



# 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

## CHYTRÉ POTRAVINÁŘSKÉ POLYMERNÍ VRSTVY

SMART FOOD POLYMER LAYERS

### BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Michaela Valíková

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

RNDr. Mária Veselá, Ph.D.

BRNO 2020

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1592/2019 Akademický rok: 2019/20  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Studentka: **Michaela Valíková**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie  
Vedoucí práce: **RNDr. Mária Veselá, Ph.D.**

### Název bakalářské práce:

Chytré potravinářské polymerní vrstvy

### Zadání bakalářské práce:

1. Vypracujte rešerši na téma obaly v potravinářství, chytré obaly potravin s důrazem na senzorové prvky využitelné pro potravinářské obaly, a to včetně legislativního rámce.
2. Prostudujte publikované postupy síťování želatiny.
3. Připravte ve vodě nerozpustné vrstvy želatiny s anthokyany a hodnoťte barevnou reakci nerozpustných polymerních filmů na pH prostředí.
4. Výsledky vyhodnoťte a diskutujte.

### Termín odevzdání bakalářské práce: 31.7.2020:

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

---

Michaela Valíková  
student(ka)

RNDr. Mária Veselá, Ph.D.  
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2020

---

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

## **ABSTRAKT**

Chytré obaly představují skupinu obalů s velkým potenciálem při použití v potravinářském průmyslu. Aktivní obaly mohou příznivě ovlivňovat stav skladované potraviny a inteligentní obaly dokážou spotřebitele informovat o stavu skladované potraviny. V teoretické části byla vypracována rešerše na téma obaly v potravinářství s důrazem na aktivní a inteligentní prvky využitelné pro potravinářské obaly, a to včetně legislativního rámce. Byly popsány látky, ze kterých se chytré obaly vyrábí. V rámci experimentální části byly připraveny ve vodě částečně nerozpustné polymerní vrstvy ze želatiny, glycerolu, síťovadla a extraktu anthokyanů. Jako síťovadlo byl použit glutaraldehyd, nebo kyselina taninová. Anthokyaniny byly získány extrakcí z červeného zelí. Celková koncentrace anthokyanů v extraktu byla stanovena metodou difference. U připravených vrstev byla měřena jejich rozpustnost ve vodě a spektrofotometricky hodnocena barevná reakce na pH prostředí. Byla sledována také stabilita vrstev v čase. Bylo zjištěno, že připravené vrstvy jsou schopné reagovat na změnu pH.

## **ABSTRACT**

Smart packaging represents a group of packaging with great potential when used in the food industry. Active packaging can have a positive effect on the condition of stored food and smart packaging can inform consumers about the condition of stored food. In the theoretical part, a search was made on the topic of packaging in the food industry, with emphasis on active and intelligent packaging, including the legislative framework. The substances from which smart packaging is made have been described. In the experimental part, partially water-insoluble polymer layers were prepared from gelatin, glycerol, crosslinking agent and anthocyanin extract. Glutaraldehyde or tannic acid was used as a crosslinking agent. Anthocyanins were obtained by extraction from red cabbage. The total concentration of anthocyanins in the extract was determined by the difference method. For prepared layers, their water solubility was measured and the colour response to the pH environment was evaluated spectrophotometrically. The stability of the layers over time was also monitored. It was found that the prepared layers are able respond to changes in pH.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

chytré obaly, inteligentní obaly, indikátor, anthokyaniny, extrakt, rozpustnost, reakce na pH

## **KEY WORDS**

smart packaging, intelligent packaging, indicator, anthocyanins, extract, solubility, reactions to pH

VALÍKOVÁ, Michaela. *Chytré potravinářské polymerní vrstvy*. Brno, 2020. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/124138>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Mária Veselá.

## **PROHLÁŠENÍ**

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

.....  
podpis studenta

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych poděkovala vedoucí mé bakalářské práce RNDr. Márii Veselé, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a věnovaný čas. Poděkování patří i mé rodině, která mě během studia plně podporovala.

## OBSAH

1	ÚVOD .....	7
2	TEORETICKÁ ČÁST .....	8
2.1	Historie obalů.....	8
2.2	Obaly v potravinářství .....	8
2.3	Aktivní obaly .....	8
2.3.1	Antioxidační systémy.....	9
2.3.2	Pohlčovače kyslíku .....	9
2.4	Inteligentní obaly .....	10
2.4.1	Indikátory .....	10
2.4.2	Datové nosiče.....	12
2.4.3	Senzory .....	12
2.5	Legislativa používání chytrých obalů .....	13
2.6	Složení chytrých obalů .....	14
2.7	Polymery pro přípravu indikátorů .....	14
2.7.1	Želatina .....	14
2.8	Síťovací činidla.....	15
2.8.1	Glutaraldehyd.....	16
2.8.2	Aldózové cukry .....	16
2.8.3	Kyselina taninová.....	17
2.8.4	Kyselina citronová .....	18
2.9	Změkčovadla.....	18
2.9.1	Glycerol.....	18
2.10	Barviva.....	18
2.10.1	Anthokyany.....	19
2.11	Měření barevnosti vrstev .....	22
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	25
3.1	Použité chemikálie.....	25
3.2	Přístroje.....	25
3.3	Použitý software .....	25
3.4	Izolace anthokyanů .....	26
3.5	Příprava pufrů .....	26
3.6	Měření absorpčních spekter .....	27
3.7	Stanovení celkové koncentrace anthokyanů .....	27
3.8	Příprava filmů .....	28
3.8.1	Příprava filmu s glutaraldehydem bez úpravy pH .....	28
3.8.2	Příprava filmu s glutaraldehydem a úpravou na pH 8 .....	28
3.8.3	Příprava filmu s kyselinou taninovou při pH 7,5 .....	29
3.8.4	Příprava filmu s kyselinou taninovou při pH 8,0.....	29
3.9	Stanovení rozpustnosti filmů .....	29
3.10	Měření stability filmů v čase .....	29
3.11	Měření reakce filmů na pH .....	29

4	VÝSLEDKY A DISKUZE .....	31
4.1	Absorpční spektra anthokyanového extraktu.....	31
4.2	Celková koncentrace anthokyanů .....	32
4.3	Měření reakce filmů na pH .....	32
4.4	Stanovení rozpustnosti.....	37
4.5	Měření stability filmů v čase .....	40
5	ZÁVĚR .....	45
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....	46
7	SEZNAM ZKRATEK A POUŽITÝCH SYMBOLŮ.....	53

# 1 ÚVOD

Balení potravin hraje zásadní roli při udržování kvality, bezpečnosti a trvanlivosti. Ke změnám v bezpečnosti a kvalitě dochází obecně již během skladování, distribuce a přepravy potravin. Spotřebitelé hodnotí kvalitu a čerstvost balených potravin prostřednictvím doby trvanlivosti vytištěné na obalu, avšak u některých produktů nemusí tato informace stačit [1]. Ve většině případů spotřebitel vyhodnotí stav potravin špatně, a ze strachu, že by potraviny mohly být zkažené, vyhodí výrobky, které by byly ve skutečnosti stále vhodné ke spotřebě. Často malá odchylka od normy, ať už barva, konzistence nebo překročení doby minimální trvanlivosti, vede k tomu, že produkty končí v koši [2]. Podle organizace pro výživu a zemědělství se ročně vyhodí 1,3 miliard tun potravin. Přestože všichni aktéři v distribučním řetězci potravin musí hrát roli při předcházení a snižování potravinového odpadu, z hlediska významu odpadu z domácností vyplývá, že pokrok v balení může být nezbytným nástrojem ke snížení plýtvání potravinami [3].

Poptávka spotřebitelů po trvanlivějších potravinářských výrobcích vyžaduje vývoj obalů, které jsou zároveň funkční. Příkladem takového obalu je obal aktivní, obsahující účinné látky, které mohou zlepšovat kvalitu výrobků. Mezi funkční obaly se řadí také inteligentní obaly, které zvyšují bezpečnost tím, že spotřebiteli poskytují informace o stavu potraviny a varují o možných problémech [4].

Inteligentní barevný indikátor je inovativním způsobem pro detekci, sledování a ochranu kvality potravin. Barevný indikátor reaguje s metabolity produkovanými růstem mikroorganismů v balených potravinách a vykazuje změnu v důsledku změn pH. V poslední době se mnoho studií zabývá použitím anthokyanů jako alternativou k toxickým syntetickým potravinářským barvivům [1].

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Historie obalů

Potravinářské obaly se vyvíjely postupně s tím, jak se měnil životní styl lidí. Lidé po dlouhou dobu jednoduše jedli, co dokázali shromáždit ve svém bezprostředním okolí, avšak po přechodu z kočovného stylu života vznikla potřeba obalů na potraviny. První z raných materiálů, které se daly formovat do potravinových obalů, byly keramika, papír a sklo [5]. Výroba skla sahá až do doby 7000 let před naším letopočtem, avšak moderní výroba skleněných obalů se datuje k roku 1889, kdy byl vynalezen první automatický stroj na výrobu skleněných lahví. Papír je hned vedle zvířecí kůže nejspíše nejstarším flexibilním obalem. Díky vynálezu papírenského stroje došlo ke komercializaci papírových obalů v různé formě, jako je papírový sáček nebo kartonová krabice. Využití papírových obalů rostlo až do poloviny 20. století, kdy se široce dostupnými staly plastové substráty [6].

Ve 40. letech 20. století začala éra plně jednorázových obalů. Později v 20. století vyvolaly aktivní a inteligentní obaly zásadní změny ve způsobu, jakým využíváme a distribuujeme jídlo. Japonsko bylo první zemí, která v polovině 70. let zahájila používání aktivních a inteligentních obalů [7].

### 2.2 Obaly v potravinářství

Účelem balení je pomoc při distribuci zboží ve prospěch společnosti. Z technického hlediska obal chrání produkt. U potravinářského výrobku to obvykle znamená, že zabraňuje kažení nebo prodlužuje trvanlivost výrobku před tím, než jej spotřebitel využije. Bariéra a odolnost proti poškození jsou dva hlavní aspekty. Bariéra může zahrnovat vytvoření nepropustného těsnění, blokování světla nebo zajištění nízké propustnosti plynů, jako je vodní pára a kyslík. Obal také může pomoci v prevenci škodlivého růstu mikrobů tím, že umožňuje sterilizaci po zabalení. Při přepravě, například při vysokých rychlostech manipulace, či změně vnitřního tlaku v důsledku přepravy, může docházet k poškození obalu. Je nutné tedy obal navrhnout tak, aby dokázal odolávat těmto poškozením.

Z marketingového hlediska představuje obal reklamu. Často je to jediný mechanismus, kterým může vlastník značky informovat a nalákat spotřebitele. Proto musí mít obal obvykle povrch vhodný pro tisk. Může být také nutné, aby celý obal nebo jeho části byly průhledné, aby spotřebitel viděl, co si kupuje [6].

### 2.3 Aktivní obaly

Aktivní balení je nová skupina obalů, která odpovídá očekáváním současného spotřebitele. Tento způsob balení potravin je dobrým příkladem inovace, která jde nad rámec tradičních funkcí obalu. Balení, produkt a jeho prostředí se sebou vzájemně reagují, čímž dochází k prodloužení trvanlivosti a zvýšení bezpečnosti potravin. Aktivní balení je definováno jako technologie balení, kde jsou určité přísady, známé jako takzvané aktivní sloučeniny, zabudovány přímo do obalového materiálu, nebo umístěny do vnitřního prostředí obalu,

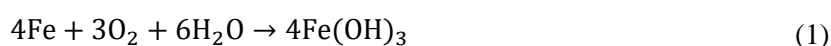
aby mohly ihned reagovat s produktem. Na povrchu aktivního balení se vyskytují aktivní funkční skupiny, které jsou schopny interagovat s potravinami obsaženými v balení, čímž inhibují zhoršení jejich kvality a zároveň zachovávají jeho organoleptické vlastnosti. Mezi nejznámější a nejčastěji používané aktivní obalové systémy patří antioxidační a antimikrobiální obaly, pohlcovače kyslíku a emitory oxidu uhličitého [8].

### 2.3.1 Antioxidační systémy

Oxidace tuků je jedním z nejdůležitějších mechanismů, které vedou ke znehodnocení potravin. V důsledku oxidace dochází ke změně v chuti, zápachu, zhoršení struktury a funkčnosti potravin a snížení nutriční kvality. Oxidaci lze zabránit použitím pohlcovačů kyslíku a antioxidantů. Radikály, které pocházejí z kyslíku, především oxo, hydroxyl a superoxid, jsou hlavními iniciátory oxidace. Pokud se tyto radikály odstraní ihned, jakmile se vytvoří, lze zabránit oxidaci. Některé přírodní sloučeniny takto působí a radikály velmi efektivně zachycují. V případě použití těchto sloučenin by nebylo nutné použití obalových materiálů s velkou bariérou ani vakuum. Pouze přítomnost látek schopných zachytávat radikály by byla dostačující pro ochranu potravin před oxidačními procesy. Materiály obsahující tyto zachytávače navíc nepotřebují být před použitím chráněny nebo aktivovány. Aditiva, kterým je věnována zvýšená pozornost, jsou přírodní antioxidanty, jako je vitamín E, a přírodní extrakty bohaté na fenolické sloučeniny nebo terpeny. Takové látky je možné najít například v rozmarýnu, hřebíčku, oreganu, skořici nebo v zázvoru. Obsah antioxidantu během skladování klesá v důsledku difúze antioxidantu skrz obal a jeho následnému vypařování na povrchu. Tomuto lze však předejít přidáním další vrstvy obalu, který má pro antioxidant nízkou propustnost. Antioxidanty lze použít u olejů, ořechů, másla, čerstvého masa, pekárenských výrobcích a ovoce a zeleniny [9].

### 2.3.2 Pohlcovače kyslíku

Přítomnost kyslíku v potravinových obalech vede k rychlému zhoršení kvality potravin v důsledku oxidace tuků nebo vitamínů přítomných v potravinách. Kyslík navíc podporuje růst mikroorganismů, jako jsou aerobní bakterie, kvasinky a plísně. Výše uvedené faktory vedou ke změně barvy, vůně nebo chuti jídla. Jeden z přístupů k vytvoření prostředí bez kyslíku je vakuové balení, které dokáže snížit hladinu kyslíku na 0,5–2 obj. %. Oproti tomu pohlcovače kyslíku jsou schopny snížit hladinu kyslíku na méně než 0,1 obj. %, což výrazně prodlužuje skladovatelnost [10]. Nejčastěji používanou technologií k odstranění kyslíku je oxidace železa, která probíhá podle rovnice (1). K tomuto účelu se používají sáčky, které obsahují prášek na bázi železa [7][8].



## 2.4 Inteligentní obaly

Výraz „inteligentní balení“ lze definovat více způsoby. Inteligentní balení je založené na interakci mezi obalem a potravinářským výrobkem, nebo jeho prostředím. Jeho úkolem je informovat výrobce a spotřebitele o čerstvosti produktu. Inteligentní balení lze použít i ke kontrole účinnosti aktivních systémů balení. Tento způsob balení je užitečný pro zvýšení účinnosti přenosu informací v celém distribučním řetězci produktů prostřednictvím inovativních komunikačních metod [8]. Inteligentní obalové systémy mohou být realizovány třemi hlavními technologiemi:

- a) indikátory, jejichž cílem je poskytnout spotřebiteli informaci o kvalitě potravin,
- b) datovými nosiči, jako jsou čárové kódy a radiofrekvenční identifikační štítky (RFID), které jsou určeny pro skladování, distribuci a sledovatelnost,
- c) senzory, které umožňují rychlou a jednoznačnou kvantifikaci analytů v potravinách [11].

### 2.4.1 Indikátory

Indikátor je zařízení, které poskytuje spotřebiteli informace týkající se mikrobiální aktivity, kvality potravin nebo jiných vlastností. Funguje na základě specifických charakteristik, jako je přítomnost nebo nepřítomnost dané chemické či biologické látky, reakce mezi dvěma nebo více látkami, nebo rozdíl v koncentraci chemických látek přítomných v potravě. Indikátory mohou být klasifikovány jako externí, které jsou umístěny mimo obal, nebo interní, což jsou indikátory fyzicky přítomné uvnitř balení [12]. Indikátory poskytují okamžité vizuální kvalitativní informace o balené potravě prostřednictvím změny barvy nebo zvýšením intenzity barvy. Ve většině případů je základním požadavkem to, že změna barvy nebo intenzity je nevratná. Pokud by tohoto nebylo docíleno, mohl by indikátor poskytovat nepravdivé informace [13]. Při použití inteligentních obalů je nutné zajistit, aby barevná změna byla snadno měřitelná, a aby změny v závislosti na čase a teplotě byly dobře reprodukovatelné a snadno korelované s kvalitou potravin [9]. Na rozdíl od senzorů nemohou indikátory poskytovat kvantitativní informace o dané veličině (např. o koncentraci nebo teplotě) [13][14].

#### 2.4.1.1 Indikátory čerstvosti

Hlavním účelem indikátorů čerstvosti je signalizovat okamžik, kdy kvalita baleného produktu již není přijatelná. Balené produkty mohou do atmosféry uvolňovat například oxid uhličitý, sirovodík, ethylen nebo mikrobiální metabolity. Tyto uvolněné látky následně reagují s indikátorem, čímž mění jeho barvu, která odráží čerstvost produktu. Výhoda těchto indikátorů je, že lze změnu barvy indikátoru detekovat pouhým okem, bez nutnosti použití přístroje. Autoři [15] navrhli senzor čerstvosti potravin založený pouze na materiálu získaném z potravin, konkrétně na pektinu a červeném zelí. Vyznačuje se vysokou citlivostí na plynné aminy, které umožňují sledování čerstvosti potravin v reálném čase [8].

Nejčastěji je v masném obalovém průmyslu používán jako pH indikátor bromthymolová modř, která monitoruje tvorbu oxidu uhličitého, generovaného v důsledku mikrobiálního růstu. Toto pH barvivo reaguje na zvýšenou hladinu oxidu uhličitého a mění svou barvu.

Další barviva, navrhnutá pro stejný účel, jsou xylenolová modř, bromkresolová červen, bromkresolová zelen, nebo methylenová červen. Vědci ze Sejongské univerzity navrhli indikátor oxidu uhličitého, skládající se z vodného roztoku chitosanu nebo syrovátkového izolátu bílkoviny. Přítomnost oxidu uhličitého byla detekována změnou průhlednosti syrovátky, která je závislá na pH. Kromě oxidu uhličitého byly jako monitorovací molekuly použity i další metabolity, včetně oxidu siřičitého, amoniaku, těkavých aminů a organických kyselin. Ukazatel čerstvosti masa založený na glukózovém senzoru funguje na principu, že hladina glukózy na povrchu masa je snížena kvůli spotřebování mikroorganismy během jejich růstu. Jiný ukazatel čerstvosti masa byl vyvinut na základě toho, že sirovodík je schopen vázat se na myoglobin, za vzniku zeleného pigmentu – sulfmyoglobinu [14][16].

