

Vliv pH a délky řetězce fosforečnanových tavicích solí na dispergaci kaseinového komplexu v modelovém systému

Bc. Vendula Sedlačiková

Diplomová práce
2015



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2014/2015

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Vendula Sedlačíková**
Osobní číslo: **T13589**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie potravin**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Vliv pH a délky řetězce fosforečnanových tavících solí na dispergaci kaseinového komplexu v modelovém systému**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakteristika polyfosforečnanů a jejich využití v potravinářství.
2. Role polyfosforečnanů v procesu krémování při výrobě tavených sýrů.
3. Hlavní složky a vlastnosti sušeného odtučněného mléka.

II. Praktická část

1. Příprava vzorků s přidavkem binárních směsí vybraných tavících 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/elektronická

Seznam odborné literatury:

- [1]MOLINS, Ricardo A. Phosphates in food. Boca Raton: CRC Press, c1991, 261 p.
[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 Interaction in Casein Micelles. Journal of Dairy Science. 2005, vol. 88, issue 9.
[4]KULAKOVSKAYA, T. V., VAGABOV, V. M., KULAEV, I. S. Inorganic polyphosphate in industry, agriculture and medicine: Modern state and outlook. Process Biochemistry. 2012, vol. 47, issue 1, s. 1-10.

Vedoucí diplomové práce: **Mgr. Martina Bučková, Ph.D.**
Ústav technologie potravin
Datum zadání diplomové práce: **20. ledna 2015**
Termín odevzdání diplomové práce: **24. dubna 2015**

Ve Zlíně dne 20. ledna 2015


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

L.S.


Ing. Jiří Mlček, Ph.D.
ředitel ústavu

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 17.4.2015

..... Sedlačíková!

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 přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá hodnocením vlivu délky fosforečnanových solí v daném rozsahu pH na shlukování či dispergaci kaseinového komplexu. Pro sledování účinku tavicích solí byl připraven zjednodušený modelový systém s využitím sušeného odtučněného mléka a deionizované vody. Jako tavicí soli byly použity dvousložkové směsi sodných solí polyfosforečnanů se střední délkou řetězce 5, 9, 13, 20 a 28 fosforečnanových zbytků s citronanem sodným. Pro stanovení intenzity dispergace nebo naopak shlukování kaseinu byla použita metoda měření optické hustoty při vlnové délce 700 nm. Vzorky byly proměřeny při pH 5,2; 5,8 a 6,4. Nejvýraznější účinek na dispergaci kaseinového komplexu vykazovaly směsi tavicích solí, ve kterých byly použity polyfosforečnany s delším řetězcem (20 a 28 atomů fosforu v molekule) při pH 5,8.

Klíčová slova: polyfosforečnany, tavicí soli, sušené odtučněné mléko, optická hustota

ABSTRACT

This diploma thesis is focused on the evaluation of the phosphate salts length impact on clustering or dispersion of casein complex in selected pH range. In order to monitor the melting salts effect there was prepared a simple model system using dried skim milk and deionized water. There were used two component mixtures of the polyphosphates sodium salts with an average chain length of 5, 9, 13, 20 and 28 of phosphate residues with sodium citrate as the melting salts. The optical density measurement at 700 nm was applied to determine intensity of casein dispersion. The samples were measured up at pH 5.2; 5.8 and 6.4. Long-chain polyphosphate salts with 20 and 28 phosphorus atoms per molecule at pH 5,8 evinced the most substantial effect on a casein complex dispersion.

Keywords: polyphosphates, melting salts, dried skim milk, optical density

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucí mé diplomové práce Mgr. Martině Bučkové, PhD. za odborné vedení, konzultace, cenné rady, trpělivost a vstřícný přístup při vypracování této práce.

Také bych ráda poděkovala Ing. Ludmile Zálešákové za spolupráci v laboratoři a věnovaný čas.

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 POLYFOSFOREČNANŮ A JEJICH VYUŽITÍ V POTRAVINÁŘSTVÍ	12
1.1 VYUŽITÍ POLYFOSFOREČNANŮ.....	12
1.1.1 Polyfosforečnany jako hnojivo.....	13
1.1.2 Polyfosforečnany jako retardéry hoření.....	13
1.1.3 Polyfosforečnany v úpravě vody	13
1.1.4 Polyfosforečnany jako přídatné látky	13
1.2 VYUŽITÍ POLYFOSFOREČNANŮ V POTRAVINÁŘSTVÍ	14
1.2.1 Polyfosforečnany v masných výrobcích.....	15
1.2.2 Polyfosforečnany v mléčných výrobcích.....	15
1.3 VLIV POLYFOSFOREČNANŮ NA ZDRAVOTNÍ STAV ČLOVĚKA.....	16
2 ROLE POLYFOSFOREČNANŮ V PROCESU KRÉMOVÁNÍ PŘI VÝROBĚ TAVENÝCH SÝRŮ	18
2.1 TAVENÉ SÝRY A ANALOGY TAVENÝCH SÝRŮ.....	18
2.2 SUROVINY PRO VÝROBU TAVENÝCH SÝRŮ.....	19
2.3 PRINCIP VÝROBY TAVENÝCH SÝRŮ.....	20
2.4 ÚLOHA TAVICÍCH SOLÍ PŘI VÝROBĚ TAVENÝCH SÝRŮ.....	22
2.4.1 Fosforečnanové tavicí soli.....	25
2.4.2 Citronanové tavicí soli	28
3 HLAVNÍ SLOŽKY A VLASTNOSTI SUŠENÉHO MLÉKA	30
3.1 VÝROBA SUŠENÉHO MLÉKA.....	31
3.2 VLASTNOSTI KASEINOVÝCH MICEL	31
3.3 SUŠENÉ MLÉKO JAKO MODELOVÝ SYSTÉM.....	32
II PRAKTICKÁ ČÁST	34
4 CÍL PRÁCE	35
5 MATERIÁL A METODY	36
5.1 SUROVINY A PŘÍSTROJE PRO PŘÍPRAVU MODELOVÉHO SYSTÉMU	36
5.2 PŘÍPRAVA MODELOVÝCH VZORKŮ DISPERZE SUŠENÉHO ODTUČNĚNÉHO MLÉKA.....	37
5.3 MĚŘENÍ OPTICKÉ HUSTOTY.....	38
6 VÝSLEDKY A DISKUZE	40
6.1 VÝSLEDKY MĚŘENÍ OPTICKÉ HUSTOTY	40
6.1.1 Výsledky měření optické hustoty s použitím polyfosforečnanu P05 a citronanu ve směsi tavicích solí	40

6.1.2	Výsledky měření optické hustoty s použitím polyfosforečnanu P09 a citronanu ve směsi tavicích solí	42
6.1.3	Výsledky měření optické hustoty s použitím polyfosforečnanu P13 a citronanu ve směsi tavicích solí	43
6.1.4	Výsledky měření optické hustoty s použitím polyfosforečnanu P20 a citronanu ve směsi tavicích solí	45
6.1.5	Výsledky měření optické hustoty s použitím polyfosforečnanu P28 a citronanu ve směsi tavicích solí	46
6.2	VLIV DÉLKY ŘETĚZCE POUŽITÝCH POLYFOSFOREČNANOVÝCH TAVICÍCH SOLÍ NA DISPERGACI KASEINOVÉHO KOMPLEXU	48
6.3	VLIV SAMOSTATNÝCH TAVICÍCH SOLÍ NA DISPERZI KASEINU PRO PH 5,2-6,4.....	52
7	SOUHRNNÁ DISKUZE	54
	ZÁVĚR	58
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	60
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	67
	SEZNAM OBRÁZKŮ	68
	SEZNAM TABULEK.....	69
	SEZNAM PŘÍLOH.....	70

ÚVOD

Při výrobě tavených sýrů hraje klíčovou roli použití tavicích solí. Nejběžněji používané jsou sodné soli fosforečnanů a citronan sodný. Každá z těchto solí má odlišné vlastnosti, které přispívají k jednotné struktuře taveného sýra. Přídavek emulgačních solí je nezbytný pro změnu prostředí tak, aby kaseiny mohly uplatnit své přirozené vlastnosti emulgátorů. Účinek fosforečnanových solí spočívá ve schopnosti výměny iontů sodíku za ionty vápníku a schopnosti tvorby gelu z mléčných bílkovin. Tvorba gelu je ovlivněna hodnotou pH, iontovou výměnou, délkou řetězce polyfosforečnanů, stupněm disperze kaseinu a koncentrací tavicích solí.

Pro studium těchto dějů jsou používány modelové systémy, kde je odstraněn vliv tuku tak, aby bylo možné zjistit interakce pouze mezi kaseiny a tavicími solemi. V takto zjednodušeném systému jsou primárním zdrojem zákalu kaseinové micely. Integrita kaseinových micel je stabilizována pomocí hydrofóbních, elektrostatických interakcí a prostřednictvím micelárních shluků fosforečnanu vápenatého.

V této diplomové práci bylo pro stanovení intenzity dispergace kaseinového komplexu použito měření optické hustoty, tzn. měření průchodu světla vzorkem. Metoda vychází z předpokladu, že vyšší hodnota optické hustoty odpovídá vyššímu shlukování kaseinu, kdy dochází k tvorbě agregátů. Účinek tavicích solí ve vzorku se pak projevuje zvýšením disperze kaseinu, což se projeví nižšími hodnotami optické hustoty.

Cílem této diplomové práce bylo charakterizovat polyfosforečnany a vyhodnotit vliv binární směsi složené s citronanu sodného a sodné soli polyfosforečnanu s různým počtem atomů fosforu v molekule na dispergaci, nebo naopak shlukování kaseinu při hodnotách pH v rozmezí 5,2-6,4.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERISTIKA POLYFOSFOREČNANŮ A JEJICH VYUŽITÍ V POTRAVINÁŘSTVÍ

Fosforečnany jsou soli odvozené od kyseliny trihydrogenfosforečné (H_3PO_4), tvořící skupinu sloučenin obsahující anion $(\text{PO}_4)^{3-}$. Soly kyseliny fosforečné obsahující jednu skupinu $(\text{PO}_4)^{3-}$ označujeme jako ortofosforečnany. Za podmínek vysoké teploty může dojít ke ztrátě vody dvěma sousedními hydroxylovými skupinami dvou různých ortofosforečnanů a k jejich kondenzaci, tedy za vzniku polymeru. Ze dvou monomerů vzniká dimer nazývaný pyrofosforečnan. Kromě samotných ortofosforečnanů se mohou polymerací účastnit i delší řetězce fosforečnanů, čímž vznikají polymery s více než dvěma fosfory v molekule, tzv. polyfosforečnany. Protože každá $(\text{PO}_4)^{3-}$ skupina může sdílet až tři své atomy kyslíku s třemi jinými $(\text{PO}_4)^{3-}$ skupinami, může docházet nejen k vzniku lineárních řetězců polyfosforečnanů, ale i k tvorbě třídimenzionálních struktur (ultrafosforečnany) anebo uzavřených cyklů (metafosforečnany) [1-3].

1.1 Využití polyfosforečnanů

Anorganické polyfosforečnany jsou lineární polymery obsahující desítky až několik set ortofosfátových zbytků, které jsou spojeny vysoce energetickými fosfoanhydridovými vazbami. Jsou široce využívány jako činidla k úpravě vody, hnojiva, retardéry hoření (protipožární nátěry a plniva) a potravinářské přídatné látky, díky svým unikátním vlastnostem, netoxičnosti a biologické rozložitelnosti [3, 4].

V roce 1833, byl připraven sklovitý fosfát tavením NaH_2PO_4 při 700-800 °C po dobu několika hodin a následným rychlým ochlazením. Později začaly být využívány tyto jednoduché polymery v mnoha oblastech průmyslu a zemědělství. Lineární polyfosforečnany se vyskytují ve všech živých organismech, od bakterií až po člověka, zatímco cyklické a rozvětvené polyfosfosforečnany nebyly v živých buňkách pozorovány. Polyfosfosforečnany v buňkách plní řadu funkcí jako je akumulace energie, účast na membránovém transportu, kontrola aktivity genů a regulace aktivity enzymů. Důležitou roli hrají v biologickém koloběhu fosforu [4].

1.1.1 Polyfosforečnany jako hnojivo

Amonium polyfosfát, anorganická sůl kyseliny fosforečné a amoniaku, je jedním z nejčastěji používaných fosforečnanových hnojiv. Toto hnojivo obsahuje průměrně 34 % fosforečnanů a 10 % dusíku a je dobře rozpustné ve vodě. Obchodní amonné polyfosforečnany jsou obvykle směsí ortofosforečnanů a polyfosforečnanů. Rostliny absorbují fosfor hlavně ve formě ortofosforečnanů, polyfosforečnany se nejprve musí rozložit v půdě na ortofosforečnany účinkem enzymů půdních mikroorganismů a enzymů, které produkují buňky v kořenech rostlin. Proto je rychlost zásobování rostliny fosforem pomalejší, ale dlouhodobější. Při dlouhodobém používání může být dosaženo účinnosti až 100 % [4].

1.1.2 Polyfosforečnany jako retardéry hoření

Polyfosforečnan amonný se používá jako nehalogenní, vysoce účinná, netoxická, anorganická látka zpomalující hoření. Jako retardéry hoření jsou využívány pro širokou škálu materiálů obsahujících celulózu, jako je papír, dřevo a bavlna. Polyfosforečnany se přidávají do barev, laků, uplatňují se při výrobě nevybušných látek používaných při úpravách kaučuku, latexu, umělé kůže a maziv [3,4].

1.1.3 Polyfosforečnany v úpravě vody

Polyfosfosforečnany slouží k úpravě vody pro domácí i průmyslové použití. Na vnitřních stěnách potrubí i teplovodních zařízení vytváří ochranný film, který chrání zařízení proti korozi a před usazováním vodního kamene. Mohou být používány v uzavřených vodních systémech, včetně topných a chladicích systémů v energetice. Polyfosforečnany jsou pro úpravu pitné vody vhodnější než chromáty, protože nejsou toxické [4].

1.1.4 Polyfosforečnany jako přídatné látky

Polyfosforečnany patří do skupiny povolených přídatných látek, které je možné využít při výrobě potravin na úpravu jejich vlastností. Potravinářská přídatná látka není samostatně určena jako potravinová ani jako charakteristická složka potravin. Záměrně se přidává do potravin při výrobě, zpracování, přípravě, úpravě, balení nebo skladování a má za následek, že se tato látka nebo její vedlejší produkty stanou složkou této potravin [4-6].

Mezi polyfosforečnany označované jako E 452 patří:

- polyfosforečnan sodný (Grahamova či Madrellova sůl)
- polyfosforečnan draselný (Kurrolova sůl)
- polyfosforečnan sodnovápenatý
- polyfosforečnan vápenatý [5-6].

1.2 Využití polyfosforečnanů v potravinářství

Sodné soli fosforečnanů se používají v mnoha oblastech potravinářského průmyslu. Polyfosforečnany jako povolené přídatné látky pro použití do potravin podle vyhlášky Ministerstva zdravotnictví č. 4/2008 Sb. v platném znění se používají jako emulgátory, stabilizátory, regulátory kyselosti, kypřící látky, sekvestranty a zvlhčující látky [5].

Nejvyšší přípustné množství polyfosforečnanu se vztahuje na potravinu v konzumní formě, která je připravená podle návodu od výrobce. Vyjadřuje se jako oxid fosforečný P_2O_5 . Limity jsou stanoveny legislativou podle druhu potravin a pohybují se v rozmezí 1-4 g P_2O_5 na kg potravin. Fosfor se také přirozeně vyskytuje v potravinách, nejvyšší přípustné množství P_2O_5 znamená jeho celkové množství ve výrobku [6].

Přídavek fosforečnanů k potravinám ovlivňuje hydrataci bílkovin a polysacharidů a jejich koloidní vlastnosti. Využívá se ke zvýšení vaznosti vody v některých masných výrobcích a zabraňuje nežádoucím reakcím přítomných kovů. Zajišťuje vhodnou texturu u tavených sýrů. Polyfosforečnany mají také určité antimikrobní účinky. Kyselina fosforečná se často používá jako okyselující látka pro nealkoholické nápoje (např. Coca-Colu) a polyfosforečnany jako čířidla piva a vína. U nápojů balených v plechovkách fosforečnany zpomalují korozi obalu [7].

Všechny sloučeniny jsou vyráběny synteticky z příslušných uhličitánů a kyseliny fosforečné. Pufrovací schopnost, antibakteriální účinek a schopnost vazby vody jsou technologické vlastnosti, které jsou důležitou multifunkční složkou potravin (šunka, drůbež, ryby, korýši). Polyfosforečnany působí jako pufrovací činidlo, napomáhající k udržení optimální hladiny pH v potravinách. Pomáhají prodloužit trvanlivost výrobku a zabraňují nežádoucím změnám barvy výrobku během skladování [4].

1.2.1 Polyfosforečnany v masných výrobcích

Fosforečnany nabízejí řadu možností při použití v masné a drůbeží produkci. Potravinářské fosforečnany se používají v masných výrobcích z několika důvodů, jako jsou změny, nebo stabilizace hodnoty pH, snížení hmotnostních ztrát během vaření, zlepšení textury a organoleptických vlastností (měkkost, šťavnatost, barva a chuť) a prodloužení trvanlivosti. Jejich účinek spočívá ve vazbě vápenatých iontů [1, 8].

Polyfosforečnany se uplatňují při zmrazování a rozmrazování ryb, mořských plodů, masa a drůbeže, kdy zabraňují úbytku vody během manipulace. Rovněž pomáhají stabilizovat disperze, emulze, suspenze a zvyšují schopnost vazby vody a tvorbu gelu [4, 10].

Významnou roli hrají fosforečnany v procesu úpravy a konzervace ryb, kde roste nebezpečí oxidace lipidů přítomných ve svalovině ryb. To vede ke změně barvy a chuti. Oxidaci urychlují ionty kovů přítomné ve svalovině ryb a použítá sůl. Jelikož vytvářejí chemické komplexy s ionty kovů, ukázaly se difosforečnany (E 450), trifosforečnany (E 451) a polyfosforečnany (E 450) nejúčinnější ochranou solených ryb před oxidací [10, 11]

Fosforečnany se přidávají do masných výrobků v omezeném množství. Maximální povolený přídatek ve formě solí a kyseliny fosforečné je 5 g/kg vyjádřené jako P_2O_5 [1, 8].

1.2.2 Polyfosforečnany v mléčných výrobcích

V mlékárenské technologii se tyto sloučeniny používají zejména při výrobě tavených sýrů a při stabilizaci některých tekutých mléčných výrobků (UHT mléko, UHT smetana, smetana do kávy, zahuštěné mléko atd.) [1, 12-14].

Maximální přídatek polyfosforečnanů při výrobě mléčných produktů upravuje Vyhláška č. 4/2008, která udává pro maximální dávku ve formě P_2O_5 pro měkké sýry hodnotu 2g/kg a pro fosforečnanové tavicí soli je dán limit 20 g (vyjádřeno jako P_2O_5) na 1kg taveného sýra [5].

V mléce jsou minerální látky také přirozeně obsaženy. Mohou se nacházet ve formě pravého roztoku, v koloidním systému, anebo mohou být vázány na ostatní složky mléka (například bílkoviny či membránu tukových kuliček). Formy, ve kterých se minerální látky v mléce vyskytují, zejména disociovaná forma a koloidní systém jsou ovlivněny zejména hodnotou pH. Jde především o vápník a fosfor. V kravském mléce se fosfor nachází zejména v kaseinových micelách. Asi 6 % připadá na koloidní kalcium fosfát, 3,1 %

na anorganický fosfát (volný) a 2 % na fosfát vázaný ve formě fosfoserinu. Pro výrobu sýrů a jiných mléčných výrobků hrají kaseinové micely a obsah solí v mléce klíčovou roli ve struktuře a stabilitě výrobků. Obsah solí může být ovlivněn změnami fyzikálně - chemických podmínek, jako je záhřev, chlazení a okyselení. Z tohoto důvodu mohou mít změny fyzikálně chemických podmínek závažné důsledky pro mléčné procesy, do kterých jsou zapojeny kaseinové micely, jako je koagulace jogurtových výrobků, stabilita koncentrovaného mléka během zahřívání a odpařování.

Kompozice minerálních látek včetně fosforečnanů v mléce je ovlivněna plemenem, ročním obdobím, fází laktace, stravou a mastitidou v časovém rámci v období dojení [1, 14-15].

1.3 Vliv polyfosforečnanů na zdravotní stav člověka

Fosfor je esenciální prvek, vystupující v živých organismech v řadě funkcí, které souvisejí s tím, v jakých sloučeninách je obsažen. Jsou to zejména funkce stavební, funkce v energetickém metabolismu a dále funkce aktivační, regulační a katalytické. Ze sloučenin fosforu jsou složeny důležité části biologických struktur (anorganické fosfáty v kostech a zubech, fosfolipidy v biomembránách). Fosfor je také obsažen v nukleových kyselinách, které zajišťují uložení a expresi všech metabolicky významných dějů [7-8].

Názory na vliv fosforečnanů na lidské zdraví se u jednotlivých autorů liší. Kdy na jedné straně je zvýšený obsah fosforečnanů považován za dobrý zdroj fosforu ve stravě. A na straně druhé je poukazováno na nežádoucí ochuzování organismu konzumenta o vápník, což může způsobovat problémy především u dětí [8-9].

