

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko – technologická

Barvivo E 120 jako inteligentní přísada v pektinových obalech  
Diplomová práce

2025

Bc. Vasyl Želizňak

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2024/2025

# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Vasyl Želizňak  
Osobní číslo: C22340  
Studijní program: N0531A130030 Hodnocení a analýza potravin  
Téma práce: Barvivo E 120 jako inteligentní přísada v pektinových obalech  
Zadávací katedra: Katedra analytické chemie

## Zásady pro vypracování

- S využitím odborných publikací a platné legislativy EU zpracujte přehled o obalových materiálech v potravinářství s důrazem na jedlé/degradovatelné obaly na bázi pektinu. Popište vlastnosti a využití barviva E 120 (kyselina karmínová včetně jejího hliníkového komplexu). Vyhledejte a zpracujte informace o obalech, které jsou schopny detekovat čerstvost masa. Přehledně zpracujte informace o chemických změnách probíhající při kažení masa.
- Připravte vzorky obalů na bázi pektinu s přídavkem barviva E 120 a zjistěte jejich základní funkční vlastnosti. Navrhněte a proveďte experiment, ve kterém zjistíte vhodnost obalů pro detekci čerstvosti masa.
- Výsledky zpracujte vhodnou metodou a určete vhodnost obalů pro praxi.

Rozsah pracovní zprávy:  
Rozsah grafických prací:  
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Libor Červenka, Ph.D.**  
Katedra analytické chemie

Datum zadání diplomové práce: **7. února 2025**  
Termín odevzdání diplomové práce: **9. května 2025**

L.S.

---

**prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.**  
děkan

---

**doc. Ing. Petr Česla, Ph.D.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2025

Prohlašuji:

Práci s názvem Barvivo E 120 jako inteligentní přísada v pektinových obalech jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne:

.....

Bc. Vasyl Želizňak

## **PODĚKOVÁNÍ**

Zde bych chtěl vyjádřit své poděkování doc. Ing. Liboru Červenkovi, Ph.D., za odborné vedení, cenné rady a veškerou podporu při zpracování této diplomové práce. Dále bych rád poděkoval všem zaměstnancům univerzity, kteří mě provázeli během mého studia. Velké díky patří také mé rodině a přátelům za jejich trvalou podporu během celého studia.

## **ANOTACE**

Diplomová práce se zabývá vývojem jedlých inteligentních obalů na bázi pektinu a polyvinylalkoholu (PVA) s přidavkem přírodního barviva E 120 (kyselina karmínová, karmín). Cílem bylo ověřit jejich schopnost indikovat kažení masa prostřednictvím viditelných barevných změn v důsledku působení těkavých látek a změn pH. V rámci experimentu byly připraveny filmy z jablečného a citrusového pektinu s různými koncentracemi barviv, u kterých byla hodnocena barevnost, absorpance, transmitance, rozpustnost a migrace barviva.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Jedlé obaly, inteligentní balení, barvivo E 120, barevné změny, indikátory čerstvosti, kažení masa

## **TITLE**

Colorant E 120 as an intelligent additive in pectin-based packaging

## **ANNOTATION**

This thesis focuses on the development of edible intelligent packaging films based on pectin and polyvinyl alcohol (PVA) with the addition of the natural colorant E 120 (carminic acid and carmine). The aim was to evaluate their ability to indicate meat spoilage through visible color changes caused by volatile compounds and pH shifts. Films were prepared from apple and citrus pectin with varying concentrations of colorants, and their color properties, absorbance, transmittance, solubility, and the migration of dye.

## **KEYWORDS**

Edible packaging, intelligent packaging, E 120 colorant, color change, freshness indicators, meat spoilage

## **OBSAH**

SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ .....	10
SEZNAM ROVNIC A TABULEK .....	13
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK .....	15
ÚVOD .....	17
1 TEORETICKÁ ČÁST .....	18
1.1 JEDLÉ OBALY .....	18
1.1.1 Obaly dle legislativy .....	18
1.1.2 Definice a základní charakteristiky jedlých obalů .....	19
1.1.3 Ochranné vlastnosti jedlých balů .....	19
1.1.4 Srovnání s konvenčními obalovými materiály .....	19
1.1.5 Význam jedlých obalů v ekologii .....	20
1.2 KLASIFIKACE JEDLÝCH OBALŮ .....	21
1.2.1 Jedlé obaly na bázi polysacharidů .....	21
1.2.2 Jedlé obaly na bázi bílkovin .....	21
1.2.3 Jedlé obaly na bázi lipidů .....	22
1.3 ZMĚKČOVADLA .....	23
1.3.1 Glycerol jako změkčovadlo v jedlých obalech .....	23
1.4 VÝVOJ A PŘÍPRAVA JEDLÝCH OBALŮ V POTRAVINÁŘSTVÍ .....	24
1.4.1 Aplikace jedlých povlaků na potraviny .....	24
1.4.2 Výroba jedlých filmů .....	25
1.5 JEDLÉ OBALY NA BÁZI PEKTINU .....	27
1.5.1 Charakteristika a vlastnosti pektinu .....	27
1.5.2 Zdroje a metody extrakce pektinu .....	27
1.5.3 Využití pektinu v potravinářství a dalších odvětvích .....	28
1.5.4 Modifikace pektinových obalů (přídavek plastifikátorů, zesíťování) .....	28
1.6 OBALY NA BÁZI POLYVINYLALKOHOLU (PVA) .....	29
1.6.1 Výroba a zpracování polyvinylalkoholu (PVA) .....	29
1.6.2 Využití Polyvinylalkohlu .....	30
1.6.3 Kombinace PVA s jinými biopolymery .....	30
1.7 BARVIVO E120 (KARMÍN A KYSELINA KARMÍNOVÁ) .....	31
1.7.1 Barviva v potravinách .....	31
1.7.2 Charakteristika košenily, kyseliny karmínové a karmínu .....	32

1.7.3	Legislativa.....	34
1.7.4	Získ košenily a produkce kyseliny karmínové .....	34
1.7.5	Extrakce, purifikace a výroba karmínu.....	35
1.7.6	Historické využití kyseliny karmínové a karmínu a využití v současnosti.....	36
1.7.7	Rizika spojená s konzumací karmínu .....	37
1.7.8	Chování karmínu a kyseliny karmínové za různých podmínek.....	38
1.7.9	Absorpční vlastnosti kyseliny karmínové.....	39
1.8	MECHANISMUS KAŽENÍ MASA .....	40
1.8.1	Složení masa a jeho význam pro mikrobiální růst.....	40
1.8.2	Průběh kažení masa a jeho důsledky .....	40
1.8.3	Mikrobiální kontaminace masa a její vliv na proces kažení.....	41
1.8.4	Oxidace lipidů a její vliv na kvalitu masa.....	41
1.8.5	Produkce těkavých látek při kažení .....	42
1.8.6	Změny pH masa během kažení.....	43
1.9	INTELIGENTNÍ OBALY A JEJICH FUNKCE.....	43
1.9.1	Indikátory čerstvosti potravin .....	44
1.9.2	Indikátory času a teploty.....	44
1.9.3	Přírodní materiály a jejich role v aktivních a inteligentních obalech .....	45
1.10	SPEKTROMETRIE A SPEKTROMETRICKÁ MĚŘENÍ .....	46
1.10.1	Základy spektrometrie a typy spektrofotometrů.....	46
1.10.2	Princip měření a základní optické veličiny.....	47
1.10.3	Měření barevnosti .....	48
2	CÍL PRÁCE .....	51
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	52
3.1	POUŽITÁ ZAŘÍZENÍ A POMŮCKY .....	52
3.2	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	52
3.3	PŘÍPRAVA FILMOVÝCH VZORKŮ.....	53
3.3.1	Postup přípravy filmů .....	53
3.3.2	Expozice filmů amoniaku a těkavým látkám vznikajícím při kažení masa.....	54
3.3.3	Příprava vzorků pro výzkum migračních procesů a rozpustnosti.....	55
3.4	MĚŘENÍ BAREVNOSTI.....	56
3.5	MĚŘENÍ ABSORBANCE A TRANSMITANCE .....	56
3.6	MĚŘENÍ TLOUŠTKY FILMŮ.....	57

4	VÝSLEDKY A VYHODNOCENÍ .....	58
4.1	TLOUŠŤKA FILMŮ .....	58
4.2	BAREVNOST FILMŮ PŘED EXPOZICÍ.....	61
4.2.1	Filmy připravené ze směsi jablečného pektinu a polyvinylalkoholu.....	61
4.2.2	Filmy připravené ze směsi citrusového pektinu a polyvinylalkoholu .....	63
4.3	ABSORBANCE A TRANSMITANCE FILMU PŘED EXPOZICÍ .....	66
4.3.1	Filmy připravené ze směsi jablečného pektinu a polyvinylalkoholu.....	66
4.3.2	Filmy připravené ze směsi citrusového pektinu a polyvinylalkoholu .....	70
4.4	BAREVNOST FILMŮ PO EXPOZICI ZÁSADITÉMU PROSTŘEDÍ.....	76
4.4.1	Filmy připravené ze směsi jablečného pektinu a PVA.....	76
4.4.2	Filmy připravené ze směsi citrusového pektinu a PVA .....	82
4.4.3	Shrnutí.....	87
4.5	BAREVNOST FILMŮ PO EXPOZICI LÁTKAM ZE ZKAŽENÉHO MASA .....	88
4.5.1	Filmy připravené ze směsi jablečného pektinu a PVA.....	89
4.5.2	Filmy připravené ze směsi citrusového pektinu a PVA .....	95
4.5.3	Shrnutí.....	101
4.6	MIGRAČNÍ CHOVÁNÍ KYSELINY KARMÍNOVÉ Z FILMŮ.....	102
4.6.1	Kalibrační rovnice pro výpočet obsahu kyseliny karmínové.....	102
4.6.2	Migrace barviva po 30 min .....	105
4.6.3	Migrace barviva po 24 h .....	107
4.6.4	Shrnutí.....	108
	ZÁVĚR .....	109
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	110
	PŘÍLOHY .....	119

## SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ

Obrázek 1: Příprava jedlých filmu mokrou metodou a aplikaci filmového povlaku metodou namáčení, nástřikem a potíráním .....	26
Obrázek 2: Strukturní vzorec pektinu .....	27
Obrázek 3: Samec a samice červce nopálového <i>Dactylopius coccus</i> .....	32
Obrázek 4: Strukturní vzorec kyseliny karmínové a karmínu .....	33
Obrázek 5: Změna barvy roztoku kyseliny karmínové v závislosti na pH (pH 1–14) .....	38
Obrázek 6: Schéma jednopaprskového spektrofotometru .....	47
Obrázek 7: Geometrický systém 45/0 a geometrický systém d/8.....	49
Obrázek 8: Záznam LAB modelu .....	50
Obrázek 9: Filmy před vystavení expozicím látkám vznikajících při kažení masa.....	55
Obrázek 10: Film připravený ze směsi citrusového pektinu a PVA bez přídavku barviva.....	64
Obrázek 11: Film připravený ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % kyseliny karmínové před a po expozici parám amoniaku .....	79
Obrázek 12: Film připravený ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,1 % kyseliny karmínové před a po expozici parám amoniaku .....	83
Obrázek 13: Film připravený ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % kyseliny karmínové před a po expozici těkavým látkám vznikajícím při kažení masa .....	91
Obrázek 14: Film připravený ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % karmínu před a po expozici těkavým látkám vznikajícím při kažení masa .....	94
Obrázek 15: Film připravený ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % kyseliny karmínové před a po expozici těkavým látkám vznikajícím při kažení masa .....	97
Obrázek 16: Kalibrační roztoky kyseliny karmínové .....	102
Obrázek 17: Míra uvolnění kyseliny karmínové do zkoumaného média z filmu připraveného ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídavkem 0,1 % kyseliny karmínové po 30min expozici .....	106
Obrázek 18: Míra uvolnění kyseliny karmínové do zkoumaného média z filmu připraveného ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % kyseliny karmínové po 30min expozici .....	106
Obrázek 19: Míra uvolnění kyseliny karmínové do zkoumaného média z filmu připraveného ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % karmínu po 24h expozici .....	108

Graf 1: Tloušťka filmů ze směsi jablečného pektinu a PVA s různými přídávky kyseliny karmínové a karmínu .....	58
Graf 2: Tloušťka filmů ze směsi citrusového pektinu a PVA s různými přídávky kyseliny karmínové a karmínu .....	59
Graf 3: Závislost absorpance a transmitance na vlnové délce u slepého filmu připraveného ze směsi jablečného pektinu a PVA .....	66
Graf 4: Závislost absorpance a transmitance na vlnové délce u filmů připraveného ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídávkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové .....	67
Graf 5: Závislost absorpance a transmitance na vlnové délce u filmů připraveného ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídávkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové .....	68
Graf 6: Závislost absorpance a transmitance na vlnové délce u filmů připraveného ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídávkem 0,3 % (w/w) karmínu .....	69
Graf 7: Závislost absorpance a transmitance na vlnové délce u slepého filmu připraveného ze směsi citrusového pektinu a PVA .....	70
Graf 8: Závislost absorpance a transmitance na vlnové délce u filmů připraveného ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídávkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové .....	71
Graf 9: Závislost absorpance a transmitance na vlnové délce u filmů připraveného ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídávkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové .....	73
Graf 10: Závislost absorpance a transmitance na vlnové délce u filmů připraveného ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídávkem 0,3 % (w/w) karmínu .....	74
Graf 11: Závislost absorpance a transmitance na vlnové délce filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídávkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové před a po expozici parám NH <sub>3</sub> .....	77
Graf 12: Závislost absorpance a transmitance na vlnové délce filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídávkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové před a po expozici parám NH <sub>3</sub> .....	78
Graf 13: Závislost absorpance a transmitance na vlnové délce filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídávkem 0,3 % (w/w) karmínu před a po expozici parám NH <sub>3</sub> .....	80
Graf 14: Závislost absorpance a transmitance na vlnové délce filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídávkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové před a po expozici parám NH <sub>3</sub> .....	82

Graf 15: Závislost absorbance a transmitance na vlnové délce filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové před a po expozici parám NH <sub>3</sub> .....	84
Graf 16: Závislost absorbance a transmitance na vlnové délce filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) karmínu před a po expozici parám NH <sub>3</sub> .....	86
Graf 17: Závislost absorbance a transmitance na vlnové délce filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové před a po expozici těkavým látkám z kažení masa (30 °C, 48 h) .....	90
Graf 18: Závislost absorbance a transmitance na vlnové délce filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové před a po expozici těkavým látkám z kažení masa (30 °C, 48 h) .....	92
Graf 19: Závislost absorbance a transmitance na vlnové délce filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) karmínu před a po expozici těkavým látkám z kažení masa (30 °C, 48 h) .....	94
Graf 20: Závislost absorbance a transmitance na vlnové délce filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové před a po expozici těkavým látkám z kažení masa (30 °C, 48 h) .....	96
Graf 21: Závislost absorbance a transmitance na vlnové délce filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové před a po expozici těkavým látkám z kažení masa (30 °C, 48 h) .....	98
Graf 22: Závislost absorbance a transmitance na vlnové délce filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) karmínu před a po expozici těkavým látkám z kažení masa (30 °C, 48 h) .....	100
Graf 23: Závislost kyseliny karmínové na vlnové délce při 495 nm .....	103

## SEZNAM ROVNIC A TABULEK

Rovnice 1: Výpočet transmitance .....	48
Rovnice 2: Výpočet transmitance podle Augusta Beera.....	48
Rovnice 3: Výpočet absorbance (Lambertův-Beerův zákon).....	48
Rovnice 4: Výpočet Euklidovského rozdílu .....	50
Rovnice 5: 95% interval spolehlivosti odhadu směrnice a úseku.....	104
Rovnice 6: Kalibrační rovnice pro závislost absorbance na koncentraci kyseliny karmínové (mg/) při 495 nm.....	104
Tabulka 1: Shrnutí připravených filmů ze směsi pektinu a PVA .....	54
Tabulka 2: Přehled naměřené tloušťky filmů připravených ze směsi jablečného/citrusového pektinu a PVA v mm .....	58
Tabulka 3: Optické vlastnosti filmů JP+PVA před a po přidavku KK/Karmínu .....	61
Tabulka 4: Optické vlastnosti filmů CP+PVA před a po přidavku KK/Karmínu .....	63
Tabulka 5: Barevné parametry a $\Delta E$ filmů ze směsi jablečného pektinu a PVA s přidavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové po expozici $NH_3$ .....	76
Tabulka 6: Barevné parametry a $\Delta E$ filmů ze směsi jablečného pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové po expozici $NH_3$ .....	78
Tabulka 7: Barevné parametry a $\Delta E$ filmů ze směsi jablečného pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % (w/w) karmínu po expozici $NH_3$ .....	80
Tabulka 8: Barevné parametry a $\Delta E$ filmů ze směsi citrusového pektinu a PVA s přidavkem 0,1 % (w/w) KK po expozici $NH_3$ .....	82
Tabulka 9: Barevné parametry a $\Delta E$ filmů ze směsi citrusového pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové po expozici $NH_3$ .....	84
Tabulka 10: Barevné parametry a $\Delta E$ filmů ze směsi citrusového pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % (w/w) karmínu po expozici $NH_3$ .....	86
Tabulka 11: Barevné parametry a $\Delta E$ filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přidavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové po expozici těkavým látkám z kaženého masa (30 °C, 48 h).....	89
Tabulka 12: Barevné parametry a $\Delta E$ filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové po expozici těkavým látkám z kaženého masa (30 °C, 48 h).....	91

Tabulka 13: Barevné parametry a $\Delta E$ filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) karmínu po expozici těkavých látek z kaženého masa (30 °C, 48 h) .....	93
Tabulka 14: Barevné parametry a $\Delta E$ filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové po expozici těkavých látek z kaženého masa (30 °C, 48 h).....	95
Tabulka 15: Barevné parametry a $\Delta E$ filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové po expozici těkavým látkám z kaženého masa (30 °C, 48 h).....	97
Tabulka 16: Barevné parametry a $\Delta E$ filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) karmínu po expozici těkavým látkám z kaženého masa (30 °C, 48 h) .....	99
Tabulka 17: Bodové odhady pro kalibrační závislost kyseliny karmínové .....	103
Tabulka 18: Souhrnné statistiky závislosti absorpance (495 nm) na obsahu kyseliny karmínové (mg/l) .....	104
Tabulka 19: Verifikace modelu pro závislost absorpance (495 nm) na obsahu kyseliny karmínové (mg/l) .....	104
Tabulka 20: Uvolnění kyseliny karmínové z filmů na bázi pektinu a PVA do různých médií (mg/l) po 30 min .....	105
Tabulka 21: Uvolnění kyseliny karmínové z filmů na bázi pektinu a PVA do různých médií (mg/l) po 24 h .....	107

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

JP	jablečný pektin
CP	citrusový pektin
PVA	polyvinylalkohol
PVAc	polyvinylacetát
PEG	polyethylenglykol
KK	kyselina karmínová
E 120	potravinářské barvivo (kyselina karmínová / karmín)
HAc	kyselina octová
Et-OH	ethanol
VOC	Volatile Organic Compounds (těkavé organické sloučeniny)
TVB-N	Total Volatile Basic Nitrogen (celkový obsah těkavého bazického dusíku)
w/w	hmotnostní poměr
CIE	Commission Internationale de l'Éclairage (Mezinárodní komise pro osvětlování)
L*, a*, b*	barevné parametry v CIE LAB systému
$\Delta E$	rozdíl barev podle CIELAB
C*	sytost barvy (chroma)
$h^\circ$	odstín barvy
Opacita	neprůhlednost
HSV	barevný model (Hue, Saturation, Value)
RGB, XYZ	barevné prostory definované CIE
d/8, 45/0	geometrie měření barevnosti
A, D65	standardní světelné zdroje (iluminanty)
IS <sub>D</sub> , IS <sub>H</sub>	dolní a horní hranice intervalu spolehlivosti
OML	celkový migrační limit
SML	specifický migrační limit
EU	Evropská unie
ES	Evropské společenství
UV-VIS	ultrafialová a viditelná oblast spektra
FDA	Food and Drug Administration
CMC	karboxymethylcelulóza
IUPAC	Mezinárodní unie pro čistou a aplikovanou chemii
p.a.	pro analysis (čistota pro analytické účely)

CAS	Chemical Abstracts Service (registrační číslo chemikálie)
Mw	molekulová hmotnost
Sm. Odch.	směrodatná odchylka
Min.	minimum
Max.	maximum
Platných N	počet platných hodnot v měření
Abs	absorbance
T	transmittance
T%	procentuální transmittance
SV	stupeň volnosti
F	F-hodnota (poměr rozptylů)
p-hodnota	pravděpodobnostní hodnota testu významnosti
R <sup>2</sup>	koeficient determinace
F(1,10)	F-test se stupni volnosti 1 a 10
B	regresní koeficient
Sm. ch. z b	směrodatná chyba regresního koeficientu
t(12)	hodnota t-testu s 12 stupni volnosti
$\beta_0$	průsečík regresní přímky
$\beta_1$	směrnice regresní přímky

## ÚVOD

Zvyšující se požadavky na kvalitu a bezpečnost potravin spolu s rostoucím tlakem na ochranu životního prostředí vedou k intenzivnímu výzkumu inovativních obalových materiálů. Jedlé a biologicky rozložitelné obaly představují ekologickou alternativu k tradičním plastovým obalům. Materiály na bázi přírodních polymerů, jako je pektin či polyvinylalkohol (PVA), nabízejí vynikající vlastnosti v oblasti biologické rozložitelnosti, mechanické odolnosti a možnosti modifikace jejich funkčních parametrů.

Jedním ze směrů výzkumu je vývoj inteligentních obalů, které umožňují vizuální kontrolu čerstvosti potravin díky změně barvy. Tato práce se zaměřuje na využití přírodního barviva E 120, konkrétně kyseliny karmínové a karmínu, jako indikátorů změn pH souvisejících s procesem kažení masa. Barviva na bázi košenily jsou známá svou citlivostí na změny chemického prostředí, a proto představují vhodnou volbu pro konstrukci inteligentních systémů monitorujících kvalitu potravin.

V rámci této práce byly připraveny filmy na bázi jablečného a citrusového pektinu v kombinaci s PVA, do nichž bylo začleněno barvivo E 120. Byla hodnocena jejich barevná stabilita, optické vlastnosti a změna barevných parametrů po expozici výparům amoniaku a těkavým látkám vznikajícím při kažení masa. Pozornost byla rovněž věnována charakterizaci migračních vlastností filmů a jejich rozpustnosti v různých médiích.

Cílem práce je ověřit, zda je možné využít tyto filmy jako inteligentní obaly schopné indikovat změny kvality potravin prostřednictvím viditelné změny barvy. Výsledky výzkumu přispějí k rozšíření znalostí o aplikaci přírodních barviv v aktivních a inteligentních obalových systémech a mohou podpořit vývoj ekologicky šetrných technologií v potravinářském průmyslu.

# 1 TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1 JEDLÉ OBALY

### 1.1.1 Obaly dle legislativy

Jedlé obaly, tedy materiály určené ke konzumaci společně s potravinou, spadají primárně pod nařízení (ES) č. 1935/2004. Toto nařízení stanovuje obecné požadavky na všechny materiály a předměty určené pro styk s potravinami. Jeho hlavním cílem je zajistit zdravotní nezávadnost těchto materiálů, zabránit nepříjemným změnám ve složení potravin a současně ochránit jejich sensorické vlastnosti, jako jsou chuť, vůně a vzhled [1, 2].

Od 11. února 2025 vstoupí v platnost nové nařízení EU 2025/40 o obalech a obalových odpadech, které přináší přísnější pravidla pro celý životní cyklus obalů. Toto nařízení se zaměřuje především na snižování objemu obalového odpadu, zvyšování recyklovatelnosti a omezení obsahu nebezpečných látek [3].

V případě, že jedlé obaly obsahují pouze přírodní polymery, například pektin, želatinu nebo škrob, které nebyly chemicky upraveny, nepodléhají nařízení (EU) č. 10/2011 o plastových materiálech. Pokud však daný materiál obsahuje i plastové složky, jako je například polyvinylalkohol (PVA), vztahuje se na něj i toto specifické nařízení. Nařízení Komise (EU) č. 10/2011 stanovuje konkrétní požadavky na plastové materiály určené pro styk s potravinami. Zavádí specifické migrační limity (SML), tedy maximální množství jednotlivých látek, které mohou přecházet z materiálu do potravin, a dále stanovuje celkový migrační limit (OML), který je obvykle 10 mg látky na 1 dm<sup>2</sup> povrchu. Součástí nařízení je rovněž tzv. „Union list“ – seznam látek povolených pro výrobu plastových obalů. Nezbytnou součástí legislativních požadavků je také testování migrace za použití standardizovaných simulantů potravin, jako jsou ethanol, kyselina octová nebo rostlinné oleje, a to za podmínek simulujících reálné použití [4].

V České republice je problematika obalů dále upravena zákonem č. 477/2001 Sb., o obalech. Tento zákon stanovuje povinnosti subjektům uvádějícím obaly na trh, přičemž klade důraz na minimalizaci hmotnosti a objemu obalů při zachování jejich funkčnosti a bezpečnosti. Zákon také požaduje, aby koncentrace nebezpečných látek v obalech nepřekračovala stanovené limity, a aby obaly byly buď opakovaně použitelné, nebo recyklovatelné [5].

### **1.1.2 Definice a základní charakteristiky jedlých obalů**

Jedlé obaly představují udržitelnou a biologicky odbouratelnou alternativu v oblasti aktivního balení potravin a umožňují zlepšení kvality potravin ve srovnání s konvenčními obaly. Jedlý obal označuje materiál o tloušťce menší než 0,3 mm, složený z kombinace biopolymerů a různých přísad, které jsou dispergovány nejčastěji ve vodném prostředí [6, 7].

Jedlé obaly lze rozdělit podle způsobu aplikace na jedlý povlak a jedlý film. Zatímco jedlý povlak se aplikuje přímo na potravinu jako tenká vrstva, jedlý film se vyrábí samostatně a následně se k potravine přikládá [6, 8].

Ideální jedlý obal by měl být netoxický, bezpečný pro lidskou spotřebu a ekologicky šetrný. Měl by vykazovat dobré senzoričké vlastnosti, mikrobiální stabilitu a pevnost. Zároveň by měl být cenově dostupný a nenáročný na výrobu [9]

### **1.1.3 Ochranné vlastnosti jedlých balů**

Jedlé obaly tvoří tenké bariéry, které mohou potraviny účinně chránit před vnějšími vlivy, které ovlivňují jejich kvalitu, bezpečnost a trvanlivost. Především chrání potraviny během přepravy a manipulace s nimi [8].

Začlenění různých potravinářských přídatných látek, jako jsou antimikrobiální složky, antioxidanty, aroma a barviva, do struktury jedlých obalů dále rozšiřuje jeho možnosti využití. Mohou například blokovat UV záření a světlo, čímž zabraňují degradaci citlivých složek. Také regulují vlhkost, chrání před bakteriemi, plísněmi a kvasinkami a snižují riziko mechanického poškození. Díky nízké propustnosti pro kyslík a těkavé látky mohou zpomalit oxidaci a uchovat chuť i vůni potravin [6, 8, 10].

### **1.1.4 Srovnání s konvenčními obalovými materiály**

Obal je nezbytnou součástí potravinářského průmyslu pro udržení čerstvosti produktu a jeho fyzikálně-chemických vlastností během přepravy až do okamžiku spotřeby [11, 12].

Mezi konvenční obalové materiály patří papír, sklo, kovy a plasty. Papír je oblíbený pro svou biologickou odbouratelnost, nicméně při kontaktu s potravinami ztrácí své fyzikální vlastnosti a ochrannou funkci. Z tohoto důvodu se často kombinuje s plastem nebo hliníkem, což však omezuje jeho recyklovatelnost i biologickou rozložitelnost. Sklo patří k nejstarším obalovým materiálům. Je chemicky inertní, bez zápachu a dobře odolává vysokým teplotám i tlakům, což umožňuje jeho použití při sterilizaci. Kovové obaly, zejména z hliníku a oceli, jsou velmi odolné, plně recyklovatelné a poskytují účinnou ochranu proti vlhkosti, vzduchu, pachům i mikroorganismům. Hliník se navíc snadno tvaruje, zatímco ocel se využívá především jako pevný obalový materiál. Plasty jsou nejrozšířenějším obalem díky své dostupnosti, dobrům

bariérovým vlastnostem a nízké ceně, nicméně jejich používání je dnes omežováno kvůli ekologickým dopadům, protože nejsou plně recyklovatelné ani biologicky rozložitelné. Téměř 50 % celosvětového plastového odpadu pochází z oblasti obalů [6, 12]

Jedlé obaly vyrobené z biopolymerů nabízejí řadu výhod, včetně biologické rozložitelnosti, recyklovatelnosti a udržitelnosti. Jejich využití je však omezeno kvůli slabším mechanickým a bariérovým vlastnostem. Tyto nedostatky lze zlepšit přidáním různých aditiv. Aditiva mohou zvýšit pružnost, odolnost obalu a zlepšit ochranu proti plynům. Mezi běžná změkčovadla patří například glycerol nebo sorbitol, která zajišťují větší pružnost filmů a povlaků a umožňují jim lépe měnit tvar [13].

Hlavní rozdíl mezi jedlými a biologicky rozložitelnými obaly spočívá v tom, že u jedlých obalů by měly být všechny vybrané složky jedlého původu [14].

### **1.1.5 Význam jedlých obalů v ekologii**

Vzhledem k negativním dopadům konvenčních plastových obalových materiálů na životní prostředí a využívání neobnovitelných zdrojů roste mezi spotřebiteli povědomí o nutnosti ochrany životního prostředí. Většina potravinových obalů je vyrobena z jednorázových plastů, které nejsou biologicky rozložitelné a představují riziko nejen pro životní prostředí, ale i pro lidské zdraví. Podle zprávy a výzkumu trhů (2020–2025) se každoroční spotřeba plastových materiálů zvýšila přibližně o 230 milionů tun. Tyto skutečnosti vedly k hledání alternativních obalových materiálů na bázi přírodních surovin, které by zároveň minimalizovaly vznik odpadu [13, 15].

Jedlé obaly představují ekologicky šetrné a obnovitelné řešení díky své biologické odbouratelnosti, netoxicitě a biokompatibilitě. Jsou navrženy tak, aby nahradily konvenční plastové obaly a tím snížily jejich negativní dopad na životní prostředí. Rostoucí zájem spotřebitelů o kvalitu potravin, způsob jejich balení a likvidace obalů vede výzkumníky i výrobce k vývoji udržitelných obalových materiálů z biologických zdrojů. Jedlé obaly tak zapadají do principů oběhového hospodářství a reagují na poptávku po obalech, které nezatěžují životní prostředí a jsou vyráběny efektivním a šetrným způsobem [7, 13, 15].

## 1.2 KLASIFIKACE JEDLÝCH OBALŮ

Jedlé obaly jsou většinou tvořeny biomakromolekulami, které pocházejí z přírodních zdrojů a vykazují nízkou toxicitu. Díky své biokompatibilitě a biologické rozložitelnosti jsou dobře zpracovatelné a vhodné pro výrobu. Nejčastěji se získávají z polysacharidů, bílkovin (rostlinného i živočišného původu), lipidů nebo jejich kombinací [8, 10].

### 1.2.1 Jedlé obaly na bázi polysacharidů

Polysacharidy patří mezi nejrozšířenější přírodní polymery a v poslední době se často využívají při výrobě jedlých obalů. Jsou hojně dostupné z obnovitelných zdrojích, jako jsou rostliny, mořské řasy, mikroorganismy nebo sladkovodní i mořské řasy. Jejich fyzikálně-chemické vlastnosti se liší v závislosti na stupni polymerace, molekulové hmotnosti, velikosti kruhových struktur, typu chemických vazeb a přítomnosti větvení v jejich struktuře [8, 10].

Polysacharidy používané při výrobě jedlých obalů jsou netoxické a vyznačují se selektivní propustností pro oxid uhličitý a kyslík. Mezi nejčastěji využívané patří chitosan, pektin, přírodní gummy, škrob, celulóza, alginát a karagenan. Díky své uspořádané síti vodíkových vazeb vytvářejí účinnou bariéru proti plynům, zejména kyslíku. Tím pomáhají chránit potraviny před dehydratací, oxidačním žluknutím a povrchovým hnědnutím. Další vlastnosti polysacharidových obalů spočívají v tom, že jsou bezolejové a bezbarvé, díky čemuž mají nízký kalorický obsah [10, 16].

Polysacharidové obaly kvůli své hydrofilní povaze vykazují nižší účinnost jako bariéra proti vlhkosti. Pro zlepšení těchto vlastností se proto často kombinují s dalšími biopolymery. Vzniklé filmy pak vykazují lepší mechanickou odolnost i bariérové vlastnosti. Přidáním lipidů do polysacharidových nebo proteinových matic se zvyšuje odolnost vůči vlhkosti [10, 16, 17].

### 1.2.2 Jedlé obaly na bázi bílkovin

Jedlé obaly na bázi rostlinných bílkovin zahrnují kukuřičný zein, pšeničný lepek, sójovou, arašídovou, quinoovou a sezamovou bílkovinu. Naopak mezi filmotvorné látky živočišného původu patří keratin, vaječný bílek, myofibrilární bílkovina, kolagen, želatina, kasein a syrovátková bílkovina [10].

Bílkoviny jsou díky svým mechanickým, optickým (průhlednost) a fyzikálním vlastnostem (flexibilita a pevnost) ideálním materiálem pro výrobu biologicky rozložitelných filmů a povlaků. Jejich těsně svázaná a uspořádaná struktura, založená na vodíkových vazbách, navíc umožňuje účinně fungovat jako bariéra proti kyslíku, aromatickým látkám a organickým sloučeninám [10, 18].

Denaturované proteiny, jako je syrovátka, zein nebo sójová bílkovina, vytvářejí soudržnější struktury než polysacharidy a díky své schopnosti dobře přilnout k hydrofilnímu povrchu masa účinně fungují jako bariéra proti kyslíku a oxidu uhličitému. Proteinové filmy však mohou vykazovat omezenou odolnost vůči mechanickému namáhání a vyšší propustnost pro vodu, za suchých podmínek navíc často bývají křehké [16].

Jedlé filmy a povlaky na bázi bílkovin jsou biologicky odbouratelné a kompostovatelné. Během procesu degradace těchto filmů se uvolňuje dusík, což zvyšuje obsah dusíku v půdě a funguje jako přírodní hnojivo, což je další z výhod oproti jedlým obalům bez bílkovin [8].

### **1.2.3 Jedlé obaly na bázi lipidů**

Lipidy jsou přírodní sloučeniny pocházející z rostlin, živočichů a hmyzu. K výrobě jedlých filmů a povlaků se využívají různé lipidové zdroje, mezi něž patří oleje a tuky (např. kakaový, kokosový, palmový a arašídový olej, máslo, sádlo), vosky, přírodní pryskyřice a také emulgátory a povrchově aktivní látky (mastné kyseliny, mastné alkoholy a lecitin). Funkční rozmanitost lipidů zahrnuje mono-, di- a triacylglyceroly, fosfolipidy, fosfatidy, terpeny, cerebrosidy, mastné kyseliny a mastné alkoholy [10, 19].

Z chemického hlediska mají tuky a oleje podobnou strukturu, avšak liší se svými fyzikálními vlastnostmi. Tuky jsou při pokojové teplotě obvykle v pevném skupenství, zatímco oleje zůstávají kapalné [10, 19].

V potravinářském průmyslu nacházejí lipidy stále širší uplatnění při výrobě jedlých obalů. Hrají klíčovou roli při minimalizaci ztráty vlhkosti, neboť působí jako účinná hydrofobní bariéra. Kromě toho přispívají ke zvýšení lesku výrobků, optimalizaci výrobních nákladů a zjednodušení balicích procesů [8, 19].

Na rozdíl od bílkovin a polysacharidů nejsou lipidy schopné samostatně tvořit jedlé filmy. Ačkoli mohou vytvořit jedlý povlak, absence opakujících se jednotek propojených kovalentními vazbami jim brání v tvorbě souvislého filmu. Z tohoto důvodu se různé rostlinné a živočišné lipidy do filmotvorných roztoků přidávají ve formě emulze, aby díky své nízké polaritě zlepšily hydrofobní vlastnosti výsledného filmu. Obvykle se lipidové složky kombinují s hydrokoloidy (například celulórou, škrobem, bílkovinami či polysacharidy), čímž se dosahuje lepších mechanických a bariérových vlastností finálního filmu [10, 19].

## 1.3 ZMĚKČOVADLA

Jedlé filmy a povlaky mají často vysokou křehkost kvůli silným interakcím mezi polymerními řetězci, zejména vodíkovým vazbám, hydrofobním, disulfidovým a elektrostatickým interakcím. Pro zlepšení jejich zpracovatelnosti se proto přidávají změkčovadla, která snižují tyto interakce tím, že se vkládají mezi polymery [20].

Mezinárodní unie čisté a aplikované chemie (IUPAC) definuje změkčovadla jako přísady, které zvyšují flexibilitu, zpracovatelnost nebo roztažnost materiálové matrice [21].

Změkčovadla hrají zásadní roli při zachování pružnosti a strukturální integrity filmu nebo povlaku. Filmy bez jejich přítomnosti bývají tuhé a vykazují vysokou pevnost v tahu, zatímco přidavek změkčovadel zvyšuje jejich pružnost, roztažnost a odolnost. Mezi nejčastěji používaná potravinářská změkčovadla patří mono-, di- a oligosacharidy, polyoly (např. glycerol, sorbitol, deriváty glycerolu a polyethylenglykoly) a lipidy spolu s jejich deriváty (například fosfolipidy, mastné kyseliny, oleje a vosky) [21].

### 1.3.1 Glycerol jako změkčovadlo v jedlých obalech

Glycerol je řazen mezi polyoly díky obsahu tří hydroxylových skupin (systematický název propan-1,2,3-triol). Patří mezi nejčastěji používaná změkčovadla při výrobě jedlých filmů, a to zejména díky své stabilitě při aplikaci do biopolymerních směsí a schopnosti výrazně ovlivnit jejich mechanické a bariérové vlastnosti. Přidavek glycerolu do struktury filmu snižuje intermolekulární síly mezi polymerními řetězci, čímž zvyšuje jejich pohyblivost a současně zlepšuje pružnost výsledného materiálu [21].

Při výzkumu koncentrace pektinu a glycerolu na vlastnosti jedlých filmů z citronové kůry bylo zjištěno, že s rostoucí koncentrací glycerolu klesá pevnost v tahu filmu, zatímco prodloužení při přetržení se zvyšuje. Tento pokles pevnosti v tahu je způsoben vložením glycerolu mezi polymerní řetězce, což zvyšuje volný prostor a mobilitu polymerů [22].

## 1.4 VÝVOJ A PŘÍPRAVA JEDLÝCH OBALŮ V POTRAVINÁŘSTVÍ

Tato technologie má v oblasti konzervace potravin dlouhou tradici. První dochované zmínky pocházejí z Číny ze 12. až 13. století, kde se k uchování citrusových plodů používalo potahování roztaveným voskem. V 16. století byla tato metoda rozšířena i na prodlužování trvanlivosti masných výrobků. V 19. století bylo ve Spojených státech patentováno využití želatiny pro konzervaci masa [23].

Díky tomu, že jsou jedlé obaly vyráběny z rostlinných, živočišných či mořských zdrojů nebo z přírodních polymerů potravinářské kvality, jako jsou polysacharidy, bílkoviny a lipidy, je možné je spolu s potravinou přímo konzumovat [9, 13].

Před samotnou tvorbou obalu je nejprve nutné rozpustit základní biopolymer v rozpouštědle, například ve vodě, alkoholu nebo jejich směsi. Tím dochází k vytvoření disperzního emulzního systému (v případě lipidové báze) nebo koloidního systému (v případě polysacharidové či proteinové báze). V této fázi lze do roztoku přidat různé aktivní látky, jako jsou antioxidanty, antimikrobiální složky, barviva, aromata či změkčovadla, s cílem zlepšit vlastnosti výsledného materiálu. Proces přeměny základního roztoku do konečné formy se pak liší v závislosti na požadovaném typu obalu, neboť výroba filmů a povlaků se navzdory jejich podobnému účelu odlišuje [6, 24].