#### **2.4.1.2 Indikátor kyslíku**

Detekce kyslíku je důležitá pro mnoho průmyslových procesů, zejména tam, kde je nezbytná absence kyslíku nebo přesná kontrola jeho koncentrace. Důležité je sledování plynu v prostoru balené potraviny, protože kyslík je hlavním faktorem, který je zodpovědný za kažení většiny potravin. Jeho přítomnost ovlivňuje růst aerobních mikrobů a je zodpovědný za reakce enzymatického hnědnutí ovoce a zeleniny. Nejběžnější indikátory kyslíku jsou založeny na změně barvy v důsledku a) reakce vázající kyslík, b) redoxní reakce, nebo c) redoxní reakce aktivované světlem. Tyto indikátory jsou k dispozici jako štítky, tištěné vrstvy, tablety, nebo mohou být laminovány do polymerní folie. Před použitím je indikátor uchovávan na chladném a tmavém místě bez kyslíku. Když je poté produkt v balení vystaven kyslíku, změní indikátor svou barvu [7][17].

#### **2.4.1.3 Indikátory těsnění**

Kyslík a oxid uhličitý lze použít ke sledování kvality potravin jako indikátorů těsnění obalu, nebo k ověření účinnosti absorbéru kyslíku. Obecně platí, že jídlo se kazí nebo zkvašuje brzy po zabalení a vytváří se oxid uhličitý v důsledku mikrobiálního růstu. Sledování změn obsahu oxidu uhličitého v obalu by mohlo vyřešit problémy s kvalitou a bezpečností potravin. Většina indikátorů kyslíku a oxidu uhličitého mění barvu v důsledku chemických nebo enzymatických změn. Změna barvy označuje, kdy koncentrace kyslíku překročí limit stanovený v zapečetěném potravinářském balení. Pro indikaci lze použít redoxní barviva, například methylenovou modř. U indikátorů oxidu uhličitého dochází ke změně barvy, když koncentrace oxidu klesne na určitou úroveň [9][18][19].

#### **2.4.1.4 Indikátory času a teploty**

Teplota je důležitým faktorem při určování skladovatelnosti potravinářského výrobku. Teplotní odchylky mohou mít za následek růst nebo přežití mikroorganismů, což v konečném důsledku způsobuje znehodnocení produktu. Nesprávné zmrazení může mít pak za následek denaturaci bílkoviny masa nebo jiných produktů. Obecně jsou teplotní indikátory jednoduché a levné přístroje, které jsou připojené k obalu. Rozlišujeme tři typy:

a) ukazatele kritické teploty, které ukazují, zda byly výrobky zahřáté nad nebo vychlazené pod povolenou hodnotu,

b) částečné ukazatele historie, které ukazují, zda byl produkt vystaven teplotě způsobující změnu kvality produktu,

c) indikátory úplné historie, které zaznamenávají celkový teplotní profil v potravinovém řetězci.

Funkce indikátorů času a teploty je založena na detekci mechanických, chemických, elektrochemických, enzymatických nebo mikrobiologických změn potravinového produktu závislých na čase a teplotě. Naměřené hodnoty se obvykle projeví změnou barvy [2].

## **2.4.2 Datové nosiče**

Funkcí nosičů dat není sledovat kvalitu produktů, ale zaručovat sledovatelnost, automatizaci a ochranu proti krádeži nebo padělání. Datové nosiče ukládají a přenášejí informaci o úložišti, distribuci a dalších parametrech a nejčastěji jsou umístěny na terciární obaly. Nejvíce používanými datovými nosiči jsou štítky s čárovým kódem a štítky RFID (Radio Frequency Identification).

Čárové kódy jsou levné, snadno použitelné a široce se využívají pro usnadnění řízení a evidenci zásob, setkat se s nimi můžeme také u pokladen. Obecně lze čárové kódy rozdělit na jednorozměrné a dvourozměrné, kdy se liší ve svých kapacitách. Jednorozměrný čárový kód je vzor rovnoběžných mezer a sloupců a rozdílné umístění těchto sloupců a mezer má za následek kódování dat. Dvourozměrné čárové kódy nabízejí větší kapacitu paměti, využitelnou například pro informaci o datumu balení, čísla šarže, hmotnosti balení a nutričních informacích, což poskytuje velké pohodlí pro maloobchodníky a spotřebitele. Příkladem dvourozměrných kódů jsou kódy QR (quick response) [2].

RFID je pokročilý datový nosič s výrazně větší kapacitou ukládání dat. Hlavní funkcí je automatická identifikace fyzických objektů pomocí rádiových vln. Funguje bezkontaktně, sběr dat probíhá v reálném čase a data mohou pronikat nekovovými materiály. Systém RFID se skládá z tiskárny, čtečky, antény a štítků. RFID jsou potřebné v různých oblastech, jako je logistika a průmysl, ale z hlediska obalových prvků mohou výrazně přispět i ke zlepšení provozu obchodů. Kombinace senzorů s RFID technologií může pomoci k monitorování různých aspektů potravin, jako je například doba skladování a teplota [8].

## **2.4.3 Senzory**

Senzorové zařízení se skládá z řídicí a zpracovávací elektroniky, propojovací sítě a softwaru. Čidlo může poskytnout signál pro detekci nebo měření fyzikální či chemické vlastnosti, na kterou zařízení reaguje, a může detekovat, lokalizovat nebo kvantifikovat energii nebo hmotu. Mezi nejpokročilejší sensorové technologie, které mohou být zabudovány do inteligentního obalu, patří biosenzory a plynové senzory [20][21][22].

### **2.4.3.1 Biosenzory**

Biosenzory jsou vyrobeny z biologických rozpoznávacích prvků, jako jsou enzymy, protilátky, antigeny, hormony, fágy a nukleové kyseliny. Druhou komponentou je prvek pro přenos signálu, například akustický nebo elektrochemický senzor, který je připojen k systému sběru a zpracování dat. V potravinářském průmyslu, zejména v rybím a masném,

se senzory používají na detekci patogenů a jako bezpečnostní systémy. Existuje například biosenzor Toxin Quard, vyvinutý firmou Toxin Alert, který je schopen detekovat patogeny jako je Salmonella, Escherichia coli, Listeria a Campylobacter [22].

#### **2.4.3.2 Senzory plynů**

Zkažení potravinářského produktu lze zjistit sledováním koncentrace určitých plynů, jako je oxid uhličitý nebo sirovodík. Plynové senzory jsou monitorovací zařízení, která mohou reverzibilně a kvantitativně reagovat na přítomnost plynného analytu v balení změnou fyzikálních parametrů senzoru, a jsou monitorována externím zařízením. Mezi známé senzory plynů patří například amperometrický senzor kyslíku nebo potenciometrický senzor oxidu uhličitého. Většina těchto systémů má bohužel různá omezení, jako je zkřížená citlivost na oxid uhličitý a sirovodík, znečištění sensorových membrán a spotřeba analytu.

Kyslíkové senzory na bázi fluorescence nespotřebovávají kyslík, nejsou ovlivněny elektromagnetickým rušením a jsou schopny měřit plyn i kapaliny. Komerčně dostupný je kyslíkový senzor na bázi fluorescence O2xyDot, vyvíjen společností OxySence v Delaware, USA, který je připevněn uvnitř balicího systému a lze jej nedestruktivně přečíst z vnějšíku obalu [22].

Senzory oxidu uhličitého lze rozdělit na dva typy – optické a elektrochemické. Elektrochemické se dále dělí na potenciometrické, amperometrické a konduktometrické. Potenciometrické senzory, využívající pevné elektrolyty, jsou jednou z nadějných metod díky jejich kompaktní struktuře, schopnosti nepřetržitého sledování a vysoké selektivitě. Nicméně vyžadují energii pro generování signálu a často také provozní teplotu vyšší než 400 °C, a proto nejsou vhodné pro aplikace při balení potravin. Mnoho vědců se zabývá vývojem a testováním optických senzorů, které lze rozdělit do dvou typů:

a) senzory fungující na základě barevné změny barviva indikátoru pH, jako je thymolová modř, kresolová červeň atd.,

b) senzory založené na změně fluorescence luminiscenčního barviva, indukovanou oxidem uhličitým [23][24].

### **2.5 Legislativa používání chytrých obalů**

Používání aktivních a inteligentních obalů je definováno v nařízení Evropského parlamentu a rady (ES) č. 1935/2004, které se zabývá materiály a předměty určenými pro styk s potravinami. Aktivní a inteligentní obaly by měly být vyrobeny tak, aby za obvyklých podmínek použití neuvolňovaly do potravin své složky v množství, která by mohla ohrozit zdraví lidí, způsobit nepřijatelnou změnu ve složení potravin, nebo zhoršit organoleptické vlastnosti potravin. Aktivní obaly také nesmí způsobovat takové změny ve složení, které by mohly například zakrývat kažení potravin. U inteligentních obalů je nepřijatelné, aby informace o stavu potravin byla pro spotřebitele jakkoli zavádějící. Obaly by také měly být označeny tak, aby spotřebitel identifikoval nejdle části, a aby poznal, že materiál je aktivní či inteligentní [25].

Nařízení Komise (ES) č. 450/2009 o aktivních a inteligentních materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami doplňuje nařízení Evropského parlamentu a rady (ES) č. 1935/2004. Informuje o tom, které látky mohou být při výrobě aktivních a inteligentních materiálů použity a které nikoli. Dále nařizuje, aby se tyto materiály vždy, když nemohou být považovány za jedlé, označovaly slovy „NEJEZTE“, a pokud je to technicky možné, pak také určeným symbolem [26].

Účelem zákona o obalech č. 477/2001 Sb. je předcházet vzniku odpadů z obalů a tím chránit životní prostředí, a to zejména snižováním hmotnosti, objemu a škodlivosti obalů a chemických látek obsažených v těchto obalech [27].

## 2.6 Složení chytrých obalů

Kvůli nebezpečí pro životní prostředí jsou petrochemické materiály pro balení potravin nahrazovány biopolymerními biologicky rozložitelnými obaly [28]. Hlavními složkami chytrých obalů jsou tedy biopolymery a lipidy nebo jejich směsi. Za účelem udržení požitelnosti lze během zpracování použít jako rozpouštědlo pouze vodu nebo ethanol. Do směsi se mohou přidávat další přísady, které zlepšují nebo modifikují základní funkčnost materiálu, například změkčovadla, síťovací činidla a emulgátory. Dalšími přísadami, které se přidávají za účelem zlepšit kvalitu, stabilitu a bezpečnost balených potravin, jsou antioxidanty, antimikrobiální sloučeniny a barviva [29].

Základní materiály používané k výrobě jedlých filmů a potahů lze klasifikovat do tří kategorií: polysacharidy, proteiny a lipidové sloučeniny. Polysacharidy (rostlinné a mikrobiální gemy, škroby, celulózy aj.) mají dobré filmotvorné vlastnosti. Filmy vytvořené z těchto hydrofilních sloučenin poskytují účinné bariéry proti olejům a lipidům, avšak jejich odolnost vůči vodě je špatná. Filmy vyrobené z proteinových materiálů mají obecně lepší mechanické a bariérové vlastnosti než filmy na bázi polysacharidů. Je to způsobeno tím, že proteiny mají specifickou strukturu, která poskytuje více potenciálních funkčních vlastností. Mnoho lipidových sloučenin, jako jsou živočišné a rostlinné tuky, bylo použito k výrobě chytrých jedlých filmů. Tyto filmy vykazují výbornou odolnost proti vlhkosti, ale mohou způsobit texturní a organoleptické problémy v důsledku oxidace a jejich voskovité chuti [30].

## 2.7 Polymery pro přípravu indikátorů

### 2.7.1 Želatina

Želatina je biopolymer na bázi bílkovin získávaný z kůže a kostí zvířat (tj. skotu, prasat, drůbeže a ryb), který je široce používán pro výrobu jedlých obalových filmů v potravinářském průmyslu [28]. Je to produkt získávaný kyselou, zásaditou nebo enzymatickou hydrolýzou kolagenu, což je hlavní složka kůže, kostí a pojivových tkání zvířat [31].

Molekula kolagenu má délku asi 300 nm, průměr 1,5 nm a molekulovou hmotnost přibližně 300 000 Da [32]. Kolagen je tvořen molekulami tropokolagenu, který obsahuje tři polypeptidové  $\alpha$ -řetězce, tvořící strukturu trojšroubovice. Struktura trojitě spirály je stabi-

zována přítomností glycinu, jehož obsah v kolagenu je asi 30 %. Ve větším množství se vyskytuje také prolin (asi 12 %) a hydroxyprolin (asi 10 %). Kolagen se skládá z opakujících jednotek Gly-X-Y, přičemž X je většinou prolin a Y je hydroxyprolin nebo hydroxylysin [33][34].

Želatina typu A se vyrábí kyselým zpracováním kolagenní suroviny a vykazuje izoelektrický bod mezi pH 7 a 9. Želatina typu B je vyráběna alkalickým nebo vápenatým zpracováním kolagenu a její izoelektrický bod je v rozmezí pH 4,6 a 5,2. Želatina je sklovitá, křehká, pevná látka, která má slabě nažloutlou barvu. Při ponoření želatinových granulí do studené vody se želatina hydratuje na diskrétní, nabobtnalé částice. Po zahřátí se disperguje do vody, čímž se vytvoří stabilní suspenze. Vodné roztoky želatiny po ochlazení na specifický bod gelace vytvoří reverzibilní gel, přičemž bod gelace závisí na zdroji, z kterého je želatina získána. Zatímco želatina extrahovaná z tkání teplokrevných zvířat má bod gelace v rozmezí 30 °C až 35 °C, želatina extrahovaná z kůže mořských ryb, žijících ve studených vodách, má tento bod v rozmezí 5 °C až 10 °C [31].

Nejdůležitější vlastností želatiny je její gelová pevnost, která se vyjadřuje takzvaným Bloomovým číslem. Želatiny s vysokým (220–280) a středním (100–200) Bloomovým číslem tvoří pevnější gely v porovnání s želatinami s nízkým Bloomovým číslem (40–100) [35][36].

Želatina je biologicky rozložitelný přírodní polymer, který je vzhledem k rozpustnosti ve vodě a omezeným mechanickým a tepelným vlastnostem nezbytné vylepšit pomocí síťovacích reakcí, které zajistí dlouhodobé použití [37].

Vložení kovalentních vazeb mezi želatinové řetězce (chemické zesítnění) gely stabilizuje a odstraní tak jejich reverzibilitu. Pro zesíťování želatiny byly popsány různé metody a jsou klasifikovány z hlediska chemických, enzymatických nebo fyzikálních typů v závislosti na použití chemických činidel, enzymů, nebo fyzikálních úprav. V žádném případě by však metody síťování neměly štěpit peptidové vazby, protože by mohlo dojít ke snížení pevnosti gelu. Proto jsou obvykle preferovány reakce probíhající za mírných podmínek. Z fyzikálních metod je to například tepelné a UV indikované zesítnění. Enzymy obvykle reagují za mírných podmínek a jsou velmi specifické [38].

## 2.8 Síťovací činidla

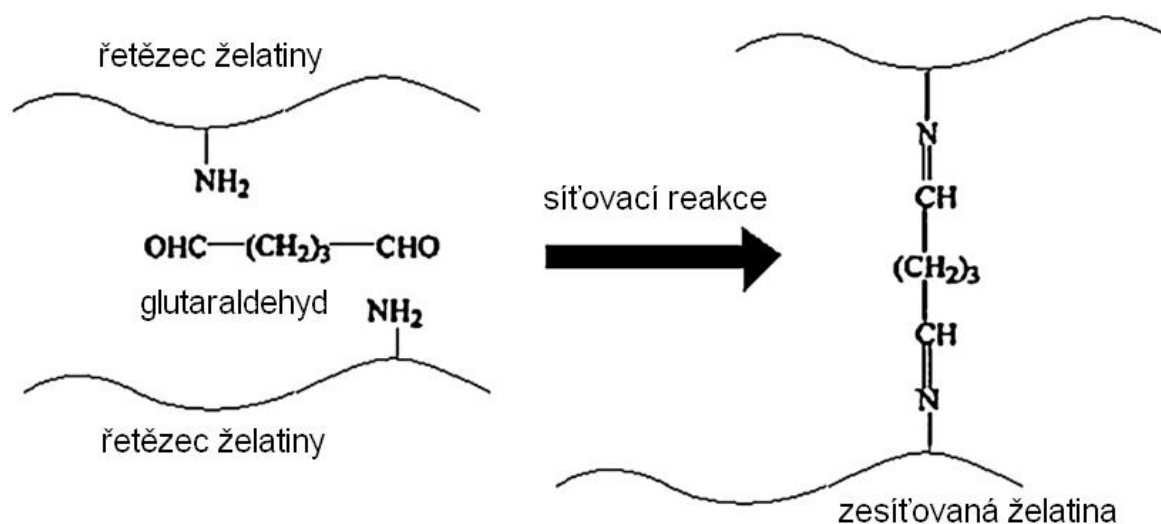
Nejběžněji používanými chemickými sloučeninami jsou ty, které nesou funkční skupiny schopné reagovat s komplementárními funkčními skupinami na želatině, čímž se zabrání tvorbě vedlejších produktů nebo eliminaci některých skupin. Jelikož je želatina získávána částečnou denaturací a hydrolýzou kolagenu, obsahuje též stejné aminoskupiny. Glycin zastává přibližně 1/3 všech aminokyselin, prolin nebo hydroxyprolin poté 1/6. Množství ostatních aminokyselin závisí na původu kolagenu. Mezi nimi jsou možnými reaktivními funkčními skupinami aminoskupiny lysinu, argininu, histidinu a tryptofanu, hydroxylové skupiny serinu, threoninu, tyrosinu a hydroxyprolinu, thiolová skupina cysteinu, karboxylové skupiny asparagové a glutamové kyseliny a amidové skupiny asparaginu a glutaminu [38].

Mnoho látek, včetně aldehydů, fenolů nebo vápenatých solí, je vhodných k síťování želatiny. Glutaraldehyd a formaldehyd se běžně používají jako síťovací činidla díky jejich

rychlé vazebné schopnosti k proteinům, nicméně kvůli své toxické povaze je problematické jejich použití při výrobě filmů s kontaktem s potravinami [39].

### 2.8.1 Glutaraldehyd

Glutaraldehyd je nejčastěji používaným síťovacím činidlem při stabilizaci proteinů a polysacharidů. Předpokládá se, že glutaraldehyd síťuje intermolekulárními a intramolekulárními kovalentními vazbami, k čemuž může dojít dvěma způsoby: vytvořením Schiffovy báze reakcí aldehydové skupiny s aminoskupinou lysinu nebo hydroxylysinu, nebo kondenzací aldolu mezi dvěma sousedními aldehydy. Glutaraldehyd interaguje nejen s aminoskupinami, ale může reagovat také s karboxy, amino a dalšími skupinami proteinů. Mezi aldehydy, které se používají k zesíťování proteinové matrice, je glutaraldehyd výhodný, jelikož je levný, snadno dostupný a jeho reakce probíhá velmi rychle. Při použití glutaraldehydu je však obava, že by se ze zesíťovaných biomateriálů na bázi kolagenu mohly molekuly spojené s glutaraldehydem uvolňovat, což by vedlo k toxicitě produktu [40].



