

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Katedra fyzikální chemie

**Využití elektrodialýzy a ultrafiltrace pro přípravu koncentráту
srovátkových bílkovin**

Diplomová práce

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology
Department of Physical Chemistry

**The use of electrodialysis and ultrafiltration for whey protein concentrate
preparation**

Master Thesis

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Eliška Knettigová**
Osobní číslo: **C18535**
Studijní program: **N1407 Chemie**
Studijní obor: **Technická fyzikální chemie**
Téma práce: **Využití elektrodialýzy a ultrafiltrace pro přípravu koncentráту syrovátkových bílkovin**
Zadávající katedra: **Katedra fyzikální chemie**

Zásady pro vypracování

1. Vypracujte rešerši na téma přípravy koncentráту syrovátkových bílkovin pro různá uspořádání elektromembránových procesů a ultrafiltrace.
2. Experimentálně ověřte vybrané konfigurace elektromembránových procesů a ultrafiltrace při přípravě koncentráту.
3. Vyhodnoťte výsledky analýz jednotlivých meziproduktů elektrodialýzy a finálních produktů ultrafiltrace.
4. Získané výsledky diskutujte z hlediska efektivity dosažení kvalitativních parametrů komoditně specifikovaných produktů syrovátkových proteinových koncentráту.

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

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Martin Hájek, Ph.D.**
Katedra fyzikální chemie
Konzultant diplomové práce: **Ing. Jiří Ečer**
MemBrain s.r.o.
Datum zadání diplomové práce: **28. února 2020**
Termín odevzdání diplomové práce: **7. května 2020**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Libor Čapek, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2020

PROHLÁŠENÍ:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

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

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

V Pardubicích dne

Bc. Eliška Knettigová

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala doc. Ing. Martinu Hájkovi, Ph.D., za jeho odborné vedení, rady a konzultace, které mi velice pomohly při zpracování diplomové práce. Chtěla bych zde poděkovat firmě MemBrain s.r.o. Stráž pod Ralskem za umožnění stáže a získání experimentálních dat. Jmenovitě chci poděkovat Ing. Jiřímu Ečerovi za odborný dozor a pomoc při získávání dat, a také za ochotu a rady při konzultacích. Rovněž chci poděkovat Ing. Tomáši Kotalovi za odborný dozor a konzultace. Děkuji mé rodině za umožnění studia na této škole a podporu při studiu.

ANOTACE

Diplomová práce se zabývá využitím elektrodialýzy a ultrafiltrace pro přípravu koncentráту syrovátkových bílkovin (WPC). V teoretické části práce je nastíněna historie zpracování syrovátky a její vlastnosti. Podrobně je popsána ultrafiltrace a elektrodialýza, jelikož se jedná o stěžejní procesy při výrobě WPC. V experimentální části práce byla testována nová metoda pro úpravu minerálního profilu syrovátky – metoda parciálního změkčení – s cílem obdržet termostabilní produkt. Dále byla provedena konvenční elektrodialýza upravené syrovátky za účelem demineralizace. Po elektrodialýze byla zařazena ultrafiltrace, při které vznikal retentát neboli WPC. Retentát byl podroben testům termostability, které vyšly pozitivně. Komplexní experiment skládající se ze tří dílčích procesů byl úspěšný, neboť byl získán požadovaný koncentrát syrovátkových bílkovin s termostabilními vlastnostmi.

KLÍČOVÁ SLOVA

Elektrodialýza, elektromembránové procesy, tlakové membránové procesy, ultrafiltrace, termostabilita, koncentrát syrovátkových bílkovin (WPC)

TITLE

The use of electrodialysis and ultrafiltration for whey protein concentrate preparation

ANNOTATION

The Master's thesis deals with the use of electrodialysis and ultrafiltration for whey protein concentrate (WPC) preparation. In the theoretical part, there is described history of whey processing and its chemical properties. Ultrafiltration and electrodialysis are described in detail as these are two main processes in the WPC production. In the experimental part, there was implemented a new method for whey mineral profile modification with the aim of obtaining product with thermal stability. Secondly, conventional electrodialysis was carried out with the adjusted whey in the sense of its demineralization. Finally, ultrafiltration of the demineralized whey was carried out to produce a retentate – the WPC. The retentate was a subject for thermal stability test and it passed. The complex experiment was successful as the whey protein concentrate with thermal stability properties was obtained.

KEYWORDS

Electrodialysis, electromembrane processes, pressure membrane processes, ultrafiltration, thermal stability, whey protein concentrate (WPC)

Obsah

Úvod.....	14
1 Teoretická část.....	16
1.1 Syrovátka.....	16
1.2 Syrovátkový proteinový koncentrát (WPC).....	18
1.3 Technologické procesy pro zpracování syrovátky.....	19
1.4 Tlakové membránové procesy.....	22
1.4.1 Ultrafiltrace.....	24
1.5 Elektromembránové procesy.....	26
1.5.1 Elektrodialýza (ED).....	28
1.5.2 Elektrodialýza s bipolárními membránami (EDBM).....	31
1.5.3 Elektrodialýza pro podvojnou záměnu – metatézi (EDM).....	31
1.5.4 Elektrodeionizace (EDI).....	32
1.5.5 Elektroforéza (EFC).....	32
1.6 Příprava koncentráту syrovátkových bílkovin pro různá uspořádání EMP a UF...33	
1.7 Termostabilita syrovátkového proteinového koncentráту (WPC).....	36
1.7.1 Metody ověření termostability bílkovin.....	38
1.8 Použité analytické metody.....	39
2 Experimentální část.....	41
2.1 Metody, přístroje, chemikálie.....	41
2.2 Standardní solné testy.....	42
2.3 Předúprava a demineralizace sladké syrovátky.....	43
2.4 Ultrafiltrace.....	48
2.5 Termostabilita roztoku WPC.....	50
2.5.1 Postup ověření termostability roztoku WPC.....	50
3 Výsledky a diskuze.....	52
3.1 Hydraulické testy a standardní solné testy.....	52

3.2	Vstupní surovina.....	54
3.3	Parciální změkčení elektrodialýzou (PZ)	56
3.4	Konvenční elektrodialýza	62
3.5	Ultrafiltrace.....	67
3.6	Komplexní vyhodnocení experimentu	70
3.7	Ověření termostability roztoku WPC	75
4	Závěr	78
5	Seznam použité literatury	80

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek č. 1: Různé metody separace syrovátkových bílkovinných složek [16].....	22
Obrázek č. 2: Srovnání velikosti mléčných složek vůči rozmezí velikosti membránových pórů [18].....	23
Obrázek č. 3: Rozdíl v uspořádání cross-flow a dead-end konfigurace. Upraveno dle [21] ..	25
Obrázek č. 4: Schéma konvenční ED. Upraveno dle [28]	29
Obrázek č. 5: Schéma štěpení vody na rozhraní CM a AM u bipolární membrány. Upraveno dle [32].....	31
Obrázek č. 6: Schéma ED pro parciální změkčení. Upraveno dle [3]	44
Obrázek č. 7: Zapojení elektrodialyzační jednotky pro parciální změkčení syrovátky	45
Obrázek č. 8: Schéma všech provedených testů	48
Obrázek č. 9: Ultrafiltrační jednotka MMS SW18	48
Obrázek č. 10: Aparatura pro ověření termostability roztoku WPC	51
Obrázek č. 11: Závislost vodivosti diluátu a koncentráту na čase při SST	53
Obrázek č. 12: Závislost měrné vodivosti roztoků na čase	57
Obrázek č. 13: Závislost nárůstu koncentrace K^+ v syrovátce na poklesu vodivosti zdrojového roztoku KCl.....	58
Obrázek č. 14: Graf závislosti obsahu minerálních látek v syrovátce (D1) na vodivosti roztoku KCl (D2)	60
Obrázek č. 15: Závislost elektrického proudu na čase při ED	63
Obrázek č. 16: Závislost měrné vodivosti diluátu a koncentráту na čase při ED.....	64
Obrázek č. 17: Závislost hodnoty pH diluátu a koncentráту na čase při ED.....	65
Obrázek č. 18: Závislost objemového toku permeátu a VCF na čase.....	67
Obrázek č. 19: Koncentrace jednomocných a dvojmocných iontů v jednotlivých fázích procesu	71
Obrázek č. 20: Graf zastoupení složek sušiny v syrovátce S2 při jednotlivých procesech.....	74
Obrázek č. 21: Barevné změny syrovátky během jejího zpracování	75
Obrázek č. 22: Ověření termostability roztoku WPC – vzorek 19R bez úpravy pH	76
Obrázek č. 23: Ověření termostability roztoku WPC – vzorek 19R s úpravou pH	76
Obrázek č. 24: Rozdíl v barvě a konzistenci termostabilního roztoku WPC a termolabilní suspenze WPC	77

Tabulka č. 1: Porovnání složení kravského mléka a syrovátky [5].....	16
Tabulka č. 2: Porovnání složení sladké a kyselé syrovátky [8]	17
Tabulka č. 3: Složení syrovátkových proteinových koncentrátů v prášku [8] [11]	19
Tabulka č. 4: Účinnost demineralizačních technologií. Upraveno dle [39].....	34
Tabulka č. 5: Provozní podmínky solných testů	43
Tabulka č. 6: Komponenty elektrodialyzační jednotky	45
Tabulka č. 7: Podmínky testů parciálního změkčení elektrodialýzou.....	46
Tabulka č. 8: Podmínky konvenční ED	47
Tabulka č. 9: Porovnání naměřených a maximálních hodnot v hydraulických testech před experimenty	52
Tabulka č. 10: Výkonnostní parametry SST v polaritě negativ	53
Tabulka č. 11: Základní parametry suroviny	54
Tabulka č. 12: Chemické složení suroviny – analýzy z ICP-OES	55
Tabulka č. 13: Chemické složení suroviny – analýzy z iontové chromatografie a izotachoforézy	55
Tabulka č. 14: Chemické složení suroviny – ostatní složky	55
Tabulka č. 15: Základní parametry upravených surovin.....	57
Tabulka č. 16: Chemické složení upravených surovin – analýzy z ICP-OES	58
Tabulka č. 17: Chemické složení upravených surovin – analýzy z iontové chromatografie a izotachoforézy	59
Tabulka č. 18: Chemické složení upravených surovin – ostatní složky.....	59
Tabulka č. 19: Základní parametry upravených surovin.....	61
Tabulka č. 20: Chemické složení upravených surovin – analýzy z ICP-OES	61
Tabulka č. 21: Chemické složení upravených surovin – analýzy z iontové chromatografie a izotachoforézy.....	61
Tabulka č. 22: Chemické složení upravených surovin – ostatní složky.....	61
Tabulka č. 23: Hmotnostní bilance po ED – první část	62
Tabulka č. 24: Hmotnostní bilance po ED – druhá část.....	62
Tabulka č. 25: Základní parametry meziproductů po ED.....	65
Tabulka č. 26: Chemické složení meziproductů po ED – analýzy z ICP-OES	66
Tabulka č. 27: Chemické složení meziproductů po ED – analýzy z iontové chromatografie a izotachoforézy	66
Tabulka č. 28: Chemické složení meziproductů po ED – ostatní složky.....	66
Tabulka č. 29: Základní parametry produktů po UF	68

Tabulka č. 30: Chemické složení produktů po UF – analýzy z ICP-OES	69
Tabulka č. 31: Chemické složení produktů po UF – analýzy z iontové chromatografie a izotachofórézy	69
Tabulka č. 32: Chemické složení produktů po UF – ostatní složky	70
Tabulka č. 33: Koncentrace M^+ a M^{2+} iontů syrovátky a jejich vzájemný poměr v jednotlivých fázích procesu	71
Tabulka č. 34: Procentuální pokles/nárůst koncentrace M^+ a M^{2+} iontů vzhledem k předcházející fázi zpracování	72
Tabulka č. 35: Procentuální pokles/nárůst koncentrace M^+ a M^{2+} iontů vzhledem ke vstupní surovině – naturální syrovátce	73

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AM(H)	anionvýměnná membrána (pro použití v potravinářském průmyslu)
BSK ₅	biochemická spotřeba kyslíku za 5 dní
c_D, c_F	koncentrace solí ve zpracovávaném roztoku na výstupu (D) a vstupu (F) [mol.dm ⁻³] nebo [mol.m ⁻³]
CM(H)	kationvýměnná membrána (pro použití v potravinářském průmyslu)
D	diluát, diluátová komora
DF	diafiltrace
D50, D70, D90	komerčně požadované stupně odsolení syrovátky (4,0 %, 2,5 %, 1,0 % popela v sušině)
E	elektrodový roztok, komora elektrodového roztoku
ED	elektrodialýza
EDBM	elektrodialýza s bipolárními membránami
EDI	elektrodeionizace
EDM	elektrodialýza pro metatezi
EDR	elektrodialyzační modul s možností reverzace napětí
EFC	elektroforéza
EMP	elektromembránové procesy
φ	stupeň odsolení [%]
F	feed (nástrík)
I	elektrický proud [A]
IEX	iontová výměna
K	koncentrát, koncentrátová komora
$\kappa, \kappa_{25^\circ C}$	specifická vodivost, specifická vodivost při 25 °C [S.m ⁻¹], [mS.cm ⁻¹]
$\Delta \kappa$	pokles vodivosti [%]
MF	mikrofiltrace
NF	nanofiltrace
NPN	nebílkovinný dusík (nonprotein nitrogen)
PES	polyester
PZ	parciální změkčení elektrodialýzou
RO	reverzní osmóza
RS	refraktometrická sušina [°Bx]
S1, S2	syrovátka z první a druhé várky
SST	standardní solný test
ρ	hustota [g.cm ⁻³]
TK	titrační kyselost [°SH]
UF	ultrafiltrace
U	elektrické napětí [V, V.pár ⁻¹]
WPC	koncentrát syrovátkových bílkovin (whey protein concentrate)
WPH	hydrolyzát syrovátkových bílkovin (whey protein hydrolysate)
WPI	izolát syrovátkových bílkovin (whey protein isolate)

Úvod

Syrovátka vzniká jako vedlejší produkt při výrobě sýrů, tvarohu nebo kaseinu. V minulosti se syrovátka likvidovala jako odpad. V lepším případě se používala buď jako hnojivo, nebo byla usušena na syrovátkový prášek, používaný jako krmivo pro hospodářská zvířata. V průběhu posledních let se zjistilo, že syrovátka je důležitým zdrojem proteinů a esenciálních aminokyselin, laktózy a rozpustných vitamínů zejména skupiny B. Může proto být uvažována jako zdroj plnohodnotných živin. Proto se v dnešní době se syrovátkou setkáme prakticky všude – v potravinách, sportovní a kojenecké výživě, léčivech i kosmetice.

V první polovině 20. století začaly některé závody v Evropě syrovátku sušit na prášek obsahující cca 11 % bílkovin a 72 % laktózy. Problémem byla ale kvalita a špatná využitelnost tohoto prášku – příčinou byl zejména nepříznivý minerální profil. Nástup moderních tlakových membránových a elektromembránových separačních metod v pozdních 60. letech minulého století umožnil vyrábět sušenou demineralizovanou syrovátku a také proteinový koncentrát s obsahem 32–80 % rozpustných bílkovin. Tyto syrovátkové proteinové koncentráty nesou označení WPC 32 – WPC 80 [1] [2]. Hlavními výhodami membránových procesů jsou šetrný způsob zpracování suroviny bez výrazných teplotních změn, vysoká selektivita použitých separací, snadná instalace a uspořádání do modulů a menší energetická náročnost ve srovnání s tepelnými operacemi.

Přestože syrovátkové proteiny našly své uplatnění na trhu až v posledních padesáti letech, ihned na počátku zaujaly stabilní pozici v oblasti produktů výživy a zdraví. Díky pokročilému technologickému zpracování se syrovátkové proteiny dostaly do úzkého seznamu důležitých živin a neustále se vyvíjející moderní technologie je zde zcela určitě udrží.

V České republice se membránové a elektromembránové technologie v mlékárenském průmyslu začaly prosazovat s určitým zpožděním vůči západní Evropě. Nyní je ovšem téměř každá mlékárna vybavena nějakým zařízením využívajícím membrány. Může se jednat o reverzní osmózu, mikrofiltraci, ultrafiltraci, nanofiltraci nebo elektrodialýzu. Elektrodialýza představuje moderní elektromembránový separační proces, jehož význam roste v současnosti napříč širokým spektrem průmyslových odvětví. Elektrodialýzu lze s výhodou použít pro demineralizaci roztoků ve farmaceutickém a potravinářském odvětví, neboť se vyznačuje šetrností ke zpracovávanému roztoku a tím pádem nedochází ke ztrátě léčivých a nutričních hodnot.

Tato práce je zaměřena na úpravu sladké syrovátky ve dvou krocích. Prvním krokem byla úprava poměru koncentrací dvojmocných k jednomocným iontům za využití elektrodialýzy se speciálním uspořádáním membrán v elektrodialyzačním svazku [3]. Jednalo se o novou metodu, které byl přidělen název „parciální změkčení“. Cílem bylo snížit poměr koncentrace dvojmocných iontů (Mg^{2+} a Ca^{2+}) ku iontům jednomocným (Na^+ a K^+) v syrovátce. Je totiž je známo, že koncentrace dvojmocných iontů úzce souvisí s funkčními vlastnostmi proteinů obsažených v syrovátce, respektive syrovátkovém proteinovém koncentrátu (WPC). Konkrétně má zvýšená koncentrace těchto iontů vliv na denuraci a agregaci proteinů, přičemž agregace proteinů dále brání dalšímu průmyslovému zpracování. Ve druhém kroku byla syrovátka po parciálním změkčení upravena konvenční elektrodialýzou za účelem demineralizace. V další části práce byla syrovátka s upraveným minerálním profilem podrobena ultrafiltraci. Nakonec byla ověřena termostabilita retentátu z ultrafiltrace neboli syrovátkového proteinového koncentrátu (WPC).

1 Teoretická část

1.1 Syrovátka

Syrovátka je tekutina nažloutlé až nazelenalé barvy. Vzniká srážením mléka jako vedlejší produkt v mlékárenském průmyslu při výrobě sýrů a tvarohů. Představuje okolo 85–95 % původního objemu mléka a ponechává si okolo 55 % živin – mezi nejhojněji zastoupené se řadí laktóza (4,5–5,0 % w/v), rozpustné syrovátkové proteiny (0,6–0,8 % w/v), lipidy (0,4–0,5 % w/v), minerální látky (8–10 % sušiny) a vitamíny [4]. Více než 50 % solí obsažených v syrovátce tvoří NaCl a KCl. Dále jsou obsaženy vápenaté soli, primárně ve formě fosfátů, a další minerální látky. V následující Tabulce č. 1 je uvedeno porovnání složení kravského mléka a syrovátky.

Tabulka č. 1: Porovnání složení kravského mléka a syrovátky [5]

Složky	Mléko	Syrovátka
Kaseinový protein (% w/v)	2,8	<0,1
Syrovátkový protein (% w/v)	0,7	0,7
Tuk (% w/v)	3,7	0,1
Popel (% w/v)	0,7	0,5
Laktóza (% w/v)	4,9	4,9
Celková sušina (% w/v)	12,8	6,3

Podstatou výroby sýrů je přidavek syřidla či kyseliny k mléku za účelem vysrážení bílkoviny kaseinu a oddělení tuhé hmoty od tekuté syrovátky. První záznam o syrovátce je starý přibližně 8000 let. Nejstarší popis výroby sýra pochází z roku 5500 př. n. l. Další záznam popisuje využití telecích žaludků pro uchování a přepravu mléka. V tomto případě docházelo ke koagulaci na sýr a syrovátku. Posléze bylo zjištěno, že tento proces je výsledkem působení enzymu chymosin, který se přirozeně vyskytuje v žaludcích telat a funguje jako srážedlo.

Na základě rozdílné metody použité při srážení mléka lze získat odlišné typy syrovátek. Obecně jde o rozdělení na syrovátku sladkou a kyselou. Neexistuje obecně uznávaná definice, která rozlišuje tyto syrovátky. Nejčastěji se ke kategorizaci na sladkou a kyselou syrovátku používá

hodnota pH 5,6. Sladká syrovátka má hodnotu pH vyšší než 5,6, zatímco kyselá syrovátka má hodnotu pH pod 5,6. Sladká syrovátka obvykle pochází z výroby tvrdých a polotvrdých sýrů typu eidam, čedar nebo ementál. Pro srážení se využívá syřidlo. Kyselá syrovátka vzniká při kyselém srážení mléka, a to jeho přirozeným kysáním, přidavkem kultur mléčného kvašení nebo přidavkem kyseliny (např. kyselina citronová). Tímto technologickým postupem se vyrábí tvaroh, žervé nebo tvarohové sýry typu Cottage a kasein. Při výrobě sýrů se ze 100 kg mléka získá zhruba 9,3 kg sýra a zhruba 90,7 kg sladké syrovátky. Velké sýrárny dokážou vyprodukovat až 1 milion litrů syrovátky za den [6] [7] [8]. Porovnání složení sladké a kyselé syrovátky je uvedeno v následující Tabulce č. 2.

Tabulka č. 2: Porovnání složení sladké a kyselé syrovátky [8]

Složky	Sladká syrovátka	Kyselá syrovátka
Bílkoviny (g.l ⁻¹)	6–10	6–8
Laktóza (g.l ⁻¹)	46–52	44–46
Minerály (g.l ⁻¹)	2,5–4,7	4,3–7,2
pH	>5,6	<5,6

Syrovátka byla po většinu doby považována za odpad, a to zejména v začátcích moderní průmyslové velkoprodukce sýrů na počátku 19. století. Jediné využití syrovátky spočívalo v jejím zpracování na krmné směsi pro dobytek či organické zemědělské hnojivo. Často však končila bez využití a vypouštěla se do kanalizací, řek a jezer. Postupem času se ovšem ukázalo, že se jedná o znečišťující odpadní produkt s vážným dopadem na životní prostředí. I v dnešní době je syrovátka považována za jeden z nejvíce znečišťujících vedlejších produktů potravinářské výroby. Vykazuje totiž velmi vysoký ukazatel znečištění BSK₅, neboli biochemickou spotřebu kyslíku za 5 dní. Tento ukazatel nepřímě vyjadřuje obsah biologicky rozložitelných organických látek v odpadní vodě (syrovátce). Oxidace organických látek je uskutečněna působením vzdušného kyslíku v součinnosti aerobních bakterií při teplotě 20 °C. Ukazatel tedy představuje hmotností koncentraci kyslíku spotřebovaného za daných podmínek v aerobním prostředí biologickou oxidací organických látek ve vzorku [9]. Kvůli vysokému obsahu organických látek je ukazatel BSK₅ pro syrovátku stanovován v rozmezí hodnot 30 000–50 000 mg.l⁻¹. Pro představu, průměrná BSK₅ městské odpadní vody bývá v rozmezí 150–400 mg.l⁻¹ [10] [7]. Přitom je dokázáno, že tato hodnota je zapříčiněna zejména vysokým

obsahem laktózy, nikoli bílkovin (laktóza představuje okolo 70 % sušiny v syrovátce). I z tohoto důvodu se změnil zákon o nakládání s odpady. Výrobci mléčných výrobků proto hledali možné využití pro syrovátku a byly vyvíjeny technologie pro její další zpracování.

Nejvýznamnější technologií se stalo koncentrování syrovátkových bílkovin na produkt s označením syrovátkový proteinový koncentrát (WPC – Whey Protein Concentrate). Při procesu izolace syrovátkových bílkovin ovšem kromě jiného vznikl i syrovátkový permeát s velmi vysokým obsahem laktózy (75 % w/w a vyšší), jež nepříznivě ovlivňoval hodnotu BSK₅. Proto byly vyvíjeny současně procesy pro recyklaci tohoto vedlejšího produktu. Tyto procesy zahrnují výrobu laktózy, produkci organických kyselin, alkoholů, probiotik a látek s prebiotickým účinkem.

V současné době se globální produkce syrovátky pohybuje okolo 240 milionů tun ročně. Udává se, že 40 % celkové produkce syrovátky ve světě je ihned využito jako krmivo, hnojivo nebo je likvidováno jako odpad. Zbýlých 60 % je průmyslově využito zejména pro výrobu syrovátkového prášku, syrovátkového proteinového koncentrátu, laktózy a probiotik [7]. V průběhu let se tak z problematického odpadního produktu stala vyhledávaná levná surovina pro další komerční využití.

1.2 Syrovátkový proteinový koncentrát (WPC)

Syrovátkové proteinové koncentráty se získávají specifickými postupy ze syrovátky a dělí se na základě různého obsahu bílkovin.

Syrovátkové bílkoviny představují zhruba 20 % z celkového množství mléčných bílkovin. Nejhojněji je zastoupen β -laktoglobulin (50 %), α -laktalbumin (12 %), glykomakropeptid (12 %), imunoglobulin (10 %) a hovězí sérový albumin (5 %). Minoritními složkami jsou peptidy laktoferin, lysozym a laktoperoxidáza.

