu, že se snižuje nutriční hodnota, hmotnost, barva i chuť plodu. V dnešní době stále roste spotřeba neopracovaného, popřípadě minimálně opracovaného ovoce a zeleniny. Na trhu se objevují už připravené saláty z čerstvě nakrájených potravin. Právě u těchto druhů potravin existuje mnoho faktorů, které ovlivňují jejich trvanlivost. Mezi tyto faktory patří jak vnitřní, kam se řadí morfologické, fyzikální a biochemické obranné mechanismy, také typ ovoce/zeleniny, jeho genotyp apod. Trvanlivost ovlivňují i vnější faktory, kam se řadí teplota skladování, vlhkost vzduchu, ostrost nožů použitých při porcování potraviny a také chemické ošetření.

Jedlé obaly nachází velmi velké využití právě u čerstvě krájeného ovoce a zeleniny, jelikož je už nejsou chráněny slupkou plodu dochází k velmi rychlému kažení i ztrátě nutričních hodnot. U těchto minimálně opracovaných potravin jedlý obal funguje jako ochrana před kažením a zároveň by měl zaručit i co nejdéší udržení všech nutričních hodnot na maximum [52].

Mohou se používat i pro balení masa, kdy s přidavkem antimikrobiálních látek (nisin, oreganový esenciální olej) dochází ke snížení výskytu kontaminujících mikroorganismů [51].

### 3 Inteligentní a aktivní obal

#### 3.1 Inteligentní obal

Inteligentní materiály a předměty mají za úkol monitorovat stav balených potravin nebo prostředí v okolí potraviny [8]. Například mohou zákazníka informovat, jestli je produkt zralý, čerstvý nebo jestli je už potravina samotná zkažená. Obecně se tedy inteligentní obaly rozdělují do 3 skupin podle použitých technologií: indikátory udávající informace o kvalitě potraviny, nosiče dat a senzory pro kvantifikaci analytů v potravinách [54].

Inteligentní obaly se vyznačují tím, že změnu stavu potraviny indikují změnou zbarvení. Do běžného užívání při balení potravin se ale stále nedostaly. Většina z nich reaguje na přítomnost metabolitů jako jsou diacetyly, aminy, amoniak a sulfan, které jsou produkovány během kažení potravin. Nebo indikují i přítomnost biogenních aminů (putrescin, kadaverin, a další), které vznikají degradací proteinů v potravinách na aminokyseliny a poté enzymatickou dekarboxylací [54].

Například indikátory čerstvosti pro mořské plody reagují na přítomnost těkavých aminů, které vznikají během kažení potraviny a jejich detekce může probíhat na principu změny vodivosti, popřípadě pH [55].

Inteligentní materiál, ale také může ale ukazovat historii teplot, kterým byla potravina od zabalení vystavena pomocí tzv. time-temperature indicators (TTIs) tedy indikátorů se záznamem změny teploty během času, ty fungují na principu tzv. RFID, tedy radio frequency identification tags – radio frekvenční identifikační štítky. Tento typ inteligentního materiálu dokáže odesílat data v blízkosti vysílače, která pak mohou být analyzována v počítači. RFID štítky obsahují mikročip připojený na malou anténu.

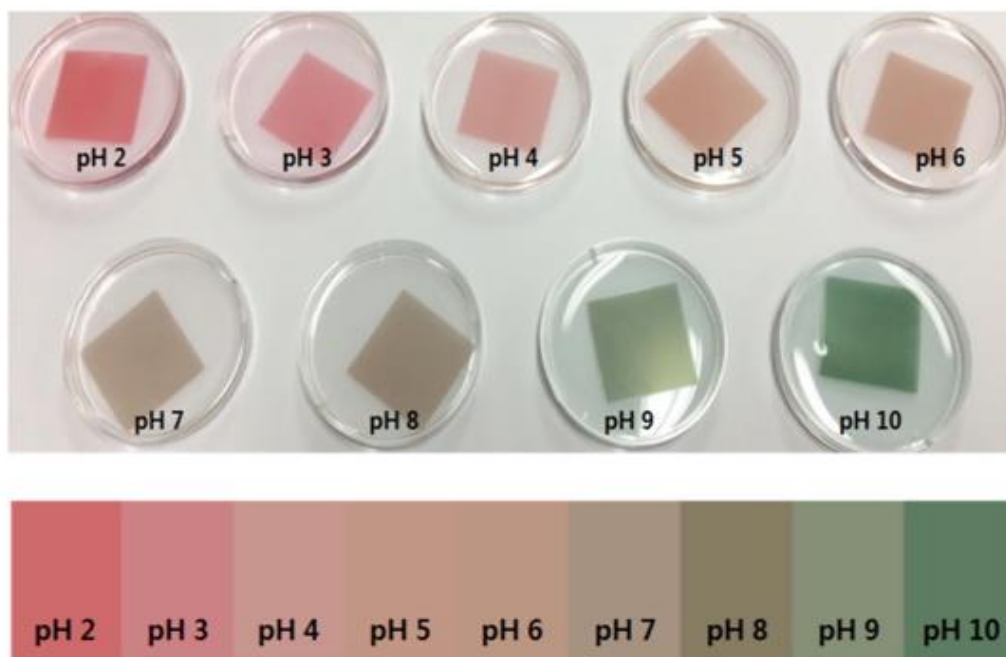
Dalším typem pro zjištění vystavení potraviny nevhodným teplotám slouží i vizuální indikátory, které změni barvu po vystavení určité teplotě, tato změna ovšem musí být nevratná. Existují i indikátory reagující na vystavení potraviny UV záření, čím více UV záření na indikátor dopadá, tím je změna barvy intenzivnější.

Může také docházet k detekci změny obsahu plynných látek v okolí potraviny, tedy například k detekci změny koncentrace O<sub>2</sub> nebo CO<sub>2</sub>. Většina těchto indikátorů změni barvu jako důsledek chemické nebo enzymatické reakce. Mohou se používat například redoxní barviva jako je methylenová modř nebo 2,6-dichlorindophenol.

Rozšířenou skupinou jsou i tzv. biosenzory, které mají za úkol vyhodnocovat informace o biologických reakcích. Aktivní část biosenzoru je bioreceptor, který je schopný reagovat na specifický analyt a další částí je pak převodník pro převod biologického signálu na měřitelnou elektrickou odpověď. Jako bioreceptory se používají enzymy, antigeny, nukleové kyseliny nebo mikroby. Například existují senzory obsahující protilátky, které jsou schopny detekovat přítomnost patogenů jako je *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Listeria*. Přítomnost těchto patogenů je indikována změnou barvu indikátoru [56].

Tyto typy obalů tedy nemají za úkol interagovat s potravinou, ovlivňovat ji, ale pouze reagovat na změny potravinou změnou svého vzhledu nebo odesláním informací, tak aby je mohl spotřebitel vyhodnotit [55].

V případě jedlých obalů byl například vyroben film obsahující agar, bramborový škrob a přídavek antokyanů získaných z fialových brambor, kdy anthokyany mění své zbarvení v různém prostředí pH (viz *Obrázek 14*) [57]. Obdobně dokáží měnit svoje zbarvení i chlorofyly, popřípadě karotenoidy [3].



*Obrázek 14:* Změna zbarvení obalu v různém pH prostředí [57]

### 3.2 Aktivní obal

Aktivní jedlé obaly jsou používány především pro prodloužení trvanlivosti balených potravin. Mezi látky, které mohou být do obalu inkorporovány patří antimikrobiální činidla, antioxidanty, pohlcovače pachu. Aktivní obaly mohou prodlužovat trvanlivost potravin ovlivněním následujících reakcí: fyziologických procesů jako je například buněčné dýchání ovoce a zeleniny, chemické procesy, kam se řadí oxidace tuků, mikrobiální změny a také infekce způsobené hmyzem. Jejich použití má velká pozitiva oproti klasickým obalům potravin, kdy mohou zlepšovat sensorické vlastnosti, také díky jejich aplikaci dochází k preventivní ochraně před vznikem odpadu potravin a také se může prodlužovat doba transportu a doba skladování [58].

Dle nařízení 1935/2004 nesmí aktivní obaly měnit sensorické vlastnosti potravin, a tedy tímto způsobem klamat zákazníka tím, že by se díky aktivním obalům zakrývalo počáteční kažení potravin. Aktivní materiály také nesmějí ovlivňovat barvu potravin tak, že by pro spotřebitele byla zavádějící [8].

Aktivní obaly se mohou obecně vyskytovat ve dvou formách, kdy v první formě je aktivní látka umístěna v sáčku nebo v podložce, která přichází do kontaktu s potravinou nebo je v její blízkosti a druhou možností je zainkorporovat aktivní látku přímo do balicího materiálu.

Z první kategorie (aktivní látka v sáčku nebo podložce) jsou v dnešní době nejvíce známy O<sub>2</sub> absorbéry. Nejčastěji se k tomuto používá práškové železo nebo také kyselina askorbová. Pokud se používá práškové železo může docházet k redukci koncentrace kyslíku až na 0,01 %, což je mnohem nižší hodnota než u zbytkového obsahu kyslíku při balení vakuem, kdy je teda hodnota v rozmezí 0,3–3 %. Dále se do této kategorie řadí i CO<sub>2</sub> absorbéry, které jen zřídka jsou vyvinuty tak, že by absorbovaly pouze CO<sub>2</sub>. Jako aktivní látka se používá například zeolit nebo Ca(OH)<sub>2</sub> nebo Mg(OH)<sub>2</sub>. Často se kombinuje Ca(OH)<sub>2</sub> spolu s práškovým železem, kdy tedy sáčky obsahující tuto směs mohou vychytávat stejně efektivně CO<sub>2</sub> jako O<sub>2</sub>. Dalším absorbérem je absorbér ethylenu, který vzniká během zrání ovoce a zeleniny a na produkt může mít jak pozitivní tak i negativní vliv. V jeho přítomnosti se katalyzuje proces zrání, ale na druhou stranu zvyšuje rychlost dýchání, tedy může docházet k měknutí rostlinných pletiv. Komerčně se používá KMnO<sub>4</sub>, který dokáže ethylen zoxidovat až na oxid uhličitý a vodu. Manganistan draselný však musí být používán v nižších koncentracích (4–6%), protože je toxický a nesmí ani přijít do přímého kontaktu s balenou potravinou.

Do druhé kategorie, tedy kdy je aktivní látka přímo inkorporována do balicího materiálu se řadí opět absorbéry O<sub>2</sub>, které nejsou tak často používány jako ty z první kategorie, ale i jejich využití je potřeba rozvíjet. Absorbéry z první kategorie nelze například použít u balení tekutých druhů potravin, nebo také u masa a sýrů, které jsou baleny vakuem a obal těsně přiléhá na potravinu. Například existuje vícevrstvá bariérová vložka, která je vložena do vršku láhve (např. od piva) a pomocí kyseliny askorbové vychytává přítomný kyslík. Další obaly jsou s přísádkem antioxidantů. V USA se do obalů inkorporují například sloučeniny BHA a BHT pro balení snídanových cereálií nebo se také jako náhrada BHA a BHT může používat vitamin E [54].

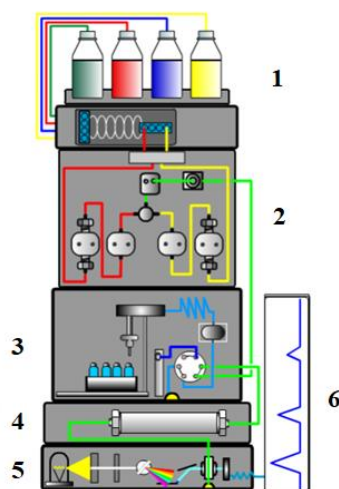
V posledních letech se při výrobě jedlých obalů začínají přidávat i další přírodní složky s antioxidačními nebo antimikrobiálními vlastnostmi, jako je například obaly z chitosanu s přísádkem zeleného čaje a šťávy z česneku nebo také s přísádkem kyseliny citronové. V případě zeleného čaje byl zjištěn pozitivní efekt v prevenci proti oxidaci produktu a u přísádku kyseliny citronové bylo u balených potravin (ovoce, zelenina) docíleno ochrany proti mikrobiálnímu růstu a enzymatickému hnědnutí [2].

## 4 Kapalinová chromatografie

Kapalinová chromatografie patří mezi chromatografie používající jako mobilní fázi kapalinu. V případě kapalinové chromatografie má na rozdělení jednotlivých složek obsažených ve vzorku vliv jak stacionární fáze, tak i fáze mobilní. Analyt tedy během separace interaguje s oběma fázemi.

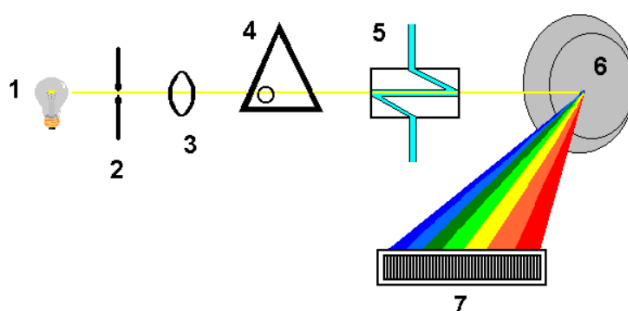
K dělení složek může docházet několika způsoby. U adsorpce o separování látek rozhoduje, jakou silou se analyt váže, tedy adsorbuje na povrch stacionární fáze. V případě rozdělávání pak o separaci rozhoduje různá rozpustnost analyzovaných složek jak v mobilní, tak i ve stacionární fázi. U chromatografie, která pracuje na principu iontové výměny, se analyzované složky separují na základě elektrostatické přitažlivé síly. Ta může nabývat různé velikosti a vzniká mezi funkčními skupinami stacionární fáze a ionty analyzovaných složek vzorku. Dalším způsobem dělení je afinitní chromatografie, kdy má stacionární fáze úzký afinitní vztah jen k určeným složkám analyzovaného vzorku. Posledním způsobem pak je gelová chromatografie, kdy k dělení složek ve vzorku dochází pomocí jejich rozdílného průchodu pórovitou stacionární fází. Složky vzorku s menšími molekulami se pohybují pomaleji než složky vzorku s velkými molekulami [59].