Obrázek 1: Síťovací reakce želatiny glutaraldehydem [41]

### 2.8.2 Aldózové cukry

Ve snaze eliminovat toxicitu spojenou s používáním aldehydů jsou používány k zesíťování například aldózové cukry. V tomto případě aldehydová skupina redukujícího cukru, například glukózy nebo fruktózy, reaguje s volnou aminoskupinou želatinové molekuly za vzniku aminoglykosidu. Ten může dále reagovat s jinou aminovou skupinou, čímž vznikne zesíťovaná struktura [40][41].



## 2.8.4 Kyselina citronová

Kyselina citronová je polykarboxylová kyselina, komerčně dostupná za nízkou cenu. Má netoxickou povahu, jelikož je produkována jako metabolický produkt těla (v Krebsově cyklu) ve všech živých buňkách, které využívají kyslík jako součást buněčného dýchání [44]. Kyselina citronová se používá jako účinné síťovací činidlo proteinů, včetně kolagenu. Obsahuje tři karboxylové funkční skupiny a může podstoupit nukleofilní acylovou substituci s aminovou skupinou lysinu v kolagenu za vzniku stabilních amidových vazeb [45].



Obrázek 4: Síťovací reakce želatiny kyselinou citronovou [46]

## 2.9 Změkčovadla

Změkčovadla jsou molekuly s nízkou těkavostí, které se přidávají do filmových materiálů pro zlepšení funkčních vlastností folií zvýšením jejich roztažitelnosti, flexibility, pružnosti a tuhosti. Bylo popsáno, že polyoly jsou zvláště účinné při změkčování hydrofilních polymerů. Z tohoto důvodu se mnoho autorů nedávno zaměřilo na používání polyolů jako je glycerol, sorbitol, mannitol a xylitol. Existují také změkčovadla z monosacharidů, například glukóza, manóza, fruktóza a sacharóza. Byly vyrobeny také filmy za použití mastných kyselin jako změkčovadel [47].

### 2.9.1 Glycerol

Glycerol patřící do skupiny polyolů je čirá, sladce chutnající, viskózní a hygroskopická kapalina. Může vznikat jako produkt zmýdelnění tuků a jako vedlejší produkt při výrobě bionafty [48]. Glycerol je jedním z nejpoužívanějších potravinářských změkčovadel pro želatinové filmy. Redukuje interakce uvnitř řetězce a tím moduluje makroskopické funkční vlastnosti filmů pro konkrétní aplikace [49].

## 2.10 Barviva

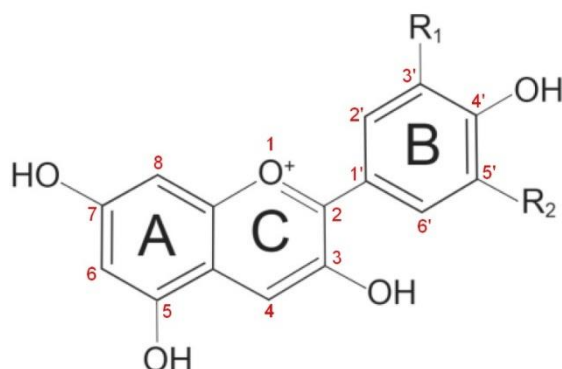
Kolorimetrické indikátory, jako jsou barviva citlivá na pH, poskytují spotřebitelům vizuální informaci o balených potravinách. Mechanismus spočívá v tom, že uvolňování těkavých aminů má za následek zvýšení pH balícího prostoru, což se projeví změnou barvy barviva citlivého na pH, které je fyzicky zachyceno v polymerním filmu. Některé syntetické indikátory pH byly použity k vývoji inteligentních obalů pro snímání čerstvosti potravin. Například indikátor založený na polyanilinovém filmu byl považován za levný indikátor,

který je schopen vyhodnotit zkaženost ryb v reálném čase. Pro detekci čerstvosti španělské makrely byl vybrán indikátor pH vyrobený bromfenolovou modří. Avšak syntetická barviva citlivá na pH nejsou ideálním materiálem pro balení potravin z důvodu možného bezpečnostního rizika. Roste tedy zájem o kolorimetrické filmy vyrobené z přírodních barviv, protože jsou netoxické, bezpečné a biologicky rozložitelné [50].

### 2.10.1 Anthokyany

Anthokyany představují největší a pravděpodobně nejdůležitější skupinu rostlinných, ve vodě rozpustných pigmentů. Řadí se k velmi rozšířeným flavonoidům, přesněji do skupiny polyfenolů, které jsou zodpovědné za modrou, fialovou a červenou barvu mnohých rostlinných tkání [51]. Anthokyany získávané z různých zdrojů mohou vykazovat rozdílnou intenzitu a stálost barev v důsledku jejich přirozených rozdílů v chemických strukturách [52]. Konzumace anthokyanů je u lidí obecně považována za bezpečnou, jelikož jsou konzumována jako součást běžné stravy po generace bez negativních účinků na zdraví [53].

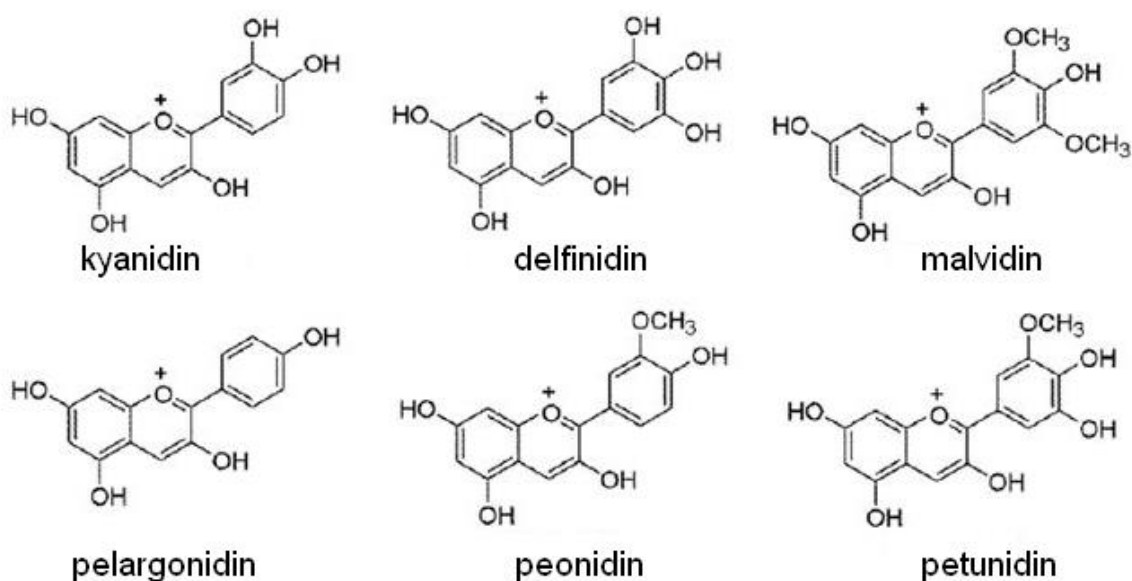
Anthokyany patří do skupiny flavonoidů, protože mají charakteristický uhlíkový skelet  $C_6C_3C_6$ . Základní strukturou jsou polyhydroxylové a polymethoxylové deriváty 2-fenylbenzopyryliového kationtu flavyliové soli (Obrázek 5). Anthokyany se liší počtem hydroxylových a methoxylových skupin, dále druhem, počtem a místem připojení cukrů k molekule a také typem a počtem alifatických nebo aromatických kyselin, které jsou v molekule vázány na cukry. Díky této strukturní rozmanitosti bylo ve světě rostlin identifikováno více než 700 různých anthokyanů [54].



**Obrázek 5: 2-fenylbenzopyryliový kation flavyliové soli [55]**

Na jádro může být vázáno několik glykosidických skupin jako je glukóza, galaktóza, xylóza, arabinóza, fruktóza a ramnóza [51]. Na chemické vlastnosti barviv má význam hlavně poloha, ve které je cukr vázán, druh cukru je méně významný [34]. Cukerné zbytky anthokyanů jsou obvykle připojeny na flavanovém jádře v poloze 3, vzácněji pak v poloze 5. Glukóza se často vyskytuje dodatečně v poloze 5 a vzácněji i v polohách 7, 3' nebo 4' [56].

Anthokyan bez cukerných substitucí je znám jako anthokyanidin (aglykonová část), přičemž existuje 27 různých přirozeně se vyskytujících anthokyanidinů [53]. Anthokyanidiny běžně se vyskytující v rostlinách jsou pelargonidin (Pg), peonidin (Pn), kyanidin (Cy), malvidin (Mv), petunidin (Pt) a delphinidin (Dp). Struktury těchto anthokyanidinů jsou viditelné na obrázku (Obrázek 6). Obsah těchto šesti nejběžnějších anthokyanidinů v jedlých částech rostlin se velmi liší, přičemž kyanidin tvoří asi 50 % [51].



Obrázek 6: Chemické struktury nejznámějších anthokyanidinů [57]

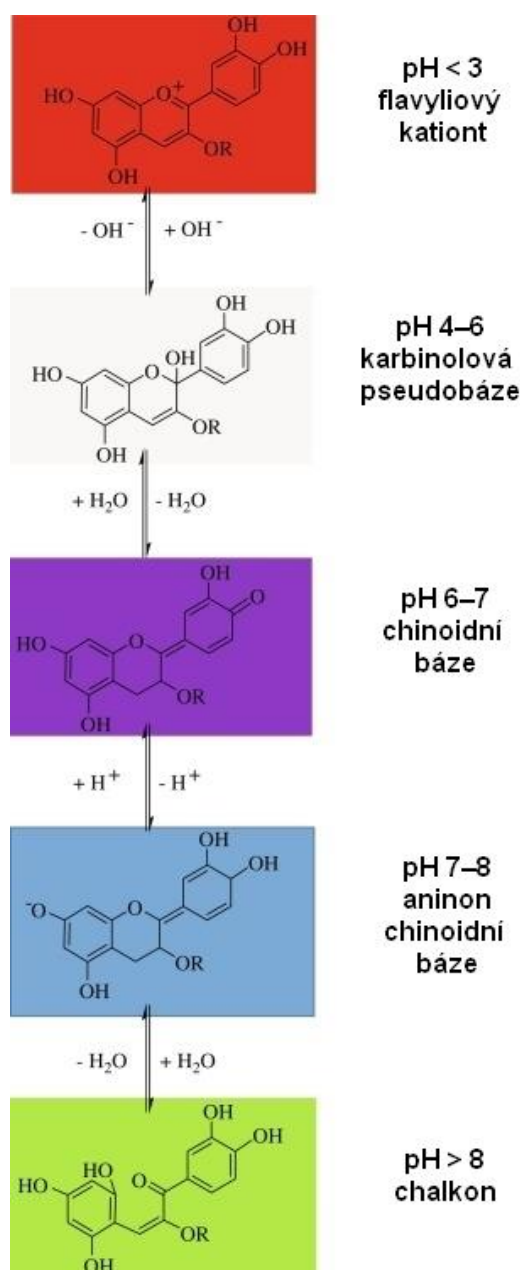
Tabulka 1: Přehled struktury anthokyanidinů [34]

Název a zkratka		Substituent v poloze					
		C-3	C-5	C-6	C-7	C-3'	C-5'
apigeninidin	Ap	H	OH	H	OH	H	H
luteolinidin	Lt	H	OH	H	OH	OH	H
tricitinidin	Tr	H	OH	H	OH	OH	OH
pelagornidin	Pg	OH	OH	H	OH	H	H
aurantinidin	Au	OH	OH	OH	OH	H	H
kyanidin	Cy	OH	OH	H	OH	OH	H
peonidin	Pn	OH	OH	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H
rosinidin	Rs	OH	OH	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
delphinidin	Dp	OH	OH	H	OH	OH	OH
petunidin	Pt	OH	OH	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OH
pulchellidin	Pl	OH	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OH	H
europinidin	Eu	OH	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OH
malvidin	Mv	OH	OH	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
hirsutidin	Hs	OH	OH	H	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>
kapensinidin	Cp	OH	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

Barevná změna anthokyanů je zapříčiněna změnou pH, které ovlivňuje stabilitu chemických forem. Ve vodných roztocích se anthokyany vyskytují v pěti hlavních strukturách rovnováhy – jako červený flavyliový kationt, bezbarvá karbinolová pseudobáze, purpurově červená neutrální chinoidní báze, modrá chinoidní báze a žlutý chalkon. Při pH 1 se anthokyany vyskytují výhradně jako červené flavyliové soli. Při zvyšování pH červené zbarvení slábne a v rozmezí pH 4–4,5 dochází k úplnému odbarvení a převládá bezbarvá karbinolová pseudobáze. Při dalším zvyšování pH vzniká neutrální chinoidní báze, která je

doprovázena purpurově červeným zbarvením. Při hodnotách pH 7,5–8 je rovnováha posunuta ve prospěch modře zbarveného anionu chinoidní báze, avšak po dalším růstu pH se modré zbarvení vytrácí a postupně vzniká žlutě zbarvený chalkon [34][58]. Barevné změny jsou prezentovány na obrázku (Obrázek 7).

Červené zelí obsahuje anthokyanové pigmenty. V kyselých půdách listy rostou načervenalé, v neutrálních půdách fialovější a v alkalické jsou listy zelenkavě žluté [59]. Červené zelí může obsahovat 9–24 různých anthokyanů, přičemž obsahuje významné množství anthokyanů, jejichž hlavní strukturou jsou většinou kyanidinové glykosidy. Byly identifikovány také anthokyaniny s jinými jádrovými jednotkami, jako například pelargonidin-glukosid a peonidin-glukosid [60].

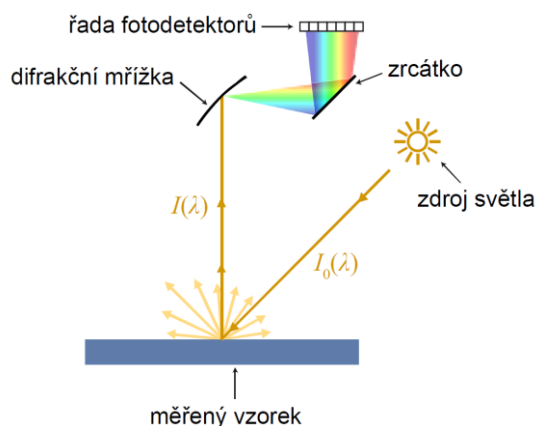


Obrázek 7: Barevné změny anthokyanů podle pH [61]

## 2.11 Měření barevnosti vrstev

Každý světelný zdroj vyzařuje ve viditelné oblasti na každé vlnové délce v různé intenzitě, a tedy světlo různých zdrojů má jinou barevnost. Toto světlo dopadá na objekty a v závislosti na vlastnostech materiálu se v něm toto světlo různě pohlcuje, respektive odráží. Světlo odražené od objektu následně dopadá na fotoreceptory lidského oka. V závislosti na spektrálním složení záření dopadajícího na tyto fotoreceptory je pak signál po excitaci fotoreceptorů dále zpracován v dalších buňkách sítnice. Lidský mozek po vyhodnocení signálu interpretuje **vjem barvy**. Ale vjem nemůžeme exaktně měřit. Abychom mohli či už subjektivně nebo objektivně vyhodnocovat barevnost objektů, je za potřebí k tomu definovat tři elementy, a to je zdroj světla, pozorovaný objekt a pozorovatel.

Dopadající světlo charakterizujeme intenzitou světla na každé vlnové délce  $I_0(\lambda)$ . Světlo odražené od objektu pak bude mít intenzitu  $I(\lambda)$ . Potom poměr intenzity světla odraženého od objektu k intenzitě světla dopadajícího na objekt vyjadřuje reflektance  $R(\lambda)$ . Úplnou charakterizaci dopadajícího světla poskytne emisní spektrum zdroje světla, zatímco úplnou charakterizaci odrazivosti předmětu, na který světlo dopadá, poskytne jeho odrazové spektrum. Toto spektrum měříme spektrofotometrem, jehož schéma pro měření odrazivých povrchů je na obrázku (Obrázek 8).



Obrázek 8: Schéma odrazového spektrofotometru [62]

Třetí, už uvedenou složkou, je pozorovatel. Tady je situace nejsložitější. Vjem barvy vzniká až analýzou jistých podnětů v našem mozku. Těmi podněty jsou signály z fotoreceptorů, které jsou stimulovány dopadajícím světlem. V oku jsou fotoreceptory nazývané tyčinky a jsou odpovědné za vnímání jasu při nízkých intenzitách osvětlení a v podstatě vidí černobíle. Dále tam jsou tři druhy čípků  $\rho$ ,  $\gamma$ ,  $\beta$ ; citlivé na červenou, zelenou a modrou oblast viditelného záření. Fotoreceptory jsou na naší sítnici rozloženy tak, že největší koncentrace čípků je v centrální části sítnice nazývané fovea.

Komise CIE definovala dva standardizované pozorovatele: dvoustupňového ( $2^\circ$ ) a desetistupňového ( $10^\circ$ ), každého pomocí tří funkcí, které jsou nazývány trichromatické členitelé  $\bar{x}$ ,  $\bar{y}$ ,  $\bar{z}$ . Tyto funkce vyjadřují citlivost pozorovatele a byly získány experimentálně. Dvoustupňový pozorovatel byl získán tak, že pozorovatelé měli pomoci tří světél (červené, zelené a modré) namíchat takovou barvu, která by byla ve shodě s barvou monochromatického světla o určité vlnové délce. Experiment byl proveden tak, že obraz dopadal jen na centrální

část sítnice a uplatňovaly se proto při experimentu jenom čípky. Desetistupňový pozorovatel byl obdobný experiment, ale obraz dopadal na sítnici pozorovatelů i na oblast, kde už se vyskytovaly i tyčinky. Hodnoty těchto trichromatických členitelů jsou hodnoty tabelované a je potřebné určit, které se pro výpočet kolorimetrických parametrů využijí [62].

