

IN VITRO TESTOVÁNÍ ÚČINNOSTI OBALŮ S ANTIMIKROBIÁLNÍ VRSTVOU

Němečková Irena¹, Mihalová Denisa¹,
Peroutková Jitka¹, Smolová Jana¹, Chramostová Jana¹,
Roubal Petr¹, Pšeničková Zdenka²

¹ - Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

² - SYNPO, akciová společnost

In vitro efficiency testing of packaging with antimicrobial layer

Souhrn

S rychlým vývojem antimikrobiálně aktivních obalů v posledních letech vyvstává otázka optimalizace metod pro hodnocení jejich účinku. Cílem této práce bylo navrhnout metody testování účinnosti aktivních obalů s antimikrobiálními kulturami nebo bakteriociny. Pro hodnocení mikrobiologické kontaminace (celkový počet mikroorganismů, kvasinky a plísňe) byla vybrána metoda přelivu, pro posouzení přežívání kulturních mikroorganismů na obalu metoda ředění aktivní vrstvy. Pro testování antimikrobiálního účinku byly použity obaly s nisinovým preparátem nebo s bakteriocin-produkujícími kulturami *Lcc. lactis* ssp. *lactis* CCDM 731 a *Ent. faecium* CCDM 945, jako indikátorové mikroorganismy *C. sporogenes* ATCC 19404, CCM 4409, *L. monocytogenes* CCM 5576, *L. innocua* CCM 4030, *S. aureus* CCM 4516, CCM 3953, CCM 2020 a půdy RCMč, ALOA bez suplementů, PALCAM bez suplementů, GTK, Mannitol Salt Phenol Red a Baird-Parker s RPF v různém uspořádání. Nejlepších výsledků bylo dosaženo s indikátorovými mikroorganismy *C. sporogenes* ATCC 19404 a CCM 4409 na RCMč a *S. aureus* CCM 4516 na Mannitol Salt Phenol Red agaru. Navržené uspořádání se jeví jako vhodné jak pro hodnocení obalů s bakteriociny, tak obalů s živou antimikrobiální kulturou.

Klíčová slova: antimikrobiálně aktivní obaly, výběr indikátorových mikroorganismů, plotnové metody

Summary

Nowadays, rapid development in antimicrobially active packaging brings the task to optimize methods for the evaluation of its efficiency. The aim of this work was to design a method for the efficiency tests of active packaging with antimicrobial cultures or bacteriocins. A pouring over method was selected for the evaluation of microbiological contamination (total mesophilic count, yeasts and moulds), an active layer dilution method for the testing of starter microorganism survival. For the tests on the antimicrobial activity, we used packaging with a nisin preparation or bac-

teriocin-producing starters *Lcc. lactis* ssp. *lactis* CCDM 731 and *Ent. faecium* CCDM 945, indicator strains *C. sporogenes* ATCC 19404, CCM 4409, *L. monocytogenes* CCM 5576, *L. innocua* CCM 4030, *S. aureus* CCM 4516, CCM 3953, CCM 2020 and cultivation media RCMred, ALOA without supplements, PALCAM without supplements, GTY, Mannitol Salt Phenol Red agar and Baird-Parker with RPF in various layouts. The best performance was provided by the indicator strains *C. sporogenes* ATCC 19404 and CCM 4409 on RCMred and *S. aureus* CCM 4516 on Mannitol Salt Phenol Red agar. The designed layout seems to be suitable for the testing of packaging with both bacteriocins and live antimicrobial cultures.

Key words: antimicrobially active packaging, selection of indicator microorganisms, plate methods

Úvod

Jedním z trendů posledních let je v souvislosti s rostoucím důrazem na mikrobiologickou bezpečnost potravin a prevenci kažení výzkum a vývoj antimikrobiálně aktivních obalů. Namísto směšování antimikrobiálních látek s potravinou jsou tyto látky zakomponovány do obalů, což jim umožňuje působit na povrchu zabalené potraviny, kde se mnohdy nežádoucí růst mikroorganismů odehrává. Systémy antimikrobiálního balení zahrnují např. vložení sáčku s aktivním obsahem do balení, dispergování bioaktivních látek ve filmu naneseném na obalové fólii, využití antimikrobiálních makromolekul s filmotvornými vlastnostmi a další (Coma, 2008).