*Obrázek 15* zobrazuje schéma klasického vysokoúčinného kapalinového chromatografu, který se skládá z několika částí. Nahoře na schématu se nachází zásobník mobilní fáze (1), ta se může skládat až ze čtyř různých látek. Složení mobilní fáze se reguluje ve směšovacím zařízení (2) a může být buď stálé, kdy tedy probíhá izokratická eluce, anebo se může během průběhu separace měnit, pak se jedná o gradientovou eluci. Dále následuje dávkování (3) vzorku na kolonu, které u nejnovějších přístrojů probíhá pomocí autosampleru přes šesticečný dávkovací kohout, kdy v prvním kroku přes ventil do kolony proudí mobilní fáze. Ve druhém kroku je do smyčky pomocí jehly nadávkován vzorek, který je v dalším kroku nadávkován na kolonu. V koloně (4) dochází k separaci složek. Používají se kolony různé délky (10,15 nebo 25 cm) a i různého průměru (4,6 a 5 mm). Může se používat i předkolona, která slouží k ochraně kolony před nečistotami a také nerozpustnými materiály [59].



*Obrázek 15:* Schéma vysokoúčinného kapalinového chromatografu [89]

Další důležitou částí chromatografu je detektor (5), používá se jich celá řada. Mezi nejběžnější detektory patří detektory fotometrické, kdy je měřena absorbance eluentu. Nejlepší z fotometrických detektorů je DAD detektor – Diode Array Detector (viz Obrázek 16), který je schopný měřit absorbanci pro více vlnových délek v jednom čase. Záření se po průchodu měrnou celou rozkládá na holografické mřížce, kdy tedy následně na jednotlivé fotodiody, které jsou spojeny s kondenzátorem, dopadá vždy záření o určité vlnové délce. Kondenzátor je vždy už předem nabitý na určitou hodnotu, při dopadu světla na fotodiodu dochází ke vzniku fotoelektrického proudu, který vybijí kondenzátor. Tento vzniklý proud je úměrný intenzitě dopadajícího záření. Dále se kondenzátory opět dobijí a proud, který je potřeba k jejich dobíjení je zaznamenán a ukládán do řídicí jednotky k vyhodnocení. Výsledkem je pak chromatograf s píky jednotlivých zjištěných látek [60].



Obrázek 16: Schéma detektoru s diodovým polem: 1 – zdroj záření; 2 – štěrba; 3 – čočka; 4 – clona; 5 – měrná cela; 6 – holografická mřížka; 7 – fotodiody [60]

Dále se používají i detektory refraktometrické, kdy se měří rozdíl indexu lomu mezi mobilní fází a eluentu, používá se především pro stanovení cukrů. Detektory fluorescenční, které pracují na principu fluorescence, tedy že analyzované látky jsou schopny absorbovat UV záření a poté vysílají záření, které má vyšší vlnovou délku, které je následně detekováno fotonásobičem. Mohou se používat i detektory elektrochemické, které detekují v roztocích složky, které jsou oxidovatelné nebo redukovatelné reakcí na polarizovatelné elektrodě nebo detekce pomocí hmotnostní spektrometrie [59].



## 5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 5.1 Použité chemikálie

#### Chemikálie použité pro přípravu jedlých obalů

Furcellaran, Est-Agar AS

Hydrolyzát želatiny z kůže kapra

Glycerol, FICHEMA

Rozmarýn drcený, Avokádo

Rozmarýn lékařský, TITBIT

#### Chemikálie použité pro chemické analýzy

Folin-Ciocalteu roztok, p.a., PENTA

Uhlíčan sodný bezvodý, PENTA

Chlorid železitý hexahydrát, Carl Roth

TPTZ, Sigma-Aldrich

Octan sodný bezvodý, PENTA

Kyselina octová 99%, PENTA

Methanol pro HPLC, Fisher Scientific

Kyselina chlorovodíková 35%, PENTA

Hydroxid sodný p.a., PENTA

2,2-difenyl-1-picrylhydrazyl, Sigma-Aldrich

Ethanol 96%, Tereos TTD, a.s.

Kyselina o-fosforečná 85% p.a., PENTA

Acetonitril pro HPLC, Fisher Scientific

Kyselina gallová, Merck

Trolox, Sigma-Aldrich,

Rozmarýnová kyselina, Sigma-Aldrich

Kávová kyselina, Sigma-Aldrich

### 5.2 Přístroje

Mikrometr Mitotuyo č. 7327, Kawasaki

Sušárna Ecocell 55

Analytické váhy, KERN

Spektrofotometr CE7210 DIET-QUEST

Magnetická míchačka, IKA

Třepačka Kavalier LT 3

HPLC 1260 Infinity, Agilent Technologies

Texturometr TA.XT2i Stable Micro System

### 5.3 Charakteristika použitých mikroorganismů

Pro zjištění antimikrobiální aktivity byly použity plísně: *Aspergillus niger* a *Penicillium roqueforti* a bakterie *Micrococcus luteus*. Použité mikroorganismy byly získány z České sbírky mikroorganismů v Brně. Plísně byly kultivovány na GKCH médiu (Merck) při 25°C a bakterie na médiu GTK (Himedia) při 37°C a to po dobu 3 dní.

#### *Aspergillus niger*

Patří k nejobvyklejším zástupcům rodu *Aspergillus*. Má bílý až žlutý povrch mycelia, které bývá později překryto černými konidii. Hlavy konidií jsou velké zhruba 3 až 20 µm v průměru [61]. Konidiofory mají různou délku, která může dosahovat až do 3 mm. Vyznačuje se tím, že jeho kolonie rostou velmi rychle. Vyskytuje se především v teplejších oblastech a typicky na různých druzích potravin od potravin rostlinného původu až po živočišné. Patří mezi producenty mykotoxinu ochratoxinu A [62].

#### *Penicillium roqueforti*

Obdobně jako *Aspergillus niger* se vyznačuje rychle rostoucími koloniemi, které po kultivaci při 25°C po dobu 7 dnů dosahují průměru zhruba 40-70 mm. Jsou tmavozelené a mohou mít bílý třásňovitý okraj. Jeho optimální teplota růstu je od 4 do 35°C. *Penicillium roqueforti* se používá při výrobě sýrů, ale na potravinách nebo i krmivech se objevuje i jako kontaminant [63].

#### *Micrococcus luteus*

*Micrococcus luteus* se řadí mezi G+ bakterie, tedy bakterie, které mají buněčnou stěnu tvořenou peptidoglykanovou vrstvou obsahující teichoovou kyselinu [50]. Buňky nejsou pohyblivé a patří mezi aerobní mikroorganismy. Mezi hlavní diagnostické znaky patří jejich specifická schopnost růstu v prostředí s NaCl, kdy při obsahu 15 % NaCl už v médiu nerostou. Hydrolyzují želatinu, ale glukózu neokyselují [64].

### 5.4 Příprava vzorků

Bylo vyrobeno 7 druhů jedlých obalů se stejným základním složením skládajícím se z furcellaranu a hydrolyzované želatiny z kapra, do obalů bylo pak přidáváno různé množství vodného extraktu získaného z čerstvého a sušeného rozmarýnu.

Pro přípravu rostlinného extraktu bylo naváženo 10 g rozmarýnu, který byl následně zalit 50 ml vroucí destilované vody připravené ve varné konvici. Extrakt byl následně louhován po dobu 20 minut a poté přefiltrován přes filtrační papír.

Pro přípravu filmů bylo vždy nejprve naváženo 0,66 g hydrolyzované želatiny a 0,33 g furcellaranu. K želatině bylo přidáno 25 ml destilované vody, které bylo v případě použití rostlinných extraktů vždy v určitém poměru nahrazeno extraktem (např. pro obal s 5% obsahem extraktu bylo k želatině přidáno 22,75 ml vody a 2,25 ml extraktu). Želatina s vodou byla míchána na magnetické míchačce po dobu 20 min za teploty 50°C. Poté bylo do kádinky s furcellaranem přidáno 20 ml destilované vody a roztok byl krátce zahříván tak, aby se

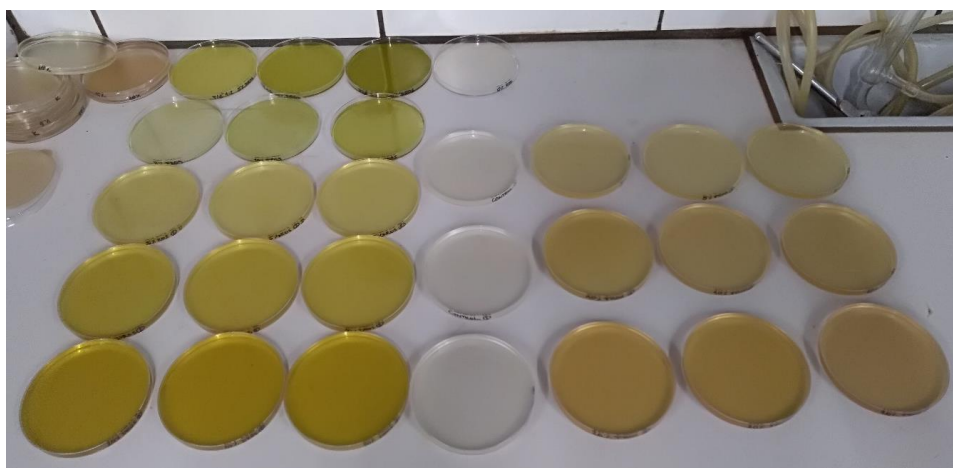
snížila jeho viskozita. Poté byla rozpuštěná želatina nalita k roztoku furcellaranu a celá směs byla míchána na magnetické míchačce po dobu 10 min za stejných podmínek, jak je uvedeno výše. Nakonec bylo přidáno 0,25 ml glycerolu, roztok byl míchán 5 minut a dále nalit do Petriho misek o průměru 9 cm (viz *Obrázek 17*). Obaly byly následně sušeny při laboratorní teplotě po dobu 48 hodin. Poté byly sloupnuty z Petriho misky (viz *Obrázek 18*) a použity pro analýzy. Složení obalů a pojmenování zkoumaných vzorků je uvádí Tabulka 1.

Tabulka 1: Složení jednotlivých vyrobených obalů

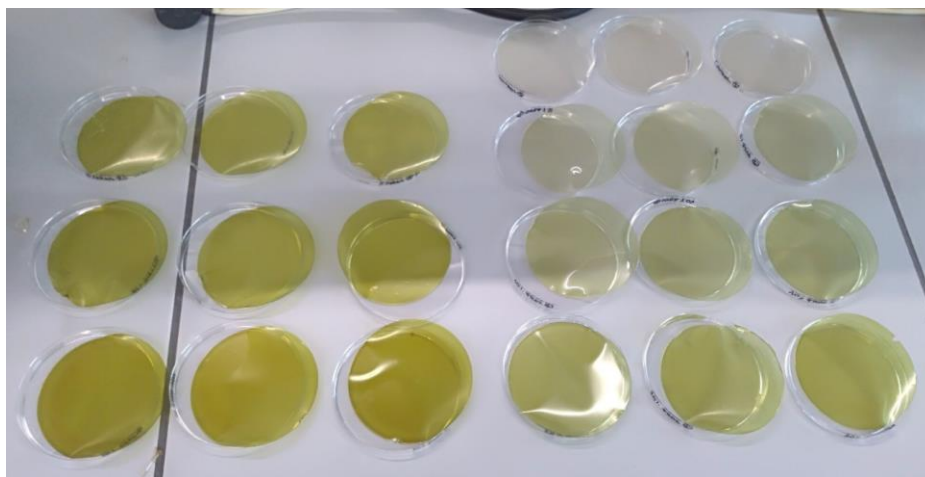
FILM	SLOŽENÍ
<b>KONTROLA</b>	Furcellaran:hydrolyzovaná želatina (1:2) + 0,55 % glycerolu
<b>5%FR</b>	Furcellaran:hydrolyzovaná želatina (1:2) + 0,55 % glycerolu + 5 % extraktu z čerstvého rozmarýnu
<b>10%FR</b>	Furcellaran:hydrolyzovaná želatina (1:2) + 0,55 % glycerolu + 10 % extraktu z čerstvého rozmarýnu
<b>20%FR</b>	Furcellaran:hydrolyzovaná želatina (1:2) + 0,55 % glycerolu + 20 % extraktu z čerstvého rozmarýnu
<b>5%DR</b>	Furcellaran:hydrolyzovaná želatina (1:2) + 0,55 % glycerolu + 5 % extraktu ze sušeného rozmarýnu
<b>10%DR</b>	Furcellaran:hydrolyzovaná želatina (1:2) + 0,55 % glycerolu + 10 % extraktu ze sušeného rozmarýnu
<b>20%DR</b>	Furcellaran:hydrolyzovaná želatina (1:2) + 0,55 % glycerolu + 20 % extraktu ze sušeného rozmarýnu

\*FR – extrakt z čerstvého rozmarýnu (fresh rosemary)

\*\*DR – extrakt ze sušeného rozmarýnu (dried rosemary)



*Obrázek 17*: Ukázka z výroby filmů (film formující roztoky na počátku sušení) – vlevo vzorky s přidavkem extraktu ze sušeného rozmarýnu, vpravo vzorky s přidavkem extraktu z čerstvého rozmarýnu, uprostřed kontrolní vzorky bez přidavku extraktu



*Obrázek 18:* Hotové obaly po vysušení – vlevo vzorky s přidavkem extraktu ze sušeného rozmarýnu, vpravo vzorky s přidavkem extraktu z čerstvého rozmarýnu, nahoře kontrolní vzorky bez přidavku extraktu

## 5.5 Analýzy fyzikálních vlastností jedlých obalů

### 5.5.1 Tloušťka filmů

Pro měření tloušťky vyrobených filmů byl použit mikrometr Mitotuyo č. 7327. Tloušťka se měřila vždy na 5 různých místech každého druhu obalu, z výsledných hodnot pak byla vypočítána průměrná tloušťka.