Ve smyslu barevného vjemu je možné jednoznačně definovat barvu pomocí tří čísel – trichromatických složek  $X$ ,  $Y$  a  $Z$ , vypočítaných ze spektrální reflektance barevného vzorku  $R(\lambda)$ , spektrální distribuce osvětlení  $\Phi^0(\lambda)$  a funkcí trichromatických členitelů  $\bar{x}$ ,  $\bar{y}$ ,  $\bar{z}$  podle vztahů (2), (3), (4) a (5) [63]

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

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

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

$$K = \frac{100}{\phi^0(\lambda) \cdot \bar{y}(\lambda)} \quad (5)$$

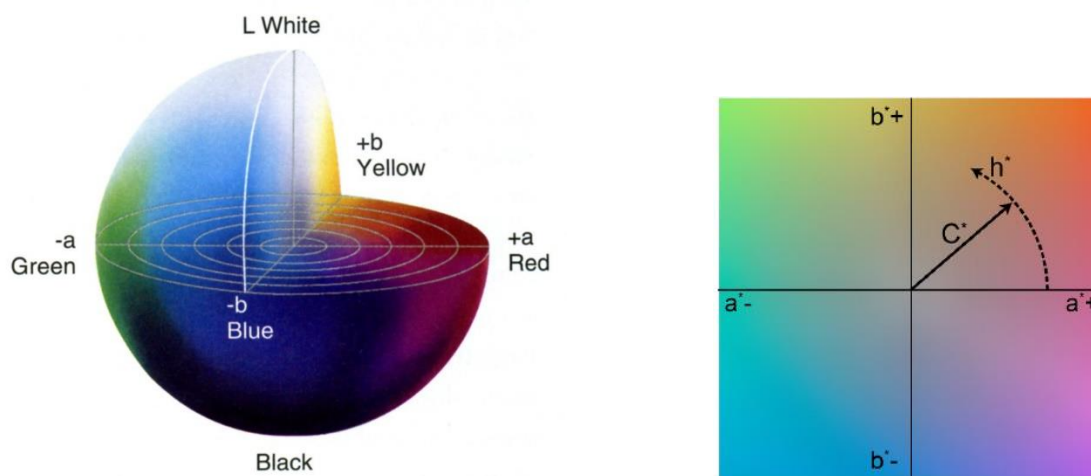
CIE v roce 1976 definovala barvový prostor  $CIE L^*a^*b^*$ . Hodnoty souřadnic  $L^*$ ,  $a^*$  a  $b^*$  udávají polohu barvy v třírozměrném barvovém prostoru a získají se přepočtem z trichromatických složek podle rovnic:

$$L^* = 116 \cdot (Y/Y_n)^{1/3} - 16 \quad (6)$$

$$a^* = 500 \cdot [(X/X_n)^{1/3} - (Y/Y_n)^{1/3}] \quad (7)$$

$$b^* = 200 \cdot [(Y/Y_n)^{1/3} - (Z/Z_n)^{1/3}] \quad (8)$$

kde  $X_n$ ,  $Y_n$ ,  $Z_n$  jsou trichromatické složky použitého světla [63].



**Obrázek 9: Barvový prostor  $CIE L^*a^*b^*$  (vlevo) a řez tímto prostorem pro jedno  $L^*$ , s vyznačením měrného úhlu barevného tónu a měrné čistoty barevného tónu [62]**

Prostor  $CIE L^*a^*b^*$  je pravoúhlý, s nepestrými barvami (bílá, černá a stupně šedé) na vertikální ose, kterou reprezentuje měrná světlost  $L^*$ . Chromatické osy  $a^*$  a  $b^*$  leží ve směru zelená – červená ( $a^*$ ) a ve směru modrá – žlutá ( $b^*$ ). Tyto osy vytváří chromatickou rovinu  $a^*b^*$ . Při hodnocení barev, jejich vztahů, rozdílů a shody má zásadní význam číselné vyjádření rozdílů barev. Rozdíl dvou barev v barvovém prostoru  $CIE L^*a^*b^*$  se nazývá rozdílem barev (barvou odchylnou)  $CIE 1976$  a značí se  $\Delta E^*_{ab}$ .

$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (9)$$

Veličina rozdíl barev  $CIE 1976 \Delta E^*_{ab}$  definuje celkovou barevnou rozdílnost dvou barev, zohledňuje rozdíl světlosti i rozdíl v chromatické rovině, proto je veličina vhodná k posuzování rozdílů a odchylek barev. Další variantou prostoru  $CIE L^*a^*b^*$ , která plně splňuje charakteristiky vnímání barvy lidským okem, je barvový prostor  $CIE L^*C^*h^*$ . Tento barvový prostor je pouze obměnou  $CIE L^*a^*b^*$  prostoru v polárních souřadnicích. Souřadnice  $h^*$  se označuje jako měrný úhel barevného tónu a barevný tón je vyjádřený úhlem svírajícím spojnicí bodu s achromatickým bodem a osou  $a^*$ . Souřadnice  $C^*$  je měrnou čistotou barevného tónu a vyjadřuje vzdálenost od achromatického bodu k bodu barvy. Čím je  $C^*$  větší, tím je barva pestřejší [64].

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

$$h^* = \arctan(b^*/a^*) \quad (11)$$

## 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 3.1 Použité chemikálie

- Želatina 180 Bloom, Carl Roth GmbH + Co. KG
- Glycerin bezvodý p.a., PENTA
- Červené zelí
- Hydroxid sodný, pecky, čistý, PENTA
- Kyselina citronová monohydrát, Lach-Ner, s.r.o.
- Glycin p.a., SERVA
- Chlorid draselný p.a., CHEMAPOL
- Fosforečnan sodný dihydrát, LACHEMA
- Kyselina chlorovodíková 35% p.a., PENTA
- Ethanol 96%, PENTA
- Glutaraldehyd 25% vodný roztok, PENTA
- Kyselina taninová, Sigma-Aldrich s.r.o.
- Dusičnan vápenatý p.a., LACHEMA

### 3.2 Přístroje

- Analytické digitální váhy Sartorius Entris 224I – 1S
- Ultrazvuk – Ultrasonic compact cleaner PS 02000A
- Magnetická míchačka
- Automatický aplikátor filmu TQC
- Bakerovo natahovací pravítko
- Sušárna Venticell, MBT Medical Technology s.r.o.
- Spektrofotometr Eye-One Pro
- Spektrofotometr Helios  $\alpha$
- Lyofilizátor LABCONCO
- Odstředivka Hettich EBA 30

### 3.3 Použitý software

Key Wizard, Gretag Macbeth  
Microsoft Excel  
Microsoft Word  
Vision V3.50

### 3.4 Izolace anthokyanů

Byl připraven extrakt anthokyanů z červeného zelí, které bylo zakoupeno v obchodním řetězci. Jako rozpouštědlo byl použit 96% ethanol. Hlávka čerstvého červeného zelí byla nakrájena a nastrouhána. Následně bylo odváženo 500 g nastrouhaného zelí, ke kterému bylo přidáno 500 ml ethanolu. Celá směs byla asi 1 hodinu míchána. Poté byly pevné částice ze směsi přefiltrovány přes sítko a získaný roztok byl znovu filtrován přes filtrační papír Smith 150 mm. Přefiltrovaný roztok byl následně odstředěn při 5500 ot/min po dobu 4 minut. Odstředěný supernatant byl opatrně slit a rozpouštědlo bylo odpařeno na vakuové odparce. Zahuštěný extrakt byl předán k lyofilizaci. Extrakt po lyofilizaci byl následně naředěn ve vialce destilovanou vodou v poměru 1:1 a roztok byl odstředěn při 5500 ot/min po dobu 4 minut. Takto připravený roztok byl používán pro přípravu filmů.

### 3.5 Příprava pufrů

Pro přípravu pufrů byly nejdříve připraveny zásobní roztoky 0,2M kyseliny chlorovodíkové, 0,2M chloridu draselného, 0,2M fosforečnanu sodného, 0,1M kyseliny citronové, 0,1M glycinu a 0,1M hydroxidu sodného tak, že na analytických vahách bylo pomocí plastové váženky naváženo potřebné množství daných chemikálií, které je zobrazeno v tabulce (Tabulka 2). Při přípravě zásobního roztoku kyseliny chlorovodíkové bylo potřebné množství 35% kyseliny chlorovodíkové nabráno pipetou. Navážené chemikálie byly následně kvantitativně převedeny do odměrných baněk, které byly poté doplněny destilovanou vodou po rysku.

**Tabulka 2: Potřebné množství (g) pro přípravu 100 ml zásobních roztoků**

Kyselina chlorovodíková	Chlorid draselný	Fosforečnan sodný dihydrát	Kyselina citronová	Glycin	Hydroxid sodný
2,0827	1,4920	3,5600	2,1008	0,7510	0,3999

Při přípravě pufrů pH 3–12 byly postupně v odměrných baňkách smíchány zásobní roztoky podle údajů v tabulce (Tabulka 3). Při přípravě pufrů pH 1 a pH 2 byly navíc odměrné baňky následně doplněny destilovanou vodou po rysku.

**Tabulka 3: Potřebné objemy (ml) zásobních roztoků pro přípravu 100 ml pufrů**

pH	Kyselina chlorovodíková (0,2 M)	Chlorid draselný (0,2 M)	Fosforečnan sodný (0,2 M)	Kyselina citronová (0,1 M)	Glycin (0,1 M)	Hydroxid sodný (0,1 M)
1,0	48,50	25,00	-	-	-	-
2,0	5,30	25,00	-	-	-	-
3,0	-	-	20,55	79,45	-	-
4,0	-	-	38,55	61,45	-	-
4,6	-	-	46,75	53,25	-	-
5,0	-	-	51,50	48,50	-	-
6,0	-	-	63,15	36,85	-	-
7,0	-	-	82,35	17,65	-	-
8,0	-	-	97,25	2,75	-	-
9,0	-	-	-	-	89,00	11,00
10,0	-	-	-	-	62,50	37,50
11,0	-	-	-	-	51,20	48,80
12,0	-	-	-	-	46,00	54,00

### 3.6 Měření absorpčních spekter

Pro měření absorpčních spekter bylo v kyvetě smícháno vždy 3 ml daného pufru a 100  $\mu$ l připraveného roztoku extraktu anthokyanů. Roztok byl připraven rozpuštěním extraktu po lyofilizaci v destilované vodě v poměru 1:10 a následném odstředění při 5500 ot/min po dobu 4 minut. Spektra byla měřena v oblasti 300–800 nm proti destilované vodě.

### 3.7 Stanovení celkové koncentrace anthokyanů

Celková koncentrace anthokyanů v jednotlivých extraktech byla zjištěna metodou pH difference. Extrakt anthokyanů byl připraven rozpuštěním extraktu po lyofilizaci v destilované vodě v poměru 1:10 a následném odstředění při 5500 ot/min po dobu 4 minut. 100  $\mu$ l připraveného extraktu bylo smícháno s 3 ml pufru pH 1 a další s 3 ml pufru pH 4,6. U těchto roztoků bylo následně změřeno absorpční spektrum v oblasti 300–800 nm. Z absorbance obou roztoků při 530 a 700 nm byla vypočítána celková koncentrace anthokyanů podle rovnice (12) a rovnice (13) [65].

$$\text{koncentrace anthokyanů (mg/l)} = \frac{\Delta A \cdot M_r \cdot F \cdot 1000}{\varepsilon \cdot L} \quad (12)$$

$$\Delta A = (A_{530} - A_{700})_{\text{pH } 1} - (A_{530} - A_{700})_{\text{pH } 4,6} \quad (13)$$

$\Delta A$  – změna absorbance při 530 a 700 nm v pufrch pH 1 a pH 4,6

$M_r$  – molární hmotnost kyanidu-3-glukosidu (449,2 g/mol)

$F$  – faktor zředění

$\varepsilon$  – molární absorpční koeficient kyanidu-3-glukosidu (26900  $\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )

$L$  – optická dráha (cm)

1000 – faktor pro převedení gramů na miligramy

### 3.8 Příprava filmů

Byly připraveny tenké filmy, které se skládaly z želatiny, glycerolu, extraktu získaného z čerstvého červeného zelí a síťovacího činidla. Jako síťovací činidlo byl použit glutaraldehyd a kyselina taninová.

Pro přípravu základního 10% roztoku želatiny bylo naváženo 10 g želatiny. Kádinka s cca 80 ml destilované vody byla zahřata asi na 80 °C a za neustálého míchání k ní byla pomalu přidávána navážená želatina. Po rozpuštění veškeré želatiny bylo do roztoku přidáno 2,5 g glycerolu a celá směs byla doplněna do hmotnosti 100 g destilovanou vodou.

Příprava filmů probíhala v malé kádince na magnetické míchačce za mírného zahřívání a stálého míchání. Po přidání všech komponent byl roztok míchán další 1 minutu a poté byl pomocí Pasteurovy pipety nadávkován na PET folii, která byla předem zvážena. Pomocí Bakerova pravítka na TQC aplikátoru byla nanесena vrstva o tloušťce 120 μm. Po nanесení byly filmy ponechány k oschnutí při laboratorní teplotě a poté sušeny po dobu 5 minut v sušárně při teplotě 100 °C.



Obrázek 10: Aplikátor filmů TQC a Bakerovo pravítko

#### 3.8.1 Příprava filmu s glutaraldehydem bez úpravy pH

Při přípravě filmů s glutaraldehydem bylo naváženo 3,46 g připraveného roztoku želatiny, který se nejdříve nechal zahřát, aby se želatina rozpustila. K roztoku želatiny bylo přidáno 0,1538 g suché želatiny, aby celková koncentrace želatiny v roztoku činila 10 %. Poté bylo přidáno 1,38 ml připraveného extraktu anthokyanů a 65 μl 5% roztoku glutaraldehydu. Filmy byly označeny jako GTA.

#### 3.8.2 Příprava filmu s glutaraldehydem a úpravou na pH 8

Postup přípravy byl stejný jako v předchozím případě, avšak před přidáním 5% roztoku glutaraldehydu bylo pH roztoku upraveno na přibližnou hodnotu 8 přidáním 11 kapek 3% roztoku NaOH. Hodnota pH roztoku byla odhadnuta na základě zbarvení roztoku díky přítomnosti anthokyanů. Filmy byly označeny jako GTA 8.

### 3.8.3 Příprava filmu s kyselinou taninovou při pH 7,5

Při přípravě filmů s kyselinou taninovou bylo naváženo 1 g připraveného roztoku želatiny, který se nejdříve nechal zahřát, aby se želatina rozpustila. K roztoku želatiny bylo přidáno 0,2 g suché želatiny, aby celková koncentrace želatiny v roztoku byla 10 %. Do vialky bylo naváženo 0,045 g kyseliny taninové, která byla následně rozpuštěna přidávkem 1 g roztoku NaOH o pH 7,5. Roztok rozpuštěné kyseliny taninové byl mikropipetou pomalu za stálého míchání přidán k roztoku želatiny. Nakonec bylo přidáno 0,81 ml připraveného extraktu anthokyanů. filmy byly označeny jako TAN 7,5.

### 3.8.4 Příprava filmu s kyselinou taninovou při pH 8,0

Postup přípravy byl obdobný jako při přípravě filmu s kyselinou taninovou při pH 7,5 s tím rozdílem, že kyselina taninová byla rozpuštěna v 1 g roztoku NaOH o pH 8. filmy byly označeny jako TAN 8.

## 3.9 Stanovení rozpustnosti filmů

Pro zjištění rozpustnosti připravených filmů byly PET folie před nanesením nejdříve zváženy, čímž se získala hmotnost  $m_1$ . Po nanesení vrstvy a vysušení v sušárně byly folie vloženy na 15 minut do exsikátoru. Na dně exsikátoru byla 0,5 cm vrstva nasyceného roztoku dusičnanu vápenatého, která poskytla v uzavřeném exsikátoru relativní vlhkost 50 %. Následně byly folie opět zváženy a získala se hmotnost  $m_2$ . U nanesené vrstvy byla na 5 různých místech, které byly předem označeny lihovou propiskou, v rozmezí 380–730 nm změřena odrazová spektra spektrofotometrem X-rite II na standardní bílé podložce. Folie s nanesenou vrstvou byly ponořeny na 1 minutu do misky s vodou, poté osušeny fénem a vloženy do sušárny po dobu 5 minut při teplotě 100 °C. Po vysušení v sušárně byly folie vloženy na 15 minut do exsikátoru a poté zváženy, čímž se získala hmotnost  $m_3$ . Rozpustnost byla vypočítána dle rovnice (14). Na označených místech byla opět změřena odrazová spektra. Celé měření bylo provedeno ve dvou paralelních stanoveních.

$$\text{rozpustnost (\%)} = \left(1 - \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1}\right) \cdot 100 \quad (14)$$

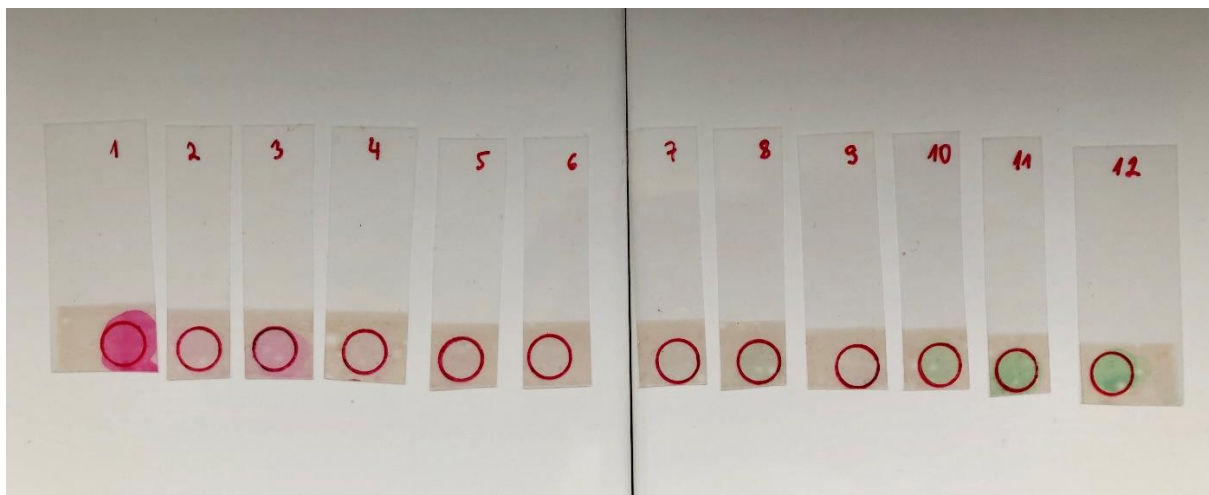
## 3.10 Měření stability filmů v čase

Na připravených filmech bylo označeno lihovou fixou 5 míst, na kterých byla měřena odrazová spektra v rozmezí 380–730 nm. Měření bylo provedeno v den nanesení vrstvy a následně každý den po dobu dalších tří dnů.

## 3.11 Měření reakce filmů na pH

Připravené filmy byly nastříhány na 12 menších pásků, které byly očíslovány a lihovou fixou byly označeny kroužky, kde byla následně v rozmezí 380–730 nm změřena odrazová spektra. Na dané místo byl poté nakapán roztok pufru daného pH, který byl u filmů s glutaraldehydem ponechán působit 1 minutu a u filmů s kyselinou taninovou 30 sekund. Po uplynutí dané doby působení byl roztok pufru setřesen a vrstva byla osušena stlačeným vzduchem. Po usušení

byla opět změřena odrazová spektra a současně souřadnice  $L^*$ ,  $a^*$  a  $b^*$ . Stejné měření bylo provedeno znovu druhý den po nanesení vrstvy.

