

Imobilizace přírodních biologicky aktivních látek v matrici polymeru pro obalové aplikace

Bc. Miroslava Urbánková

Diplomová práce
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Miroslava URBÁNKOVÁ**
Osobní číslo: **T10428**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Imobilizace přírodních biologicky aktivních látek v
matrici polymeru pro obalové aplikace**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část:

1. Vypracujte literární rešerši k tématu mikrobiálního osídlení plastových potravinářských obalů a jeho prevence.
2. Zaměřte se na využívání biologicky aktivních látek přírodního původu, které mohou být využity k potlačení tohoto negativního jevu s důrazem na organické látky obsahující izoprenové jednotky terpeny.

II. Experimentální část

1. Vypracujte a optimalizujte metodiku imobilizace zvolených typů terpenů do polyetylenové matrice pomocí termoplastických zpracovatelských metod.
2. Charakterizujte připravené systémy z pohledu mechanických, antimikrobiálních a bariérových vlastností.
3. Získané poznatky přehledně zpracujte a diskutujte s dostupnými literárními zdroji.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] HERNANDEZ, R.J.; CULTER, J.D.; SELKE, S.E. **Plastics packaging : properties, processing, applications, and regulations**. 2nd ed. Munich : Hanser, 2004. 448 s. ISBN 1569903727.

[2] COLES, R.; MCDOWELL, D.; KIRWAN, M.J. **Food packaging technology**. Oxford : Blackwell Publ., 2003. 346 s. ISBN 1841272213

[3] HAN, J.H. **Innovations in food packaging** Amsterdam : Elsevier Academic, 517 s. ISBN 978-0-12-311632

[4] Časopisecké a knižní zdroje dostupné prostřednictvím knihovny UTB ve Zlíně

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Vladimír Sedlařík, Ph.D.

Centrum polymerních materiálů

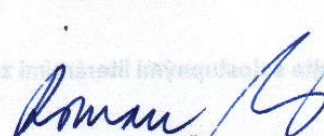
Datum zadání diplomové práce:

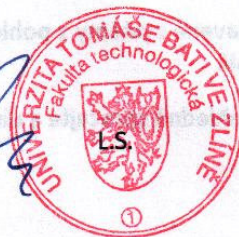
1. února 2012

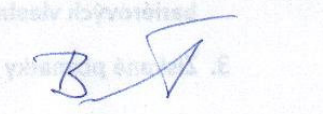
Termín odevzdání diplomové práce:

2. května 2012

Ve Zlíně dne 10. února 2012


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: ...URBÁNKOVÁ MIROSLAVA.....

Obor: THEVP.....

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 2.5.2012

.....Urbánková.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jim dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídně k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Tato diplomová práce pojednává o mikrobiálním osídlování plastových obalů a o možnostech jejich modifikace k zabránění tohoto negativního jevu. Teoretická část je zaměřena na charakteristiku antimikrobiálních látek, které se za účelem modifikace polymerů používají, přičemž hlavní důraz je kladen na biologicky aktivní látky přírodního původu. Důležitou částí této práce je také popis růstu mikroorganismů a jejich interakce s plastovým povrchem a s potravinou. Dále je zde věnována pozornost balení potravin, polymerním materiálům a také jejich zpracování. Experimentální část této diplomové práce se zabývá imobilizací zvolených bioaktivních látek do polyethylenové matrice pomocí termoplastických metod a následným vlivem této modifikace na antimikrobiální, bariérové a mechanické vlastnosti.

Klíčová slova: Antimikrobiální modifikace, antimikrobiální látky, aromatické látky, bariérové vlastnosti, biofilm, migrace, obalová technika, polymery, linalool, 4-allylanisol, *trans*-anethol, tahové vlastnosti

ABSTRACT

Presented diploma thesis deals with the microbial colonization of plastic packaging and the possibilities for their modifications to prevent this negative phenomenon. The theoretical part focuses on the antimicrobial compounds that are used for polymer modification with the main emphasis on biologically active substance of natural origin. One of the important parts of the thesis is a description of the growth of microorganisms and their interaction with the plastic surface and with food. Furthermore the attention is paid to food packaging, polymeric materials and their processing. The experimental part of this diploma thesis is focused on immobilization of selected bioactive substance into polyethylen matrix by using thermoplastic methods and subsequent influence of the modification on antimicrobial, barrier and mechanical properties.

Keywords: Antimicrobial modification, antimicrobial agents, aromatic agents, barrier properties, biofilm, migration, packaging, polymers, linalool, 4-allylanisole, *trans*-anethole, tensile properties

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. Ing. Vladimíru Sedlaříkovi Ph.D., vedoucímu mé diplomové práce, za odborné vedení, poskytnutí cenných rad a informací týkajících se dané problematiky. Děkuji mu za jeho ochotu a strávený čas, který mi věnoval při zpracovávání této práce.

Zároveň bych chtěla poděkovat Ing. Daniele Veselé za pomoc při práci v mikrobiologické laboratoři.

Děkuji rovněž Ing. Martině Hrabalíkové a Ing. Pavlu Kucharczykovi za pomoc a poskytnuté rady při provádění praktické části této práce.

Poděkování patří také mé rodině a příteli, kteří mě během zpracování diplomové práce velmi podporovali.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 BALENÍ POTRAVIN	13
1.1 DEFINICE A ZÁKLADNÍ FUNKCE OBALU	14
1.2 PLASTY V OBALOVÉ TECHNICE	15
1.3 ZPRACOVÁNÍ PLASTŮ	18
2 MIKROBIÁLNÍ OSÍDLOVÁNÍ	20
2.1 RŮST MIKROORGANISMŮ A INTERAKCE MIKROORGANISMŮ S POTRAVINOU	21
2.2 INTERAKCE MIKROORGANISMŮ S PLASTY	24
3 ANTIMIKROBIÁLNÍ MODIFIKACE OBALŮ	27
3.1 ANTIMIKROBIÁLNÍ LÁTKY	29
4 MIGRACE NÍZKOMOLEKULÁRNÍCH LÁTEK	33
4.1 TEORIE MIGRACE NÍZKOMOLEKULÁRNÍCH LÁTEK	33
4.2 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ MIGRACI Z OBALU DO POTRAVINY	34
4.3 PROCES MIGRACE	35
4.4 TESTOVÁNÍ MIGRACE	36
5 BIOAKTIVNÍ LÁTKY JAKO INHIBITORY MIKROBIÁLNÍHO RŮSTU V OBALECH	37
5.1 AROMATICKÉ LÁTKY	37
5.2 LINALOOL.....	39
5.3 <i>TRANS</i> -ANETHOL	41
5.4 4-ALLYLANISOL.....	42
II PRAKTICKÁ ČÁST	44
6 STANOVENÍ CÍLŮ PRÁCE	45
7 PŘÍPRAVA VZORKŮ	46
7.1 POUŽITÉ MATERIÁLY	46
7.2 POUŽITÉ METODY	48
8 TESTOVÁNÍ PŘIPRAVENÝCH VZORKŮ	50

8.1	SEMIKVANTITATIVNÍ STANOVENÍ NAVÁZANÉ AROMATICKÉ LÁTKY NA PEVNÉM NOSIČI A NA MATRICI POLYMERU	50
8.2	TESTOVÁNÍ ANTIMIKROBIÁLNÍCH VLASTNOSTÍ	50
8.3	TESTOVÁNÍ TAHOVÝCH VLASTNOSTÍ	54
8.4	TESTOVÁNÍ BARIÉROVÝCH VLASTNOSTÍ	55
9	VÝSLEDKY A DISKUZE	58
9.1	MNOŽSTVÍ NAVÁZANÉ AROMATICKÉ LÁTKY NA PEVNÉM NOSIČI A NA MATRICI POLYMERU	58
9.2	VLIV MODIFIKACE NA ANTIMIKROBIÁLNÍ VLASTNOSTI	60
9.3	ZMĚNY MECHANICKÝCH VLASTNOSTÍ V DŮSLEDKU PŘÍTOMNOSTI NOSIČŮ	64
9.4	BARIÉROVÉ VLASTNOSTI PŘIPRAVENÝCH SYSTÉMŮ	67
	ZÁVĚR	71
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	73
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	81
	SEZNAM OBRÁZKŮ	82
	SEZNAM TABULEK	83

ÚVOD

Problematika balení potravin je značně rozsáhlá. Na potravinářský obal jsou kladeny vysoké požadavky, neboť je to prostředek, jehož primárním úkolem je chránit zabalenou potravinu před vlivy vnějšího prostředí, mezi které se řadí vlivy mechanické, klimatické a biologické. Z negativních jevů, poškozujících zabalenou potravinu, nesmí být opomenuta také migrace složek obalu do potravin, kterou je tedy velmi důležité sledovat a případně testovat.

Mezi velmi vhodné materiály, sloužící pro balení potravin, se řadí polymery, neboť vykazují vlastnosti, díky kterým jsou pro obalové aplikace upřednostňovány před jinými materiály. V Evropě se v obalové technice nejvíce využívá polyethylen (PE), jehož spotřeba dosahuje 56 % obalových materiálů z plastu. Mezi další plasty, hojně využívané pro balení potravin, patří také polypropylen (PP), polyethylentereftalát (PET), polystyren (PS) a polyvinylchlorid (PVC), které se nejčastěji zpracovávají technologií vstřikováním, vytlačováním a vyfukováním. Každá z těchto metod je vhodná pro jiný typ výrobku. Existují ovšem také plasty, které se pro balení potravin nevyužívají samostatně ale slouží jako vnitřní bariérová vrstva, zlepšující výsledné vlastnosti obalu. Mezi tyto plasty se řadí ethylenvinylacetát (EVA), polyamidy (PA), polyvinylidenchlorid (PVdC) a ethylenvinylalkohol (EVOH). Tyto materiály bývají s jinými plasty kombinovány např. koextruzí či laminováním, čímž dosáhnou vlastností, které samostatně neposkytují.

Polymerní materiály sloužící pro balení potravin ovšem mají i jednu velkou nevýhodu a tou je možnost jejich mikrobiálního napadení. Mikroorganismy, které osídlují obalový materiál, mohou být hlavní příčinou znehodnocení potravin, a tím se stávají zdrojem zdravotních komplikací pro člověka. Znehodnocení potravin se pak většinou projevuje kvašením, plesnivěním či hnilobou. Mikrobiální kontaminace obalu a následný růst bakterií tedy snižuje trvanlivost potravin. Tato diplomová práce se zaměřuje na prevenci těchto negativních jevů pomocí modifikace polymerních materiálů antimikrobiálními látkami.

Antimikrobiální obal je polymerní systém, který se skládá z určité polymerní matrice a antimikrobiální látky, jehož úkolem je zastavit nebo zpomalit růst patogenních mikroorganismů kontaminujících potravinu, a tím prodloužit její trvanlivost a bezpečnost. Antimikrobiálních látek, kterými mohou být polymery modifikovány, je celá řada. Existují

jak přírodní, tak i syntetické antimikrobiální látky. Modifikace syntetickými látkami je však v průmyslu více využívána. Ovšem v dnešní době, kdy si spotřebitel žádá vše přírodní, roste počet studií zabývajících se modifikací polymerních materiálů právě přírodními látkami.

Možností jak modifikovat polymerní materiály je hned několik. Antimikrobiální modifikace obalu může spočívat v :

- inkorporaci antimikrobiálních činidel do polymerní matrice,
- pevném navázání antimikrobiálního činidla do obalu,
- použití polymeru, který je v podstatě sám antimikrobiální (např. chitosan),
- obalu obsahující absorbéry (např. absorbér kyslíku nebo absorbér vlhkosti).

Účinnou metodou, kterou se také zabývá tato diplomová práce, se zdá být zapracování antimikrobiálních látek do polymeru pomocí termoplastických metod. Právě proto bude předmětem zájmu této práce imobilizovat bioaktivní látky do polymerní matrice a sledovat jejich vliv na antimikrobiální charakteristiky. U takto připravených materiálů budou vedle antimikrobiálních vlastností sledovány i vlastnosti bariérové a mechanické.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BALENÍ POTRAVIN

Balení potravin je oblast, kde se nabídka a poptávka mění v důsledku vývoje na mezinárodním trhu s potravinami a přizpůsobování se požadavkům zákazníka. Obalová technika se neustále vyvíjí z důvodů zavádění nových materiálů, technologií a postupů. Na obalovou techniku působí vnější vlivy, jak technologické, tak i například politické, kulturní, demografické, ekologické a hlavně ekonomické. Důležitým problémem, jemuž přikládá velký význam celý potravinářský průmysl je politický a veřejný tlak na ochranu životního prostředí pramenící z obav veřejnosti v souvislosti s obalovými materiály a jejich osudem během a po ukončení jejich funkce. Mezi největší problémy patří velké množství odpadu z obalových materiálů, vysoké náklady na odstranění vyřazených obalů a znečištění spojené s metodami jejich likvidace [1].

Balení potravin je jak strategicky, tak i takticky důležité při činnostech marketingu. Výrazný a inovativní obal je často klíčem ke konkurenceschopnosti podniku. Důkladný systém distribuce je základem pro tvorbu nákladově efektivního balení, které poskytuje odpovídající úroveň ochrany produktu a je přijatelné pro spotřebitele. Distribuce je definována jako cesta obalu z místa plnění do místa konečné spotřeby [1]. Při distribuci může být kvalita potravinářského produktu narušena biologicky, chemicky i fyzicky [2]. Mezi faktory, které je třeba vzít v úvahu při navrhování obalu pro distribuci patří především nenáročná manipulace, snadná identifikovatelnost a bezpečnost [1].

Balení potravin poskytuje tyto výhody [1] :

- zabraňuje nebo zpomaluje znehodnocení produktu, a tím chrání zdraví spotřebitele
- díky úspoře při hromadné výrobě snižuje náklady na potraviny
- eliminuje riziko produkce napodobenin výrobku
- významně se podílí na zvýšení atraktivnosti zabalené potraviny
- pomáhá spotřebitelům při nákupu sdělováním důležitých informací
- může prodlužovat trvanlivost produktu

1.1 Definice a základní funkce obalu

Obal může být definován jako prostředek sloužící k zajištění bezpečné dodávky ke konečnému spotřebiteli za optimální cenu. Hlavní úlohou obalu je nejen uchovávat zabalené potraviny, ale také poskytnout odpovídající informace spotřebiteli. Obal je nedílnou součástí logistického systému a hraje důležitou roli v prevenci nebo snížení vzniku odpadů při dodávání potravin [1].

Dělení obalů [1]:

- Primární obal – obal je v přímém kontaktu s potravinami nebo nápoji např. láhve.
- Sekundární (přepravní) obal – obsahuje a shromažďuje primární obaly. Sem patří např. krabicové vlnité lepenky, plastové přepravky atd.
- Terciární balení – zde se řadí např. palety.

Základní funkce obalu [1]:

- Ochranná – prevence mechanického poškození při distribuci a skladování
- Konzervační – prevence (zastavení) chemických nebo biochemických změn nebo mikrobiologického znehodnocení
- Informační – podává informace o produktu tj. složení výrobku, použití a skladování
- Komunikační – obal je prostředkem vizuální komunikace mezi výrobcem a spotřebitelem
- Propagační – obsahuje informace, např. v případě nového produktu
- Ekonomický – efektivita distribuce, výroby a skladování
- Environmentální – ve výrobě, použití, opětovném použití, recyklování nebo konečné likvidace

Kvalita zabalené potraviny je přímo závislá na potravině a na druhu obalového materiálu. Většinu potravinářských výrobků ovlivňují transportní jevy, kam patří např. pohlcování vlhkosti, pronikání kyslíku, pohlcování nežádoucích pachů nebo naopak jejich uvolňování, a také migrace složek obalu do potraviny, což může mít mimo jiné i následek ztráty senzorických vlastností potraviny. Tyto jevy mohou nastat mezi

potravinou a okolním prostředím, mezi potravinou a obalovým materiálem nebo navzájem mezi heterogenními složkami v potravine samotné [2].

Vzhledem k velké rozmanitosti balených produktů jsou i nároky na jejich ochranu rozdílné. Potravinářské výrobky mohou být díky svému biochemickému charakteru poměrně rychle znehodnoceny. Rozlišujeme tři hlavní skupiny vlivů, před kterými obal potravinu chrání. Jsou to vlivy mechanické, klimatické a biologické. K mechanickým poškozením dochází při přepravě, manipulaci a skladování. Ke klimatickým vlivům, které ohrožují kvalitu potraviny patří změny vlhkosti, oxidační změny, pronikání par a organických látek, záření a teplotní změny. Ochranou výrobků před biologickými činiteli se rozumí zejména ochrana před mikroorganismy, hlodavci a hmyzem. Ochranný účinek obalu spočívá ve vytvoření bariéry proti vlivům vnějšího okolí [3].

1.2 Plasty v obalové technice

Mezi druhy obalových materiálů používaných v potravinářství patří : obaly ze dřeva, papíru, plastu, skla a kovu [3]. Tato diplomová práce se bude zabývat pouze obaly z plastu.

Z pohledu definice plastů se jedná o polymerní materiály, které zůstávají deformovány i v případě, že napětí, které překročí určitou mez, přestane působit. Plasty jsou velmi významné materiály, které mohou mít uplatnění téměř ve všech odvětvích lidské činnosti [4]. Dříve se plasty vyráběly z přírodních materiálů, avšak v první polovině 20. století se plasty začaly vyrábět z ropy, uhlí a zemního plynu. Roku 1933 byl připraven dnes nejvíce využívaný plast – PE [5].

Plasty jsou v potravinářství široce používané obalové materiály, neboť vykazují vlastnosti, díky nimž jsou při balení potravin upřednostňovány před jinými materiály. Plastové obaly jsou lehčí a obvykle i tenčí, než obaly ze skla, kovu či papíru. Další důležitá vlastnost je relativně nízká teplota tání plastu ve srovnání se sklem a kovem. Nižší teplota tání totiž znamená úsporu energie při výrobě a zpracování materiálu na obal. Plasty mohou být za zvýšené teploty a tlaku zpracovány do požadovaného tvaru. Při chlazení plasty tvrdnou a zachovávají si tento nový tvar [6]. Plastové obaly mohou být také různě barevné, potištěné či zdobené v závislosti na aplikaci obalu. Mezi významné vlastnosti, jež vykazují plasty patří především pevnost a tuhost. Různé druhy plastů jsou také odolné vůči různým

teplotám, např. PE odolává hlubokému zmrazení (-40 °C) a skladování (-20 °C), naopak např. PP odolává vysokým teplotám, např. při sterilizaci (121 °C). Plasty také poskytují širokou škálu funkčních vlastností. Mohou odolávat nejen anorganickým chemickým látkám, včetně kyselin a zásad, ale i některým organickým rozpouštědlům. Je známo, že většina plastů není vhodným substrátem pro růst mikroorganismů. Tyto vlastnosti jsou velmi vhodné při balení potravin [5].

Důležité jsou i bariérové vlastnosti plastů, tzn. zda a v jaké míře jsou propustné pro kyslík, oxid uhličitý, vodní páru a organická rozpouštědla. Míra propustnosti obalu pro plyny závisí na druhu plastu, jeho tloušťce, způsobu zpracování, parciálním tlaku permeantu a na skladovací teplotě [5].

Využití plastu pro obalovou techniku [5, 3]:

- pevné plastové obaly (láhve, kelímky nebo vaničky)
- flexibilní plastové fólie (tašky a sáčky)
- plasty kombinované s papírem (balení nápojů)
- plasty používané jako obalové komponenty (plastová víčka a uzávěry)
- smrštitelné plastové fólie sloužící při přepravě balených produktů

V Evropě je 40 % všech plastů využíváno pro obalové aplikace a asi 50 % potravin je baleno do plastových obalů. V obalové technice se používají tyto druhy plastů: PE, PP, PET, EVA, PA, PVC, PVdC, PS a EVOH. Jejich využití pro potravinářské aplikace je uvedeno v Tabulce 1. V Evropě se v obalové technice nejvíce využívá PE (rozvětvený i lineární), jehož spotřeba dosahuje 56 % obalových materiálů z plastu. Zbývajících 44 % většinou představují obaly z PP, PS, PVC (měkkčený i neměkkčený) a PET. Ostatní uvedené plasty se většinou využívají jako bariérové vrstvy, neboť jsou pevné, přílnavé, mají výborné bariérové vlastnosti a jsou tepelně odolné. Všechny uvedené materiály patří do skupiny termoplastů, což znamená, že při působení tepla měknou a lze je opakovaně tvarovat a ochlazením převést zpět do tuhého stavu [5].

