

Vliv pH a složení binárních směsí fosforečnanů s citronany na dispergaci kaseinového komplexu v modelovém systému

Bc. Pavla Gučová

Diplomová práce 2014



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Pavla Gučová**
Osobní číslo: **T12541**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Vliv pH a složení binárních směsí fosforečnanů s citronany na dispergaci kaseinového komplexu v modelovém systému**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakteristika mléka se zaměřením na vlastnosti kaseinů
2. Vliv tavicích solí na chování kaseinového komplexu
3. Možnosti hodnocení dispergace kaseinového komplexu

II. Praktická část

1. Návrh a příprava modelových vzorků s přidavkem binárních směsí vybraných tavicích solí při rozdílném pH
2. Stanovení optické hustoty připravených vzorků
3. Vyhodnocení a zpracování dat v závislosti na typu binární směsi a na pH

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. Ed. by THOMPSON, A., BOLAND, M., SINGH, H. Milk proteins: from expression to food. Amsterdam: Academic Press/Elsevier. ISBN 978-012-3740-397.
2. KALIAPPAN, S., LUCEY, J.A. Influence of mixtures of calcium-chelating salts on the physicochemical properties of casein micelles. Journal of Dairy Science. 2011, vol. 94, issue 9.
3. MIZUNO, R., LUCEY, J.A. Effects of Emulsifying Salts on the Turbidity and Calcium-Phosphate Protein Interactions in Casein Micelles. Journal of Dairy Science. 2005, č. 9., s. 3070-3078.
4. LIU, Y., GUO R. pH-dependent structures and properties of casein micelles. Biophysical Chemistry. 2008, č. 136, s. 67-73.

Vedoucí diplomové práce:

Mgr. Martina Bučková, Ph.D.

Ústav technologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

10. února 2014

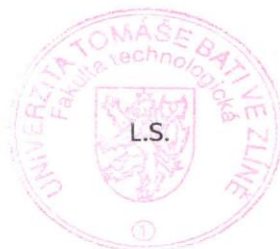
Termín odevzdání diplomové práce:

2. května 2014

Ve Zlíně dne 10. února 2014


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.

děkan




Ing. Jiří Mlček, Ph.D.

ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Gučová Pavla Obor: Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin

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. 2014


.....

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 nevydělečně 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). Odpirá-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 jím 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

Diplomová práce se zabývá sledováním vlivu binárních směsí fosforečnanových a citronanových tavicích solí na dispergaci kaseinového komplexu v modelovém systému. Jako tavicí soli byly aplikovány sodné soli monofosforečnanu, difosforečnanu, trifosforečnanu a cyklického trifosforečnanu a sodná citronanová sůl. Jako modelový systém bylo použito odtučněné mléko, měření probíhalo při dvou hodnotách pH. Pro stanovení intenzity disperze kaseinových shluků bylo použito měření optické hustoty.

Nejvýraznější dispergační účinek byl zjištěn u směsí difosforečnanu a trifosforečnanu s citronanem při pH 6,4, kdy byly naměřeny nejnižší hodnoty optické hustoty v modelovém systému.

Klíčová slova: kasein, disperze, optická hustota, spektrofotometrie, pH, tavicí soli

ABSTRACT

This thesis deals with monitoring the influence of binary mixtures of phosphate and citrate emulsifying salts on the dispersion of casein complex model system. Sodium monophosphate, diphosphate, triphosphate, cyclic triphosphate and sodium citrate were applied as the emulsifying salts. As a model system was used skim milk, measurements were carried out at two pH values. To determine the intensity of dispersion of casein particles were used optical density measurements.

Most pronounced dispersing effect has been found in mixtures diphosphate and triphosphate with citrate at a pH of 6,4 when measured lowest density values in a model system.

Keywords: casein, dispersion, optical density, spectrophotometry, pH, emulsifying salts

Tímto bych ráda poděkovala vedoucí mé diplomové práce Mgr. Martině Bučkové, Ph.D. za odborné vedení, konzultace a připomínky.

Také bych ráda poděkovala Ing. Ludmile Zálešákové za pomoc v laboratoři a za trpělivost a také zaměstnancům Ústavu technologie potravin pod vedením doc. Ing. Františka Buňky, Ph.D. za jejich vstřícný přístup při mé diplomové práci.

Motto: „Vytrvalost vede k vítězství, ať už bojujeme za cokoliv“.

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

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 CHARAKTERISTIKA MLÉKA SE ZAMĚŘENÍM NA KASEINY	12
1.1 CHEMICKÉ SLOŽENÍ MLÉKA	12
1.1.1 Proteiny mléka.....	12
1.1.2 Lipidy	13
1.1.3 Sacharidy.....	13
1.1.4 Minerální látky a vitaminy	13
1.2 KASEIN.....	13
1.2.1 Klasifikace kaseinových frakcí.....	14
1.2.2 Kaseinová micela	15
1.2.3 Struktura kaseinových micel	16
1.3 FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ VLASTNOSTI MLÉKA	17
1.3.1 Složení disperzního systému mléka	17
1.3.2 Fyzikální vlastnosti mléka.....	18
1.3.3 Chemické vlastnosti mléka	19
1.4 VÝROBA SUŠENÉHO MLÉKA	19
1.5 FUNKČNÍ VLASTNOSTI KASEINŮ.....	20
1.5.1 Rozpustnost	20
1.5.2 Reologické vlastnosti	21
1.5.3 Hydratace.....	21
1.5.4 Tvorba gelu, koagulace	21
1.5.5 Povrchová aktivita.....	21
1.5.6 Emulgační účinky.....	22
1.5.7 Pěnicí schopnosti.....	22
1.6 PRŮMYSLOVÉ VYUŽITÍ KASEINU	22
1.7 VÝROBA BÍLKOVINNÝCH KONCENTRÁTŮ.....	22
2 VLIV TAVICÍCH SOLÍ NA DISPERGACI KASEINOVÉHO KOMPLEXU.....	24
2.1 VÝROBA A FUNKCE TAVICÍCH SOLÍ	24
2.2 FOSFOREČNANOVÉ TAVICÍ SOLI	26
2.3 POUŽITÍ FOSFOREČNANŮ V POTRAVINÁŘSTVÍ	28
2.3.1 Fosforečnany	28
2.3.2 Difosforečnany	29
2.3.3 Polyfosforečnany	29
2.4 CITRONANOVÉ TAVICÍ SOLI	29
2.4.1 Citronan sodný	30
3 MOŽNOSTI HODNOCENÍ DISPERGACE KASEINOVÉHO KOMPLEXU.....	32

3.1	OPTICKÉ METODY	32
3.1.1	UV-VIS spektroskopie	33
3.1.2	Kolorimetrie	34
3.1.3	Nefelometrie a turbidimetrie	34
3.2	ULTRAZVUKOVÁ METODA	37
3.3	MĚŘENÍ ELEKTRICKÝCH VLASTNOSTÍ KOLOIDŮ – ZETA POTENCIÁL	37
II	PRAKTICKÁ ČÁST	40
4	CÍL PRÁCE	41
5	MATERIÁL A METODY	42
5.1	SUROVINY PRO PŘÍPRAVU MODELOVÉHO SYSTÉMU	42
5.2	POUŽITÉ PŘÍSTROJE	42
5.3	PŘÍPRAVA MODELOVÝCH VZORKŮ DISPERZE SUŠENÉHO ODSŤŘEDĚNÉHO MLÉKA.....	42
5.4	MĚŘENÍ OPTICKÉ HUSTOTY.....	43
6	VÝSLEDKY A DISKUZE	45
6.1	VÝSLEDKY MĚŘENÍ OPTICKÉ HUSTOTY	45
6.1.1	Výsledky měření s použitím monofosforečnanu a citronanu ve směsi tavicích solí	45
6.1.2	Výsledky měření s použitím difosforečnanu a citronanu ve směsi tavicích solí	47
6.1.3	Výsledky měření s použitím trifosforečnanu a citronanu ve směsi tavicích solí	49
6.1.4	Výsledky měření s použitím cyklického trifosforečnanu a citronanu ve směsi tavicích solí	50
6.1.5	Vliv pH na dispergační účinek směsi tavicích solí	52
6.2	VLIV SAMOSTATNÝCH TAVICÍCH SOLÍ NA OPTICKOU HUSTOTU	53
6.2.1	Měření s nulovým vzorkem a s obsahem jednotlivých solí při pH 5,2	55
6.2.2	Měření s nulovým vzorkem a s obsahem jednotlivých solí při pH 6,4	56
7	SOUHRNNÁ DISKUZE	57
	ZÁVĚR	60
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	62
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	68
	SEZNAM OBRÁZKŮ	69
	SEZNAM TABULEK.....	71
	SEZNAM PŘÍLOH.....	72

ÚVOD

Chování kaseinů je důležité z technologického hlediska zejména při výrobě tavených sýrů, kdy jejich funkce při přidavku tavicích solí může významným způsobem ovlivnit vlastnosti finálního výrobku. Tavenými sýry, které jsou v dnešní době důležitou složkou potravy (nejen z hlediska výživového, ale i ekonomického) se zabývá odborná i laická veřejnost. Jelikož jsou tavicí soli při výrobě tavených sýrů nepostradatelnou složkou, je jim věnována zvláštní pozornost. Vzhledem k tomu, že jsou jako tavicí soli v současnosti nejvíce používány fosforečnanové a citronanové soli, názory na vhodnost jejich použití se různí. Především z pohledu výživy je často kritizováno použití tavicích solí na bázi fosforečnanů, díky čemuž dochází k nežádoucímu navýšení obsahu fosforu ve stravě. V dnešní době se proto hledají způsoby, jak tavicí soli nahradit jinou alternativou, nejlépe přírodního původu. Aplikace poznatků z výzkumných studií významnou měrou přispívají k docílení co nejlepších požadovaných vlastností tavených sýrů.

Předkládaná práce je zaměřena na studium vlivu směsi tavicích solí na chování kaseinového komplexu. Práce je rozdělena na dvě části – teoretickou a praktickou. V teoretické části je pojednáno o základní charakteristice mléka, jeho složení a o jeho fyzikálních a chemických vlastnostech a o změnách těchto vlastností vlivem změn prostředí, např. při vychýlení pH, nebo v přítomnosti tavicích solí. Jedna kapitola je věnována také přehledu metod používaných pro stanovení intenzity disperze komplexů vzniklých shlukováním kaseinových micel. Cílem praktické části bylo zhodnotit vliv vybraných fosforečnanových tavicích solí ve směsi s citronanem na shlukování či naopak dispergaci kaseinového komplexu ve zjednodušeném modelovém systému.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERISTIKA MLÉKA SE ZAMĚŘENÍM NA KASEINY

Mléko je sekret mléčné žlázy savců, určený pro výživu jejich mláďat. V potravinářství jako mléko obvykle označujeme mléko kravské, které je v majoritním zastoupení a má zásadní význam pro průmyslové zpracování, a tím i pro lidskou výživu [1,2]. V této práci je jako mléko myšleno vždy mléko kravské.

1.1 Chemické složení mléka

Přesné složení mléka závisí na mnoha faktorech, např. plemeni skotu, výživě apod. [1]. Mléko se skládá z těchto základních složek – voda a sušina. Číselné, resp. procentuelní údaje o složení mléka se mohou mírně lišit. Obsah vody se obvykle pohybuje v rozmezí 84 - 91%, celkové proteiny 3 - 4%, kaseiny ~3%, tuky 3-5%, sacharidy 4 - 5%, minerální látky ~1% [2,3,4].

Voda je nejvíce zastoupenou složkou v mléce [2]. V mléce je přítomná jako vázaná, nebo volná. Vyšší podíl má voda volná, kterou můžeme odpařit nebo vymrazit. Vodu vázanou lze dále rozdělit na vodu koloidní, která je vázaná na bílkoviny a substituční. Koloidní voda tvoří ochranný hydratační povrch obalů koloidních částic a zajišťuje tak stabilitu bílkovin v mléce.

Voda substituční se nachází přímo v molekulách přítomných solí a laktózy [5].

Sušinu mléka tvoří především bílkoviny, sacharidy (nejvíce zastoupená je laktóza), lipidy a minerální látky. Navíc jsou zde obsaženy i četné menší složky (většinou ve stopovém množství), např. vitaminy, hormony, enzymy [1,6].

1.1.1 Proteiny mléka

Z hlediska významu proteinů ve výživě jsou mléčné proteiny považovány za plnohodnotné bílkoviny, protože obsahují optimální poměr esenciálních aminokyselin.

Běžné kravské mléko obsahuje asi 3,5% proteinů [4]. Jsou tvořeny dvěma hlavními typy, kaseinovými (zhruba 80%), které se dále dělí do několika frakcí a sérovými (syrovátkovými) proteiny (asi 20%), mezi které patří α -laktalbumin, β -laktoglobulin, sérum albumin, imunoglobuliny, proteoso-peptony, laktoferin [1,2,6,7].

Kasein má dobrou nutriční hodnotu, protože obsahuje cenné aminokyseliny, vápník, fosfor a malé množství stopových prvků. Jednotlivé frakce jsou biologicky aktivní. Kaseiny se

izoelektricky vysráží z roztoku při pH 4,6 a teplotě přibližně 30 °C. Syrovátkové proteiny za výše uvedených podmínek zůstávají rozpustné [8,9,10,11].

1.1.2 Lipidy

Obsah mléčného tuku v mléce se pohybuje v rozmezí 3 – 4 % [1]. Mléčný tuk je složen z 97 - 99 % triacylglyceroly, z 1 – 3 % ostatních látek rozpustných v tucích (lipofilní vitamíny, aj.), 0,1 – 0,4 % tvoří volné mastné kyseliny [6,9]. V syrovém mléce se mléčný tuk nachází v tukových kapénkách. Jedná se o disperzi mléčného tuku v mléčné plazmě [9].

1.1.3 Sacharidy

Hlavním sacharidem v mléce je disacharid laktóza, která je složena z monosacharidů galaktózy a glukózy, které jsou spojeny $\beta(1-4)$ glykosidickou vazbou. Mléko je jediným známým zdrojem laktózy, proto je laktóza označována jako „mléčný cukr“ [2,6].

1.1.4 Minerální látky a vitaminy

Minerální látky v mléce lze rozdělit podle obsahu na majoritní a minoritní, popř. stopové. Mléko obsahuje vysoké procento vápníku, a proto je považováno za jeho nejvýznamnější zdroj. Kromě toho mléko obsahuje další biologicky aktivní ionty sodík, draslík, vápník a hořčík ve formě solí (chloridy, fosfáty, citráty a hydrogenuhličitanu) [1,2,3].

Mléko obsahuje i řadu vitaminů. Vitaminy B₂, A (i provitamin β karoten), B₁, B₆, E, K i malé množství vitamínu D a C. Obsah vitamínu C není podstatný, protože vlivem okolních podmínek dochází k jeho nestabilitě [1,6].

1.2 Kasein

Kaseiny představují nejvýznamnější skupinu mléčných bílkovin a pro své schopnosti a vlastnosti jsou důležité pro technologické využití. Jedná se o proteiny s molekulovou hmotností 20 - 25 kDa. Kaseiny si můžeme představit jako amfifilní polymery. Primární strukturu tvoří sekvence aminokyselin s nestejnorodým rozložením polárních a nepolárních skupin. To znamená, že kaseiny jsou povrchově aktivní látky, které mají hydrofobní (nepolární) a hydrofilní (polární) oblast. Nepolární části molekul jsou orientovány do centra submicely, polární části molekul (fosfoserinové zbytky) interagují s Ca²⁺ a vodou. Kvůli absenci sekundární a terciární struktury vykazují vysokou povrchovou hydrofobicitu, mají

vyjímečné povrchové vlastnosti v emulzích a gelech. Díky svojí otevřené struktuře podléhají lehce proteolýze, jsou stabilní vůči teplu a denaturačním činidlům, jsou schopné odolávat zátěžovým ošetřením běžně spojených s moderním průmyslovým zpracováním mléka a mléčných výrobků [12,13,14].

1.2.1 Klasifikace kaseinových frakcí

Více než 75% obsahu celkového dusíku v mléce je přisuzováno obsahu kaseinu. Kaseiny jsou frakcionovány do čtyř různých proteinových frakcí α_{s1} -, α_{s2} -, β - a κ -kaseinů, z nichž všechny jsou fosfoproteiny a nacházejí se v mléce v poměru, který se u různých autorů mírně liší. Lze nalézt poměr frakcí 4:1:4:1, 3:1:3:1 nebo vyjádřeno v procentech v tomto poměru ~37, ~8, ~45, ~10 % [3,15,16].

α_s -kaseiny rozdělujeme na dvě frakce α_{s1} - a α_{s2} -kasein [2]. α_{s1} - kaseiny jsou fosfoproteiny, jejichž zastoupení v mléce je 42%. Obsahují nejvíce fosforu a jsou schopné vázat vápníkové ionty, přičemž 1 mol α_{s1} -kaseinu obsahuje 10 až 20 mol Ca^{2+} iontů [2,3].

Primární struktura α_{s1} -kaseinu je tvořena 199 zbytky aminokyselin, celková molekulová hmotnost je 23,614 kDa a hodnota izoelektrického bodu 4,44 - 4,76 pH. V přítomnosti Ca^{2+} iontů tvoří nerozpustnou vápenatou sůl. Fragменты α_{s1} -kaseinu se považují za λ -kasein. α_{s1} -kasein neobsahuje aminokyselinu cystein. Obsahuje 8 fosfoserinových zbytků, lokalizovaných v polohách 43 - 80, díky nimž je tato část molekuly polární. Nepochopitelně postranní řetězce aminokyselin jsou situovány v polohách 100 - 199. α_{s1} -kasein se vyskytuje v 8 genetických variantách (A, B, C, D, E, F, G, H), přičemž nejobvyklejší variantou je varianta B [2,10,11,17]. Další kaseinová frakce α_{s2} -kasein je tvořena 207 zbytky aminokyselin, celková molekulová hmotnost je 25,2 kDa a hodnota izoelektrického bodu 5,45 - 5,23 pH [2,10,17]. Má podobnou strukturu jako α_{s1} -kasein. Je méně citlivý k Ca^{2+} iontům. Vyskytuje se ve 4 genetických variantách (A, B, C, D). α_{s2} -kasein obsahuje 10 prolinových zbytků, 10 - 13 fosfoserinových zbytků a více lysinu v molekule, než ostatní kaseiny. Z jeho 13 fosfátových skupin je 12 vázáno na serin a 1 na treonin a lokalizováno v poloze 7 - 31, 55 - 66 a 129 - 143. Esterové fosfátové skupiny α_{s2} -kaseinu jsou odpovědné za vysokou rozpustnost tohoto proteinu v neutrálních hodnotách pH, tak, že neutralizací ionizovaných fosfátových skupin vápenatými ionty vede ke srážení α_{s2} -kaseinu z důvodu zvýšené hydrofobní interakce mezi molekulami bílkovin [2,10,17].

β -kasein - primární struktura β -kaseinu je tvořena 209 zbytky aminokyselin, celková molekulová hmotnost je 23,983 kDa a hodnota izoelektrického bodu 5,20 - 5,85 pH [2,17].

β -kasein je fosfoprotein, který s Ca^{2+} ionty tvoří nerozpustnou sůl. Jeho zastoupení v kaseinové frakci je 25% (druhá nejvíce zastoupená frakce). Je známo 9 polymorfních variant označovaných A^1 , A^2 , A^3 , B, C, D, E, F, G [2,10,17]. Je to vysoce hydrofobní frakce kaseinu. Obsahuje 5 fosfoserinových zbytků v poloze 1 - 40. Při teplotách 1°C a nižších poskytlují s Ca^{2+} ionty rozpustnou sůl, při vyšších teplotách sůl nerozpustnou. Je citlivý vůči vysrážení vápníkem při 35°C . Působením proteolytických enzymů (plasminu) vznikají z β -kaseinů γ -kaseiny. γ -kasein je produkt degradace β -kaseinů. Je zastoupen ve 4%. Jiné fragmenty γ -kaseinu se nacházejí v syrovátce a představují část frakce známou jako proteoso-pepton [2,3,10,17].