Tělo dospělého člověka obsahuje asi 420-840 g fosforu, přičemž 80-85 % tohoto množství se nachází v kostech a zubech. Hlavními prvky kostní hmoty jsou vápník, fosfor a fluor. Hmotnostní poměr Ca:P v kostech je asi 2. Obsah fosforu v jednotlivých tkáních je následující: krev asi 400 mg.dm^{-3} , svalovina $1700\text{-}2500 \text{ mg.dm}^{-3}$, nervová tkáň 3600 mg.dm^{-3} , kosti a zuby 22 % hmotnosti [7].

Buňky savců obsahují polyfosforečnany v menším množství než buňky mikroorganismů. Polyfosforečnany byly lokalizovány v různých tkáních, orgánech a prakticky ve všech subcelulárních organelách (jádro, mitochondrie, plazmatická membrána). Významná je jejich role v kostních tkáních a krvi. Objev polyfosforečnanů v kostní tkáni byl základem pro vývoj léčiv při onemocnění kostí. Biologicky odbouratelný polyfosforečnan byl vyvinut

jako potencionální nosič růstových faktorů. Bylo prokázáno, že krevní destičky jsou bohaté na polyfosforečnanové granule. Krevní destičky mají klíčovou roli v trombóze, homeostázy a zánětech. Výsledky studií naznačují, že polyfosforečnany mohou přispívat k léčbě krvácejících onemocnění u pacientů s hemofilií. Tyto polymery jsou zajímavé jako základ nových kostních náhradních materiálů, jako nosiče pro různé látky a jako činidlo pro biosyntézu biologicky aktivních látek [4].

Fosfor je resorbován v tenkém střevě převážně ve formě HPO_4^{2-} . Resorpce i exkrece fosforu je zčásti závislá na obsahu vápníku ve stravě a naopak. Je-li jeden z těchto prvků přítomen ve velkém nadbytku, zvýší se exkrece druhého prvku. Nežádoucí účinky způsobené podáváním vysokých dávek polyfosforečnanů pokusným zvířatům souvisely právě s nevyváženým příjmem fosforu a vápníku. Udává se, že optimální poměr vápníku k fosforu v dietě je 1:1 až 1:1,5. Nadměrné množství fosforu ve stravě může mít negativní vliv na stavbu kostí, zejména v kombinaci s nízkou spotřebou vápníku. Například v tavených sýrech se zvyšuje obsah fosforu a redukuje se obsah vápníku na poměr Ca:P (1:1,5-3), což může způsobovat riziko vzniku osteoporózy. [4, 6-7, 15].

Fyziologická rovnováha fosforečnanů v těle je udržována komunikací mezi orgány (ledviny, střeva, kosti a příštitná tělíska). Dysfunkce některého orgánu může vést k narušení normální rovnováhy fosforečnanů. Tato rovnováha je regulována intestinální absorpcí fosforečnanů a současně vylučováním při renální reabsorpci. Vysoký příjem potravin obsahující vyšší obsah fosforečnanů může vyvolat zvýšenou koncentraci fosforečnanů v krvi (tzv. hyperfosfatemii), zejména u osob trpících chronickým onemocněním ledvin, která způsobuje kardiovaskulární anomálie [17].

Doporučené denní dietární dávky fosforu jsou 300-500 mg pro děti do 1 roku, 800 mg pro děti do 10 let a 1200 mg pro dospělé. Důležitější než absolutní množství fosforu ve stravě je zachování vhodného poměru vápníku a fosforu. Důležité je si uvědomit, že maso, drůbež a ryby (bez kostí) obsahují 15 až 20 krát více fosforu než vápníku, vejce, cereálie a luštěniny dvakrát až čtyřikrát více. Pouze mléko, sýry, listová zelenina a kosti obsahují více vápníku než fosforu. Z důvodu snížení množství fosforu přidávaného do potravin jsou v současnosti testovány náhrady fosforečnanových tavicích solí, které jsou používány při výrobě tavených sýrů nejčastěji. Možnými alternativami mohou být vybrané hydrokoloidy, modifikované škroby, karagenany aj. [6-9, 16, 20].

2 ROLE POLYFOSFOREČNANŮ V PROCESU KRÉMOVÁNÍ PŘI VÝROBĚ TAVENÝCH SÝRŮ

Historie výroby tavených sýrů trvá přibližně sto let a patří tedy k nejmladším oborům v mlékárenství. Přesto v současnosti patří tavené sýry k celosvětově velmi rozšířené a oblíbené komoditě. Důvody lze hledat zejména ve snadné použitelnosti a vysoké variabilitě, která spočívá v nabídce tavených sýrů různé konzistence, velikosti a tvaru spotřebitelského balení i poměrně široké škály příchutí. Navíc tyto výrobky vykazují relativně dobrou údržnost a poskytují výrobcům poměrně rozsáhlé možnosti optimalizovat výrobní náklady [2].

2.1 Tavené sýry a analogy tavených sýrů

Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb. v platném znění, definuje tavený sýr, jako sýr, který byl tepelně upraven za přídavku tavicích solí. Sýr je označován: názvem druhu (tavený sýr, tavený sýrový výrobek), obsahem tuku nebo tuku v sušině, obsahem sušiny a použitou ochucující složkou. Jako nízkotučný lze označit tavený sýr s obsahem tuku v sušině nejvýše 30 % hmotnostních. Jako vysokotučný lze označit tavený sýr s obsahem tuku v sušině nejméně 60 % hmotnostních. Skupina tavených sýrů s obsahem tuku v sušině 30-60 % není pojmenovaná vyhláškou. Tuto skupinu tavených sýrů lze rozdělit na sýry plnotučné s obsahem tuku v sušině 45-60 % hmotnostních a sýry polotučné s obsahem tuku v sušině 30-45 % hmotnostních. Jako tavený sýrový výrobek se označuje tavený sýr, pokud obsahuje více než 5 % laktózy [2, 18-19].

Sortiment tavených sýrů zahrnuje velké množství produktů vzniklých například kombinacemi jednotlivých druhů přírodních sýrů, obsahující různé suroviny mléčného i nemléčného původu a různé ochucující složky, mající konzistenci od pevné, lomivé, přes snadno roztíratelnou, krémovitou až po tekutou. Další rozšíření sortimentu provádějí výrobci použitím různých obalových materiálů a hmotností spotřebitelského balení [2, 15].

Kromě tavených sýrů, ve kterých stále ještě převažují tradiční suroviny, lze na trhu nalézt i tzv. analogy (imitace) tavených sýrů. Jedná se o produkty, kde je některá z mléčných složek částečně nebo zcela nahrazena surovinami rostlinného původu. Nejběžněji je možné na našem trhu najít výrobky, kde je část mléčného tuku nahrazena tukem rostlinným. Tyto výrobky mají často přednost nižších výrobních nákladů, neboť nákladnější surovina živo-

čišného původu je nahrazena relativně levnějším rostlinným substituentem. Své uplatnění mají tyto produkty v kuchyních i provozovnách fast-food [2, 20-22].

Česká legislativa prozatím pojem „imitace“ nebo „analog“ tavených sýrů nezná. Jedinou zmínku je možné najít ve vyhlášce Ministerstva zdravotnictví č. 4/2008 Sb., v platném znění, a to v části řešící nejvyšší povolené množství fosforečnanů do „tavených sýrů a jejich analogů“. V praxi se pro ně používá velmi podobných názvů jako pro „běžné“ tavené sýry, kde se ale vynechává slovo „sýr“, které se v těchto případech použít nesmí. Lze tedy najít názvy typu: „tavený výrobek“, „tavená pomazánka“ apod. [2, 5, 20-21].

2.2 Suroviny pro výrobu tavených sýrů

Tavené sýry jsou vyráběny zahříváním směsi složek pod částečným vakuem, při stálém míchání, do vytvoření hladké, homogenní hmoty požadovaných texturních vlastností [9, 12, 16, 22].

Základní surovinou pro výrobu tavených sýrů jsou přírodní sýry. Při výrobě tavených sýrů, se běžně používá směs sýrů v různých stádiích zralosti. Proteolýza kaseinů během zrání sýru má významný vliv na texturní vlastnosti tavených sýrů. Nezrající sýr s nízkým stupněm proteolýzy vede k výrobě tavených sýrů s tvrdou, špatně roztíratelnou konzistencí. Zatímco z více hydrolyzovaných kaseinů (zralejší surovina) lze vyrobit tavené sýry snadněji roztíratelné a bohatší chuti. Další surovinou jsou mléčné složky (tvaroh, smetana, máslo, bezvodý mléčný tuk, sušené mléko, sušená syrovátka a kaseináty), nemléčné suroviny a aditiva (voda, zelenina, koření, ochucovadla, barviva, tavicí soli a hydrokoloidy), které jsou použity k úpravě obsahu, nebo funkčních vlastností výrobku [9, 12, 20, 22-25].

Mezi mléčné suroviny patří tvaroh, jehož úkolem je zvýšení obsahu tukuprosté sušiny. Rovněž se přidává do směsí obsahující velmi zralé přírodní sýry za účelem dodání kaseinu (tzv. intaktního kaseinu), u kterého neproběhly rozsáhlé hydrolyzační procesy, což má vliv na stabilitu struktury a konzistenci taveného sýra. Pro zvýšení obsahu tuku se používá především máslo, nebo smetana, která může výrobek příjemně a vhodně zjemnit. Do surovinové skladby se může použít i tzv. krém (sýr již utavený, anglický termín „rework“), pro dosažení jemnější a stabilnější konzistence. Pitná voda se přidává zejména pro úpravu sušiny [2, 9, 19, 23-24, 27].

Základní suroviny (přírodní sýr) se velmi často nahrazují různými mléčnými koncentráty (sušená syrovátka, sušené odstředěné mléko, kasein, kaseináty, mléčné koprecipitáty), ale i surovinami nemléčného původu (nativní a modifikované škroby a další polysacharidy), které mohou mít vliv na jakost finálního výrobku [2, 24-25, 27].

Klíčovým prvkem pro výrobu tavených sýrů jsou tavicí soli. Jejich přídavek je obvykle v množství 2-3 % z konečného produktu. Nejčastěji používané jsou soli polyvalentních aniontů (fosforečnany, polyfosforečnany, nebo citronany) a monovalentní kationty (sodík a draslík). Přídavek emulgačních solí je nezbytný k úpravě prostředí tak, aby kaseiny mohly uplatnit své přirozené emulgační schopnosti. Dalšími účinky tavicích solí je zvýšení pH (ve většině případů), stabilizace emulzí a tvorba struktury olej ve vodě. Absence emulgačních solí během zahřívání směsi složek, by vedla k vytvoření nehomogenní hmoty. Studium vlivu jednotlivých fosforečnanových emulgačních solí a jejich dvou- a vícesložkových směsí na viskoelastické vlastnosti tavených sýrů je předmětem řady odborných prací [2, 12, 16, 20, 22, 24, 26-28].

Stále častěji využívají výrobci přídatné látky na bázi hydrokoloidů s cílem zlepšit vaznost vody a stabilizovat konzistenci výrobku [2, 22, 24-25, 27].

2.3 Princip výroby tavených sýrů

Tavené sýry lze vyrobit kontinuálně, nebo diskontinuálně, přičemž diskontinuální výroba převládá zejména v zemích střední Evropy. Diskontinuální proces výroby se skládá z následujících fází:

- příprava směsi základních surovin určené k tavení,
- příprava směsi tavicích solí,
- vlastní proces tavení,
- balení taveniny, chlazení, skladování a expedice [2, 9, 25].

Složení směsi pro tavení závisí zejména na požadavcích, které jsou kladeny na výsledný tavený sýr. Přírodní sýry je nejprve nutné upravit, odstranit zrací fólii, oškrábat a vykrojit poškozené části. Lze použít sýry s mechanickými vadami, ale není doporučováno používat sýry s mikrobiologickými vadami. Zejména jedná-li se o sporulující bakterie nebo plísně. Takto připravené sýry se upraví na řezačkách, kutrech a válcových mlýnech na jemné části-

ce. Podle receptury jsou naváženy další mléčné a ochucující suroviny (tvaroh, máslo, tavicí soli aj.). Součástí receptury je i pitná voda [2, 19, 23].

Připravená směs přírodních sýrů je dopravena k tzv. tavicímu kotli, kde jsou přidány ostatní suroviny včetně tavicích solí. Tavicí kotel se uzavře a začne vlastní proces tavení. Tavicí kotle mají parou vyhřívaný plášť, přímý střík páry a nůž, který zajišťuje intenzivní míchání. V průběhu tavení je také možný přídavek vody. Proces tavení probíhá za vakua. Poměrně rychle dochází k zahřátí na tavicí teplotu, která se pohybuje v intervalu 90-100°C a je udržována po dobu několika minut za stálého míchání. Kontinuální proces tavení probíhá v nerezových trubkách v tenké vrstvě při teplotě 130-145°C po dobu 2-3 sekund. Diskontinuální proces tavení zajišťuje obvykle pasterační efekt, zatím co kontinuální proces tavení zajišťuje efekt sterilační [2, 9, 19-20, 25].

Tavené sýry je nutné balit co nejdříve po utavení. Horká, tekutá tavenina je dopravena k automatickým, formovacím a balicím strojům, kde se balí většinou do hranolovitých, nebo trojúhelníkových forem vyložených hliníkovou fólií. Mimo hliníkových obalů lze použít například sklo, laminovaný hliník, tuby, plasty, kelímky nebo kov. Je nutné, aby teplota taveniny během formování a balení byla nad 65-75°C, což souvisí s konzistencí výrobku a rizikem kontaminace mikroorganismy. Po zabalení se sýry opatří etiketou a balí se do transportních obalů. Takto zabalené sýry se po vychlazení skladují při teplotě 4-8°C [2, 9, 18-20].

Tavené sýry jsou stabilní produkty s velmi dlouhou trvanlivostí. Nicméně i výrobky bez jakékoli bakteriální kontaminace si zachovávají svou vysokou kvalitu pouze po dobu několika měsíců při pokojové teplotě. Během skladování se pomalu mění strukturní a chuťové vlastnosti. Možné příčiny těchto změn mohou být: ztráta vodní páry, hydrolýza polyfosforečnanů, změny iontové rovnováhy, vznik krystalů, oxidace, neenzymové hnědnutí, enzymová aktivita, ale i interakce s obalovými materiály. Doba trvanlivosti tavených sýrů je ovlivněna čtyřmi hlavními faktory: složení výrobku, zpracování, balení a podmínky skladování (teplota a čas) [30].

Nežádoucí změny v chuti, barvě a stabilitě tavených sýrů během skladování mohou být vyvolány světlem a kyslíkem, které jsou v přímém styku s obalovým materiálem. Světlo může mít vliv na vznik škodlivých oxidačních produktů lipidů. Citlivost mléčných produktů závisí na přítomnosti kyslíku a riboflavinu (vitamin B₂). Ten je schopen absorbovat

energii a iniciovat oxidační reakce, které mohou vést k rozvoji negativních změn v chuti, ztrátě živin (vitaminy, aminokyseliny) a změně barvy pigmentů [31].

2.4 Úloha tavicích solí při výrobě tavených sýrů

Dle vyhlášky Ministerstva zdravotnictví č. 4/2008 Sb., v platném znění, jsou tavicí soli látky, které mění vlastnosti bílkovin, za účelem zamezení oddělování tuků při výrobě tavených sýrů (novelizací z roku 2010 byl příslušný odstavec zrušen). Množství tavicích solí při výrobě tavených sýrů je omezeno vyhláškou, existuje totiž riziko tzv. předávkování tavicími solemi. Což by pravděpodobně vedlo k produkci výrobku s jinou než požadovanou konzistencí, hrozily by negativní změny vzhledu a chuti taveného sýra, které by se mohly projevit krystalizací tavicích solí a vývojem nahořklé pachuti [2, 5, 24, 32].

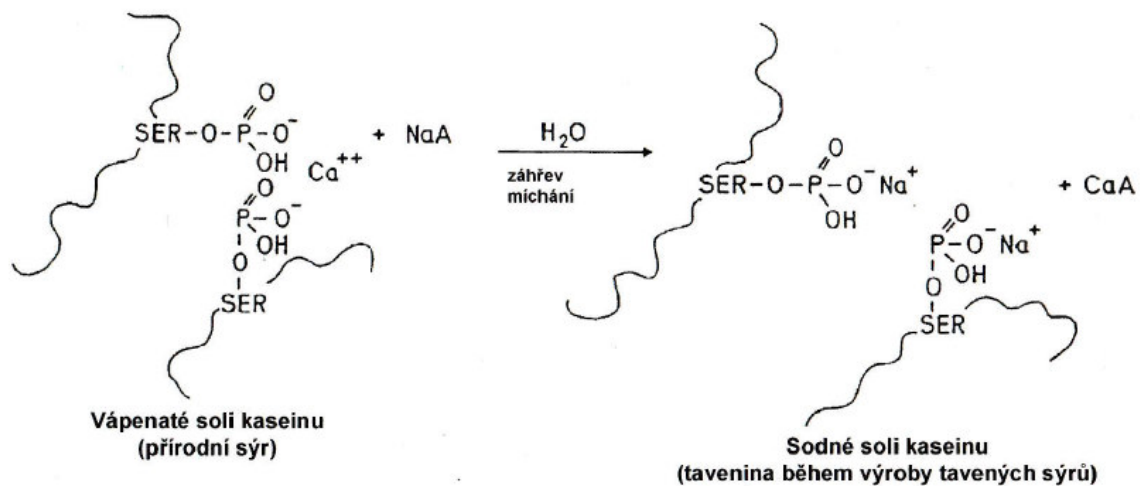
Běžně není možné zahřívát přírodní sýr ani jejich směsi za účelem tepelného ošetření (pasterace) na 85°C, aniž by pravděpodobně nedošlo k destrukci membrán pokrývající tukové kuličky, které by se spojovaly do větších formací a docházelo by tak k agregaci („smršťování“) přítomných bílkovin. Následkem těchto procesů by došlo k rozdělení směsi na 3 fáze – vysráženou bílkovinu na dně, vodní fázi ve střední vrstvě a oddělený volný tuk na povrchu a celé dílo by mělo značně nehomogenní povahu. Úspěšnou výrobu tavených sýrů umožňuje použití tavicích solí [9, 32].

V tavených sýrech zajišťují emulgaci tuku a stabilizaci vody především proteiny – kaseiny. V systému přírodního sýra jsou však kaseiny (a jejich částečné hydrolyzáty) pomocí vápenatých můstků uspořádány do formy trojrozměrné sítě, což způsobí jejich imobilizaci a znemožňuje plnění jejich emulgačních funkcí. Z tohoto důvodu jsou při výrobě tavených sýrů přidávány tavicí soli [2, 14, 24, 28, 33].

Základní funkce tavicích solí v systému spočívá v zajištění iontové výměny vápenatých iontů za sodné, tím vytvoří z nerozpustného parakaseinátu vápenatého rozpustnější parakaseinát sodný, který již může plnit emulgační a stabilizační funkci (viz Obrázek 1). Při tomto procesu dojde rovněž k tzv. peptizaci (přeměna sraženiny na sol) a rozptýlení proteinů. Schopnost jednotlivých tavicích solí podporovat iontovou výměnu se může lišit. Obecně platí, že k rostoucí intenzitě iontové výměny přispívají jednotlivé tavicí soli v následujícím pořadí:

citronany \approx monofosforečnany $<$ difosforečnany $<$ trifosforečnany $<$ krátké polyfosforečnany (< 10 atomů fosforu v molekule) $<$ dlouhé polyfosforečnany (> 10 atomů fosforu v molekule).