Zajímavý je fakt, že syrovátkové bílkoviny mají vyšší podíl esenciálních aminokyselin¹ v porovnání s ostatními zdroji bílkovin, jako jsou bílkoviny kasinu, vajec, mléka, masa i sóji. Dále obsahují více než 20 % cenných aminokyselin s větveným řetězcem (BCAA – Branched Chain Amino Acids), které jsou důležitými regulátory metabolismu. Navíc jsou syrovátkové bílkoviny v porovnání s bílkovinami masa a kaseinu bohatším a vyváženějším zdrojem sirných

¹ Esenciální aminokyseliny jsou ty, které si tělo nedokáže samo vytvořit, tudíž je musí přijímat v potravě [64].

aminokyselin, které plní důležitou funkci antioxidantů. Pozitivní účinky syrovátkových bílkovin na organismus byly pozorovány v mnoha případech. Jednalo se o zlepšení regenerace svalů po cvičení, prevenci muskulární atrofie, pozitivní výsledky při snižování či udržování tělesné hmotnosti, protirakovinné a hepatoprotektivní účinky, úspěšnou prevenci kardiovaskulárních onemocnění a mnoho dalších [5].

Syrovátkové bílkoviny se cení pro své jedinečné funkční vlastnosti. Bílkoviny β -laktoglobulin a α -laktalbumin zajišťují schopnost absorpce, teplotně řízené gelace, emulgace a také vysokou rozpustnost. Syrovátkové bílkoviny se díky tomu uplatňují jako funkční přísady v potravinářství.

Mezi základní vlastnosti syrovátkových bílkovin patří globulární charakter – mají kulatý tvar, kdy hydrofobní řetězce směřují dovnitř molekuly a hydrofilní ven. Dále vykazují rozpustnost při všech hodnotách pH a termolabilitu – syrovátkové bílkoviny při dosažení teploty 60–70 °C denaturují (to ovšem neznamená, že precipitují). V následující Tabulce č. 3 je uvedeno porovnání složení syrovátkových proteinových prášků s různým obsahem bílkovin. WPC 34 je označení koncentráту syrovátkových bílkovin s obsahem 34 % bílkovin v sušině, WPI je izolát syrovátkových bílkovin a UF permeát je proud pocházející z ultrafiltrace, který prošel membránou.

Tabulka č. 3: Složení syrovátkových proteinových koncentrátů v prášku [8] [11]

Produkt	WPC 34	WPC 55	WPC 80	WPI	UF permeát
Bílkoviny (g.100g ⁻¹)	33	53	77	88–92	1
Laktóza (g.100g ⁻¹)	52	31	9	<1	90
Popel (g.100g ⁻¹)	7	6	4	2–3	9

1.3 Technologické procesy pro zpracování syrovátky

Syrovátka sama o sobě není vyváženým zdrojem živin, jelikož obsah laktózy vůči bílkovinám je téměř šestkrát vyšší. K tomu, aby se mohlo naplno začít využívat nutričních a funkčních vlastností syrovátkových komponent, zejména bílkovin, musely být nejdříve vyvinuty průmyslově realizovatelné a efektivní technologie pro úpravu a zpracování syrovátky. Mezi základní procesy se časem zařadily chromatografie, demineralizace, membránové procesy a sušení rozprašováním. S využitím těchto procesů bylo možné získat různorodé produkty.

Jednalo se o syrovátkové prášky, WPC a WPI prášky, demineralizovanou syrovátku a prášky se sníženým obsahem laktózy. Procesy pro separaci bílkovin se rozdělily do čtyř kategorií: (1) membránová filtrace, (2) iontovýměnná chromatografie, (3) kombinace dvou předchozích, (4) ostatní techniky – gelová permeační chromatografie, chromatografie na hydroxyapatitové koloně a další.

Vůbec prvním komerčním technologickým zpracováním syrovátky v průmyslovém měřítku byla její demineralizace. K tomu byly využity lože kationvýměnných a anionvýměnných chromatografických pryskyřic. Demineralizovaná syrovátka byla následně sušena rozprašováním a distribuována jako syrovátkový prášek. Kontrolovaným snižováním obsahu iontů bylo možné získat syrovátkový prášek s různým stupněm demineralizace. Po 90% demineralizaci syrovátkový prášek obsahoval zhruba 12 % bílkovin, 83 % laktózy, méně než 1 % popela², méně než 1,5 % tuku a 3 % vlhkosti [12]. Sušení syrovátky za zvýšené teploty neslo mnoho nevýhod. Proces byl energeticky velice náročný a tím pádem neekonomický, produkt obsahoval velké množství laktózy a popela. Navíc tento proces nesl riziko změny struktury a funkčních vlastností syrovátkových složek, zejména bílkovin.

Se stále vzrůstajícím počtem publikovaných článků na téma prospěšnosti syrovátkových bílkovin se úměrně začala zvyšovat poptávka po syrovátkovém produktu s mnohem vyšším obsahem bílkovin. Tento požadavek byl realizován pomocí nastupujících moderních membránových procesů, které umožnily následný prudký rozvoj výroby syrovátkových proteinových koncentrátů (WPC) a syrovátkových proteinových izolátů (WPI) první generace. K tomuto účelu sloužila ultrafiltrace (viz podkapitola 1.4.1), při které byl získán retentát s obsahem bílkovin okolo 60 % v sušině. Další snížení obsahu laktózy a minerálů bylo realizováno následným zařazením diafiltrace (DF). V průběhu let se ustálila kombinace ultrafiltrace/diafiltrace a následné sušení rozprašováním jako základní moderní technologie pro přípravu syrovátkových produktů s vysokým obsahem bílkovin.

Dalším pokrokem v membránových technologiích bylo zavedení nanofiltrace a reverzní osmózy. Nanofiltrace sloužila zejména k úpravě syrovátky před ultrafiltrací – používala se

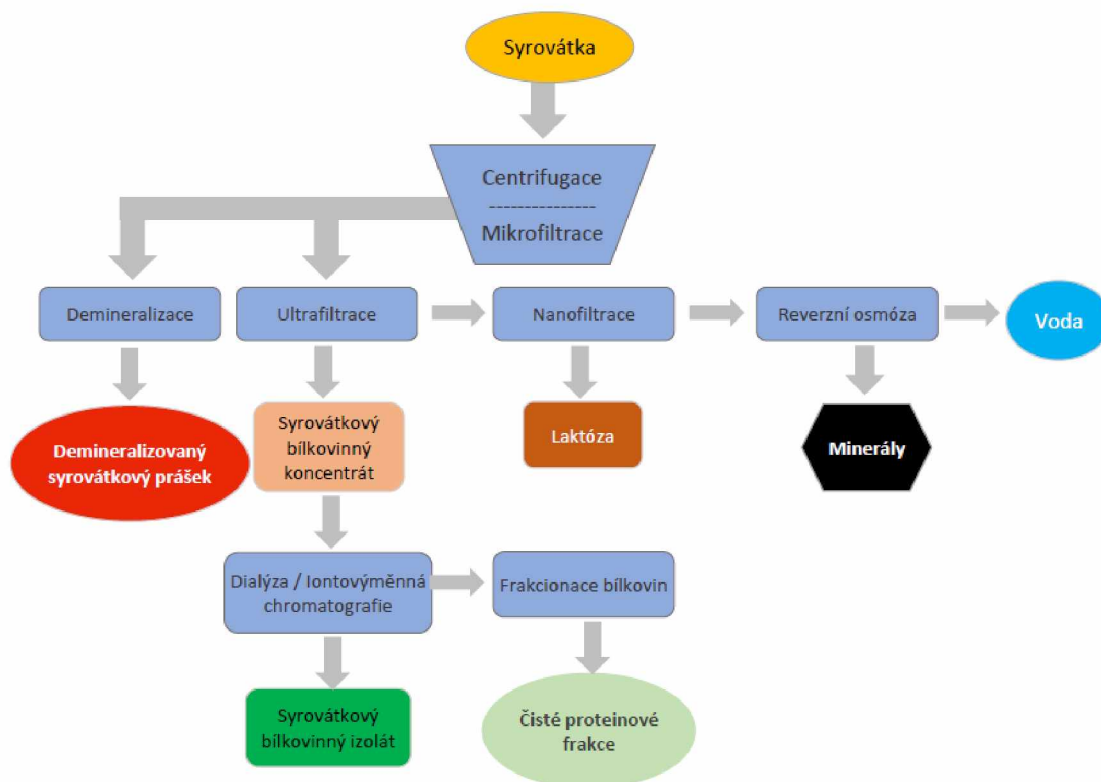
² Popel představuje obsah veškerých anorganických látek ve vzorku. Zahrnuje jak využitelné minerální látky, tak i látky nevyužitelné (tzv. písek). Obsah popela se stanovuje vázkově spalováním v peci, standardně vyhřáté v rozmezí 525–550 °C, po dobu 24 hodin.

k demineralizaci monovalentních iontů a jejímu zahuštění. Reverzní osmóza se osvědčila při procesech zahuštění syrovátky a regenerace vody z procesů zpracovávajících syrovátku [13].

Jak již bylo uvedeno výše, k izolaci bílkovin ze syrovátky lze využít iontovýmennou membránovou chromatografii. Jedná se však o poměrně agresivní metodu s využitím chemikálií, při které se projevuje vysoký stupeň denaturace bílkovin. To může mít zásadní vliv na výrazné snížení biologické aktivity jednotlivých frakcí. K separaci dochází v rámci elektrického pole a hodnotě pH pod izoelektrickým bodem³. Dochází k navázání kladně nabitých proteinů ke kationvýmenné membráně a vymytí neutrálních nebo záporně nabitých nečistot. Výhodou této metody je maximální výtěžek β -laktoglobulinu a α -laktalbuminu s minimem nebo nulovým obsahem laktózy a tuku, ovšem na úkor ztráty prospěšných komponent jako jsou laktoferin, imunoglobuliny a glykomakropeptidy. Tato metoda je využívána především v USA pro výrobu WPI prášku [14].

V neposlední řadě se můžeme na trhu setkat se syrovátkovými bílkovinnými hydrolyzáty neboli WPH (Whey Protein Hydrolysate) s podílem bílkovin okolo 90 %. K výrobě WPH se využívá postupů enzymatické hydrolýzy bílkovin obsažených ve WPC. Hydrolytické štěpení zprostředkovávají proteázy, což jsou enzymy štěpící makromolekuly bílkovin na menší frakce, peptidy a volné aminokyseliny, které mají menší molekulovou hmotnost, a proto jsou v těle rychleji vstřebatelné a využitelné. Syrovátkový bílkovinný hydrolyzát je nejdražší, ale zároveň nejkvalitnější formou syrovátkových bílkovin s nízkým obsahem tuku a laktózy. WPH prášky nachází uplatnění u vrcholových sportovců, ve výživě pro předčasně narozené děti a děti s potravinovými intolerancemi či poruchou metabolismu, ale také ve výživě pro geriatrické pacienty [15].

³ Izoelektrický bod je pH, při kterém má bílkovina nebo aminokyselina nulový sumární náboj. Nepohybuje se proto v elektrickém poli [67].



Obrázek č. 1: Různé metody separace syrovátkových bílkovinných složek [16]

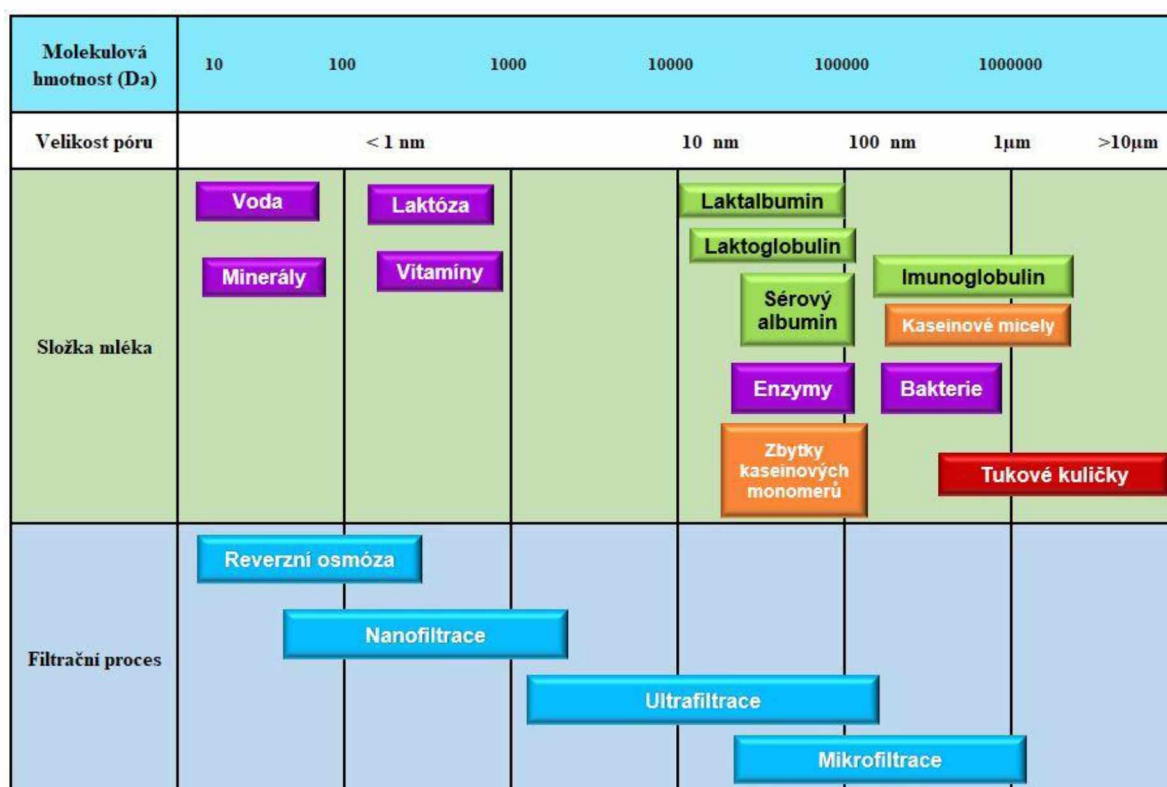
1.4 Tlakové membránové procesy

Tlakové membránové procesy jsou jednou z podkategorií membránových separací. Separace je umožněna schopností membrány přenášet jednu složku směsi výrazně snadněji než ostatní komponenty. Důvodem jsou rozdíly ve fyzikálních nebo chemických vlastnostech mezi membránou a procházejícími látkami. Konkrétně se jedná o rozdíl koncentrací (aktivit), teplot, elektrických potenciálů a v případě tlakových membránových procesů o rozdíl tlaků [17].

Do skupiny tlakových membránových procesů řadíme mikrofiltraci (MF), ultrafiltraci (UF), nanofiltrace (NF) a reverzní osmózu (RO). Tlakový spád je pro mikrofiltraci 1–2 bar, pro ultrafiltraci 1–10 bar, pro nanofiltrace 10–40 bar a reverzní osmózu 20–60 bar. Principem separačního procesu na bázi membránových technologií je mechanická filtrace kapalného média přes membránový modul. Společným znakem technik je použití polopropustné membrány jako separačního elementu a rozdílu tlaků nad a pod membránou jako hnací síly transportu přes membránu. Na základě velikosti separovaných částic či molekul a chemických vlastností rozpouštědla se vybírá vhodný typ membrány.

Tlakové membránové procesy zpracovávají vstupní roztok neboli nástřík, respektive feed, za vzniku dvou proudů – permeátu a retentátu. Permeát je filtrát, který prochází skrze póry membrány. Retentát je koncentrát obsahující složky zachycené membránou na nástříkové straně. U tlakových membránových procesů se uplatňuje jednorůchodový režim nebo jednorůchodový režim s částečnou recyklací.

Membránové filtrační technologie, zejména mikrofiltrace a ultrafiltrace, jsou komerčně využívány v mlékárenském průmyslu více než půl století a v současné době se jedná o nejčastěji využívanou technologii pro zpracování syrovátkových proteinů na světě [8]. Membránové procesy nachází široké využití i při výrobě nápojů, v masném průmyslu, při výrobě octa, v kvasném průmyslu a při úpravě odpadních vod.



Obrázek č. 2: Srovnání velikosti mléčných složek vůči rozmezí velikosti membránových pórů [18]

Z Obrázku č. 2 je patrné, že pro separaci syrovátkových bílkovin je nejvýhodnější použít ultrafiltraci – proto je jejím popisu věnována samostatná následující kapitola.

1.4.1 Ultrafiltrace

Ultrafiltrace je membránový proces založený na oddělování částic určité velikosti z tekutiny vlivem rozdílu tlaků. Při ultrafiltraci se zachycují částice průměru řádově 10 až 100 nm. V retentátu se tedy koncentrují relativně velké molekuly (polymery, proteiny) nebo koloidy tím, že se odstraňuje část rozpouštědla. Produkovaný permeát obsahuje vodu, nízkomolekulární organické a minerální látky a dále se může zpracovávat pomocí reverzní osmózy. Potřebný rozdíl tlaků před a za membránou nepřesahuje více než 1 MPa [19].

Výkonnost ultrafiltrace je dána intenzitou toku permeátu, retencí filtrované látky a koncentrací filtrované látky v proudu retentátu. Intenzita toku permeátu je definována vztahem:

$$J_p = \frac{1}{A} \frac{dV_p}{d\tau} \quad (1)$$

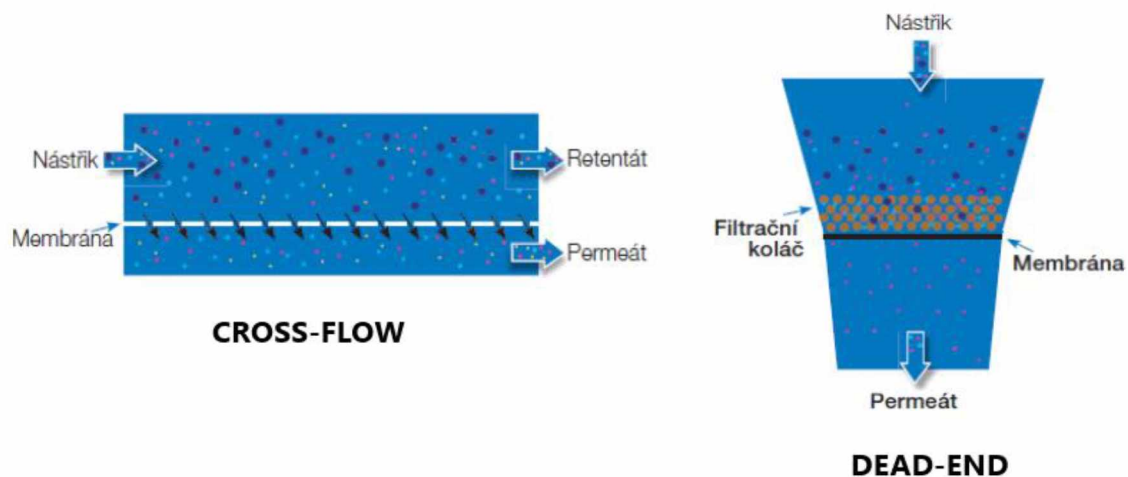
kde J_p je intenzita toku permeátu (flux) [$\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$], A je separační plocha membrány [m^2], V_p je objem permeátu [m^3] a τ je čas [s]. V technické praxi se pak často používá jednotka intenzity toku permeátu J_p [$\text{l} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$]. Při elektromembránových procesech (např. elektrodialýza) se místo objemu využívá hmotnost, a intenzita toku permeátu J_p má poté rozměr [$\text{kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$]. Intenzita toku permeátu často postupně klesá, protože se membrána ucpává, ale ucpávání pórů zvětšuje retenci [19].

Retence vyjadřuje celkovou selektivitu membránového modulu vůči směsi a určuje, jaký podíl z částic přicházejících v nástřiku je zadržen. Obecně je definována vztahem:

$$R = 1 - \frac{c_p}{c_f} [\%] \quad (2)$$

kde R je koeficient retence [%], c_p [$\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$] je koncentrace molekul v permeátu a c_f [$\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$] je koncentrace molekul ve vstupním proudu. Jelikož koeficient R je bezrozměrná veličina, nezáleží na jednotkách vyjádření koncentrace, a spadá do intervalu hodnot 0–1. Při hodnotě $R = 0$ prochází membránou veškerá separovaná složka i rozpouštědlo. Při hodnotě $R = 1$ dochází k úplné retenci separované složky (membrána je považována za ideálně selektivní pro zadrž dané chemické složky v proudu retentátu) [20].

Z hlediska procesního uspořádání rozlišujeme dva základní typy konfigurace ultrafiltrace: cross-flow a dead-end, viz následující obrázek.



Obrázek č. 3: Rozdíl v uspořádání cross-flow a dead-end konfigurace. Upraveno dle [21]

Při dead-end konfiguraci je nástřikový proud přiváděn kolmo na membránu, kapalina prochází membránou a zachycené částice na jejím povrchu vytváří vrstvu filtračního koláče, jehož tloušťka se časem zvyšuje a úměrně tomu klesá tok permeátu. Tato konfigurace se používá zřídka a pouze v případě, že je koncentrace částic v původním roztoku nízká. Při cross-flow konfiguraci proudí nástřik podél povrchu membrány a většina zachycených částic je postupně odmyvána. Tato konfigurace se využívá, pokud je koncentrace částic v původním roztoku vyšší.

Při ultrafiltraci se využívá polymerních či keramických membrán. Liší se v ceně, životnosti, toku, efektivitě, energetické náročnosti a čištění. V praxi se membrány umísťují do tzv. membránových modulů. Existují tři základní typy. Deskový modul má archy membrány umístěny mezi distančními deskami. Spirálně vinutý modul je systém skládající se z membrán a distančních sítěk navinutých na děrované trubce. U třetího modulu s dutými vlákny je nástřik umístěn vně vláken a permeát je odváděn vnitřní částí modulu. Membrány jsou kategorizovány podle molekulové hmotnosti molekul, které již neprojdou membránou. Tato molekulová hmotnost se nazývá dělicí rozsah neboli molecular weight cut off (MWCO). Při ultrafiltraci jsou zadržovány látky s molekulovou hmotností 10–1000 kDa⁴ [22].

Mezi nejčastější jevy limitující použití ultrafiltrace patří koncentrační polarizace a fouling. Koncentrační polarizace vzniká v důsledku zanášení membrány na jejím povrchu a tento

⁴ Dalton (Da) je jednotka molekulové hmotnosti vyjadřující jednu dvanáctinu atomové hmotnosti uhlíku ¹²C. 1 Da = 1,66.10⁻²⁷ kg. Ačkoli nezapadá do systému jednotek SI, používá se pro vyjádření molekulové hmotnosti biomakromolekul [66].

problém je snadno řešitelný setřením usazené vrstvy či mícháním nad membránou. Na druhou stranu při foulingu se částice váží na membránu nebo jsou fyzikálně zachyceny v její porézní struktuře a nelze je odstranit pouhým průtokem [22]. Předúprava nástřiku např. úpravou pH, teploty, přidavkem komplexotvorných činidel či adsorpcí na aktivním uhlí je nejčastějším opatřením proti foulingu. Prevencí před zanášením membrán je i správný výběr membrány s vlastnostmi odpovídajícími použití, tzn. s odpovídající distribucí velikosti pórů, nábojem membrány a hydrofilními či hydrofobními vlastnostmi.

V roce 1969 byla ultrafiltrace patentována jakožto speciální aplikace pro zpracování mléka. Ultrafiltrace se využívá v potravinářském průmyslu k výrobě sýrů z ultrafiltrovaného mléka, zahuštění mléka či syrovátky, a dále v kombinaci s diafiltrací ke koncentraci bílkovin v syrovátce. Výhody použití ultrafiltrace v mlékárenském průmyslu spočívají ve snižování nákladů na zpracování při absenci nechtěné denaturace nebo modifikace biologicky aktivních látek a zbavení roztoku solí, což je výhoda pro další zpracování.

1.5 Elektromembránové procesy

Obecně jsou membránové procesy založeny na existenci membránového potenciálu. Ten vzniká po vložení iontovýmenné membrány mezi dva různě koncentrované roztoky. Na rozhraní membrána – elektrolyt dojde ke vzniku tzv. Donnanova potenciálu. Z důvodu rozdílné koncentrace roztoků na obou stranách membrány vznikne uvnitř membrány koncentrační gradient a ustaví se tzv. difúzní potenciál. Součet Donnanova a difúzního potenciálu pak označujeme jako membránový potenciál. Při následném vložení stejnosměrného elektrického napětí je mnohonásobně zrychlen a usměrněn transport iontů přes membránu [23].