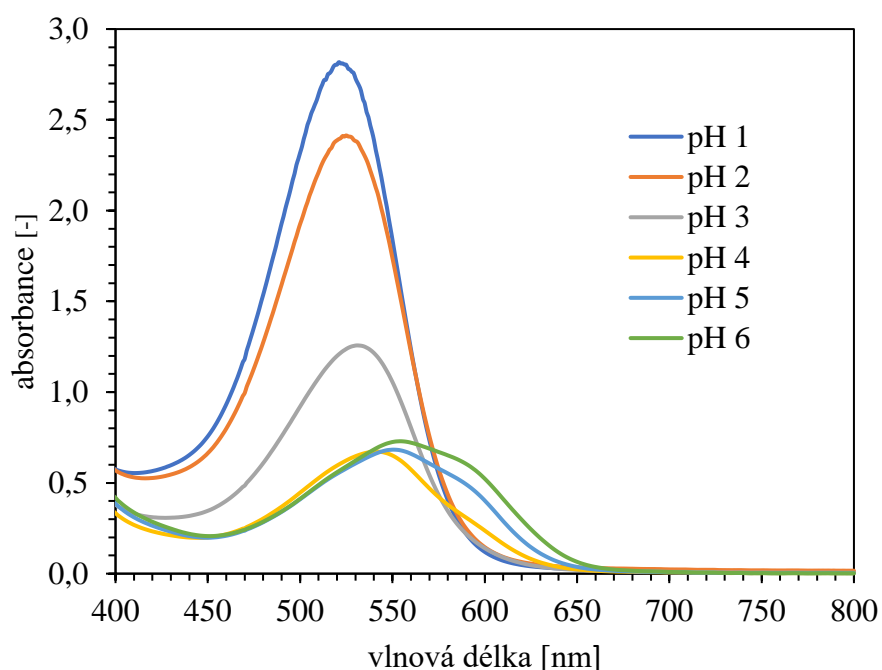


**Obrázek 11: Reakce filmu GTA 8 na různé pH**

## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 4.1 Absorpční spektra anthokyanového extraktu

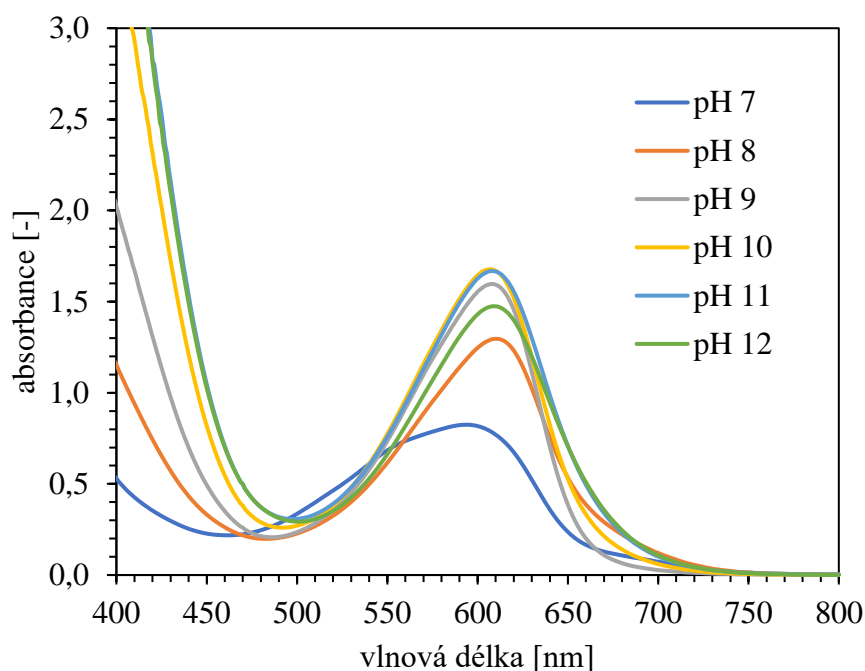
Při měření se postupovalo podle postupu popsáném v kap. 3.6. Protože byla spektra naměřena v celé škále pH hodnot, jsou uvedena ve dvou grafech (Obrázek 12 a Obrázek 14). Mezi hodnotami pH 4 a 6 absorbance prudce klesá a roztoky se projevují maximem absorbance při vlnové délce přibližně 550 nm a světle purpurovou barvou. Při zvýšení pH se maximum absorpce posouvá za 600 nm, což odpovídá převládající modré barvě, a nakonec při pH >10 narůstá absorbance v modré oblasti spektra, odpovídající přítomnosti žluté formy chalkonu (Obrázek 7). Změnu barvy roztoků izolovaných anthokyanů z červeného zelí lze pozorovat na obrázku (Obrázek 13).



Obrázek 12: Absorpční spektra anthokyanového extraktu v kyselé oblasti pH



Obrázek 13: Měřené roztoky anthokyanů od pH 1 po pH 12



**Obrázek 14: Absorpční spektra anthokyanového extraktu v zásadité oblasti pH**

## 4.2 Celková koncentrace anthokyanů

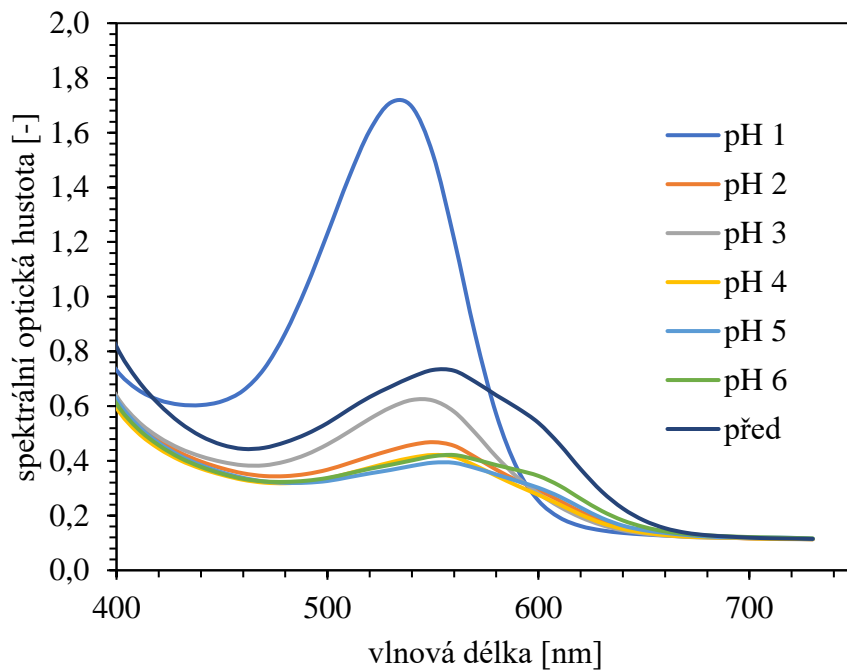
Stanovení bylo provedeno podle postupu popsáném v kap. 3.7, přičemž celková koncentrace anthokyanů v ethanolovém extraktu byla vypočítána na 11 667 mg/l.

## 4.3 Měření reakce filmů na pH

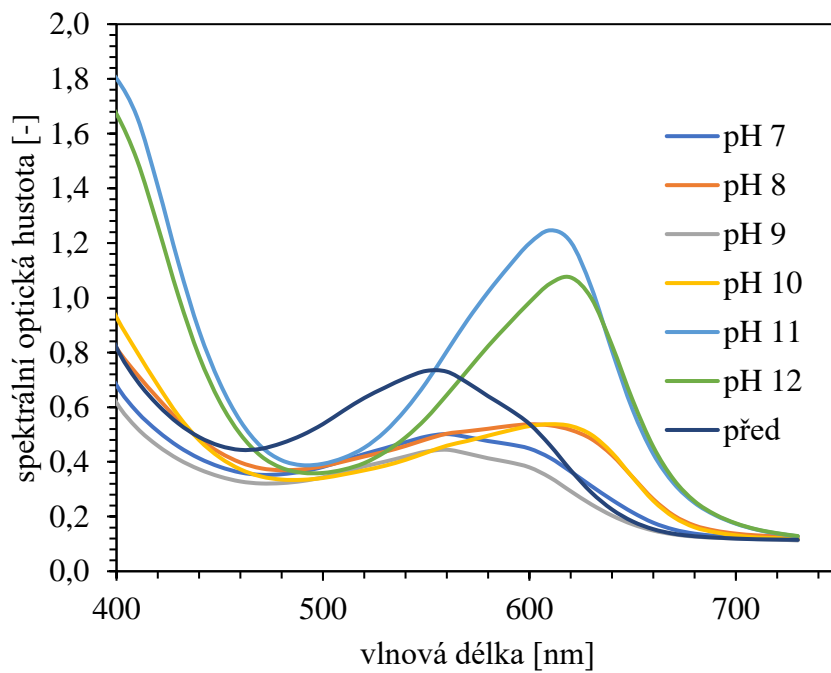
Reakce připravených filmů na pH byla měřena dle kap. 3.11. Odrazová spektra byla naměřena v celé škále pH, a proto jsou uvedena vždy ve dvou grafech (Obrázek 15 a Obrázek 16, Obrázek 17 a Obrázek 18, Obrázek 19 a Obrázek 20).

Všechny barevné změny byly v souladu s údaji v literatuře, viz Obrázek 7. Při pH 1 byla u filmu GTA, TAN 7,5 a TAN 8 pozorována významná barevná změna odpovídající vzniku struktury červeného flavyliového kationtu, u filmu GTA 8 byla tato barva méně výrazná. Při zvyšování pH červené zbarvení sláblo kvůli vzniku bezbarvé karbinolové pseudobáze a v rozmezí pH 2–7 měly filmy GTA a GTA 8 světle purpurové zbarvení. Naopak u filmů TAN 7,5 a TAN 8 při tomto rozmezí pH více dominovala neutrální chinoidní báze, jelikož se filmy zbarvily purpurově. Významná barevná změna nastala u všech filmů při pH 8, kdy byla rovnováha posunuta ve prospěch modře zbarveného anionu chinoidní báze. U filmu GTA se v rozmezí pH 8–12 objevil přechod z modré do tyrkysové a u GTA 8 z purpurové do zelené, což souvisí se vznikem žlutě zbarveného chalkonu. Filmy TAN 7,5 a TAN 8 zůstaly v tomto rozmezí pouze modré.

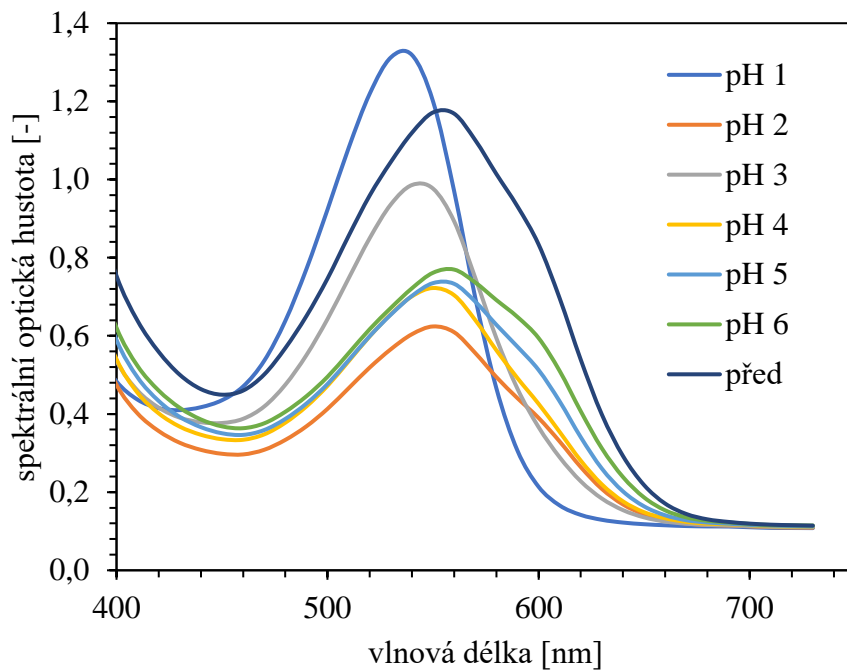
Bylo zjištěno, že všechny připravené filmy jsou schopné reagovat na změnu pH. Obzvláště významná je pak změna v alkalické oblasti (pH 8–12), která by mohla být nápomocná při výrobě indikátoru čerstvosti.



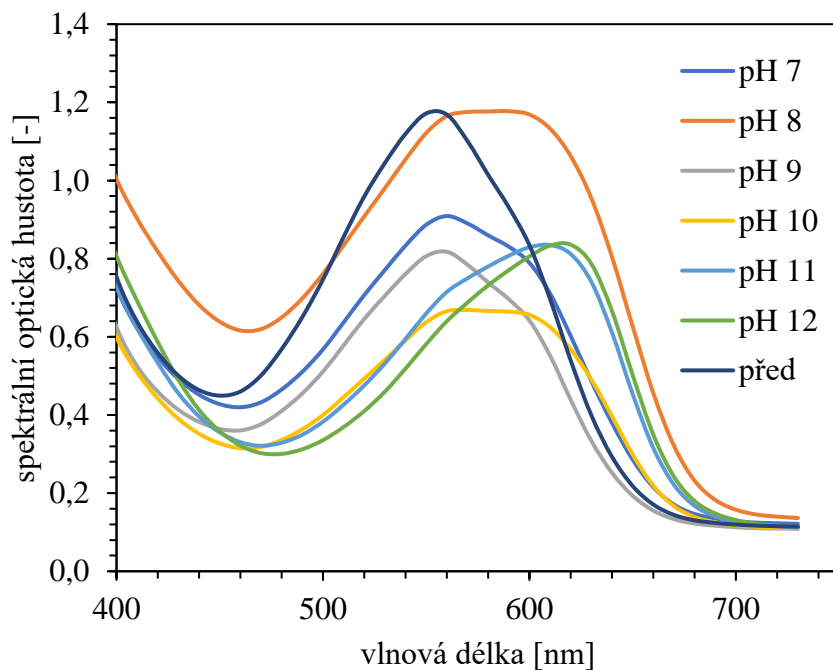
Obrázek 15: Reakce filmu GTA na pH v kyselé oblasti



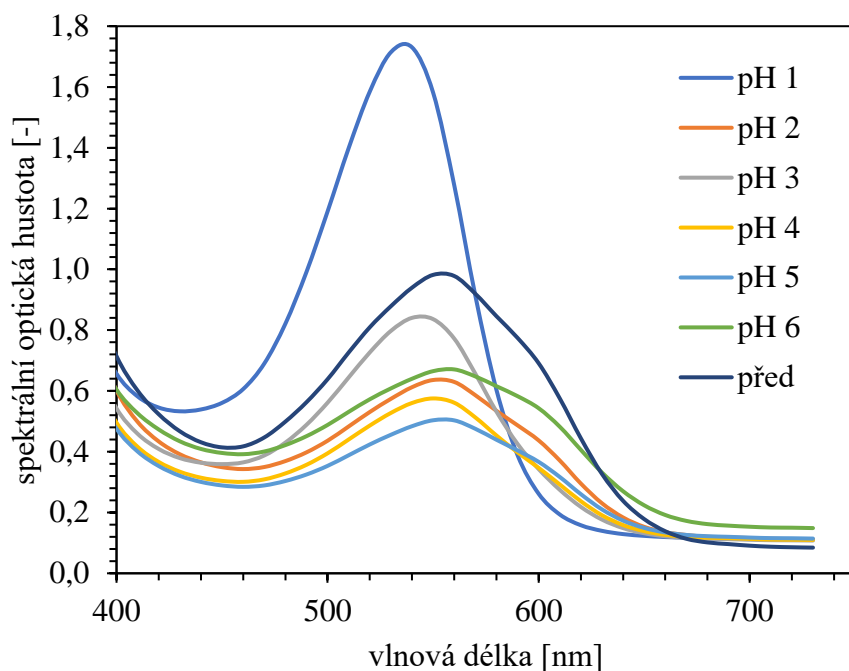
Obrázek 16: Reakce filmu GTA na pH v zásadité oblasti



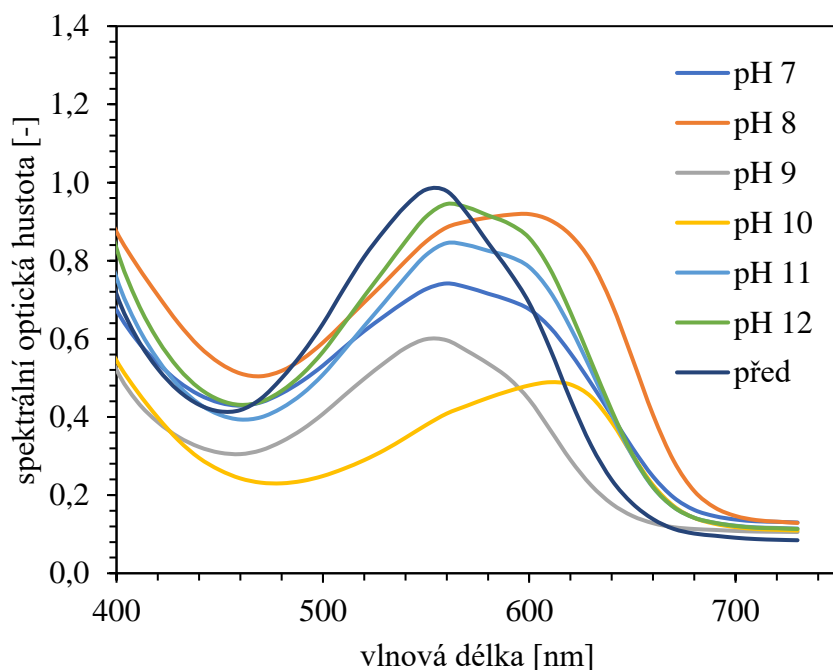
Obrázek 17: Reakce filmu TAN 7,5 na pH v kyselé oblasti



Obrázek 18: Reakce filmu TAN 7,5 na pH v zásadité oblasti

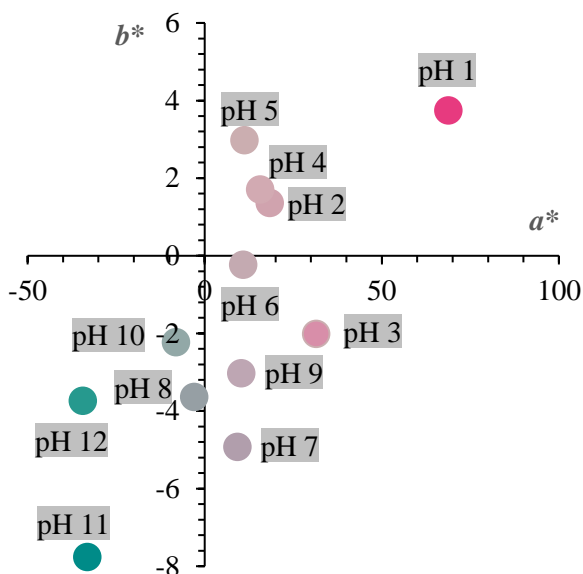


**Obrázek 19: Reakce filmu TAN 8 na pH v kyselé oblasti**

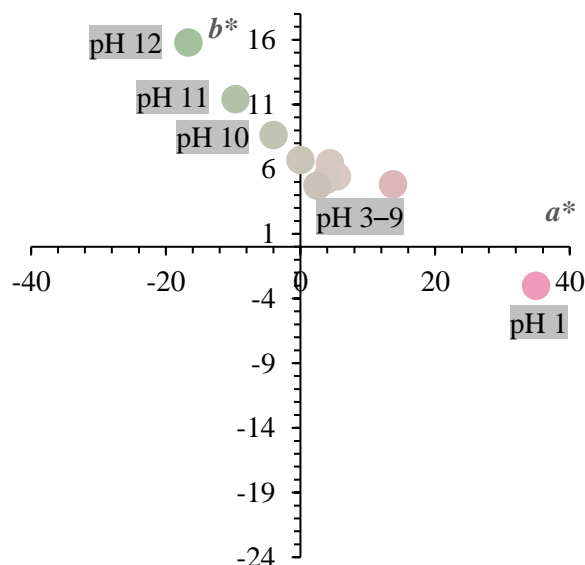


**Obrázek 20: Reakce filmu TAN 8 na pH v zásadité oblasti**

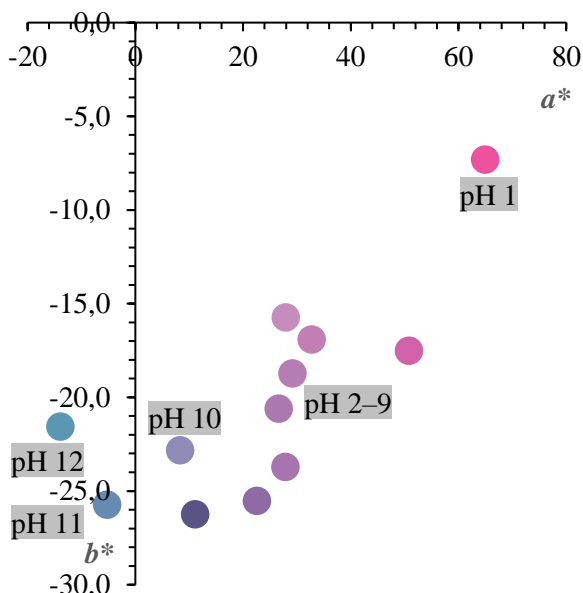
Na následujících obrázcích (Obrázek 21, Obrázek 22, Obrázek 23 a Obrázek 24) jsou uvedeny řezy rovinou  $a^*b^*$  barvového prostoru CIE  $L^*a^*b^*$ . Barvy bodů odpovídají zabarvení indikátoru při příslušném pH. Pro účely zobrazení byly hodnoty  $L^*a^*b^*$  přepočítané na RGB. Pro úplnou barevnou charakterizaci barevných přechodů indikátoru jsou kompletní  $L^*a^*b^*$  data uvedeny v tabulkách (Tabulka 4 a Tabulka 5) a to včetně vypočítaných hodnot  $C^*$  a  $h^*$ .