Při vývoji jedlých obalů je klíčové zohlednit interakci s povrchem potraviny, aby byla zajištěna dostatečná přilnavost. Dále je důležité sledovat vliv na trvanlivost, sensorické vlastnosti a stabilitu během skladování, které ovlivňují podmínky jako teplota, vlhkost a světlo. Významnou roli hraje také způsob zpracování, například teplota aplikace, barva a tloušťka povlaku [8].

Existují čtyři hlavní metody aplikace jedlých povlaků a dvě hlavní přípravy jedlých filmů na potraviny. Pro aplikaci povlaků se využívá metoda namáčení, nástřiku, potírání, obalování v bubnu a obalování ve fluidním loži. Pro vývoj jedlých filmů se využívá suchá metoda, která je založena na extruzi nebo lisování, a mokrá metoda, která spočívá v lití do rozpouštědel [13, 14].

### 1.4.1 Aplikace jedlých povlaků na potraviny

Jedlé povlaky lze na potraviny nanášet různými metodami v závislosti na jejich typu a požadovaných vlastnostech výsledné vrstvy. Výběr vhodné aplikační techniky je klíčový pro dosažení požadované funkčnosti a estetických vlastností jedlého povlaku [13].

Mezi nepoužívanější techniky nanášení jedlých obalů patří **namáčení**, při kterém se celý produkt ponoří do filmotvorného roztoku. Na jeho povrchu vznikne souvislá vrstva, která

po odpaření rozpouštědla ztuhne. Tato metoda je jednoduchá, cenově dostupná a umožňuje rovnoměrné pokrytí i nepravidelně tvarovaných potravin, jako je ovoce či zelenina [13, 14, 25].

Další často využívanou metodou je **nástřik**, při němž se roztok aplikuje rozprašovačem přímo na povrch potraviny. Tento způsob umožňuje vytvoření tenké a rovnoměrné vrstvy s možností přesné kontroly její tloušťky a spotřebovává jen malé množství rozpouštědla. Nástřik je vhodný i pro aplikaci více vrstev, avšak není ideální pro materiály s vysokou viskozitou [13, 24].

Pro drobné výrobky, například cukrovinky nebo malé plody, se používá **obalování v bubnu**. Produkty se vloží do otáčející se nádoby, kde jsou za stálého pohybu rovnoměrně potahovány filmotvorným roztokem a následně sušeny. Tento postup se opakuje, dokud není dosaženo požadované tloušťky ochranného povlaku [13]

Poslední metodou je **obalování ve fluidním loži**, kde jsou drobné produkty nadnášeny proudem vzduchu a současně potahovány roztokem rozprašovaným pomocí trysek. Tento způsob umožňuje vytvoření jemné ochranné vrstvy například na pšeničných zrnech nebo ořechách [13].

#### 1.4.2 Výroba jedlých filmů

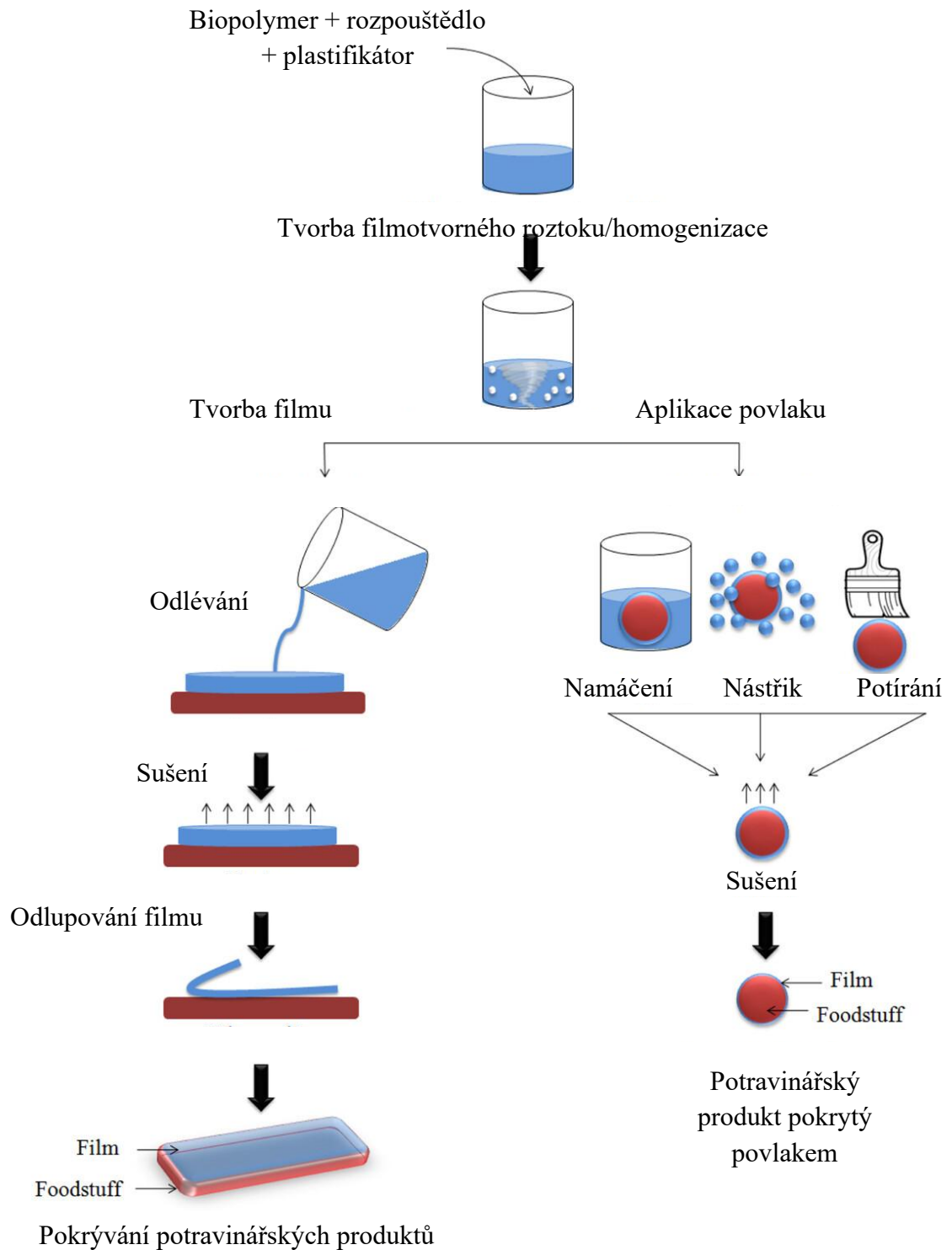
Výroba jedlých filmů se realizuje dvěma základními metodami: suchou a mokrou metodou.

**Suchá metoda**, označovaná také jako extruze, využívá termoplastické vlastnosti biopolymerů při nízkém obsahu vlhkosti. V tomto procesu se biopolymery spolu s přídatnými látkami dávkuje do extrudéru, kde procházejí hnětací a topnou zónou. Směs je zahřata nad teplotu skelného přechodu a následně vytlačena přes trysku, která určuje tvar a tloušťku filmu. Výsledná fólie se po ochlazení stabilizuje. Extruze je rychlá a energeticky efektivní metoda vhodná pro průmyslovou výrobu, avšak není vhodná pro materiály citlivé na vysoké teploty, které mohou během procesu degradovat [7, 9, 13, 26].

**Mokrý metoda** (lití pomocí rozpouštědla) je nejčastěji využívána v laboratorním a poloprodučním měřítku. Filmotvorné složky se nejprve rozpustí v netoxickém rozpouštědle, například ve vodě nebo ethanolu, a poté se roztok nalije na formu. Následné sušení vede ke vzniku pevné fólie. Tato metoda je jednoduchá, cenově dostupná a chrání teplotně citlivé materiály před degradací. Nevýhodou je však delší doba sušení a složitější přechod na průmyslovou výrobu kvůli možným výkyvům v kvalitě filmu [9, 13, 26].

Kvalita výsledného filmu je ovlivněna rychlostí sušení a koncentrací změkčovadel, které určují mechanické vlastnosti, bariérovou funkci vůči vlhkosti a plynům, pevnost v tahu i pružnost výsledného materiálu [13].

Obrázek 1 popisuje přípravu jedlých filmu mokrou metodou (vlevo) a aplikaci filmového povlaku metodou namáčení, nástřikem a potíráním.



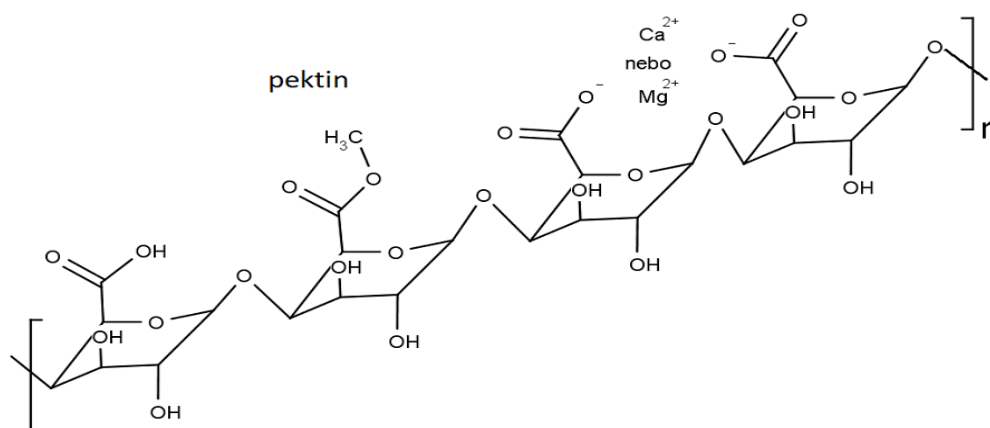
Obrázek 1: Příprava jedlých filmu mokrou metodou (vlevo) a aplikaci filmového povlaku metodou namáčení, nástřikem a potíráním [21]

## 1.5 JEDLÉ OBALY NA BÁZI PEKTINU

### 1.5.1 Charakteristika a vlastnosti pektinu

Pektin je složitý polysacharid složený převážně z řetězců kyseliny  $\alpha$ -D-galakturonové spojenou glykosidickými vazbami, částečně esterifikované methanolvými skupinami. Strukturální vzorec pektinu viz obrázek 2. Vyskytuje se primárně v buněčných stěnách a mezibuněčných vrstvách rostlin, kde plní strukturální a regulační funkce [16, 27, 28].

Pektin je široce používán v průmyslu jedlých obalů díky své biologické rozložitelnosti, biokompatibilitě, požitelnosti, všestranným chemickým a fyzikálním vlastnostem [10].



Obrázek 2: Strukturální vzorec pektinu [29]

### 1.5.2 Zdroje a metody extrakce pektinu

Pektin je přírodní polysacharid přítomný v buněčných stěnách rostlin, přičemž jeho hlavními průmyslovými zdroji jsou citrusové slupky, jablečné výlisky a vedlejší produkty z cukrovarnického průmyslu. Získává se z vedlejších zemědělských produktů, čímž představuje ekonomický a udržitelný biopolymer. Před extrakcí je nutné suroviny očistit a usušit, aby se zvýšila účinnost procesu [30, 31, 32].

Nejrozšířenější průmyslovou metodou je kyselá extrakce, kdy se rostlinný materiál ošetřuje při nízkém pH a vysoké teplotě za použití minerálních kyselin. Po extrakci se pektin sráží ethanolom, filtruje, promývá a suší. Přestože je tato metoda efektivní, má nevýhody, jako je dlouhá doba zpracování, vysoká spotřeba energie, ekologická zátěž a riziko degradace struktury pektinu [30, 33].

V reakci na tyto nevýhody byly vyvinuty nové alternativní techniky, jako je ultrazvuková, mikrovlnná, enzymatická a podkritická extrakce vodou. Tyto moderní metody zvyšují výtěžnost, snižují spotřebu rozpouštědel a energie a minimalizují negativní dopady na životní prostředí, čímž představují ekologičtější a efektivnější alternativu ke klasickým postupům [30, 32, 34].

### 1.5.3 Využití pektinu v potravinářství a dalších odvětvích

Pektin, komerčně vyráběný od počátku 20. století, se široce využívá v potravinářství jako želírující činidlo, zahušťovadlo, stabilizátor a emulgátor. Přidává se do džemů, marmelád, ovocných šťáv, cukrovinek, mléčných i masných produktů, omáček a nízkokalorických potravin, kde často nahrazuje cukr nebo tuk. Výběr typu pektinu závisí na požadovaných vlastnostech finálního výrobku. V konzervách zvyšuje podíl rozpustných sušin, v emulzích stabilizuje olejové kapky, v pečivu udržuje želé náplně během pečení, v mléčných nápojích brání srážení kaseinu a u mražených produktů zpomaluje tvorbu ledových krystalů, čímž zachovává jejich kvalitu [30, 32, 33].

Díky své schopnosti bránit průniku kyslíku, oleje i pachů je pektin ideálním materiálem pro balení potravin. Lze jej aplikovat přímo na povrch potravin ve formě nátěru nebo použít jako jedlý obal vyrobený ze sušených pektinových fólií. Nátěry se obvykle nanášejí postříkem nebo ponořením do kapalného roztoku, zatímco pektinové fólie se nejčastěji vyrábějí metodou lití roztoku. Alternativně lze využít i metody jako extruze [27, 30, 33].

Obaly vyrobené z pektinu neposkytují dostatečnou bariéru proti vlhkosti, a proto se doporučují zejména pro potraviny s nízkým obsahem vlhkosti. Tyto problémy lze částečně vyřešit modifikací [14, 27].

### 1.5.4 Modifikace pektinových obalů (přídavek plastifikátorů, zesíťování)

Pektinové fólie vykazují dobré bariérové vlastnosti proti kyslíku, avšak jejich čistá forma má několik nedostatků, včetně nízké mechanické pevnosti, křehkosti a omezené odolnosti proti vlhkosti. Pro zlepšení těchto vlastností se běžně používají plastifikátory, jako je glycerol, sorbitol nebo polyethylenglykol (PEG), které zvyšují pružnost fólií [30, 33].

Pro zlepšení funkčních vlastností pektinových obalů se kromě plastifikátorů využívá kombinace s dalšími polymery, jako je chitosan, škrob, polyethylenglykol, kyselina polymléčná, polyvinylalkohol či přírodní proteiny. Odolnost fólií vůči vlhkosti a plynům lze dále zvýšit přidáním hydrofobních látek do polymerní matrice [33].

Pektinové fólie mohou být obohaceny i o bioaktivní složky, jako jsou rostlinné extrakty, antioxidanty, antimikrobiální látky či nanomateriály. Tím se výrazně zlepšují jejich antioxidační a antimikrobiální vlastnosti. Aktivní obaly na bázi pektinu tak představují ekologickou alternativu k tradičním chemickým konzervantům. Přítomné antioxidanty navíc pomáhají eliminovat volné radikály a zabraňují jejich vzniku, čímž přispívají k ochraně kvality a prodloužení trvanlivosti potravin [30, 33].

## 1.6 OBALY NA BÁZI POLYVINYLALKOHOLU (PVA)

Polyvinylalkohol (PVA) je syntetický, biologicky odbouratelný polymer ve formě bílé, vločkovité nebo práškové pevné látky bez zápachu. Je dobře rozpustný ve vodě, částečně rozpustný v dimethylsulfoxidu, avšak nerozpouští se v organických rozpouštědlech, jako jsou benzín, petrolej, rostlinné oleje, benzen, toluen, dichlorethan, tetrachlormethan, aceton, ethylacetát, methanol a ethylenglykol [35, 36].

Polyvinylalkohol je známý svou netoxicitou, vynikající filmotvornou schopností, mechanickou pevností, pružností a chemickou odolností, což ho činí ideálním materiálem pro výrobu jedlých a ekologických obalů. Díky těmto vlastnostem se hojně využívá v potravinářském průmyslu, kde umožňuje výrobu pevných, průhledných obalů bez zápachu, bezpečných pro přímý styk s potravinami. Obaly vyrobené z PVA poskytují dobrou bariéru proti kyslíku, což pomáhá prodlužovat trvanlivost potravin tím, že snižují míru oxidace a zpomalují proces kažení [35, 37, 38].

### 1.6.1 Výroba a zpracování polyvinylalkoholu (PVA)

Polyvinylalkohol (PVA) vzniká polymerací vinylacetátového monomeru na polyvinylacetát (PVAc), následovanou hydrolyzou acetátových skupin za vzniku PVA. Tento proces probíhá za přítomnosti methanolu a katalyzátoru na bázi hydroxidu sodného [36, 39].

Jeho vlastnosti jsou ovlivněny molekulovou hmotností, stupněm hydrolyzy a podmínkami polymerace výchozího monomeru polyvinylacetátu [37].

Stupeň hydrolyzy výrazně ovlivňuje konečné vlastnosti polymeru, který je dostupný ve třech variantách: částečně hydrolyzovaný (84,2–89 %), středně hydrolyzovaný (92,2–96,5 %) a plně hydrolyzovaný (98–99 %) [24, 36, 39].

Výroba PVA probíhá dvěma hlavními metodami, mokrou a suchou alkoholýzou. Při mokré alkoholýze obsahuje methanolvý roztok PVAc 1–2 % vody a používá se velké množství hydroxidu sodného, což umožňuje rychlou reakci a vyšší výrobní kapacitu. Nevýhodou je však vyšší tvorba vedlejšího produktu octanu sodného, který snižuje čistotu výsledného PVA. Suchá alkoholýza, která probíhá téměř bez vody (méně než 1 %), využívá podstatně menší množství hydroxidu sodného a minimalizuje vznik nežádoucích vedlejších produktů. Ačkoli je tato metoda pomalejší, dnes je preferována díky vyšší kvalitě získaného PVA. [36].

### 1.6.2 Využití Polyvinylalkohlu

Polyvinylalkohol se díky své biokompatibilitě, průhlednosti, chemické odolnosti, pevnosti, netoxičnosti, rozpustnosti ve vodě a vynikajícím filmotvorným vlastnostem uplatňuje v široké škále průmyslových, lékařských, komerčních i potravinářských aplikací. Využívá se při výrobě obalových materiálů, v papírenském a textilním průmyslu, při výrobě překližek, tlak citlivých lepidel, membrán, vodorozpustných fotorezistů a také v biomedicíně, například ve formě očních kapek nebo potahových látek na tablety [38].

Polyvinylalkohol je v oblasti ekologických obalů intenzivně zkoumán jako možná alternativa ke konvenčním plastům. Díky schopnosti vytvářet pevné filmy, své biologické rozložitelnosti, vysokému krystalovému modulu a zvýšené krystalinitě je vhodným kandidátem pro vývoj udržitelných obalových materiálů [40].

### 1.6.3 Kombinace PVA s jinými biopolymery

Nevýhodou čistého polyvinylalkoholu (PVA) je to, že je drahý a jeho fólie jsou citlivé na vlhkost. Přidání přírodních polymerů do PVA fólií se ukázalo jako efektivní metoda jejich úpravy. Bylo prokázáno, že modifikace PVA obalových fólií přírodními polymery zlepšuje jejich bariérové vlastnosti vůči plynům, snižuje jejich environmentální dopad a zároveň vylepšuje fyzikálně-chemické, biologicky odbouratelné a funkční vlastnosti. Díky tomu mohou směsné PVA fólie sloužit k výrobě jedlých filmů s vylepšenými vlastnostmi. Nedávné studie navíc potvrzují rostoucí využití polysacharidů a proteinů při produkci PVA filmů [35, 37].

Nejčastěji se využívá směsí s chitosanem, škrobem a karboxymethylcelulózou (CMC), kde vznik vodíkových vazeb posiluje mechanickou pevnost, bariérové vlastnosti i biologickou rozložitelnost materiálů. Chitosan přidává antimikrobiální účinky a ochranu proti UV záření, škrob zvyšuje ekologičnost za cenu snížení pevnosti a CMC zlepšuje mechanickou odolnost a voděodolnost. PVA se rovněž kombinuje s dalšími polymery, jako je alginát či želatina, zejména pro využití v potravinářství, medicíně a obalovém průmyslu [38].

## 1.7 BARVIVO E120 (KARMÍN A KYSELINA KARMÍNOVÁ)

### 1.7.1 Barviva v potravinách

Organoleptické vlastnosti, jako je vzhled, chuť a vůně, zásadně ovlivňují přijetí, výběr a následnou konzumaci potravin spotřebiteli. Mezi těmito vlastnostmi hraje barva jednu z nejvýraznějších rolí [41].

Přestože přírodní potraviny mají svou vlastní barvu, různé technologické procesy a faktory, jako je přítomnost nebo nepřítomnost kyslíku, kovových iontů, světla, pH a vodní aktivity, mohou způsobit její nežádoucí změny. Aby se těmto změnám zabránilo, potravinářský průmysl široce využívá chemické látky ovlivňující barvu potravin. Tento vývoj je zároveň doprovázen zpřísnujícími se legislativními opatřeními, která mají zajistit správné výrobní postupy a ochranu spotřebitelů. Podle definice FDA je potravinářské barvivo jakákoli látka, pigment nebo sloučenina, která po přidání či aplikaci na potraviny, léčiva, kosmetiku nebo na lidské tělo dokáže samostatně nebo v reakci s jinými látkami dodat barvu [41].

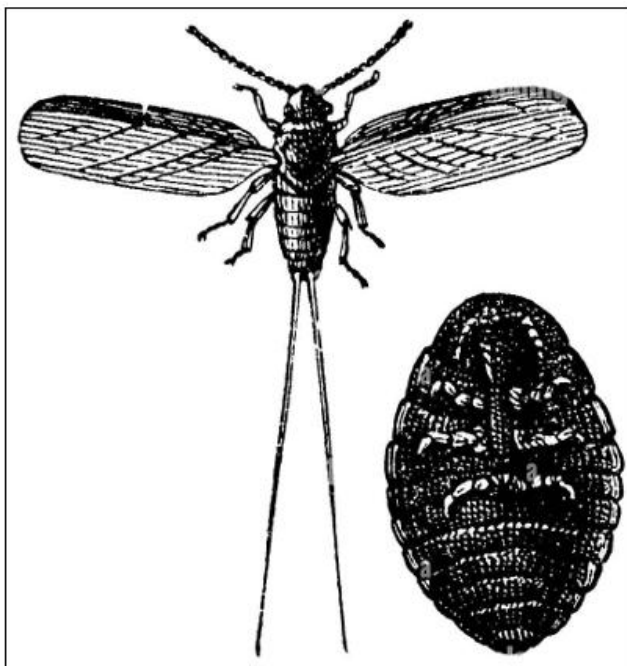
Barviva lze klasifikovat podle původu (přírodní, syntetická, anorganická), rozpustnosti nebo krycí schopnosti. Přírodní barviva pocházejí z rostlin (např. kurkumin, karotenoidy, antokyany), živočišných zdrojů (např. kyselina karmínová), mikroorganismů nebo minerálů (např. oxid titaničitý, uhličitán vápenatý). Díky původu jsou biologicky odbouratelná, obnovitelná a šetrná k životnímu prostředí. Jejich výroba obvykle vyžaduje minimální chemické zpracování, což snižuje ekologickou zátěž. Přírodní barviva se získávají metodami jako extrakce rozpouštědlem, mikrovlnná, ultrazvuková nebo superkritická extrakce. Syntetická barviva se vyrábějí chemickou syntézou a v přírodě se nevyskytují [41, 42, 43].

Potravinářská barviva, ať již syntetická či přírodní, jsou v potravinářských aplikacích používána v souladu se stanovenými limity denního příjmu. Přestože syntetická barviva jsou nejvíce rozšířená díky své stabilitě a intenzivnímu zbarvení, jejich dlouhodobé užívání je spojováno s řadou možných nežádoucích účinků, včetně alergických reakcí, behaviorálních změn a neurokognitivních poruch [44].

V souvislosti s rostoucími obavami o zdraví spotřebitelů se potravinářský průmysl stále více zaměřuje na využívání přírodních barviv. Tato barviva nejen přispívají k dosažení požadovaných sensorických a estetických vlastností potravin, ale zároveň často vykazují biologickou aktivitu, která může podporovat zdraví konzumentů. V návaznosti na tento trend se v poslední době vědecká komunita působící v oblasti potravinářství a potravinářských technologií soustředí na intenzivní výzkum nových přírodních barviv, včetně kyseliny karmínové [44].

### 1.7.2 Charakteristika košenily, kyseliny karmínové a karmínu

Košenila je přírodní červené barvivo, které se získává ze sušených těl samic červce nopálového *Dactylopius coccus* (obr. 3). Samicemi červce nopálového je produkována jako součást jejich přirozené obrany proti predátorům. Tento pigment se ukládá v hemolymfě hmyzu, kde plní ochrannou funkci a pomáhá odrazovat jiné hmyzí druhy a živočichy od útoků. Termín košenila správně označuje přímo sušená těla červců, ale běžně se tento termín používá jak pro samotný hmyz, tak pro barvivo z něj získané [45, 46].



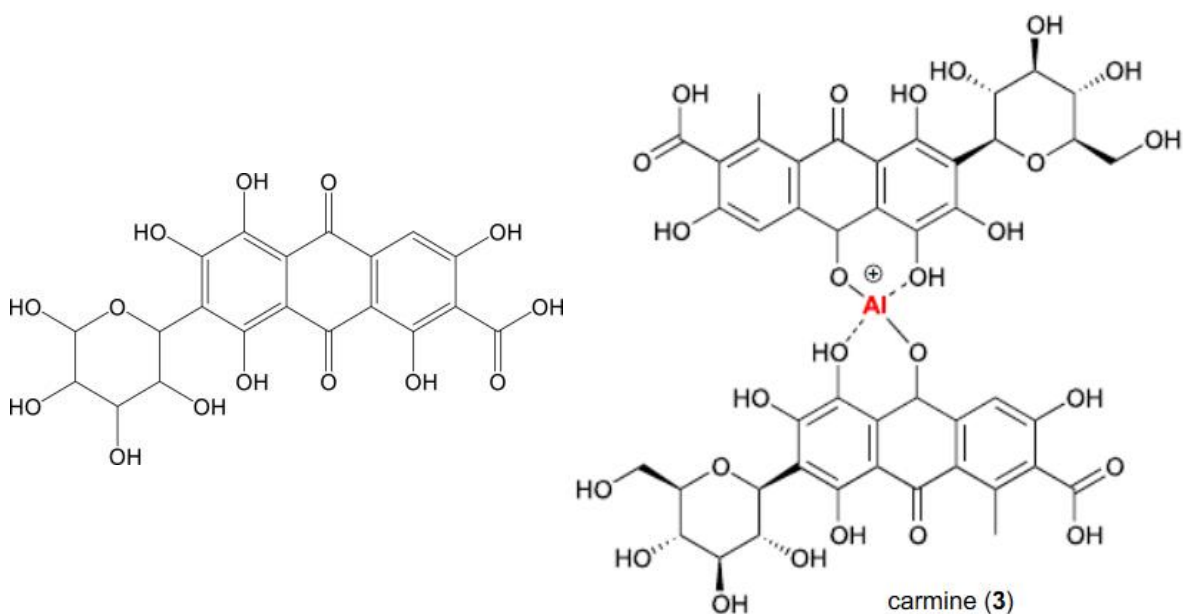
Obrázek 3: Samec (vlevo) a samice (vpravo) červce nopálového *Dactylopius coccus* [46]

Barevnou složkou košenily je kyselina karmínová. Nejvyšší obsah kyseliny karmínové v těle obsahuje červec nopálový *Dactylopius coccus*, který obsahuje až 26 % kyseliny karmínové v sušené hmotnosti hmyzu, což z těchto hmyzích jedinců činí velmi efektivní zdroj tohoto barviva. Je to výrazně vyšší podíl ve srovnání s jinými zdroji, jako je *Porphyrophora polonica* L. s pouhými 0,6 % nebo *Porphyrophora hameli* Brandt s 0,8 % pigmentu. K získání 1 kilogramu sušeného hmyzího materiálu určeného pro extrakci kyseliny karmínové je zapotřebí přibližně 80 000 až 100 000 jedinců [47, 48].

Molekulární vzorec kyseliny karmínové je  $C_{22}H_{20}O_{13}$  a její molekulová hmotnost činí 492,4 g/mol. Z chemického hlediska se jedná o derivát antrachinonu obsahující čtyři hydroxylové skupiny (tetrahydroxyantrachinon). Její struktura odpovídá 1,3,4,6-tetrahydroxy-9,10-antrachinonu, který je na pozici 8 substituován methylovou skupinou, na pozici 7 karboxylovou skupinou a na pozici 2 je prostřednictvím C-glykosidové vazby navázána glukózová jednotka (konkrétně 1,5-anhydro-D-glucitol). Struktura kyseliny karmínové je zobrazena na obrázku 4 [48].

Bod tání kyseliny karmínové je 135 °C, ale její struktura se může změnit již při teplotě nad 80 °C při dlouhodobém zahřívání. Kyselina karmínová je také známá svými antioxidačními vlastnostmi. Studie prokázaly její schopnost zachytávat volné radikály ve vodných a metanolvých roztocích, přičemž vykazuje aktivitu srovnatelnou s dobře známými antioxidanty, jako je kyselina askorbová nebo trolox. Díky těmto jedinečným vlastnostem a širokému množství využití hraje klíčovou roli v potravinářském průmyslu [47, 48, 49].

Karmín představuje chelátové komplexy kyseliny karmínové s různými kovovými ionty. Nejčastěji používaným a v mnoha zemích výhradně povoleným pigmentem živočišného původu je hliníkový lak kyseliny karmínové. Nejpravděpodobnější struktura karmínu (obrázek 4) byla navržena jako chelátový komplex jednoho iontu hliníku se dvěma molekulami kyseliny karmínové prostřednictvím karbonyl-hydroxylových párů [47, 49, 50].



Obrázek 4: Strukturální vzorec kyseliny karmínové (vlevo) a karmínu (vpravo) [50, 51]

### 1.7.3 Legislativa

Používání kyseliny karmínové (E 120) v potravinách je v Evropské unii regulováno nařízením (ES) č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách, které stanovuje podmínky pro její použití a maximální povolené limity. Látka E 120 zahrnuje tři formy (košenilový extrakt, kyselinu karmínovou a karmíny). Jejich složení je dále specifikováno v nařízení komise (EU) č. 231/2012, které požaduje, aby karmíny obsahovaly minimálně 50 % kyseliny karmínové. Zbývající podíl (až 50 %) není přesně definován, což bylo předmětem diskuse při hodnocení jejich bezpečnosti [52, 53, 54].

V roce 2015 přehodnotil Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) toxikologické vlastnosti kyseliny karmínové a dospěl k závěru, že tato látka nepředstavuje zdravotní riziko pro spotřebitele při současných úrovních expozice. Přijatelný denní příjem (ADI) zůstává v platnosti ve výši 5 mg/kg tělesné hmotnosti/den pro karmín, což odpovídá 2,5 mg/kg tělesné hmotnosti/den v přepočtu na čistou kyselinu karmínovou [52, 55].

Podle nařízení (EU) č. 1169/2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům musí být na obalech potravin uveden název kategorie přídatné látky a její konkrétní název nebo E-číslo. V případě kyseliny karmínové se tedy na etiketách uvádí například: „barvivo: kyselina karmínová“ nebo „barvivo: E 120“ [56, 57].

### 1.7.4 Zisk košenily a produkce kyseliny karmínové

Pěstování červce nopálového je specializovaný proces, který se praktikuje již po staletí, především v andských oblastech Peru a Mexika. Tento postup zahrnuje několik fází, včetně přípravy hostitelského kaktusu, nasazení hmyzu a řízení procesu sklizně [46].

Červec nopálový je parazitický hmyz, který se přirozeně vyskytuje na kaktusech rodu *Opuntia* (zejména *Opuntia ficus-indica*). Těmto kaktusům se nejlépe daří v suchých a polosuchých oblastech tropů a subtropů, kde panují ideální podmínky jak pro růst rostlin, tak pro vývoj hmyzu. *Opuntia* je odolná vůči suchu a vyžaduje minimální množství vody, což z ní činí vhodnou plodinu pro regiony s omezenými srážkami. Farmáři připravují kaktusy k pěstování odstraněním ostnů a zajištěním vhodného prostředí pro jejich zdravý růst. Pro komerční pěstování červce by měly být hostitelské kaktusy staré dva až tři roky, aby byly dostatečně silné na přežití velkého množství parazitujících jedinců. Největší produkce karmínového barviva pochází z Peru, Mexika, Bolívie, Chile a Kanárských ostrovů, přičemž nejvýznamnější oblastí produkce je region Ayacucho v Peru. [46, 47].

Samice červců jsou přenášeny na ploché části kaktusů, kde se přichycují a začínají se živit rostlinnými šťávami. Vývoj hmyzu je pečlivě sledován, aby byly zajištěny optimální podmínky

pro růst, a zároveň jsou přijímána opatření proti predátorům, jako jsou mravenci, kteří mohou červce poškodit. V závislosti na klimatických podmínkách lze červce sklízet několikrát do roka [46].

Metody chovu červce se liší v závislosti na regionu. V Peru převažuje tradiční způsob sběru hmyzu z volně rostoucích kaktusů, což však vede k proměnlivé kvalitě v obsahu kyseliny karmínové. Naproti tomu v Chile a Mexiku se na plantážích využívají moderní postupy, jako je cílené hnojení, zavlažování a mechanizovaná sklizeň, které zajišťují vysokou kvalitu a stabilní produkci košenily [47].

Po několika měsících, kdy červci dosáhnou požadované velikosti a optimálního obsahu kyseliny karmínové, je zahájena sklizeň. Ta obvykle probíhá ručně nebo s pomocí mechanických kartáčů, které hmyz šetrně odstraňují z kaktusů [46].

Po sklizni jsou samice buď krátce vařeny ve vroucí vodě, nebo častěji sušeny na slunci či v sušičkách. Moderní zpracovatelé dbají na pečlivě řízené podmínky sušení, aby zajistili rovnoměrnou kvalitu výsledného produktu. Následně je sušený hmyz proséván k odstranění nečistot a jedinců s nízkým obsahem kyseliny karmínové. Poté se materiál ošetřuje organickými rozpouštědly, jako je hexan, k odstranění vosků a lipidů. Výsledný odtučněný materiál se následně rozdrtí na jemnější částice, což zvyšuje výtěžnost následné extrakce [47, 49].

#### **1.7.5 Extrakce, purifikace a výroba karmínu**

Extrakce přírodních pigmentů je obecně náročný proces, protože může ovlivnit jejich barevné vlastnosti i stabilitu výsledného produktu. Výběr vhodné extrakční metody je proto klíčový. Musí být nejen účinný a ekonomicky výhodný, ale zároveň musí zachovat stabilitu pigmentu [44, 58].

Tradiční metody extrakce jsou sice technicky jednoduché a méně náročné, nicméně vykazují řadu nevýhod, jako je vysoká spotřeba energie a rozpouštědel, dlouhá doba procesu a nízká výtěžnost, což celkově zvyšuje náklady a snižuje udržitelnost výroby. Významnou roli při extrakci a výrobě barviva hraje schopnost kyseliny karmínové vytvářet komplexy s kovovými ionty, což je jeden ze základních principů tohoto procesu [44, 58].

Extrakce spočívá v sušení červců, buď přirozeně na slunci, nebo v sušičkách. Po usušení se hmyz rozele na jemný prášek, který se následně smísí s vodou nebo organickými rozpouštědly, jako je ethanol či methanol, aby se usnadnila extrakce kyseliny karmínové. Směs se za míchání zahřívá, čímž se podpoří uvolnění pigmentu. Tento postup je jednoduchý a využíván po staletí, nicméně může vést k rozdílným odstínům barvy a kolísající kvalitě výsledného produktu [46, 49].

Mezi alternativní metody extrakce patří superkritická extrakce tekutin, mikrovlnně asistovaná extrakce (MAE), ultrazvukem asistovaná extrakce (UAE) a vysokotlaká homogenizace. Tyto metody byly vyvinuty za účelem snížení doby extrakce, zvýšení extrakce pigmentu, snížení energie a spotřeby rozpouštědla [58].

Výsledný extrakt je obvykle známý a prodáván jako košenila nebo košenilový extrakt. Může být koncentrován na obsah kyseliny karmínové 2 % až 5 %. Kromě kyseliny karmínové obsahuje rozpustné bílkoviny, sacharidy, další zbytkový materiál z hmyzu a různé iontové soli z procesu extrakce. Kromě kapalných přípravků je košenila k dispozici také jako prášek sušený rozprašováním s obsahem kyseliny karmínové mezi 2 % a 7 % [47].

Čištěná kyselina karmínová je možným produktem získaným z výše uvedeného surového extraktu košenily, který poskytuje až 99% čistoty. Nicméně čistá kyselina karmínová je drahá a v potravinářském průmyslu se používá jen zřídka [47].

Vzhledem k tomu, že čistá kyselina karmínová se v praxi využívá jen zřídka, surový oranžový extrakt z košenily se před použitím v barevných kompozicích dále čistí a upravuje s cílem získat stabilní pigment **karmín**. Příprava karmínu spočívá ve snížení pH extraktu na přibližně 5 přidávkem kyseliny citronové spolu s hlinitými a vápenatými solemi. Vzniklý lak se následně zahřívá při teplotě 100 °C po dobu 15 až 20 minut. Během tohoto procesu dochází k tvorbě komplexů mezi ionty kovů a kyselinou karmínovou, což vede ke vzniku nerozpustného karmínu, který je následně oddělen sedimentací nebo centrifugací. Vysrážený karmín se poté promyje deionizovanou vodou, sterilizuje při 120 °C a suší na zbytkovou vlhkost nižší než 3 %. Výsledný produkt obsahuje 50–65 % kyseliny karmínové a může být dále jemně mlet a balen do polyetylenových obalů [47, 59].

#### **1.7.6 Historické využití kyseliny karmínové a karmínu a využití v současnosti**

Použití košenilového barviva lze vystopovat až k dávným civilizacím Střední a Jižní Ameriky, zejména Aztékům a Mayům, kteří si tohoto barviva mimořádně cenili pro jeho výraznou červenou barvu. První záznamy o jeho využití sahají až do roku 700 př. n. l. ve starověké Americe, přičemž domorodí obyvatelé vyvinuli pokročilé metody chovu a sklizně košenily [46, 60].

S příchodem španělských dobyvatelů v 16. století se košenilové barvivo stalo významným obchodním artiklem, jehož hodnota na trzích byla srovnatelná se zlatem a stříbrem. Byla intenzivně vyvážena do Evropy, kde zcela nahradila dřívější zdroje červených pigmentů. V Evropě, zejména ve středověku a renesanci, symbolizovala červená barva moc a bohatství. Proto královské a aristokratické oděvy často obsahovaly odstíny karmínu. Aztéctí barvíři

používali jako mořidlo kamenec (síran draselno-hlinitý), aby kyselina karmínová lépe přilnula k tkaninám [46, 60].

Historický význam košenilového barviva potvrzuje jeho dlouhodobé využívání a skutečnost, že až do nástupu syntetických barviv v 19. století patřilo k nejdůležitějším přírodním pigmentům. Ačkoli s rozšířením syntetických barviv jeho používání postupně ustoupilo, v současnosti košenila zažívá obnovený zájem díky svému přírodnímu původu a rostoucí poptávce po udržitelných produktech [45].

Dnes je karmín vnímán jako přírodní alternativa k syntetickým červeným barvivům, zejména v potravinářském průmyslu, kde je používán jako aditivum. V Evropě i Severní Americe je použití košenily a karmínu široce povoleno. V potravinářských výrobcích je karmín běžně označován jako E 120 a nachází uplatnění například v jogurtech, džusech, zmrzlinách, cukrovinkách či džemech. Kromě toho se hojně využívá v kosmetických přípravcích, jako jsou rtěnky, tvářenky a oční stíny, a své místo nachází i ve farmaceutickém a plastovém průmyslu [49, 59].

V masném průmyslu se karmínové barvivo přidává do klobás, salámů a dalších uzenin, kde zajišťuje výraznou červenou barvu. Kyselina karmínová se dobře rozpouští ve vodě a je často používána ve vařených šunkách a klobásách. Díky tomu, že není rozpustná v tuku, se ideálně hodí k výrobkům jako jsou salámy a šunky s obsahem tuku a kůže, protože barví pouze maso, aniž by ovlivnila barvu tuku. Účinného zabarvení masa lze dosáhnout již přidáním 0,02 g karmínu na kilogram výrobku [49, 61].

### **1.7.7 Rizika spojená s konzumací karmínu**

Přestože je karmín běžně používán v potravinářských výrobcích a považován za bezpečný pro většinu populace, jeho použití je spojeno s určitými zdravotními riziky, zejména s výskytem alergických reakcí, expozicí hliníku a mikrobiologickými riziky [44, 47].

