



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

PŘÍRODNÍ BARVIVA PRO CHYTRÉ OBALY

NATURAL DYES FOR SMART PACKAGING

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Ludmila Nyklesová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

RNDr. Mária Veselá, Ph.D.

BRNO 2023

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1713/2021 Akademický rok: 2022/23
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Ludmila Nyklesová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **RNDr. Mária Veselá, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Přírodní barviva pro chytré obaly

Zadání diplomové práce:

1. Vypracujte literární rešerši na téma přírodní barviva jako indikátory změny pH v obalech pro potraviny.
2. Připravte tenké polymerní filmy s obsahem přírodních barviv.
3. Provedte kolorimetrickou analýzu vzorků a určete pH barevných přechodů sledovaných barviv.
4. Studujte barevné změny připraveného indikátoru v prostředí s nízkou koncentrací amoniaku.
5. Výsledky vyhodnoťte a diskutujte.

Termín odevzdání diplomové práce: 8.5.2023:

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

Bc. Ludmila Nyklesová
studentka

RNDr. Mária Veselá, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc. vedoucí
ústavu

V Brně dne 1.2.2023

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zaměřuje na využití přírodních barviv v chytrých obalech pro potraviny jako indikátory změny pH. Teoretická část práce se věnuje popisu chytrých obalů, které jsou rozděleny na aktivní a inteligentní obaly. V rámci inteligentních obalů se práce soustředí na indikátory pH, včetně jejich kompozice, tedy použitého polymeru a barviv, s důrazem na anthokyanová barviva. Kromě toho je v teoretické části popsána metodika měření barevných změn připravených indikátorů. V experimentální části práce je extrahováno anthokyanové barvivo z bobulí arónie (*Aronia melanocarpa*) a následně jsou připraveny tenké filmy s obsahem tohoto extraktu. Barevná změna připravených tenkých vrstev je dále studována v prostředí s nízkou koncentrací amoniaku. Vrstvy, které projevily reakci na prostředí amoniaku, byly následně přetisknuty bílým UV lakem a byla sledována jejich reakce na prostředí s nízkým obsahem amoniaku.

KLÍČOVÁ SLOVA

chytré obaly, inteligentní balení, indikátor pH, anthokyaniny, arónie, polymerní filmy

ABSTRACT

This thesis focuses on the use of natural dyes in smart food packaging as pH change indicators. The theoretical part of the thesis describes smart packaging, which can be divided into active and intelligent packaging. Within intelligent packaging, the thesis focuses mainly on pH indicators, including their composition, i.e., the polymer used and the dyes, with an emphasis on anthocyanin dyes. The theoretical part also includes a description of the methods used to measure the color changes of prepared indicators. In the experimental part of the thesis, anthocyanin dye is extracted from *Aronia melanocarpa* berries and thin films containing the anthocyanin extract are prepared. The color change of the prepared thin layers is further studied in an environment with a low concentration of ammonia. Layers that showed a reaction to the ammonia environment were subsequently overprinted with white UV varnish, and their reaction to an environment with low ammonia content was observed.

KEYWORDS

smart packaging, intelligent packaging, pH indicator, anthocyanins, chokeberry, polymer films

NYKLESOVÁ, Ludmila. *Přírodní barviva pro chytré obaly* [online]. Brno, 2023 [cit. 2023-03-03]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/139350>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Mária Veselá.

PROHLÁŠENÍ

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

.....

podpis studentky

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucí mé diplomové práce RNDr. Márii Veselé, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost, cenné rady a věnovaný čas. Také bych chtěla poděkovat kolegům z laboratoře fotochemie, především vedoucímu laboratoře prof. Ing. Michalovi Veselému, CSc. za jeho věnovaný čas, veškerou pomoc, rady, připomínky a poskytnutí laboratorní techniky. Poděkování patří i mé rodině a blízkým, kteří mě během studia vždy plně podporovali.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	8
2.1	Obaly potravin	8
2.2	Chytré obaly	8
2.2.1	Aktivní obaly	9
2.2.2	Inteligentní obaly	9
2.2.2.1	Senzory	9
2.2.2.2	Data nosiče	10
2.2.2.3	Indikátory	10
2.3	Indikátory pH	11
2.3.1	Kompozice pH indikátorů	11
2.3.2	Barviva pro pH indikátory	12
2.3.3	Anthokyany	12
2.4	Metody měření.....	16
2.4.1	UV/VIS spektrofotometrie	16
2.4.2	Měření barevnosti – kolorimetrie	17
2.4.3	Metoda pH difference	20
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	21
3.1	Původ rostlinného materiálu a jeho skladování	21
3.2	Použité chemikálie.....	21
3.3	Použité přístroje	21
3.4	Použitý software.....	22
3.5	Příprava extraktu anthokyanů z bobulí aronie	22
3.6	Příprava roztoků pufrů.....	22
3.7	Měření absorpčních spekter.....	23
3.8	Stanovení celkové koncentrace anthokyanů	24
3.9	Příprava základních roztoků pro přípravu tenkých filmů	24

3.10	Příprava tenkých filmů	24
3.11	Přetisk vrstev UV lakem	26
3.12	Měření barevné změny indikátoru v prostředí amoniaku	26
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	29
4.1	Absorpční spektra anthokyanového extraktu	29
4.2	Stanovení celkové koncentrace anthokyanů	31
4.3	Odhad pH barevných přechodů jednotlivých vrstev a po kontaktu s NH ₃	31
4.4	Měření barevnosti vrstev po kontaktu s amoniakem	32
4.4.1	Kompozice obsahující pouze extrakt arónie	32
4.4.2	Kompozice obsahující extrakt arónie rozpuštěný v demineralizované vodě s následnou úpravou pH pomocí 3% roztoku NaOH	43
4.4.3	Kompozice obsahující extrakt z arónie rozpuštěný v pufru o pH 7	46
4.5	Měření přetisknutých vrstev UV lakem po kontaktu s amoniakem	51
5	ZÁVĚR	58
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	59
7	SEZNAM ZKRATEK A POUŽITÝCH SYMBOLŮ	65

1 ÚVOD

Balení potravin hraje důležitou roli v zajišťování kvality a bezpečnosti potravin a je neodmyslitelnou součástí výrobního procesu. Na trhu je k dispozici široká škála obalů z různých materiálů, ale požadavky spotřebitelů na kvalitní a čerstvé potraviny s co nejdélejší trvanlivostí se neustále zvyšují. V reakci na tyto nároky vznikají inovativní typy obalů, včetně chytrých obalů, které zahrnují aktivní a inteligentní obaly. Aktivní obaly obsahují účinné látky, které interagují s potravinami a zajišťují prodloužení trvanlivosti, udržení kvality a bezpečnosti potravin. Inteligentní obaly poskytují informace o dané potravine a upozorňují na změny v ní. Tyto obaly umožňují získat informace o čerstvosti potravin a předcházet plýtvání potravin, které je dnes velkým problémem.

Barevné indikátory pro inteligentní obaly jsou umístěny přímo v obalu potravin a mění barvu se změnou pH, která nastává uvnitř obalu v důsledku vzniku metabolitů způsobených kažením potravin. Díky změně barvy indikátoru lze snadno určit, zda je potravina stále čerstvá a bezpečná ke konzumaci, nebo zda už není vhodná k jídlu.

Barviva používaná v těchto indikátorech jsou stále předmětem výzkumu – mohou být syntetického či přírodního původu. Přírodní barviva se v poslední době dostávají stále více do popředí pro jejich netoxicitu. Mezi velkou skupinu zkoumaných přírodních barviv patří také anthokyanová barviva, která se nachází v červených částech rostlin a jejich plodů. Díky jejich schopnosti měnit barvu v závislosti na různém pH jsou často používána jako pH indikátory.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Obaly potravin

V průběhu let se obaly postupně vyvíjely od primitivních balení do běžných přírodnin jako jsou listy, mušle nebo proutěné košíky, později také do jednoduchých nádob z papíru, skla a keramiky. Velký rozmach různých obalů byl zaznamenán s nástupem průmyslové revoluce, jelikož se vyvinuly nové technologie výroby a byly objeveny nové materiály [1].

Další vlnou rozmachu představovalo objevení plastů ve 20. století, které umožnilo rychlé a jednoduché balení různých druhů potravin. Dnes má balení potravin stále větší význam, jelikož se klade větší a větší důraz na kvalitu, bezpečnost, delší trvanlivost a s tím spojené omezení plýtvání s potravinami [1], [2].

Jako obaly pro potraviny lze označit materiály, které se používají k ochraně potravin před působením okolních vlivů, a to jak před působením plynů v okolí, vlhkostí, zářením, ale i před působením mikroorganismů, případně před dalšími živočichy, kteří by se mohli negativně podílet na zkrácení údržnosti potravin. Je potřeba také zmínit, že obaly poskytují ochranu potravin před mechanickým poškozením, ať už je to rozbití samotného produktu nebo neodborná manipulace. Rovněž mohou poskytovat ochranu během přepravy k zákazníkovi [3], [4].

Obaly mají funkci nejen ochrannou, ale i estetickou a informativní, kdy slouží jako součást marketingové strategie k upoutání zákazníka a jeho seznámení se složením, nutričními hodnotami, datem výroby či spotřeby/minimální trvanlivostí aj. [5].

2.2 Chytré obaly

V současné době dochází k rozmachu inovací na poli potravinářských obalů, a to buď z důvodů omezení plýtvání s potravinami, pro větší přehled a komfort zákazníka nebo zlepšení ochranné funkce obalu. Jednou z možností jsou právě tzv. chytré obaly, které mimo jiné mohou zobrazovat skutečnou kondici potraviny bez ohledu na datum spotřeby. Tradiční obaly většinou potraviny pouze izolují od okolí v zájmu zachování její čerstvosti, chytré obaly se pak přímo podílí na zachování čerstvosti balené potraviny, případně jsou schopny monitorovat její stav [2], [6].

Co jsou to chytré obaly? Jako chytré obaly lze označit v podstatě jakékoliv balení, které zahrnuje pokročilé technologie zlepšující stávající funkce obalu nebo přidávající nové funkce a vylepšení v porovnání s konvenčními obaly [7].

Pojem chytré obaly se často používá jako synonymum pro inteligentní obaly, avšak toto tvrzení není úplně přesné – pod pojem chytré obaly lze zahrnout jak inteligentní obaly, tak i aktivní obaly, ergonomické či interaktivní [7], [8], [9].

Zařazení těchto obalů do praxe provází spousta legislativního omezení. V Evropské unii existuje hned několik nařízení, které se vztahují k inteligentním a aktivním obalům, jejich použití a také k látkám, které mohou přijít do styku s potravinami. Jedná se o Nařízení komise (ES) č.450/2009 ze dne 29.května 2009: o aktivních a inteligentních materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami (Úř. věst. L 135, 30.5.2009), které definuje inteligentní obaly jako „*materiály a předměty, které sledují stav balených potravin nebo prostředí, které potraviny obklopuje*“, aktivní obaly pak jako „*materiály a předměty, které mají*

prodloužit životnost nebo zachovat či zlepšit stav balených potravin. Jsou navrženy tak, aby záměrně obsahovaly složky, které uvolňují nebo absorbují látky do nebo z balených potravin nebo prostředí, které potraviny obklopuje“. Dalším nařízením, které se vztahuje k problematice aktivních a inteligentních obalů, je Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1935/2004. Toto nařízení se věnuje bezpečnosti potravin a řeší obecné požadavky na materiály a předměty, které jsou určeny pro styk s potravinami, zároveň stanovuje požadavky na označování takových předmětů, aby byla zaručena jejich zdravotní nezávadnost. Proto je v oblasti vývoje inteligentních a aktivních obalů důležité vybírat takové látky, které tato nařízení splňují a tím umožnit následující aplikaci takových obalů do praxe. Nejnovějším dokumentem je Nařízení Komise (EU) č. 10/2011, které se zaměřuje na plasty obsažené v obalových materiálech v přímém styku s potravinami a definuje maximální limity pro určité látky, které mohou být obsaženy v těchto materiálech a předmětech, jako jsou například těžké kovy, barviva, látky s hormonálním účinkem nebo látky, které mohou způsobit alergickou reakci. Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) ve své směrnici také zmiňuje podmínky a postupy pro předkládání dokumentace ke schvalování látek přítomných v aktivních a inteligentních materiálech, které budou v přímém styku s potravinami. Tato směrnice se upravuje všechny fáze výroby od suroviny až po finální produkt včetně skladování. Všechny tyto nařízení je potřeba zohlednit při vývoji chytrých obalů [10], [11], [12], [13].

2.2.1 Aktivní obaly

Aktivní obaly jsou takové obaly, které přímo interagují s produkty v nich uložené případně s atmosférou, která se v obalu nachází. Může se jednat o absorbenty či pohlcovače, které zachycují látky z okolí, nebo mohou do prostředí obalu látky vypouštět za účelem delší trvanlivosti uchovávané potraviny [7], [9], [14].

Hlavním cílem aktivních obalů je zabránění mikrobiální a chemické kontaminaci při nezměněných vizuálních a organoleptických vlastnostech. Toho se snaží aktivní obaly dosáhnout pomocí regulace vlhkosti, pohlcování či odstraňování oxidu uhličitého, ethylenu, kyslíku, přidáváním antioxidantů nebo termoizolace [7], [9], [14].

2.2.2 Inteligentní obaly

Inteligentní obaly monitorují potraviny v nich zabalené a poskytují informace ohledně jejich stavu tím, že jsou schopné sledovat různé fyzikální a chemické procesy. Přímo se tedy nepodílí na úpravě podmínek v obalu či prodloužení trvanlivosti, ale spotřebiteli, prodejci nebo dodavatelskému řetězci poskytují informace o čerstvosti a zdravotní nezávadnosti potraviny. Pro spotřebitele to představuje jednoduchý způsob, jak zjistit, zdali je potravina stále požitelná, případně byli-li dodrženy správné podmínky skladování a přepravy [9], [6].

Inteligentní obaly lze rozdělit do tří hlavních skupin na indikátory, senzory a data nosiče [15].

2.2.2.1 Senzory

Jako senzory se označují elektronická zařízení, která jsou schopná reagovat na fyzikální či chemickou změnu vysláním signálu, který je následně možné detekovat, lokalizovat nebo kvantifikovat hmotu nebo energii. Senzory se typicky skládají ze 4 částí: receptor schopný reagovat na přítomnost specifické látky; převodník, představující měřící jednotku senzoru, který zachycuje odezvu a převádí ji na měřitelný signál; elektronické zařízení, který signál zpracovává a zobrazovací software, který zobrazí konečnou informaci [9], [16].

Dostat takový senzor do praxe není úplně jednoduché – krom složitosti systému je potřeba brát v úvahu i přísné hygienické normy pro látky, které jsou ve styku s potravinami, proto jsou senzory umísťovány do obalu tak, aby nedošlo ke přímému styku s uloženým produktem. Tento problém by mohl být vyřešen vývojem jedlých senzorů, které by limity pro styk s potravinami splňovaly a byly dostatečně stabilní, aby mohly spolehlivě monitorovat prostředí [16], [10], [11], [12].

Existuje řada již používaných senzorů, které monitorují pH, vlhkost, teplotu, ale i senzory chemické a elektrochemické. Mezi technologicky nejpokročilejší skupiny senzorů se řadí biosenzory a senzory plynů. Chemické senzory a biosenzory jsou si vcelku podobné, ale hlavní rozdíl je v rozpoznávací vrstvě, která je u biosenzorů tvořena biologickými sloučeninami jako jsou enzymy, nukleové kyseliny, antigeny apod., zatímco v chemických senzorech je rozpoznávací látkou chemická sloučenina. Biosenzory jsou již dnes využívány k detekci toxinů, které mohou vznikat v potravinách při přepravě zejména u masných a rybích výrobků [9], [16], [17].

2.2.2.2 Data nosiče

Data nosiče hrají důležitou roli při sledování pohybu zboží, prevenci krádeže či padělání. Jedná se o čárové, QR kódy a radiofrekvenční technologie (RFID), které bývají často umístěny na sekundárním či terciálním obalu a nepřichází tak do přímého styku s potravinami [4], [16].

Technologicky nejvíce pokročilé jsou data nosiče s RFID. Tyto nosiče jsou složené ze 3 částí: tagu, což je malé elektronické zařízení schopné vysílat i přijímat signál; čtečky, která komunikuje s tagem pomocí elektromagnetických vln a lokální síť, která propojuje hardware RFID se softwarem. Hlavní výhodou tohoto datového nosiče je komunikace na velké vzdálenosti a umožňuje tak zrychlení automatizace identifikace a sledování [4], [9].



Obrázek 1: RFID čip [56]



Obrázek 2: QR kód



Obrázek 3: Čárový kód

2.2.2.3 Indikátory

Indikátory poskytují informace ohledně kvality uložené potraviny. Vizualní změna barvy, či její intenzity, indikátoru může poukazovat na přítomnost, nebo nepřítomnost dané látky, reakci mezi více sloučeninami nebo zvýšení koncentrace určité sloučeniny, na kterou je indikátor citlivý. Indikátory lze rozdělit na interní nebo externí v závislosti na tom, jestli se nachází uvnitř obalu nebo vně [9], [15].

Pro spotřebitele je tento způsob informování ohledně čerstvosti potraviny velmi jednoduchý, a proto jsou na indikátory kladeny vysoké nároky. Především změna barvy, nebo její intenzity, by měla být dostatečně zřetelná a nevratná, aby nemohlo dojít k chybné interpretaci. Existuje řada druhů indikátorů, které se někdy souhrnně označují jako indikátory čerstvosti lišící se dle toho, jakou informaci o kvalitě spotřebiteli poskytují a jaké parametry sledují. Zařazují se mezi ně indikátory plynů, indikátory změny teploty v čase nebo indikátory pH – ty jsou podrobněji popsány v kapitole 2.3 [9], [15], [18], [19].

2.3 Indikátory pH

Indikátory pH jsou klíčovým prvkem inteligentního obalu, který umožňuje snadno sledovat stav potravin. Tyto indikátory monitorují pH hodnoty potravin pomocí barevných změn, které jsou viditelné pouhým okem. Díky tomu je snadné a rychlé rozpoznat čerstvé potraviny od zkažených, aniž by bylo třeba použít složité analytické techniky [9], [15], [20].

Degradace potravin vedoucí k uvolňování metabolitů do prostředí obalu způsobuje změny pH, které jsou následně registrovány indikátorem. To vede ke změně barvy indikátoru v souladu s danou barevnou škálou, což umožňuje rychlé a spolehlivé zjištění stavu potravin. Pro tento účel jsou používána barviva, která jsou schopna reagovat na změnu pH. Ta mohou být buď syntetického, nebo přírodního původu, ale je důležité, aby byla bezpečná pro styk s potravinami, stabilní a poskytovala zřetelný barevný přechod [9], [18].

Syntetická barviva jako je bromthyllová modř, methylooranž nebo bromkresolová zeleň, sice byla předmětem zkoumání, ale vzhledem k jejich potencionálnímu nebezpečí pro člověka, není jejich použití v potravinových obalech ideální. V dnešní době je proto kladen důraz na výzkum přírodních barviv, která by byla nezávadná a biologicky rozložitelná [18], [21], [22].

Velkou skupinu zkoumaných přírodních barviv schopných reagovat na změnu pH představují anthokyanová barviva, která se nachází v mnoha červeně zbarvených plodinách jako jsou například borůvky, červené zelí, sladké brambory (batáty) nebo bobule arónie. Skupina vědců z Jižní Koree a Kanady vyvinula pH indikátor v podobě tenkého filmu z přírodního polysacharidu agaru a škrobu, který obsahuje barvivo ze sladkých brambor (*Ipomoea batatas*), a je schopný reagovat na změnu pH [23].

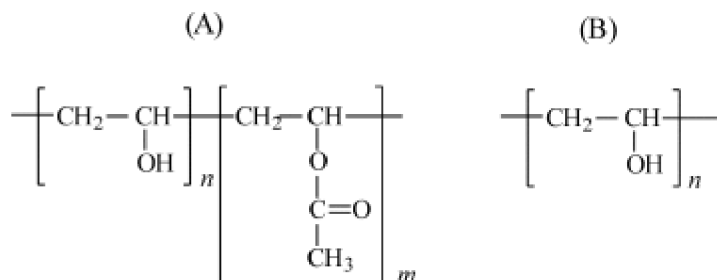
2.3.1 Kompozice pH indikátorů

Indikátory pH se připravují ve formě tenkých filmů, které mohou být naneseny na samotný obalový materiál nebo jeho část. Hlavní složkou pH indikátorů představuje nosič – polymer, ve kterém je imobilizované barvivo. Pro zlepšení vlastností indikátoru se do kompozice často přidávají ještě další modifikátory jako jsou např. změkčovadla, emulgátory nebo zesíťovací činidla. Výzkum se dnes zaměřuje převážně na použití biopolymerů a látek, které jsou biodegradabilní nebo se dají získat z přírodního zdroje, v nejlepším případě z odpadních produktů potravinářského průmyslu (např. slupky od ovoce). Jelikož je pro použití v potravinách důležité, aby byl indikátor nezávadný pro styk s potravinami, lze při zpracování jednotlivých složek použít pouze vodu nebo ethanol [21], [23], [24].

Pro kompozici pH indikátorů lze využít syntetické i přírodní sloučeniny. Mezi často používané přírodní sloučeniny patří polysacharidy, lipidové sloučeniny nebo proteiny – konkrétně se jedná o želatinu, agar, chitosan nebo škrob. Velkou výhodou polymerů přírodního původu je jejich netoxičita a biokompatibilita, nicméně při použití těchto polymerů se mohou vyskytnout problémy s mechanickými vlastnostmi vytvořených filmů a přílišná citlivost na vlhkost. Proto se často kombinují s dalšími polymerními materiály, ať už přírodními nebo syntetickými, anebo se do kompozice přidávají další látky, které vylepšují vlastnosti filmů [9], [20], [21].

Ze syntetických polymerů se využívá polyvinylalkohol (PVA), který je ve vodě rozpustný s dobrými filmotvornými, adhezivními a emulgačními vlastnostmi. Je velmi odolný vůči olejům a rozpouštědlům, je pružný, pevný a odolný vůči prostupu kyslíku a aromatům, tato odolnost ale výrazně klesá s přibývajícím vlhkostí. PVA může být částečně (A) nebo plně hydrolyzovaný (B) viz Obrázek 4 dle způsobu jeho přípravy. Vlastnosti PVA ovlivňuje způsob přípravy, molekulová hmotnost a stupeň hydrolyzy. Jeho rozpustnost závisí na stupni

hydrolyzy, přičemž platí, že čím vyšší je stupeň hydrolyzy, tím hůř se rozpouští – je potřeba upravit délku a teplotu při rozpouštění. Plně hydrolyzovaný PVA se rozpouští za vzniku velmi viskózního roztoku [21], [25], [26], [27].