Tabulka 1 Druhy polymerů a jejich využití pro potravinářské aplikace [3, 6, 7]

Polymer	Aplikace pro potravinářské obaly
PVC	PVC se v současnosti pro balení potravin používá jen zřídka. Dříve se PVC obaly používaly na balení mléka, oleje, lihovin, vína a piva. Dalším využitím byly obaly na máslo, čerstvé a zmrazené maso, ryby, drůbež a čerstvé produkty.
LDPE	LDPE může být zpracováván samostatně nebo v kombinaci s jinými plasty. Produkty vyrobené z LDPE zahrnují smrštitelné a pružné obalové fólie.
HDPE	HDPE se využívá pro obaly na mléko (zachovává obsah riboflavinu a dalších vitaminů), džusy a vodu. Dále se využívá u flexibilních obalových materiálů pro balení sušenek či cereálií.
PP	V obalové technice se PP využívá především na obalové fólie nebo na uzávěry.
PS	PS se využívá jako obal na jogurty, mléčné krémy, zmrzliny, med a sirup. Dalším využitím jsou krabice na vejce a podložky na maso.
PET	Láhve z PET se používají na lihoviny, sycené a nesycené nealkoholické nápoje. Dále se používá na balení arašídového másla, koření a hořčice.
PA 6	Polyamid 6 slouží jako bariérová vrstva do vícevrstevných fólií, které se používají pro vakuové balení slaniny a sýrů.
EVA	EVA se používá na chladicí sáčky a pružné fólie na maso.
PVdC	PVdC slouží jako bariérová vrstva do vícevrstevných fólií koextrudovaných s polyolefiny. Používá se pro balení masa, sýrů, a dalších potravin citlivých na vlhkost.
EVOH	EVOH slouží jako bariérová vrstva do vícevrstevných fólií s PE, PP, PET nebo PA 6.

1.3 Zpracování plastů

Hlavní předností plastů je jejich snadná zpracovatelnost. Při zpracování termoplastů se využívají polymery ve formě prášku, granulátu nebo ve formě předupraveného polotovaru (desky a fólie) [8]. Plasty se obvykle nezpracovávají samostatně, ale za přídavku různých pomocných látek, mezi které se řadí např. změkčovadla (usnadňují zpracování plastu), tepelné a světelné stabilizátory, vytvrzovací prostředky popř. přísady jiných látek. Tyto pomocné látky dodávají plastu specifické vlastnosti, které samotný plast neposkytuje [3]. Mezi zpracovatelské postupy používané při výrobě obalů patří [8]:

- Vstřikování – tváření termoplastů, kdy se zpracováváný materiál roztaví ve šnekovém zařízení a pod tlakem je hubicí vstříknut do chladné dutiny formy, kde dochází ke ztuhnutí výrobku [3].
- Vyfukování – technologický proces, při kterém je polotovar (předlisek vyrobený vstřikováním nebo vytlačováním) zpracováván ve vyfukovací formě za přetlaku vzduchu do požadovaného tvaru.
 - Vstřikovací vyfukování – technologický proces, kdy je předlisek vyrobený vstřikováním, zahřátý na teplotu blízkou teplotě tání, přesunut do dutiny vyfukovací formy, kde tlakem vzduchu probíhá vyfukování, a kde následně probíhá chlazení [9].
 - Vytlačovací vyfukování – kontinuální způsob výroby fólií, při kterém je kruhovou šterbinou šnekového vytlačovacího stroje vytlačována tenkostěnná trubka, která je následně v plastickém stavu rozfouknuta stlačeným vzduchem a současně protažena na odtahovacím zařízení [3].
- Vytlačování – tváření termoplastů, při kterém je materiál ve šneku vytlačovacího stroje plastifikován teplem, zhomogenizován a následně vytlačen hubicí stroje do volného prostoru [3].
- Koextruze (soustředné vytlačování) – technologický proces, kdy je více vytlačovacích strojů napojeno do jedné vytlačovací hlavy, přičemž vznikají vícevrstvé fólie, které mohou zlepšovat např. bariérové vlastnosti konečného výrobku [10].

- Laminování – proces, jehož výsledkem je vícevrstvá fólie, složená např. z plastu, papíru nebo kovu, díky čemuž jsou zlepšeny funkční vlastnosti obalu [6].
- Tvarování – souborný název pro technologické operace, při nichž se materiál nebo polotovar přeměňuje v určitý tvar bez podstatného přemísťování částic uvnitř hmoty [11].

2 MIKROBIÁLNÍ OSÍDLOVÁNÍ

Jak již bylo uvedeno v předchozí kapitole, hlavní funkcí obalu je ochrana zabalených potravin, které mohou být ohroženy mechanickými, klimatickými a biologickými činiteli. Tato kapitola se zaměřuje na biologické činitele, tedy převážně mikroorganismy [3].

Mikroorganismy jsou hlavní příčinou znehodnocení potravin, které se většinou projevuje kvašením, plesnivěním či hnilobou [3]. Mikrobiální kontaminace a následný růst bakterií tedy snižuje trvanlivost potravin a zvyšuje riziko vzniku alimentárních onemocnění, tj. onemocnění z potravin způsobené přítomností nežádoucích mikroorganismů [12]. Mezi tradiční metody, sloužící k uchování potravin, se řadí tepelné opracování, sušení, zmrazování, chlazení, ozařování, popř. přidavek antimikrobiálních látek nebo soli [13].

Jednou z možností prevence tohoto negativního vlivu je také použití vhodného obalu, který může oddělovat vnější prostředí bohaté na mikrobiální osídlení od zabalené potraviny. Důležitá je také výroba obalu, neboť je-li obal vyroben, popřípadě skladován v nehygienickém prostředí, může být sám zdrojem mikrobiální kontaminace. Neméně důležitý je i materiál, ze kterého je obal vyroben. Nejrizikovějšími materiály z hlediska mikrobiálního osídlování jsou především obaly ze dřeva či papíru. Naopak nejméně rizikové jsou skleněné a kovové obaly, jelikož jsou dobře sterilizovatelné. U plastových obalů je riziko mikrobiální kontaminace závislé především na druhu a složení obalu. Nižší tepelná a chemická odolnost plastů však ve většině případů neumožňuje jejich sterilaci. Plast, pokud podléhá mikrobiální degradaci, může být pro mikroorganismy zdrojem dusíku, uhlíku nebo jiných biogenních prvků. Biologickou korozi plastů, tedy napadení materiálu mikroorganismy, vyvolávají metabolity nebo enzymy jimi produkované. Mikroorganismy mohou metabolizovat pouze některé z komponent tvořící plastový obal, např. změkčovadla, z nichž nejvíce náchylné bývají deriváty vyšších mastných kyselin [3].

2.1 Růst mikroorganismů a interakce mikroorganismů s potravinou

Aktivita a vývoj mikroorganismů (MO) závisí na podmínkách vnějšího prostředí. Pro rozmnožování MO jsou nutné nejen vhodné fyzikální, biologické a chemické podmínky, ale i dostatek živin a využitelné energie v prostředí. Výhodou MO je však poměrně rychlá adaptace na vnější prostředí. Tato adaptace spočívá ve změně enzymatického vybavení nebo ve změně složení a tvaru buňky. Schopnost buňky adaptovat se na vnější prostředí je však omezena limitem, za kterým dochází k zastavení růstu nebo usmrcení buňky. Mezi faktory ovlivňující růst a množení MO patří [14]:

Fyzikální faktory

Z fyzikálních faktorů působících na mikrobiální buňku jsou nejzásadnější vodní aktivita, teplota a tlak [14].

- Vodní aktivita

Potraviny a potravinářské suroviny jsou vhodnou živnou půdou pro MO, neboť obsahují značné množství vody [14]. Vodní aktivita značí míru využitelnosti vody v potravinech zajišťující růst MO [12]. Aktivita vody určitého roztoku se rovná poměru tlaku vodních par nad tímto roztokem a tlaku vodních par nad destilovanou vodou za stejných podmínek. Většina bakterií se rozmnožuje při a_w 0,99 – 0,93, kvasinky při 0,91 – 0,88. Plísně se rozmnožují za menší vodní aktivity než kvasinky a bakterie [14]. Pokud je vodní aktivita dané potraviny vysoká, znamená to vhodnější podmínky pro růst MO. Naopak menší bakteriální růst pak znamená nižší přítomnost vody [15].

- Teplota

Teplota je jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňující rozmnožování MO [14]. Teplotní rozsah pro růst MO je velmi široký. Pohybuje se v rozmezí od -10 do + 80 °C. Podle tohoto hlediska rozlišujeme MO mezofilní, pro které je optimální teplota růstu od +20 do +40 °C, dále termofilní (40 – 80 °C) a psychrotrofní s optimem růstu při -10 až + 20 °C. Kažení potravin většinou způsobují mezofilní bakterie [15].

- Tlak

Většina MO žije v prostředí s normálním atmosférickým tlakem. Pokud se ovšem tlak zvýší na 10 až 20 MPa, pak se obvykle růst MO zpomaluje. Rozmnožování většiny MO

se zcela zastaví až při tlaku 30 až 40 MPa. Vysokým tlakům odolávají pouze barofilní neboli barotolerantní bakterie [14].

K fyzikálním faktorům, které také ovlivňují růst a množení MO patří i ultrazvuk a záření.

Chemické faktory

Mezi chemické faktory, které významně ovlivňují růst a množení MO patří pH prostředí a oxidoredukční potenciál [14].

- pH potravin

Každý MO se rozmnožuje pouze v určitém rozmezí pH. Dle vztahu k pH se dělí MO na alkalifilní (rostou v zásaditém prostředí) a acidofilní (rostou v kyselém prostředí). Většina bakterií může růst v neutrálním nebo slabě alkalickém prostředí. V kyselém prostředí se pak bakterie přestávají rozmnožovat. Kvasinky mohou růst v kyselém nebo slabě alkalickém prostředí a většina plísní se rozmnožuje v širokém rozmezí pH (nejideálněji však poblíž neutrálního pH) [14].

- Oxidoredukční potenciál

Dalším kritériem pro růst MO je přítomnost a nepřítomnost vzdušného kyslíku. V přítomnosti kyslíku (pozitivní oxidoredukční potenciál) se rozmnožují aerobní bakterie, zatímco anaerobní bakterie se v přítomnosti kyslíku rozmnožovat nemohou. Bakterie, které se mohou množit jak za přítomnosti kyslíku, tak i bez jeho přítomnosti se nazývají fakultativně anaerobní [14, 15].

K dalším chemickým faktorům, které také ovlivňují růst a množení MO patří povrchové napětí, desinfekční látky a chemoterapeutika [14].

Biologické faktory

Na růst MO mají kromě výše zmíněných faktorů vliv i biologické faktory. Mezi tyto faktory patří vzájemné vlivy MO v prostředí a antibiotika.

- Vlivy mikroorganismů

Synergismus – produkce esenciálních živin působením určité skupiny MO následně umožní růst jiné skupiny MO [12].

Antagonismus – jedná se v podstatě o kompetici o esenciální živiny mezi různými druhy MO nebo o změny pH určitými MO, což může následně ovlivnit růst jiných skupin MO.

Např. bakterie *Lactococcus lactis* tvoří nisin, který působí inhibičně na růst některých nežádoucích MO [12].

Mikroorganismy negativně působící na potravinu

Znehodnocení potravin, které vyvolávají bakterie, kvasinky nebo plísně v podstatě znamená změnu, která způsobuje, že daná potravina se stává nepřijatelnou pro lidskou spotřebu. Stupeň zkázy potravin je možno určit senzoricou analýzou, popřípadě objektivnějšími biochemickými či mikrobiologickými analýzami. Mezi potraviny podléhající rychlé zkáze se řadí především potraviny bohaté na bílkoviny, tedy maso, drůbež, ryby a mléko [12].

Dělení mikroorganismů způsobujících znehodnocení potravin:

- Gramnegativní tyčinky

Do této skupiny patří především pseudomonády (*Pseudomonas aeruginosa*), *Aeromonas* spp., *Vibrio* spp., a některé bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae*, kde nejvýznamnějšími představiteli bakterií vyvolávající alimentární onemocnění jsou:

- *Salmonella* (*S. Typhi*, *S. paratyphi*, *S. typhimurium* a *S. Enteritidis*) způsobující onemocnění zvané salmonelóza
- Enterohemoragické kmeny bakterie *Escherichia coli*
- *Shigella* (*Shigella dysenterie*) způsobující onemocnění shigelóza
- *Yersinia* (*Y. enterocolitica* a *Y. pseudotuberculosis*) způsobující onemocnění yersinióza.

Dále jsou zde také významné gramnegativní bakterie z čeledi *Campylobacteriaceae*, kam patří rody *Campylobacter* (*Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*), *Arcobacter* a *Helicobacter*. Tato čeleď způsobuje onemocnění kampylobakteriózu [12].

- Bakterie z čeledi *Lactobacillaceae* a *Streptococcaceae*

K této skupině náleží např. *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* a *Pediococcus* [12].

- Grampozitivní sporulující bakterie

Sem patří především příslušníci rodu *Bacillus* (patogenní bakterie *Bacillus cereus*) a *Clostridium* (např. *Clostridium tyrobutyricum*, *C. sporogenes*, *C. perfringens* a *C. botulinum*) [12].

- Ostatní grampozitivní bakterie

V této skupině je nejvýznamnější bakterií, způsobující znehodnocení potravin, *Brocothrix thermosphacta*, která se vyskytuje u potravin balených v modifikované atmosféře. Další bakterií, podléjící se na kažení potravin je *Micrococcus*. Neméně důležité jsou i patogenní bakterie *Listeria monocytogenes*, způsobující závažné onemocnění listeriózu a *Staphylococcus aureus*, jehož toxikogenní kmeny způsobují stafylokokovou enterotoxikózu [12].

- Mikroskopické houby (kvasinky a plísně)

Mezi nejvýznamnější plísně způsobující znehodnocení potravin patří např. plísně rodu *Alternaria* (*A. solani*, *A. brassicae* a *A. alternata*), *Aspergillus* (její toxigenní druhy *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nidulans*) a *Botrytis* (způsobuje např. šedou hnilobu bobulovin, peckovin a zeleniny). Dalšími plísněmi ohrožující potravinářské suroviny jsou např. plísně rodu *Byssoschlamys* (*B. nivea* – produkuje toxin patulin), *Cladosporium*, *Fusarium* (*F. solani*), *Monilia* (*M. sitophila*), *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus* (*R. oryzae*) a *Scopulariopsis*.

Do skupiny kvasinek způsobujících znehodnocení potravin patří např. kvasinky rodu *Schizosaccharomyces*, *Saccharomycopsis*, *Zygosaccharomyces*, *Torulasporea*, *Pichia*, *Hansenula*, *Geotrichum*, *Candida* (*C. utilis*) a *Rhodotorula* [12].

2.2 Interakce mikroorganismů s plasty

Bakterie jsou schopny žít volně ve vodném prostředí jako plankton nebo ve společenství biofilmu, které je pro bakterie vhodnější [16]. Buňky tvořící biofilm mají ve srovnání s planktonickými buňkami odlišné vlastnosti (fenotypové odlišnosti) [17]. Kmen tvořící biofilm bývá považován za virulentnější než kmen žijící planktonicky [18]. Biofilm je definován jako společenství MO adherovaných na živém nebo inertním povrchu [17]. Na tomto povrchu se tvoří shluky MO, které jsou obklopeny vrstvou

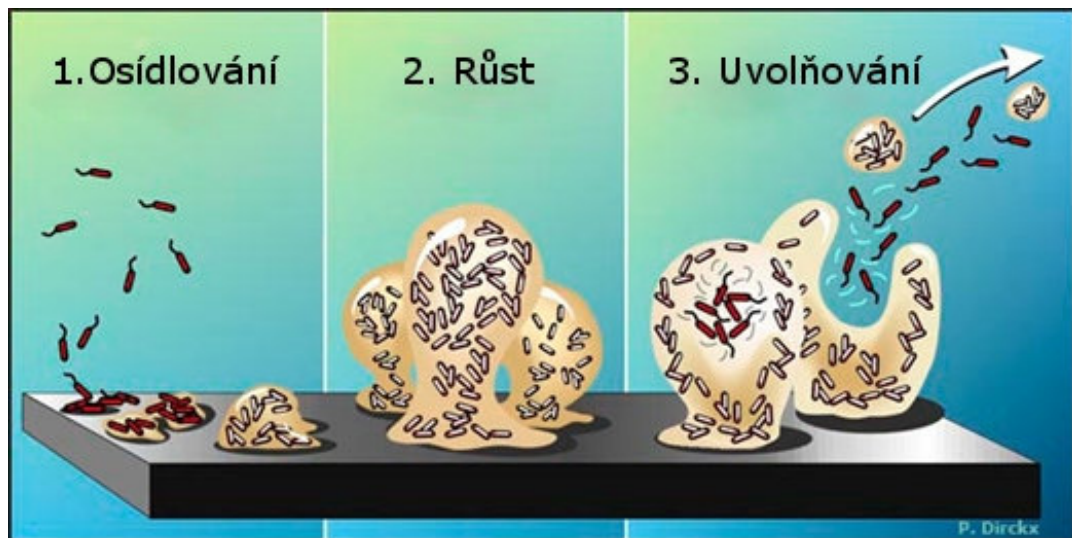
polymerního extracelulárního materiálu. Základní stavební jednotkou biofilmu je mikrokolonie. Jednotlivé biofilmy se navzájem liší jednak ve složení a distribuci extracelulárních polymerních látek (EPS), ale také samotným složením MO [16].

Biofilm může být tvořen jedním nebo více druhy bakterií [17]. Může se jednat o bakterie způsobující znehodnocení potravin nebo o patogenní bakterie [19]. Některé bakterie mají větší tendenci tvorby biofilmu. Nejběžnější z nich jsou např. *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Staphylococcus* a *Bacillus* [20].

Mikroorganismy žijící v biofilmu si vytváří vlastní mikroenvironmentální prostředí, ve kterém jejich druhy mohou přežít i přesto, že podmínky nejsou zcela ideální. Kromě ochrany před nepřátelským prostředím slouží biofilm i pro získávání živin [21]. Bakteriální biofilm může v případě výskytu na plastových zdravotnických prostředcích, způsobovat chronické infekce, jelikož vykazuje zvýšenou odolnost vůči desinfekcím, teplu, světlu i sušení. Bakterie žijící v biofilmu jsou tedy více rezistentní vůči antimikrobiálním látkám, před kterými jsou chráněny vrstvou EPS [21]. EPS obsahuje polysacharidy, proteiny, nukleové kyseliny a fosfolipidy, čímž chrání bakterie v biofilmu poskytováním živin [22].

Tvorbu biofilmu (viz. Obrázek 1) lze rozdělit do tří fází:

- 1) V první fázi dochází k osídlování povrchu materiálu bakteriálními buňkami. Kontakt bakterií s povrchem materiálu je zprostředkován pomocí difúze, pasivního transportu nebo aktivním pohybem buněk pomocí bičíků. Počáteční adhezi ovlivňují některé fyzikálně – chemické interakce zahrnující van der Waalsovy a elektrostatické síly [16]. Většina bakterií se lépe adheruje na hydrofobní povrchy (plasty) než na hydrofilní povrch (sklo) [23].
- 2) Druhou fází je akumulace a maturace, kterou zapříčiňuje zvýšená produkce EPS a vznik mikrokolonií. Dochází zde k ustávení tvorby bičíků a k množení bakterií. Aktivují se geny, produkující polysacharidy a polymery, které jsou rozhodující pro vznik biofilmu [16].
- 3) V poslední fázi dochází k disperzi, při které se uvolňují buňky z biofilmu. Jednotlivé buňky pak osídlují nové povrchy, které jsou vhodné pro jejich růst. Příčinou tohoto uvolňování bývá mechanické poškození biofilmu [24].



Obrázek 1 Tvorba biofilmu [25]

3 ANTIMIKROBIÁLNÍ MODIFIKACE OBALŮ

Antimikrobiální obal může být definován jako polymerní systém, který se skládá z určité polymerní matrice s přídavkem antimikrobiální látky. Úkolem antimikrobiálního balení je zastavit nebo zpomalit růst patogenních mikroorganismů kontaminujících potraviny, a tím prodloužit její trvanlivost a zachovat kvalitu a bezpečnost. Antimikrobiální obaly jsou velmi slibným druhem aktivních obalů a jsou určeny především pro masné a drůbeží výrobky [13]. Antimikrobiální funkce obalu může být dosaženo přidáním antimikrobiálních látek do obalového systému nebo použitím antimikrobiálních polymerů, které splňují požadavky kladené na obal. Běžné potravinářské obaly zachovávají trvanlivost, údržnost a bezpečnost zabalené potraviny, zatímco antimikrobiální obalové systémy jsou navíc speciálně navrženy pro kontrolu mikroorganismů, které trvanlivost, údržnost i bezpečnost zabalené potraviny nepříznivě ovlivňují [26].

Podle typu působení antimikrobiální látky rozlišujeme:

- mikrobicidní účinek – ireverzibilní jev, při kterém dochází k zastavení růstu a ke ztrátě životaschopnosti buněk a k jejich následnému odumírání [14].
- mikrobistatický účinek – reverzibilní jev, který spočívá v tom, že se buňky mikroorganismů přestanou dělit, což znamená, že jejich počet se po dobu účinku faktoru, který změnu vyvolal, nezvyšuje [14].