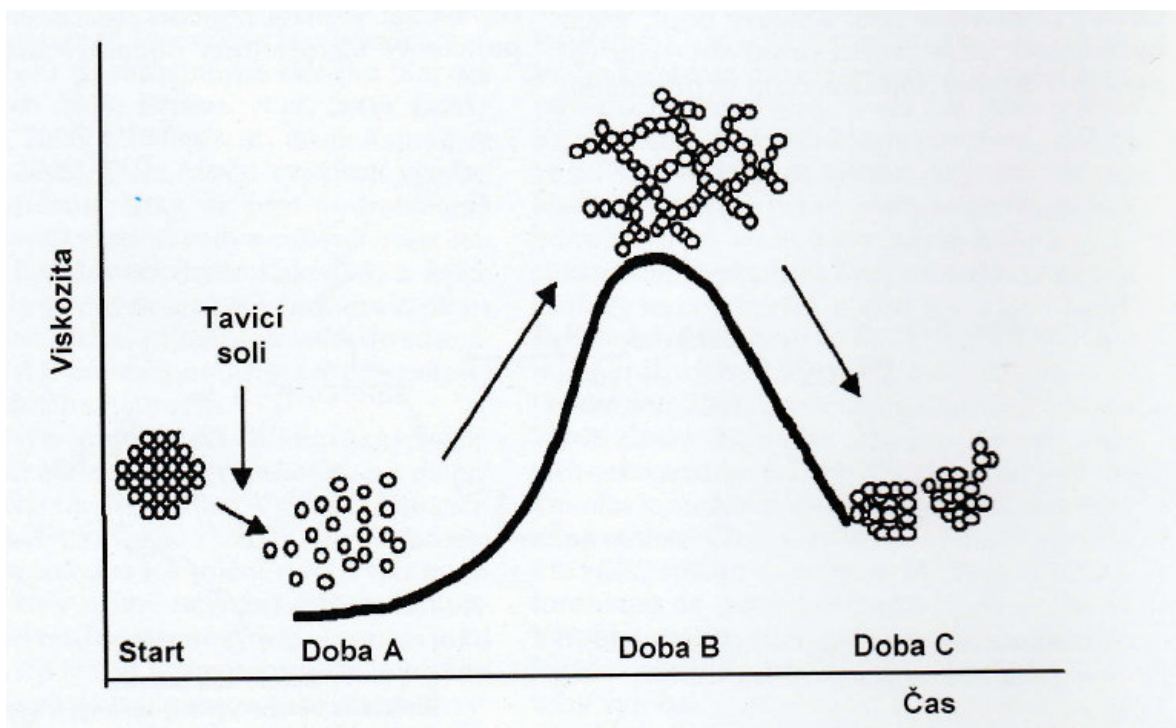
Z některých odborných prací vyplývá, že citronany podporují iontovou výměnu ve větší míře než monofosforečnany. Schopnost iontové výměny u fosforečnanových solí se zvyšuje s prodlužující se délkou polyfosforečnanového řetězce, což má za následek lepší rozptýlení kaseinů a tuků, lepší stabilizaci a emulgaci vody a tvorbu zesíťené matrice ve finálním výrobku. [2, 12-13, 16, 22, 24-26, 28, 33-34].



Obrázek 1: Výměna iontů sodíků za ionty vápníku při tavení přírodních sýrů (A – anion tavící soli, SER – serinové zbytky). Upraveno podle Cariće & Kalába (1997) [2, 32-33].

Při delším účinku teploty za stálého míchání se během procesu tavení začnou navazovat polyvalentní anionty přes vápenaté ionty na proteiny, čím se zvyšuje jejich hydrofilní charakter. Po dostatečném navázání vody roste viskozita taveniny, která vede k tzv. krémování. Proces krémování (utváření finální matrice) je především reakcí proteinů. Nejprve dochází působením teploty a mechanickým mícháním k rozptýlení proteinů, následuje hydratace, bobtnání rozptýlených bílkovin a tvorba síťové struktury pomocí řady vazebných interakcí. Tyto procesy vedou k nárůstu viskozity taveniny. Během chlazení také dochází

k vytváření struktury finální matrice sýra za vzniku vápenatých a disulfidických můstků, hydrofóbních a elektrostatických interakcí a vodíkových vazeb. Rovněž fosforečnany mohou vytvářet můstky mezi proteinovými molekulami, což přispívá k vytvoření trojrozměrné sítě. Proces krémování ovlivňuje finální vlastnosti výrobku, zejména konzistenci a chuť. Nepřiměřeně dlouhý proces tavení může mít za následek pokles viskozity taveniny. Tento jev se označuje jako překrémování, což se může projevit prostřednictvím dehydratace struktury (viz Obrázek 2) [1-2, 24-25, 34-37].



Obrázek 2: Proces krémování, změny struktury a viskozity proteinové matrice během tavení a mechanického míchání taveniny. Upraveno podle Lee et. al. (2003) [2, 35].

Na tavený sýr lze pohlížet jako na gel, který je složen z hydratované proteinové sítě, v níž je dispergován tuk. Na strukturu i konzistenci má vliv obsah tuku, ale i velikost dispergováných tukových kuliček. Za stálého míchání dochází ke zmenšení velikosti tukových kuliček, tedy ke zvětšení jejich počtu a k jejich rovnoměrnému rozptýlení. Po určité době tavení a míchání dojde pravděpodobně ke stabilizaci velikosti tukových kuliček. Možným pří-

davkem emulgátorů lze velikost tukových kuliček zmenšit. Tyto procesy jsou podmíněny také funkčními vlastnostmi použitých tavicích solí [2, 24, 35].

Klíčovým prvkem konzistence a stability tavených sýrů je hodnota pH. Působením tavicích solí dojde k mírnému zvýšení pH, z pH 5,2-5,5 (přírodní sýr) na pH 5,6-6,0 (tavený sýr). Optimální hodnota pH taveného sýru se vyznačuje tvorbou homogenní sítě s rovnoměrným rozptýlením tukových kuliček. Při nižším pH v oblasti 5,0-5,2 se přítomné proteiny blíží svému izoelektrickému bodu (uzančně stanovený izoelektrický bod kaseinu při 30°C je pH 4,6), kdy dochází k zintenzivnění interakcí jednotlivých proteinových frakcí a vysoké agregaci. Takový tavený sýr se vykazuje nepřirozenou tuhostí a drobitostí. Při vyšším pH v oblasti 6,0-6,2 dochází ke snížení elektrostatických interakcí a přítomným proteinům roste negativní náboj, což způsobuje jejich vzájemné odpuzování. Takto oslabený gel se projevuje měkkou konzistencí a možnými mikrobiologickými vadami. [2, 12, 14, 24, 33, 38].

Tavicí soli patří do skupiny přídatných látek používaných při výrobě potravin. Musí být tedy na obale výrobku označeny názvem přídatné látky včetně jejího číselného kódu uvedeného jako E číslo. V případě směsi přídatných látek musí být na obale uveden název, číselný kód a údaje o podílu každé přídatné látky ve směsi podle klesajícího hmotnostního podílu [5].

2.4.1 Fosforečnanové tavicí soli

Nejběžnější tavicí soli používané při výrobě tavených sýrů jsou soli vícesytných aniontů (fosforečnany, polyfosforečnany, citronany a jejich kombinace) s monovalentními alkalickými kovy (sodík). Jak již bylo zmíněno, přidávají se v množství 2-3 % z konečného produktu [12, 15, 25-29, 36-37, 40].

Přírodním zdrojem fosforečnanu určeného pro výrobu tavicích solí je fosforečnanová ruda. Tento surový fosforečnan se skládá z fosforečnanu vápenatého a rozpouští se v minerálních kyselinách s cílem získat surovou kyselinu fosforečnou. K získání potravinářsky čisté kyseliny fosforečné je potřeba několik čistících – rafinačních kroků, aby mohla být použita jako základní surovina pro výrobu potravinářských fosforečnanů, v potravinářství sloužících pro výrobu zejména tavicích solí [43].

Soli na bázi fosforečnanů jsou přidávány do celé řady potravin (viz Kapitola 1.2), kde ovlivňují vlastnosti přítomných proteinů, pomocí úpravy podmínek prostředí (změna iontové síly roztoku, pH, odštěpení kationtu aj.). Také uplatňují svůj vliv pomocí reakcí, kdy se naváží na protein, čímž změní jeho vlastnosti (schopnost hydratace, bobtnání, tvorby gelu aj.) [1-2, 12, 25, 27-28, 32, 40].

Funkční vlastnosti fosforečnanů se liší v závislosti na délce řetězce. Mono- nebo ortofosforečnany se používají hlavně k úpravě a stabilizaci pH, zatímco di-, tri-, nebo polyfosforečnany mají schopnost vázat vápník. Difosforečnany a trifosforečnany navíc vykazují ještě silný krémovací efekt, což je žádoucí zejména při výrobě roztíratelných tavených sýrů [24, 43].

Jak již bylo zmíněno, optimální pH tavených sýrů se pohybuje v rozmezí 5,6-6,0. Pokud dojde k odchylce z tohoto intervalu, dochází ke zhoršení jakosti finálních výrobků. U jednotlivých fosforečnanů se pH liší (viz Tabulka 1), proto je nutné zvolit vhodnou kombinaci fosforečnanů, která zabezpečí optimální pH produktů a odpovídající texturní vlastnosti. Fosforečnany vykazují tzv. pufrací schopnost, tedy stabilizují pH vůči okolním vlivům. V matici tavených sýrů bylo pozorováno, že pufrací kapacita fosforečnanů klesá s rostoucí délkou jejich lineárního řetězce. Jako možné vysvětlení se nabízí uvolnění vodíkových kationtů (které jsou četnější v dlouhých řetězcích fosforečnanů) do taveniny, které snižují hodnotu pH [1-2, 24-25, 32].

Tabulka 1 Fosforečnany používané při výrobě tavených sýrů [upraveno dle 2, 32].

Skupina	Látka	Vzorec	E-kód	pH 1% vodného roztoku
Ortofosforečnany	Dihydrogenfosforečnan sodný	NaH_2PO_4	E339	4,5
	Monohydrogenfosforečnan sodný	Na_2HPO_4	E339	9,1
	Fosforečnan sodný	Na_3PO_4	E339	11,9
Difosforečnany (pyrofosforečnany)	Dihydrogendifosforečnan sodný	$\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$	E450	4,1
	Difosforečnan sodný	$\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$	E450	10,2
Trifosforečnany	Trifosforečnan sodný	$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$	E451	9,7
Polyfosforečnany	Polyfosforečnan sodný	$(\text{NaPO}_3)_n$	E452	6,6

Fosforečnany jsou schopny odštěpit z prostředí a na sebe navázat monovalentní i polyvalentní kationty kovu, tato vlastnost je ovlivněna řadou faktorů. Fosforečnany vykazují vyšší schopnost vazby kovů alkalických zemin (vápník), ve srovnání s alkalickými kovy (sodík, draslík). Tato schopnost vazby kationtů se zvyšuje s rostoucí teplotou, čehož se využívá v procesu tavení sýrů. Dalším faktorem ovlivňujícím schopnost vazby kationtů je počet fosforečnanových jednotek (n) v molekule, kdy se zvyšujícím se počtem atomů fosforu v molekule se zvyšuje afinita ke kationtům. Zároveň existují rozdíly ve schopnosti vazby kationtů u fosforečnanů se stejným počtem atomů fosforu v molekule, což je ovlivněno především hodnotou pH směsi. Obecně platí, že s rostoucím pH roste i tato schopnost [1-2, 24-25, 32, 40].

Další důležitou vlastností fosforečnanů je schopnost podpory tvorby gelu, tato vlastnost se u jednotlivých fosforečnanů liší. Lineární polyfosforečnany s vysokým počtem atomů fosforu v molekule podporují tvorbu gelu, ale jen v omezeném měřítku. Nízkomolekulární polyfosforečnany podporují více zesítnění matrice gelu. Tvorbu gelu nejvíce podporují difosforečnany a trifosforečnany, zejména když jsou v optimální koncentraci s ohledem na ostatní složky ve směsi. Rovněž existují specifické interakce mezi monofosforečnany a difosforečnany, které silně podporují tvorbu gelu. Podle podpory tvorby gelu lze fosforečnany seřadit takto:

Polyfosforečnany ($n > 3$) > $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ > $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ > Na_3PO_4 > $\text{Na}_3\text{HP}_2\text{O}_7$ > $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$ > Na_2HPO_4 > NaH_2PO_4 [1-2, 24-25, 32, 40].

Emulgace tuku je významným faktorem při vytváření finální struktury taveného sýra. Použití tavicích solí zvyšuje rozsah emulgačních vlastností proteinů a rozptýlení tuku. Schopnost emulgace tuku souvisí se schopností fosforečnanových tavicích solí dispergovat kaseiny a podílet se na tvorbě trojrozměrné struktury finální matrice. Stupeň emulgace v tavených sýrech při použití tavicích solí klesá v následujícím pořadí:

Trifosforečnany > difosforečnany > polyfosforečnany > monofosforečnany [24].

Během procesu tavení se projevuje ještě jedna vlastnost, a to schopnost zvýšení vaznosti vody přítomných bílkovin. Při procesu tavení se začínají fosforečnany navazovat (přes vápenaté ionty) na kaseinové frakce, čímž se zvýší jejich hydrofilní charakter. Navázáním dostatečného množství vody roste viskozita taveniny, která vede k tzv. krémování. Pro vytvoření výsledné matrice taveného sýra je kromě dostatečného množství vody důležití

i vápník navázaný v tavicích solích. Během chladnutí dochází k částečnému uvolňování vápníku z tavicích solí a k jeho opětovnému zapojování do síťové struktury taveného sýra. Schopnosti fosforečnanů ovlivnit tvorbu gelu a zvýšit vaznost vody přítomných bílkovin jsou klíčové pro vytvoření finální konzistence tavených sýrů [1-2, 24, 28, 32-33].

Nezanedbatelný je vliv fosforečnanů na činnost mikroorganismů. Antimikrobní účinky fosforečnanů jsou popisovány především u grampozitivních bakterií, některých mikromycet a kvasinek. U grampozitivních bakterií je inhibiční efekt fosforečnanů závislý na délce jejich řetězce (kondenzačním stupni). U delších řetězců byl pozorován výraznější inhibiční účinek ve srovnání s kratšími řetězci, což může souviset se schopností fosforečnanů vyvazovat dvojmocné ionty (Ca^{2+} , Mg^{2+}). Antimikrobní působení je do značné míry ovlivněno hodnotou pH prostředí, což může hrát roli při uplatnění sekvestrační schopnosti. Fosforečnany vykazující alkalickou reakci v kultivačním médiu, mají vyšší inhibiční kapacitu. Nízké pH způsobuje protonizaci vazebných míst, čímž dochází k poklesu žádaného sekvestračního účinku. Inhibiční účinek fosforečnanů může být znehodnocen působením záhřevu, který vyvolává jejich hydrolýzu. Rovněž některé bakterie disponují enzymy, které jsou schopny rozkládat fosforečnanové soli, k jejich inaktivaci dochází záhřevem. Proto je pro zachování inhibičního účinku fosforečnanových solí doporučován ihned po jejich přidání do potravinového výrobku tepelný záhřev. Přídavek fosforečnanů do roztíratelných sýrových výrobků může zpomalit, nebo zabránit růstu nežádoucích bakterií tvořící spory, které se mohou podílet na kažení těchto výrobků tvorbou plynu, kyseliny máselné nebo produkcí toxinu [1, 29, 32, 41-42].

Z hlediska funkčních vlastností by bylo možné používat i draselné soli fosforečnanů. Při výrobě tavených sýrů se však nepoužívají, protože mohou ve finálním výrobku způsobit hořkou příchuť. Rovněž existují zmínky o možnosti použití sodno-hlinitých fosforečnanů [2, 24].

2.4.2 Citronanové tavicí soli

Citronany jsou soli odvozené od trikarboxylové kyseliny citronové. Nejvíce využívané jsou především citronany trisodné. Citronan monosodný a disodný způsobuje silné okyselení směsi, což vede ke vzniku nestabilní emulze, uvolňující velmi snadno vodu. Velmi omezeně se tyto látky používají pro úpravu příliš vysokého pH taveniny. Citronany se svým chováním blíží chování ortofosforečnanů. Mají nízkou afinitu k vápenatým iontům, nicméně

větší než k sodným iontům. V některých publikacích je zmíněno, že citronany podporují iontovou výměnu ve větším rozsahu než monofosforečnany. Mají také nízkou schopnost zvýšit hydrataci proteinů i emulzi tuku v tavených sýrech. Jsou také považovány za látky zapojující se do zesítní proteinové matrice. Obecně platí, že tavený sýr vyrobený za použití citronanu sodného jako emulgační soli má měkkou snadno roztíratelnou konzistenci (viz Tabulka 3) [2, 24-25, 32, 34, 36-38, 40].

Tabulka 2 Citronany použité při výrobě tavených sýrů [upraveno podle 1].

Skupina	Látka	Vzorec	E-kód	pH 1% vodného roztoku
Citronany	Citronan sodný	$C_6H_7NaO_7$	R331	3,75
	Citronan disodný	$C_6H_6Na_2O_7$	E331	5
	Citronan trisodný	$C_6H_5Na_3O_7$	E331	7,95

Sledujeme-li inhibiční účinky citronanu na mikroorganismy podílející se na kažení tavených sýrů díky produkci plynu, tak antimikrobní efekt po přidavku polyfosforečnanů a ortofosforečnanů je ve srovnání s citronany lepší. Mnohé studie ukazují nízký inhibiční efekt citronanů sodného vůči *Clostridium botulinum* než je tomu u fosforečnanů [42].

Citronany se používají v kombinaci s jinými tavicími solemi, především s fosforečnany do blokových a plátkových tavených sýrů [24].

3 HLAVNÍ SLOŽKY A VLASTNOSTI SUŠENÉHO MLÉKA

Mléko je neprůhledná bílá tekutina s lehce nažloutlým odstínem. Neprůhlednost je způsobena rozptýlenými tukovými kuličkami a přítomností micelárního kaseinu. Nažloutlý odstín mléka je dán především zastoupením karotenoidů a riboflavinu. Mléko by mělo být stejnorodou tekutinou bez usazenin, vloček a hrubých nečistot [14].

Dle vyhlášky Ministerstva zemědělství č.77/2003 Sb. v platném znění se sušeným mlékem nebo sušenou smetanou rozumí takový mléčný výrobek v prášku, který je získán sušením mléka, plnotučného, odtučněného nebo částečně odtučněného nebo smetany nebo jejich směsi s obsahem vody nejvýše 5 % hmotnostních. U výrobku určeného konečnému spotřebiteli musí být na obalu uveden doporučený způsob ředění nebo způsob uvedení do původního stavu, včetně údajů o obsahu tuku v procentech hmotnostních v takto upraveném výrobku. Sušená mléka se skladují, přepravují a uvádějí do oběhu při teplotě do 24°C a při relativní vlhkosti vzduchu do 70 %. U sušeného mléčného výrobku, s výjimkou sušeného odtučněného mléka musí být označení obsahu tuku v hmotnostních procentech (viz Tabulka 3) [14, 18, 44].

Tabulka 3 Označení výrobku podle obsahu tuku v % hmotnostních [18].

Druh výrobku	Obsah tuku (v % hmotnostních)
Sušené mléko	více než 42,0 včetně
Sušené plnotučné mléko	26,0 až 42,0
Sušené částečně odtučněné mléko	více než 1,5 až 26,0 včetně
Sušené odtučněné mléko	méně než 1,5 včetně

Sušené mléko je hlavním prekurzorem pro mnoho potravinářských výrobků. Koloidní charakter kravského mléka je zásadní strukturální funkcí, která ovlivňuje konečnou kvalitu výrobku, stejně jako jeho chování během zpracování. Složky, které mléku udávají koloidní charakter, můžeme rozdělit na dvě oblasti: na kaseinové micely a mléčný tuk. Obě tyto koloidní domény tvoří téměř 80 % z přibližně 12,7 g sušiny na 100 g⁻¹ mléka [44].

Sušené odtučněné mléko představuje významný zdroj bílkovin (35 %) a sacharidů (laktóza 50 %), které mohou být použity jako složky potravin, pro rekonstituci a jako krmivo pro zvířata. Jako složka potravin plní tři hlavní funkce: přispívá k žádoucí mléčné příchuti, ovlivňuje texturu potravin a zvyšuje rozvoj žádoucí barvy a dalších chuťových látek [44].

3.1 Výroba sušeného mléka

Mezi základní operace při výrobě sušeného mléka patří odpařování a sušení. Jako surovina pro výrobu sušených mléčných hmot se využívají zahuštěné hmoty. Nejpoužívanějším způsobem sušení je dehydratace ve sprejových sušících věžích a válcový způsob sušení. Mléko se nejprve standardizuje na požadovaný obsah tuku a následně se provede pasteurace. Po tepelném ošetření se mléko koncentruje odpařováním na požadovaný obsah sušiny. Při použití válcového sušení se mléko zahušťuje na 30-35 % (w/w) sušiny, v případě sprejového sušení na obsah 40-50 % (w/w) sušiny. Následně se mléko suší. Při sušení rozprašováním se zahuštěné mléko přemění na sušený prášek rozprášením do řízeného proudu horkého vzduchu v sušící komoře. Při válcovém sušení se zahuštěné mléko suší na povrchu vyhřívaného bubnu. Po odpaření vody se tenká vrstva sušeného mléka odstraní z bubnu speciálním nožem [14, 45-46].

3.2 Vlastnosti kaseinových micel

Kaseinové micely tvoří 80 % obsahu bílkovin kravského mléka. Jsou polydisperzní, nepravidelné makromolekulární segmenty, které se skládají ze čtyř různých kaseinových frakcí (α_{S1} -, α_{S2} -, β -, κ -kasein) a přibližně z 8 % (w/v) koloidního fosforečnanu vápenatého. Vnitřní struktura kaseinové micely je složena z kaseinových frakcí (α_{S1} -, α_{S2} -, β -) a nanoklastrů koloidního fosforečnanu vápenatého, které fungují jako spojovací body pro montáž kaseinu. Zatím co κ -kasein se nachází především na povrchu kaseinové micely, kde společně s disacharidickou složkou tvoří vyčnívající vláskovou strukturu, která stabilizuje kaseinovou micelu prostřednictvím elektrostatických interakcí a stericke stabilizace. Kaseinové micely jsou vysoce hydratované, teoreticky jsou schopny vazby 3,7 g vody na 1 g proteinu [1, 14, 45, 48-49].