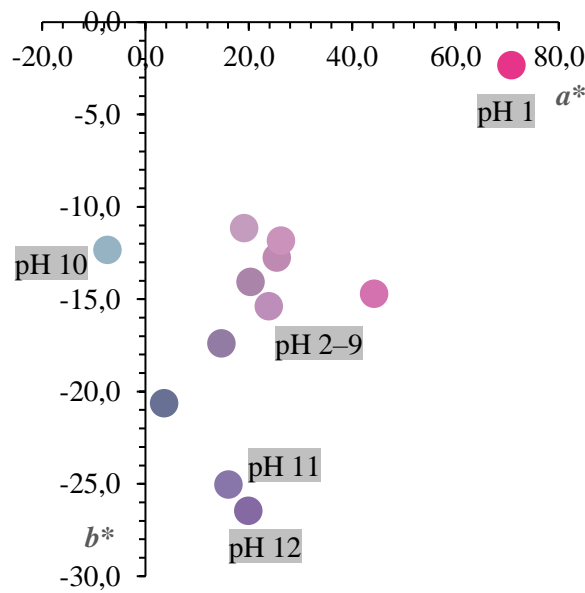
Obrázek 21: Reakce filmu GTA na pH



Obrázek 22: Reakce filmu GTA 8 na pH



Obrázek 23: Reakce filmu TAN 7,5 na pH



Obrázek 24: Reakce filmu TAN 8 na pH

Analýza hodnot měrné čistoty barevného tónu (chroma) a příslušných úhlů barevného tónu (odstín) ukazuje na výrazné změny barvy, způsobené změnou struktury anthokyanů již v procesu přípravy vrstev a také při reakci na pH pufrů. Z tabulek (Tabulka 4 a Tabulka 5) je vidět, že nejvyšších hodnot chromy se dosahuje při pH 1, 11 a 12. Čím vyšší je hodnota chromy, tím vyšší je brilance, sytost barvy. Tento efekt se neprojevuje stejně u všech filmů. Film GTA připravený při pH 8 vykazuje podstatně nižší hodnoty chromy. Rovněž měrný úhel barevného tónu (odstín) se velmi liší v závislosti na pH roztoku při přípravě ovrstvovací kompozice. Ještě větší rozdíly v hodnotách chromy a odstínu byly nalezeny u filmu s kyselinou taninovou (TAN). Překvapující jsou vysoké hodnoty chromy filmu připraveného při pH 8 (TAN 8) a také zcela odlišné odstíny, zejména při vysokých pH pufrů. To se však změnilo po 24 hodinách od přípravy vrstvy, viz tabulky (Tabulka 7 a Tabulka 8).

**Tabulka 4: Kompletní  $L^*a^*b^*$  data pro GTA a GTA 8**

pH	GTA					GTA 8				
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^*$	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^*$
1	54,1	68,9	3,7	69,0	3,1	73,1	35,0	-3,0	35,1	355,1
2	71,5	18,4	1,4	18,5	4,4	81,6	4,4	6,5	7,8	55,9
3	67,3	31,5	-2,0	31,5	356,4	77,8	13,8	4,8	14,6	19,2
4	73,5	15,7	1,7	15,8	6,2	82,1	5,4	5,4	7,7	45,0
5	73,8	11,3	3,0	11,7	14,9	82,2	4,1	5,4	6,8	52,8
6	72,0	10,9	-0,2	10,9	358,9	81,6	3,9	5,2	6,5	53,2
7	67,0	9,3	-4,9	10,5	332,2	78,8	2,5	4,7	5,3	62,0
8	64,9	-2,9	-3,6	4,7	231,2	78,1	-4,0	8,6	9,5	114,9
9	70,6	10,4	-3,0	10,8	343,9	79,5	0,0	6,7	6,7	90,0
10	67,0	-8,1	-2,2	8,4	195,2	76,7	-9,6	11,4	14,9	130,1
11	51,8	-33,1	-7,8	34,0	193,3	75,0	-16,6	15,8	22,9	136,4
12	57,0	-34,4	-3,7	34,6	186,1	75,2	-17,4	19,3	26,0	132,0

**Tabulka 5: Kompletní  $L^*a^*b^*$  data pro TAN 7,5 a TAN 8**

pH	TAN 7,5					TAN 8				
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^*$	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^*$
1	58,8	65,0	-7,3	65,4	353,6	53,7	70,9	-2,3	70,9	358,1
2	65,4	28,0	-15,7	32,1	330,7	63,8	25,4	-12,8	28,5	333,2
3	57,7	50,9	-17,5	53,8	341,0	61,0	44,3	-14,7	46,7	341,6
4	61,8	32,8	-16,9	36,9	332,7	67,5	26,2	-11,8	28,8	335,7
5	59,8	29,2	-18,7	34,7	327,3	69,2	19,2	-11,2	22,2	329,7
6	57,4	26,7	-20,6	33,7	322,3	59,9	20,4	-14,1	24,7	325,3
7	50,5	22,6	-25,5	34,1	311,5	55,2	14,8	-17,4	22,8	310,4
8	38,0	11,1	-26,3	28,5	292,8	47,6	3,6	-20,7	21,0	279,8
9	55,6	27,9	-23,7	36,6	319,6	64,8	23,9	-15,4	28,4	327,2
10	59,4	8,3	-22,8	24,3	290,0	71,1	-7,4	-12,3	14,4	239,0
11	56,2	-5,2	-25,7	26,3	258,6	52,5	16,1	-25,0	29,8	302,8
12	59,0	-13,9	-21,6	25,7	237,3	49,0	19,9	-26,5	33,1	306,9

#### 4.4 Stanovení rozpustnosti

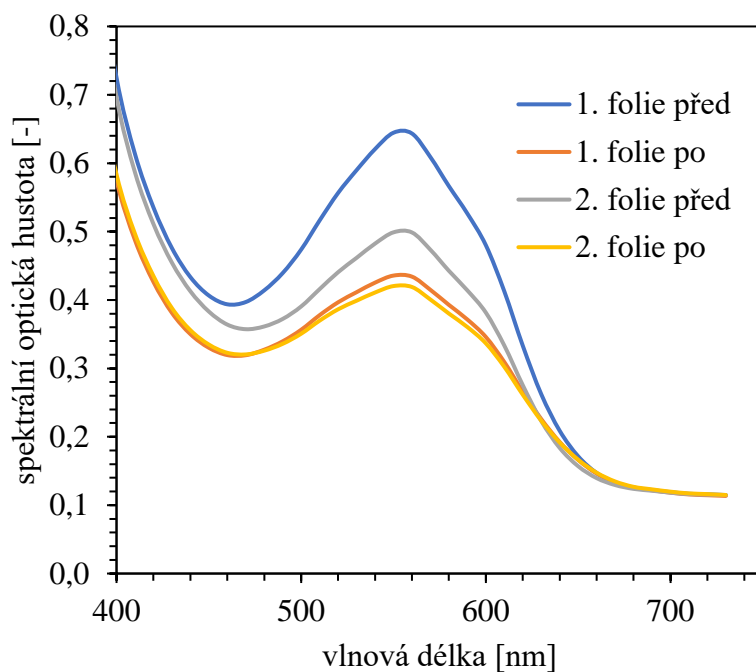
Rozpustnosti jednotlivých filmů byly stanoveny dle postupu uvedeném v kap. 3.9. a jsou zobrazeny v tabulce (Tabulka 6). Nejnižší rozpustnost byla naměřena u filmu s glutaraldehydem bez úpravy pH, kdy se po dobu 1 minuty kontaktu s vodou rozpustilo průměrně 50 %. Následně nejlepší rozpustnost vykazoval film s glutaraldehydem po úpravě na pH 8. Film s kyselinou taninovou po úpravě na pH 8 se rozpouštěl naopak nejvíce.

S rozpustnostmi jednotlivých vrstev souvisí také odrazová spektra. Z naměřených 5 hodnot odrazových spekter byl vypočítán průměr a z nich byly následně sestaveny grafy (Obrázek 25,

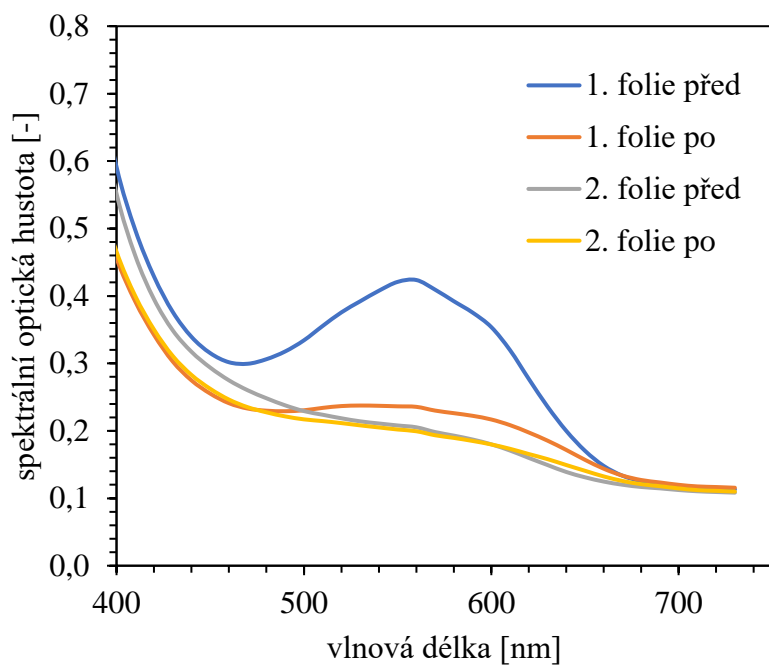
Obrázek 26, Obrázek 27 a Obrázek 28). Bylo zjištěno, že po kontaktu vrstvy s vodou se maximum spektrální optické hustoty vrstev GTA, GTA 8 a TAN 7,5 snížilo přibližně o polovinu původní hodnoty, zatímco u vrstvy TAN 8 byla hodnota snížena na 1/3 původní hodnoty. Snížení spektrální optické hustoty tedy přímo koreluje s naměřenou rozpustností.

**Tabulka 6: Výsledky stanovení rozpustnosti**

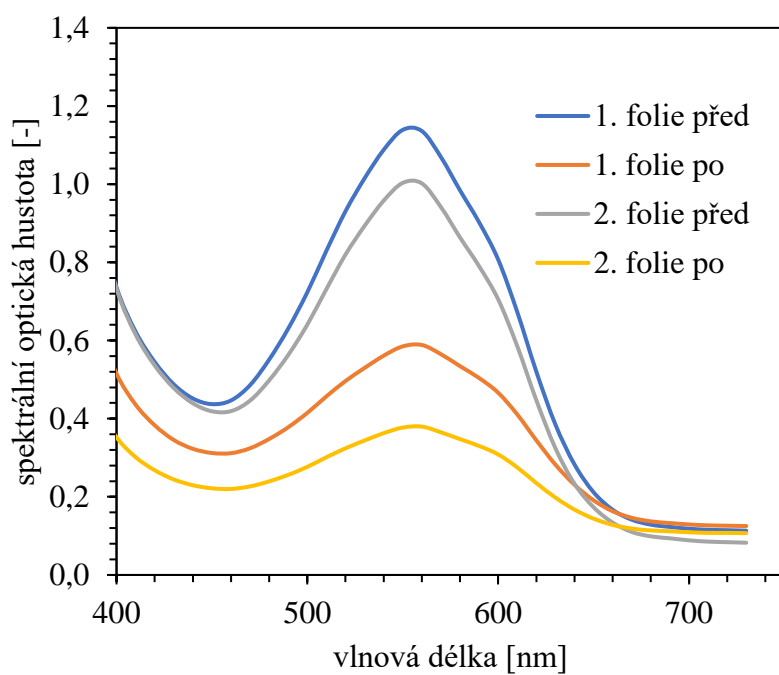
	rozpustnost (%)		
	1. film	2. film	průměr
GTA	42	58	50,0
GTA 8	52	57	54,5
TAN 7,5	52	65	58,5
TAN 8	76	83	79,5



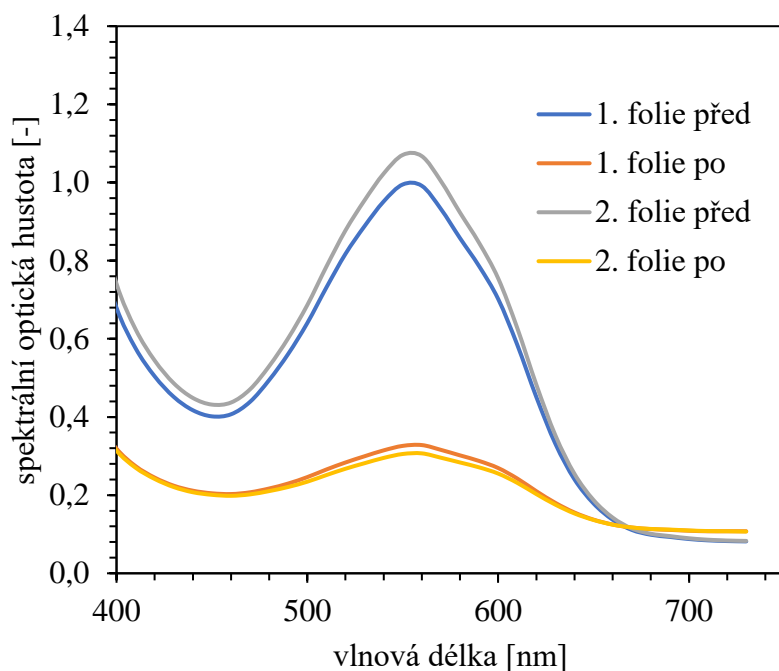
**Obrázek 25: Výsledky měření před a po stanovení rozpustnosti filmu GTA**



**Obrázek 26: Výsledky měření před a po stanovení rozpustnosti filmu GTA 8**



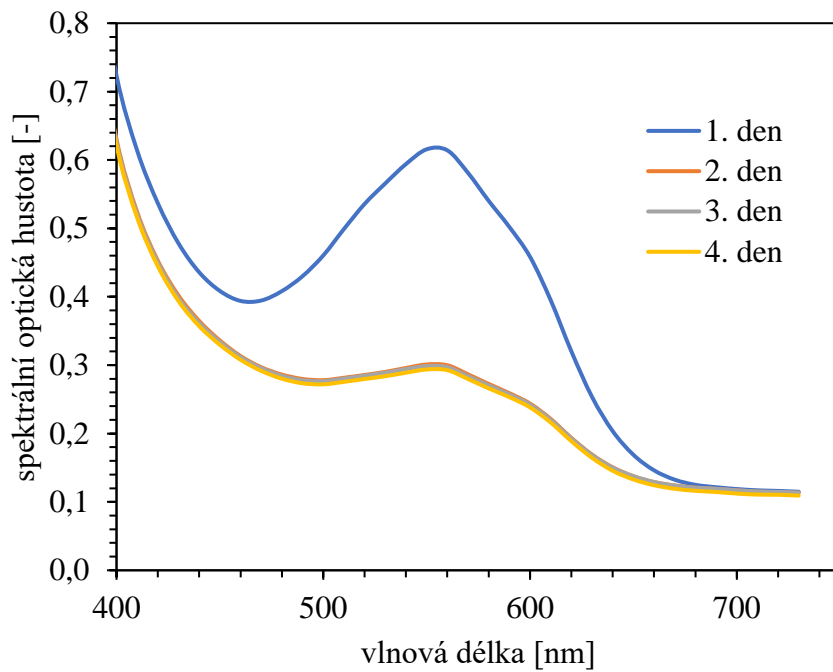
**Obrázek 27: Výsledky měření před a po stanovení rozpustnosti filmu TAN 7,5**



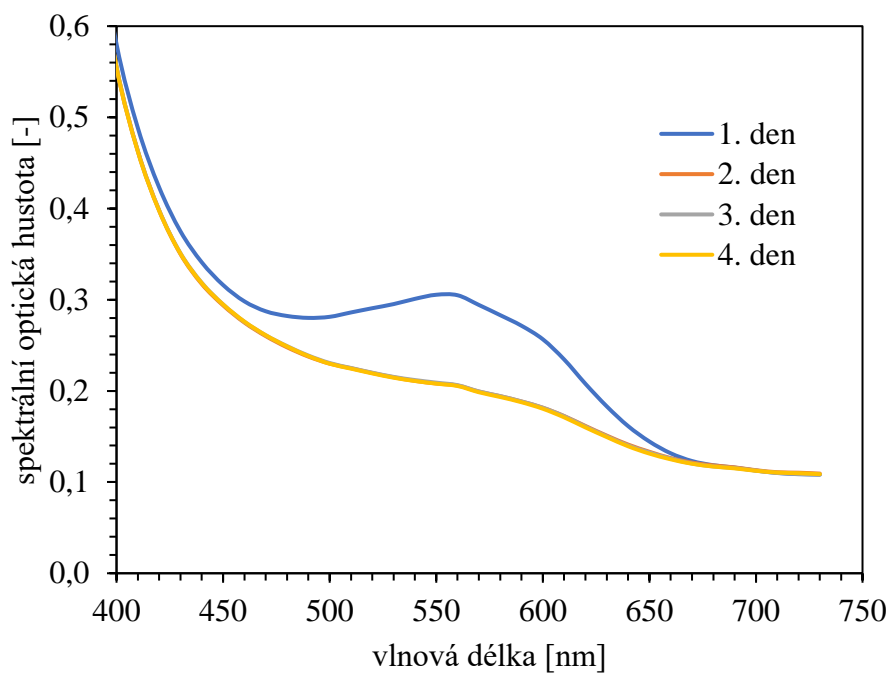
**Obrázek 28: Výsledky měření před a po stanovení rozpustnosti filmu TAN 8**