Antimikrobiální systémy zahrnují např. nisin, chitosan, sorban draselný, zeolity funkcionalizované stříbrem (Soysal a kol., 2015), stříbrné nanočástice (Azlin-Hasim a kol., 2015), esenciální oleje (Severino a kol., 2015), bakteriofágy (Gouvea a kol., 2015, Lone a kol., 2016), imobilizované enzymy, jako např. glukosa-oxidasa nebo lysozym (Hanušová a kol., 2013), popř. živé bakteriocin-produkující kultury dle přihlášky vynálezu PV 2015-646 (Němečková a kol., 2015). Pro balení sýrů se mohou uplatnit např. obaly s natamycinem a nisinem (Hanušová a kol., 2010).

Pro hodnocení chemických parametrů potravinářských obalů existují detailní předpisy, např. Vyhláška 38/2001 nebo Nařízení komise (EU) 10/2011 ve znění pozdějších předpisů. Tyto předpisy se zabývají jak organickými, tak anorganickými látkami použitými pro výrobu obalů a rizikem migrace těchto látek do potravin, které v analytických postupech bývají modelovány vodnými výluhy a zkušebními kapalinami, tzv. simulanty. Obecné požadavky na aktivní a inteligentní materiály jsou pak definovány Nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1935/2004, nicméně konkrétní požadavky na mikrobiologické a antimikrobiální vlastnosti aktivních obalů v legislativě dosud chybějí.

Antimikrobiální vlastnosti obalů s antimikrobiálními látkami v aktivní vrstvě byly dosud hodnoceny difuzní agarovou metodou v různém uspořádání pro stanovení

migračních koeficientů (např. Hanušová a kol., 2010, Hanušová a kol., 2013) s využitím různých kmenů z pracovních sbírek jakožto indikátorových mikroorganismů. Nicméně dosud nebyla věnována pozornost výběru indikátorových mikroorganismů, které by byly široce dostupné prostřednictvím oficiálních sbírek a zároveň byly dostatečně citlivé a vykazovaly dobré růstové vlastnosti. Vzhledem k tomu, že se antimikrobiální obaly obsahující živou antimikrobiální kulturu objevily poprvé v přihlášce vynálezu PV 2015-646 (Němečková a kol., 2015), metoda pro hodnocení účinnosti těchto obalů dosud nebyla publikována.

Cílem této práce bylo navrhnout a aplikovat *in vitro* metodu testování účinnosti aktivních obalů s antimikrobiálními kulturami nebo bakteriociny.

Materiál a metody

Vzorky aktivních obalů

Jako vzorky aktivních obalů byly použity laboratorně připravené fólie s nanesenou aktivní vrstvou obsahující buď komerční preparát nisinu, nebo speciálně upravenou lyofilizovanou kulturu bakteriocin-produkujících kmenů *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* CCDM 731 nebo *Enterococcus faecium* CCDM 945 (Laktoflora®, MILCOM a.s.). Složení a postup přípravy aktivní vrstvy je know-how společností Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o. a SYNPO, akciová společnost. Vzorky obalů byly uchovávány při 20 - 24 °C a paralelně při 4 - 6 °C, vždy vložené jednotlivě do sterilních plastových kapes, přičemž části obalu potřebné pro analýzu byly vystříženy sterilními nůžkami, včetně plastové kapsy, a teprve poté byly z kapsy pinzetou vyjmuty.

Hodnocení mikrobiologických parametrů obalů

Metoda přelivu

Čtverec hodnoceného obalu 5 x 5 cm byl položen na dno Petriho misky aktivní stranou nahoru a přelit 2 ml fyziologického roztoku. Po 15 minutách rozpouštění aktivní vrstvy byly misky s obalem přelity vrstvou příslušné živné půdy a kultivovány za podmínek metody pro stanovení daného parametru. Poté byly plotny vyhodnoceny jako inokulace 0. ředění vzorku a výsledek byl vyjádřen jako počet kolonií tvořících jednotek na 25 cm² (KTJ/25 cm²).