V případě odtučněného mléka, kdy jsou z mléka odstředěny tukové kapénky, jsou primárním zdrojem zákalu kaseinové micely. Integrita kaseinových micel je stabilizována hydrofóbními, elektrostatickými interakcemi a zejména prostřednictvím micelárních shluků fosforečnanu vápenatého. Zákal neboli turbidita je formulován jako snížení průhlednosti kapaliny způsobené přítomnými nerozpuštěnými látkami. Měření zákalu ovlivňuje velikost a tvar částic, barva a index lomu. Bylo zjištěno, že zákal v sušeném obnoveném mléce je větší než u syrového mléka [47]. Tento rozdíl byl způsoben nárůstem velikosti kaseinových

micel, ke kterému došlo v důsledku tepelného ošetření při výrobě sušeného mléka. Tepelné ošetření ovlivňuje důležité fyzikální vlastnosti sušeného mléka, jako je vlhkost, index rozpustnosti a objemová hmotnost. Podle současných znalostí, tento nárůst velikosti kaseinových micel je způsoben uchycením denaturovaných sérových bílkovin (zejména β -laktoglobulinu a α -laktalbuminu) na vnější straně kaseinových micel. Rozsah a povaha spojení sérových bílkovin závisí na pH mléka, kdy se zvyšujícím se pH dochází současně k poklesu zákalu [47, 50].

K dalšímu zvětšování kaseinových micel dochází během odpařování při výrobě sušeného mléka. Jako možné vysvětlení se nabízí přenos sérových bílkovin a kaseinových micel ze séra na micelární fázi během odpařování a sušení rozprašováním, kdy dochází ke zvyšování teploty a odpaření vody. Zároveň dochází ke změně aktivity vápníku. Koloidní fosforečnan vápenatý je v dynamické rovnováze s rozpustnými ionty v mléčném séru, tento stav závisí na pH, teplotě a koncentraci iontů. V průběhu odpařování dochází k posunu koloidního fosforečnanu vápenatého směrem k micelární fázi [47, 51].

3.3 Sušené mléko jako modelový systém

V odborné literatuře je popsáno několik experimentů, kdy se sušené mléko využívá jako modelový systém k vyhodnocování intenzity disperze kaseinu na základě metody měření optické hustoty. V případě použití odtučněného sušeného mléka pak sledované změny optické hustoty odpovídají změnám v rozptýlení či naopak shlukování kaseinových micel. V těchto studiích je nižší optická hustota považována za dosažení vyšší disperze kaseinových micel v systému. Intenzita disperze kaseinu závisí především na typu a koncentraci použitých tavicích solí. Bylo prokázáno, že při použití fosforečnanových tavicích solí jednotlivě se intenzita kaseinové disperze zvyšovala s rostoucím počtem atomů fosforu lineárně vázaných v molekule. Tedy intenzita disperze kaseinu se zvyšuje s intenzitou iontové výměny. Na druhou stranu přidání vyšší koncentrace citronanu sodného do koncentráту mléčné bílkoviny (upravené na pH 5,8) ukazuje snížení zákalu, k čemuž přispívá koloidní fosforečnan vápenatý a množství kaseinu vázaného na vápník a fosfor [13, 25, 36].

Jiná studie používající tento modelový systém byla zaměřena na sledování vlivu pH a teploty na tvorbu zákalu. V mléce při teplotě 5°C, pH 5,5 měly kaseinové micely volnou strukturu, následkem čehož došlo k tvorbě mírného zákalu. Postupné zvyšování pH až na hodnotu 7, při stejné teplotě vedlo ke zvýšení negativního náboje kaseinu, ke snížení

rozpuštěnosti koloidního fosforečnanu vápenatého a ke zvýšení elektrostatických interakcí, výsledkem bylo vytvoření lehkého zákalu. Rovněž bylo pozorováno zvětšení velikosti a hydratace micel. Zvýšením teploty došlo ke zvýšení hydrofobních interakcí, které přispívají ke stabilizaci struktury kaseinových micel a ke zvýšení tvorby zákalu pro hodnoty pH v rozmezí 5,5-7,5 [52].

Další použití modelového systému sušeného odtučněného mléka bylo zaměřeno na sledování pufrací schopnosti mléka a mléčných výrobků. Parametry této důležité fyzikálně-chemické vlastnosti závisí na několika faktorech, jako je zastoupení složek (anorganický fosforečnan, citronan, organické kyseliny) a mléčné bílkoviny (kaseiny a sérové bílkoviny). Ionty fosforečnanů a citronanů mají pufrovací schopnost. Tyto ionty pochází z kyseliny fosforečné a citrónové a jejich stupeň disociace je závislý na hodnotě pH. Jejich pK hodnoty (záporný dekadický logaritmus disociační konstanty) se mění v závislosti na fyzikálně-chemických podmínkách, zejména iontové síle a přítomnosti vápníku. Když se iontová síla zvyšuje, dochází ke snížení hodnoty pK. Přidání citronanové soli do mléka vyvolává rozpuštění koloidního fosforečnanu vápenatého a pufrací schopnost (stabilita pH vůči okolním vlivům) se posune směrem k vyšší hodnotě pH. Přídavkem ortofosforečnanů do mléka dochází ke zvýšení koncentrace fosforečnanů a pufrací schopnost se posune směrem k nižší hodnotě pH. Bylo zjištěno, že ortofosforečnany vykazují nejlepší stabilizaci pH. Polyfosforečnany vykazují obdobné účinky jako citronany. Při úplném rozpuštění koloidního fosforečnanu vápenatého dochází k destabilizaci kaseinových micel [14, 36, 53].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem práce v teoretické části bylo:

1. Charakterizovat polyfosforečnany a jejich využití v potravinářství.
2. Popsat roli polyfosforečnanů v procesu krémování při výrobě tavených sýrů.
3. Charakterizovat hlavní složky a vlastnosti sušeného odtučněného mléka.

Cílem práce v praktické části bylo:

1. Připravit modelový systém s využitím sušeného odtučněného mléka.
2. Připravit vzorky s přídavkem binárních směsí tavicích solí.
3. Stanovit optickou hustotu připravených vzorků při různém pH.
4. Zpracovat a vyhodnotit data zpracovaných vzorků v závislosti na typu použitých binárních směsí a na hodnotách pH.

5 MATERIÁL A METODY

5.1 Suroviny a přístroje pro přípravu modelového systému

Tabulka 4 Suroviny pro přípravu modelového systému

Název	Výrobce
Sušené odtučněné mléko	Moravia Lacto a.s., LPC, Jihlava, ČR
2x deionizovaná voda	

Tabulka 5 Přídavné látky pro přípravu modelového systému

Obchodní označení	Název	Vzorec	Výrobce
	Azid sodný	NaN_3	Sigma Aldrich spol. s.r.o., Praha, ČR
HEXA 62	Polyfosforečnan sodný	$(\text{NaPO}_3)_n$, (n=5)	Fosfa, a.s., Břeclav, ČR
HEXA 65	Polyfosforečnan sodný	$(\text{NaPO}_3)_n$, (n=9)	Fosfa, a.s., Břeclav, ČR
HEXA 68	Polyfosforečnan sodný	$(\text{NaPO}_3)_n$, (n=20)	Fosfa, a.s., Břeclav, ČR
HEXA 70	Polyfosforečnan sodný	$(\text{NaPO}_3)_n$, (n=28)	Fosfa, a.s., Břeclav, ČR
PEPSICO	Polyfosforečnan sodný	$(\text{NaPO}_3)_n$, (n=13)	Fosfa, a.s., Břeclav, ČR
TSC	Dihydrát citrát sodný	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NaO}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Sigma Aldrich spol. s.r.o., Praha, ČR

Tabulka 6 Chemikálie pro úpravu pH modelového systému

Název	Vzorec	Koncentrace
Hydroxid sodný	NaOH	1M ($c = 1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$)
Kyselina chlorovodíková	HCl	1M ($c = 1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$)

Tabulka 7 Použité přístroje

Přístroj	Výrobce
Stolní pH metr EUTECH INSTRUMENT 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

5.2 Příprava modelových vzorků disperze sušeného odtučněného mléka

Modelový zásobní roztok mléka pro jednu sadu měření byl připraven smícháním 1,5 l 2x deionizované vody (viz Tabulka 4), ohřáté na teplotu $> 50^{\circ}\text{C}$, 75 g sušeného odtučněného mléka a 0,3 g azidu sodného. Vzniklá suspenze obsahovala 5 % (w/v) mléka a 0,02 % (w/v) azidu sodného, který se přidává, aby se zabránilo potencionální mikrobiální kontaminaci [22]. Tato směs byla důkladně promíchávána do dokonalého rozpuštění při laboratorní teplotě. Následně bylo upraveno pH směsi na požadovanou hodnotu $5,2 \pm 0,01$, $5,8 \pm 0,01$, nebo $6,4 \pm 0,01$ pomocí kyseliny chlorovodíkové ($c = 1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), případně hydroxidu sodného ($c = 1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), (viz Tabulka 6). Modelový systém byl nepřetržitě promícháván po dobu 18 hodin při laboratorní teplotě ($22 \pm 1^{\circ}\text{C}$).

Ze zásobního roztoku mléka byly připraveny jednotlivé vzorky. K 100 ml upraveného zásobního mléka byla přidána navážka binární směsi tavicích solí. Vzorky byly míchány po dobu 60 minut, z důvodu důkladného rozpuštění tavicích solí. Následně bylo opět upraveno pH na požadovanou hodnotu ($5,2 \pm 0,01$, $5,8 \pm 0,01$, nebo $6,4 \pm 0,01$) pomocí HCl, případně NaOH (viz Tabulka 6). Poté byla u vzorků změřena optická hustota.

Binární směsi byly složeny vždy z jedné soli polyfosforečnanu v kombinaci s citronanem v procentuálním poměru 100:0, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80, 10:90 a 0:100. Z uvedeného tedy vyplývá, že bylo připraveno vždy 9 směsí s proměnlivým zastoupením dvou tavicích solí a 2 vzorky obsahovaly jen jednu tavicí sůl (vzorky 100:0 a 0:100). Ve vzorcích mléka se poměr fosforečnanové a citronanové tavicí soli měnil dle tabulky 8. Bylo testováno 5 sodných solí polyfosforečnanů (P_{xx}) se střední délkou řetězce ($n \approx 5, 9, 13, 20$ a 28), které byly označeny P05, P09, P13, P20 a P28 v celkovém množství 0,3 % (w/v), což odpovídá poměru bílkovina:fosforečnan v tavených sýrech (viz Tabulka 5).

Rovněž byl u každé sady vzorků připraven jeden vzorek bez přídatku tavicích solí. Jednalo se o suspenzi mléka s upravenou pH hodnotou.

Tabulka 8 Navážky binárních směsí tavicích solí

Pořadí vzorku	Poměr fosforečnanové a citronanové tavicí soli	Navážka fosforečnanové 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

5.3 Měření optické hustoty

Změny v disperzi kaseinů, ke kterým ve vzorcích docházelo v důsledku použití tavicích solí, byly sledovány pomocí měření optické hustoty vzorků. Optická hustota je absorbance (záporný dekadický logaritmus transmittance) daného optického elementu při dané vlnové délce λ na jednotku vzdálenosti.

$$T = \frac{\Phi}{\Phi_0}; T = \frac{\Phi}{\Phi_0} \cdot 100 [\%]$$

T= transmittance, relativní část prošlého záření, vyjádřena obvykle v procentech

Φ = prošlý zářivý tok

Φ_0 = dopadající zářivý tok [54].

Měření optické hustoty bylo provedeno na laboratorním spektrofotometru UV Mini 1240, Shimadzu (viz Tabulka 7). Zdrojem světla je pro viditelnou oblast halogenová žárovka a pro UV oblast deuteriová lampa. Vlastní měření bylo prováděno při vlnové délce 700 nm, ve skleněné kyvetě o tloušťce 1 cm při laboratorní teplotě (22 ± 1 °C). Jako slepý vzorek byla použita deionizovaná voda. Všechny vzorky byly vyhotoveny 3 krát a proměřeny 9 krát.

Princip této metody je založen na předpokladu, že čím je nižší hodnota optické hustoty v systému mléka, tím více je kasein rozptýlen. Naopak vyšší hodnoty optické hustoty lze považovat za projev vyššího shlukování kaseinového komplexu, kdy dochází k tvorbě agregátů kaseinů [37]. Využití optické hustoty pro hodnocení disperze kaseinového komplexu v modelovém systému bylo publikováno v několika odborných studiích [13, 22, 25, 37, 40, 45, 47].

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

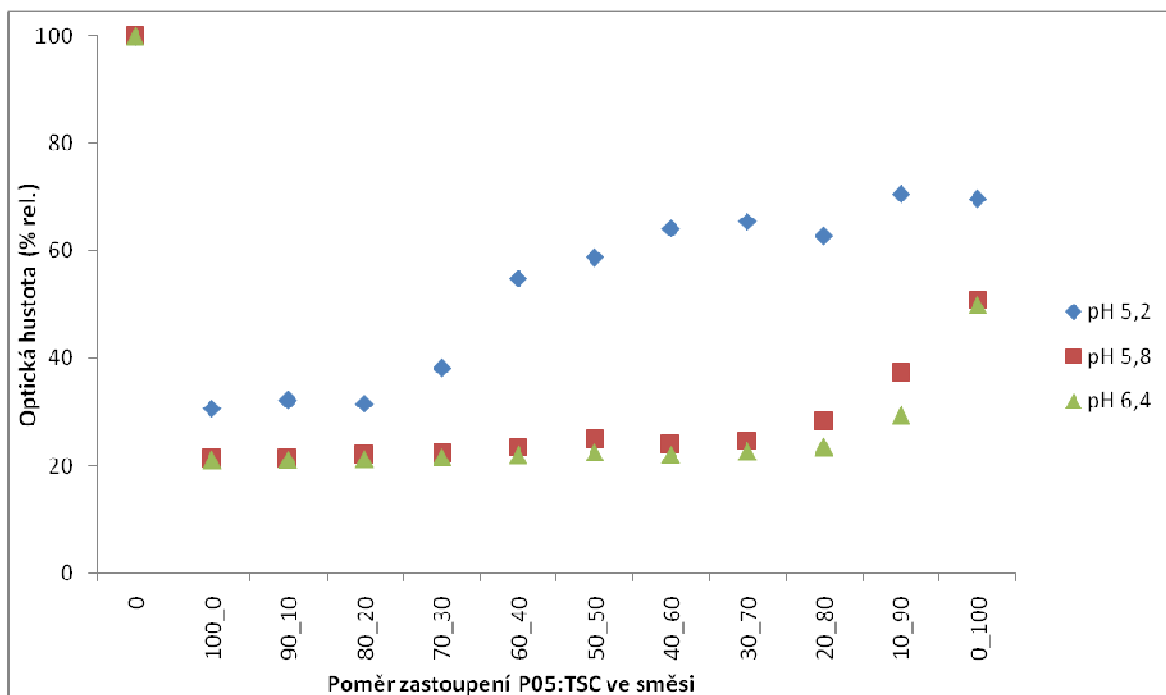
Metoda stanovení optické hustoty byla použita pro sledování vlivu pH a délky řetězce polyfosforečnanových tavicích solí na intenzitu dispergace či naopak shlukování kaseinového komplexu v modelovém systému mléka.

6.1 Výsledky měření optické hustoty

Dle postupu uvedeného v kapitole 5.2 byla připravena modelová suspenze odtučněného sušeného mléka v deionizované vodě s přídatkem binární směsi tavicích solí v kombinaci pěti různých polyfosforečnanových solí (P_{xx}) s citronanem sodným. Výsledná hodnota optické hustoty uvedená v grafech je vyjádřena jako procento ke kontrolnímu vzorku systému mléka bez přídatku tavicích solí.

6.1.1 Výsledky měření optické hustoty s použitím polyfosforečnanu P05 a citronanu ve směsi tavicích solí

K měření optické hustoty byly připraveny vzorky, u kterých byla použita binární směs polyfosforečnanu sodného se střední délkou řetězce 5 fosforečnanových zbytků, označovaného jako P05 a citronanu sodného. Směs tavicích solí byla připravena smícháním navážek solí P05 a citronanu dle tabulky 8. K těmto navážkám bylo přidáno 100 ml upraveného obnoveného mléka o požadovaném pH. Následně se suspenze nechala důkladně promíchat, poté se upravilo pH na požadovanou hodnotu a následovalo proměření optické hustoty při vlnové délce 700 nm (viz Kapitola 5.3). Jako slepý vzorek byla použita deionizovaná voda, protože mléko s upravenou pH hodnotou vykazovalo vyšší optickou hustotu a při odečtu mléka s přídatkem tavicích solí se výsledná optická hustota pohybovala v záporných hodnotách. Celkem bylo měřeno 12 vzorků. První vzorek bylo mléko s upravenou pH hodnotou bez přídatku tavicích solí, následovalo 11 vzorků s přídatkem binárních směsí tavicích solí navážených dle poměrů uvedených v tabulce 8. Každý vzorek byl proměřen 9 krát. Stejný postup se opakoval pro každou hodnotu pH (5,2; 5,8; 6,4). Ze získaných výsledků optické hustoty pro jednotlivé kombinace tavicích solí a pro 3 hodnoty pH byly vypočteny průměrné hodnoty, které byly použity při sestavení grafického znázornění výsledků. Výsledky měření jsou znázorněny v grafu na Obrázku 3.



Obrázek 3: Graf závislosti optické hustoty na poměru polyfosforečnanu sodného s 5 fosforečnanovými zbytky a citronanu ve směsi tavicích solí

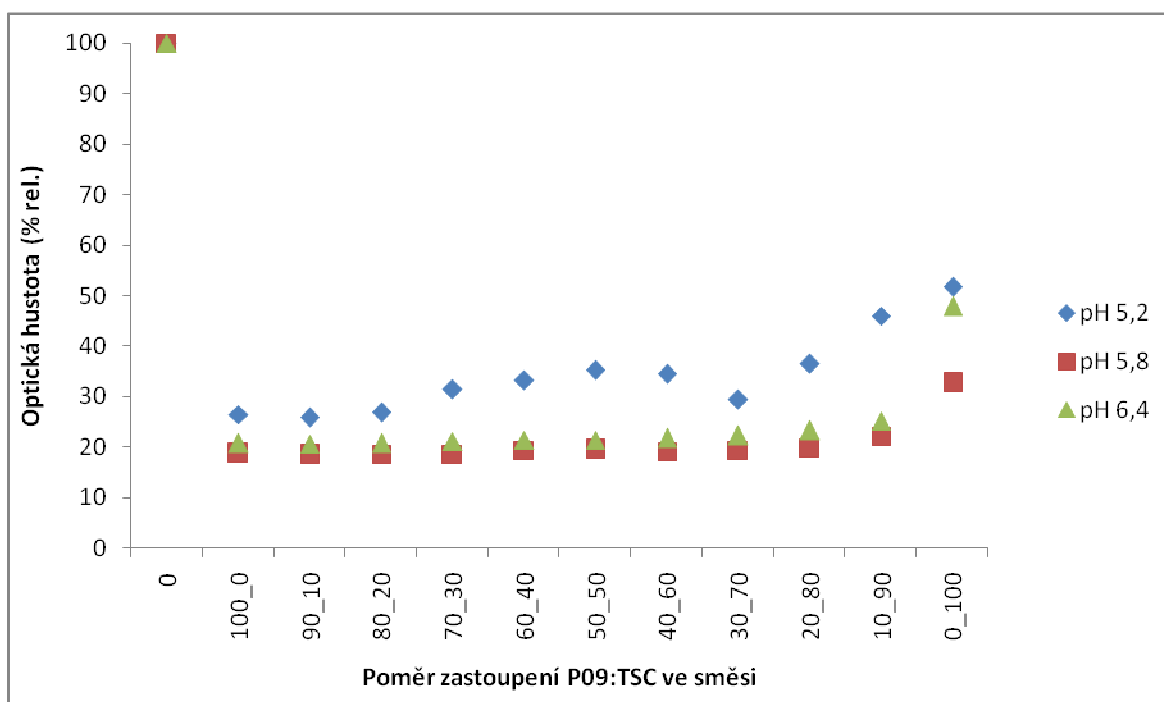
Pro srovnání byla do grafu zanesena také hodnota optické hustoty vzorku mléka bez přídavku tavicích solí, které je pouze upraveno na požadovanou hodnotu pH (vzorek 0). Všechny další vzorky vykazují ve srovnání se vzorkem 0 podstatně nižší hodnotu optické hustoty, což odpovídá vlivu tavicích solí na podporu iontové výměny a tedy i na lepší dispergaci kaseinového komplexu ve vzorcích. Vzorky při nižším pH (pH 5,2) vykazují vyšší optickou hustotu ve srovnání se vzorky při vyšším pH. Při pH 5,2 se pH systému blíží hodnotě izoelektrického bodu kaseinu, který se pohybuje v okolí pH 4,6 [14, 39, 46, 49]. V této oblasti pH dochází k intenzivnějšímu shlukování kaseinu, což se projeví vyšší hodnotou optické hustoty. Při pH 5,2 je patrný skokový nárůst optické hustoty ve vzorku s 40 % a vyšším zastoupením citronanu ve směsi tavicích solí (vzorky 60:40, 50:50 a další) v systému mléka. Vyšší nárůst optické hustoty můžeme také pozorovat u vzorku, kde převládá ve směsi citronanová tavicí sůl, zvláště u vzorku, kde byl jako tavicí sůl použit pouze citronan (vzorek 0:100). Tento trend odpovídá slabšímu vlivu citronanů na iontovou výměnu, který je obecně prezentován v literatuře [13, 25, 37].