κ -kasein má primární strukturu tvořenu 169 zbytky aminokyselin, jeho celková molekulová hmotnost je 19,007 kDa a hodnota izoelektrického bodu 5,37 pH. Vyskytuje se v 7 polymorfních genetických variantách označovaných A, B, C, E, F^S , F^L , G^S [2,10,11]. Molekuly se vyskytují jako trimery a vyšší oligomery, které jsou vzájemně spojeny disulfidovými vazbami. Váže se se sacharidy (galaktózou, N-acetyl-galaktózaminem, N-acetylneuraminovou kyselinou). S Ca^{2+} ionty tvoří rozpustnou sůl stabilizující α_{s1} -kasein a β -kasein, přičemž κ -kasein podmiňuje stabilitu kaseinového komplexu. Sacharidy jsou na protein vázány glykosidovou vazbou (na treonin 133) prostřednictvím N-acetyl-D galaktózaminu. κ -kasein je jedinou frakcí kaseinu, která obsahuje siřné aminokyseliny (cystein a methionin) a jako jediná kaseinová frakce se nesráží v přítomnosti vápenatých iontů. Není schopen vázat vápník (obsahuje pouze 1 fosfoserinový zbytek). κ -kasein má dobrou rozpustnost. Při použití enzymatického preparátu (syřidla) je κ -kasein hydrolyzován. Peptidová vazba κ -kaseinu se působením syřidla rozruší a molekula se proteolyticky rozruší na para- κ -kasein a na rozpustný glykomakropeptid a ztrácí tím svou ochrannou roli v kaseinové micelle [2,10,17].

Kapa-kasein vytváří trojrozměrnou strukturu micely tím, že lineární polymery α_{s1} -kaseinu a β -kaseinu spojuje do trojrozměrné struktury [17].

1.2.2 Kaseinová micela

Až 95 % kaseinu v mléce je agregováno do koloidních částic zvaných micely. Jedná se o tzv. micelární disperze (kaseinové agregáty při teplotě nad 5°C) [2,9]. Molekuly α_{s-} , β - a

κ -kaseinů jsou uspořádány do submicel. Nepochární části molekul jsou orientovány do centra submicely, polární části molekul (fosfoserinové zbytky) interagují s Ca^{2+} a vodou. Submicely se spojují do micel prostřednictvím fosfoserinových skupin a Ca^{2+} přímo nebo pomocí volných fosfátů a citrátů [2].

Micela kravského mléka obsahuje asi 20 000 molekul kaseinů. Chemické složení micely kravského mléka je: 94% kaseinů, 6% koloidní kalcium fosfát (3% Ca^{2+} ionty, 3,1% volného fosfátu, 2% fosfátu vázaného jako fosfoserin, 0,4% citrátu, a asi 0,5% iontů Na, K, Mg [2,7]. Micela je vysoce hydratována. Údaje týkající se hydratace se mohou lišit. Podle některých zdrojů váže 2 – 2,5 g vody na 1 g proteinu, v jiném zdroji je uváděno 3,4 g vody na 1 g proteinu [7,8,14,16].

S využitím elektronové mikroskopie bylo zjištěno, že kaseinová micela je o částice kulovitého tvaru s průměrem v rozmezí 50 – 600 nm (nejčastěji 120 nm). Velikost micel závisí také na původu mléka (plemeni skotu) [19]. V 1 ml mléka je asi 10^{15} micel s celkovým povrchem $5 \cdot 10^4 \text{ cm}^2$. Právě velká povrchová plocha micel je významnou funkční vlastností mléčných proteinů [10,17,20]. Micely mají schopnost rozptylovat světlo, což je hlavní příčina bílé barvy mléka [10,11].

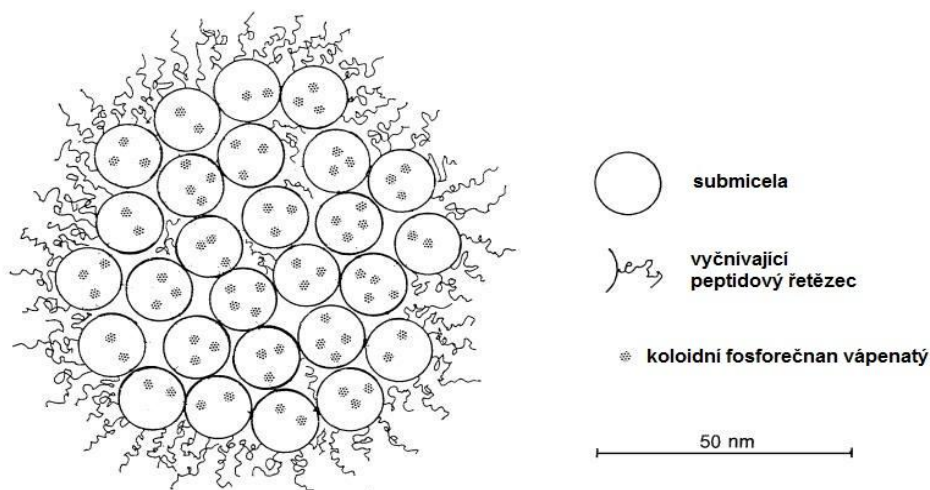
1.2.3 Struktura kaseinových micel

Struktura kaseinových micel je stále předmětem výzkumu a zůstává sporná. Již dříve bylo předloženo několik modelů. V posledních 50-ti letech byly zkoumány různé varianty kaseinových micel. Vychází se ze dvou protichůdných modelů. První model zdůrazňuje roli hydrofobních interakcí vedoucí ke vzniku micel, druhý model nespoledhá pouze na interakce mezi fosfáty kaseinové micely. V roce 1967 byl uveden model podle Morra, který získal největší podporu. Podle Morra je micela tvořena submicelami o molekulové hmotnosti 106 Da a má průměr 10 – 15 nm. Podjednotky drží pohromadě prostřednictvím koloidního fosforečnanu vápenatého, hydrofobních interakcí bílkovin a vodíkových můstku. Nepochární části jsou orientovány dovnitř (hydrofobní interakce). Na povrchu se nacházejí polární interakce (hydrofilní = fosfoserinové zbytky α_s - a β -kaseinů a threoninový zbytek s oligosacharidem u κ -kaseinu) a nesou hydratační obal, který má záporný náboj. Další model v roce 1984 uvedl Walstra (obrázek č. 1), jehož tvrzení je, že submicely jsou tvořeny 20 - 25 kaseinovými molekulami, průměrná velikost 12 - 15 nm, které jsou spojeny pomocí hydrofobních interakcí a koloidního fosforečnanu vápenatého. Tento model byl později pozmě-

něn. Podle Walstra koloidní fosforečnan vápenatý netvoří vazby mezi jednotlivými micelami, ale nachází se uvnitř nich, a tím se snižuje jejich negativní náboj a podporuje samotnou agregaci do micel. Z dalších modelů to byl model Holtův. Všechny modely vychází z role koloidního fosforečnanu vápenatého a povrchu tvořeného u κ -kaseinem. Tyto modely byly později kritizovány.

Závěr týkající se výzkumu struktury kaseinových micel zní takto: kaseinová micela má kulovitý tvar, menší i větší micely mají podobné tvary (Fox 1992) [21,22,23,24,25].

Struktura kaseinových micel je z velké části stabilizována hydrofobními a iontovými interakcemi, disulfidickými a vodíkovými můstky, koloidním kalcium fosfátem [17,23,25].



Obrázek č. 1 Submicelární model kaseinové micely převzato a upraveno podle Walstra [23]

1.3 Fyzikálně-chemické vlastnosti mléka

Mléko je složitý polydisperzní systém (emulze tuků ve vodě), který je složen ze dvou částí. Z vody, která je disperzním prostředím a z částic rozptýlených v tomto prostředí - disperzní fází [1,2].

1.3.1 Složení disperzního systému mléka

Fáze dělíme podle disperze na molekulární, emulzní a koloidní [1,2].

Molekulární fáze je tvořena ve vodě rozpustnými látkami (chloridy, fosforečnany, laktózou, citráty). Molekulární fáze má podstatný vliv na osmotický tlak mléka, částice

do $5 \cdot 10^{-9}$ m procházejí běžnými membránami, lze je zachytit až reverzní osmózou. Spolu s vodou poskytují, pokud nedojde k chemické změně látek trvalou molekulární disperzi (pravý roztok). Světelný paprsek prochází roztokem [1].

Emulzní fázi tvoří tuk rozptýlený v tukových kuličkách velikosti od $1 \cdot 10^{-6}$ m do $20 \cdot 10^{-6}$ m. Dají se zachytit filtračním papírem a jsou pozorovatelné pod světelným mikroskopem. Tukové kuličky rozptýlené v koloidní disperzi dávají hrubou disperzi. Hrubá disperze je nestabilní, po určité době dojde k vyvstávání tuku (sedimentaci). Tuk se podílí na neprůhlednosti mléka, barvu ovlivňují barviva rozpuštěná v tuku [1].

Koloidní fázi tvoří ve vodě nerozpustné složky, které jsou ale rozptýleny velmi jemně, takže vzniká optický dojem roztoku. Mezi nerozpustné složky patří bílkoviny, nerozpustné soli - fosforečnan vápenatý, hydrogenfosforečnan vápenatý, citronan vápenatý [1,2].

Stabilita koloidní fáze je zaručena tím, že částice nesou elektrický náboj, jsou hydratovány, což brání jejich shlukování a srážení. Všeobecně můžeme jako disperzi pojmenovat směs vzájemně rozptýlených látek. Koloidní disperze jsou charakterizovány velikostí částic dispergované fáze v rozmezí 1 – 200 nm [23]. Pokud se odstraní (vysráží) kaseinové micely, dostaneme mléčné sérum (sérové bílkoviny). Světelný paprsek je lámán na všechny strany, z čehož vyplývá jeho typické bílé zbarvení a neprůhlednost mléka [2,23]. Typické zbarvení souvisí s rozptylem a absorbcí světla na tukových částicích a micelách kaseinů, nažloutlé zbarvení způsobují karotenoidní látky přítomné v tukové fázi a nazelenalé zbarvení syrovátky riboflavin [2].

1.3.2 Fyzikální vlastnosti mléka

Mezi fyzikální vlastnosti mléka patří: měrná hmotnost, která je funkcí zejména tukuprosté sušiny, vody a mléčného tuku. Průměrná měrná hmotnost mléka je $1,030 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, průměrný bod mrznutí je $-0,550^\circ\text{C}$, z dalších vlastností je to viskozita. Mléko je více viskózní než voda z důvodu obsahu tuku a bílkovin a viskozita mléka závisí na teplotě. Pokud se teplota mléka zvýší z 20°C na 80°C , viskozita mléka klesá asi 5x. Mezi další vlastnosti patří povrchové napětí, bod varu, měrná vodivost. Mléko se chová v elektrickém poli jako slabý elektrolyt, což způsobují to rozpuštěné a disociované soli. Mezi fyzikální vlastnosti se řadí i optické vlastnosti, mléko je opalescentní tekutina se dvěma pigmenty – karoten a riboflavin [1,17].

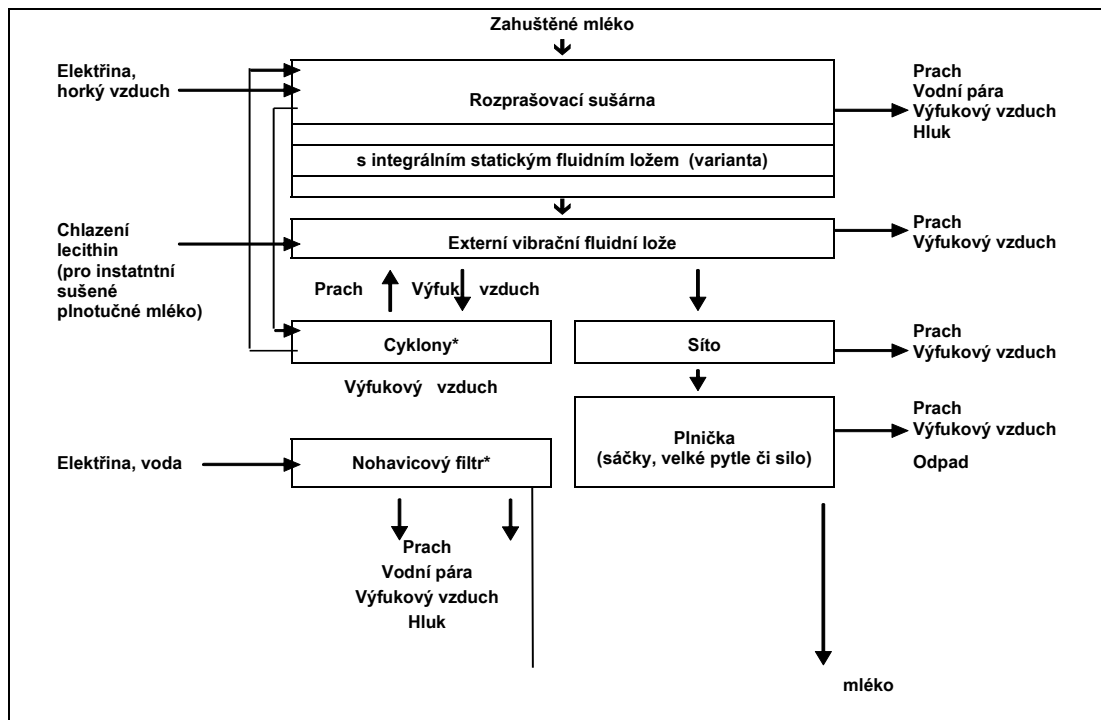
1.3.3 Chemické vlastnosti mléka

Mezi chemické vlastnosti mléka patří kyselost mléka titrační a aktivní. Kyselost titrační, tzv. kyselost podle Soxhlet-Henkela (SH) udává počet mililitrů odměrného roztoku NaOH potřebných k neutralizaci 100 ml mléka za přídavku indikátoru fenolftaleinu. Aktivní kyselost je celková kyselost čerstvě nadojeného mléka a pohybuje se v rozmezí 6,5 – 7,2 pH a závisí na obsahu citronanů, fosfátů a solí kaseinu. Aktivní kyselost (pH) lze změřit potenciometrickou metodou pH metrem. Pufrační kapacita mléka, která je vyjádřena jako změna pH po přídavku ekvivalentního množství kyseliny nebo zásady. Pohybuje se u mléka v intervalu 0,01 až 0,02. Pufrační schopnost mléka způsobují soli kyseliny fosforečné, citrónové, bílkoviny, částečně uhličitany a soli kyseliny mléčné [17].

1.4 VÝROBA SUŠENÉHO MLÉKA

Pro přípravu zjednodušeného modelového systému v praktické části této práce bylo použito odtučněné sušené mléko. Obvykle je vyráběno dvoustupňovým sušením. Postup spočívá v zahuštění 11% mléka na 50 – 60 % sušiny a následném sušení v odparce na sušinu 95 – 97 %. V praxi jsou používány různé typy sušáren. Nejčastěji používané jsou sprejové (rozprašovací) a válcové sušárny. Sprejové sušárny jsou spojeny s integrovanou nebo následně zařazenou sušárnou s fluidním ložem. Mají menší spotřebu energie, výsledný produkt neobsahuje prach. Válcové sušárny jsou méně časté [26,27].

Na obrázku č. 2 je zobrazeno schéma zařízení pro výrobu sušeného mléka ze zahuštěného mléka podle Německého sdružení mlékáren (Verband der Deutschen Milchwirtschaft).



Obrázek č. 2 : Proudový diagram výroby sušeného mléka [27]

1.5 Funkční vlastnosti kaseinů

Jako funkční vlastnosti proteinů označujeme takové vlastnosti, které ovlivňují funkčnost potravin, jako je například textura, chuť, barva. Mezi nejdůležitější vlastnosti patří rozpustnost, reologické vlastnosti, hydratace, povrchová aktivita a gelovatění, emulgační účinky, pěnicí schopnosti [11].

1.5.1 Rozpustnost

Rozpustnost je nejen primární funkční vlastnost, ale i předpoklad pro další funkční vlastnosti proteinů. Rozpustnost proteinu označuje množství proteinu, který přechází do roztoku nebo koloidní disperze za určitých podmínek (teplota, iontová síla). Rozpustnost proteinu je určena rovnováhou mezimolekulárních elektrostatických a hydrofobních interakcí. Nerozpustnosti v izoelektrickém bodu se využívá při výrobě kysaného mléka, čerstvých sýrů a kyselého kaseinu [11,28].

1.5.2 Reologické vlastnosti

Kaseináty tvoří vysoce viskózní roztoky v koncentracích $> \sim 15\%$. Viskozitu kaseinu ovlivňují i výrobní podmínky. Nadměrný ohřev mléka před výrobou kaseinu nebo kaseinové syřeniny během sušení v konečném důsledku vede ke zvýšení viskozity kaseinátů [11].

1.5.3 Hydratace

Schopnost hydratace a tím vázat nebo zachycovat vodu je důležitou funkční vlastností mléčných bílkovin v potravinářských aplikacích. Úroveň hydratace je velmi závislá na složení bílkovin, jejich nativní konformaci, koncentraci, pH, soli, počtu exponovaných polárních skupin, na povrchové polaritě, podmínkách pro zpracování, včetně sušení a skladování. Hydratace se zvyšuje s rostoucí hodnotou pH [11].

1.5.4 Tvorba gelu, koagulace

Ke tvorbě gelu dochází z důvodu změny nebo rozkládání proteinové struktury, která poskytuje polypeptidové segmenty, které jsou schopné specifické interakce (protein - protein a protein - voda) [14]. Kaseiny tvoří gely při změně okolního prostředí (působení syřidla, změna pH). Nežádoucí změna může nastat působením organických rozpouštědel, při skladování tepelně opracovaných výrobků nebo při delší tepelné úpravě [11,28].

1.5.5 Povrchová aktivita

Mléčné proteiny jsou silně amfipatické a vykazují dobré povrchově aktivní vlastnosti: snadno se adsorbují na povřších - rozhraní snižující povrchové napětí a vytváření povrchových mezifázových filmů prostřednictvím složitých mezimolekulárních interakcí, a tím dodávají konstrukční tuhost s variabilními reologickými vlastnostmi. Pro povrchovou aktivitu jsou důležité tyto podmínky: molekula by měla mít vysokou povrchovou hydrofobicitu, aby se mohla absorbovat na rozhraní olej-voda nebo vzduch-voda; protein by měl být malý, protože rychlost migrace k fázovému rozhraní je nepřímo úměrná molekulové hmotnosti; je důležitá flexibilní struktura kvůli otevření a rozprostření molekuly po adsorpci na povrchu [11,28].

1.5.6 Emulgační účinky

Mléčné bílkoviny obecně a kaseináty zejména, jsou velmi dobrými emulgátory a mají mnohostranné využití v potravinářských aplikacích. Sodné a amonné kaseináty vykazují vyšší emulgační schopnosti [28].

1.5.7 Pěnicí schopnosti

Kaseinát působí jako pěnotvorná látka, stabilizátor pěn. Při tepelném zpracování kaseinátu sodného bylo prokázáno snížení emulgačních schopností, ale zároveň zvýšení pěnové vlastnosti kaseinátu [28].