Obrázek 4: Struktura PVA: (A) částečně hydrolyzovaný, (B) plně hydrolyzovaný [26]

V této práci byl použit jako polymer PVA 10–98, číslo 10 představuje viskozitu, která se pohybuje v rozmezí 9-11 mPa·s, číslo 98 pak stupeň hydrolyzy, jež je mezi 98–98,8 mol%. Molekulová hmotnost tohoto PVA je asi 61 000 a stupeň polymerace přibližně 1400.

2.3.2 Barviva pro pH indikátory

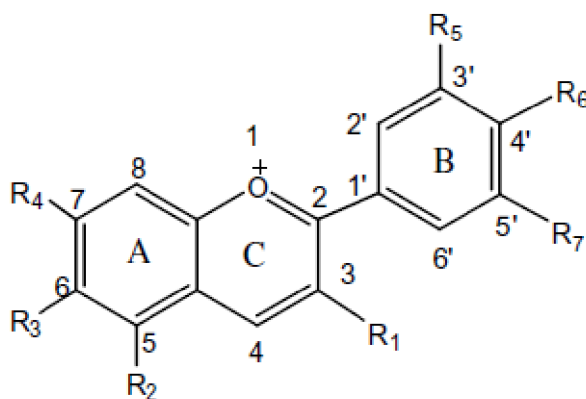
Barviva citlivá na pH představují stěžejní část inteligentních obalů s pH indikátory a mohou být syntetického nebo přírodního původu. Mezi zkoumaná syntetická barviva patří bromthymolová nebo bromkresolová modř či methyloranž. Jejich citlivost na změnu pH je již prověřená, avšak pro použití v potravinářství nejsou úplně ideální kvůli své potencionální toxicitě vůči životnímu prostředí nebo konzumentům [28].

Nejpočetnější skupinu zkoumaných přírodních barviv představují anthokyany, další sloučeniny jsou betalainy, karotenoidy, chlorofyly nebo kurkumin. Barviva se většinou získávají extrakcí z různých částí rostlin nebo jejich plodů a jejich barva se mění v závislosti na podmínkách jako je přítomnost/nepřítomnost plynů, teplota, vlhkost či změna pH. Přírodní barviva mají velký potenciál pro využití pro inteligentní obaly potravin díky tomu, že jsou netoxická a biokompatibilní a jejich konzumace poskytuje i další zdravotní benefity (často se jedná o antioxidanty), avšak jejich použití provází i mnohá úskalí. Problémem při aplikaci do pH indikátorů může být jejich světelná nestálost, kdy pigmenty mohou působením světla blednout, jejich detekce změny pH nemusí být úplně přesná a v některých případech mohou podávat falešně negativní nebo pozitivní výsledky. I přes tyto nedostatky mají velký potenciál pro další zkoumání a jejich následná aplikace do inteligentního balení [18], [29], [28].

2.3.3 Anthokyany

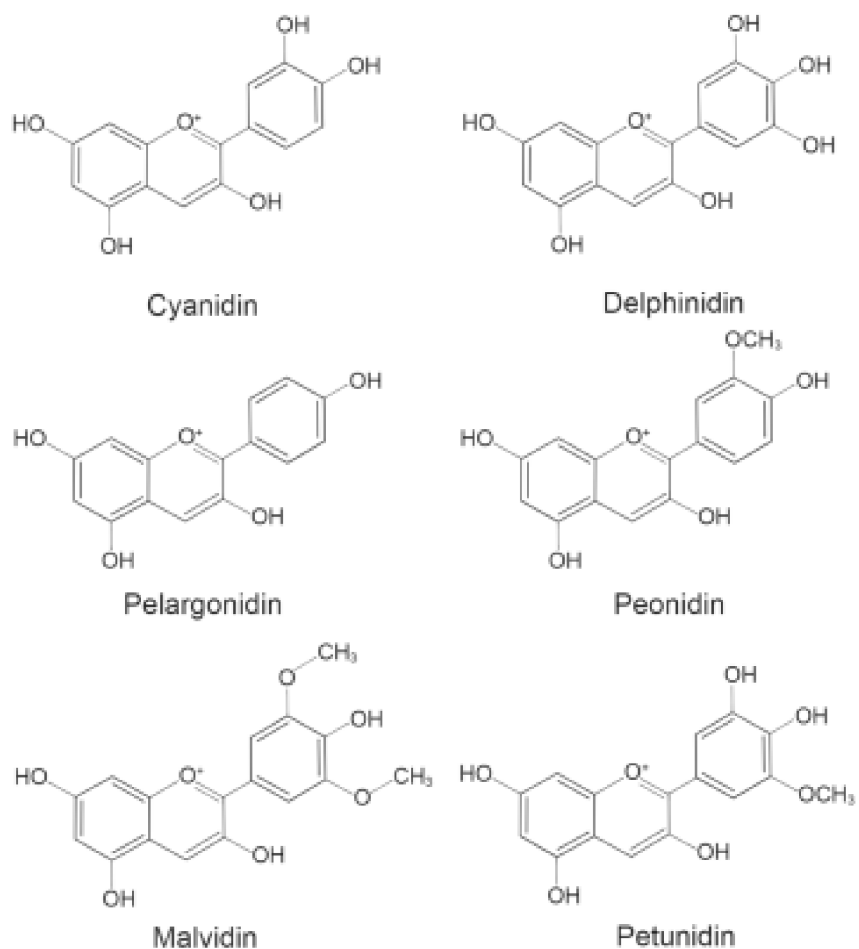
Název anthokyany pochází z řeckých slov *anthos* = květina a *kianos* = modrý. Jedná se o sekundární metabolity rostlin, nachází se v ovoci, zelenině nebo květinách, kde poskytují typické zbarvení od oranžové, přes červenou, fialovou až do modré. Tyto sloučeniny mají kromě pestrých odstínů také antioxidační vlastnosti a jsou schopné bojovat proti volným radikálům. Jejich konzumace tak přináší mnoho benefitů a je spojována s prevencí různých onemocnění. Denní příjem anthokyanů je velmi individuální a záleží na mnoha faktorech jako je životní styl nebo roční období. Anthokyany lze zařadit mezi polární sloučeniny, takže jsou dobře rozpustné v rozpouštědlech jako je voda a ethanol [30], [31], [32].

Chemicky patří do skupiny polyfenolů, podskupiny flavonoidů a od ostatních flavonoidů se liší tím, že mají podobu flavyliových kationtů. Existuje mnoho různých strukturních variací, avšak obecně se v jejich struktuře nachází heterocyklická jádra spojená jedním či více glykosidovými zbytky nebo acylovými skupinami. Rozdíly bývají především ve stupni methylace, počtu hydroxylových skupin, případně v poloze a počtu připojených sacharidových řetězců – jedná se především o glukózu, fruktózu, galaktózu a arabinózu. Pro chemické vlastnosti je důležité především umístění sacharidového řetězce – typicky se jedná o polohu C3 nebo C5, kam se váže především glukóza. Na sacharidové řetězce se dále mohou navazovat další alifatické nebo aromatické kyseliny, jejichž povaha, a hlavně poloha pak může ovlivnit vlastnosti celé molekuly. Obecná struktura anthokyanů je znázorněna na Obrázku 5 [29], [30], [31], [33].



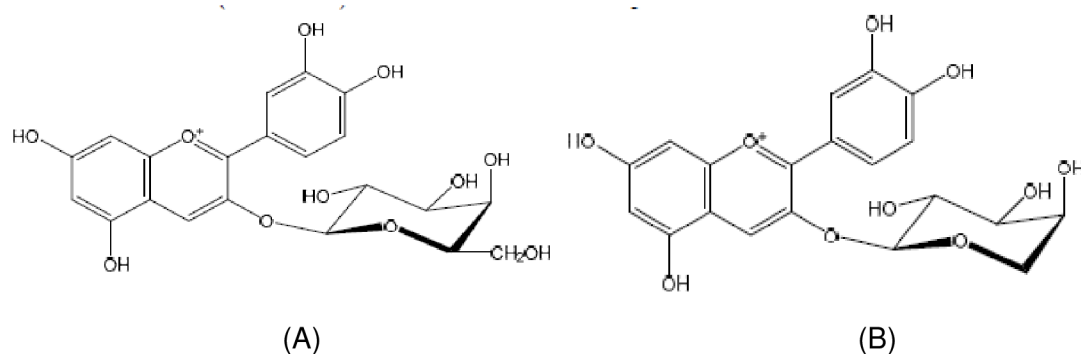
Obrázek 5: Struktura 2-fenylbenzopyryliového kationtu flavyliové soli [31]

Anthokyaniny, které nejsou substituovány žádným sacharidovým řetězcem, se označují jako anthokyanidiny. Tyto sloučeniny se běžně vyskytují v rostlinách, nejvíce rozšířené jsou kyanidin (Cy), delphidin (Dp), pelargonidin (Pg), peonidin (Pn), malvidin (Mv) a petunidin (Pt). Jejich struktury jsou pro porovnání na Obrázku 6. Každý z nich se liší svojí barvou, kyanidin je načervenalý pigment, který se vyskytuje převážně v bobulovitém ovoci a zelenině, která má červenou barvu. Delphidin je modro-červený pigment a v rostlinách představuje modrou barvu květů. Pelargonidin je oranžovočervený a lze jej nalézt v plodech a květech s červenou barvou, naproti tomu peonidin dodává bobulím purpurové zbarvení. Tmavě červeným pigmentem je petunidin vyskytující se ve fialových květech a černém rybízku. Poslední z řady je malvidin, který je rovněž purpurový a zbarvuje květy do modra. Procentuálně nejvíce zastoupený anthokyanidin v jedlých částech rostlin je kyanidin [31], [29], [32], [34], [35].



Obrázek 6: Struktura šesti hlavních anthokyanidinů [34]

Zbarvení anthokyanů se mění v závislosti na pH, proto je lze využít jako indikátory pro acidobazické rovnováhy. Pokud je hodnota pH menší než 3 převládá červený flavyliový kation, v oblasti hodnoty pH mezi 4–6 se roztoky jeví jako bezbarvé, jelikož obsahují karbinolovou pseudobázi. Při zvyšování pH na 7 se struktura mění na neutrální chinoidní bázi a roztok se vybarvuje světle až tmavě fialově. Roztoky s pH mezi 7–8 jsou modré díky přítomnosti aniontové chinoidní bázi. Při dalším zvyšování pH nad 8 se postupně tvoří chalkon zbarvující roztok na zelenou až žlutou barvu [33], [34], [36].



Obrázek 8: Struktura kyanidin-3-galaktosidu (A) a kyanidin-3-arabinosidu (B) [41]

2.4 Metody měření

Anthokyanová barviva jsou polární látky – díky polárním skupinám přítomným na aromatickém kruhu (-OH, -COOH, -OCH₃) a glykosidovým zbytkům, proto se dobře rozpouští ve vodě. K extrakci těchto barviv pro potravinářské účely je potřeba využít netoxické rozpouštědlo, čímž voda rozhodně je. Pro zajištění co největší účinnosti se používá voda v kombinaci s ethanolem v různých poměrech [32], [42].

Po extrakci je potřeba výsledný roztok zahustit. Zahuštění je možné provést několika způsoby nebo jejich kombinací. Zahušťování a odpaření přebytečného rozpouštědla je možné za použití rotační vakuové odpary, což je zařízení, které umožňuje zrychlené odpaření rozpouštědla snížením bodu varu pomocí vakua. Rozdíl oproti odpařování za použití vakua je ten, že baňka během procesu rotuje, a tedy se zvětšuje odpařovaná plocha a celý proces je více efektivní. Aparatura rotační vakuové odpary může být proměnlivá v závislosti na výrobci, ale obecně se skládá z odpary s chladičem, sady skla a zdroje vakua [43].

Další metodou, kterou je možné použít pro zahuštění extraktu je lyofilizace. Lyofilizace neboli sušení mrazem, je proces, při kterém vlivem nízké teploty a tlaku přebytečná voda přejde z pevného stavu rovnou do plynného. Vzorek určený na lyofilizaci se nejprve zmrazí, tím kapalný roztok přejde do pevného stavu, a následně se extrémně sníží teplota a tlak, aby došlo k přímému odpaření vody bez přechodu do kapalné fáze. Proces lyofilizace je šetrný k samotnému vzorku, a proto se využívá hlavně pro uchovávání bioaktivních molekul jako je DNA, enzymy a proteiny, antibiotik nebo se pomocí ní suší ovoce. Nevýhodou lyofilizace je vysoká vstupní energie a delší doba trvání celého procesu [44].

2.4.1 UV/VIS spektrofotometrie

UV/VIS spektrofotometrie je analytická metoda používaná k měření absorpce elektromagnetického záření v ultrafialové a viditelné oblasti spektra. Při měření UV/VIS spektra se záření o různých vlnových délkách projektuje na vzorek a měří se intenzita světla procházejícího skrz vzorek. Získaná absorpční spektra znázorňují závislost absorbance na vlnové délce, případně lze získat spektra znázorňující závislost transmitance či extinkčního koeficientu na vlnové délce [45].

V praxi se nejčastěji využívá závislost absorbance na vlnové délce, přičemž pomocí této závislosti lze stanovit koncentraci měřeného vzorku pomocí rovnice (1), která vychází z Lambert-Beerova zákona.

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (1)$$

A ... absorbance

ε ... molární absorpční koeficient [$\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$]

c ... látková koncentrace [$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$]

l ... délka kyvety [cm]

Tato technika se využívá v kvalitativní i kvantitativní analýze a její velkou výhodou je nízká finanční nákladnost, rychlost a dostatečná citlivost měření. Nevýhodou je nemožnost měření roztoků, které jsou příliš temné nebo mají malou absorpční kapacitu, stejně tak metoda nezaznamená strukturní změny ve vzorku. Existuje řada různých typů UV/VIS spektrofotometrů, avšak každý spektrofotometr obsahuje zdroj záření, monochromátor, detektor a počítač [45].

2.4.2 Měření barevnosti – kolorimetrie

Pro objektivní a reprodukovatelný popis barev se využívá kolorimetrie, která umožňuje popsat barvy pomocí spojitých funkcí. Vjem barvy totiž vzniká v mozku analýzou více podnětů z lidského oka, kde jsou nerovnoměrně rozmístěny tyčinky (fotoreceptory) a čípky, které reagují na záření o vlnových délkách v rozmezí 380 až 780 nm. Fotoreceptory jsou zodpovědné za vnímání jasu a čípky mají schopnost rozlišovat jednotlivé barvy. V lidském oku se nachází tři druhy čípků, přičemž každý z nich je citlivý na specifický rozsah vlnových délek a vede tak k rozlišení tří základních barev – červené, modré a zelené [46], [47].

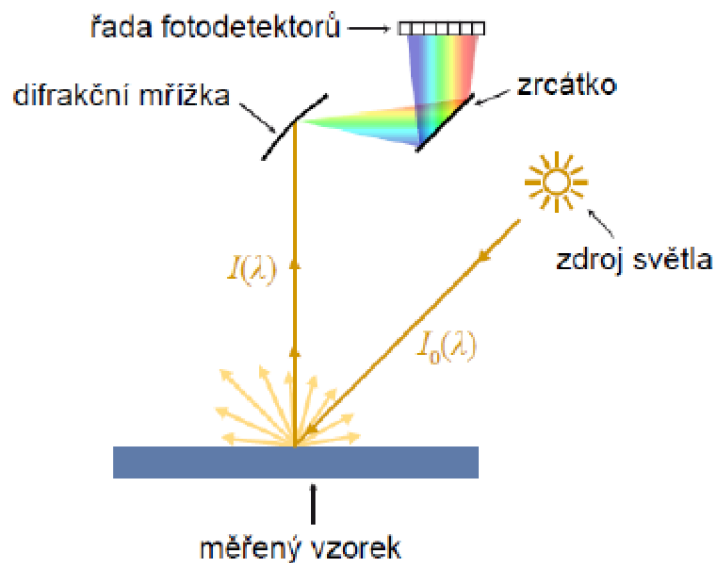
Byl vytvořen systém pro jednoznačný popis barev, který je založen na míchání barev kvůli přesnosti. Tento systém se označuje jako *RGB* a předpokládá, že lze jakoukoliv barvu namíchat ze tří základních barev – červené (R), zelené (G) a modré (B). Množství jednotlivých složek světla vyjadřují trichromatické hodnoty *R*, *G*, *B*, jež každou barvu specifikují. Z tohoto systému následně vychází systém CIE 1931 *XYZ*, který definuje barvu pomocí tří funkcí chromatických členitelů \bar{x} , \bar{y} , \bar{z} [47].

Pro vyhodnocení barev je nutné definovat tři základní elementy barevného vidění – objekt pozorování, zdroj světla a pozorovatele [46].

Světelné zdroje lze charakterizovat spektrální intenzitou vyzařování $M_e(\lambda)$, což je míra intenzity elektromagnetického záření, které zdroj světla vysílá v jednotlivých částech spektra. Existuje několik standardizovaných zdrojů osvětlení podle Mezinárodní komise pro osvětlování (CIE), např. denní osvětlení mají označení D_{50} , D_{65} a D_{75} – dolní indexy určují teplotu chromatičnosti, která vyjadřuje, jakým způsobem se mění bílá barva světla s teplotou zdroje světla, čím vyšší je číslo, tím chladnější je barevný tón světla a naopak, čím nižší je číslo, tím teplejší je barevný tón světla [46], [47].

Intenzitu světla odraženého od objektu lze vyjádřit jako $I(\lambda)$ a intenzitu dopadajícího světla pak jako $I_0(\lambda)$ na každé vlnové délce. Světlo dopadající na objekt některé složky pohltí, to znamená, že se méně odráží, a naopak jiné se nepohlí a odrazí se. Poměr těchto dvou intenzit vyjadřuje reflektance $R(\lambda)$ viz rovnice (2). Reflektance vyjadřuje, jak moc daný objekt odráží světlo o dané vlnové délce. Daný objekt lze charakterizovat pomocí reflexního spektra tak, že zjistíme reflektanci pro vlnové délky v intervalu 380–750 nm [46].

$$R(\lambda) = \frac{I(\lambda)}{I_0(\lambda)} \quad (2)$$



Obrázek 9: Obecné schéma odrazového spektrofotometru [46]

Pro naměření reflexního spektra se využívá reflexní spektrofotometr, jehož obecné schéma je na Obrázku 9. Rozložením odraženého světla při jednotlivých vlnových délkách pomocí difrakční mřížky se zjistí intenzita odráženého světla. Rozložené světlo pak dopadne na řadu detektorů, které jej přemění na elektrický signál. Kalibrace přístroje se provádí změřením dokonale bílé plochy, která žádné světlo nepohlcuje, respektive odráží 100 % dopadeného světla [46].

Nejobtížnější je definování pozorovatele, jelikož různí lidé mohou vnímat barevný podnět odlišně, proto Mezinárodní komise pro osvětlení CIE definovala dva standardizované pozorovatele lišící se úhlem vstupu paprsku do oka a plochou sítnice. Jedná se o CIE 2° pozorovatele, který vnímá barvu pouze nejcitlivější částí sítnice a CIE 10° pozorovatele, který vnímá barvu celou plochou sítnice. Pozorovatelé byli definováni pomocí tří funkcí chromatických členitelů \bar{x} , \bar{y} , \bar{z} , přičemž tyto hodnoty byly stanoveny experimentálně [46], [47], [48].

Barva se ve smyslu barevného vjemu definuje trichromatickými hodnotami X, Y, Z. Tyto hodnoty lze vypočítat ze spektrální reflektance $R(\lambda)$ vzorku, spektrální intenzity distribuce osvětlení $\phi^0(\lambda)$ a funkcí trichromatických členitelů \bar{x} , \bar{y} , \bar{z} dle vztahů (3), (4), (5) a (6) [49]

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

$$Y = K \sum_{380}^{730} \phi^0(\lambda) \cdot R(\lambda) \cdot \bar{y}(\lambda) \quad (4)$$

$$Z = K \sum_{380}^{730} \phi^0(\lambda) \cdot R(\lambda) \cdot \bar{z}(\lambda) \quad (5)$$

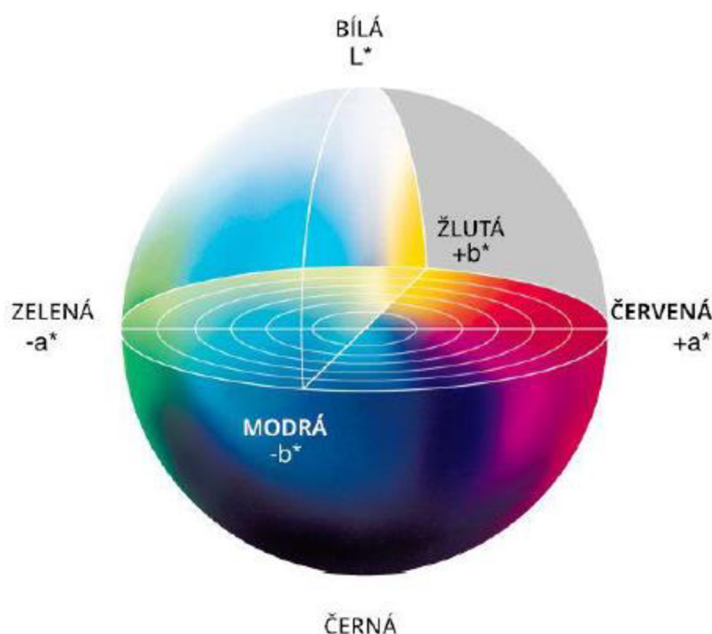
$$K = \frac{100}{\sum \phi^0(\lambda) \cdot \bar{y}(\lambda)} \quad (6)$$

Mezinárodní komise pro osvětlení CIE definovala barvové prostory CIE $L^*a^*b^*$. Hodnoty X, Y, Z lze pomocí rovnic (7), (8), (9) převést na souřadnice barvového prostoru CIE $L^*a^*b^*$. Hodnoty těchto souřadnic představují polohu barvy v třírozměrném barvovém prostoru. Hodnota L^* udává měrnou světlost, na ose a^* se vyskytují barvy od zelené po červenou a na ose b^* jsou barvy modrá až žlutá. Bílý bod má trichromatické hodnoty X_n, Y_n, Z_n dle zvolených pozorovacích podmínek. Vizualizace prostoru CIE $L^*a^*b^*$ je na Obrázku 10 [47], [49].

$$L^* = 116 \cdot \sqrt[3]{Y/Y_n} - 16 \quad (7)$$

$$a^* = 500 \cdot (\sqrt[3]{X/X_n} - \sqrt[3]{Y/Y_n}) \quad (8)$$

$$b^* = 200 \cdot (\sqrt[3]{Y/Y_n} - \sqrt[3]{Z/Z_n}) \quad (9)$$

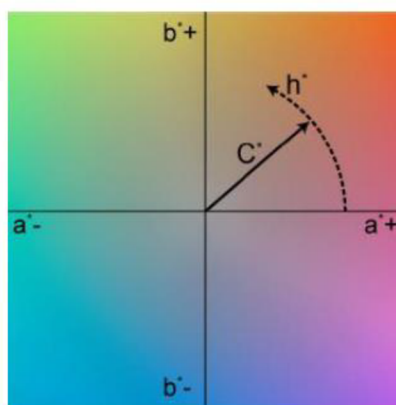


Obrázek 10: Grafické znázornění prostoru CIE $L^*a^*b^*$ [50]

Všem barvám, které je člověk schopen vnímat a rozeznat, lze přiřadit konkrétní souřadnice v tomto barvovém prostoru. Pomocí souřadnic a^* a b^* lze vypočítat ještě další atributy barev, a to: odstín (hue) h_{ab}° , neboli měrný úhel barevného tónu, a sytost (chroma) C_{ab}^* . Chroma vyjadřuje vzdálenost od středu chromatické roviny a měrnou čistotu barevného tónu s její zvyšující se hodnotou se zvyšuje i sytost barvy. Hodnota odstínu h_{ab}° se udává ve stupních, jelikož se jedná o úhel, jehož počátek je na kladné ose a^* a jeho druhé rameno tvoří úsečka chromy viz Obrázek 11. Obě tyto hodnoty lze vypočítat dle rovnic (10) a (11) [46], [47].

$$C_{ab}^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (10)$$

$$h_{ab}^\circ = \arctg\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (11)$$



Obrázek 11 Zobrazení měrného úhlu barevného tónu v prostoru CIE $L^*a^*b^*$ [46]

Pokud se mezi sebou barvy porovnávají, je potřeba vypočítat odchylku, tedy vzdálenost, v tomto prostoru podle rovnice (12). Barvová odchylka ΔE_{ab}^* zohledňuje rozdíl ve chromatické rovině i ve světlosti a pro snadnou interpretaci rozdílů mezi barvami existuje i hodnotící, která je uvedena v Tabulce 1. Podobně jako lze vypočítat barvovou odchylku ΔE_{ab}^* , lze vypočítat také odchylku odstínu – její výpočet je uveden v rovnici (13) [46], [48].

$$\Delta E_{ab}^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (12)$$

$$\Delta H^* = \sqrt{(\Delta E^*)^2 - (\Delta C^*)^2 - (\Delta L^*)^2} \quad (13)$$

Tabulka 1: Stupnice hodnocení barvových odchylek ΔE_{ab}^* [48]

ΔE_{ab}^*	rozdíl v barvě
0–0,2	nepostřehnutelný
0,2–0,5	velmi slabý
0,5–1,5	slabý
1,5–3,0	jasně postřehnutelný
3,0–6,0	střední
6,0–12,0	výrazný
12,0–16,0	velmi výrazný
větší než 16,0	rušící

2.4.3 Metoda pH difference

Metoda pH difference je založená na změně struktury anthokyanů při pH 1 a při pH 4,6. Anthokyanu podléhají reverzibilní strukturální transformaci v důsledku změny pH (při pH 1 se nachází v barevné oxoniové formě, při pH 4,6 pak v bezbarvé hemiketalové formě viz Obrázek 7). Rozdíl absorbancí při maximu vlnové délky, které se nachází kolem 510 nm, je rovný koncentraci pigmentu. Do výpočtu se zahrnují hodnoty absorpance při vlnové délce 700 nm kvůli korekci chyby měření z důvodu zákalu měřeného roztoku [51].