### 5.5.2 Obsah vody a rozpustnost

Pro zjištění obsahu vody a rozpustnosti byly nejprve z každého druhu filmu vystřiženy čtverce o rozměrech 2×2 cm, které byly následně zváženy na analytických vahách ( $m_1$ ). Čtverce filmů byly přendány na hodinové sklíčko a ponechány v sušárně (100°C) po dobu 2 hodin. Poté byly jednotlivé čtverce znovu zváženy ( $m_2$ ) a umístěny do kádínek s 20 ml vody, kde byly ponechány 24 hodin při laboratorní teplotě [65,66]. Obsah vody a rozpustnost byly vypočítány podle následujících vzorců (1) a (2):

$$\text{Obsah vody (\%)} = (m_1 - m_2 / m_1) \cdot 100 \quad (1)$$

$$\text{Rozpustnost (\%)} = (m_2 - m_4 / m_2) \cdot 100 \quad (2)$$

### 5.5.3 Pevnost v tahu a pružnost

Pevnost v tahu a pružnost byly měřeny texturometrem TA.XT2i Stable Micro System, kde byly naměřené hodnoty přepočítány dle následujících vzorců (3) a (4):

$$\text{Pevnost v tahu (MPa)} = F_{\max}/S \quad (3)$$

$$\text{pružnost (\%)} = (L_f - L_0/L_0) \cdot 100 \quad (4)$$

$F_{\max}$  – zatížení (N);  $S$  – oblast průřezu fólie ( $\text{mm}^2$ );  $L_f$  – konečná délka filmu v bodě zlomu;  $L_0$  – počáteční délka filmu

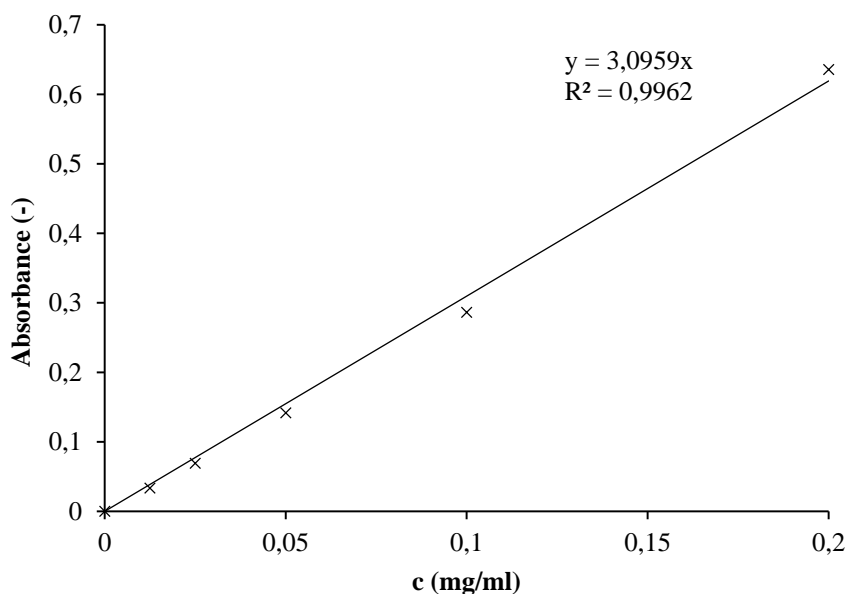
### 5.5.4 UV-Vis absorpční spektroskopie a transmitance

Pro měření UV-Vis spektra obalů byl použit přístroj spektrofotometr Spektrum bylo proměřeno v oblasti 300–600 nm. Hodnoty transmitance byly vypočítány pro jednu vlnovou délku v UV oblasti – 325 nm a pro jednu vlnovou délku ve Vis oblasti – 600 nm.

## 5.6 Analýza chemických vlastností jedlých obalů

### 5.6.1 Celkový počet polyfenolů

Celkový obsah polyfenolických látek byl stanoven za použití metody Folin-Ciocalteu [67]. Ze vzorku byl odvážen 1 g, ke kterému bylo přidáno 10 ml destilované vody. Vzorek byl 10 minut třepán a následně přefiltrován. Byl odebrán 1 ml filtrátu, který byl pipetován do 25 ml odměrné baňky. Ke vzorku bylo přidáno 5 ml Folin-Ciocalteu roztoku a 4 ml roztoku  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (75 g/l). Následovala inkubace 30 minut ve tmě a poté byla změřena absorbance při 765 nm. Pro přípravu blanku byla na místo 1 ml filtrátu použita destilovaná voda. Pro přípravu kalibrační křivky (viz *Graf 1*) byl použit roztok kyseliny gallové o koncentracích (0–0,2 mg/ml).

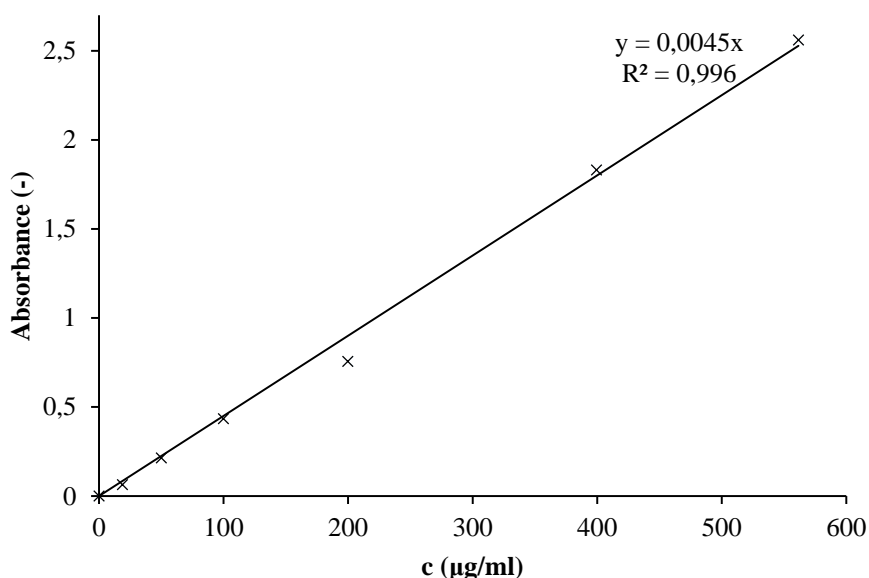


*Graf 1:* Kalibrační křivka pro stanovení TPC

### 5.6.2 Metoda FRAP pro stanovení antioxidační aktivity

U metody ferric reducing antioxidant activity (FRAP) byl nejprve připraven pracovní roztok skládající se z roztoku  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , octanového pufru a roztoku TPTZ. Z každého vzorku bylo naváženo 0,1 g, který byl následně extrahován ve 20 ml 75% methanolu v ultrazvukové lázni po dobu 30 minut. Po extrakci byly vzorky přefiltrovány a pro reakci bylo odebráno 180  $\mu\text{l}$ , které byly smíchány s 3,6 ml pracovního roztoku složeného z 300mM octanového pufru, 10mM TPTZ a 20mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Po 8 minutách inkubace za tmy byla změřena absorbance při 593 nm. Pro přípravu kalibrační křivky byl použit standard Troloxu [68].

Pro stanovení antioxidační aktivity metodou byl nejprve použit standard Troloxu pro stanovení kalibrační rovnice (viz *Graf 2*), kdy byly použity roztoky o koncentraci 0 až 561,6  $\mu\text{g/ml}$ . Výsledná korelace vyšla více než 99 % a pro výpočet AA byla použita rovnice  $y = 0,0045x$ .



*Graf 2*: Kalibrační křivka pro stanovení antioxidační aktivity metodou FRAP

### 5.6.3 Metoda DPPH pro stanovení antioxidační aktivity

Pro metodu s použitím 2,2-difenyl-1-picrylhydrazylu (DPPH) bylo ze vzorku opět naváženo 0,1 g a extrahováno ve 20 ml 75% methanolu v ultrazvukové lázni po dobu 30 minut. Dále bylo smícháno 0,1 ml přefiltrovaného roztoku vzorku a 3 ml 0,1M roztoku DPPH. Po 30 minutách inkubace za tmy byla změřena absorbance při 517 nm. Výsledky pak byly vypočítány pomocí následující rovnice (5) [69]:

$$\text{DPPH}_{\text{scavenging aktivity}} (\%) = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{vzorek}}) / A_{\text{DPPH}}] \cdot 100 \quad (5)$$

#### 5.6.4 Jedlý film jako inteligentní materiál

Vyrobené filmy byly nastříhány na čtverce o rozměrech 2×2 cm a ponořeny do 10 ml 1M HCl o pH = 3 a do 1M NaOH o pH = 12. Změna barvy obalů byla zaznamenána použitím fotoaparátu [3].

#### 5.6.5 Stanovení polyfenolů pomocí HPLC

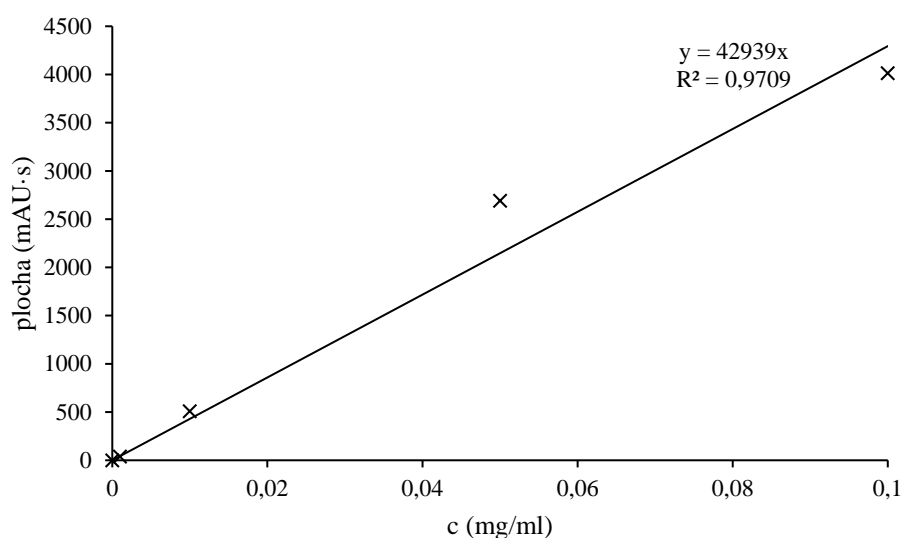
Pro stanovení byl nejprve film nastříhán na menší kousky a poté byl do Erlenmeyerových baněk navážen 1 g vzorku, ke kterému bylo přidáno 75 ml extrakční směsi ve složení methanol:voda 1:1. Vzorky byly ponechány extrahovat po dobu 3 dnů v temnotě a poté byly přefiltrovány přes 0,45 μm filtr do vialky ke stanovení.

Jako mobilní fáze byla použita 1% fosforečná kyselina ve vodě (A) a acetonitril (B), kdy byla použita gradientová eluce (viz Tabulka 2). Analýza trvala 40 minut s nástřikem vzorku 10 μl a průtokem 1000 μl/min. Byla použita kolona Zorbax SB-C18 4,6×250 mm. Detekce probíhala pomocí DAD detektoru při vlnové délce 324 nm [70].

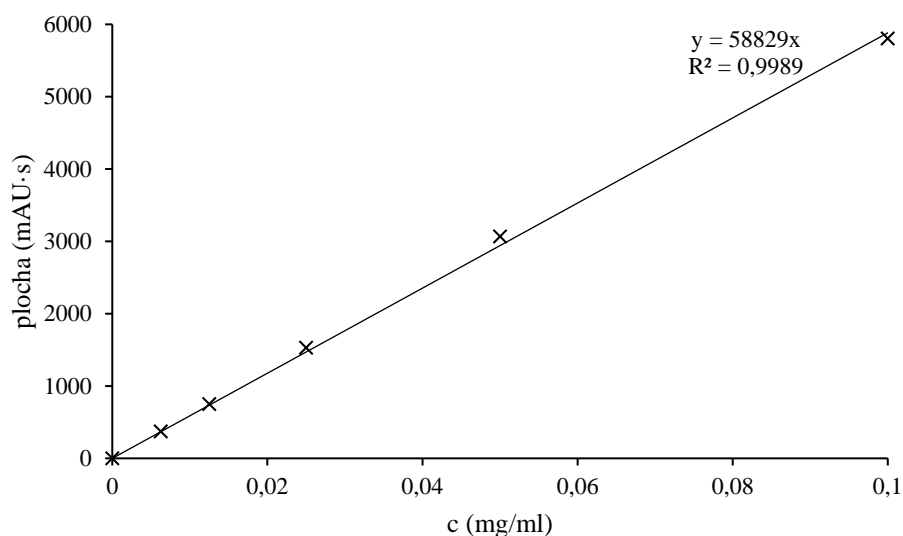
Tabulka 2: Průběh gradientové eluce

ČAS (MIN)	A	B
	1% KYSELINA FOSFOREČNÁ (%)	ACETONITRIL (%)
1.-20.	80	20
20.-25.	70	30
25.-40.	60	40

Pro možnost kvantitativního stanovení polyfenolických látek byla připravena kalibrační řada roztoků kyseliny rozmarýnové (0,1–0,005 mg/ml) a kyseliny kávové (0,1–0,00625 mg/ml) viz Graf 3 a Graf 4.