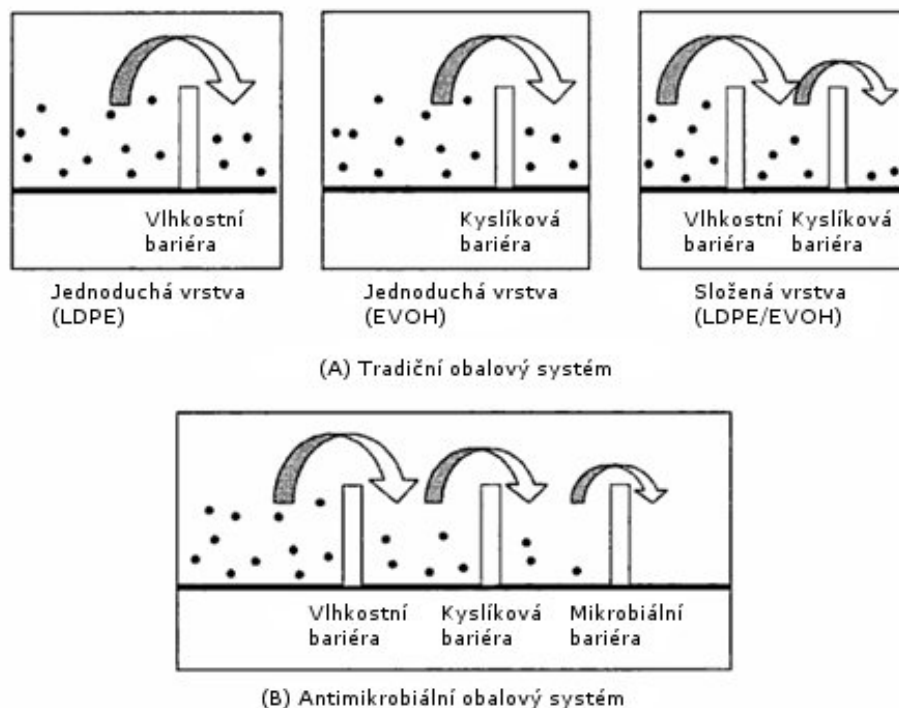
V závislosti na konfiguraci systému polymer – antimikrobiální látka lze definovat čtyři typy soustav:

- Obal s inkorporovaným antimikrobiálním činidlem – antimikrobiální látka se uvolňuje do potraviny nebo do prostoru mezi potravinou a obalem a potlačuje tak růst mikroorganismů [26]. Obaly s inkorporovanými přírodními antimikrobiálními látkami byly již testovány proti působení nejrůznějších mikroorganismů, např. *Listeria monocytogenes*, patogenní *Escherichia coli* či plísním a dalším mikroorganismům, které přispívají ke znehodnocení potravin [27].
- Obal s pevně vázaným antimikrobiálním činidlem – obal neuvolňuje do potraviny antimikrobiální látky, ale potlačuje růst mikroorganismů na kontaktní ploše. Tento systém může být méně efektivní u pevných potravin, jelikož na rozdíl

od kapalných potravin je zde menší možnost kontaktu mezi antimikrobiálním obalem a zabalenou potravinou [26].

- Obal obsahující absorbéry (např. absorbér kyslíku nebo vlhkosti) – absorbční systém antimikrobiálního balení odstraňuje důležité faktory pro růst mikroorganismů v potravine a brání tak jejich růstu. Například kyslík absorbující systém může zabránit růstu aerobních mikroorganismů a plísní uvnitř obalu [26]. Absorbéry vlhkosti snižují hodnotu a_w , což také nepřímo ovlivňuje růst mikroorganismů. Absorbéry kyslíku a vlhkosti se využívají především při balení pečiva, těstovin a masa, kde zabraňují oxidaci a kondenzaci vody [27].
- Použití polymeru, který je v podstatě sám antimikrobiální. Příkladem může být chitosan, jemuž je v dnešní době věnována zvýšená pozornost z důvodu jeho antibakteriální a antimykotické aktivity. Je velmi účinný proti kvasinkám a gramnegativním bakteriím včetně *Escherichia coli*, *Shyella disenteriae* a *Salmonella typhymurium* [28].

Efekty a synergie jednotlivých, v obalové technice používaných metod pro omezení bakteriálního růstu, jsou schématicky naznačeny na Obrázku 2.



Obrázek 2 Porovnání účinnosti antimikrobiálního obalového systému s běžnými obalovými systémy [26]

3.1 Antimikrobiální látky

Antimikrobiální látky (AL) jsou látky účinné proti kažení potravy a jejímu napadení patogenními mikroorganismy. Existuje velké množství široce využívaných AL. Jednoduché zařazení mikroorganismů do skupin může být velmi nápomocné při výběru vhodné AL [26].

Růst mikroorganismů mohou AL ovlivňovat různými způsoby. Některé AL potlačují základní metabolické (nebo reprodukční) dráhy mikroorganismů, zatímco jiné mění strukturu buněčné stěny. Například lysozym rozrušuje buněčnou stěnu bakterií, aniž by inhiboval metabolické dráhy. Směs odlišných AL může zvýšit mikrobiální ochranu díky jejich synergickým účinkům. Proto se studie v poslední době zaměřují na optimální kombinování různých AL pro dosažení maximální účinnosti a bezpečnosti antimikrobiálního obalového systému. Použití AL v potravinářských obalech se musí řídit pokyny a předpisy země, ve které budou tyto látky používány. Nové antimikrobiální obalové materiály mohou být vytvořeny pouze s použitím látek, které jsou schváleny příslušnými úřady a jsou netoxické. Antimikrobiální látky se rozlišují na syntetické a přírodní [26, 29].

Syntetické antimikrobiální látky

Tento druh AL je v průmyslu nejvíce využíván. Mezi tyto látky se řadí především: anhydridy, enzymy, polysacharidy, organické kyseliny, alkoholy a antibiotika [13, 26, 29].

- Antibiotika

Antibiotika jsou látky produkované mikroorganismy, které i při malých koncentracích potlačují životní procesy buňky. Vykazují mikrobicidní i mikrobistatický efekt proti širokému spektru bakterií. Začlenění antibiotik do obalového materiálu pro potravinářské aplikace však není schváleno z důvodu možného rozvoje rezistence mikroorganismů na antibiotika [26, 30].

- Ionty kovů

Nejčastější AL, která se začleňuje do plastových obalů jsou ionty stříbra [13]. Ionty stříbra jsou schopny deaktivovat buněčné enzymy a jsou účinné proti širokému spektru bakterií i ve velmi nízkých koncentracích, které nemají toxický účinek na lidský organismus [31, 32]. Výroba polymerů modifikovaných stříbrem je však poměrně nákladná [33].

Další anorganickou látkou využívanou v antimikrobiálních polymerních systémech jsou ionty zinku. Nejrozšířenější antibakteriální směsí obsahující zinek je oxid zinečnatý. Čistý zinek spolu s oxidem zinečnatým ovlivňuje růst mikroorganismů rozdílným způsobem. Jeho antibakteriální aktivita závisí na druhu bakterií i na hodnotě pH, přičemž nejideálnější antibakteriální aktivitu vykazuje oxid zinečnatý v rozmezí pH 7–8. Při porovnávání antibakteriálního účinku zinku na růst grampozitivních a gramnegativních bakterií bylo zjištěno, že více citlivé na jeho působení jsou grampozitivní bakterie [34, 35].

V antimikrobiálních polymerních systémech je rovněž využíván titan, převážně ve formě oxidu titaničitého. Výzkumy publikované Adamsem a kol. ukazují, že ionty titanu vykazují stejný antimikrobiální účinek proti růstu gramnegativních i grampozitivních bakterií, zatímco výzkumy jiné odhalily, že grampozitivní bakterie jsou proti působení iontů titanu více citlivé [36].

Další anorganickou sloučeninou známou díky své korozivzdornosti a antibakteriální aktivitě je platina. V šedesátých letech minulého století bylo zjištěno, že platina má schopnost inhibovat buněčné dělení [37].

- Organické kyseliny

Organické kyseliny (kyselina benzoová, sorbová, propionová, octová, mléčná, citronová a jejich směsi) vykazují silnou antimikrobiální aktivitu, a jsou proto používány jako konzervační látky nebo i jako desinfekční prostředky pro materiály, přicházející do styku s potravinami [26, 29]. Jsou nákladově efektivní a účinné proti různým mikroorganismům. Směsi různých organických kyselin nebo směsi organické kyseliny s jinou antimikrobiální látkou mají mnohdy silnější antimikrobiální účinek než poskytuje samotná kyselina [29].

- Deriváty benzimidazolu, imazalil a ethanol

Mezi látky začleňované do plastových obalů, které vykazují antimykotickou aktivitu patří také deriváty benzimidazolu, imazalil a ethanol. Silná antibakteriální a antimykotická aktivita ethanolu ovšem není dostačující pro potlačení růstu kvasinek. Ethanol také ve většině potravin způsobuje nežádoucí silný chemický zápach [26].

- Plynné antimikrobiální látky

Plynné antimikrobiální látky poskytují oproti pevným nebo kapalným typům syntetických antimikrobiálních látek značné výhody. Tyto výhody spočívají především v možnosti odpařování nebo pronikání plynných AL do vzdušného prostoru uvnitř obalu, což jiné neplynné antimikrobiální látky nedokážou. Vkládání etanolových polštářků je jedním z příkladů plynných antimikrobiálních systémů. Etanolové výpary mohou inhibovat růst plísní a bakterií. Mezi další účinné plynné antimikrobiální látky patří například oxid chloričitý, allylisothiokyanát nebo ozón [26].

- Antioxidanty

Použití antioxidantů je pro balení potravin velmi žádoucí, neboť vykazují účinnou antimykotickou aktivitu [29]. Chemické antioxidanty mohou uvnitř obalu vytvořit anaerobní prostředí, a tím chránit potravinu před napadením aerobními mikroorganismy [26]. Pro potravinářské aplikace se používají i přírodní antioxidanty jako např. kyselina askorbová a α -tokoferol [29].

Přírodní antimikrobiální látky

- Bakteriociny

Bakteriociny, tedy látky, které jsou produkovány mikroorganismy, mohou inhibovat růst patogenních mikroorganismů nebo jiných mikroorganismů způsobujících znehodnocení potravin [26]. Mezi tyto bakteriociny patří hlavně nisin, lacticin nebo pediocin [29]. Z mnoha nedávných studií vyplývá, že nisin produkováný bakterií *Lactococcus lactis* je účinný proti grampozitivním bakteriím především *Brochothrix thermosphacta*, *Lactobacillus helveticus*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus flavus* a *Pediococcus pentosaceus* [38]. Avšak na inhibici růstu gramnegativních bakterií není nisin příliš efektivní. Uvolňování nisinu z polymerního filmu je závislé na teplotě a pH [39]. Ve studii publikované Fangem a kol. byl použit nisin v kombinaci s modifikovanou atmosférou pro balení vařeného vepřového masa naočkovaného bakteriemi *Pseudomonas fragi* a *Listeria monocytogenes*. U obou mikroorganismů došlo ke snížení jejich počtu [40]. V jiné studii (Ming a kol.) byl použit nisin spolu s dalším bakteriocinem (pediocinem) pro balení krůtího masa, šunky a čerstvého hovězího masa. Bylo zjištěno, že pediocin je ve srovnání s nisinem na inhibici růstu bakterie *Listeria monocytogenes* více účinný [41].

- Extrakty z rostlin

Také některé výtažky z rostlin, jako jsou grapefruitová jádérka, skořice, hřebíček a křen mají antimikrobiální aktivitu a mohou být přidány do obalového systému s cílem potlačit růst patogenních bakterií [26]. Křen obsahuje těkavý allylisothiokyanát, který je účinný proti různým plísním a bakteriím [29]. Grapefruitová semínka vykazují vysokou antimikrobiální aktivitu stabilní i při teplotách přesahujících 120 °C [38]. V budoucnosti se očekává hojnější využívání přírodních extraktů, neboť spotřebitelé začínají preferovat použití přírodních antimikrobiálních látek [26].

4 MIGRACE NÍZKOMOLEKULÁRNÍCH LÁTEK

Migrace může být definována jako submikroskopická interakce potravin/obal, která zahrnuje pohyb chemických sloučenin z obalu do zabalené potravin [42]. Tyto chemické sloučeniny se nazývají migranty [6]. Dle typu složek přestupujících z obalového materiálu do potravin jsou rozlišovány dva typy migrace: celková a specifická. Celková migrace znamená přestup celkového množství všech složek z obalu (i neznámých, analyticky přesně nedefinovaných) do zabalené potravin. Naproti tomu specifická migrace značí přestup konkrétních identifikovatelných (toxikologicky významných) látek. Pro celkovou migraci je v EU (direktiva EU 90/128/ECC) stanoven migrační limit, dle kterého plastové obalové materiály nesmějí uvolňovat své složky do potravin v množství přesahující 10 mg na dm^2 povrchu materiálu. Bereme-li do úvahu průměrný poměr mezi hmotou a plochou baleného produktu, neměla by migrace přesahovat 60 mg uvolněných látek z plastového obalu do 1 kg potravin [12].

4.1 Teorie migrace nízkomolekulárních látek

Migrace nízkomolekulárních látek z obalového materiálu do zabalené potravin je převážně řízena difúzními procesy. Difúze potenciálních migrantů v obalovém systému závisí na teplotě, molekulové hmotnosti a chemické afinitě migrantů s plastem. Difúze migrantů je velmi pomalá a obvykle trvá několik dní, než migrující složka projde několika mikrometry tloušťky plastu. Difúzní pohyb lze popsat Fickovým prvním zákonem, dle kterého je hustota difúzního toku přímo úměrná koncentračnímu gradientu látky (viz. rovnice 1) [43].

$$J = -D_p \frac{dC}{dx} \quad (1)$$

Kde: J	difúzní tok [$\text{mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]
D_p	difúzní koeficient [$\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$]
C	koncentrace migrantu [$\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$]
x	vzdálenost obalové vrstvy

Pro neustálený stav platí 2. Fickův zákon, dle něhož je časová změna koncentrace látky v daném místě úměrná prostorové změně gradientu koncentrace (viz. rovnice 2) [43].

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D_p \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad (2)$$

Kde: C koncentrace migrantu jako funkce místa x a času t

Stále větší popularizace polymerních obalových materiálů má za následek zvýšení obav veřejnosti v souvislosti s migrací nežádoucích složek z obalu do potravin. Migrace může ovlivnit nejen kvalitu potravin (změnu barvy i chuti), ale také její bezpečnost. Hlavní nebezpečí představují zbytkové monomery plastů (např. organická toxická látka vinylchlorid monomer, známý jako lidský karcinogen) a přísady, které jsou přítomny v plastu a při úzkém kontaktu s potravinou mohou tyto složky do potravin migrovat. Například změkčovadla, která se přidávají do plastů pro dosažení požadované flexibility, mohou být potenciální hrozbou pro zdraví spotřebitele. Proto musí být migrace látek z polymerního obalu neustále testována [44, 45].

V některých případech ovšem může být migrace aktivních sloučenin žádoucí a úmyslná. Antimikrobiální látky nebo antioxidanty mohou být inkorporovány do obalu tak, aby se tyto účinné látky pomalu uvolňovaly z obalu do potravin, a tím přispěly ke zvýšení bezpečnosti a kvality potravin [43].

4.2 Faktory ovlivňující migraci z obalu do potravin

Rozsah migrace z materiálů, které jsou s potravinami v přímém styku, je závislá na řadě faktorů. Mezi nejvýznamnější faktory patří [43, 44]:

- Složení obalového materiálu a množství potenciálního migrantu v něm obsaženém
- Stupeň kontaktu potravin s obalem
- Složení potravin, kdy její jednotlivé složky mohou mít různou afinitu s migrantem. Například míra migrace hydrofobního monomeru je částečně závislá na obsahu lipidů v potravine

- Teplota a čas, po který je potravina ve styku s obalovým materiálem. Proto mohou být obavy z migrace u chlazených mléčných výrobků s krátkou trvanlivostí menší, než u výrobků, které mají trvanlivost až 6 měsíců.

4.3 Proces migrace

Migrace může být rozdělena do tří kategorií: nemigrující systémy, těkavé systémy a leaching systémy.

- Nemigrující systémy

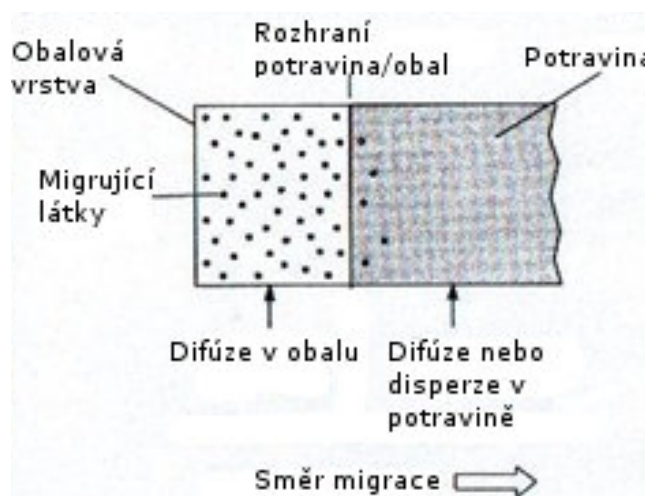
U nemigrujících systému se předpokládá zanedbání migrace pro vysokomolekulární látky, anorganická rezidua a pigmenty.

- Těkavé systémy

U tohoto typu systému není nutný kontakt potraviny s obalem. Migrace do potraviny je omezena na těkavé sloučeniny, které mají relativně vysoký tlak par při pokojové teplotě. Těkavé látky přítomné obalu se však nemusí vždy dostat do potraviny, ale mohou se odpařit do okolního prostředí.

- Leaching systémy

Tento typ systému je nejčastější a vyžaduje kontakt obalu s potravinou (většinou kapalnou). Patří sem migrace látek z plastových obalů do tekutých nebo vlhkých pevných potravin, které jsou v přímém kontaktu s obalovým materiálem (viz. Obrázek 3) [43].



Obrázek 3 Př. migrace složek plastového obalu do zabalené potraviny [26]

4.4 Testování migrace

Existují dvě možnosti testování migrace složek z plastových obalů do zabalené potravin. První, a relativně snadnou možností monitorování migrace, jsou senzorické zkoušky, při kterých senzorický panel složený z proškolených hodnotitelů určuje, zda kontakt obalu s potravinou jakkoli ovlivnil její senzorické vlastnosti. Nejvhodnější senzorickou metodou využívanou pro sledování rozdílů mezi zkoušeným a referenčním vzorkem je trojúhelníkový test. Při tomto testu jsou hodnotitelům podány tři vzorky, z nichž dva jsou identické. Hodnotitel musí určit, který vzorek se liší. Skupina hodnotitelů tak odhalí případné problémy, které by byly patrné pro spotřebitele [44].

Druhou možností testování migrace jsou chemické analýzy, pomocí kterých mohou být identifikovány migrující složky z plastových obalů (zbytkové monomery, rozpouštědla či jiné látky) [44]. Jestliže se analyticky vyhodnocuje celková migrace, používá se nejčastěji gravimetrický test, který spočívá ve zvážení vzorků před a po odpaření (u těkavých simulantů) [46]. Pro stanovení specifické migrace se využívají moderní analytické metody jako je infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací a plynová nebo kapalinová chromatografie s hmotnostním spektrometrem [43].

Testování migrace se zřídka provádí na skutečných potravinách. Ke sledování migrace jsou častěji využívány potravinové simulanty (viz. Tabulka 2), se kterými jsou získávány přesnější výsledky. Simulanty potravin jsou kapalné nebo pevné látky o známém složení. Tím se zkoušky migrace stávají jednodušší a spolehlivější [43].

Tabulka 2 Potravinové simulanty používané pro určitou kategorii potravin [43, 47]:

Potravinový simulant	Kategorie potravin
10% vodný roztok ethanolu	sledování migrace do alkoholických nápojů
3% roztok kyseliny octové	sledování migrace do kyselých potravin (pH pod 4,5)
Destilovaná voda	migrace z obalových materiálů do potravin, které vykazují hodnotu pH vyšší než 4,5 a mají vysoký obsah vody
Olivový, slunečnicový a kukuřičný olej	migrace složek plastového obalu do potravin s vysokým obsahem tuku

5 BIOAKTIVNÍ LÁTKY JAKO INHIBITORY MIKROBIÁLNÍHO RŮSTU V OBALECH

5.1 Aromatické látky

Aromatické látky jsou látky dodávající surovinám charakteristickou vůní, čímž následně ovlivňují i jejich chuť [48]. Organoleptické vlastnosti aromatických látek souvisí s jejich strukturou (stereochemií). Ke změně sensorického vjemu obvykle stačí pouze malá změna ve struktuře molekuly, což je také důvod, proč strukturální izomery vykazují odlišné organoleptické vlastnosti [49].

Aromatické látky se dělí na látky vonné a chuťové. Ty se dále dělí dle původu na [49]:

- 1) Primární sensoricky aktivní látky – jsou již přítomny v potravinách a jsou to produkty sekundárního metabolismu.
- 2) Sekundární sensoricky aktivní látky – jsou to látky vznikající při skladování popř. zpracování jako produkty enzymových i neenzymových reakcí bílkovin, sacharidů a lipidů. Mohou být přítomny ve volné nebo vázané formě.

Tato diplomová práce se zaměřuje pouze na vonné aromatické látky. Do této skupiny aromatických látek se řadí především uhlovodíky, alkoholy, ethery, karbonylové sloučeniny, karboxylové kyseliny, fenoly, sírné sloučeniny, dusíkaté sloučeniny, apod. [50]. V experimentální části této diplomové práce byly použity jako antimikrobiální látky aromatické látky ze skupiny alkoholů (monoterpenoidní alkohol linalool) a látky ze skupiny etherů (*trans*-anethol a 4-allylanisol). Proto se tato kapitola zaměřuje na tyto dvě skupiny.