Metoda ředění aktivní vrstvy

Obdélník hodnoceného obalu 2 x 12,5 cm byl vložen do 9 ml fyziologického roztoku, kde byl ponechán 15 minut, čímž vzniklo 1. ředění vzorku. Následovalo klasické desítkové ředění a kulturační analýza na příslušných živných půdách. Poté byly plotny vyhodnoceny a výsledek byl vyjádřen jako počet kolonií tvořících jednotek na 25 cm² (KTJ/25 cm²).

Stanovované mikrobiologické parametry

Celkové počty mikroorganismů v aktivní vrstvě byly stanoveny na GTK agaru

(MILCOM a.s.) po kultivaci při 30 °C/3 dny, počty kvasinek a plísní na GKCH agaru (MILCOM a.s.) při 25 °C/5 dnů, mezofilní mléčné koky na M17 agaru (MILCOM a.s.) při 30 °C/3 dny a enterokoky na Slanetz-Bartley agaru (MILCOM a.s.) při 37 °C/2 dny.

Hodnocení antimikrobiální účinnosti obalů

Indikátorové mikroorganismy a podmínky kultivace

Jako indikátorové mikroorganismy byly použity *Clostridium sporogenes* ATCC 19404 (Sigma-Aldrich), *C. sporogenes* CCM 4409, *Listeria monocytogenes* CCM 5576, *L. innocua* CCM 4030 a *Staphylococcus aureus* CCM 4516, CCM 3953, CCM 2020 (Česká sbírka mikroorganismů). Listerie a stafylokoky byly oživeny na BHI agaru (Sigma-Aldrich) při 37 °C/1-2 dny, klostridia na RCMč agaru (MILCOM a.s.) při 37 °C/1-3 dny anaerobně.

Pro vlastní testování obalů byla připravena půda naočkovávaná suspenzí indikátorových mikroorganismů. Jedna očkovací klička indikátorového mikroorganismu byla suspendována v 9 ml fyziologického roztoku, odkud bylo očkováno 5 ml do lahvičky obsahující 180 ml živné půdy. Naočkovávaná půda byla použita pro analýzy metodami s obalem na dně Petriho misky a s obalem na povrchu živné půdy. Přehled půd a podmínek kultivace je uveden v tab. I.

Metoda s obalem na dně Petriho misky

Čtverec hodnoceného obalu 5 x 5 cm byl položen na dno Petriho misky aktivní stranou nahoru a přelit živnou půdou naočkovanou indikátorovým mikroorganismem. Po kultivaci za podmínek uvedených v tab. I následovala vizuální detekce, zda dochází k inhibici růstu nad obalem, a měření šířky inhibičních zón vedle hrany obalu.

Metoda s obalem na povrchu živné půdy

Na Petriho misku byla nalita živná půda naočkovávaná indikátorovým mikroorganismem. Po utužení půdy byl na povrch položen čtverec hodnoceného obalu 5 x 5 cm, a to aktivní stranou dolů. Po kultivaci za podmínek uvedených v tab. I následovala vizuální detekce, zda dochází k inhibici růstu pod obalem, a měření šířky inhibičních zón vedle hrany obalu.