#### 4.5 Měření stability filmů v čase

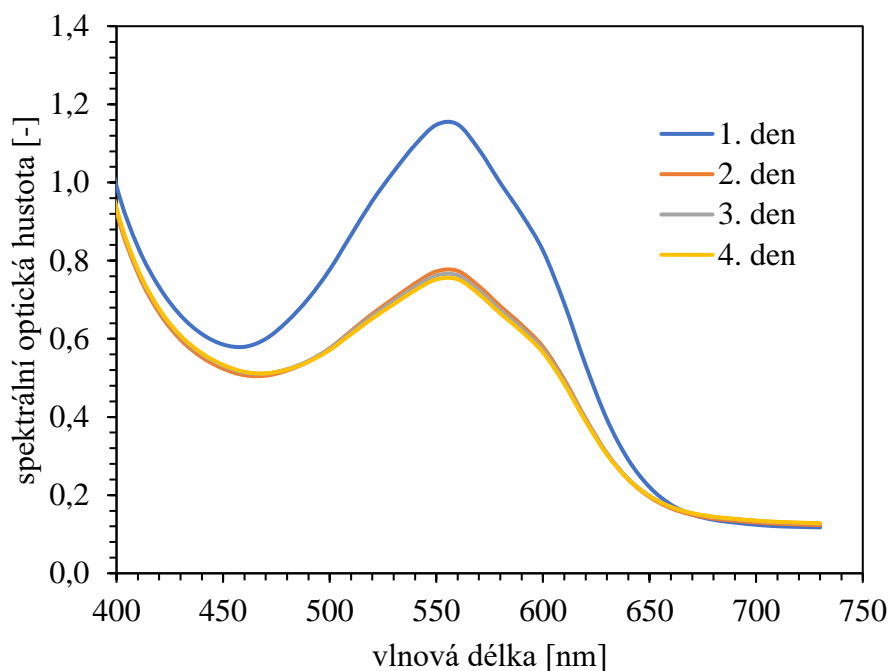
Stabilita filmů v čase byla měřena dle kap. 3.10. Z naměřených 5 hodnot odrazových spekter byly vypočítány průměry, které byly následně vyneseny do grafů (Obrázek 29, Obrázek 30, Obrázek 31 a Obrázek 32). U všech vrstev bylo pozorováno, že spektrální optická hustota klesla do druhého dne po nanesení, ale další dny se měnila jen nepatrně. Největší pokles v maximum byl pozorován u vrstvy GTA, kdy se hodnota snížila na polovinu. U vrstev GTA 8 a TAN 7,5 byl naměřen pokles zhruba o 1/3 a u vrstvy TAN 8 byla zjištěna nejvyšší stabilita, jelikož maximum spektrální optické hustoty bylo sníženo pouze o 30 %. Všechny vrstvy přesto zůstaly dostatečně barevné pro pozorování změn způsobených působením pH.



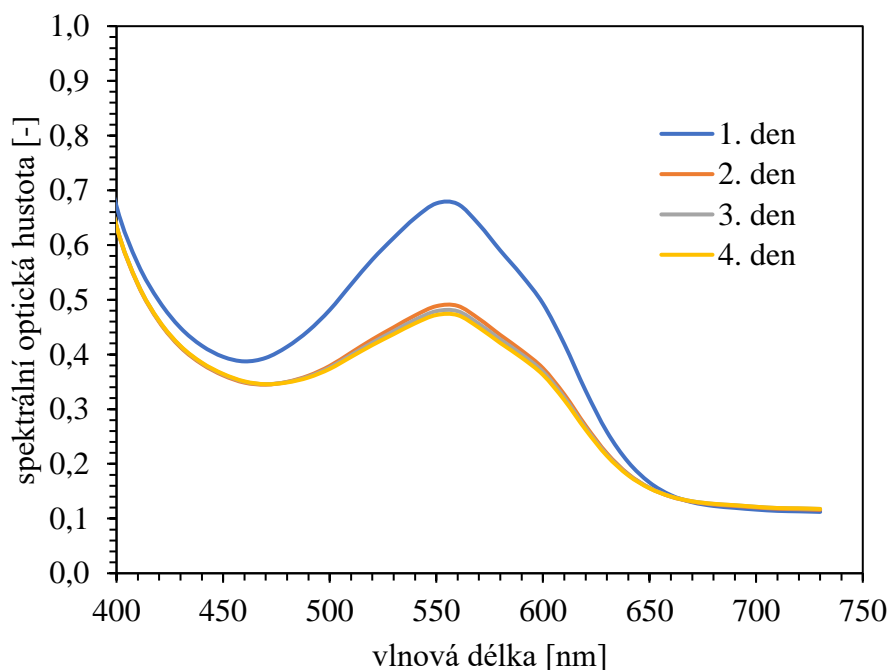
Obrázek 29: Stabilita filmu GTA v čase



Obrázek 30: Stabilita filmu GTA 8 v čase

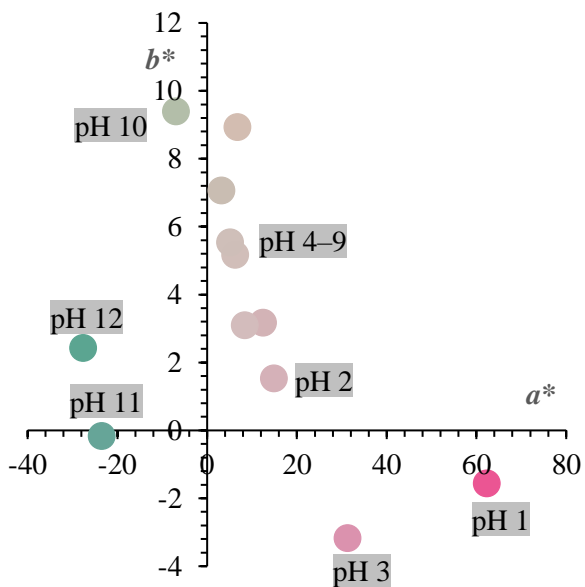


**Obrázek 31: Stabilita filmu TAN 7,5 v čase**

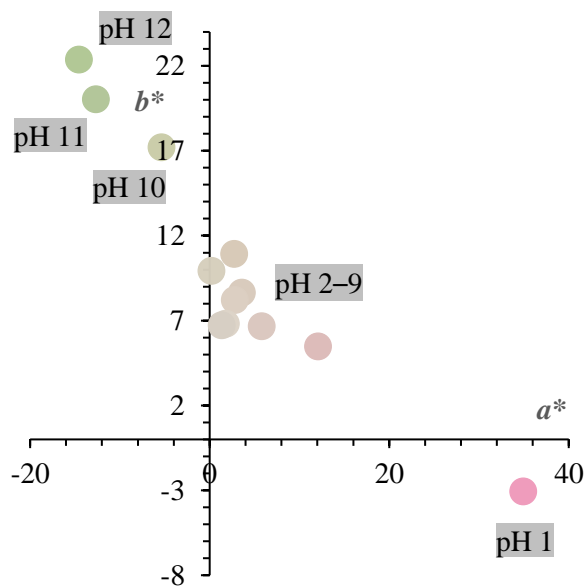


**Obrázek 32: Stabilita filmu TAN 8 v čase**

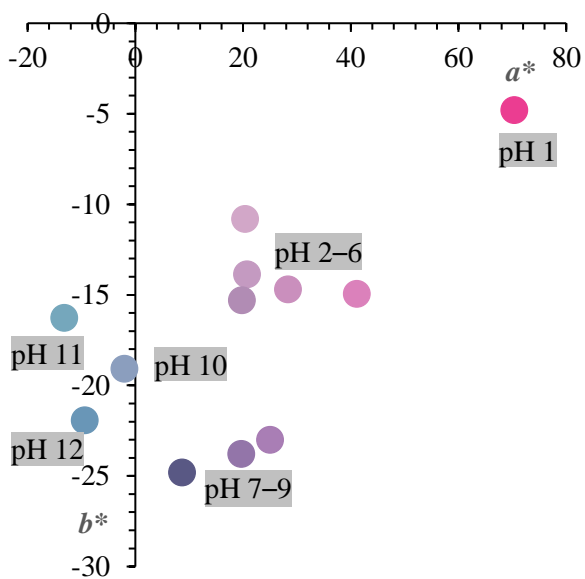
Snížení spektrální optické hustoty filmů během skladování nemělo vliv na schopnost reakce, tedy vlivu pH na vybarvení indikátoru. Vybarvení po 2. dnu skladování je uvedeno v řezech rovinami  $a^*b^*$  barvového prostoru CIE  $L^*a^*b^*$  (Obrázek 33, Obrázek 34, Obrázek 35 a Obrázek 36). Pro úplnou barevnou charakterizaci barevných přechodů indikátoru jsou kompletní  $L^*a^*b^*$  data uvedeny v tabulkách (Tabulka 7 a Tabulka 8), a to včetně vypočítaných hodnot  $C^*$  a  $h^*$ .



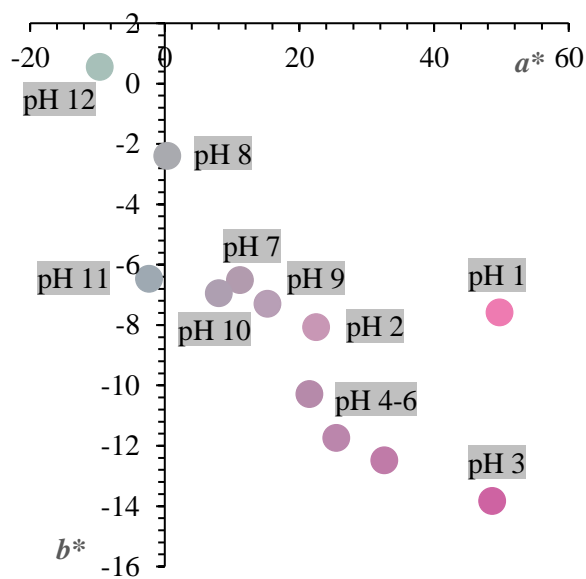
Obrázek 33: Reakce filmu GTA na pH, 2. den po nanesení



Obrázek 34: Reakce filmu GTA 8 na pH, 2. den po nanesení



Obrázek 35: Reakce filmu TAN 7,5 na pH, 2. den po nanesení



Obrázek 36: Reakce filmu TAN 8 na pH, 2. den po nanesení

**Tabulka 7: Kompletní  $L^*a^*b^*$  data pro GTA a GTA 8 (2. den po nanesení)**

pH	GTA					GTA 8				
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^*$	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^*$
1	58,9	62,4	-1,6	62,4	358,5	73,5	35,0	-3,1	35,1	354,9
2	75,7	14,9	1,5	15,0	5,8	82,6	3,6	8,6	9,4	67,3
3	68,6	31,3	-3,2	31,5	354,2	79,1	12,1	5,5	13,3	24,5
4	75,9	12,5	3,2	12,9	14,4	82,0	5,8	6,7	8,9	49,1
5	78,1	8,5	3,1	9,0	20,0	84,0	2,8	8,2	8,7	71,2
6	78,5	6,3	5,2	8,1	39,6	85,3	1,8	6,8	7,0	75,2
7	77,3	3,2	7,1	7,7	65,8	83,7	1,4	6,7	6,9	78,2
8	78,2	6,8	8,9	11,2	52,6	82,1	2,7	10,9	11,2	76,1
9	78,3	5,2	5,5	7,6	46,6	83,4	0,2	9,9	9,9	88,9
10	75,8	-6,9	9,4	11,7	126,3	81,6	-5,3	17,2	18,0	107,1
11	63,2	-23,5	-0,2	23,5	180,5	77,6	-12,7	20,0	23,7	122,4
12	62,4	-27,6	2,4	27,7	175,0	78,5	-14,5	22,4	26,7	122,9

**Tabulka 8: Kompletní  $L^*a^*b^*$  data pro TAN 7,5 a TAN 8 (2. den po nanesení)**

pH	TAN 7,5					TAN 8				
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^*$	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^*$
1	55,7	70,4	-4,8	70,5	356,1	66,4	49,8	-7,6	50,3	351,3
2	73,2	20,4	-10,8	23,1	332,1	68,0	22,5	-8,1	23,9	340,2
3	65,5	41,2	-15,0	43,8	340,0	56,9	48,6	-13,8	50,6	344,1
4	66,6	28,4	-14,7	32,0	332,6	60,1	32,6	-12,5	34,9	339,0
5	68,6	20,8	-13,9	25,0	326,2	62,3	25,5	-11,8	28,1	335,2
6	62,7	19,8	-15,3	25,1	322,3	62,5	21,5	-10,3	23,8	334,4
7	53,6	19,7	-23,8	30,9	309,6	66,4	11,2	-6,5	12,9	329,9
8	39,1	8,7	-24,8	26,3	289,3	69,7	0,4	-2,4	2,4	279,4
9	57,6	25,1	-23,0	34,0	317,5	68,3	15,3	-7,3	16,9	334,5
10	64,3	-2,0	-19,1	19,2	264,1	67,4	8,1	-7,0	10,7	319,1
11	65,5	-13,2	-16,3	20,9	231,0	68,5	-2,3	-6,5	6,9	250,5
12	59,9	-9,4	-21,9	23,9	246,8	75,5	-9,6	0,6	9,6	176,4

## 5 ZÁVĚR

Byly studované možnosti využití anthokyanů izolovaných z červeného zelí pro přípravu indikátoru pH v polymerní matrici. Byla využita želatina jako jedlý přírodní polymer. Pro udržení anthokyanů v polymerní vrstvě byla želatina podrobena síťování.

Zjistilo se že:

1. Anthokyany z červeného zelí je možné úspěšně extrahovat ethanolem.
2. Izolované anthokyany v roztoku reagují barevně podle pH v souladu s publikovanými daty.
3. Po smíchání roztoku anthokyanů s roztokem želatiny výsledná formulace dobře smáčí polyethylentereftalátovou podložku a vytváří kompaktní tenkou vrstvu.
4. S extrémně malým přídavkem síťovacích činidel vytváří málo rozpustnou vrstvu, ale přitom přístupnou hydroxoniovým, resp. hydroxylovým iontům, reagující s přítomnými anthokyany a pracující jako indikátor pH. Byly použity síťovací činidla glutaraldehyd a kyselina taninová.
5. Po nanesení a vysušení filmu indikátoru byla prověřena jeho stabilita v čase. Po poklesu optické hustoty během prvních 24 hodin byl indikátor stálý, funkčnost byla potvrzena reakcí na pH roztoku během 2. dne od přípravy indikátoru.
6. Hodnocení barevnosti indikátorů a jejich barevná reakce na pH pufrů bylo provedeno pomocí barvových prostorů CIE L\*a\*b\* a CIE L\*C\*h\*. Hodnocení barevné reakce pomocí těchto nástrojů pomohlo exaktně vyjádřit rozdíly v barevném tónu jednotlivých vzorků a také čistotu barevného tónu, která je důležitá z hlediska vizuálního posouzení indikátoru.

Nejlepší výsledky byly získané při síťování želatiny kyselinou taninovou. Byl tedy připraven indikátor pH hodnot v polymerní matrici síťované kyselinou taninovou. Žádná složka indikátoru není zdravotně závadná, a proto je možný kontakt s potravinami.

## 6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] 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]. 2020, , 1-29 [cit. 2020-07-08]. DOI: 10.1080/10408398.2020.1776211. ISSN 1040-8398. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2020.1776211>
- [2] MÜLLER, Patricia a Markus SCHMID. Intelligent Packaging in the Food Sector: A Brief Overview. *Foods* [online]. 2019, 8(1) [cit. 2019-11-28]. DOI: 10.3390/foods8010016. ISSN 2304-8158. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/2304-8158/8/1/16>
- [3] POYATOS-RACIONERO, Elisa, Jose Vicente ROS-LIS, José-Luis VIVANCOS a Ramón MARTÍNEZ-MÁÑEZ. Recent advances on intelligent packaging as tools to reduce food waste. *Journal of Cleaner Production* [online]. 2018, 172, 3398-3409 [cit. 2020-07-08]. DOI: 10.1016/j.jclepro.2017.11.075. ISSN 09596526. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095965261732735X>
- [4] MEDINA-JARAMILLO, Carolina, Oswaldo OCHOA-YEPES, Celina BERNAL a Lucía FAMÁ. Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2017, 176, 187-194 [cit. 2020-07-08]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.08.079. ISSN 01448617. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861717309554>
- [5] RISCH, Sara J. Food Packaging History and Innovations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2009, 57(18), 8089-8092 [cit. 2019-11-28]. DOI: 10.1021/jf900040r. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf900040r>
- [6] MORRIS, Barry. The science and technology of flexible packaging: multilayer films from resin and process to end use [online]. Boston, MA: Elsevier, 2016 [cit. 2019-11-28]. ISBN 978-0-323-24273-8. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0114BY11/science-technology-flexible/consumption-patterns>
- [7] HAN, Jung H. Innovations in food packaging [online]. Second edition. Amsterdam: Academic Press, an imprint of Elsevier, 2014 [cit. 2019-11-28]. ISBN 978-0-12-394601-0. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpIFPE0013/innovations-in-food-packaging/innovations-in-food-packaging>
- [8] DOBRUCKA, Renata a Robert PRZEKOP. New perspectives in active and intelligent food packaging. *Journal of Food Processing and Preservation* [online]. 2019, 43(11) [cit. 2019-12-05]. DOI: 10.1111/jfpp.14194. ISSN 0145-8892. Dostupné z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfpp.14194>
- [9] PEREIRA DE ABREU, D. A., J. M. CRUZ a P. PASEIRO LOSADA. Active and Intelligent Packaging for the Food Industry. *Food Reviews International* [online]. 2012, 28(2), 146-187 [cit. 2019-12-05]. DOI: 10.1080/87559129.2011.595022. ISSN 8755-9129. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/87559129.2011.595022>