- **Terpenové alkoholy**

Acyklické monoterpenové alkoholy jsou složkami různých silic. Bývají přítomné buď ve volné formě nebo jako estery. Vykazují sladké květinové aroma různé intenzity. V ovoci, popř. jiných rostlinných materiálech, se monoterpeny vyskytují většinou jako glykosidy. Nejvýznamnějšími alifatickými alkoholy jsou linalool, citronelool, geraniol a jeho isomer nerol. Mezi monocyklické monoterpenové alkoholy se řadí α -terpeniol, 4-terpeniol, pugelol, perillalkohol a jeho isomer karneol. K bicyklickým monoterpenovým

alkoholům patří borneol a thujenhydrát. Mezi terpenové alkoholy se řadí také seskviterpeny a diterpeny [49].

- **Ethery**

V potravinách se ethery vyskytují jako symetrické, asymetrické, alifatické, alicyklické a aromatické nebo jako ethery s atomem kyslíku vázaným v cyklu. Jako vonné látky se ethery uplatňují poměrně zřídka. Mezi nejdůležitější ethery se řadí estragol (v estragonové silici) a jeho isomer anethol (v anýzové, fenyklové a badyánové silici). Dalším významným etherem je asaron (ze silice puškvorcového kořene), methyleugenol (ze silice hřebíčku) a elemicin. Ethery jsou poměrně stálé v kyselém a alkalickém prostředí. Mohou však oxidovat na příslušné hydroperoxy [49].

Výskyt a výroba aromatických látek

Aromatické látky je možno nalézt v ovoci (hlavně ve slupce), zelenině či koření, kde jejich obsah bývá nejvyšší [48]. Aromatické látky je tedy možno získat buď z přírodních zdrojů nebo se vyrábějí synteticky. Používají se v následujících formách [49]:

- 1) přírodní aromatické látky
- 2) aromatické látky přírodně identické
- 3) syntetické aromatické látky

Nejdůležitějšími materiály, z nichž se vyrábí potravinářská aromata jsou silice, olejoprskyřice, výluhy, šťávy, dřeně a destiláty, které se získávají z rostlinných materiálů [49].

Silice – vyskytují se v různých částech rostlin (květech, plodech, listech atd.) a jsou to kapaliny nebo krystalické látky, které jsou dosti těžké a mají velmi intenzivní vůni [51]. Některé silice vykazují baktericidní účinky [52].

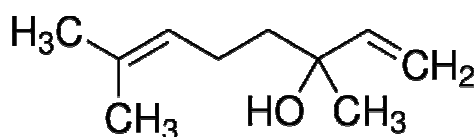
Silice je možno z přírodního materiálu získat [49] :

- destilací s vodní parou, kdy je získán destilát, který se následně rozdělí na vodnou a olejovou frakci (silici)
- extrakcí nepolárními rozpouštědly (benzinem nebo petroletherem). Tímto způsobem se získávají látky zvané miscela.
- lisováním s následným oddělením vrstvy silice

Olejoprskyřice (oleoresin) – jsou získávány extrakcí koření nebo zeleniny organickými polárními i nepolárními rozpouštědly [49].

Syntetické látky – zde se řadí silice rekonstituované obsahující syntetické vonné látky stejné jako silice přírodní. Rekonstituované silice však postrádají jemnost silic přírodních [49].

5.2 Linalool



Obrázek 4 Vzorec linaloolu

Linalool (3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-3-hydroxy-1,6-octadien) je acyklický monoterpenoidní alkohol přirozeně se vyskytující v mnoha rostlinách, kořenech a ovoci. Obsah linaloolu se v rostlinách poměrně liší. Největší množství linaloolu obsahuje palisandr (80–85 %), dále frézie (80 %) a levandule (50 %). Významné množství linaloolu obsahují také citrusy (citron, mandarinka, grapefruit, pomeranč) a koření jako je bazalka a koriandr [53, 54]. Menší množství linaloolu je možno nalézt v bergamotu, petrželi, rajčatech, višních, švestkách, meruňkách, broskvích, kakau, zeleném a černém čaji a ve víně [49].

Linalool se přirozeně vyskytuje ve dvou formách – (S)-(+)-linalool a (R)-(-)-linalool. Tyto enantiomery se liší svým výskytem a svou vůní [53]. (R)-(-)-linalool se nachází v levanduli (*Lavandula angustifolia*), bergamonu (*Citrus aurantium* Bergamia), tymiánu (*Thymus vulgaris*) a bazalce (*Ocimum basilicum*). (S)-(+)-linalool je například hlavní složkou esenciálního oleje koriandru (*Coriandrum sativum*) a pomerančovníku čínského (*Citrus sinensis*) [55].

Linalool je často používán v parfémcech a díky jeho alkalické stabilitě může být používán také v detergentech a mýdlech [56]. Radou Evropy byl linalool zařazen do seznamu látek, které mohou být použity v potravinářství [57].

Studie zabývající se antimikrobiálními vlastnostmi obalových systémů s linaloolem

- **Účinnost antimikrobiálních filmů na bázi PE obsahující hlavní složky bazalky**

Studie prezentovaná Suppakulem a kol., se jako první zaměřuje na testování antimikrobiálních vlastností linaloolu a methylchavicolu inkorporovaných na matrici polymeru. Byla zde sledována inhibice růstu vybraných mikroorganismů osídlujících potraviny. Bylo zjištěno, že obě látky vykazovaly antimikrobiální aktivitu proti níže uvedeným MO [58].

V této studii byly také zkoumány antimikrobiální vlastnosti kompozit s linaloolem a methylchavicolem při balení sýru chedar. Sýr byl skladován zabalený při +4 °C. Byly sledovány počty mezofilních aerobních bakterií, koliformních bakterií, kvasinek a plísní. Zároveň byl sýr naočkován bakteriemi *Escherichia coli* a *Listeria innocua* a následně zabalen do fólie s linaloolem a methylchavicolem, a uložen do chladničky při +4 °C a při +12 °C. Výsledky prokázaly inhibiční efekt těchto filmů na růst mikroorganismů přirozeně kontaminujících sýr, i na růst *Escherichia coli* a *Listerie innocua* u naočkovaného vzorku sýra. Účinek potlačení mikroorganismů byl výrazně závislý na teplotě. LDPE s inkorporovaným methylchavicolem vykazoval vyšší účinnost než LDPE obsahující linalool [58].

Bylo zde také provedeno sensorické hodnocení sýra zabaleného do antimikrobiální fólie z důvodu možného ovlivnění jeho organoleptických vlastností po uplynutí 6 týdnů. K tomuto účelu byla využita trojúhelníková metoda. Co se týče ovlivnění organoleptických vlastností, linalool ani methylchavicol nepředstavují riziko. Z výše uvedeného vyplývá, že tyto přísady mohou být použity do antimikrobiálních obalových systémů [58].

- **Uvolňování AL z polymerních filmů v průběhu skladování**

Ve studii publikované Suppakulem a kol., bylo testováno, zda si kompozity na bázi LDPE-EVA, LLDPE a LDPE s linaloolem a methylchavicolem zachovaly v průběhu skladování svou antimikrobiální aktivitu. Kompozity na bázi LLDPE obsahující linalool a methylchavicol byly skladovány při pokojové teplotě po dobu 1 roku. Kompozity na bázi LDPE-EVA byly skladovány při 25 °C a 35 °C. Antimikrobiální aktivita fólií zde byla testována po 1 roce difúzní diskovou metodou [59].

U antimikrobiálních filmů na bázi LLDPE byl sledován pokles inhibiční aktivity proti růstu bakterie *Escherichia coli*, který však po 1 roce skladování nebyl statisticky významný. Obdobně tomu bylo i u kompozit na bázi LLDPE-EVA [59].

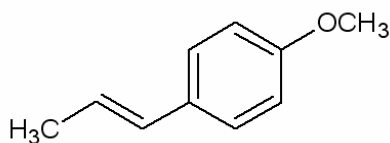
Z této studie vyplývá, že složky bazalky (linalool a methylchavicol) lze úspěšně inkorporovat do matrice z LLDPE nebo EVA-LLDPE a udržet jejich inhibiční účinek proti bakterii *Escherichia coli* i při dlouhodobém skladování (1 rok). Určitá koncentrace (nad minimum pro inhibici růstu bakterií) linaloolu a methylchavicolu byla v polymerní matrici zachována i při 35 °C [59].

- **Difúze linaloolu a methylchavicolu z antimikrobiálních obalových fólií**

Při této studii (Suppakul a kol.) byla sledována difúze linaloolu a methylchavicolu z tenkých (45-50 μm) antimikrobiálních fólií na bázi LDPE. Hodnocení difúze se provádělo po ponoření fólií do isooktanu, přičemž byl současně sledován vliv teploty (4, 10, 25 °C) na difúzní rychlost. Množství linaloolu a methylchavicolu ve vzorcích bylo stanoveno pomocí plynové chromatografie. Kinetika uvolnění linaloolu a methylchavicolu vykazovala při nejnižší teplotě odchylky od Fickovského chování. Zvýšení teploty ze 4 na 25 °C vedlo ke zvýšení difúzního koeficientu z $4,2 \times 10^{-13} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ na $2,5 \times 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pro linalool, a ze $3,5 \times 10^{-13} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ na $1,1 \times 10^{-12} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ pro methylchavicol [60].

Při studiu migrace AL látek do isooktanu, který se používá jako simulant potravin obsahujících tuk, bylo zjištěno, že difúzní koeficient a teplotní citlivost je vyšší u linaloolu než u methylchavicolu [60].

5.3 *Trans*-anethol



Obrázek 5 Vzorec *trans*-anetholu

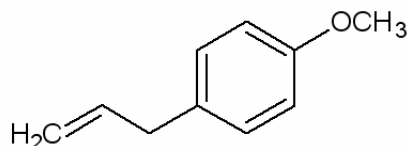
Trans-anethol (též 4-propenylanisol, *trans*-1-methoxy-4-(1-propenyl) benzen) je aromatická látka (nenasyčený ether) běžně se vyskytující v přírodě v esenciálních olejích anýzu (95 %), badyánu (87 %), fenyklu (70 %) a estragonu [61, 62].

Trans-anethol je bezbarvá, případně slabě nažloutlá kapalina rozpustná v etheru a chloroformu. Ve vodě je *trans*-anethol téměř nerozpustný. Bod tání anetholu se pohybuje okolo 21 °C a bod varu kolem 234 °C. *Trans*-anethol vykazuje sladkou chuť a aromaticnost po anýzu [61, 62]. Je přibližně 13 x sladší než cukr. Tato sladká chuť je vnímána jako příjemná i ve vyšších koncentracích [62]. *Trans*-anethol má silné antimikrobiální vlastnosti proti bakteriím, kvasinkám a plísním [63].

Trans-anethol je v potravinářství běžně používán do pekařských výrobků, cukrovinek, alkoholických a nealkoholických nápojů. Tyto výrobky jsou velmi oblíbené díky své charakteristické vůni po anýzu. *Trans*-anethol je uznán jako bezpečná látka, která může být používána v potravinářství [64].

Studie zabývající se použitím *trans*-anetholu jako antimikrobiální látky inkorporované do polymerní matrice doposud nebyla provedena.

5.4 4-allylanisol



Obrázek 6 Vzorec 4-allylanisolu

4-allylanisol (též methylchavicol, estragol) je aromatická látka patřící do skupiny etherů, vyskytující se v esenciálních olejích několika koření, včetně estragonu, fenyklu, bazalky, anýzu, majoránky a badyánu. V estragonu je obsah 4-allylanisolu nejvyšší (60–80 %) [65].

4-allylanisol je bezbarvá kapalina, rozpustná ve vodě, ethanolu a chloroformu [65]. Je to isomer *trans*-anetholu, lišící se pouze v poloze dvojné vazby. Jak již bylo uvedeno v kapitole 5.1, ke změně sensorického vjemu obvykle stačí pouze malá změna ve struktuře molekuly, což je také důvod, proč 4-allylanisol a *trans*-anethol vykazují rozdílné organoleptické vlastnosti.

Esenciální oleje obsahující 4-allylanisol jsou široce používány v potravinářství jako aromatické látky [66]. Nachází též uplatnění v kosmetickém průmyslu v parfémach

a mýdlech [65]. 4-allylanisol byl uznán jako bezpečná látka, která může být použita v potravinářství [66].

Studie zabývající se použitím 4-allylanisolu (methylchavicolu) jako antimikrobiální látky inkorporované do polymerní matrice je uvedena v kapitole 5.2.

Tabulka 3 Obsah vonných látek v koření [49, 66]

Koření (latinský název)	Linalool [%]	Trans-anethol [%]	Estragol [%]
Anýz (<i>Pimpinella anisum</i>)	-	80–95	2–5
Badyán (<i>Illicium verum</i>)	-	80–90	5–6
Estragon (<i>Artemisia dracunculus</i>)	-	malé množství	68–70
Fenykl (<i>Foeniculum vulgare</i>)	-	60–80	5–20
Majoránka (<i>Origanum majorana</i>)	-	-	25
Bazalka (<i>Ocimum basilicum</i>)	35–50	-	20–43
Oregáno (<i>Origanum vulgare</i>)	malé množství	-	-
Kmín (<i>Carum carvi</i>)	malé množství	-	-
Vavřík (<i>Laurus nobilis</i>)	10	-	-
Koriandr (<i>Coriandrum sativum</i>)	60–80	-	-
Tymián (<i>Thymus vulgaris</i>)	malé množství	-	-

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 STANOVENÍ CÍLŮ PRÁCE

Plasty jsou pro balení potravin velmi vhodnými a hojně využívanými materiály. Při jejich použití v obalové technice však mohou nastat problémy spojené s mikrobiálním osídlováním, které mohou vést k výrazným negativním efektům. Jednou z možností prevence těchto jevů je antimikrobiální modifikace plastů.

V současné době je rostoucí trend na aplikaci látek přírodního původu, které mohou také představovat antimikrobiální modifikátory plastů. Při přípravě antimikrobiálních systémů však mohou při procesu jejich inkorporace do polymerní matrice nastat zpracovatelské komplikace pramenící ze specifických vlastností těchto přírodních látek.

Na základě literární rešerše a úkolů stanovených v zadání diplomové práce, byly definovány následující cíle experimentální části této práce :

- Zpracovat parametry inkorporace aromatických látek do polymerní matrice termoplastickým způsobem
- Sledování vlivu modifikace na matrici
- Sledování antimikrobiálních vlastností

7 PŘÍPRAVA VZORKŮ

7.1 Použité materiály

Polymerní matrice - Polyethylen BRALEN RB 2-62

Jako polymerní matrice byl použit nízkohustotní polyethylen neobsahující aditiva. Tento typ PE slouží k vyfukování malých nádob (do 2000 ml), vytlačování trubek malých průměrů a desek. Je vhodný též na vstřikování. Tento typ je možno použít na výrobu hraček a na výrobky přicházející do styku s potravinami (vyhovuje předpisům o kontaktu s potravinami). Je možno jej také využít na výrobu výrobků pro farmaceutický průmysl [67]. Vlastnosti polymerní matrice udávané výrobcem jsou uvedeny v Tabulce 4.

Tabulka 4 Charakteristické vlastnosti použité polymerní matrice udávané výrobcem [67]

Parametry	Testovací metoda	Jednotka	Typická hodnota
ITT (190 °C/2,16 kg)	ISO 1133	g/10 min	2
Hustota (23 °C)	ISO 1183-2	kg/m ³	918
Pevnost v tahu při přetržení	ISO 527-1,2	MPa	12
Teplota měknutí Vicat	ISO 306	°C	95
Tvrdość Shore D	ISO 868	-	46

Aromatické antimikrobiální látky

Dodavatelem všech níže uvedených aditivních látek byla Sigma-Aldrich, Praha. Jejich charakteristiky a fyzikálně-chemické vlastnosti jsou uvedeny v Tabulce 5 [68].

- **Linalool/L2602** – CAS číslo: 78-70-6
- **4-allylanisol/W241105** – CAS číslo: 140-67-0
- **Trans-anethol/W208604** – CAS číslo: 4180-23-8

Tabulka 5 Obecné a fyzikálně-chemické charakteristiky použitých terpenoidů [68]

	Linalool	4-allylanisol	Trans-anethol
Sumární vzorec	C ₁₀ H ₁₈ O	C ₁₀ H ₁₂ O	C ₁₀ H ₁₂ O
Molekulová hmotnost [g/mol]	154,25	148,20	148,20
Forma	kapalina	kapalina	kapalina
Bod varu [°C]	194 - 197	215 - 216	234 - 237
Bod vzplanutí [°C]	78	81	91
Hustota při 25 °C [g/cm³]	0,870	0,965	0,988
Index lomu <i>n</i>_{20/D}	1,462	1,521	1,561

Pevný nosič – sorbent

- Molekulová síta (MS) – 4Å, CAS číslo : 70955-01-0 – dodavatel Sigma Aldrich, Praha. Jedná se o sorbent (látka schopná vázat jiné látky) s přesně definovanou velikostí pórů. Sorbent je granulovaná nebo práškovitá tuhá látka pórovité nebo gelové struktury, která má schopnost vázat některé kapalné nebo plynné složky směsí. Na sorbent se zachycují molekuly, jež mají k jeho povrchu afinitu [69].
- Mastek (talek) – výrobce Nordbayerische Farben-und Mineralwerke GmbH & Co KG, Německo. Jedná se o jednoklonný nerost, zásaditý křemičitan hořečnatý Mg₃(OH)₂(Si₂O₅)₂, vyskytující se v přeměněných horninách, kde tvoří i samostatná ložiska. Má šedobílou až nazelenalou barvu a na omak je mastný. Využívá se jako plnidlo (např. v gumárenství a papírenství) nebo při výrobě keramiky [69, 70].
- Dřevní moučka (BK 40-90, softwood, velikost částic 300-500 μm, hustota 170-230 g/l) – výrobce J. Rettenmaier & Sohnen, Rakousko. Jedná se o velmi jemně rozemleté pročištěné dřevo. Dřevitá moučka se může používat jako plnidlo a vazný prostředek do plastikářských hmot a pryžových výrobků [70].

7.2 Použité metody

• Imobilizace aditivních látek na pevný nosič

Sorbenty (molekulová síta a mastek) bylo nutno aktivovat při 220 °C po dobu 4 hodin (dřevní moučku nebylo třeba aktivovat). Vlastní imobilizace aditivních látek na sorbenty byla provedena jejich smícháním v poměru 1:1 (hmotnost sorbentu:objem aromatické látky). Následně byly produkty vysušovány (linalool při pokojové teplotě, *trans*-anethol při 75 °C a 4-allylanisol při 45 °C). Hmotnost výsledného produktu po odpaření těkavých složek je možno vidět v Tabulce 6.

Tabulka 6 Hmotnost produktu po odpaření těkavých složek (původní hmotnost sorbentu 50 g, původní objem aromatické látky 50 ml)

Sorbent	Linalool [g]	4-allylanisol [g]	<i>Trans</i> -anethol [g]
Mastek	45,40	51,20	48,90
Molekulová síta	70,64	67,54	67,91
Dřevní moučka	52,31	63,97	60,72

• Inkorporace aditivních látek do polymerní matrice

Prvním krokem inkorporace aditivních látek do polymerní matrice bylo hnětení. Hnětení se provádí z důvodu rovnoměrného rozptýlení aditivních látek v základním zpracovávaném polymeru. Materiál je při tomto procesu roztaven a zhomogenizován tak, aby v polymerní hmotě neexistovala místa s různými vlastnostmi [71]. K tomuto účelu byl použit laboratorní hnětič – Plastograph Brabender (Německo). Doba zpracování činila 8 minut při teplotě 135 °C. Do komory laboratorního hnětiče bylo dle požadované výsledné koncentrace aditivních látek v kompozitu, nasypáno příslušné množství LDPE a po dosažení určitých otáček také vpravena navážka aditiva.

Druhým krokem výroby kompozit bylo mletí, což je pracovní postup, při němž se mechanickým způsobem rozmělnuje materiál na požadovanou granulaci, která je vhodná pro další zpracování. Rozemletý materiál má dobrou sypkou hmotnost a lze jej dobře dávkovat. Mletí bylo prováděno na střížném mlýně Retsch SM 100 (SRN) se síty s oky 8x8 mm.

Třetím, a zároveň posledním krokem výroby kompozit, bylo lisování, což je tváření polymerních materiálů za zvýšené teploty a tlaku, přičemž požadovaný tvar dodává materiálu forma [71]. Pro lisování byl použit získaný granulát. Vlastní lisovací cyklus zahrnoval předehřev materiálu a následné zalisování působením tlaku. Tvar výlisku byl ustálen chlazením, které probíhalo v chladicím lisu. Za tímto účelem byl použit laboratorní mechanický lis, kde předehřev materiálu činil 3 minuty, zalisování 2 minuty a chlazení trvalo 10 minut. Teplota zpracování činila 135 °C. Tloušťka připraveného vzorku byla do 1 mm.