Tab. I Přehled indikátorových mikroorganismů a použitých půd

Mikroorganismus	Kmeny	Živné půdy	Podmínky kultivace
<i>Clostridium sporogenes</i>	ATCC 19404, CCM 4409	RCMč (MILCOM a.s.)	37 °C/3 dny anaerobně
<i>Listeria monocytogenes</i>	CCM 5576	PALCAM bez supplementu (Sigma-Aldrich), ALOA bez supplementu (Sigma-Aldrich)	37 °C/3 dny
<i>Listeria innocua</i>	CCM 4030	PALCAM bez supplementu (Sigma-Aldrich), ALOA bez supplementu (Sigma-Aldrich)	37 °C/3 dny
<i>Staphylococcus aureus</i>	CCM 4516, CCM 3953, CCM 2020	GTK (MILCOM a.s.), Mannitol Salt Phenol Red agar (Sigma-Aldrich), Baird-Parker agar s fibrinogenem z králičí plazmy (MILCOM a.s.)	37 °C/2 dny

Tab. II Hodnocení přežívání antimikrobiálních kultur na obalech

Kmen	Doba skladování (měsíce)	Skladování při 20 - 24 °C		Skladování při 4 - 6 °C	
		Metoda přelivu (KTJ/25 cm ²)	Metoda ředění aktivní vrstvy (KTJ/25 cm ²)	Metoda přelivu (KTJ/25 cm ²)	Metoda ředění aktivní vrstvy (KTJ/25 cm ²)
CCDM 945	0	1×10^4	$7,1 \times 10^5$	1×10^4	$7,8 \times 10^5$
	3	1×10^4	$1,4 \times 10^5$	1×10^4	$1,4 \times 10^4$
	6	$4,1 \times 10^2$	$2,5 \times 10^4$	$1,6 \times 10^3$	$3,4 \times 10^4$
	9	$3,1 \times 10^2$	$1,1 \times 10^4$	$1,5 \times 10^3$	$1,7 \times 10^4$
	12	$4,0 \times 10^2$	$3,3 \times 10^2$	$2,5 \times 10^2$	$9,8 \times 10^1$
CCDM 731	0	$6,3 \times 10^2$	$8,1 \times 10^2$	$6,9 \times 10^2$	$7,6 \times 10^2$
	3	$9,2 \times 10^1$	$2,0 \times 10^1$	$2,1 \times 10^2$	$4,4 \times 10^2$
	6	$5,2 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$6,5 \times 10^1$	$8,2 \times 10^1$
	9	$2,2 \times 10^1$	$< 1 \times 10^1$	$9,2 \times 10^1$	$1,3 \times 10^2$
	12	5×10^0	$< 1 \times 10^1$	4×10^0	$< 1 \times 10^1$

* odhad

Tab. III Mikrobiologické parametry obalů použitých pro hodnocení účinnosti

Aktivní složka	CPM (KTJ/25 cm ²) přelivem	Kvasinky (KTJ/25 cm ²) přelivem	Plísňe (KTJ/25 cm ²) přelivem	Enterokoky (KTJ/25 cm ²) ředěním aktivní vrstvy	Mezofilní mléčné koky (KTJ/25 cm ²) ředěním aktivní vrstvy
kontrola	$1,0 \times 10^1$	neg.	neg.	-	-
CCDM 945 40 %	-	neg.	2×10^0	$1,0 \times 10^6$	-
CCDM 731 40 %	-	neg.	neg.	-	$1,3 \times 10^3$
nisinový preparát 0,5%	5×10^0	neg.	neg.	-	-
nisinový preparát 1 %	2×10^0	neg.	1×10^0	-	-
nisinový preparát 2 %	9×10^0	neg.	neg.	-	-
nisinový preparát 3 %	3×10^0	neg.	5×10^0	-	-

Výsledky a diskuze

Hodnocení mikrobiologických parametrů obalů

V tab. II jsou výsledky stanovení antimikrobiálních kmenů v průběhu 1 roku skladování aktivních obalů při laboratorní (20 - 24 °C) a chladírenské (4 - 6 °C) teplotě. Obě teploty umožnily srovnatelné přežívání kultur na obalech, které se ukázalo jako obdobné samotným lyofilizovaným kulturám, tj. optimálně 6, maximálně 9 měsíců.