Graf 3: Kalibrační křivka kyseliny rozmarýnové



Graf 4: Kalibrační křivka kyseliny kávové

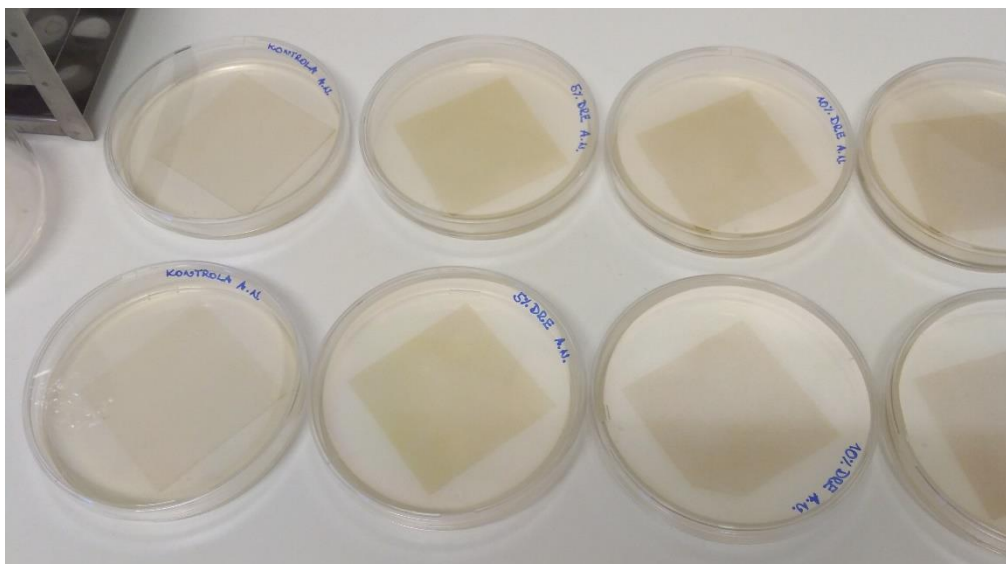
## 5.7 Metoda testování antimikrobiálních vlastností

Analýza antimikrobiálních vlastností vyrobených jedlých obalů byla provedena podle certifikované metodiky TA03010546 CM 1 s názvem Metodika testování mikrobiologických a antimikrobiálních vlastností aktivních obalů s antimikrobiální vrstvou [56].

Hodnocení antimikrobiálních vlastností bylo provedeno pomocí metody s obalem na dně Petriho misky, kdy nejprve jedna klička kmene *Micrococcus luteus* byla suspendována v 9 ml fyziologického roztoku. Z takto připraveného roztoku byla poté do Erlenmeyerovy baňky obsahující GTK médium naočkována 3 % obj. a takto připravená půda byla nalita na Petriho misku obsahující hodnocený obal ve tvaru čtverce o rozměru 5×5 cm (viz *Obrázek 19*). Misky poté byly ponechány inkubovat při 37°C po dobu 3 dnů. Pro každý hodnocený obal byla provedena dvě paralelní stanovení.

Hodnocení antifungálních vlastností bylo provedeno za použití mikroorganismů *Aspergillus niger* a *Penicillium roqueforti*, kdy jedna klička kmene plísni byla suspendována v 9 ml fyziologického roztoku a dále pak bylo provedeno očkování přelivem, kdy nejprve na Petriho misku bylo napipetováno 0,5 ml suspenze plísni, která byla poté zalita GKCH půdou. Po utužení půdy byl na každou Petriho misku položen jeden kus zkoumaných obalů ve formě čtverce o rozměru 5×5 cm. Poté následovala inkubace po dobu 3 dnů při 25°C. Pro každý hodnocený obal byla provedena dvě paralelní stanovení.





*Obrázek 19:* Ukázka vzorků při analýze antimikrobiálních vlastností před započítím kultivace

## **5.8 Statistické zpracování dat**

Pro statistické zpracování dat byl použit jednofaktorový ANOVA test, kdy byl použit parametrický Tukey post hoc test (v případě, kdy Levenův test ukázal stejné odchylky  $p > 0,05$ ) a neparametrický Games-Howell post hoc test (v případě, kdy Levenův test ukázal nestejně odchylné odchylky  $p < 0,05$ ) pro nalezení rozdílů mezi skupinami. Pro celkové zhodnocení výsledků byla také provedena PCA analýza, tedy analýza základních komponentů. Vše bylo provedeno v programu SPSS 20 od společnosti IBM Corporation, Armonk, USA.

## 6 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 6.1 Obsah vody, rozpustnost a tloušťka filmů

Obsah vody, rozpustnost a měření tloušťky filmů byly provedeny dle kap. 5.5.1 a 5.5.2 a zobrazuje je Tabulka 3, *Graf 5* a *Graf 6*). Obsah vody se ve vzorcích s přidavkem extraktu postupně zvyšoval. Signifikantně významný rozdíl byl pozorován mezi kontrolním vzorkem a vzorky 10%FR, 20%FR, 10%DR a 20%DR. Obsah vody ve vzorcích s větším přidavkem extraktu se mohl zvyšovat díky hydrofilní povaze rozmarýnové kyseliny, která je obsažena v extraktech, mohlo tedy docházet ke vzniku vodíkových vazeb mezi molekulami vody a funkčními skupinami OH-, -NH<sub>2</sub> a -COOH [71].

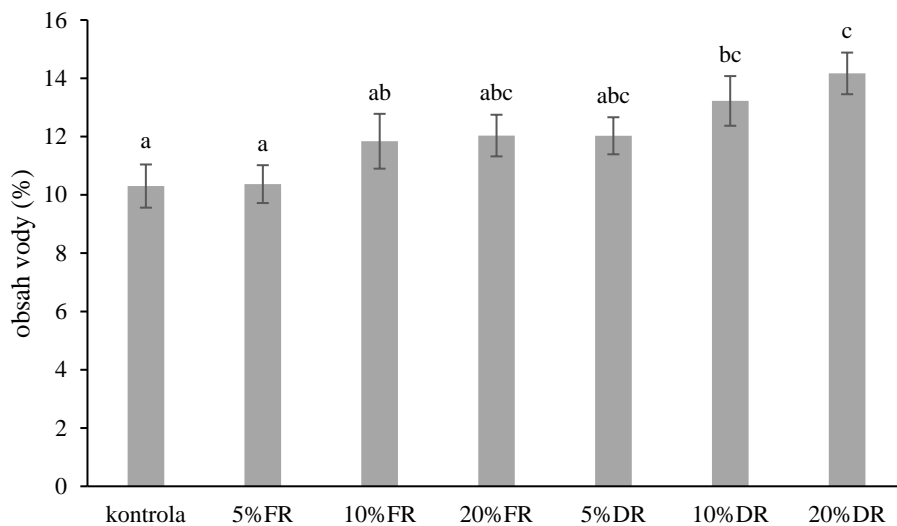
Rozpustnost byla u všech zkoumaných obalů stejná – 100 %. Díky této vlastnosti bylo zjištěno, že obal nemůže fungovat jako ochrana potravin před vodou (např. suché potraviny – sušené ovoce apod.) naopak u jiných typů potravin by tato vlastnost mohla mít pozitivní vliv, například pro balení párků, kdy by se obal rozpustil při vaření. Vyšší rozpustnost obalů mohla být zapříčiněna díky polyfenolům, které dokáží vytvářet slabé rozpustné komplexy spolu s hydrolyzátem želatiny, díky čemuž pak dochází k vyšším hodnotám rozpustnosti [72].

Při měření tloušťky filmů bylo zjištěno, že se tloušťka s přidavkem extraktu zvyšuje, což může způsobeno obsaženými polyfenolickými látkami v rostlinných extraktech, které dokáží interagovat s polymerními látkami přítomnými v obalu, v našem případě s furcellaranem a želatinou [73].

Tabulka 3: Výsledky obsahu vody, rozpustnosti a tloušťky filmů

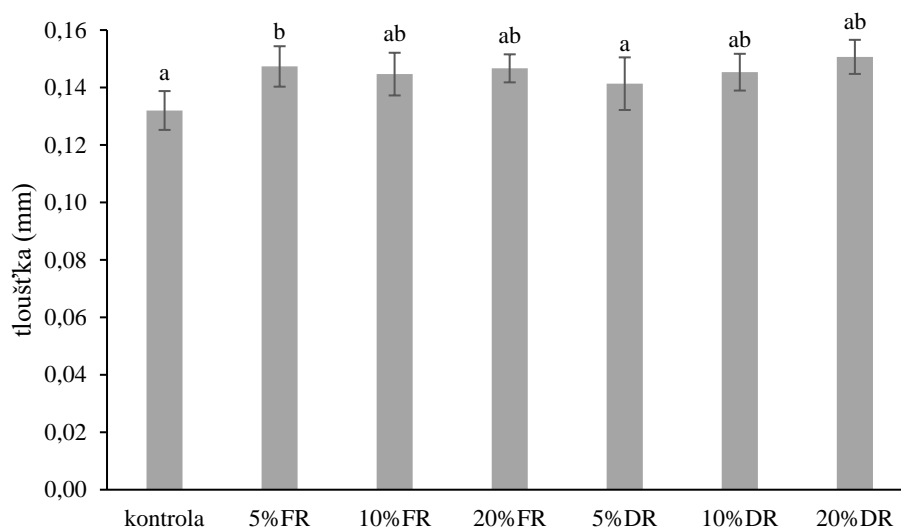
FILM	OBSAH VODY (%)	ROZPUSTNOST (%)	TLOUŠŤKA (mm)
<b>KONTROLA</b>	10,302 ± 0,741 <sup>a</sup>	100,00 ± 0,00	0,132 ± 0,007 <sup>a</sup>
<b>5%FR</b>	10,369 ± 0,650 <sup>a</sup>	100,00 ± 0,00	0,147 ± 0,007 <sup>b</sup>
<b>10%FR</b>	11,840 ± 0,941 <sup>ab</sup>	100,00 ± 0,00	0,145 ± 0,007 <sup>ab</sup>
<b>20%FR</b>	12,035 ± 0,715 <sup>abc</sup>	100,00 ± 0,00	0,147 ± 0,005 <sup>ab</sup>
<b>5%DR</b>	12,028 ± 0,636 <sup>abc</sup>	100,00 ± 0,00	0,141 ± 0,009 <sup>a</sup>
<b>10%DR</b>	13,224 ± 0,852 <sup>bc</sup>	100,00 ± 0,00	0,145 ± 0,006 <sup>ab</sup>
<b>20%DR</b>	14,168 ± 0,715 <sup>c</sup>	100,00 ± 0,00	0,151 ± 0,006 <sup>ab</sup>

\*písmena v horním indexu značí statisticky významné rozdíly mezi vzorky v rámci sloupce (p<0,05)



\*písmena v horním indexu značí statisticky významné rozdíly mezi vzorky v rámci sloupce ( $p < 0,05$ )

*Graf 5: Výsledky obsahu vody ve filmech*



\*písmena v horním indexu značí statisticky významné rozdíly mezi vzorky v rámci sloupce ( $p < 0,05$ )

*Graf 6: Výsledky měření tloušťky filmů*

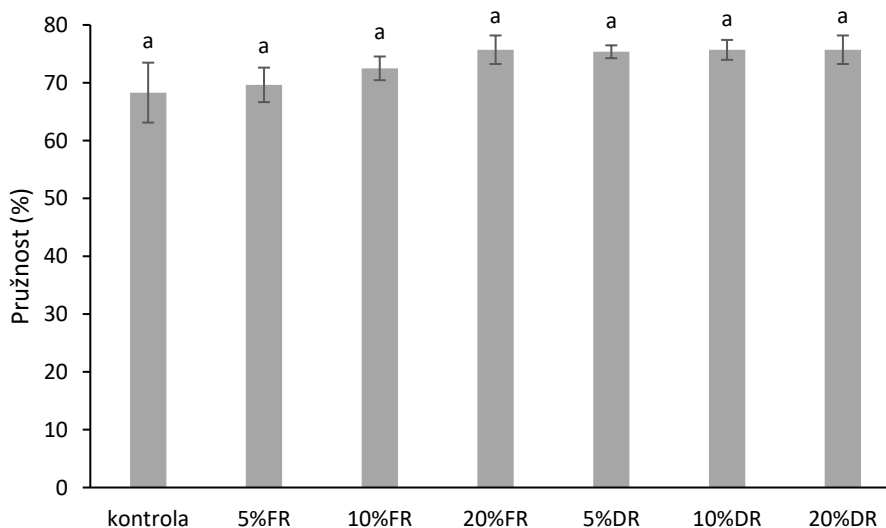
## 6.2 Pevnost v tahu a pružnost

Analýza byla provedena podle kap. 5.5.3 a přidavek extraktu do obalů měl u pevnosti v tahu a pružnosti opět zvyšující charakter (viz Tabulka 4, *Graf 7* a *Graf 8*). Bylo pozorováno, že čím vyšší je přidavek rozmarýnového extraktu, tím vyšší je pružnost získaného produktu, zároveň se zvyšuje i jeho pevnost. Zároveň však v případě pružnosti nebyly pozorovány statisticky významné rozdíly, oproti tomu v případě pevnosti v tahu už byly pozorovány statisticky významné rozdíly mezi kontrolním vzorkem a vzorky 20%FR a 20%DR. Nejlepších výsledků pak dosahuje obal s 20% přídavkem extraktu ze sušeného rozmarýnu. Zvyšující se charakter obou zkoumaných vlastností mohl být způsoben interkacemi polyfenolů s vedlejšími řetězci aminokyseliny, kdy tato interakce vede k pevnějším ale zároveň pružnějším filmům [74].