8 TESTOVÁNÍ PŘIPRAVENÝCH VZORKŮ

8.1 Semikvantitativní stanovení navázané aromatické látky na pevném nosiči a na matrici polymeru

Materiály

Aromatické látky imobilizované na pevném nosiči, připravené kompozity obsahující 20 % hm. aditiva.

Princip stanovení

Podstatou této metody je stanovení množství navázaných aromatických látek na pevném nosiči, které těkají za podmínek metody. Při této metodě bylo odvážené množství vzorku sušeno v elektrické sušárně při 105 °C až do konstantní hmotnosti. Vážení bylo prováděno v 30-ti minutových intervalech. Stanovit množství těkavých látek bylo důležité pro další metody. Obsah navázaných aromatických látek byl vypočítán na základě rovnice 3.

Obsah navázaných aromatických látek v (hm. %) se vypočítá dle vzorce:

$$v = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100 \quad (3)$$

Kde m_0 hmotnost vysušené prázdné kádinky [g]

m_1 hmotnost kádinky s navážkou vzorku před vysušením [g]

m_2 hmotnost kádinky se vzorkem po vysušení [g]

8.2 Testování antimikrobiálních vlastností

1) Difúzní disková metoda (Kirby-Bauerův test)

Materiály

Vzorky vyseknuté do tvaru koleček o průměru 12,7 mm

Živné médium – Nutrient agar No. 2, M1269 – výrobce – HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Indie, dodavatel – ČADERSKÝ-ENVITEK, spol. s.r.o, Brno, ČR

Mikroorganismy

Bakteriální suspenze *Escherichia coli* CCM 4517 a *Staphylococcus aureus* CCM 4516

Princip testování

Při testování antimikrobiálních vlastností pomocí difúzní diskové metody je vzorek (nejčastěji kruhového tvaru definovaného průměru) umístěn na pevné živné médium, na kterém je naočkována bakteriální suspenze. Po určité době inkubace se kolem vzorků vytvoří inhibiční zóna, která poukazuje na antimikrobiální difúzi z testované fólie na živnou půdu a následnou inhibici růstu mikroorganismů. Na základě velikosti vytvořené zóny inhibice se vyhodnocuje míra antibakteriální aktivity daného vzorku v porovnání s jiným vyhodnocovaným vzorkem [27].

2) Testování antibakteriální aktivity kompozit dle normy ISO 22196:2007

Materiály a zařízení

Testovaný vzorek o rozměrech 3x3 cm

Krycí fólie z PE o rozměrech 2x2 cm

Živné médium – Plate count agar (PCA), M091 – výrobce – HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Indie, dodavatel – ČADERSKÝ-ENVITEK, spol. s.r.o, Brno, ČR

Živné médium – SOYABEAN CASEIN DIGEST BROTH WITH LECITHIN AND TWEEN 80 (SCDLP), M011 – živná půda kaseinu ze sójových bobů s lecitinem a polysorbátem 80, výrobce – HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Indie, dodavatel – ČADERSKÝ-ENVITEK, spol. s.r.o, Brno, ČR

Živné médium – Nutrient Broth w/1 % peptone (NB), M244 – výrobce – HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Indie, dodavatel – ČADERSKÝ-ENVITEK, spol. s.r.o, Brno, ČR

UV VIS spektrofotometr s křemennou kyvetou tloušťky 1 cm

Mikroorganismy

Bakteriální suspenze *Escherichia coli* CCM 4517 a *Staphylococcus aureus* CCM 4516 v živném médiu NB. Bakteriální suspenze pro testování antibakteriální aktivity byla připravena v koncentraci $1,7 \cdot 10^8$ KTJ/ml pro *Escherichia coli* a $2,5 \cdot 10^8$ KTJ/ml pro *Staphylococcus aureus*.

Princip testování

Testování antibakteriální aktivity vyrobených kompozit bylo prováděno dle normy ISO 22196:2007 : Measurement of antibacterial activity on plastics surfaces [72].

Princip metody spočívá v kultivaci bakteriální suspenze na příslušném vzorku stanovených rozměrů překrytém krycí fólií (viz. Obrázek 7), a následném sledování počtu narostlých mikroorganismů po stanovené době inkubace.

Důležitým krokem této metody bylo odplavení krycí fólie z naočkovaných vzorků pomocí živného média SCDLP, což bylo provedeno po určité době inkubace (v termostatu s vlhkostí 90 %). U vzniklého roztoku bylo nutno provést požadované ředění, ze kterého byl pak určitý objem inokulován na Petriho misky a následně zalit živným médiem (viz. Obrázek 8). Po stanovené době inkubace byly na miskách spočítány narostlé kolonie. Výsledkem této metody je zjištění antibakteriální aktivity vzorků vypočítané na základě rovnice 6.

U bakteriálních suspenzí bylo potřeba stanovit jejich koncentraci a sestavit kalibrační křivku (viz. dále Graf 3). Kalibrační křivka byla sestavena pomocí spektrofotometrického stanovení zákalu, při kterém bylo zjišťováno, kolik světla bylo pohlceno (absorbováno) zakaleným roztokem. Mezi intenzitou dopadajícího světla procházejícího suspenzí platí vztah, který je obdobou Lambert-Beerova zákona v kolorimetrii:

$$\log I_0 / I = k \cdot d \cdot c \quad (4)$$

Kde I intenzita světla procházejícího roztokem nebo suspenzí

I_0 intenzita světla procházejícího čistým médiem

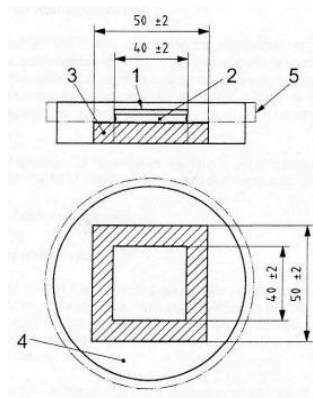
k konstanta, která závisí na přístroji a podmínkách měření

d tloušťka kyvety

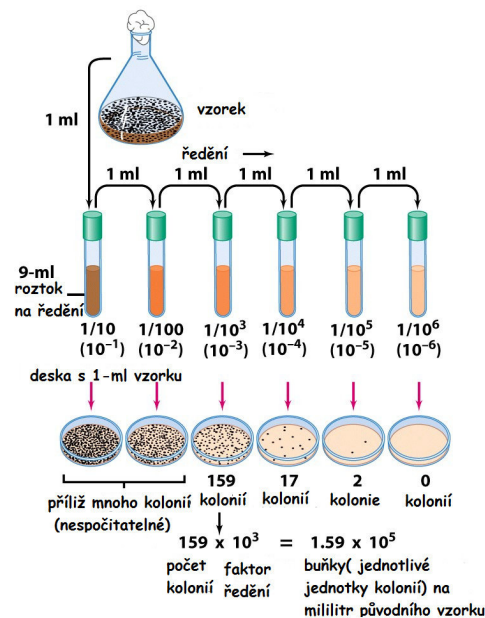
c koncentrace suspendovaných částic

$\log I_0 / I$ absorbance A

Uvedená rovnice platí pouze v určitém rozmezí absorbance, kdy je A přímo úměrná koncentraci suspendovaných částic. Metodu je možno využít pro suspenze mikroorganismů v destilované vodě. Měření zákalu probíhá zpravidla při vlnové délce $\lambda = 600 \text{ nm}$ (OD_{600}) [73]



Obrázek 7 Očkování zkušební vzorku a umístění krycí fólie. 1 – krycí fólie, 2 – inokulum, 3 – testovaný vzorek, 4 – Petriho miska, 5 – víčko Petriho misky [72]



Obrázek 8 Schéma ředění roztoku a jeho následné naočkování na Petriho misky [74]

Celkový počet mikroorganismů se vypočítá dle vzorce:

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0,1n_2) \cdot d} \tag{5}$$

- Kde N celkový počet mikroorganismů na 1 ml (g)
- $\sum C$ součet všech kolonií spočítaných na vybraných miskách
- n_1 počet misek použitých pro výpočet z 1. ředění
- n_2 počet misek použitých pro výpočet z 2. ředění
- d faktor prvního pro výpočet použitého ředění

Antibakteriální aktivita vzorku se vypočítá dle vzorce:

$$R = (U_t - U_0) \cdot (A_t - U_0) \quad (6)$$

Kde	R	antibakteriální aktivita vzorku
	U_0	průměr dekadického logaritmu počtu životaschopných bakterií (buněk/cm ²) sejmутých ze vzorků bez antibakteriální úpravy ihned po naočkování
	U_t	průměr dekadického logaritmu počtu životaschopných bakterií (buněk/cm ²) sejmутých ze vzorků bez antibakteriální úpravy 24 hodin po naočkování
	A_t	průměr dekadického logaritmu počtu životaschopných bakterií (buněk/cm ²) sejmутých ze vzorků s antimikrobiální úpravou po 24 hodinách

8.3 Testování tahových vlastností**Princip měření**

Podstatou této metody je stanovit mechanické vlastnosti vyrobených vzorků v závislosti na jejich koncentraci aditivních látek. Tahová zkouška byla prováděna na zkušebním trhacím stroji M350-5CT (TESTOMETRIC Co. Ltd, Velká Británie) dle normy ČSN EN ISO 527-1-3:1997 [75]. Měření probíhalo při teplotě 25 °C a rychlost deformace činila 100 mm/min.

Pro testování tahových vlastností bylo použito zkušební těleso ve tvaru oboustranné lopatky o pracovních rozměrech – délka 4 cm, šířka 4 mm a tloušťka 1 mm, které bylo vyseknuto z vyrobených vzorků na vysekávacím lisu stolní konstrukce s hydraulickým válcem (Polymertest). Přesné parametry zkušebního tělesa byly změřeny až při samotném testování digitálním mikrometrem napojeným na počítač. Tyto vzorky byly před testováním uloženy v exsikátoru po dobu 3 dnů. Výsledkem metody jsou údaje jako maximální pevnost v tahu (σ) v MPa, modul pružnosti (E) v MPa a poměrné prodloužení při přetržení (ε) v %.

Vlastní měření tahových vlastností probíhalo upnutím zkušebního tělesa do čelistí trhacího stroje tak, aby podélná osa zkušebního tělesa byla shodná s osou čelistí trhacího stroje. Zkušební těleso bylo protahováno ve směru své podélné osy konstantní rychlostí až do přetržení.

8.4 Testování bariérových vlastností

Materiál

V experimentální části bylo porovnáváno 10 vzorků vyrobených kompozit, jejichž charakteristiky jsou uvedeny v Tabulce 7.

Tabulka 7 Charakteristika materiálů pro stanovení bariérových vlastností

Vzorek č.	Popis vzorků	Tloušťka vzorků / směrodatná odchylka [mm]
1.	LDPE bez modifikace	0,570 / 0,022
2.	BK 5 %	0,472 / 0,023
3.	BK 10 %	0,455 / 0,045
4.	BK 20 %	0,481 / 0,070
5.	MS 5 %	0,488 / 0,017
6.	MS 10 %	0,479 / 0,046
7.	MS 20 %	0,463 / 0,034
8.	Mastek 5 %	0,447 / 0,017
9.	Mastek 10 %	0,434 / 0,043
10.	Mastek 20 %	0,434 / 0,042

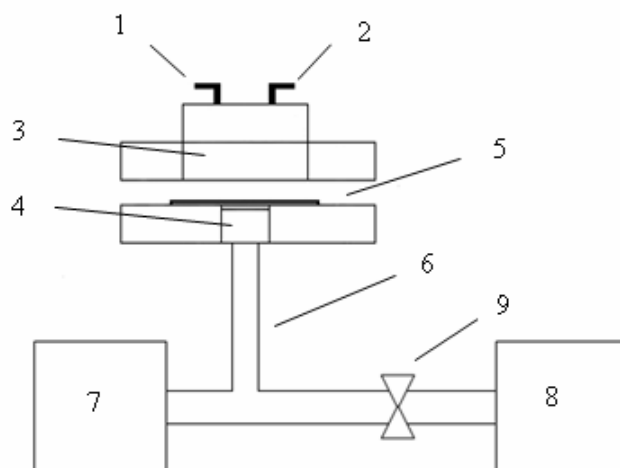
Princip měření

Měření bylo prováděno dle normy ČSN EN ISO 2556 – Stanovení rychlosti propustnosti pro plyny u fólií a tenkých desek při atmosférickém tlaku – Manometrická metoda [76].

Aparatura pro měření propustnosti obsahuje dvě komory, které jsou odděleny měřeným vzorkem. Při této metodě se měří časová závislost tlaku plynu difundujícího skrz měřený vzorek. Výsledkem měření jsou hodnoty permeačního koeficientu, vypočítaného na základě rovnice 8, a hodnoty rychlosti propustnosti (viz. rovnice 7), u které se pro výpočet využívají hodnoty lineární oblasti časové závislosti. Při měření je nutno zaznamenat teplotu, tlak a vlhkost v laboratoři. Měření je potřeba provádět třikrát.

Zařízení a jeho charakteristika

Testování bariérových vlastností bylo prováděno na aparatuře vyrobené v laboratoři Centra polymerních materiálů, UTB ve Zlíně. Schéma použité aparatury je možno vidět na Obrázku 9.



Obrázek 9 Schéma aparatury pro měření bariérových vlastností polymerních vzorků

1. Výstup pro měřený plyn (vzduch)
2. Vstup pro měřený plyn
3. Komora č. 1
4. Komora č. 2 (objem komory č. 2, $V_2=1,2904 \text{ cm}^3$)
5. Těsnění (průměr těsnění, $d=4,3 \text{ cm}$)
6. Kapilára (objem kapiláry, $V_k=23,1277 \text{ cm}^3$)
7. Vakuometr (DR 2 Vakubrand, Německo)
8. Rotační olejová vývěva (SIEMENS 1LF7063-4AJ19-ZN50, ČR)
9. Ventil

Rychlost propustnosti daného plynu skrze vzorek se vypočítá dle vzorce:

$$R_T = \frac{T_0}{T} \cdot \frac{1}{P_0} \cdot \frac{1}{A} \cdot \frac{V + V_K}{P - p} \cdot \frac{dp}{dt} \quad (7)$$

Kde	R_T	rychlost propustnosti daného plynu skrze vzorek [$\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$]
	T_0	teplota 273,15 K
	T	teplota, při které je měření prováděno [K]
	P_0	normální atmosférický tlak $101,325 \times 10^3$ [Pa]
	A	plocha pracovní oblasti vymezena vnitřním průměrem těsnění [cm^2]
	V	objem komory č. 2 [cm^3]
	V_K	objem kapilár [cm^3]
	P	atmosférický tlak v čase měření [Pa]
	p	tlak v komoře č. 2 v čase t [Pa]
	dp/dt	směrnice přímky závislosti p na čase v bodě t [$\text{Pa} \cdot \text{min}^{-1}$]

Permeační koeficient se vypočítá dle vzorce:

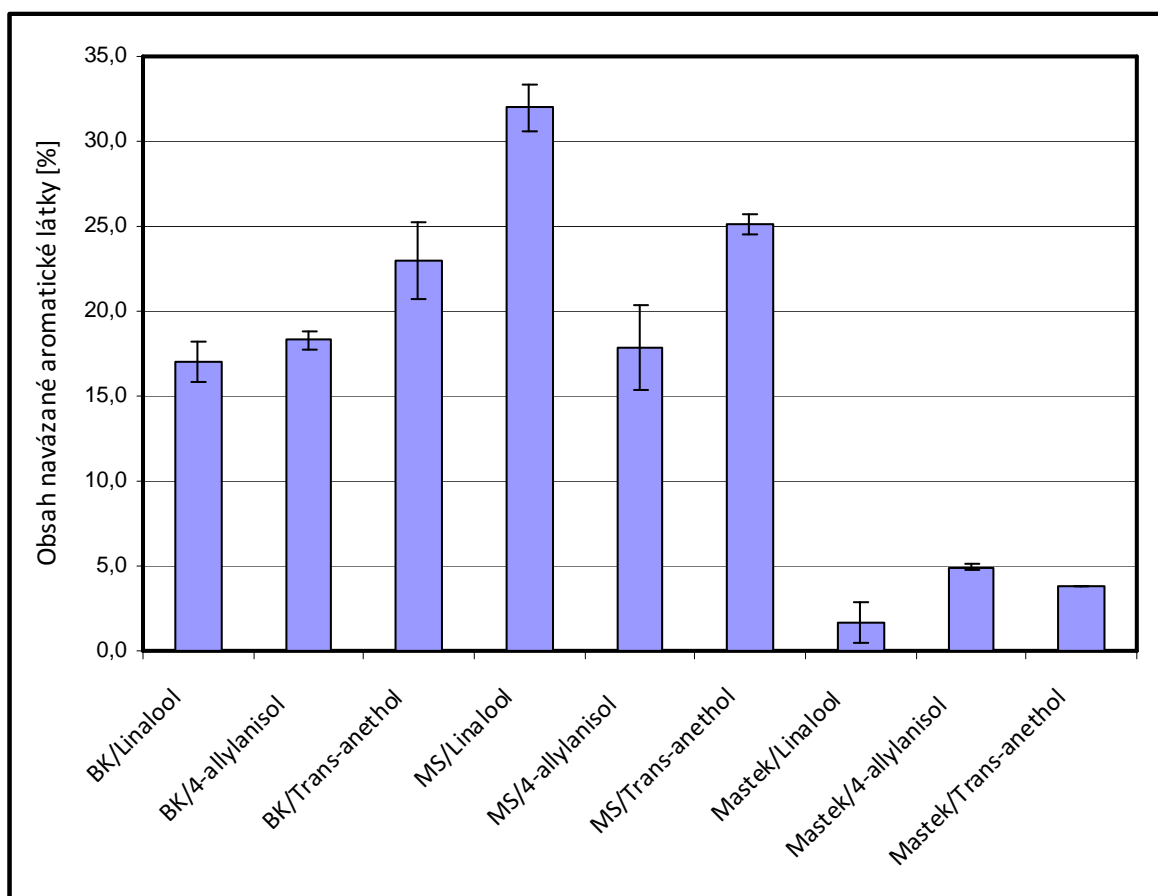
$$P = R_T \cdot l \quad (8)$$

Kde	l	aritmetický průměr tloušťky vzorku [cm]
	R_T	rychlost propustnosti daného plynu skrze vzorek [$\text{cm}^3 \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$]

9 VÝSLEDKY A DISKUZE

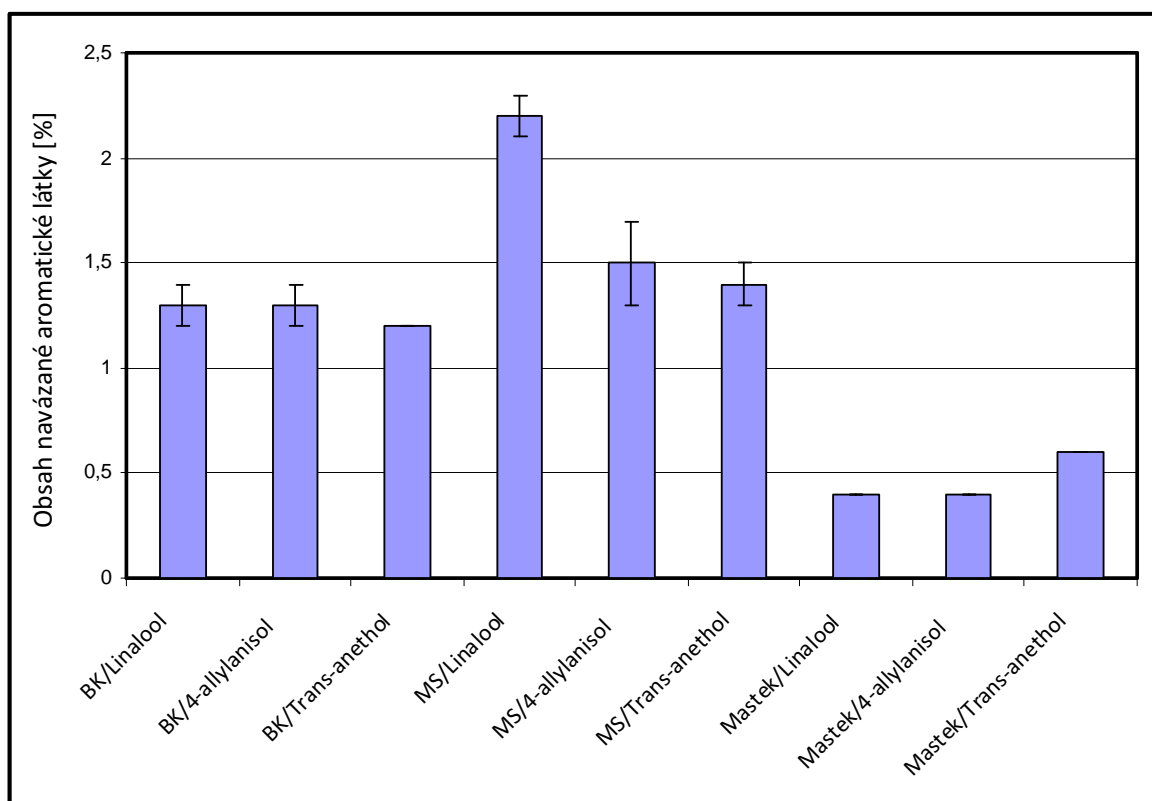
9.1 Množství navázané aromatické látky na pevném nosiči a na matrici polymeru

Toto stanovení bylo prováděno za účelem detekce přítomnosti aromatických látek jak na pevném nosiči po jejich imobilizaci, tak i v polymerní matrici po předešlé inkorporaci.