Tato metoda se využívá při spektrofotometrickém stanovení celkové koncentrace anthokyanů v roztoku pro svoji rychlost, jednoduchost, dostatečnou citlivost a cenovou dostupnost. Při jejím použití je důležité mít na paměti, že pH hodnota roztoku ovlivňuje barvu a stabilitu anthokyanů a je možné pomocí této metody stanovit optimální pH prostředí pro uchování a využití anthokyanů v potravinářském průmyslu [51].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Původ rostlinného materiálu a jeho skladování

Pro experimentální část této diplomové práce byly využívány bobule arónie (*Aronia melanocarpa*) jako zdroj anthokyanů. Bobule arónie byly získány z rodinného sadu z Podbeskydí a byly skladovány v mrazáku při teplotě – 15 °C.

3.2 Použité chemikálie

- Demineralizovaná voda, FCH VUT
- Ethanol 96 %, VWR
- Glycin p.a., PENTA
- Hydrogenfosforečnan sodný bezvodý, Fisher Scientific
- Hydroxid sodný, pecky, čistý, PENTA
- Chlorid amonný p.a., LACHEMA
- Chlorid draselný p.a., LACHEMA
- Chlorid sodný p.a., Mikrochem
- Kyselina citronová monohydrát, Lachner
- Kyselina chlorovodíková 35 % p.a., PENTA
- Polyvinylalkohol 10-98, Mw 61 000, CAS 9002-89-5, Fluka Honeywell
- Síran zinečnatý heptahydrát p.a., LACHEMA
- UV lak Packcure Secure Opaque white, CPY90100, FlintGroup

3.3 Použité přístroje

- Analytické digitální váhy Sartorius Entris 224I – 1S, Sartorius AG
- Bakerovo pravítko
- Hřidelová míchačka Eurostar 20 digital, IKA Werke
- Lampa s rtuťovou výbojkou zbavenou baňky s luminoforem HPM 125 W DE-LUXE, NBB Bohemia s.r.o.
- Lednička s mrazícím boxem, Liebherr
- Lyofilizátor, LABCONCO
- měřicí komora vytisknutá na 3D tiskárně WOX 1 od firmy Sindoh
- Odstředivka C-28, BOECO
- Přesné váhy KERN 440 - 47N, Kern&Sohn
- Radiometr x9-7, Gigahertz-Optik GmbH
- Rotační vakuová odparka IKA RV 06-ML, IKA Werke
- Sítotiskový stroj SD 05, RokuPrint
- Síto 180-27Y
- Spektrofotometr Helios α ,
- Spektrofotometr USB 650 UV, Ocean Insight
- Sušárna UF110, Memmert

- TQC aplikátor tenkých filmů, Gamin s.r.o.
- Třepačka IKA KS 130 basic, IKA Werke
- Tyčový mixér, Braun
- Ultrazvuk PJ 02000A, Powersonic

3.4 Použitý software

- Adobe Photoshop
- Microsoft Excel
- Microsoft Word
- Ocean view
- Originlab Pro, 2023
- Vision V3.50

3.5 Příprava extraktu anthokyanů z bobulí arónie

Pro přípravu extraktu bylo na přesných vahách naváženo do široké kádinky o objemu 2 l 500 g bobulí arónie, které byly následně zality 500 ml 50% roztoku ethanolu. Vše bylo rozmixováno tyčovým mixérem a umístěno na 60 minut na třepačku, kde bylo nastaveno 240 ot/min. Poté byl extrakt oddělen od pevného podílu na odstředivce při 4000 ot/min po dobu 5 minut. Takto bylo získáno cca 700 ml supernatantu, který byl dále zahuštěn na rotační vakuové odparce. Po zahuštění byl extrakt lyofilizován a získaný lyofilizát byl následně skladován ve vzduchotěsné nádobě v lednici při teplotě 8 °C.

3.6 Příprava roztoků pufrů

Nejprve byly připraveny zásobní roztoky pufrů. Bylo připraveno 6 zásobních roztoků dle Tabulka 2. Do odměrných baněk o příslušném objemu bylo kvantitativně převedeno navážené množství, resp. napipetováno v případě kyseliny chlorovodíkové, rozpuštěno a doplněno destilovanou vodou po rysku. Obsah byl řádně promíchán.

Tabulka 2: Zásobní roztoky pufrů

pufr	použitá chemikálie	navážka g/100 ml
0,2 M KCl	KCl	1,4920
0,2 M Na ₂ HPO ₄	Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	3,5600
0,1 M kyselina citronová	kys. citronová	2,1008
0,1 M glycin + NaCl	glycin, NaCl	0,7510 + 0,5850
0,1 M NaOH	NaOH, pecky	0,3999
pufr	použitá chemikálie	objem ml/100 ml
0,2 M HCl	HCl, 35 %	1,8

Pufry v rozmezí pH 3–12 byly připraveny přímým smícháním daných objemů dle údajů v Tabulce 3. Při přípravě pufrů pH 1–2 bylo nutné pufrы napipetovat do odměrných baněk a následně baňky doplnit po rysku destilovanou vodou.

Tabulka 3: Potřebné objemy zásobních roztoků pro přípravu pufrů o objemu 100 ml

pH	0,2 M chlorid draselný [ml]	0,2 M kyselina chlorovodíková [ml]
1	25,00	48,50
2	25,00	5,30
pH	0,2 M hydrogenfosforečnan sodný [ml]	0,1 M kyselina citronová [ml]
3	20,55	79,45
4	38,55	61,45
4,6	46,75	53,35
5	51,50	48,50
6	63,15	36,85
7	82,35	17,65
8	97,25	2,75
pH	0,1 M hydroxid sodný [ml]	0,1 M glycin + chlorid sodný [ml]
9	11,00	89,00
10	37,50	62,50
11	48,80	51,20
12	54,00	46,00

3.7 Měření absorpčních spekter

Pro měření absorpčních spekter anthokyanů z aronie byl připraven roztok lyofilizovaného extraktu a destilované vody v hmotnostním poměru 1:9. Po rozpuštění byl roztok odstředěn při 5500 ot/min po dobu 5 minut. V kyvetě byly smíchány 3 ml pufru, připraveného dle kapitoly 3.6, spolu s 65 μ l odstředěného roztoku anthokyanů. Následně byla pomocí spektrofotometru změřena absorpční spektra v oblasti 380-800 nm pro všechny vzorky s pH 1–12. Jako blank byla použita destilovaná voda. Z naměřených hodnot byly sestrojeny grafy spektra uvedené v kapitole 4.1. Výslednou barevnou řadu je možné vidět na Obrázek 122.



Obrázek 12: Měřené roztoky anthokyanového extraktu – pH 1–12

3.8 Stanovení celkové koncentrace anthokyanů

Naměřená spektra roztoků o pH 1 a 4,6 z kapitoly 3.7 byla dále použita pro stanovení celkové koncentrace anthokyanů v získaném extraktu dle metody pH difference viz kapitola 2.4.3. Pro výpočet byly dosazeny do rovnic (14) a (15) hodnoty absorbance těchto roztoků při vlnových délkách 530 a 700 nm, optická dráha v tomto případě byla 1 cm a faktor zředění 471,5. Výsledek byl vyjádřen jako ekvivalent kyanidin-3-galaktosidu, který je procentuálně nejvíce zastoupený v arónii (cca 70 %), jeho molární hmotnost je 449,2 g/cm a molární absorpční koeficient je 34300 dm³/(mol·cm) [33], [52].

$$\text{celková koncentrace anthokyanů (mg/l)} = \frac{\Delta A \cdot M_w \cdot F \cdot 1000}{\varepsilon \cdot L} \quad (14)$$

$$\Delta A = (A_{530} - A_{700})_{\text{pH } 1} - (A_{530} - A_{700})_{\text{pH } 4,6} \quad (15)$$

ΔA ... změna absorbance

M_w ... molární hmotnost

F ... faktor zředění

ε ... molární absorpční koeficient

L ... optická dráha (cm)

3.9 Příprava základních roztoků pro přípravu tenkých filmů

Dle kapitoly 3.5 byl získán extrakt z arónie, který byl rozpuštěn ve vodě v poměru 1:9, následně byl odstředěn při 5500 ot/min po dobu 5 minut. Takto připravený roztok byl dále používán jako zásobní roztok pro přípravu kompozic tenkých filmů. Mezi jednotlivými přípravami kompozic byl skladován na temném místě.

Pro přípravu tenkých filmů byl používán 15% roztok polyvinylalkoholu 10–98. K jeho přípravě bylo naváženo 7,5 g polyvinylalkoholu 10–98 a 42,5 g demineralizované vody, obě složky byly promíchány a výsledná směs byla ponechána přes noc v sušárně při 70 °C, aby nabobtnala. Po nabobtnání byl roztok zahříván ve vodní lázni při teplotě 75 °C a zároveň míchán hřídelovou míchačkou zhruba 2 hodiny do rozpuštění. Poté byl roztok doplněn na 50 g kvůli odparu vody při rozpouštění, aby výsledná koncentrace polyvinylalkoholu 10–98 byla 15 %. Takto připravený roztok byl promíchán a ponechán 15 minut v ultrazvuku pro odplynění. Roztok byl skladován na temném místě v kádince uzavřené parafilmem.

3.10 Příprava tenkých filmů

Pro přípravu tenkých filmů byly připraveny kompozice s roztokem anthokyanů o různém pH. Nejprve byl smíchán připravený roztok polyvinylalkoholu 10–98 s roztokem anthokyanů, oba připravené dle kapitoly 3.9, v poměru 1:1. Další kompozice byla připravena obdobně, ale s tím rozdílem, že do roztoku anthokyanů byl před smícháním s polymerem přidán buď pufr o pH 8, pH 1 (připravené dle kapitoly 3.6) nebo 3 % roztok NaOH. Přidávky byly pomocí pipety do modro-fialového zbarvení pro pH okolo 8, respektive oranžového v případě kyselého pH 1–2 viz barevné spektrum na Obrázek 12, a celková hmotnost přidávků byla zaznamenána do Tabulka 4. Byla připravena také kompozice, kde byl extrakt anthokyanů smíchán s pufrům o pH 7 v poměru 1:9, takto vzniklý namodralý roztok byl následně smíchán s připraveným roztokem polyvinylalkoholu 10–98 v poměru 1:1.

Tabulka 4: Přídavek roztoků pro úpravu pH do 1 g roztoku extraktu anthokyanů

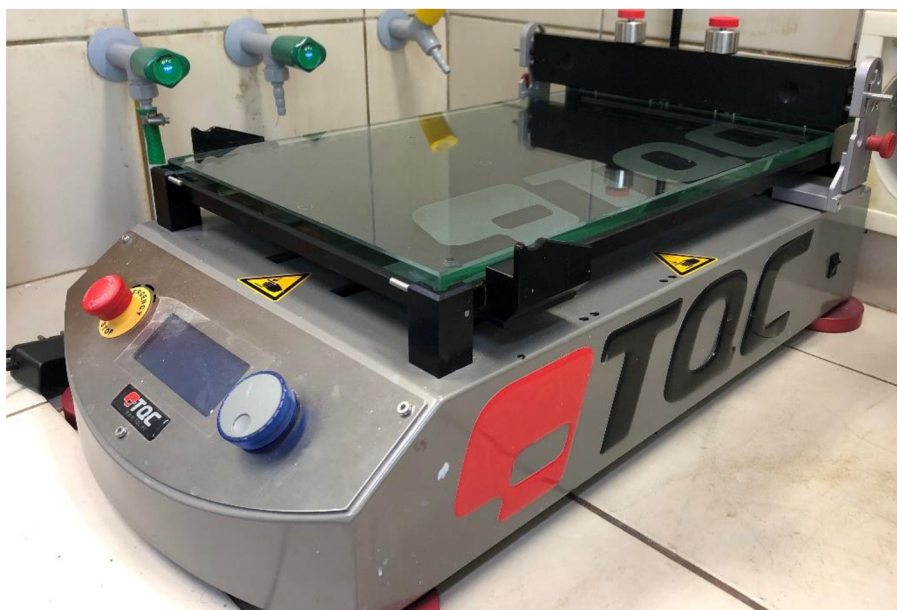
přidávaný roztok	přídavek (g)
pufr pH 8	0,6522
pufr pH 1	2,2495
3 % NaOH	0,1129

Po namíchání kompozic byla pomocí řezačky nařezána PET folie, která byla uchycena na automatický TQC aplikátor (Obrázek 14), který umožňuje rovnoměrné nanášení tenkých vrstev, s nastavením rychlosti 5,0 cm/s a délkou dráhy 16,0 cm. Na folii bylo umístěno Bakerovo pravítko (Obrázek 13) tak, aby tloušťka mokré vrstvy byla 60 μm , a poté byla před něj pomocí Pasteurovy pipety nadávkována připravená kompozice. TQC aplikátor byl spuštěn a vytvořily se tenké filmy – indikátory pH.



Obrázek 13: Bakerovo pravítko

Vzniklé tenké filmy byly ponechány k volnému zaschnutí při laboratorní teplotě po dobu 1 hodiny. Po zaschnutí byly filmy uchovávány v deskách na temném a suchém místě, aby se zamezilo přístupu světla a pachů.



Obrázek 14: TQC automatický aplikátor tenkých filmů

3.11 Přetisk vrstev UV lakem

Vybrané tenké vrstvy, které byly připraveny dle postupu popsáno v kapitole 3.10, byly následně přetisknuty pomocí UV laku Packcure Secure Opaque white pomocí sítotiskového stroje SD 05. K samotnému tisku bylo použito síto 180–27Y, přes které se lak protlačil na nanesené tenké vrstvy, po zaschnutí byl UV lak vytvrzen pomocí rtuťové výbojky při intenzitě 5 mW/cm² po dobu 8 minut.

Přetisknuty byly celkem 2 kompozice a to: kompozice obsahující extrakt z aronie rozpuštěný ve vodě a kompozice obsahující extrakt z aronie rozpuštěný v pufru o pH 7.

3.12 Měření barevné změny indikátoru v prostředí amoniaku

Pro potřeby měření byly připraveny následující pomocné roztoky: 8% roztok NaOH a přesycený roztok ZnSO₄·7H₂O, kdy se do 100 ml demineralizované vody postupně přidával heptahydrát síranu zinečnatého, dokud nebyla dosažena rovnováha mezi roztokem a nerozpuštěným podílem.

K samotnému měření byla využita měřicí komůrka vytisknutá na 3D tiskárně o objemu cca 550 ml viz Obrázek 15, do které byla zavedena sonda spektrofotometru Ocean optics, který byl připojen k počítači a ovládán softwarem Ocean view. Prostředí amoniaku bylo vytvořeno tak, že se do komůrky vložila kádinka s naváženým chloridem amonným a přes jehlu, která byla zabudována v komůrce, se injekční stříkačkou vstříkovalo 5 ml 8% roztoku NaOH. Reakce probíhá dle rovnice (16):



Potřebné množství chloridu amonného bylo vypočítáno dle požadovaného množství amoniaku v měřicí komůrce. Vzorový výpočet pro 1 mg NH₃ je nastíněn níže rovnicemi (17), (18), (19), přepočet vznikajícího množství amoniaku na koncentraci byl proveden dle rovnice (20), hodnoty pro veškeré navážky i koncentrace jsou zaznamenány v Tabulce 5. Použité hodnoty molární hmotnosti pro dosazení: M_r(NH₄Cl) = 53,491 a M_r(NH₃) = 17,031

$$n(\text{NH}_4\text{Cl}) = n(\text{NH}_3) \rightarrow \frac{m_{\text{NH}_4\text{Cl}}}{M_r(\text{NH}_4\text{Cl})} = \frac{m_{\text{NH}_3}}{M_r(\text{NH}_3)} \quad (17)$$

$$m_{\text{NH}_4\text{Cl}} = \frac{m_{\text{NH}_3}}{M_r(\text{NH}_3)} \cdot M_r(\text{NH}_4\text{Cl}) = \frac{0,001}{17,031} \cdot 53,491 \quad (18)$$

$$m_{\text{NH}_4\text{Cl}} = \mathbf{0,0031 \text{ g}} \quad (19)$$

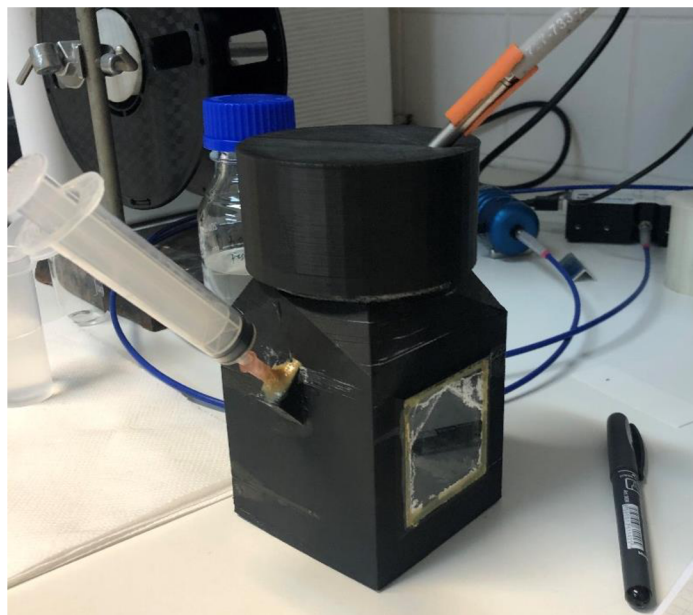
$$C = \frac{n}{V} = \frac{m_{\text{NH}_3}}{M_r(\text{NH}_3) \cdot V_{\text{komůrky}}} = \frac{0,001}{17,031 \cdot 0,550} = \mathbf{0,0001 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}} \quad (20)$$

Tabulka 5: Množství chloridu amonného, který je třeba navážít pro dosažení vzniklého množství amoniaku v měřící komůrce

množství vzniklého NH ₃ (mg)	navážené množství NH ₄ Cl (g)	koncentrace plynného NH ₃ (mol/dm ³)
1	0,0031	0,0001
2	0,0062	0,0002
3	0,0094	0,0003
5	0,0157	0,0005
10	0,0314	0,0011
15	0,0471	0,0016
30	0,0942	0,0032
60	0,1884	0,0064
75	0,2356	0,0080

Samotné měření probíhalo tak, že byl nejprve připojen spektrofotometr do sítě a k počítači, na kterém byl následně spuštěn program Ocean view a vybrána přednastavená metoda měření. K víčku měřící komůrky byla oboustrannou lepicí páskou přidělena bílá keramická destička a k ní, pod úhlem 45°, byla těsně přiblížena sonda spektrofotometru. Poté proběhlo vynulování na bílou barvu (100% reflektance) referenční destičky a tmavého pozadí při odstíněném spektrofotometru. V programu bylo také nastaveno automatické snímání a ukládání hodnot reflektance a vlnové délky. V případě vrstev přetisknutých bílým UV lakem bylo provedeno vynulování na bílou barvu pomocí PET fólie, která byla přetisknutá použitým bílým UV lakem. Tato PET folie byla analogicky vložena do víčka měřící komůrky, přichycena oboustrannou lepicí páskou a k ní, pod úhlem 45°, byla těsně přiblížena sonda spektrofotometru.

Po nastavení programu byla bílá keramická destička vyjmuta a na její místo byla vložena a upevněna stejná destička s nalepeným vzorkem indikátoru o rozměrech přibližně 1,5 x 1,5 cm. Do vnitřní části měřící komůrky byla vložena kádinka s přesyceným roztokem heptahydrátu síranu zinečnatého a poté i kádinka s naváženým množstvím chloridu amonného, která byla umístěna pod zabudovanou jehlu. Takto připravená měřící komůrka byla opatrně pevně uzavřena víčkem, na kterém byl přidělaný vzorek a sonda spektrofotometru.