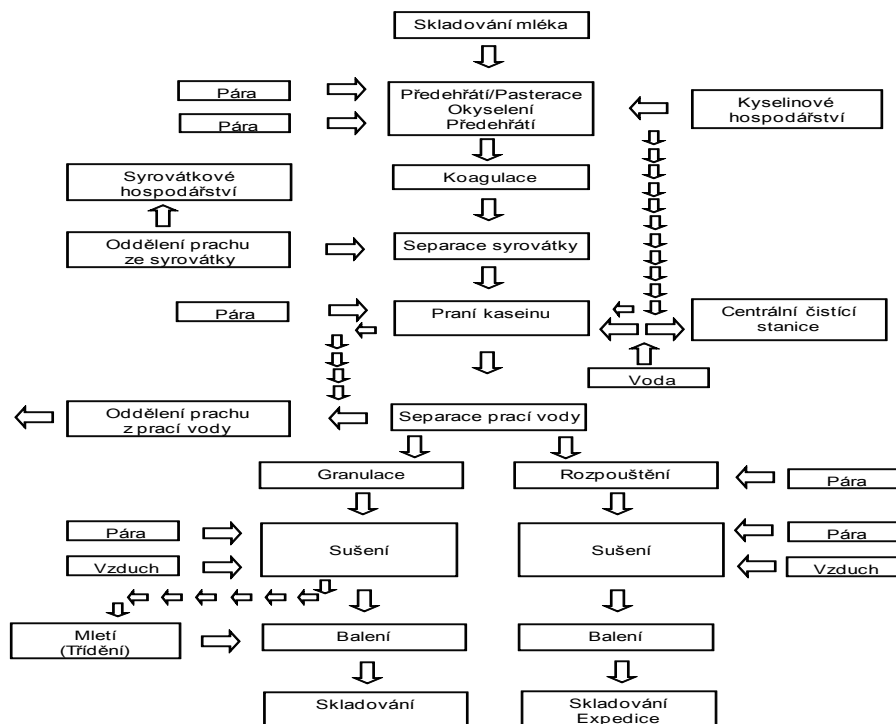
1.6 Průmyslové využití kaseinu

Kasein je díky svým vlastnostem využitelný v mnoha oblastech. Je využíván v potravinářském průmyslu do mléčných výrobků (analogy sýrů), pro zlepšení textury, vázání vody a tuku v masových výrobcích, jako přídavek do jogurtů pro zmírnění synergeze, jako emulgátor, bělidlo, pro vylepšení textury a pěnotvornou funkci. Má také využití při výrobě výrobků pekařských, těstovin, cukrovinek, nápojů, je používán jako regulátor viskozity, jako náhrada vaječných žloutků a tuků atd. V nepotravinářském průmyslu se využívá kasein zejména v technických aplikacích jako adhezivum (lepidlo), pro výrobu nátěrových látek, pro výrobu syntetických vláken (která jsou podobná ovčí vlně), pro výrobu pevných plastů, jako biomateriály (obalové materiály), aditiva (emulgátory a stabilizátory) [11,29].

1.7 Výroba bílkovinných koncentrátů

Jako bílkovinné koncentráty označujeme výrobky z odtučněného mléka, které obsahují více než 80% bílkovin. Většinou jsou ve formě sušených prášků, granulí, nebo jako roztoky. Kasein pro technické účely je z mléka srážen syřidlem (sladký kasein), popřípadě kyselinami (kyselý kasein). Veškeré složky kromě kaseinu nebo parakaseinu jsou odstraněny praním [26]. Výroba kaseinu je schematicky znázorněna na obrázku č. 3.

Blokové schéma výroby kaseinu



Obrázek č. 3: Blokové schéma výroby kaseinu [26]

Bílkovinné koncentráty lze rozdělit na rozpustné a nerozpustné. Mezi rozpustné se řadí kaseináty, které vznikají rozpouštěním kaseinu v různých zásadách, solích, případně kyselinách, přičemž jsou tyto roztoky většinou sušeny. V průmyslu se využívá hlavně z důvodu schopnosti vázat vodu, emulgovat tuk a tvořit pěnu a také pro svou nutriční hodnotu [2,26]. Dále jsou uváděny rozpustné koprecipiaty, které vznikají podobně jako kaseináty, ale rozpouštění nerozpustného kaseinátu na rozpustný je velmi obtížné. Využití je podobné jako použití kaseinátů, i když emulgační schopnost je mnohem nižší. Do rozpustných koncentrátů patří i bílkovinné koncentráty získané ultrafiltrací odtučněného mléka. Mezi jejich schopnosti patří emulgační schopnost, vysoká rozpustnost, pěnotvorná schopnost [26].

Do nerozpustných bílkovinných koncentrátů lze zařadit nerozpustné koprecipiaty. Jedná se o koncentráty obsahující všechny bílkoviny (kasein, sérové bílkoviny), které jsou sráženy vysokotepelem. V průmyslu se uplatňuje jejich bobtnavost a nutriční hodnota, kyselý kasein, který je srážen z mléka při zvýšení jeho kyselosti a sladký kasein, získaný srážením mléka působením syřidel. V potravinářství se využívá málo, využití je hlavně technické [2,26].

2 VLIV TAVICÍCH SOLÍ NA DISPERGACI KASEINOVÉHO KOMPLEXU

Tavicí soli se řadí mezi potravinářské přídatné látky. Přídatné látky jsou definovány jako látky, které se nepoužívají samostatně jako potravina, ani jako potravní přísada a přidávají se do potravin při výrobě, přepravě nebo skladování, čímž se samy (nebo jejich vedlejší produkty) stávají, nebo mohou stát součástí potraviny. Jsou získávány z různých zdrojů. Podle původu se rozlišují na přídatné látky přírodního původu, přídatné látky identické s přírodními (vyráběné synteticky nebo pomocí mikroorganismů), přídatné látky získávané modifikací přírodních látek, přídatné látky vyráběné synteticky [30].

Seznam povolených přídatných látek je uveden ve vyhlášce Ministerstva zdravotnictví ČR č. 4/2008 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin a v přílohách II a III nařízení (ES) č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách. Nejčastěji používané přídatné látky používané v mlékárenských technologiích jsou tavicí soli, modifikované škroby, stabilizátory, emulgátory, zahušťovadla, barviva, náhradní sladidla, balicí plyny. Vyhláška č. 4/2008 Sb. definuje tavicí soli jako látky, které mění vlastnosti proteinů při výrobě tavených sýrů za účelem zamezení oddělení tuku [31].

2.1 Výroba a funkce tavicích solí

Výrobou tavicích solí se zabývají specializované společnosti. Průmyslově vyráběné a dodávané tavicí soli jsou obvykle směsí několika chemických látek, jejichž složení je výrobním tajemstvím firmy, proto obvykle není přesně známo. Tato směs několika chemických látek je upravena tak, aby co nejvíce odpovídala požadavku na výrobní technologické podmínky (krémování, úprava pH, iontová výměna). Texturní a funkční vlastnosti tavicích solí při výrobě sýru nejsou ovlivněny jen kvalitou tavicích solí, ale i jejich množstvím a typem. Složení i množství tavicích solí je tedy zásadní pro kvalitu finálního výrobku. Skladba a množství tavicích solí významnou měrou ovlivňuje rozpustnost kaseinových micel [7]. V praxi se používají tavicí soli ve formě monovalentních kationtů sodných nebo draselných a polyvalentních aniontů fosforečnanů a citronanů. Používané tavicí soli, jak už bylo výše uvedeno, jsou průmyslově vyráběny. Jedná se především o sodné soli kyseliny trihydrogenfosforečné a citronové. Lze také použít draselné soli kyseliny fosforečné. Zde

však hrozí riziko vzniku hořké chuti [7,32]. Tato skutečnost z posledních výzkumů však nebyla prokázána [33,34].

Některé soli jsou lepší emulgátory (difosforečnany, polyfosforečnany), ale mají špatnou kapacitu pro vazbu vápníku. Schopnost izolovat vápník, je jednou z nejdůležitějších funkcí emulgačního činidla. Emulgátory doplňují emulgační schopnosti proteinů a poskytují jedinečné vlastnosti pro zpracování sýra [7,34,35,36].

Legislativní limit v České republice stanovuje limitní množství kyseliny fosforečné a fosforečnanů nebo jejich směsí (vyjádřených jako P_2O_5) pro tavené sýry v množství $20\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ výrobku [31]. I kdyby tento limit nebyl stanoven, nelze použít vyšší množství fosforečnanových solí, protože by došlo k nežádoucím změnám, které by se mohly projevit krystalizační tavicích solí a hořkou pachutí [32].

Tavicí soli sami o sobě nepůsobí jako emulgátor, ale jako emulgační činidla, která umožní proteinům (kaseinům) projevit jejich emulgační schopnosti [7,35]. Kapa-kasein působí jako přirozený emulgátor, což je dáno jeho strukturou. Obsahuje polární (hydrofilní) oblasti obsahující fosfoserinová rezidua i nepolární (lipofilní) oblast. Tavicí soli zvyšují dispergaci kaseinu, kaseiny zadržují vodu a tím se zlepší schopnost kaseinu k emulgaci tuku [11]. Tavicí soli pomáhají stabilizovat směs bílkovin, aby vlivem nízkého pH a vyšší teploty nedošlo k agregaci kaseinových micel a zabraňují destrukci membrán tukových kuliček v tavených sýrech a zabrání jejich agregaci do větších celků a následnému oddělení hydrofobních a hydrofilních fází. Což má vliv především na sensorické vlastnosti, mimo jiné lepší roztíratelnost, texturu. Nejčastěji používané soli jsou fosforečnany sodné (E339), difosforečnany (E450), polyfosforečnany (E452).

Hlavní funkce tavicích (emulgačních) solí používaných při výrobě taveného sýra:

- Odstranění vápníku ze systému proteinu (z proteinové matrice)
- Peptizace, rozpustnost a dispergace proteinů
- Hydratace a bobtnání proteinů
- Emulgace tuku a stabilizace emulze
- Řízení a stabilizace pH sýra
- Tvorba struktury během chlazení [7,35,36,37,38].

2.2 Fosforečnanové tavicí soli

Základní surovinou pro výrobu fosforečnanových solí je kyselina fosforečná H_3PO_4 . Bezvodá (100%) kyselina fosforečná je bílá hygrokopická krystalická pevná látka mírně hořké chuti, jako monohydrát je ve formě granulí nebo prášku. Komerčně dostupná je jako 75% (bod tání $20^\circ C$), 80% (s bodem tání $0^\circ C$) a 85% (tající při $21^\circ C$), je mírně rozpustná ve vodě ($20^\circ C$) a nerozpustná v etanolu (5%) [39]. Kyselina fosforečná (E 338) je nejsilnější ochucující látka. Používá se jako okyselovací a emulgační prostředek u tavených sýrů, jako antioxidant a chelatační činidlo v rostlinných a živočišných tucích, působí jako zdroj fosforu a udržuje kyselé prostředí při výrobě droždí. Může být použita při výrobě nápojů, sýrů, tuků, margarínů. Je netoxická v mírných množstvích, maximální denní dávka 4 g. Fosfátové soli jsou kondenzační produkty nebo estery kyseliny fosforečné. Od kyseliny fosforečné jsou odvozeny tři řady solí – dihydrogenfosforečnany NaH_2PO_4 , hydrogenfosforečnany Na_2HPO_4 , alkalické fosforečnany Na_3PO_4 [35,37,39].

Mezi nejčastěji používané fosfáty v potravinářském průmyslu řadíme fosforečnan sodný, fosforečnany draselné a polyfosfáty [37,44]. Fosforečnany používané jako tavicí soli jsou uvedeny v tabulce č. 1.

Tabulka č. 1: Fosforečnany používané při výrobě tavených sýrů a hodnoty pH jejich 1% (w/w) vodných roztoků [upraveno dle 7].

Skupina	Sloučenina	Vzorec	pH 1% vodného roztoku	E-kódy
fosforečnany	Dihydrogenfosforečnan sodný	NaH_2PO_4	4,5	E339
	Monohydrogenfosforečnan sodný	Na_2HPO_4	9,1	E339
	Monofosforečnan sodný	Na_3PO_4	11,9	E339
difosforečnany	Dihydrogendifosforečnan sodný	$Na_2H_2P_2O_7$	4,1	E450
	Difosforečnan sodný	$Na_4P_2O_7$	10,2	E450
trifosforečnany	Trifosforečnan sodný	$Na_5P_3O_{10}$	9,7	E451
polyfosforečnany	Polyfosforečnan sodný	$(NaPO_3)_n$	6,6	E452

Sodné fosforečnany NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 a Na_3PO_4 se vyrábí neutralizací kyseliny trihydrogenfosforečné uhličitanem sodným nebo hydroxidem sodným. Po ochlazení příslušný fosforečnan vykrytalizuje a je odfiltrován. Kondenzované fosforečnany se vyrábějí zahřátím monofosforečnanů [37,41].

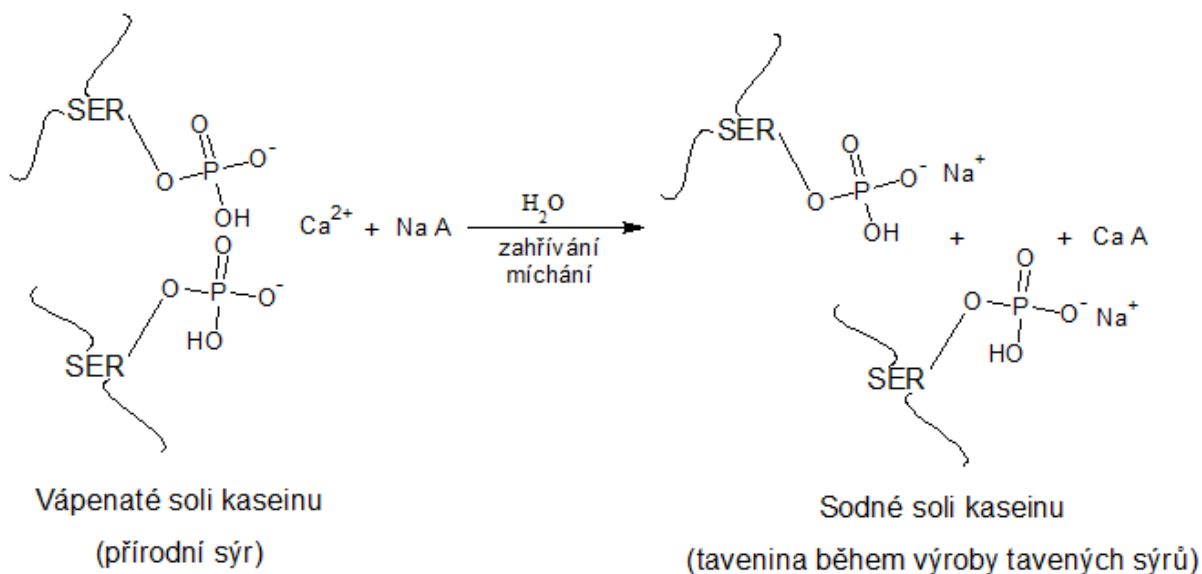
Pro výrobu sýrů je zcela zásadní vlastnost fosforečnanů odštěpovat a vázat na sebe monovalentní i polyvalentní kationty kovů, přičemž tato vlastnost je ovlivněna několika faktory. Fosforečnany mají nižší schopnost vázat alkalické kovy (sodík, draslík) v porovnání s kovy alkalických zemin (vápník, hořčík). Sodík je více vázaný fosforečnany než draslík. Vliv má i teplota. Čím je teplota vyšší (teplota při výrobě tavených sýrů je 90 – 100 °C), tím vyšší je schopnost vazby kationtů. Tento proces je reverzibilní, tj. pokud teplota klesá, pak schopnost vazby kationtů klesá také [7,35,43]. Schopnost vázat na sebe kationty je ovlivněna i obsahem fosforečnanových jednotek v molekule. Platí, že afinita ke kationtům roste se zvyšujícím se počtem fosforů ve sloučenině [7].

Podle schopnosti iontové výměny (výměna iontů sodíku za ionty vápníku) je můžeme seřadit takto: polyfosforečnany > trifosforečnany > difosforečnany > monofosforečnany > citronany [7].

Fosforečnanové tavicí soli se vyznačují schopností podpory zesílení gelové matrice díky možnosti vazby s molekulami kaseinu nebo přes tzv. vápenaté můstky.

Podle podpory tvorby gelu fosforečnany můžeme seřadit takto: polyfosforečnany ($n > 3$) > $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ > $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ > $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$ > $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ > Na_3PO_4 > Na_2HPO_4 > NaH_2PO_4 [7].

Vliv fosforečnanů je podstatný i při procesu emulgace. Při tomto procesu se nejvíce uplatní difosforečnany a trifosforečnany, díky jejich schopnosti dispergovat kasein a následně emulgovat tuk. Při procesu emulgace dojde tedy k iontové výměně vápenatých iontů za ionty sodné (obrázek č. 4), popřípadě draselné a z nerozpustného parakaseinátu vápenatého se stane parakaseinát sodný, který je rozpustný [7,36].



Obrázek č. 4: Iontová výměna vápenatých kationtů za sodné kationty při tavení přírodních sýrů [7,42]

Vyšší dispergace kaseinů je způsobena vyšším obsahem fosforečnanových jednotek. Dispergace souvisí s iontovou výměnou. Čím je účinnější iontová výměna, tím je intenzivnější dispergace kaseinů [7,36]. Když je kasein více dispergován, mohou proteiny více rozvinout své emulgační a hydratační schopnosti a stabilizovat přítomný tuk a vodu ve směsi. Přesto i pro fosforečnany se stejným počtem fosforů v molekule existují rozdíly ve schopnosti vázat kationty. Tyto rozdíly jsou dány pH směsi. Se zvyšujícím se pH systémů roste i tato schopnost [7,32,43].

Další důležitou vlastností fosforečnanů je úprava pH prostředí. Při nižších hodnotách má tavený sýr měkkou (rozbředlou) konzistenci, naopak při vyšším pH je tvrdý a drobivý. Roli zde má i délka fosforečnanových řetězců. S rostoucí délkou se pH tavených sýrů snižuje. Některé fosforečnany mají i pufovací schopnosti, což znamená, že pomáhají stabilizovat pH systém proti okolním vlivům. S rostoucí délkou řetězce tato schopnost klesá. Nejlepší schopnost stabilizovat pH mají ortofosforečnany [7,32,43].

2.3 Použití fosforečnanů v potravinářství

2.3.1 Fosforečnany

Fosforečnany (E339) upravují kyselost, působí jako stabilizátory, zabraňují nežádoucím účinkům kovů v potravinách. Používají se v sypkých směsích pro výrobu nápojů, v náhraž-

kách mléka do kávy, sýrech, masných výrobcích a nealkoholických nápojích. Nalézt je můžeme také v zahuštěném mléku, v tavených sýrech, ve šlehačce ve spreji. Nežádoucí účinky nejsou známy, pouze ty, které souvisejí se zvýšeným příjmem fosforečnanů. Vysoké dávky mohou totiž způsobit narušení rovnováhy mezi vápníkem a fosforem v těle a zapříčinit nedostatek vápníku. Toto mínění je však stále otázkou výzkumu a není zcela přesvědčivě prokázáno, nicméně bilance metabolismu vápníku byla u tavených sýrů méně příznivá než u jiných mléčných výrobků [7,45]. Bylo zjištěno, že nejvyšší biologická využitelnost vápníku je z mléka a fermentovaných mléčných výrobků. Biologická využitelnost vápníku pocházejícího z tavených sýrů byla sice mírně nižší než u mléka a fermentovaných mléčných výrobků, avšak stále významně vyšší než u rostlinných zdrojů [7]. V ČR jsou fosforečnany povoleny pro dané potraviny, lze je použít i pro dětské příkrmy [37].

2.3.2 Difosforečnany

Difosforečnany (E450) Jsou používány jako látky upravující kyselost, kypřící látky, emulgátory, stabilizátory a tavicí soli v tavených sýrech. Představují zdroj fosforu a v těle se rozkládají na fosforečnany. Vysoké dávky mohou narušit rovnováhu mezi vápníkem a fosforem v těle a mohou zapříčinit nedostatek vápníku. Malé množství v potravinách je přípustné, jakož i přídavek do dětských příkrmů jako jsou sušenky a suchary [37].

2.3.3 Polyfosforečnany

Polyfosforečnany (E452) mají schopnost vázat vodu v masných výrobcích, zabraňují nežádoucím účinkům kovů v potravinách, působí jako tavicí soli v tavených sýrech. Jsou zdrojem fosforu [37].

2.4 Citronanové tavicí soli

Základní surovinou pro výrobu citronanů je kyselina citronová $C_6H_8O_7$. Kyselina citronová je bílá nebo bezbarvá krystalická pevná látka, silně kyselé chuti, ve vodě dobře rozpustná při teplotě 20°C a také se dobře rozpouští v 5 % roztoku etanolu. Je důležitá pro komerční použití. Výhodou je nízká cena. Používá se jako univerzální ekologická kyselina, která je široce používána i spolu s jejími solemi citronany v potravinářském průmyslu. Je používána jako okyselující prostředek, antioxidant, antimikrobiální látka a chelatační činidlo. Je téměř netoxická, dobře stravitelná a metabolizovaná v přirozeně v těle. Z chemického hle-

diska má kyselina citronová vlastnosti jako ostatní karboxylové kyseliny [37,40]. V současnosti se průmyslově vyrábí pomocí kultury *Aspergillus niger*. Při této výrobě je kultura živena sacharózou, aby produkovala kyselinu. Poté je kultura zfiltrována a kyselina je z výsledného roztoku vysrážena pomocí hydroxidu vápenatého. Ze vzniklé vápenaté soli kyseliny citronové se samotná kyselina získává pomocí kyseliny sírové [46].