Graf 1 Obsah navázaných aromatických látek na inertním nosiči. Chybové úsečky naznačují směrodatnou odchylku (SD).

Graf č. 1 zobrazuje obsah bioaktivních látek navázaných na pevném nosiči. Jak je zde možno vidět, bioaktivní látky se relativně stejně úspěšně navazovaly na molekulová síta a dřevní moučku. Na molekulová síta se nejlépe navázal linalool (32 %), zatímco na dřevní moučku se nejlépe navázal *trans*-anethol (23 %). Výrazně hůře se bioaktivní látky navazovaly na pevný nosič mastek, na který se vůbec nejméně navázal linalool (1,6 %).



Graf 2 Obsah navázaných aromatických látek na matrici polymeru. Chybové úsečky naznačují směrodatnou odchylku.

Graf č. 2 zobrazuje množství bioaktivních látek navázaných na matrici polymeru. Koncentrace bioaktivních látek imobilizovaných na pevný nosič v matrici polymeru činila 20 % hm. Množství navázaných bioaktivních látek však nemusí přesně odpovídat, neboť existuje možnost, že se bioaktivní látky uzavřely do matrice polymeru.

Jak je z grafu 2 patrné, na matrici polymeru se nejlépe navázala bioaktivní látka linalool imobilizovaná na molekulová síta (2,2 %). Ostatní bioaktivní látky imobilizované na molekulová síta a dřevní moučku se na matrici polymeru navazovaly poměrně totožně. Nejméně úspěšně se ovšem na polymerní matrici navázal linalool imobilizovaný na pevný nosič mastek. Z bioaktivních látek imobilizovaných na nosič mastek se na matrici polymeru nejlépe navázal *trans*-anethol. Zdůvodněním může být fakt, že se *trans*-anethol hůře odpařuje, a proto nejsou ztráty po termoplastickém zapracování tak výrazné.

Z grafu 1 a 2 lze také vypočítat, že na polymerní matrici se v porovnání s pevnými nosiči navázalo výrazně nižší množství bioaktivních látek. Důvodem tohoto jevu je vytěkání bioaktivních látek při jejich procesu inkorporace do polymerní matrice termoplastickým způsobem, která probíhá za vysokých teplot.

Z těchto zjištění tedy vyplývá, že úspěšná imobilizace bioaktivních látek jak na pevný nosič, tak i na matici polymeru, závisí na volbě vhodného inertního nosiče, na jejich vzájemné afinitě a na těkavosti zvolených bioaktivních látek.

9.2 Vliv modifikace na antimikrobiální vlastnosti

Antimikrobiální vlastnosti připravených systémů byly testovány pomocí dvou metod, z nichž ta první (Kirby-Bauerův test) zohledňuje difúzi látek z polymeru, zatímco druhá metoda zohledňuje povrchovou interakci mezi materiálem a použitými bakteriemi.

Difúzní disková metoda (Kirby-Bauerův test)

Při této metodě byly testovány antimikrobiální vlastnosti kompozit obsahujících 20 % hm. aromatické látky imobilizované na pevný nosič. Po stanovené době inkubace nebyly pozorovány žádné zóny inhibice. Důvodem tohoto jevu je nízká koncentrace aromatických látek v matici polymeru (viz. graf 2), které difundují do agarové plotny.

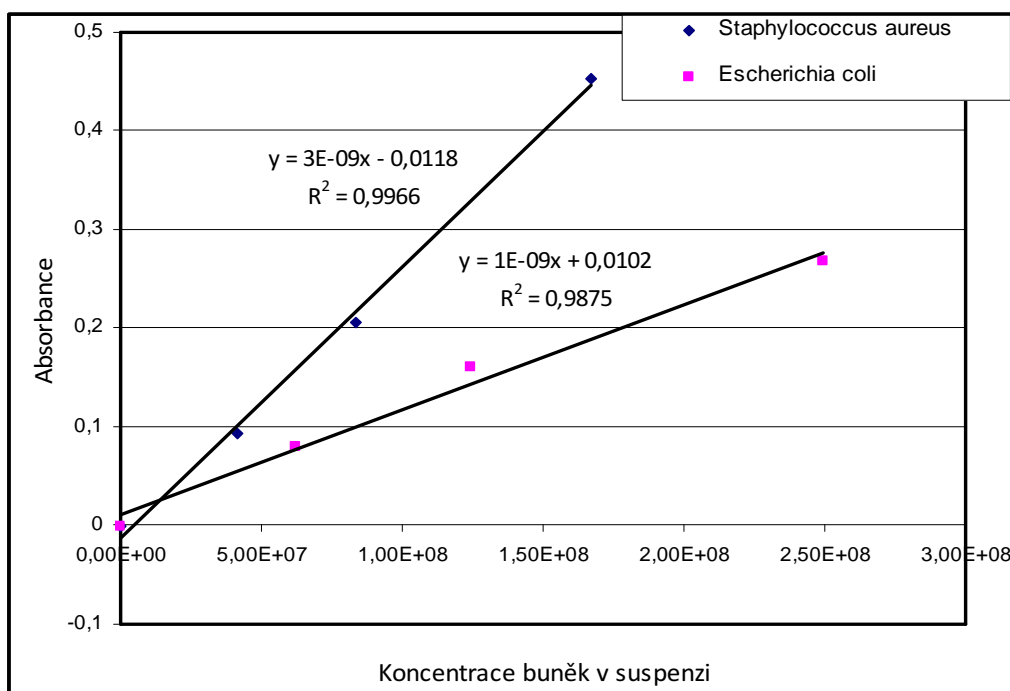
Difúzní diskovou metodu tedy nelze aplikovat ve všech případech. Příkladem mohou být materiály, ze kterých nedifundují antibakteriální částice nebo se z matrice polymeru uvolňují jen částečně a působí na povrchu materiálu. Proto byla zvolena jiná metoda umožňující zhodnotit pouze povrchovou antibakteriální aktivitu (ISO 22196).

Testování antibakteriální aktivity kompozit dle normy ISO 22196:2007

Tabulka 8 Rovnice přímky a hodnoty spolehlivosti při vlnové délce u *E. coli* a *S. aureus*

Vlnová délka λ	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	Rovnice přímky	Spolehlivost	Rovnice přímky	Spolehlivost
470	$y=1.10^{-9}x+0,0172$	R=0,9827	$y=4.10^{-9}x-0,009$	R=0,9988
500	$y=1.10^{-9}x+0,014$	R=0,9849	$y=3.10^{-9}x-0,0108$	R=0,9979
550	$y=1.10^{-9}x+0,0102$	R=0,9875	$y=3.10^{-9}x-0,0118$	R=0,9966
600	$y=9.10^{-10}x+0,0058$	R=0,9913	$y=2.10^{-9}x-0,0150$	R=0,9927
650	$y=8.10^{-10}x+0,0040$	R=0,9931	$y=2.10^{-9}x-0,0144$	R=0,9905
700	$y=7.10^{-9}x+0,0028$	R=0,9935	$y=2.10^{-9}x-0,0144$	R=0,9880

Z Tabulky 8 je patrné, že nejvyšší hodnoty spolehlivosti (R) vykazovaly MO při vlnové délce 550 nm, a proto je kalibrační křivka (viz. Graf 3) sestavena při této vlnové délce.



Graf 3 Křivka závislosti absorbance na koncentraci buněk v suspenzi při $\lambda=550$ nm.

Tabulka 9 Antibakteriální aktivita daných kompozit proti růstu *Staphylococcus aureus*

Vzorky	CFU	log CFU	% úbytek *	% úbytek **	R
BK/Linalool	231,6	2,4	94,2	34,3	1,2
BK/4-allylanisol	0,3	-0,6	100,0	100,0	4,2
BK/Trans-anethol	633,2	2,8	84,0	22,1	0,8
MS/Linalool	144,8	2,2	96,3	39,9	1,4
MS/4-allylanisol	189,2	2,3	95,2	36,7	1,3
MS/Trans-anethol	110,3	2,0	97,2	43,2	1,6
Mastek/Linalool	78688,5	4,9	0,0	0,0	0,0
Mastek/4-allylanisol	0,4	-0,4	100,0	100,0	4,0
Mastek/Trans-anethol	4056,8	3,6	0,0	0,0	0,0
Čistý LDPE	3959,3	3,6	0,0	0,0	0,0

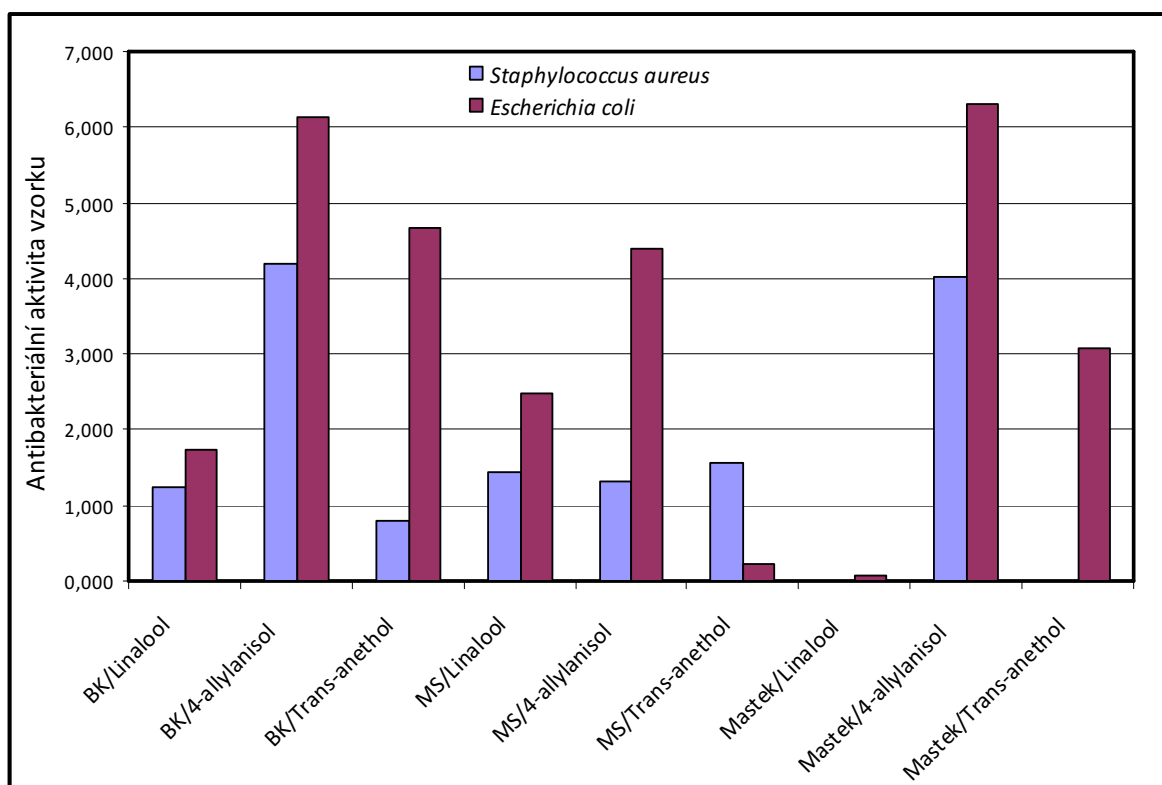
* Procentuální úbytek kolonií v porovnání z čistým LDPE vypočítaný z hodnot CFU

** Procentuální úbytek kolonií v porovnání z čistým LDPE vypočítaný z hodnot log CFU

Stejně vysvětlivky platí i pro následující Tabulku 10.

Tabulka 10 Antibakteriální aktivita daných kompozit proti růstu *Escherichia coli*

Vzorky	CFU	log CFU	% úbytek *	% úbytek **	R
BK/Linalool	9582,3	4,0	98,2	30,3	1,7
BK/4-allylanisol	0,4	-0,4	100,0	100,0	6,1
BK/Trans-anethol	11,2	1,0	100,0	81,6	4,7
MS/Linalool	1750,0	3,2	99,7	43,2	2,5
MS/4-allylanisol	20,5	1,3	100,0	77,1	4,4
MS/Trans-anethol	305681,8	5,5	41,0	4,0	0,2
Mastek/Linalool	439772,7	5,6	15,1	1,2	0,1
Mastek/4-allylanisol	0,3	-0,6	100,0	100,0	6,3
Mastek/Trans-anethol	436,5	2,6	99,9	53,8	3,1
Čistý LDPE	518099,5	5,7	0,0	0,0	0,0



Graf 4 Porovnání antibakteriální aktivity vzorků proti růstu *S. aureus* a *E. coli*.

Graf č. 4 zobrazuje porovnání antibakteriální aktivity (R) připravených vzorků proti růstu *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* vypočítané na základě rovnice 6 a uvedené v Tabulkách 9 a 10. Byla zde měřena antibakteriální aktivita kompozit, u kterých koncentrace bioaktivních látek imobilizovaných na pevný nosič činila 20 % hm. Z normy ISO 22196:2007 vyplývá, že čím vyšší je hodnota R, tím lepší je antibakteriální aktivita kompozit.

Z grafu 4 vyplývá, že připravené vzorky lépe inhibují růst gramnegativní bakterie *Escherichia coli*, přičemž výjimku zde tvoří pouze vzorek MS/*trans*-anethol. Proti růstu *Escherichia coli* byl nejvíce efektivní kompozit LDPE/mastek/4-allylanisol ($R=6,3$) a naopak nejméně inhibičně zde působil LDPE/mastek/linalool ($R=0,1$). Proti růstu grampozitivní bakterie *Staphylococcus aureus* byl nejvíce účinný kompozit LDPE/BK/4-allylanisol, který dle Tabulky 9 vykazoval nejvyšší hodnotu R (4,2). Kompozity obsahující mastek/linalool a mastek/*trans*-anethol nevykazovaly proti růstu *Staphylococcus aureus* žádnou antibakteriální aktivitu. Důvodem může být velmi málo účinný proces imobilizace bioaktivních látek na nosič mastek, a z toho plynoucí jejich nižší koncentrace ve výsledných kompozitech, což je také možno vidět v grafu 2.

Obecně nejvyšší antibakteriální aktivitu vykazovaly kompozity obsahující 4-allylanisol. Tento závěr vyplývá i ze studie publikované Suppakulem a kol. [58].

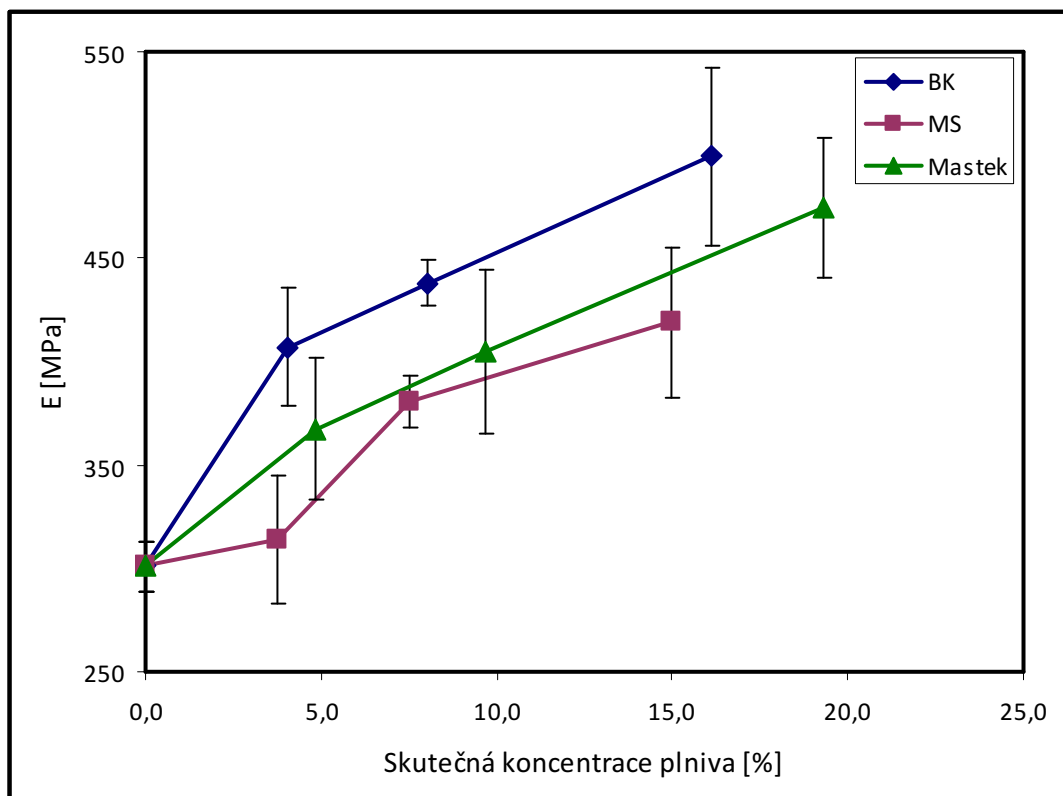
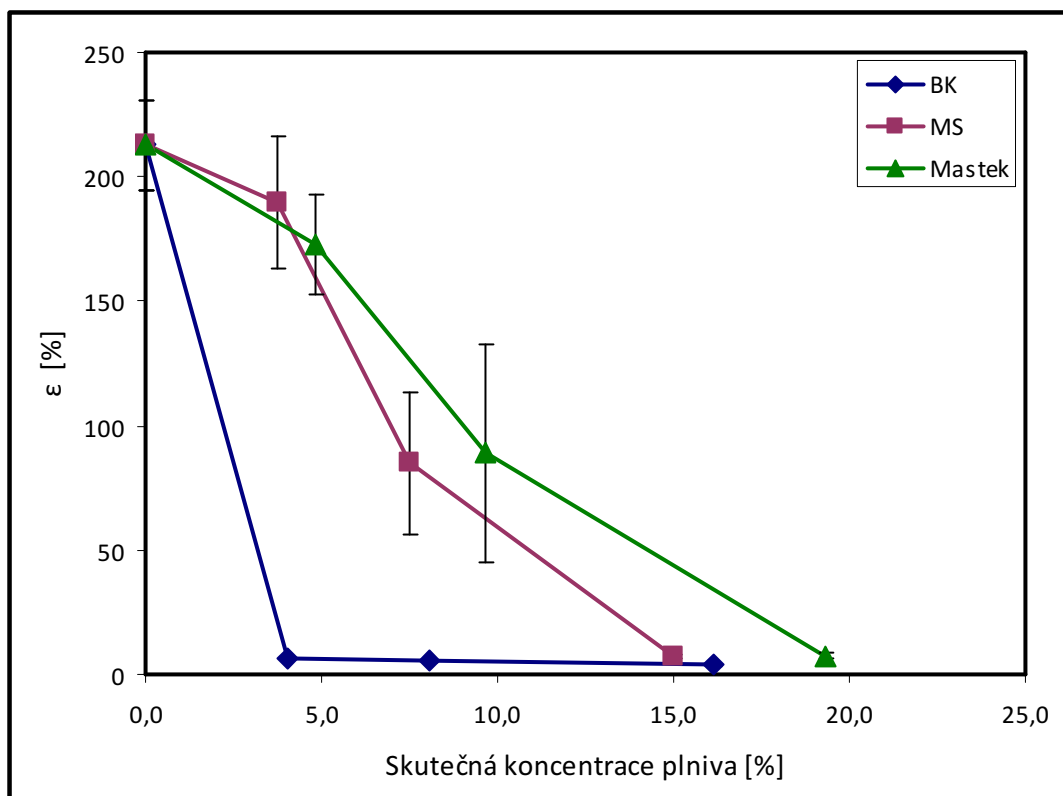
Z uvedených zjištění tedy vyplývá, že antibakteriální aktivita vzorků je závislá na několika faktorech, především na :

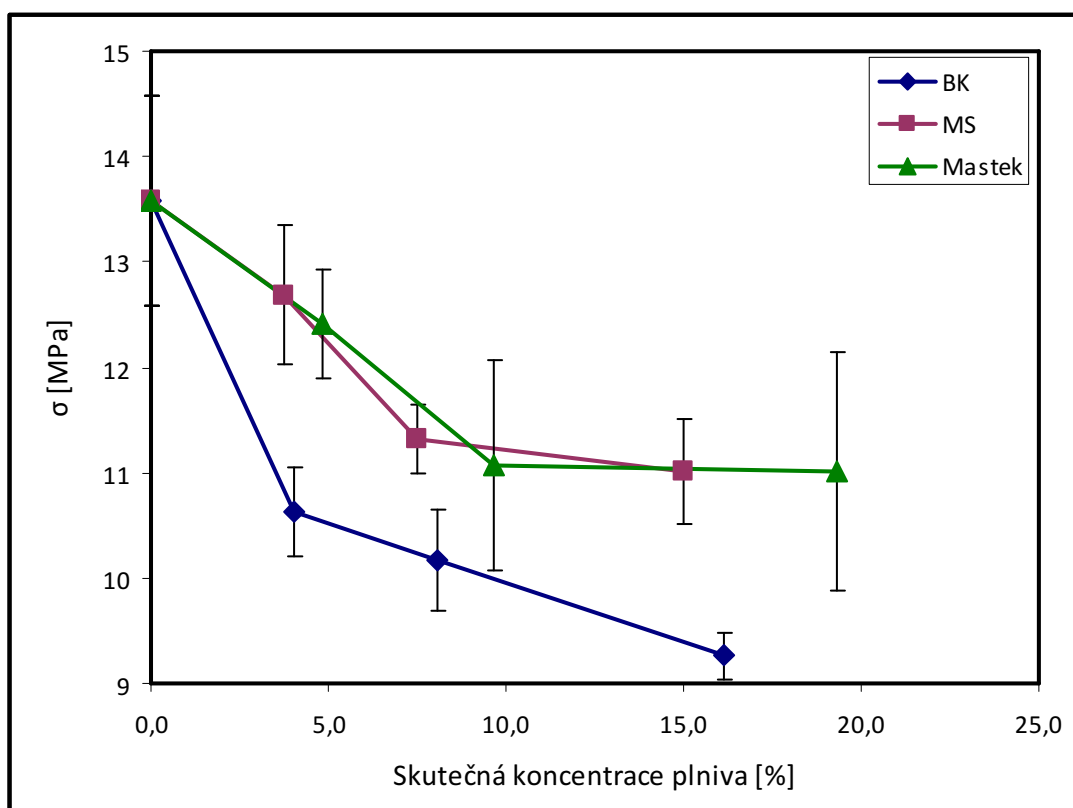
- antibakteriální aktivitě čisté bioaktivní látky a jejích fyzikálně-chemických vlastnostech (např. těkavosti),
- účinnosti imobilizace bioaktivních látek na inertní nosiče,
- konečné koncentraci bioaktivních látek po jejich inkorporaci do polymerní matrice.