Tabulka 4: Výsledky mechanických vlastností filmů (pružnost, pevnost v tahu)

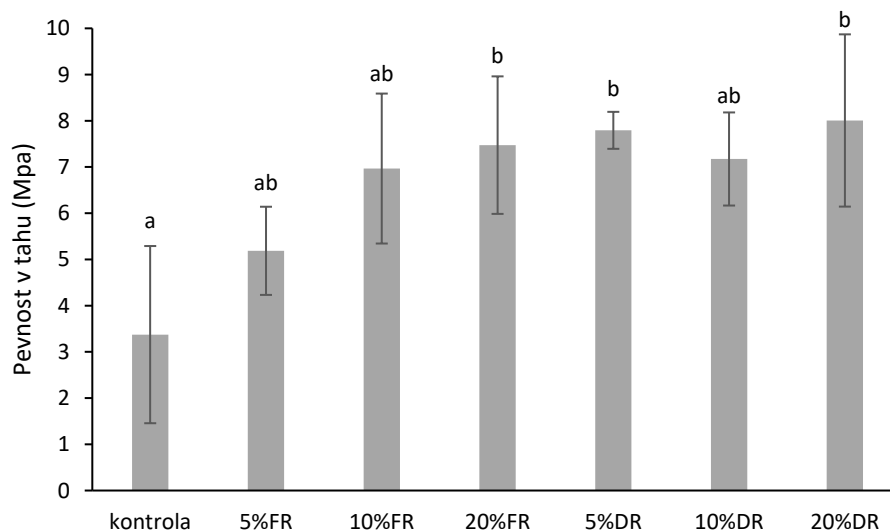
FILM	PRUŽNOST (%)	PEVNOST V TAHU (MPa)
<b>KONTROLA</b>	68,29 ± 5,18 <sup>a</sup>	3,37 ± 1,92 <sup>a</sup>
<b>5%FR</b>	69,63 ± 2,98 <sup>a</sup>	5,19 ± 0,95 <sup>ab</sup>
<b>10%FR</b>	72,49 ± 2,05 <sup>a</sup>	6,97 ± 1,62 <sup>ab</sup>
<b>20%FR</b>	75,71 ± 2,47 <sup>a</sup>	7,47 ± 1,49 <sup>b</sup>
<b>5%DR</b>	75,36 ± 1,11 <sup>a</sup>	7,79 ± 0,40 <sup>b</sup>
<b>10%DR</b>	75,69 ± 1,72 <sup>a</sup>	7,17 ± 1,01 <sup>ab</sup>
<b>20%DR</b>	75,71 ± 2,47 <sup>a</sup>	8,01 ± 1,86 <sup>b</sup>

\*písmena v horním indexu značí statisticky významné rozdíly mezi vzorky v rámci sloupce (p<0,05)



\*písmena v horním indexu značí statisticky významné rozdíly mezi vzorky v rámci sloupce (p<0,05)

*Graf 7: Výsledky pružnosti filmů*

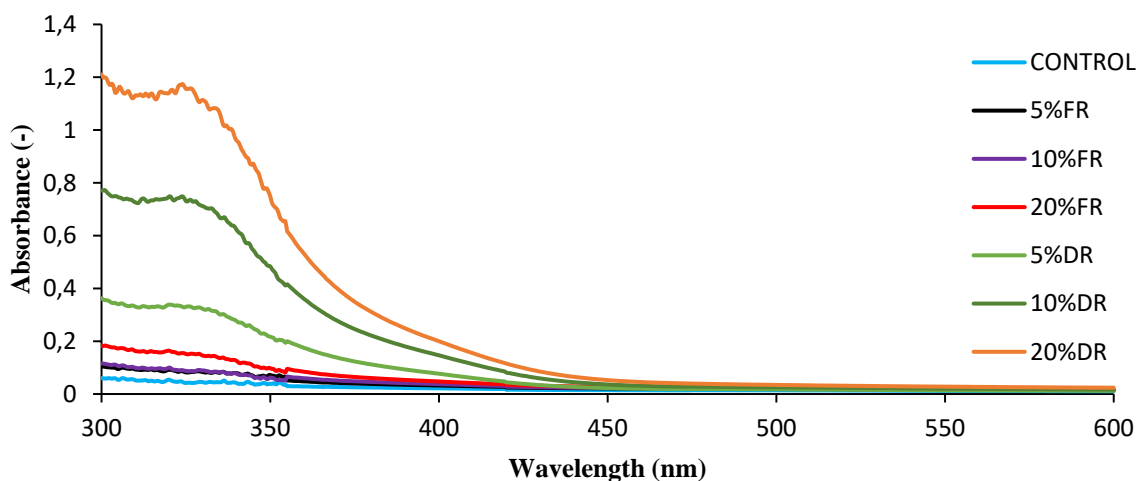


\*písmena v horním indexu značí statisticky významné rozdíly mezi vzorky v rámci sloupce ( $p < 0,05$ )

*Graf 8:* Výsledky pevnosti v tahu filmů

### 6.3 UV-Vis absorpční spektroskopie a transmittance

U měření UV-Vis provedeného dle kap. 5.5.4 bylo zjištěno, že vzorky mají rozdílnou absorpční schopnost především v rozmezí vlnových délek v UV oblasti (viz *Graf 9*). Nejnížší hodnoty byly naměřeny u kontroly, která neobsahovala žádný přídatek extraktů, zatímco u vzorku s 20% přídatkem extraktu ze sušeného rozmarýnu byly hodnoty nejvyšší. V UV oblasti byla pro vlnovou délku 325 nm a ve viditelné oblasti pro vlnovou délku 600 nm přepočítána absorpce na transmittanci (viz Tabulka 5), pomocí které bylo potvrzeno, že v případě kontroly není tento typ obalu schopen pohltit vyšší procento UV záření, to znamená, že tento druh záření dopadá i na balenou potravinu. Zatímco u dalších vzorků už se tato hodnota snižovala, mezi kontrolou a vzorky 5%DR, 10%DR a 20% byly zaznamenány statisticky významné rozdíly. Hodnota transmittance klesala až na 7,04 % u 20%DR, kde tedy tento obal funguje jako bariéra proti tomuto druhu záření a může tak potravinu chránit před dalším poškozením. Ochrana proti UV je způsobena přítomností aromatických sloučenin v extraktu z rozmarýnu nebo také aromatických aminokyselin, které se mohou nacházet v hydrolyzátu želatiny [75].



Graf 9: UV-Vis spektrum pro jednotlivé druhy filmů

Tabulka 5: Výsledky transmittance pro UV oblast (325 nm) a Vis oblast (600 nm)

FILM	T <sub>325</sub> (%)	T <sub>600</sub> (%)
<b>KONTROLA</b>	90,82 ± 1,55 <sup>f</sup>	97,62 ± 0,53 <sup>c</sup>
<b>5%FR</b>	82,78 ± 0,61 <sup>ef</sup>	96,61 ± 0,48 <sup>bc</sup>
<b>10%FR</b>	78,40 ± 6,45 <sup>de</sup>	96,60 ± 0,33 <sup>bc</sup>
<b>20%FR</b>	70,54 ± 3,75 <sup>d</sup>	96,63 ± 0,47 <sup>bc</sup>
<b>5%DR</b>	46,78 ± 2,58 <sup>c</sup>	97,23 ± 0,42 <sup>bc</sup>
<b>10%DR</b>	18,72 ± 2,95 <sup>b</sup>	96,22 ± 0,45 <sup>b</sup>
<b>20%DR</b>	7,04 ± 1,05 <sup>a</sup>	94,61 ± 0,33 <sup>a</sup>

\*písmena v horním indexu značí statisticky významné rozdíly mezi vzorky v rámci sloupce (p<0,05)

#### 6.4 Stanovení celkového počtu polyfenolů

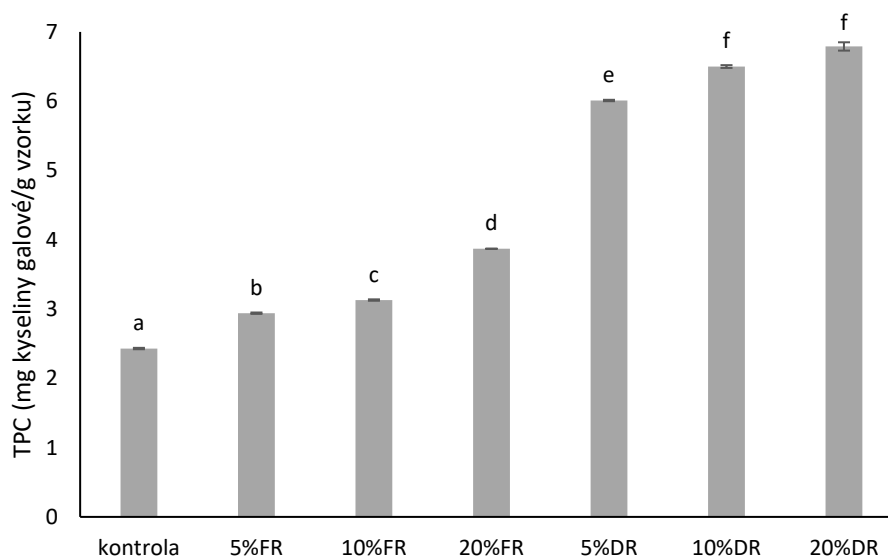
U celkového počtu polyfenolů (TPC) stanoveného dle kap. 5.6.1 (viz Tabulka 6 a Graf 10) byly nejvyšší hodnoty naměřeny u 20%DR, kdy bylo dokázáno, že 20%FR nemá tolik polyfenolických látek jako 20%DR. Vyšší obsah polyfenolických v sušeném rozmarýnu může být způsobený absencí vody, dochází tak k zakoncentrování polyfenolů [77]. Zároveň je také zajímavé, že byla zjištěna určitá antioxidační aktivita i u kontrolního vzorku bez přídavku extraktu, k tomu mohlo dojít díky antioxidačním vlastnostem hydrolyzované želatiny, která může obsahovat peptidy mající tuto vlastnost [78].

Vysoký obsah polyfenolů v obalech má výhodné vlastnosti pro potenciální balení potravin, protože se polyfenolické látky mohou uvolňovat do balených potravin, obohacovat je a tedy zlepšovat jejich vlastnosti pro spotřebitele. Obal tedy může potenciálně fungovat jako aktivní obal pro potraviny.

Tabulka 6: Hodnoty celkového obsahu polyfenolů

FILM	CELKOVÝ POČET POLYFENOLŮ (mg KYSELINY GALOVÉ/g VZORKU)
<b>KONTROLA</b>	2,43 ± 0,01 <sup>a</sup>
<b>5%FR</b>	2,94 ± 0,01 <sup>b</sup>
<b>10%FR</b>	3,13 ± 0,01 <sup>c</sup>
<b>20%FR</b>	3,87 ± 0,00 <sup>d</sup>
<b>5%DR</b>	6,01 ± 0,01 <sup>e</sup>
<b>10%DR</b>	6,50 ± 0,02 <sup>f</sup>
<b>20%DR</b>	6,79 ± 0,06 <sup>f</sup>

\*písmena v horním indexu značí statisticky významné rozdíly mezi vzorky v rámci sloupce (p<0,05)



\*písmena v horním indexu značí statisticky významné rozdíly mezi vzorky v rámci sloupce (p<0,05)

Graf 10: Výsledky obsahu celkového počtu polyfenolů ve filmech

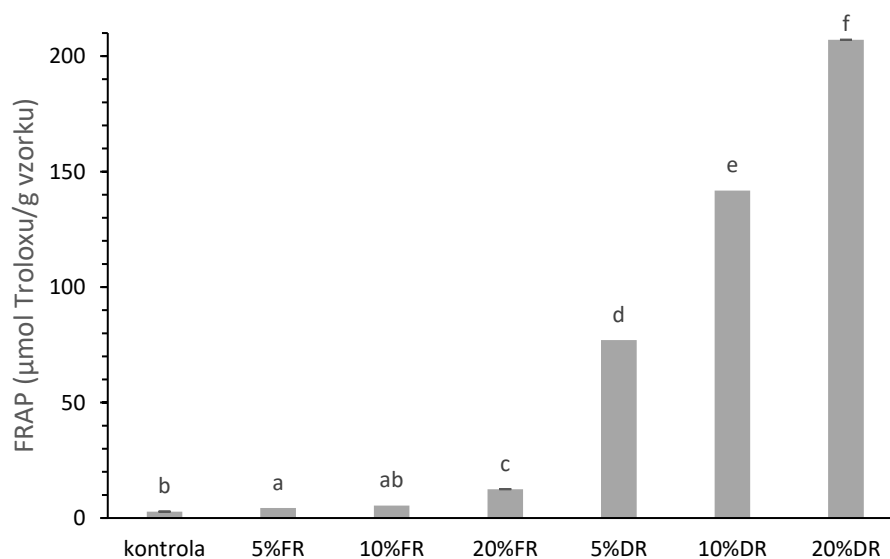
## 6.5 Stanovení antioxidační aktivity metodou FRAP

Při stanovení AA metodou FRAP dle kap. 5.6.2 (viz Tabulka 7 a Graf 11) bylo zjištěno, že se AA s přidavkem extraktu zvyšuje, kdy u FR obalů se maximální hodnota objevila u 20%FR (12,49  $\mu\text{mol/g}$ ) a u DR obalů u 20%DR (207,08  $\mu\text{mol/g}$ ), což je více než 16 $\times$  vyšší hodnota. Získané výsledky korelují s výsledky získanými u TPC, kdy tedy čím více polyfenolických látek, tím je vyšší antioxidační aktivita. Pro balení potravin jsou tyto hodnoty velmi důležité, protože antioxidační aktivita obalu dokáže potravinu chránit před oxidací a tedy prodloužit její dobu skladování [2].