2.4.1 Citronan sodný

Citronany jsou soli odvozené od trikarboxylové kyseliny citronové. Citronan sodný (E331) je bílá látka krystalické nebo zrnkovité struktury, která se však může vyskytovat i ve formě prášku s lehkou slanou chutí. Citronany upravují kyselost džemů, cukrovinek, zmrzlin a dalších potravin. Také zabraňují nežádoucím reakcím přítomných kovů, které mohou způsobovat žluknutí nebo změny barvy potravin. Při výrobě tavených sýrech se používají jako tavicí soli. V ČR jsou považovány za bezpečné a neexistují u nich žádné známé nežádoucí účinky. Mohou být přidávány v legislativně stanoveném množství k povoleným potravinám. Lze je používat k úpravě pH všech druhů dětských příkrmů [37,44].

Jsou přirozenou součástí mnoha potravin. V těle jsou přítomny v mnohem větším množství, než je množství přidávané do potravin [37]. Typy citronanů používaných při výrobě tavených sýrů jsou uvedeny v tabulce č. 2.

Tabulka č. 2: *Citronany používané při výrobě tavených sýrů a hodnoty pH jejich 1% (w/w) vodných roztoků upraveno podle Molinse [3]*

Skupina	Sloučenina	Vzorec	pH 1% vodného roztoku	E-kódy
citronany	Citronan sodný	$C_6H_7NaO_7$	3,75	E331
	Citronan disodný	$C_6H_6Na_2O_7$	5,00	E331
	Citronan trisodný	$C_6H_5Na_3O_7$	7,95	E331

Jako tavicí soli jsou využívány nejvíce citronany trojsodné ($Na_3C_6H_5O_7$). Důvodem pro to je, že citronan monosodný i disodný způsobují silné okyselení směsi. Tato skutečnost je při výrobě sýrů nežádoucí, protože dochází ke vzniku nestabilní emulze, která snadno uvolňuje vodu. Proto se monosodná nebo disodná sůl kyseliny citronové používá

zejména k úpravě pH taveniny s vysokým podílem zralého přírodního sýra o vysokém pH. V porovnání s fosforečnanovými tavicími solemi jsou používány méně často. Obecně mají citronany menší schopnost vazby vápenatých iontů než fosforečnany, a proto se používají při výrobě tužších sýrů s lomivou konzistencí anebo ve směsi s fosforečnany (zejména s polyfosforečnany). Z důležitých vlastností lze uvést jejich pufrční schopnost a také to, že se nezapojují do zesíťování proteinové matrice [7,32,36].

3 MOŽNOSTI HODNOCENÍ DISPERGACE KASEINOVÉHO KOMPLEXU

Disperze je směs vzájemně rozptýlených látek. Rozděluje se na homogenní, což je jednofázová soustava a na heterogenní, čili více fází oddělených fázovým rozhraním. Jako koloidy jsou definovány ty soustavy, ve kterých se jedna látka vyskytuje v malých částech, tzv. koloidní částice, a kde jsou tyto částice rozptýleny v látce druhé. Částice látky jsou tak malé, že jejich pohyb je způsoben kinetickou energií molekul, takže gravitační síly jsou zanedbatelné [49]. Tato směs tvoří koloidní systém (koloidní disperzi). Nejedná se o roztok, protože roztok je směs homogenní a disperze je směs mikroheterogenní [47]. Mikroheterogenita koloidních roztoků se nejvíce projevuje v optických vlastnostech. Pokud prochází světlo tenkou vrstvou těchto soustav, zdají se tyto zcela homogenní a nezáleží na tom, zda jsou zbarvené či nikoliv. V silnějších vrstvách vykazují opalescenci, případně zákal. Příčinou zákalu je lom a odraz světla na jednotlivých částicích, které se difúzně rozptyluje a polarizuje. Tento jev je charakteristický pro nehomogenní prostředí, v němž jsou rozptýlené částice menší, než $\frac{1}{4}$ vlnové délky procházejícího světla [47].

Pro hodnocení kaseinů se používá řada postupů, které upravují ČSN. Jedná se např. o stanovení vlhkosti, popela, pH, stanovení obsahu bílkovin atd. Pro hodnocení intenzity dispergace kaseinového komplexu mohou být použity některé experimentální techniky, které jsou uvedeny v kapitole 3.1. Často používaná je metoda měření optické hustoty na spektrofotometru. Tato metoda měření byla použita v řadě publikovaných prací věnovaných problematice tavicích solí. [13,14,15,35,36]. Spektrofotometrie patří mezi metody optické.

3.1 Optické metody

Optické metody jsou fyzikální metody založené na vzájemném působení dvou nebo více činitelů – na interakci vzorku s elektromagnetickým zářením, nebo na vyzařování elektromagnetického záření vzorkem. Název optické metody má historické důvody, protože zpočátku byla pro analytické účely využívána viditelná složka elektromagnetického záření [48]. Optické metody umožňují v analytické chemii provedení kvalitativní i kvantitativní analýzy [47].

Optické metody je možno rozdělit na spektrální a nespektrální.

Spektrální metody jsou založené na výměně energie mezi látkou a zářením. Spektrum je závislost veličiny, která je mírou intenzity záření vysílaného nebo prošlého vzorkem, na vlnové délce záření λ . Místo vlnové délky se používá také vlnočet, frekvence, nebo energie. Tyto metody se dále dělí na emisní a absorpční [47,48,49].

Emisní metody jsou založeny na měření záření vysílaného (excitovaného) vzorkem. Emise je vyvolána dodáním energie vzorku v podobě tepla, elektrické energie, proudu elementárních částic nebo jiného elektromagnetického záření. Přijetím této energie se atomy nebo molekuly dostávají do méně stabilních energeticky bohatých stavů a přebytečné energie se zbavují v podobě elektromagnetického záření [47,48,49].

Metody absorpční sledují pohlcování neboli absorpci záření vzorkem. Využívá se při nich vlnové délky z různých oblastí spektra elektromagnetického záření. Tyto metody obecně nazýváme fotometrické. Podle použitého záření se dělí na mnoho metod. Mezi metody absorpční se řadí UV-VIS spektroskopie, kolorimetrie. Využití absorpčních metod je v několika analytických metodách, zejména v těch, které se týkají měření koncentrací. Absorpce světla znamená, že při průchodu látkou dochází k pohlcení části světelného spektra. Oblast světla, která je pohlcována látkou, závisí na konkrétní látce [47,48,50].

Nespektrální metody jsou metody, při nichž není sledována výměna energie mezi látkou a zářením, nýbrž změny některých vlastností záření – změny rychlosti záření, otáčení roviny polarizovaného světla, rozptyl záření. Mezi tyto metody patří refraktometrie, interferometrie, polarimetrie, nefelometrie, turbidimetrie [48,50]. Pro měření disperze kaseinů bývá využita především turbidimetrie a nefelometrie [48].

3.1.1 UV-VIS spektroskopie

UV-VIS spektroskopie patří mezi metody spektrální. Přístroje, kterými měříme emisní nebo absorpční spektra látek nazýváme spektrometry. Spektrometry obsahují zdroj záření, optické prvky pro vedení paprsku přístrojem, prvek pro určení vhodné vlnové délky k měření, zařízení pro vzorek, u absorpčních metod kyvetu a detektor elektromagnetického záření. Měření jsou zaznamenána a vyhodnocována počítačem [48]. Pracuje se v UV-VIS oblasti. Podstatou ultrafialové a viditelné spektrometrie je absorpce ultrafialového a viditelného záření při 200 – 800 nm zředěnými roztoky molekul. Při absorpci dochází k excitaci valenčních elektronů, které jsou součástí molekulových orbitalů. Proto molekulová absorpční spektra jsou svou podstatou elektronová spektra. [48,49]. Spektrem rozumíme sou-

bor různých vlnových délek. V konkrétnějším smyslu můžeme spektrem nazvat závislost intenzity absorbovaného světla na vlnové délce [47]. Měření zářivého toku - fotometrie je podstatou přístrojů pro tuto metodu [48].

Z výhod spektrofotometrie lze vyjmenovat např. nízkou cenu přístrojů, snadnou mobilitu zařízení pro různé provozní aplikace, možnost automatizace měření, jednoduché analytické využití v UV-VIS oblasti, i při analýze potravin.

Do nevýhod lze zařadit především nižší přesnost měření a díky způsobu snímání nižší přesnost než u turbidimetrie a nefelometrie. Pokud se zpracovává více vzorků, které nejsou dostatečně stabilní, může být technicky obtížné zajistit stejné podmínky pro první a poslední vzorky, měření trvá dlouho, výkonnost metody je nízká [13,48]. Je nutno dodržet co nejrychlejší změření vzorku po rozmíchání, aby nedošlo k sedimentaci částic a tím pádem ke zkreslení výsledku [48].

3.1.2 Kolorimetrie

Kolorimetrie patří mezi kvantitativní metody chemické analýzy. Je to optická (spektrální) metoda založená na porovnávání intenzity zbarveného roztoku o neznámé koncentraci s roztokem téže látky o známé koncentraci. Obecně se řadí k fotometrii. Patří mezi subjektivní metody. Dva roztoky o známé koncentraci při určité tloušťce vrstvy mají stejné intenzivní zbarvení. Porovnáním s výsledky získanými se známými koncentracemi je možné neznámé množství ve zkoumaném vzorku dopočítat s použitím srovnávací kalibrační přímky [48].

3.1.3 Nefelometrie a turbidimetrie

Nefelometrie i turbidimetrie se řadí mezi optické metody nespektrální. Obě metody patří mezi metody zákalové. Jsou vzájemně „zrcadlové“. Vycházejí z tzv. Tyndallova jevu – rozptylu světla. Rozptyl světla (úzký svazek paprsků) je soubor jevů, které způsobují, že disperzní soustava se při průchodu světla jeví zakalená. V roztocích obsahujících bílkoviny lze vidět paprsek procházejícího světla podobně, jako lze vidět světlo v místnosti se zvířeným prachem [47].

Turbidimetrie a nefelometrie se od sebe liší umístěním detektoru. V nefelometrii je detekováno záření rozptýlené nejčastěji ve směru kolmém na vstupující paprsek a používáme ji pro nižší koncentrace rozptýlených částic. V turbidimetrii je detektor v ose paprsku a mě-

říme záření prošlé vzorkem, které je ochuzené o rozptýlenou složku záření. Rozdíl ve snímání je zobrazen na obrázku č. 5. Hodí se pro koncentrovanější roztoky [48,51].



Obrázek č. 5: Rozdíl mezi turbidimetrií a nefelometrií ve způsobu snímání upraveno podle VŠCHT [52]

Turbidimetrie je metoda, při níž se zjišťuje koncentrace přítomného koloidu měřením intenzity světla prošlého disperzní soustavou. Vlivem rozptylu v koloidních částicích klesá (prochází-li světlo disperzním prostředím, dochází k jeho zeslabení) intenzita primárního svazku podobně jako při absorpci světla podle exponenciálního vztahu podobného Lambert-Beerovu zákonu:

$$I = I_0 \exp(-L\tau),$$

kde I je intenzita prošlého, I_0 vstupujícího svazku záření, τ je velikost rozptylu, tzv. koeficient zákalu (turbidity) a L je tloušťka vrstvy měřené disperze. Tato metoda využívá rozptylu světla částicemi v suspenzích a koloidních roztocích. Detektor je v ose paprsku, měří se záření prošlé vzorkem, které je ochuzené o rozptýlenou složku záření. Hodí se pro koncentrovanější roztoky [48,49]. Přístroj na měření se nazývá turbidimetr a je to optický přístroj, který určí množství částic na základě měření absorpce světla prošlého zakaleným prostředím [53].

Nefelometrie se zabývá měřením intenzity rozptýleného světla. Měřením intenzity rozptýleného světla v různých úhlech vzhledem k primárnímu svazku je možno získat informace o velikosti a tvaru částic, protože intenzita rozptýleného světla je pro nesymetrické částice závislá na úhlu pozorování. Tuto metodu lze využít tam, kde je potřeba stanovit stopové koncentrace látek ve formě suspenzí, emulzí, aerosolů a koloidních disperzí [54]. Je používána pro nižší koncentrace rozptýlených částic. Přístroj, kterým se zákal měří, se nazývá

nefelometr. Tímto optickým přístrojem lze změřit množství pevných částic rozptýlených v kapalném prostředí [53].

Zákal (turbidita) je definován jako snížení průhlednosti kapaliny způsobené pevnými (nerozpuštěnými) látkami. Jako kalibrační standard bývá u zákaloměrů používán formazin. Zákal měřené látky je stanoven pomocí koncentrace kalibračního roztoku. Výsledná hodnota změřeného zákalu udává, že měřená látka pohlcuje a rozptyluje stejné množství světla jako určitá koncentrace standardního roztoku [51,53].

Měřicí čidlo zákaloměru pracuje na principu poměrového vyhodnocení paprsků světla v rovině zdroje záření – absorpce paprsku přímého a paprsku rozptýleného, vzniklého odrazem od nerozpuštěných částic, udávajících zákal, tzv. zákalotvorných částic v měřené kapalině. Mezi zákalotvorné částice řadíme ty, které ze zkušenosti vyvolávají viditelný zákal. Patří k nim především nerozpuštěné dispergované částice [54].

Poměrové vyhodnocení signálu v rovině referenčního paprsku bývá v úhlu 90° . Nicméně optika přístroje může být konstruována i pro jiný úhel vyhodnocení. Pravoúhlý zákaloměr umožňuje zákalem stanovit komplexněji množství bílkovin i koloidních částic. Pro stanovení odstředěného mléka se používá zpětný úhel měření 135° [53]. Vlnová délka zdroje vstupního záření je další podstatnou charakteristikou zákaloměru. Podle oboru použití může být 650 nm nebo 860 nm [53]. ČSN norma ISO 2027 stanovuje vlnovou délku na 880 nm [51]. Zdroj vstupního záření je digitálně modulovaný polovodič nebo halogenová žárovka se stabilizátorem [53].

Norma ČSN ISO 2027 pro měření zákalu pitné vody, která se používá i pro definici měření zákalu i na ostatních aplikacích stanovuje tři základní požadavky, které musí přístroje pro měření zákalu splňovat: zákal se musí určovat pomocí měření intenzity rozptýleného světla detekovaného pod úhlem 90° , použitá vlnová délka 880 nm, kalibrace přístroje formazinem v jednotkách FNU (Formazin Nephelometric Units) [51].

Mezinárodně uznávané jednotky zákalu jsou FNU - zákal formazinem nefelometricky, metoda měření rozptýleného záření. Další jednotky jsou např. NTU, FAU, atd. [51,53]. Vzájemný přepočítání těchto jednotek je složitý

Výsledky měření značně ovlivňují podmínky stanovení. Hlavní vliv na změřené hodnoty má velikost a tvar částic. Důležitý je faktor času. Je nutné pečlivě dodržovat dobu a intenzitu míchání připravované suspenze. Tato podmínka platí i pro spektrometrické metody.

Pro bezchybné spektrometrické měření je zásadní míchání z důvodu možné sedimentace částic, protože tím může dojít ke zkreslení výsledku. Metoda je vhodná mj. pro měření stanovení proteinů v séru (v kapalině rozpuštěné částice) stejně jako spektrometrie [48].

Měření zákalu není absolutním měřením. Hodnoty měření závisí na více vlastnostech měřené kapaliny jako je barva, index lomu, velikost, tvar částic, které způsobují zákal, apod. Pro porovnání naměřených údajů zákalu je rovněž nutné, aby konstrukce měřicího přístroje odpovídala doporučeným standardům, protože porovnání naměřených hodnot zákalu u přístrojů různých výrobců je možné jen za předpokladu, že přístroje mají stejnou charakteristiku, zejména stejnou vlnovou délku zdroje vstupního záření, stejný snímací úhel rozptýleného svazku světla, stejnou optickou konfiguraci, kalibraci a kompenzaci vlivu barvy měřeného média.

Záleží na typu přístroje, se kterým se měří. Pokud se měří odlišnými typy přístrojů, výsledky měření nejsou srovnatelné [51,53].

3.2 Ultrazvuková metoda

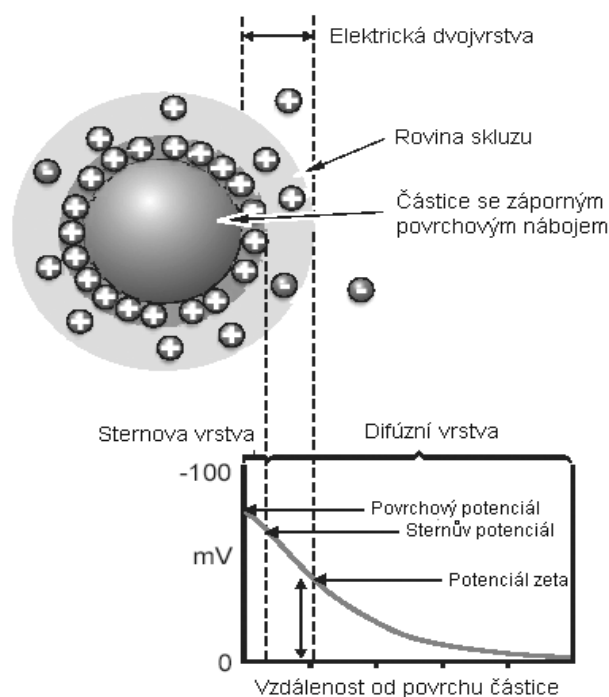
Z dalších metod lze zmínit metodu ultrazvukovou, kterou lze stanovit velikost zákalu v kapalině. Podstatou měření je porovnání velikosti ultrazvukového signálu do kapaliny vyslaného s porovnáním velikosti signálu prošlého. Měření je v podstatě podobné jako u metod optických. Zákal pak udává vzájemný poměr obou těchto signálů. Tuto metodu lze použít v případech, kdy by měření mohlo dojít ke znečištění měřicího prostoru, a tím by bylo měření prakticky nemožné [53].

3.3 Měření elektrických vlastností koloidů – zeta potenciál

Zeta potenciál určuje stabilitu suspenzí v kapalném prostředí. Toto měření nabízí pohled do příčin disperze, agregace nebo flokulace [56].

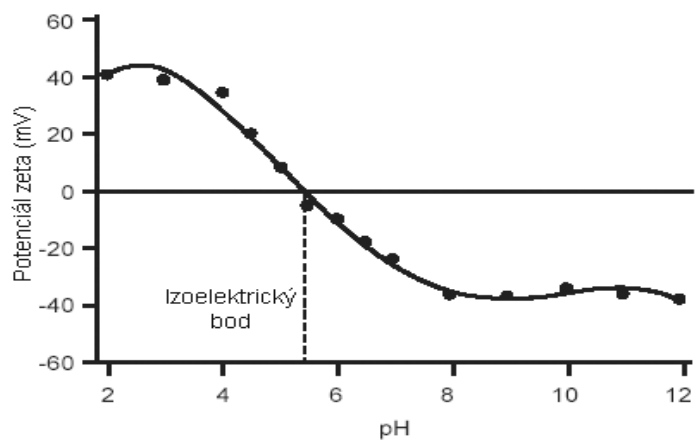
Přítomnost částic disperzní fáze a široce rozvinutého fázového rozhraní v disperzních soustavách podmiňuje jejich elektrické vlastnosti a zejména vznik elektrokinetických jevů. Kolem nabitých koloidních částic se seskupují malé ionty opačného znaménka, takže na povrchu této částice vznikají dvě nabitě vrstvy (elektrická dvojvrstva). Tento jev je znázorněn na obrázku č. 6 [57]. Příčinou pohybu koloidních částic v elektrickém poli je elektrokinetický potenciál - zeta potenciál. Jde o potenciálový rozdíl mezi pohyblivou a fixovanou

částí iontové atmosféry, tj. mezi difúzně rozptýlenými ionty v roztoku a tenkou vrstvou protiiontů, poutanou k povrchu částice. Velikost potenciálu zeta charakterizuje a zároveň ovlivňuje potenciální stabilitu koloidního systému. Nejdůležitější faktor, který ovlivňuje potenciál zeta je pH. Hodnota potenciálu zeta sama o sobě bez uvedení pH, je jen číslo, které nemá žádný smysl [57,58]. Zeta potenciál určuje stabilitu suspenzí v kapalném prostředí. Ta je pro mnoho aplikací a použití klíčová. Aby suspenze byla funkční, musí být schopná suspendovat disperzní fázi po dobu existence výrobku nebo ji snadno dispergovat, pokud by došlo k sedimentaci. Ke stabilitě dispergované fáze přispívá řada faktorů. Ty jsou termodynamického nebo kinetického původu. Příklady termodynamického účinku zahrnují prostorovou a elektrostatickou stabilizaci, která navodí stabilitu prostřednictvím odpuzování částic, kdežto kinetická stabilita se může přivodit zvýšením viskozity suspenzního prostředí a tím zpomalit shlukování a sedimentaci částic [58].