Byly zaznamenány případy anafylaktických reakcí po konzumaci potravin a nápojů obsahujících karmín nebo extrakt z košenily. Alergické reakce nebyly hlášeny pouze po požití, ale také při dlouhodobém používání kosmetických přípravků obsahujících karmín, zejména u žen. Kromě kožních projevů byly popsány také respirační obtíže, jako je astma a alergická rýma se zánětem spojivek, přičemž tyto případy se vyskytovaly především u mužů zaměstnaných v masném průmyslu a barvírnách, kde docházelo k inhalaci karmínu [47, 49, 62].

Dalším rizikovým faktorem je přítomnost hliníku v karmínu. Expozice hliníku je spojována s genotoxicitou, neurotoxicitou, Alzheimerovou chorobou a potenciální karcinogenezí. Ačkoli je příjem hliníku z potravinářských aditiv považován za nízký, zůstává hlavním zdrojem

jeho přísunu do lidského organismu. Evropský panel pro potravinářská aditiva, aroma, pomocné látky a materiály pro styk s potravinami doporučil snížení tolerovaného týdenního příjmu hliníku na 1 mg/kg tělesné hmotnosti, což vedlo ke stanovení maximálních povolených množství karmínu v různých kategoriích potravin [47, 63].

Kromě alergií a expozice hliníku je důležité věnovat pozornost i mikrobiologické bezpečnosti karmínového a košenilového extraktu. Během zpracování je nutné provádět odpovídající ošetření, aby se minimalizovalo riziko mikrobiální kontaminace a zabránilo potenciálním epidemiím [47].

Je důležité zdůraznit, že žádné dostupné toxikologické údaje neprokázaly žádné genotoxické účinky kyseliny karmínové ani karmínů, což znamená, že tyto látky nepoškozují genetický materiál buněk. Ani karcinogenní potenciál nebyl potvrzen. Ve studiích zaměřených na reprodukční a vývojovou toxicitu nebyly zaznamenány žádné nežádoucí účinky, a to ani při vysokých dávkách konkrétně až do 1 000 mg/kg tělesné hmotnosti u karmínu a 3 000 mg/kg u košenilového extraktu [44, 47, 52].

#### 1.7.8 Chování karmínu a kyseliny karmínové za různých podmínek

Vlastnosti a stabilita kyseliny karmínové a karmínu se mění v závislosti na různých faktorech, jako jsou pH prostředí, teplota, přítomnost kovových iontů a oxidantů.

Kyselina karmínová je dobře rozpustná ve vodě, alkoholu, esterech, kyselinách a zásaditých roztocích, avšak je nerozpustná v petroléteru, benzenu a chloroformu [47, 49].

Barva kyseliny karmínové je silně závislá na pH, což jí umožňuje fungovat jako acidobazický indikátor. Při různých pH může existovat ve 14 různých tautomerních formách (obrázek 5). Při hodnotách pH pod 4,5 se jeví jako světle oranžová; při pH 7–7,7 světle červené a červené a při pH nad 12 je jeho barva purpurově červená. Kyselina karmínová je poměrně stabilní vůči světlu, teplu a oxidaci, nicméně při vyšších hodnotách pH dochází při vystavení světlu k její fotodegradaci [47, 49].



Obrázek 5: Změna barvy roztoku kyseliny karmínové v závislosti na pH (pH 1–14) [44]

Karmín je rozpustný v alkalických roztocích, ale nerozpustný ve vodě, alkoholu, etheru, benzenu a slabých kyselinách. Barevný odstín karmínu je méně závislý na pH než kyselina karmínová. Při dosažení hodnot pH pod 7 je zachována jeho intenzivně červená barva, ale při pH nižším než 3,5 dochází k jeho vysrážení [47, 49].

### 1.7.9 Absorpční vlastnosti kyseliny karmínové

Absorpční spektrum kyseliny karmínové se vyznačuje výrazným a ostrým maximem při vlnové délce 280 nm, které souvisí s elektronovými přechody v konjugovaném systému molekuly, zejména v oblasti karbonylových skupin (C=O) a dvojných vazeb (–C=C–). Ve viditelné oblasti spektra mezi 500–600 nm, je patrné další absorpční maximum. Tato pásma odpovídají přítomnosti chromoforních struktur, které jsou zodpovědné za charakteristické červené zabarvení kyseliny karmínové [64].

V neutrálním a kyselém prostředí (např. ve vodě nebo 0,02 N HCl) se hlavní absorpční maximum viditelné oblasti nachází v rozmezí 490–500 nm. Při zvýšení pH nad hodnotu 8 dochází k bathochromickému posunu tohoto maxima až k 540 nm, což dokládá závislost spektrálních vlastností na pH. Samotné ředění roztoku ovlivňuje pouze intenzitu absorpčního signálu, nikoliv pozici absorpčních pásů [48, 64, 65, 66].

Zatímco kyselina karmínová vykazuje v oblasti kolem 500 nm jeden výrazný absorpční pík, karmín, jako komplex kyseliny karmínové s kovovým iontem, se vyznačuje rozštěpeným (dvojitým) píkem posunutým k vyšším vlnovým délkám. Tento rozdíl je důsledkem ligandově-kovové interakce, která mění energetické hladiny a tím ovlivňuje výsledné spektrální vlastnosti sloučeniny [67, 68].

## 1.8 MECHANISMUS KAŽENÍ MASA

### 1.8.1 Složení masa a jeho význam pro mikrobiální růst

Maso je velmi složitá živina, která obsahuje velké množství bílkovin, tuků, vitamínů skupiny B (B1, B2, B5, B12) a minerálních látek, zejména zinku a železa. Tyto složky hrají klíčovou roli v růstu a vývoji člověka, což činí maso výživově hodnotnou potravinou [69].

Na druhou stranu však vysoká vodní aktivita ( $> 0,998$ ), vysoký obsah vlhkosti a neutrální až mírně kyselé pH (5,5–6,5) vytvářejí ideální prostředí pro růst různých mikroorganismů, parazitů a plísní. Kromě toho má glykolytický potenciál masové matrice zásadní vliv na vývoj mikrobiálního osídlení a na hranici, při které dochází ke kažení [69].

### 1.8.2 Průběh kažení masa a jeho důsledky

Kažení masa je složitý mikrobiální ekologický proces, při němž dochází k vzájemným interakcím různých mikroorganismů. Tento dynamický děj postupně způsobuje, že maso ztrácí své sensorické a nutriční vlastnosti a stává se nevhodným či nepříjatelým pro konzumaci. Pro koncové spotřebitele představuje zkažené maso nejen nepoživatelný a esteticky nepříjemný produkt, ale v případě jeho konzumace může vést k vážným zdravotním potížím, jako jsou bolesti břicha, průjem, zvracení, a v extrémních případech i k život ohrožujícím stavům. Kažení masa zároveň způsobuje rozsáhlé plýtvání potravinami a výrazné ekonomické ztráty v průběhu výroby, skladování, přepravy i distribuce [69, 70, 71].

Hodnocení míry kažení se obvykle opírá o posouzení fyzikálních a chemických změn, včetně degradace textury, vzhledu a dalších sensorických vlastností masa [70].

Ke kažení může docházet v jakékoliv fázi zpracování masa od porážky až po spotřebu. Kažení je nevyhnutelné v důsledku mikrobiální křížové kontaminace, a to navzdory značnému úsilí, které bylo vynaloženo na snížení nebo inaktivaci mikroorganismů. Pro zpomalení kažení čerstvých produktů bylo vyvinuto několik strategií, mezi něž patří využití konzervačních látek, aplikace esenciálních olejů, uchovávání při nízkých teplotách a balení v ochranné atmosféře [70, 71].

Proces kažení masa a metabolity produkované tímto jevem jsou velmi složité. Masový tuk, bílkoviny, cukr a další živiny se působením mikroorganismů, enzymů a faktorů životního prostředí rozkládají na alkoholy, aldehydy, ketony, sirovodík a toxiny [69].

Obecně platí, že kažení masa zahrnuje čtyři hlavní faktory: mikrobiální kontaminaci, žluknutí lipidů (hydrolytické a oxidační), oxidaci bílkovin a enzymatické reakce. V běžných podmínkách výroby a prodeje dochází ke kažení masa v důsledku mikrobiální kontaminace mnohem rychleji než v důsledku enzymatických procesů [69, 72].

### 1.8.3 Mikrobiální kontaminace masa a její vliv na proces kažení

Ačkoli příčiny kažení masa mohou být různé, hlavním faktorem tohoto procesu jsou bakterie, které jej ovlivňují více než například endogenní enzymy. Maso je před porážkou obecně považováno za sterilní, nicméně během porážky a manipulace může dojít k mikrobiální kontaminaci, protože prostředí porážky není sterilní [71].

Mikrobiální ekosystém masa je tvořen stovkami rodů a druhů bakterií, avšak pouze přibližně 10 % z nich zásadním způsobem ovlivňuje proces kažení chlazeného masa. Tyto mikroorganismy jsou označovány jako dominantní druhy podílející se na kažení. Mezi hlavní bakterie odpovědné za aerobní kažení masa patří rody *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Brochothrix*, *Shewanella* a *Aeromonas*. Naopak při anaerobních podmínkách se uplatňují především bakterie mléčného kvašení, jako *Weissella spp.* a *Leuconostoc spp.*, a dále také *Bacillus spp.* a *Clostridium spp.* [70, 71].

Typickým příkladem je *Pseudomonas fluorescens*, která vyniká vysokou proteolytickou aktivitou a schopností růstu při nízkých teplotách, díky čemuž často dominuje v mase skladovaném v chlazených podmínkách [72].

Nadměrný růst bakterií mléčného kvašení vede k tvorbě kyseliny mléčné, oxidu uhličitého, ethanolu, kyseliny octové, kyseliny máselné a acetoinu, což způsobuje výrazné sensorické vady, jako je nepříjemný zápach a tvorba slizovitých povlaků [72].

Maso může být kontaminováno již během zpracování na jatkách, kde se mikroorganismy přenášejí z kůže, chlupů, střev, kopyt a exkrementů hospodářských zvířat nebo z nečistého pracovního prostředí. Dalším rizikovým faktorem kontaminace je přeprava a skladování. Ať už se jedná o dopravníky, různé nástroje, stroje, přísady či vodu [69, 70].

Dále pak nedostatečná kontrola teploty může výrazně podpořit růst mikroorganismů. Teplota během přepravy často překračuje stanovený limit (-2 °C nebo 4 °C) a v maloobchodních prodejnách může dokonce dosáhnout pokojové teploty, což urychluje kažení. Nicméně i v ideálních skladovacích podmínkách, jako je chlazení nebo anoxické prostředí, mohou přežívat a množit se některé psychrotolerantní bakterie [69, 70].

### 1.8.4 Oxidace lipidů a její vliv na kvalitu masa

Oxidace lipidů je hlavní nemikrobiální příčina zhoršení kvality masa a masných výrobků. V průběhu těchto reakcí dochází k postupnému zhoršení sensorických vlastností masa, což může vést k jeho odmítnutí spotřebiteli. Současně dochází ke ztrátě nutriční hodnoty a vzniku potenciálně toxických sloučenin [73, 74].

Oxidační reakce nevedou pouze ke snížení nutriční hodnoty masa v důsledku úbytku esenciálních mastných kyselin a vitamínů. Prvním patrným projevem bývá obvykle postupné zhoršení sensorické kvality, včetně změn barvy, textury a výskytu žluklého zápachu a chuti, které negativně ovlivňují spotřebitelské přijetí. Současně dochází během oxidace lipidů k tvorbě celé řady toxických sloučenin [74].

Žluknutí v mase je výsledkem složitého procesu degradace lipidů, který probíhá prostřednictvím enzymatické lipolýzy a chemické oxidace. Prvním krokem je hydrolýza, při níž svalové lipázy a fosfolipázy rozkládají triacylglyceroly a fosfolipidy za vzniku volných mastných kyselin. Tyto sloučeniny následně podléhají oxidaci, která může probíhat buď autooxidací, nebo být katalyzována enzymy [75].

Samotná oxidace lipidů je komplexní proces, v němž hrají klíčovou roli nenasycené mastné kyseliny, které reagují s molekulárním kyslíkem za vzniku volných radikálů. Prvotními produkty těchto reakcí jsou hydroperoxydy, které jsou sice bez chuti a zápachu, ale jsou velmi nestabilní. Jejich rychlý rozklad vede ke vzniku celé řady sekundárních oxidačních produktů, jako jsou aldehydy, ketony, alkoholy, estery, kyseliny a uhlovodíky, které způsobují vznik nepříjemného zápachu a žluklé chuti, změny barvy a textury [74, 75].

### **1.8.5 Produkce těkavých látek při kažení**

Kažení masa je provázáno tvorbou celé řady degradačních produktů, které odrážejí probíhající chemické a mikrobiologické změny v surovině. Tyto látky lze využít jako indikátory kažení v různých aplikacích od potravinářské analýzy, přes modelování trvanlivosti, až po využití v inteligentních obalových systémech [76].

Mezi hlavní skupiny sloučenin, které signalizují postupující degradaci, patří biogenní aminy (např. kadaverin), celkový obsah těkavého bazického dusíku (TVB-N) a především těkavé organické sloučeniny (VOCs). VOCs představují široké spektrum látek jako jsou aldehydy, alkoholy, ketony, estery, sirné sloučeniny či karboxylové kyseliny, které vznikají v důsledku metabolické aktivity mikroorganismů [76, 77].

K hlavním biochemickým změnám dochází ve vodné fázi masa, která obsahuje snadno dostupné živiny, jako jsou cukry, aminokyseliny, peptidy a nukleotidy. Tyto látky podporují růst bakterií a jejich metabolizace vede ke vzniku celé řady degradačních produktů – například organických kyselin, neutrálních metabolitů, sirovodíku ( $H_2S$ ), amoniaku ( $NH_3$ ), indolu, skatolu a výše zmíněných biogenních aminů [77].

Zpočátku mikroorganismy využívají glukózu a nebílkovinné dusíkaté sloučeniny, ale jakmile tyto substráty vyčerpají, přecházejí k metabolizaci bílkovin. Tento posun je klíčový,

neboť právě z rozkladu aminokyselin vznikají sloučeniny jako sulfidy, methylestery a amoniak, které jsou spojovány s výrazným zápachem a dalšími senzoryckými vadami masa [76, 77].

#### **1.8.6 Změny pH masa během kažení**

Bezprostředně po porážce má maso pH přibližně 7,1, avšak během následujících 18–24 hodin dojde v důsledku přeměny svalového glykogenu na kyselinu mléčnou k poklesu pH na 5,4–5,7. Po dosažení této minimální hodnoty začne pH postupně stoupat směrem k neutrálním hodnotám, typickým pro čerstvé maso. V průběhu zrání masa dochází k částečné hydrolyze svalových bílkovin, přičemž vznikají zásadité látky jako amoniak a aminy, což se projevuje nárůstem pH. Jakmile hodnota pH překročí 6,5, je maso označováno za zkažené, přičemž takové prostředí je příznivé pro růst mikroorganismů, které se podílejí na jeho rozkladu [78].

### **1.9 INTELIGENTNÍ OBALY A JEJICH FUNKCE**

Obecně lze říct, že kvalita potravin je určována širokou škálou faktorů, mezi které patří zdravotní nezávadnost, spotřebitelské standardy, nutriční hodnota a stabilita. Tyto faktory slouží jako aktuální ukazatele pro hodnocení vlivu potravin na zdraví spotřebitelů [79].

Tradiční obalové technologie se zaměřují na použití pasivních, inertních bariér, které zabraňují kontaktu potravin s vlhkostí, kyslíkem a kontaminanty. Jejich hlavním úkolem je chránit potraviny před fyzikálně-chemickými vlivy a zachovat jejich kvalitu po stanovenou dobu. Na rozdíl od nich inovativní obaly mohou obsahovat jednu nebo více aktivních funkcí, které nejen prodlužují trvanlivost potravin, ale také poskytují informace o jejich kvalitě [79].

Nové obalové technologie se často označují jako chytré, aktivní nebo inteligentní. Inteligentní obaly slouží k monitorování stavu potravin, zatímco aktivní obaly prodlužují jejich trvanlivost úpravou okolního prostředí. Kombinací těchto dvou přístupů vznikají chytré obaly, které dokážou nejen sledovat kvalitu potravin, ale také ji aktivně ovlivňovat [79, 80].

Inteligentní obaly hodnotí kvalitu potravin a prostředí v reálném čase pomocí signálů, nejčastěji změny barvy. Samy neprodlužují trvanlivost ani nezlepšují kvalitu potravin. Tato kolorimetrické indikace detekuje změny v potravinách nebo jejich okolí, jako je pH, vlhkost, teplota nebo přítomnost specifických chemických látek. Viditelné změny barvy pak poskytují spotřebiteli snadno čitelnou informaci o stavu produktu [79, 80, 80, 82].

Indikátory čerstvosti potravin a indikátory času a teploty představují dvě hlavní skupiny inteligentních obalů. Obvykle mají formu štítků, které pomocí změny barvy rychle reagují na změny kvality potravin nebo na odchylky ve skladovací teplotě [82].

### 1.9.1 Indikátory čerstvosti potravin

Indikátory čerstvosti potravin představují skupinu inteligentních materiálů, které jsou obvykle připevněny na obal ve formě štítku a slouží k přímé vizuální detekci zhoršení kvality nebo ztráty čerstvosti potravin. Fungují na principu barevné změny v reálném čase, která je výsledkem interakce indikátoru s látkami uvolňovanými během kažení potravin [82].

Jsou navrženy tak, aby reagovaly na mikrobiální růst a chemické změny, ke kterým dochází při kažení potravin. Proces kažení potravin je provázen uvolňováním organických kyselin (např. kyselina octová a mléčná), alkaloidů, těkavých dusíkatých látek (např. trimethylamin), biogenních aminů, oxidu uhličitého nebo sirných sloučenin. Většina z těchto látek ovlivňuje pH potraviny, což vyvolává barevnou reakci indikátoru připevněného k obalu. Z tohoto důvodu je hodnota pH v balení úzce spojena s čerstvostí a kvalitou potravin [82, 83].

Z konstrukčního hlediska obvykle obsahují polymerní nosič a pH senzitivní barvivo, které může být syntetického nebo přírodního původu. K jejich výrobě se používají různé typy polymerních matic, barviv a technologické postupy. Výsledná funkčnost závisí na kompatibilitě mezi polymerem a barvivem i na zvoleném způsobu přípravy. Tyto faktory ovlivňují přesnost, spolehlivost a citlivost indikátoru při rozpoznávání různých stupňů kažení potravin [72].

### 1.9.2 Indikátory času a teploty

Indikátor času a teploty je jednoduché zařízení připevněné k obalu, které slouží k zobrazení teplotní historie a sledování kvality potravin od výroby až po skladování a distribuci. Díky viditelné změně barvy umožňuje kontrolovat teplotně závislou čerstvost potravin po celou dobu jejich trvanlivosti [82].

Podle principu fungování se systémy dělí na fyzikální, chemické a biologické. Komerčně dostupné jsou různé typy, jako např. mikrobiologické, enzymatické, polymerní nebo difúzní. Zejména enzymatické indikátory vykazují vysokou citlivost a přesnost při zaznamenávání teplotních změn. K jejich výrobě se využívají různé enzymy, jako je amyláza, laktáza, lipáza nebo ureáza [82].

Navzdory své vysoké účinnosti mají enzymatické indikátory i určité nevýhody, především vyšší náklady a nízkou stabilitu enzymů. Proto se v praxi nejčastěji používají difúzní indikátory, které jsou levnější a stabilnější [82].

### **1.9.3 Přírodní materiály a jejich role v aktivních a inteligentních obalech**

Je známo, že chytré obaly na bázi plastu, kovu, skla a papíru byly úspěšně použity pro potraviny. Nicméně jejich výroba je energeticky náročná a generuje emise s výrazným dopadem na životní prostředí. Dalšími obavami jsou migrace nebezpečných látek z běžných chytrých obalových systémů a nesprávná likvidace obalů na bázi ropných materiálů, které mohou mít vážné zdravotní a environmentální důsledky. Aby se tento problém vyřešil, začalo být stále populárnější využívání přírodních látek v potravinářských obalech [80].

Přírodní antioxidanty a antimikrobiální látky byly použity v aktivních obalech jako alternativa k umělým konzervačním látkám. Uvolňování těchto látek se ukázalo jako velmi účinné při prevenci oxidace potravin a inhibici mikrobiálního znehodnocování. Navíc začlenění přírodních barviv a potravinářských nanočástic do biopolymerových matric umožnilo vývoj biodegradabilních inteligentních obalů. Za inteligentní se považuje jakákoli látka, která reaguje na změny vlastností produktu nebo na změny vnitřního prostředí obalu [80].

## 1.10 SPEKTROMETRIE A SPEKTROMETRICKÁ MĚŘENÍ

Každý zdroj světla emituje do svého okolí energii ve formě elektromagnetických vln. Elektromagnetické spektrum zahrnuje různé typy záření, mezi něž patří gama paprsky, rentgenové záření, ultrafialové a infračervené vlny, dále pak viditelné světlo, mikrovlny a rádiové frekvence, které zahrnují i televizní signály. Když toto záření dopadne na povrch určitého objektu, dochází k tomu, že část energie je objektem absorbována a zbytek je odražen zpět do prostoru, to vše v závislosti na konkrétní vlnové délce záření [84, 85].

Barva, vnímána u určitého objektu, je výsledkem toho, jaké vlnové délky viditelného světla se od jeho povrchu odrážejí a které jsou pohlceny. Lidské oko rozlišuje barvy na základě rozdílů v reflektanci jednotlivých složek spektra. Viditelné světlo se nachází přibližně v rozsahu od 380 do 760 nanometrů. Materiály, které pohlcují záření v této oblasti a zároveň odrážejí jiné části spektra, působí díky této selektivní absorpci jako barevné. Výsledná barva závisí na fyzikálním a chemickém složení povrchu, které určuje, které vlnové délky budou odraženy a které absorbovány [84, 85, 86].

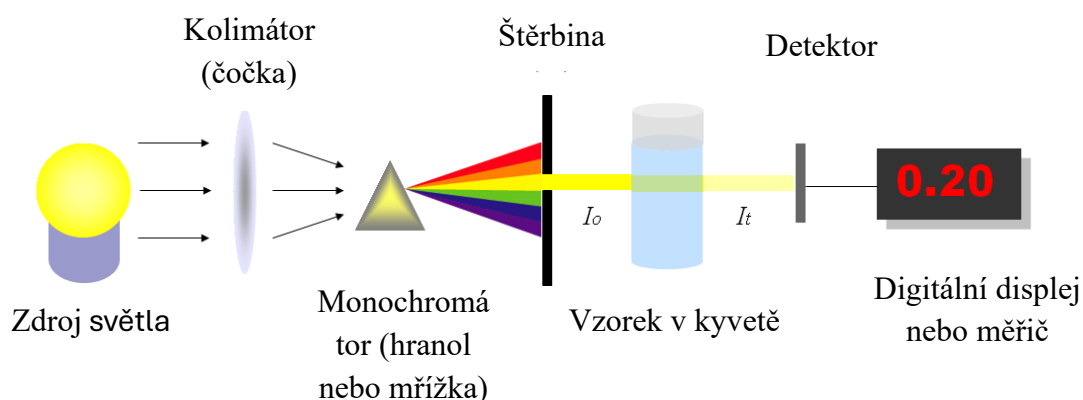
### 1.10.1 Základy spektrometrie a typy spektrofotometrů

Spektrometrie představuje soubor analytických metod, které slouží ke zkoumání interakce elektromagnetického záření s hmotou. Každá chemická látka v určitém rozsahu vlnových délek světlo absorbuje, propouští nebo odráží. Spektrometrie, a především spektrofotometrie, měří míru absorpce nebo transmitance světla při průchodu vzorkem, čímž umožňuje identifikovat a kvantifikovat konkrétní chemické sloučeniny. Základní princip spočívá v tom, že každá látka má charakteristické absorpční vlastnosti, které lze zaznamenat jako spektrum tzv. „optický otisk“ látky [87].

Zařízení určená k měření spekter se nazývají spektrofotometry, které se podle konstrukce a principu měření rozdělují na jednopaprskové a dvoupaprskové. Jednopaprskový spektrofotometr využívá jediný paprsek, který postupně prochází referenčním a měřeným vzorkem. Tento typ je jednodušší a cenově dostupnější, ale náchylnější k chybám způsobeným nestabilitou světelného zdroje nebo okolních podmínek, protože měření probíhají odděleně.

Dvoupaprskový spektrofotometr rozděluje světelný paprsek na dvě části. Jedna prochází měřeným vzorkem, druhá referenčním roztokem. Měření obou paprsků probíhá současně, což zajišťuje vyšší přesnost a spolehlivost, protože kolísání světla nebo prostředí se dá efektivně kompenzovat. Dvoupaprskové spektrofotometry jsou vhodnější pro náročné analýzy, zatímco jednopaprskové se hodí pro běžná laboratorní měření [88].

Schéma jednopaprskového spektrofotometru zobrazeno na obrázku 6.



Obrázek 6: Schéma jednopaprskového spektrofotometru [87]

### 1.10.2 Princip měření a základní optické veličiny

Měření pomocí spektrofotometru probíhá v několika navazujících krocích, jak znázorněno na obrázku 6. Nejprve světelný zdroj vyše záření, které je usměrněno systémem čoček do rovnoběžného paprsku. Tento paprsek dále vstupuje do monochromátoru (hranol nebo difrakční mřížka), který rozloží světlo na jednotlivé vlnové délky. Vzniklé spektrum je následně upraveno selektorem vlnových délek (štěrbinou), který propustí pouze úzké pásmo požadované vlnové délky. Takto upravené světlo je poté nasměrováno na vzorek nebo detektor [87].

Při měření je viditelné spektrum rozděleno na malé, přesně definované intervaly vlnových délek, z nichž každý je hodnocen samostatným segmentem senzoru. Díky této metodě lze určit i velmi jemné barevné rozdíly, které jsou pro lidské oko nepostřehnutelné [89].

Základní optické veličiny, jako je reflektance, transmitance a absorpance, popisují chování světla při jeho interakci s materiálem a hrají klíčovou roli při spektrofotometrickém měření.

#### Reflektance

Reflektance popisuje, jaký podíl světelného záření dané vlnové délky se odrazí od povrchu materiálu ve srovnání s celkovým množstvím dopadajícího světla. Tento poměr je důležitý pro hodnocení optických vlastností látek a lze jej určit pomocí příslušného výpočtu [84].

## Transmitance

Transmitance je veličina vyjadřující podíl světla určité vlnové délky, který projde vzorkem a dopadne na detektor. Udává se jako zlomek (nebo procento) intenzity dopadajícího světla, které vzorek propustí. V experimentální praxi se transmitance obvykle měří v porovnání s referenčním (slepým) vzorkem, aby se vyloučil vliv absorpce nebo rozptylu způsobeného samotnou optikou měřicího přístroje. Výpočet transmitance uveden v rovnici 1 [87, 90].

$$T = \frac{I_v}{I_b}$$

*Rovnice 1: Výpočet transmitance [87, 90]*

*T... transmitance  
I<sub>v</sub>... intenzita světla prošlého vzorkem  
I<sub>b</sub>... intenzita světla prošlého slepým vzorkem*

Transmitance barevného roztoku závisí na vlastnostech absorbující látky, vlnové délce procházejícího světla, množství absorbující látky (její koncentrace v roztoku) a na tloušťce kyvety. Tuto závislost poprvé formuloval August Beer (rovnice 2) [90].

$$T = 10^{-\varepsilon * l * c},$$

po úpravě:  $-\log T = \varepsilon * l * c$

*Rovnice 2: Výpočet transmitance podle Augusta Beera [87, 90]*

*ε... molární dekadický absorpční koeficient  
l... optická délka kyvety  
c... látková koncentrace absorbující látky*

## Absorbance

Absorbance je veličina, která vyjadřuje, kolik světla určité vlnové délky bylo pohlceno vzorkem při průchodu světelného paprsku. Její hodnota závisí na koncentraci absorbující látky, tloušťce vrstvy vzorku a schopnosti dané látky absorbovat světlo. Absorbance tak představuje míru pohlcení fotonů molekulami látky. Její velikost je dále využívána v Lambertově-Beerově zákonu (rovnice 3), který popisuje lineární vztah mezi absorbancí a koncentrací analyzované látky [79, 80, 83].

$$A = -\log T = \varepsilon * l * c$$

*Rovnice 3: Výpočet absorbance (Lambertův-Beerův zákon) [87, 90]*

*A... absorbance*

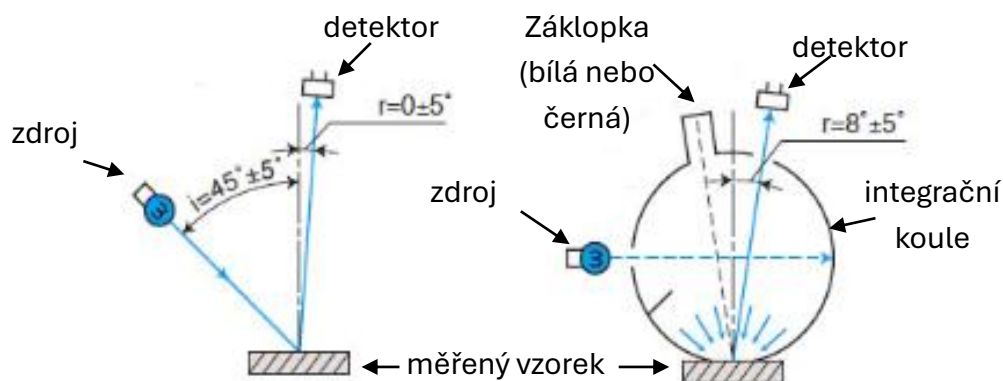
### 1.10.3 Měření barevnosti

Dřívější systémy uspořádání barev byly převážně lineární a nedokázaly plně vystihnout mnohorozměrnou povahu lidského vnímání barev. Rané výzkumy v této oblasti byly prováděny především umělci, filozofy a chemiky, a proto se zaměřovaly hlavně na barvy objektů. Přestože Isaac Newton již v roce 1666 prováděl své slavné pokusy s hranolem a analyzoval spektrální barvy, rozlišení mezi barvami objektů a barvami světelných zdrojů přišlo až v 19. století [91].

Pro správné vnímání a interpretaci barvy je nezbytná definovat tři složky: zdroj světla, pozorovaný objekt a pozorovatel. Mezinárodní komise pro osvětlování (CIE) již v roce 1931 zavedla standardizované barevné systémy, které vycházejí z objektivního určení vlastností světelného zdroje, definice pozorovatele a vztahů mezi barvami na základě principu barevné shody [92].

Pro standardizaci světelného zdroje se běžně používají standardní iluminanty A, D (D50, D65, D75) a C. Například zdroj D65 má barevnost jako absolutně černé těleso zahřáté na teplotu 6500 K [84, 92].

Pro standardizaci podmínek měření barvy pozorovaného objektu se používá geometrické uspořádání měřicí soustavy. Ta popisují, pod jakým úhlem světlo na objekt dopadá a pod jakým úhlem je odražené světlo snímáno. Základními typy těchto uspořádání jsou 45/0, 0/45, 8/d a d/8. První číslo označuje úhel dopadu světla, druhé číslo úhel snímání odraženého světla. Písmeno „d“ znamená difuzní (rozptýlené) osvětlení. Geometrická uspořádání 45/0 a d/8 jsou znázorněna na obrázku 7. V geometriích 45/0 a 0/45 se měří odražené světlo mimo směr přímého odrazu. V systémech využívajících integrační kouli (8/d a d/8) je objekt rovnoměrně osvětlen ze všech směrů a odražené světlo je shromažďováno ze všech úhlů do detektoru [84, 93].



Obrázek 7: Geometrický systém 45/0 (vlevo) a geometrický systém d/8 (vpravo) [93]

Parametry standardního pozorovatele byly sjednoceny pomocí matematických funkcí označovaných jako 2° a 10° standardní pozorovatel. Funkce 2° standardního pozorovatele popisuje průměrnou spektrální citlivost lidského oka při pozorování malého barevného pole z krátké vzdálenosti. Naopak 10° standardní pozorovatel vychází z vnímání většího zorného pole a lépe odpovídá běžnému lidskému vidění. Tento model se využívá zejména při měřeních spektrofotometry. [84, 92]

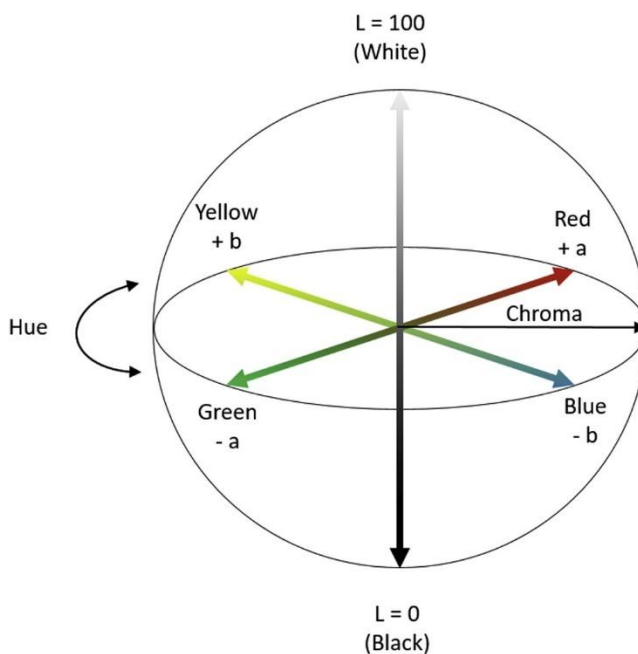
Barevné informace jsou vyjadřovány pomocí tří osových proměnných v trojrozměrném barevném prostoru. Mezi běžně používané barevné prostory patří HSV, CIE RGB, CIE XYZ a CIELAB [94].

Současně nejrozšířenějším systémem systém CIELAB (obrázek 8) se hojně využívá například pro kvantifikaci barevných chemických látek. Informace o barvě jsou zde popsány pomocí tří souřadnic. Souřadnice  $L^*$  (graficky na ose x) definuje světlost od černé do bílé v rovnoměrných stejně velkých krocích, její rozsah je 0 až 100. Souřadnice  $a^*$  (graficky na ose y) odpovídá červeno-zelené škále barev a souřadnice  $b^*$  (graficky na ose z) odpovídá žluto-modré škále barev. Vnímavý rozdíl mezi dvěma barvami, tedy dvěma body v tomto prostoru, se označuje jako  $\Delta E^*_{ab}$  (rovnice 4) a odpovídá eukleidovské vzdálenosti mezi těmito body [89, 92, 94].

Ze souřadnic  $a^*$  a  $b^*$  lze dále vypočítat měrnou čistotu a měrný odstín. Vzdálenost od středové osy představuje chromatičnost ( $C^*$ ) neboli sytost barvy. Ta vyjadřuje pestrost barev a zvětšuje se se vzdáleností od osy  $L^*$ . Úhel na osách chromatičnosti představuje měrný odstín ( $h^\circ$ ) [92]

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

*Rovnice 4: Výpočet Euklidovského rozdílu [85]*



*Obrázek 8: Záznam LAB modelu [85]*

## **2 CÍL PRÁCE**

Cílem této diplomové práce je vývoj a charakterizace jedlého filmu na bázi jablečného a citrusového pektinu s přídavkem kyseliny karmínové a karmínu, určeného jako potenciální inteligentní obalový materiál. Součástí práce je optimalizace postupu přípravy filmu, stanovení optických vlastností (barevnost, absorbance, transmitance), zkoumání migračního chování a rozpustnosti ve vodě, zředěné kyselině octové a ethanolu o různých koncentracích. Dále je cílem sledovat změny barevnosti filmu při expozici výparům amoniaku a těkavým látkám vznikajícím při kažení masa, a tím posoudit jeho schopnost sloužit jako vizuální indikátor čerstvosti potravin.

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 POUŽITÁ ZAŘÍZENÍ A POMŮCKY

Analytické váhy (ABT 220-4M, Kern, Německo)  
Spektrofotometr UltraScan VIS (Hunter Associates Laboratory, Inc., USA)  
Spektrofotometr UV-2600 (Shimadzu, Japonsko)  
Ultrazvuková lázeň Bandelin SONOREX (Schalltec GmbH, Německo)  
Sušárna Heratherm OMH60 (Thermo Fisher Scientific, Německo)  
Digitální mikrometr San Liang 0–25 mm (San Liang, Čína)  
Obvyklé laboratorní vybavení

#### 3.2 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE

**Jablečný pektin** (Pectin from apple, katalogové č. 93854-100G, CAS: 9000-69-5; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA; vyrobeno v Německu)

**Citrusový pektin** (Pectin from citrus peel, katalogové č. P9135-100G, CAS: 9000-69-5; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA; vyrobeno v Dánsku) s obsahem kyseliny galakturonové  $\geq 74,0$  % (na sušinu)

**Polyvinylalkohol** (Poly(vinyl alcohol), katalogové č. 363065-500G; Mw 146 000–186 000; 99+ % hydrolyzovaný; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA; vyrobeno v USA) byl použit jako syntetická polymerní složka pro zvýšení mechanické stability filmů.

**Glycerol** (glycerin bezvodý p.a.; Glycerol anhydrous A.G.; CAS: 56-81-5; Penta Chemicals Unlimited, ČR) byl použit jako plastifikátor při přípravě filmových vzorků.

**Amoniak** (vodný roztok  $\text{NH}_3$  24 %+, p.a.; Ammonium hydroxide solution; CAS: 1336-21-6; Penta Chemicals Unlimited, ČR) byl použit k simulaci zásaditého prostředí během expozičních testů filmových vzorků.

**Ethanol** (ethanol 96 % p.a.; CAS: 64-17-5; Penta Chemicals Unlimited, ČR) použit jako médium pro výzkum migrace barviva

**Karmín** (Carmine; čistota  $>40$  %; CAS: 1390-65-4; Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Japonsko) byl přidáván do filmových vzorků jako pH-senzitivní barvivo pro sledování změn barevnosti během expozičních testů.

**Kyselina karmínová** (Carminic acid; CAS: 1260-17-9; Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Japonsko) přidávána do filmových vzorků jako pH-senzitivní barvivo pro sledování změn barevnosti během expozičních testů.

**Kyselina octová** (Acetic acid 99,8 % p.a.; CAS: 64-19-7) k přípravě média pro výzkum migrace barviva

**Kuřecí maso:** Pro expozici filmových vzorků těkavým látkám vznikajícím při kažení potravin bylo použito čerstvé **mleté kuřecí maso**, zakoupené v lokálním maloobchodě (supermarket v Pardubice, Česká republika).

### 3.3 PŘÍPRAVA FILMOVÝCH VZORKŮ

Byly připraveny dva typy filmotvorných roztoků. Jeden s obsahem jablečného pektinu a druhý s obsahem citrusového pektinem, oba v kombinaci s polyvinylalkoholem a glycerolem.

#### 3.3.1 Postup přípravy filmů

Roztok 5% (w/w) polyvinylalkoholu (PVA) byl připraven rozpuštěním odpovídajícího množství polymeru v demineralizované vodě za zvýšené teploty přibližně (~90 °C) za současného intenzivního míchání, dokud nedošlo k úplnému rozpuštění látky.

Současně byl připraven samostatný 1% (w/w) roztok jablečného nebo citrusového pektinu rozpuštěním odpovídajícího množství polymeru v demineralizované vodě. Pektin byl za stálého míchání rozpuštěn při teplotě 65 °C, dokud nevznikl homogenní roztok.

Po ochlazení roztoku pektinu na teplotu 40–50 °C byla přidána barviva (kyselina karmínová a karmín) tak, aby výsledná koncentrace barviva ve filmu odpovídala hodnotám uvedeným v tabulce 1. Barviva byla přidána ještě před spojením s PVA za účelem rovnoměrné disperze a minimalizace tepelného rozkladu.

Po ochlazení roztoku PVA a roztoku pektinu s obsahem barviva na laboratorní teplotu (~25 °C) byly roztoky sloučeny v poměru (1/1; w/w) a homogenizovány po dobu 30 minut. Následně byl přidán glycerol v množství odpovídajícím hmotnosti použitého pektinu (1/1, w/w), a směs byla znovu homogenizována dalších 30 minut. V případě potřeby byla směs odplyněna pomocí ultrazvukové lázně, aby se odstranily zachycené vzduchové bubliny, které by mohly ovlivnit tvorbu filmu.