Je zajímavé, že pozitivní účinek použitého polyfosforečnanu P05 na hodnotu optické hustoty při hodnotách $\text{pH} > 5,2$ přetrvává i při zvyšujícím se podílu citronanu v binární směsi tavicích solí téměř stejně a to až do 80 % zastoupení citronanu v binární směsi.

6.1.2 Výsledky měření optické hustoty s použitím polyfosforečnanu P09 a citronanu ve směsi tavicích solí

K měření optické hustoty byla použita binární směs polyfosforečnanu sodného se střední délkou řetězce 9 fosforečnanových zbytků, označovaného jako P09 a citronanu při třech hodnotách pH (5,2; 5,8; 6,4).

Příprava vzorků pro toto měření byla stejná jako u předchozího měření. Pro přípravu binárních směsí tavicích solí byly použity navážky solí v poměrech dle tabulky 8. Celkem bylo připraveno 12 vzorků pro 3 hodnoty pH . Každý vzorek byl proměřen 9 krát. Výsledky měření byly vyneseny do grafu na Obrázku 4.



Obrázek 4: Graf závislosti optické hustoty na poměru polyfosforečnanu sodného s 9 fosforečnanovými zbytky a citronanu ve směsi tavicích solí

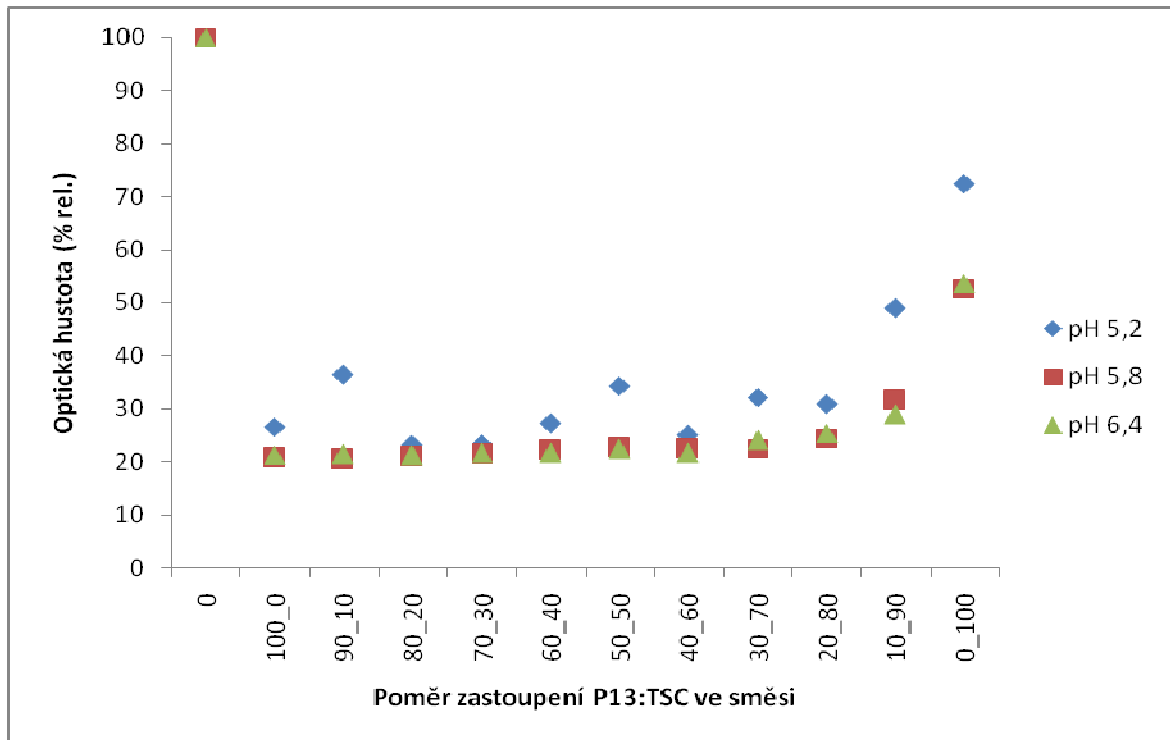
Z grafu je patrné, že nejvyšších hodnot optické hustoty dosahuje mléko bez přídavku tavicích solí (vzorek 0), které je pouze upraveno na požadovanou hodnotu pH. Všechny ostatní vzorky mléka s přídavkem tavicích solí vykazují nižší hodnoty optické hustoty, tedy dochází k lepší dispergaci kaseinu neboli lepšímu rozptýlení kaseinu. Opět lze pozorovat vyšší hodnoty optické hustoty u vzorků, které obsahují 100 % podíl citronanové soli (vzorek 0:100), což může být způsobeno slabší iontovou výměnou citronanu ve srovnání s polyfosforečnanovými tavicími solemi. Vzorky při pH 5,2 vykazují vyšší hodnoty optické hustoty, než vzorky při vyšším pH. Důvodem je nižší pH, blížící se izoelektrickému bodu kaseinu, kdy se zvyšuje schopnost shlukování kaseinu. Při vyšších hodnotách pH mají křivky podobný trend a to až do 90 % zastoupení citronanu, kdy si zachovávají nižší hodnoty optické hustoty.

Ze srovnání výsledků s grafem na Obrázku 4 vyplývá, že hodnoty optické hustoty jsou při použití P09 nižší, než při použití P05. Toto zjištění odpovídá literatuře, která udává, že polyfosforečnany s delším řetězcem vykazují vyšší schopnost iontové výměny, tudíž je hodnota optické hustoty nižší [13, 25, 37].

6.1.3 Výsledky měření optické hustoty s použitím polyfosforečnanu P13 a citronanu ve směsi tavicích solí

K tomuto měření byla použita binární směs polyfosforečnanu sodného se střední délkou řetězce 13 fosforečnanových zbytků, označovaného jako P13 a citronanu při třech hodnotách pH (5,2; 5,8; 6,4).

Příprava vzorků pro toto měření byla stejná jako u předchozího měření. Pro přípravu binárních směsí tavicích solí byly použity navážky solí v poměrech dle tabulky 8. Celkem bylo připraveno 12 vzorků pro 3 hodnoty pH. Každý vzorek byl proměřen 9 krát. Výsledky měření byly vyneseny do grafu na Obrázku 5.



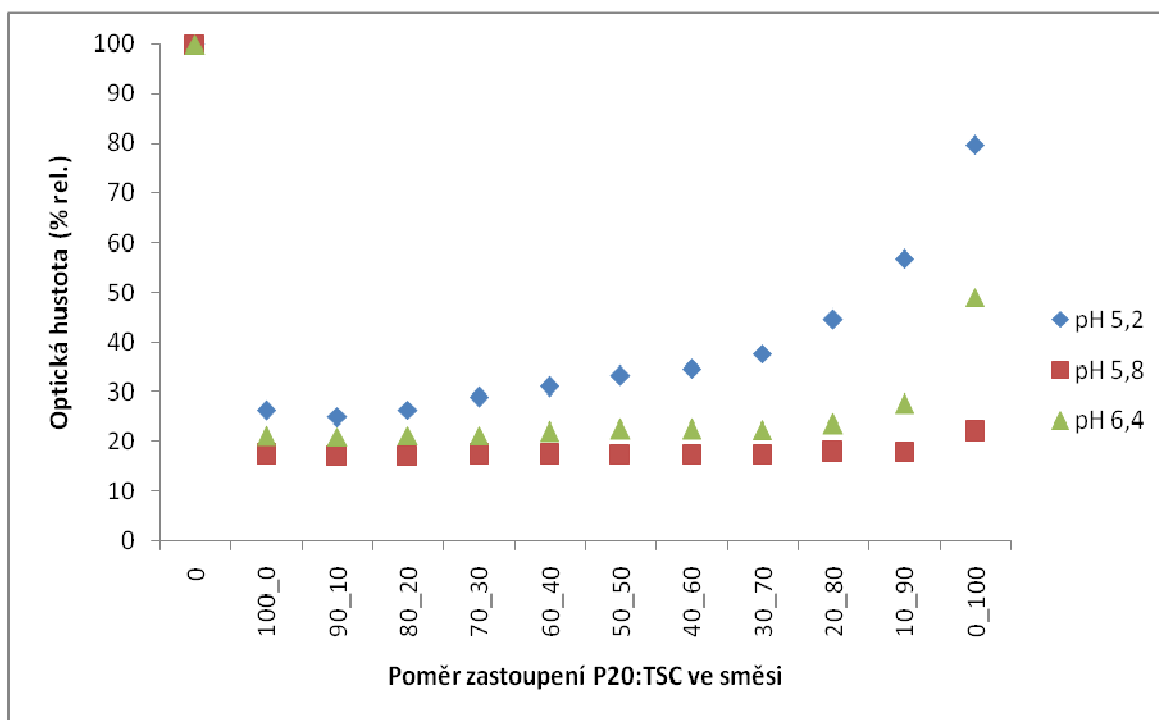
Obrázek 5: Graf závislosti optické hustoty na poměru polyfosforečnanu sodného s 13 fosforečnanovými zbytky a citronanu ve směsi tavicích solí

Z grafu je patrné, že nejvyšších hodnot optické hustoty dosahuje mléko bez přídavku tavicích solí, které je pouze upraveno na požadovanou hodnotu pH. Vyšších hodnot optické hustoty také nabývají vzorky obsahující pouze citronan (vzorek 0:100), což může být způsobeno slabší iontovou výměnou citronanu ve srovnání s delšími žetězci polyfosforečnanů, projevující se vyšším shlukováním kaseinu. Při pH 5,8 a 6,4 vzorky vykazují podobný trend závislosti, kdy si udržují nižší hodnoty optické hustoty a to až do 80 % zastoupení citronanu. Z toho plyne, že P13 vykazuje obdobný účinek na dispergaci, neboli rozptyl kaseinu pokud je použit samostatně nebo ve směsi s citronanem a to v minimálním zastoupení 10 % P13 ve směsi. Při pH 5,2 vykazují vzorky kolísající trend závislosti, kdy mírně vyšších hodnot optické hustoty vykazují vzorky připraveny v poměru P13:TSC (90:10, 50:50, 30:70 a 10:90). Při nižším pH se systém blíží izoelektrickému bodu kaseinu, kdy může docházet k vyššímu shlukování kaseinu, což má za následek vyšší hodnoty optické hustoty.

6.1.4 Výsledky měření optické hustoty s použitím polyfosforečnanu P20 a citronanu ve směsi tavicích solí

K měření optické hustoty byla použita binární směs polyfosforečnanu sodného se střední délkou řetězce 20 fosforečnanových zbytků, označovaného jako P20 a citronanu při třech hodnotách pH (5,2; 5,8; 6,4).

Příprava vzorků pro toto měření byla stejná jako u předchozího měření. Pro přípravu binárních směsí tavicích solí byly použity navážky solí v poměrech dle tabulky 8. Celkem bylo připraveno 12 vzorků pro 3 hodnoty pH. Každý vzorek byl proměřen 9 krát. Výsledky měření byly vyneseny do grafu na Obrázku 6.



Obrázek 6: Graf závislosti optické hustoty na poměru polyfosforečnanu sodného s 20 fosforečnanovými zbytky a citronanu ve směsi tavicích solí

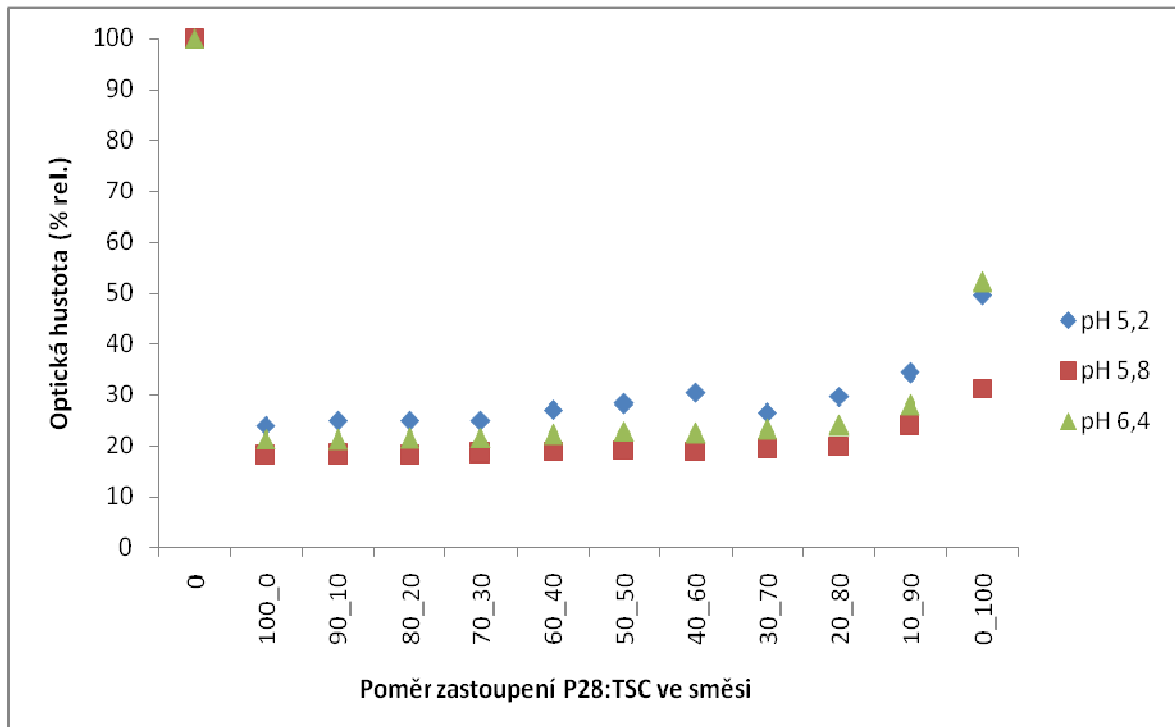
Opět nejvyšších hodnot optické hustoty vykazuje mléko bez přídavku tavicích solí, které bylo pouze upraveno na požadovanou hodnotu pH. Vzorky obsahující pouze citronanovou tavicí sůl mají hodnoty optické hustoty vyšší ve srovnání se vzorky obsahující přídavek binární směsi složené z P20 a TSC. Vzorky při pH 5,8 a 6,4 vykazují podobný trend závislosti optické hustoty na složení směsi tavicích solí a to až do 90 % zastoupení

citronanu. Ve srovnání z předchozími grafy, vzorky při pH 5,2 nevykazují kolísající trend závislosti. S postupným zvyšováním přídavku citronanu v binární směsi bylo zaznamenáno plynulé, ale nízké zvyšování optické hustoty u vzorků s obsahem 30 % citronanu a více, zvýšení optické hustoty nad 40 % rel. lze pozorovat u vzorků s 80 % a vyšším podílem citronanu ve směsi tavicích solí. Z grafu lze také zachytit, že nejnižších hodnot optické hustoty v tomto systému bylo dosaženo při použití pH 5,8.

6.1.5 Výsledky měření optické hustoty s použitím polyfosforečnanu P28 a citronanu ve směsi tavicích solí

K měření optické hustoty byla použita binární směs polyfosforečnanu sodného se střední délkou řetězce 28 fosforečnanových zbytků, označovaného jako P28 a citronanu při třech hodnotách pH (5,2; 5,8; 6,4).

Příprava vzorků pro toto měření byla stejná jako u předchozího měření. Pro přípravu binárních směsí tavicích solí byly použity navážky solí v poměrech dle tabulky 8. Celkem bylo připraveno 12 vzorků pro 3 hodnoty pH. Každý vzorek byl proměřen 9 krát. Výsledky měření byly vyneseny do grafu na Obrázku 7.

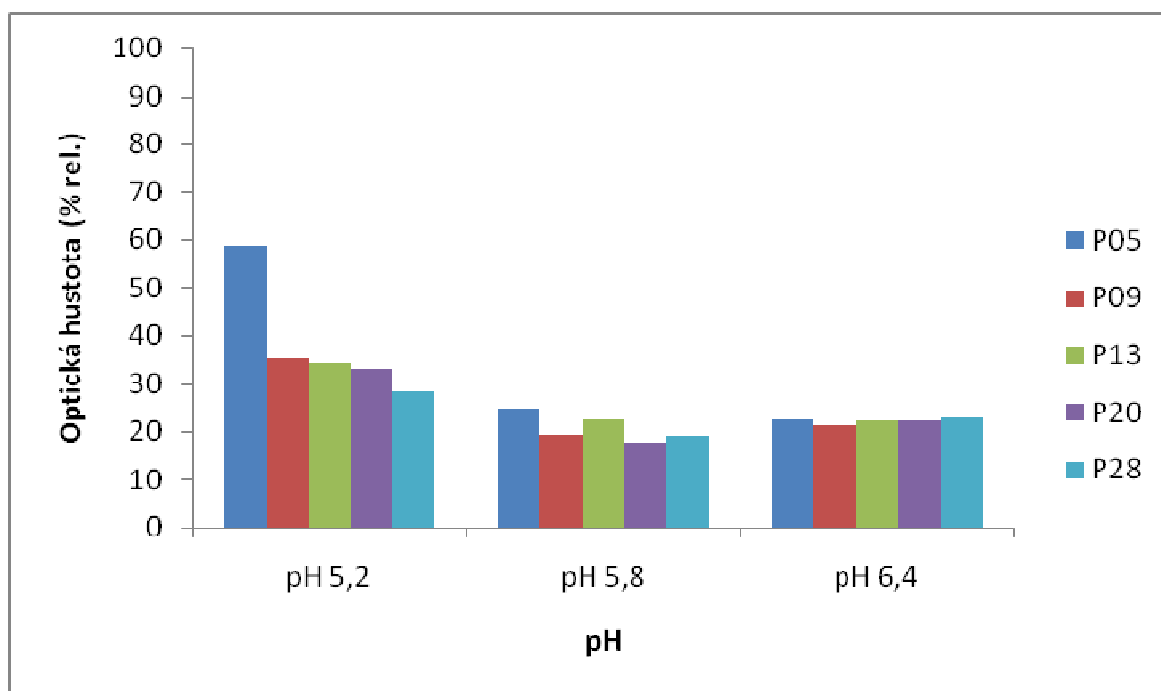


Obrázek 7: Graf závislosti optické hustoty na poměru polyfosforečnanu sodného s 28 fosforečnanovými zbytky a citronanu ve směsi tavicích solí

Z grafu na Obrázku 7 je možné zaznamenat, že vzorky vykazují nižší hodnoty optické hustoty pro pH 5,2 než v případě použití P09 (Obrázek 4). Zvýšení optické hustoty vykazují v této sérii měření pouze vzorky se 100 % obsahem citronanu. Vliv pH odpovídá zjištění z předchozího měření s použitím P20 ve směsi, kdy je dosaženo nejnižší hodnoty optické hustoty při pH 5,8. Z grafu je patrné, že se v rozmezí hodnot pH 5,2-6,4 neprojevuje výraznější shlukování kaseinu pro všechny vzorky, kde byla použita tavicí sůl P28 samostatně a nebo ve směsi s citronanem (tzn. kromě vzorku 0:100). Hodnoty optické hustoty jsou téměř konstantní, z čehož lze usuzovat na to, že účinek soli P28 ve směsi s citronanem výrazně ovlivňuje disperzi kaseinu a je v rozmezí těchto hodnot pH stabilní, například ve srovnání s čistým citronanem.