Obrázek č. 6 Měření elektrických vlastností koloidů (zeta potenciál) [57]

Velikost potenciálu zeta charakterizuje a zároveň ovlivňuje potenciální stabilitu koloidního systému. Pokud všechny částice suspenzi mají velký záporný nebo kladný potenciál zeta, pak se odpuzují navzájem. V případě nízkých hodnot potenciálu zeta se částice shlukují (flokulují). Bod, kde vynesení prochází nulovým potenciálem zeta, se nazývá izoelektrický bod a je velmi důležitý. Je to bod, kde je koloidní systém nejméně stabilní. Grafické znázornění můžeme vidět na obrázku č. 7 [57].



Obrázek č. 7: Znáznornění izoelektrického bodu [57]

Měření zeta potenciálu má využití v celé řadě průmyslových odvětví. Např. v potravinářství, keramice, farmacii, zpracování minerálů a úprava vody [56].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem práce v teoretické části bylo:

1. Charakterizovat mléko a zaměřit se zejména na vlastnosti kaseinů
2. Popsat vliv tavicích solí na dispergaci kaseinového komplexu
3. Popsat možnosti hodnocení dispergace kaseinového komplexu

Cílem práce v praktické části bylo:

1. Připravit jednoduchý modelový systém s využitím odtučněného mléka
2. Připravit vzorky s přídavkem tavicích solí na bázi citronanu a fosforečnanů
3. Stanovit optickou hustotu připravených vzorků při dvou hodnotách pH
4. Zpracovat data v závislosti na typu použité binární směsi a na hodnotě pH

5 MATERIÁL A METODY

5.1 Suroviny pro přípravu modelového systému

- Sušené odstředěné mléko Moravia Lacto,a.s., LPC, Jihlava, ČR.
- Azid sodný NaN_3 , výrobce Sigma Aldrich, spol.s r.o., Praha, ČR
- Citronan sodný $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Sigma Aldrich spol. s r.o., Praha, ČR
- Fosforečnanové tavicí soli Fosfa, a.s., Břeclav, ČR, cyklický trifosforečnan sodný-
Sigma Aldrich, spol. s r.o., Praha, ČR
- Hydrogenfosforečnan sodný Na_2HPO_4
- Difosforečnan sodný $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$
- Trifosforečnan sodný $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$
- Cyklický trifosforečnan sodný $\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_9$
- Deionizovaná voda

5.2 Použité přístroje

- Stolní pH metr EUTECH INSTRUMENTS pH 510, BioTech a.s., Praha, ČR
- Spektrofotometr UV-VIS Spectrofotometer, UV Mini 1240, Shimadzu, Německo
- Míchačka magnetická Hei - Mix S, VWR International s.r.o., Praha, ČR

5.3 Příprava modelových vzorků disperze sušeného odstředěného mléka

Modelový vzorek byl připraven z odtučněného mléka kvůli možné interferenci tukových kuliček [59].

Vzorek pro jednu sadu měření byl připraven z 1,5 l vody a 75 g sušeného mléka. Do vody ohřáté na 50°C bylo přidáno sušeného mléka. Vzniklá suspenze obsahovala 5% (w/v) mléka. Takto připravená směs byla míchána při laboratorní teplotě kvůli dosažení dokonalého rozpuštění a rozmíchání směsi. Ke směsi byl přidán azid sodný 0,02% (w/v) z důvodu zajištění mikrobiální stability. pH vzorku bylo upraveno na hodnotu $5,2 \pm 0,01$ nebo $6,4 \pm 0,01$ aplikací kyseliny chlorovodíkové (1 mol.l^{-1}), popř. hydroxidu sodného (1 mol.l^{-1}). Modelový systém byl po dobu 18 hodin při laboratorní teplotě ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) nepřetržitě promícháván. Poté byla přidána binární směs tavicích solí a vzorek byl míchán z důvodu důkladného

rozpuštění tavicích solí po dobu 60 minut. Po rozmíchání bylo znovu upraveno pH na cílovou hodnotu ($5,2 \pm 0,01$ nebo $6,4 \pm 0,01$).

V těchto vzorcích byla přeměřena optická hustota [36,59].

Binární směsi byly složeny z fosforečnanů – hydrogenfosforečnanu sodného (DSP), difosforečnanu sodného (TSPP), trifosforečnanu sodného (STPP), cyklického trifosforečnanu sodného (TTMP) a citronanu sodného (TSC) v celkovém množství 0,3% (w/v). Ve vzorku mléka se poměr fosforečnanu a citronanu měnil dle tabulky č. 3. Kombinací vždy jednoho ze čtyř fosforečnanů s citronanem vznikly čtyři kombinace binárních směsí, které byly upraveny na dvě různé hodnoty pH. Tyto kombinace byly testovány v 10 vzájemných procentuelních poměrech fosforečnan:citronan (100:0, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80, 10:90, 0:100). V každé sadě byl také vždy připraven vzorek bez přísavku tavicí soli, jednalo se tedy o disperzi odtučněného sušeného mléka ve vodě s úpravou pH na cílovou hodnotu. Každý typ vzorku byl připraven třikrát a každý tento jednotlivý vzorek byl proměřen třikrát. pH bylo upraveno na $5,2 (\pm 0,01)$ v jedné sérii měření a na $6,4 (\pm 0,01)$ v další sérii měření. Tyto hodnoty pH byly zvoleny tak, aby postihovaly rozmezí, ve kterém se pohybuje hodnota pH tavených sýrů [60].

Tabulka č. 3: *Návrh navážek binárních směsí tavicích solí*

Pořadí Vzorku	Poměr fosforečnanové a citronanové tavicí soli	Navážka fosfátové soli [g]	Navážka citronanové soli [g]
1	100:0	0,3	0
2	90:10	0,27	0,03
3	80:20	0,24	0,06
4	70:30	0,21	0,09
5	60:40	0,18	0,12
6	50:50	0,15	0,15
7	40:60	0,12	0,18
8	30:70	0,09	0,21
9	20:80	0,06	0,24
10	10:90	0,03	0,27
11	0:100	0	0,3

5.4 Měření optické hustoty

Pro stanovení stupně dispergace kaseinového komplexu bylo zvoleno měření optické hustoty na přístroji UV-VIS Spectrofotometer, UV Mini 1240 (Shimadzu, Německo). Přístroj

měří v rozsahu vlnových délek 190.0 ~ 1100.0 nm. Zdrojem světla je deuteriová výbojka pro měření v UV oblasti a halogenová lampa pro měření ve viditelné oblasti spektra. Měření optické hustoty bylo provedeno při vlnové délce 700 nm, ve skleněné kyvetě 10 mm a při laboratorní teplotě. Jako slepý vzorek byla měřena voda, protože mléko bez přídavku tavicích solí vykazovalo vyšší optickou hustotu a při odečtu mléka s přídavkem tavicích solí se výsledná hodnota pohybovala v záporné oblasti.

Pro zachování konstantních podmínek při měření optické hustoty je nutné dodržet co nejkratší časový interval od odebrání po změření vzorku z důvodu sedimentace, která by mohla ovlivnit výsledky měření. Pokud je současně zpracováváno více vzorků, které nejsou dostatečně stabilní, může být technicky obtížné zajistit stejné podmínky pro první a poslední vzorky, a tím může dojít ke zkreslení výsledků [13,48]. Viz kapitola 3.1.3.1.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

6.1 Výsledky měření optické hustoty

Dle postupu uvedeného v kapitole 5.1 byla připravena modelová suspenze sušeného mléka v deionizované vodě v kombinaci fosforečnanu s citronanem [36,59].

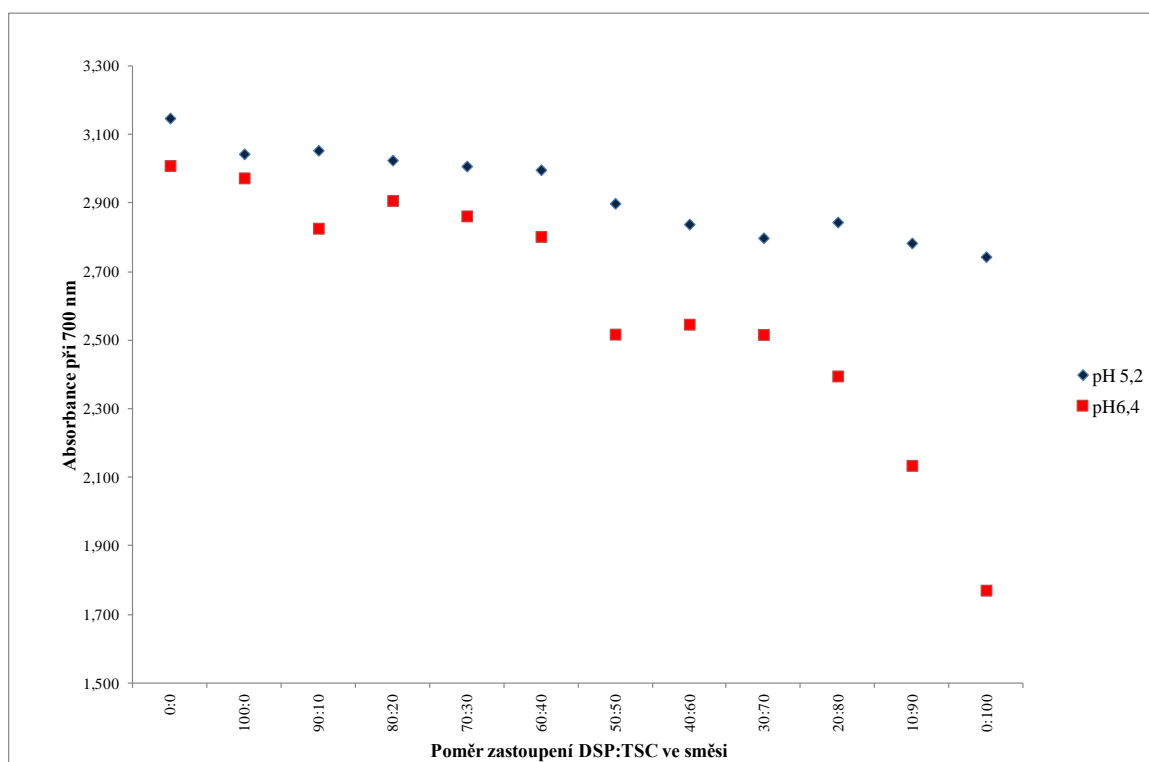
6.1.1 Výsledky měření s použitím monofosforečnanu a citronanu ve směsi tavicích solí

V první sérii měření byla zvolena binární směs monofosforečnanu s citronanem. Příprava vzorků pro toto měření byla následující.

Jako první byly připraveny navážky binární směsi monofosforečnanu s citronanem v poměrech dle tabulky č. 4. Tyto směsi tavicích solí byly přidány ke vzorku rozpuštěného mléka, u kterého bylo upraveno pH na hodnotu 5,2 (kapitola 5.1). Následovalo další důkladné rozmíchání (kapitola 5.1) a u jednotlivých vzorků bylo opět upraveno pH na hodnotu 5,2 a následně byla proměřena optická hustota při 700 nm. Jak už bylo uvedeno v kapitole 5.4, byla jako slepý vzorek měřena voda, z důvodu, že mléko bez přídavku tavicích solí vykazovalo vyšší optickou hustotu a při odečtu mléka s přídavkem tavicích solí se výsledná hustota pohybovala v záporných hodnotách. Celkem bylo měřeno 12 vzorků. První vzorek bylo mléko s úpravou pH, bez přídavku tavicích solí, dalších 11 vzorků se stejným objemem 100 ml a s přídavkem tavicích solí podle poměrů uvedených v tabulce č. 4. Stejný postup byl opakován i při dalším měření s jinou hodnotou pH 6,4.

Tabulka č. 4: Navážky binárních směsí obsahujících hydrogenfosforečnan sodný (DSP) a citronan sodný (TSC)

Pořadí vzorku	Poměr tavicích solí		Navážka DSP [g]	Navážka TSC [g]
1	100	0	0,3	0
2	90	10	0,27	0,03
3	80	20	0,24	0,06
4	70	30	0,21	0,09
5	60	40	0,18	0,12
6	50	50	0,15	0,15
7	40	60	0,12	0,18
8	30	70	0,09	0,21
9	20	80	0,06	0,24
10	10	90	0,03	0,27
11	0	100	0	0,3



Obrázek č. 8 Graf závislosti optické hustoty na poměru monofosforečnanu a citronanu ve směsi tavicích solí

Za předpokladu, že je hodnota optické hustoty závislá na míře dispergace kaseinového komplexu, lze vyšší hodnotu optické hustoty považovat za projev vyššího shlukování

kaseinu, kdy dochází k tvorbě agregátů kaseinů. Naopak vliv tavicí soli lze očekávat ve zvýšení disperze kaseinového komplexu a tudíž ve snížení optické hustoty [36].

Z grafu na obrázku č. 8 je patrná klesající tendence optické hustoty současně s poklesem podílu monofosforečnanu ve směsi tavicích solí pro obě hodnoty pH. Současně lze také vysledovat vliv pH na tento systém, kdy nižší hodnotu optické hustoty vykazovaly vzorky při pH 6,4. Výrazný pokles je pozorovatelný především v případě vzorků s převažujícím obsahem citronanu ve směsi tavicích solí (vzorky 20:80, 10:90 a 0:100).

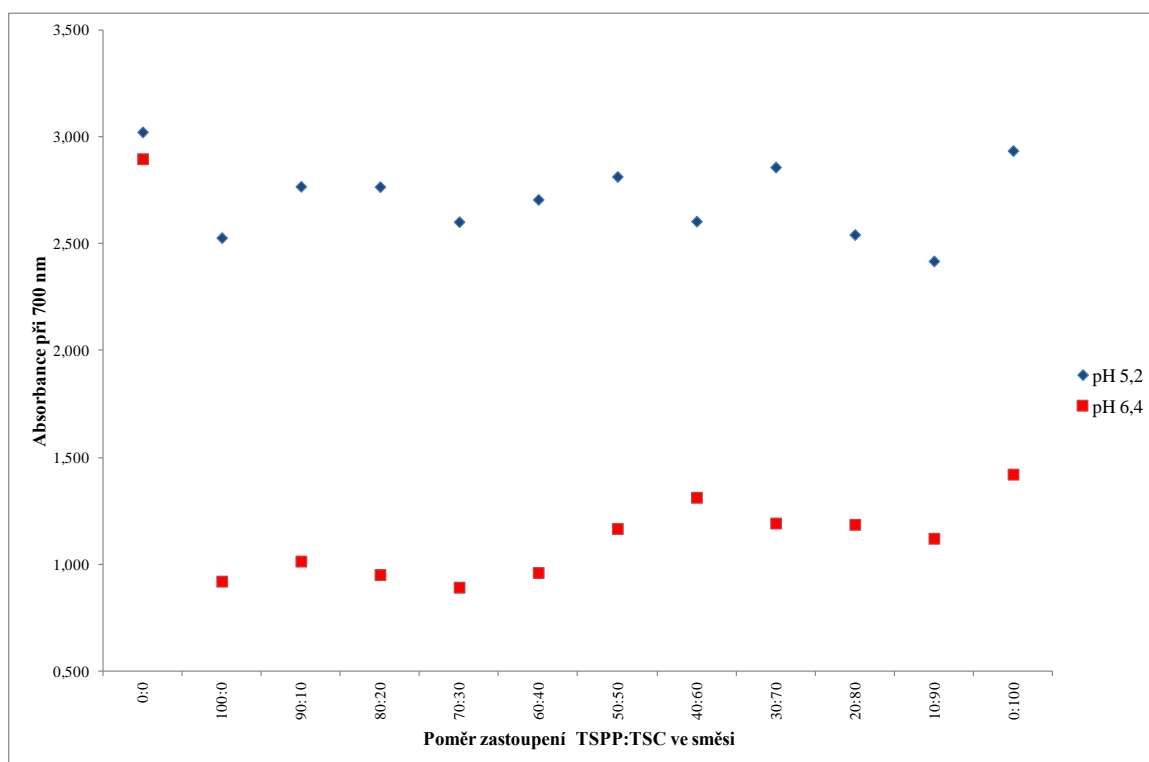
6.1.2 Výsledky měření s použitím difosforečnanu a citronanu ve směsi tavicích solí

V této části byl testován vliv binární směsi difosforečnanu s citronanem na dispergaci kaseinového komplexu v prostředí dvou hodnot. Příprava vzorků pro toto měření byla stejná jako u předchozího měření, s tím rozdílem, že místo monofosforečnanu byl použit difosforečnan.

Jako první byly opět připraveny navážky binární směsi difosforečnanu s citronanem v poměrech dle tabulky č. 5. Tyto směsi tavicích solí byly přidány ke vzorku rozpuštěného mléka, u kterého bylo upraveno pH na hodnotu 5,2 (případně 6,4). Další postup úpravy vzorku odpovídal postupu uvedenému v kapitole 5.1. Celkem bylo připraveno 12 vzorků při pH 5,2 a 12 vzorků při pH 6,4, každý vzorek o objemu 100 ml. Výsledky těchto měření jsou znázorněny v grafu na obrázku č. 9.

Tabulka č. 5: Navážky binárních směsí obsahujících difosforečnan sodný (TSPP) a citronan sodný (TSC)

Pořadí vzorku	Poměr tavicích solí		Navážka TSPP [g]	Navážka TSC [g]
1	100	0	0,3	0
2	90	10	0,27	0,03
3	80	20	0,24	0,06
4	70	30	0,21	0,09
5	60	40	0,18	0,12
6	50	50	0,15	0,15
7	40	60	0,12	0,18
8	30	70	0,09	0,21
9	20	80	0,06	0,24
10	10	90	0,03	0,27
11	0	100	0	0,3



Obrázek č. 9 Graf závislosti optické hustoty na poměru difosforečnanu a citronanu ve směsi tavicích solí

Z grafického vyjádření výsledků je patrný výrazný vliv pH na optickou hustotu vzorků.

V případě pH 5,2 byly naměřeny vysoké hodnoty optické hustoty, což lze přisuzovat intenzivnějšímu shlukování kaseinu. Naopak při pH 6,4 došlo k výraznému snížení hodnot optické hustoty pro všechny poměry TSPP:TSC. Nižší optickou hustotu lze pozorovat jak v porovnání s hodnotami při nižším pH, tak v porovnání s nulovým vzorkem, tzn. bez přídavku tavicí soli (0:0). TSC má ve směsi s TSPP malý vliv na změnu optické hustoty, resp. lze vysledovat mírně klesající tendenci optické hustoty ve směru zvyšujícího se obsahu TSPP ve směsi v případě pH 6,4. Tento trend lze vyhodnotit jako pozitivní vliv působení TSPP na snadnější disociaci kaseinového komplexu a vznik jemnější disperze ve vzorcích. Optická hustota vzorků při pH 5,2 vykazuje vysoké hodnoty pro všechny poměry tavicích solí ve směsi bez výrazného trendu.