Metoda přelivu je vhodnější pro vzorky s nižší denzitou mikroorganismů (10^0 - 10^1 KTJ/25 cm²), metoda ředění aktivní vrstvy pro vzorky se střední nebo vyšší denzitou (10^2 a více KTJ/25 cm²). Rozdíly mezi některými výsledky poskytnutými oběma metodami mohly být způsobeny nerovnoměrnostmi nánosu aktivní vrstvy v laboratorních podmínkách.

Pro hodnocení účinnosti obalů byly použity čerstvě připravené šarže obalů s antimikrobiálními kulturami a šarže obalů s nisinem o různých koncentracích po 10 měsících skladování. Všechny tyto vzorky byly uchovávány při 20 - 24 °C. Jejich mikrobiologické parametry jsou shrnuty v tab. III, ze které plyne, že aktivní vrstva může obsahovat mikrobiální kontaminaci, nicméně tato kontaminace byla vzhledem k účelu testování nevýznamná. Minimalizace kontaminace aktivní vrstvy se nicméně jeví jako klíčová pro případnou výrobu a průmyslové využití aktivních obalů.

Hodnocení antimikrobiální účinnosti obalů

Jako indikátorové mikroorganismy byly testovány různé sbírkové, v ČR běžně dostupné kmeny (viz tab. I). Kmeny byly vybírány mezi mlékárensky významnými druhy mikroorganismů, které spadají mezi Gram-pozitivní bakterie, jakožto mikroorganismy obecně citlivější vůči antimikrobiálním látkám a zejména bakteriocinům. Cílem bylo nalézt dostatečně citlivé kmeny využitelné jako referenční kmeny pro porovnání účinnosti různých vzorků aktivních obalů.

V závislosti na druhu indikátorového mikroorganismu se někdy ukázala jako vhodnější metoda s obalem na dně Petriho misky, jindy s obalem na povrchu živné půdy (data neuvedena). Obal položený na povrchu živné půdy vytvářel totiž silně anaerobní prostředí, a tak stafylokoky i listerie přímo pod obalem ani ve vrstvě agaru pod obalem nerostly, a to nezávisle na složení aktivní vrstvy. Proto byla pro listerie a stafylokoky vybrána metoda s obalem na dně Petriho misky. Nevýhodou této metody ale je, že naočkovaná živná půda může zatékat pod testovaný

obal, kde vyrostlé kolonie mohou ztěžovat vyhodnocení. Pro klostridia se proto ukázala jako vhodnější metoda s obalem na povrchu živné půdy.

Výsledky testování obalů s nisinem proti různým mikroorganismům na různých půdách jsou uvedeny v tab. IV. Klostridia CCM 4409 a ATCC 19404 (jedná se o týž kmen uložený v různých sbírkách) byla vůči působení nisinu citlivá a plotny byly dobře odečitatelné. Zvláště pozitivně lze hodnotit situaci, kdy kyselina máselná vytvořená koloniemi u okrajů Petriho misky nedifundovala do celého prostoru pod obalem, a tedy neměnila pod obalem barvu acidobazického indikátoru, čímž byl inhibiční účinek jednoznačně patrný.

L. monocytogenes CCM 5576 ani *L. innocua* CCM 4030 inhibiční zóny nevytvořily. Nicméně pokud by byl nalezen citlivý kmen, pro listerie se jako vhodnější jevila půda ALOA bez suplementů, která je světlejší a průhlednější, než PALCAM bez suplementů, a tedy umožňuje snazší detekci inhibičních zón.

Podobně jako u klostridií bylo inhibici stafylokoků nej-snazší vyhodnotit na mannitol salt fenol red agaru, kde byl růst stafylokoků doprovázen změnou acidobazického indikátoru na žlutou v důsledku fermentace mannitolu. Metodou druhé volby byl GTK agar, zatímco Baird-Parker agar s RPF suplementem byl vyhodnotitelný jen s obtížemi v důsledku tvorby tmavých kolonií a zón precipitátu zastíňujících vyjasněné inhibiční zóny. Jako indikátorový