Elektromembránové procesy (EMP) se řadí do skupiny membránových separačních procesů. Společným jmenovatelem EMP je totožná hnací síla – gradient elektrického potenciálu. Gradient elektrického potenciálu je aplikován na soustavu neporézních iontově selektivních polymerních membrán pod vlivem stejnosměrného elektrického pole. Za těchto podmínek dochází k migraci elektricky nabitých částic, kdy záporně nabitě částice putují ke kladně nabitě anodě a kladně nabitě částice putují směrem k záporně nabitě katodě. Vlivem zabudovaných funkčních skupin s kladným či záporným nábojem v membránách jsou nabitě částice při migraci zastavovány nebo transportovány dále [19].

Aplikační možnosti EMP jsou široké. V historickém vývoji se na úplném počátku EMP využívaly při odsolování a zakoncentrování roztoků elektrolytů a při přípravě pitné vody

z brakické, podzemní a komunální. Po dalším vývoji již EMP nacházejí uplatnění při demineralizaci, stabilizaci, purifikaci, deacidifikaci a separaci látek z různorodých roztoků.

Dle účelu dělíme EMP do tří hlavních kategorií:

- Elektromembránové separační procesy slouží k demineralizaci roztoků, koncentrování elektrolytů a separaci elektrolytů od neelektrolytů. Řadí se sem elektrodialýza (ED), elektrodialýza s reverzací polarity (EDR) a elektrodeionizace (EDI).
- Elektromembránové syntézní procesy kombinují principy elektromembránových separačních procesů se simultánně probíhající chemickou či elektrochemickou reakcí za účelem výroby chemických látek jako produktů. Mezi tyto procesy zahrnujeme elektrodialýzu pro iontovou záměnu (pro metatézi, EDM), elektrodialýzu s bipolárními membránami (EDBM), elektroforézu (EFC) a membránovou elektrolyzu (ME).
- Elektromembránové procesy pro konverzi energie zahrnují palivové články, průtočné baterie s iontově selektivní membránou a membránové superkondenzátory.

Mezi hlavní výhody EMP patří zejména vysoká účinnost separace bez fázových přeměn, nižší spotřeba energie v porovnání s jinými technologiemi, snadná kontinualizace a automatizace EMP a možnost zavedení výrobního procesu s uzavřenými bezodpadovými uzly. Mezi hlavní nevýhody EMP patří nutnost zařazení předúpravy roztoků tak, aby byly odstraněny membránové jedy, které poškozují membránu. Dalším omezením EMP je existence foulingu a scalingu. Fouling představuje ucpávání membránových pórů částicemi. Scalingem se rozumí vytváření vrstvy málo rozpustných sloučenin na povrchu membrány, které je způsobeno krystalizací minerálních látek ze zpracovávaného roztoku [24].

Základním stavebním prvkem EMP je iontově výměnná membrána. Jedná se o tenkou fólii nebo desku zhotovenou z ionexu, přičemž hlavním cílem není klasická výměna iontů, ale kontrolovaný selektivní transport. Z hlediska funkce je dělíme na kationvýměnné a anionvýměnné. Často se setkáme i s označením katexové a anexové. Kationvýměnné membrány, které umožňují průchod kladně nabitých částic a brání průchodu záporně nabitých částic, mají ve struktuře zabudovanou záporně nabitou funkční skupinu. Anionvýměnné membrány, které umožňují průchod záporně nabitých částic a brání průchodu kladně nabitých částic, obsahují kladně nabitou funkční skupinu. Spojením a určitou modifikací kationvýměnné a anionvýměnné membrány se získá bipolární membrána. Dle struktury a způsobu přípravy pak rozlišujeme membrány homogenní a heterogenní. Stěžejním rozdílem je princip zabudování funkční skupiny do membrány. Homogenní membrána je tvořena jedním polymerem

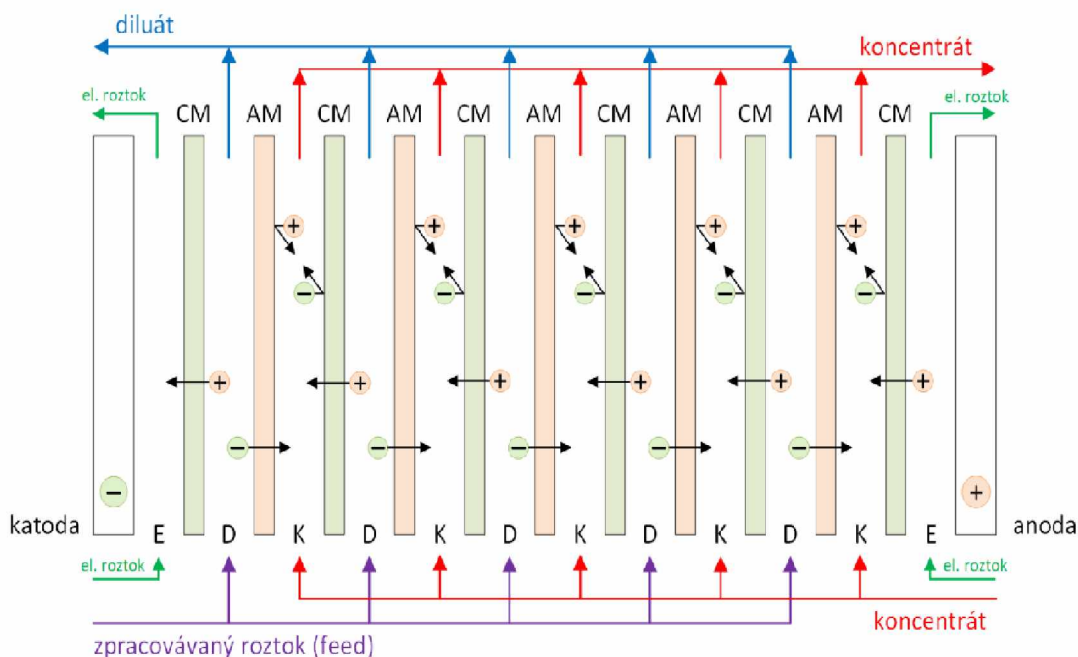
s chemicky vázanou funkční skupinou, zatímco heterogenní membrána vzniká homogenizací namletého ionexu a inertního polymeru a jedná se zde o vazbu fyzikální.

Mezi základní charakteristiky iontově výměnné membrány patří bobtnavost, iontově výměnná kapacita, iontová vodivost, permeabilita a permselektivita. Permselektivita je veličina udávající podíl náboje přeneseného protiionty z celkově přeneseného náboje. Určuje se tím, jak dobře membrána selektivně odděluje kationty od aniontů. Čím je permselektivita vyšší, tím je proces kvalitnější. Může dosáhnout hodnoty až 99 %, ovšem její hodnota klesá s rostoucí koncentrací iontů vnějšího roztoku [25] [26].

1.5.1 Elektrodialýza (ED)

Elektrodialýza je elektromembránová separační metoda. V procesu se odstraňují z roztoku ionty za použití stejnosměrného elektrického napětí vkládaného na systém střídajících se kationvýměnných a anionvýměnných membrán, umístěných mezi stahovacími deskami elektrod. V elektrickém poli putují anionty vlivem gradientu elektrochemického potenciálu ke kladné elektrodě skrze anionvýměnné membrány (AM) a jsou zastaveny kationvýměnnými membránami (CM). Naopak kladně nabitě kationty putují skrze kationvýměnné membrány k záporné elektrodě a jsou zastaveny anionvýměnnými membránami. V koncentrátové komoře proudí roztok s disociovanými ionty, tj. koncentrát, a v diluátové komoře proudí odsolený roztok neboli diluát. Transport komorami je zajištěn tzv. rozdělovači neboli spacery. Rozdělovače mají síťovou výplň, která umožňuje rovnoměrné rozprostření zpracovávaného roztoku po celé ploše membrán, zároveň zajišťují mechanickou stabilitu svazku a vytváří pracovní komory. Roztoky diluátu a koncentrátu z jednotlivých komor jsou slučovány do diluátového, respektive koncentrátového proudu. Třetím proudem je elektrodový roztok, který omývá povrch elektrod a odvádí plyny vznikající při elektrodových reakcích. Jako elektrodový roztok se používá vodný roztok elektrochemicky inertního elektrolytu, nejčastěji roztok Na_2SO_4 a NaNO_3 [24] [27] [28].

Funkčním celkem ED je modul neboli membránový svazek stažený mezi stahovací desky s elektrodami. Svazek se skládá z opakujícího se vzoru CM-rozdělovač-AM-rozdělovač. ED se provádí ve vsádkovém režimu (batch), jednoprůchodovém režimu s částečnou recyklací (feed and bleed) a v kontinuálním jednoprůchodovém režimu (single pass). Zařízení pro technickou realizaci procesu ED se nazývá elektrodialyzér. Princip ED je schematicky znázorněn na Obrázku č. 4.



Obrázek č. 4: Schéma konvenční ED. Upraveno dle [28]

CM – kationvýměnná membrána, D – diluátová komora, AM – anionvýměnná membrána,
K – koncentrátová komora

Výkon elektrodialýzy je určen stupněm odsolení a proudovou účinností. Stupeň odsolení φ představuje míru relativního poklesu koncentrace solí v diluátovém roztoku na výstupu oproti počátku. Je důležitou výkonovou charakteristikou ED a je definován následovně:

$$\varphi = \left(1 - \frac{c_D}{c_F}\right) \cdot 100 [\%] \quad (3)$$

kde φ je stupeň odsolení [%], c_F [mol.dm⁻³] je koncentrace solí ve zpracovávaném roztoku (feedu) na vstupu, c_D [mol.dm⁻³] je koncentrace solí ve zpracovávaném roztoku (diluátu) na výstupu. Analogickou veličinou ke koncentraci pro výpočet stupně odsolení je specifická (měrná) vodivost roztoku κ [S.m⁻¹]. Jelikož stupeň odsolení φ je bezrozměrná veličina, nezáleží na jednotkách vyjádření koncentrace (specifické vodivosti), a spadá tedy do intervalu hodnot 0–1 [29].

Elektrodialýza je v současnosti nejrozšířenějším elektromembránovým procesem a nabízí široké možnosti využití. Z hlediska výsledného produktu rozlišujeme procesy koncentrační a demineralizační. Při koncentračních procesech je žadáným produktem koncentrát solí po ED. Příkladem je výroba NaCl z mořské vody. Naopak při demineralizačních procesech je požadovaným produktem roztok diluátu. Typickým příkladem je neselektivní odstraňování solí

z podzemní, brakické a komunální vody pro potřeby výroby pitné vody. Tato aplikace je v průmyslovém měřítku využívána již od padesátých let a s různými modifikacemi se dodnes používá. Nevýhodou ovšem je, že se při ED se neodstraní částice bez náboje, jako jsou mikroorganismy a organické kontaminanty. Navíc aby ED zůstala ekonomicky efektivní, nesmí být koncentrace látek ve vodě příliš vysoká. Požadavek na vysoký stupeň odsolení rovněž celý proces zdražuje. Použití ED v demineralizaci vod se tak vyplatí pouze v určitém koncentračním rozmezí rozpuštěných solí [28].

Na počátku 21. století se s přichozím trendem zvyšování ekologičnosti a ekonomičnosti výrobních procesů rozšířilo využití ED k čištění odpadních vod, k recyklaci a regeneraci průmyslových vod a k odstranění dusičnanů a fluoridů z podzemních vod. Dále se v průmyslu ED využívá k separaci organických a anorganických látek (tj. elektrolytů od neelektrolytů). Uplatnění nachází i ve farmaceutickém a papírenském průmyslu [30].

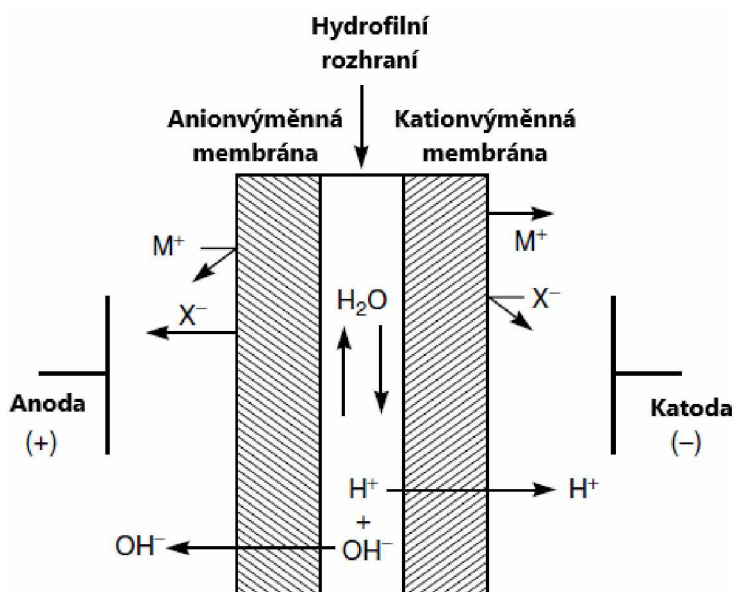
V potravinářském sektoru dominuje použití ED za účelem demineralizace mléčné syrovátky. Vedlejší procesy zahrnují odstraňování solí z roztoků cukrů a bílkovin, odkyselení džusů, stabilizaci vín, a také odstraňování organických kyselin a určitých aminokyselin z fermentace z roztoku [28].

Další využití nachází ED při modifikaci standardní struktury membránového svazku (viz Obrázek č. 4). Příkladem je využití elektrodialyzéru jako kontinuálního měniče iontů, kdy se v membránovém svazku nachází pouze jeden druh iontovýměnné membrány. Díky tomuto uspořádání lze realizovat proces změkčování vody a odkyselování ovocných džusů elektrodialýzou [31].

Mezi nežádoucí jevy u ED patří efekt koncentrační polarizace, který je způsoben rozdílnou koncentrací iontů v roztoku a na povrchu membrány. Dalším omezením ED je již zmíněný scaling a fouling. Tento problém lze efektivně řešit reverzací polarit elektrod, kdy dochází k periodické změně směru elektrického proudu a tím pádem toku solí, což vede k vyplavení plaku z povrchu membrány. Důležitou prevencí je taktéž sanitace membrán zředěnými kyselinami a zásadami pomocí metody CIP (Cleaning-In-Place) [29].

1.5.2 Elektrodialýza s bipolárními membránami (EDBM)

EDBM je kombinací konvenční ED s bipolárními membránami. Jak již bylo zmíněno výše, bipolární membrány nemají separační charakter, ale slouží jako zdroj iontů H^+ a OH^- , jelikož na úzkém hydrofilním rozhraní kationvýměnné a anionvýměnné membrány umožňují disociaci molekul vody. Schematicky je tento proces znázorněn na Obrázku č. 5. Bipolární membrány se používají v ED svazku společně s konvenčními unipolárními membránami.



Obrázek č. 5: Schéma štěpení vody na rozhraní CM a AM u bipolární membrány.

Upraveno dle [32]

První průmyslovou aplikací EDBM na konci osmdesátých let byla výroba kyselin a zásad z roztoků solí. To znamená, že např. z vodného roztoku NaCl lze efektivně vyrábět NaOH a HCl. V nedávné době se aplikační potenciál začal rozšiřovat. EDBM umožňuje inhibici enzymu v jablečném džusu za účelem potlačení enzymatického hnědnutí a také šetrnou izolaci sójových bílkovin. V práci Merkela a kol. byla EDBM využita pro úpravu pH demineralizovaného roztoku syrovátkového bílkovinného koncentrátu po ED [33].

Nevýhodou EDBM je vysoká cena a nízká životnost bipolárních membrán [24].

1.5.3 Elektrodialýza pro podvojnou záměnu – metatézi (EDM)

Jedná se o další obměnu klasické ED. Tato metoda si zachovává konvenční skládací schéma ED (viz Obrázek č. 4), ale liší se v počtu hlavních hydraulických proudů – pracuje se dvěma diluátovými a dvěma koncentrátovými proudy. V takovém typu elektrodialyzéru lze provádět podvojnou záměnu neboli metatézi.

Termín metatéze označuje reakci pro vzájemnou výměnu iontů mezi reaktanty. Obecně ji lze zapsat následovně:



kde všechny reaktanty a produkty představují iontové nebo kovalentní sloučeniny. Při provedení podvojně záměny s využitím ED kationty z prvního diluátu tvoří sloučeninu s anionty z druhého diluátu a vytváří tím první koncentrátový proud. Stejně tak kationty z druhého diluátu tvoří sloučeniny s anionty z prvního diluátu a vytváří druhý koncentrátový proud.

Bylo zjištěno, že díky tomuto principu je EDM efektivnější metodou při odsolování brakických vod než ED a RO [34]. Dalšími aplikacemi EDM je například konverze $MgCl_2$ a Na_2SO_4 na $MgSO_4$ a $NaCl$ nebo syntéza dusičnanu draselného z $NaNO_3$ a K_2SO_4 .

1.5.4 Elektrodeionizace (EDI)

Elektrodeionizace je elektromembránová hybridní metoda, kombinující ED s vyplněním diluátových komor tzv. mixbedem. Mixbed je směs silně kyselého katexu a silně bazického anexu ve formě sférických zrn. Toto uspořádání intenzifikuje proces ED, která již není účinná při demineralizaci málo vodivých roztoků. Díky EDI lze dosáhnout hluboké demineralizace – používá se pro přípravu ultračisté vody s konduktivitou $0,055\text{--}0,2 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.⁵ Narozdíl od konvenčních ionexových technologií je EDI je kontinuální proces, který poskytuje konstantní kvalitu produkované vody [24].

1.5.5 Elektroforéza (EFC)

Podstatou elektroforézy je elektroforetické nanášení laků za účelem antikorozi ochrany kovových výrobků. Při EFC je aplikací iontovýměnné membrány v elektrickém poli nanášena buď kladná (kataforéza) nebo záporná (anaforéza) složka disociované barvy na kovové materiály. Iontovýměnné membrány v procesu slouží k automatické kontrole pH. EFC je dominantní technologií pro povrchové úpravy v automobilovém, spotřebním a elektronickém průmyslu [31].

⁵ Pitná voda má vodivost mezi 200 až 800 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ [65].

1.6 Příprava koncentráту syrovátkových bílkovin pro různá uspořádání EMP a UF

Při výrobě syrovátkového prášku, respektive práškového WPC, dochází po odstranění vody k značnému nárůstu obsahu minerálů vzhledem k sušině. Zvýšený obsah minerálů je ovšem v potravinářských aplikacích nežádoucí. Kontrolovanou demineralizací syrovátky lze eliminovat nepřiměřenou slanou chuť produktu a snížit obsah minerálů na určitou hladinu.

Díky tomu lze syrovátkový prášek využít v kojenecké výživě, kde se používá syrovátka demineralizovaná ze 70 až 90 %. Maximální obsah minerálních látek v kojenecké výživě je striktně regulován. Směrnice komise 2006/141/ES ze dne 22. prosince 2006 o počáteční a pokračovací kojenecké výživě a o změně směrnice 1999/21/ES striktně předepisuje minimální a maximální hodnoty obsahu všech složek obsažených v syrovátkových produktech pro kojence. Je zde uvedeno, že „počáteční kojenecká výživa je jediná vyráběná potravina, která plně uspokojuje výživové požadavky kojenců během prvních měsíců jejich života do zavedení vhodných příkrmů. Pro ochranu zdraví těchto kojenců je nezbytné zajistit, aby jediným výrobkem uváděným na trh jako vhodným pro toto použití v daném období byla počáteční kojenecká výživa“. Zároveň „základní složení počáteční a pokračovací kojenecké výživy musí vyhovovat výživovým požadavkům zdravých kojenců, jak byly prokázány obecně uznávanými vědeckými poznatky“. Dle Článku 4 této směrnice nesmí počáteční a pokračovací kojenecká výživa obsahovat žádnou látku v takovém množství, které by ohrozilo zdraví kojenců a malých dětí, což jasně demonstruje riziko poškození zdraví kojence např. při nadbytečném obsahu minerálních látek. U počáteční kojenecké výživy vyrobené z hydrolyzovaných bílkovin je specifikován maximální obsah popela pro 63% izoláty syrovátkových bílkovin na 3 % hm. a pro 37% bílkovinné koncentráty na nejvýše 3,5 % hm. [35].

Pro ostatní potravinářské aplikace stačí pro omezení slané chuti produktu použít syrovátku demineralizovanou z 20 až 50 %. Pro účely výroby krmiv je dostačující 60% odsolení. Demineralizací syrovátky se zároveň získávají či zlepšují její prospěšné funkční a sensorické vlastnosti. Jedná se především o zlepšení emulgačních a disperzních vlastností, smáčitelnosti, termostability a také snížení hygroskopicity a tendence bílkovin k shlukování [36]. Nejčastěji se demineralizovaná syrovátka přidává do produktů kojenecké výživy, mražených krémů či pekařských výrobků [37].

Udává se, že soli zaujímají okolo 10 % z celkového množství sušiny v syrovátce. Na trhu jsou dostupné syrovátkové produkty s obsahem 4,0 %, 2,5 % a 1,0 % popela v sušině, což odpovídá

komerčně označeným stupňům odsolení syrovátky D50, D70 a D90. Obsah minerálů v syrovátce lze snížit několika způsoby. Využívá se nanofiltrace (NF), iontová výměna (IEX) a elektrodialýza (ED) [38]. Využití jedné nebo kombinací uvedených technologií lze dosáhnout požadovaného stupně odsolení, viz následující tabulka.

Tabulka č. 4: Účinnost demineralizačních technologií. Upraveno dle [39]

Technologie	NF	NF + ED	NF + ED + IEX
Stupeň odsolení [%]	30–35	50–70	> 90
Obsah laktózy [% sušiny]	< 74	74–77	> 80
Obsah popela [% sušiny]	> 5	4,0–2,5	< 1

ED syrovátky probíhá většinou ve vsádkovém režimu po předchozím zahuštění odparem, reverzní osmózou či pomocí nanofiltrace [2]. Firma MEGA a.s. disponuje výrobním postupem pro úpravu syrovátky elektrodialýzou, při kterém je možné obdržet produkty s různým zastoupením bílkovin a minerálů. Vedlejším výrobním postupem je produkce laktózy. Mimo to lze odsolovat i UF permeát vznikající při výrobě WPC (WPI) a matečný roztok po krystalizaci laktózy. Obvykle se elektrodialýzou ze syrovátky odstraní při každém průchodu elektrodialyzační jednotkou zhruba 10 % z celkového obsahu solí. Opakovaným průchodem se jich může odstranit až 90 %. Míra odsolení jednotlivých iontů závisí na jejich velikosti a na velikosti náboje. Nejvyšší je u draslíku, podstatně nižší je u vápníku [40]. Snadno se odstraňují kationty K^+ , Na^+ , anionty Cl^- , SO_4^{2-} , pomaleji pak Ca^{2+} , Mg^{2+} a $H_2PO_4^-$, citráty a mléčnany.

Při demineralizaci syrovátky vzniká vedle hlavního diluátového proudu i proud vedlejší, ve kterém se koncentrují transportované soli. Koncentrát těchto solí obsahuje mimo jiné i soli, které mohou být za definovaných podmínek špatně rozpustné či dokonce nerozpustné. Nejčastěji se jedná o řady solí fosforečnanů vápenatých a hořečnatých ($H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} , PO_4^{3-}). Nerozpustné soli (HPO_4^{2-} a PO_4^{3-}) se mohou usazovat na membránách, rozdělovačích a v potrubí ED jednotky, a tím značně komplikovat celý proces. Přítomnost nerozpustných solí je značně závislá na pH roztoku a jejich koncentraci. Experimentálně je ověřeno, že účinnou prevencí je ředění roztoku koncentrátu vodou a udržování pH pod hodnotou 5,5. Při těchto podmínkách jsou v roztoku přítomné převážně rozpustné soli $H_2PO_4^-$ [41].

Demineralizace syrovátky při výrobě WPC se zařazuje volitelně dle požadavků na kvalitu konečného produktu. Lze tak vyrobit demineralizovaný WPC prášek nebo WPC prášek se zvýšeným obsahem minerálů. Společným znakem je zařazení tlakového membránového procesu. Jedná se o reverzní osmózu, nanofiltraci, ultrafiltraci a mikrofiltraci. Mikrofiltrace se používá k odtučnění, vyčeření syrovátky, odstranění bakterií a výrobě vysokoprocenního WPC metodou cross-flow, kdy je mikrofiltrace syrovátky předstupněm ultrafiltrace. Reverzní osmóza se používá k zahuštění syrovátky před ultrafiltrací a nanofiltrace k zakoncentrování syrovátky a demineralizaci. Stěžejním procesem je ovšem ultrafiltrace ve spojení s diafiltrací. Při ultrafiltraci syrovátky vznikají dva proudy. Nejdříve membrány zachytí syrovátkové bílkoviny a vzniká retentát. Skrze póry pak do permeátu přechází laktóza a minerální látky a další sloučeniny s nízkou molekulovou hmotností. Pomocí ultrafiltrace lze dosáhnout až čtyřicetinasobného zvýšení koncentrace syrovátkových bílkovin. Nejčastěji se pro UF syrovátky používají polymerní polysulfonové membrány, které zachovávají nativní strukturu bílkovin a vykazují dobré mechanické vlastnosti a termostabilitu.