Z připravené filmotvorné směsi bylo následně odváženo 12 g, které byly rovnoměrně rozlity do plastových Petriho misek o průměru 8,5 cm. Vzorky byly sušeny v laboratorní sušárně při teplotě 50 °C po dobu 18–24 hodin s nastavenou ventilací na 40 %, dokud nedošlo k úplnému odpaření vody a vytvoření souvislého filmu.

Pro účely srovnání byly stejným způsobem připraveny slepé vzorky, které neobsahovaly žádné barvivo.

*Tabulka 1: Shrnutí připravených filmů ze směsi pektinu a PVA*

Typ filmu	Barvivo	Koncentrace (% w/w)	Počet připravených filmů
Jablečný pektin + PVA	– (slepý vzorek)	–	3
	Kyselina karmínová	0,1	7
	Kyselina karmínová	0,3	7
	Karmín	0,3	7
Citrusový pektin + PVA	– (slepý vzorek)	–	3
	Kyselina karmínová	0,1	7
	Kyselina karmínová	0,3	7
	Karmín	0,3	7

### 3.3.2 Expozice filmů amoniaku a těkavým látkám vznikajícím při kažení masa

Cílem této části experimentu bylo ověřit reakci připravených filmů s obsahem kyseliny karmínové a karmínu na výpary amoniaku ( $\text{NH}_3$ ) a těkavé látky uvolňované během kažení masa.

Do malých laboratorních kádinek bylo přidáno 2 ml vodného roztoku amoniaku tak, aby rovnoměrně pokryl celé dno kádinky. Následně byly kádinky překryty připravenými výřezy filmů a hermeticky utěsněny parafilmem. Pro každý typ filmu obsahující barvivo (s ohledem na typ a koncentraci barviva) byly náhodně vybrány tři výřezy.

Expozice výparům amoniaku probíhala po dobu 2 hodin při teplotě 30 °C bez přístupu světla. Tato doba byla stanovena jako maximální možná, která ještě nevedla k degradaci filmového materiálu.

Současně byl připraven standardní kontrolní vzorek, který byl vystaven stejným podmínkám (teplota, čas, tma, hermetické utěsnění), avšak bez přítomnosti amoniaku v kádince. Tento vzorek sloužil jako referenční pro hodnocení změn způsobených samotnými podmínkami prostředí bez vlivu amoniaku.

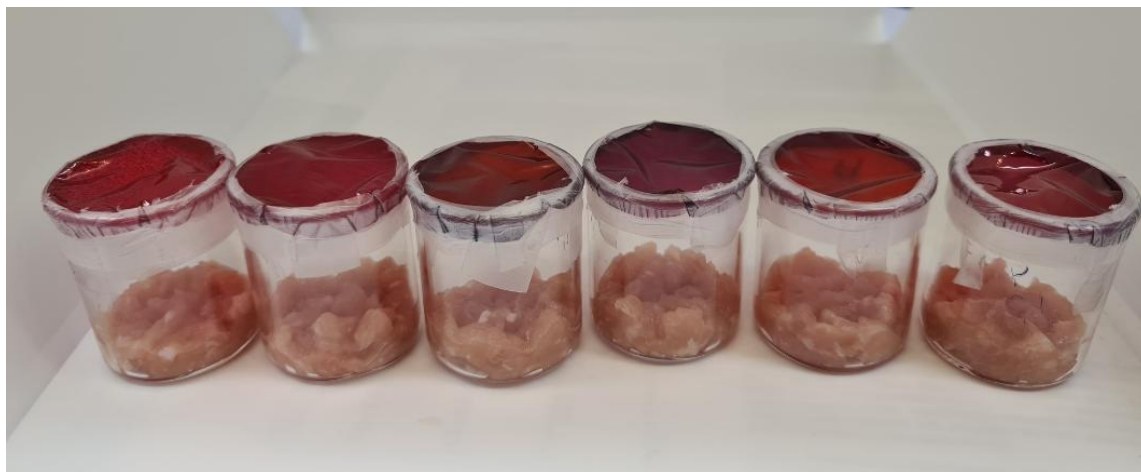
Obdobný postup byl použit i pro expozici filmů těkavým látkám uvolňovaným během kažení masa. Do malých laboratorních kádinek bylo přidáno 5 g čerstvého mletého kuřecího masa. Nádoby byly následně překryty výřezy filmů a hermeticky utěsněny parafilmem. Expozice probíhala při teplotě 30 °C po dobu 48 hodin, opět v podmínkách bez přístupu světla.

Během expozice byla pravidelně kontrolována celistvost filmů a vizuální změny barevnosti jednotlivých vzorků.

Současně byl připraven také standardní kontrolní vzorek, který byl vystaven stejným podmínkám (teplota, čas, tma, hermetické utěsnění), avšak bez přítomnosti masa. Tento vzorek

sloužil jako referenční kontrola pro odlišení změn způsobených pouze skladovacími podmínkami bez vlivu těkavých látek vznikajících při kažení.

Po ukončení expozice byly filmové výřezy sejmuty z kádinek a ponechány krátce oschnout při laboratorní teplotě (~25 °C). Následně byla provedena analýza změn barevnosti jednotlivých vzorků. Obrázek 9 zobrazuje vzorky filmů připravených k expozici těkavým látkám vznikajícím při kažení masa.



Obrázek 9: Filmy před vystavení expozicí látkám vznikajících při kažení masa [foto autor]

### 3.3.3 Příprava vzorků pro výzkum migračních procesů a rozpustnosti

Migrace barviva byla sledována u filmů obsahujících kyselinu karmínovou nebo karmín. Z každého typu filmu byla pomocí kancelářské děrovačky vykrojena kolečka jednotné velikosti o průměru 6 mm. Vzorky byly vloženy do jednorázových plastových kyvet naplněných 2,5 ml testovacího média. Použitá média zahrnovala demineralizovanou vodu, ethanol ve třech koncentracích (30 %, 60 % a 96 %) a 3% roztok kyseliny octové.

Pro každý typ filmu a každé testovací médium byly připraveny dvě sady vzorků. Jedna pro měření po 30 minutách, druhá po 24 hodinách expozice. Kyvety určené pro delší měření byly zakryty parafilmem, aby se zabránilo odpařování rozpouštědla. Z každého filmu byla náhodně vybrána tři kolečka pro každé médium. Po uplynutí stanovené doby byly vzorky analyzovány přímo v kyvetě měřením absorbance v rozsahu vlnových délek 340–800 nm pomocí spektrofotometru, což umožnilo kvantifikaci množství barviva uvolněného do roztoku.

### 3.4 MĚŘENÍ BAREVNOSTI

K analýze barevného spektra připravených filmů byl využit spektrofotometr UltraScan VIS (HunterLab) vybavený integrační koulí s geometrií  $d/8^\circ$  a osvětlením odpovídajícím standardu D65, který simuluje denní světlo.

Před samotným měřením byla provedena dvoustupňová kalibrace pomocí bílé a černé referenční plochy. Po úspěšném provedení kalibrace bylo možné přistoupit k hodnocení jednotlivých filmových vzorků.

V rámci experimentu byla měřena barevnost filmů obsahujících kyselinu karmínovou nebo karmín, a to před a po expozici výparům amoniaku a těkavým látkám vznikajícím při kažení kuřecího masa. Z každého měření byly zaznamenány souřadnice barevného prostoru CIELAB –  $L^*$  (světlost),  $a^*$  (červenozelená složka),  $b^*$  (modrožlutá složka), ze kterých program vypočítal chromatičnost  $C^*$  a barevný tón  $h^\circ$ .

Součástí měření byla také opacita, která poskytuje informace o neprůhlednosti filmů. Porovnání hodnot před a po expozici sloužilo k posouzení citlivosti filmů na změny prostředí a ke kvantifikaci celkové barevné změny prostřednictvím výpočtu  $\Delta E^*_{ab}$ .

### 3.5 MĚŘENÍ ABSORBANCE A TRANSMITANCE

Spektrofotometrická měření byla prováděna na přístroji UV-2600 (Shimadzu, Japonsko) pomocí UV–Vis spektrální analýzy. Byly hodnoceny optické vlastnosti filmových vzorků i roztoků získaných po migračních testech. Měření probíhala ve dvou režimech v závislosti na typu vzorku.

U filmových vzorků byly měřeny hodnoty absorbance i transmitance. Vzorky byly vloženy přímo do držáku v dráze světelného paprsku. Interval měření byl nastaven na 0,5 nm, rychlost skenování střední a měření bylo provedeno ve spektrálním rozsahu 800–240 nm, přičemž jako referenční pozadí byl použit vzduch.

U roztoků z migračních testů byla změřena pouze absorbance, a to přímo v plastových jednorázových kyvetách (2,5 ml). Referenčním médiem byla demineralizovaná voda. Pro tyto vzorky byl použit spektrální rozsah 800–360 nm, ostatní parametry zůstaly zachovány. Měření u roztoků získaných po migračních testech bylo ukončeno při 360 nm, jelikož plastové kyvety použité při měření nejsou dostatečně propustné pro záření pod touto hranicí a mohlo by docházet ke zkreslení výsledků.

Tato měření umožnila kvantifikaci množství barviva uvolněného z filmů a zároveň poskytla informace o optické hustotě a propustnosti jednotlivých materiálů.

### 3.6 MĚŘENÍ TLOUŠŤKY FILMŮ

Tloušťka připravených filmů byla hodnocena s pro posouzení vlivu přídavku barviv (kyseliny karmínové a karmínu) na výsledné vlastnosti filmových vrstev. Pro každý typ filmu byly náhodně vybrány tři reprezentativní vzorky, na každém z nich bylo provedeno pět opakovaných měření pomocí digitálního mikrometru San Liang 0–25 mm (San Liang, Čína) s přesností na tisícinu milimetru. Celkově tak bylo získáno 15 hodnot tloušťky pro každý typ filmu.

Postup hodnocení tloušťky byl shodný jak pro filmy připravené z jablečného pektinu (JP), tak pro filmy na bázi citrusového pektinu (CP).

## 4 VÝSLEDKY A VYHODNOCENÍ

### 4.1 TLOUŠŤKA FILMŮ

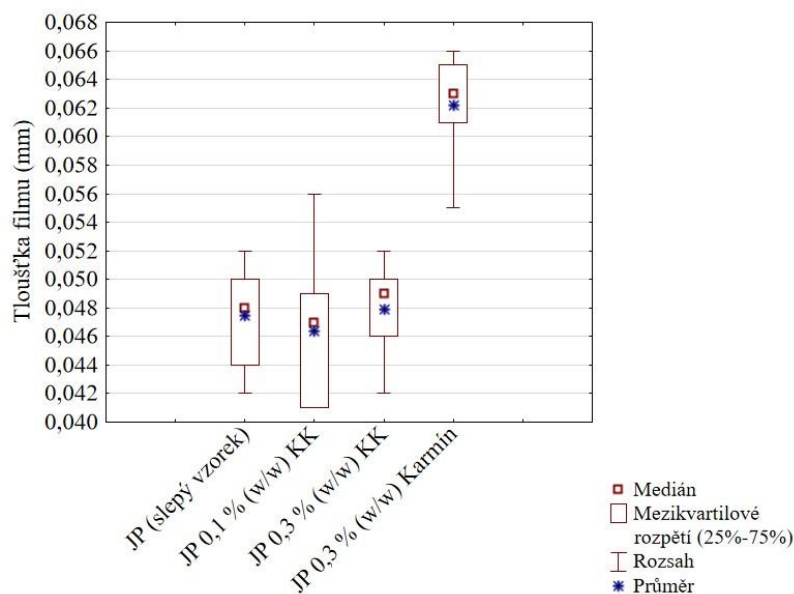
Naměřené hodnoty tloušťky filmů byly statisticky zpracovány v programu Statistica 14. Byla určena průměrná tloušťka, medián, minimální a maximální hodnota, a také směrodatná odchylka, která vyjadřuje míru variability a homogenity filmů. Výsledky měření jsou přehledně uvedeny v tabulkách 2 a 3, přičemž krabicové grafy (graf 1 a 2) ilustruje rozložení dat a případné odlehle hodnoty. Data, z nichž grafy a tabulky v této kapitole vycházejí, jsou uvedena v příloze 1.

Tabulka 2: Popisné statistiky pro tloušťku filmů připravených ze směsi jablečného/citrusového pektinu a PVA v mm

Typ filmu	Platných N	Průměr	Medián	Min.	Max.	Sm.Odch.
JP + PVA (slepý vzorek)	15	0,048	0,048	0,042	0,052	0,003
JP + PVA + 0,1 % (w/w) KK	15	0,046	0,047	0,041	0,056	0,005
JP + PVA + 0,3 % (w/w) KK	15	0,048	0,049	0,042	0,052	0,003
JP + PVA + 0,3 % (w/w) Karmín	15	0,062	0,063	0,055	0,066	0,004
CP + PVA (slepý vzorek)	15	0,046	0,044	0,04	0,052	0,004
CP + PVA + 0,1 % (w/w) KK	15	0,048	0,046	0,04	0,055	0,005
CP + PVA + 0,3 % (w/w) KK	15	0,048	0,046	0,038	0,058	0,006
CP + PVA + 0,3 % (w/w) Karmín	15	0,062	0,064	0,051	0,069	0,005

JP – jablečný pektin; CP – citrusový pektin; PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová; Sm. Odch. – směrodatná odchylka; Min. – minimum; Max. – maximum

Graf 1: Tloušťka filmů ze směsi jablečného pektinu a PVA s různými přídávky kyseliny karmínové a karmínu



JP – jablečný pektin; KK – kyselina karmínová

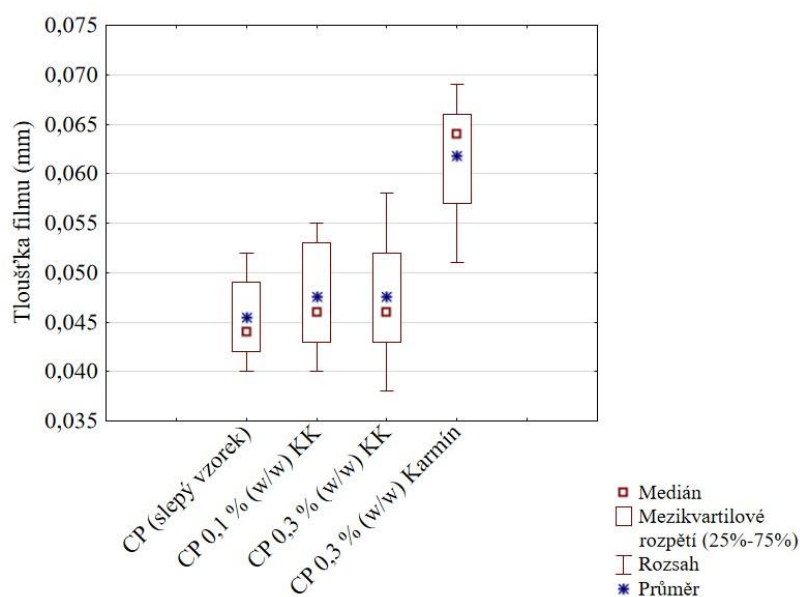
Graf 1 znázorňuje rozložení hodnot tloušťky pro jednotlivé typy filmů, včetně průměru, mediánu, mezikvartilového rozpětí a celkového rozsahu. Z výsledků vyplývá, že přídatek

kyseliny karmínové v koncentracích 0,1 % a 0,3 % (w/w) nevedl k výrazné změně průměrné tloušťky filmu ve srovnání s kontrolním vzorkem bez barviva. U nižší koncentrace kyseliny karmínové (0,1 % w/w) byla pozorována vyšší variabilita tloušťky, která může souviset s nerovnoměrným rozptylem barviva v matrici během přípravy filmu.

Naopak vzorek obsahující karmín v koncentraci 0,3 % (w/w) vykazoval zvýšení tloušťky filmu a zároveň vykazoval relativně nízkou směrodatnou odchylku, což svědčí o dobré opakovatelnosti výsledků a homogenní struktuře. Výraznější vliv karmínu ve srovnání s kyselinou karmínovou může být důsledkem odlišných chemických vlastností těchto barviv, případně jejich rozdílné interakce s pektinovou matricí. Lze předpokládat, že karmín přispěl ke zvýšení viskozity filmotvorného roztoku, které mohlo vést ke vzniku silnější vrstvy během sušení.

Celkově směrodatné odchylky jednotlivých souborů ukazují na přijatelně nízkou míru variability, což svědčí o dobré reprodukovatelnosti a homogenitě připravených filmů.

Graf 2: Tloušťka filmů ze směsi citrusového pektinu a PVA s různými přísadkami kyseliny karmínové a karmínu



JP – jablečný pektin; KK – kyselina karmínová

Graf 2 zobrazuje rozložení hodnot tloušťky filmů na bázi citrusového pektinu s různými přísadkami barviv, a to včetně mediánu, průměru, mezikvartilového rozpětí a celkového rozsahu. Z výsledků je patrné, že přísadka kyseliny karmínové v obou koncentracích (0,1 % a 0,3 % w/w) mírně zvýšil průměrnou tloušťku filmu ve srovnání se slepým vzorkem, avšak rozdíly nejsou zásadní. Oba vzorky s kyselinou karmínovou ukazují také vyšší směrodatnou

odchylku než slepý vzorek, přičemž největší variabilita byla zaznamenána u filmu s vyšší koncentrací kyseliny karmínové.

Nejvýraznější nárůst tloušťky byl pozorován u filmu obsahujícího karmín v koncentraci 0,3 % (w/w). Tento film má poměrně široké rozpětí měřených hodnot. Přesto je rozptyl hodnot srovnatelný s filmy obsahujícími kyselinu karmínovou, což naznačuje, že účinek karmínu na tloušťku filmu je reprodukovatelný a stabilní. Podobně jako u jablečného pektinu lze předpokládat, že karmín svou strukturou nebo interakcí s CP a PVA přispívá k vyšší viskozitě roztoku, čímž se vytváří silnější filmová vrstva při sušení.

Směrodatné odchylky u všech vzorků zůstávají v relativně přijatelném rozsahu, což opět potvrzuje celkově dobrou opakovatelnost a rovnoměrnost tloušťky připravených filmů.

## 4.2 BAREVNOST FILMŮ PŘED EXPOZICÍ

Naměřené hodnoty barevnosti filmů byly statisticky zpracovány v programu Statistica 14.

Před samotnou expozicí výparům amoniaku a těkavým látkám vznikajícím při kažení masa byla u všech připravených filmů zaznamenány výchozí hodnoty barevnosti. Měření sloužilo k posouzení výchozího stavu optických vlastností jednotlivých vzorků a k ověření kvality přípravy filmů, zejména ověření rovnoměrnosti rozptýlení přidaných barviv v matrici filmu.

### 4.2.1 Filmy připravené ze směsi jablečného pektinu a polyvinylalkoholu

Tato část se zaměřuje na hodnocení barevnosti filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a polyvinylalkoholu. Byly analyzovány vzorky obsahující kyselinu karmínovou ve dvou koncentracích (0,1 % a 0,3 % w/w) a karmín v koncentraci 0,3 % (w/w), přičemž jako výchozí srovnávací materiál sloužil film bez přidaného barviva (slepý vzorek). Výsledky v tabulce 4 poskytují přehled o vlivu typu a množství barviva na barevnost, sytost, barevný tón a neprůhlednost jednotlivých vzorků před jejich expozicí sledovaným látkám.

Tabulka 3: Optické vlastnosti filmů JP+PVA před a po přidavku KK/Karmínu

Typ filmu	Proměnná	Platných N	Průměr	Medián	Min.	Max.	Sm.odch.
JP + PVA (slepý vzorek)	L*	3	91,55	91,44	91,37	91,84	0,25
	a*	3	-0,88	-0,87	-0,92	-0,85	0,04
	b*	3	2,76	2,85	2,39	3,05	0,34
	C*	3	2,90	2,98	2,56	3,17	0,31
	h°	3	107,88	106,9	105,63	111,1	2,86
	Opacita	3	15,2	15,2	15,1	15,3	0,1
JP + PVA + 0,1 % (w/w) KK	L*	7	32,97	33,2	30,92	34,14	1,18
	a*	7	31,78	32,03	27,63	33,71	1,99
	b*	7	0,96	0,81	0,14	2,57	0,93
	C*	7	31,81	32,05	27,75	33,71	1,95
	h°	7	1,83	1,43	0,24	5,31	1,88
	Opacita	7	63,24	62,2	60,5	69,7	3,09
JP + PVA + 0,3 % (w/w) KK	L*	7	36,54	36	35,15	38,73	1,36
	a*	7	38,64	38,39	36	41,9	2,13
	b*	7	20,48	20,07	18,02	24,04	2,32
	C*	7	43,75	43,32	40,27	48,31	2,96
	h°	7	27,85	27,61	26,36	29,85	1,38
	Opacita	7	55,04	55	49,8	59,2	3,61
JP + PVA + 0,3 % (w/w) Karmín	L*	7	36,33	36,36	35,45	37,13	0,51
	a*	7	42,55	42,85	40,42	43,75	1,05
	b*	7	16,28	16,37	15,77	16,54	0,27
	C*	7	45,56	45,91	43,51	46,51	0,99
	h°	7	20,94	21,03	19,82	21,71	0,56
	Opacita	7	59,79	59,3	56,7	62,4	1,86

Min. – minimum; Max. – maximum; Sm. odch. – směrodatná odchylka; JP – jablečný pektin; PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová; L\* – světlost; a\* – červenozelená složka; b\* – žlutomodrá složka; C\* – chroma (sytost barvy); h° – Odstín; Opacita – neprůhlednost

Popisné statistiky v tabulce 3 ukazují, že slepý vzorek (JP+PVA) měl vysokou světlost  $L^*$  (91,55) a velmi nízké hodnoty  $a^*$  a  $b^*$ , což odpovídá téměř bezbarvému filmu se slabým žlutavým nádechem, který byl způsoben přirozenou barvou jablečného pektinu. Opacita byla velmi nízká (15,2), film byl tedy vysoce průhledný.

Přídavek kyseliny karmínové o koncentraci 0,1 % (w/w) způsobil výraznou změnu barevných vlastností. Došlo k výraznému posunu červené složky  $a^*$  ke kladným hodnotám z -0,88 na 31,78, zatímco hodnota  $b^*$  zůstala nízká (0,96). Tato kombinace vedla k velmi nízkému odstínovému úhlu ( $h^\circ = 1,83$ ), který odpovídá červenému zbarvení. Film současně výrazně ztmavnul ( $L^* = 32,97$ ) a jeho neprůhlednost se výrazně zvýšila na 63,24.

Zvýšení koncentrace kyseliny karmínové na 0,3 % (w/w) vedlo k dalšímu zesílení barvy. Hodnoty  $a^*$  i  $b^*$  vzrostly oproti filmu s nižší koncentrací, což se projevilo vyšší chromatičností  $C^*$  (43,75) a posunem odstínu směrem k oranžovější oblasti spektra ( $h^\circ = 27,85$ ). Film zůstal tmavý ( $L^* = 36,54$ ) a vykazoval stále vysokou neprůhlednost (opacita = 55,04), i když mírně nižší než u varianty s nižší koncentrací kyseliny karmínové.

Film s přídavkem karmínu 0,3 % (w/w) vykazoval nejvyšší hodnotu červené složky  $a^*$  (42,55) a hodnota  $b^*$  byla v tomto případě mírně nižší než u vzorku s kyselinou karmínovou, což vedlo k dosažení nejvyšší chromatičnosti ze všech testovaných vzorků ( $C^* = 45,56$ ). Odstínový úhel ( $h^\circ = 20,94$ ) odpovídá výraznému červeno-oranžovému zbarvení. Film byl vizuálně neprůhledný, s nejvyšší zjištěnou hodnotou opacity (59,79) oproti kyselině karmínové.

Směrodatné odchylky většiny parametrů byly nízké, což svědčí o dobré opakovatelnosti měření. Rozdíly mezi průměrem a mediánem byly minimální, což potvrzuje symetrii dat a nepřítomnost výrazných odlehlých hodnot. Nejvyšší variabilita byla zaznamenána u hodnoty  $b^*$  a odstínového úhlu ( $h^\circ$ ) u vzorku s nižší koncentrací kyseliny karmínové.

Nejvyšší variabilita dat u filmů připravených s přídavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové, oproti vyšší koncentraci kyseliny karmínové a karmínu, může souviset s nerovnoměrným rozptýlením barviva v matrici filmu během přípravy nebo mírnými rozdíly v tloušťce filmů.

Lze tedy předpokládat, že při nízké koncentraci barviva dochází k vyšší heterogenitě barevného projevu, což se promítá do větší variability barevných parametrů a tuto skutečnost je potřeba zohlednit při interpretaci výsledků, avšak bez nutnosti vyloučení těchto dat ze souboru, jelikož hodnoty odrážejí přirozenou variabilitu ruční přípravy vzorků

#### 4.2.2 Filmy připravené ze směsi citrusového pektinu a polyvinylalkoholu

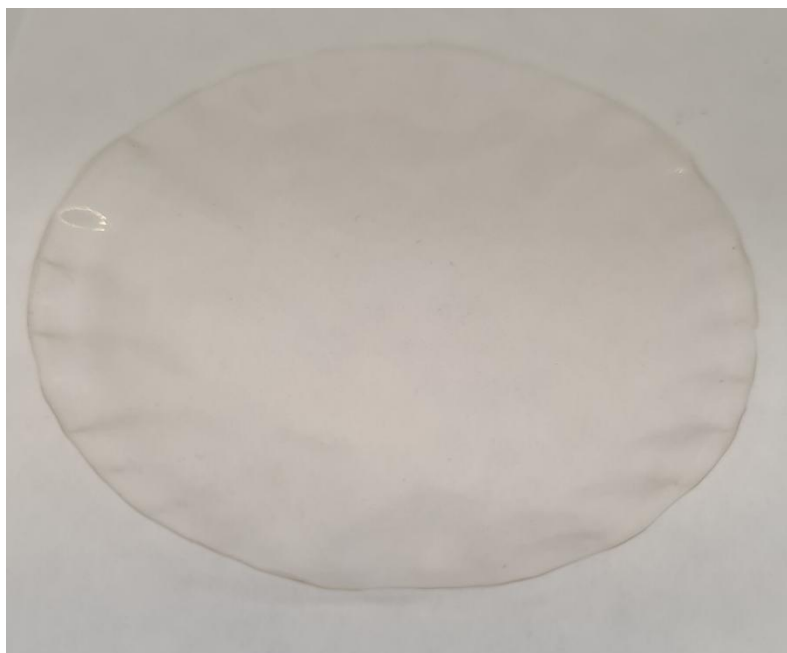
Tato část se zaměřuje na hodnocení barevnosti filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a polyvinylalkoholu. Byly analyzovány vzorky obsahující kyselinu karmínovou ve dvou koncentracích (0,1 % a 0,3 % w/w) a karmín v koncentraci 0,3 % (w/w), přičemž jako výchozí srovnávací materiál sloužil film bez přidaného barviva (slepý vzorek). Výsledky v tabulce 4 poskytují přehled o vlivu typu a množství barviva na barevnost, sytost, barevný tón a neprůhlednost jednotlivých vzorků před expozicí sledovaným látkám.

Tabulka 4: Optické vlastnosti filmů CP+PVA před a po přidavku KK/Karmínu

Typ filmu	Proměnná	Platných N	Průměr	Medián	Min.	Max.	Sm.odch.
CP + PVA (slepý vzorek)	L*	3	93,47	93,52	93,32	93,56	0,13
	a*	3	-1,29	-1,29	-1,31	-1,28	0,02
	b*	3	0,65	0,65	0,5	0,8	0,15
	C*	3	1,45	1,44	1,38	1,53	0,08
	h°	3	153,43	153,27	148,46	158,56	5,05
	Opacita	3	15,2	15,2	15,1	15,3	0,1
CP + PVA + 0,1 % (w/w) KK	L*	7	34,15	33,84	32,2	36,15	1,49
	a*	7	36,45	36,45	32,41	39,58	2,57
	b*	7	9,19	9,01	8,3	10,09	0,63
	C*	7	37,60	37,82	33,66	40,59	2,49
	h°	7	14,21	14,42	11,91	15,64	1,38
	Opacita	7	62,19	64,0	55,0	68,2	5,11
CP + PVA + 0,3 % (w/w) KK	L*	7	40,7	40,74	39,03	42,69	1,22
	a*	7	48,45	48,53	46,42	50,74	1,43
	b*	7	27,04	26,93	24,46	30,44	2,01
	C*	7	55,5	55,42	52,47	59,17	2,23
	h°	7	29,12	29,08	27,78	30,96	1,09
	Opacita	7	47,83	47,4	44,4	51,3	2,5
CP + PVA + 0,3 % (w/w) Karmín	L*	7	44,74	45,45	42,64	45,91	1,39
	a*	7	49,44	49,84	46,37	51,17	1,73
	b*	7	16,05	15,76	14,47	17,62	1,16
	C*	7	52,0	52,2	49,6	53,53	1,36
	h°	7	18,02	17,21	16,19	20,81	1,76
	Opacita	7	51,94	51,6	47,2	57,5	3,03

Min. – minimum; Max. – maximum; Sm. odch. – směrodatná odchylka; CP – citrusový pektin; PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová; L\* – světlost; a\* – červenozelená složka; b\* – žlutomodrá složka; C\* – chroma (sytost barvy); h° – Odstín; Opacita – neprůhlednost

Popisné statistiky v tabulce 4 ukazují, že slepý vzorek připravený bez přidavku barviva vykazoval velmi vysokou světlost L\* (93,47), prakticky nulovou červenou složku a\*, velmi nízkou sytost barvy C\* a vysoký odstínový úhel h°, odpovídající lehce nazelenalému tónu. Hodnota b\* (0,65) naznačuje minimální žluté zbarvení. Celkově filmy působily světlým a téměř bezbarevným dojemem, což je patrné i na obrázku 10.



*Obrázek 10: Film připravený ze směsi citrusového pektinu a PVA bez přídavku barviva (slepý vzorek) [foto autor]*

Přídavek kyseliny karmínové v koncentraci 0,1 % (w/w) (tabulka 4) způsobil výraznou změnu barevných vlastností. Hodnota červené složky  $a^*$  se výrazně zvýšila ze záporných hodnot na 36,45 oproti slepému vzorku. Vykazuje tak stejný trend jako u filmu připraveného z jablečného pektinu (tabulka 3).

Zatímco hodnota  $b^*$  vzrostla na hodnotu 9,19, což je rozdíl oproti filmu připraveného z jablečného pektinu se stejnou koncentrací kyseliny karmínové, kde se hodnota  $b^*$  prakticky nezměnila oproti slepému vzorku. Nárůst hodnoty  $a^*$  i  $b^*$  vede k nárůstu celkové sytosti  $C^*$  na 37,60. Odstínový úhel  $h^\circ$  (14,21) odpovídá systému červeno-oranžovému zabarvení. Film také výrazně ztmavnul, jak se dalo předpokládat a jeho neprůhlednost se významně zvýšila na 62,19.

Zvýšení koncentrace kyseliny karmínové na 0,3 % (w/w) vedlo k dalšímu zesílení barevnosti. Hodnoty  $a^*$  (48,45) i  $b^*$  (27,04) opět vzrostly oproti filmu s nižší koncentrací kyseliny karmínové, což mělo za následek zvýšení sytosti  $C^*$  na 55,50 a posun odstínu  $h^\circ$  směrem k oranžovější oblasti na 29,12. Film byl o něco světlejší oproti filmu s nižší koncentrací, což je také změna oproti filmu přípravného s přídavkem jablečného pektinu (tabulka 3). Neprůhlednost mírně poklesla z 62,19 na 47,83 oproti filmu s nižší koncentrací kyseliny karmínové, nicméně film se jeví jako neprůhledný.

Film obsahující karmín ve stejné koncentraci (0,3 % (w/w)) vykazoval nejvyšší hodnotu červené složky  $a^*$  (49,44), přičemž hodnota  $b^*$  (16,05) byla nižší než u filmu se stejnou koncentrací kyseliny karmínové. Sytost barvy  $C^*$  zůstávala vysoká (52,0) a

odstínový úhel  $h^\circ$  (18,02) odpovídal intenzivnímu červeno-oranžovému zbarvení. Tento film byl zároveň nejsvětlejší ze všech barvených variant ( $L^* = 44,74$ ) a vykazoval neprůhlednost 51,94.

Celkově lze konstatovat, že přídavek barviv měl výrazný vliv na vzhled filmů. Vyšší koncentrace barviva i typ použitého barviva (karmín oproti kyselině karmínové) vedly k intenzivnějším zbarvení, zvýšení sytosti, posunu odstínu směrem k červeno-oranžovým tónům a ke změnám světlosti i opacity filmů. Nejvyšší hodnoty sytosti byly dosaženy při použití 0,3% kyseliny karmínové, a to jak u filmu připraveného s přídavkem jablečného pektinu, tak u filmu připraveného z citrusového pektinu.

Průměrné hodnoty a mediány si byly i v případě filmu s přídavkem citrusového pektinu (tabulka 4) ve většině parametrů velmi blízké, což potvrzuje dobrou homogenitu filmových vzorků. Nejnížší variabilitu vykazovaly filmy s karmínem, zatímco vyšší rozptyl byl pozorován opět u vzorků s přídavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové, pravděpodobně v důsledku horší disperze barviva nebo nejednotné tloušťky, nicméně tato variabilita byla nižší v porovnání s filmy připravenými z jablečného pektinu.

### 4.3 ABSORBANCE A TRANSMITANCE FILMU PŘED EXPOZICÍ

Před expozicí připravených filmů výparům amoniaku a těkavým látkám vznikajících při kažení masa byla proměřena i jejich optická propustnost pomocí UV–VIS spektrofotometrie. Získaná spektra absorbance a transmitance sloužila k charakterizaci optických vlastností jednotlivých typů filmů a k porovnání vlivu použitého barviva a jeho koncentrace. Cílem této analýzy bylo ověřit míru propustnosti světla v celém sledovaném spektru a identifikovat rozdíly ve schopnosti filmů pohlcovat či propouštět záření. Tato měření zároveň poskytují důležité informace pro posouzení případných změn po expozici a přispívají k celkovému hodnocení chování filmů jako inteligentních indikátorů.

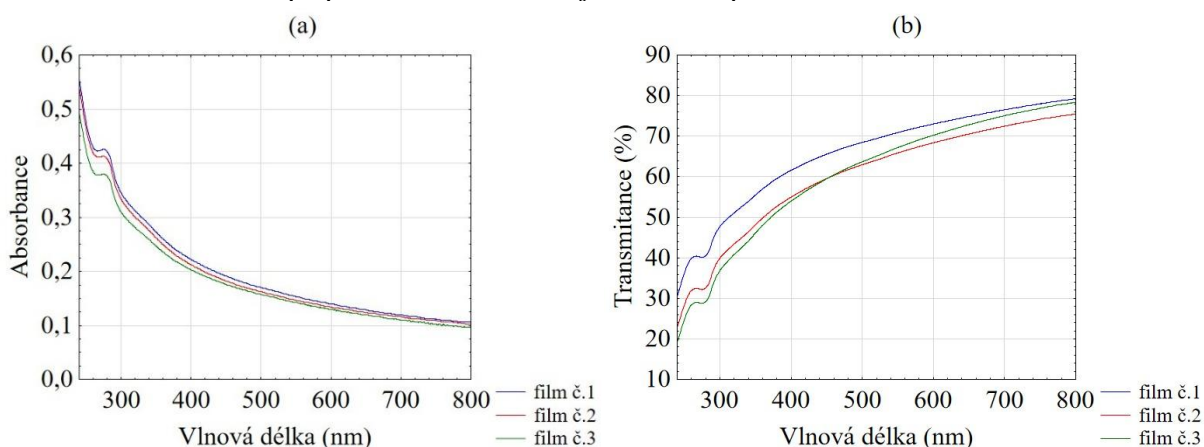
Naměřené hodnoty absorbance a transmitance filmů byly statisticky zpracovány v programu Statistica 14. Grafy slouží k ilustraci tvaru spektrálních křivek. Jelikož tvar spektrálních křivek je hodnocen kvalitativně, numerická data nejsou v přílohách uváděna.

#### 4.3.1 Filmy připravené ze směsi jablečného pektinu a polyvinylalkoholu

Tato část prezentuje výsledky spektrofotometrických měření filmů připravených ze směsi jablečného pektinu (JP) a polyvinylalkoholu (PVA).

Výsledky umožňují posoudit vliv přídavku barviv na optické vlastnosti filmů, zejména na absorbanci a transmitanci v různých částech spektra. Porovnány byly změny intenzity a průběhu absorpčních a transmitančních křivek v závislosti na typu a koncentraci barviva.

Graf 3: Závislost absorbance (a) a transmitance (b) na vlnové délce u slepého filmu připraveného ze směsi jablečného pektinu a PVA

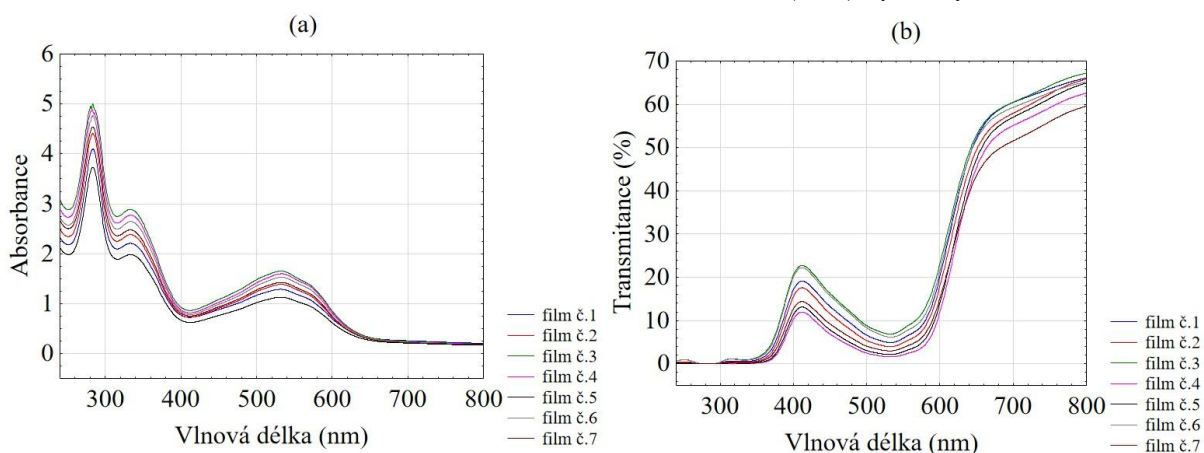


Spektrofotometrická analýza slepých vzorků filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA nízkou absorbancí (graf 3a) a vysokou transmitancí (graf 3b) v měřeném spektrálním rozsahu 240–800 nm, přičemž maximum absorbance dosahovalo přibližně hodnoty 0,5 při nižších vlnových délkách a maxima transmitance 80 % při vyšších vlnových délkách. To odpovídá vysoké světlosti a průhlednosti filmů, jak je uvedeno v tabulce 2. S klesající

vlnovou délkou se absorbance zvyšovala až na zmíněnou hodnotu 0,5 a transmittance se pozvolna snižovala až na přibližně 20 % v oblasti UV záření, přičemž nedocházelo k výskytu žádných výrazných maxim transmittance.

Tento výsledek potvrzuje, že základní složky filmu (pektin, PVA a glycerol) samy o sobě významně neabsorbují ve viditelné oblasti spektra, a tak představují vhodnou opticky neutrální matici pro sledování barevných změn po přidavku indikátorových barviv. U všech měřených spekter byl zaznamenán typický průběh odpovídající chování polymerních materiálů.

Graf 4: Závislost absorbance (a) a transmittance (b) na vlnové délce u filmů připraveného ze směsi jablečného pektinu a PVA s přidavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové



Spektrofotometrická analýza filmů s přidavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové (graf 4) potvrdila výrazný vliv barviva na optické vlastnosti materiálu v oblasti UV-VIS.