6.2 Vliv délky řetězce použitých polyfosforečnanových tavicích solí na dispergaci kaseinového komplexu

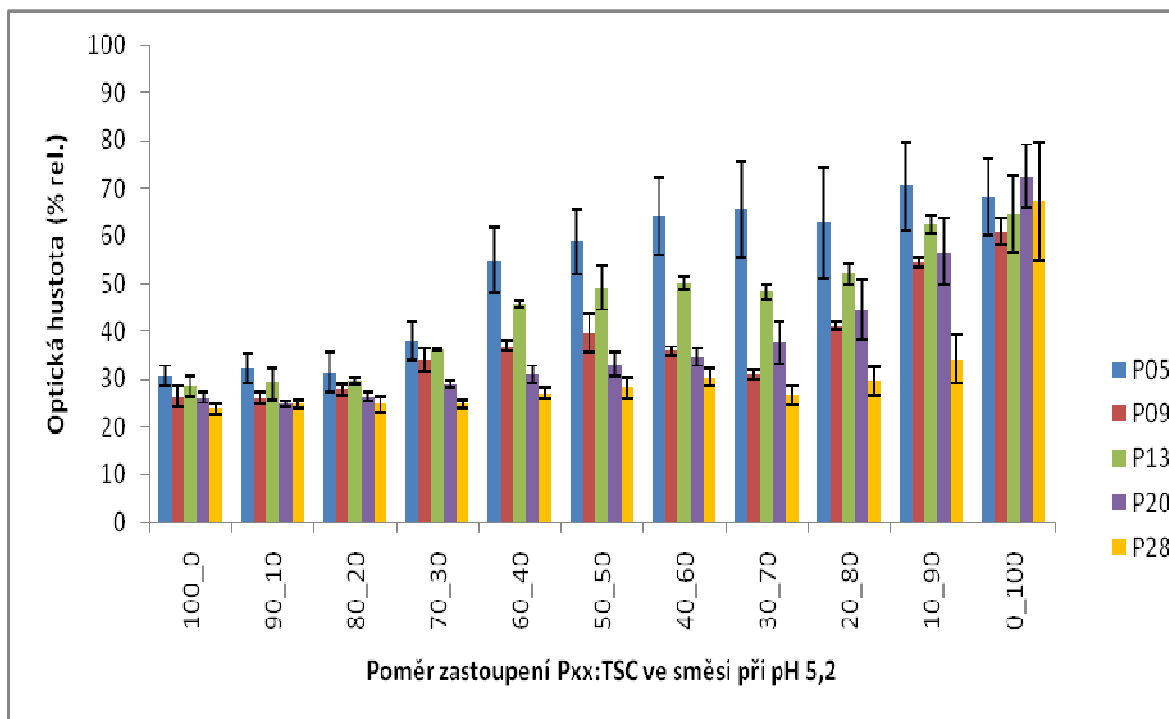
Z naměřených dat lze vyhodnotit vliv délky řetězce polyfosforečnanových solí v rozpětí délek 5-28 fosforečnanových zbytků na hodnotu optické hustoty, potažmo na míru disperze kaseinového komplexu. Ze závěrů plynoucích z dosud publikovaných vědeckých studií lze konstatovat, že se zvyšujícím se počtem atomů fosforu v molekule se zvyšuje schopnost iontové výměny, což způsobuje lepší dispergaci kaseinového komplexu [25, 37, 39]. Tyto závěry literárního průzkumu korelují s daty naměřenými v této diplomové práci. Pro grafické znázornění tohoto trendu byla vybrána závislost optické hustoty na délce polyfosforečnanu ve směsi s citronanem v poměru 50:50 (viz Obrázek 8).



Obrázek 8: Závislost optické hustoty na délce polyfosforečnanu ve směsi s citronanem v poměru 50:50 při třech hodnotách pH

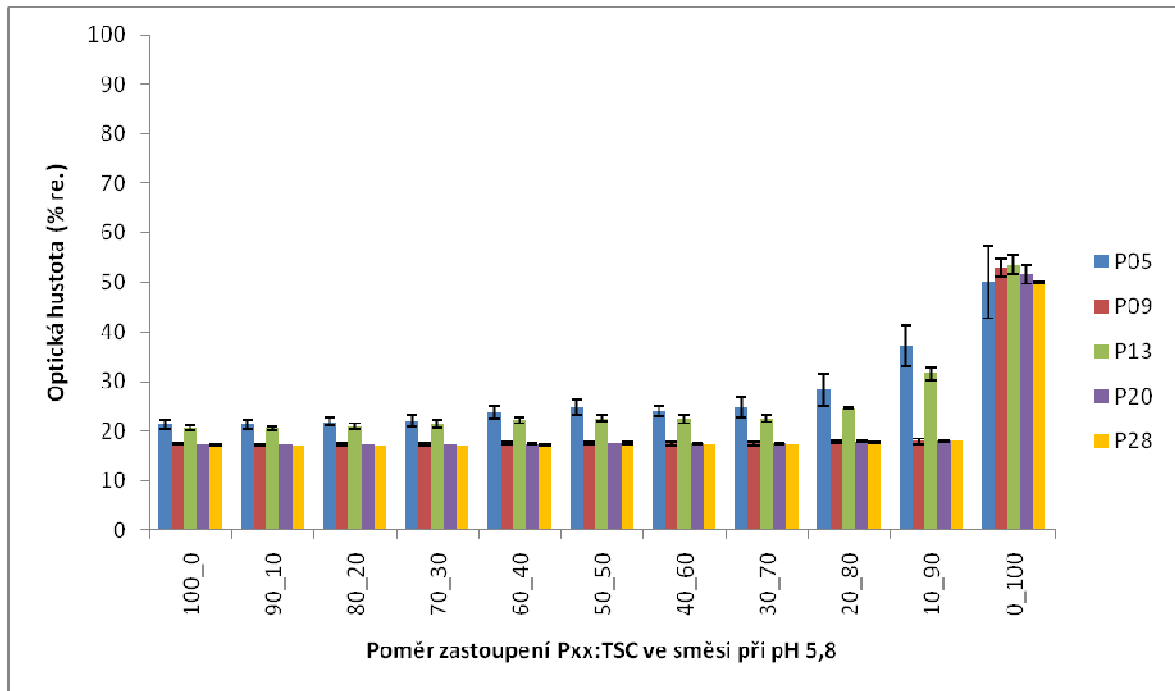
Obecně je možné shrnout, že podpora iontové výměny při použití tavicích solí roste v následujícím pořadí: citronany \approx monofosforečnany < difosforečnany < trifosfosforečnany < krátké polyfosfosforečnany (< 10 atomů fosforu v molekule) < dlouhé polyfosforečnany

(> 10 atomů fosforu v molekule). Existují studie, uvádějící, že citronany podporují iontovou výměnu ve větší míře než monofosforečnany [2, 12-13, 16, 24-26, 28, 33-34, 37].



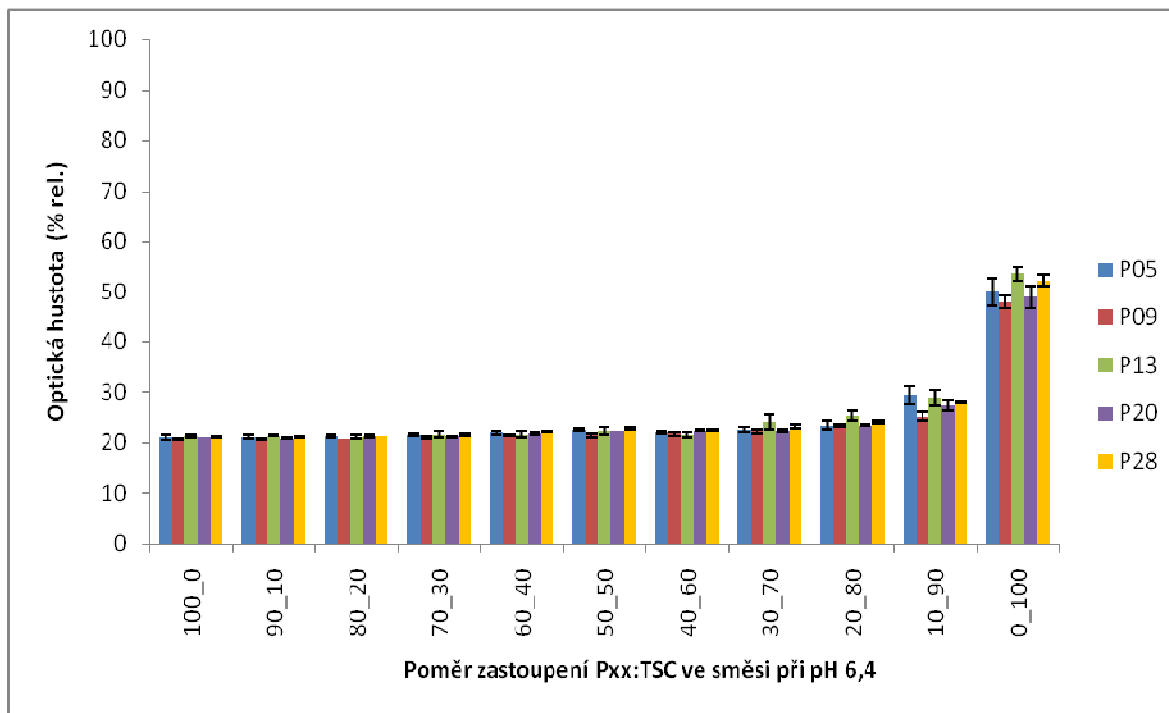
Obrázek 9: Graf závislosti optické hustoty na poměru Pxx a citronanu ve směsi tavicích solí při pH 5,2

Z grafu na Obrázku 9 lze pozorovat vliv délky řetězce fosforečnanových solí při pH 5,2 na optickou hustotu, potažmo na disperzi kaseinu a to pro všechny typy binárních směsí. Z tohoto grafu je patrné, že nejvyšších hodnot optické hustoty nabývají vzorky se 100 % zastoupením citronanu. Se zvyšujícím se procentuálním zastoupením citronanu ve směsi s polyfosforečnanem se hodnoty optické hustoty více zvyšují u použitých fosforečnanových solí s menším počtem fosforečnanových zbytků v molekule, zejména u binární směsi, kde byl použit polyfosforečnan P05. Tato sůl obsahuje nejmenší počet atomů fosforu v molekule ve srovnání s ostatními použitými polyfosforečnany. Naopak u vzorků polyfosforečnanů se střední délkou řetězce 20 a 28 fosforečnanových zbytků se hodnoty optické hustoty zvyšují pomaleji.



Obrázek 10: Graf závislosti optické hustoty na poměru Pxx a citronanu ve směsi tavicích solí při pH 5,8

V grafu na Obrázku 10 byl zaznamenán vliv délky řetězce fosforečnanových solí při pH 5,8 na optickou hustotu, tedy na disperzi kaseinu. Nejvyšších hodnot optické hustoty nabývají vzorky obsahující pouze citronanovou tavicí sůl. Ve srovnání s předchozím grafem se optická hustota pohybuje v nižších hodnotách optické hustoty a to až do 90 % zastoupení citronanu, což je dáno vlivem pH (viz Kapitola 2.4.1). Z tohoto grafu je patrný vliv délky řetězce polyfosforečnanových solí, kdy nejnižší hodnoty optické hustoty vykazují tavicí soli P20 a P28. Naopak u solí s menším počtem atomů fosforu (P05) byly naměřeny vyšší hodnoty optické hustoty a tyto hodnoty se také mírně zvyšují se zvyšujícím se procentuálním přídatkem citronanu ve směsi tavicích solí přidávaných ke vzorku.

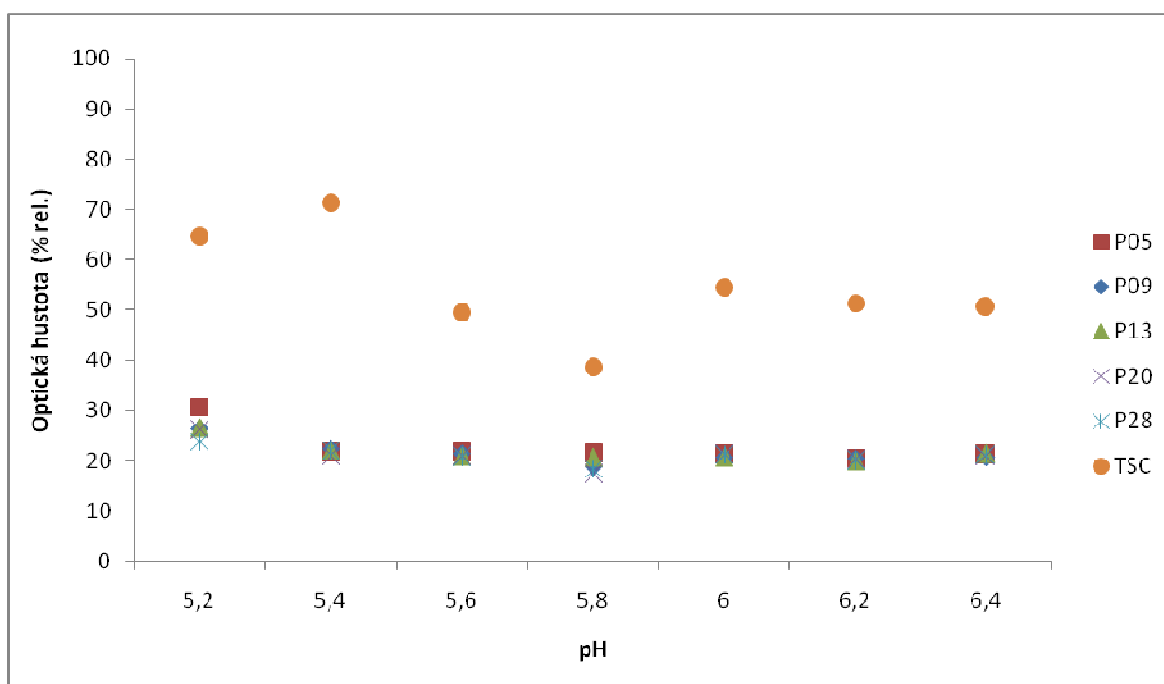


Obrázek 11: Graf závislosti optické hustoty na poměru Pxx a citronanu ve směsi tavicích solí při pH 6,4

V grafu na Obrázku 11 je graficky znázorněn vliv při pH 6,4, což je druhá mezní hodnota proměřované oblasti pH. Nejvyšších hodnot optické hustoty nabývají vzorky se 100 % zastoupením citronanu, což lze sledovat i v prostředí kyselějšího pH na předchozích grafech (viz Obrázek 9 a 10). Se zvyšujícím procentuálním zastoupením citronanu ve vzorcích se pouze nepatrně zvyšuje hodnota optické hustoty a to až do 90 % zastoupení citronanu. Tento výrazně odlišný trend lze přisuzovat vyšší hodnotě pH 6,4, při které dochází k intenzivnější dispergaci kaseinového komplexu, což se projevilo nižší hodnotou optické hustoty. Vyšší hodnota pH může odpovídat vyššímu zastoupení záporně nabitých kaseinu v disperzi, což by mohlo způsobovat zvýšené odpuzování těchto částic, které tím vytvářejí jemnější disperzi, což se projeví nižší hodnotou optické hustoty [25]. Při $\text{pH} > 6,0$ jsou příčné vazby fosforečnanu vápenatého většinou neporušeny, ale je zvýšen záporný náboj kaseinu, což zvyšuje odpuzování jednotlivých kaseinu [40]. Vliv délky fosforečnanového řetězce v rozmezí 5-28 fosforečnanových jednotek na hodnotu optické hustoty lze při pH 6,4 vyhodnotit jako téměř shodný.

6.3 Vliv samostatných tavicích solí na disperzi kaseinu pro pH 5,2-6,4

Pro zjištění, jakým způsobem se chovají jednotlivé tavicí soli, tedy ne ve směsi, v oblasti použitého pH, byl proměřen také jejich vliv na hodnotu optické hustoty a tedy na disperzi kaseinu pro pH 5,2-6,4. Grafické znázornění závislosti optické hustoty vzorků je vyjádřeno jako procento ke kontrolnímu vzorku mléka bez přídavku tavicích solí. Výsledky měření jsou znázorněny v grafu na Obrázku 12.



Obrázek 12: Vliv jednotlivých tavicích solí na dispergaci kaseinového komplexu při pH 5,2-6,4

Z grafu na Obrázku 12 je patrné, jak je účinek samotného citronanu významně ovlivněn hodnotou pH, na rozdíl od všech testovaných polyfosforečnanů P05-P28, které vykazují zhruba konstantní vliv na optickou hustotu systému v prověřovaném intervalu pH. Při hodnotě pH 5,2 vykazují polyfosforečnanové tavicí soli mírně vyšší hodnoty optické hustoty ve srovnání s vyššími hodnotami pH. Tyto hodnoty optické hustoty mohou být ovlivněny dvěma vlivy. Jedním je blízkost izoelektrického bodu, kdy kaseiny mohou vykazovat vyšší schopnost shlukování, projevující se vyššími hodnotami optické hustoty. A druhým vlivem kyselejšího prostředí je rozpouštění koloidního fosforečnanu vápenatého, což způsobuje

destabilizaci kaseinové micely. Ztráta fosforečnanu vápenatého může odhalit nabité skupiny fosfoserinu, čímž se zvyšuje elektrostatické odpuzování mezi kaseiny. Když se jednotlivé molekuly elektrostaticky odpuzují, nedochází ke shlukování, ale naopak jsou udržovány v koloidním roztoku, což se projeví nižšími hodnotami optické hustoty. Tyto procesy se dějí protichůdně, což by mohlo odpovídat mírně vyšším hodnotám optické hustoty ve srovnání s vyššími hodnotami pH [14, 40].

Při hodnotě pH 5,8 došlo k poklesu optické hustoty systému, nejvýrazněji u citronanové tavicí soli. Pravděpodobně se jedná o oblast pH, kdy jsou v rovnováze vlivy působící na zvýšení dispergace kaseinu při rostoucím pH a naopak snížení dispergace kaseinu vlivem nižšího pH, které jsou diskutovány v literatuře. Hodnota pH 5,8 je střední hodnotou pH pro výrobu tavených sýrů [22].

7 SOUHRNNÁ DISKUZE

Pro vyhodnocení vlivu délky řetězce polyfosforečnanových tavicích solí a vlivu pH na dispergaci kaseinového komplexu bylo použito měření optické hustoty vzorků. Tato metoda vychází z toho, že mléko je neprůhledná bílá tekutina, jejíž zákal je způsoben přítomností kaseinových micel a tukových kuliček. Dle (Mizuno a Lucey, 2005) vyšší hodnota optické hustoty odpovídá vyššímu shlukování kaseinu, kdy dochází k tvorbě agregátů [37]. Účinek tavicích solí ve vzorku se projevuje zvýšením disperze kaseinu a tedy nižšími hodnotami optické hustoty.

Nejvyšší hodnoty optické hustoty byly zaznamenány při měření vzorků mléka bez přídavku tavicích solí pro všechny použité hodnoty pH (viz Obrázek 3-7). Z toho lze usuzovat, že přídavek tavicích solí do modelového systému mléka má vliv na dispergační účinek kaseinu, který se projevil snížením hodnoty optické hustoty.

V diplomové práci byly sledovány dva vlivy na intenzitu dispergace kaseinového komplexu. Prvním vlivem je délka řetězce polyfosforečnanových tavicích solí a druhým je vliv pH v rozsahu hodnot 5,2-6,4.

Byl proměřen vliv fosforečnanových tavicích solí s délkou řetězce v rozpětí 5-28 atomů fosforu v molekule ve směsi s citronanem. U všech použitých binárních směsí se projevil výrazný vliv na snížení optické hustoty na hodnoty cca 22 % rel. v porovnání se vzorky bez přídavku tavicích solí. Se zvyšujícím se procentuálním zastoupením citronanu ve směsi s polyfosforečnanem roste hodnota optické hustoty výrazněji u kratších polyfosforečnanů s délkou řetězce 5 a 9 atomů fosforu v molekule (Obrázek 3 a 4). Naopak u vzorku polyfosforečnanů s délkou řetězce 20 a 28 fosforečnanových zbytků jsou hodnoty optické hustoty nízké i pro vyšší zastoupení citronanu ve směsi (Obrázek 6 a 7). Dostupné literární zdroje (Mizuno a Lucey, 2005; Nagyová et al., 2014; El-Bakry et al., 2011) uvádí, že se zvyšujícím se počtem atomů fosforu v molekule roste schopnost iontové výměny, z čehož plyne intenzivnější dispergace kaseinového komplexu, což se projeví nižšími hodnotami optické hustoty [13, 25, 37]. Z grafického vyjádření této problematiky (např. Obrázek 8) lze vyhodnotit, že výsledky dosažené v této práci odpovídají informacím z literatury, kde je charakterizována rostoucí schopnost podporovat iontovou výměnu u jednotlivých tavicích solí v následujícím pořadí: citronany \approx monofosforečnany < difosforečnany < trifosfosforečnany < krátké polyfosfosforečnany (< 10 atomů fosforu v molekule) < dlouhé

polyfosforečnany (> 10 atomů fosforu v molekule). Některé odborné studie uvádějí, že citronany podporují iontovou výměnu ve větší míře než monofosforečnany. [2, 12-13, 16, 24-26, 28, 33-34, 37].

Z naměřených dat lze porovnávat nejen účinek polyfosforečnanů mezi sebou, ale také vliv polyfosforečnanu a citronanu, protože se jejich poměr v binárních směsích měnil ve prospěch jedné nebo druhé soli (viz Tabulka 8). Z Obrázků 4-7 je patrné, že nejvyšších hodnot optické hustoty dosahovaly vzorky s většinovým podílem citronanu ve směsi tavicích solí (vzorky 10:90) anebo vzorky obsahující pouze citronanovou tavicí sůl (vzorky 0:100). Pouze u nejkratšího testovaného polyfosforečnanu P05 byl zaznamenán nárůst optické hustoty už u vzorků s obsahem 40 % citronanu ve směsi tavicích solí a více (viz Obrázek 3). Tento trend lze interpretovat tak, že na intenzivnější dispergaci kaseinového komplexu mají významnější vliv polyfosforečnanové tavicí soli ve srovnání s citronanem. Tento trend odpovídá slabšímu vlivu citronanů na iontovou výměnu, který je prezentován v odborné literatuře [13, 25, 37].

Dalším sledovaným aspektem na dispergaci kaseinového komplexu byl hodnocen vliv pH, kdy se pH pohybovalo v rozmezí 5,2-6,4.