Tabulka 7: Hodnoty antioxidační aktivity stanovené metodou FRAP

FILM	FRAP ( $\mu\text{mol TROLOXU/g VZORKU}$ )
<b>KONTROLA</b>	$2,78 \pm 0,04^b$
<b>5%FR</b>	$4,36 \pm 0,02^a$
<b>10%FR</b>	$5,37 \pm 0,06^{ab}$
<b>20%FR</b>	$12,49 \pm 0,12^c$
<b>5%DR</b>	$77,03 \pm 0,61^d$
<b>10%DR</b>	$141,76 \pm 0,96^e$
<b>20%DR</b>	$207,08 \pm 1,30^f$

\*písmena v horním indexu značí statisticky významné rozdíly mezi vzorky v rámci sloupce ( $p < 0,05$ )



\*písmena v horním indexu značí statisticky významné rozdíly mezi vzorky v rámci sloupce ( $p < 0,05$ )

Graf 11: Výsledky měření antioxidační aktivity metodou FRAP



## 6.6 Stanovení antioxidační aktivity metodou DPPH

Pro stanovení antioxidační aktivity byla použita metoda DPPH dle kap. 5.6.3 (viz Tabulka 8), kdy obal bez přídavku extraktu a také obaly s přídavkem extraktu z čerstvého rozmarýnu nevykazovaly žádnou antioxidační aktivitu až na 20%FR, tedy nebyly schopny redukovat radikál a nedocházelo ke změně zabarvení roztoku z fialové na žlutou. Zatímco obaly s přídavkem extraktu ze sušeného rozmarýnu vykazovaly antioxidační aktivitu až do výše 87,84 % u 20%DR. Zde opět antioxidační aktivita koreluje s obsahem polyfenolů. Oproti metodě FRAP je metoda DPPH výhodnější díky průběhu reakce při středních hodnotách pH, zatímco u metody FRAP je reakce prováděna při nižších hodnotách pH (pH=3,6), kvůli zachování rozpustnosti železa. Tato nízká hodnota pH však může ovlivnit reakci samotnou a tedy i získané výsledky [79].

Tabulka 8: Hodnoty antioxidační aktivity stanovené metodou DPPH

FILM	DPPH (%)
KONTROLA	n.d.
5%FR	n.d.
10%FR	n.d.
20%FR	0,58 ± 0,10 <sup>a</sup>
5%DR	60,47 ± 0,03 <sup>b</sup>
10%DR	81,40 ± 0,14 <sup>c</sup>
20%DR	87,84 ± 0,07 <sup>d</sup>

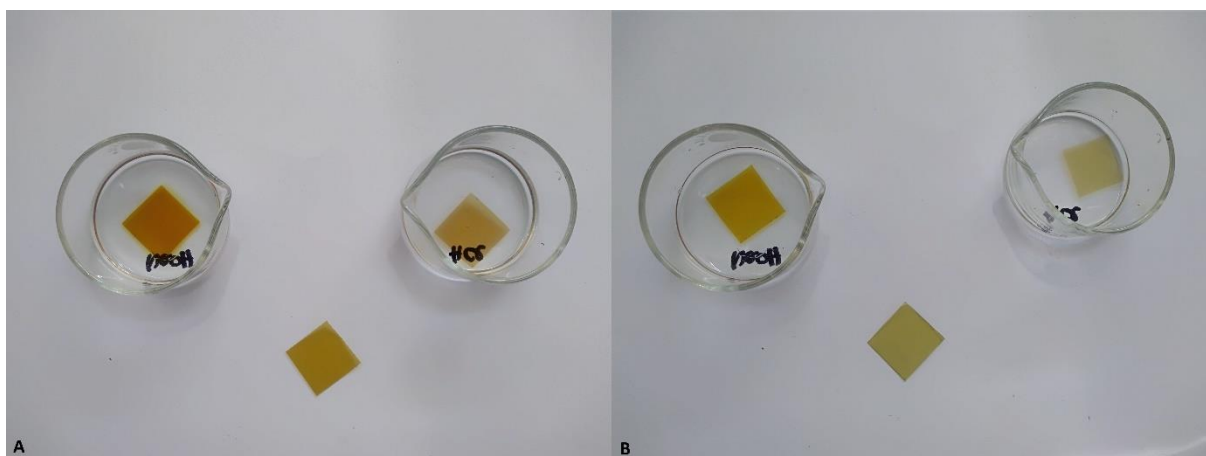
\*písmena v horním indexu značí statisticky významné rozdíly mezi vzorky v rámci sloupce (p<0,05)

\*\*n.d. - nebylo detekováno

## 6.7 Jedlý film jako inteligentní materiál

Jedlé filmy mohou po přídavku různých aditiv fungovat jako inteligentní materiál, tato vlastnost byla zkoumána podle kap. 5.5.4. Film dokáže reagovat změnou zabarvení na základě změny pH. *Obrázek 20* ukazuje změnu zabarvení, v kádince na levo se nachází 1M roztok NaOH a v kádince vpravo se nachází 1M HCl. V zásaditém prostředí je vidět výrazná změna zabarvení u vzorku s 20% obsahem extraktu ze sušeného rozmarýnu. Naopak v kyselém prostředí je výraznější změna u filmu s obsahem 20% extraktu z čerstvého rozmarýnu. Tento test slouží především k tomu, abychom ověřili, jestli film nemůže fungovat jako indikátor kažení potravin, protože během kažení dochází ke změně pH, na které může film reagovat a zákazník tak může podle zabarvení filmu určit, jestli už potravina není zkažená.

Za změnu zabarvení při změně pH jsou zodpovědně především barviva obsažená v rozmarýnu, tedy chlorofyly, které mají tuto schopnost [3].



Obrázek 20: Ukázka změny zabarvení filmu v kyselém a zásaditém prostředí: A) 20%DR (vlevo roztok NaOH, vpravo roztok HCl) B) 20%FR (vlevo roztok NaOH, vpravo roztok HCl)

## 6.8 HPLC analýza polyfenolických sloučenin v obalech

V případě spektrofotometrického stanovení celkového obsahu polyfenolů bylo zjištěno, že se v obalech nachází velké množství těchto látek, proto byla provedena i analýza na HPLC dle kap. 5.6.5 (viz Tabulka 9) pro přesnější zjištění jaké polyfenolické látky se v obalech s přidavkem extraktu z rozmarýnu nachází.

Pro určení byly použity 3 standardy polyfenolických sloučenin, a to rozmarýnová kyselina, kávová kyselina a chlorogenová kyselina.

V případě kyseliny chlorogenové nebyla potvrzena její přítomnost, mohla se nacházet i pod detekčním limitem metody. Kyseliny kávové se ve vzorcích nacházelo velmi malé množství menší než 0,1 mg/g vzorku, ale s přidavkem extraktu se její množství zvyšovalo. Zatímco kyseliny rozmarýnové se nacházelo ve vzorcích už poměrně velké množství. Nejvyšších hodnot bylo dosaženo u 20%DR (2,1478 mg/g). U vzorků kontroly, 5%FR a 10%FR nebyla detekována ani kyselina rozmarýnová ani kyselina kávová, ve vzorcích se pravděpodobně nacházel pod detekčním limitem. Také byl zjištěn statisticky významný rozdíl mezi všemi zkoumanými vzorky.

Obsah polyfenolických látek potvrzují i výsledky antioxidační aktivity, protože polyfenoly mají antioxidační vlastnosti. Tudíž u obalů s vyšším obsahem polyfenolů byla zjištěna i vyšší antioxidační aktivita. Zároveň bylo potvrzeno, že kyselina rozmarýnová je ze zkoumaných látek nejdominantnější polyfenolická sloučenina [39].

Tabulka 9: Obsah rozmarýnové a kávové kyseliny ve zkoumaných obalech

FILM	ROZMARÝNOVÁ KYSELINA (mg/g)	KÁVOVÁ KYSELINA (mg/g)
KONTROLA	n.d.	n.d.
5%FR	n.d.	n.d.
10%FR	n.d.	n.d.
20%FR	0,0122 ± 0,0006 <sup>a</sup>	0,0101 ± 0,0003 <sup>a</sup>
5%DR	0,7053 ± 0,0075 <sup>b</sup>	0,0318 ± 0,0009 <sup>b</sup>
10%DR	1,3457 ± 0,0226 <sup>c</sup>	0,0567 ± 0,0010 <sup>c</sup>
20%DR	2,1478 ± 0,0176 <sup>d</sup>	0,0943 ± 0,0020 <sup>d</sup>

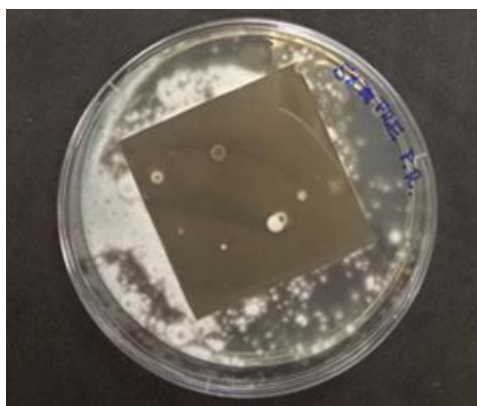
\*písmena v horním indexu značí statisticky významné rozdíly mezi vzorky v rámci sloupce (p<0,05)

\*\*n.d. - nebylo detekováno

## 6.9 Testování antimikrobiálních vlastností

Jako doplňková analýza pro zjištění, zda vyrobené obaly mají i další pozitivní vlastnosti, byla provedena analýza antimikrobiálních vlastností dle kap. 5.7. U metody nebyly po uplynutí 3 dnů inkubace pozorovány inhibiční zóny u žádného ze zkoumaných obalů oproti všem použitým mikroorganismům (viz *Obrázek 21*).

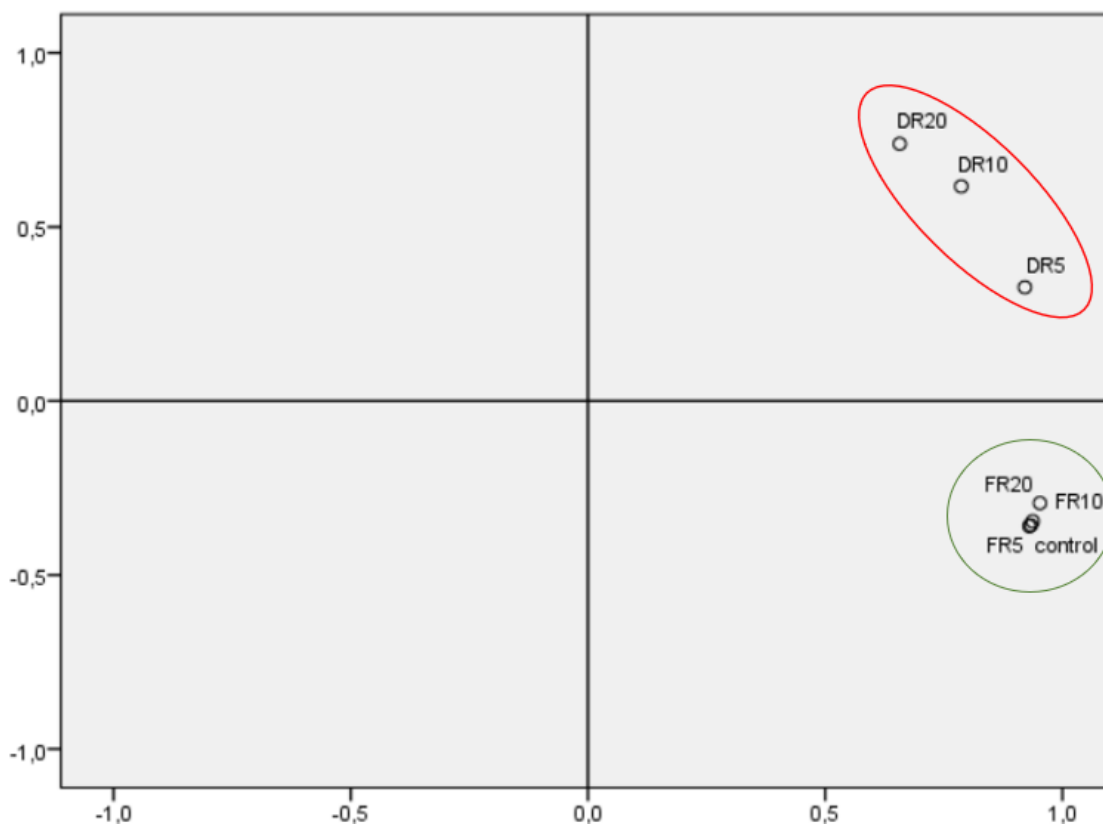
Bylo tedy zjištěno, že extrakt z rozmarýnu nemá dostatečný antimikrobiální efekt, obdobně byla tato informace potvrzena i v jiných výzkumech, kdy nebyla pozorována inhibice růstu v případě použití ethanolového extraktu rozmarýnu oproti MO *A. niger* a *P. roqueforti* [80]. A ke stejným výsledkům došlo i při zkoumání antimikrobiální aktivity esenciálního oleje získaného z rozmarýnu [81].