9.3 Změny mechanických vlastností v důsledku přítomnosti nosičů

Tabulka 11 Přepočítaná koncentrace sorbentů ve vzorcích pro stanovení tahových vlastností

Vzorek	Přepočítaná koncentrace sorbentů [%]
Čistý LDPE	-
BK 5 %	4,0
BK 10 %	8,1
BK 20 %	16,1
MS 5 %	3,7
MS 10 %	7,5
MS 20 %	15,0
Mastek 5 %	4,8
Mastek 10 %	9,7
Mastek 20 %	19,3

Graf 5 Závislost modulu pružnosti (E) na reálné koncentraci plnivaGraf 6 Závislost max. pevnosti v tahu (σ) na reálné koncentraci plniva



Graf 7 Závislost poměrného prodloužení při přetržení (ϵ) na reálné koncentraci plniva

Grafy 5-7 zobrazují tahové vlastnosti připravených kompozit vyjádřené jako závislosti modulu pružnosti, max. pevnosti v tahu a poměrného prodloužení při přetržení na koncentraci plniva.

Jak je možno vidět v grafu č. 2, množství navázaných bioaktivních látek na matrici polymeru bylo zanedbatelné, a proto jsou naměřené hodnoty mechanických vlastností vztaženy pouze k hmotě nosičů (viz. Tabulka 11). Z grafu 5-7 je patrné, že vzorek LDPE bez modifikace v porovnání s ostatními kompozity vykazoval relativně nižší hodnotu E (301 MPa) a vyšší hodnoty σ (14 MPa) a ϵ (213 %). Zvýšená hodnota modulu pružnosti (E) u kompozit se zároveň s rostoucí koncentrací plniva zvyšuje. Vůbec nejvyšší hodnotu E vykazoval vzorek BK 20 % (499 MPa), jehož hodnota se v porovnání s LDPE bez modifikace zvýšila o přibližně 66 %. Tentýž vzorek však vykazoval celkově nejnižší hodnotu σ (9 MPa) a ϵ (4 %). Jak je též z grafů 6 a 7 patrné, se zvyšující se koncentrací plniva v systémech dochází k poklesu hodnot σ a ϵ .

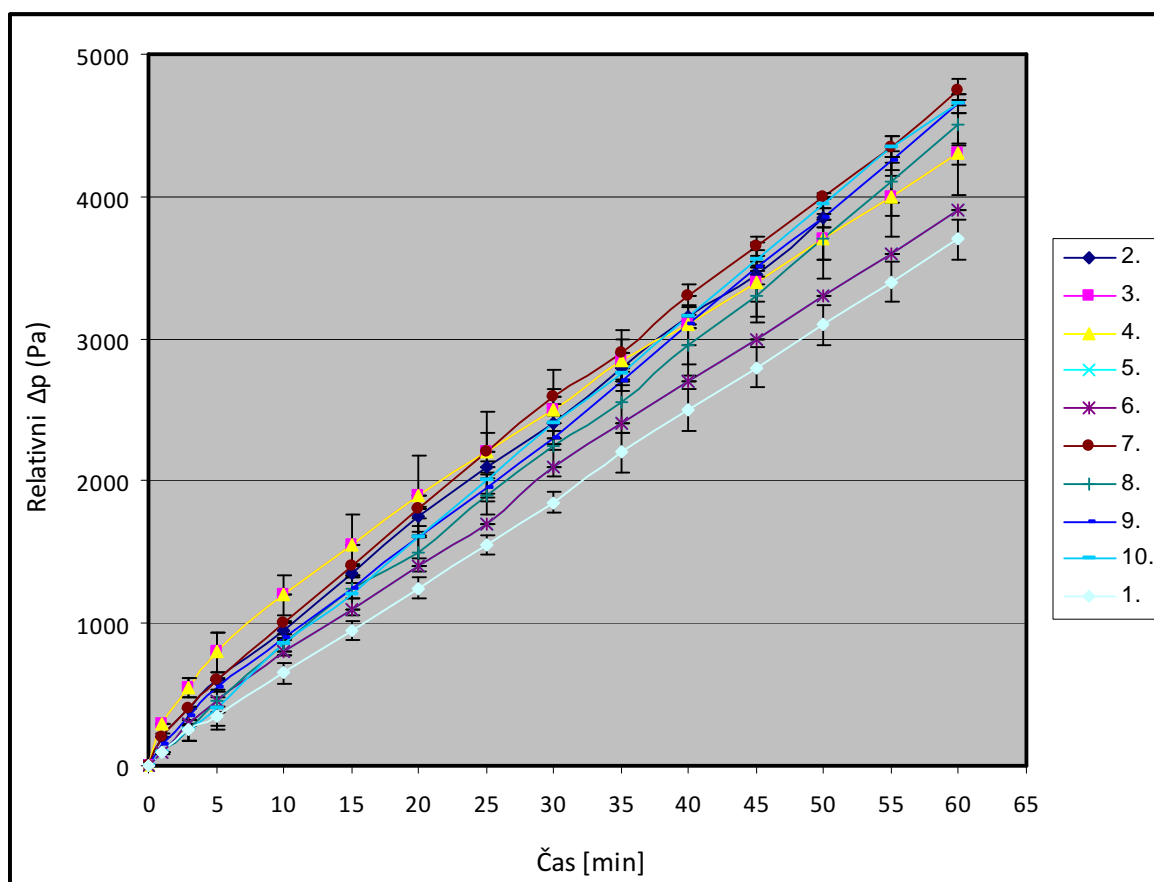
U kompozit obsahujících dřevní moučku lze zaznamenat výrazně nižší hodnoty ϵ a σ v porovnání s kompozity obsahující MS a mastek. Důvodem může být vyšší velikost

částic dřevní moučky (300-500 μm). Z grafů 5-7 lze vypočítat, že kompozity obsahující MS a mastek vykazovaly relativně stejné tahové vlastnosti.

Ze zde uvedených zjištění tedy vyplývá, že mechanické vlastnosti kompozit závisí na druhu plniva, velikosti jeho částic a na koncentraci plniva v polymerní matici.

9.4 Bariérové vlastnosti připravených systémů

Měření bariérových vlastností probíhalo u kompozit obsahujících 5, 10 a 20 % hm. BK, MS a mastku. Testování bariérových vlastností bylo prováděno v souladu s předpokladem, že tato charakteristika je závislá pouze na typu a koncentraci sorbentu (ne terpenoidů) ve výsledných kompozitech, stejně jako u mechanických vlastností.



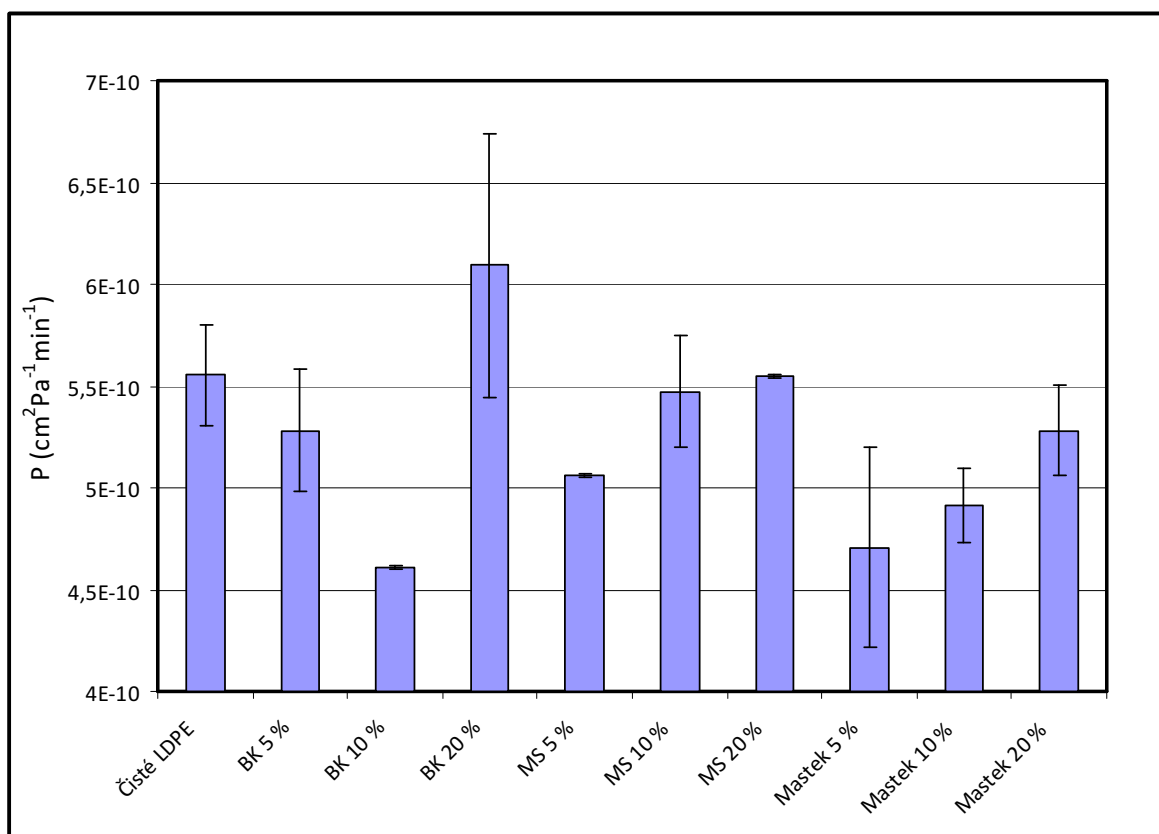
Graf 8 Porovnání časových závislostí změny tlaku (Δp) pro měřené vzorky (popis vzorku viz. níže Tabulka 12). Chybové úsečky označují směrodatnou odchylku.

Graf č. 8 zobrazuje porovnání časových závislostí změny tlaku pro měřené vzorky. Relativní změna tlaku je vztažena na počáteční tlak v komoře č. 2., což nám umožňuje porovnávat mezi sebou měřené vzorky. Z grafu č. 8 tedy můžeme vypočítat,

že nejvýraznější změna tlaku byla zaznamenána v případě vzorku č. 7 (MS 20 %). Naopak nejmenší změnu tlaku vykazoval vzorek č. 1 (LDPE bez modifikace).

Tabulka 12 Hodnoty rychlosti propustnosti plynu skrze vzorek vypočítané na základě rovnice 7

Č. vzorku	Popis vzorků	$R_T \cdot 10^{-8}$ [cm ³ .cm ⁻² .min ⁻¹ .Pa ⁻¹]	Směr. odchylka . 10 ⁻⁹ [cm ³ .cm ⁻² .min ⁻¹ .Pa ⁻¹]
1.	LDPE bez modifikace	0,975	0,437
2.	BK 5 %	1,119	0,628
3.	BK 10 %	1,014	0,015
4.	BK 20 %	1,268	1,350
5.	MS 5 %	1,036	0,022
6.	MS 10 %	1,143	0,555
7.	MS 20 %	1,198	0,573
8.	Mastek 5 %	1,053	1,100
9.	Mastek 10 %	1,132	0,420
10.	Mastek 20 %	1,218	0,511



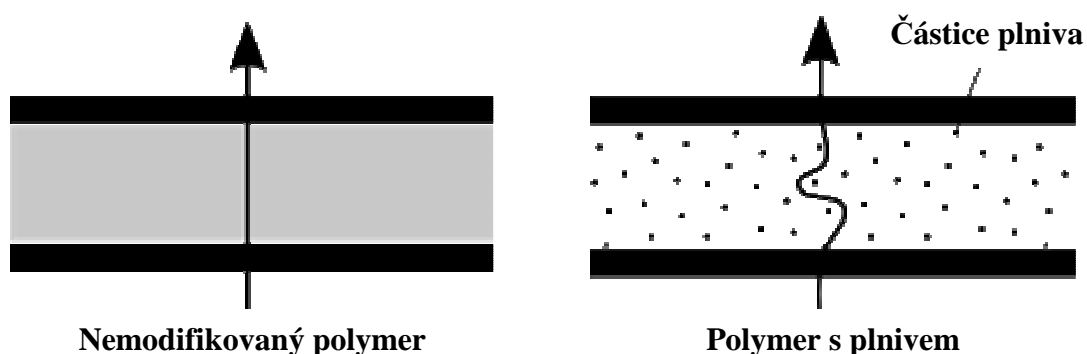
Graf 9 Porovnání permeačních koeficientů pro jednotlivé vzorky vypočítaných na základě rovnice 8. Chybové úsečky označují směrodatnou odchylku.

Graf č. 9 zobrazuje porovnání permeačních koeficientů pro jednotlivé vzorky. Nejnižší permeační koeficient zde vykazoval vzorek č. 3 obsahující 10 % hm. BK, a naopak nejvyšší permeační koeficient byl pozorován u vzorku č. 4 (BK 20 %)

Jak je možno vidět v Tabulce 12, nejnižší hodnotu R_T vykazoval vzorek č. 1 (LDPE bez modifikace), což by mohlo vést k úvaze, že ze všech měřených vzorků má nejlepší bariérové vlastnosti. U téhož vzorku však graf č. 9 ukazuje pravý opak a vzorek č. 1 vykazoval druhý nejhorší permeační koeficient. Důvodem je zohlednění tloušťky měřeného vzorku, která zde klade překážku k migraci plynných molekul vzduchu. Logicky je možno usoudit, že čím větší je tloušťka vrstvy, tím se zhoršují podmínky pro transport plynu skrze vzorek. Permeační koeficient, tedy na rozdíl od stanovení rychlosti propustnosti, počítá ve svém vzorci s tloušťkou vrstvy (viz. rovnice 8), což nám následně umožňuje zohlednit a porovnat mezi sebou vlastnosti konkrétních obalových materiálů, což je z hlediska použití v praxi nesmírně přínosné.

Nesmí zde být opomenut také vliv koncentrace plniva na bariérové vlastnosti vzorků. Dle teorie propustnosti plynu a páry skrze vzorek, by lepší bariérové vlastnosti měly vykazovat kompozity s vyšší koncentrací plniva, neboť částice plniva kladou překážku difundujícímu plynu (viz. Obrázek 10) [77]. Z grafu č. 9 je však možno vypočítat několik závěrů:

- Se zvyšující se koncentrací dřevní moučky v polymerní matrici, klesá permeační koeficient jen do 10 % hm. Při koncentraci BK 20 % hm. dochází ke zvýšení permeačního koeficientu z důvodu vzniku nehomogenity ve struktuře vzorku, díky čemuž je pak efektivita plniva redukována.
- Přítomnost MS v systémech ve srovnání s čistým LDPE snižuje permeační koeficient. Nicméně vzorek obsahující 20 % hm. MS vykazuje podobné hodnoty permeačního koeficientu jako nemodifikovaný LDPE, což je způsobeno lokální aglomerací plniva.
- Také přítomnost mastku v kompozitech ve srovnání s čistým LDPE snižuje permeační koeficient. Ze statistického hlediska je ovšem permeační koeficient u vzorků obsahujících mastek nejméně závislý na koncentraci plniva.



Obrázek 10 Teorie vlivu plniva na propustnost materiálů pro plyny

ZÁVĚR

Na základě zadání byla vypracována diplomová práce zabývající se imobilizací biologicky aktivních látek do polymerní matrice, díky čemuž jsou získány antimikrobiálně modifikované materiály, které mohou nacházet uplatnění jako potravinářské obaly.

Antimikrobiálně modifikované obaly jsou velmi slibným druhem aktivních obalů, jelikož jsou možnou prevencí vzniku mikrobiálního osídlování. Mikroorganismy, které na plastovém povrchu vytváří biofilm, mohou pronikat do potravin, kde jsou pak častou příčinou vzniku alimentárních onemocnění. Tato onemocnění mohou být pro lidské zdraví velmi nebezpečná. Jak je uvedeno v teoretické části práce, antimikrobiální modifikace plastů je možná přírodními i syntetickými látkami. Tato diplomová práce se ve své praktické části zabývala modifikací běžně používaného plastu (LDPE) pomocí látek, které je možno získat z přírodních surovin. Trend použití těchto látek je v současné době na vzestupu. Za tímto účelem byly použity látky ze skupiny aromatických látek – alkoholů (linalool) a etherů (*trans*-anethol a 4-allylanisol), které se přirozeně vyskytují v mnoha rostlinách, kořeních či ovoci. Modifikace polymeru byla provedena imobilizací příslušných aromatických látek na pevné nosiče (mastek, molekulová síta a dřevní moučku) a jejich následnou inkorporací do polymerní matrice termoplastickým způsobem. U takto připravených kompozitů bylo nejprve nutno stanovit množství navázaných biologicky aktivních látek na pevných nosičích a v matrici polymeru. Následně byl také testován vliv modifikace na antimikrobiální, bariérové a mechanické vlastnosti.

Bylo zde zjištěno, že zvolené bioaktivní látky se nejlépe navazovaly na molekulová síta a na dřevní moučku. Výrazně hůře se bioaktivní látky navazovaly na nosič mastek, z čehož vyplývá, že pro použití v praxi není tento nosič příliš vhodný. Po termoplastickém zpracování bylo množství bioaktivních látek navázaných na polymerní matrici v porovnání s jejich množstvím navázaným na inertní nosič výrazně nižší. Příčinou tohoto jevu je jejich vytěkaní při inkorporaci do polymerní matrice, která probíhá za vysokých teplot.

Antibakteriální aktivita připravených kompozitů, hodnocená dle normy ISO 22196, ukazuje na účinnější inhibici růstu gramnegativní bakterie *Escherichia coli* oproti grampozitivní bakterii (*Staphylococcus aureus*). Nejvíce efektivní proti růstu těchto bakterií byly kompozity obsahující 4-allylanisol. Bylo rovněž potvrzeno, že antibakteriální

aktivita kompozitů je závislá na druhu sorbentu, na který jsou biologicky aktivní látky imobilizovány, a tedy i na jejich výsledné koncentraci v systému.

Hodnocení mechanických vlastností bylo prováděno dle normy ČSN EN ISO 527-1-3. Při testování tahových vlastností bylo zjištěno, že výsledné mechanické vlastnosti jsou především závislé na koncentraci sorbentu v systémech. U antimikrobiálně modifikovaných plastů byla v porovnání s LDPE bez modifikace pozorována jejich zvýšená hodnota modulu pružnosti, a naopak nižší hodnoty max. pevnosti v tahu a poměrného prodloužení při přetržení. Hodnoty modulu pružnosti se s rostoucí koncentrací sorbentu v systémech zvyšovaly. Bylo též potvrzeno, že kompozity obsahující dřevní moučku vykazují špatné tahové vlastnosti, a tudíž pro praktické aplikace není tento sorbent příliš vhodný.

Na základě normy ČSN EN ISO 2556 byla také hodnocena účinnost bariérových vlastností antimikrobiálně modifikovaných plastů v porovnání se vzorkem LDPE bez modifikace. Nejnižší hodnotu permeačního koeficientu vykazoval vzorek č. 3 (BK 10 %). Obecně bylo zjištěno, že přítomnost sorbentu v systémech snižuje permeační koeficient (zlepšuje bariérové vlastnosti) oproti čistému polymeru až do překročení určité koncentrace, která vede ke vzniku nehomogenity ve struktuře vzorku.

Ze zde uvedených závěrů tedy vyplývá, že nejvhodnější antimikrobiální modifikátor plastů je 4-allylanisol imobilizovaný na molekulová síta.