Optimální pH tavených sýrů se pohybuje v rozmezí 5,6-6,0. Při vychýlení pH z tohoto intervalu, mohou nastat nežádoucí změny finálního výrobku. Takový výrobek se projeví vyšší tuhostí a drobivostí. Naopak zvýšením pH dochází ke snížení elektrostatických interakcí a přítomným proteinům roste negativní náboj, způsobující vzájemné odpuzování. Finální výrobek se pak projeví měkkou konzistencí (viz Kapitola 2.4.1) [2, 12, 14, 24, 33, 38].

Literatura dle (Mizuno a Lucey, 2007; Martin et al., 2007; Oldfield et al., 2005) udává, že při nižších hodnotách pH, kdy se pH systému blíží izoelektrickému bodu kaseinu (uzančně stanovený izoelektrický bod kaseinu je pH 4,6) nastává vyšší shlukování kaseinu, což se projeví vyšší hodnotou optické hustoty. Naopak dle (Nagyová et al., 2014; Buňka et al., 2014) rostoucí pH by mohlo zvyšovat intenzitu negativního náboje v kaseinovém řetězci, což vede k elektrostatickému odpuzování v kaseinové matici, projevující se nižší hodnotou optické hustoty [12, 25, 40, 47, 50].

Dle Buňka et al., (2009) existují rozdíly ve schopnosti vazby kationtu u fosforečnanů se stejným počtem atomů fosforu v molekule, což je ovlivněno především hodnotou pH. Obecně platí, že s rostoucím pH roste i tato schopnost [1-2].

Výsledky měření znázorněny v grafech (viz Obrázek 3-7) vykazují, že s rostoucím pH se snižují hodnoty optické hustoty, tudíž dochází k intenzivnější disperzi kaseinu neboli lepšímu rozptýlení kaseinu. Naopak při pH v kyselejší oblasti, vykazuje systém vyšší hodnoty optické hustoty, projevující se vyšším shlukováním kaseinu. Při hodnotách pH 5,8 vykazuje modelový systém s použitím polyfosforečnanů s délkou 9, 20 a 28 fosforečnanových jednotek nejnižší hodnoty optické hustoty (viz Obrázky 4, 6 a 7). Obdobný trend byl zaznamenán také při měření vlivu pH na vzorky s použitím tavicích solí jednotlivě (viz Obrázek 12). Při pH 5,8 vykazují hodnoty optické hustoty pokles, který je nejvýraznější u citronanové tavicí soli. V odborné literatuře je právě hodnota pH 5,8 považována za optimální pH, které se využívá pro výrobu tavených sýrů [22].

Obecně lze shrnout, že při pH 5,2 se blíží systém izoelektrickému bodu kaseinu, projevující se zvýšeným shlukováním kaseinu [40, 47, 50]. Rovněž při pH < 5 dochází k úplnému rozpuštění koloidního fosforečnanu vápenatého a destabilizaci kaseinové micely. Naopak rostoucí pH by mohlo zvyšovat intenzitu negativního náboje v kaseinovém řetězci, což vede k elektrostatickému odpuzování v kaseinové matici, projevující se nižší hodnotou optické hustoty [12, 14, 25]. Optimální pH využívající se pro výrobu tavených sýrů je pH 5,8. V této oblasti pH dochází k poklesu intenzity negativního náboje hydratačního obalu kaseinových micel, kladné a záporné náboje hydratačního obalu se začínají vyrovnávat. Rovněž dochází k vyvazování vápenatých iontů, které jsou vázány na kaseinové frakce a také dochází k disociaci koloidního fosforečnanu vápenatého za vzniku rozpustných hydrogenfosforečnanů vápenatých [14]. Všechny tyto děje mají vliv na dispergační účinek kaseinu, projevující se nižšími hodnotami optické hustoty.

Z vyšších hodnot směrodatných odchylek u některých výsledků lze usuzovat na nestabilitu systému, která se projevila především v kyselejší oblasti pH 5,2 (viz Obrázek 9). Naopak malé směrodatné odchylky byly zaznamenány pro optickou hustotu při pH 6,4 (viz Obrázek 11). Vzhledem k charakteru používaného systému a měřicí metody je pro zachování konstantních podmínek stanovení doporučeno rychlé měření, především z důvodu možné sedimentace, která by mohla způsobit zkreslení výsledků. Dle (Mizuno a Lucey, 2007) způsobuje aniontový charakter polyfosforečnanů přitahování k proteinům. Tento proces se zvyšuje při hodnotách pH nad izoelektrickým bodem kaseinu. Při nižších hodnotách pH mohou polyfosforečnany vyvolat srážení proteinů prostřednictvím interakcí mezi kationty a anionty. K vysrážení nebo tvorbě agregátů kaseinu dochází prostřednictvím vazby zápor-

ně nabitých fosforečnanových aniontů na pozitivně nabitě zbytky kaseinu, nebo se fosforečnany mohou vázat na místech uvnitř kaseinové micely, prostřednictvím karboxylové nebo fosfoserinové skupiny [40].

Mezi metody, které využívají rozptylu světla částicemi v suspenzních a koloidních roztocích, patří také je turbidimetrie a nefelometrie. Tyto metody se vzájemně odlišují umístěním detektoru a mohou tak poskytovat informace nejen o světle, které prošlo vzorkem, ale také detekují světlo rozptýlené vzorkem pod různými úhly. Slouží k určování koncentrace suspendované látky. Nefelometrie měří rozptýlené záření nejčastěji ve směru kolmém na vstupující paprsek a užívá se pro nižší koncentrace rozptýlených částic. V případě turbidimetrie je detektor umístěn v ose paprsku a měříme tak záření prošlé vzorkem, které je ochuzené a rozptýlenou složku záření, tato metoda je vhodná pro koncentrovanější roztoky [54].

ZÁVĚR

Výroba tavených sýrů patří mezi nejmladší obory v mlékárenství. Klíčovým prvkem pro vytvoření konečného výrobku je přidavek tavicích solí. Nejběžněji používané jsou sodné soli fosforečnanů a citronan sodný. Přesné složení tavicích solí bývá obchodním tajemstvím. Hlavním úkolem tavicích solí je vytvoření požadované textury finálního výrobku.

V teoretické části této práce bylo popsáno využití a charakteristika polyfosforečnanů se zaměřením na potravinářský průmysl. Dále byla popsána technologie výroby tavených sýrů a vliv tavicích solí v procesu krémování.

Praktická část diplomové práce byla zaměřena na studium vlivu pH a délky řetězce polyfosforečnanových tavicích solí na účinek dispergace kaseinového komplexu v modelovém systému mléka. Modelový systém byl připraven s využitím sušeného odtučněného mléka a deionizované vody. Jako tavicí soli byly použity sodné soli polyfosforečnanů se střední délkou řetězce v rozsahu 5-28 atomů fosforu v molekule a citronan sodný, měření probíhalo při hodnotách pH 5,2; 5,8 a 6,4.

Pro vyhodnocení vlivu emulgačních solí na dispergaci kaseinového komplexu bylo využito měření optické hustoty při vlnové délce 700 nm.

Výsledky měření optické hustoty odpovídají závěrům plynoucím z dostupných vědeckých prací a lze je ve stručnosti shrnout do těchto bodů:

- Nejvyšší hodnoty optické hustoty vykazovalo mléko bez přídavku tavicích solí, které mělo pouze upravenou hodnotu pH.
- Přídavek tavicích solí se ve všech vzorcích projevil snížením hodnot optické hustoty. Byl tedy prokázán vliv tavicích solí na podporu disperze kaseinového komplexu.
- Vyšší hodnoty optické hustoty vykazovaly vzorky obsahující 100 % zastoupení citronanu (vzorky 0:100) při všech hodnotách pH, což lze přisuzovat slabší iontové výměně ve srovnání s delšími řetězci polyfosforečnanů.
- S prodlužujícím se řetězcem polyfosforečnanu, obsaženého ve směsi tavicích solí, bylo zaznamenáno snížení hodnoty optické hustoty u všech hodnot pH. Nejvýraznější vliv na disperzi kaseinu vykazovaly polyfosforečnany s dlouhým řetězcem, konkrétně polyfosforečnan s 20 a 28 fosforečnanovými zbytky v molekule.

- Při nejnižší hodnotě pH (5,2) byly naměřeny nejvyšší hodnoty optické hustoty u vzorků, do kterých byly použity polyfosforečnany s délkou řetězce 5 a 9 fosforečnanových zbytků.
- Při vyšších hodnotách pH (5,8 a 6,4) vykazoval modelový systém mléka s přídavkem binární směsi vyšší stabilitu a nižší hodnoty optické hustoty, což lze vyhodnotit jako vyšší disperzi kaseinového komplexu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MOLINS, R. A. *Phosphates in food*. Boca Raton: CRC Press, c1991, 261 p. ISBN 08-493-4588-X.
- [2] BUŇKA, F., L. BUŇKOVÁ a S. KRÁČMAR. *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. Folia Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis. ISBN 978-80-7375-336-8.
- [3] CINI, N. a V. BALL. Polyphosphates as inorganic polyelectrolytes interacting with oppositely charged ions, polymers and deposited on surfaces: fundamentals and applications. *Advances in Colloid and Interface Science* [online]. 2014, vol. 209, s. 84-97 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.cis.2014.01.011.
- [4] KULAKOVSKAYA, T. V., V. M. VAGABOV, I. S. KULAEV. Inorganic polyphosphate in industry, agriculture and medicine: Modern state and outlook. *Process Biochemistry* [online]. 2012, vol. 47, issue 1, s. 1-10 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.procbio.2011.10.028.
- [5] ANONYM. Vyhláška č. 4/2008 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin [online] [cit. 2014-9-18]. In: *Sbírka zákonů České republiky*.
- [6] *Polyfosfáty E 452 v potravinách*. [online]. [cit. 2014-09-18]. Dostupné z: http://www.svps.sk/potraviny/info_Polyfosfaty_E_452%20.asp.
- [7] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, xx, 623 s. ISBN 978-80-86659-17-6.
- [8] LONG, N. H. B. S., R. GÁL, F. BUŇKA. Use of phosphates in meat products. *African journal of biotechnology* [online]. 2011, vol. 10, issue 86 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.5897/ajbx11.023.
- [9] KADLEC, P., K. MELZOCH, M. VOLDŘICH. *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2012, 569 s. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-145-0.

- [10] BJØRKEVOLL, I., R. G. REBOREDO, I. FOSSEN. Methods for phosphate addition in heavy salted cod (*Gadus morhua* L.). *LWT - Food Science and Technology* [online]. 2014, vol. 58, issue 2, s. 502-510 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.03.024.
- [11] ANONYM. Nařízení komise (EU) č. 1068/2013 ze dne 30. Října 2013, kterým se mění příloha II nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008, pokud jde o používání difosforečnanů (E 450), trifosforečnanů (E 451) a polyfosforečnanů (E 452) v čerstvých solených rybách. [online], [cit. 2014-10-2]. In: *Sbírka zákonů České republiky*.
- [12] BUŇKA, F., L. DOUDOVÁ, E. WEISEROVÁ, M. ČERNÍKOVÁ, D. KUCHAR, Š. SLAVÍKOVÁ, G. NAGYOVÁ, P. PONÍŽIL, T. GRÜBER, J. MICHÁLEK. The effect of concentration and composition of ternary emulsifying salts on the textural properties of processed cheese spreads. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 2014, vol. 58, issue 1, s. 247-255 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.02.040.
- [13] KALIAPPAN, S., J. A. LUCEY. Influence of mixtures of calcium-chelating salts on the physicochemical properties of casein micelles. *Journal of Dairy Science* [online]. 2011, vol. 94, issue 9, s. 4255-4263 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.3168/jds.2010-3343.
- [14] BUŇKA, F. *Mlékárenská technologie I*. Vyd. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2013, 258 s. ISBN 978-80-7454-254-1.
- [15] BIJL, E., H.J.F. van VALENBERG, T. HUPPERTZ a A.C.M. van HOOIJDONK. Protein, casein, and micellar salts in milk: Current content and historical perspectives. *Journal of Dairy Science* [online]. 2013, vol. 96, issue 9, s. 5455-5464 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.3168/jds.2012-6497.
- [16] ČERNÍKOVÁ, M., F. BUŇKA, M. POSPIECH, B. TREMLOVÁ, K. HLADKÁ, V. PAVLÍNEK, P. BŘEZINA. Replacement of traditional emulsifying salts by selected hydrocolloids in processed cheese production. *International Dairy Journal* [online]. 2010, vol. 20, issue 5, s. 336-343 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2009.12.012.

- [17] RAZZAQUE, M. S. Bone–kidney axis in systemic phosphate turnover. *Archives of Biochemistry and Biophysics* [online]. 2014, vol. 561, s. 154-158 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.abb.2014.06.031.
- [18] ANONYM. Vyhláška Ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb. v platném znění, kterou se stanoví požadavky na mléko, mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje, v platném znění. [online], [cit. 2014-10-15]. In: *Sbírka zákonů České republiky*.
- [19] FORMAN, L. *Mlékárenská technologie II*. Vyd. 2. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1996, 217 s. ISBN 80-7080-250-2.
- [20] BUŇKA, F., M. ČERNÍKOVÁ, K. HLADKÁ, L. BUŇKOVÁ. Základní charakteristika tavených sýrů a jejich analogů. *Potravinářská revue* [online] 6/2010, 2010, 6, s. 29-32 [cit. 2014-03-25]. ISSN 1801-9102.
- [21] BACHMANN, H. P. Cheese analogues: a review. *International Dairy Journal* [online]. 2001, vol. 11, 4-7, s. 505-515 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/s0958-6946(01)00073-5.
- [22] SALEK, R. N., M. ČERNÍKOVÁ, G. NAGYOVÁ, D. KUCHAR, H. BAČOVÁ, L. MINARČÍKOVÁ, F. BUŇKA. The effect of composition of ternary mixtures containing phosphate and citrate emulsifying salts on selected textural properties of spreadable processed cheese. *International Dairy Journal* [online]. 2015, vol. 44, s. 37-43 [cit. 2015-03-31]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2014.12.009.
- [23] SOŁOWIEJ, B., I. W. Y. CHEUNG, E. C. Y. LI-CHAN. Texture, rheology and meltability of processed cheese analogues prepared using rennet or acid casein with or without added whey proteins. *International Dairy Journal* [online]. 2014, vol. 37, issue 2, s. 87-94 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2014.03.003.
- [24] WEISEROVÁ, E. *Vliv na složení binárních a terciárních směsí fosforečnanových tavících solí na texturní vlastnosti tavených sýrů*. Zlín, 2012. 99 s. Disertační práce. Univerzita T. Bati ve Zlíně. Fakulta technologická. Katedra technologie potravin.

- [25] NAGYOVÁ, G., F. BUŇKA, R. N. SALEK, M. ČERNÍKOVÁ, P. MANČÍK, T. GRŮBER a D. KUCHAR. Use of sodium polyphosphates with different linear lengths in the production of spreadable processed cheese. *Journal of Dairy Science* [online]. 2014, vol. 97, issue 1, s. 111-122 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.3168/jds.2013-7210.
- [26] BUŇKA, F., L. DOUDOVÁ, E. WEISEROVÁ, D. KUCHAR, P. PONÍŽIL, D. ZAČALOVÁ, G. NAGYOVÁ, V. PACHLOVÁ, J. MICHÁLEK. The effect of ternary emulsifying salt composition and cheese maturity on the textural properties of processed cheese. *International Dairy Journal* [online]. 2013, vol. 29, issue 1, s. 1-7 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2012.09.006.
- [27] SÁDLÍKOVÁ, I., F. BUŇKA, P. BUDINSKÝ, B. VOLDÁNOVÁ, V. PAVLÍNEK, I. HOZA. The effect of selected phosphate emulsifying salts on viscoelastic properties of processed cheese. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 2010, vol. 43, issue 8, s. 1220-1225 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.lwt.2010.04.012.
- [28] WEISEROVÁ, E., L. DOUDOVÁ, L. GALIOVÁ, L. ŽÁK, J. MICHÁLEK, R. JANIŠ, F. BUŇKA. The effect of combinations of sodium phosphates in binary mixtures on selected texture parameters of processed cheese spreads. *International Dairy Journal* [online]. 2011, vol. 21, issue 12, s. 979-986 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2011.06.006.
- [29] EL-BAKRY, M., E. DUGGAN, E. D. O'RIORDAN, M. O'SULLIVAN. Effect of chelating salt type on casein hydration and fat emulsification during manufacture and post-manufacture functionality of imitation cheese. *Journal of Food Engineering* [online]. 2011, vol. 102, issue 2, s. 145-153 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2010.08.012.
- [30] SCHÄR, W a J. O BOSSET. Chemical and Physico-chemical Changes in Processed Cheese and Ready-made Fondue During Storage. A Review. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 2002, vol. 35, issue 1, s. 15-20 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1006/fstl.2001.0820.

- [31] ALVES, R. M. V., A. G. F. Van DENDER, S. B. M. JAIME, I. MORENO, B. C. PEREIRA. Effect of light and packages on stability of spreadable processed cheese. *International Dairy Journal* [online]. 2007, vol. 17, issue 4, s. 365-373 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2006.04.004.
- [32] BUŇKA, F., L. BUŇKOVÁ. Úloha tavících solí při výrobě tavených sýrů. *Potravinářská revue* [online]. 2009, 1, 13-16 [cit. 2015-03-25]. ISSN 1801-9102.
- [33] NAGYOVÁ, G., F. BUŇKA, D. KUCHAR, T. GRÜBER. Vliv délky fosforečnanového řetězce na texturní vlastnosti tavených sýrů. *Mlékařské listy* [online]. 2012, 133, IV–VI [cit. 2015-03-25].
- [34] SHIRASHOJI, N., J. J. JAEGGI, J. A. LUCEY. Effect of Trisodium Citrate Concentration and Cooking Time on the Physicochemical Properties of Pasteurized Process Cheese. *Journal of Dairy Science* [online]. 2006, vol. 89, issue 1, s. 15-28 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.3168/jds.s0022-0302(06)72065-3.
- [35] LEE, S. K., R. J. BUWALDA, S. R. EUSTON, E. A. FOEGEDING, A. B. MCKENNA. Changes in the rheology and microstructure of processed cheese during cooking. *LWT - Food Science and Technology* [online]. 2003, vol. 36, issue 3, s. 339-345 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/s0023-6438(03)00012-4.
- [36] MIZUNO, R., J. A. LUCEY. Effects of Two Types of Emulsifying Salts on the Functionality of Nonfat Pasta Filata Cheese. *Journal of Dairy Science* [online]. 2005, vol. 88, issue 10, s. 3411-3425 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.3168/jds.s0022-0302(05)73025-3.
- [37] MIZUNO, R., J. A. LUCEY. Effects of Emulsifying Salts on the Turbidity and Calcium-Phosphate-Protein Interactions in Casein Micelles. *Journal of Dairy Science* [online]. 2005, vol. 88, issue 9, s. 3070-3078 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.3168/jds.s0022-0302(05)72988-x.
- [38] MARCHESSEAU, S., E. GASTALDI, A. LAGAUDE a J. L. CUQ. Influence of pH on Protein Interactions and Microstructure of Process Cheese. *Journal of Dairy Science* [online]. 1997, vol. 80, issue 8, s. 1483-1489 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.3168/jds.s0022-0302(97)76076-4.

- [39] EL-BAKRY, M., F. BENINATI, E. DUGGAN, E. D. O'RIORDAN, M. O'SULLIVAN. Reducing salt in imitation cheese: Effects on manufacture and functional properties. *Food Research International* [online]. 2011, vol. 44, issue 2, s. 589-596 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.foodres.2010.12.013.
- [40] MIZUNO, R., J. A. LUCEY. Properties of Milk Protein Gels Formed by Phosphates. *Journal of Dairy Science* [online]. 2007, vol. 90, issue 10, s. 4524-4531 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.3168/jds.2007-0229.
- [41] BUŇKOVÁ, L., E. LORENCOVÁ, D. JURČOVÁ, F. BUŇKA, S. KRÁČMAR. Effect of sodium phosphates on selected food grade bacteria. *Potravinarstvo* [online]. 2011, vol. 5, issue 2 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.5219/141.
- [42] BUŇKOVÁ, L., F. BUŇKA, I. DOLEŽÁLKOVÁ. Faktory ovlivňující mikroflóru tavených sýrů. *Mlékařské listy* [online]. 2010, 121, VIII-XII [cit. 2015-03-25].
- [43] MAURER., A. 100 let tavených sýrů = 100 let tavicích solí. *Potravinářská revue* [online]. 2012, 1, s. 25-27 [cit. 2015-03-25]. ISSN 1801-9102.
- [44] LAPČÍK, L., B. LAPČÍKOVÁ, E. OTYEPKOVÁ, M. OTYEPKA, J. VLČEK, F. BUŇKA, R. N. SALEK. Surface energy analysis (SEA) and rheology of powder milk dairy products. *Food Chemistry* [online]. 2015, vol. 174, s. 25-30 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.11.017.
- [45] LIU, D. Z., D. E. DUNSTAN, G. J. O. MARTIN. Evaporative concentration of skimmed milk: Effect on casein micelle hydration, composition, and size. *Food Chemistry* [online]. 2012, vol. 134, issue 3, s. 1446-1452 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.03.053.
- [46] HENNING, D. R., R. J. BAER, A. N. HASSAN, R. DAVE, B. K. MORTENSEN. Major Advances in Concentrated and Dry Milk Products, Cheese, and Milk Fat-Based Spreads. *Journal of Dairy Science* [online]. 2006, vol. 89, issue 4, s. 522-527 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/b978-0-12-374407-4.00329-0.
- [47] MARTIN, G. J. O., R. P. W. WILLIAMS, D. E. DUNSTAN. Comparison of Casein Micelles in Raw and Reconstituted Skim Milk. *Journal of Dairy Science* [online]. 2007, vol. 90, issue 10, s. 4543-4551 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.3168/jds.2007-0166.