Obrázek 15: Měřicí komůrka pro měření odrazových spekter vrstev po kontaktu s amoniakem

Z programu Ocean view byly manuálně odečteny hodnoty L^* , a^* , b^* , C^* a h^* v čase 0 minut, tyto hodnoty byly dále manuálně ukládány po celou dobu měření v předem stanovených časech, poté bylo zapnuto automatické ukládání spekter a do injekční stříkačky nabráno 5 ml předem připraveného roztoku 8% hydroxidu sodného. Byly spuštěny stopky a zároveň byla injekční stříkačka nasazena do zabudované jehly v měřicí komůrce a její obsah pomalu nadávkován do kádinky s chloridem amonným. Měření bylo ukončeno po 30 minutách, zaznamenaná data byla uložena k dalšímu vyhodnocení.

Naměřené hodnoty reflektance byly následně převedeny na optickou hustotu pomocí rovnice (21) a byla tak získána spektra optické hustoty na vlnové délce.

$$D = -\log R \quad (21)$$

D ... optická hustota

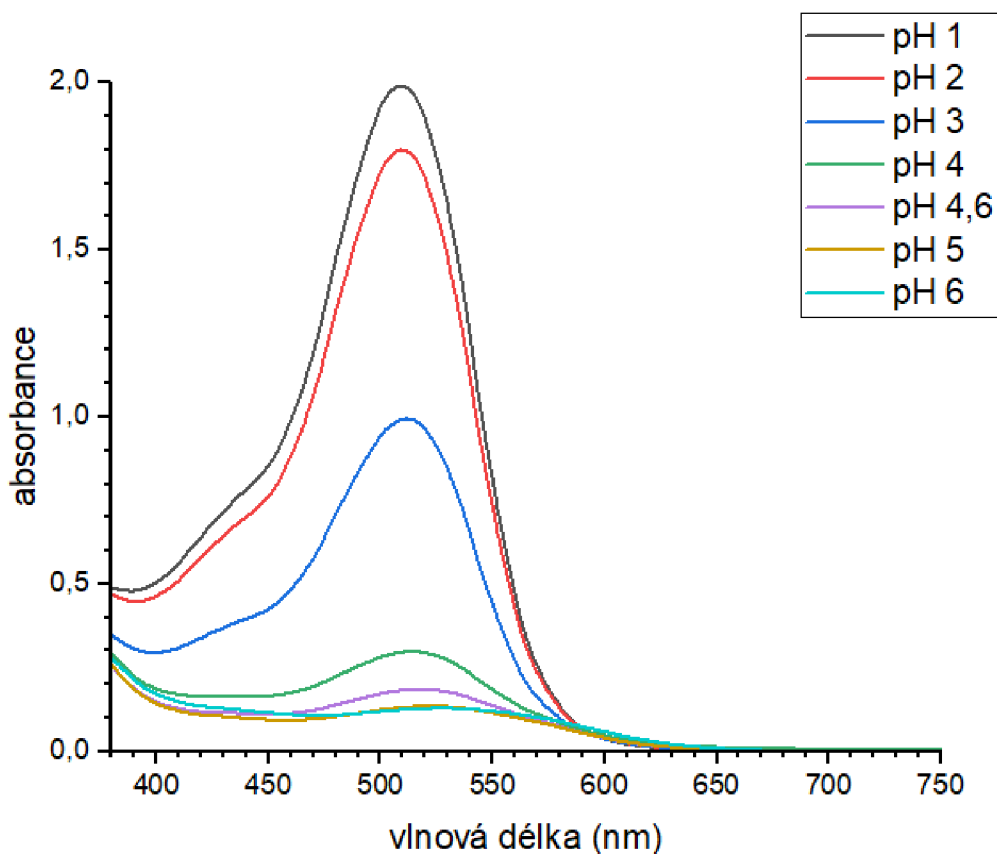
R ... reflektance

Naměřené hodnoty L^* , a^* , b^* , C^* pro jednotlivá měření byly použity pro vizualizaci barevného přechodu v programu Adobe Photoshop.

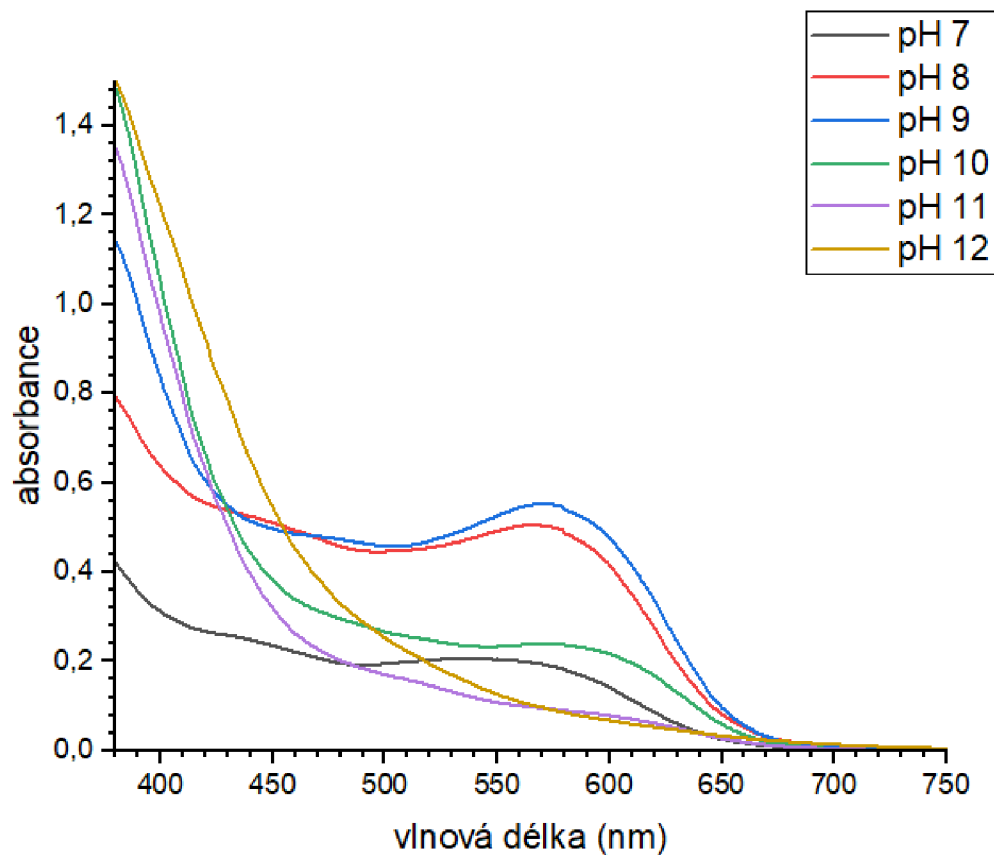
4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Absorpční spektra anthokyanového extraktu

Měření absorpčních spekter bylo provedeno dle postupu popsaného v kapitole 3.7. Naměřená spektra byla vynesena pro přehlednost do dvou grafů na Obrázcích 16 a 17. Graf na Obrázku 16 představuje absorpční spektrum anthokyanového extraktu v rozmezí pH 1–6, graf na Obrázku 17 zobrazuje rozmezí pH 7–12. Z Obrázku 16 je patrné, že absorbance prudce klesá při pH 4 a se zvyšujícím se pH až k pH 6 se dále snižuje. Maximální hodnota absorbance pro kyselou oblast pH se pohybuje kolem 510 nm, roztoky jsou růžovo-oranžové a postupně přechází do světle růžové. Oproti tomu Obrázek 17 představuje zásaditou oblast pH s maximem absorbance při vlnové délce kolem 570 nm, což odpovídá modro-fialovému zbarvení pro roztoky s pH 8 a 9. Při dalším zvyšování pH toto zbarvení mizí a roztoky se zbarvují do žluta v důsledku vznikajícího žlutého chalconu [33]. Změnu barvy roztoků způsobenou rozdílným pH anthokyanového extraktu z aronie je možné vidět na Obrázku 12.



Obrázek 16: Závislost absorbance na vlnové délce roztoků anthokyanového extraktu, pH 1–6



Obrázek 17: Závislost absorbance na vlnové délce roztoků anthokyanového extraktu, pH 7–12
 Naměřená spektra se shodují se spektry, která jsou uvedena v článku skupiny vědců v čele s Caixia Wang, kteří zkoumali možné využití anthokyanů extrahovaných z bobulí arónie pro aplikaci v inteligentních obalech [53].

4.2 Stanovení celkové koncentrace anthokyanů

Stanovení celkové koncentrace anthokyanů bylo provedeno dle kapitoly 3.8. Pro výpočet byly do rovnic (14) a (15) dosazeny hodnoty absorbance z Tabulky 6.

Tabulka 6: Naměřené hodnoty absorbance pro pH 1 a pH 4,6 při vlnové délce 530 a 700 nm

	A ₅₃₀	A ₇₀₀
pH 1	1,6367	0,0013
pH 4,6	0,1780	0,0012

Výpočet:

$$\Delta A = (A_{530} - A_{700})_{\text{pH } 1} - (A_{530} - A_{700})_{\text{pH } 4,6}$$

$$\Delta A = (1,6367 - 0,0013)_{\text{pH } 1} - (0,1780 - 0,0012)_{\text{pH } 4,6}$$

$$\Delta A = 1,4586$$

$$\text{celková koncentrace anthokyanů (mg/l)} = \frac{\Delta A \cdot M_w \cdot F \cdot 1000}{\epsilon \cdot L}$$

$$\text{celková koncentrace anthokyanů (mg/l)} = \frac{1,4586 \cdot 449,2 \cdot 417,5 \cdot 1000}{34300 \cdot 1}$$

$$\text{celková koncentrace anthokyanů (mg/l)} = 9006,66$$

Celková koncentrace anthokyanů roztoku extraktu z arónie ve vodě v poměru 1:9 vyjádřená jako ekvivalent nejvíce zastoupeného anthokyanového barviva kyanidin-3-galaktosidu činila po zaokrouhlení 9 g/l.

4.3 Odhad pH barevných přechodů jednotlivých vrstev a po kontaktu s NH₃

Spektra závislosti absorbance na vlnové délce, které se nachází na Obrázcích 16 a 17 byla použita pro odhad pH připravených vrstev a barevných přechodů vrstev po kontaktu s amoniakem. Spektra z Obrázků 16 a 17 byla porovnána s naměřenými odrazovými spektry připravených tenkých vrstev a na základě jejich podobnosti bylo odhadnuto jejich pH a pH jejich barevného přechodu po kontaktu s amoniakem.

Růžové vrstvy měly na začátku měřené pH kolem 3, po kontaktu s 1, 2 a 3 mg amoniaku se jejich pH změnilo na hodnotu kolem 8, pro množství 5 mg se hodnota pH výsledné vrstvy pohybovala mezi 7 a 8, jelikož pravděpodobně došlo k menší netěsnosti v měřící komůrce. Při kontaktu s 10, 15 a 30 mg amoniaku bylo pH výsledné vrstvy 8–9.

Odhadované pH fialových vrstev na počátku měření je kolem 6 až 7, v průběhu měření došlo k přechodu k vyššímu pH pouze při přítomnosti 5 mg amoniaku, a odhadované pH tohoto přechodu je 8–9. Modré vrstvy měly po celou dobu měření pH kolem 8–9, jelikož se nepodařil přechod do zeleno-žluté oblasti pH 10-12.

4.4 Měření barevnosti vrstev po kontaktu s amoniakem

Připravené tenké vrstvy dle kapitoly 3.10 byly následně vloženy do prostředí s různou koncentrací amoniaku a byla proměřena jejich barevná reakce na toto prostředí dle postupu popsaného v kapitole 3.12. Každé měření probíhalo po dobu 30 minut a při jeho průběhu byla snímána odrazová spektra. Naměřená reflektance byla následně přepočítána na optickou hustotu podle rovnice (21) a vynesena do grafu v závislosti na vlnové délce pro čas 0 minut a 30 minut, tedy před působením amoniaku a na konci experimentu. Dále byly získávány hodnoty L^* , a^* , b^* , C^* v předem stanovených intervalech, z nichž byla následně vypočítána barvová odchylka ΔE_{ab}^* a odchylka odstínu ΔH^* , také byla provedena barevná vizualizace průběhu celého experimentu.

4.4.1 Kompozice obsahující pouze extrakt arónie

Nejprve bylo ověřeno, že vytvořené růžové tenké vrstvy reagují barevnou změnou na vzniklé prostředí nízkých koncentrací amoniaku, do jakého barevného přechodu se lze dostat a jak rychle ke změně barvy dochází. Reakce těchto vrstev byla proměřena při vzniklém množství 1, 2, 3, 5, 10, 15 a 30 mg amoniaku.

Získané hodnoty L^* , a^* , b^* , C^* byly zaznamenány do Tabulek 7, 8, 9 a 10. Žádoucí barevný přechod, jehož bylo cílem dosáhnout pro tyto vrstvy, je z růžové barvy (pH 3–4) do odbarvení (pH 5–6), případně až do modrého zbarvení, které je charakteristické pro pH kolem 8–9. Barevné přechody anthokyanů v arónii jsou na Obrázku 12.

Tabulka 7 ukazuje, jak se měnila hodnota a^* v průběhu času při působení různého množství amoniaku. Záporná hodnota $-a^*$ představuje zelenou barvu a kladná hodnota $+a^*$ červenou barvu. Původní připravené tenké vrstvy jsou růžové, hodnota a^* v čase 0 minut je tedy kladná a s postupem času působení amoniaku přechází do záporných hodnot, jak se indikátor odbarvuje působením amoniaku. Hodnoty a^* klesají již při nízkém množství působícího amoniaku, výjimkou je působení 5 mg amoniaku, kde se do záporných hodnot $-a^*$ vrstvy nedostaly, což může být způsobeno netěsnostmi měřící komůrky v průběhu měření. Pro působící množství do 10 mg amoniaku se hodnoty mění nejvíce mezi 7. a 10. minutou, v případě 30 mg amoniaku dochází ke skoku v hodnotách a^* již mezi 3. a 5 minutou.

Tabulka 7: Naměřené hodnoty a^* pro různé množství působícího amoniaku na růžové vrstvy

Hodnoty a^*							
	množství amoniaku (mg)						
čas (min)	1	2	3	5	10	15	30
0	21,31	19,08	25,82	23,10	21,76	26,87	20,50
1	19,34	18,18	25,34	22,77	20,91	25,63	19,42
2	18,59	17,36	24,50	22,56	20,06	24,99	17,38
3	14,38	16,53	23,80	22,12	19,36	23,86	15,88
5	10,11	14,34	21,93	21,47	17,66	21,71	9,83
7	8,05	11,71	19,52	20,69	14,72	19,00	0,28
10	3,16	8,61	15,89	19,32	9,46	14,52	-1,55
12	0,59	6,00	13,44	18,49	5,90	11,99	-1,74
15	-0,62	0,85	9,17	16,61	-2,09	7,87	-2,03
17	-1,04	0,03	5,13	15,31	-2,51	5,34	-2,23
20	-1,11	-0,44	-1,57	13,10	-2,64	-0,04	-2,50
25	-1,23	-0,71	-2,46	9,25	-3,00	-3,82	-2,38
30	-1,15	-0,87	-2,93	1,48	-2,96	-4,01	-2,59

V Tabulce 8 jsou zaznamenány hodnoty b^* , které představují modrou $-b^*$, resp. žlutou $+b^*$ barvu na ose v prostoru CIELAB. Hodnoty b^* začínají v záporných hodnotách, jelikož připravené filmy byly růžové, obsahují tedy jak červenou, tak modrou složku barvy, a s přibývajícím časem se jejich hodnota přibližuje kladným číslům. Oproti ose a^* nenastává žádný velký skok mezi určitým časem, výjimku opět tvoří hodnoty pro množství 30 mg amoniaku, kdy mezi 5. a 7. minutou dojde k výraznému posunu ve směru ke kladné ose. Při tomto působícím množství amoniaku došlo k nejrychlejšímu odbarvení dané vrstvy, což lze pozorovat na příslušné vizualizaci na Obrázku 24.

Tabulka 8: Naměřené hodnoty b^* pro různé množství působícího amoniaku na růžové vrstvy

Hodnoty b^*							
	množství amoniaku (mg)						
čas (min)	1	2	3	5	10	15	30
0	-6,94	-6,72	-9,78	-8,03	-7,64	-8,78	-7,17
1	-6,32	-5,61	-9,90	-7,80	-7,76	-8,11	-6,82
2	-4,05	-5,53	-9,19	-8,00	-6,24	-8,25	-4,68
3	-6,25	-5,35	-8,86	-7,95	-4,40	-8,21	-3,43
5	-5,65	-5,54	-8,80	-7,95	-4,52	-7,97	-5,73
7	-4,61	-4,82	-8,02	-6,82	-5,12	-7,15	-1,99
10	-2,40	-4,46	-7,46	-5,64	-5,89	-6,39	-1,86
12	-2,25	-3,12	-7,09	-5,88	-4,63	-6,21	-2,23
15	-1,18	-1,36	-6,18	-5,67	-2,83	-5,62	-2,45
17	-1,23	-0,84	-4,35	-6,08	-4,27	-5,01	-2,16
20	-1,51	-0,75	-2,73	-5,41	-4,82	-2,97	-2,34
25	-1,72	-0,91	-3,41	-4,84	-4,39	-4,03	-3,08
30	-1,90	-1,07	-3,43	-2,28	-4,30	-4,61	-2,80

Tabulka 9 zobrazuje naměřené hodnoty měrné světlosti L^* v průběhu působení různého množství amoniaku. Při působení 1 mg amoniaku se hodnoty měrné světlosti L^* měnily nejvíce do 7. minuty, poté se hodnota ustálila. S přibývajícím množstvím amoniaku již hodnoty tolik nekolísají, což může být způsobeno tím, že vrstvy po odbarvení z růžové přechází do modré barvy, která se může jevit jako tmavší.

Tabulka 9: Naměřené hodnoty L^* pro různé množství působícího amoniaku na růžové vrstvy

Hodnoty L^*							
množství amoniaku (mg)							
čas (min)	1	2	3	5	10	15	30
0	76,81	75,33	75,32	74,07	74,76	75,67	86,75
1	77,91	75,34	75,70	74,19	75,48	76,16	87,07
2	73,11	75,55	75,94	74,37	75,86	76,29	87,56
3	71,41	75,68	76,17	74,49	75,22	76,52	83,79
5	73,34	75,71	76,85	74,75	73,04	77,00	82,52
7	73,89	76,46	77,77	74,67	70,95	77,69	84,78
10	75,11	77,66	78,97	74,01	71,17	78,71	85,34
12	75,69	78,21	79,61	73,46	71,99	79,22	85,52
15	75,82	79,02	80,38	72,80	72,65	79,81	85,47
17	75,92	79,09	80,73	72,73	72,22	80,05	85,45
20	75,99	79,24	80,74	72,61	71,99	80,23	85,41
25	76,01	79,20	79,91	72,55	71,88	78,90	85,42
30	76,12	79,18	79,18	72,81	71,88	78,27	85,35

Hodnoty sytosti neboli chromy C^* jsou uvedeny v Tabulce 10. U všech měřených množství amoniaku má hodnota C^* klesající charakter zhruba do 20. minuty, a poté dochází k opětovnému zvýšení sytosti. To odpovídá tomu, že dochází nejprve k odbarvování vrstvy a následně k přechodu z růžové barvy na modrou. Nejpatrnější je skok při působení 30 mg amoniaku, kde mezi 5. a 7. minutou dochází k výraznému skoku hodnoty C^* z 11 na 2, aby pak v 15. minutě začala opět mírně stoupat. Uvedenou skutečnost je také možné dobře pozorovat na vizualizaci experimentu při působení 30 mg amoniaku na Obrázku 24.