Dále se zpravidla za účelem zvýšení výtěžku a zlepšení čistoty bílkovin zařazuje diafiltrace. Principem diafiltrace je kontinuální přídavek deionizované vody v určitém stupni zakoncentrování k retentátu. To zvyšuje průchod nebílkovinných složek skrze membránu, čímž se zvyšuje koncentrace bílkovin v sušině v retentátovém proudě. Kombinací ultrafiltrace a diafiltrace je technicky možné obdržet produkt s obsahem bílkovin v sušině více než 75 %. Je prokázáno, že účinek diafiltrace má větší efekt při několikanásobném přídavku menšího objemu vody než při jednorázovém přídavku velkého objemu vody [42].

Retentátový proud bohatý na bílkoviny po membránové separaci putuje do tepelného výměníku a odparky, kde se retentát zahustí. Dále je zahuštěný retentát veden do rozprašovací sušárny, kde po odstranění vody vzniká práškový syrovátkový bílkovinný koncentrát (WPC) [43]. Do práškového koncentrátu jsou v poslední fázi přidávány aditiva dle požadavků na kvalitu produktu. Mezi nejčastější aditivní látky se řadí sladidla, aromata, příchutě a enzymy.

Přestože proces ultrafiltrace, respektive proces ultrafiltrace s diafiltrací, zcela zastiňuje svými technologickými a ekonomickými benefity ostatní separační technologie, má i svá negativa. Největším problémem je ucpávání membránových pórů velkými molekulami bílkovin a s tím spojená tvorba filtračního koláče a prodloužení času ultrafiltrace. Dále je zde negativní fakt krátké životnosti membrán, které by se měly každoročně měnit. Navíc se při jejich každodenní údržbě spotřebovává velké množství chemikálií. Dále při ultrafiltraci dochází ke ztrátám

bílkovin s molekulovou hmotností menší než 10 kDa a bílkovinný koncentrát se ochuzuje o některé peptidy a aminokyseliny. Při použití diafiltrace navíc výrazně stoupá spotřeba deionizované vody. Řešení těchto negativních aspektů zdražuje celý proces [44].

Na trhu se nejčastěji setkáme se syrovátkovými bílkovinnými koncentráty WPC 34, WPC 75 a WPC 80/85, kde číslo za zkratkou označuje obsah bílkovin v prášku vztažený na sušinu. Typický prášek WPC 80 tak kromě jiného obsahuje i tuk (<5 %), laktózu (<6 %), popel (<4 %) a vlhkost (<5 %).

V současné době se každý rok na celém světě vyrobí okolo 250 milionů tun vysokoproteinových syrovátkových koncentrátů [13].

1.7 Termostabilita syrovátkového proteinového koncentrátu (WPC)

Syrovátkový proteinový koncentrát (WPC) je mléčný bílkovinný výrobek získaný oddělením bílkovin ze syrovátky s využitím membránových tlakových procesů. Obsah bílkovin v syrovátkových proteinových koncentrátech se pohybuje v rozmezí od 34–85 %, dále obsahuje laktózu a mléčný tuk. Jako syrovátkové proteinové izoláty (WPI) se označují produkty s obsahem bílkovin nad 90 % [45]. Nejčastěji se lze setkat s produktem, který je ve formě prášku.

Až 70 % hmotnosti sušiny WPC zaujímají bílkoviny β -laktoglobulin (50–60 %), α -laktalbumin (12–16 %). Tyto bílkoviny největší měrou ovlivňují fyzikálně-chemické vlastnosti WPC. Dalšími složkami jsou glykomakropeptid, sérový albumin, imunoglobulin a laktoferin. Tyto složky vykazují schopnost gelace, vázání vody, rozpustnost, pění a emulgace v potravinách. Ze všech vlastností je ale nejvýznamnější rozpustnost, neboť je nezbytným předpokladem pro všechny ostatní funkční a nutriční vlastnosti. Při kontaktu bílkovin s teplem se mohou tyto vlastnosti radikálně měnit – může docházet k denaturaci a agregaci bílkovin, protein-protein interakcím a Maillardovým reakcím. Tyto děje přímo ovlivňují kvalitu výsledného produktu. Proto jsou vyvíjeny metody, které by zabránily srážení bílkovin během tepelného zpracování [46]. Jako kritická teplota pro indukci agregátů se udává hodnota ≥ 75 °C [47].

Tepelná denaturace proteinů zahrnuje rozvinutí bílkovinné struktury a je následovaná agregací, která může být vratná i nevratná. Tepelně indukovaná agregace proteinů může navíc vést ke zvýšení zákalu, viskozity, precipitaci a gelaci. Tepelně indukovaná agregace syrovátkových proteinů je ovlivněna teplotou, iontovou silou roztoku (koncentrací a druhem solí), pH proteinového roztoku a případně přítomností organických rozpouštědel [48].

Tato práce je spojena především s výzkumem termostability bílkovin s ohledem na koncentraci a druh solí. Rozpustnost všech bílkovin, ale i dalších biomolekul je závislá na koncentraci rozpuštěných solí, která se vyjadřuje jako iontová síla I :

$$I = 0,5 \sum c_i z_i^2, \quad (5)$$

kde I [$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$] či [-] je iontová síla, c_i je látková [$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$] či relativní [-] koncentrace iontu i a z_i je náboj iontu i . Snižování rozpustnosti většiny bílkovin při vysoké koncentraci solí v roztoku se běžně používá pro tzv. vysolování. Nejnižší koncentrace solí, která vede k nestabilitě, se nazývá kritická koagulační koncentrace. V disperzích bílkovin se potvrzuje Schulze-Hardyho pravidlo o závislosti koagulační účinnosti elektrolytů na mocenství koagulujícího iontu, kdy koagulační účinnost jednomocných, dvojmocných a trojmocných koagulujících iontů je zhruba v poměru 1:60:700 [49].

V práci Unterhaslbergera a kol. bylo zjištěno, že přítomnost solí usnadňuje tepelnou agregaci proteinů tím způsobem, že ionty v roztoku snižují odpudivé síly mezi proteiny. Dvojmocné ionty jsou schopné vytvářet iontové můstky mezi dvěma sousedními karboxylovými skupinami z různých peptidových řetězců, zatímco monovalentní ionty toho nejsou schopny. Zároveň je zde předpoklad, že přítomnost těchto nábojových interakcí přispívá nejvyšší měrou k agregaci proteinů ve WPC disperzích [50]. To potvrzuje i studie Parrise a kol., ve které byla pozornost věnována vápenatému iontu, jakožto převládajícímu divalentnímu iontu v syrovátkových proteinových koncentrátech. V této studii bylo zjištěno, že při tepelné denaturaci při 70 °C po dobu 120 minut při sníženém obsahu Ca^{2+} solí, se tvořily více rozpustné a menší agregované částice ve srovnání s obvyklou koncentrací Ca^{2+} v syrovátkových proteinových koncentrátech [51]. Ve studii Schmitta a kol. o tepelně indukovaném vzniku mikrogelů syrovátkových bílkovin bylo zjištěno, že zvýšení koncentrace divalentních kationtů na začátku zahřívání může zvýšit výtěžek mikrogelů až o 15 % [52].

Novodobé studie se zaměřují na výzkum dalších metod zvyšující termostabilitu syrovátkových proteinů, které by potenciálně umožnily rozšířit jejich použití v mnohem širší škále potravinářských produktů. Principy jednotlivých metod se různí, ovšem ne všechny metody jsou vhodné pro kojeneckou výživu. Jedná se o metody založené na přidavku sacharidů, citrátu nebo polyfosfátu. Další metody využívají procesů enzymatického zesíťování, chelatace minerálů (např. vápenaté ionty pomocí CBS neboli Calcium-Binding Salts), ultrazvuku nebo metody vyvolávající modifikaci syrovátkových proteinů tak, aby se agregaci předcházelo [48].

1.7.1 Metody ověření termostability bílkovin

Metoda používaná v současnosti ve firmě MemBrain s.r.o.

Tato metoda vychází z teplotních zkoušek. Nezahuštěné vzorky (syrovátka, mléko) se použijí ve výchozím stavu, zahuštěné vzorky (roztok WPC) se zředí demineralizovanou vodou tak, aby výsledná sušina vzorku byla v rozmezí 6–10 %. Suchý produkt se rozpustí v demineralizované vodě na požadovanou sušinu. Poté se 100 ml roztoku zahřívá za stálého míchání (100 ot. min^{-1}) na magnetické míchačce s ohřevem a sleduje se teplota, při které dojde k vyvločkování bílkovin. Teplota ohřevu je při tom nastavena na $200 \text{ }^\circ\text{C}$. Po ukončení ohřevu je roztok či suspenze přemístěna do Petriho misky a položena na černou podložku. Za termostabilní se považuje produkt, ve kterém při zahřívání na $95 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 10 minut nedojde k vyvločkování bílkovin ani nedojde ke vzniku gelu.

Metody ověření termostability syrovátkových bílkovin v literatuře

Široce rozšířené jsou varianty teplotních zkoušek, které se liší teplotou lázně a dobou inkubace. Praktické je měření HCT (Heat Coagulation Time) neboli čas koagulace bílkovin od počátku záhřevu. Po teplotním záhřevu se někdy provádí odstředění a stanovení množství sedimentu, případně se stanovuje změna koncentrace bílkovin v supernatantu. Analýza agregovaných bílkovin využívá metod měření rozptylu světla, změny turbidity, viskozity či metod elektroforézy v polyakrylamidovém gelu.

V práci Hebishyho a kol. ověřovali termostabilitu syrovátkových bílkovin následovně. WPI prášek byl rekonstituován ultračistou vodou na obsah bílkovin 3 % (w/v) sušiny a pH 6,4. Disperze bílkovin o objemu 2,5 ml byla převedena do skleněné zkumavky a umístěna na 30 minut do olejové lázně o teplotě $95 \text{ }^\circ\text{C}$. Zkumavka byla protřepávána 8x za minutu. Poté byla zkumavka z lázně vyjmuta, pohledem zkontrolována. Pokud byly patrné vločky nebo agregáty bílkovin, vzorek byl označen jako termolabilní, v opačném případě za termostabilní [47].

V další práci byl proveden obdobný test, kdy byla teplota olejové lázně nastavena na $120 \text{ }^\circ\text{C}$. Test byl zastaven po vyvločkování bílkovin nebo bez koagulace po 125 minutách [53].

V práci Ince-Coskuna byly testu termostability podrobeny 2,5% (w/w) disperze WPI bílkovin za podmínek záhřevu na $90 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 30 minut. Pro další analýzu byly disperze ochlazeny na pokojovou teplotu. K vyhodnocení termostability byla ve vzorku určena distribuce velikosti

částic pomocí měření rozptylu světla a dynamická viskozita s využitím Ubbelohdeho viskozimetru [49].

Ke studiu termostability syrovátkových bílkovin a faktorů, které termostabilitu ovlivňují, může přispět i diferenční skenovací kalorimetrie (DSC). V práci [54] se získal DSC záznam záhřevu vzorku syrovátkových bílkovin o koncentraci 10 % (w/v) z teploty 10 °C na teplotu 130 °C. Jako reference byly použita destilovaná voda. Rychlosti ohřevu byly 2, 5, 10 a 20 °C.min⁻¹. Teplota denaturace bílkovin byla určena extrapolací teplot maximální odchylky při různých rychlostech ohřevu na nulovou rychlost ohřevu. Z teplotně denaturovaných bílkovin se tvoří bílkovinné agregáty, které se dále shlukují a způsobují precipitaci.

Po literární rešerši metod stanovení termostability nutno podotknout, že nejčastější metoda stanovení termostability syrovátkových bílkovin je založena na záhřevu v rozsahu 80–95 °C po dobu v rozsahu 10–30 minut.

1.8 Použité analytické metody

Měření pH vodných roztoků

Definice hodnoty pH je dána jako záporně vzatý logaritmus aktivity vodíkových iontů. Nejpresnější je měření pH pomocí pH-metrů. Jedná se o potenciometrické měření rovnovážného stavu galvanického článku, u kterého se napětí mění s hodnotou pH. Galvanický článek je v tomto případě tzv. kombinovaná elektroda – tvoří ji měrná skleněná elektroda a srovnávací elektroda (většinou argentchloridová). Elektrodový potenciál srovnávací elektrody je konstantní a známý, zatímco elektrodový potenciál skleněné elektrody je funkcí aktivity vodíkových iontů, a závisí tedy na hodnotě pH vodného roztoku [55] [56].

Měření konduktivity (měrné elektrické vodivosti)

Vodivost je sumární parametr pro koncentraci iontů měřeného roztoku. Konduktivita neboli měrná vodivost je převrácenou hodnotou odporu. Jednotkou konduktivity je S.m⁻¹. Častěji se ovšem používá jednotka S.cm⁻¹ a mS.cm⁻¹. Vodivost se měří prostřednictvím elektrochemického odporu konduktometrem. Měřicí cela se skládá ze dvou podobných elektrod. Vložení střídavého napětí na jednu elektrodu způsobí směrový pohyb iontů v měřeném roztoku mezi elektrodami. Čím více iontů roztok obsahuje, tím je větší proud mezi elektrodami. Konduktometr na základě Ohmova zákona nejdříve ze změřeného proudu vypočítá vodivost měřeného roztoku a po vztahení na parametry cely určí konduktivitu.

Důležitým parametrem ovlivňujícím konduktivitu je teplota – proto je důležité tento parametr zohlednit. Měřicí cely mají často vestavěné teplotní čidlo [57].

Určení titrační kyselosti

Titrační kyselost mléka, respektive syrovátky je vhodným měřítkem čerstvosti. Určuje se přitom obsah kyseliny mléčné měřením dle Soxlet-Henkela. Principem určení titrační kyselosti je alkalimetrická titrace 100 ml či 100 g mléka (syrovátky) 0,25 mol.l⁻¹ roztokem NaOH za použití indikátoru fenolftaleinu. Z byrety se titruje louhem do prvního růžového zbarvení, které je stálé. Dodnes se titrační kyselost udává v historických jednotkách °SH, což vyjadřuje objem odměrného 0,25 mol.l⁻¹ NaOH potřebného k neutralizaci [58].

Určení obsahu refraktometrické sušiny

Refraktometrická sušina vyjadřuje obsah rozpustné sušiny. Tou se rozumí obsah veškerých rozpustných látek ve vzorku, zejména cukrů a organických kyselin. Stanovení obsahu refraktometrické sušiny se provádí měřením digitálním refraktometrem. Digitální refraktometr je optický přístroj pro měření indexu lomu a následnou konverzi na °Brix ve vodných roztocích. Obecně měření stupňů Brix spočívá ve stanovení obsahu čisté sacharózy ve vodě:

$$1 \text{ stupeň Brix (°Bx)} = 1 \text{ g sacharózy / ve 100g roztoku} \quad (6)$$

Stupnice Brix se používá k měření cukernatosti v mnoha situacích, ovšem jen zřídka se jedná o čisté roztoky sacharózy, což může vést k chaotickým interpretacím. Často se měří °Bx pomerančových džusů, nealkoholických nápojů, ovocných šťáv, rajčatových koncentrátů a také syrovátky. Tyto roztoky tedy kromě sacharózy obsahují další složky ovlivňující měření. V těchto případech má měření orientační charakter a používá se termín „zdánlivé stupně Brix“ a určuje obecně množství rozpuštěných pevných látek v kapalině (refraktometrická sušina). Vzorky se měří po jednoduché kalibraci přístroje demineralizovanou vodou, při které musí být výsledek 0 °Bx. Při samotném měření během několika vteřin přístroj změří index lomu vzorku a převede ho °Bx. Při měření je důležité udržovat konstantní teplotu, jelikož změna teploty o 1 °C může způsobit změnu až o 0,1 °Bx [59] [60].

2 Experimentální část

Na základě poznatků z teoretické části bylo cílem této práce upravit naturální syrovátku tak, aby se snížil obsah minerálů, zejména vápenatých iontů, před ultrafiltrací a následně byl připraven termostabilní syrovátkový proteinový koncentrát.

2.1 Metody, přístroje, chemikálie

Chemikálie: naturální nezahuštěná syrovátka (Moravia Lacto a. s.), elektrodotový roztok – 10 g.l^{-1} KNO_3 pro standardní testy a 20 g.l^{-1} Na_2SO_4 pro solné testy, chemické čištění – 1–3% NaOH a 1–3% HNO_3 , 3% roztok HNO_3 pro úpravu pH koncentráту, zdrojový roztok pro parciální změkčení – 12 g.l^{-1} KCl , titrační kyselost – $0,25 \text{ mol.l}^{-1}$ NaOH a 1% etanolvý roztok fenolftaleinu, kapalný alkalický přípravek pro membránové zařízení P3- Ultrasil[®] 112 a kapalný kyselý přípravek pro membránové zařízení P3-Ultrasil[®] 73, 50% NaOH pro úpravu pH před ověřením termostability WPC, demineralizovaná voda

Přístroje: elektrodialyzační jednotka P EDR-Z (výrobce MemBrain s.r.o.), speciální modul o složení 10x (CM-AM-CM) pro úpravu poměru dvojmocných a jednomocných iontů, modul o složení 10x (CM-AM)-CM pro konvenční elektrodialýzu, membrány typu Ralex[®] CMH-PES, šarže č. 58318 a AMH-PES, šarže č. 5833 9, kryostat Julabo CF41 s chladicími spirálami umístěnými v zásobnících s roztoky, ultrafiltrační jednotka MMS SW18 č. 1780 od firmy MMS AG Membrane Systems s ultrafiltrační PES membránou typu ST-2B-1812, spacer 31 mil (0,79 mm), membránová plocha $0,288 \text{ m}^2$ od firmy Synder Filtration

V průběhu testů bylo měřeno (respektive byly použity tyto přístroje):

- měrná vodivost, pH a teplota – přístroj pro měření vodivosti a pH pH/Cond 340i (Xylem Analytics Germany Sales GmbH & Co)
- refraktometrická sušina – digitální refraktometr HANNA HI 96801 (Hanna Instruments Czech s.r.o.)
- hustota – hustoměr Mettler Toledo Densito 30PX (Mettler Toledo s.r.o.)
- hmotnost – laboratorní váhy Kern 572 (Kern & Sohn GmbH)
- titrační kyselost – titrace $0,25 \text{ mol.l}^{-1}$ NaOH s automatickou byretou Hirschmann Solarus DE-M 17 (Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co)

2.2 Standardní solné testy

Standardní solný test (SST) slouží k ověření správnosti chodu ED zařízení. Nejdříve byly složeny dva membránové svazky – jeden pro ED a druhý speciální pro ED k úpravě poměru iontů (parciální změkčení). Svazek pro ED byl sestaven dle běžného skládacího schématu 10x (CM-AM)-CM, kde jsou střídající se kationvýměnné a anionvýměnné membrány odděleny rozdělovači o tloušťce 0,8 mm a svazek obsahuje 10 membránových párů. Efektivní plocha membránových párů ve svazku byla 0,064 m², celková plocha membrán 0,1344 m². Speciální svazek byl složen dle nového schématu 10x (CM-AM-CM) a obsahoval 10 membránových tripletů. Efektivní plocha membránových tripletů ve speciálním svazku byla 0,064 m², celková plocha membrán 0,192 m². Se svazkem pro konvenční ED byl proveden solný test, který byl proveden na základě Standardního operačního postupu SOP č. T015 firmy MemBrain s.r.o [61]. Test sloužil jako vstupní kontrola ED modulů před samotnými testy se surovinou a zároveň se ověřila kondice iontovýměnných membrán. První částí solného testu byl hydraulický test, při kterém se určovala vnější těsnost modulu (úkap) a vnitřní těsnost modulu (přetok) za daných podmínek. Druhou částí byl samotný standardní solný test (SST), kterým se běžně ověřuje membránová kondice. K testu byl použit roztok Na₂SO₄ o koncentraci 20 g.l⁻¹ a vodivosti v rozmezí 20,4–21,6 mS.cm⁻¹, dávkovaný do všech okruhů elektrodialyzační jednotky. SST se ukončil při dosažení vodivosti 1 mS.cm⁻¹ v diluátovém okruhu. Byl proveden jeden test v polaritě pozitiv a druhý v polaritě negativ. Obdobně byl proveden SST modulu i po ukončení testů demineralizace syrovátky. SST byl proveden pouze u svazku pro ED, jelikož speciální svazek měl specifické uspořádání. Obsahoval ovšem membrány totožné šarže, a proto zde nebylo třeba SST provádět. U modulu se speciálním svazkem proto byly provedeny pouze hydraulické testy vnější a vnitřní těsnosti.

Hydraulický přetok při testu nesmí být u standardní jednotky EDR-Z/2x10-0,8 vyšší než 4 g.h⁻¹, hydraulický úkap nesmí být vyšší než 6 g.h⁻¹. Jelikož pro speciální svazek pro parciální změkčení EDR-Z/3x10-0,8 s tripletety nejsou definována kritéria pro úkap a přetok, stanovila jsem je vynásobením maximálních hodnot pro standardní svazek EDR-Z/2x10-0,8 faktorem „1,5“, který vyjadřuje poměr počtu membrán u těchto dvou svazků. Znamenalo to, že u modulu EDR-Z/3x10-0,8 s tripletety nesměl být přetok vyšší než 6 g.h⁻¹ a hydraulický úkap nesměl být vyšší než 9 g.h⁻¹. Co se týká výkonnostních parametrů samotného solného testu, doba (t) odsolení roztoku Na₂SO₄ o koncentraci 20 g.l⁻¹ a specifické vodivosti v rozmezí 20,4 až 21,6 mS.cm⁻¹ nesmí překročit 60 minut, hmotnostní tok solí J_s musí být vyšší nebo roven 0,33 kg_{solí}.m⁻².h⁻¹. Dále maximální spotřeba energie E je stanovena na 430 Wh.kg⁻¹ a minimální

proudová účinnost η na 90 %. Odchylka hmotností bilance Δm musí být v rozmezí $\pm 2,5 \%$ [61].

V následující tabulce jsou uvedeny podmínky solných testů.

Tabulka č. 5: Provozní podmínky solných testů

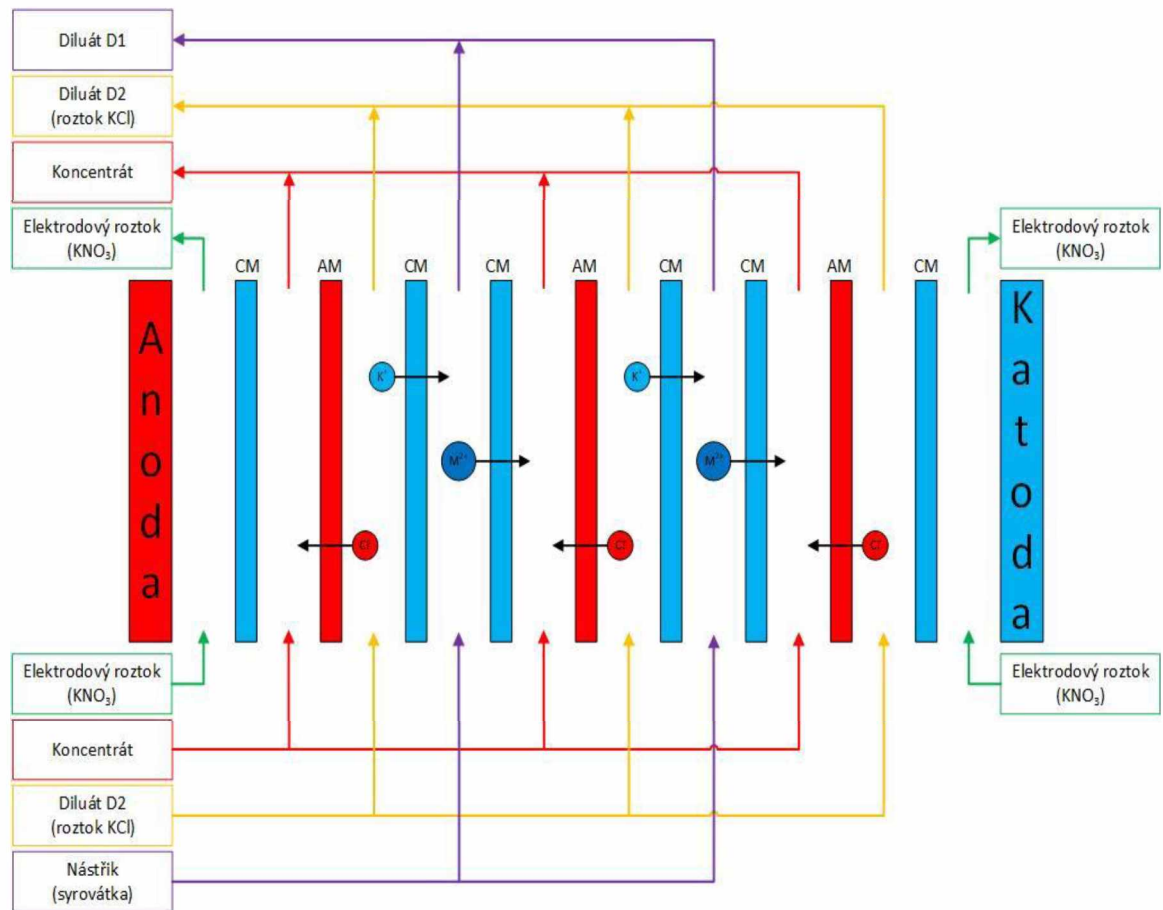
	Označení okruhu	D1	C2	E
Solný test	Průtok [$\text{l}\cdot\text{h}^{-1}$]	50	50	50
	Hmotnost [kg]	1	1	0,25
	Režim	Vsádka	Vsádka	Vsádka
	Roztok	Na_2SO_4	Na_2SO_4	Na_2SO_4
	Teplota [$^\circ\text{C}$]	25 ± 1	25 ± 1	25 ± 1
	Napětí [V]	$1,0\cdot\text{pár}^{-1}$		

2.3 Předúprava a demineralizace sladké syrovátky

Vstupní surovinou pro elektrodialýzu byla přírodní nezahuštěná sladká syrovátka z mlékárny Moravia Lacto a.s. Jihlava, která byla během testů uchovávána při teplotách okolo $5\text{ }^\circ\text{C}$. Byla použita syrovátka ze dvou várek (syrovátka S1 a S2), což znamenalo, že se počáteční složení syrovátky při testech mírně lišilo. Z důvodu omezení mikrobiálního růstu a degradace organických složek byly experimenty prováděny při teplotě okolo $15\text{ }^\circ\text{C}$. Při této teplotě je odsolování dostatečně rychlé, ovšem platí, že čím nižší teplota, tím menší výkon. Teplota $15\text{ }^\circ\text{C}$ je kompromis mezi rychlostí odsolování a nárůstem mikroorganismů. Na začátku všech testů byla prováděna základní analytická stanovení vstupní suroviny – feedu (F), což byla měrná vodivost, pH, teplota, titrační kyselost, refraktometrická sušina a hustota. Stejná stanovení proběhla u finálního diluátu. Taktéž byla určena měrná vodivost, pH a teplota u finálního koncentráту. Při parciálním změkčení byla navíc měřena počáteční a koncová vodivost a hustota roztoku KCl.