Tab. IV Antimikrobiální účinek obalů s nisinem testovaný různými metodami

Mikroorganismus	Kmen	Půda	Metoda	Šířka inhibiční zóny obalu s nisinovým preparátem (mm)			
				0,5 %	1 %	2 %	3 %
<i>C. sporogenes</i>	CCM 4409	RCMč	P	Os, I	2	2	2
<i>C. sporogenes</i>	ATCC 19404	RCMč	P	Os, 2	3	3	5
<i>L. monocytogenes</i>	CCM 5576	ALOA bez suppl.	D	N	N	N	N
<i>L. monocytogenes</i>	CCM 5576	PALCAM bez suppl.	D	N	N	N	N
<i>L. innocua</i>	CCM 4030	ALOA bez suppl.	D	N	N	N	N
<i>L. innocua</i>	CCM 4030	PALCAM bez suppl.	D	N	N	N	N
<i>S. aureus</i>	CCM 4516	GTK	D	I	2	2	2
<i>S. aureus</i>	CCM 4516	Bair-Parker + RPF	D	N	2	2	3
<i>S. aureus</i>	CCM 4516	Mannitol Salt Phenol Red	D	1	2	2	1
<i>S. aureus</i>	CCM 2020	GTK	D	N	I	I	I
<i>S. aureus</i>	CCM 2020	Bair-Parker + RPF	D	N	N	N	N
<i>S. aureus</i>	CCM 2020	Mannitol Salt Phenol Red	D	N	I	I	I
<i>S. aureus</i>	CCM 3953	GTK	D	N	Os, I	Os, I	Os, I
<i>S. aureus</i>	CCM 3953	Bair-Parker + RPF	D	N	N	N	N
<i>S. aureus</i>	CCM 3953	Mannitol Salt Phenol Red	D	Os, I	Os, I	Os, I	Os, I

P - metoda s obalem na povrchu živné půdy

D - metoda s obalem na dně Petriho misky

I - inhibice pouze ve vrstvě nad/pod obalem bez zóny okolo obalu

Os - pouze oslabení růstu, růst rezistentních kolonií

N - neinhibuje

Tab. V Antimikrobiální účinek obalů s antimikrobiálními kulturami

Mikroorganismus	Kmen	Půda	Metoda	Šířka inhibiční zóny obalu s antimikrobiální kulturou (mm)		
				kontrola	CCDM 945 40 %	CCDM 731 40 %
<i>C. sporogenes</i>	CCM 4409	RCMč	P	N	3	2
<i>C. sporogenes</i>	ATCC 19404	RCMč	P	N	5	3
<i>S. aureus</i>	CCM 4516	Mannitol Salt Phenol Red	D	N	N	N

P - metoda s obalem na povrchu živné půdy

D - metoda s obalem na dně Petriho misky

N - neinhibuje

kmen byl vybrán *S. aureus* CCM 4516, který byl citlivější než CCM 3953. Kmen CCM 2020 za podmínek metody nefermentoval mannitol, a tedy neposkytoval výraznou barevnou reakci.

Celkově lze konstatovat, že se při testování antimikrobiální účinnosti obalů jako vhodnější ukázaly půdy obsahující acidobazický indikátor měnící barvu působením indikátorového mikroorganismu (RCMč, Mannitol Salt Fenol Red agar), díky kterému byly inhibiční zóny dobře patrné nejen okolo, ale i nad/pod hodnoceným obalem. Toho lze s výhodou využít i pro neprůhledné (pouze průsvitné) obaly.

Vybranými metodami byly otestovány obaly s antimikrobiálními kulturami (tab. V), přičemž tyto metody se i pro tento typ vzorků ukázaly jako použitelné. Kmen *S. aureus* CCM 4516 byl vůči danému složení antimikrobiálních metabolitů rezistentní, avšak *C. sporogenes* CCM 4409 a ATCC 19404 byl inhibován.