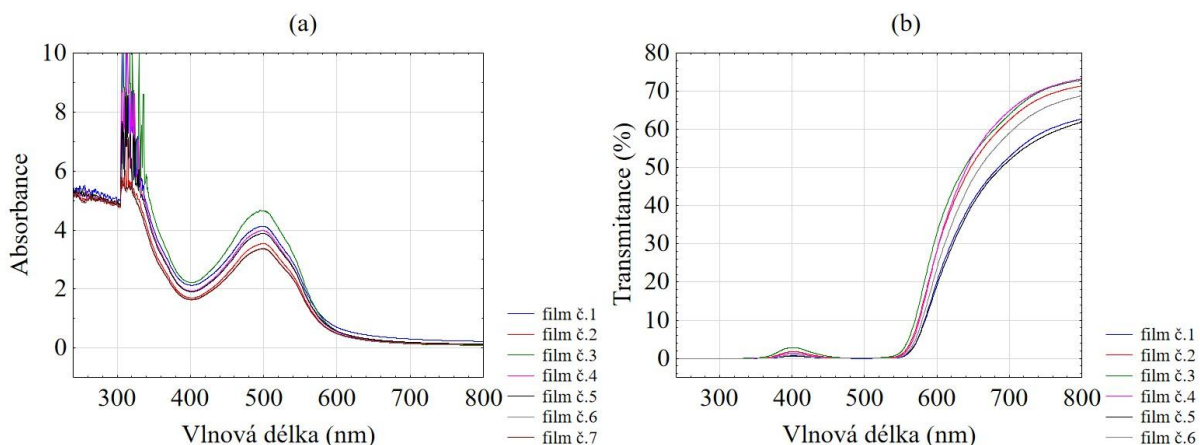
V absorpčních spektrech (graf 4a) byl pozorován charakteristický nárůst absorbance s několika výraznými absorpčními pásy v UV i VIS oblasti. Dominantní maximum se nacházelo v oblasti 280–285 nm ( $\lambda_{\max} = 283$  nm), což je typické pro konjugované aromatické struktury a může být ovlivněn přítomností karbonylových skupin ( $n \rightarrow \pi^*$  přechody).

Druhé výrazné absorpční maximum bylo detekováno v oblasti 500–550 nm ( $\lambda_{\max} = 533$  nm) a je také charakteristické pro barevný projev kyseliny karmínové. Tento pík odpovídá červenému až červenofialovému zbarvení filmu.

Transmitanční spektra (graf 4b) rovněž ukazují výrazné změny oproti slepému vzorku bez barviva (graf 3b). Při vyšších vlnových délkách (nad 650 nm) se transmittance pohybovala kolem 60–65 %, zatímco v oblasti 500–650 nm prudce klesala až na 5–8 % v důsledku intenzivní absorbance způsobené kyselinou karmínovou. V oblasti 400–500 nm byl pozorovatelný nárůst transmittance na hodnoty 12–21 % a následný prudký propad až k nulovým hodnotám, rovněž odpovídající absorpčním vlastnostem barviva.

Jednotlivé vzorky vykazovaly mírnou variabilitu v obou typech spekter. Tento rozptyl lze přičíst drobným odchylkám v tloušťce filmů v mikrometrovém rozsahu, případně nepatrné nehomogenitě při rozptýlu barviva. Celkově však byla data velmi konzistentní, což svědčí o dobré opakovatelnosti přípravy a rovnoměrné distribuci barviva ve filmové matici.

*Graf 5: Závislost absorbance (a) a transmitance (b) na vlnové délce u filmů připraveného ze směsi jablečného pektinu a PVA s přidávkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové*



Zvýšení koncentrace kyseliny karmínové z 0,1 % na 0,3 % (w/w) mělo opět vliv na optické vlastnosti filmů, jak je zdokumentováno na grafu 5a a 5b.

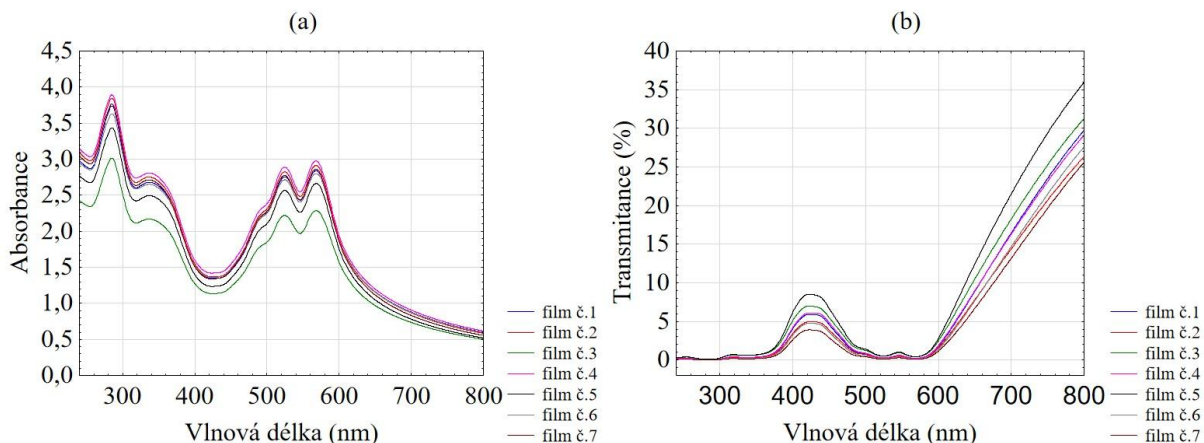
V absorpčních spektrech (graf 5a) byl pozorován výrazný nárůst hodnot absorbance v celém UV-VIS rozsahu. Hlavní absorpční pásy zůstaly zachovány. Dominantní maximum se nacházelo v oblasti 280–290 nm, avšak v tomto rozsahu došlo ke saturaci detektoru, a proto tuto oblast nelze spolehlivě vyhodnotit. Druhé významné maximum bylo zaznamenáno kolem 500–520 nm ( $\lambda_{\max} = 500$  nm), typické pro barevný projev kyseliny karmínové. Posun absorpčního maxima oproti filmu s nižší koncentrací směrem ke kratším vlnovým délkám může naznačovat zvýšenou sytost barvy a mírnou změnu odstínu, jak je popsáno v tabulce 3. Barva kyseliny karmínové byla plně rozvinuta. Nárůst absorbance v této oblasti o přibližně dvě jednotky odpovídá zvýšenému obsahu barviva ve filmové matici a je v souladu s Lambert-Beerovým zákonem (rovnice 3).

V transmitančních spektrech (graf 5b) je viditelné snížení propustnosti světla ve srovnání s filmy obsahujícím nižší koncentraci kyseliny karmínové. Z původních 70 % při vlnové délce 800 nm transmitance klesala směrem k nižším vlnovým délkám. Velmi výrazný pokles byl pozorován v oblasti 500–650, kde transmitance klesla téměř na nulu, což odpovídá absorpční oblasti kyseliny karmínové. V oblasti 380–450 nm byl pozorován lehký nárůst transmitance, jako tomu bylo u filmů s nižší koncentrací kyseliny karmínové. Nicméně nárůst výrazně nižší,

pouze na hodnoty kolem 3 %. V oblasti UV záření (pod 380 nm) zůstala transmitance téměř nulová, což je důsledkem kombinované absorpce kyselinou karmínovou a polymerní matricí.

Přestože došlo k výraznému navýšení koncentrace, spektra zůstala velmi konzistentní, což svědčí o dobré homogenitě a stabilitě filmů i při vyšší koncentraci barviva.

Graf 6: Závislost absorbance (a) a transmitance (b) na vlnové délce u filmů připraveného ze směsi jablečného pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % (w/w) karmínu



Filmy s přidavkem 0,3 % (w/w) karmínu vykazovaly odlišné spektrální vlastnosti oproti filmům se stejnou koncentrací kyseliny karmínové, jak je patrné z grafů 6a a 6b.

V absorpčním spektru (graf 6a) bylo opět pozorováno výrazné absorpční maximum v oblasti 280–285 nm, podobně jako u vzorků s kyselinou karmínovou. Hlavní rozdíly se však projevily ve viditelné oblasti spektra (konkrétně při 500–600 nm). Zatímco kyselina karmínová vykazuje v této oblasti jedno dominantní maximum, u karmínu došlo k rozštěpení absorpčního pásma na dvě jasně oddělená maxima při  $\lambda_{\max} = 525 \text{ nm}$  a  $568 \text{ nm}$ . Tento jev je typický pro komplex barviva s kovovým iontem, kdy vazba kyseliny karmínové na kov způsobuje změny v elektronové struktuře molekuly, což vede ke štěpení energetických hladin a vzniku dvou odlišných elektronových přechodů. Oproti kyselině karmínové měl karmín ve viditelné oblasti při stejné koncentraci přibližně o 1 jednotku nižší maximální absorbanci, což naznačuje jeho nižší schopnost absorbovat světlo v této oblasti. Přesto však filmy s karmínem působí opticky sytější, což souvisí s jeho silnějšími účinky v jiných oblastech spektra.

Transmitanční spektra (graf 6b) rovněž ukazují rozdíly oproti kyselině karmínové (graf 5b). V oblasti vyšších vlnových délek (700–800 nm) se transmitance pohybovala pouze mezi 25–35 %, zatímco u kyseliny karmínové dosahovala až 60–70 %. S klesající vlnovou délkou v intervalu 600–800 nm transmitance klesala až k téměř nulovým hodnotám.

V pásmu 500–600 nm byl zaznamenán mírný lokální nárůst transmitance, který souvisí s rozštěpenou absorpční oblastí komplexu karmínu (graf 6a). Nárůst transmitance

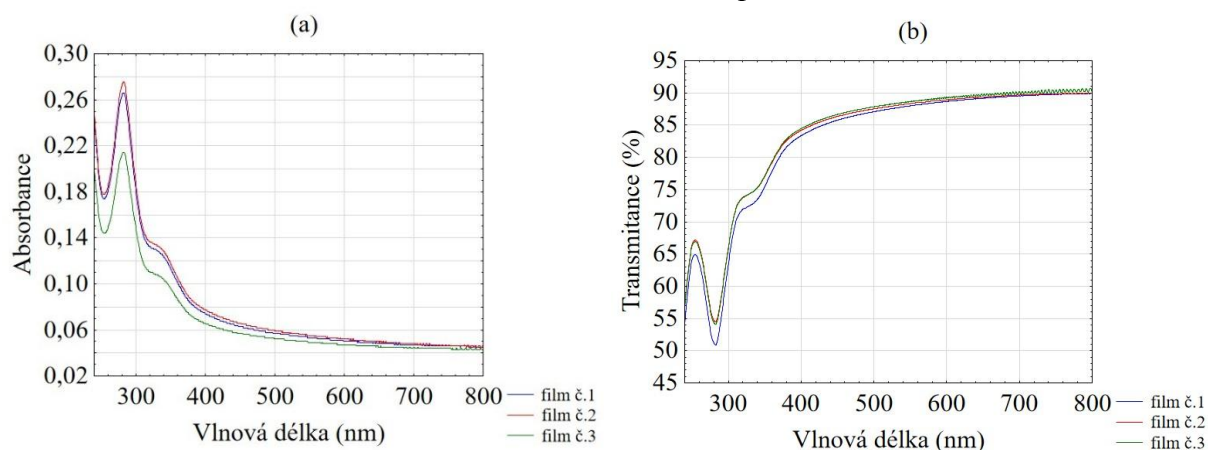
až k hodnotám 8 % byl pozorován v oblasti 380-450 nm což potvrzuje, že karmín absorbuje světlo ve stejných oblastech jako kyselina karmínová, avšak s nižší intenzitou. V oblasti UV záření (pod 380 nm) došlo opět k poklesu transmittance k nulovým hodnotám, což je typické pro polymerní matrici bez ohledu na typ barviva.

#### 4.3.2 Filmy připravené ze směsi citrusového pektinu a polyvinylalkoholu

Tato část prezentuje výsledky spektrofotometrických měření filmů připravených ze směsi citrusového pektinu (CP) a polyvinylalkoholu (PVA).

Výsledky umožňují posoudit vliv přídavku barviv na optické vlastnosti filmů, zejména na absorbanci a transmittanci v různých částech spektra. Porovnány byly změny intenzity a průběhu absorpčních a transmittančních křivek v závislosti na typu a koncentraci barviva.

*Graf 7: Závislost absorbance (a) a transmittance (b) na vlnové délce u slepého filmu připraveného ze směsi citrusového pektinu a PVA*



Spektrofotometrická charakteristika filmu připraveného z citrusového pektinu a PVA bez přídavku barviva (grafy 7a a 7b) potvrdila jeho nízkou optickou aktivitu v oblasti viditelného spektra.

V absorpčním spektru (graf 7a) byla v celém rozsahu 240–800 nm zaznamenána nízká absorbance, přičemž nejvyšší hodnota, přibližně 0,27, se objevila kolem 280 nm. Toto výrazné absorpční maximum v UV oblasti kontrastuje s výsledky slepého filmu na bázi jablečného pektinu (graf 3a), kde byla maximální absorbance vyšší (až 0,5) a bez výrazného maxima. Lokální maximum v UV oblasti spektra citrusového filmu může být způsobeno přítomností minoritních složek nebo strukturálními rozdíly mezi typy pektinu.

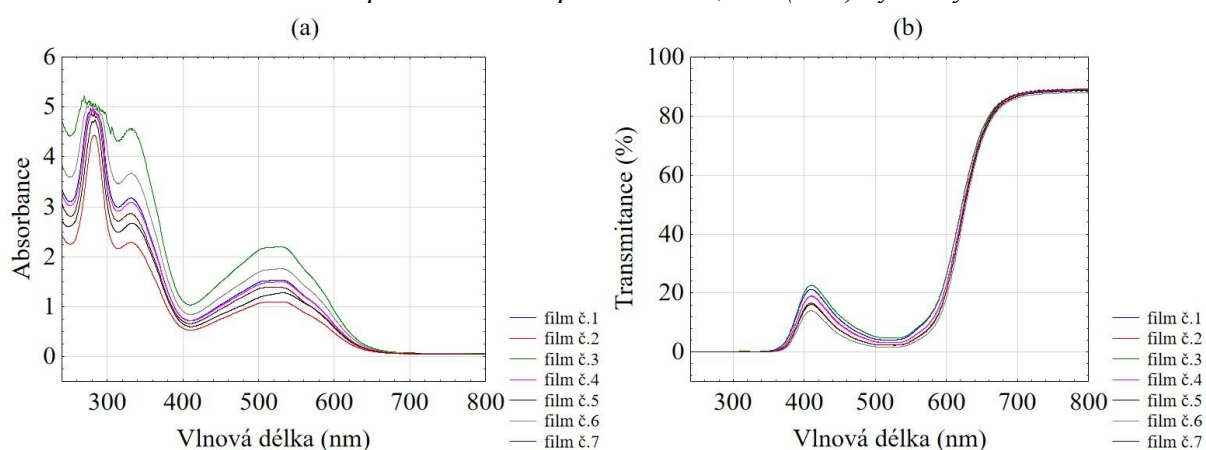
Nízké hodnoty absorbance ve viditelné oblasti spektra (nad 400 nm) obou typů filmů (jablečného i citrusového) potvrzují, že základní složky (pektin, PVA, glycerol) významně neabsorbují v této oblasti.

Transmitanční spektrum (graf 7b) slepého filmu z citrusového pektinu ukazuje vysokou propustnost světla v oblasti delších vlnových délek (až 90 %), což potvrzuje vysokou optickou čírost a vyšší průhlednosti těchto filmů oproti filmům z jablečného pektinu, kde byla naměřena maximální hodnota přibližně 80 % (graf 3b). Ve viditelné oblasti (konkrétně 400–800 nm) byla křivka transmitance hladká a bez výrazných maxim, s mírným poklesem směrem ke kratším vlnovým délkám, což odpovídá obvyklému chování polymerních filmů bez barviv.

Při přechodu do UV oblasti (pod 400 nm) došlo u citrusových filmů k náhlému poklesu transmitance, a to až na 50–55 % v minimu kolem 280 nm. Tento strmější průběh odlišuje citrusové filmy od filmů s jablečným pektinem, kde transmitance klesala pozvolněji.

Celkově lze konstatovat, že filmy z citrusového pektinu jsou ve viditelném spektru opticky velmi čiré, s nižší absorbancí než jejich jablečné protějšky. Díky minimální vlastní absorbanci jsou tyto materiály vhodné pro sledování barevných změn po přidavku barviv, protože vykazují nízký optický šum a dobrou průhlednost výchozí matrice.

*Graf 8: Závislost absorbance (a) a transmitance (b) na vlnové délce u filmů připraveného ze směsi citrusového pektinu a PVA přidavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové*



Filmy připravené ze směsi citrusového pektinu a PVA s přidavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové (grafy 8a a 8b) vykazovaly změny v optických vlastnostech oproti slepému vzorku.

V absorpčním spektru (graf 8a) byl zaznamenán nárůst absorbance v celém UV-VIS rozsahu oproti slepému vzorku. Dominantní absorpční maximum bylo pozorováno v oblasti 280–285 nm, což je typické pro konjugované aromatické struktury a může být ovlivněn přítomností karbonylových skupin ( $n \rightarrow \pi^*$  přechody).

Druhé výrazné absorpční pásmo se nacházelo v oblasti 500–550 nm ( $\lambda_{\max} = 530$  nm) a souvisí s barevným projevem kyseliny karmínové ve viditelné části spektra (konkrétně s jejím červeno-fialovým zbarvením).

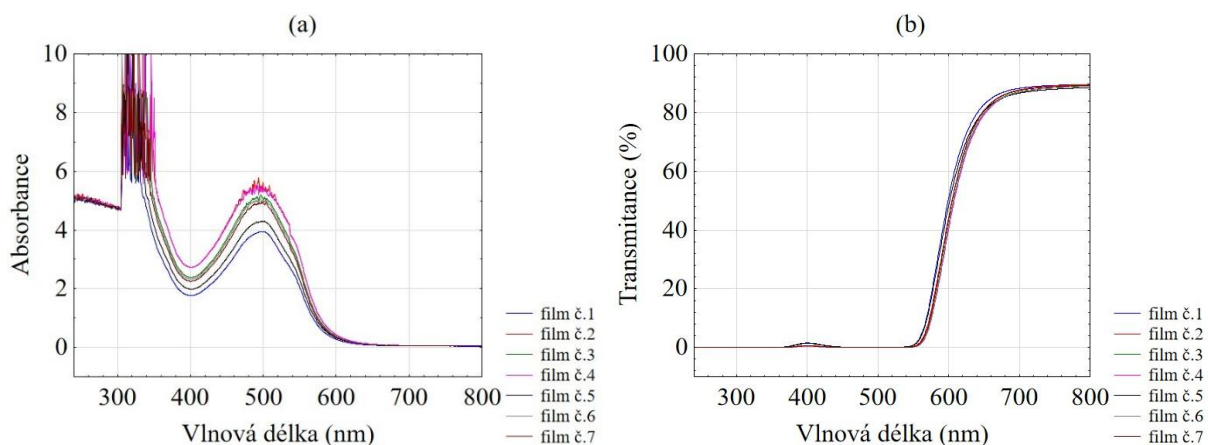
Ve srovnání se slepým vzorkem (graf 7a) došlo u filmů s přidavkem kyseliny karmínové k nárůstu absorpance z naměř nulové až na dvě jednotky, což potvrzuje úspěšné začlenění barviva do polymerní matrice. Přítomnost charakteristických absorpčních pásů prokazuje, že výsledné optické vlastnosti filmů jsou ovlivněny použitou kyselinou karmínovou.

Transmitanční spektra (graf 8b) ukazují, že přidavek 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové vedl k výraznému snížení propustnosti světla ve srovnání se slepým vzorkem (zejména v oblasti od 700 nm směrem k nižším vlnovým délkám). Při vyšších vlnových délkách (nad 650 nm) se transmitance pohybovala kolem 90–95 %, zatímco v oblasti 500–650 nm prudce klesala až na 5–10 % v důsledku absorpce světla kyselinou karmínovou. V oblasti 400–500 nm byl pozorován opětovný nárůst transmitance až na hodnotu 20 % a následný prudký propad až k nulovým hodnotám, rovněž odpovídající absorpčním vlastnostem barviva.

Při porovnání s filmy na bázi jablečného pektinu (graf 4) vykazovaly citrusové filmy vyšší optickou čírost a konzistenci průběhu spekter. Zatímco u jablečných filmů byla transmitance nad 600 nm nižší (60–65 %), citrusové filmy dosahovaly stabilních a vyšších hodnot přes 90 %. Tato rozdílná optická kvalita pravděpodobně souvisí s lepší kompatibilitou citrusového pektinu s barvivem a rovnoměrnějším rozptylem molekul kyseliny karmínové v polymerní matrici.

Lze tedy uzavřít, že kombinace citrusového pektinu a kyseliny karmínové poskytuje z hlediska optických vlastností výhodnější materiál s vyšší průhledností, stabilitou a opakovatelností. Díky těmto vlastnostem představuje vhodného kandidáta pro využití v oblasti inteligentních obalových systémů, kde je požadována citlivá vizuální odezva na chemické změny v prostředí.

Graf 9: Závislost absorpce (a) a transmittance (b) na vlnové délce u filmů připraveného ze směsi citrusového pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové



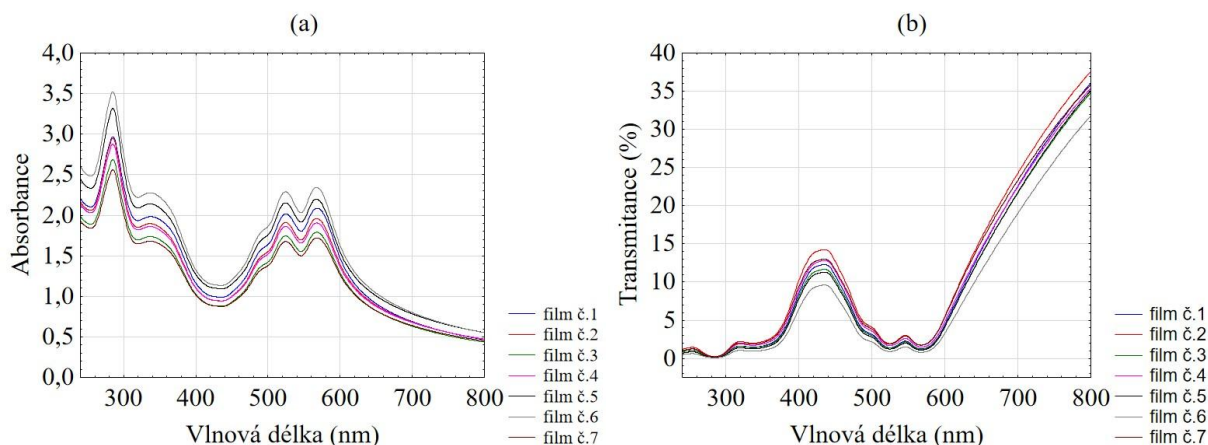
Vyšší koncentrace kyseliny karmínové z 0,1 % na 0,3 % (w/w) ve filmech na bázi citrusového pektinu a PVA vedlo opět ke změně optických vlastností, jak ukazují spektra v grafech 9a a 9b.

V absorpčním spektru (graf 9a) nárůst absorpce napříč celým UV–VIS rozsahem. Charakteristické absorpční pásy zůstaly zachovány. Dominantní maximum se nacházelo v oblasti 280–290 nm, avšak v tomto rozsahu došlo ke saturaci detektoru, a proto tuto oblast nelze spolehlivě vyhodnotit. Druhé významné maximum bylo zaznamenáno kolem 500–520 nm ( $\lambda_{\max} = 500$  nm), typické pro barevný projev kyseliny karmínové. Oproti spektru filmu s nižší koncentrací (graf 8a) došlo k posunu maxima k nižší vlnové délce, což souvisí s vyšší sytostí barvy a nárůstem koncentrace barviva. Nárůst absorpce v této oblasti o přibližně dvě jednotky (podobně jako u filmu s jablečným pektinem) odpovídá zvýšenému obsahu barviva ve filmové matici a je v souladu s Lambert-Beerovým zákonem (rovnice 3).

Transmitanční spektrum (graf 9b) odhaluje výrazné snížení propustnosti světla u filmů s vyšší koncentrací barviva, zejména v oblasti 380–600 nm, kde kyselina karmínová absorbuje. V porovnání s filmy z jablečného pektinu (graf 5b) vykazovaly filmy z citrusového pektinu podobné průběhy transmitančních křivek. Nad 650 nm (mimo hlavní absorpční pásmo kyseliny karmínové) citrusové filmy vykazovaly transmitanci až 95 %, zatímco filmy s jablečným pektinem propouštěly v tomto pásmu pouze okolo 70 %, což odráží nižší čírost a vyšší rozptyl světla u filmů z jablečného pektinu. V oblasti 550–700 nm došlo u citrusových filmů ke strmému poklesu transmittance z cca 90 % až téměř na nulu. Oproti tomu filmy z jablečného pektinu vykazovaly pozvolnější pokles a vyšší mezi-vzorkovou variabilitu, což poukazuje na nižší optickou homogenitu a vyšší variabilitu těchto filmů.

Při srovnání filmů z citrusového pektinu s různým obsahem kyseliny karmínové, u filmů s vyšším obsahem kyseliny došlo k potlačení lokálního maxima transmitance kolem 400 nm, což odráží intenzivnější absorpci světla a vyšší optickou hustotu v této oblasti. V UV oblasti (pod) 380 nm byla transmitance téměř nulová.

*Graf 10: Závislost absorbance (a) a transmitance (b) na vlnové délce u filmů připraveného ze směsi citrusového pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % (w/w) karmínu*



Filmy připravené ze směsi citrusového pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % (w/w) karmínu vykazovaly odlišné spektrální vlastnosti ve srovnání s filmy obsahujícími kyselinu karmínovou, jak je patrné z grafů 10a a 10b.

V absorpčním spektru (graf 10a) bylo opět pozorováno výrazné absorpční maximum v oblasti 280–285 nm, podobně jako u filmů s kyselinou karmínovou. Hlavní rozdíly se však projeví ve viditelné oblasti spektra (500–600 nm). Zatímco kyselina karmínová vytváří v této oblasti jedno dominantní maximum, u karmínu došlo k rozštěpení absorpčního pásma na dvě jasně oddělená maxima při  $\lambda_{\max} = 525 \text{ nm}$  a  $568 \text{ nm}$ . Oproti kyselině karmínové ve stejné koncentraci a stejném typu filmu měl karmín ve viditelné oblasti přibližně o 3 jednotku nižší maximální absorbanci, což naznačuje jeho nižší schopnost absorbovat světlo v této oblasti.

Transmitanční spektrum (graf 10b) ukazuje, že filmy s karmínem vykazují nižší propustnost světla než filmy s kyselinou karmínovou v oblasti vlnových délek 600–800 nm. V oblasti 700–800 nm dosahovala transmitance pouze 25–35 %, zatímco u filmů se stejnou koncentrací kyseliny karmínové dosahovala až 95 %. S klesající vlnovou délkou v tomto intervalu transmitance klesala až k téměř nulovým hodnotám.

V rozsahu 500–600 nm byl zaznamenán mírný lokální nárůst transmitance, který souvisí s rozštěpenou absorpční oblastí komplexu karmínu (graf 6a). Dále byl pozorován nárůst transmitance až na hodnoty 15 % v oblasti 380–450, což potvrzuje, že karmín absorbuje světlo ve stejných oblastech jako kyselina karmínová, avšak s nižší intenzitou. V oblasti UV záření

(pod 380 nm) došlo opět k poklesu transmitance k nulovým hodnotám, což je dáno kombinací absorpce barviva i polymerní matrice.

Spektrální profil filmu s citrusovým pektinem a karmínem je téměř totožný s profilem filmu na bázi jablečného pektinu (graf 6) obsahujícího karmín, což potvrzuje strukturální stabilitu hlinitého komplexu nezávisle na typu použitého pektinu.

#### 4.4 BAREVNOST FILMŮ PO EXPOZICI ZÁSADITÉMU PROSTŘEDÍ

V této části jsou prezentovány výsledky hodnocení barevných změn jedlých filmů po expozici výparům amoniaku ( $\text{NH}_3$ ). Cílem bylo ověřit citlivost připravených filmů s obsahem kyseliny karmínové nebo karmínu na zásadité prostředí simulující počínající kažení potravin.

Hodnoceny byly změny základních kolorimetrických parametrů ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), sytosti ( $C^*$ ), barevného odstínu ( $h^\circ$ ) a neprůhlednosti (opacity) před a po expozici. Míra barevné změny byla vyjádřena prostřednictvím hodnoty  $\Delta E$  (rovnice 4).

Pro každou variantu bylo provedeno měření tří náhodně vybraných výřezů filmů po expozici. Současně byl analyzován jeden standardní vzorek, který byl vystaven stejným podmínkám (čas, teplota, uzavření) avšak bez přítomnosti výparů amoniaku, a sloužil jako kontrola stability filmového materiálu bez vlivu zásaditého prostředí.

Výsledky umožňují porovnat citlivost jednotlivých typů filmů na zásadité výpary a posoudit jejich potenciál pro použití jako inteligentní obalové materiály indikující čerstvost potravin.

Veškerá data byla statisticky zpracována v programu Statistica 14. Grafy v této kapitole slouží k ilustraci změn tvaru spektrálních křivek a posunu absorpčního maxima barviva před a po expozici zásaditému prostředí. Vzhledem k tomu, že tyto změny jsou hodnoceny kvalitativně, numerická data nejsou v přílohách uváděna.

##### 4.4.1 Filmy připravené ze směsi jablečného pektinu a PVA

###### Filmy s přídavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové

Z tabulky 5 vyplývá, že po expozici výparům amoniaku došlo ke změnám barevných parametrů. Původní světlost standardního filmu ( $L^* = 37,5$ ) se po expozici snížila na 29,1–31,2, což ukazuje na ztmavnutí filmů. Hodnota  $a^*$  poklesla z 33,0 na 15,5–19,6, zatímco hodnota  $b^*$  se změnila na záporné hodnoty (-4,2 až -1,5), což znamená posun barvy směrem k fialovomodrým odstínům.

Tabulka 5: Barevné parametry a  $\Delta E$  filmů ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové po expozici  $\text{NH}_3$

Typ filmy		$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E$	$C^*$	$h^\circ$	Opacita
Jablečný pektin + PVA + 0,1 % (w/w) KK	Standard	37,5	33,0	5,8		33,5	10,1	58,5
	Film č.1	29,1	16,8	-1,5	19,7	16,8	354,9	89,0
	Film č.2	31,2	19,6	-4,2	17,9	20,0	347,9	85,1
	Film č.3	29,8	15,5	-2,3	20,7	15,7	351,6	89,9

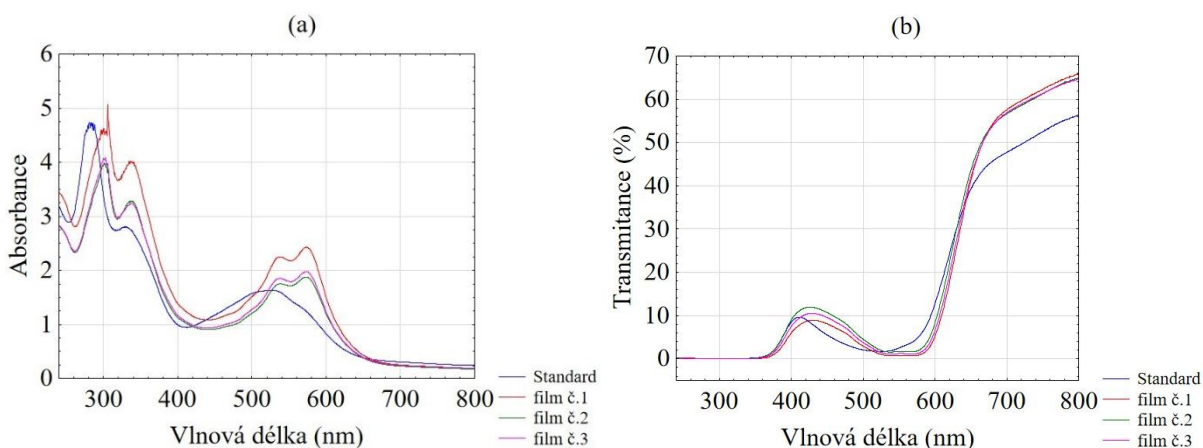
PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová;  $L^*$  – světlost;  $a^*$  – červenozelená složka;  $b^*$  – žlutomodrá složka;  $\Delta E$  – celková barevná odchylka;  $C^*$  – chroma (sytost barvy);  $h^\circ$  – odstín; Opacita – neprůhlednost vzorku

Dále z tabulky 5 vyplývá, že sytost barvy ( $C^*$ ) klesla ze 33,5 na 15,7–20,0.

Změna barevného tónu ( $h^\circ$ ) z původních  $10,1^\circ$  na hodnoty v rozmezí  $347,9^\circ$ – $354,9^\circ$  potvrzuje posun k chladnějším tónům. Opacita vzrostla ze 58,5 na 85,1–89,9, což ukazuje na snížení průhlednosti filmů po expozici.

Všechny vzorky vykazovaly velmi vysoké hodnoty  $\Delta E$  (17,9–20,7), což značí výraznou barevnou změnu snadno pozorovatelnou pouhým okem.

*Graf 11: Závislost absorbance (a) a transmittance (b) na vlnové délce filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přidavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové před a po expozici parám  $NH_3$*



Ztmavnutí filmů (projevující se poklesem parametru  $L^*$ ) a jejich snížená průhlednost vedly k nárůstu absorbance (graf 11a) a současnému poklesu transmittance (graf 11b) v oblasti 500–600 nm, která odpovídá hlavní absorpční zóně kyseliny karmínové v oblasti viditelného záření.

Absorpční maximum standardního filmu ( $\lambda_{max}=525$  nm), typické pro tento obsah kyseliny karmínové (graf 4), se po expozici posunulo směrem k vyšším vlnovým délkám a došlo k jeho rozštěpení ( $\lambda_{max1}=538$  nm a  $\lambda_{max2}=573$  nm), což odpovídá barevnému přechodu z červenooranžové na tmavší až modrofialový odstín. Nejde tedy pouze o pokles intenzity, ale i o změnu tvaru a polohy absorpčního pásu. Rozštěpení píku a posun maxima absorbance směrem k vyšším vlnovým délkám (tzv. bathochromní posun) po expozici parám amoniaku ( $NH_3$ ) lze vysvětlit změnami v chemické struktuře kyseliny karmínové v důsledku změny pH.

Expozice amoniaku jednoznačně vedla ke ztrátě červeného zbarvení, ztmavnutí a snížení transparentnosti filmů připraveného z jablečného pektinu s přidavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové, což potvrzuje odezvu kyseliny karmínové na zásadité těkavé látky.

## Filmy s přidavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové

Jak uvádí tabulka 6, po expozici parám amoniaku došlo u filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové k ještě výraznějším změnám barevných parametrů oproti filmům s nižší koncentrací barviva.

Tabulka 6: Barevné parametry a  $\Delta E$  filmů ze směsi jablečného pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové po expozici  $\text{NH}_3$

Typ filmy		L*	a*	b*	$\Delta E$	C*	h°	Opacita
Jablečný pektin + PVA + 0,3 % (w/w) KK	Standard	35,3	32,0	14,3		35,1	24,1	64,6
	Film č.1	29,3	2,0	2,0	33,0	2,8	45,3	103,8
	Film č.2	32,7	2,6	2,7	31,7	3,8	46,0	81,2
	Film č.3	31,6	4,0	3,6	30,2	5,4	42,0	111,5

PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová; L\* – světlost; a\* – červenozelená složka; b\* – žlutomodrá složka;  $\Delta E$  – celková barevná odchylka; C\* – chroma (sytnost barvy); h° – odstín; Opacita – neprůhlednost vzorku

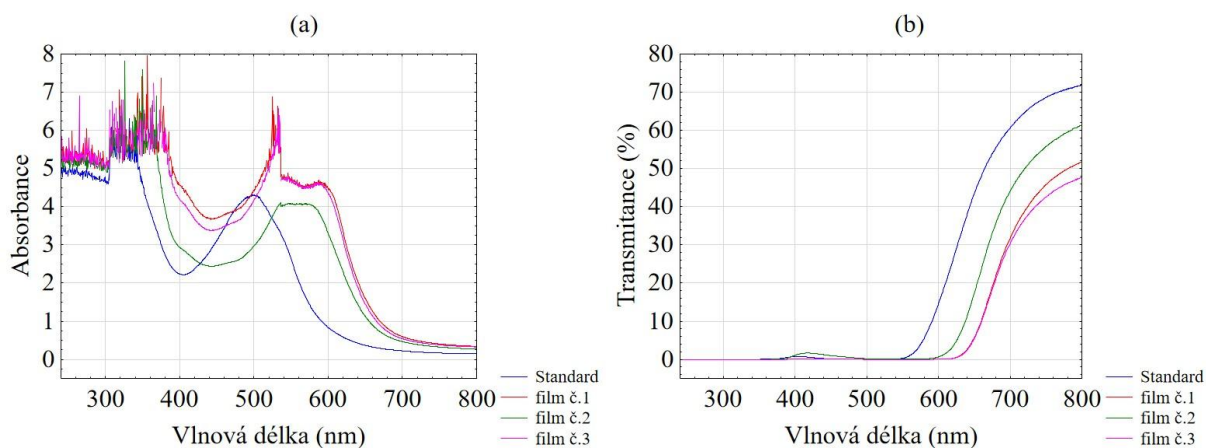
Z tabulky 6 vyplývá, že hodnoty  $\Delta E$  se pohybovaly mezi 30,2 a 33,0, což svědčí o velmi výrazné změně barvy, snadno patrné pouhým okem. Světlost (L\*) u všech vzorků poklesla z původních 35,3 na 29,3–32,7, což značí ztmavnutí filmů. Hodnota a\* dramaticky klesla z 32,0 na hodnoty mezi 2,0–4,0, což znamená téměř úplné vymizení červené barvy. Podobně i hodnota b\* výrazně poklesla, což naznačuje útlum teplého barevného tónu.

Sytnost barvy (C\*) klesla ze 35,1 na velmi nízké hodnoty (2,8–5,4), což ukazuje na ztrátu barevné intenzity. Hodnoty odstínu (h°) se posunuly k vyšším hodnotám.

Výrazný nárůst opacity (z 64,6 až na 111,5) potvrzuje, že filmy se po expozici  $\text{NH}_3$  staly méně průhlednými. Tato změna je způsobena chemickou reakcí kyseliny karmínové se zásaditým prostředím, která vedla ke ztmavnutí filmů a zvýšenému pohlcování světla.

Změnu barevnosti lze doložit na absorpčním a transmitančním spektru (graf 12).

Graf 12: Závislost absorpce (a) a transmitance (b) na vlnové délce filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové před a po expozici parám  $\text{NH}_3$



Po expozici výparům amoniaku došlo k výraznému ztmavnutí filmů (pokles  $L^*$ ) a snížení jejich průhlednosti, což se projevilo zvýšením absorbance (graf 12a) a současným poklesem transmitance (graf 12b) v oblasti vlnových délek 500-650.

U standardního filmu je patrný výrazný absorpční vrchol v oblasti 480–540 nm ( $\lambda_{\max}=500$  nm), typický pro červené zbarvení kyseliny karmínové při této koncentraci (graf 5). U filmů po expozici se však tento vrchol posouvá směrem k vyšší vlnové délce, což opět odpovídá ztrátě červeného odstínu a rozkladu původní chromoforové struktury stejně jako bylo pozorováno u filmu s nižší koncentrací kyseliny karmínové (graf 11).

Transmitanční křivky vzorků po expozici (graf 12b) jsou plošší a méně strmé oproti standardu, což značí rozptýlené pohlcování světla typické pro opticky méně homogenní a neprůhlednější vrstvy. Maximum transmitance při 800 nm pokleslo o 15-20 % oproti standardu. Tento jev odpovídá i zvýšení opacity uvedenému v tabulce 6.

Celkově lze říct, že expozice zásaditým výparům vedla ke ztrátě syté červené barvy, výraznému ztmavnutí a omezení průhlednosti filmu. Výsledná barva se po expozici jeví jako tmavě fialová, jak je viditelné na obrázku 11, což potvrzuje reaktivitu kyseliny karmínové ve filmu vůči změnám pH.



*Obrázek 11: Film připravený ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % kyseliny karmínové před (vlevo) a po (vpravo) expozici parám amoniaku [foto autor]*

### Filmy s přídavkem 0,3 % (w/w) karmínu

Jak uvádí tabulka 7, v tomto případě hodnota světlosti ( $L^*$ ) mírně poklesla ze 38,5 na 34,6–37,7, což ukazuje na lehké ztmavnutí filmů. Červená složka ( $a^*$ ) se snížila z původních 40,2 na 29,7–36,0 a žlutá složka ( $b^*$ ) z 16,3 na 10,2–11,0, což odpovídá zeslabení barevné intenzity, avšak zachování celkového teplého červeno-oranžového odstínu.