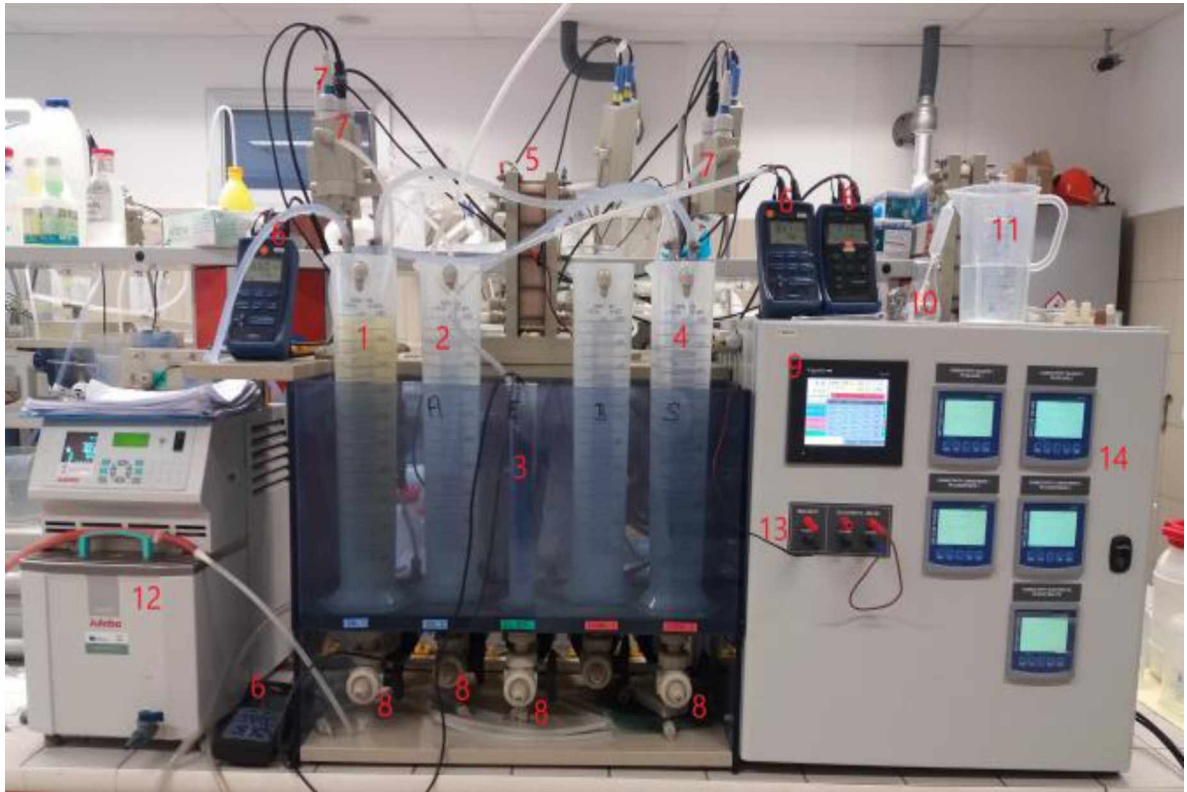
Cílem první části laboratorních testů nebyla demineralizace syrovátky, ale úprava jejího minerálního profilu pomocí elektrodialýzy ve speciální konfiguraci pro parciální změkčení. Tento proces byl uskutečněn na víceokruhové elektrodialyzační jednotce vybavené modulem EDR-Z/3x10-0,8 s 10 triplety. Jak bylo zmíněno dříve, pro mnohé technologické úpravy syrovátky a WPC je důležitá tepelná stabilita obsažených bílkovin, která přímo souvisí s koncentrací minerálních látek, především vápenatých solí Ca^{2+} . Představa parciální záměny s dvěma diluátovými okruhy D1 a D2 byla navržena s cílem snížení poměru dvojmocných ku jednomocným iontům. V okruhu D1 cirkulovala syrovátka a v okruhu D2 roztok KCl o

počáteční koncentraci 12 g.l^{-1} . Jako elektrodotový roztok (E) byl použit roztok dusičnanu draselného o koncentraci 10 g.l^{-1} . V koncentrátovém okruhu (C2) na počátku proudila demineralizovaná voda, přičemž v průběhu ED přecházela na vodný roztok solí. Obecné schéma sestavení membránového modulu pro tento proces je znázorněno na Obrázku č. 6.



Obrázek č. 6: Schéma ED pro parciální změkčení. Upraveno dle [3]

Samotné zapojení elektrodialyzéru pro tento proces je znázorněno na Obrázku č. 7, popis jednotky je uveden v legendě v Tabulce č. 6.



Obrázek č. 7: Zapojení elektrodialyzační jednotky pro parciální změkčení syrovátky

Tabulka č. 6: Komponenty elektrodialyzační jednotky

Komponenty elektrodialyzační jednotky			
1	Zásobník pro syrovátku (D1)	8	Trojcestné ventily
2	Zásobník pro roztok KCl (D2)	9	Ovládací panel
3	Zásobník pro elektrodotový roztok (E)	10	3% roztok HNO ₃ pro úpravu pH koncentrátu
4	Zásobník pro koncentrát (C2)	11	Demineralizovaná voda pro ředění koncentrátu
5	Membránový svazek stažený deskami	12	Kryostat
6	Sondy pro měření pH, vodivosti a teploty	13	Voltmetr
7	Cely pro umístění sond	14	Zdroj napětí

Předpokládalo se, že při parciálním změkčení budou draselné ionty z okruhu D2 přecházet do okruhu D1, kde budou primárně nahrazovat vápenaté a hořečnaté ionty v syrovátce. Ty poté budou přecházet společně s ostatními ionty (Na^+ , K^+) do koncentrátu (C2). Byly provedeny 4 série testů parciálního změkčení, přičemž každá série zahrnovala tři až čtyři testy, které se lišily stupněm odsolení proudu D2 obsahujícího roztok KCl. Požadovaný stupeň odsolení zdrojového roztoku KCl byl indikován poklesem vodivosti tohoto roztoku ($\Delta\kappa$ v %) v rozmezí 20 až 80 %. Počáteční vodivost roztoku KCl se pohybovala okolo $20 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$. V následující tabulce jsou uvedeny podmínky testů pro parciální změkčení elektrodialýzou.

Tabulka č. 7: Podmínky testů parciálního změkčení elektrodialýzou

	Označení okruhu	D1	D2	C2	E
ED v konfiguraci pro parciální změkčení	Průtok [$\text{l}\cdot\text{h}^{-1}$]	56	56	56	50
	Hmotnost [kg]	2	2	0,4	0,25
	Režim	Vsádka	Vsádka	Vsádka	Vsádka
	Roztok	syrovátka	KCl	demi. H_2O	KNO_3
	Teplota [$^{\circ}\text{C}$]	15±1			
	Napětí [V]	1,7.triplet ⁻¹			
	Vodivost [$\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$]	x	x	<30	x
	pH	x	x	5,0–5,5	x

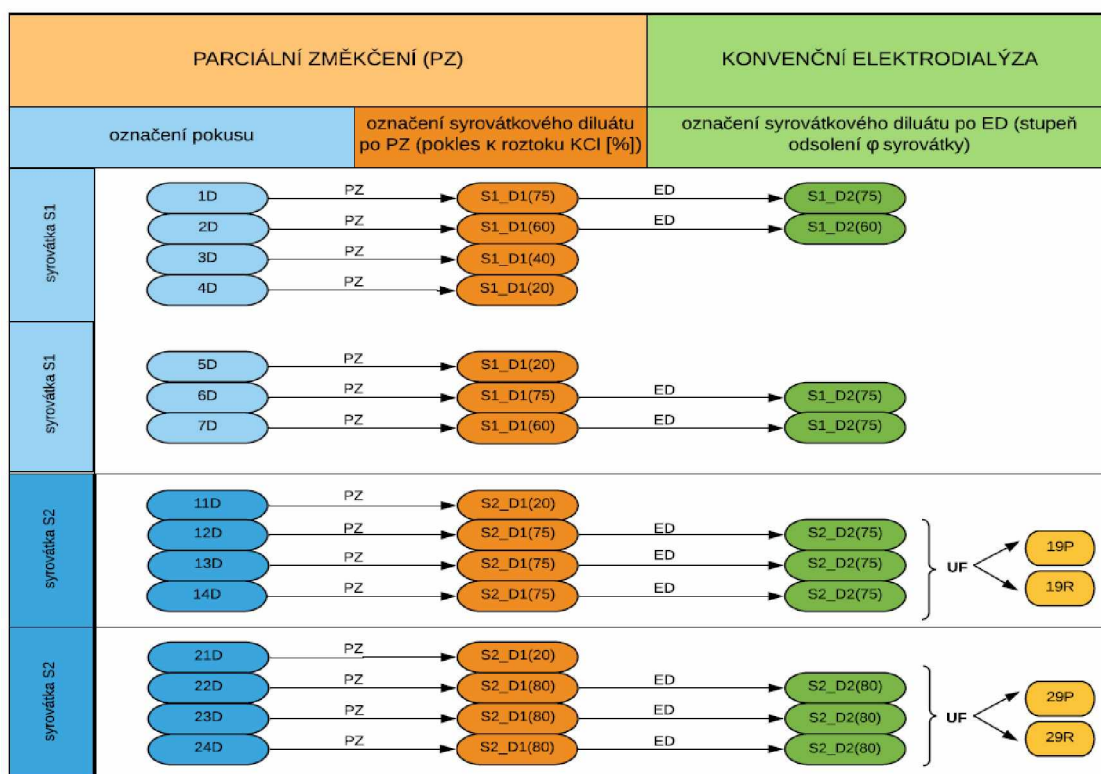
Předupravená syrovátka se změněným poměrem iontů se v druhé části demineralizovala konvenční elektrodialýzou na laboratorní jednotce vybavené modulem EDR-Z/2x10-0,8 do snížení vodivosti diluátu o 75–80 % ve třech sériích testů. Zapojení elektrodialyzéru pro ED bylo obdobné jako při úpravě syrovátky, viz Obrázek č. 7. Rozdílem bylo, že se nezapojoval okruh D2 a samozřejmě byl vyměněn svazek pro parciální změkčení za svazek pro konvenční ED (viz Obrázek č. 4). Do diluátového okruhu se dávkovala předupravená syrovátka ze speciální úpravy parciálním změkčením, do koncentrátového okruhu demineralizovaná voda a do elektrodového okruhu KNO_3 o koncentraci $10 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$. Opět se provádělo chlazení okruhů na $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Finální diluáty ze druhé a třetí série ED byly použity k ultrafiltraci a následnému testování termostability. Pro větší přehlednost je na konci této podkapitoly zařazeno schéma prováděných testů. V následující tabulce jsou uvedeny podmínky testů pro ED.

Tabulka č. 8: Podmínky konvenční ED

	Označení okruhu	D	C	E
Konvenční ED	Průtok [l.h⁻¹]	56	56	50
	Hmotnost [kg]	1,5	0,5	0,25
	Režim	Vsádka	Vsádka	Vsádka
	Roztok	Parciálně změkčená syrovátka	demi. H ₂ O	KNO ₃
	Teplota [°C]	15±1		
	Napětí [V]	1,0.pár ⁻¹		
	Vodivost [mS.cm⁻¹]	x	<15	x
	pH	x	5,0–5,5	x

V průběhu testů byla vodivost koncentráту udržována na hodnotě 30 mS.cm⁻¹ (pro parciální změkčení) a na 15 mS.cm⁻¹ (pro ED) přidavkem demineralizované vody a na pH < 5,5 (parciální změkčení i ED) přidavkem 3% kyseliny dusičné z důvodu prevence srážení fosforečnanů. Fosforečnany by se mohly usazovat na povrchu membrán, na rozdělovačích i v potrubních částech zařízení. Každých pět minut byly zaznamenávány hodnoty celkového napětí, napětí na svazku, elektrického proudu, vodivosti, pH a teploty všech médií. Po skončení každého testu byly zjištěny finální hmotnosti diluátu, koncentráту, elektrodového roztoku, přidané vody a kyseliny dusičné. Do vzorkovnic byly odebírány vzorky vstupního roztoku, diluátu a koncentráту (cca 300 ml) pro analytická stanovení v laboratoři Membránového Inovačního centra společnosti MemBrain s.r.o.

Před výměnou ED modulu parciálního změkčení za modul pro konvenční ED a naopak bylo vždy provedeno chemické čištění modulu (CIP – Cleaning In Place), které se skládá z následujících kroků: promývání demineralizovanou vodou 10 minut, promývání 1–3% HNO₃ 10 minut, promývání demineralizovanou vodou 10 minut, promývání 1–3% NaOH 10 minut, 2x promývání demineralizovanou vodou 10 minut a konečný proplach demineralizovanou vodou s úpravou pH pomocí zředěné HNO₃ na hodnotu 4–5. Proplach roztokem NaOH se používá k odstranění ulpěných proteinů na membránách a roztok HNO₃ odstraňuje minerály. Právě nepoužívaný modul byl uchováván v demineralizované vodě, aby nevyschly membrány a neměnily se jejich vlastnosti. Na následujícím obrázku je uvedeno již zmíněné schéma všech provedených testů.



Obrázek č. 8: Schéma všech provedených testů

2.4 Ultrafiltrace

Po ED následovaly dvě samostatné ultrafiltrace na ultrafiltrační jednotce MMS Bench Top SW18 č. 1780 od firmy MMS AG Membrane Systems s ultrafiltrační PES membránou typu ST-2B-1812, rozdělovačem tloušťky 31 mil (0,79 mm) a membránovou plochou 0,288 m² od firmy Synder Filtration (viz Obrázek č. 9). Objem pracovní nádrže jednotky je 10 litrů a tzv. mrtvý objem je cca 0,8–1,0 litru. Pracovní tlak je v rozsahu 1–40 bar a procesní teplota v rozsahu 5–80 °C. Maximální cirkulační průtok odpovídá 450 l.h⁻¹.



Obrázek č. 9: Ultrafiltrační jednotka MMS SW18

Byly provedeny dva experimenty ultrafiltrace. Vstupním roztokem pro první ultrafiltraci byly smíšené tři finální diluáty po ED demineralizované ze 75 % a vstupním roztokem pro druhou ultrafiltraci byly smíšené tři finální diluáty po ED demineralizované z 80 %. Roztoky byly dávkovány v množství cca 4 kg do jednotky. Po nastavení parametrů, kterými byly transmembránový tlak 1,5 bar, teplota 15 °C, požadovaný stupeň zahuštění vstupního roztoku VCF (Volume Concentration Factor) 4 a interval záznamu hodnot 30 sekund, se UF spustila. Na Obrázku č. 9 je znázorněna probíhající UF. Na vahách napojených na software jednotky je umístěna pětilitrová skleněná kádinka, do které je jímán roztok permeátu. Před začátkem UF je zadána hmotnost vstupního roztoku a společně s aktuální hmotností permeátu lze určit aktuální hodnotu VCF a UF ukončit při dosažení požadované hodnoty VCF. Během UF zaznamenává software jednotky v pravidelných intervalech hmotnost permeátu, tlak v jednotlivých částech jednotky, transmembránový tlak, objemový tok permeátu, teplotu a VCF. Po ukončení se vzduchem vyfoukly hydraulické okruhy permeátu a retentátu, roztoky se zvážily a byly odebrány vzorky k analýze. Jednotka byla nakonec vyčištěna kapalným alkalickým přípravkem pro membránové zařízení P3-Ultrasil® 112 a kapalným kyselým přípravkem pro membránové zařízení P3-Ultrasil® 73.

Během všech testů byly odebrány vzorky. Jednalo se o cca 200 ml roztoku nástříků, diluátů, koncentrátů, permeátů a retentátů. Tyto vzorky byly předány do laboratoří Membránového inovačního centra (MIC) pro zajištění detailního analytického rozboru.

V odebraných vzorcích bylo v laboratořích MIC stanoveno (respektive byly použity tyto přístroje):

- sušina – sušící váhy VWR MB 160 (VWR International, LLC) při 102 °C
- popel – vážkově spalováním v peci při 525 °C
- kationty Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, P_{celk.}, S – optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ICP-OES na iCAP 7000s (Thermo Fisher Scientific Inc.)
- anionty Cl⁻, NO₂⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻, PO₄³⁻ – iontová chromatografie na Dionex™ ICS-5000+ DC (Thermo Fisher Scientific Inc.)
- obsah laktózy – polarimetr P1000-LED (A.KRÜSS Optronic GmbH)
- organické kyseliny – kapilární izotachografie AGROFOR (výrobce JZD Odra)
- celkový dusík, hrubé, čisté bílkoviny – přístroj rapid MAX N EXCEED (Elementar Analysensysteme GmbH)
- stanovení nebílkovinného dusíku výpočtem

Stanovení celkového dusíku, hrubých a čistých bílkovin bylo provedeno na přístroji rapid MAX N EXCEED (Elementar Analysensysteme GmbH), jehož princip je založený na Dumasově metodě. Jedná se o pyrolýzu vzorku při 950 °C v nadbytku kyslíku. Po odstranění ostatních produktů splování (vodní pára, oxid uhličitý) jsou oxidy dusíku zredukovány na N₂, který je stanoven chromatograficky pomocí teplotně vodivostního detektoru. Jako nosný plyn je použito helium. Stanovení je s využitím tohoto přístroje velice přesné a splňuje mezinárodní normu ISO 14891:2002 [62].

Stanovení hrubých (celkových) bílkovin

Obsah hrubých bílkovin je určen na základě vynásobení hodnoty obsahu dusíku přepočítávacím faktorem 6,38, který je platný pro mléko a mléčné výrobky.

Stanovení čistých bílkovin

Obsah čistých bílkovin se určí po izolaci bílkovin srážením pomocí roztoku kyseliny trichloroctové. Ve sraženině se stanoví obsah dusíku a přepočte na obsah bílkovin. Tato metoda eliminuje přítomnost nízkomolekulárních nebílkovinných dusíkatých látek ve vzorku.

Stanovení nebílkovinného dusíku

Nebílkovinný dusík se určí jako rozdíl obsahu dusíku při stanovení hrubých a čistých bílkovin.

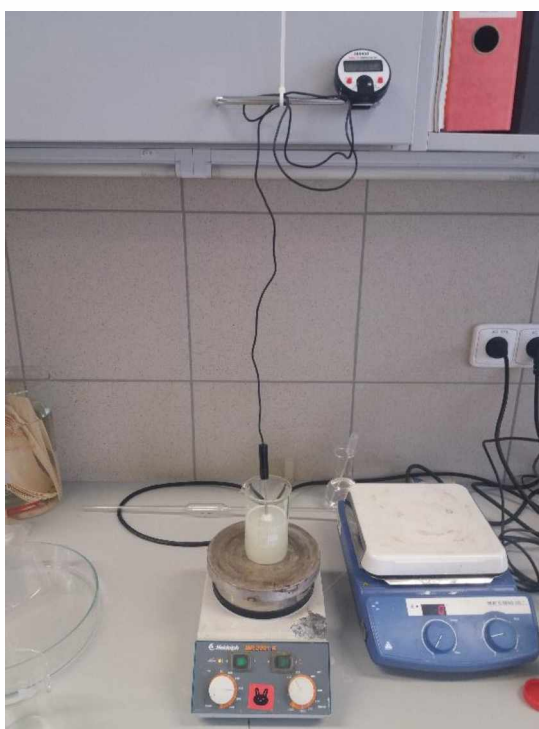
2.5 Termostabilita roztoku WPC

Termostabilita syrovátkových bílkovin byla testována pomocí metody uvedené v kapitole 1.7.1 Metody ověření termostability bílkovin. Tato metoda je současně využívána ve firmě MemBrain s.r.o. Při testech bylo použito magnetické míchadlo s ohřevem Heidolph MR 3001 K (Heidolph Instruments GmbH & CO) a digitální ponorný teploměr Bartscher (Bartscher GmbH).

2.5.1 Postup ověření termostability roztoku WPC

Nejdříve byla testována termostabilita retentátu bez úpravy pH. Dále byl testován přídavek 10% kyseliny citronové tak, aby pH retentátu kleslo o cca 0,5 jednotky pH. Nakonec bylo pH retentátu upraveno přídavkem 50% roztoku NaOH tak, aby hodnota pH vzrostla na hodnotu 6,8–7,1 (průměrná hodnota pH vstupní syrovátky byla 6,52). Pouze úprava pH pomocí přídávku 50% roztoku NaOH vedla k termostabilnímu produktu – tento postup byl dále využíván.

Samotné testování termostability vycházelo z teplotních zkoušek. Zahuštěný roztok retentátu (WPC) s upraveným pH (označení 19R a 29R) se zředil demineralizovanou vodou tak, aby výsledná sušina vzorku byla 6–10 %. Poté se 100 ml tohoto roztoku zahřívalo za stálého míchání 100 ot. min^{-1} a nastavené teplotě ohřevu $200 \text{ }^\circ\text{C}$. Následně se sledovala teplota, při které docházelo k vyvločkování bílkovin či gelaci. Retentát se u této metody považoval za termostabilní, pokud při zahřívání na $95 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 10 minut nebylo patrné vyvločkování bílkovin a nedošlo ke vzniku gelu. Na následujícím obrázku je zobrazena aparatura pro ověřování termostability roztoku WPC. Aparatura sestává z magnetického míchadla s ohřevem, digitálního ponorného teploměru, kádinky na testovaný vzorek a stopek.