Tabulka 10: Naměřené hodnoty C^* pro různé množství působícího amoniaku na růžové vrstvy

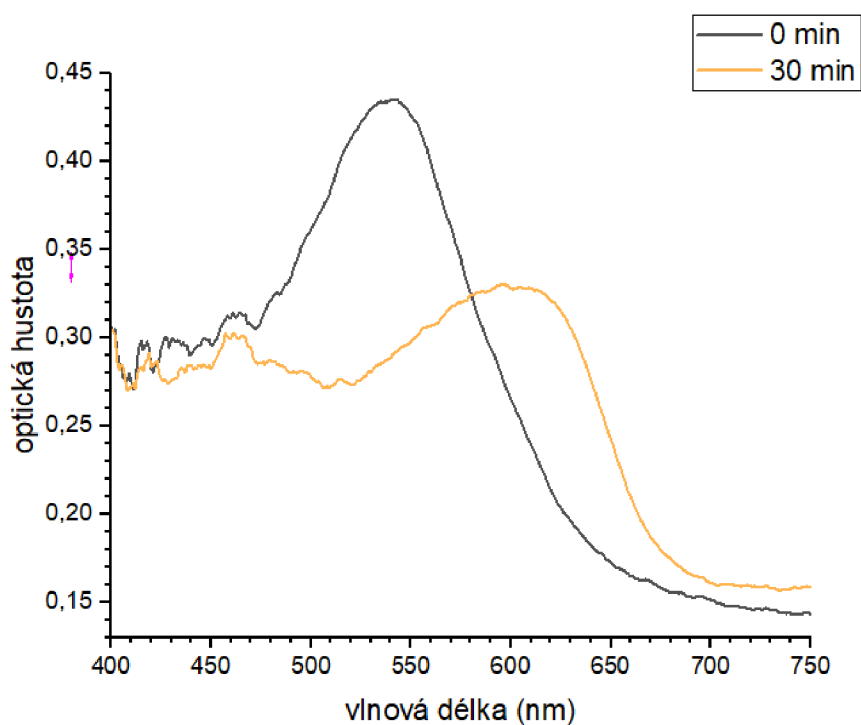
Hodnoty C^*							
	množství amoniaku (mg)						
čas (min)	1	2	3	5	10	15	30
0	22,41	20,23	27,61	24,45	23,06	28,27	21,72
1	20,34	19,02	27,21	24,07	22,30	26,88	20,58
2	19,02	18,22	26,17	23,93	21,00	26,31	18,00
3	15,68	17,37	25,39	23,50	19,86	25,23	16,25
5	11,59	15,37	23,63	22,89	18,23	23,12	11,38
7	9,28	12,66	21,10	21,78	15,59	20,30	2,01
10	3,97	9,70	17,55	20,13	11,15	15,86	2,42
12	2,32	6,76	15,19	19,40	7,50	13,50	2,83
15	1,33	1,60	11,06	17,55	3,52	9,67	3,18
17	1,61	0,84	6,72	16,48	4,95	7,32	3,10
20	1,87	0,87	3,15	14,17	5,50	2,97	3,42
25	2,11	1,16	4,20	10,44	5,31	5,56	3,90
30	2,22	1,38	4,51	2,72	5,22	6,11	3,82

Tabulka 11: Vypočtené hodnoty z naměřených dat pro růžové vrstvy

	množství amoniaku (mg)						
	1	2	3	5	10	15	30
ΔC^*	-20,19	-18,85	-23,10	-21,73	-17,84	-22,16	-17,90
ΔL^*	-0,69	3,85	3,87	-1,26	-2,88	2,60	-1,40
Δa^*	-22,46	-19,95	-28,75	-21,62	-24,72	-30,88	-23,09
Δb^*	5,04	5,65	6,35	5,74	3,34	4,18	4,37
ΔE_{ab}^*	23,03	21,09	29,70	22,40	25,11	31,27	23,54
ΔH^*	22,46	19,95	28,75	21,62	24,72	30,88	23,09

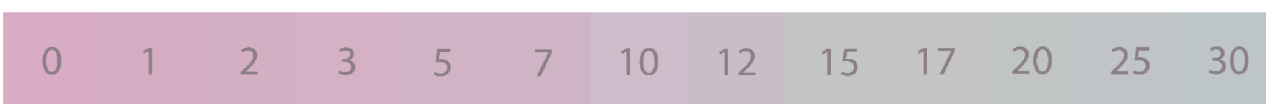
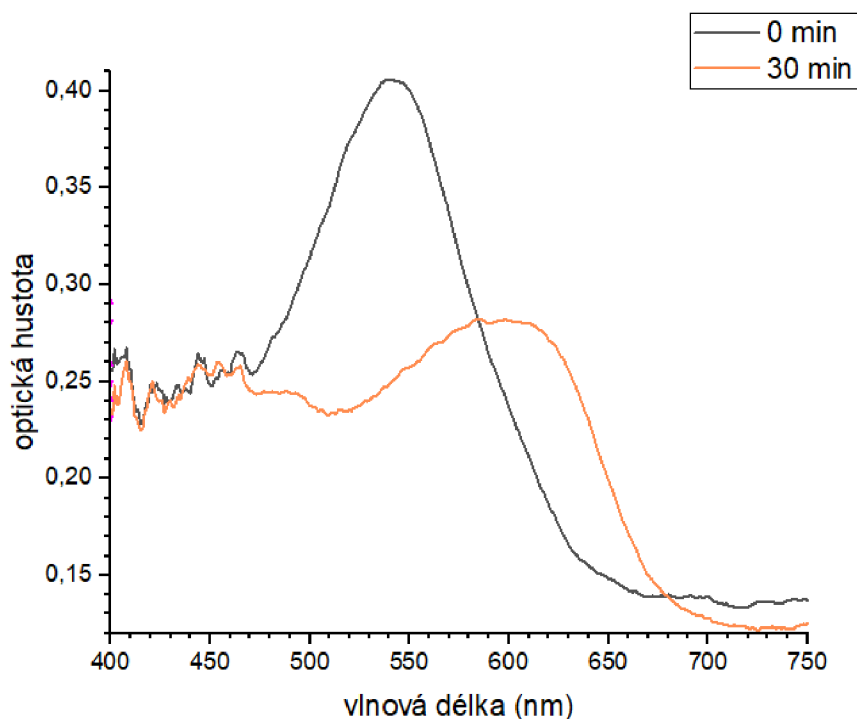
V Tabulce 11 jsou uvedeny vypočtené hodnoty z naměřených hodnot L^* , a^* , b^* , C^* , hodnoty Δa^* ukazují, rozdíl hodnot v 30. a 0. minutě, analogicky byly vypočítány i ostatní hodnoty. Úbytek červené barvy ve vrstvě (hodnota a^*) je značný, množství modré barvy (hodnota b^*) ve vrstvě nepatrně roste. Hodnoty barvové odchylky a odchylky odstínu vykazují podobné trend změn jejich hodnot. Dochází tedy jak ke změně barvy, tak i odstínu.

Na Obrázku 18 je vynesena závislost optické hustoty na vlnové délce pro růžovou vrstvu při působení 1 mg amoniaku a příslušná vizualizace průběhu celého experimentu. V čase 0 minut lze pozorovat maximum optické hustoty při 540 nm, toto maximum se po působení amoniaku posunulo až k hodnotě 610 nm, což odpovídá změně barvy z růžové na modrou, jak dokládá i příslušná vizualizace. Na ní je vidět několik změn barvy v průběhu experimentu a to v 5. a 10. minutě, kdy se z růžové stává fialová, a v 17. minutě, kdy dochází k odbarvení. Porovnáním spekter v grafech na Obrázcích 16 a 17 s odrazovým spektrem na Obrázku 18 bylo odhadnuto, že pH vrstvy po působení amoniaku bylo kolem 8.



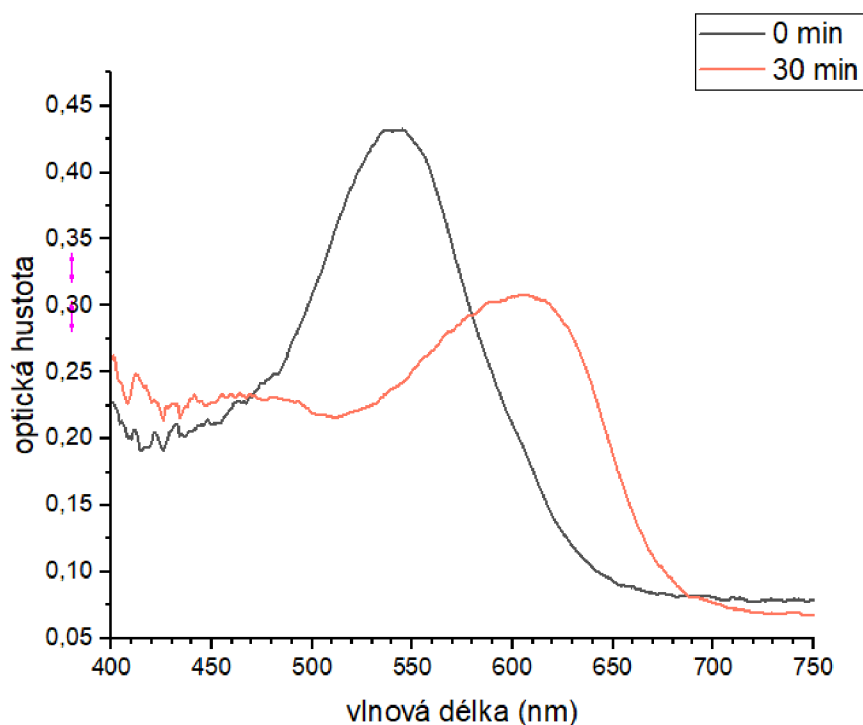
Obrázek 18: Závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 1 mg amoniaku v časech 0 a 30 min a vizualizace změny barvy v minutách při působení 1 mg NH₃

Na Obrázku 19 je vynesena závislost optické hustoty na vlnové délce pro růžovou vrstvu při působení 2 mg amoniaku a příslušná vizualizace průběhu celého experimentu. Maximum optické hustoty se během experimentu opět posunulo z 540 nm k 610 nm, tudíž dochází k přeměně barvy z růžové na modrou, jak také ukazuje vizualizace, na které lze také vidět, že se barva mění hned několikrát – nejprve v 5. minutě do fialova, poté v 10. minutě dochází k zesvětlení vzniklé fialové barvy a po 15 minutách dochází k odbarvení. Na konci celého experimentu, tedy po 30 minutách, je indikátor namodralý a porovnáním spekter v grafech na Obrázcích 16 a 17 s odrazovým spektrem na Obrázku 19 bylo odhadnuto, že pH namodralé vrstvy po působení amoniaku bylo kolem 8.



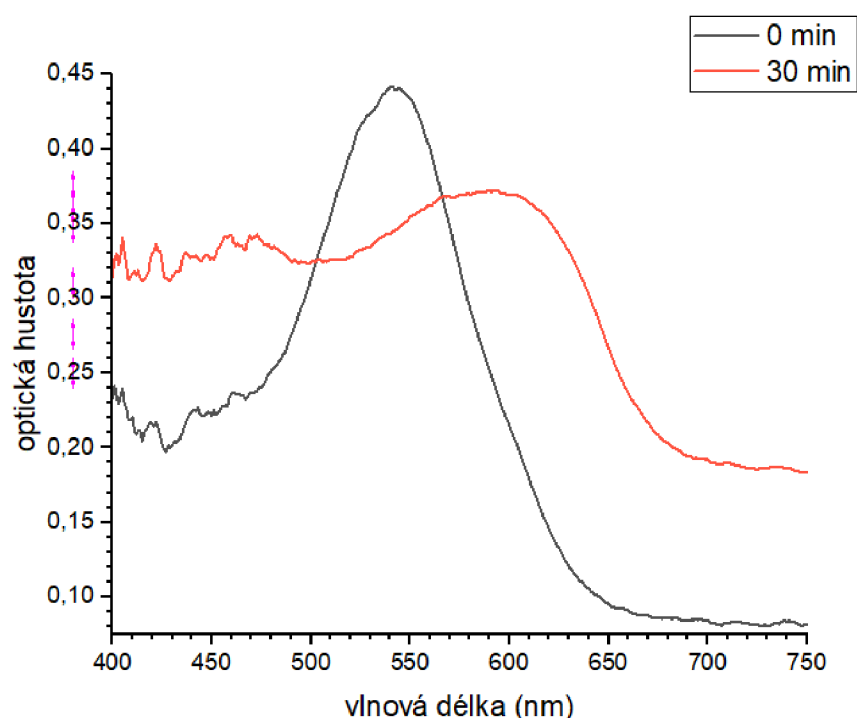
Obrázek 19: Závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 2 mg amoniaku v časech 0 a 30 min a vizualizace změny barvy v minutách při působení 2 mg NH_3

Na Obrázku 20 je vynesena závislost optické hustoty na vlnové délce pro růžovou vrstvu při působení 3 mg amoniaku a příslušná vizualizace průběhu celého experimentu. I zde dochází k posunu maxima optické hustoty z 540 nm k 610 nm. V průběhu experimentu, který lze sledovat na vizualizaci, dochází k několika změnám barvy, konkrétně v 5. a 7. minutě, kde lze vidět nejprve lehké odbarvení růžové a následný přechod na fialovou barvu. Ve 20. minutě dojde k přeměně fialové na modrou barvu, která se do konce experimentu ještě o něco více vybarví, odhadnuté pH výsledné vrstvy je kolem 8. pH bylo odhadnuto srovnáním spekter v grafech na Obrázcích 16 a 17 s odrazovým spektrem na Obrázku 20.



Obrázek 20: Závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 3 mg amoniaku v časech 0 a 30 min a vizualizace změny barvy v minutách při působení 3 mg NH_3

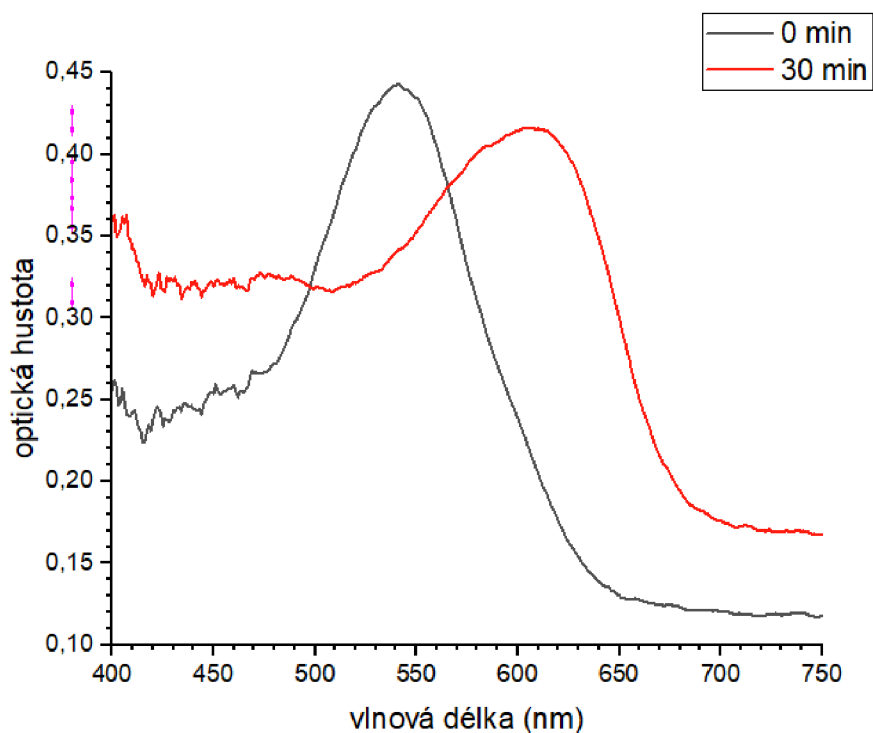
Na Obrázku 21 je vynesena závislost optické hustoty na vlnové délce pro růžovou vrstvu při působení 5 mg amoniaku a příslušná vizualizace průběhu celého experimentu. U tohoto indikátoru také dochází k posunu maxima optické hustoty z 540 nm k 610 nm. Vzhledem k vyššímu množství působícího amoniaku by se dalo očekávat, že tato přeměna barvy bude probíhat rychleji, ovšem dle vizualizace dochází k přeměně růžové barvy na fialovou v 10. minutě a k odbarvení dojde až na konci experimentu, tedy po 30 minutách, modrá barva není příliš patrná ani po ukončení experimentu. To může být způsobeno menší netěsností měřící komůrky při experimentu, případně by mohlo být na vině i špatné umístění sondy spektrofotometru, která mohla snímat hodnoty z větší dálky nebo naopak mohla zamezit přístupu amoniaku k měřené vrstvě. Byla porovnána spektra na Obrázcích 16 a 17 s odrazovým spektrem na Obrázku 21 pro odhadnutí pH výsledné vrstvy, které bylo mezi 7 a 8.



0 1 2 3 5 7 10 12 15 17 20 25 30

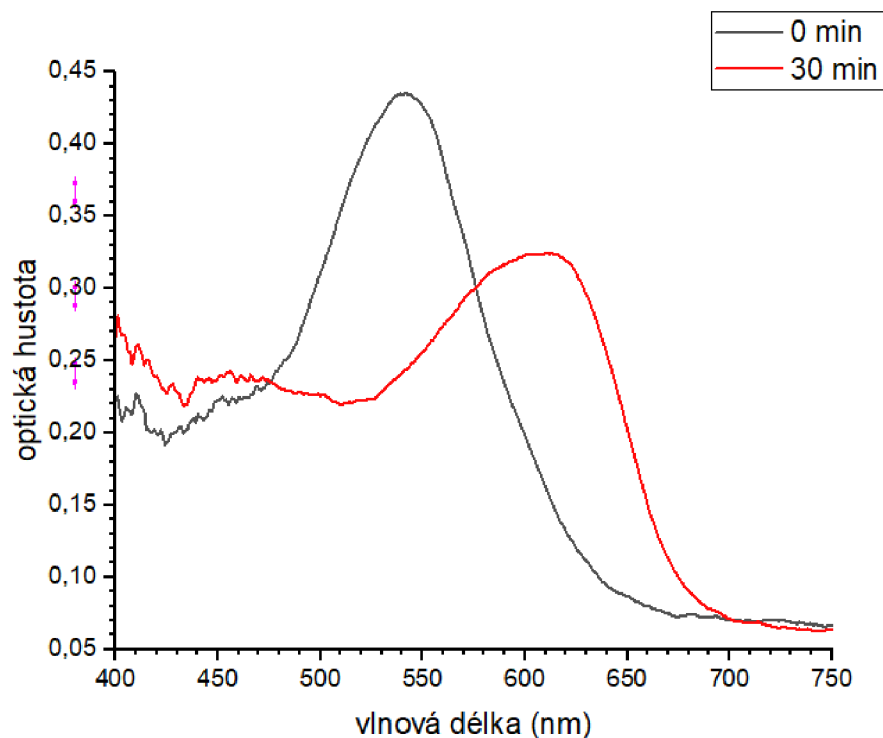
Obrázek 21: Závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 5 mg amoniaku v časech 0 a 30 min a vizualizace změny barvy v minutách při působení 5 mg NH_3

Na Obrázku 22 je vynesena závislost optické hustoty na vlnové délce pro růžovou vrstvu při působení 10 mg amoniaku a příslušná vizualizace průběhu celého experimentu. V tomto případě dochází k posunu maxima optické hustoty z 540 nm k 620 nm. Na vizualizaci je vidět, že změna barvy z růžové na fialovou začíná již po 3 minutách, v 7. minutě fialová barva nabírá na sytosti a k přechodu na modrou barvu dojde po 15. minutách. Přeměna tak není rychlejší než při nižších koncentracích, ale výsledná barva je zřetelnější a více do modra. Odhadnuté pH tohoto přechodu je mezi 8 a 9, jak vyplývá z porovnání spekter na Obrázcích 16 a 17 s odrazovým spektrem na Obrázku 22.



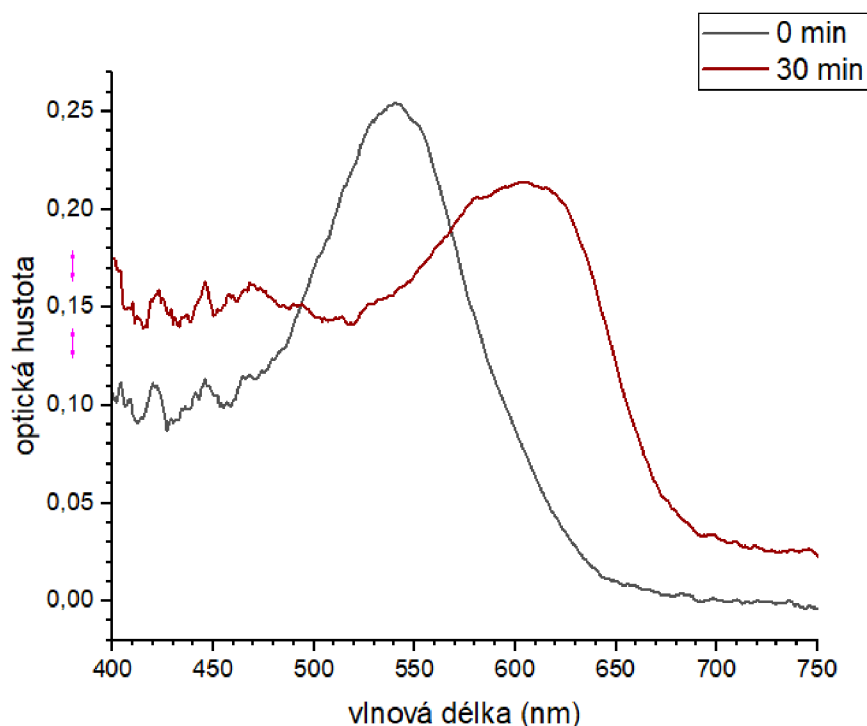
Obrázek 22: Závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 10 mg amoniaku v časech 0 a 30 min a vizualizace změny barvy v minutách při působení 10 mg NH_3

Na Obrázku 23 je vynesena závislost optické hustoty na vlnové délce pro růžovou vrstvu při působení 15 mg amoniaku a příslušná vizualizace průběhu celého experimentu. V tomto případě dochází k posunu maxima optické hustoty z 540 nm k 620 nm. Změna barvy je lehce zřetelná již po 3 minutách a dále přechází do světlé fialové. Po 15 minutách dochází k odbarvení a ve 20. minutě je vrstva již lehce namodralá. V době ukončení experimentu je vrstva modrá. Indikátor se tak ani při působení 15 mg amoniaku nevybarvuje podstatně rychleji než předešlé indikátory, na které bylo působeno menším množstvím amoniaku. Výsledná barva je ale dobře rozeznatelná od původní a odhadnuté pH se pohybuje mezi 8 a 9 dle srovnání se spektry v grafech na Obrázcích 16 a 17 s odrazovým spektrem na Obrázku 23.



Obrázek 23: Závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 15 mg amoniaku v časech 0 a 30 min a vizualizace změny barvy v minutách při působení 15 mg NH_3

Na Obrázku 24 je vynesena závislost optické hustoty na vlnové délce pro růžovou vrstvu při působení 30 mg amoniaku a příslušná vizualizace průběhu celého experimentu. Zde se opět posunuje maximum optické hustoty z 540 nm k 620 nm. Na vizualizaci lze dobře vidět, že barva ve 3. minutě ztmavne a v 5. minutě již přejde do fialové. V 7. minutě dojde k odbarvení a po 10 minutách se indikátor vybarvuje do modra, avšak v průběhu dalších minut již k téměř žádné viditelné změně barvy ani odstínu nedochází. Odbarvení růžového indikátoru tedy proběhne rychleji než v předchozích případech. Výsledná vrstva má kolem 8 až 9 dle odhadu pomocí porovnání spekter na Obrázcích 16 a 17 s odrazovým spektrem na Obrázku 24.



Obrázek 24: Závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 30 mg amoniaku v časech 0 a 30 min a vizualizace změny barvy v minutách při působení 30 mg NH_3

Bylo ověřeno, že vytvořené růžové tenké vrstvy reagují na přítomnost amoniaku již v malém množství 1 mg. Barevný přechod je zřetelný a dobře rozlišitelný, avšak rozsah hodnot pH, při kterých ke změně dochází, je velký (3–8), proto bylo přistoupeno k alkalizaci roztoku extraktu z arónie pomocí 3% NaOH až k hodnotě pH 9, kde byl potenciál barevného přechodu z modré do zelené až případně do žluté barvy (pH 10–12). Tento barevný přechod by měl být dobře rozlišitelný na malém rozsahu pH.

Několik studií také zkoumalo použití extraktu z arónie jako pH indikátor pro chytré obaly. Skupina Oun Ahmed A., Shin Gye Hwa, Kim Jun Tae zkoumala tenké filmy z PVA a chitosanu obsahující extrakt z arónie. Připravené filmy vykazovaly změnu barvy při různém pH, přičemž barevný přechod byl podobný tomu, který byl pozorován i v této práci [54].

Další skupina v čele s Caixia Wangem připravovala antioxidační a pH sensitive filmy s obsahem extraktu z aronie pro monitorování kažení kuřecích křídýlek. Jako nosný polymer používali škrob z kořene šípky střelolisté a karagenanovou gumu. Jejich připravené filmy vykazovaly barevnou změnu v prostředí s různým pH [53].

Vědci Halász a Csóka zkoumali použití výlisků z aronie, které vznikají jako odpadní produkt při výrobě aroniové šťávy. Jako nosný polymer použili chitosan, do nějž imobilizovali anthokyanová barviva z výlisků a připravili indikátory, u kterých zkoumali barevný přechod v různém prostředí pH, jejich rozpustnost a stabilitu [55].