- [48] QU, P., A. BOUCHOUX, G. GÉSAN-GUIZIOU. On the cohesive properties of casein micelles in dense systems. *Food Hydrocolloids* [online]. 2015, vol. 43, s. 753-762 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2014.08.005.
- [49] KRUIF, C. G de, C. G. De KRUIF, C. HOLT. Casein micelle interactions. *International Dairy Journal* [online]. 1999, vol. 9, 3-6, s. 233-276 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1007/978-1-4419-8602-3_5.
- [50] OLDFIELD, D. J., M. W. TAYLOR, H. SINGH. Effect of preheating and other process parameters on whey protein reactions during skim milk powder manufacture. *International Dairy Journal* [online]. 2005, vol. 15, issue 5, s. 501-511 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2004.09.004.
- [51] UDABAGE, P., I. R. MCKINNON, M. A. AUGUSTIN. Effects of Mineral Salts and Calcium Chelating Agents on the Gelation of Renneted Skim Milk. *Journal of Dairy Science* [online]. 2001, vol. 84, issue 7, s. 1569-1575 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.3168/jds.s0022-0302(01)74589-4.
- [52] ORLIEN, V., L. BOSERUP, K. OLSEN. Casein micelle dissociation in skim milk during high-pressure treatment: Effects of pressure, pH, and temperature. *Journal of Dairy Science* [online]. 2010, vol. 93, issue 1, s. 12-18 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.3168/jds.2009-2244.
- [53] SALAÜN, F., B. MIETTON, F. GAUCHERON. Buffering capacity of dairy products. *International Dairy Journal* [online]. 2005, vol. 15, issue 2, s. 95-109 [cit. 2015-03-25]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2004.06.007.
- [54] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody: učebnice základů instrumentálních analytických metod*. 1. vyd. Ostrava: P. Klouda, 1996, 203 s. ISBN 80-902155-0-5.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

apod.	a podobně
tzv.	takzvaný
aj.	a jiné
Sb.	sbírka
w/v	hmotnostní procento
nm	nanometr
TSC	citronan sodný
P05	polyfosforečnan sodný s 5 fosforečnanovými zbytky
P09	polyfosforečnan sodný s 9 fosforečnanovými zbytky
P13	polyfosforečnan sodný s 13 fosforečnanovými zbytky
P20	polyfosforečnan sodný s 20 fosforečnanovými zbytky
P28	polyfosforečnan sodný s 28 fosforečnanovými zbytky
SD	směrodatná odchylka
VC	variační koeficient

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: <i>Výměna iontů sodíků za ionty vápníku při tavení přírodních sýrů (A – anion tavicí soli, SER – serinové zbytky). Upraveno podle Cariće & Kalába (1997) [2, 32-33].</i>	23
Obrázek 2: <i>Proces krémování, změny struktury a viskozity proteinové matrice během tavení a mechanického míchání taveniny. Upraveno podle Lee et. al. (2003) [2, 35].</i>	24
Obrázek 3: <i>Graf závislosti optické hustoty na poměru polyfosforečnanu sodného s 5 fosforečnanovými zbytky a citronanu ve směsi tavicích solí</i>	41
Obrázek 4: <i>Graf závislosti optické hustoty na poměru polyfosforečnanu sodného s 9 fosforečnanovými zbytky a citronanu ve směsi tavicích solí</i>	42
Obrázek 5: <i>Graf závislosti optické hustoty na poměru polyfosforečnanu sodného s 13 fosforečnanovými zbytky a citronanu ve směsi tavicích solí</i>	44
Obrázek 6: <i>Graf závislosti optické hustoty na poměru polyfosforečnanu sodného s 20 fosforečnanovými zbytky a citronanu ve směsi tavicích solí</i>	45
Obrázek 7: <i>Graf závislosti optické hustoty na poměru polyfosforečnanu sodného s 28 fosforečnanovými zbytky a citronanu ve směsi tavicích solí</i>	47
Obrázek 8: <i>Závislost optické hustoty na délce polyfosforečnanu ve směsi s citronanem v poměru 50:50 při třech hodnotách pH</i>	48
Obrázek 9: <i>Graf závislosti optické hustoty na poměru Pxx a citronanu ve směsi tavicích solí při pH 5,2</i>	49
Obrázek 10: <i>Graf závislosti optické hustoty na poměru Pxx a citronanu ve směsi tavicích solí při pH 5,8</i>	50
Obrázek 11: <i>Graf závislosti optické hustoty na poměru Pxx a citronanu ve směsi tavicích solí při pH 6,4</i>	51
Obrázek 12: <i>Vliv jednotlivých tavicích solí na dispergaci kaseinového komplexu při pH 5,2-6,4</i>	52

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Fosforečnany používané při výrobě tavených sýrů [upraveno dle 2, 32].	26
Tabulka 2 Citronany použité při výrobě tavených sýrů [upraveno podle 1].....	29
Tabulka 3 Označení výrobku podle obsahu tuku v % hmotnostních [18].	30
Tabulka 4 Suroviny pro přípravu modelového systému.....	36
Tabulka 5 Přídavné látky pro přípravu modelového systému	36
Tabulka 6 Chemikálie pro úpravu pH modelového systému	36
Tabulka 7 Použité přístroje.....	36
Tabulka 8 Navážky binárních směsí tavicích solí.....	38

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha PI.....	Hodnoty měření binární směsi P05:TSC
Příloha PII.....	Hodnoty měření binární směsi P09:TSC
Příloha PIII.....	Hodnoty měření binární směsi P13:TSC
Příloha PIV.....	Hodnoty měření binární směsi P20:TSC
Příloha PV.....	Hodnoty měření binární směsi P28:TSC

PŘÍLOHA P I: HODNOTY MĚŘENÍ BINÁRNÍ SMĚSI P05:TSC

Binární směs P05:TSC pH= 5,2						
Poměr P05:TSC	1. měření	2. měření	3. měření	průměr	SD	CV[%]
0_0	100	100	100	100,00	0,0000	0,00
100_0	28,78	29,75	33,69	30,74	2,1232	6,91
90_10	27,93	33,41	35,13	32,16	3,0701	9,55
80_20	28,68	28,53	37,22	31,48	4,0616	12,90
70_30	35,53	35,06	43,79	38,13	4,0092	10,52
60_40	48,11	52,06	64,54	54,90	7,0024	12,75
50_50	52,74	55,39	68,14	58,76	6,7226	11,44
40_60	55,8	61,42	75,42	64,21	8,2498	12,85
30_70	61,08	55,84	79,51	65,48	10,1510	15,50
20_80	61,38	49,32	77,39	62,70	11,4973	18,34
10_90	66,59	61,58	83,14	70,44	9,2125	13,08
0_100	68,29	60,63	79,8	69,57	7,8786	11,32

Binární směs P05:TSC pH= 5,8						
Poměr P05:TSC	1. měření	2. měření	3. měření	průměr	SD	CV[%]
0_0	100,00	100,00	100,00	100,00	0,0000	0,00
100_0	22,13	21,87	20,03	21,34	0,9363	4,39
90_10	22,36	21,42	19,96	21,25	0,9866	4,64
80_20	22,71	22,38	20,63	21,91	0,9128	4,17
70_30	23,00	22,95	20,44	22,13	1,1978	5,41
60_40	24,43	24,52	21,90	23,62	1,2146	5,14
50_50	26,09	25,83	22,44	24,79	1,6616	6,70
40_60	24,53	24,71	22,66	23,97	0,9256	3,86
30_70	25,67	26,66	22,00	24,77	2,0064	8,10
20_80	29,17	31,59	23,81	28,19	3,2502	11,53
10_90	42,47	36,51	32,64	37,21	4,0426	10,86
0_100	42,31	60,13	50,10	50,85	7,2960	14,35

Binární směs P05:TSC pH= 6,4

Poměr P05:TSC	1. měření	2. měření	3. měření	průměr	SD	CV[%]
0_0	100,00	100,00	100,00	100,00	0,0000	0,00
100_0	21,82	20,85	20,53	21,07	0,5454	2,59
90_10	21,72	21,05	20,73	21,17	0,4095	1,93
80_20	21,82	21,15	21,03	21,33	0,3444	1,61
70_30	22,02	21,39	21,43	21,61	0,2863	1,32
60_40	22,38	21,62	21,97	21,99	0,3112	1,42
50_50	22,81	22,69	22,17	22,56	0,2805	1,24
40_60	22,55	21,72	22,00	22,09	0,3435	1,56
30_70	23,21	22,05	22,77	22,68	0,4767	2,10
20_80	24,71	22,76	22,93	23,47	0,8814	3,76
10_90	30,33	26,94	31,07	29,45	1,7964	6,10
0_100	51,05	46,05	52,77	49,96	2,8485	5,70

PŘÍLOHA P II: HODNOTY MĚŘENÍ BINÁRNÍ SMĚSI P09:TSC

Binární směs P09:TSC pH= 5,2						
Poměr P09:TSC	1. měření	2. měření	3. měření	průměr	SD	CV[%]
0_0	100,00	100,00	100,00	100,00	0,0000	0,00
100_0	26,66	24,27	28,59	26,51	1,7631	6,65
90_10	25,29	24,98	27,25	25,84	1,0045	3,89
80_20	24,71	26,85	28,88	26,81	1,7027	6,35
70_30	26,10	36,69	31,58	31,46	4,3210	13,74
60_40	25,55	35,85	38,02	33,14	5,4372	16,41
50_50	26,59	43,58	35,58	35,25	6,9416	19,69
40_60	31,30	36,94	34,99	34,41	2,3409	6,80
30_70	26,30	31,95	30,05	29,43	2,3469	7,97
20_80	27,14	40,14	41,98	36,42	6,6037	18,13
10_90	29,06	55,51	53,46	46,01	12,0168	26,12
0_100	39,09	55,22	60,78	51,70	9,1988	17,79

Binární směs P09:TSC pH= 5,8					
Poměr P09:TSC	1. měření	2. měření	průměr	SD	CV[%]
0_0	100	100	100	0	0
100_0	17,13	17,55	18,74	0,2099	1,21
90_10	16,89	17,31	18,53	0,2094	1,22
80_20	16,96	17,41	18,58	0,2269	1,32
70_30	16,92	17,37	18,64	0,2269	1,32
60_40	17,23	17,65	19,36	0,2101	1,2
50_50	17,34	17,65	19,56	0,1581	0,9
40_60	17,09	17,69	19,14	0,2969	1,71
30_70	17,06	17,72	19,39	0,3316	1,91
20_80	17,44	17,97	19,92	0,2628	1,48
10_90	17,3	18,49	22,11	0,5933	3,32
0_100	20,35	24,09	32,72	1,8705	8,42

Binární směs P09:TSC pH= 6,4

Poměr P09:TSC	1. měření	2. měření	3. měření	průměr	SD	CV[%]
0_0	100,00	100,00	100,00	100,00	0,0000	0,00
100_0	20,83	20,75	20,67	20,75	0,0671	0,32
90_10	20,83	20,62	20,57	20,67	0,1151	0,56
80_20	20,93	20,75	20,77	20,82	0,0825	0,40
70_30	21,14	20,89	21,51	21,18	0,2568	1,21
60_40	21,38	21,39	21,51	21,43	0,0604	0,28
50_50	21,62	21,09	21,65	21,45	0,2570	1,20
40_60	21,75	21,29	22,25	21,76	0,3940	1,81
30_70	22,43	21,82	22,52	22,26	0,3106	1,40
20_80	23,05	23,73	23,13	23,30	0,3063	1,31
10_90	23,97	25,58	26,10	25,21	0,9057	3,59
0_100	46,47	49,51	47,54	47,84	1,2605	2,63

PŘÍLOHA P III: HODNOTY MĚŘENÍ BINÁRNÍ SMĚSI P13:TSC

Binární směs P13:TSC pH= 5,2						
Poměr P13:TSC	1. měření	2. měření	3. měření	průměr	SD	CV[%]
0_0	100,00	100,00	100,00	100,00	0,0000	0,00
100_0	25,70	21,25	32,78	26,58	4,7492	17,87
90_10	24,31	30,71	54,37	36,46	12,9274	35,45
80_20	27,22	20,37	21,88	23,16	2,9400	12,70
70_30	27,29	21,34	21,91	23,51	2,6807	11,40
60_40	33,84	24,44	23,25	27,18	4,7374	17,43
50_50	48,69	31,74	22,67	34,37	10,7844	31,38
40_60	28,32	24,57	22,26	25,05	2,4963	9,97
30_70	43,43	27,99	25,03	32,15	8,0675	25,09
20_80	35,23	26,54	30,84	30,87	3,5470	11,49
10_90	63,84	39,75	43,34	48,98	10,6148	21,67
0_100	95,00	53,12	69,16	72,43	17,2562	23,83

Binární směs P13:TSC pH= 5,8						
Poměr P13:TSC	1. měření	2. měření	3. měření	průměr	SD	CV[%]
0_0	100,00	100,00	100,00	100,00	0,0000	0,00
100_0	21,07	21,01	19,96	20,68	0,5098	2,46
90_10	20,81	20,78	19,96	20,52	0,3939	1,92
80_20	21,40	21,21	20,06	20,89	0,5922	2,84
70_30	22,24	21,60	20,44	21,43	0,7461	3,48
60_40	22,86	22,39	21,33	22,19	0,6399	2,88
50_50	23,21	22,69	21,87	22,59	0,5536	2,45
40_60	22,73	23,18	21,33	22,41	0,7890	3,52
30_70	22,89	23,08	21,58	22,52	0,6667	2,96
20_80	24,35	24,63	24,38	24,45	0,1253	0,51
10_90	30,26	33,41	31,12	31,60	1,3297	4,21
0_100	52,92	53,63	51,62	52,73	0,8333	1,58

Binární směs P13:TSC pH= 6,4

Poměr P13:TSC	1. měření	2. měření	3. měření	průměr	SD	CV[%]
0_0	100,00	100,00	100,00	100,00	0,0000	0,00
100_0	21,13	21,65	21,30	21,36	0,2161	1,01
90_10	21,16	21,48	21,56	21,40	0,1705	0,80
80_20	21,43	20,61	21,46	21,17	0,3951	1,87
70_30	21,77	20,82	22,26	21,61	0,5972	2,76
60_40	21,53	20,96	22,42	21,64	0,6023	2,78
50_50	22,27	21,58	23,25	22,37	0,6840	3,06
40_60	21,87	20,92	22,06	21,62	0,4973	2,30
30_70	23,01	26,19	22,98	24,06	1,5027	6,25
20_80	24,66	26,91	24,67	25,42	1,0594	4,17
10_90	28,94	30,86	27,12	28,97	1,5295	5,28
0_100	52,05	55,59	53,21	53,62	1,4747	2,75

PŘÍLOHA P IV: HODNOTY MĚŘENÍ BINÁRNÍ SMĚSI P20:TSC

Binární směs P20:TSC pH= 5,2						
Poměr P20:TSC	1. měření	2. měření	3. měření	průměr	SD	CV[%]
0_0	100,00	100,00	100,00	100,00	0,0000	0,00
100_0	25,28	27,63	25,44	26,12	1,0735	4,11
90_10	24,61	25,81	24,41	24,94	0,6172	2,47
80_20	25,25	27,28	26,57	26,37	0,8437	3,20
70_30	29,98	28,75	28,06	28,93	0,7930	2,74
60_40	29,22	30,20	33,71	31,04	1,9297	6,22
50_50	29,76	34,33	35,55	33,21	2,4938	7,51
40_60	35,25	32,12	36,75	34,70	1,9286	5,56
30_70	34,80	34,36	43,95	37,70	4,4182	11,72
20_80	37,98	52,71	43,01	44,57	6,1115	13,71
10_90	47,60	58,21	64,45	56,76	6,9546	12,25
0_100	78,60	72,40	88,31	79,77	6,5491	8,21

Binární směs P20:TSC pH= 5,8						
Poměr P20:TSC	1. měření	2. měření	3. měření	průměr	SD	CV[%]
0_0	100,00	100,00	100,00	100,00	0,0000	0,00
100_0	17,28	17,36	17,21	17,28	0,0635	0,37
90_10	17,11	17,22	17,21	17,18	0,0506	0,29
80_20	17,11	17,33	17,17	17,20	0,0922	0,54
70_30	17,25	17,33	17,28	17,28	0,0327	0,19
60_40	17,25	17,43	17,35	17,34	0,0756	0,44
50_50	17,39	17,43	17,49	17,43	0,0406	0,23
40_60	17,35	17,61	17,31	17,42	0,1315	0,75
30_70	17,39	17,57	17,35	17,43	0,0987	0,57
20_80	17,60	18,03	17,73	17,79	0,1812	1,02
10_90	17,84	18,14	17,87	17,95	0,1321	0,74
0_100	20,51	22,51	22,79	21,94	1,0138	4,62

Binární směs P20:TSC pH= 6,4

Poměr P20:TSC	1. měření	2. měření	3. měření	průměr	SD	CV[%]
0_0	100,00	100,00	100,00	100,00	0,0000	0,00
100_0	21,03	21,05	20,96	21,01	0,0379	0,18
90_10	20,82	21,01	20,89	20,91	0,0801	0,38
80_20	20,99	21,12	21,57	21,23	0,2492	1,17
70_30	21,06	21,50	21,16	21,24	0,1868	0,88
60_40	21,91	21,57	22,01	21,83	0,1919	0,88
50_50	22,36	22,26	22,42	22,35	0,0683	0,31
40_60	22,50	22,22	22,46	22,39	0,1208	0,54
30_70	22,32	21,98	22,56	22,29	0,2374	1,07
20_80	23,62	23,22	23,51	23,45	0,1689	0,72
10_90	27,93	26,12	28,34	27,47	0,9650	3,51
0_100	47,52	47,27	52,23	49,01	2,2796	4,65

PŘÍLOHA P V: HODNOTY MĚŘENÍ BINÁRNÍ SMĚSI P28:TSC

Binární směs P28:TSC pH= 5,2						
Poměr P28:TSC	1. měření	2. měření	3. měření	průměr	SD	CV[%]
0_0	100,00	100,00	100,00	100,00	0,0000	0,00
100_0	24,61	24,69	22,22	23,84	1,1459	4,81
90_10	25,50	25,42	23,64	24,85	0,8582	3,45
80_20	26,25	25,64	22,51	24,80	1,6388	6,61
70_30	25,62	25,33	23,64	24,86	0,8734	3,51
60_40	27,77	27,84	25,54	27,05	1,0664	3,94
50_50	30,22	29,14	25,35	28,24	2,0910	7,41
40_60	31,42	31,94	27,83	30,39	1,8280	6,01
30_70	29,09	23,99	26,63	26,57	2,0818	7,83
20_80	32,97	25,71	30,47	29,71	3,0109	10,13
10_90	39,33	27,23	36,23	34,27	5,1316	14,98
0_100	67,13	38,80	43,00	49,64	12,4839	25,15

Binární směs P28:TSC pH= 5,8					
Poměr P28:TSC	1. měření	2. měření	průměr	SD	CV[%]
0_0	100	100	100	0	0
100_0	17,14	16,92	18,35	0,1064	0,62
90_10	17,07	16,99	18,29	0,0362	0,21
80_20	17	17,03	18,38	0,0164	0,1
70_30	16,96	17,06	18,49	0,0515	0,3
60_40	17,17	17,06	18,96	0,054	0,32
50_50	17,7	17,31	19,21	0,1956	1,12
40_60	17,17	17,24	18,9	0,0334	0,19
30_70	17,28	17,27	19,29	0,0019	0,01
20_80	17,52	17,62	19,93	0,0498	0,28
10_90	18,02	17,94	24,24	0,0392	0,22
0_100	22,24	21,68	31,29	0,2798	1,27

Binární směs P28:TSC pH= 6,4

Poměr P28:TSC	1. měření	2. měření	3. měření	průměr	SD	CV[%]
0_0	100,00	100,00	100,00	100,00	0,0000	0,00
100_0	21,46	21,18	21,24	21,29	0,1172	0,55
90_10	21,25	21,25	21,07	21,19	0,0861	0,41
80_20	21,28	21,42	21,41	21,37	0,0613	0,29
70_30	21,63	21,73	21,27	21,54	0,1950	0,91
60_40	22,31	22,37	21,98	22,22	0,1702	0,77
50_50	22,72	23,08	22,69	22,83	0,1766	0,77
40_60	22,58	22,44	22,29	22,44	0,1212	0,54
30_70	23,88	22,67	23,10	23,22	0,5002	2,15
20_80	24,36	23,99	24,04	24,13	0,1619	0,67
10_90	27,81	28,29	28,00	28,03	0,1977	0,71
0_100	53,81	51,68	51,34	52,27	1,0949	2,09