Závěr

Navrženy byly metody pro hodnocení aktivních obalů s antimikrobiálními kulturami nebo bakteriociny - pro hodnocení mikrobiologické čistoty obalů metoda přelivu, pro stanovení kulturních mikroorganismů metoda ředění aktivní vrstvy, pro hodnocení antimikrobiálního účinku metoda s obalem na dně Petriho misky využívající *S. aureus* CCM 4516 jako indikátorový mikroorganismus a půdu Mannitol Salt Phenol Red agar a metoda s obalem na povrchu živné půdy využívající *C. sporogenes* CCM 4409 nebo ATCC 19404 a RCMč agar.

Poděkování

Tato práce vznikla s finanční podporou TA ČR, projekt TA03010546 v programu ALFA.

Literatura

- AZLIN-HASIM, S., CRUZ-ROMERO, M.C., GHOSH, T., MORRIS, M.A., CUMMINS, E., KERRY, J.P. (2015): Application of silver nanodots for potential use in antimicrobial packaging applications. *Innovative Food Sci. & Emerging Technol.* 27, s. 136-143.
- COMA, V. (2008): Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. *Meat Sci.* 78(1-2), s. 90-103.
- GOUVEA, D.M., MANDONCA, R.C.S., SOTO, M.L., CRUZ, R.S. (2015): Acetate cellulose film with bacteriophages for potential antimicrobial use in food packaging. *LWT Food Sci. & Technol.* 63 (1), s. 85-91.
- HANUŠOVÁ K., ŠTASTNÁ M., VOTAVOVÁ L., KLAUDISOVÁ K., DOBIÁŠ J., VOLDŘICH M., MAREK M. (2010): Polymer films releasing nisin and/or natamycin from polyvinylidene chloride lacquer coating: Nisin and natamycin migration, efficiency in cheese packaging. *J. Food Eng.*, 99, s. 491-496.
- HANUŠOVÁ K., VÁPENKA L., DOBIÁŠ J., MIŠKOVÁ (2013): Development of antimicrobial packaging materials with immobilized glucose oxidase and lysozyme. *Central Eur. J. of Chem.*, 11 (7), s. 1066-1078.
- LONE, A., ANANY, H., HAKEEM, M., AGUIS, L., AVDJIAN, A.C., BOUGET, M., ATASHI, A., BROVOKO, L., ROCHEFORT, D., GRIFFITHS, M.W. (2016): Development of prototypes of bioactive packaging materials based on immobilized bacteriophages for control of growth of bacterial pathogens in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 217, s. 49-58.
- Nařízení komise (EU) č. 10/2011 ze dne 14. 1. 2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami.
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1935/2004 ze dne 27. 10. 2004 o materiálech a předmětech určených pro styk s potravinami a o zrušení směrnice 80/590 EHS a 89/109/EHS.
- NĚMEČKOVÁ, I., ŠALAKOVÁ, A., KLIMEŠOVÁ, M., ROUBAL, P., PŠENÍČKOVÁ, Z. (2015): Lak s antimikrobiální kulturou. PV 2015-646. Úřad průmyslového vlastnictví.
- SEVERINO, R., FERRARI, G., VU, K.D., DONSI, F., SALMIERI, S., LACROIX, M. (2015): Antimicrobial effects of modified chitosan based coating containing nanoemulsion of essential oils, modified atmosphere packaging and gamma irradiation against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurinum on green beans. *Food Control*, 50, s. 215-222.

SOYSAL, C., BOZKURT, H., DIRICAN, E., GÜCLÜ, M., BOZHÜYÜK, E.D. (2015): Effect of antimicrobial packaging on physicochemical and microbial quality of chicken drumsticks. *Food Control*, 54, s. 294-299.
 Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 38/2001 Sb. ze dne 19. 1. 2001 o hygienických požadavcích na výrobky určené pro styk s potravinami a pokrmy.