Tabulka 7: Barevné parametry a  $\Delta E$  filmů ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) karmínu po expozici  $NH_3$

Typ filmy		$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E$	$C^*$	$h^\circ$	Opacita
Jablečný pektin + PVA + 0,3 % (w/w) Karmín	Standard	38,5	40,2	16,3		43,4	22,1	64,2
	Film č.1	34,6	29,8	10,2	12,1	31,4	18,9	77,1
	Film č.2	37,0	32,6	11,0	9,6	34,4	18,6	72,4
	Film č.3	37,7	36,0	11,0	6,8	37,7	17,0	64,5

PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová;  $L^*$  – světlost;  $a^*$  – červenozelená složka;  $b^*$  – žlutomodrá složka;  $\Delta E$  – celková barevná odchylka;  $C^*$  – chroma (sytnost barvy);  $h^\circ$  – odstín; Opacita – neprůhlednost vzorku

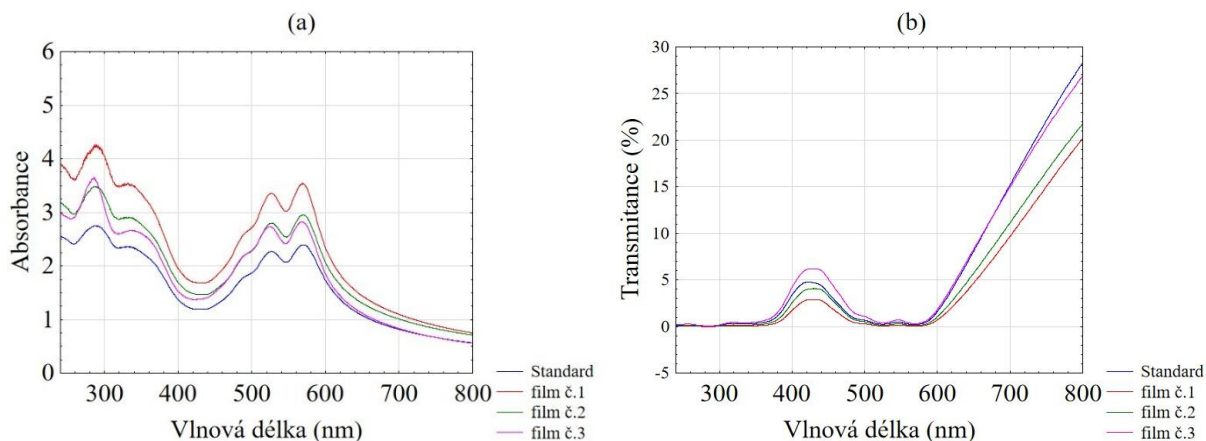
Dále z tabulky 7 vyplývá, že sytnost barvy ( $C^*$ ) klesla z 43,4 na 31,4–37,7, ale barva zůstala stále výrazná. Odstín ( $h^\circ$ ) se posunul mírně směrem k čistší červené barvě (z 22,1° na 17,0–18,9°).

Opacita filmů vzrostla ze 64,2 na 64,5–77,1, což svědčí o mírném snížení průhlednosti, ovšem změna byla méně výrazná než u filmů s kyselinou karmínovou.

Hodnoty  $\Delta E$  se pohybovaly mezi 6,8 a 12,8, což znamená, že barevné změny byly viditelné, ale ne extrémní.

Nepříliš výraznou změnu výsledné barvy lze opět podpořit absorpčním a transmittančním spektrem znázorněným v grafu 13.

Graf 13: Závislost absorpance (a) a transmittance (b) na vlnové délce filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) karmínu před a po expozici parám  $NH_3$



Z grafu 13a je patrné, že v oblasti přibližně 520–560 nm zůstává tvar absorpční křivky prakticky nezměněný i po expozici, pouze s mírným nárůstem intenzity. To svědčí o tom, že molekulární struktura karmínu zůstala stabilní a nedošlo k významné změně jeho chromoforu. Mírné zvýšení absorbance lze pravděpodobně přičíst spíše fyzikálním změnám ve struktuře filmu než chemické přeměně barviva, což dokládá vyšší chemickou odolnost karmínu vůči zásaditému prostředí. To odpovídá vizuálnímu pozorování, že filmy si uchovaly výraznou červenooranžovou barvu v souladu s hodnotami  $a^*$ ,  $b^*$  a  $C^*$  uvedenými v tabulce 7.

Také transmitanční křivky (graf 13b) se po expozici téměř neliší od standardu, rozdíly jsou minimální, což podporuje závěr o zachování optických vlastností a malé změně opacity. Výrazný absorpční pík se objevuje v oblasti 380–450 nm, kde transmitance krátce vzroste na hodnoty kolem 6 %. Tento jev ukazuje, že karmín absorbuje světlo ve stejné části spektra jako kyselina karmínová, avšak s nižší intenzitou (viz graf 6).

Celkově filmy s obsahem karmínu vykazovaly lepší barevnou stabilitu než filmy s kyselinou karmínovou. Barva zůstala sytá a červenooranžová, a i přes mírné ztmavnutí a slabší pokles sytosti si filmy zachovaly výrazný, snadno rozpoznatelný vzhled.

#### 4.4.2 Filmy připravené ze směsi citrusového pektinu a PVA

##### Filmy s přídavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové

Po expozici výparům amoniaku došlo u filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové k barevným změnám (tabulka 8), stejně jako tomu bylo u filmů připravených z jablečného pektinu. Hodnoty  $\Delta E$  se pohybovaly mezi 20,2 a 22,8, což svědčí o výrazné změně barvy postřehnutelné pouhým okem.

Tabulka 8: Barevné parametry a  $\Delta E$  filmů ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,1 % (w/w) KK po expozici  $NH_3$

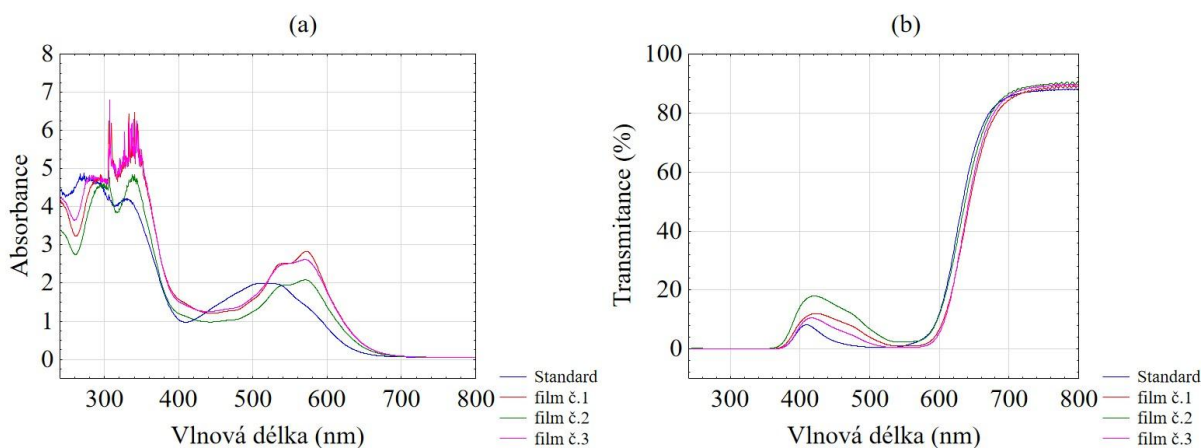
Typ filmy		L*	a*	b*	$\Delta E$	C*	h°	Opacita
Citrusový pektin + PVA + 0,1 % (w/w) KK	Standard	35,1	30,1	10,2		31,8	18,7	78,5
	Film č.1	31,9	11,1	1,5	21,1	11,2	7,6	88,1
	Film č.2	32,0	12,9	0,2	20,2	12,9	0,9	89
	Film č.3	31,7	9,1	2,0	22,8	9,3	12,6	94,3

PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová; L\* – světlost; a\* – červenozelená složka; b\* – žlutomodrá složka;  $\Delta E$  – celková barevná odchylka; C\* – chroma (sytnost barvy); h° – odstín; Opacita – neprůhlednost vzorku

Z tabulky 8 je dále patrné, že světlost (L\*) mírně klesla z původních 35,1 na hodnoty kolem 31,7–32,0, což znamená mírné ztmavnutí filmů. Hodnota a\* klesla z 30,1 na přibližně 9–13, což ukazuje na výrazné zeslabení červeného podílu barvy. Podobně i hodnota b\* se snížila na hodnoty blízké nule, což znamená potlačení teplého odstínu.

Sytnost barvy (C\*) se snížila z původních 31,8 na hodnoty mezi 9,3–12,9, což potvrzuje oslabení barevné intenzity. Odstín (h°) se posunul z 18,7° (teplá červenooranžová) k hodnotám mezi 0,9° a 12,6°, což odpovídá posunu směrem až k slabě fialové oblasti barevného spektra. Zvýšila se také opacita z 78,5 na hodnoty 88,1–94,3, což znamená, že filmy se staly méně průhlednými. Barevnou změnu dokládá graf absorpance (graf 14a) a transmittance (graf 14b).

Graf 14: Závislost absorpance (a) a transmittance (b) na vlnové délce filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové před a po expozici parám  $NH_3$



Podobně jako u filmů na bázi jablečného pektinu vedlo ztmavnutí (pokles hodnoty  $L^*$ ) a snížení průhlednosti filmů z citrusového pektinu k nárůstu absorbance (graf 14a) a poklesu transmitance (graf 14b) v oblasti 500–600 nm, která odpovídá hlavní absorpční zóně kyseliny karmínové. Tento jev značí zvýšené pohlcování červeného světla.

Z grafu 14a je patrné, že standardní film vykazuje výrazný absorpční pík v oblasti 520–530 nm ( $\lambda_{\max}=525$  nm) typický pro kyselinu karmínovou v této koncentraci (viz graf 8). Po expozici se však tento pík posouvá směrem k vyšším vlnovým délkám, což souvisí s posunem barevného tónu ( $h^\circ$ ). Posun odpovídá změně barevného vjemu z oranžovo-červeného směrem k čistě červenému až fialovému odstínu. Nejedná se tedy pouze o útlum intenzity, ale i o změnu tvaru a polohy absorpčního pásu.

Transmitanční křivky (graf 14b) ukazují, že i po expozici zůstává propustnost v oblasti nad 650 nm relativně vysoká. To znamená, že filmy si zachovávají určitý jas a nedochází k jejich úplnému zčernání. Změna barvy je spíše otázkou odstínu než ztráty viditelnosti.

Celkově lze říci, že expozice amoniaku způsobila ztmavnutí, výrazné snížení sytosti a posun odstínu směrem k fialové, jak je vidět na obrázku 12. Tyto změny potvrzují citlivost filmů obsahujících kyselinu karmínovou na zásadité výpary.



*Obrázek 12: Film připravený ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,1 % kyseliny karmínové před (vlevo) a po (vpravo) expozici parám amoniaku [foto autor]*

## Filmy s přídavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové

Jak je popsáno v tabulce 9, v tomto případě se hodnoty  $\Delta E$  pohybují mezi 44,7 a 44,9, což ukazuje na velmi výraznou změnu barvy, kdy jsou původní a výsledná barva zcela odlišné.

Tabulka 9: Barevné parametry a  $\Delta E$  filmů ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové po expozici  $\text{NH}_3$

Typ filmu		L*	a*	b*	$\Delta E$	C*	h°	Opacita
Citrusový pektin + PVA + 0,3 % (w/w) KK	Standard	38,3	41,4	18,9		45,5	24,6	57,4
	Film č.1	30,3	1,4	0,8	44,7	1,6	30,5	98,7
	Film č.2	29,9	1,4	0,4	44,9	1,5	14,5	140,9
	Film č.3	31,7	9,1	2,0	44,8	9,3	12,6	94,3

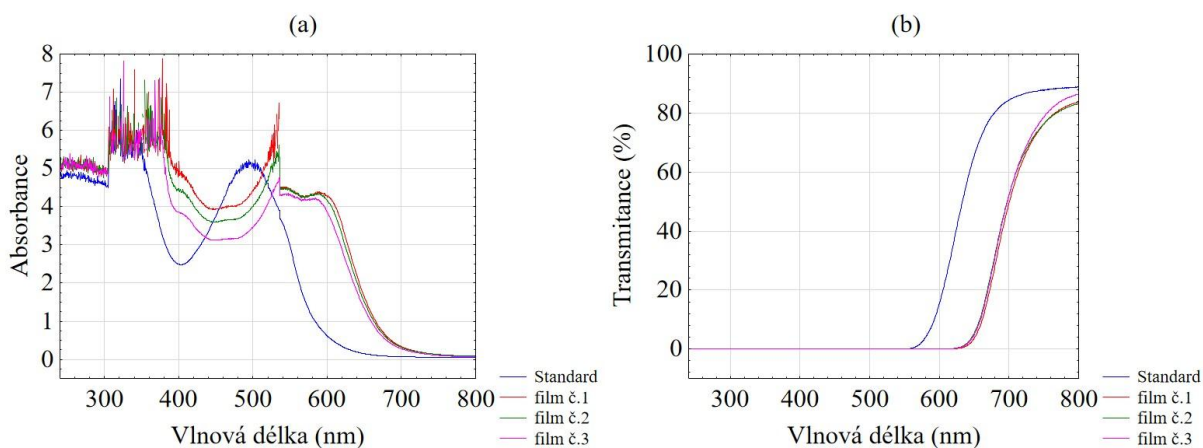
PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová; L\* – světlost; a\* – červenozelená složka; b\* – žlutomodrá složka;  $\Delta E$  – celková barevná odchylka; C\* – chroma (sytnost barvy); h° – odstín; Opacita – neprůhlednost vzorku

Dále z tabulky vyplývá, že světlost (L\*) klesla ze 38,34 na 29,9–31,7, což značí výrazné ztmavnutí filmů. Červená složka (a\*) dramaticky poklesla z 41,4 až na hodnoty kolem 1,4–9,1, tedy téměř úplná ztráta červeného tónu. Podobně b\* (žlutá složka) poklesla z 18,9 na 0,4–2,0, což znamená výrazné snížení barevné intenzity.

Sytnost (C\*) prudce klesla z 45,5 na velmi nízké hodnoty 1,6–9,3, což značí potlačení živosti barvy. Odstín (h°) se posunul z teplé červenooranžové oblasti (24,6°) směrem k hodnotám kolem 12–30°, tedy blíže k oranžovým nebo slabě červeným tónům, avšak vzhledem k celkovému ztmavnutí barevný tón není opticky dominantní.

Výrazný nárůst opacity ze 57,4 na hodnoty 94,3–140,9 potvrzuje, že se filmy staly po expozici výrazně méně průhlednými, což pravděpodobně souvisí se změnou struktury barviva po reakci v zásaditém prostředí. Také graf 15, znázorňující závislost absorbance a transmittance na vlnové délce, potvrzuje velmi výraznou změnu barvy.

Graf 15: Závislost absorbance (a) a transmittance (b) na vlnové délce filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové před a po expozici parám  $\text{NH}_3$



Po expozici výparům amoniaku ( $\text{NH}_3$ ) dochází opět k nárůstu absorpance (graf 15a) a současněmu poklesu transmitance (graf 15b), což souvisí se ztmavnutím filmů (pokles  $L^*$ ) a snížením jejich průhlednosti.

Přestože je detektor v oblasti maxim absorpance částečně saturován, je u standardního filmu v grafu 15a stále patrný ostrý vrchol kolem 480–520 nm, typický pro červený odstín kyseliny karmínové (viz graf 9). U filmů po expozici se však tento pík rozmazává a posouvá k vyšším vlnovým délkám. Tato změna svědčí o ztrátě červeného zabarvení, narušení původní chromoforové struktury a souvisí s výrazným poklesem sytosti ( $C^*$ ), jak je patrné i z tabulky 9.

Transmitanční křivky filmů po expozici (graf 15b) vykazují posun transmitanční hrany směrem k vyšším vlnovým délkám. Tento posun znamená změnu optického chování barviva v důsledku změny pH po expozici amoniaku a naznačuje, že materiál začíná pohlcovat světlo i v oblasti, kde ho dříve propouštěl.

Vzorky po expozici mají téměř identické spektrální profily, což naznačuje rovnoměrnou a dobře reprodukovatelnou reakci na zásadité výpary. Celkově lze konstatovat, že filmy s přídatkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové vykazaly po expozici velmi silnou vizuální odezvu, jako je ztmavnutí, ztrátu barvy a výrazné snížení průhlednosti. Tyto výsledky potvrzují reaktivitu kyseliny karmínové v zásaditém prostředí a její vhodnost pro použití jako vizuální indikátor ke změně pH prostředí.

## Filmy s přidavkem 0,3 % (w/w) karmínu

Jak ukazuje tabulka 10, po expozici  $\text{NH}_3$  u filmů s 0,3 % (w/w) přidavkem karmínu došlo k mírné až středně výrazné barevné změně. Hodnoty  $\Delta E$  se pohybovaly v rozmezí 6,7–11,8, což značí, že změny jsou pouhým okem viditelné, ale ne extrémní.

Tabulka 10: Barevné parametry a  $\Delta E$  filmů ze směsi citrusového pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % (w/w) karmínu po expozici  $\text{NH}_3$

Typ filmy		L*	a*	b*	$\Delta E$	C*	h°	Opacita
Citrusový pektin + PVA + 0,3 % (w/w) Karmín	Standard	42,9	46,2	17,3		49,3	20,5	59,1
	Film č.1	40,3	41,4	13,4	6,7	43,5	18,0	61,2
	Film č.2	39	36,9	11,2	11,8	38,6	16,9	66,7
	Film č.3	39,3	39,8	13,4	8,3	42,0	18,6	64,8

PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová; L\* – světlost; a\* – červeno-zelená složka; b\* – žlutomodrá složka;  $\Delta E$  – celková barevná odchylka; C\* – chroma (sytnost barvy); h° – odstín; Opacita – neprůhlednost vzorku

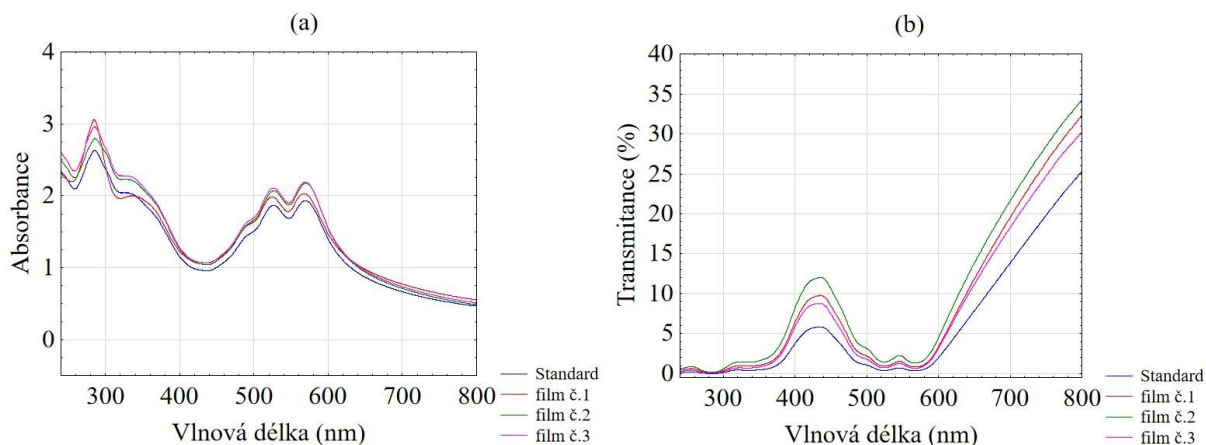
Dále z tabulky 10 vyplývá, že světlost (L\*) mírně poklesla ze 42,9 na hodnoty 39–40,3, což ukazuje na lehké ztmavnutí filmů. Červená složka (a\*) klesla z 46,2 na 36,9–41,4 a žlutá složka (b\*) z 17,3 na 11,2–13,4. To znamená, že barva ztratila část své živosti, ale filmy si i nadále zachovaly jasně červeno-oranžový charakter.

Sytnost barvy (C\*) poklesla z 49,3 na 38,5–43,5, což odpovídá mírnému útlumu intenzity barvy. Odstín (h°) se posunul z 20,47° na hodnoty 16,9–18,6°, tedy směrem k čistší červené.

Opacita mírně vzrostla ze 59,1 na 61,2–66,7, což ukazuje na drobný pokles průhlednosti filmů, nicméně výsledné filmy zůstaly stále relativně průhledné.

Nepříliš výraznou změnu výsledné barvy lze opět prověřit měřením absorbance a transmittance (graf 16).

Graf 16: Závislost absorbance (a) a transmittance (b) na vlnové délce filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % (w/w) karmínu před a po expozici parám  $\text{NH}_3$



Z grafu 16a je patrné, že po expozici nedochází k výrazné deformaci ani posunu absorpční křivky. Píky zůstávají stabilně lokalizované v oblasti 500–600 nm, což svědčí o tom, že molekulární struktura barviva zůstala zachována a nedošlo ke změně typu absorbující látky. Dva mírně oddělené píky v této oblasti (typické pro karmín viz graf 10) zůstávají dobře patrné i po expozici, což potvrzuje jeho vysokou barevnou stabilitu a odolnost vůči zásaditému prostředí.

Také transmitanční křivky (graf 16b) se po expozici téměř neliší od standardu, rozdíly jsou minimální, což podporuje závěr o zachování optických vlastností a malé změně opacity. Výrazný absorpční pík se objevuje v oblasti 380–450 nm, kde transmitance krátce vzroste až na hodnoty kolem 10 %. Tento jev ukazuje, že karmín absorbuje světlo ve stejné části spektra jako kyselina karmínová, avšak s nižší intenzitou (viz graf 10).

Spektrální profily po expozici se překrývají se standardem, což potvrzuje rovnoměrnou reakci a nízkou citlivost na případné variace v expozici. Celkově lze říci, že filmy s obsahem karmínu si i po kontaktu s výpary amoniaku zachovaly výraznou barvu, přičemž došlo pouze k mírnému ztmavnutí, snížení sytosti a lehkému posunu odstínu.

#### 4.4.3 Shrnutí

Nejvyšší reaktivitu na zásadité prostředí vykazaly filmy připravené ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové. U těchto filmů bylo zaznamenáno nejvyšší ztmavnutí (pokles  $L^*$  z 38,3 na 29,9–31,7), téměř úplné vymizení červené a žluté složky. Sytost barvy ( $C^*$ ) prudce klesla a hodnota  $\Delta E$  dosahovala nejvyšších hodnot ze všech typů filmů (44,7–44,9), což svědčí o zřetelné změně barvy. Zároveň došlo k výraznému nárůstu opacity, což ukazuje na výrazné snížení průhlednosti filmů (tabulka 9).

Spektrální analýzy potvrdily rozpad původního absorpčního maxima v oblasti 500 nm, odpovídajícího červenému tónu kyseliny karmínové. Po expozici  $NH_3$  se tento pík posunul směrem k vyšším vlnovým délkám (graf 15a), a to odpovídá tvrzení z literatury o posunu maxima vlnové délky směrem k vyšším hodnotám v zásaditém prostředí [48]. Rovněž transmitanční křivky ukázaly výrazné snížení propustnosti světla v oblasti viditelného záření (graf 15b).

Naopak filmy s obsahem karmínu vykazovaly pouze mírné změny barevných parametrů ( $\Delta E$  6,7–11,8), zachování absorpčního maxima a relativně malý pokles transmitance. Tyto filmy si i po expozici zachovaly červeno-oranžový odstín, což svědčí o vyšší chemické stabilitě karmínu [47], avšak omezuje jejich využití pro detekci změn pH.

## 4.5 BAREVNOST FILMŮ PO EXPOZICI TĚKAVÝM LÁTKAM ZE ZKAŽENÉHO MASA

Tato část práce se zaměřuje na hodnocení změn barevnosti připravených filmů po expozici těkavým látkám uvolňovaným ze zkaženého masa. Cílem bylo ověřit schopnost filmů obsahujících kyselinu karmínovou nebo karmín detekovat změnu kvality potravin prostřednictvím vizuálně patrných barevných změn.

Filmy byly inkubovány ve vzduchotěsném prostředí nad vzorkem masa po dobu 48 hodin při teplotě 30 °C. U každého typu filmu byly následně změřeny kolorimetrické parametry ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ), sytost ( $C^*$ ), barevný odstín ( $h^\circ$ ), neprůhlednost (opacita) a celková barevná odchylka ( $\Delta E$ ) ve srovnání se standardem. Standard představoval film uchovávaný za stejných podmínek, avšak bez přítomnosti těkavých látek z masa.

U každého složení filmu byly vyhodnoceny tři náhodně vybrané výřezy, aby bylo možné posoudit konzistenci barevné odezvy materiálu na těkavé bazické látky, které se při kažení masa uvolňují.

Veškerá data byla statisticky zpracována v programu Statistica 14. Grafy v této kapitole slouží k ilustraci změn tvaru spektrálních křivek a posunu absorpčního maxima barviva před a po expozici těkavým látkám vznikajícím při kažení masa. Vzhledem k tomu, že tyto změny jsou hodnoceny kvalitativně, numerická data nejsou v přílohách uváděna.

Výsledky umožňují zhodnotit citlivost jednotlivých formulací k těmto látkám a posoudit potenciál filmů jako inteligentních obalů pro sledování čerstvosti masa pomocí změny barevnosti jako snadno interpretovatelného signálu.

#### 4.5.1 Filmy připravené ze směsi jablečného pektinu a PVA

##### Filmy s přídatkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové

Jak ukazuje tabulka 11, expozice těkavým látkám ze zkaženého masa vedla u filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídatkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové k pozorovatelným změnám v barevných parametrech.

Tabulka 11: Barevné parametry a  $\Delta E$  filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídatkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové po expozici těkavým látkám z kaženého masa (30 °C, 48 h)

Typ filmy		L*	a*	b*	$\Delta E$	C*	h°	Opacita
Jablečný pektin + PVA 0,1 % (w/w) KK	Standard	35,2	32,4	5,4		32,8	9,5	67,2
	Film č.1	32,4	25,7	-0,6	9,6	25,7	3,6	73,9
	Film č.2	36,7	31,2	0,3	5,5	31,1	0,6	66,5
	Film č.3	31,3	17,2	1,8	16,1	17,2	5,9	81,8

PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová; L\* – světlost; a\* – červenozelená složka; b\* – žlutomodrá složka;  $\Delta E$  – celková barevná odchylka; C\* – chroma (sytnost barvy); h° – odstín; Opacita – neprůhlednost vzorku

Dále z tabulky 11 je patrné, že světlost (L\*) standardního filmu činila 35,2, zatímco po expozici se pohybovala v rozmezí 31,3–36,7, což naznačuje mírné kolísání světlosti. Hodnota a\* klesla ze 32,4 na 17,2–31,2. Nejvýraznější úbytek červené složky byl zaznamenán u filmu č. 3. Hodnota b\* rovněž klesla z původních 5,4 na hodnoty v rozmezí -0,6 až 1,8, což ukazuje na útlum žluté složky a v některých případech dokonce její přechod směrem k modravým odstínům (film č. 1).

Sytnost barvy (C\*) se snížila z 32,8 na 25,7–31,2, což odpovídá pozorovanému poklesu intenzity barev. Změna odstínu (h°) nebyla výrazná, přičemž z původních 9,5° (červený odstín) klesla až na 0,6–5,9°.

Opacita filmů se po expozici zvýšila z 67,2 na 66,5–81,8, což ukazuje na snížení průhlednosti materiálu, přičemž film č. 3 vykazoval nejvyšší nárůst opacity.

Hodnoty celkové barevné změny ( $\Delta E$ ) dosahovaly 5,47–16,12, což indikuje střední až výraznou změnu barvy, která je již rozpoznatelná pouhým okem.

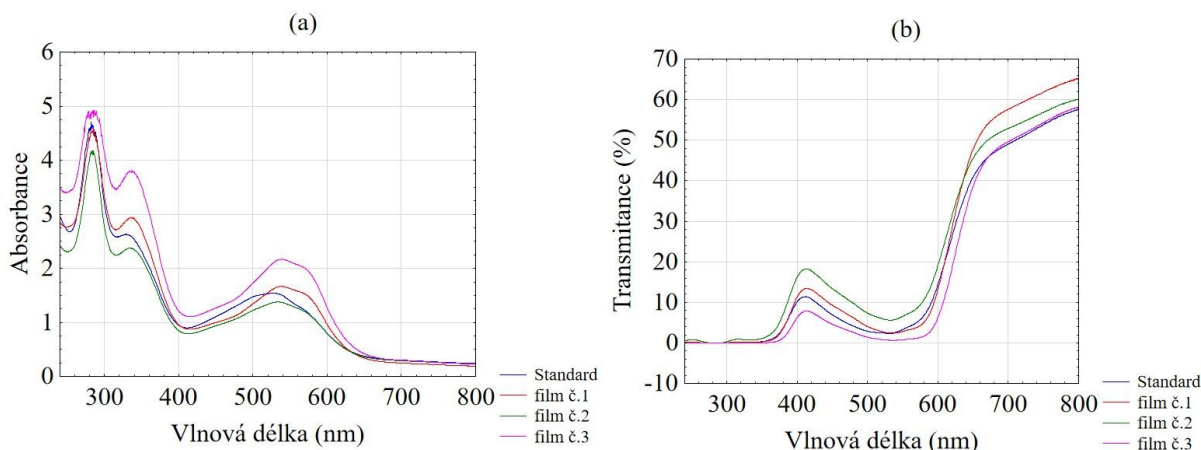
Pozorovaná heterogenita výsledků mezi jednotlivými filmovými vzorky může být způsobena několika faktory. Jedním z hlavních faktorů je nerovnoměrné kažení masa pod jednotlivými filmy, což vedlo k rozdílnému množství a složení těkavých látek uvolňovaných do prostředí. Dále pak může hrát roli různá tloušťka filmů a distribuce barviva v matici.

Heterogenita dat je v tomto typu experimentů běžná a je výsledkem kombinace fyzikálních a chemických faktorů při přípravě a měření filmů. Tento jev je běžný a očekávaný.

Důležité je, že i přes tuto variabilitu je pozorovatelný jednoznačný trend změn (například pokles  $a^*$ , nárůst opacity), což potvrzuje funkčnost filmů jako indikátorů.

Změnu optických vlastností po expozici těkavým látkám vznikajícím při kažení také dokládá graf absorpance (graf 17a) a graf transmitance (graf 17b).

*Graf 17: Závislost absorpance (a) a transmitance (b) na vlnové délce filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přídavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové před a po expozici těkavým látkám z kažení masa (30 °C, 48 h)*



Graf 17a ukazuje zvýšenou absorpanci všech filmů po expozici v oblasti vlnových délek 500-600 nm, což svědčí o ztmavnutí materiálu (v souladu s poklesem  $L^*$ ). Tento efekt je obzvlášť nápadný u filmu č. 3, kde je absorpance nejvyšší. Standardní film vykazuje výrazné absorpční maximum kolem 520–530 nm ( $\lambda_{\max}=525$  nm), což je typické pro film s tímto obsahem kyseliny karmínové (viz graf 4).

Podobně jako po expozici  $\text{NH}_3$  (viz graf 11) dochází k posunu píku k vyšším vlnovým délkám, což odpovídá barevnému přechodu z červeno-oranžové na tmavší až modro-fialový odstín.

Z grafu 17b neukazuje výraznou změnu transmitančního spektra jako tomu bylo při expozici  $\text{NH}_3$  (graf 11). Největší rozdíly jsou patrné v oblasti 500–600 nm, ale i tam jsou změny mírné. To znamená, že koncentrace barviva (0,1 % kyseliny karmínové) je možná příliš nízká na výraznou optickou změnu způsobenou kazícím se masem.

### Filmy s přísávkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové

Jak ukazuje tabulka 12, expozice těkavým látkám uvolňovaným ze zkaženého masa vedla u filmů připravených ze směsi jablečného pektinu, PVA a 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové ke změnám barevných a optických parametrů.

Tabulka 12: Barevné parametry a  $\Delta E$  filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přísávkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové po expozici těkavým látkám z kaženého masa (30 °C, 48 h)

Typ filmy		L*	a*	b*	$\Delta E$	C*	h°	Opacita
Jablečný pektin + PVA 0,3 % (w/w) KK	Standard	34,6	25,6	10,3		27,6	21,9	75,4
	Film č.1	30,9	4,0	2,7	23,3	4,8	33,9	94,7
	Film č.2	32,2	7,2	3,0	20,0	7,7	22,3	95,6
	Film č.3	30,2	7,7	2,7	20,0	8,2	19,0	90,8

PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová; L\* – světlost; a\* – červenozelená složka; b\* – žlutomodrá složka;  $\Delta E$  – celková barevná odchylka; C\* – chroma (sytnost barvy); h° – odstín; Opacita – neprůhlednost vzorku

Dále z tabulky 12 je patrné, že světlost (L\*) standardního filmu se po expozici snížila z 34,6 na hodnoty v rozmezí 30,2–32,2, což ukazuje na ztmavnutí vzorků. Hodnota parametru a\* poklesla z původních 25,6 na 4,0–7,7, zatímco b\* klesla z 10,3 na 2,7–3,0. Tento výrazný pokles obou barevných složek naznačuje ztrátu původního jasného červeno-oranžového odstínu a posun k méně syté a tmavší barvě, což dokládá i snížení hodnoty sytnosti (C\*) z 27,6 na 4,8–8,2.

Standardní odstín (h°) 21,9 se po expozici pohyboval mezi 19,0° a 33,9°, což naznačuje určitou variabilitu ve vnímání barevného posunu mezi jednotlivými vzorky. Opacita filmů po expozici výrazně vzrostla ze 75,4 na 90,8–95,6, což svědčí o poklesu průhlednosti vzorků.

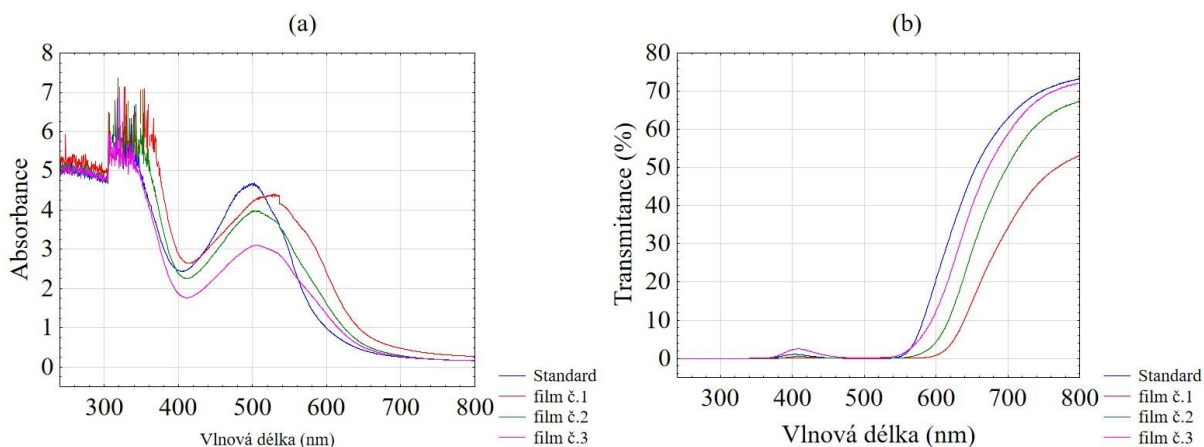
Míra celkové barevné změny  $\Delta E$  byla velmi vysoká (20,0–23,3), což značí změnu, která je výrazně patrná pouhým okem.

Změna barevnosti je vidět na obrázku 13 a potvrzují je také grafy absorbance (graf 18a) a transmittance (graf 18b).



Obrázek 13: Film připravený ze směsi jablečného pektinu a PVA s přísávkem 0,3 % kyseliny karmínové před (vlevo) a po (vpravo) expozici těkavým látkám vznikajícím při kažení masa [foto autor]

Graf 18: Závislost absorpce (a) a transmittance (b) na vlnové délce filmů připravených ze směsi jablčného pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové před a po expozici těkavým látkám z kažení masa (30 °C, 48 h)



Z grafu 18a je vidět mírný nárůst absorpce v oblasti 500–600 nm u filmů po expozici. To odpovídá ztmavnutí ( $L^*$ ). Absorpční pás se přesouvá z užšího maxima kolem 500 nm na vyšší vlnovou oblast. To potvrzuje přechod od syté červené k méně specifickému, tmavému odstínu (stejný trend pozorovatelný i po expozici  $\text{NH}_3$  viz graf 12a). Ve spektru po expozici nejsou patrné žádné výrazné nové píky, což svědčí spíše o rozpadu či přeměně chromoforu kyseliny karmínové než o tvorbě nové absorpčně aktivní struktury..

Graf transmittance 18b ukazuje, že filmy propouštějí méně než 60 % světla při 700–800 nm stejně jako tomu bylo i u filmů po expozici  $\text{NH}_3$  (graf 12b). To svědčí o zvýšené neprůhlednosti filmu.

Ve srovnání s filmy obsahujícími 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové vykazovaly filmy s vyšší koncentrací po expozici těkavým látkám ze zkaženého masa výraznější změny barevných parametrů. Zjištěné výsledky potvrzují citlivost filmů s vyšším obsahem kyseliny karmínové, přičemž barevné změny jsou zřetelné a viditelné pouhým okem. Tyto filmy proto vykazují dobrý aplikační potenciál jako vizuální indikátory čerstvosti masa.

### Filmy s přísávkem 0,3 % (w/w) karmínu

Jak ukazuje tabulka 14, expozice tĕkavým látkám ze zkaženého masa vedla u filmů obsahujících 0,3 % (w/w) karmínu k relativně malým změnám barevných parametrů ve srovnání se standardem.

Tabulka 13: Barevné parametry a  $\Delta E$  filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přísávkem 0,3 % (w/w) karmínu po expozici tĕkavých látek z kaženého masa (30 °C, 48 h)

Typ filmy		L*	a*	b*	$\Delta E$	C*	h°	Opacita
Jablečný pektin + PVA 0,3 % (w/w) Karmín	Standard	35,9	32,9	10,9		34,7	18,4	75,5
	Film č.1	37	34,7	13,4	3,3	37,2	21,2	71,7
	Film č.2	42,2	35,6	19,0	10,6	40,3	28,1	70,9
	Film č.3	39,9	35,5	16,0	6,9	38,9	24,2	70,6

PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová; L\* – světlost; a\* – červenozeleá složka; b\* – žlutomodrá složka;  $\Delta E$  – celková barevná odchylka; C\* – chroma (sylost barvy); h° – odstín; Opacita – neprůhlednost vzorku

Dále z tabulky 13 je patrné, že světlost (L\*) standardního filmu byla 35,9, zatímco po expozici se u jednotlivých filmů pohybovala v rozmezí 37,0–42,2. Tento nárůst světlosti značí mírné zesvětlení vzorků, zejména u filmu č. 2, kde byl nárůst nejvýraznější.

Hodnoty parametru a\* zůstaly po expozici velmi podobné standardu (32,9), s mírným navýšením na 34,7–35,6. To značí, že červená barva filmů byla expozicí jen minimálně ovlivněna. Podobně i parametr b\* vykazoval zvýšení ze standardní hodnoty 10,9 na hodnoty v rozsahu 13,43–18,99, přičemž největší nárůst byl opět zaznamenán u filmu č. 2.

Hodnota sylosti (C\*) vzrostla ze 34,7 na 37,2–40,3, což ukazuje na mírné zvýšení barevné intenzity. Odstín (h°) se rovněž mírně posunul směrem k vyšším hodnotám (ze 18,4° na 21,2°–28,1°), což odpovídá drobnému posunu v odstínu barvy.