*Obrázek 21:* Výsledky analýzy antimikrobiální aktivity pro vzorek 5%FR na miskách zaočkovaných MO *Penicillium roqueforti*

## 6.10 Analýza základních komponentů

Pro všechny zkoumané vzorky byla provedena analýza základních komponentů dle kap. 5.8, kdy při srovnání všech výsledků z jednotlivých provedených analýz byly vzorky rozděleny do dvou skupin (viz *Obrázek 22*). Ve skupině označené zeleným kruhem se nachází kontrolní vzorek spolu se vzorky s přidavkem extraktu z čerstvého rozmarýnu. Ve druhé skupině se nachází pak všechny vzorky s přidavkem extraktu ze sušeného rozmarýnu. Z analýzy bylo tedy odvozeno, že DR obaly mají rozdílné a při porovnání číselných hodnot i lepší vlastnosti, než obaly ze druhé skupiny a měly by být tedy vhodnější pro aplikaci v potravinářském průmyslu. Obsahují totiž řadu látek prospěšných pro balenou potravinu nebo také mohou fungovat jako inteligentní obal, protože jsou schopny měnit své zabarvení v prostředích s rozdílným pH.



*Obrázek 22: Analýza základních komponentů*

## 7 ZÁVĚR

V rámci diplomové práce bylo zjištěno, že v případě fyzikálních vlastností byl u zkoumaných jedlých obalů zjištěn nárůst obsahu vody s přidavkem extraktu. Rozpustnost dosahovala hodnot 100 %, proto by obaly mohly být aplikovány na potraviny, kde je žádoucí, aby se obal například během přípravy potraviny rozpustil. U tloušťky obalů bylo zjištěno, že s přidavkem extraktu se zvětšuje. U zkoumání pružnosti nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly u všech analyzovaných obalů. U pevnosti v tahu byly pozorovány statisticky významné rozdíly oproti kontrole u vzorku 20%FR, 5%DR a 20%DR.

Při měření UV-Vis spekter pak bylo zjištěno, že obaly mohou efektivně fungovat jako ochrana proti UV záření, které způsobuje oxidaci složek potravin. Vzorek 20%DR, tedy s 20 % přidavku extraktu ze sušeného rozmarýnu měl nejnižší transmitanci 7,04 %, tedy že tímto obal projde jen 7,04 % UV záření.

Vyrobené jedlé dále vykazovaly vysoký obsah polyfenolických látek a také antioxidační aktivity, která se zvyšovala s procentuálním přidavkem extraktu z rozmarýnu, zároveň vyšší hodnoty byly zjištěny u jedlých obalů s přidavkem extraktu ze sušeného rozmarýnu. Proto obal může fungovat jako potenciální donor těchto látek, které mohou migrovat do potraviny a pozitivně ovlivňovat její vlastnosti a prodlužovat dobu skladování.

Při ponoření vzorků filmů s 20 % extraktu ze sušeného a čerstvého rozmarýnu do roztoků s různou hodnotou pH (3 a 12) byla také potvrzena změna zabarvení.

Jako doplňková analýza byla provedena i zkouška antimikrobiální aktivity za použití MO *Penicillium roqueforti*, *Aspergillus niger* a *Micrococcus lutes*, kdy byly zjištěny negativní výsledky.

Bylo potvrzeno, že je velmi vhodné při přípravě jedlých obalů do základní receptury zařadit i rostlinné extrakty, které mohou pozitivně ovlivnit vlastnosti filmů. Další výzkum by pak mohl být zaměřený na praktickou aplikaci zkoumaných obalů pro balení potravin, např. párků nebo ovesných vloček a dalších potravin, a zkoumání, jak tyto obaly mohou ovlivňovat obsah polyfenolů v potravině a jejich skladovatelnost.

## 8 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] HAWARD, Marcus, 2018. Plastic pollution of the world's seas and oceans as a contemporary challenge in ocean governance. *Nature Communications* [online]. **9**(1), 1-3 [cit. 2019-04-03]. DOI: 10.1038/s41467-018-03104-3. ISSN 2041-1723. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/s41467-018-03104-3>
- [2] SALGADO, Pablo R, Cristian M ORTIZ, Yanina S MUSSO, Luciana DI GIORGIO a Adriana N MAURI. Edible films and coatings containing bioactives. *Current Opinion in Food Science* [online]. 2015, 2015(5), 86-92 [cit. 2018-03-11]. DOI: 10.1016/j.cofs.2015.09.004. ISSN 22147993. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214799315001253>
- [3] MEDINA-JARAMILLO, Carolina, Oswaldo OCHOA-YEPES, Celina BERNAL a Lucía FAMÁ. Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2017, 2017(176), 187-194 [cit. 2018-03-15]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.08.079. ISSN 01448617. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861717309554>
- [4] DOBIÁŠ, Jaroslav a Dušan ČURDA. Balení potravin [online]. Praha, 2004 [cit. 2018-04-28]. Dostupné z: <https://ukp.vscht.cz/files/uzel/0029134/c0rMSc07vFahIL-kKLEsMw8A.pdf?redirected>
- [5] ERKMEN, Osman a Aykut Onder BARAZI, 2018. General Characteristics of Edible Films. *Journal of Food Biotechnology Research* [online]. **2**(1), 1-4 [cit. 2019-02-21]. Dostupné z: <http://www.imedpub.com/articles/general-characteristics-of-edible-films.pdf>
- [6] KADLEC, P. Technologie potravin I. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemickotechnologická, 2002, 300 s. ISBN 80-7080-509-9.
- [7] Zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů. In: . ročník 1997, číslo 110. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/1997-110>
- [8] NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1935/2004 o materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami a o zrušení směrnic 80/590/EHS a 89/109/EHS. In: . ročník 2004, číslo 1935. Dostupné také z: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32004R1935>
- [9] Vyhláška č.38/2001 Sb. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmy. In: . ročník 2001, číslo 38. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-38>

- [10] Zákon č. 258/2000 Sb. o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů. In: . ročník 2000, číslo 258. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2000-258>
- [11] Zákon č. 477/2001 Sb. o obalech a o změně některých zákonů (zákon o obalech). In: . ročník 2001, číslo 477. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-477>
- [12] ČSN 77 0000, *Obaly - Základní termíny*, 2005. Praha: Český normalizační institut.
- [13] ČSN EN 13193, *Obaly - Obaly a životní prostředí - Terminologie*, 2001. Praha: Český normalizační institut.
- [14] MĚRNICE EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 2018/852, kterou se mění směrnice 94/62/ES o obalech a obalových odpadech. In: . ročník 2018, číslo 852. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018L0852&from=EN>
- [15] OTONI, Caio G., Beatriz D. LODI, Marcos V. LOREVICE, Renato C. LEITÃO, Marcos D. FERREIRA, Márcia R. de MOURA a Luiz H.C. MATTOSO. Optimized and scaled-up production of cellulose-reinforced biodegradable composite films made up of carrot processing waste. *Industrial Crops and Products* [online]. 2018, **121**, 66-72 [cit. 2018-10-15]. DOI: 10.1016/j.indcrop.2018.05.003. ISSN 09266690. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092666901830414X>
- [16] KHAN, Muhammad Kashif Iqbal, Hulya CAKMAK, Şebnem TAVMAN, Maarten SCHUTYSER a Karin SCHROËN. Anti-browning and barrier properties of edible coatings prepared with electrospraying. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* [online]. 2014, 25, 9-13 [cit. 2018-05-01]. DOI: 10.1016/j.ifset.2013.10.006. ISSN 14668564. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1466856413001598>
- [17] VODRÁŽKA, Zdeněk. *Biochemie*. 2. opr. vyd. Praha: Academia, 1996. ISBN 80-200-0600-1.
- [18] BASIAK, Ewelina, Andrzej LENART a Frédéric DEBEAUFORT. Effect of starch type on the physico-chemical properties of edible films. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2017, 2017(98), 348-356 [cit. 2018-03-15]. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.01.122. ISSN 01418130. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813016316439>
- [19] MOKREJŠ, Pavel a Ferdinand LANGMAIER. *Aplikace přírodních polymerů*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008. ISBN 978-80-7318-674-6.
- [20] krob. In: Wikipedia [online]. [cit. 2019-04-11]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/Starch#/media/File:Amylopektin\\_Sessel.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/Starch#/media/File:Amylopektin_Sessel.svg)

- [21] XU, Qin, Chen CHEN, Katelyn ROSSWURM, Tianming YAO a Srinivas JANASWAMY. A facile route to prepare cellulose-based films. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2016, 2016(149), 274-281 [cit. 2018-03-16]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.04.114. ISSN 01448617. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014486171630491X>
- [22] SIK, Mehmet, Haritz SARDON a David MECERREYES. Ionic Liquids and Cellulose: Dissolution, Chemical Modification and Preparation of New Cellulosic Materials. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2014, 15(12), 11922-11940 [cit. 2018-03-16]. DOI: 10.3390/ijms150711922. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/15/7/11922>
- [23] ROZENBERGA, Linda, Marite SKUTE, Lubova BELKOVA, et al. Characterisation of films and nanopaper obtained from cellulose synthesised by acetic acid bacteria. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2016, 2016(144), 33-40 [cit. 2018-03-16]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.02.025. ISSN 01448617. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861716300819>
- [24] Celulóza. In: Wikipedia [online]. 2010 [cit. 2019-04-11]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/Cellulose#/media/File:Cellulose\\_Sessel.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/Cellulose#/media/File:Cellulose_Sessel.svg)
- [25] RUITER, Gerhard A. a Brian RUDOLPH, 1997. Carrageenan biotechnology. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 8(12), 389-395 [cit. 2019-04-05]. DOI: 10.1016/S0924-2244(97)01091-1. ISSN 09242244. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224497010911>
- [26] THAKUR, Beli R., Rakesh K. SINGH, Avtar K. HANDA a M. A. RAO, 2009. Chemistry and uses of pectin — A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 37(1), 47-73 [cit. 2019-04-05]. DOI: 10.1080/10408399709527767. ISSN 1040-8398. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408399709527767>
- [27] Pektin In: ResearchGate [online]. [cit. 2019-04-11]. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/figure/structure-of-pectin\\_fig2\\_279629379](https://www.researchgate.net/figure/structure-of-pectin_fig2_279629379)
- [28] KIM, Ki Myong, Jeong Hwa SON, Sung-Koo KIM, Curtis L. WELLER a Milford A. HANNA. Properties of Chitosan Films as a Function of pH and Solvent Type. *Journal of Food Science* [online]. 2006, 71(3), E119-E124 [cit. 2018-03-16]. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2006.tb15624.x. ISSN 00221147. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2006.tb15624.x>
- [29] DUTTA, P.K., Shipra TRIPATHI, G.K. MEHROTRA a Joydeep DUTTA. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry* [online]. 2009, 114(4), 1173-1182 [cit. 2018-03-16]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.11.047. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814608013629>



- [30] MUNHUWEYI, Karen, Cheryl L. LENNOX, Julia C. MEITZ-HOPKINS, Oluwafemi J. CALEB, Gunnar O. SIGGE a Umezuruike Linus OPARA. Investigating the effects of crab shell chitosan on fungal mycelial growth and postharvest quality attributes of pomegranate whole fruit and arils. *Scientia Horticulturae* [online]. 2017, 2017(220), 78-89 [cit. 2018-03-16]. DOI: 10.1016/j.scienta.2017.03.038. ISSN 03044238. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423817301991>
- [31] VAN DEN BROEK, Lambertus A.M., Rutger J.I. KNOOP, Frans H.J. KAPPEN a Carmen G. BOERIU. Chitosan films and blends for packaging material. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2015, 2015(116), 237-242 [cit. 2018-03-16]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.07.039. ISSN 01448617. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861714007231>
- [32] Chitosan. In: Wikipedia [online]. 2010 [cit. 2019-04-11]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Chitosan\\_Synthese.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Chitosan_Synthese.svg)
- [33] JAMRÓZ, Ewelina, Pavel KOPEL, Lesław JUSZCZAK, et al. Development and characterisation of furcellaran-gelatin films containing SeNPs and AgNPs that have antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids* [online]. 2018, **2018**(83), 9-16 [cit. 2018-09-05]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.04.028. ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X18302601>
- [34] IMESON, A.P. Carrageenan and furcellaran. *Handbook of Hydrocolloids* [online]. 2. Elsevier, 2009, 2009, s. 164-185 [cit. 2018-09-05]. DOI: 10.1533/9781845695873.164. ISBN 9781845694142. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9781845694142500072>
- [35] MURRIETA-MARTÍNEZ, C. L., H. SOTO-VALDEZ, R. PACHECO-AGUILAR, W. TORRES-ARREOLA, F. RODRÍGUEZ-FELIX a E. MÁRQUEZ RÍOS. Edible protein films: Sources and behavior. *Packaging Technology and Science* [online]. 2018, 31(3), 113-122 [cit. 2018-03-19]. DOI: 10.1002/pts.2360. ISSN 08943214. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/pts.2360>
- [36] Hydrolyzovaný kolagen. In: *Natura dla piekna* [online]. Sulejowek [cit. 2018-05-01]. Dostupné z: <http://naturadlapiekna.pl/pl/p/Kolagen-hydrolizowany/54>
- [37] GANIARI, Sophie, Evanthia CHOULITOU a Vassiliki OREOPOULOU. Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2017, 68, 70-82 [cit. 2018-03-20]. DOI: 10.1016/j.tifs.2017.08.009. ISSN 09242244. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224417302042>