4.4.2 Kompozice obsahující extrakt aronie rozpuštěný v demineralizované vodě s následnou úpravou pH pomocí 3% roztoku NaOH

Modré tenké vrstvy byly vytvořeny upravením pH anthokyanového extraktu pomocí 3% roztoku hydroxidu sodného dle kapitoly 3.10 a byly následně proměřeny v přítomnosti 15, 30 a 60 mg amoniaku podle postupu uvedeném v kapitole 3.12. Cílem měření bylo dosáhnout barevného přechodu na úrovni hodnoty pH kolem 10 až 12, kdy dochází k přechodu z modré přes zelenou až do žluté barvy. Při měření však bohužel nedocházelo k výrazným změnám hodnot L^* , a^* , b^* , C^* , což napovědělo, že nebude docházet ani k výrazné změně barvy indikátoru, k výrazným změnám těchto hodnot nedocházelo ani při působení 60 mg NH_3 , jak lze vidět v Tabulkách 12 a 13 a také na barevných vizualizacích průběhu experimentů – jedná se o Obrázky 25, 26, 27 a 29.



Obrázek 25: Vizualizace změny barvy v minutách při působení 15 mg NH_3

Tabulka 12: Naměřené hodnoty a^* a b^* pro různé množství působícího amoniaku

	Hodnoty a^*			Hodnoty b^*			
	množství amoniaku (mg)			množství amoniaku (mg)			
čas (min)	15	30	60	čas (min)	15	30	60
0	-4,16	-4,95	-5,71	0	-2,37	-4,55	-5,14
1	-3,97	-5,17	-5,73	1	-2,94	-4,06	-5,18
2	-4,08	-5,22	-5,94	2	-2,73	-3,99	-4,75
3	-3,97	-5,33	-5,81	3	-3,12	-4,01	-5,03
5	-4,04	-5,37	-5,99	5	-3,22	-4,39	-4,77
7	-3,95	-5,05	-6,03	7	-3,52	-4,95	-4,86
10	-4,07	-5,30	-5,84	10	-3,20	-4,63	-5,48
12	-4,25	-5,37	-5,85	12	-2,49	-4,42	-5,32
15	-4,16	-5,42	-5,88	15	-2,90	-4,49	-5,78
17	-3,84	-5,22	-6,04	17	-3,51	-5,15	-5,92
20	-3,94	-5,55	-6,18	20	-3,43	-4,24	-5,72
25	-4,02	-5,55	-6,19	25	-3,45	-4,62	-6,03
30	-4,18	-5,48	-6,13	30	-3,38	-4,92	-6,37

Tabulka 13: Naměřené hodnoty L^* a C^* pro různé množství působícího amoniaku

Hodnoty L^*				Hodnoty C^*			
	množství amoniaku (mg)				množství amoniaku (mg)		
čas (min)	15	30	60	čas (min)	15	30	60
0	78,52	72,59	72,11	0	4,79	6,72	7,68
1	78,64	72,57	72,17	1	4,94	6,58	7,72
2	78,63	72,57	72,13	2	4,91	6,57	7,61
3	78,70	72,55	72,06	3	5,05	6,67	7,69
5	78,73	72,56	72,02	5	5,17	6,94	7,66
7	78,74	72,48	71,98	7	5,29	7,08	7,74
10	78,72	72,47	71,90	10	5,18	7,04	8,01
12	78,67	72,41	71,73	12	4,92	6,95	7,91
15	78,66	72,37	71,51	15	5,07	7,03	8,25
17	78,65	72,38	71,25	17	5,20	7,33	8,45
20	78,60	72,22	70,91	20	5,22	6,98	8,43
25	78,57	72,05	70,56	25	5,29	7,22	8,65
30	78,53	71,82	70,19	30	5,37	7,37	8,84

Hodnoty z Tabulek 12 a 13 byly dále použity pro výpočet barvé odchytky ΔE_{ab}^* a odchytky odstínu ΔH^* uvedené v Tabulce 14. Dle Tabulky 1 obsahující stupnici hodnocení barvových odchylek lze tento barevný rozdíl popsat jako „slabý“ – pro množství amoniaku 15 a 30 mg, a „jasně postřehnutelný“ pro 60 mg amoniaku. Do tohoto tvrzení však není zahrnuta odchytka odstínu, která může mít vliv na vizuální rozeznání barevného rozdílu mezi počátkem měření a časem 30 minut.

0 1 2 3 5 7 10 12 15 17 20 25 30

Obrázek 26: Vizualizace změny barvy v minutách při působení 30 mg NH_3

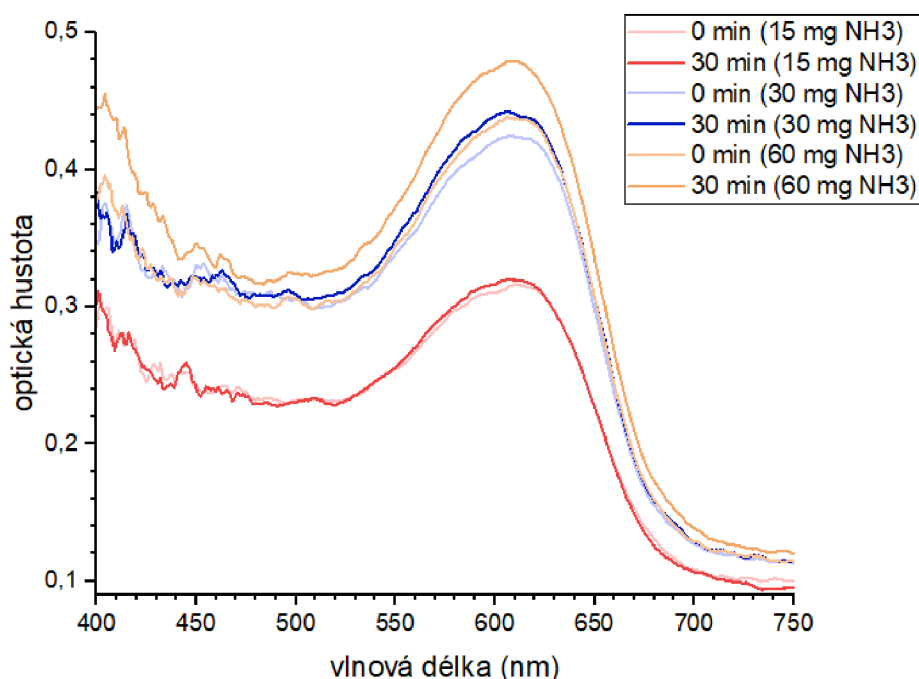
Tabulka 14: Vypočtené hodnoty z naměřených dat pro vrstvy upravené 3% roztokem NaOH

	množství amoniaku (mg)		
	15	30	60
ΔC^*	0,58	0,64	1,17
ΔL^*	0,01	-0,78	-1,92
Δa^*	-0,01	-0,53	-0,43
Δb^*	-1,01	-0,37	-1,23
ΔE_{ab}^*	1,01	1,01	2,32
ΔH^*	0,82	0,09	0,59

0 1 2 3 5 7 10 12 15 17 20 25 30

Obrázek 27: Vizualizace změny barvy v minutách při působení 60 mg NH_3

Z naměřených hodnot reflektance byla vypočítána optická hustota a vynesena do grafu na Obrázku 28 v závislosti na vlnové délce pro čas 0 minut a 30 minut pro všechny tři množství působícího amoniaku. Ze spekter je patrné, že maximální hodnota optické hustoty je vždy při stejné vlnové délce – a to kolem 610 nm, což odpovídá namodralému zbarvení měřeného indikátoru a pH 8–9. Ke změně barvy z modré na žlutou, a tedy reakci na změnu pH, u takto připravené tenké vrstvy nedochází, dochází pouze ke kolísání hodnot optické hustoty, přičemž největší nárůst optické hustoty lze vidět u vrstvy, na kterou působilo 60 mg amoniaku.



Obrázek 28: Závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 15, 30 a 60 mg amoniaku v časech 0 a 30 min



Obrázek 29: Vizualizace změny barvy v minutách při působení 60 mg NH₃

Připravené modré vrstvy nevykazují citlivost na malé množství amoniaku. Pokud by při přípravě kompozice bylo přidáno více 3% NaOH došlo by k většímu zředění celé kompozice a tím horšímu nanášení samotného filmu. Použití koncentrovanějšího NaOH by zase mohlo vést k tomu, že červený extrakt aronie přejde rovnou do zeleného nebo žlutého zbarvení. Na základě tohoto neúspěchu bylo přistoupeno k úpravě přípravy kompozice, k níž byl použit pufr o pH 7, ve kterém byl rozpuštěn extrakt z aronie a takto připravený roztok byl smíchán s PVA 10–98.

4.4.3 Kompozice obsahující extrakt z aronie rozpuštěný v pufru o pH 7

Vytvořené fialové tenké vrstvy byly postupně proměřeny v prostředí různého množství amoniaku. Získané hodnoty L^* , a^* , b^* , C^* byly zaznamenány do Tabulek 15 a 16. Cílem bylo dosáhnout barevného přechodu z fialové barvy, kterou má původní vrstva, jejíž odhadnuté pH je kolem 6–7, do modré (pH 8–9), případně až do zeleno-žluté (pH 10–11).

V Tabulce 15 jsou uvedeny naměřené hodnoty a^* a b^* . Kladné hodnoty $+a^*$ představují červenou složku barvy, záporné hodnoty $-b^*$ modrou složku barvy. V porovnání s růžovou kompozicí (viz kapitola 4.4.1) jsou hodnoty a^* podstatně nižší, jelikož jsou tyto vrstvy fialové, a tudíž je zde větší přítomnost modrého pigmentu. Také se s časem hodnoty a^* tolik nemění, největší rozdíl hodnot a^* je při působení 5 mg amoniaku kdy $\Delta a^* = 6$. Množství červené složky se tedy v této vrstvě příliš nemění. Hodnota $-b^*$ se v průběhu působení 1 mg amoniaku téměř nemění, zato při působení 3 mg amoniaku dochází nejprve k postupnému klesání až do 12. minuty, poté se hodnota opět zvyšuje. Podobný trend lze pozorovat i pro působení množství 5 mg amoniaku, avšak zde dochází k následnému stoupání hodnot až v posledních deseti minutách experimentu.

Při experimentech s fialovou vrstvou tedy nedochází k výrazným změnám hodnot a^* , b^* , což napovídá tomu, že se nepodařilo dosáhnout žádoucího přechodu z fialové do žluté barvy, nicméně se hodnoty nepatrně mění, tudíž dochází k odbarvování připravené vrstvy.

Tabulka 15: Naměřené hodnoty a^* a b^* pro 1, 3 a 5 mg působícího amoniaku na fialové vrstvy

Hodnoty a^*				Hodnoty b^*			
	množství amoniaku (mg)				množství amoniaku (mg)		
čas (min)	1	3	5	čas (min)	1	3	5
0	13,36	13,75	15,28	0	-6,63	-7,15	-7,64
1	13,43	13,53	14,88	1	-6,95	-6,80	-7,84
2	13,43	13,45	14,45	2	-7,13	-6,91	-7,61
3	13,22	13,35	14,13	3	-6,69	-6,96	-6,92
5	13,27	13,02	13,36	5	-7,05	-6,51	-6,42
7	12,95	12,69	12,76	7	-6,63	-6,48	-6,25
10	12,71	12,20	11,68	10	-6,99	-5,63	-4,69
12	12,41	11,67	11,50	12	-6,40	-4,85	-3,76
15	12,06	11,59	11,17	15	-6,03	-5,51	-3,16
17	12,04	11,51	10,90	17	-6,39	-5,68	-2,44
20	11,82	11,21	11,00	20	-6,19	-5,37	-3,23
25	11,83	10,82	10,38	25	-6,41	-5,76	-4,58
30	11,55	10,35	9,31	30	-6,07	-5,12	-4,40

V Tabulce 16 jsou uvedeny naměřené hodnoty měrné světlosti L^* a chromy C^* . Při působení 1 mg amoniaku se hodnoty v průběhu experimentu téměř neliší. V případě působení 3 mg amoniaku nedochází k výrazné změně měrné světlosti L^* , avšak hodnota sytosti C^* s časem mírně klesá. Podobný trend lze sledovat i pro působení 5 mg amoniaku.

Tabulka 16: Naměřené hodnoty L^* a C^* pro množství 1, 3 a 5 mg působícího amoniaku

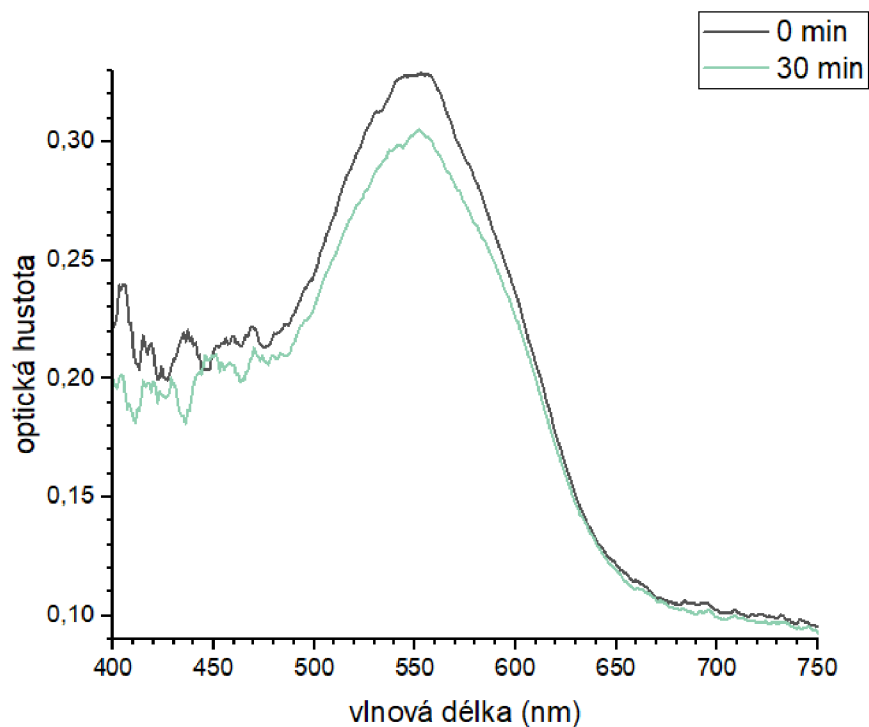
Hodnoty L^*				Hodnoty C^*			
	množství amoniaku (mg)				množství amoniaku (mg)		
čas (min)	1	3	5	čas (min)	1	3	5
0	78,43	74,66	76,04	0	14,91	15,50	17,09
1	78,54	74,69	76,37	1	15,12	15,14	16,82
2	78,59	74,71	76,47	2	15,20	15,13	16,33
3	78,66	74,74	76,48	3	14,82	15,06	15,73
5	78,79	74,75	76,70	5	15,03	14,55	14,82
7	78,94	74,81	77,01	7	14,55	14,25	14,21
10	79,14	74,80	77,22	10	14,50	13,44	12,59
12	79,28	74,75	76,61	12	13,96	12,63	12,10
15	79,43	74,70	75,36	15	13,48	12,84	11,60
17	79,50	74,69	74,42	17	13,63	12,84	11,17
20	79,57	74,63	73,09	20	13,35	12,43	11,46
25	79,56	74,64	71,62	25	13,45	12,26	11,34
30	79,48	74,58	70,81	30	13,05	11,55	10,30

Pro naměřené hodnoty uvedené v Tabulkách 15 a 16 byly vypočítány hodnoty barvové odchylky ΔE_{ab}^* a odstínu ΔH^* , obě hodnoty pro všechna množství působícího amoniaku jsou uvedené v Tabulce 17. Lze zde vidět lineární úbytek Δa^* , tedy červené složky barvy a zároveň nárůst Δb^* , tedy modré složky barvy. Barvová odchylka pro 1 mg amoniaku je navzdory malým rozdílům v hodnotách L^* , a^* , b^* rovna 2,16 a tento rozdíl lze hodnotit jako „jasně postřehnutelný“. Působení 3 mg amoniaku již vykazuje větší rozdíly v sytosti a barvová odchylka dosahuje hodnoty téměř 4 a je možné ji tedy považovat za „střední“. Největší rozdíl je pozorovatelný u vrstvy, na kterou působilo 5 mg amoniaku, a je možné jej označit jako „výrazný“. Tato tvrzení lze ověřit při pohledu na vizualizace uvedené spolu se spektry jednotlivých měření na Obrázcích 30, 31 a 32.

Tabulka 17: Vypočtené hodnoty z naměřených dat pro fialové vrstvy s pufrem pH 7

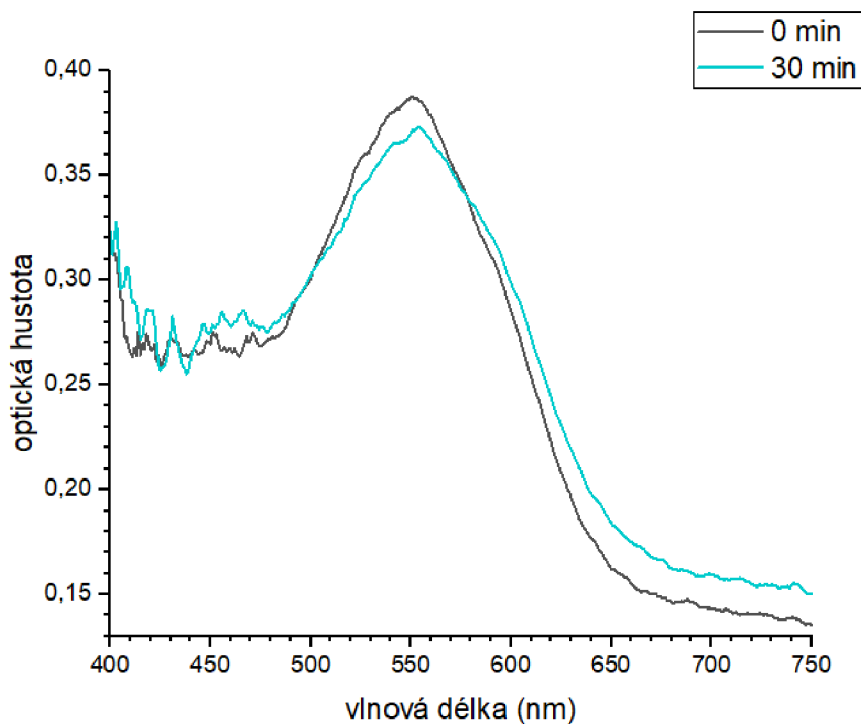
	množství amoniaku (mg)		
	1	3	5
ΔC^*	-1,86	-3,95	-6,79
ΔL^*	1,04	-0,08	-5,23
Δa^*	-1,81	-3,40	-5,97
Δb^*	0,55	2,03	3,24
ΔE_{ab}^*	2,16	3,96	8,57
ΔH^*	0,33	0,26	0,28

Na Obrázku 30 je vynesena závislost optické hustoty na vlnové délce pro fialovou vrstvu při působení 1 mg amoniaku a příslušná vizualizace průběhu celého experimentu. Poloha maxima optické hustoty na začátku experimentu se pohybuje kolem 550 nm a po působení 1 mg amoniaku se neposouvá. Změna barvy indikátoru tedy není dobře postřehnutelná pouhým okem i přesto, že dle barvové odchylky lze rozdíl mezi časem 0 minut a koncem experimentu v čase 30 minut klasifikovat jako „jasně postřehnutelný“. Indikátor tedy není dostatečně citlivý na vznikající amoniak, jak je možné také vidět na vizualizaci na Obrázku 30. Dochází pouze k mírnému poklesu optické hustoty, což značí nepatrné odbarvení měřené vrstvy.



Obrázek 30: Závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 1 mg amoniaku v časech 0 a 30 min a vizualizace změny barvy v minutách při působení 1 mg NH₃

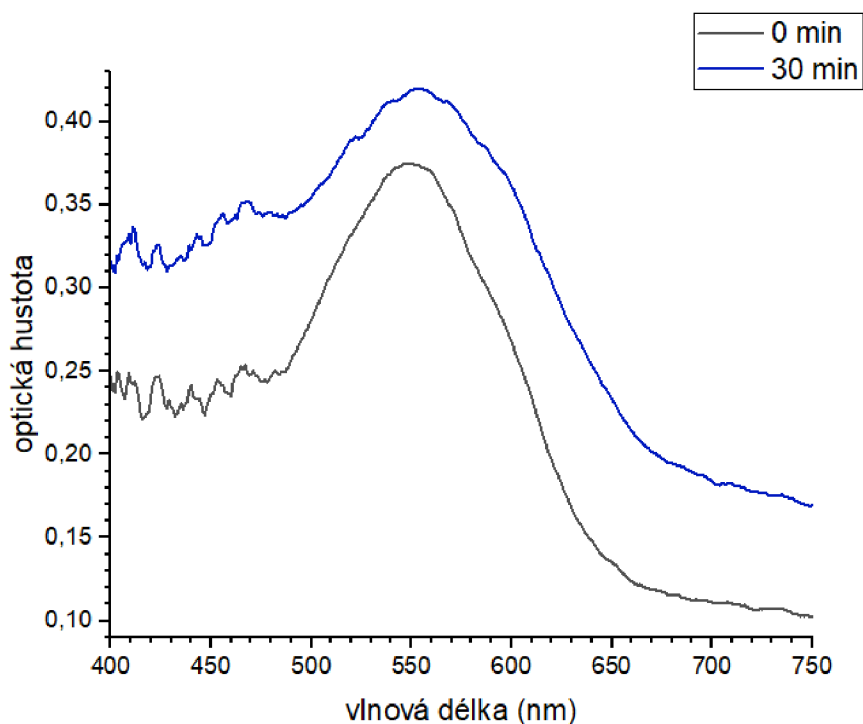
Obrázek 31 představuje závislost optické hustoty na vlnové délce pro fialovou vrstvu při působení 3 mg amoniaku a příslušnou vizualizaci průběhu celého experimentu. I v tomto případě je poloha maxima optické hustoty kolem 550 nm po celou dobu experimentu, avšak křivka se v čase 30 minut rozšiřuje, což naznačuje větší přítomnost modré složky barvy. To nám může potvrdit vizualizace nacházející se na stejném obrázku, nicméně změna barvy není úplně zřejmá, a i když k nějaké změně při působení 3 mg amoniaku dochází, tato změna není dostatečně velká na to, aby jej lidské oko mohlo spolehlivě rozeznat.