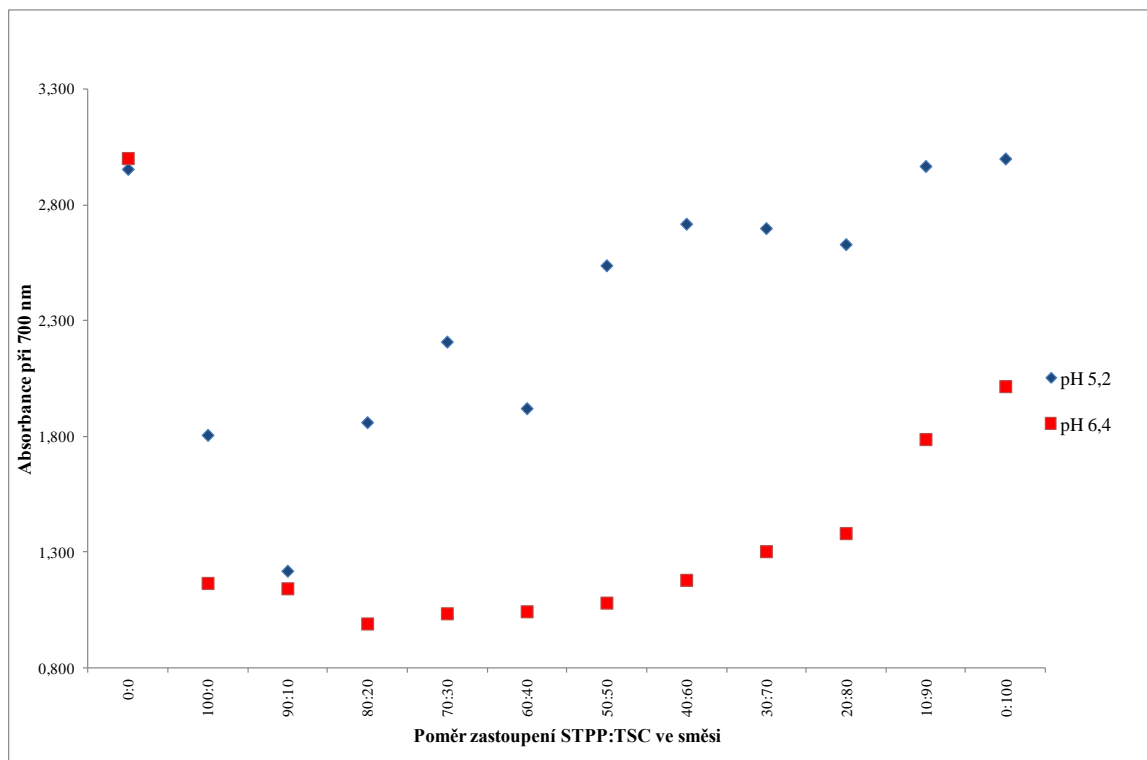
6.1.3 Výsledky měření s použitím trifosforečnanu a citronanu ve směsi tavicích solí

I při měření této směsi bylo postupováno jako ve výše uvedených návodech. Rozdíl byl opět jen ve výběru tavicí soli. Zde se jedná o trifosforečnan. Byly připraveny navážky binární směsi trifosforečnanu s citronanem v poměrech dle tabulky č. 6. Další postup je stejný jako u výše uvedených měření (kapitola 6.1.1, 6.1.2).

Výsledky těchto měření jsou znázorněny v grafu na obrázku č. 10.

Tabulka č. 6: Navážky binárních směsí obsahujících trifosforečnan sodný (STPP) a citronan sodný (TSC)

Pořadí	Poměr tavicích solí		STPP [g]	TSC [g]
1	100	0	0,3	0
2	90	10	0,27	0,03
3	80	20	0,24	0,06
4	70	30	0,21	0,09
5	60	40	0,18	0,12
6	50	50	0,15	0,15
7	40	60	0,12	0,18
8	30	70	0,09	0,21
9	20	80	0,06	0,24
10	10	90	0,03	0,27
11	0	100	0	0,3



Obrázek č. 10 Graf závislosti optické hustoty na poměru trifosforečnanu a citronanu ve směsi tavicích solí

Z grafu na obrázku č. 10 je patrný opět výrazný rozdíl hodnot optické hustoty pro obě hodnoty pH. V případě nižšího pH byla naměřena u všech vzorků vyšší hodnota optické hustoty, kromě vzorku 90:10. Pro obě hodnoty pH lze vysledovat obdobný trend, kdy dochází k poklesu hodnot optické hustoty v souvislosti se zvyšujícím se obsahem STPP ve směsi tavicích solí. Nejnižší optická hustota byla naměřena u poměru STPP: TSC 80:20 při pH 6,4, nízké hodnoty byly naměřeny také u vzorků 100:0, 90:10, 70:30, 60:40, 50:50 a 40:60. Obě soli se jeví být podobně účinné při rozptýlu kaseinu, pokud jsou použity ve směsi. S vyšším přidavkem citronanu dochází k vyššímu shlukování, vyšší množství trifosforečnanu má pozitivní vliv na dispergaci kaseinového komplexu.

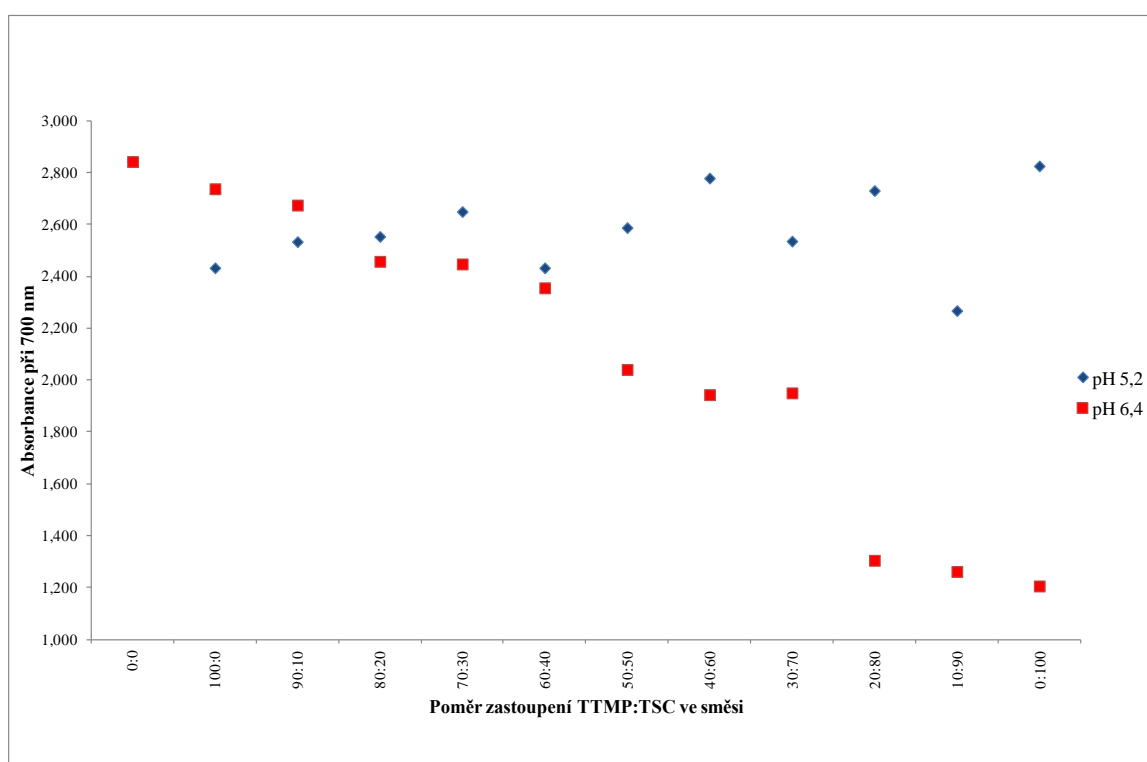
6.1.4 Výsledky měření s použitím cyklického trifosforečnanu a citronanu ve směsi tavicích solí

V této kapitole jsou shrnuty výsledky měření vzorků připravených s použitím cyklického trifosforečnanu s citronanem. Navážky byly připraveny v poměrech dle tabulky č. 7. Postup přípravy vzorků odpovídá postupu popsáném v kapitole 6.1.1, 6.1.2.

Výsledky těchto měření jsou znázorněny v grafu na obrázku č. 11.

Tabulka č. 7: Navážky binárních směsí obsahujících cyklický trifosforečnan sodný (TTMP) a citronan sodný (TSC)

Pořadí vzorku	Poměr tavicích solí		Navážka TTMP [g]	Navážka TSC [g]
1	100	0	0,3	0
2	90	10	0,27	0,03
3	80	20	0,24	0,06
4	70	30	0,21	0,09
5	60	40	0,18	0,12
6	50	50	0,15	0,15
7	40	60	0,12	0,18
8	30	70	0,09	0,21
9	20	80	0,06	0,24
10	10	90	0,03	0,27
11	0	100	0	0,3



Obrázek č. 11 Graf závislosti optické hustoty na poměru cyklického trifosforečnanu a citronanu ve směsi tavicích solí

Použití TTMP ve směsi s TSC vykazuje zcela odlišné trendy, než byly zaznamenány v předchozích experimentech. V případě nižšího pH jsou hodnoty optické hustoty vyšší a s neklesající tendencí pro všechny kombinace TTMP:TSC ve směsi. Jiná je situace v pří-

padě pH 6,4, kdy je z grafu patrný výrazný pokles optické hustoty současně s poklesem obsahu TTMP ve směsi a tedy s nárůstem zastoupení citronanu. Takovýto trend lze částečně přirovnat k účinku monofosforečnanu ve směsi, kde ale pokles optické hustoty nebyl tak výrazný.

Při dostatečné dispergaci byl produkt téměř průhledný a při poměru TTMP:TSC 20:80 bylo vizuálně zaznamenáno mírné zbarvení disperze do zelena. Zelené zbarvení způsobuje aminokyselina tryptofan, která je přirozeně obsažená v kaseinu, a která způsobuje přirozenou fluorescenci [15].

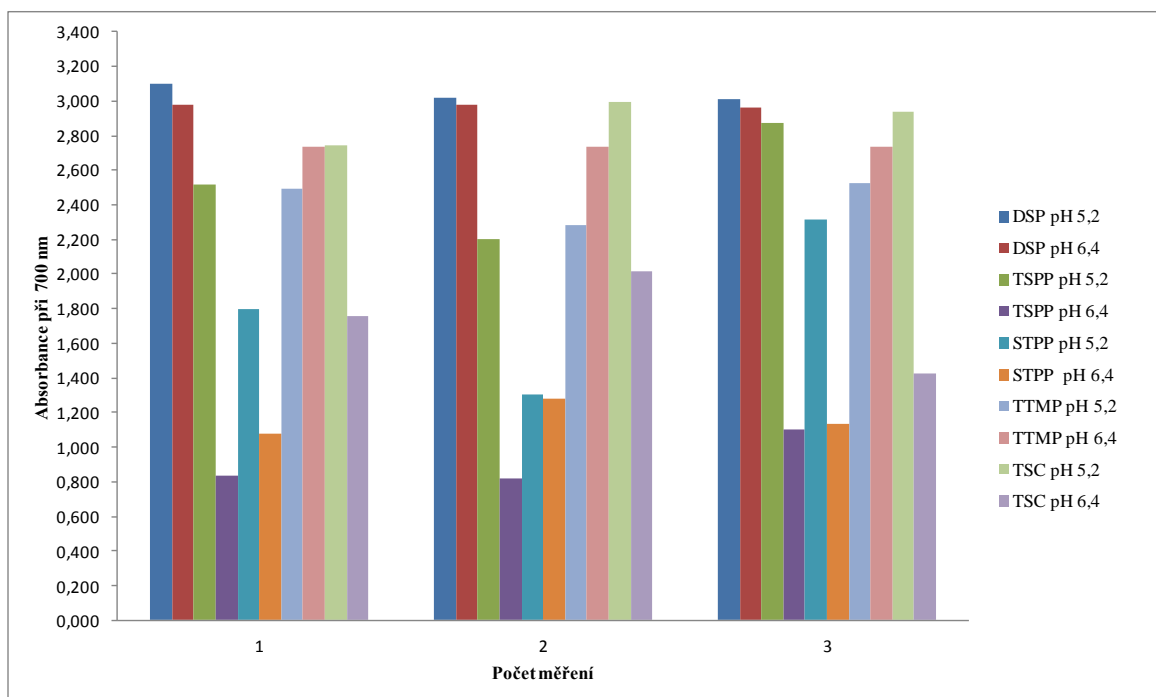
6.1.5 Vliv pH na dispergační účinek směsi tavicích solí

Z výsledků zobrazených v grafech na obrázcích č. 8 – 11 lze zaznamenat výrazný vliv pH vzorku na dispergační schopnosti použitých binárních směsí tavicích solí. Tento vliv je patrný pro všechny použité soli fosforečnanů vs. citronan a lze je shrnout do dvou bodů:

- U všech binárních směsí fosforečnanů s citronanem je při nižší hodnotě pH 5,2 pozorovatelná vyšší hodnota optické hustoty, což znamená nižší dispergaci kaseinu v systému a tedy vyšší shlukování kaseinů.
- V případě vyššího pH 6,4 byla ve srovnání s kyselějším pH zjištěna nižší optická hustota téměř u všech kombinací tavicích solí, s výjimkou vzorků TTMP:TSC v poměru 100:0 a 90:10. Toto zjištění lze vyhodnotit tak, že pH 6,4 podporuje dispergační účinek DSP, TSPP, STPP (ve vybraných případech i TTMP) ve směsi s citronanem.

6.2 Vliv samostatných tavicích solí na optickou hustotu

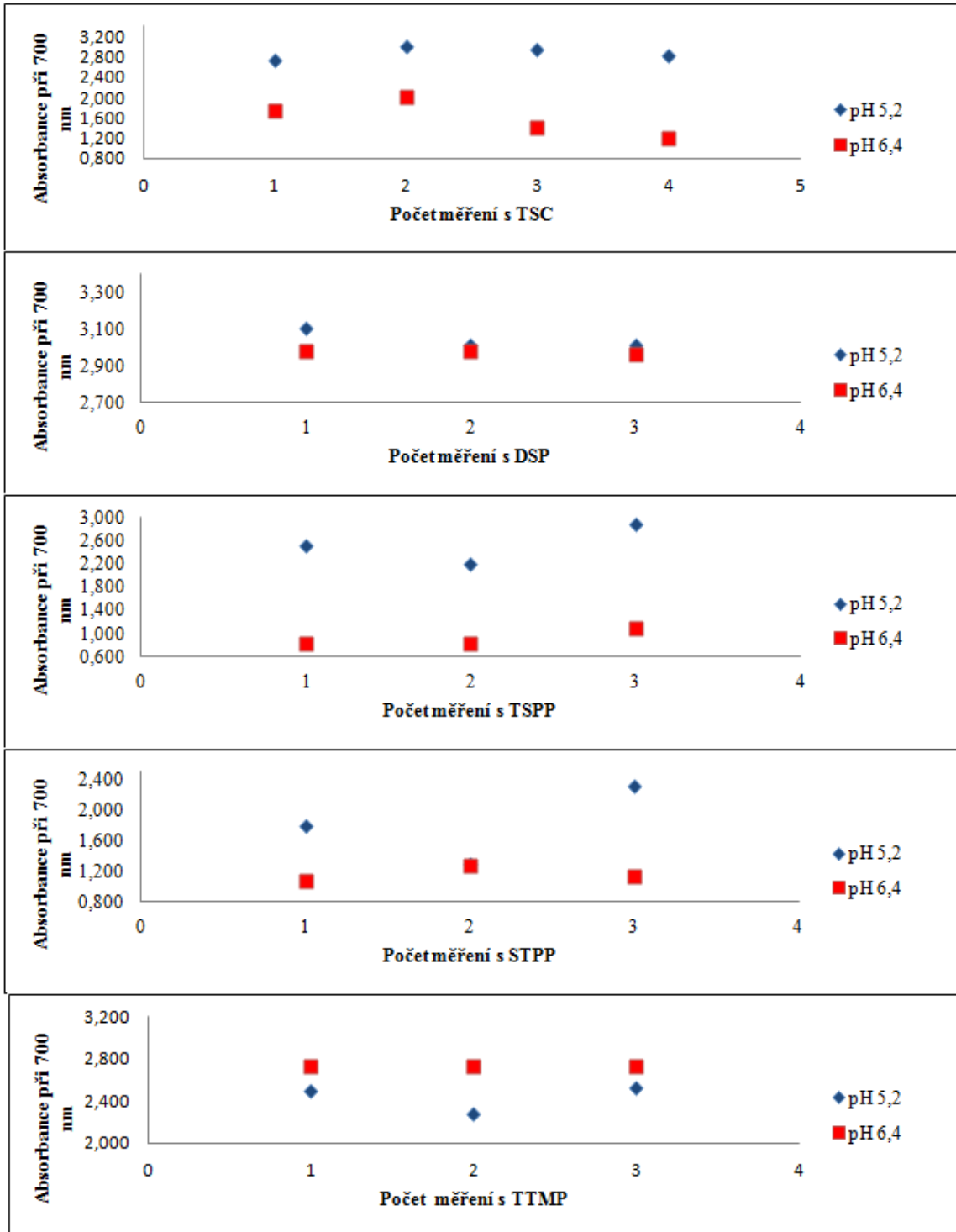
Celkem byly připraveny čtyři kombinace binárních směsí. Tyto směsi byly přeměřeny ve třech opakováních. Graf je uveden pro porovnání odchylek v těchto měřeních. Lze zde vidět rozdíly v optické hustotě při změně tavicí soli a vlivu hodnoty pH. Na zobrazeném grafu jsou znázorněny hodnoty optické hustoty při poměrech tavicích solí 100:0 v tomto pořadí DSP, TSPP, STPP, TTMP a 0:100 TSC.



Obrázek č. 12 Hodnoty optické hustoty vzorků s obsahem jednotlivých solí ve 3 sadách měření při dvou pH

Na snížení optické hustoty měl nejmenší vliv DSP a TSPP u hodnoty pH 5,2. Dispergace kaseinu byla rovněž nízká i u DSP při pH 6,4. Trend nižší dispergace kaseinu se projevil u TTMP, a to při obou hodnotách pH. Optická hustota byla nejnižší u TSPP při pH 6,4, naopak při pH 5,2 byl účinek TSPP na změnu optické hustoty daleko nižší v porovnání s pH 6,4. Vyšší míra dispergace byla u STPP a TSC při pH 6,4. Přídavek TSC u hodnoty pH nevykazoval výraznější změny optické hustoty při pH 5,2, vliv pH 6,4 se projevil vyšší dispergací kaseinu.

Na následujícím obrázku jsou výsledky měření z předchozího grafu pro přehlednost znázorněny v jednotlivých grafech. Jedná se o přidavek jednotlivých tavicích solí do vzorku.

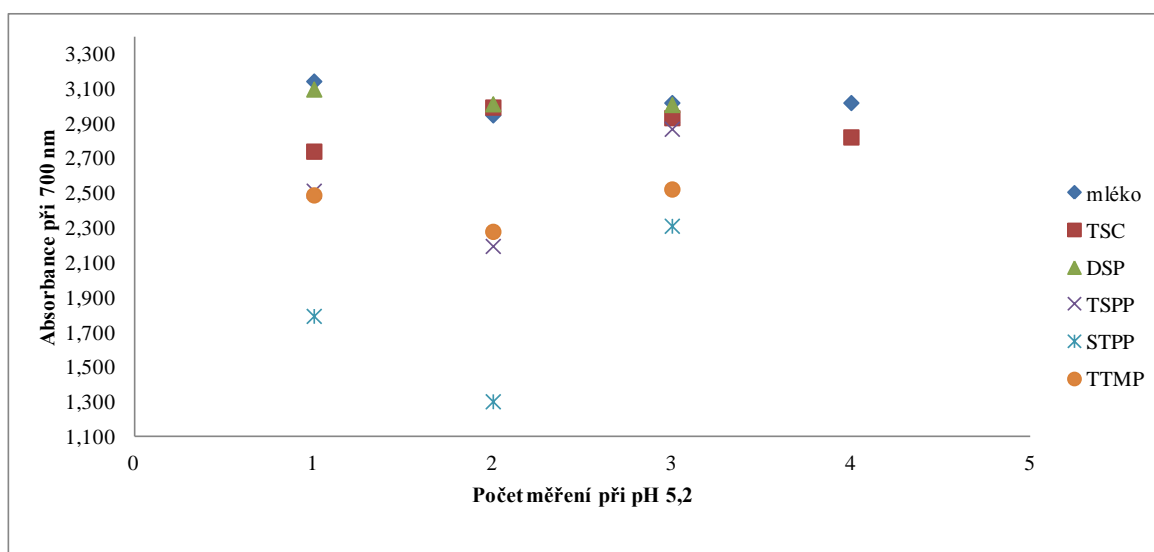


Obrázek č. 13 Hodnoty optické hustoty vzorků s obsahem jednotlivých solí ve 3, resp. 4 sadách měření při dvou pH

Na grafech v tomto obrázku lze pozorovat změny optické hustoty při několika sériích měření při přidavku jednotlivých tavicích solí. Jak už bylo výše uvedeno každá z přidávaných solí měla na dispergaci jiný vliv.