Obrázek č. 10: Aparatura pro ověření termostability roztoku WPC

3 Výsledky a diskuze

3.1 Hydraulické testy a standardní solné testy

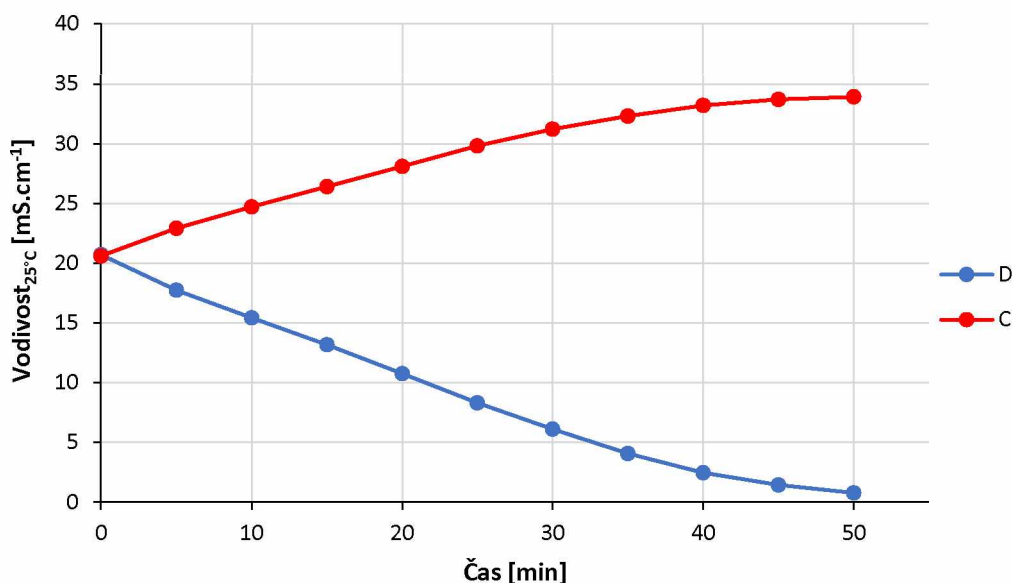
Hydraulické testy vnitřní a vnější těsnosti byly provedeny zvlášť pro ED modul a modul pro PZ. Výsledky hydraulických testů před a po experimentech jsou srovnatelné, a proto jsou v následující tabulce uvedeny pouze výsledky hydraulických testů před experimenty.

Tabulka č. 9: Porovnání naměřených a maximálních hodnot v hydraulických testech před experimenty

ED jednotka		Úkap [g.h ⁻¹]	Přetok C-D1 [g.h ⁻¹]	Přetok D1-C [g.h ⁻¹]	Přetok D2-C [g.h ⁻¹]
EDR-Z/2x10-0,8 Membránové páry	maximální hodnota	6	4	4	x
	naměřená hodnota	4	1,4	2,4	x
EDR-Z/3x10-0,8 Membránové triplety	maximální hodnota	9	6	6	6
	naměřená hodnota	3,9	0,7	0,4	0,35

Hydraulické testy obou svazků splnily maximální povolené hodnoty před i po experimentech. Svědčí to zejména o dobrém postupu při skládání svazku a jeho pevném a rovnoměrném utažení šrouby. Díky tomu docházelo k pouze k nepatrným ztrátám hmotnosti pracovních roztoků při samotném zpracování syrovátky parciálním změkčením a elektrodiálýzou.

Druhou částí ověření funkčnosti modulu a membránové kondice byl samotný standardní solný test (SST). Z důvodu popsaného v Experimentální části byl SST podroben pouze modul pro ED. Standardní průběh demineralizace roztoku Na₂SO₄ z vodivosti 20,7 mS.cm⁻¹ na 0,77 mS.cm⁻¹ je vyjádřen grafem na Obrázku č. 11.



Obrázek č. 11: Závislost vodivosti diluátu a koncentrátu na čase při SST

Z grafu je patrné pozvolné snižování vodivosti diluátu a zvyšování vodivosti koncentrátu. Demineralizační závislosti jsou k sobě zrcadlově obrácené. Je zřejmé, že intenzita snižování vodivosti diluátu je vyšší než intenzita zvyšování vodivosti koncentrátu. Vodivost diluátu se snížila o 96 %, kdežto vodivost koncentrátu stoupla o 65 %. Vliv na to mělo mimo jiné ředění koncentrátu, kdy se do koncentrátu transportovalo i určité množství vody v podobě hydratačních obalů iontů.

Oba SST (jeden v polaritě negativ, druhý v polaritě pozitiv) splňovaly požadované výkonové parametry nebo se jen mírně lišily. Výsledky a referenční hodnoty jednoho z testů v polaritě negativ jsou uvedeny v následující tabulce.

Tabulka č. 10: Výkonnostní parametry SST v polaritě negativ

Výkonnostní parametr SST	Výsledek	Požadovaná hodnota
Proudová účinnost η [%]	86,30	min. 90
Hmotnostní tok solí z diluátu J_s [g _{solí} .m ⁻² .h ⁻¹]	358,2	min. 330
Spotřeba energie E [Wh.kg _{solí} ⁻¹]	437,3	max. 430
Doba odsolení [min]	48,3	max. 55
Bilance hmotnosti [\pm %]	-0,54	max. \pm 2,5

Z tabulky je patrné, že solný test splnil kritéria hmotnostního toku solí, doby odsolení a bilance hmotnosti. Test ovšem nedosáhl požadované minimální proudové účinnosti o 3,7 % a

maximální spotřeby energie o 7,3 Wh.kg_{soli}⁻¹. Jedná se o malé odchylky referenčních hodnot a pro účely této práce byly zanedbatelné.

Tímto postupem byla ověřena funkčnost ED modulu a modulu pro PZ a také kondice iontovýměnných membrán před a po experimentech.

3.2 Vstupní surovina

Pro testy byla použita naturální sladká syrovátka z mlékárny Moravia Lacto a.s. Jihlava. Průměrné základní parametry a chemické složení suroviny je uvedeno v následujících tabulkách. Byly použity dvě várky syrovátky. První várka je označena S1 a druhá várka je označena S2. Základní parametry a chemické složení syrovátky S1 a S2 se mírně lišily. Složení syrovátky je závislé na složení mléka, typu syra a na výrobních podmínkách. Proto se chemické složení syrovátek může značně lišit.

Tabulka č. 11: Základní parametry suroviny

	Vodivost při 25 °C	pH	Obsah sušiny	Popel	Popel v sušině	Titrační kyselost	Refr. sušina	Hustota
označení syrovátky	[mS·cm ⁻¹]	[-]	[%]	[%]	[% sušiny]	[°SH]	[°Bx]	[g·cm ⁻³]
S1	4,83	6,51	4,75	0,37	7,76	5,8	5,1	1,0176
S2	5,61	6,53	5,30	0,45	8,44	6,9	6,1	1,0205

Z tabulky je patrné, že naturální syrovátka S1 má o 18 % nižší hmotnostní zastoupení popela než syrovátka S2. Tomu odpovídá fakt, že syrovátka S1 vykazuje o 14 % nižší vodivost. Konkrétně je vodivost syrovátky S1 o 0,78 mS.cm⁻¹ nižší než vodivost syrovátky S2. Obsah popela v obou syrovátkách odpovídá hodnotám v literatuře. Pro syrovátku se uvádí obsah popela mezi 0,2–0,5 hm. %. Hodnota pH syrovátky koresponduje s údajem v literatuře – sladká syrovátka má pH > 5,6. Obvyklé rozmezí pH je 5,9–6,6. Syrovátka S1 se vyznačuje velice nízkým obsahem sušiny 4,75 hm. %, což se dále projevuje v nižším obsahu všech majoritních složek, kterými jsou laktóza, bílkoviny a popel. Standardní rozmezí pro obsah sušiny v syrovátce je 5,5–6 hm. %. Spodní hranici tabelovaného obsahu se blíží syrovátka S2, která má 5,3 hm. % sušiny, a proto i vyšší obsah laktózy, bílkovin a popela. Titrační kyselost naturální syrovátky a refraktometrické sušiny není tabelována. Tyto parametry suroviny jsou uvažovány jako výchozí hodnoty, ke kterým budou vztahovány další výsledky analýz surovin v průběhu zpracování. Hustota obou syrovátek je vyšší než hustota vody ($\rho = 0,998 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ při

teplotě 20 °C), jelikož kromě vody jako rozpouštědla obsahují množství organických sloučenin a minerálních látek. [17] [63]

V následujících tabulkách je uveden rozbor chemického složení vstupních syrovátek. Přesné chemické složení syrovátky není z důvodu proměnlivého složení kravského mléka a použité technologie „výroby“ syrovátky definovatelné.

Tabulka č. 12: Chemické složení suroviny – analýzy z ICP-OES

	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	P _{celk.}	S
označení syrovátky	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]
S1	273	1017	59,3	264	334	96,8
S2	322	1295	62,8	369	400	115

Z Tabulky č. 12 je patrné, že z kationtů je nejvíce zastoupený draslík, což opět odpovídá údajům v literatuře. Ostatní obsahy kationtů jsou srovnatelné. Častým jevem bývá nejnižší obsah hořečnatých iontů, což se potvrdilo u obou syrovátek S1 a S2. Fosfor se v syrovátce vyskytuje převážně ve formě fosforečnanů a takto je také odstraňován.

Tabulka č. 13: Chemické složení suroviny – analýzy z iontové chromatografie a izotachografie

	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	PO ₄ ³⁻	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	Laktát	Citrát	Acetát
označení syrovátky	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]
S1	795	114	733	<10	<50	1071	1011	243
S2	885	111	935	<10	<50	1003	1224	208

Přestože neexistuje obecně definovaný standardní minerální profil syrovátky, výsledky analytického rozboru syrovátek S1 a S2 se shodují s literaturou, že nejčastěji zastoupené soli organických kyselin jsou laktáty, citráty a acetáty. Tyto organické soli byly stanovovány, ostatní z důvodu nízkých obsahů stanovovány nebyly.

Tabulka č. 14: Chemické složení suroviny – ostatní složky

	Laktóza	N _{Celk.}	Bílkoviny celkové	Bílkoviny čisté	NPN
označení syrovátky	[g.kg ⁻¹]	[%]	[%]	[%]	[%]
S1	40	0,101	0,641	0,435	0,032
S2	42	0,115	0,731	0,37	0,054

Jak již bylo zmíněno v komentáři pod Tabulkou č. 11, nízký obsah sušiny v syrovátce S1 se odráží i v nízkém obsahu laktózy a celkových bílkovin, jak je patrné z Tabulky č. 14. S tím souvisí i nižší obsah celkového dusíku, který je převážně vázán v bílkovinách. Přestože má syrovátka S1 nižší obsah dusíku, má vyšší obsah čistých bílkovin než syrovátka a S2 a díky tomu nižší obsah nebílkovinného dusíku NPN. Nutně tedy nemusí znamenat, že vyšší obsah dusíku znamená vyšší obsah bílkovin. Důvodem je rozdíl mezi méně přesným odhadem celkových bílkovin pomocí přepočítávacího faktoru a přesným analytickým stanovením čistých bílkovin metodou izolace bílkovin.

Suroviny S1 a S2 byly vstupními roztoky pro speciální předúpravu syrovátky (parciální změkčení elektrodialýzou).

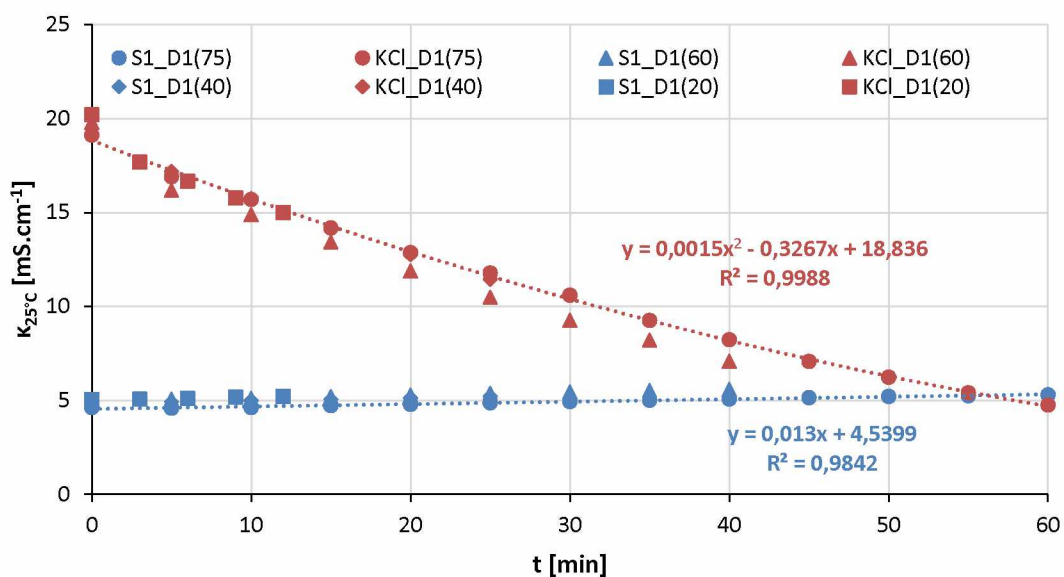
3.3 Parciální změkčení elektrodialýzou (PZ)

Výsledkem této speciální předúpravy elektrodialýzou byly diluáty (meziprodukty) uvedené v Tabulce č. 15, které se liší mírou procentuálního snížení vodivosti ($\Delta\kappa$ v %) roztoku KCl v diluátovém okruhu D2. Všechny tyto diluáty pocházely ze vstupní suroviny S1.

Označení meziproduktu je ve formě: $S_x_D_y(\Delta\kappa [\%])$, kde „x“ značí vstupní syrovátku (S1 nebo S2) a „y“ označuje proces, kde „1“ je meziprodukt po úpravě a „2“ je meziprodukt po ED, a ($\Delta\kappa$ [%]) značí míru procentuálního snížení vodivosti roztoku KCl, respektive upravené syrovátky v %.

Jelikož byl v některých případech proveden více než jeden test úpravy syrovátky se stejným odsolením roztoku KCl, byly parametry meziproduktů z těchto testů zprůměrovány. Například parametry pro meziprodukt S1_D1(60) vznikly zprůměrováním parametrů meziproduktů pokusů 2D a 7D, viz schéma na Obr. 8 v kapitole 2.3.

Na následujícím obrázku je zobrazen graf, který znázorňuje závislost měrné vodivosti zdrojového roztoku KCl a syrovátky na čase při PZ.



Obrázek č. 12: Závislost měrné vodivosti roztoků na čase

Z grafu je patrné, že pokles měrné vodivosti zdrojového roztoku KCl má z počátku přímkovou závislost, ale později se závislost stává polynomickou a odsolení je pomalejší. Na druhou stranu nárůst měrné vodivosti syrovátky je minimální a je lépe vystižený přímkovou závislostí.

Tabulka č. 15: Základní parametry upravených surovin

	Vodivost při 25 °C	pH	Obsah sušiny	Popel	Popel v sušině	Titrační kyselost	Refr. sušina	Hustota
Meziprodukt po úpravě	[mS·cm ⁻¹]	[-]	[%]	[%]	[% sušiny]	[°SH]	[°Bx]	[g·cm ⁻³]
S1 D1(20)	4,97	6,59	4,66	0,38	8,02	4,6	4,7	1,0163
S1 D1(40)	5,64	6,80	4,61	0,39	8,18	4,3	5,2	1,0177
S1 D1(60)	5,60	6,75	4,78	0,43	9,02	4,6	5,0	1,0172
S1 D1(75)	5,69	6,77	4,68	0,44	9,16	4,2	5,1	1,0169

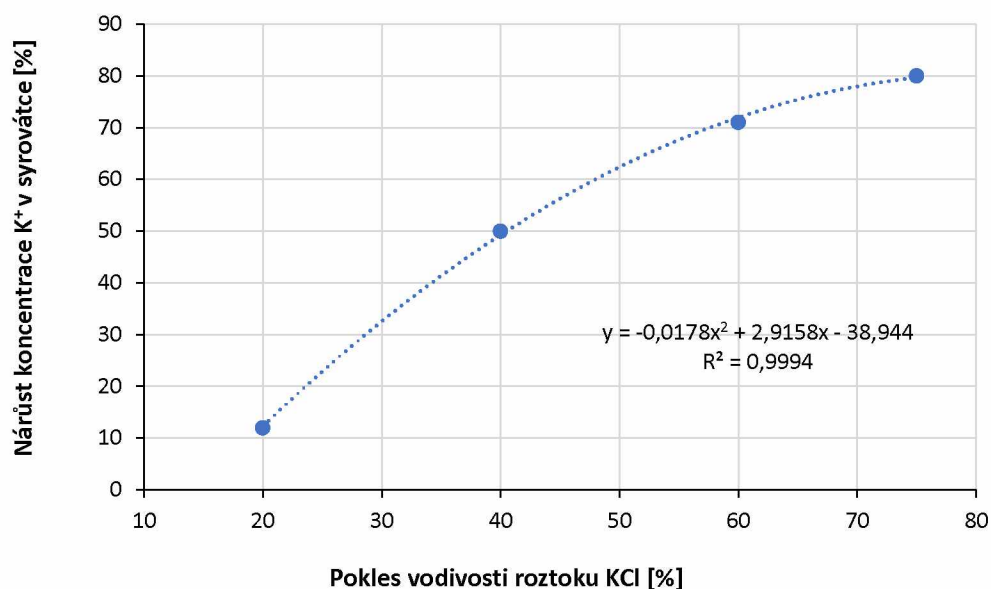
Z Tabulky č. 15 je patrné, že čím vyšší byl pokles vodivosti zdrojového roztoku KCl, tím vyšší byla vodivost meziproduktu (syrovátky) po úpravě. To bylo způsobeno intenzivním transportem draselných iontů do syrovátky, který způsobil zvýšení vodivosti. Hodnota pH se při parciálním změkčení zvyšovala, protože vedle kationtů kovových prvků jsou do koncentráty transportovány i vodíkové ionty H⁺. Zároveň se snižovala i titrační kyselost. Nárůst koncentrace minerálů se odráží ve zvýšení obsahu popela. Dále je zjevné, že při PZ nedochází k transportu cukerných složek ze syrovátky, neboť hodnoty refraktometrické sušiny jsou konstantní, pokud

přihlédneme k mírným odchylkám při stanovení. Hodnoty hustoty syrovátky během PZ zůstávají také konstantní.

Tabulka č. 16: Chemické složení upravených surovin – analýzy z ICP-OES

	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	P _{celk.}	S
Meziprodukt po úpravě	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]
S1 D1(20)	349	1139	47,9	206	334	102
S1 D1(40)	154	1520	41,4	178	330	94,9
S1 D1(60)	144	1735	37,7	164	310	103
S1 D1(75)	160	1830	31,9	134	330	99

Jak již bylo zmíněno v komentáři pod Tabulkou č. 15, při PZ probíhá nejintenzivněji transport K⁺ iontů do syrovátky. Při snížení vodivosti roztoku KCl o 20–75 % se zvýší koncentrace K⁺ v syrovátce o 12–80 %, jak je znázorněno v následujícím grafu. Zpočátku se draselné ionty ze zdrojového diluátu do syrovátky transportují snáze (téměř lineární závislost). Se snižující se koncentrací draselných iontů ve zdrojovém diluátu v důsledku vyrovnávání koncentrací dochází ke zpomalování jejich transportu do syrovátky. Z toho důvodu se z hlediska provozních nákladů nevyplatí odsolovat roztok KCl na více než 80 %.



Obrázek č. 13: Závislost nárůstu koncentrace K⁺ v syrovátce na poklesu vodivosti zdrojového roztoku KCl

Draselné ionty nahrazovaly v syrovátce ionty Na^+ , Mg^{2+} a Ca^{2+} , jejichž koncentrace se snižovala. Nejlépe se odstraňovaly ionty Na^+ , jejich pohyblivost v elektrickém poli je největší, poté ionty Ca^{2+} a Mg^{2+} , jejichž transport elektrickým polem je obtížnější. Koncentrace celkového fosforu a síry nebyly úpravou výrazně ovlivněny.

Tabulka č. 17: Chemické složení upravených surovin – analýzy z iontové chromatografie a izotachografie

	Cl^-	SO_4^{2-}	PO_4^{3-}	NO_3^-	NO_2^-	Laktát	Citrát	Acetát
Meziprodukt po úpravě	[$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]	[$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]	[$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]	[$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]	[$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]	[$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]	[$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]	[$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]
S1_D1(20)	788	111	726	11,2	<30	1230	1195	319
S1_D1(40)	859	106	698	11,9	<5	1157	1120	291
S1_D1(60)	874	112	734	14,8	<30	1285	1296	305
S1_D1(75)	815	112	718	22,2	<30	1290	1210	330

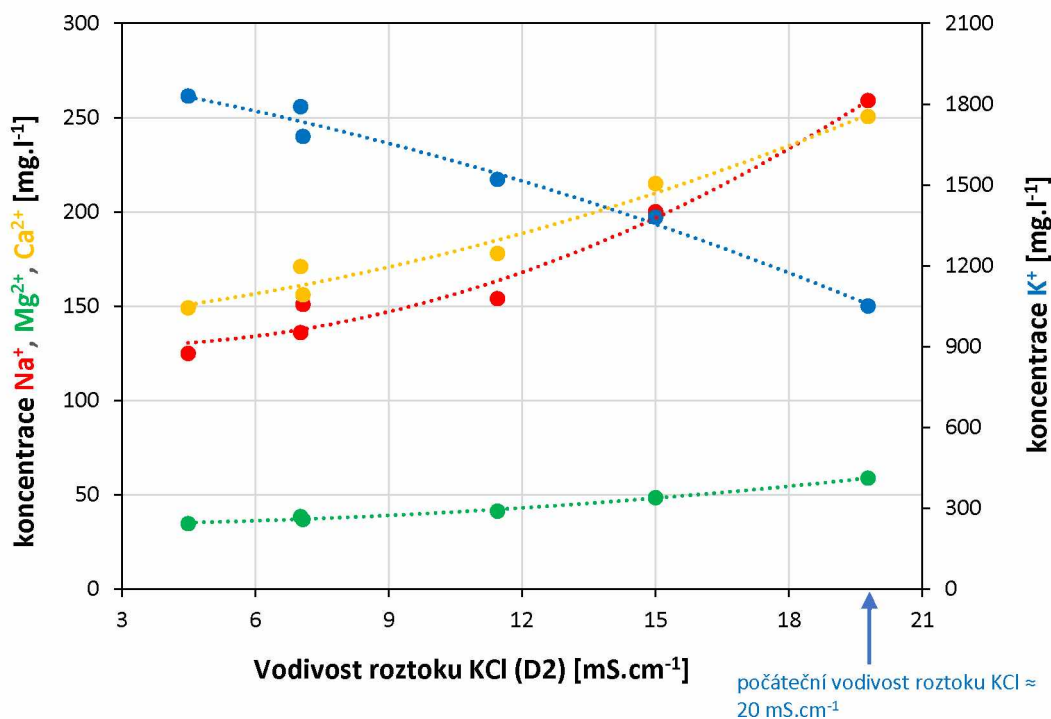
Koncentrace aniontů po PZ zůstala s tolerancí odchyly při stanovení konstantní. Mírný nárůst koncentrace při PZ byl zaznamenán u Cl^- iontů, které mohly být transportovány společně s K^+ ionty ze zdrojového roztoku KCl . Tento jev je způsobený permselektivitou membrány, která v praxi nemůže dosáhnout 100 %, a tím je umožněn transport záporně nabitých částic kationvýměnnou membránou.

Tabulka č. 18: Chemické složení upravených surovin – ostatní složky

	Laktóza	$\text{N}_{\text{celk.}}$	Bílkoviny celkové	Bílkoviny čisté	NPN
Meziprodukt po úpravě	[$\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$]	[%]	[%]	[%]	[%]
S1_D1(20)	36	0,096	0,609	0,408	0,032
S1_D1(40)	37	0,092	0,585	0,472	0,018
S1_D1(60)	36	0,095	0,603	0,416	0,037
S1_D1(75)	36	0,093	0,590	0,390	0,032

Jak je patrné z Tabulky č. 18, úprava syrovátky parciálním změkčením neměla vliv na změny zastoupení laktózy ani bílkovin. Významnější je rozdíl u analýzy bílkovin a nebílkovinného dusíku u vzorku S1_D1(40), kde pravděpodobně došlo k chybě při analýze, a proto je zde větší odchylka v porovnání s ostatními vzorky.

Na základě provedených testů pro úpravu syrovátky parciálním změkčením byl sestaven graf závislosti obsahu minerálních látek v upravené syrovátce na vodivosti zdrojového roztoku KCl v diluátovém okruhu D2:



Obrázek č. 14: Graf závislosti obsahu minerálních látek v syrovátce (D1) na vodivosti roztoku KCl (D2)

Z grafu je patrný transport draselných iontů z diluátového okruhu D2 do diluátového okruhu D1 se syrovátkou. Množství transportovaných draselných iontů K^+ v syrovátce roste se snižující se vodivostí roztoku KCl. Zároveň dochází k poklesu množství vápenatých, hořečnatých a sodných iontů v upravované syrovátce. Pozornost je věnována především dvojmocným iontům Ca^{2+} a Mg^{2+} . Množství Ca^{2+} a Mg^{2+} v syrovátce v průběhu ED exponenciálně klesá. Při vodivosti roztoku KCl okolo $4,5 \text{ mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ (což odpovídá poklesu vodivosti o 75 % oproti počátku) je patrné, že průběh poklesu množství vápenatých a hořečnatých iontů je mnohem mírnější a asymptoticky se blíží ke konečné možné minimální hodnotě obsahu těchto iontů. Z výsledků jsem tedy usoudila, že pro další testy bude vhodné použít předúpravu s poklesem vodivosti roztoku KCl o 75–80 %.