0 1 2 3 5 7 10 12 15 17 20 25 30

Obrázek 31: Závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 3 mg amoniaku v časech 0 a 30 min a vizualizace změny barvy v minutách při působení 3 mg NH_3

Obrázek 32 ukazuje závislost optické hustoty na vlnové délce pro fialovou vrstvu při působení 5 mg amoniaku a příslušnou vizualizaci průběhu celého experimentu. V počátku experimentu při čase 0 minut bylo maximum optické hustoty asi 550 nm, z grafu na Obrázku 32 je však patrné, že se po 30 minutách maximum velmi mírně posunulo směrem k vyšší vlnové délce, zvýšila se také optická hustota a křivka se rozšířila, což opět naznačuje přítomnost další složky barvy – v tomto případě modré. To také potvrzuje příslušná vizualizace na stejném obrázku dole. Při srovnání odrazového spektra z Obrázku 32 a absorpčních spekter na Obrázcích 16 a 17 bylo odhadnuto pH konečné vrstvy na hodnotu kolem pH 8.



Obrázek 32: Závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 5 mg amoniaku v časech 0 a 30 min a vizualizace změny barvy v minutách při působení 5 mg NH₃

Připravené fialové vrstvy nejsou dostatečně citlivé na přítomnost malého množství amoniaku, v případě 1 mg téměř vůbec, v případě 3 mg jen lehce. Jejich barevná změna je špatně rozeznatelná pouhým okem. Vrstvy jsou citlivé až na množství 5 mg amoniaku, kde lze rozdíl mezi počáteční a konečnou barvou dobře rozeznat i pouhým okem.

4.5 Měření přetisknutých vrstev UV lakem po kontaktu s amoniakem

K přetisku byly vybrány vrstvy, u kterých byla prokázána reakce v prostředí amoniaku – kompozice obsahující pouze extrakt z aronie (růžová vrstva) a kompozice obsahující extrakt z aronie a pufr pH 7 (fialová vrstva). Vrstvy byly přetisknuty pomocí bílého UV laku, díky kterému bude indikátor chráněn proti případnému styku s potravinami. Bílá barva UV laku umožní lepší rozlišitelnost změny barvy po kontaktu s amoniakem. Vrstvy byly přetisknuty dle postupu popsaného v kapitole 3.11. Měření barevné reakce na prostředí amoniaku takto připravených vrstev probíhalo stejně jako u vrstev bez UV laku s tím rozdílem, že vynulování neproběhlo na keramickou destičku, ale na bílý lak, kterým byly vrstvy přetisknuty.

Vrstvy byly proměřeny v prostředí 1, 3 a 5 mg amoniaku a růžová vrstva byla proměřena ještě při působení 75 mg amoniaku. Zaznamenané hodnoty reflektance byly opět přepočítány na optickou hustotu a vyneseny do grafů v závislosti na vlnové délce. Byly ukládány i hodnoty L^* , a^* , b^* , C^* , které byly použity pro vizualizaci průběhu experimentu a výpočet odchylek barvy ΔE_{ab}^* a odstínu ΔH^* .

Nejprve byly proměřeny přetisknuté růžové vrstvy, které na prostředí amoniaku reagovaly s jasně rozlišitelným rozdílem barev mezi počátkem a koncem experimentu, jak bylo popsáno v kapitole 4.4.1. V Tabulce 18 jsou uvedeny hodnoty a^* a b^* , které se v průběhu působení nízkých množství amoniaku výrazně nemění. Z toho důvodu bylo přistoupeno k experimentu, kdy na přetisknuté růžové vrstvy působilo množství 75 mg amoniaku. Cílem bylo ověřit, zda dochází k okem postřehnutelné reakci na vyvíjený amoniak. Hodnoty a^* a b^* se však výrazně neměnily ani při působení tohoto množství amoniaku.

Tabulka 18: Naměřené hodnoty a^* a b^* pro různé množství působícího amoniaku na růžové vrstvy přetisklé UV lakem

Hodnoty a^*					Hodnoty b^*				
	množství amoniaku (mg)					množství amoniaku (mg)			
čas (min)	1	3	5	75	čas (min)	1	3	5	75
0	30,57	30,36	29,71	39,14	0	-9,75	-9,05	-5,77	-11,09
1	30,44	30,11	29,48	38,79	1	-9,71	-9,01	-5,13	-9,50
2	30,01	30,07	29,73	38,61	2	-8,82	-8,89	-6,34	-9,93
3	29,98	29,82	29,68	38,50	3	-8,71	-8,25	-6,54	-9,44
5	29,67	29,91	29,19	38,50	5	-7,88	-9,14	-5,37	-10,11
7	29,49	29,52	29,08	38,27	7	-7,94	-8,36	-5,49	-9,27
10	28,89	28,78	29,01	37,88	10	-7,54	-7,11	-6,08	-9,31
12	28,85	28,98	28,71	37,90	12	-8,13	-8,27	-5,19	-9,91
15	28,62	28,51	28,76	37,50	15	-7,12	-7,07	-6,06	-8,80
17	28,61	28,79	28,40	37,63	17	-7,08	-7,89	-4,77	-9,44
20	28,46	28,69	28,40	37,62	20	-7,41	-7,38	-4,97	-9,20
25	28,39	28,46	28,21	37,40	25	-7,61	-7,35	-4,52	-8,78
30	28,09	28,42	28,30	37,12	30	-6,67	-7,66	-5,02	-7,97

Tabulka 19 představuje naměřené hodnoty měrné světlosti L^* a chromy C^* . Pro nízké množství působícího amoniaku ani zde nejsou vidět výrazné změny, nicméně měrná světlost s přibývajícím časem mírně stoupá a sytost barvy (chroma) mírně klesá. Očekávaný velký rozdíl mezi působením 5 mg a 75 mg amoniaku ovšem pozorovatelný také není.

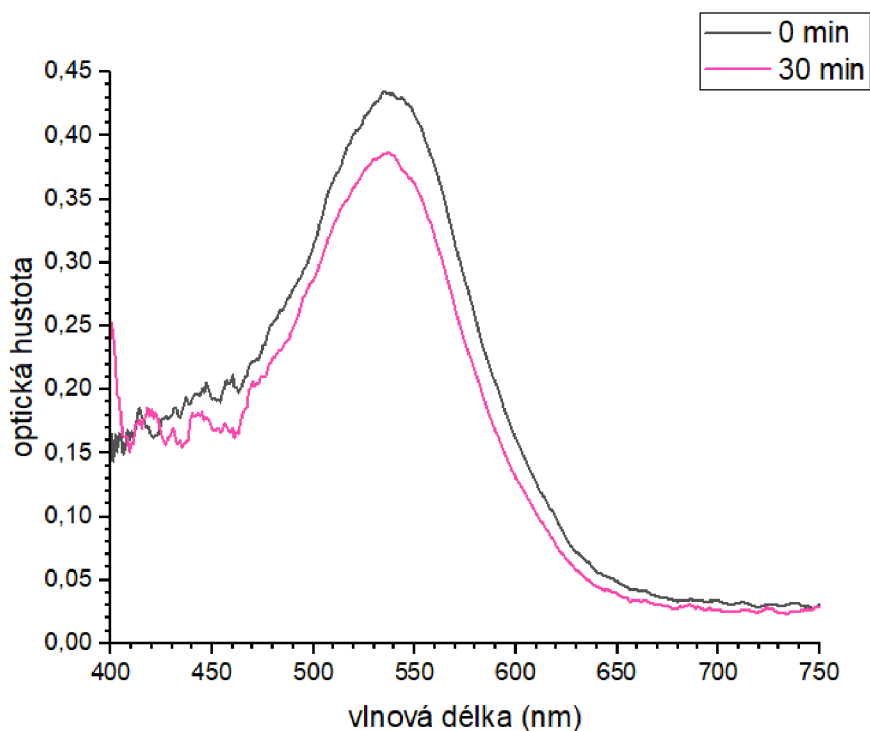
Tabulka 19: Naměřené hodnoty L^* a C^* pro různé množství působícího amoniaku na růžové vrstvy přetisklé UV lakem

Hodnoty L^*					Hodnoty C^*				
	množství amoniaku (mg)					množství amoniaku (mg)			
čas (min)	1	3	5	75	čas (min)	1	3	5	75
0	77,30	74,70	55,41	72,40	0	32,09	31,68	30,27	40,69
1	77,74	74,89	55,22	72,43	1	31,95	31,43	29,93	39,93
2	77,81	74,98	55,29	72,53	2	31,28	31,36	30,40	39,86
3	77,93	75,14	55,37	72,65	3	31,22	30,94	30,39	39,64
5	78,07	75,35	55,27	72,84	5	30,70	31,27	29,68	39,80
7	78,31	75,47	55,36	72,90	7	30,54	30,68	29,60	39,38
10	78,99	75,87	55,59	73,12	10	29,86	29,64	29,64	39,00
12	79,30	76,28	55,73	73,43	12	29,97	30,14	29,17	39,17
15	79,41	76,58	56,10	73,73	15	29,49	29,37	29,39	38,52
17	79,58	76,78	56,14	73,99	17	29,47	29,85	28,80	38,80
20	79,71	76,91	56,26	74,08	20	29,41	29,62	28,83	38,72
25	79,92	77,14	56,43	74,28	25	29,39	29,39	28,57	38,42
30	80,06	77,29	56,58	74,38	30	28,87	29,43	28,74	37,96

Z naměřených L^* , a^* , b^* , C^* byla vypočítána barvová odchylka ΔE_{ab}^* a odchylka odstínu ΔH^* pro všechna měření. Tyto hodnoty jsou uvedeny v Tabulce 20. I přes velmi malé změny v hodnotách L^* , a^* , b^* , C^* , jak již bylo uvedeno výše, barvová odchylka pro všechna množství amoniaku vychází jako „střední“, s výjimkou působení 5 mg amoniaku, kdy má tato barvová odchylka stupeň hodnocení „jasně postřehnutelná“. Při pohledu na vizualizace průběhu experimentů na Obrázcích 33 a 34 však tato změna barvy není úplně dobře rozeznatelná pouhým okem.

Tabulka 20: Vypočtené hodnoty z naměřených dat pro růžové vrstvy přetisknuté UV lakem

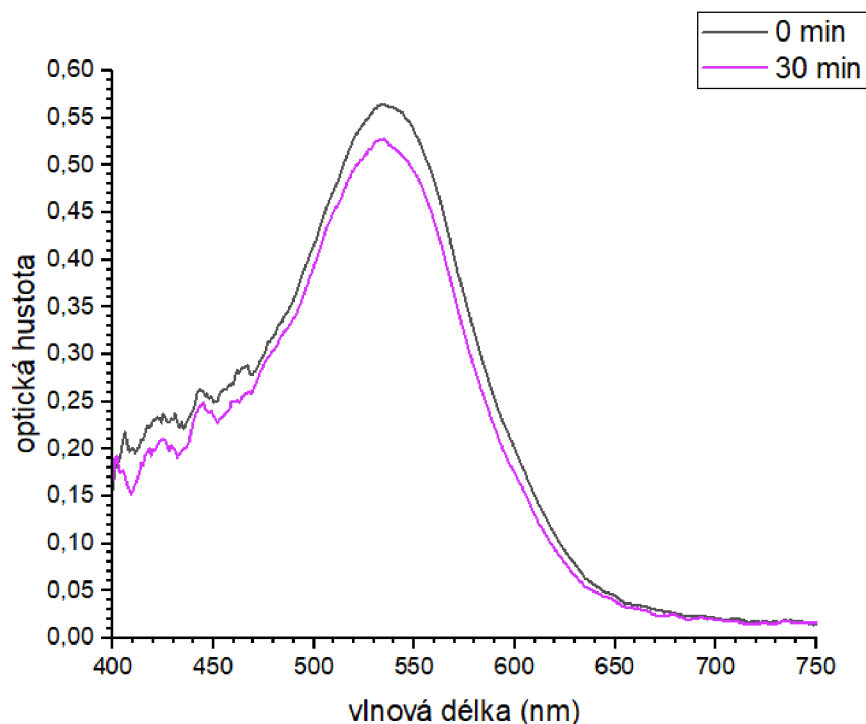
	množství amoniaku (mg)			
	1	3	5	75
ΔC^*	-3,22	-2,25	-1,53	-2,72
ΔL^*	2,76	2,59	1,17	1,97
Δa^*	-2,49	-1,95	-1,41	-2,03
Δb^*	3,08	1,39	0,75	3,12
ΔE_{ab}^*	4,82	3,53	1,98	4,21
ΔH^*	2,30	0,81	0,48	2,53



0 1 2 3 5 7 10 12 15 17 20 25 30

Obrázek 33: Závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 1 mg amoniaku v časech 0 a 30 min a vizualizace změny barvy v minutách při působení 1 mg NH_3 pro růžové vrstvy

Na Obrázku 33 a 34 jsou spektra růžových vrstev při působení 1 a 75 mg amoniaku. Obrázek 33 představuje působení 1 mg amoniaku na růžovou vrstvu a lze na něm pozorovat, že nedochází k posunu maxima směrem k vyšší vlnové délce, ale pouze k poklesu optické hustoty. Podobné chování vykazuje i růžová vrstva na Obrázku 34, která byla vystavena působení 75 mg amoniaku. Jelikož nedochází k posunu maxima optické hustoty k vyšší vlnové délce, nedochází ani ke změně barvy indikátoru. To dokazují příslušné vizualizace, z kterých je patrné, že se jen lehce mění odstín barvy, nikoliv samotná barva. Přetisknutá růžová vrstva tedy není citlivá na působení amoniaku. To může být způsobeno tím, že použitý UV lak nedostatečně propouští vyvíjený amoniak.



Obrázek 34: Závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 75 mg amoniaku v časech 0 a 30 min a vizualizace změny barvy v minutách při působení 75 mg NH₃ pro růžové vrstvy

Spolu s růžovými vrstvami byly přetisknuty i fialové vrstvy, které vykazovaly reakci na prostředí amoniaku. Žádoucí barevný přechod v tomto případě je z fialové barvy do odbarvení, případně až do žlutého zbarvení. Růžové vrstvy po přetisknu UV lakem nevykazovaly téměř žádnou barevnou reakci, což mohlo být způsobeno malou propustností UV laku pro amoniak. Tato skutečnost byla ověřena experimenty s přetisknutými fialovými vrstvami. V Tabulce 21 je možné vidět naměřené hodnoty a^* a b^* pro všechna množství působícího amoniaku. Hodnoty a^* se při působení 1 mg výrazně nemění a k malé změně dojde až po 20 minutách. Při působení 3 mg k menší změně hodnoty a^* dojde po 10 minutách, při působení 5 mg už po 7 minutách. Podobný trend lze pozorovat i u hodnot b^* , které jsou v záporných hodnotách a představují modrou barvu. Větší změna hodnot $-b^*$ je pozorovatelná pouze při působení 5 mg amoniaku.

Tabulka 21: Naměřené hodnoty a^* a b^* pro různé množství působícího amoniaku na fialové vrstvy přetisklé UV lakem

Hodnoty a^*				Hodnoty b^*			
	množství amoniaku (mg)				množství amoniaku (mg)		
čas (min)	1	3	5	čas (min)	1	3	5
0	15,35	19,13	20,14	0	-11,96	-11,44	-12,23
1	15,27	19,06	20,52	1	-11,62	-11,14	-13,04
2	15,21	19,29	19,89	2	-11,81	-12,05	-11,38
3	15,35	18,94	19,91	3	-12,07	-11,34	-11,57
5	15,39	18,56	19,90	5	-12,39	-10,58	-12,25
7	15,17	18,52	18,99	7	-12,15	-10,95	-10,66
10	14,68	17,82	18,41	10	-11,04	-9,56	-10,55
12	14,80	18,09	17,94	12	-11,72	-10,74	-9,69
15	15,04	17,44	17,06	15	-12,84	-9,44	-8,80
17	14,49	17,04	16,97	17	-11,52	-8,76	-9,15
20	14,18	16,93	16,37	20	-11,06	-9,18	-8,91
25	13,57	16,44	15,90	25	-10,74	-9,52	-7,96
30	13,06	15,78	15,73	30	-9,64	-8,16	-7,99

Hodnoty měrné světlosti L^* a sytosti barvy C^* jsou uvedeny v Tabulce 22. Hodnoty měrné světlosti pro 1 a 3 mg amoniaku mírně narůstají s časem, větší nárůst je možné pozorovat u 5 mg amoniaku, kde hodnota měrné světlosti stoupá ze 75 na 80. Hodnoty chromy C^* v čase klesají, nejvíce opět při působení 5 mg amoniaku.

Tabulka 22: Naměřené hodnoty L^* a C^* pro různé množství působícího amoniaku na fialové vrstvy přetisklé UV lakem

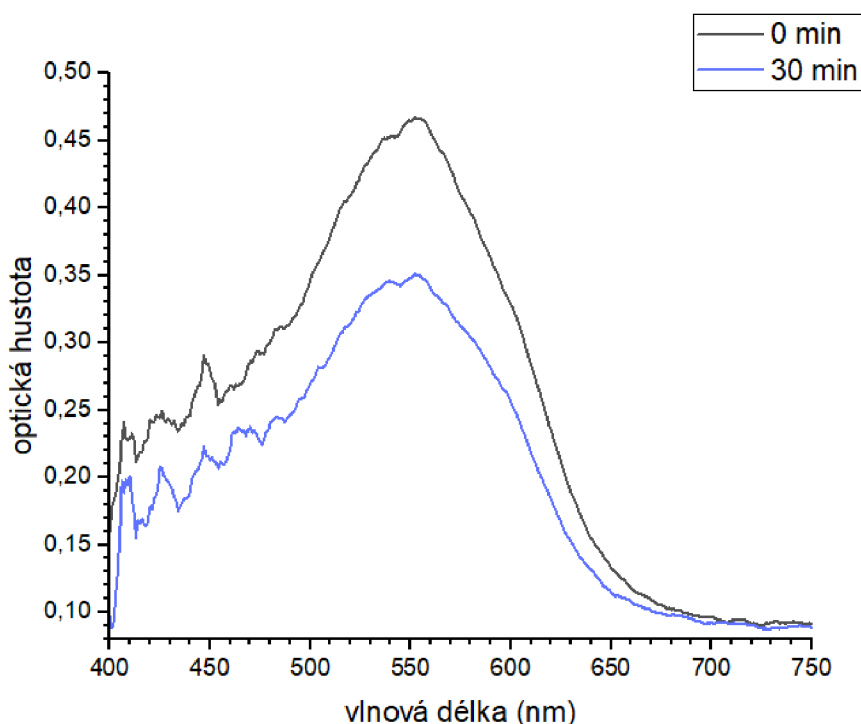
Hodnoty L^*				Hodnoty C^*			
	množství amoniaku (mg)				množství amoniaku (mg)		
čas (min)	1	3	5	čas (min)	1	3	5
0	70,68	80,77	75,37	0	19,32	22,29	23,56
1	70,69	80,94	75,70	1	19,46	22,08	24,31
2	70,75	81,10	75,81	2	19,19	22,74	22,92
3	70,81	81,17	76,01	3	19,25	22,08	23,03
5	70,93	81,31	76,52	5	19,76	21,36	23,37
7	71,13	81,47	77,01	7	19,43	21,52	21,77
10	71,24	81,67	77,80	10	18,37	20,23	21,22
12	71,47	82,02	78,32	12	18,88	21,04	20,38
15	71,93	82,25	79,12	15	19,78	19,83	19,20
17	71,99	82,45	79,54	17	18,51	19,16	19,28
20	72,28	82,98	79,95	20	17,98	19,26	18,64
25	72,85	83,75	80,16	25	17,31	18,99	17,78
30	73,35	84,21	80,32	30	16,23	17,77	17,64

Pro výše uvedené hodnoty L^* , a^* , b^* , C^* byly vypočítány rozdíly mezi časem 0 minut a 30 minut, z těchto hodnot pak byly vypočteny barvé odchytky ΔE_{ab}^* a odchytky odstínu ΔH^* pro všechna měřená množství působícího amoniaku a zaneseny do Tabulky 23. Zde je vidět, že hodnota barvé odchytky stoupá spolu s působícím amoniakem, pro hodnotu 1 a 3 mg ji lze popsat jako „střední“, pro 5 mg jako „výrazná“. Spolu s hodnotou barvé odchytky lineárně stoupá také odchylka odstínu.

Tabulka 23: Vypočtené hodnoty z naměřených dat pro fialové vrstvy přetisknuté UV lakem

množství amoniaku (mg)			
	1	3	5
ΔC^*	4,91	-4,52	-5,92
ΔL^*	2,67	3,44	4,95
Δa^*	-2,30	-3,35	-4,41
Δb^*	2,33	3,28	4,24
ΔE_{ab}^*	4,22	5,81	7,87
ΔH^*	0,90	1,23	1,55

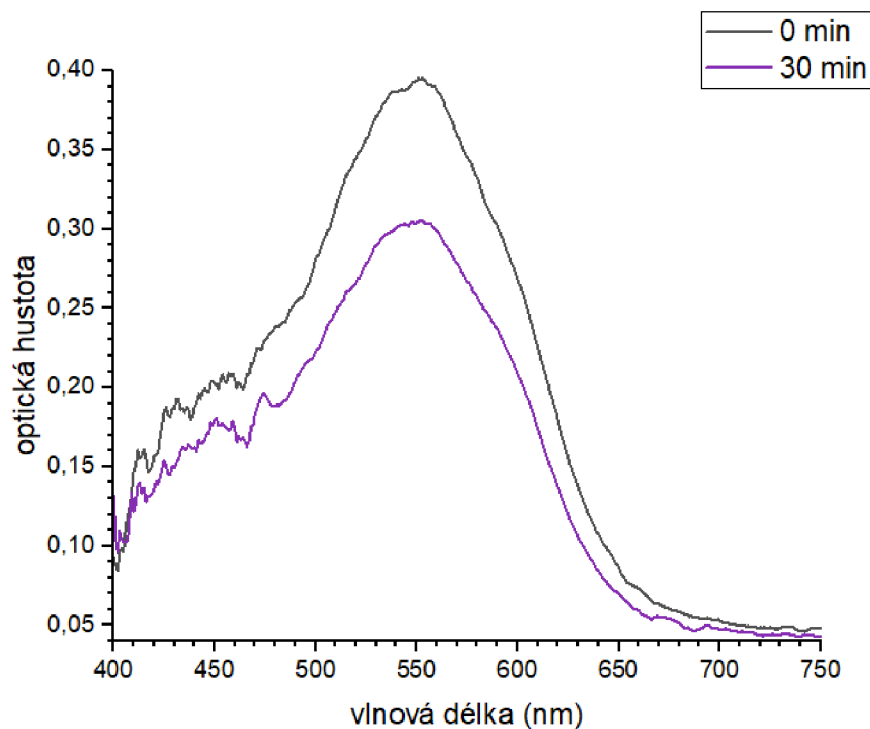
Na Obrázku 35 je vynesena závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 1 mg amoniaku na počátku experimentu a po 30 minutách a barevná vizualizace průběhu celého experimentu. Maximum optické hustoty zůstalo po působení 1 mg amoniaku stejné, pouze se snížila optická hustota, což značí, že došlo k odbarvení vrstvy. Vizualizace experimentu napovídá, že k lehkému odbarvení došlo ve 12. minutě a poté ještě jednou v čase 25 minut. Změna je to ale velmi malá a těžko postřehnutelná.