- [10] DEY, Aishee a Sudarsan NEOGI. Oxygen scavengers for food packaging applications: A review. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2019, (90), 26-34 [cit. 2019-12-09]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224418305818>
- [11] GHAANI, Masou, Carlo A. COZZOLINO, Giulia CASTELLI a Stefano FARRIS. An overview of the intelligent packaging technologies in the foodsector. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2016, (51), 1-11 [cit. 2019-12-05]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224415301382>
- [12] KALPANA, S., S.R. PRIYDARSHINI, M. Maria LEENA, J.A. MOSES a C. ANANDHARAMAKRISHNAN. Intelligent packaging:Trends and applications in food systems. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2019, (93), 145-157 [cit. 2019-12-05]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224418307313>
- [13] VANDERROOST, Mike, Peter RAGAERT, Frank DEVLIEGHERE a Bruno De MEULENAER. Intelligent food packaging: The next generation. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2014, (39), 47-62 [cit. 2019-12-05]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092422441400137X>
- [14] BIJI, K. B., C. N. RAVISHANKAR, C. O. MOHAN a T. K. SRINIVASA GOPAL. Smart packaging systems for food applications: a review. *Journal of Food Science and Technology* [online]. 2015, 52(10), 6125-6135 [cit. 2020-07-20]. DOI: 10.1007/s13197-015-1766-7. ISSN 0022-1155. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s13197-015-1766-7>
- [15] DUDNYK, Iuliia, Emma-Rose JANEČEK, Joanne VAUCHER-JOSET a Francesco STELLACCI. Edible sensors for meat and seafood freshness. *Sensors and Actuators B: Chemical* [online]. 2018, 259, 1108-1112 [cit. 2020-07-07]. DOI: 10.1016/j.snb.2017.12.057. ISSN 09254005. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400517323833>
- [16] FANG, Zhongxiang, Yanyun ZHAO, Robyn D. WARNER a Stuart K. JOHNSON. Active and intelligent packaging in meat industry. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2017, 61, 60-71 [cit. 2020-07-15]. DOI: 10.1016/j.tifs.2017.01.002. ISSN 09242244. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224416304046>
- [17] LAWRIE, Katherine, Andrew MILLS a David HAZAFY. Simple inkjet-printed, UV-activated oxygen indicator. *Sensors and Actuators B: Chemical* [online]. 2013, 176, 1154-1159 [cit. 2020-07-20]. DOI: 10.1016/j.snb.2012.10.125. ISSN 09254005. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400512011616>
- [18] JUNG, Junho, Pradeep PULIGUNDLA a Sanghoon KO. Proof-of-concept study of chitosan-based carbon dioxide indicator for food packaging applications. *Food Chemistry* [online]. 2012, 135(4), 2170-2174 [cit. 2020-07-20]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.07.090. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814612012058>
- [19] SCHUTTING, Susanne, Ingo KLIMANT, Dirk DE BEER a Sergey M BORISOV. New highly fluorescent pH indicator for ratiometric RGB imaging of pCO<sub>2</sub>. *Methods and Applications in Fluorescence* [online]. 2014, 2(2) [cit. 2020-07-20]. DOI: 10.1088/2050-

- 6120/2/2/024001. ISSN 2050-6120. Dostupné z:  
<https://iopscience.iop.org/article/10.1088/2050-6120/2/2/024001>
- [20] WANG, Xu-dong, Robert J. MEIER, Carina SCHMITTLEIN, Stephan SCHREML, Michael SCHÄFERLING a Otto S. WOLFBEIS. A water-sprayable, thermogelating and biocompatible polymer host for use in fluorescent chemical sensing and imaging of oxygen, pH values and temperature. *Sensors and Actuators B: Chemical* [online]. 2015, 221, 37-44 [cit. 2020-07-20]. DOI: 10.1016/j.snb.2015.05.082. ISSN 09254005. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400515007017>
- [21] ZHANG, Xin, Huifang MU, Haimiao LI, Yu ZHANG, Meng AN, Xuhong ZHANG, Juyoung YOON a Haitao YU. Dual-channel sensing of CO<sub>2</sub>: Reversible solution-gel transition and gelation-induced fluorescence enhancement. *Sensors and Actuators B: Chemical* [online]. 2018, 255, 2764-2778 [cit. 2020-07-20]. DOI: 10.1016/j.snb.2017.09.091. ISSN 09254005. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400517317574>
- [22] CHOWDHURY, E. U. a A. MOREY. Intelligent Packaging for Poultry Industry. *Journal of Applied Poultry Research* [online]. 2019, (28), 791-800 [cit. 2019-12-12]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1056617119322457>
- [23] MENG, Xiangpeng, Saehoon KIM, Pradeep PULIGUNDLA a Sanghoon KO. Carbon dioxide and oxygen gas sensors-possible application for monitoring quality, freshness, and safety of agricultural and food products with emphasis on importance of analytical signals and their transformation. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry* [online]. 2014, 57(6), 723-733 [cit. 2020-07-20]. DOI: 10.1007/s13765-014-4180-3. ISSN 1738-2203. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s13765-014-4180-3>
- [24] PULIGUNDLA, Pradeep, Junho JUNG a Sanghoon KO. Carbon dioxide sensors for intelligent food packaging applications. *Food Control* [online]. 2012, 25(1), 328-333 [cit. 2020-07-21]. DOI: 10.1016/j.foodcont.2011.10.043. ISSN 09567135. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713511004610>
- [25] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1935/2004 o materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami a o zrušení směrnic 80/590/EHS a 89/109/EHS. In: . ročník 2004, číslo 1935. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/cs/TXT/?uri=CELEX%3A32004R1935>
- [26] Nařízení Komise (ES) č. 450/2009 o aktivních a inteligentních materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami. In: . ročník 2009, číslo 450. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX%3A32009R0450>
- [27] Zákon o obalech a o změně některých zákonů (zákon o obalech). In: . ročník 2001, číslo 477. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-477/zneni-20180101>
- [28] 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. 2020-03-26]. DOI: 10.1080/19476337.2020.1720826. ISSN 1947-6337. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19476337.2020.1720826>

- [29] 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, 5, 86-92 [cit. 2020-03-28]. DOI: 10.1016/j.cofs.2015.09.004. ISSN 22147993. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214799315001253>
- [30] GUILBERT, Stéphane, Bernard CUQ a Nathalie GONTARD. Recent innovations in edible and/or biodegradable packaging materials. *Food Additives and Contaminants* [online]. 1997, 14(6-7), 741-751 [cit. 2020-03-26]. DOI: 10.1080/02652039709374585. ISSN 0265-203X. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/02652039709374585>
- [31] *Food Chemicals Codex: Gelatin* [online]. 11. The United States Pharmacopeial Convention, 2018 [cit. 2020-04-19]. ISBN 978-1-5231-1773-4. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpFCCE0042/food-chemicals-codex/food-chemicals-codex>
- [32] Phillips, G.O. Williams, P.A.. (2009). *Handbook of Hydrocolloids (2nd Edition) - 6.4.1 Chemical Composition of Collagen and Gelatin*. Woodhead Publishing. Retrieved from <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt006R7MG3/handbook-hydrocolloids/chemical-composition>
- [33] NARAYAN, Roger. *Rapid prototyping of biomaterials* [online]. 2. Waltham: Elsevier, 2019 [cit. 2020-04-19]. ISBN 978-0-08-102663-2. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0122YAE1/rapid-prototyping-biomaterials/collagen>
- [34] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-86659-02-X.
- [35] MARK, James E. *Gelatin*. *Polymer Data Handbook* [online]. 2. Oxford: Oxford University Press, 2009, s. 186 [cit. 2020-07-05]. ISBN 978-1-61583-061-9. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt006PVLB4/polymer-data-handbook/gelatin>
- [36] FEINER, G. *Manufacturing Technology for Brawn*. *Meat Products Handbook - Practical Science and Technology* [online]. Sawston: Woodhead Publishing, 2006, s. 525 [cit. 2020-07-05]. ISBN 9781845691721. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00C5TPN2/meat-products-handbook/brawn-meat-manufacturing>
- [37] GRAZIOLA, Fabiana, Thalita Marcílio CANDIDO, Camila Areias de OLIVEIRA, et al. Gelatin-based microspheres crosslinked with glutaraldehyde and rutin oriented to cosmetics. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2016, 52(4), 603-612 [cit. 2020-03-26]. DOI: 10.1590/s1984-82502016000400004. ISSN 1984-8250. Dostupné z: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1984-82502016000400603&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-82502016000400603&lng=en&tlng=en)
- [38] BORAN, Gökhan. *Gelatin: Production, Applications and Health Implications*. New York: Nova Science Publishers, [2013]. ISBN 978-1-62417-627-2.
- [39] WU, Jiacheng, Wei LIAO, Jinwei ZHANG a Wuyong CHEN. Microwave-assisted reaction of gelatin with tannic acid: non-thermal effect on the crosslinking process. *Chemical Engineering Communications* [online]. 2019, 206(9), 1152-1158 [cit. 2020-03-26]. DOI: 10.1080/00986445.2018.1550394. ISSN 0098-6445. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00986445.2018.1550394>

- [40] ULUBAYRAM, Kezban, Ebru AKSU, S. Ismet Deliloglu GURHAN, Kemal SERBETCI a Nesrin HASIRCI. Cytotoxicity evaluation of gelatin sponges prepared with different cross-linking agents. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* [online]. 2012, 13(11), 1203-1219 [cit. 2020-04-20]. DOI: 10.1163/156856202320892966. ISSN 0920-5063. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1163/156856202320892966>
- [41] IMANI, Rana, Mohammad RAFIENIA a Shahriar HOJJATI EMAMI. Synthesis and characterization of glutaraldehyde-based crosslinked gelatin as a local hemostat sponge in surgery: An in vitro study. *Bio-Medical Materials and Engineering* [online]. 2013, 23(3), 211-224 [cit. 2020-07-02]. DOI: 10.3233/BME-130745. ISSN 09592989. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/236844609\\_Synthesis\\_and\\_characterization\\_of\\_glutaraldehyde-based\\_crosslinked\\_gelatin\\_as\\_a\\_local\\_hemostat\\_sponge\\_in\\_surgery\\_Anin\\_vitrostudy](https://www.researchgate.net/publication/236844609_Synthesis_and_characterization_of_glutaraldehyde-based_crosslinked_gelatin_as_a_local_hemostat_sponge_in_surgery_Anin_vitrostudy)
- [42] DUCONSEILLE, Anne, Thierry ASTRUC, Naira QUINTANA, Filip MEERSMAN a Véronique SANTE-LHOUTELLIER. Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: A review. *Food Hydrocolloids* [online]. 2015, 43, 360-376 [cit. 2020-07-02]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2014.06.006. ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X1400232X>
- [43] JIN, Yi-Ning, Hao-Cheng YANG, He HUANG a Zhi-Kang XU. Underwater superoleophobic coatings fabricated from tannic acid-decorated carbon nanotubes. *RSC Advances* [online]. 2015, 5(21), 16112-16115 [cit. 2020-07-06]. DOI: 10.1039/C4RA16074F. ISSN 2046-2069. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4RA16074F>
- [44] URANGA, J., A.I. PUERTAS, A. ETXABIDE, M.T. DUEÑAS, P. GUERRERO a K. DE LA CABA. Citric acid-incorporated fish gelatin/chitosan composite films. *Food Hydrocolloids* [online]. 2019, 86, 95-103 [cit. 2020-04-20]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.02.018. ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X17314364>
- [45] CUMMING, Mathew H., Alexandria R. LEONARD, Deborah S. LECORRE-BORDES a Kathleen HOFMAN. Intra-fibrillar citric acid crosslinking of marine collagen electrospun nanofibres. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2018, 114, 874-881 [cit. 2020-04-20]. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.03.180. ISSN 01418130. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813018305014>
- [46] URANGA, J., I. LECETA, A. ETXABIDE, P. GUERRERO a K. DE LA CABA. Cross-linking of fish gelatins to develop sustainable films with enhanced properties. *European Polymer Journal* [online]. 2016, 78, 82-90 [cit. 2020-07-02]. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2016.03.017. ISSN 00143057. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014305716301124>
- [47] SUDERMAN, N., M.I.N. ISA a N.M. SARBON. The effect of plasticizers on the functional properties of biodegradable gelatin-based film: A review. *Food Bioscience* [online]. 2018, 24, 111-119 [cit. 2020-03-28]. DOI: 10.1016/j.fbio.2018.06.006. ISSN 22124292. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2212429217306636>

- [48] Dictionary of food science and technology [online]. 2nd ed. IFIS: Wiley-Blackwell, 2009, s. 194 [cit. 2020-03-28]. ISBN 1405187409. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpDFSTE001/dictionary-food-science/dictionary-food-science>
- [49] KOŁODZIEJSKA, Ilona a Barbara PIOTROWSKA. The water vapour permeability, mechanical properties and solubility of fish gelatin–chitosan films modified with transglutaminase or 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) and plasticized with glycerol. *Food Chemistry* [online]. 2007, 103(2), 295-300 [cit. 2020-03-28]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.07.049. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814606006418>
- [50] CHEN, Hui-zhi, Min ZHANG, Bhesh BHANDARI a Chao-hui YANG. Novel pH-sensitive films containing curcumin and anthocyanins to monitor fish freshness. *Food Hydrocolloids* [online]. 2020, 100 [cit. 2020-03-29]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2019.105438. ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X19315401>
- [51] SMERIGLIO, Antonella, Davide BARRECA, Ersilia BELLOCCO a Domenico TROMBETTA. Chemistry, Pharmacology and Health Benefits of Anthocyanins. *Phytotherapy Research* [online]. 2016, 30(8), 1265-1286 [cit. 2020-04-11]. DOI: 10.1002/ptr.5642. ISSN 0951418X. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ptr.5642>
- [52] PRIETTO, Luciana, Taiane Correa MIRAPALHETE, Vânia Zanella PINTO, Jessica Fernanda HOFFMANN, Nathan Levien VANIER, Loong-Tak LIM, Alvaro Renato GUERRA DIAS a Elessandra DA ROSA ZAVAREZE. PH-sensitive films containing anthocyanins extracted from black bean seed coat and red cabbage. *LWT* [online]. 2017, 80, 492-500 [cit. 2020-03-29]. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.03.006. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643817301512>
- [53] GUPTA, Ramesh C. *Nutraceuticals: efficacy, safety, and toxicity* [online]. Amsterdam: Elsevier, Academic Press, [2016] [cit. 2020-04-13]. ISBN 9780128021477. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt010V6882/nutraceuticals-efficacy/anthocyanin-safety-toxicology>
- [54] SIKORSKI, Zdzisław Edmund. Fennema's Food Chemistry (Fifth Edition) Edited by Srinivasan Damodaran Kirk L. Parkin CRC Press, Boca Raton, Florida, 2017. 1107 pp. ISBN 9781482208122. *Journal of Food Biochemistry* [online]. 2018, 42(2) [cit. 2020-04-13]. DOI: 10.1111/jfbc.12483. ISSN 01458884. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/jfbc.12483>
- [55] 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), 2 [cit. 2020-07-04]. DOI: 10.3390/ijms20102588. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/10/2588>
- [56] COULTATE, T. P. *Food - the chemistry of its components: 6.3 Anthocyanins* [online]. Sixth edition. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, [2016] [cit. 2020-04-13]. ISBN 18-497-3880-7. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0110FWZ8/food-chemistry-its-components/anthocyanins>

- [57] YUAN, Bo, Masahiko IMAI, Hidetomo KIKUCHI, et al. Cytocidal Effects of Polyphenolic Compounds, Alone or in Combination with, Anticancer Drugs Against Cancer Cells: Potential Future Application of the Combinatory Therapy. NTULI, Tobias, ed. *Apoptosis and Medicine* [online]. London: InTech, 2012, 2012-08-16, s. 158 [cit. 2020-07-04]. DOI: 10.5772/50218. ISBN 978-953-51-0701-9. Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/apoptosis-and-medicine/cytocidal-effects-of-polyphenolic-compounds-alone-or-in-combination-with-anticancer-drugs-against-ca>
- [58] GALANAKIS, Charis M. *Polyphenols: properties, recovery, and applications* [online]. 1. Duxford, United Kingdom: Woodhead Publishing, an imprint of Elsevier, [2018] [cit. 2020-04-13]. ISBN 9780128135730. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011PUHP1/polyphenols-properties/influence--ph>
- [59] ATTOKARAN, Mathew. *Natural food flavors and colorants* [online]. Second edition. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2017 [cit. 2020-04-13]. ISBN 978-1-119-11476-5. Dostupné z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011BW0L1/natural-food-flavors/red-radish-plant-material>
- [60] WICZKOWSKI, Wieslaw, Dorota SZAWARA-NOWAK a Joanna TOPOLSKA. Red cabbage anthocyanins: Profile, isolation, identification, and antioxidant activity. *Food Research International* [online]. 2013, 51(1), 303-309 [cit. 2020-03-29]. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.12.015. ISSN 09639969. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996912005388>
- [61] HABTEMARIAM, Solomon. Bilberries and blueberries as potential modulators of type 2 diabetes and associated diseases. *Medicinal Foods as Potential Therapies for Type-2 Diabetes and Associated Diseases* [online]. London: Elsevier, 2019, 2019, s. 135-175 [cit. 2020-07-04]. DOI: 10.1016/B978-0-08-102922-0.00007-9. ISBN 9780081029220. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780081029220000079>
- [62] Panák O.: *Věda pro papírové artefakty (VEPA)*, CZ.1.07/2.3.00/20.0236
- [63] HUNT, R.W.G. *Measuring colour: fundamentals and applications*. 3rd ed. Kingston-upon-Thames: Fountain, 1998, ISBN 08-634-3387-1.
- [64] Stančík, J. *Studium procesu degradace inkoustového tisku na tenké vrstvě polyvinylalkoholu*. Brno: Vysoké učení technického v Brně, Fakulta chemická, 2007. 80 s. Vedoucí diplomové práce Michal Veselý.
- [65] MUSSO, Yanina S., Pablo R. SALGADO a Adriana N. MAURI. Smart gelatin films prepared using red cabbage (*Brassica oleracea* L.) extracts as solvent. *Food Hydrocolloids* [online]. 2019, 89, 674-681 [cit. 2020-04-20]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.11.036. ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X18319763>

## 7 SEZNAM ZKRATEK A POUŽITÝCH SYMBOLŮ

RFID	Radio Frequency Identification
QR	Quick Response
Pg	pelargonidin
Pn	peonidin
Cy	kyanidin
Mv	malvidin
Pt	petunidin
Dp	delfinidin
$I(\lambda)$	intenzita světla
$R(\lambda)$	spektrální reflektance barevného vzorku
$\Phi^0(\lambda)$	spektrální distribuce osvětlení
$\bar{x}, \bar{y}, \bar{z}$	trichomatičtí členitelé
CIE	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
$\Delta E^*_{ab}$	barvová odchylka
$h^*$	měrný úhel barevného tónu
$C^*$	měrná čistota barevného tónu
$\Delta A$	změna absorbance
$M_r$	molární hmotnost
$\varepsilon$	molární absorpční koeficient
$L$	optická dráha
PET	polyethylentereftalát
GTA	film s glutaraldehydem bez úpravy pH
GTA 8	film s glutaraldehydem s úpravou na pH 8
TAN 7,5	film s kyselinou taninovou při pH 7,5
TAN 8	film s kyselinou taninovou při pH 8