6.2.1 Měření s nulovým vzorkem a s obsahem jednotlivých solí při pH 5,2

V grafu na obrázku č. 14 lze pozorovat změny optické hustoty při měření v modelovém systému s nulovým vzorkem a s obsahem TSC 0:100 a DSP, TSPP, STPP, TTMP 100:0 ve vzorku, při dvou hodnotách pH. Jedná se o souhrn předchozích grafů se zastoupením jednotlivých solí a s nulovým vzorkem, jen s úpravou pH 5,2.

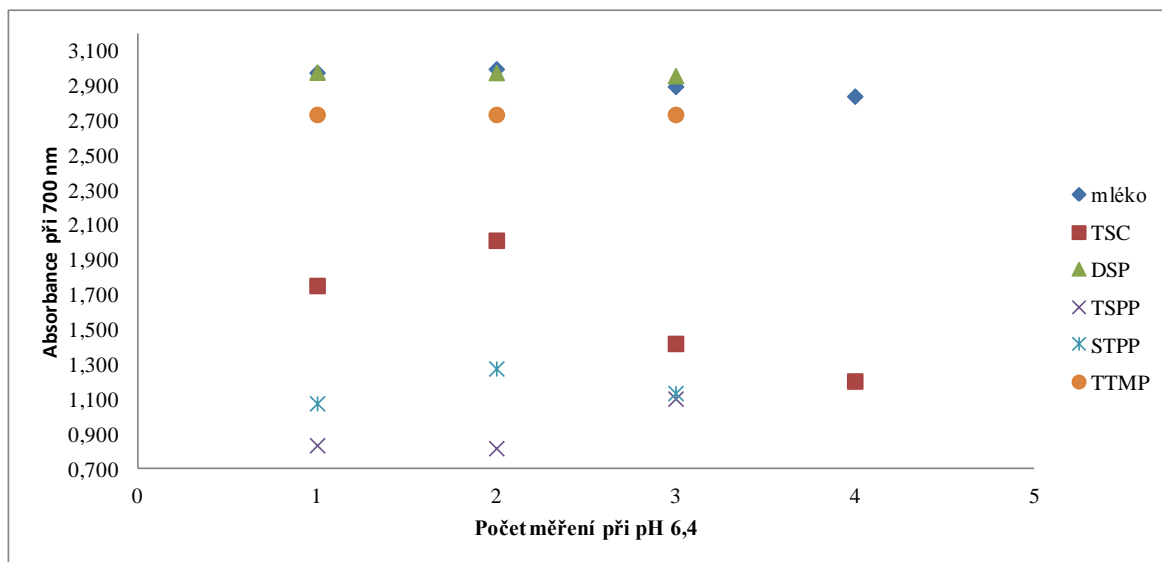


Obrázek č. 14 Hodnoty optické hustoty v modelovém systému v nulovém vzorku a s obsahem jednotlivých solí při pH 5,2

Zde je uvedeno pro porovnání měření modelového systému s nulovým vzorkem, kde lze vidět, že přidavek tavicích solí má na dispergaci kaseinu vliv. Optická hustota nulového vzorku se pohybovala ve vyšších hodnotách. Rozdíl optické hustoty mezi nulovým vzorkem a přidavkem tavicí soli do modelového vzorku lze vidět zejména při přidavku STPP, kde je výrazný klesající trend optické hustoty. Naopak optická hustota nulového vzorku je přibližně stejná při přidavku TSC a DSP, z čehož vyplývá již uvedené, že vliv těchto solí na změnu optické hustoty je malý.

6.2.2 Měření s nulovým vzorkem a s obsahem jednotlivých solí při pH 6,4

Na tomto obrázku lze vidět závislost optické hustoty s nulovým vzorkem a se zastoupením 0:100 TSC a 100:0 DSP, TSPP, STPP, TTMP v modelovém systému při dvou hodnotách pH. Na obrázku č. 15 je graf s měřením při pH 6,4.



Obrázek č. 15 Hodnoty optické hustoty v modelovém systému v nulovém vzorku a s obsahem jednotlivých solí při pH 6,4

I zde můžeme porovnat rozdíl v optické hustotě jako v kapitole 6.2.1, tady při pH 6,4. Platí již výše uvedené, že optická hustota nulového vzorku byla nejvyšší. Největší rozdíly mezi nulovým vzorkem a přidavkem tavicí soli je při přidavku TSPP a STPP do modelového systému. Optická hustota s přidavkem DSP je téměř shodná, jako u nulového vzorku.

7 SOUHRNNÁ DISKUZE

Cílem experimentu bylo zjistit intenzitu dispergace kaseinového komplexu v závislosti na složení binární směsi tavicích solí a pro dvě hodnoty pH. Pro stanovení míry dispergace kaseinového komplexu bylo použito měření optické hustoty při 700 nm za laboratorní teploty. Jako slepý vzorek byla měřena voda, protože mléko bez přídavku tavicích solí vykazovalo vyšší optickou hustotu (viz obrázek č. 8 - 11, vzorky 0:0) a při odečtu mléka s přídavkem tavicích solí se výsledná hustota pohybovala v záporných hodnotách.

Základní předpoklad vychází z toho, že kaseinové micely jsou polydisperzní částice, které poskytují mléku jeho zákal (bělost). Snížení zákalu může být přičítáno vyšší disperzi kaseinových micel. Čím je dispergace kaseinových bílkovin intenzivnější (roste intenzita iontové výměny), tím více klesá optická hustota mléka [36]. Pokud není disperze tavicí solí podporována, kaseinové micely jsou více agregovány. Tím je zamezen průchod světelných paprsků vzorkem, z čehož vyplývá, že výsledný produkt má bílou barvu. Při dostatečně intenzivní dispergaci, která může být podpořena tavicí solí, je produkt téměř průhledný [36]. Výsledky získané v této práci, prokazují výrazný vliv tavicích solí na intenzitu dispergace. Vliv tavicích solí výrazně podporuje také hodnota pH, kdy je shlukování kaseinových micel intenzivnější při nižším pH a méně výrazné při vyšším pH. Pro vysvětlení tohoto jevu by bylo potřeba komplexnější hodnocení procesů probíhajících v modelovém systému. Např. podle Nagyová et. al 2014 [60] rostoucí pH může odpovídat vyššímu zastoupení záporně nabitých kaseinů v disperzi, díky čemu dochází ke zvýšenému odpuzování těchto částic, které se neshlukují a vytváří jemnější disperzi, která se v našem experimentu projevila nižší optickou hustotou.

Při složení binární směsi DSP a TSC byly výsledky měření zhodnoceny takto: Snížení optické hustoty s porovnáním nulového vzorku je velmi nízké. Vliv TSC na dispergaci kaseinu je malý, téměř žádný [60]. Při aplikaci vyššího obsahu TSC optická hustota klesá, zejména při pH 6,4, což odpovídá tvrzení Pana and Zhonga [61], že kaseinové micely jsou v disperzi odtučněného mléka disociované ve větší míře při vyšším pH a při obsahu TSC.

Zvýšení shlukování kaseinu společně s rostoucím obsahem DSP ve směsi s citronanem je ve shodě i s jinými studiemi [36, 59]. Ve směsích DSP:TSC se s rostoucím podílem TSC ve směsi optická hustota postupně snižovala [59], což lze pozorovat na obrázku č. 8.

Změna podílu TSPP použitého ve směsích s TSC měla malý vliv na změnu optické hustoty [59]. Podle Mizuno & Lucey [35] TSPP v modelovém systému při rostoucím pH zvyšuje dispergaci kaseinu. Výrazný vliv má pH směsi, kdy při pH 6,4 vykazuje směs TSPP:TSC poměrně nízké hodnoty optické hustoty, což lze interpretovat jako pozitivní vliv na dispergaci kaseinu v systému. Z toho pohledu se jeví jako účinná směs s převažujícím podílem TSPP (100:0 až 50:50) viz obrázek č. 9.

Také při změně podílu STPP používané ve směsích s TSC, viz obrázek č. 10, docházelo pouze k malým změnám optické hustoty, což naznačuje, že obě tavicí soli (STPP, TSC) se rovněž zdají být přibližně stejně účinné při rozptýlu kaseinu, pokud jsou použity ve směsi tavicích solí [59].

TTMP nevykazoval výrazný účinek ve směsi s TSC při pH 5,2, naopak při pH 6,4 mělo snížení podílu TTMP ve směsi větší vliv na zvýšení disperze, znázorněno na obrázku č. 11, což je výsledek, který ze všech čtyř použitých solí je srovnatelný pouze s DSP, kde zvýšení disperze není tak výrazné jako u TTMP.

U některých vzorků byla zaznamenána mírně zeleně zbarvená disperze, která je dána přítomností aminokyseliny tryptofanu, která způsobuje přirozenou fluorescenci. Fluorescence kaseinu je dána charakterem iontové výměny, která je silně ovlivněna hodnotou pH [15]. Tento jev byl pozorován při nižších koncentracích fosforečnanových solí a vyšším podílu citronanových solí ve vzorku. Obvykle při poměru fosforečnan:citronanu 20:80. TSPP:TSC 20:80, 10:90 při pH 5,2; TTMP:TSC 10:90 při pH 5,2. Je známo, že fluorescenci v proteinech je způsobena přítomností aminokyselin tryptofanu, tyrozinu a fenylalaninu. Kromě tryptofanu tedy můžeme fluorescentním měřením zjistit také obsah aminokyselin tyrosinu, a fenylalaninu. (Kapa kasein obsahuje dva tryptofanové zbytky v pozicích 164 a 199 a β -kasein má zbytek tryptofanu v poloze 143. Tři zbytky se nachází především v první řadě hydrofobní části kaseinové molekuly a jsou důležité z hlediska stability kaseinových micel) [15,62]. Této vlastnosti tryptofanu fluoreskovat lze využít pro stanovení jeho obsahu v systému.

Při měření optické hustoty jako míry disperze modelového systému lze najít v některých případech vyšší hodnoty směrodatné odchylky, což může být dáno nestabilitou systému v dané kombinaci tavicích solí a pH (viz tabulky v přílohách PI-PVI). Zajímavé by bylo

použít pro srovnání měření některou z jiných metod (viz kapitola č. 3.1.1) založených na detekci rozptýleného světla, které jsou používány například pro stanovení proteinů v séru.

Ke zvýšení přesnosti a opakovatelnosti měření by přispělo použití měřicí aparatury využívající nefelometrického principu detekce světla rozptýleného na částicích disperze [47,48,53].

Stupeň dispergace kaseinu úzce souvisí se schopností fosforečnanových tavicích solí vázat vápník [36]. Důležitým prvkem je zajištění míchání vzorku i těsně před měřením optické hustoty, aby nedocházelo k sedimentaci vzorku, popřípadě zvolit vhodný způsob stabilizace vzorku [48].

ZÁVĚR

Na Ústavu technologie potravin je už dlouhodobě řešena problematika výroby tavených sýrů. S tím souvisí studium jevů, které probíhají při procesu tavení, kde významnou roli hraje typ použité tavicí soli, která má vliv na iontovou výměnu probíhající především prostřednictvím Ca^{2+} iontů vázaných na molekuly proteinů. Schopnost tavicí soli tuto výměnu podpořit pak určuje vhodnost této soli pro výrobu taveného sýru s optimálními texturními vlastnostmi. Jako tavicí soli jsou obvykle používány fosforečnanové a citronanové sodné soli a velmi často jejich kombinace.

Cílem diplomové práce bylo studium vlivu binárních směsí tavicích solí na bázi fosforečnanů a citronanu a různých podmínek pH na dispergaci kaseinového komplexu. Pro zjednodušení matrice byl použit modelový systém disperze odtučněného sušeného mléka ve vodě.

Vytčenému cíli odpovídá také literární rešerše v teoretické části diplomové práce, která byla zaměřena na základní charakteristiku mléka, přičemž byl důraz kladen zejména na mléčné proteiny – kaseiny, na jejich vlastnosti a využití, dále na shrnutí vlivu pH a tavicích solí na chování kaseinového komplexu a přehled metod vhodných pro měření dispergace kaseinového komplexu.

Úkolem praktické části bylo navrhnout a vyrobit modelové vzorky s přidavkem binárních směsí vybraných tavicích solí při rozdílném pH a stanovit optickou hustotu připravených vzorků. Byly vyrobeny vzorky s úpravou pH a bez tavicích solí a s úpravou pH a tavicími solemi monofosforečnanem, difosforečnanem, trifosforečnanem a cyklickým trifosforečnanem v kombinaci s citronanem. Byla proměřena optická hustota vzorků. Data z měření byla zpracována a vyhodnocena.

Výsledky experimentů lze shrnout do těchto závěrů:

- Vzorky připravené jen s úpravou pH bez přidavku tavicích solí vykazovaly vyšší optickou hustotu než vzorky s přidavkem tavicích solí, což dokumentuje významnou roli tavicích solí v podpoře dispergace kaseinového komplexu.
- Schopnost použitých směsí tavicích solí zvyšovat dispergaci kaseinových micel je výrazně ovlivněna hodnotou pH. Při pH 6,4 byla zaznamenána vyšší dispergace, při pH 5,2 docházelo více ke shlukování kaseinů a úroveň dispergace byla nižší.

- Složení směsi tavicích solí výrazně ovlivňuje intenzitu dispergace kaseinových micel.
- Dispergace je velmi malá (téměř žádná) při aplikaci monofosforečnanu ve směsi s citronanem a také při použití cyklického trifosforečnanu ve směsi s citronanem při obou hodnotách pH.
- Vliv rostoucího podílu fosforečnanových tavicích solí ve směsi s citronanem na vyšší dispergaci kaseinového komplexu vykazoval především difosforečnan a trifosforečnan při hodnotě pH 6,4

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] GAJDŮŠEK, S. *Mlékařství II*. Vyd. 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1998, 135 s. ISBN 80-7157-342-6.
- [2] VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 2 sv. ISBN 978-80-86659-17-6.
- [3] MOLINS, R. A. *Phosphates in food*. Boca Raton: CRC Press. 1991. 261 s. ISBN 08-493-4588-X.
- [4] PARK, Young W. *Bioactive components in milk and dairy products*. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, c1991, xi, 426 s. ISBN 08-138-1982-2.
- [5] KRATOCHVÍL, L., et al. *Mlékařství a hodnocení živočišných výrobků*. VŠZ Praha 1985, 321 s.
- [6] Ed. by THOMPSON, A., BOLAND, M., SINGH, H. *Milk proteins: from expression to food*. Amsterdam: Academic Press/Elsevier. ISBN 978-012-3740-397.
- [7] BUŇKA, F., BUŇKOVÁ L., KRÁČMAR S. *Základní principy výroby tavených sýrů: Basic principles of processed cheese production : monografie*. Vyd. 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2009, 70 s. ISBN 978-80-7375-336-8.
- [8] TAMIME, A. *Structure of dairy products*. Ames, Iowa: Blackwell Pub., 2007. ISBN 14-051-2975-1.
- [9] KADLEC, P. *Technologie potravin*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002, 236 s. ISBN 80-7080-510-2.
- [10] YADA, R.Y.: *Proteins in Food Processing*. 1st ed. Woodhead Publishing, 2004, 728 s. ISBN 978-1-85573-723-5.
- [11] FOX, P.F.; McSweeney, P.L.H. (1998). *Dairy Chemistry and Biochemistry*. 1st ed. London, New York: Blackie Academic & Professional, 1998, 496 s. ISBN 0-412-72000-0.
- [12] ANEMA, S. G., KLOSTERMEYER, H. Heat-Induced, pH-Dependent Dissociation of Casein Micelles on Heating Reconstituted Skim Milk at Temperatures below

- 100 °C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1997, roč. 45, č. 4, s. 1108-1115.
- [13] PITKOWSKI, A., et al. Scattering and Turbidity Study of the Dissociation of Casein by Calcium Chelation. *Biomacromolecules*. 2008, roč. 9, č. 1, s. 369-375.
- [14] de KRUIF, C.G. Casein micelle interactions *International Dairy Journal*. 1999, č. 9, s. 183-188.
- [15] LIU, Y., GUO R. pH-dependent structures and properties of casein micelles. *Biophysical Chemistry*. 2008, č. 136, s. 67-73.
- [16] HUPPERTZ, T. et al. Biocompatible Micro-Gel Particles from Cross-Linked Casein Micelles. *Biomacromolecules*. 2007, roč. 8, č. 4, s. 1300-1305.
- [17] ZADRAŽIL, K. *Mlékařství: (přednášky)*. Vyd. 1. Praha: ISV, 2002, 127 s. ISBN 80-86642-15-1.
- [18] BINGHAM, E. et al. Properties of Dephosphorylated α_{s1} -Casein. Precipitation by Calcium Ions and Micelle Formation? *Biochemistry* 1972, roč. 11, č. 13, s. 2450-2454.
- [19] de KRUIF, C.G., HUPPERTZ, T. Casein Micelles: Size Distribution in Milk from Individual Cows *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 2012, roč. 60, č. 18, s. 4649-4655.
- [20] SMIT, G. *Dairy Processing – Improving Quality*. 1.vyd., Cambridge: Woodhead Publishing, 2003. 546 s. ISBN 1-85573-676-4.
- [21] HORNE, D.S. Casein micelle structure: Models and muddles *Current opinion in colloid&interface science* 2006, roč. 11, č. 2-3, s. 148-153.
- [22] MOITZI, CH. et al. The pH Induced Sol-Gel Transition in Skim Milk Revisited. A Detailed Study Using Time-Resolved Light and X-ray Scattering Experiments *Langmuir* 2011, roč. 27, č. 6, s. 2195-2203.
- [23] WALSTRA, P. Casein sub-micelles: do they exist? *International Dairy Journal* 1999, č.9, s.189-192.
- [24] FOX, P. F., BRODKORB, A. The casein micelle: Historical aspects, current concepts and significance *International Dairy Journal* 2008, roč. 18, č. 7, s. 677–684.

- [25] HORNE, S. D. Casein micelle structure and stability Milk Proteins: From Expression to Food *Academic Press/Elsevier*, 2009, s. 133-157, ISBN: 978-0-12-374039-7.
- [26] FORMAN, L. *Mlékárenská technologie II*. 1. vyd. Vysoká škola chemicko-technologická, 1994, 217 s. ISBN 80-708-0214-6.
- [27] Proudový diagram výroby sušeného mléka: Dostupné z: *Eagri.cz/public/web/file/32314/priruckaBREFmleko.doc* [online]. 2006 [cit. 2014-04-19]. Dostupné z: *eagri.cz/public/web/file/32314/priruckaBREFmleko.doc*
- [28] FOX, P. *Advanced dairy chemistry*. 2nd ed. New York: Elsevier Applied Science, 1992-, v. <1 >. ISBN 185166761X1.
- [29] AUDIC, J.Z. et al. Non-food application of milk components and dairy co-products: A review *Le Lait*, 2003, vyd.83, s. 417-438
- [30] *Http://www.bezpecnostpotravin.cz/stranka/potravinarska-aditiva.aspx* [online]. 2012 [cit. 2014-04-19]. Dostupné z: *http://www.bezpecnostpotravin.cz/stranka/potravinarska-aditiva.aspx*
- [31] ANONYM. Vyhláška č. 4/2008 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin [online] [cit. 2014-04-15]. Dostupné z *http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1001612&docType=ART&nid=11816*
- [32] BUŇKA, F., BUŇKOVÁ, L. Úloha tavicích solí při výrobě tavených sýrů. *Potravinářská revue*.2009, č.1, s. 13-16. ISSN 1801-9102.
- [33] EL-BAKRY, M. et al. Effect of chelating salts type on casein hydration and fat emulsification during manufacture and post manufacture functionality of imitation cheese. *Journal of Food Engineering*, 2010, vyd. 102, s. 145-153.
- [34] EL-BARKY et al. Effects of emulsifying salts reduction on imitation cheese manufacture and functional properties. *Journal of Food Engineering*, 2010, vyd. 100, s. 569-603.