0 1 2 3 5 7 10 12 15 17 20 25 30

Obrázek 35: Závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 1 mg amoniaku v časech 0 a 30 min a vizualizace změny barvy v minutách při působení 1 mg NH_3

Na Obrázku 36 je vynesena závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 5 mg amoniaku v čase 0 minut a 30 minut, je zde uvedena také barevná vizualizace průběhu celého experimentu. Maximum optické hustoty zůstalo i po působení 5 mg amoniaku stejné a opět se snížila optická hustota, což ukazuje na odbarvení vrstvy. Vizualizace samotného experimentu potvrzuje odbarvení vrstvy, k němuž došlo již při 5. minutě, ale zřetelnější je až v 10. minutě. Vrstva se pak dále ještě odbarvovala. Rozdíl je patrný ještě v 17. minutě, poté se barva stabilizovala. Změna barvy není příliš výrazná, ale je již okem zaznamenatelná.



Obrázek 36: Závislost optické hustoty na vlnové délce při působení 5 mg amoniaku v časech 0 a 30 min a vizualizace změny barvy v minutách při působení 5 mg NH₃

Měření přetisknutých fialových vrstev nepřineslo potvrzení toho, že použitý UV lak vůbec nepropouští vyvíjený amoniak. Použitý UV lak amoniak propouští, ale ne v takovém množství, aby došlo k výrazné barevné změně indikátoru, proto se nehodí pro použití jako indikátor čerstvosti potravin.

5 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo připravit tenké polymerní filmy s obsahem přírodních barviv a následně studovat jejich barevnou změnu v prostředí s nízkou koncentrací amoniaku a odhadnout pH jednotlivých barevných přechodů. Jako zdroj přírodního barviva byly zvoleny bobule arónie (*Aronia melanocarpa*), která obsahuje velké množství anthokyanových barviv schopných reagovat na změnu pH. Jako nosný polymer byl použit polyvinylalkohol 10–98 s molekulovou hmotností 61 000, který se rozpouští ve vodě a má dobré filmotvorné vlastnosti.

Anthokyanová barviva byla z bobulí arónie extrahována pomocí směsi ethanolu a vody v poměru 50:50, extrakt byl zahuštěn a lyofilizován, aby poté mohl být rozpuštěn ve vodě a dále použit pro vytvoření kompozic s polymerem. Byly připraveny tři různé kompozice, které byly použity pro nanesení tenkých vrstev: růžová (polymer+roztok extraktu z arónie), modrá (polymer+roztok extraktu z arónie s upraveným pH pomocí 3% roztoku NaOH) a fialová (polymer+roztok extraktu z arónie rozpuštěný v pufru o pH 7). Tyto vrstvy byly následně proměřeny v prostředí s různou koncentrací amoniaku (0,0001 – 0,0080 mol/dm³). Vybrané vrstvy byly přetisknuty pomocí bílého UV laku a následně také proměřeny v prostředí amoniaku. Byla naměřena absorpční spektra vodných roztoků anthokyanů o různém pH, která byla použita pro stanovení celkové koncentrace anthokyanů a odhad pH barevných přechodů tenkých vrstev po kontaktu s amoniakem.

Z experimentů bylo zjištěno, že:

1. Lze extrahovat anthokyanová barviva z bobulí arónie pomocí směsi ethanol-voda.
2. Lze nanést kompaktní tenké vrstvy obsahující polyvinylalkohol 10–98 a extrakt z arónie, který může mít i upravené pH.
3. Připravené vrstvy bez upraveného pH jsou citlivé na plynný NH₃ již od koncentrace 0,0001 mol/dm³, na který reagují barevným přechodem z růžové do modré.
4. Připravené vrstvy s upraveným pH pomocí pufru o pH 7 jsou citlivé na plynný amoniak až při koncentraci 0,0005 mol/dm³ s barevným přechodem z fialové do modré.
5. Připravené vrstvy s upraveným pH pomocí 3% roztoku NaOH nejsou citlivé na plynný amoniak ani při koncentraci 0,0060 mol/dm³.
6. Přetisknuté růžové vrstvy pomocí bílého UV laku nejsou citlivé na plynný NH₃.
7. Přetisknuté fialové vrstvy reagují na plynný NH₃ změnou barvy až při koncentraci 0,0005 mol/dm³. Nedochozí však k výrazné změně barvy, ale lehkému odbarvení.

Byl sestrojen indikátor citlivý na změnu pH obsahující přírodní anthokyanové barvivo z arónie. Pro dosažení dobře rozlišitelného barevného přechodu byly zkoumané kompozice alkalizovány, nepodařilo se, avšak dosáhnout ideálního stavu barevného přechodu. V příštích experimentech by bylo vhodné se zaměřit na dosažení přechodu z modré do žluté barvy (pH 9–12), případně zvážit použití jiného laku na přetisk tenkých vrstev.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] RISCH, Sara J. Food Packaging History and Innovations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2009, **57**(18), 8089-8092 [cit. 2023-03-10]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf900040r
- [2] KASZA, Gyula, Nina VEFLÉN, Joachim SCHOLDERER et al. Conflicting Issues of Sustainable Consumption and Food Safety: Risky Consumer Behaviors in Reducing Food Waste and Plastic Packaging. *Foods* [online]. 2022, **11**(21), 3520 [cit. 2023-03-10]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods11213520
- [3] MARSH, Kenneth a Betty BUGUSU. Food Packaging? Roles, Materials, and Environmental Issues. *Journal of Food Science* [online]. 2007, **72**(3), 39-55 [cit. 2023-03-10]. ISSN 0022-1147. Dostupné z: doi:10.1111/j.1750-3841.2007.00301.x
- [4] HAN, Jung H. A Review of Food Packaging Technologies and Innovations. In: *Innovations in Food Packaging* [online]. Elsevier, 2014, s. 3-12 [cit. 2023-03-10]. ISBN 9780123946010. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-394601-0.00001-1
- [5] RUNDH, Bo. Linking packaging to marketing: how packaging is influencing the marketing strategy. *British Food Journal* [online]. 2013, **115**(11), 1547-1563 [cit. 2023-03-23]. ISSN 0007-070X. Dostupné z: doi:10.1108/BFJ-12-2011-0297
- [6] SHAO, Ping, Liming LIU, Jiahao YU, Yang LIN, Haiyan GAO, Hangjun CHEN a Peilong SUN. An overview of intelligent freshness indicator packaging for food quality and safety monitoring. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2021, **2021**(118), 285-296 [cit. 2023-04-08]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2021.10.012
- [7] LYDEKAITYTE, Justina a Torben TAMBO. Smart packaging: definitions, models and packaging as an intermediary between digital and physical product management. *The International Review of Retail, Distribution and Consumer Research* [online]. 2020, **30**(4), 377-410 [cit. 2023-03-23]. ISSN 0959-3969. Dostupné z: doi:10.1080/09593969.2020.1724555
- [8] BROCKGREITENS, John a Abdennour ABBAS. Responsive Food Packaging: Recent Progress and Technological Prospects. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2016, **15**(1), 3-15 [cit. 2023-03-23]. ISSN 15414337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12174
- [9] DRAGO, Emanuela, Roberta CAMPARDELLI, Margherita PETTINATO a Patrizia PEREGO. Innovations in Smart Packaging Concepts for Food: An Extensive Review. *Foods* [online]. 2020, **9**(11), 1-3 [cit. 2023-03-23]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods9111628
- [10] *Commission Regulation (EC) No 450/2009 of 29 May 2009 on active and intelligent materials and articles intended to come into contact with food (Text with EEA relevance)*. In: . Belgium: EU, 2009, ročník 2009, 135/3. Dostupné také z: <http://data.europa.eu/eli/reg/2009/450/oj>
- [11] *Evropský parlament a Rada Evropy. (2004). Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1935/2004 ze dne 27. října 2004, kterým se stanoví obecné zásady a požadavky na potravinové kontaktní materiály a předměty (ve znění pozdějších*

změn a doplňků). In: . Belgie: EU, 2004, ročník 2004, číslo 1935. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32004R1935>.

- [12] *Evropská komise. (2011). Nařízení Komise (EU) č. 10/2011 ze dne 14. ledna 2011 o materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami, které obsahují plasty (ve znění pozdějších změn a doplňků).* In: . Belgie: EU, 2011, ročník 2011, číslo 10. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32011R0010>.
- [13] Guidelines on submission of a dossier for safety evaluation by the EFSA of active or intelligent substances present in active and intelligent materials and articles intended to come into contact with food. *EFSA Journal* [online]. 2009, **7**(8), 1208 [cit. 2023-04-24]. ISSN 18314732. Dostupné z: doi:10.2903/j.efsa.2009.1208
- [14] YILDIRIM, Selçuk, Bettina RÖCKER, Marit Kvalvåg PETERSEN et al. Active Packaging Applications for Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2018, **17**(1), 165-199 [cit. 2023-03-23]. ISSN 15414337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12322
- [15] KALPANA, S., S.R. PRIYADARSHINI, M. MARIA LEENA, J.A. MOSES a C. ANANDHARAMAKRISHNAN. Intelligent packaging: Trends and applications in food systems. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2019, **2019**(93), 145-157 [cit. 2023-03-24]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2019.09.008
- [16] GHAANI, Masoud, Carlo A. COZZOLINO, Giulia CASTELLI a Stefano FARRIS. An overview of the intelligent packaging technologies in the food sector. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2016, **2016**(51), 1-11 [cit. 2023-03-24]. ISSN 09242244. Dostupné z: doi:10.1016/j.tifs.2016.02.008
- [17] CHOWDHURY, E.U. a A. MOREY. Intelligent Packaging for Poultry Industry. *Journal of Applied Poultry Research* [online]. 2019, **28**(4), 791-800 [cit. 2023-03-24]. ISSN 10566171. Dostupné z: doi:10.3382/japr/pfz098
- [18] LATOS-BROZIO, Malgorzata a Anna MASEK. The application of natural food colorants as indicator substances in intelligent biodegradable packaging materials. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2020, **2020**(135), 1-10 [cit. 2023-03-26]. ISSN 02786915. Dostupné z: doi:10.1016/j.fct.2019.110975
- [19] MÜLLER, Patricia a Markus SCHMID. Intelligent Packaging in the Food Sector: A Brief Overview. *Foods* [online]. 2019, **8**(1), 1-16 [cit. 2023-04-24]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/foods8010016
- [20] KHAN, Muhammad Rehan, Muhammad Bilal SADIQ a Zaffar MEHMOOD. Development of edible gelatin composite films enriched with polyphenol loaded nanoemulsions as chicken meat packaging material. *CyTA - Journal of Food* [online]. 2020, **18**(1), 137-146 [cit. 2023-04-09]. ISSN 1947-6337. Dostupné z: doi:10.1080/19476337.2020.1720826
- [21] ZHANG, Junjun, Xiaobo ZOU, Xiaodong ZHAI, XiaoWei HUANG, Caiping JIANG a Mel HOLMES. Preparation of an intelligent pH film based on biodegradable polymers and roselle anthocyanins for monitoring pork freshness. *Food Chemistry* [online]. 2019, **2019**(272), 306-312 [cit. 2023-04-09]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2018.08.041

- [22] RUKCHON, Chompoonoot, Atchareeya NOPWINYUWONG, Sudsai TREVANICH, Tunyarut JINKARN a Panuwat SUPPAKUL. Development of a food spoilage indicator for monitoring freshness of skinless chicken breast. *Talanta* [online]. 2014, **2014**(130), 547-554 [cit. 2023-04-09]. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2014.07.048
- [23] CHOI, Inyoung, Jun Young LEE, Monique LACROIX a Jaejoon HAN. Intelligent pH indicator film composed of agar/potato starch and anthocyanin extracts from purple sweet potato. *Food Chemistry* [online]. 2017, **2017**(218), 122-128 [cit. 2023-04-09]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2016.09.050
- [24] 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. 2023-04-09]. ISSN 22147993. Dostupné z: doi:10.1016/j.cofs.2015.09.004
- [25] AKHILA, Konala, Afreen SULTANA, Dakuri RAMAKANTH a Kirtiraj K. GAIKWAD. Monitoring freshness of chicken using intelligent pH indicator packaging film composed of polyvinyl alcohol/guar gum integrated with Ipomoea coccinea extract. *Food Bioscience* [online]. 2023, **2023**(52), 1-11 [cit. 2023-04-09]. ISSN 22124292. Dostupné z: doi:10.1016/j.fbio.2023.102397
- [26] DEMERLIS, C.C a D.R SCHONEKER. Review of the oral toxicity of polyvinyl alcohol (PVA). *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2003, **41**(3), 319-326 [cit. 2023-04-09]. ISSN 02786915. Dostupné z: doi:10.1016/S0278-6915(02)00258-2
- [27] MLEZIVA, Josef a Jaromír ŠŇUPÁREK. *Polymery: výroba, struktura, vlastnosti a použití*. 2. přeprac. vyd. Praha: Sobotáles, 2000. ISBN 80-859-2072-7.
- [28] BALBINOT-ALFARO, Evellin, Débora Vieira CRAVEIRO, Karina Oliveira LIMA, Helena Leão Gouveia COSTA, Danielle Rubim LOPES a Carlos PRENTICE. Intelligent Packaging with pH Indicator Potential. *Food Engineering Reviews* [online]. 2019, **11**(4), 235-244 [cit. 2023-04-24]. ISSN 1866-7910. Dostupné z: doi:10.1007/s12393-019-09198-9
- [29] ZHAO, Lei, Yaqi LIU, Liang ZHAO a Yong WANG. Anthocyanin-based pH-sensitive smart packaging films for monitoring food freshness. *Journal of Agriculture and Food Research* [online]. 2022, **2022**(9), 1-6 [cit. 2023-04-09]. ISSN 26661543. Dostupné z: doi:10.1016/j.jafr.2022.100340
- [30] ALAPPAT, Bindhu a Jayaraj ALAPPAT. Anthocyanin Pigments: Beyond Aesthetics. *Molecules* [online]. 2020, **25**(23), 1-17 [cit. 2023-04-09]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25235500
- [31] CASTAÑEDA-OVANDO, Araceli, Ma. de Lourdes PACHECO-HERNÁNDEZ, Ma. Elena PÁEZ-HERNÁNDEZ, José A. RODRÍGUEZ a Carlos Andrés GALÁN-VIDAL. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* [online]. 2009, **113**(4), 859-871 [cit. 2023-04-09]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2008.09.001
- [32] KHOO, Hock Eng, Azrina AZLAN, Sou Teng TANG a See Meng LIM. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research* [online].

- 2017, **61**(1), 1-21 [cit. 2023-04-11]. ISSN 1654-6628. Dostupné z: doi:10.1080/16546628.2017.1361779
- [33] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [34] LI, Shiyu, Binning WU, Wenyi FU a Lavanya REDDIVARI. The Anti-inflammatory Effects of Dietary Anthocyanins against Ulcerative Colitis. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2019, **20**(10), 1-18 [cit. 2023-04-11]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20102588
- [35] ROY, Swarup a Jong-Whan RHIM. Anthocyanin food colorant and its application in pH-responsive color change indicator films. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2021, **61**(14), 2297-2325 [cit. 2023-04-12]. ISSN 1040-8398. Dostupné z: doi:10.1080/10408398.2020.1776211
- [36] PINA, Fernando. Chemical Applications of Anthocyanins and Related Compounds. A Source of Bioinspiration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2014, **62**(29), 6885-6897 [cit. 2023-04-11]. ISSN 0021-8561. Dostupné z: doi:10.1021/jf404869m
- [37] HOUGHTON, Alan, Ingo APPELHAGEN a Cathie MARTIN. Natural Blues: Structure Meets Function in Anthocyanins. *Plants* [online]. 2021, **10**(4), 726 [cit. 2023-04-11]. ISSN 2223-7747. Dostupné z: doi:10.3390/plants10040726
- [38] JURIKOVA, Tunde, Jiri MLCEK, Sona SKROVANKOVA, Daniela SUMCZYNSKI, Jiri SOCHOR, Irena HLAVACOVA, Lukas SNOPEK a Jana ORSAVOVA. Fruits of Black Chokeberry *Aronia melanocarpa* in the Prevention of Chronic Diseases. *Molecules* [online]. 2017, **22**(6), 1-23 [cit. 2023-04-11]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules22060944
- [39] WANGENSTEEN, Helle, Marie BRÄUNLICH, Viktoria NIKOLIC, Karl Egil MALTERUD, Rune SLIMESTAD a Hilde BARSETT. Anthocyanins, proanthocyanidins and total phenolics in four cultivars of aronia: Antioxidant and enzyme inhibitory effects. *Journal of Functional Foods* [online]. 2014, **2014**(7), 746-752 [cit. 2023-04-11]. ISSN 17564646. Dostupné z: doi:10.1016/j.jff.2014.02.006
- [40] BOROWSKA, Sylwia a Malgorzata M. BRZÓSKA. Chokeberries (*Aronia melanocarpa*) and Their Products as a Possible Means for the Prevention and Treatment of Noncommunicable Diseases and Unfavorable Health Effects Due to Exposure to Xenobiotics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2016, **15**(6), 982-1017 [cit. 2023-04-24]. ISSN 15414337. Dostupné z: doi:10.1111/1541-4337.12221
- [41] SIDOR a GRAMZA-MICHAŁOWSKA. Black Chokeberry *Aronia melanocarpa* L.—A Qualitative Composition, Phenolic Profile and Antioxidant Potential. *Molecules* [online]. 2019, **24**(20), 1-57 [cit. 2023-04-19]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules24203710
- [42] DELGADO-VARGAS, F., A. R. JIMÉNEZ a O. PAREDES-LÓPEZ. Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains — Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2000, **40**(3), 173-289 [cit. 2023-04-25]. ISSN 1040-8398. Dostupné z:

doi:10.1080/10408690091189257

- [43] VEČEŘA, Miroslav a Josef PANCHARTEK. *Laboratorní příručka organické chemie*. 1. Praha: SNTL, 1987, 624 s. ISBN 04-615-87.
- [44] CIURZYŃSKA, Agnieszka a Andrzej LENART. Freeze-Drying - Application in Food Processing and Biotechnology - a Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* [online]. 2011, **61**(3), 165-171 [cit. 2023-04-25]. ISSN 1230-0322. Dostupné z: doi:10.2478/v10222-011-0017-5
- [45] NĚMCOVÁ, Irena, Petr RYCHLOVSKÝ a Ludmila ČERMÁKOVÁ. *Spektrometrické analytické metody*. Praha: Karolinum, 1997-1998. ISBN 80-718-4365-2.
- [46] PANÁK, Ondřej. Měření barevnosti. *Věda pro papírové artefakty (VEPA): CZ.1.07/2.3.00/20.0236* [online]. 2014 [cit. 2023-04-28]. Dostupné z: https://www.upce.cz/sites/default/binary_www_old/fcht/kpf/studenti-kpf/merenibarevnosti.pdf
- [47] ŌTA, Noboru a Alan R. ROBERTSON. *Colorimetry: fundamentals and applications*. Chichester: Wiley, 2005. ISBN 04-700-9472-9.
- [48] ZMEŠKAL, Oldřich, Michal ČEPPAN a Petr DZIK. *Barevné prostory a správa barev* [online]. 2002, **10**(2002), 1-14 [cit. 2023-04-28]. Dostupné z: http://imagesci.fch.vut.cz/download/stud06_rozn02.pdf
- [49] HUNT, R.W.G a M.R. POINTER. *Measuring colour: fundamentals and applications*. 3rd ed. Kingston-upon-Thames: Fountain, 1998. ISBN 08-634-3387-1.
- [50] Barevný prostor LAB. In: *Kopina* [online]. 2018 [cit. 2023-04-28]. Dostupné z: <https://kopina.cz/terminologie/36958/lab/>
- [51] LEE, Jungmin, Robert W DURST, Ronald E WROLSTAD et al. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* [online]. 2005, **88**(5), 1269-1278 [cit. 2023-04-25]. ISSN 1060-3271. Dostupné z: doi:10.1093/jaoac/88.5.1269
- [52] HUANG, Rui, Wei FANG, Xiaoqing XIE, Yutong LIU a Changmou XU. Identification of key astringent compounds in aronia berry juice. *Food Chemistry* [online]. 2022, **393**(133431), 1-3 [cit. 2023-03-22]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2022.133431
- [53] WANG, Caixia, Junjie CAO, Tingting LIU et al. Preparation and characterization of antioxidant and pH-sensitive films based on arrowhead (*Sagittaria sagittifolia*) starch, κ-carrageenan and black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) extract for monitoring spoilage of chicken wings. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2023, **2023**(224), 544-555 [cit. 2023-05-06]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.10.143
- [54] OUN, Ahmed A., Gye Hwa SHIN a Jun Tae KIM. Antimicrobial, antioxidant, and pH-sensitive polyvinyl alcohol/chitosan-based composite films with aronia extract, cellulose nanocrystals, and grapefruit seed extract. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2022, **2022**(213), 381-393 [cit. 2023-05-06]. ISSN

01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.05.180

- [55] HALÁSZ, Katalin a Levente CSÓKA. Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) pomace extract immobilized in chitosan for colorimetric pH indicator film application. *Food Packaging and Shelf Life* [online]. 2018, **2018**(16), 185-193 [cit. 2023-05-07]. ISSN 22142894. Dostupné z: doi:10.1016/j.fpsl.2018.03.002
- [56] RFID. In: *Epr.In* [online]. Brno: Eprin, 2022 [cit. 2023-03-26]. Dostupné z: <https://www.eprin.cz/files/produktove/rfid-tag1.jpg>

7 SEZNAM ZKRATEK A POUŽITÝCH SYMBOLŮ

RFID	Radio Frequency Identification
$I(\lambda)$	intenzita světla
$M_e(\lambda)$	spektrální intenzita vyzařování
$R(\lambda)$	spektrální reflektance barevného vzorku
$\Phi^0(\lambda)$	spektrální distribuce osvětlení
$\bar{x}, \bar{y}, \bar{z}$	trichromatické členitelé
CIE	Mezinárodní komise pro osvětlování
L^*	měrná světlost
a^*	osa zelená – červená
b^*	osa modrá – žlutá
X_n, Y_n, Z_n	trichromatické složky použitého světla
ΔE_{ab}^*	barvová odchylka
ΔH^*	odchylka odstínu
h_{ab}°	měrný úhel barevného tónu
C^*	měrná čistota barevného tónu
ΔA	změna absorpance
M_r	relativní molární hmotnost
ε	molární absorpční koeficient
l	optická dráha
Cy-3-gal	kyanidin-3-galaktosid
Cy-3-ara	kyanidin-3-arabinosid
PVA	polyvinylalkohol
PET	polyethylentereftalát