Přijato do tisku: 30. 10. 2015

Lektorováno: 13. 11. 2015

SOFTWARE PACKAGE FQPM - FOOD QUALITY PREDICTION MODELS USING SPECTRAL DATA

Jan Říha, Robert Kadlec, Petr Roubal

Výzkumný ústav mlékárenský, s.r.o., Praha

(Dairy Research Institute s.r.o., Prague)

Software FQPM - predikční modely parametrů kvality potravin s využitím spektrálních dat

Abstract

Software package FQPM (Food Quality Prediction Models using Spectral Data) consists from:

- framework and methods for predicting food quality & safety parameters using different spectral data,
- examples of usage of designed methods for different issues in food control and quality,
- datasets gathered during resolving of project VG20102015023 with usage of hardware equipment developed under this project,
- robust prediction models for selected food quality issues, i.e.:
 - Prediction model for basic beef components and quality parameters (solids, protein, fat, N-based substances, water binding capacity, pigment content, pH, light remission, ash content, cutting power) using resistance spectra of beef and PLS calibration against reference methods for all of components.
 - Model and usage of average FTIR milk spectra deduced from large (~78 ths spectral database of milk samples used for animal recording) spectral database and its usage for detection of abnormal (diluted, manipulated, etc.) milk samples using FTIR spectroscopy using database confidence intervals
 - Dataset and prediction model for predicting of meat aging under the standard conditions and content of biogenic amines (BA) as a marker of meat safety using changes of its NIR UV/non-UV spectra.
 - Prediction models for SCC (Somatic Cells Count) in raw milk using resistance and phase shift spectral data.
 - Prediction models for different type (raw, UHT) milk and its different stocking conditions predicting robustly time of storage of milk with usage of resistance and phase shift data.

Software package allows users to use developed models in their own hardware equipment as the whole package is developed in The Unscrambler X v10.3 (CAMO software, 2013) software which is strongly used in industrial spectral R&D and by plenty of manufacturers of spectral devices in food industry. In case of users want to use another hardware platforms then have been using during our development, it even illustrates and explains how different principles of spectral analysis can be applied in food safety and quality and allows user to adopt different data analysis and processing methods as well as prediction methods. In the meaning of basic research, software package shows clearly that methods used to gather data and methods of data processing and modelling can be used for the purposes in food S&Q listed above.

Keywords: Food Safety & Quality prediction, bioimpedance, spectral data

Abstrakt

Software FQPM (Food Quality Prediction Models using Spectral Data) sestává z:

- rámcové definice postupů a metod pro predikci parametrů potravinové kvality a bezpečnosti s využitím různých spektrálních dat,
 - příkladů použití navržených metod pro různé úlohy v kontrole potravinové kvality a bezpečnosti,
 - datových sad spektrálních dat získaných během řešení projektu VG20102015023 za pomoci hardwarových řešení vyvinutých v rámci projektu,
 - robustní predikční modely pro vybrané úlohy potravinové kvality, t.j.:
 - Predikční model pro složení hovězího masa a jeho kvalitativní parametry (bílkoviny, sušina, tuk, dusíkaté látky, vaznost vody, obsah pigmentů, pH, remisi světla, obsah popelovin, střížnou sílu) s využitím spektra rezistance (impedance) hovězího masa a PLS kalibrace na referenční metody pro všechny popsané parametry.
 - Model a využití průměrného FTIR spektra syrového mléka odvozený z rozsáhlé (cca 78 tisíc vzorků) spektrální databáze a jeho využití pro detekci abnormálních (ředěných, manipulovaných, atd.) vzorků mléka pomocí FTIR spektroskopie a intervalů spolehlivosti spektrální databáze.
 - Datový set a predikční model pro predikci doby skladování masa ve standardních podmínkách a obsah biogenních aminů jako ukazatele bezpečnosti masa pomocí změn NIR UV/non-UV spektra vzorku masa.
 - Predikční modely pro obsah somatických buněk v syrovém mléce pomocí spektrálních dat impedančních (rezistence, posun fáze) spektrálních dat.
 - Predikční modely pro různé typy (syrové, UHT) mléka a jejich skladovací podmínky predikující dobu skladování mléka s využitím impedančních spekter.
- Softwarový balík umožňuje uživateli využít vytvořené modely s vlastním hardware, neboť je vytvořen s využitím SW The Unscrambler X v10.3 CAMO software, 2013),