V následujících tabulkách jsou uvedeny průměrné parametry meziproductů po úpravě s poklesem vodivosti KCl o 75 a 80 %.

Experiment 75% úpravy trval 55–60 minut a experiment 80% úpravy 65–75 minut. Všechny meziprodukty pochází ze suroviny S2. Docházelo zde ke stejným pochodům a změnám parametrů jako při PZ syrovátky S1, a proto zůstávají tabulky bez komentáře.

Tabulka č. 19: Základní parametry upravených surovin

	Vodivost při 25 °C	pH	Obsah sušiny	Popel	Popel v sušině	Titrační kyselost	Refr. sušina	Hustota
Meziprodukt po úpravě	[mS·cm ⁻¹]	[-]	[%]	[%]	[% v sušině]	[°SH]	[°Bx]	[g·cm ⁻³]
S2_D1(75)	6,48	6,46	5,47	0,52	9,50	6,0	6,2	1,0207
S2_D1(80)	6,66	6,42	5,30	0,57	10,65	6,8	6,2	1,0211

Tabulka č. 20: Chemické složení upravených surovin – analýzy z ICP-OES

	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	P _{celk.}	S
Meziprodukt po úpravě	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]
S2_D1(75)	140	2180	39,8	228	393	113
S2_D1(80)	130	2260	39,1	209	393	116

Tabulka č. 21: Chemické složení upravených surovin – analýzy z iontové chromatografie a izotachofórey

	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	PO ₄ ³⁻	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	Laktát	Citrát	Acetát
Meziprodukt po úpravě	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]
S2_D1(75)	949	109	888	<10	<50	1500	1011	314
S2_D1(80)	986	113	984	<10	<50	857	1314	176

Tabulka č. 22: Chemické složení upravených surovin – ostatní složky

	Laktóza	N _{celk.}	Bílkoviny celkové	Bílkoviny čisté	NPN
Meziprodukt po úpravě	[g·kg ⁻¹]	[%]	[%]	[%]	[%]
S2_D1(75)	42	0,109	0,7	-	-
S2_D1(80)	39	0,103	0,654	0,319	0,053

Po PZ došlo k výměně svazku a dále byla syrovátka S2 zpracována konvenční ED.

3.4 Konvenční elektrodialýza

Jako vstupní roztoky pro ED byly použity diluátové roztoky z předúpravy. Roztoky syrovátky byly odsoleny do stejného stupně, do jakého byly upraveny při PZ, tj. do 75 nebo 80 %. Experiment 75% demineralizace trval 75 až 80 minut. Experiment 80% demineralizace trval 75 až 90 minut. Demineralizace ze 75–80 % byla zvolena z důvodu, že při takovémto stupni odsolení je elektrodialýza ještě efektivní. Při vyšším stupni demineralizace probíhá odstraňování mnohem obtížněji a pomaleji při současném zvyšování provozních nákladů.

V následující tabulce č. 23 a 24 uvádím základní hmotnostní bilanci ED po vyfoukání všech okruhů s ohlédnutím na ředění a okyselování koncentrátu. Jedná se o ukázkový případ jednoho z experimentů, kde vstupní surovinou pro ED byl meziprodukt S2_D1(75) a výstupním diluátem meziprodukt S2_D2(75). Ostatní experimenty probíhaly obdobně.

Tabulka č. 23: Hmotnostní bilance po ED – první část

Bilance	F (D)	C	E
m _{start} [kg]	1,6421	0,5168	0,2572
m _{konec} [kg]	1,6144	0,70595	0,2595
Průměrná teplota [°C]	14,69	14,64	19,34
Přídavek H ₂ O [kg]	x	0,1263	x
Přídavek 3% HNO ₃ [kg]	x	0,02995	x

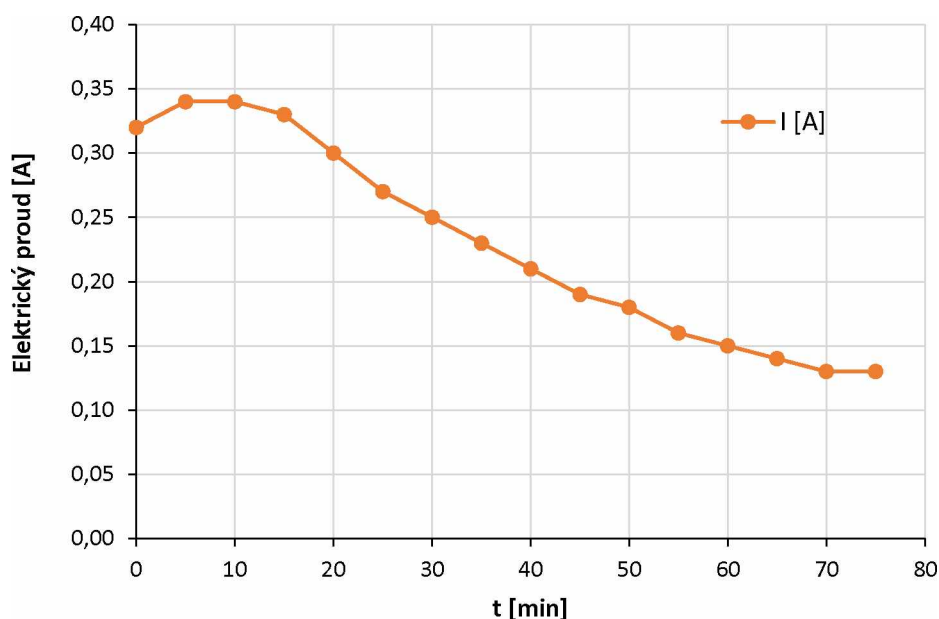
Tabulka č. 24: Hmotnostní bilance po ED – druhá část

Bilance hmotnosti	IN [kg]	OUT [kg]	Δ [%]
	2,3152	2,3204	0,22

Z Tabulky č. 23 a 24 je patrné, že při demineralizaci docházelo k úbytku hmotnosti diluátu (demineralizované syrovátky). Příčinou byla demineralizace hydratovaných iontů, které s sebou při transportu do koncentrátu unášely část rozpouštědla. Tím se naopak zvýšila hmotnost koncentrátu. Hmotnost elektrodového roztoku by měla zůstat konstantní, neboť se jedná o uzavřený okruh a v bilanci hmotnosti se neuvažuje. Odchylka v počáteční a koncové hmotnosti tak byla pravděpodobně způsobena špatným vyfoukáním elektrodového hydraulického okruhu. Samotná odchylka hmotnosti při ED se vypočítá jako rozdíl součtu hmotností složek, které byly z elektrodialyzéru vyfoukány (OUT) a součtu hmotností všech složek, které byly do elektrodialyzéru dávkovány před a v průběhu ED (IN), a tento rozdíl se vztáhne k počátku (IN). Tato odchylka hmotnosti činila + 0,22 %, nedošlo tedy k žádným

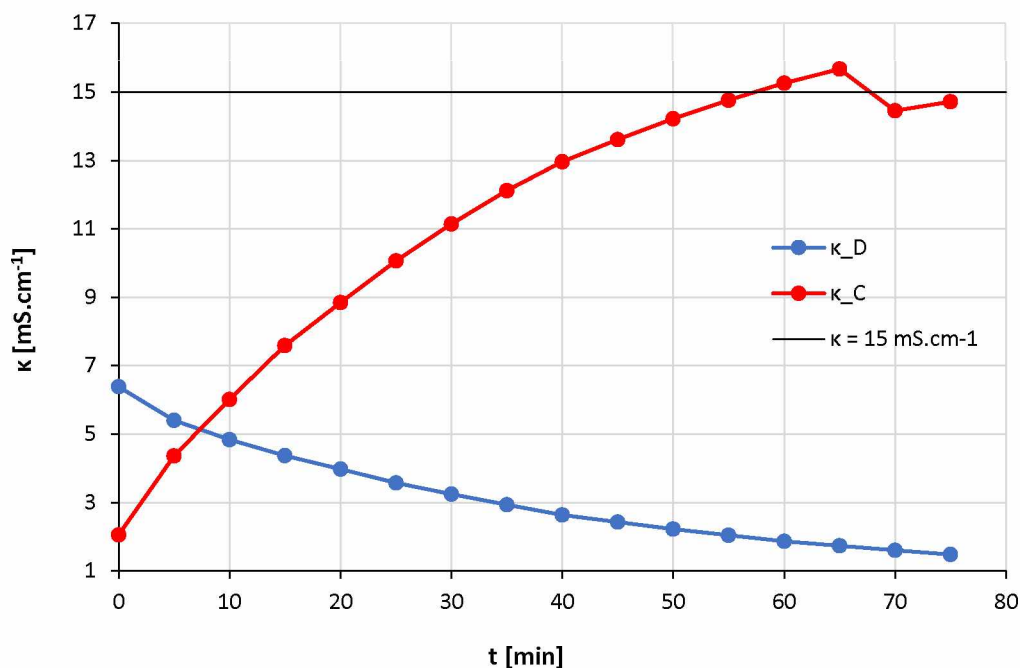
ztrátám, a naopak hmotnost roztoků na konci ED byla vyšší než na počátku. To bylo způsobeno nedostatečným vyfouknutím zbytku některého z médií z přechozích experimentů. Teploty roztoků D a C byly udržovány na teplotě okolo 15 °C chladícími spirálami. Elektrodový roztok proudil za pokojové teploty.

Na Obrázku č. 15 až 17 jsou zobrazeny závislosti popisující průběh ED. Jedná se o naměřené závislosti testu 13D – elektrodialýzy upravené syrovátky S2_D1(75). Průběh ostatních testů byl obdobný.



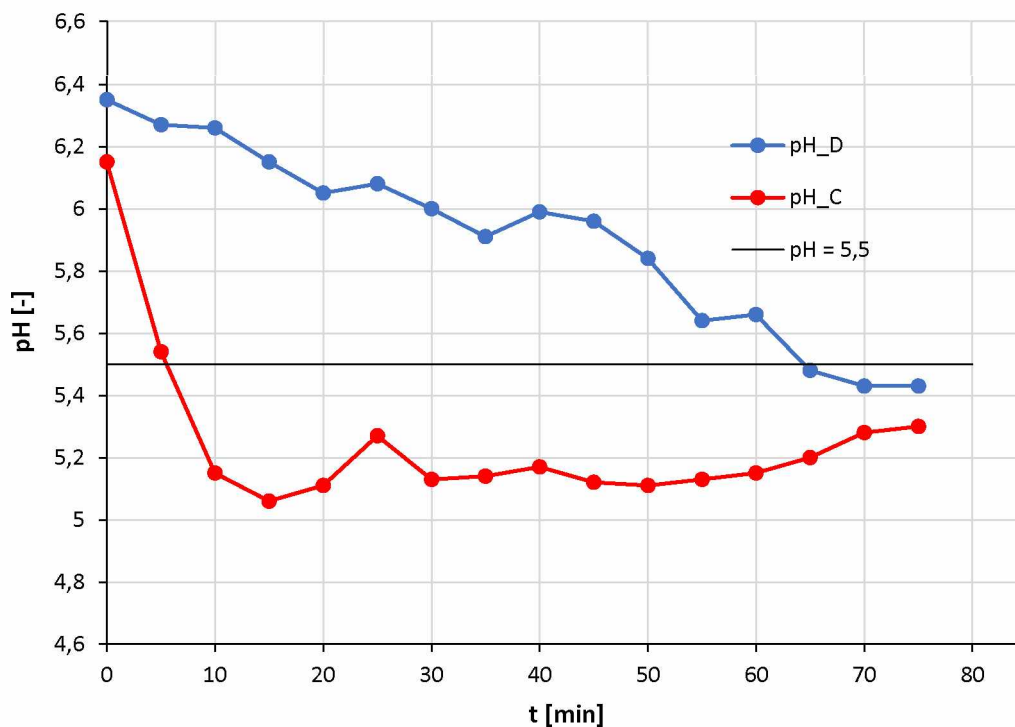
Obrázek č. 15: Závislost elektrického proudu na čase při ED

V grafu na Obrázku č. 15 je zobrazena závislost elektrického proudu na čase ED. Zpočátku byl proud nízký z důvodu velkého elektrického odporu vody v koncentrátovém okruhu. Zanedlouho se ovšem odpor v důsledku transportu iontů do koncentrátového okruhu snížil a hodnota elektrického proudu stoupala. Po dosažení maximální hodnoty začal proud klesat. Příčinou byl vzrůstající elektrický odpor odsolovaného roztoku v diluátovém okruhu. Ke konci ED již hodnota proudu klesá pozvolněji a spíše se ustaluje, protože demineralizace je obtížná a do koncentrátu se za stejný časový interval transportuje mnohem méně iontů než na počátku ED. Odpor diluátového proudu se proto zvyšuje pouze mírně.



Obrázek č. 16: Závislost měrné vodivosti diluátu a koncentrátu na čase při ED

Na Obrázku č. 16 je uvedený graf závislosti měrné vodivosti diluátu (modrá závislost) a koncentrátu (červená závislost) na čase. Jedná se o typické křivky ED, kdy měrná vodivost diluátu (upravená syrovátka) v čase klesá v důsledku eliminace anorganických solí, slabých organických kyselin a anorganických kyselin. Ty putují do koncentrátu, kde vytváří vodný roztok solí a tím zvyšují vodivost. Strmý nárůst vodivosti koncentrátu v porovnání s pozvolným poklesem vodivosti diluátu je ovlivněn experimentálními podmínkami. Na počátku byla do koncentrátového okruhu dávkována pouhá třetina hmotnosti média ve srovnání s diluátovým okruhem. Proto se vodivost koncentrátu zvyšovala rychleji, než se snižovala vodivost diluátu. V grafu je zvýrazněna černá linie označující hodnotu vodivosti 15 mS.cm^{-1} . V průběhu ED byla snaha udržet vodivost koncentrátu pod touto hodnotou z důvodu prevence srážení fosforečnanů. Pokud se vodivost koncentrátu pohybovala okolo této hodnoty, byla do koncentrátu přidána demineralizovaná voda a hodnota měrné vodivosti koncentrátu tak klesla pod 15 mS.cm^{-1} . V tomto pokusu byla demineralizovaná voda přidána v 60. minutě a dále byla dávkována dle potřeby.



Obrázek č. 17: Závislost hodnoty pH diluátu a koncentrátu na čase při ED

V grafu na Obrázku č. 17 je zobrazena závislost hodnoty pH diluátu (modrá závislost) a pH koncentrátu (červená závislost) na čase. Hodnota pH diluátu pozvolna klesala, jelikož byly odstraňovány zásadité ionty. Tyto ionty putovaly do koncentrátu a pH zvyšovaly. Jelikož zde byla nastavena podmínka udržování hodnoty pH koncentrátu v rozmezí hodnot pH = 5,0–5,5, ihned na počátku ED bylo do koncentrátu dávkováno pár kapek 3% kyseliny dusičné a tento postup byl zachován až do konce ED.

V následujících tabulkách jsou uvedeny parametry syrovátky po ED.

Tabulka č. 25: Základní parametry meziproduktů po ED

	Vodivost při 25 °C	pH	Obsah sušiny	Popel	Popel v sušině	Titrační kyselost	Refr. sušina	Hustota
Meziprodukt po ED	[mS·cm ⁻¹]	[-]	[%]	[%]	[% sušiny]	[°SH]	[°Bx]	[g·cm ⁻³]
S2_D2(75)	1,50	5,79	4,93	0,13	2,64	4,2	5,2	1,0154
S2_D2(80)	1,47	5,60	4,66	0,14	3,00	5,0	5,3	1,0166

Při konvenční ED docházelo k neselektivní demineralizaci všech přítomných iontů v syrovátce. Ve vzorku S2_D2(75) klesla měrná vodivost vůči S2_D1(75) o 77 % a ve vzorku S2_D2(80) o 78 % vůči S2_D1(80). Hodnoty pH syrovátek mírně klesly – jednalo se o přirozený proces

vyvolaný odstraňováním zásaditých iontů. Obsah sušiny klesl v průměru o 0,5 %, což bylo způsobeno odstraněním části minerálních látek elektrodialýzou, ale také nežádoucím transportem bílkovin nebo cukerných složek skrze membrány volnou difuzí do koncentráту. Obsah popela klesl v obou případech o 75 %. Titrační kyselost by se stářím syrovátky měla stoupat, ovšem při ED jsou odstraňovány i kyselé složky vznikající při degradaci syrovátky, a titrační kyselost se naopak snižuje. Hustota se vlivem odstranění rozpuštěných složek snížila.

Tabulka č. 26: Chemické složení meziproduktů po ED – analýzy z ICP-OES

	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	P _{celk.}	S
Meziprodukt po ED	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]
S2_D2(75)	77	460	21,1	98,1	183	77,2
S2_D2(80)	61	444	19,3	82,7	162	68,4

Tabulka č. 27: Chemické složení meziproduktů po ED – analýzy z iontové chromatografie a izotachofórey

	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	PO ₄ ³⁻	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	Laktát	Citrát	Acetát
Meziprodukt po ED	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]
S2_D2(75)	91,3	20,6	369	<10	<50	1162	159	277
S2_D2(80)	99,4	24,3	335	<10	<50	452	509	65

Z Tabulek č. 26 a 27 je patrné, že ED probíhala standardně. Demineralizace kladně i záporně nabitých částic upravené syrovátky probíhala neselektivně a efektivita odstranění jednotlivých iontů závisela na jejich počáteční koncentraci a pohyblivosti v elektrickém poli. Nejsnadněji se do koncentráту transportovaly ionty jednomocné o vysoké počáteční koncentraci, obtížněji dvojmocné ionty s nízkou počáteční koncentrací.

Tabulka č. 28: Chemické složení meziproduktů po ED – ostatní složky

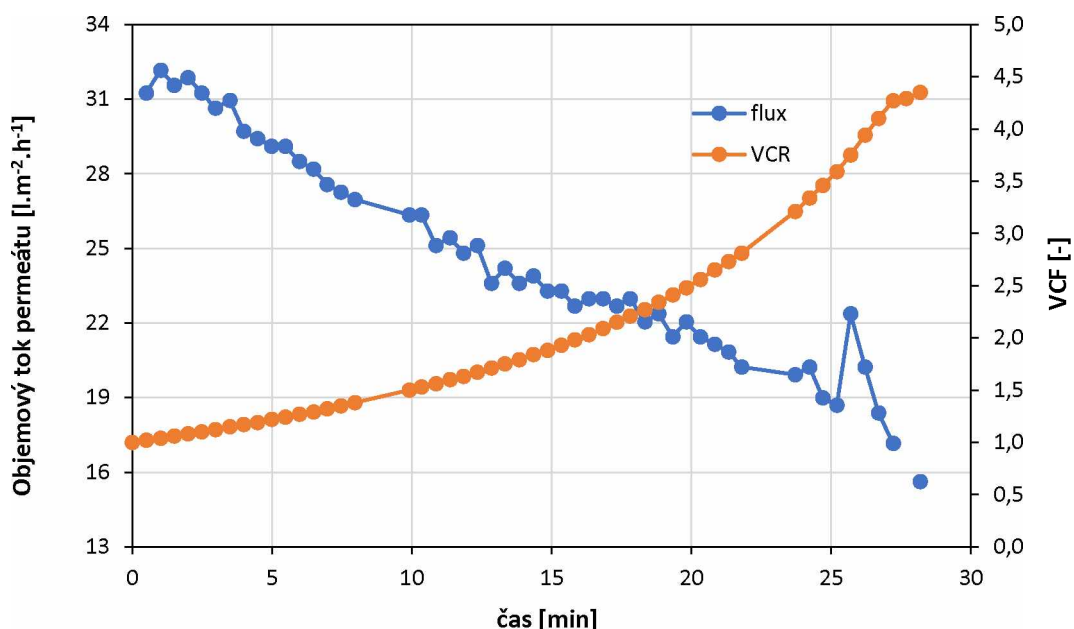
	Laktóza	N _{celk.}	Bílkoviny celkové	Bílkoviny čisté	NPN
Meziprodukt po ED	[g.kg ⁻¹]	[%]	[%]	[%]	[%]
S2_D2(75)	43	0,103	0,659	0,338	0,05
S2_D2(80)	39	0,091	0,614	0,347	0,037

Z Tabulky č. 28 je patrné, že ani během ED nedocházelo ke ztrátám laktózy. Došlo k mírnému poklesu obsahu celkového dusíku, což bylo způsobeno transportem dusíkatých sloučenin (NO_3^- a NO_2^-) do koncentráty. Ze stejného důvodu se snížil obsah nebílkovinného dusíku a celkových (hrubých bílkovin). Na druhou stranu se zvýšila koncentrace čistých bílkovin.

3.5 Ultrafiltrace

Meziprodukty po ED byly vstupními roztoky pro dvě ultrafiltrace. Ultrafiltrací vznikly z demineralizované syrovátky dva proudy – retentát obsahující většinu bílkovin a laktózu, a permeát neboli vodný roztok solí, laktózy a vitamínů. Pro první ultrafiltraci byl vstupním roztokem meziprodukt po ED S2_D2(75). Výstupními roztoky z první ultrafiltrace byl permeát 19P a retentát 19R. Pro druhou ultrafiltraci byl vstupním roztokem meziprodukt po ED S2_D2(80). Výstupními roztoky z druhé ultrafiltrace byl permeát 29P a retentát 29R. První UF trvala 30 minut, druhá 20 minut. Příčinou kratší doby trvání druhé UF mohl být konečný nižší stupeň zahuštění, dále nižší obsah bílkovin a s tím spojený vyšší průtok přes membránu a vyšší teplota experimentu. Teplota při UF byla udržována v rozmezí 16–19 °C.

Průběh UF vyjádřený závislostí tzv. fluxu neboli objemového toku permeátu na čase a závislostí stupně zahuštění neboli VCF (Volume Concentration Factor) na čase je zobrazen na Obrázku č. 18.



Obrázek č. 18: Závislost objemového toku permeátu a VCF na čase

Z grafu na Obrázku č. 18 je patrný konstantní rovnoměrný pokles objemového toku permeátu v čase. Nejedná se o přímkovou závislost, jelikož jsou zde patrné četné výkyvy. Po začátku UF se membrány začaly zanášet velkými molekulami bílkovin a tím snižovaly tok permeátu. Tok permeátu byl tím nižší, čím větší byla usazená vrstva na membránách. Patrné výkyvy mohly být způsobeny odmytím části této vrstvy, kdy docházelo k dočasnému zvýšení objemového toku permeátu. Naopak hodnota zahuštění retenátu VCF se bez odchylky v čase zvyšovala. Závislost byl tím strmější, čím nižší byl objemový tok permeátu. Na konci UF byla zjištěna hodnota VCF 4,35.

V následující tabulce jsou uvedeny základní parametry a chemické složení těchto permeátů a retentátů. Jako zahuštění se uvažuje poměr hmotnosti vstupního roztoku před ultrafiltrací ku hmotnosti výstupního retentátu.

Tabulka č. 29: Základní parametry produktů po UF

	Vodivost při 25 °C	pH	Obsah sušiny	Popel	Popel v sušině	Titrační kyselost	Refr. sušina	Hustota	Zahuštění
Produkty po UF	[mS·cm ⁻¹]	[-]	[%]	[%]	[% sušiny]	[°SH]	[°Bx]	[g·cm ⁻³]	-
19P	1,45	5,62	4,03	0,136	3,38	3,15	3,9	1,0122	x
19R	1,86	5,26	6,65	0,181	2,72	10,4	7,6	1,0204	4,35
29P	1,80	6,83	3,85	0,121	3,14	1,85	4	1,0123	x
29R	2,16	6,51	5,75	0,197	3,43	5,65	6,8	1,0187	3,52

Měrná vodivost retentátů byla v obou případech vyšší než měrná vodivost permeátů, protože vzhledem k několikanásobně vyššímu objemu permeátu byla koncentrace solí (popela) nižší. Obsah sušiny u obou retentátů je výrazně vyšší než u permeátů. Veškeré makromolekulární látky byly zadrženy membránou a tím se zvyšoval obsah rozpuštěných látek v retentátu, zatímco do permeátu přecházela primárně voda a rozpustné nízkomolekulární sloučeniny (laktóza, minerály, vitamíny) a obsah sušiny byl výrazně nižší. Díky tomu je hodnota popela vztažená na sušinu u retentátů nižší nebo srovnatelná s hodnotou popela v sušině permeátů. Titrační kyselost retentátů byla výrazně vyšší než titrační kyselost permeátů. Jelikož celý proces zpracování nepasterované syrovátky trval od parciálního změkčení k UF v průměru 4 dny, docházelo k mikrobiální degradaci složek a okyselování retentátu neboli vznikajícího roztoku WPC. Zahuštěné roztoky retentátu samozřejmě vykazovaly větší hustotu než roztoky permeátu. Při první ultrafiltraci vznikl retentát 4,35násobným zahuštěním vstupního roztoku a při druhé 3,52násobným zahuštěním. Nižší hodnota zahuštění druhé UF byla způsobena chybou při

vyplachování ultrafiltrační jednotky, kdy byl omylem naředěn vstupní roztok pro UF cca 200 g vody.