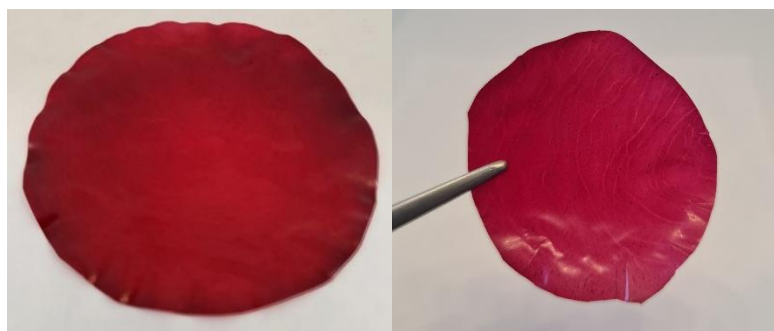
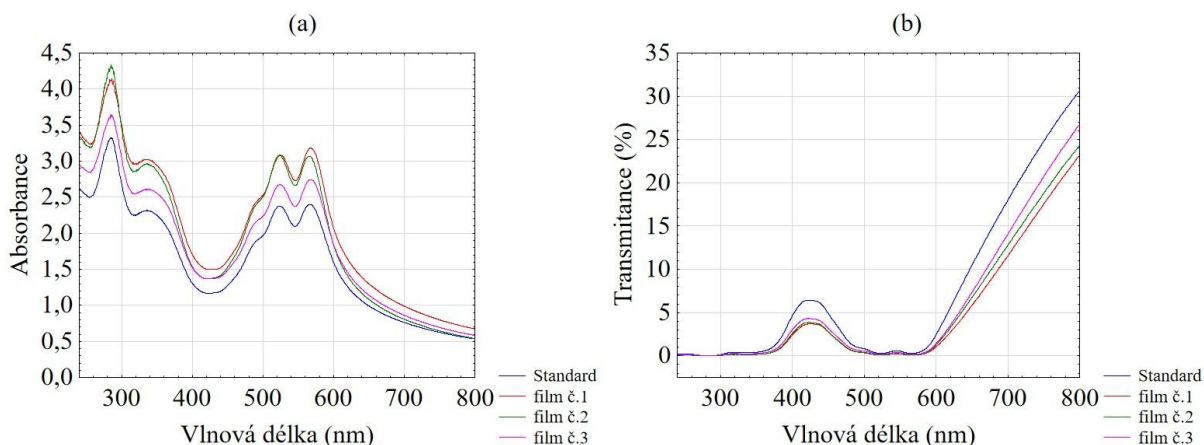
Hodnoty celkové barevné změny  $\Delta E$  byly poměrně nízké (3,27–10,59), což naznačuje, že změny barevnosti nebyly dramatické a zejména film č. 1 vykazoval pouze malou změnu těžko viditelnou pouhým okem ( $\Delta E = 3,27$ ).

Opacita filmů po expozici se pohybovala v rozmezí 70,6–71,7, tedy mírně nižší než u standardu (75,5), což naznačuje lehké zvýšení průhlednosti.

Pozorovaná heterogenita výsledků mezi jednotlivými filmovými vzorky může být způsobena několika faktory. Jedním z hlavních faktorů je nerovnoměrné kažení masa pod jednotlivými filmy, které vedly k rozdílům v množství a složení tĕkavých látek uvolňovaných do prostředí. Dále pak může hrát roli různá tloušťka filmů a distribuce barviva v matici.

Nevýraznou změnu výsledné barvy lze pozorovat na obrázku 14 a opět posoudit i proměřením absorpance (graf 19a) a transmitance (graf 19b).

Graf 19: Závislost absorpce (a) a transmittance (b) na vlnové délce filmů připravených ze směsi jablečného pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % (w/w) karmínu před a po expozici těkavým látkám z kažení masa (30 °C, 48 h)



Obrázek 14: Film připravený ze směsi jablečného pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % karmínu před (vlevo) a po (vpravo) expozici těkavým látkám vznikajícím při kažení masa [foto autor]

Z grafu 19a je patrné, že po expozici nedošlo k deformaci ani posunu absorpční křivky. Maximum zůstává stabilně v oblasti 280 nm a i rozštěpené maximum charakteristické pro karmín v oblasti 500–600 nm (viz graf 6), což ukazuje na zachování molekulární struktury barviva a absenci změny typu absorbující látky.

Také transmittanční křivky (graf 19b) se po expozici téměř neliší od standardu, rozdíly jsou minimální, což podporuje závěr o zachování optických vlastností a malé změně opacity. Výrazný absorpční pík se objevuje v oblasti 380–450 nm, kde transmittance krátce stoupá na hodnoty kolem 5 %. Tento jev ukazuje, že karmín absorbuje světlo ve stejné části spektra jako kyselina karmínová, avšak s nižší intenzitou (viz graf 10). Spektrální průběh filmů po expozici je podobný standardu.

Celkově lze konstatovat, že filmy s přidavkem 0,3 % karmínu vykazovaly po kontaktu s těkavými látkami ze zkaženého masa jen minimální barevné změny. Ve srovnání s filmy obsahujícími kyselinu karmínovou byly stabilnější, což potvrzuje jejich vyšší barevnou odolnost v zásaditém prostředí typickém pro kažení masa.

#### 4.5.2 Filmy připravené ze směsi citrusového pektinu a PVA

##### Filmy s přídavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové

Jak ukazuje tabulka 14, u filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové došlo po expozici těkavým látkám ze zkaženého masa opět ke změnám barevných parametrů.

*Tabulka 14: Barevné parametry a  $\Delta E$  filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové po expozici těkavých látek z kaženého masa (30 °C, 48 h)*

Typ filmy		L*	a*	b*	$\Delta E$	C*	h°	Opacita
Citrusový pektin + PVA + 0,1 % (w/w) KK	Standard	37,5	34,2	11,6		36,1	18,8	73,6
	Film č.1	38,9	35,4	5,3	6,6	35,8	8,6	63,9
	Film č.2	35,3	23,9	6,3	11,8	24,8	14,8	76,3
	Film č.3	37,0	31,5	6,5	5,8	32,2	11,7	70

PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová; L\* – světlost; a\* – červenozelená složka; b\* – žlutomodrá složka;  $\Delta E$  – celková barevná odchylka; C\* – chroma (sytnost barvy); h° – odstín; Opacita – neprůhlednost vzorku

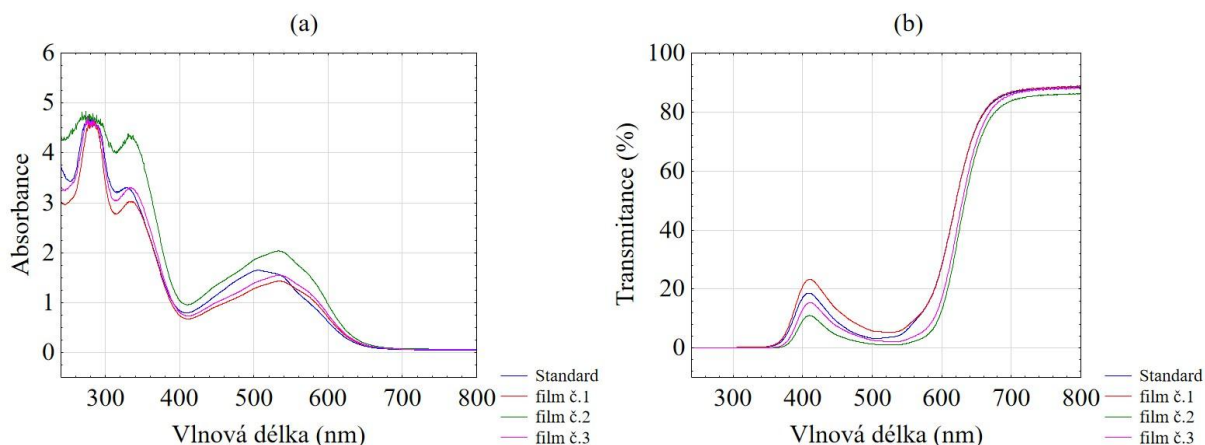
Dále z tabulky 14 je patrné, že světlost (L\*) standardního filmu byla 37,5, přičemž po expozici kolísala v rozmezí od 35,3 do 38,9. Světlost se tedy příliš nezměnila. Hodnota a\* se výrazněji změnila jen u jednoho filmu (film č. 2). Hodnota b\* se mírně snížila ze standardních 11,6 na 5,3–6,5, což naznačuje lehké snížení žlutého odstínu.

Sytnost barvy (C\*) poklesla z původních 36,1 na 24,8–35,8. Nejvyšší pokles byl pozorován u filmu č. 2, což odpovídá větší barevné změně. Odstín (h°) klesl z 18,8° na 8,6–14,8°, což signalizuje posun barvy směrem k chladnějším tónům.

Hodnoty  $\Delta E$  se pohybovaly od 5,8 do 11,8, což ukazuje na mírné až střední barevné změny, viditelné pouhým okem stejně jako tomu bylo u filmů připravených z jablečného pektinu.

Nízkou změnu barevnosti prezentují graf absorpance a transmitance (graf 20).

Graf 20: Závislost absorbance (a) a transmittance (b) na vlnové délce filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přidávkem 0,1 % (w/w) kyseliny karmínové před a po expozici těkavým látkám z kažení masa (30 °C, 48 h)



Graf absorbance 20a ukazuje mírný posun maxima vlnové délky v oblasti viditelného záření po expozici tekavým látkám vznikajícím při kažení masa. To svědčí o nevýrazné chemické transformaci chromoforu kyseliny karmínové u těchto vzorcích.

Z grafu transmittance 20b není pozorovatelná tak výrazná změna spektra jako tomu bylo při expozici  $\text{NH}_3$  (graf 15). Největší rozdíly jsou patrné v oblasti 500–600 nm, ale i tam jsou změny mírné. To znamená, že koncentrace kyseliny karmínové 0,1 % (w/w) je nízká na výraznou optickou odezvu.

Celkově filmy s nižším obsahem kyseliny karmínové vykazovaly omezenou citlivost na těkavé zásadité látky, ať už se jedná o filmy připravené z jablečného nebo citrusového pektinu. Výraznější změny byly pozorovány pouze u některých vzorků, přičemž mezi jednotlivými filmy byla patrná variabilita, nicméně variabilita dat je v tomto typu experimentů běžná a je výsledkem kombinace fyzikálních a chemických faktorů při přípravě a měření filmů. Důležité je, že i přes tuto variabilitu byl pozorován jednoznačný trend malých změn, což potvrzuje omezenou funkčnost filmů s nižším obsahem kyseliny karmínové jako indikátorů kožení masa.

### Filmy s přídavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové

Jak ukazuje tabulka 15, expozice těkavým látkám ze zkaženého masa vedla u filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové k pozorovatelným změnám barevných parametrů.

Tabulka 15: Barevné parametry a  $\Delta E$  filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové po expozici těkavým látkám z kaženého masa (30 °C, 48 h)

Typ filmy		L*	a*	b*	$\Delta E$	C*	h°	Opacita
Citrusový pektin + PVA + 0,3 % (w/w) KK	Standard	37,4	36,4	15,8		27,6	21,9	75,4
	Film č.1	34,8	3,4	4,7	35	4,8	33,9	94,7
	Film č.2	36,9	13,3	6,7	24,9	7,7	22,5	95,6
	Film č.3	35,7	9,1	6,2	29	8,2	19,0	90,8

PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová; L\* – světlost; a\* – červenozelená složka; b\* – žlutomodrá složka;  $\Delta E$  – celková barevná odchylka; C\* – chroma (sytnost barvy); h° – odstín; Opacita – neprůhlednost vzorku

Dále z tabulky 15 je patrné, že světlost standardního filmu (L\*) byla 37,4 a klesla na 34,8–36,85, což značí ztmavnutí filmů.

Parametr a\* výrazně poklesl z 36,4 na 3,4–13,3 oproti standardu, což svědčí o snížení červeného zabarvení filmů po expozici. Podobně hodnota b\* klesla z 15,8 na hodnoty 4,7–6,7, tedy rovněž došlo k výraznému snížení žlutého odstínu.

Sytnost barvy (C\*) poklesla ze 27,6 na 4,8–8,2, což potvrzuje zeslabení barevné intenzity.

Hodnoty  $\Delta E$  byly velmi vysoké (24,9–35), což svědčí o výrazných barevných změnách snadno viditelných pouhým okem.

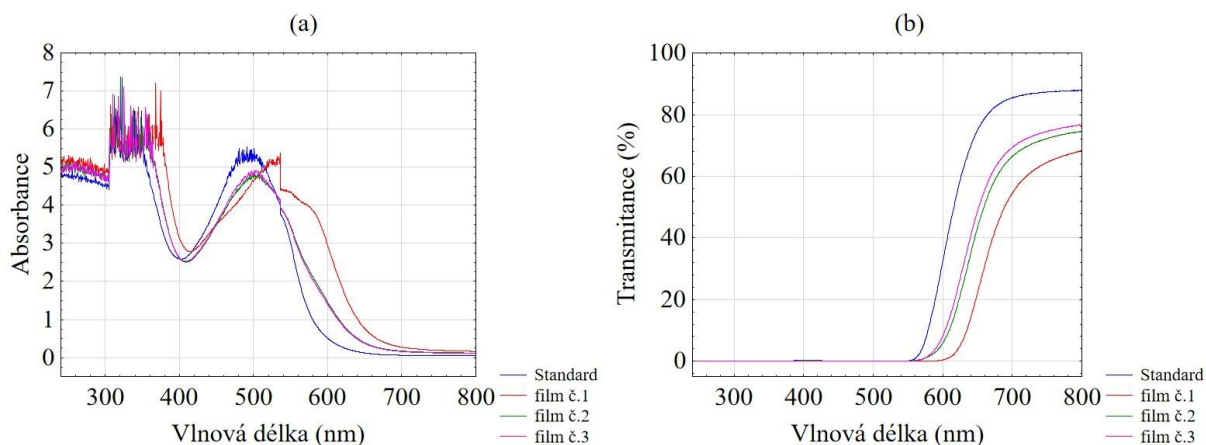
Opacita filmů se výrazně zvýšila z původních 75,4 až na hodnoty 90,8–95,6, což naznačuje snížení průhlednosti filmů po expozici.

Změnu barvy patrná na obrázku 15 a také potvrzena proměřením absorbance (graf 21a) a transmitance (graf 21b).



Obrázek 15: Film připravený ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % kyseliny karmínové před (vlevo) a po (vpravo) expozici těkavým látkám vznikajícím při kažení masa [foto autor]

Graf 21: Závislost absorpce (a) a transmittance (b) na vlnové délce filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přidávkou 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové před a po expozici těkavým látkám z kažení masa (30 °C, 48 h)



Z grafu 21a je i přes saturaci detektoru patrný mírný posun absorpčního píku v oblasti 500–600 nm směrem k vyšším vlnovým délkám po expozici těkavým látkám vznikajícím při kažení masa. To naznačuje barevný posun směrem k fialovým až modrofialovým odstínům. Tento jev poukazuje na rozpad chromoforové struktury kyseliny karmínové ve filmové matici.

Graf transmittance 21b ukazuje velmi nízkou až téměř nulovou transmittanci ve vlnových délkách pod 600 nm. Filmy tak nepropouštějí světlo v celé této oblasti viditelného spektra, což potvrzuje jejich vysokou optickou neprůhlednost a odpovídá vizuálně pozorovanému ztmavnutí (v souladu s poklesem parametru  $L^*$  a zvýšením opacity po expozici v tabulce 15). Dále graf ukazuje, že filmy po expozici propouštějí méně světla při 700–800 nm oproti standardu. Maximální hodnota transmittance z této oblasti poklesla z téměř 90 % na 70 %. To svědčí o menší průhlednosti, jak vyplývá z tabulky 15.

Ve srovnání s filmy obsahujícími nižší množství kyseliny karmínové, filmy po expozici vykazovaly výraznější změny barevných parametrů. Tento trend naznačuje, že vyšší obsah kyseliny karmínové v polymerní matici přispívá ke stabilnější a viditelné odezvě filmů na zásadité těkavé složky vznikající při kažení masa.

### Filmy s přídavkem 0,3 % (w/w) karmínu

Jak ukazuje tabulka 16, po expozici těkavým látkám došlo u filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) karmínu jen k mírným změnám barevných parametrů. Světlost ( $L^*$ ) se ve srovnání se standardem (38,8) zvýšila na 42,5–44,9, což naznačuje, že filmy po expozici byly světlejší.

Tabulka 16: Barevné parametry a  $\Delta E$  filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) karmínu po expozici těkavým látkám z kaženého masa (30 °C, 48 h)

Typ filmy		$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E$	$C^*$	$h^\circ$	Opacita
Citrusový pektin + PVA 0,3 % (w/w) Karmín	Standard	38,8	37,0	13,5		39,4	12,0	70,4
	Film č.1	42,5	37,3	18,0	5,8	41,5	25,7	68
	Film č.2	44,2	43,6	21,2	11,5	48,5	26,0	61,7
	Film č.3	44,9	43,7	22,8	13	49,3	27,5	60,8

PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová;  $L^*$  – světlost;  $a^*$  – červenozelená složka;  $b^*$  – žlutomodrá složka;  $\Delta E$  – celková barevná odchylka;  $C^*$  – chroma (sytnost barvy);  $h^\circ$  – odstín; Opacita – neprůhlednost vzorku

Dále z tabulky 16 je patrné, že hodnoty parametru  $a^*$  zůstaly vysoké (37,3–43,7), obdobně jako u standardního filmu (37,0), což ukazuje na zachování intenzivní červené barvy. Hodnota  $b^*$  mírně vzrostla z původních 13,5 až na 18,0–22,8, což naznačuje lehký posun barevného odstínu směrem k teplejším tónům.

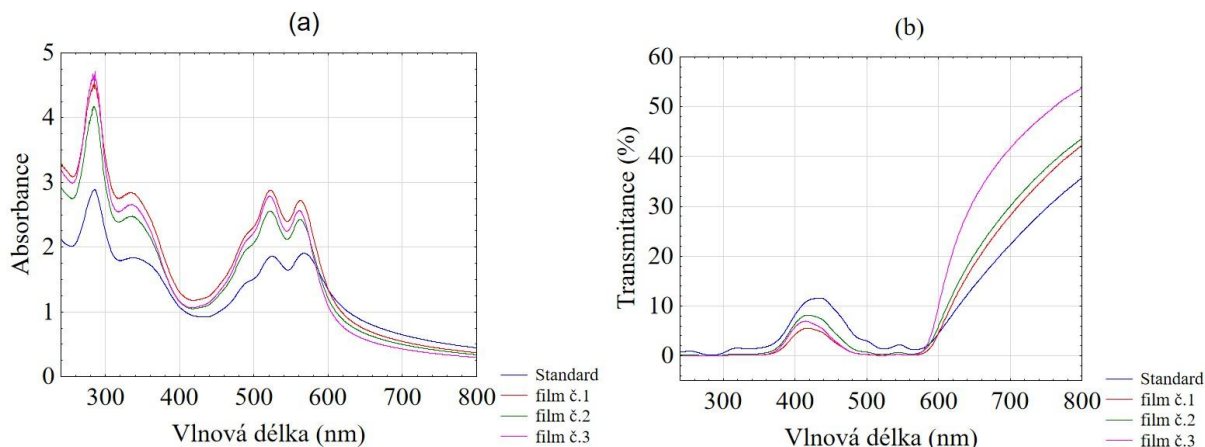
Sytnost barvy ( $C^*$ ) po expozici mírně vzrostla z 39,4 na 41,5–49,3, což potvrzuje, že filmy byly po expozici sytější. Hodnota odstínu ( $h^\circ$ ) se posunula ze 20° na vyšší hodnoty (25,7–27,5°), což odpovídá změně v barevném odstínu k teplejším tónům.

Celkové barevné změny vyjádřené hodnotami  $\Delta E$  se pohybovaly od 5,8 do 13,0, tedy na úrovni mírné až středně výrazné změny, které jsou již zrakem vnímatelné.

Opacita filmů po expozici klesla ze 70,4 na 60,8–68,0, což naznačuje lehké zvýšení průhlednosti materiálu po vystavení těkavým látkám.

Téměř žádnou změnu barvy potvrzuje i graf absorpance a transmitance (graf 22).

Graf 22: Závislost absorbance (a) a transmittance (b) na vlnové délce filmů připravených ze směsi citrusového pektinu a PVA s přídavkem 0,3 % (w/w) karmínu před a po expozici těkavým látkám z kažení masa (30 °C, 48 h)



V tomto případě je tvar absorpčních křivek (graf 22a) téměř totožný se standardem. Maximum zůstává stabilně v oblasti 280 nm a charakteristické rozštěpené maximum pro karmín v oblasti 500–600 nm, což ukazuje, že molekulární struktura karmínu nebyla narušena a potvrzuje jeho chemickou stabilitu.

Filmy i po expozici vykazují pomalý a pravidelný pokles transmittance (graf 22b) s vlnovou délkou bez výrazného zlomu v oblasti 600–800 nm. Filmy po expozici vykazují v této oblasti vyšší hodnoty transmittance oproti standardu, což odpovídá mírnému zvýšení světlosti ( $L^*$ ).

Výrazný pík se objevuje v oblasti 380–450 nm, kde transmittance krátce vzroste až na hodnoty kolem 10 %. Tento jev ukazuje, že karmín absorbuje světlo ve stejné části spektra jako kyselina karmínová, avšak s nižší intenzitou.

Spektrální průběh filmů po expozici je velmi podobný se standardem.

Celkově lze konstatovat, že filmy s přídavkem 0,3 % karmínu vykazovaly po kontaktu s těkavými látkami ze zkaženého masa jen minimální barevné změny. Ve srovnání s filmy obsahujícími kyselinu karmínovou byla barva stabilnější po expozici, což potvrzuje jejich vyšší barevnou odolnost v zásaditém prostředí typickém pro počínající kažení masa.

### 4.5.3 Shrnutí

Na základě srovnání všech testovaných filmů lze jako nejvhodnější pro využití v inteligentních obalech označit filmy z citrusového pektinu s 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové. Tyto vzorky vykazovaly po expozici těkavým zásaditým látkám vznikajícím při kažení masa nejvyšší barevné změny ( $\Delta E = 24,9\text{--}35$ ), doprovázené poklesem parametrů  $a^*$  a  $b^*$ , snížením sytosti ( $C^*$ ) a posunem barevného tónu ( $h^\circ$ ) směrem k chladnějším odstínům (tabulka 15). Spektrální analýza potvrdila pokles propustnosti světla v oblasti nad 600 nm a rozšíření absorpčního pásu kolem 530 nm, což naznačuje narušení chromoforové struktury barviva a chemickou odezvu na změnu pH.

Citrusový pektin s vyšší koncentrací kyseliny karmínové se jeví jako nejcitlivější a nejspolehlivější systém pro vizuální indikaci čerstvosti masa.

Podobně jako ve studii Husin et al. (2020), kde byl ke sledování čerstvosti masa využit vizuální indikátor na bázi delphinidinu, vykazovaly i zde připravené filmy s kyselinou karmínovou barevné změny v důsledku působení těkavých zásaditých látek. Výsledky odpovídají také poznatkům dalších autorů, kteří popsali kyselinu karmínovou jako účinné pH-senzitivní barvivo s rychlou vizuální odezvou na alkalické látky, což potvrzuje její potenciál pro využití v inteligentních obalových systémech [44, 78].

Oproti tomu filmy s karmínem vykazovaly minimální odezvu na změny prostředí a barevnou stabilitu, což koresponduje s literaturou [47] a čímž se ukázaly jako nevhodné pro indikaci kažení potravin.

## 4.6 MIGRAČNÍ CHOVÁNÍ KYSELINY KARMÍNOVÉ Z FILMŮ

Pro každý typ filmu a testovací médium byla provedena tři nezávislá měření. Z absorbance naměřené v rozmezí 340–800 nm byla odečtena hodnota absorbance v charakteristickém absorpčním maximu kyseliny karmínové v oblasti viditelného záření. Z těchto tří hodnot byla vypočtena průměrná absorbance.

Na základě průměrné absorbance byla pomocí kalibrační rovnice, získané ze sestavené křivky, vypočtena koncentrace kyseliny karmínové uvolněné do testovacího média. Výsledky byly vyjádřeny v jednotkách mg/l a slouží k posouzení migračního chování barviva v závislosti na složení filmu, typu média a době expozice (30 minut a 24 hodin).

Veškerá data byla statisticky zpracována v programu Statistica 14.

### 4.6.1 Kalibrační rovnice pro výpočet obsahu kyseliny karmínové

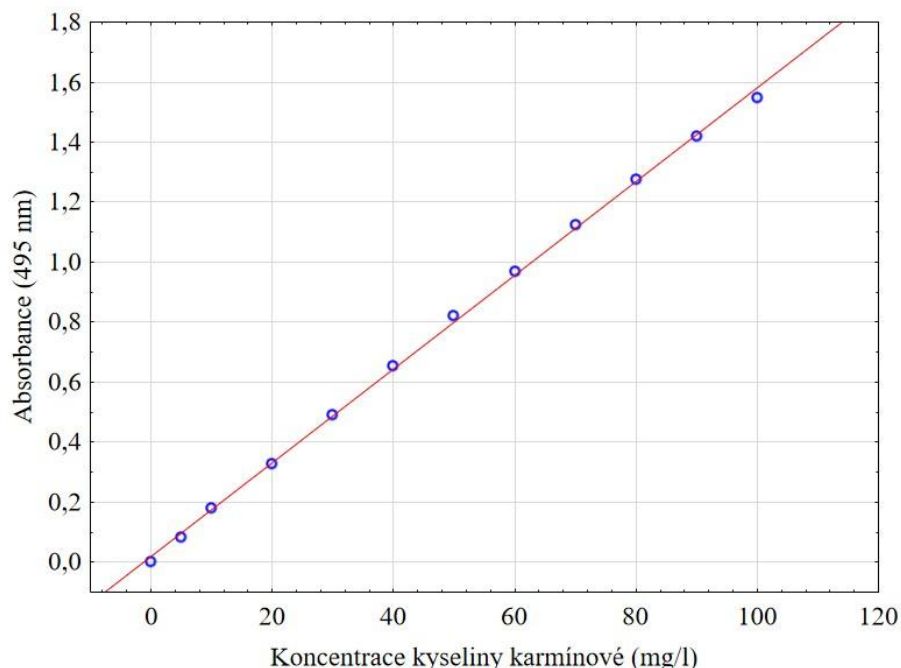
Pro kvantitativní stanovení množství kyseliny karmínové uvolněné z filmů byly připraveny kalibrační roztoky v koncentračním rozsahu 0–100 mg/l (obrázek 16). Absorbance těchto roztoků byla měřena při vlnové délce 495 nm, která odpovídá maximální absorbanci kyseliny karmínové ( $\lambda_{\max}$ ) v oblasti viditelného spektra, jak uvádí odborná literatura.

Data, z nichž vychází graf, tabulky a rovnice v této kapitole, jsou uvedena v příloze 2. Kalibrační závislost kyseliny karmínové na vlnové délce je znázorněna v grafu 23.



Obrázek 16: Kalibrační roztoky kyseliny karmínové v koncentračním rozsahu 0–100 mg/l  
[foto autor]

Graf 23: Závislost absorbance na koncentraci kyseliny karmínové při vlnové délce 495 nm



Tabulka 17: Bodové odhady pro kalibrační závislost kyseliny karmínové

		Shrnutí regrese pro závislou proměnnou: KK (mg/l) $R^2=0,9991$ ; $F(1,10)=11382$			
N=12		b	Sm. ch. z b	t (12)	p-hodnota
Průsečík	$\beta_0$	0,019073	0,008236	2,3157	0,043085
Absorbance (495 nm)	$\beta_1$	0,015613	0,000145	107,4064	0,000000

KK – kyselina karmínová; b – odhad parametrů regresní přímky;  $\beta_0$  – odhad úseku;  $\beta_1$  – odhad směrnice; Sm. ch. z b – směrodatná chyba z b (odhad nejistoty parametru b); t (12) – hodnota t-statistiky při 12 stupních volnosti; p- hodnota – pravděpodobnost náhodného vzniku odhadu;  $R^2$  – koeficient determinace; F (1,10) – hodnota F-testu

Z tabulky 17 vyplývá, že hodnota úseku je 0,019073. Hodnota t-testu pro hypotézu  $H_0: \beta_0 = 0$  je 2,3157,  $p = 0,043085$ . Hypotézu o nevýznamnosti parametru  $\beta_0$  na hladině významnosti 0,05 tedy zamítneme.

Hodnota směrnice je 0,015613. Hodnota t-testu pro hypotézu  $H_0: \beta_1 = 0$  je 107,4064,  $p = 0,000$ . Hypotézu o nevýznamnosti parametru  $\beta_1$  tedy na hladině významnosti 0,05 zamítáme.

Hodnoty, které jsou vyznačeny v tabulce červeně, označují statisticky významné parametry ( $p < 0,05$ ).

$$IS = b \pm (Sm. ch. b * t(student)_{0,975;n})$$

$$IS_{\text{úsek}} = 0,019073 \pm (0,008236 * 2,228)$$

$$IS_{\text{úsek};D} = 0,0007 \quad IS_{\text{úsek};H} = 0,0374$$

Rovnice 5: 95% interval  
spolehlivosti odhadu směrnice a  
úseku

$$IS_{\text{směrnice}} = 0,015733 \pm (0,000147 * 2,228)$$

$$IS_{\text{směrnice};D} = 0,0154 \quad IS_{\text{směrnice};H} = 0,0161$$

$IS_{D...}$  interval spolehlivosti  
(dolní hranice)  
 $IS_{H...}$  interval spolehlivosti  
(horní hranice)  
 $t(student)_{0,975;10} = 2,228$

Z výsledků rovnice 5 je patrné, že interval spolehlivosti úseku nezahrnuje 0, a tedy úsek  $\beta_0$  nelze považovat za nulový. Interval spolehlivosti směrnice nezahrnuje 1, a proto tedy nelze považovat za jednotkovou. Odhad regresního koeficientů  $\beta_0$  a  $\beta_1$  je statisticky významný

Tabulka 18: Souhrnné statistiky závislosti absorbance (495 nm) na obsahu kyseliny karmínové (mg/l)

Statistika	Hodnota
Vícenásobné R	0,999566861
Vícenásobné R <sup>2</sup>	0,999133909
Upravené R <sup>2</sup>	0,9990473
F (1,10)	11536,1331
p	1,19970544E-16
Směrodatná chyba odhadu	0,0164819569

R – korelační koeficient; R<sup>2</sup> – koeficient determinace; F (1,10) – hodnota F-testu; p – p-hodnota pro F-test

Tabulka 19: Verifikace modelu pro závislost absorbance (495 nm) na obsahu kyseliny karmínové (mg/l)

Efekt	Součet čtverců	SV	Průměr čtverců	F	p-hodnota
Regresní	3,133847	1	3,133847	11536,13	0,000000
Reziduální	0,002717	10	0,000272		
Celkem	3,136564				

SV – stupně volnosti; F – F-testová statistika; p – hodnota – pravděpodobnost náhodného vzniku odhadu

Z tabulky 18 a 19 vyplývá, že navržený model je velmi přesný – vysvětluje naprostou většinu variability měření ( $R^2 > 0,999$ ), má extrémně nízkou p-hodnotu ( $\approx 0$ ) a vysokou F-statistiku (11 536,13). To znamená, že absorbance při 495 nm je silně lineárně závislá na koncentraci kyseliny karmínové. Finální podoba kalibrační rovnice (rovnice 6) je následující:

$$A = 0,015613 * c + 0,019073$$

Rovnice 6: Kalibrační rovnice  
pro závislost absorbance  
na koncentraci kyseliny  
karmínové (mg/l) při 495 nm

$c...$  koncentrace  
 $A...$  absorbance

#### 4.6.2 Migrace barviva po 30 min

Po dosažení změřené absorpance migračních roztoků do kalibrační rovnice 6 byla vypočtena koncentrace kyseliny karmínové uvolněné z jednotlivých filmů po 30 min expozici.

Tabulka 20: Uvolnění kyseliny karmínové z filmů na bázi pektinu a PVA do různých médií (mg/l) po 30 min

Koncentrace KK (mg/l) uvolněná do roztoku média po 30 min					
Typ film	Médium				
	Demi. H <sub>2</sub> O	3% HAc	30% Et-OH	60% Et-OH	96% Et-OH
JP + PVA + 0,1% (w/w) KK	12,1	13,6	12,4	8,6	~0
JP + PVA + 0,3% (w/w) KK	36,5	35,7	40,6	36,5	~0
JP + PVA + 0,3% (w/w) Karmín	4,0	~0	~0	~0	~0
CP + PVA + 0,1% (w/w) KK	12,9	11,8	15,5	14,1	~0
CP + PVA + 0,3% (w/w) KK	50,2	39,3	43,6	45,3	~0
CP + PVA + 0,3% (w/w) Karmín	4,8	~0	~0	~0	~0

JP – jablečný pektin; PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová; HAc – kyselina octová; Et-OH – ethanol

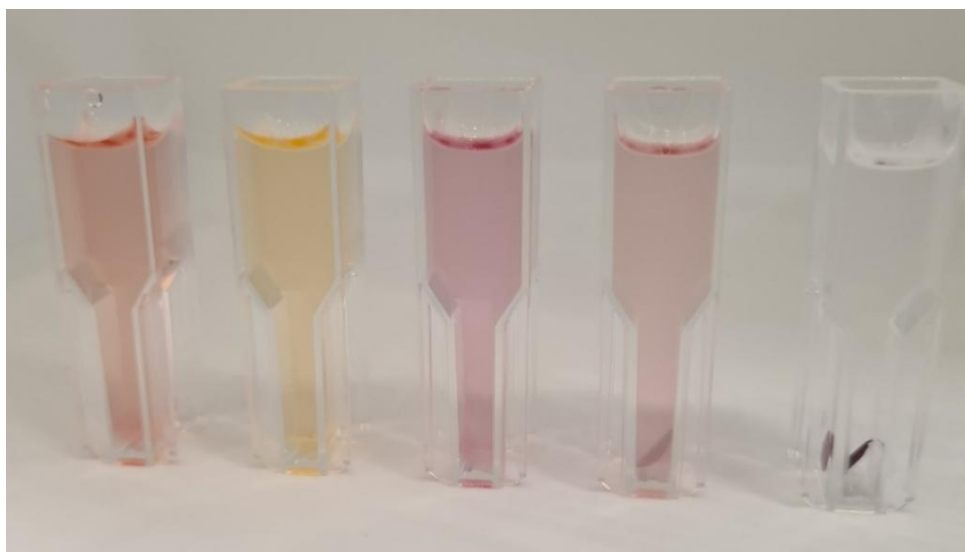
Z tabulky 20 vyplývá, že míra uvolnění kyseliny karmínové do jednotlivých médií po 30 minutách expozice závisí na typu barviva, jeho koncentraci ve filmu, použitém druhu pektinu a také na vlastnostech média, do kterého byl film ponořen. Je však třeba upozornit, že naměřené **hodnoty mohou být výrazně ovlivněny rozdílnou tloušťkou jednotlivých filmů**, která nebyla při výpočtech uvolněného množství zohledněna. Tato skutečnost může částečně vysvětlovat některé rozdíly mezi vzorky.

Filmy s přídavkem kyseliny karmínové vykazovaly výrazně vyšší míru uvolnění než filmy obsahující karmín. Například u filmů s 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové dosahovaly hodnoty uvolněného barviva až 50,2 mg/l (v případě CP + PVA ve vodě), u filmů s karmínem byla koncentrace uvolněného barviva přibližně 10x nižší (4,8 mg/l). Tento rozdíl souvisí s rozdílnou rozpustností a molekulární strukturou barviv. Kyselina karmínová je ve vodě dobře rozpustná, zatímco karmín ve formě komplexu hůře.

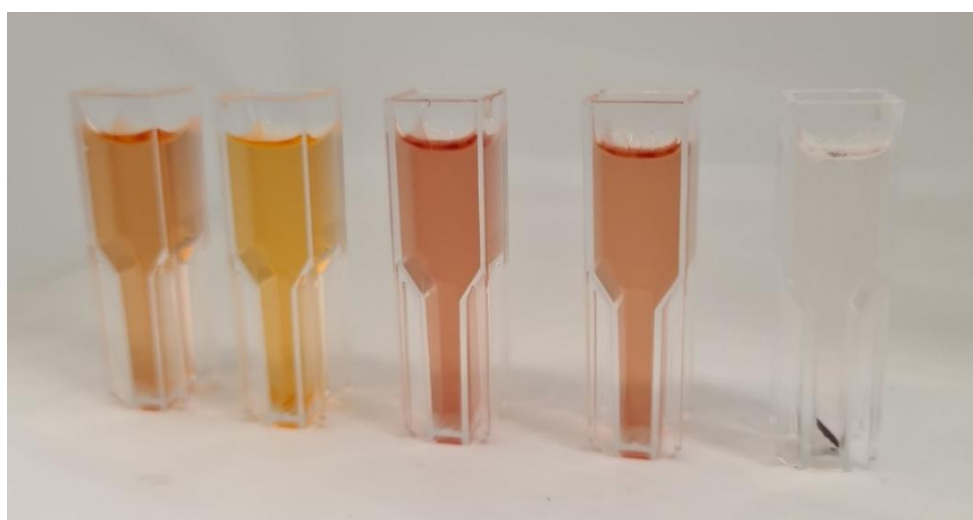
Vyšší koncentrace kyseliny karmínové ve filmu vedla očekávaně k vyšší míře uvolnění oproti filmu s nižší koncentrací. Například film JP + PVA + 0,3 % KK uvolnil do 30% ethanolu 40,6 mg/l, zatímco varianta s 0,1 % KK 12,4 mg/l. Rozdíl v koncentraci barviva však může být dále zesílen, pokud byl film s vyšší koncentrací barviva současně i silnější.

Dále lze pozorovat mírně vyšší uvolnění kyseliny karmínové z filmů připravených z citrusového pektinu ve srovnání s jablečným pektinem. Tento rozdíl může být způsoben rozdílnými síťovacími vlastnostmi pektinů, jejich vlivem na mikrostrukturu filmu a případně i rozdílnou sorpcí barviva na polymerní matici.

Vliv prostředí byl rovněž významný. Kyselina karmínová se nejvíce uvolňovala do vody, 3% kyseliny octové a 30% ethanolu. S rostoucí koncentrací ethanolu docházelo k postupnému poklesu uvolnění barviva až na nulové hodnoty ve 96% ethanolu. Tento jev je způsoben poklesem polarity média a tím i nižší rozpustností kyseliny karmínové.



Obrázek 17: Míra uvolnění kyseliny karmínové do zkoumaného média (demineralizovaná voda, 3% HAc; 30% Et-OH; 60% Et-OH a 96% Et-OH) z filmu připraveného ze směsi jablečného pektinu a PVA s přidavkem 0,1 % kyseliny karmínové po 30min expozici [foto autor]



Obrázek 18: Míra uvolnění kyseliny karmínové do zkoumaného média (demineralizovaná voda, 3% HAc; 30% Et-OH; 60% Et-OH a 96% Et-OH) z filmu připraveného ze směsi citrusového pektinu a PVA s přidavkem 0,3 % kyseliny karmínové po 30min expozici [foto autor]

#### 4.6.3 Migrace barviva po 24 h

Po dosažení změřené absorpance migračních roztoků do kalibrační rovnice 6 byla vypočtena koncentrace kyseliny karmínové uvolněné z jednotlivých filmů po 24 h expozici.

Tabulka 21: Uvolnění kyseliny karmínové z filmů na bázi pektinu a PVA do různých médií (mg/l) po 24 h

Koncentrace KK (mg/l) uvolněná do roztoku média po 24 h					
Typ film	Médium				
	Demi. H <sub>2</sub> O	3% HAc	30% Et-OH	60% Et-OH	96% Et-OH
JP + PVA + 0,1% (w/w) KK	14,7	15,1	12,1	13,9	~0
JP + PVA + 0,3% (w/w) KK	45,8	42,2	43,8	43,9	2,6
JP + PVA + 0,3% (w/w) Karmín	4,2	1,4	1,5	2,3	~0
CP + PVA + 0,1% (w/w) KK	13,7	12,8	11,9	14,2	~0
CP + PVA + 0,3% (w/w) KK	44,6	39,9	42,8	51,0	1,7
CP + PVA + 0,3% (w/w) Karmín	6,4	1,0	1,7	2,5	~0

JP – jablečný pektin; PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová; HAc – kyselina octová; Et-OH – ethanol

Z tabulky 21 je patrné, že po 24 hodinách expozice filmů v různých médiích došlo k dalšímu zvýšení množství uvolněné kyseliny karmínové, přičemž trendy pozorované po 30 minutách zůstaly do značné míry zachovány. Nejvyšší koncentrace uvolněného barviva byly opět naměřeny ve vodě, 3% kyselině octové a 30–60% ethanolu. Například film JP + PVA + 0,3 % KK uvolnil do vody 45,6 mg/l KK a do 60% ethanolu 43,1 mg/l barviva. Oproti 30min expozici se jedná o nárůst přibližně o 20–25 %, což potvrzuje, že proces difuze barviva pokračuje i po delší době.