- [35] MIZUNO, R., LUCEY J.A. Properties of Milk Protein Gels Formed by Phosphates. *Journal of Dairy Science*. 2007, vyd. 90, č.10, s. 4524-4531. doi: 10.3168/jds.2007-0229
- [36] MIZUNO, R., LUCEY J.A. Effects of Emulsifying Salts on the Turbidity and Calcium-Phosphate-Protein Interaction in Casein Micelles. *Journal of Dairy Science*. 2005, vyd. 88, č. 9, s. 3070-3078. ISSN 0022-0302.
- [37] VRBOVÁ, T. *Víme, co jíme?, aneb.; Průvodce "Ěčky" v potravinách*. Praha: EcoHouse, 2001, 268 s. ISBN 80-238-7504-3.
- [38] LU, Y. et al. Effects of pH on the Textural Properties and Meltability of Pasteurized Process Cheese Made with Different Types of Emulsifying salts. *Journal of Food of Science*. 2008, vyd. 73, č.8, s. 363-369.
- [39] PATNAIK, P., HONG-SHUM, L.. *Handbook of inorganic chemicals*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill, c2003, xv, 1086, [1] p. ISBN 00-704-9439-8.
- [40] Dictionary of Food Science and Technology, 2. vydání, 2009, ISBN 978-1-4051-8740-4
- [41] RICHTER, M. Chemie a technologie sloučenin fosforu. Ústí n.L, 2007. [cit. 2014-04-19], Studijní text dostupný z WWW: <http://fzp.ujep.cz/ktv/uc_texty/pt1/Chemie_a_tecnologie_sloucenin_fosforu.pdf>
- [42] CARIĆ, M. & KALÁB, M. *Processed cheese products*. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Roč. 2. Major Cheese Groups , vydání 2, *Elsevier Applied Science*, London and New York, 1997. 467 – 505 s.
- [43] BUŇKA, F., HRABĚ, J. Tavené sýry. *Potravinářská revue*. 2006, č.4, s. 13-16. ISSN 1801-9102.
- [44] SMITH, J., HONG-SHUM, L.. *Food additives data book*. 2nd ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2011, xvi, 1107 p. ISBN 978-140-5195-430.
- [45] Mýty o tavených sýrech a jak proti nim argumentovat. In: *Potravinářská revue 1/2012* [online]. 2012 [cit. 2014-04-20]. Dostupné z: <http://www.mlekarstvi.cz/wp-content/uploads/2010/02/RE1-Bu%C5%88ka-Kop%C3%A1%C4%8Dek-korektura3.pdf>

- [46] Výroba kyseliny citronové *Http://www.aktiva.cz/technologie.php* [online]. 2008 [cit. 2014-04-19]. Dostupné z: <http://www.aktiva.cz/technologie.php>
- [47] LÁZNÍČKOVÁ, A., KUBÍČEK, V. *Základy fyzikální chemie: vybrané kapitoly pro posluchače Farmaceutické fakulty. 2., přeprac. vyd.* Praha: Karolinum, 2008, 168 s. ISBN 978-80-246-1511-0.
- [48] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody: učebnice základů instrumentálních analytických metod.* 1. vyd. Ostrava: P. Klouda, 1996, 203 s. ISBN 80-902155-0-5.
- [49] ATKINS, P., DE PAULA, J. *Fyzikální chemie.* Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2013, xxvi, 915 s. ISBN 978-80-7080-830-6.
- [50] BEKÁREK, V. *Optické metody v chemické analýze.* 1. vyd. Olomouc: Universita Palackého, 1992, 43 s.
- [51] *Využití provozních fotometrů* [online]. 2009 [cit. 2014-04-21]. Dostupné z: http://www.technoprocur.cz/underwood/download/files/SIGRIST_-_Vyuziti_provoznich_fotometru.pdf
- [52] *Měření rozptylu světla* [online]. 2005 [cit. 2014-04-21]. Dostupné z: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es_001/hesla/mereni_rozptylu_svetla.html
- [53] *Novotny-Atrima Brno [podpora]* [online]. 2013 [cit. 2014-04-21]. Dostupné z: <http://www.novotny-atrima.com/podpora.html#mturb>
- [54] *Zákal kapalin* [online]. [cit. 2014-04-21]. Dostupné z: http://www.pospisilovi.net/diplomka/index_studenti.php
- [55] KOBER, P. A. NEPHELOMETRIC DETERMINATION OF PROTEINS; CASEIN, GLOBULIN AND ALBUMIN IN MILK. *Journal of the American Chemical Society* 1913, roč. 35, vyd.10, s. 1585-1593.
- [56] *Zeta potenciál* [online]. 2012 [cit. 2014-04-21]. Dostupné z: <http://www.xray.cz/kfkl-osa/eng/zetasizer/zeta.htm>

- [57] *Stabilita suspenzí a disperzí* [online]. 2011 [cit. 2014-04-21]. Dostupné z: [http://www.chemagazin.cz/userdata/chemagazin_2010/file/CHEMAGAZIN_XXI_4_c13.pdf]
- [58] *Measure zeta potencial* [online]. 2013 [cit. 2014-04-21]. Dostupné z: http://www.malvern.com/en/products/measurement-type/zeta-potential/default.aspx?gclid=CODKoImHxb0CFfDLtAodSxoAPQ
- [59] KALIAPAN, S., LUCEY, J.A. Influence of mixtures of calcium-chelating salts on the physicochemical properties of casein micelles. *Journal of Dairy Science*. 2011, vyd. 94, č.9, s. 4255-4263
- [60] NAGYOVÁ, G., BUŇKA, F., SALEK, R.N., ČERNÍKOVÁ, M., MANČÍK, P., GRÜBER, T., KUCHAR, D. Use of sodium polyphosphates with different linear lengths in the production of spreadable processed cheese. *Journal of Dairy Science*. 2014, vyd.97, č. 1, s. 111-122.
- [61] PAN, K., ZHONG, Q. Improving Clarity and Stability of Skim Milk Powder Dispersion by Dissociation of Casein Micelles at pH 11.0 and Acidification with Citric Acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2013, vyd.61, č.38, s. 9260-9268.
- [62] KAPOOR, R., METZGER, L.E. Process cheese: Scientific and Technological Aspects – A Review. *Compr. Rev. Food Science Food Saf.*, 2008, vyd. 7, č. 2, s. 194-214. ISSN 1541-4337.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

apod.	a podobně
popř.	popřípadě
tzv.	takzvaný
aj.	a jiné
nm	nanometr
ES	Evropské společenství
TSC	citronan sodný
DSP	monofosforečnan sodný
TSPP	difosforečnan sodný
STPP	trifosforečnan sodný
TTMP	cyklický trifosforečnan sodný
vs.	versus
Sb.	sbírka
w/v	hmotnostní procento
SD	směrodatná odchylka
CV	variační koeficient

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek č. 1 Submicelární model kaseinové micely upraveno podle Walstra[23].....</i>	<i>17</i>
<i>Obrázek č. 2 Proudový diagram výroby sušeného mléka[27].....</i>	<i>20</i>
<i>Obrázek č. 3 Blokové schéma výroby kaseinu upraveno podle Formana[26].....</i>	<i>23</i>
<i>Obrázek č. 4 Iontová výměna vápenatých kationtů za sodné kationty při tavení přírodních sýrů[7,42].....</i>	<i>28</i>
<i>Obrázek č. 5 Rozdíl mezi turbidimetrií a nefelometrií ve způsobu snímání upraveno podle VŠCHT[52].....</i>	<i>35</i>
<i>Obrázek č. 6 Měření elektrických vlastností koloidů (zeta potenciál)[57].....</i>	<i>38</i>
<i>Obrázek č. 7 Znázornění izoeletrického bodu[57].....</i>	<i>39</i>
<i>Obrázek č. 8 Graf závislosti optické hustoty na poměru monofosforečnanu a citronanu ve směsi tavicích solí.....</i>	<i>46</i>
<i>Obrázek č. 9 Graf závislosti optické hustoty na poměru difosforečnanu a citronanu ve směsi tavicích solí.....</i>	<i>48</i>
<i>Obrázek č. 10 Graf závislosti optické hustoty na poměru trifosforečnanu a citronanu ve směsi tavicích solí.....</i>	<i>50</i>
<i>Obrázek č. 11 Graf závislosti optické hustoty na poměru cyklického trifosforečnanu a citronanu ve směsi tavicích solí.....</i>	<i>51</i>
<i>Obrázek č. 12 Hodnoty optické hustoty vzorků s obsahem jednotlivých solí ve 3 sadách měření při dvou pH.....</i>	<i>53</i>
<i>Obrázek č. 13 Hodnoty optické hustoty vzorků s obsahem jednotlivých solí ve 3, resp.4 sadách měření při dvou pH.....</i>	<i>54</i>
<i>Obrázek č. 14 Hodnoty optické hustoty v modelovém systému v nulovém vzorku a s obsahem jednotlivých solí při pH 5,2.....</i>	<i>55</i>

Obrázek č. 15 Hodnoty optické hustoty v modelovém systému v nulovém vzorku a s obsahem jednotlivých solí při pH 6,4.....56

SEZNAM TABULEK

Tabulka č. 1: Fosforečnany používané při výrobě tavených sýrů a hodnoty pH jejich 1% (w/w) vodných roztoků [upraveno dle 7].....	26
Tabulka č. 2: Citronany používané při výrobě tavených sýrů a hodnoty pH jejich 1% (w/w) vodných roztoků upraveno podle Molinse [3].....	30
Tabulka č. 3: Návrh navážek binárních směsí tavicích solí	43
Tabulka č. 4: Navážky binárních směsí obsahujících hydrogenfosforečnan sodný (DSP) a citronan sodný (TSC).....	46
Tabulka č. 5: Navážky binárních směsí obsahujících difosforečnan sodný (TSPP) a citronan sodný (TSC).....	48
Tabulka č. 6: Navážky binárních směsí obsahujících trifosforečnan sodný (STPP) a citronan sodný (TSC).....	49
Tabulka č. 7: Navážky binárních směsí obsahujících cyklický trifosforečnan sodný (TTMP) a citronan sodný (TSC).....	51

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha PI.....	Tabulky měření směsi DSP:TSC, pH 5,2 a 6,4
Příloha PII.....	Tabulky měření směsi TSPP:TSC, pH 5,2 a 6,4
Příloha PIII.....	Tabulky měření směsi STPP:TSC, pH 5,2 a 6,4
Příloha PIV.....	Tabulky měření směsi TTMP:TSC, pH 5,2 a 6,4
Příloha PV.....	Tabulka měření jednotlivých solí, pH 5,2 a 6,4

PŘÍLOHA P I: TABULKY MĚŘENÍ SMĚSI DSP:TSC

Binární směs DSP:TSC pH 5,2						
Poměr DSP:TSC	Absorbance 1	Absorbance 2	Absorbance 3	průměr	SD	CV
0:0	3,173	3,136	3,136	3,148	0,0174	0,55%
100:0	3,102	3,017	3,013	3,044	0,0410	1,35%
90:10	3,147	2,983	3,033	3,054	0,0686	2,25%
80:20	3,061	2,983	3,033	3,026	0,0323	1,07%
70:30	3,041	2,951	3,033	3,008	0,0407	1,35%
60:40	3,080	2,951	2,962	2,998	0,0584	1,95%
50:50	2,800	2,920	2,979	2,900	0,0745	2,57%
40:60	2,545	2,920	3,052	2,839	0,2148	7,56%
30:70	2,169	2,892	3,052	2,704	0,3841	14,20%
20:80	2,226	2,906	3,013	2,715	0,3485	12,84%
10:90	2,705	2,744	2,903	2,784	0,0856	3,08%
0:100	2,503	2,716	3,013	2,744	0,2091	7,62%

Binární směs DSP:TSC pH 6,4						
Poměr DSP:TSC	Absorbance 1	Absorbance 2	Absorbance 3	průměr	SD	CV
0:0	3,073	3,013	2,944	3,010	0,0527	1,75%
100:0	2,981	2,979	2,961	2,974	0,0090	0,30%
90:10	2,816	2,791	2,874	2,827	0,0348	1,23%
80:20	2,918	2,875	2,931	2,908	0,0239	0,82%
70:30	2,877	2,837	2,874	2,863	0,0182	0,64%
60:40	2,827	2,791	2,791	2,803	0,0170	0,61%
50:50	2,596	2,479	2,479	2,518	0,0552	2,19%
40:60	2,663	2,489	2,489	2,547	0,0820	3,22%
30:70	2,655	2,439	2,458	2,517	0,0977	3,88%
20:80	2,498	2,402	2,289	2,396	0,0854	3,56%
10:90	2,366	2,065	1,974	2,135	0,1675	7,85%
0:100	2,202	1,753	1,757	1,904	0,2107	11,07%

PŘÍLOHA P II: TABULKY MĚŘENÍ SMĚSI TSPP:TSC

Binární směs TSPP:TSC pH 5,2						
Poměr TSPP:TSC	Absorbance 1	Absorbance 2	Absorbance 1	průměr	SD	CV
0:0	3,147	3,147	2,779	3,024	0,150	4,97%
100:0	2,516	2,198	2,873	2,529	0,239	9,44%
90:10	2,589	2,846	2,873	2,769	0,111	4,00%
80:20	2,610	2,858	2,835	2,768	0,097	3,50%
70:30	2,596	2,415	2,800	2,604	0,136	5,23%
60:40	2,545	2,811	2,768	2,708	0,101	3,73%
50:50	2,823	2,811	2,812	2,815	0,005	0,17%
40:60	2,834	2,940	2,044	2,606	0,346	13,28%
30:70	2,955	2,940	2,684	2,860	0,108	3,77%
20:80	2,955	2,971	1,705	2,544	0,514	20,19%
10:90	2,988	2,971	1,301	2,420	0,685	28,32%
0:100	2,971	2,925	2,914	2,937	0,021	0,73%

Binární směs TSPP:TSC pH 6,4						
Poměr TSPP:TSC	Absorbance 1	Absorbance 2	Absorbance 1	průměr	SD	CV
0:0	2,835	2,847	2,914	2,865	0,030	1,05%
100:0	0,837	0,820	0,852	0,836	0,011	1,35%
90:10	0,811	1,204	1,029	1,015	0,139	13,72%
80:20	0,803	0,789	0,792	0,795	0,005	0,66%
70:30	0,770	0,770	0,782	0,774	0,005	0,63%
60:40	0,787	0,800	0,795	0,794	0,005	0,58%
50:50	0,981	0,994	0,999	0,991	0,007	0,66%
40:60	1,197	1,269	1,235	1,234	0,025	2,06%
30:70	0,844	0,852	0,882	0,859	0,014	1,65%
20:80	0,908	0,963	0,948	0,940	0,020	2,14%
10:90	0,788	0,837	0,811	0,812	0,017	2,13%
0:100	0,998	1,130	1,015	1,048	0,051	4,85%

PŘÍLOHA P III: TABULKY MĚŘENÍ SMĚSI STPP:TSC

Binární směs STPP:TSC pH 5,2						
Poměr STPP:TSC	Absorbance 1	Absorbance 2	Absorbance 1	průměr	SD	CV
0:0	3,074	3,035	2,750	2,953	0,125	4,24%
100:0	1,795	1,303	2,314	1,804	0,357	19,82%
90:10	1,329	1,128	1,194	1,217	0,072	5,95%
80:20	2,229	2,005	1,343	1,859	0,326	17,52%
70:30	2,743	1,966	1,912	2,207	0,329	14,90%
60:40	1,899	1,420	2,439	1,919	0,360	18,78%
50:50	2,999	1,797	2,814	2,537	0,458	18,04%
40:60	2,919	2,292	2,938	2,716	0,260	9,57%
30:70	2,919	2,743	2,430	2,697	0,175	6,49%
20:80	3,016	2,773	2,095	2,628	0,338	12,84%
10:90	2,919	2,965	3,013	2,966	0,033	1,12%
0:100	2,999	2,982	3,013	2,998	0,011	0,37%

Binární směs STPP:TSC pH 6,4						
Poměr STPP:TSC	Absorbance 1	Absorbance 2	Absorbance 1	průměr	SD	CV
0:0	3,051	2,918	3,031	3,000	0,051	1,69%
100:0	1,078	1,278	1,137	1,164	0,073	6,24%
90:10	1,167	0,960	1,297	1,141	0,120	10,53%
80:20	0,967	0,979	1,022	0,989	0,020	2,07%
70:30	1,006	0,968	1,126	1,033	0,058	5,64%
60:40	1,065	0,910	1,151	1,042	0,086	8,29%
50:50	1,112	0,922	1,204	1,079	0,102	9,42%
40:60	1,183	1,001	1,349	1,178	0,123	10,45%
30:70	1,355	0,995	1,555	1,302	0,201	15,42%
20:80	1,475	0,979	1,685	1,380	0,256	18,58%
10:90	1,868	1,351	2,139	1,786	0,283	15,85%
0:100	2,175	1,541	2,328	2,015	0,295	14,65%

PŘÍLOHA P IV: TABULKY MĚŘENÍ SMĚSI TTMP:TSC

Binární směs TTMP:TSC pH 5,2						
Poměr TTMP:TSC	Absorbance 1	Absorbance 2	Absorbance 1	průměr	SD	CV
0:0	2,787	2,862	2,884	2,844	0,042	1,46%
100:0	2,492	2,282	2,526	2,433	0,108	4,43%
90:10	2,410	2,459	2,733	2,534	0,142	5,61%
80:20	2,296	2,615	2,750	2,554	0,190	7,45%
70:30	2,688	2,615	2,648	2,650	0,030	1,13%
60:40	2,503	2,359	2,436	2,433	0,059	2,42%
50:50	2,310	2,721	2,733	2,588	0,197	7,60%
40:60	2,515	2,874	2,949	2,779	0,189	6,81%
30:70	2,579	2,453	2,577	2,536	0,059	2,32%
20:80	2,410	2,862	2,922	2,731	0,229	8,37%
10:90	2,860	1,863	2,080	2,268	0,428	18,88%
0:100	2,600	2,916	2,963	2,826	0,161	5,70%

Binární směs TTMP:TSC pH 6,4						
Poměr TTMP:TSC	Absorbance 1	Absorbance 2	Absorbance 1	průměr	SD	CV
0:0	2,847	2,847	2,835	2,843	0,006	0,20%
100:0	2,738	2,738	2,738	2,738	0,000	0,00%
90:10	2,683	2,683	2,659	2,675	0,011	0,42%
80:20	2,483	2,483	2,409	2,458	0,035	1,42%
70:30	2,467	2,467	2,409	2,448	0,027	1,12%
60:40	2,378	2,378	2,312	2,356	0,031	1,32%
50:50	2,075	2,075	1,973	2,041	0,048	2,36%
40:60	1,979	1,979	1,875	1,944	0,049	2,52%
30:70	2,559	2,559	2,516	2,545	0,020	0,80%
20:80	1,345	1,345	1,224	1,305	0,057	4,37%
10:90	1,317	1,317	1,153	1,262	0,077	6,12%
0:100	1,256	1,256	1,106	1,206	0,071	5,86%

PŘÍLOHA P V: TABULKA MĚŘENÍ JEDNOTLIVÝCH SOLÍ

pořadí vzorku						
TSC	1	2	3	průměr	SD	CV
pH 5,2	2,744	2,998	2,937	2,893	0,094	3,24%
pH 6,4	1,755	2,015	1,422	1,731	0,210	12,14%
pořadí vzorku						
DSP	1	2	3	průměr	SD	CV
pH 5,2	3,102	3,017	3,013	3,044	0,036	1,17%
pH 6,4	2,981	2,979	2,961	2,974	0,008	0,26%
pořadí vzorku						
TSPP	1	2	3	průměr	SD	CV
pH 5,2	2,516	2,198	2,873	2,529	0,239	9,44%
pH 6,4	0,837	0,82	1,105	0,921	0,113	12,27%
pořadí vzorku						
STPP	1	2	3	průměr	SD	CV
pH 5,2	1,795	1,303	2,314	1,804	0,357	19,82%
pH 6,4	1,078	1,278	1,137	1,167	0,073	6,23%
pořadí vzorku						
TTMP	1	2	3	průměr	SD	CV
pH 5,2	2,492	2,282	2,526	2,433	0,187	7,68%
pH 6,4	2,738	2,738	2,738	2,738	0,000	0,00%