- [38] SISEIN, Eboh Abraham, 2014. Biochemistry of Free Radicals and Antioxidants. *Scholars Academic Journal of Biosciences* [online]. **2**(2), 110-118 [cit. 2019-02-28]. Dostupné z: <https://pdfs.semanticscholar.org/ed14/34b605e60221299bd8f099a7ddd8ce5462df.pdf>
- [39] BREWER, M.S., 2011. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. **10**(4), 221-247 [cit. 2019-03-01]. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x. ISSN 15414337. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x>
- [40] Alpha Tocopherol. In: SIGMA-ALDRICH [online]. [cit. 2018-04-28]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/alphatocopherol430711019141011?lang=en&region=CZ>
- [41] VARVARA, Michele, Giancarlo BOZZO, Chiara DISANTO, Cosimo Nicola PAGLIARONE a Gaetano Vitale CELANO, 2016. The use of the ascorbic acid as food additive and technical-legal issues. *Italian Journal of Food Safety* [online]. **5**(1), 7-10 [cit. 2019-03-28]. DOI: 10.4081/ijfs.2016.4313. ISSN 2239-7132. Dostupné z: <http://www.pagepressjournals.org/index.php/ijfs/article/view/ijfs.2016.4313>
- [42] Vitamin C. In: Structure of acne [online]. 2010 [cit. 2019-04-11]. Dostupné z: <http://www.scienceofacne.com/vitamin-c-structure/>
- [43] MOÑINO, Inmaculada, Cristina MARTÍNEZ, José A. SOTOMAYOR, Arturo LAFUENTE a Maria J. JORDÁN, 2008. Polyphenolic Transmission to Segureño Lamb Meat from Ewes' Diet Supplemented with the Distillate from Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) Leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. **56**(9), 3363-3367 [cit. 2019-03-28]. DOI: 10.1021/jf7036856. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf7036856>
- [44] Rosmarinic acid. In: SIGMA-ALDRICH [online]. [cit. 2018-04-28]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/rosmarinicacid360312028392511?lang=en&region=CZ>
- [45] MAGNANI, C., V. L. B. ISAAC, M. A. CORREA a H. R. N. SALGADO, 2014. Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. *Anal. Methods* [online]. **6**(10), 3203-3210 [cit. 2019-03-28]. DOI: 10.1039/C3AY41807C. ISSN 1759-9660. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C3AY41807C>

- [46] Caffeic acid. In: SIGMA-ALDRICH [online]. [cit. 2018-04-28]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/caffeicacid1801633139511?lang=en&region=CZ>
- [47] Glycerol. Biology Dictionary [online]. 2014 [cit. 2018-05-01]. Dostupné z: <https://biologydictionary.net/glycerol/>
- [48] Glycerol. In: Fisher Scientific [online]. [cit. 2018-05-01]. Dostupné z: <https://assets.fishersci.com/TFS-Assets/CCG/product-images/F149135~p.eps-650.jpg>
- [49] RAPAILLE, A., J. GOOSENS a M. HEUME, 2003. SUGAR ALCOHOLS. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* [online]. 2. vydání. Elsevier, 2003, s. 5665-5671 [cit. 2019-02-12]. DOI: 10.1016/B0-12-227055-X/01164-0. ISBN 9780122270550. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B012227055X011640>
- [50] ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila, 2002. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Vyd. 3., opr. a dopl., v nakl. Academia 1. vyd. Praha: Academia. ISBN 80-200-1024-6.
- [51] SÁNCHEZ-ORTEGA, Irais, Blanca E. GARCÍA-ALMENDÁREZ, Eva María SANTOS-LÓPEZ, Aldo AMARO-REYES, J. Eleazar BARBOZA-CORONA a Carlos REGALADO, 2014. Antimicrobial Edible Films and Coatings for Meat and Meat Products Preservation. *The Scientific World Journal* [online]. 2014, 1-18 [cit. 2019-04-05]. DOI: 10.1155/2014/248935. ISSN 2356-6140. Dostupné z: <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2014/248935/>
- [52] YOUSUF, Basharat, Ovais Shafiq QADRI a Abhaya Kumar SRIVASTAVA. Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review. *LWT* [online]. 2018, 89, 198-209 [cit. 2018-04-30]. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.10.051. ISSN 00236438. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643817308046>
- [53] WILLS, R. B. H. Postharvest: an introduction to the physiology and handling of fruit and vegetables. [3rd ed.]. New York: Van Nostrand Reinhold, c1989. ISBN 978-0-442-23943-5.
- [54] ROBERTSON, Gordon L., c2013. *Food packaging: principles and practice*. 3rd ed. Boca Raton, FL: CRC Press. ISBN 978-1-4398-6241-4.
- [55] GHAANI, Masoud, Carlo A. COZZOLINO, Giulia CASTELLI a Stefano FARRIS, 2016. An overview of the intelligent packaging technologies in the food sector. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2016(vol. 51), 1-11 [cit. 2019-03-30]. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.02.008. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224415301382>

- [56] PEREIRA DE ABREU, D. A., J. M. CRUZ a P. PASEIRO LOSADA, 2012. Active and Intelligent Packaging for the Food Industry. *Food Reviews International* [online]. **28**(2), 146-187 [cit. 2019-03-31]. DOI: 10.1080/87559129.2011.595022. ISSN 8755-9129. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/87559129.2011.595022>
- [57] CHOI, Inyoung, Jun Young LEE, Monique LACROIX a Jaejoon HAN, 2017. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food Chemistry* [online]. **218**, 122-128 [cit. 2019-04-05]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.09.050. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814616314339>
- [58] WYRWA, Joanna a Anetta BARSKA, 2017. Innovations in the food packaging market: active packaging. *European Food Research and Technology* [online]. **243**(10), 1681-1692 [cit. 2019-03-28]. DOI: 10.1007/s00217-017-2878-2. ISSN 1438-2377. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s00217-017-2878-2>
- [59] KLOUDA, Pavel. Moderní analytické metody. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2.
- [60] UV/VIS HPLC detektory, *HPLC.cz* [online]. [cit. 2019-03-10]. Dostupné z: [http://www.hplc.cz/teorie/uv\\_vis\\_detector.html#\\_top](http://www.hplc.cz/teorie/uv_vis_detector.html#_top)
- [61] *Aspergillus*, 2017. *Mycology Online* [online]. Australia [cit. 2019-03-21]. Dostupné z: <https://mycology.adelaide.edu.au/descriptions/hyphomycetes/aspergillus/>
- [62] *Aspergillus niger*, *VŠCHT* [online]. Praha [cit. 2019-03-21]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/asp-ni.htm>
- [63] *Penicillium roqueforti*, *VŠCHT* [online]. Praha [cit. 2019-03-21]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/pen-roq.htm>
- [64] *Micrococcus luteus*, *VŠCHT* [online]. Praha [cit. 2019-03-21]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/micr.htm>
- [65] KAVOOSI, Gholamreza, Aytak RAHMATOLLAHI, Seyed MOHAMMAD MAHDI DADFAR a Amin MOHAMMADI PURFARD. Effects of essential oil on the water binding capacity, physico-mechanical properties, antioxidant and antibacterial activity of gelatin films. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 2014, **57**(2), 556-561 [cit. 2019-04-14]. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.02.008. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643814000693>

- [66] SOUZA, Victor Gomes Lauriano, Ana Luisa FERNANDO, João Ricardo Afonso PIRES, Patricia Freitas RODRIGUES, Andreia A.S. LOPES a Francisco M. Braz FERNANDES. Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants. *Industrial Crops and Products* [online]. 2017, **107**, 565-572 [cit. 2019-04-14]. DOI: 10.1016/j.indcrop.2017.04.056. ISSN 09266690. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926669017302868>
- [67] TOMADONI, B., L. CASSANI, A. PONCE, M.R. MOREIRA a M.V. AGÜERO. Optimization of ultrasound, vanillin and pomegranate extract treatment for shelf-stable unpasteurized strawberry juice. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 2016, **72**, 475-484 [cit. 2019-04-14]. DOI: 10.1016/j.lwt.2016.05.024. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643816302821>
- [68] BEHBAHANI, Behrooz Alizadeh, Fakhri SHAHIDI, Farideh Tabatabaei YAZDI, Seyed Ali MORTAZAVI a Mohebbat MOHEBBI. Use of Plantago major seed mucilage as a novel edible coating incorporated with Anethum graveolens essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2017, **94**, 515-526 [cit. 2019-04-14]. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.10.055. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813016317913>
- [69] SIVAROOBAN, T., N.S. HETTIARACHCHY a M.G. JOHNSON. Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films. *Food Research International* [online]. 2008, **41**(8), 781-785 [cit. 2019-04-14]. DOI: 10.1016/j.foodres.2008.04.007. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996908000859>
- [70] GÓMEZ-ESTACA, J., L. BRAVO, M.C. GÓMEZ-GUILLÉN, A. ALEMÁN a P. MONTERO. Antioxidant properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films induced by the addition of oregano and rosemary extracts. *Food Chemistry* [online]. 2009, **112**(1), 18-25 [cit. 2019-04-14]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.05.034. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814608005864>
- [71] GE, Liming, Mingjin ZHU, Xinying LI, Yongbin XU, Xiaonan MA, Rong SHI, Defu LI a Changdao MU, 2018. Development of active rosmarinic acid-gelatin biodegradable films with antioxidant and long-term antibacterial activities. *Food Hydrocolloids* [online]. **83**, 308-316 [cit. 2019-04-06]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.04.052. ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X18302029>

- [72] CHARLTON, Adrian J., Nicola J. BAXTER, M. Lokman KHAN, Arthur J. G. MOIR, Edwin HASLAM, Alan P. DAVIES a Michael P. WILLIAMSON, 2002. Polyphenol/Peptide Binding and Precipitation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. **50**(6), 1593-1601 [cit. 2019-04-06]. DOI: 10.1021/jf010897z. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf010897z>
- [73] TAMM, F., S. HERBST, A. BRODKORB a S. DRUSCH, 2016. Functional properties of pea protein hydrolysates in emulsions and spray-dried microcapsules. *Food Hydrocolloids* [online]. **58**, 204-214 [cit. 2019-04-06]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.02.032. ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X16300728>
- [74] BUNGHEZ, Florina, Ancuta M. ROTAR, Dan Cristian VODNAR, Giorgiana M. CATUNESCU a Carmen SOCACIU, 2016. Comparative evaluation of phenolics' profile and recovery in spray dried powders obtained from rosemary and oregano extracts in relation to their antibacterial activity in vitro. *Romanian Biotechnological Letters* [online]. **22**(6), 1-15 [cit. 2019-04-06]. Dostupné z: <https://www.researchgate.net/publication/311509328>
- [75] PIÑEROS-HERNANDEZ, Danyxa, Carolina MEDINA-JARAMILLO, Alex LÓPEZ-CÓRDOBA a Silvia GOYANES, 2017. Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. *Food Hydrocolloids* [online]. **63**, 488-495 [cit. 2019-04-06]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.09.034. ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X16304659>
- [76] AHMED, Shakeel a Saiqa IKRAM, 2016. Chitosan and gelatin based biodegradable packaging films with UV-light protection. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* [online]. **163**, 115-124 [cit. 2019-04-06]. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2016.08.023. ISSN 10111344. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1011134416305851>
- [77] OPARA, Elizabeth a Magali CHOCHAN, 2014. Culinary Herbs and Spices: Their Bioactive Properties, the Contribution of Polyphenols and the Challenges in Deducing Their True Health Benefits. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **15**(10), 19183-19202 [cit. 2019-04-06]. DOI: 10.3390/ijms151019183. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1422-0067/15/10/19183>
- [78] KIM, Se-Kwon, Yong-Tae KIM, Hee-Guk BYUN, Kyung-Soo NAM, Dong-Sik JOO a F. SHAHIDI, 2001. Isolation and Characterization of Antioxidative Peptides from Gelatin Hydrolysate of Alaska Pollack Skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. **49**(4), 1984-1989 [cit. 2019-04-06]. DOI: 10.1021/jf000494j. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf000494j>

- [79] PRIOR, Ronald L., Xianli WU a Karen SCHAICH, 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. **53**(10), 4290-4302 [cit. 2019-04-07]. DOI: 10.1021/jf0502698. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf0502698>
- [80] TÜRE, Hasan, Erdal EROĞLU, Ferda SOYER a Banu ÖZEN, 2008. Antifungal activity of biopolymers containing natamycin and rosemary extract against *Aspergillus niger* and *Penicillium roquefortii*. *International Journal of Food Science & Technology* [online]. **43**(11), 2026-2032 [cit. 2019-04-07]. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2008.01816.x. ISSN 09505423. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2008.01816.x>
- [81] SEYDIM, A.C. a G. SARIKUS, 2006. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Research International* [online]. **39**(5), 639-644 [cit. 2019-04-07]. DOI: 10.1016/j.foodres.2006.01.013. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996906000159>

## 9 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

AA	antioxidační aktivita
BHA	butylhydroxyanisol
BHT	butylhydroxytoluen
DAD	diode array detector
DPPH	2,2-difenyl-1-picrylhydrazyl
DR	sušený rozmarýn (dried rosemary)
FR	čerstvý rozmarýn (fresh rosemary)
FRAP	ferric reducing antioxidant power
GKCH	půda obsahující glukózu, kvasničný extrakt a chloramfenikol
GTK	půda s glukózou, tryptonem a kvasničným extraktem
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
LDL	low density lipoprotein
TPC	celkový počet polyfenolů (total polyphenols content)
TPTZ	2,4,6-tripyridyl-s-triazin