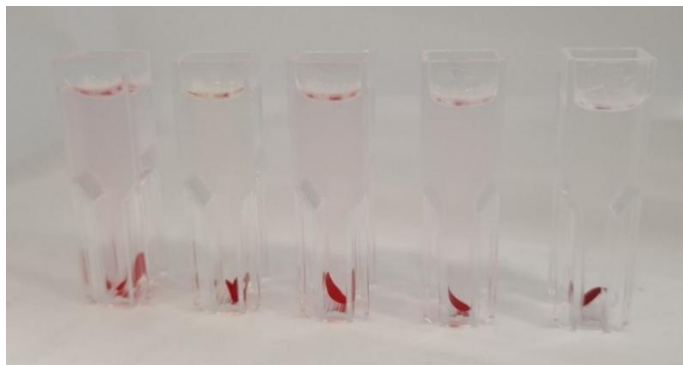
Zajímavý je také mírný pokles koncentrace u CP + PVA + 0,3 % KK oproti 30min expozici ve vodě (z 50,2 na 44,6 mg/l), který může být způsoben buď experimentální odchylkou, nebo možným nasycením média barvivem a zpětnou sorpcí na povrch filmu.

Filmy s karmínem opět vykazovaly pouze minimální migraci barviva, i po 24 hodinách zůstávaly koncentrace v médiích velmi nízké (obvykle pod 2,5 mg/l). To potvrzuje jeho velmi nízkou rozpustnost a stabilitu v polymerní matici, což může být výhodné pro aplikace, kde je vyžadována nízká migrace barevné složky.

Srovnání typů pektinu ukázalo, že rozdíly mezi JP a CP se po 24 hodinách částečně vyrovnaly, zatímco po 30 minutách uvolňoval více kyseliny karmínové citrusový pektin, po

24 hodinách byly rozdíly malé nebo dokonce opačné. Tento výsledek může být ovlivněn různou tloušťkou filmů nebo vnitřní strukturou polymerní sítě.

Rovněž se ukázalo, že uvolnění kyseliny karmínové není zcela nulové ani ve 96% ethanolu, ačkoli i zde zůstává velmi nízké (maximálně 2,6 mg/l). S rostoucí koncentrací ethanolu se celková difuze barviva snižuje, což je dáno nižší polaritou média.



*Obrázek 19: Míra uvolnění kyseliny karmínové do zkoumaného média (demineralizovaná voda, 3% HAc; 30% Et-OH; 60% Et-OH a 96% Et-OH) z filmu připraveného ze směsi citrusového pektinu a PVA s přísadkou 0,3 % karmínu po 24h expozici [foto autor]*

#### **4.6.4 Shrnutí**

Bylo prokázáno, že míra migrace barviva z filmů závisí na několika faktorech, především na typu barviva, jeho koncentraci ve filmu, typu použitého pektinu, polaritě migračního média a době expozice. Kyselina karmínová se z filmů uvolňovala výrazně více než karmín, což souvisí s její rozpustností ve vodném prostředí, jak uvádí literatura [47]. Nejvyšší uvolnění kyseliny karmínové bylo zaznamenáno v demineralizované vodě, 3% kyselině octové a 30% ethanolu. S rostoucí koncentrací ethanolu docházelo k poklesu migrace barviva do média. V 96% ethanolu bylo uvolnění velmi nízké.

Vyšší koncentrace kyseliny karmínové ve filmu vedla k intenzivnějšímu uvolnění barviva, přičemž hodnoty mohly být částečně ovlivněny rozdílnou tloušťkou filmů. Filmy připravené s citrusovým pektinem vykazovaly obecně vyšší míru migrace než ty z jablečného pektinu, pravděpodobně v důsledku rozdílů ve struktuře a míře zesíťování jednotlivých typů pektinů.

Bylo také zjištěno, že žádný z testovaných filmů nebyl v žádném z použitých médií rozpustný. Migrace barviva tedy probíhala výhradně na základě difuze z neporušené polymerní matrice do okolního prostředí.

Většina kyseliny karmínové se uvolnila již během prvních 30 minut expozice, přičemž difuze dále pokračovala i po 24 hodinách. Naproti tomu uvolnění karmínu bylo minimální po celou dobu sledování, což potvrzuje jeho vhodnost pro aplikace vyžadující stálou barevnost bez významné migrace.

## ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývala vývojem inteligentních obalů na bázi pektinu a polyvinylalkoholu (PVA) s přídavkem přírodního barviva E 120, tj. kyseliny karmínové a karmínu. Cílem bylo ověřit jejich schopnost detekovat kažení masa na základě barevných změn vyvolaných těkavými zásaditými látkami a změnami pH.

V experimentální části byly připraveny filmy z jablečného a citrusového pektinu s PVA a různými koncentracemi barviva. Hodnoceny byly jejich barevné a optické vlastnosti (absorbance, transmitance), rozpustnost ve vodě a ethanolu, a také migrační chování barviva. Filmy byly vystaveny zásaditému prostředí (výpary amoniaku) a těkavým látkám ze zkaženého masa, přičemž byla sledována změna barevných parametrů v systému CIE Lab\*.

Výsledky potvrdily, že kyselina karmínová je citlivější na přítomnost těkavých zásaditých látek než karmín, což se projevilo výraznějšími barevnými změnami, zejména u vzorků s koncentrací 0,3 % (w/w) kyseliny karmínové. Typ pektinu neměl na intenzitu barevné odezvy výrazný vliv. Zásadním zjištěním bylo, že kyselina karmínová se ve vodném prostředí téměř úplně uvolnila z filmu do okolního média. Toto migrační chování je z legislativního hlediska problematické, protože může vést k překročení maximálních povolených limitů pro uvolňování barviva do potravin.

Na základě těchto poznatků lze konstatovat, že kyselina karmínová má sice vysoký aplikační potenciál jako vizuální indikátor čerstvosti v inteligentních obalech, nicméně její praktické využití může být významně omezeno právě její vysokou rozpustností ve vodném prostředí a legislativním omezením týkajícím se migrace do potravin. Do budoucna je proto vhodné zaměřit se na možnosti stabilizace kyseliny karmínové v matrici filmu, nebo zvážit použití jiných barviv s podobnou barevnou odezvou, ale nižší rozpustností a migrací.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] EVROPSKÝ PARLAMENT A RADA. *Narižení (ES) č. 1935/2004 ze dne 27. října 2004 o materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami a o zrušení směrnic 80/590/EHS a 89/109/EHS*. Úřední věstník Evropské unie. 2004, L 338, s. 4–17. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:32004R1935>
- [2] *Legislativní úprava požadavků na obaly a obalové materiály*, EnviProfi, 2024. Dostupné z: [https://www.enviprofi.cz/33/legislativni-uprava-pozadavku-na-obaly-a-obalove-materialy-uniqueidmRRWSbk196FNf8-jVUh4EstVtRjpnQxZIyn02yhvyzNppA5B5rrwHw/?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.enviprofi.cz/33/legislativni-uprava-pozadavku-na-obaly-a-obalove-materialy-uniqueidmRRWSbk196FNf8-jVUh4EstVtRjpnQxZIyn02yhvyzNppA5B5rrwHw/?utm_source=chatgpt.com)
- [3] EVROPSKÝ PARLAMENT A RADA. *Narižení (EU) 2025/40 ze dne 19. prosince 2024 o obalech a obalových odpadech, o změně narižení (EU) 2019/1020 a směrnice (EU) 2019/904 a o zrušení směrnice 94/62/ES*. Úřední věstník Evropské unie. 2025, L 40, s. 1–124. Dostupné z: [https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=OJ:L\\_2025\\_00040](https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=OJ:L_2025_00040)
- [4] NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 10/2011 ze dne 14. ledna 2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami (konsolidované znění k 31. 8. 2023), Evropská komise, 2023. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32011R0010>
- [5] PARLAMENT ČESKÉ REPUBLIKY. *Zákon č. 477/2001 Sb., o obalech a o změně některých zákonů (zákon o obalech)*. Sbírka zákonů České republiky. 2001, částka 172. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2001-477>
- [6] DÍAZ-MONTES E., CASTRO-MUÑOZ R., *Edible Films and Coatings as Food-Quality Preservers: An Overview*, Foods, 2021, ročník 10, číslo 2. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10020249>
- [7] ALAÑÓN M. E., IVANOVIĆ M., PIMENTEL-MORA S., BORRÁS-LINARES I., ARRÁEZ-ROMÁN D., SEGURA-CARRETERO A., *A Novel Sustainable Approach for the Extraction of Value-Added Compounds from Hibiscus sabdariffa L. Calyces by Natural Deep Eutectic Solvents*, Food Research International, 2020, ročník 137. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109646>
- [8] LIYANAPATHIRANAGE A., DASSANAYAKE R. S., GAMAGE A., KARRI R. R., MANAMPERI A., EVON P., JAYAKODI Y., MADHUIJITH T., MERAH O., *Recent Developments in Edible Films and Coatings for Fruits and Vegetables*, Coatings, 2023, ročník 13, číslo 7. DOI: <https://doi.org/10.3390/coatings13071177>
- [9] NAIR S. S., TRAFIAŁEK J., KOLANOWSKI W., *Edible Packaging: A Technological Update for the Sustainable Future of the Food Industry*, Applied Sciences, 2023, ročník 13, číslo 14. DOI: <https://doi.org/10.3390/app13148234>
- [10] KUMAR V. A., HASAN M., MANGARAJ S., PRAVITHA M., VERMA D. K., SRIVASTAV P. P., *Trends in Edible Packaging Films and Its Prospective Future in Food: A Review*, Applied Food Research, 2022, ročník 2, číslo 1, článek 100118. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100118>
- [11] HAMMAM A. R. A., *Technological, Applications, and Characteristics of Edible Films and Coatings: A Review*, SN Applied Sciences, 2019, ročník 1, článek č. 632. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42452-019-0660-8>

- [12] ATHANASOPOULOU E., BIGI F., MAURIZZI E., KARELLOU E. I. E., PAPPAS C. S., QUARTIERI A., TSIRONI T., *Synthesis and Characterization of Polysaccharide- and Protein-based Edible Films and Application as Packaging Materials for Fresh Fish Fillets*, Scientific Reports, 2024, ročník 14, článek č. 517. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-51163-y>
- [13] KUMAR L., RAMAKANTH D., AKHILA K., GAIKWAD K. K., *Edible Films and Coatings for Food Packaging Applications: A Review*, Environmental Chemistry Letters, 2022, ročník 20, str. 875–900. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01339-z>
- [14] CHHIKARA S., KUMAR D., *Edible Coating and Edible Film as Food Packaging Material: A Review*, Journal of Packaging Technology and Research, 2022, ročník 6, str. 1–10. DOI: <https://doi.org/10.1007/s41783-021-00129-w>
- [15] KUMAR N., PRATIBHA, PRASAD J., YADAV A., UPADHYAY A., NEERAJ, SHUKLA S., PETKOSKA A. T., HEENA, SURI S., GNIEWOSZ M., KIELISZEK M., *Recent Trends in Edible Packaging for Food Applications — Perspective for the Future*, Food Engineering Reviews, 2023, ročník 15, str. 718–747. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12393-023-09358-y>
- [16] SONG D.-H., HOA V. B., KIM H. W., KHANG S. M., CHO S.-H., HAM J.-S., SEOL K.-H., *Edible Films on Meat and Meat Products*, Coatings, 2021, ročník 11, číslo 11. DOI: <https://doi.org/10.3390/coatings11111344>
- [17] DEVI L. S., JAISWAL A. K., JAISWAL S., *Lipid Incorporated Biopolymer Based Edible Films and Coatings in Food Packaging: A Review*, Current Research in Food Science, 2024, ročník 8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2024.100720>
- [18] KANDASAMY S., YOO J., YUN J., KANG H.-B., SEOL K.-H., KIM H.-W., HAM J.-S., *Application of Whey Protein-Based Edible Films and Coatings in Food Industries: An Updated Overview*, Coatings, 2021, ročník 11, číslo 9. DOI: <https://doi.org/10.3390/coatings11091056>
- [19] PIRES A. F., DÍAZ O., COBOS A., PEREIRA C. D., *A Review of Recent Developments in Edible Films and Coatings – Focus on Whey-Based Materials*, Foods, 2024, ročník 13, číslo 16. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods13162638>
- [20] HAMED I., JAKOBSEN A. N., LERFALL J., *Sustainable Edible Packaging Systems Based on Active Compounds from Food Processing Byproducts: A review*, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2022, ročník 21, str. 198–226. DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12870>
- [21] SYARIFUDDIN A., MUFLIH M. H., IZZAH N., FADILLAH U., AINANI A. F., DIRPAN A., *Pectin-Based Edible Films and Coatings: From Extraction to Application on Food Packaging Towards Circular Economy – A Review*, Carbohydrate Polymer Technologies and Applications, 2025, ročník 9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2025.100680>
- [22] ASFAW W. A., TAFA K. D., SATHEESH N., *Optimization of Citron Peel Pectin and Glycerol Concentration in the Production of Edible Film Using Response Surface Methodology*, Heliyon, 2023, ročník 9, číslo 3. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13724>

- [23] MOURA-ALVES M., ESTEVES A., CIRÍACO M., SILVA J. A., SARAIVA C., *Antimicrobial and Antioxidant Edible Films and Coatings in the Shelf-Life Improvement of Chicken Meat*, *Foods*, 2023, ročník 12, číslo 12. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12122308>
- [24] RIBEIRO A. M., ESTEVINHO B. N., ROCHA F., *Preparation and Incorporation of Functional Ingredients in Edible Films and Coatings*, *Food and Bioprocess Technology*, 2021, ročník 14, str. 209–231. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02528-4>
- [25] WENG S., MARCET I., RENDUELES M., DÍAZ M., *Edible Films from the Laboratory to Industry: A Review of the Different Production Methods*, *Food and Bioprocess Technology*, 2025, ročník 18, číslo 4, s. 3245–3271. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-024-03641-4>
- [26] NAIR S. S., TRAFIAŁEK J., KOLANOWSKI W., *Edible Packaging: A Technological Update for the Sustainable Future of the Food Industry*, *Applied Sciences*, 2023, ročník 13, číslo 14. DOI: <https://doi.org/10.3390/app13148234>
- [27] KOCIRA A., KOZŁOWICZ K., PANASIEWICZ K., STANIAK M., SZPUNAR-KROK E., HORTYŃSKA P., *Polysaccharides as Edible Films and Coatings: Characteristics and Influence on Fruit and Vegetable Quality—A Review*, *Agronomy*, 2021, ročník 11, číslo 5. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy11050813>
- [28] ZDUNEK A., PIECZYWEEK P. M., CYBULSKA J., *The Primary, Secondary, and Structures of Higher Levels of Pectin Polysaccharides*, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2021, ročník 20, číslo 1, s. 1101–1117. DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12689>
- [29] DVOŘÁK, O. *Chemická Struktura Pektinu a Celulózy*. Akademon, 2006. Dostupné z: <https://archiv.akademon.cz/Article/ImageDetail?imageLink=source%2Fobr%2Fcelopektin.png&name=Sehrana+dvojka+zroutu&source=1217>
- [30] ROY S., PRIYADARSHI R., ŁOPUSIEWICZ Ł., BISWAS D., CHANDEL V., RHIM J.-W., *Recent Progress in Pectin Extraction, Characterization, and Pectin-Based Films for Active Food Packaging Applications: A Review*, *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, ročník 239. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124248>
- [31] BARRERA-CHAMORRO L., FERNANDEZ-PRIOR Á., RIVERO-PINO F., MONTSERRAT-DE LA PAZ S., *A Comprehensive Review on the Functionality and Biological Relevance of Pectin and the Use in the Food Industry*, *Carbohydrate Polymers*, 2025, ročník 348, část A. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2024.122794>
- [32] ROMAN-BENN A., CONTADOR C. A., LI M.-W., LAM H.-M., AH-HEN K., ULLOA P. E., RAVANAL M. C., *Pectin: An Overview of Sources, Extraction and Applications in Food Products, Biomedical, Pharmaceutical and Environmental Issues*, *Food Chemistry Advances*, 2023, ročník 2. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100192>
- [33] ZOGHI A., VEDADI S., HAMIDI ESFAHANI Z., AHMADI GAVLIGHI H., KHOSRAVI-DARANI K., *A Review on Pectin Extraction Methods Using Lignocellulosic Wastes*, *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2023, ročník 13, str. 5577–5589. DOI: <https://doi.org/10.1007/S13399-021-02062-Z>

- [34] NADAR C. G., ARORA A., SHASTRI Y., *Sustainability Challenges and Opportunities in Pectin Extraction from Fruit Waste*, ACS Engineering Au, 2022, ročník 2, číslo 2, str. 61–74. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsengineeringau.1c00025>
- [35] PANDA P. K., SADEGHI K., SEO J., *Recent Advances in Poly(vinyl alcohol)/Natural Polymer Based Films for Food Packaging Applications: A review*, Food Packaging and Shelf Life, 2022, ročník 33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100904>
- [36] CHEMICALBOOK, *Polyvinyl alcohol: Properties, Production process and Uses*, ChemicalBook, 2024. Dostupné z: <https://www.chemicalbook.com/article/polyvinyl-alcohol-properties-production-process-and-uses.htm>
- [37] RAZMJOO F., SADEGHI E., ROUHI M., MOHAMMADI R., NOROOZI R., SAFAJOO S., *Polyvinyl Alcohol–Zedo Gum Edible Film: Physical, Mechanical and Thermal Properties*, Journal of Applied Polymer Science, 2021, ročník 138, číslo 8. DOI: <https://doi.org/10.1002/app.49875>
- [38] ALVARADO M. C., *Recent Progress in Polyvinyl Alcohol (PVA)/Nanocellulose Composite Films for Packaging Applications: A Comprehensive Review of the Impact on Physico-Mechanical Properties*, Food Bioengineering, 2024, ročník 3, číslo 2, str. 189–209. DOI: <https://doi.org/10.1002/fbe2.12086>
- [39] OUN A. A., SHIN G. H., RHIM J. W., KIM J. T., *Recent Advances in Polyvinyl Alcohol-Based Composite Films and their Applications in Food Packaging*, Food Packaging and Shelf Life, 2022, ročník 34. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100991>
- [40] TELEKY B.-E., MITREA L., PLAMADA D., NEMES S. A., CĂLINOIU L.-F., PASCUTA M. S., VARVARA R.-A., SZABO K., VAJDA P., SZEKELY C., et al., *Development of Pectin and Poly(vinyl alcohol)-Based Active Packaging Enriched with Itaconic Acid and Apple Pomace-Derived Antioxidants*, Antioxidants, 2022, ročník 11, číslo 9. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox11091729>
- [41] NOVAIS C., MOLINA G., ABREU J. P., FERREIRA I. M. P. L. V. O., PINTADO M., OLIVEIRA M. B. P. P., *Natural food colorants and preservatives: A review, a demand, and a challenge*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, ročník 70, číslo 9, str. 2789–2805. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c07533>
- [42] LIU Q., HE Z., ZENG M., QIN F., WANG Z., LIU G., CHEN J., *Effects of Different Food Ingredients on the Color and Absorption Spectrum of Carminic Acid and Carminic Aluminum Lake*, Food Science & Nutrition, 2021, ročník 9, číslo 1, str. 36–43. DOI: <https://doi.org/10.1002/fsn3.1628>
- [43] ALEGBE E. O., UTHMAN T. O., *A Review Of History, Properties, Classification, Applications and Challenges of Natural and Synthetic Dyes*, Heliyon, 2024, ročník 10, číslo 13. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33646>
- [44] ERREYRA-SUAREZ D., PAREDES-VARGAS L., JAFARI S. M., GARCÍA-DEPRAECTO., CASTRO-MUÑOZ R., *Extraction Pathways and Purification Strategies Towards Carminic Acid as Natural-Based Food Colorant: A Comprehensive Review*, Advances in Colloid and Interface Science, 2024, ročník 323. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cis.2023.103052>

- [45] SALTMARSH M., E120 – Carmine and Carminic Acid, in: *Saltmarsh's Essential Guide to Food Additives*, 5. vydání, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2020, str. 123–126. ISBN: 9781839161032, Dostupné z: [https://app.knovel.com/web/view/khtml/show.v/rcid:kpSEGFAE09/cid:kt012VXMW4/viewerType:khtml/root\\_slug:saltmarshs-essential/url\\_slug:e-120?q=carminic%20acid&b-q=carminic%20acid&date\\_facets=%7B%21ex%3Dc%7Dcopyright\\_sort%3A%5B2021%20TO%202025%5D&inclu](https://app.knovel.com/web/view/khtml/show.v/rcid:kpSEGFAE09/cid:kt012VXMW4/viewerType:khtml/root_slug:saltmarshs-essential/url_slug:e-120?q=carminic%20acid&b-q=carminic%20acid&date_facets=%7B%21ex%3Dc%7Dcopyright_sort%3A%5B2021%20TO%202025%5D&inclu)
- [46] VAKTE S. R., SONAWANE C. P., SARAF K. V., KASHMIRE S. M., NEHETE J. Y., *Cochineal Insects (Dactylopius Coccus) in Cosmetics: An Overview of Taxonomy, Composition, Extraction Methods, Applications, and Regulatory Perspectives*, International Journal of Entomology Research, 2024, ročník 9, číslo 10, str. 148–153. ISSN: 2455-4758. Dostupné z: <https://www.entomologyjournals.com/assets/archives/2024/vol9issue10/9286.pdf>
- [47] GRAS C., MÜLLER-MAATSCH J., *The Carmine Problem and Potential Alternatives*, Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages – Industrial Applications for Improving Food Color, 2. vydání, SCHWEIGGER R. (ed.), Elsevier, 2024, str. 465–506. DOI: 10.1016/B978-0-323-99608-2.00011-2, Dostupné z: [https://app.knovel.com/web/view/khtml/show.v/rcid:kpHNPFB10N/cid:kt013G91B1/viewerType:khtml/root\\_slug:21-the-carmine-problem-and-potential-alternatives/url\\_slug:carmine-problem-potential?b-toc-cid=kpHNPFB10N&b-toc-title=Handbook%20on%20Natural%20Pig](https://app.knovel.com/web/view/khtml/show.v/rcid:kpHNPFB10N/cid:kt013G91B1/viewerType:khtml/root_slug:21-the-carmine-problem-and-potential-alternatives/url_slug:carmine-problem-potential?b-toc-cid=kpHNPFB10N&b-toc-title=Handbook%20on%20Natural%20Pig)
- [48] NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI), *Carminic Acid*, PubChem Compound Summary, 2025. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Carminic-acid>
- [49] GALAPPATHTHI M. A., GUNASEKARA D. C., JAYASINGHE C. D., *Cochineal Chemistry, Related Applications and Problems: A Mini Review*, ResearchGate, 2021. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/353851266\\_Cochineal\\_Chemistry\\_related\\_Applications\\_and\\_Problems\\_A\\_Mini\\_Review](https://www.researchgate.net/publication/353851266_Cochineal_Chemistry_related_Applications_and_Problems_A_Mini_Review)
- [50] ALIZADEH M., DEMIR E., AYDOGDU N., ZARE N., KARIMI F., KANDOMAL S. M., ROKNI H., GHASEMI Y., *Recent Advantages in Electrochemical Monitoring for the Analysis of Amaranth and Carminic Acid as Food Color*, Food and Chemical Toxicology, 2022, ročník 163. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.112929>
- [51] GABRIELLI L., ORIGGI D., ZAMPELLA G., BERTINI L., BONETTI S., VACCARO G., MEINARDI F., SIMONUTTI R., CIPOLLA L., *Towards Hydrophobic Carminic Acid Derivatives and Their Incorporation in Polyacrylates*, Royal Society Open Science, 2018, ročník 5, číslo 7. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsos.172399>
- [52] EFSA PANEL ON FOOD ADDITIVES AND NUTRIENT SOURCES ADDED TO FOOD (ANS), *Scientific Opinion on the Re-evaluation of Cochineal, Carminic acid, Carmines (E 120) as a Food Additive*, EFSA Journal, 2015, ročník 13, číslo 11, článek 4288. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.42>
- [53] EVROPSKÝ PARLAMENT A RADA, *Nářízení (ES) č. 1333/2008 ze dne 16. prosince 2008 o potravinářských přídatných látkách*, Úřední věstník Evropské unie, L 354, 31.12.2008, s. 16-33. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32008R1333>

- [54] EVROPSKÁ KOMISE, *Nařízení Komise (EU) č. 231/2012 ze dne 9. března 2012, kterým se stanoví specifikace pro potravinářské přídatné látky uvedené v přílohách II a III nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008*, Úřední věstník Evropské unie, L 83, 22.3.2012, s. 1–295. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX%3A32012R0231>
- [55] EVROPSKÁ KOMISE, *Nařízení Komise (EU) 2019/800 ze dne 17. května 2019, kterým se mění příloha II nařízení (ES) č. 1333/2008 Evropského parlamentu a Rady, pokud jde o rozšíření použití kyseliny karmínové, karmínu (E 120) v určitých masných výrobcích tradičních pro francouzská zámořská území*, Úřední věstník Evropské unie, L 132, 20.5.2019, s. 15-17. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32019R0800>
- [56] EVROPSKÁ KOMISE, *Nařízení Komise (EU) 2015/647 ze dne 24. dubna 2015, kterým se mění příloha II nařízení (ES) č. 1333/2008 Evropského parlamentu a Rady, pokud jde o použití kyseliny karmínové, karmínu (E 120) v určitých masných výrobcích tradičních pro francouzská zámořská území*, Úřední věstník Evropské unie, L 107, 25.4.2015, s. 26–28. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/cs/TXT/?uri=CELEX%3A32016R0679>
- [57] EVROPSKÝ PARLAMENT A RADA, *Nařízení (EU) č. 1169/2011 ze dne 25. října 2011 o poskytování informací o potravinách spotřebitelům, o změně nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 a (ES) č. 1925/2006 a o zrušení směrnice Komise 87/250/EHS, směrnice Rady 90/496/EHS, směrnice Komise 1999/10/ES, směrnice Evropského parlamentu a Rady 2000/13/ES, směrnice Komise 2002/67/ES a 2008/5/ES a nařízení Komise (ES) č. 608/2004*, Úřední věstník Evropské unie, L 304, 22.11.2011, s. 18-63. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32011R1169>
- [58] REYES-PÉREZ R., PÉREZ-HERNÁNDEZ J., ROSAS-MORALES M., PLASCENCIA-ESPINOSA M. Á., LAZO-ZAMALLOA O., LÓPEZ-GAYOU V., LÓPEZ P. A., RÍOS-CORTÉS G., RÍOS-CORTÉS A. M., *Cochineal (Dactylopius coccus Costa) Pigment Extraction Assisted by Ultrasound and Microwave Techniques*, *Molecules*, 2024, ročník 29, číslo 23, článek 5568. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules29235568>
- [59] SINGH T., PANDEY V. K., DASH K. K., ZANWAR S., SINGH R., *Natural Bio-colorant and Pigments: Sources and Applications in Food Processing*, *Journal of Agriculture and Food Research*, 2023, ročník 12, článek 100628. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100628>
- [60] SVENSSON GRAPE E., WILLHAMMAR T., INGE A. K., *Brilliantly Red: The Structure of Carmine*, *ChemRxiv*, 2024. DOI: 10.26434/chemrxiv-2024-30t84. Dostupné z: <https://chemrxiv.org/engage/chemrxiv/article-details/674f5242f9980725cfed10f7>
- [61] FEINER G., *Additives: Proteins, Carbohydrates, Fillers and Other Additives*, in: FEINER G. (ed.), *Meat Products Handbook, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*, Woodhead Publishing, 2006, str. 89–141. DOI: <https://doi.org/10.1533/9781845691721.1.89>

- [62] AKBAR A., SIDDIQUI A. J., MOIN S. T., KHAN M. N., RAZA A., KHADIM A., USMAN M., CHOUDHARY M. I., MUSHARRAF S. G., *A Rapid Colorimetric Method for the Detection of Carminic Acid in Samples Based on Visible Color Change*, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2023, ročník 302. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.122953>
- [63] ABDELLA A. A., ELSHENAWY E. A., *A Spatial Hue Smartphone-Based Colorimetric Detection and Discrimination of Carmine and Carminic Acid in Food Products Based on Differential Adsorptivity*, *Talanta*, 2025, ročník 282. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.127053>
- [64] RACHED Z., EL-AMINE NOUAIRI M., BACHIR G. R., AMRANI W., BELLIL A., *Characterization and Selection by Optical Absorption and Emission Spectrophotometry of a Series of Red Dyes Capable of Destroying Far UV Rays by Absorption*, *Journal of Biomedical Research & Environmental Sciences*, 2023, ročník 4, číslo 3, s. 401–412. DOI: <https://doi.org/10.37871/jbres1689>
- [65] KIMURA T., YAMAGUCHI M., *Effects of Different Food Ingredients on The Color and Absorption Spectra of Carminic Acid and Carminic Aluminum Lake*, *Food Science & Nutrition*, 2019, ročník 7, číslo 8, s. 2631–2637. DOI: <https://doi.org/10.1002/fsn3.1628>
- [66] AAT BIOQUEST, *Absorpční Spektrum Kyseliny Karmínové*, Quest Graph™ Absorption [Carminic Acid], 2025. Dostupné z: [https://www.aatbio.com/absorbance-uv-visible-spectrum-graph-viewer/carminic\\_acid](https://www.aatbio.com/absorbance-uv-visible-spectrum-graph-viewer/carminic_acid)
- [67] KUNKELY H., VOGLER A., *Absorption and Luminescence Spectra of Cochineal*, *Inorganic Chemistry Communications*, 2011, ročník 14, číslo 7, s. 1153–1155. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2011.04.011>
- [68] AAT BIOQUEST, *Absorpční Spektrum Karmínu*, Quest Graph™ Absorption [Carmine], 2025. Dostupné z: <https://www.aatbio.com/absorbance-uv-visible-spectrum-graph-viewer/carmine>
- [69] CHEN J., ZHANG J., WANG N., XIAO B., SUN X., LI J., ZHONG K., YANG L., PANG X., HUANG F., CHEN A., *Critical Review and Recent Advances of Emerging Real-Time and Non-Destructive Strategies for Meat Spoilage Monitoring*, *Food Chemistry*, 2024, ročník 445, článek 138755. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138755>
- [70] SHAO L., CHEN S., WANG H., ZHANG J., XU X., WANG H., *Advances in Understanding the Predominance, Phenotypes, and Mechanisms of Bacteria Related to Meat Spoilage*, *Trends in Food Science & Technology*, 2021, ročník 118, část B, str. 822–832. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.007>
- [71] ZHU Y., WANG W., LI M., ZHANG J., JI L., ZHAO Z., ZHANG R., CAI D., CHEN L., *Microbial Diversity of Meat Products Under Spoilage and Its Controlling Approaches*, *Frontiers in Nutrition*, 2022, ročník 9. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1078201>
- [72] LIU Z., SHAPOSHNIKOV M., ZHUANG S., TU T., WANG H., WANG L., *Growth and Survival of Common Spoilage and Pathogenic Bacteria in Ground Beef and Plant-Based Meat Analogues*, *Food Research International*, 2023, ročník 164. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112408>

- [73] WU H., RICHARDS M. P., UNDELAND I., *Lipid Oxidation and Antioxidant Delivery Systems in Muscle Food*, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2022, ročník 21, číslo 2, str. 1275–1299. DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12890>
- [74] DOMÍNGUEZ R., PATEIRO M., GAGAOA M., BARBA F. J., ZHANG W., LORENZO J. M., *A Comprehensive Review on Lipid Oxidation in Meat and Meat Products*, *Antioxidants*, 2019, ročník 8, číslo 10. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox8100429>
- [75] TATIYABORWORNTHAM N., OZ F., RICHARDS M. P., WU H., *Paradoxical Effects of Lipolysis on the Lipid Oxidation in Meat and Meat Products*, *Food Chemistry: X*, 2022, ročník 14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100317>
- [76] HLG E., BUCHER M., STRENGER M., KLOß S., SCHMID M., *Towards Reducing Food Wastage: Analysis of Degradation Products Formed during Meat Spoilage under Different Conditions*, *Foods*, 2024, ročník 13, číslo 17. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods13172751>
- [77] COMI G., IACUMIN L., *Chapter 10 – Spoilage of meat and fish*, in: BEVILACQUA A., CORBO M. R., SINIGAGLIA M. (eds.), *The Microbiological Quality of Food* (2. vydání), *Woodhead Series in Food Science, Technology and Nutrition*, Elsevier Science Ltd, 2025, str. 221–248. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91160-3.00017-9>
- [78] HUSIN N., ABDUL RAHIM M. Z., MOHD. NOOR M. A., MOHAMMAD RASHEDI I. F., HASSAN N., *Real-Time Monitoring of Food Freshness Using Delphinidin-Based Visual Indicator*, *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 2020, ročník 24, číslo 4, str. 558-569. Dostupné z: [https://mjas.analis.com.my/mjas/v24\\_n4/pdf/Nurdiyana\\_24\\_4\\_10.pdf](https://mjas.analis.com.my/mjas/v24_n4/pdf/Nurdiyana_24_4_10.pdf)
- [79] DODERO A., ESCHER A., BERTUCCI S., CASTELLANO M., LOVA P., *Intelligent Packaging for Real-Time Monitoring of Food-Quality: Current and Future Developments*, *Applied Sciences*, 2021, ročník 11, číslo 8. DOI: <https://doi.org/10.3390/app11083532>
- [80] AMIN U., KHAN M. K. I., MAAN A. A., NAZIR A., RIAZ S., KHAN M. U., SULTAN M., MUNEKATA P. E. S., LORENZO J. M., *Biodegradable Active, Intelligent, and Smart Packaging Materials for Food Applications*, *Food Packaging and Shelf Life*, 2022, ročník 33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100903>
- [81] LI X., LIU D., PU Y., ZHONG Y., *Recent Advance of Intelligent Packaging Aided by Artificial Intelligence for Monitoring Food Freshness*, *Foods*, 2023, ročník 12, číslo 15. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12152976>
- [82] FORGHANI S., ALMASI H., MORADI M., *Electrospun Nanofibers as Food Freshness and Time-Temperature Indicators: A New Approach in Food Intelligent Packaging*, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2021, ročník 73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102804>
- [83] LIU L., WU W., ZHENG L., YU J., SUN P., SHAO P., *Intelligent Packaging Films Incorporated with Anthocyanins-Loaded Ovalbumin-Carboxymethyl Cellulose Nanocomplexes for Food Freshness Monitoring*, *Food Chemistry*, 2022, ročník 387. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132908>

- [84] PANÁK O., *Měření Barevnosti*. Studijní materiál, 2015. Dostupné z: <https://fcht.upce.cz/sites/default/files/public/luva3059/merenibarevnosti.pdf>
- [85] DANNHOFEROVÁ J., *Velká Kniha Barev: Kompletní Průvodce pro Grafiky, Fotografie a Designéry*, Computer Press, Brno, Czech Republic, 2012, ISBN: 9788025137857. Dostupné z: <https://static.artforum.sk/media/products-files/3b/b3/129793-DB65121.pdf>
- [86] NASA, *Wave Behaviors – NASA Science: Electromagnetic Spectrum*, NASA, 2024. Dostupné z: [https://science.nasa.gov/ems/03\\_behaviors/](https://science.nasa.gov/ems/03_behaviors/)
- [87] CHEMISTRY LIBRETEXTS, *2.1.05: Spectrophotometry*, Chemistry LibreTexts, 2023. Dostupné z: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\\_Textbook\\_Maps/Supplemental\\_Modules\\_\(Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\)/Kinetics/02%3A\\_Reaction\\_Rates/2.01%3A\\_Experimental\\_Determination\\_of\\_Kinetics/2.1.05%3A\\_Spectrophotometry](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Kinetics/02%3A_Reaction_Rates/2.01%3A_Experimental_Determination_of_Kinetics/2.1.05%3A_Spectrophotometry)
- [88] DRAWELL ANALYTICAL, *What Are the Differences Between Single Beam and Double Beam Spectrophotometers?* [online], [cit. 2025-04-29]. Dostupné z: <https://www.drawellanalytical.com/what-are-the-differences-between-single-beam-and-double-beam-spectrophotometers>
- [89] ETZRODT G., *Industrial Coloration of Plastics: Pigments, Dyestuffs, Fillers, and Nanomaterials*, München: Carl Hanser Verlag, 2022. ISBN: 978-1-56990-854-9. Dostupné z: [https://app.knovel.com/web/view/khtml/show.v/rcid:kpICPPDFN2/cid:kt012YPT71/viewerType:khtml/root\\_slug:2-color-and-color-measurement/url\\_slug:color-color-measurement](https://app.knovel.com/web/view/khtml/show.v/rcid:kpICPPDFN2/cid:kt012YPT71/viewerType:khtml/root_slug:2-color-and-color-measurement/url_slug:color-color-measurement)
- [90] KADLEC K., KMÍNEK M., KADLEC P., *Měření a Řízení Chemických, Potravinářských a Biotechnologických Procesů. Díl I., Provozní Měření*, Key Publishing, Ostrava, 2017, ISBN: 9788074182839.
- [91] DURMUS D., *CIELAB Color Space Boundaries Under Theoretical Spectra and 99 Test Color Samples*. *Color Research & Application*, 2020, 45(5), 796–802. DOI: [10.1002/col.22521](https://doi.org/10.1002/col.22521).
- [92] LY B. C. K., DYER E. B., FEIG J. L., CHIEN A. L., DEL BINO S., *Research Techniques Made Simple: Cutaneous Colorimetry: A Reliable Technique for Objective Skin Color Measurement*, *Journal of Investigative Dermatology*, 2020, ročník 140, číslo 1, str. 3–12. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jid.2019.11.003>
- [93] KONICA MINOLTA SENSING, *Color Measurement Instrument Geometries*, webové stránky Konica Minolta Sensing. Dostupné z: <https://sensing.konicaminolta.us/us/blog/color-measurement-instrument-geometries/>
- [94] SUZUKI T., ITO C., KITANO K., YAMAGUCHI T., *CIELAB Color Space as a Field for Tracking Color-Changing Chemical Reactions of Polymeric pH Indicators*, *ACS Omega*, 2024, ročník 9, číslo 34, str. 36682–36689. DOI: [10.1021/acsomega.4c05320](https://doi.org/10.1021/acsomega.4c05320).

## PŘÍLOHY

Příloha 1: Přehled naměřené tloušťky filmů připravených ze směsi jablečného/citrusového pektinu a PVA v mm

	Měření č.	Film č. 1	Film č. 2	Film č.3
JP + PVA (slepý vzorek)	1	0,046	0,05	0,044
	2	0,045	0,049	0,052
	3	0,052	0,046	0,052
	4	0,044	0,042	0,048
	5	0,05	0,044	0,048
JP + PVA + 0,1 % (w/w) KK	1	0,051	0,044	0,041
	2	0,055	0,041	0,041
	3	0,048	0,041	0,041
	4	0,047	0,049	0,056
	5	0,046	0,048	0,047
JP + PVA + 0,3 % (w/w) KK	1	0,05	0,049	0,05
	2	0,048	0,049	0,042
	3	0,049	0,048	0,051
	4	0,049	0,047	0,045
	5	0,046	0,052	0,044
JP + PVA + 0,3 % (w/w) Karmín	1	0,064	0,062	0,061
	2	0,065	0,064	0,064
	3	0,066	0,055	0,063
	4	0,062	0,055	0,066
	5	0,062	0,066	0,058
CP + PVA (slepý vzorek)	1	0,049	0,04	0,051
	2	0,043	0,045	0,048
	3	0,052	0,048	0,052
	4	0,043	0,043	0,04
	5	0,044	0,042	0,042
CP + PVA + 0,1 % (w/w) KK	1	0,053	0,042	0,04
	2	0,046	0,046	0,054
	3	0,045	0,051	0,042
	4	0,052	0,043	0,055
	5	0,053	0,049	0,043
CP + PVA + 0,3 % (w/w) KK	1	0,055	0,054	0,047
	2	0,046	0,051	0,052
	3	0,044	0,042	0,045
	4	0,043	0,042	0,051
	5	0,045	0,038	0,058
CP + PVA + 0,3 % (w/w) Karmín	1	0,066	0,051	0,06
	2	0,053	0,065	0,057
	3	0,068	0,065	0,065
	4	0,069	0,059	0,067
	5	0,061	0,057	0,064

JP – jablečný pektin; CP – citrusový pektin; PVA – polyvinylalkohol; KK – kyselina karmínová

Příloha 2: Závislost absorbance na koncentraci kyseliny karmínové při vlnové délce 495 nm

Koncentrace kyseliny karmínové (mg/l)	Absorbance (495 nm)
0	0
5	0,084
10	0,181
20	0,328
30	0,491
40	0,653
50	0,821
60	0,969
70	1,125
80	1,275
90	1,421
100	1,546