Získané výsledky naznačují perspektivní aplikovatelnost testovaných systémů pro obalové aplikace, kdy výstupem je materiál zpracovatelný pomocí konvenčních technik. Navíc ve srovnání s nemodifikovaným plastem vykazují testované kompozity velmi dobré antimikrobiální aktivity, popř. srovnatelné vlastnosti z pohledu mechanických a bariérových charakteristik.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] COLES, Richard, Derek MCDOWELL a Mark KIRWAN. *Food packaging technology*. Oxford: Blackwell, 2003, 346 s. ISBN 18-412-7221-3.
- [2] HAN, Jung. H. *Innovations in Food Packaging*. Amsterdam: Academic Press, 2005, 503 s. ISBN 978-0-12-311632-1.
- [3] ŠTĚPEK, Jiří. *Polymery v obalové technice*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1981, 530 s.
- [4] MLEZIVA, Josef a Jaromír ŠŇUPÁREK. *Polymery : výroba, struktura, vlastnosti a použití*. 2. přeprac. vyd. Praha: Sobotáles, 2000, 537 s. ISBN 80-859-2072-7.
- [5] KIRWAN, Mark J. a John W. STRAWBRIDGE. *Plastics in food packaging*. V: COLES, Richard. *Food packaging technology*. Oxford: Blackwell, 2003, s. 174-240. ISBN 1841272213.
- [6] HERNANDEZ, Ruben, John CULTER a Susan SELKE. *Plastics packaging : properties, processing, applications, and regulations*. 2. vyd. Mnichov: Hanser, 2004, 448 s. ISBN 15-699-0372-7.
- [7] CROMPTON, T. *Additive migration from plastics into food*. New York: Pergamon Press, 1979, 234 s. ISBN 00-802-2465-2.
- [8] VESELÝ, Karel. *Polymery : struktura, syntézy, vlastnosti, zpracování*. Brno : Česká společnost průmyslové chemie, 1992, 177 s. ISBN 80-020-0951-7.
- [9] DOLEŽAL, Vladimír. *Plastické hmoty*. 3., přeprac. a dopl. vyd. Praha : SNTL, 1977, 385 s. ISBN 04-605-77
- [10] BESWICK, Richard H. D. a David J. DUNN. *Plastics in Packaging - Western Europe and North America*. Shrewsbury: Rapra Technology Ltd, 2002, 156 s. ISBN 18-595-7329-0.
- [11] KOVAČIČ, Ľudomír a Jaroslav BÍNA. *Plasty- vlastnosti, spracovanie, využitie*. Bratislava: Alfa, 1974, 340 s.
- [12] KOMPRDA, Tomáš. *Obecná hygiena potravin*. Dotisk 1. vyd. [i.e. 2. vyd.]. Brno : Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007, 148 s. ISBN 978-80-7375-059-6

- [13] PAINE, Frank A., Heather Y. PAINE. *Handbook of food packaging*. 2. vyd. Springer, 1993, 516 s. ISBN 02-169-3210-6.
- [14] BUŇKOVÁ, Leona, a Magda DOLEŽALOVÁ. *Obecná mikrobiologie*. Zlín : Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2007, 190 s. ISBN 978-80-7318-516-9.
- [15] KERRY, Joseph a Paul BUTLER. *Smart packaging technologies for fast moving consumer goods*. Wiley, 2008, 356 s. ISBN 04-700-2802-5.
- [16] DAVEY, M. E. a G. A. O'TOOLE. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2000-12-01, roč. 64, č. 4, s. 847-867. ISSN 1092-2172. DOI: 10.1128/MMBR.64.4.847-867.2000.
- [17] MAH, Thien-Fah C a George A O'TOOLE. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in Microbiology*. 2001, roč. 9, č. 1, s. 34-39. ISSN 0966842X. DOI: 10.1016/S0966-842X(00)01913-2.
- [18] ARCIOLA, Carla Renata, Lucilla BALDASSARRI a Lucio MONTANARO. In catheter infections by *Staphylococcus epidermidis* the intercellular adhesion (ica) locus is a molecular marker of the virulent slime-producing strains. *Journal of Biomedical Materials Research*. 2002-03-05, roč. 59, č. 3, s. 557-562. ISSN 0021-9304. DOI: 10.1002/jbm.10006.
- [19] NIVENS, D E, R J PALMER a D C WHITE. Continuous nondestructive monitoring of microbial biofilms: A review of analytical techniques. *Journal of Industrial Microbiology*. 1995, roč. 15, č. 4, s. 263-276. ISSN 0169-4146. DOI: 10.1007/BF01569979.
- [20] MATTILA-SANDHOLM, Tiina a Gun WIRTANEN. Biofilm formation in the industry: A review. *Food Reviews International*. 1992, roč. 8, č. 4, s. 573-603. ISSN 8755-9129. DOI: 10.1080/87559129209540953.
- [21] POULSEN, Lena Venø. Microbial Biofilm in Food Processing. *LWT - Food Science and Technology*. 1999, roč. 32, č. 6, s. 321-326. ISSN 00236438. DOI: 10.1006/fstl.1999.0561.
- [22] CHMIELEWSKI, R. A. N. a J. FRANK. *Comprehensive reviews in food science and food safety: biofilm formation and control in food processing facilities institute of food technologies*. 2. vyd. North America: Willey-blackwell, 2010, 488 s. ISBN 978-1-4051-8740-4.

[23] ZOTTOLA, E. A. a K. C. SASAHARA. Microbial biofilms in the food processing industry : Should they be a concern?. Department of Food Science and Nutrition. *University of Minnesota*. 1994, roč. 23, č. 2, s. 125-148. PMID: 7848776.

[24] DAVIES, D. G. The Involvement of Cell-to-Cell Signals in the Development of a Bacterial Biofilm. *Science*. roč. 280, č. 5361, s. 295-298. ISSN 00368075. DOI: 10.1126/science.280.5361.295.

[25] Introductions to biofilms: What are biofilms?. *Biofilmbook* [online]. © 2001-2008 [cit.2012-04-07]. Dostupné z: <http://biofilmbook.hypertextbookshop.com/v003/r002/contents/chapters/chapter001/section001/green/page001.html>

[26] AHVENAINEN, Raija. *Novel food packaging techniques*. Cambridge: Woodhead, 2003, 590 s. Woodhead Publishing in food science and technology. ISBN 1855736756.

[27] APPENDINI, Paola a Joseph H. HOTCHKISS. Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science*. 2002, roč. 3, č. 2, s. 113-126. ISSN 14668564. DOI: 10.1016/S1466-8564(02)00012-7.

[28] STEVEN, D. M. a J. H. HOTCHKISS. Non-migratory bioactive polymers in food packaging. V: AHVENAINEN, Raija. *Novel food packaging techniques*. Boca Raton: CRC Press, 2003, s. 71-103. ISBN 978-1-85573-675-7.

[29] OTGONZUL, Onon. *Bioactive polymeric systems for food and medical packaging applications*. Zlín, 2010. 128 s. Disertační práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Vedoucí práce prof. Ing. Sába Petr, CSc.

[30] PAULUS, Wilfried. *Directory of microbicides for the protection of materials: a handbook*. Dordrecht: Springer, 2005, 650 s. ISBN 978-1402028175

[31] SAMBHY, Varun, Megan M. MACBRIDE, Blake R. PETERSON a Ayusman SEN. Silver Bromide Nanoparticle/Polymer Composites: Dual Action Tunable Antimicrobial Materials. *Journal of the American Chemical Society*. 2006, roč. 128, č. 30, s. 9798-9808. ISSN 0002-7863. DOI: 10.1021/ja061442z.

[32] HARDES, J, H AHRENS, C GEBERT, A STREITBUERGER, H BUERGER, M ERREN, A GUNSEL, C WEDEMEYER, G SAXLER a W WINKELMANN. Lack of

toxicological side effects in silver coated megaprotheses in humans. *Biomaterials*. 2007, roč. 28, č. 18, s. 2869-2875. ISSN 01429612. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2007.02.033.

[33] IP, Margaret, Sau Lai LUI, Vincent K. M. POON, Ivan LUNG a Andrew BURD. Antimicrobial activities of silver dressings: an in vitro comparison. *Journal of Medical Microbiology*. 2006-01-01, roč. 55, č. 1, s. 59-63. ISSN 0022-2615. DOI: 10.1099/jmm.0.46124-0.

[34] SAWAI, J. Hydrogen peroxide as an antibacterial factor in zinc oxide powder slurry. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 1998, roč. 86, č. 5, s. 521-522. ISSN 0922338X. DOI: 10.1016/S0922-338X(98)80165-7.

[35] YAMAMOTO, O. Influence of particle size on the antibacterial activity of zinc oxide. *International Journal of Inorganic Materials*. 2001, roč. 3, č. 7, s. 643-646. ISSN 14666049. DOI: 10.1016/S1466-6049(01)00197-0.

[36] ADAMS, Laura K., Delina Y. LYON a Pedro J.J. ALVAREZ. Comparative ecotoxicity of nanoscale TiO₂, SiO₂, and ZnO water suspensions. *Water Research*. 2006, roč. 40, č. 19, s. 3527-3532. ISSN 00431354. DOI: 10.1016/j.watres.2006.08.004.

[37] BAKHTIAR, R a E OCHIAI. Pharmacological applications of inorganic complexes. *General Pharmacology*. 1999, roč. 32, č. 5, s. 525-540. ISSN 03063623. DOI: 10.1016/S0306-3623(98)00223-7.

[38] LEE, Dong Sun. Packaging containing natural antimicrobial or antioxidative agents. HAN, Jung H. *Innovations in food packaging*. Californie: Elsevier Academic, 2005, s. 108-122. ISBN 0-12-311632-5.

[39] SOBRINO-LÓPEZ, A. a O. MARTÍN-BELLOSO. Use of nisin and other bacteriocins for preservation of dairy products. *International Dairy Journal*. 2008, roč. 18, č. 4, s. 329-343. ISSN 09586946. DOI: 10.1016/j.idairyj.2007.11.009.

[40] FANG, Tony J. a Lo-Wei LIN. Growth of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fragi* on Cooked Pork in a Modified Atmosphere Packaging/Nisin Combination System. *Journal of Food Protection*. 1994, roč. 57, č. 6, s. 479-485(7).

[41] MING, Xintain, George H. WEBER, James W. AYRES a William E. SANDINE. Bacteriocins Applied to Food Packaging Materials to Inhibit *Listeria monocytogenes* on Meats. *Journal of Food Science*. 1997, roč. 62, č. 2, s. 413-415. ISSN 0022-1147. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1997.tb04015.x.

- [42] KATAN, Leonard L. Introduction. V: KATAN, Leonard L. *Migration from food contact materials*. New York: Blackie Academic, 1996, s. 1-10. ISBN 0751402370.
- [43] LEE, Dong Sun, Kit L YAM a Luciano PIERGIOVANNI. *Food packaging science and technology*. Boca Raton: CRC Press, 2008, 631 s. ISBN 08-247-2779-7.
- [44] BROWN, Helen a James WILLIAMS. Packaged product quality and shelf life. V: COLES, Richard. *Food packaging technology*. Oxford : Blackwell Publ., 2003. 346 s. ISBN 1841272213.
- [45] ROONEY, Michael L. *Active food packaging*. New York: Blackie Academic, 1995, 260 s. ISBN 07-514-0191-9.
- [46] CHOUDHRY, M. S., F. LOX, A. BUEKENS a P. DECROLY. Evaluation of migrational behaviour of plastic food-contact materials: a comparison of methods. *Packaging Technology and Science*. 1998, roč. 11, č. 6, 275–283. DOI: 10.1002/(SICI)1099-1522(199811/12)11:6<275::AID-PT.
- [47] GROB, Koni. The future of simulants in compliance testing regarding the migration from food contact materials into food. *Food Control*. 2008, roč. 19, č. 3, s. 263-268. ISSN 09567135. DOI: 10.1016/j.foodcont.2007.04.001.
- [48] ROP, Otakar, Pavel VALÁŠEK a Ignác HOZA. *Teoretické principy konzervace potravin I*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2005, 130 s. ISBN 80-731-8339-0.
- [49] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS, 1999, 304 s. ISBN 80-902-3912-9.
- [50] DAVÍDEK, Jiří. *Chemie potravin: určeno pro posl. fak. potravinářské a biochemické technologie*. 2. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1991, 142 s. ISBN 80-708-0097-6.
- [51] DOSTÁL, Jiří a Petr KAPLAN. *Lékařská chemie*. Brno: Masarykova univerzita, 2001, 223 s. ISBN 80-210-2731-2.
- [52] KALÁČ, Pavel. *Organická chemie přírodních látek a kontaminantů*. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 2001, 120 s. ISBN 80-704-0520-1.
- [53] HUI, Y. H. *Handbook of Fruit and Vegetable Flavors*. Hoboken: Wiley, 2010, 1008 s. ISBN 978-047-0622-827.

- [54] SELL, Charles. *A fragrant introduction to terpenoid chemistry*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2003, 410 s. ISBN 08-540-4681-X.
- [55] RAHMAN, Atta-ur-. *Studies in natural products chemistry*. New York: Elsevier, 1988-2003. ISBN 0444515100
- [56] SURBURG, Horst, Johannes PANTEN a Kurt BAUER. *Common fragrance and flavor materials: preparation, properties and uses*. 5th completely rev. and enl. ed. /. Weinheim: Wiley-VCH, 2006, 318 s. ISBN 35-273-1315-X.
- [57] LETIZIA, C.S, J COCCHIARA, J LALKO a A.M API. Fragrance material review on linalool. *Food and Chemical Toxicology*. 2003, roč. 41, č. 7, s. 943-964. ISSN 02786915. DOI: 10.1016/S0278-6915(03)00015-2.
- [58] SUPPAKUL, Panuwat, Kees SONNEVELD, Stephen W. BIGGER a Joseph MILTZ. Efficacy of polyethylene-based antimicrobial films containing principal constituents of basil. *LWT - Food Science and Technology*. 2008, roč. 41, č. 5, s. 779-788. ISSN 00236438. DOI: 10.1016/j.lwt.2007.06.006.
- [59] SUPPAKUL, Panuwat, Kees SONNEVELD, Stephen W. BIGGER a Joseph MILTZ. Loss of AM additives from antimicrobial films during storage. *Journal of Food Engineering*. 2011, roč. 105, č. 2, s. 270-276. ISSN 02608774. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2011.02.031.
- [60] SUPPAKUL, Panuwat, Kees SONNEVELD, Stephen W. BIGGER a Joseph MILTZ. Diffusion of linalool and methylchavicol from polyethylene-based antimicrobial packaging films. *LWT - Food Science and Technology*. 2011, roč. 44, č. 9, s. 1888-1893. ISSN 00236438. DOI: 10.1016/j.lwt.2011.03.024.
- [61] CULBRETH, David M. R. *A Manual Of Materia Medica And Pharmacology*. USA: Lea & Febiger, 1977, 663 s. ISBN 0-7873-0229-5.
- [62] ASHURST, Philips R. *Food flavorings*. 3rd ed. Gaithersburg, Md.: Aspen Publishers, 1999, 460 s. ISBN 08-342-1621-3.
- [63] DE, Minakshi, Amit Krishna DE, Parimal SEN a Arun Baran BANERJEE. Antimicrobial properties of star anise (*Illicium verum* Hook f). *Phytotherapy Research*. 2002, roč. 16, č. 1, s. 94-95. ISSN 0951-418X. DOI: 10.1002/ptr.989.

- [64] GORELICK, N.J. Genotoxicity of trans-anethole in vitro. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 1995, roč. 326, č. 2, s. 199-209. ISSN 00275107. DOI: 10.1016/0027-5107(94)00173-3.
- [65] *Plants in cosmetics: potentially harmful components*. [Versch. Aufl.]. Strasbourg: Council of Europe Publ, 2006. ISBN 92-871-5912-2.
- [66] DE VINCENZI, M., M. SILANO, F. MAIALETTI a B. SCAZZOCCHIO. Constituents of aromatic plants: II. Estragole. *Fitoterapia*. 2000, roč. 71, č. 6, s. 725-729. ISSN 0367326X. DOI: 10.1016/S0367-326X(00)00153-2.
- [67] LDPE Nízkohustotný polyetylén. *Slovnaft* [online]. Slovensko, © 2006 [cit. 2012-04-07]. Dostupné z: http://www.slovnaft.sk/sk/obchodni_partneri/petchem/vyrobky/tvk-ldpe/
- [68] Products. *SIGMA-ALDRICH* [online]. © 2012 [cit. 2012-04-07]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/w208604?lang=en@ion=CZ>
- [69] *Všeobecná encyklopedie v osmi svazcích*. Praha: Diderot, 1999, 518 s. ISBN 80-902-5552-3.
- [70] KORBAŘ, T. et al. *Technický naučný slovník: I. díl A-F*. Praha: SNTL, 1962, 656 s. 04-001-62.
- [71] DUCHÁČEK, Vratislav. *Polymery: výroba, vlastnosti, zpracování, použití*. Vyd. 2., přeprac. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2006, 278 s. ISBN 80-708-0617-6.
- [72] ISO 22196. *Plastics-Measurement of antibacterial activity on plastics surfaces*. Switzerland, 2007. Dostupné z: <http://file.yizimg.com/334736/2011031410314415.pdf>
- [73] DEMNEROVÁ, Kateřina. *Laboratorní cvičení z mikrobiologie*. Vyd. 3., přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2001, 179 s. ISBN 80-708-0415-7.
- [74] *Counting bacteria* [online]. © 2006 [cit. 2012-04-02]. [Http://people.rit.edu](http://people.rit.edu). Dostupné z WWW: <http://people.rit.edu/~gtfsbi/IntroMicro/20071images/06_F11.jpg>.
- [75] ČSN EN ISO 527-1-3. *Plasty- Stanovení tahových vlastností*. 1997. Dostupné z: <http://www.technickenormy.cz/tridy-norem/64-plasty/6406-zkouseni-plastu-a-vyrobku-z-plastu/>
- [76] ČSN EN ISO 2556. *Plasty - Stanovení rychlosti propustnosti pro plyny u fólií a tenkých desek při atmosférickém tlaku - Manometrická metoda*. 2001. Dostupné z:

<http://www.technickenormy.cz/en/csn-en-iso-2556-plasty-stanoveni-rychlosti-propustnosti-pro-plyny-u-folii-a-tenkych-desek-pri-atmosferickem-tlaku-manometricka-metoda/>

[77] NIELSEN, Lawrence E. Models for the Permeability of Filled Polymer Systems. *Journal of Macromolecular Science: Part A - Chemistry*. 1967, roč. 1, č. 5, s. 929-942.

ISSN 0022-233x. DOI: 10.1080/10601326708053745. Dostupné z:

<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10601326708053745>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

PE	Polyethylen
PP	Polypropylen
PS	Polystyrén
PVC	Polyvinylchlorid
EVOH	Ethylenvinylalkohol
LDPE	Nízkohustotní polyethylen
HDPE	Vysokohustotní polyethylen
PVdC	Polyvinylidenchlorid
PET	Polyethylentereftalát
EPS	Extracelulární polymerní látky
MO	Mikroorganismus
AL	Antimikrobiální látka
MS	Molekulová síta
BK	Dřevní moučka
SD	Směrodatná odchylka

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Tvorba biofilmu.....	26
Obrázek 2 Porovnání účinnosti antimikrobiálního obalového systému s běžnými obalovými systémy	28
Obrázek 3 Př. migrace složek plastového obalu do zabalené potraviny.....	35
Obrázek 4 Vzorec linaloolu	39
Obrázek 5 Vzorec <i>trans</i> -anetholu	41
Obrázek 6 Vzorec 4-allylanisolu.....	42
Obrázek 7 Očkování zkušebního vzorku a umístění krycí fólie.	53
Obrázek 8 Schéma ředění roztoku a jeho následné naočkování na Petriho misky	53
Obrázek 9 Schéma aparatury pro měření bariérových vlastností polymerních vzorků	56
Obrázek 10 Teorie vlivu plniva na propustnost materiálů pro plyny.....	70

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Druhy polymerů a jejich využití pro potravinářské aplikace	17
Tabulka 2 Potravinové simulanty používané pro určitou kategorii potravin.....	36
Tabulka 3 Obsah vonných látek v koření.....	43
Tabulka 4 Charakteristické vlastnosti použité polymerní matrice udávané výrobcem.....	46
Tabulka 5 Obecné a fyzikálně-chemické charakteristiky použitých terpenoidů.....	47
Tabulka 6 Hmotnost produktu po odpaření těkavých složek.....	48
Tabulka 7 Charakteristika materiálů pro stanovení bariérových vlastností.....	55
Tabulka 8 Rovnice přímky a hodnoty spolehlivosti při vlnové délce u <i>E. coli</i> a <i>S. aureus</i>	60
Tabulka 9 Antibakteriální aktivita daných kompozit proti růstu <i>Staphylococcus aureus</i>	61
Tabulka 10 Antibakteriální aktivita daných kompozit proti růstu <i>Escherichia coli</i>	62
Tabulka 11 Přepočítaná koncentrace sorbentů ve vzorcích pro stanovení tahových vlastností.....	64
Tabulka 12 Hodnoty rychlosti propustnosti plynu skrze vzorek	68