Tabulka č. 30: Chemické složení produktů po UF – analýzy z ICP-OES

	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	P _{celk.}	S
Produkty po UF	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]
19P	66,2	382	16,9	68,8	151	9,8
19R	89,2	594	26,9	146	234	291
29P	203	346	14,4	59	133	8
29R	304	545	24,2	123	200	216

Z Tabulky č. 30 je patrné, že koncentrace kationtů v porovnání se vstupním roztokem (demineralizovaná syrovátka) v retentátu vzrostla a v permeátu klesla. Větší množství kationtů bylo membránou zadrženo než transportováno. Zvýšený obsah Na⁺ u retentátu 29R a permeátu 29P je pravděpodobně způsoben kontaminací cizorodými látkami, jelikož obsah Na⁺ před UF byl ve feedu 61 mg·l⁻¹. Zajímavý je pohled na obsah síry v permeátu a retentátu. Jelikož je velké množství síry vázáno v bílkovinách, které jsou membránou zadrženy, bylo v obou permeátech stanoveno minimální množství síry.

Tabulka č. 31: Chemické složení produktů po UF – analýzy z iontové chromatografie a izotachoforézy

	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	PO ₄ ³⁻	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	Laktát	Citrát	Acetát
Produkty po UF	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]	[mg·l ⁻¹]
19P	101	20,0	304	<10	<50	273	534	83
19R	86,5	24,7	351	<10	<50	2424	-	360
29P	103	20,5	298	<10	<50	410	475	69
29R	77,8	19,3	275	<10	<50	478	538	139

Obsah chloridů byl v permeátech vyšší než v retentátech a můžeme z toho usuzovat, že se skrze membránu transportovaly snáze než kationty. Obsah ostatních aniontů byl v permeátech a retentátech zhruba stejný. Obsahy solí organických kyselin jsou v retentátech vyšší, u retentátu 19R dokonce o jeden řád. Důvodem je již zmíněná mikrobiální degradace složek syrovátky za vzniku organických kyselin.

Tabulka č. 32: Chemické složení produktů po UF – ostatní složky

	Laktóza	N _{Celk.}	Bílkoviny celkové	Bílkoviny čisté	NPN
Produkty po UF	[g.kg ⁻¹]	[%]	[%]	[%]	[%]
19R	41	0,363	3,31	1,58	0,116
19P	41	0,015	0,098	<0,05	<0,005
29R	38	0,278	1,77	1,26	0,08
29P	39	0,016	0,103	0,086	<0,005

Z Tabulky č. 32 je patrné, že množství laktózy zůstává po UF v obou proudech konstantní. Následující čtyři sloupce vypovídají o kvalitě UF. V permeátu 19P klesly koncentrace celkového dusíku a celkových bílkovin na minimum a koncentrace čistých bílkovin a nebílkovinného dusíku pod mez stanovitelnosti. U permeátu 29P byly koncentrace obdobné. Ultrafiltrace tedy splnila účel a zadržela maximální možné množství bílkovin. Při první UF bylo zadrženo 97 % bílkovin a 3 % bílkovin přešly do permeátu. Při druhé UF bylo zadrženo 95 % bílkovin a 5 % bílkovin přešlo do permeátu. Roztok retentátu tím vytvořil zahuštěný roztok bílkovin, laktózy a minerálů. Nakonec byly roztoky podrobeny zkouškám termostability.

3.6 Komplexní vyhodnocení experimentu

Jedním ze stěžejních bodů této práce bylo testování nového způsobu předúpravy syrovátky před ED a UF. Teoreticky mělo parciální změkčení syrovátky zvýšit poměr koncentrace jednomocných k dvojmocným iontům v syrovátce $[M^+]:[M^{2+}]$. Na Obrázku č. 19 je z dostupných analytických dat z Tabulek č. 11 až 32 vytvořen graf, který demonstruje, jak zařazení PZ ovlivnilo koncentrace jednomocných a dvojmocných iontů v syrovátce a další změny koncentrace po ED a UF.

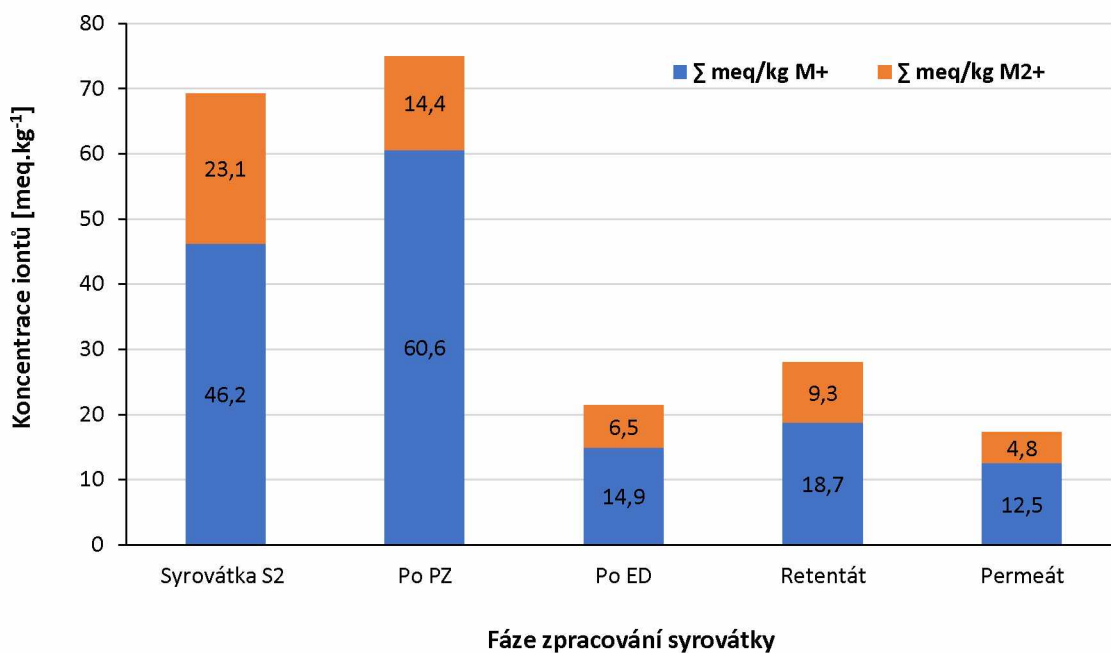
Meq neboli miliekvivalent je měrná jednotka pro elektrolyty. Využívá se zejména v medicíně při vyjadřování iontového složení tělních tekutin. Převod z mg.l⁻¹ na meq.kg⁻¹ souvisí se skutečností, že ionty spolu reagují nikoli na základě hmotnosti, ale na základě poměru jednotlivých iontů – ekvivalentů (eq), kdy je uvažováno mocenství jednotlivých iontů. Výpočet meq vztahený na kilogram hmotnosti je následující:

$$c[\text{meq.kg}^{-1}] = \frac{c[\text{mg.kg}^{-1}] \cdot [\text{valence iontu}]}{M_r[\text{mg.mmol}^{-1}]} \quad (7)$$

Dále se na základě tohoto přepočtu uvádí koncentrace majoritních iontů Na^+ , K^+ , Mg^{2+} a Ca^{2+} v $[\text{meq.kg}^{-1}]$.

Tabulka č. 33: Koncentrace M^+ a M^{2+} iontů syrovátky a jejich vzájemný poměr v jednotlivých fázích procesu

Označení vzorku		S2	S2_D1(75)	S2_D2(75)	19R	19P
Jednotky	M^{n+}	Syrovátka	Po PZ	Po ED	Retentát	Permeát
meq.kg ⁻¹	Na^+	13,7	6,0	3,3	3,8	2,8
	K^+	32,5	54,6	11,6	14,9	9,7
	$\sum \text{M}^+ [\text{meq.kg}^{-1}]$	46,2	60,6	14,9	18,7	12,5
	Mg^{2+}	5,1	3,2	1,7	2,2	1,4
	Ca^{2+}	18,0	11,1	4,8	7,1	3,4
	$\sum \text{M}^{2+} [\text{meq.kg}^{-1}]$	23,1	14,4	6,5	9,3	4,8
Poměr ($\sum \text{M}^+$)/($\sum \text{M}^{2+}$) [meq.kg^{-1}]		2,00	4,22	2,28	2,01	2,62



Obrázek č. 19: Koncentrace jednomocných a dvojmocných iontů v jednotlivých fázích procesu

V následujících tabulkách je vypočítán procentuální pokles či nárůst koncentrace M^+ a M^{2+} iontů na základě hodnot koncentrací těchto iontů v $[\text{meq.kg}^{-1}]$ z Tabulky č. 33.

Tabulka č. 34: Procentuální pokles/nárůst koncentrace M^+ a M^{2+} iontů vzhledem k předcházející fázi zpracování

Pokles/nárůst koncentrace [%]	Syrovátka S2	Po PZ	Po ED	Retentát (UF)	Permeát (UF)
$[M^+]$	x	+ 31 %	- 75 %	+ 26 %	- 16 %
$[M^{2+}]$	x	- 38 %	- 55 %	+ 43 %	- 26 %
Celkový pokles/nárůst $[M^+] + [M^{2+}]$	x	+ 8 %	- 71 %	+ 31 %	- 19 %

Z Tabulky č. 34 je patrné, který proces způsobil zvýšení či snížení koncentrace iontů M^+ a M^{2+} a v jaké míře. Pokles a nárůst koncentrací byl vždy vztahován k předchozí surovině, tzn. hodnoty „Po PZ“ jsou vztaženy k hodnotám „Syrovátka S2“, hodnoty „Po ED“ jsou vztaženy k hodnotám „Po PZ“ atd. Z hodnot je opět patrné, že zavedení parciálního změkčení syrovátky splnilo svůj účel – došlo k poklesu dvojmocných iontů a zároveň jejich nahrazení ionty jednomocnými. Náhrada při PZ nebyla rovnoměrná, jelikož koncentrace jednomocných iontů stoupla o 31 %, zatímco koncentrace dvojmocných iontů klesla o 38 %. Do koncentráту C2 totiž kromě dvojmocných iontů přecházely zároveň také jednomocné ionty. Vyšší demineralizace dvojmocných iontů byla výhodou, jelikož to byl hlavní cíl PZ. Celkově ale došlo k celkovému navýšení M^+ a M^{2+} iontů o 8 %. Dále byla upravená syrovátka demineralizována elektrodialýzou. Bylo z ní odstraněno 75 % M^+ iontů a 55 % M^{2+} iontů. Tyto hodnoty odpovídají teorii, že M^+ ionty se z důvodu větší pohyblivosti v elektrickém poli odstraňují pomocí ED snáze než M^{2+} . Celková demineralizace proběhla ze 71 %, což se blíží plánované hodnotě stupně odsolení v tomto pokusu – 75 %. Poslední fázi zpracování syrovátky byla ultrafiltrace, při které vznikl retentát a permeát. V retentátu se zvýšil obsah M^+ i M^{2+} iontů vůči syrovátce po ED. Nárůst koncentrace M^+ iontů byl 26 % a M^{2+} iontů 43 %. Nárůst se může zdát vysoký, ovšem hodnoty jsou vztahovány k produktu po ED, kdy byla koncentrace iontů snížena na minimum, a proto je i mírný nárůst po UF znatelný. V tomto případě je lepší výsledky porovnat s následující Tabulkou č. 35 kde jsou procentuální poklesy a nárůsty koncentrací při jednotlivých procesech vztahovány vždy k vstupní syrovátce.

Tabulka č. 35: Procentuální pokles/nárůst koncentrace M^+ a M^{2+} iontů vzhledem ke vstupní surovině – naturální syrovátce

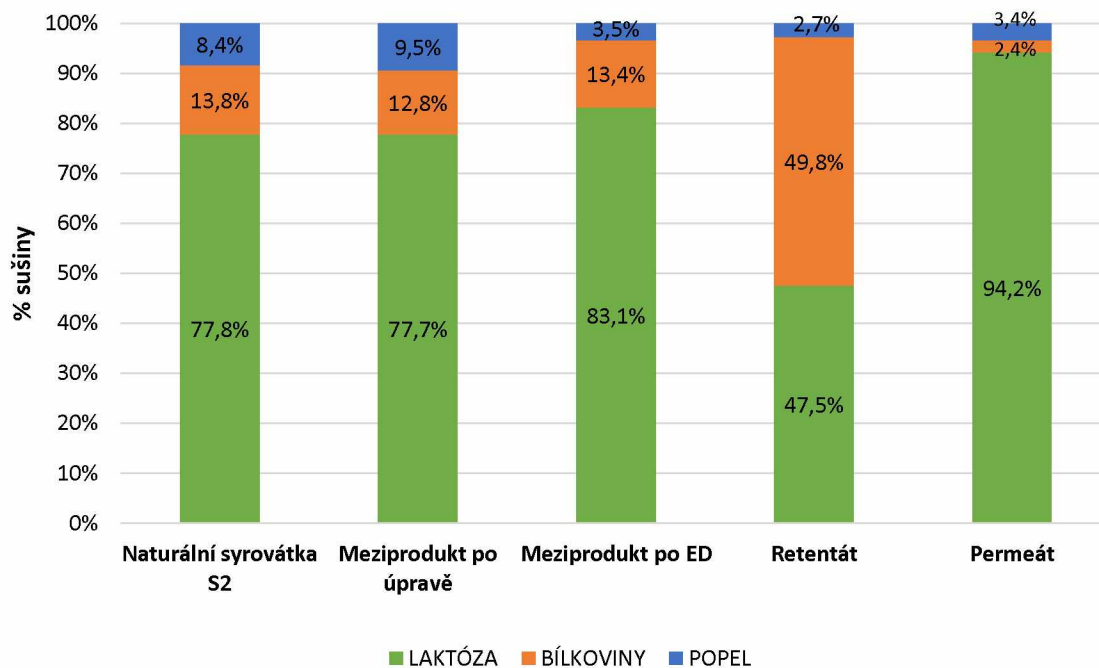
Pokles/nárůst koncentrace [%]	Syrovátka S2	Po PZ	Po ED	Retentát (UF)	Permeát (UF)
$[M^+]$	x	+ 31 %	- 68 %	- 60 %	- 73 %
$[M^{2+}]$	x	- 38 %	- 72 %	- 60 %	- 79 %
Celkový pokles/nárůst $[M^+] + [M^{2+}]$	x	+ 8 %	- 69 %	- 60 %	- 75 %

V Tabulce č. 35 jsou uvedeny procentuální poklesy/nárůsty koncentrací M^+ a M^{2+} iontů v jednotlivých fázích procesu v porovnání s počátečním stavem (naturální syrovátka S2). Můžeme vidět, že díky ED byl snížen obsah M^{2+} iontů o 72 % oproti počátku. Odstranění M^+ iontů proběhlo z 68 %. Zde je v kontextu s předchozí Tabulkou č. 34 patrné, jak je zařazení PZ velice důležité pro snadnější odstranění M^{2+} iontů. Demineralizace M^{2+} iontů je dokonce o 4 % účinnější než demineralizace M^+ iontů. Zařazením UF se obsah M^+ a M^{2+} ve zpracovávané syrovátce zvýší, jelikož část minerálů neprojde póry membrány tak jako bílkoviny. Obsah M^+ a M^{2+} v retentátu neboli roztoku WPC je v porovnání se vstupní syrovátkou o 60 % nižší.

Nejdůležitějším závěrem tohoto vyhodnocení je, že byla ověřena účinnost metody parciálního změkčení syrovátky před ED. Efektivně působí při náhradě dvojmocných iontů za ionty jednomocné ve zpracovávaném roztoku, čímž příznivě ovlivňuje jejich vzájemný poměr a usnadňuje tím demineralizaci dvojmocných iontů při ED. Výsledky analýz potvrdily předpoklad, že míra demineralizace jednotlivých iontů závisí na velikosti jejich náboje, a proto byly při samotné ED lépe odstraňovány ionty jednomocné ($\varphi = 75 \%$) než ionty dvojmocné ($\varphi = 55 \%$). Při zařazení metody parciálního změkčení byl ovšem diluátový produkt po ED demineralizován vzhledem ke vstupní syrovátce rovnoměrně z pohledu jednomocných ($\varphi = 68 \%$) i dvojmocných iontů ($\varphi = 72 \%$).

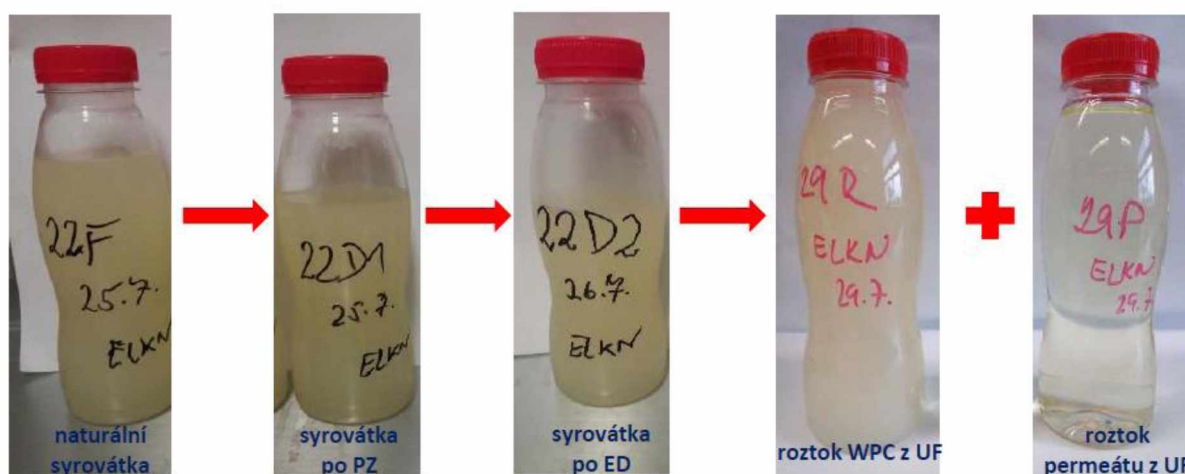
Dále byl základě provedených analytických stanovení sestaven přehledný graf, který znázorňuje vývoj hmotnostního zastoupení složek syrovátky v průběhu celého komplexního procesu. Složkami, které především tvořily sušinu, byly bílkoviny, laktóza a popel. Do hmotnostního složení laktózy byly zahrnuty i obsahy laktátu, citrátu a acetátu. Obsahy byly vůči laktóze tak nízké, že jsou téměř zanedbatelné (0,4–3,0 % hm.) a nejsou dále uvažovány. Komplexní proces zahrnoval úpravu naturální syrovátky, její elektrodialýzu a ultrafiltraci za vzniku roztoku syrovátkového koncentráту bílkovin (WPC).

Komplexní procesy od úpravy syrovátky až po vznik roztoku WPC byly provedeny dva s obdobnými podmínkami testů i výsledky, proto je zde graficky prezentován pouze jeden z nich. Jedná se o zpracování syrovátky S2. Ve třech dávkách byla syrovátka upravena na meziprodukt S2_D1(75), přičemž docházelo k poklesu měrné vodivosti roztoku KCl o 75 %. Následně došlo k demineralizaci konvenční elektrodialýzou ve třech dávkách za vzniku meziproduktu po ED S2_D2(75). Všechny roztoky byly odsoleny ze 75 % vzhledem k měrné vodivosti. Po elektrodialýze byly tyto tři diluáty smíchány do jednoho roztoku (19F), který byl vstupní surovinou pro ultrafiltraci. Z ultrafiltrace byl získán retentát (19R), neboli roztok koncentráту syrovátkových bílkovin, a permeát (19P).



Obrázek č. 20: Graf zastoupení složek sušiny v syrovátce S2 při jednotlivých procesech

Na Obrázku č. 21 je pro ilustraci uvedeno schéma barevných změn syrovátky během jejího zpracování. Naturální sladká syrovátka měla nažloutlou, mírně zakalenou barvu. Žluté zbarvení syrovátky bylo způsobeno přítomností vitamínu B2 (riboflavin). Zakalení syrovátky způsobovaly bílkoviny. Po parciálním změkčení nedošlo k žádné výrazné barevné změně, neboť se v syrovátce měnilo pouze zastoupení iontů, které nejsou barevné. Po ED bylo patrně větší „zakalení“ syrovátky, což bylo pravděpodobně způsobeno zvýšením koncentrace čistých bílkovin. Největší barevná změna nastala po UF. Retentát neboli roztok WPC měl silně zakalenou, „mléčnou“ barvu, což bylo způsobeno výrazným zahuštěním a zvýšením koncentrace bílkovin. Druhý proud z UF, permeát, byl čirý a ze syrovátky převzal žlutý odstín. Ve větším objemu měl permeát téměř neonově žluté zbarvení. Tento popis barvy odpovídá opět popisu zbarvení vitamínu B2, který neonově fluoreskuje. Znamená to, že tento vitamín přešel z majoritní části do permeátu.

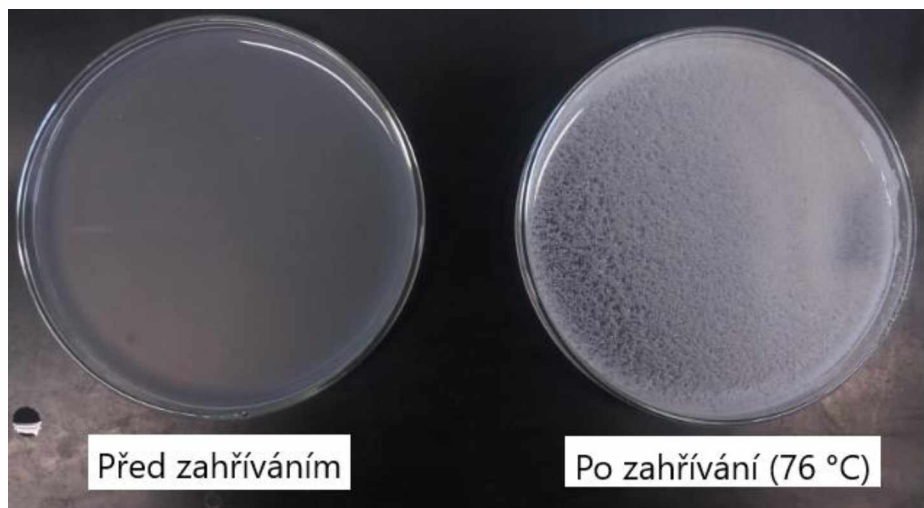


Obrázek č. 21: Barevné změny syrovátky během jejího zpracování

3.7 Ověření termostability roztoku WPC

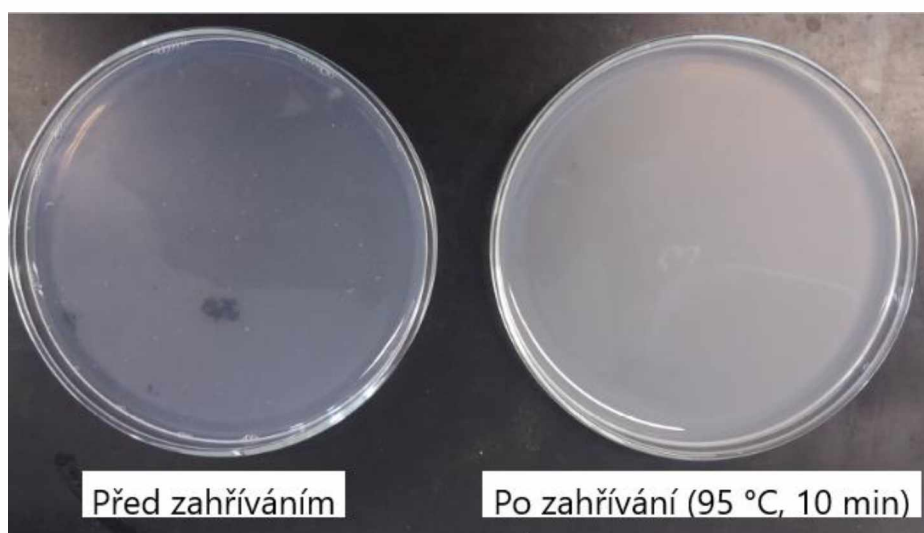
Termostabilita byla ověřována u dvou vzorků. Jednalo se o retentáty pocházející z UF a zároveň roztoky WPC – konečné produkty experimentů.

Pro porovnání byl nejdříve testován vzorek retentátu 19R bez úpravy pH před testováním. Jak bylo možné předpokládat, došlo k brzkému vyvločkování bílkovin a tvorbě gelu již při 76 °C. To koresponduje s údajem v literatuře, kde se označuje teplota 75 °C za kritickou teplotu pro indukci proteinových agregátů.



Obrázek č. 22: Ověření termostability roztoku WPC – vzorek 19R bez úpravy pH

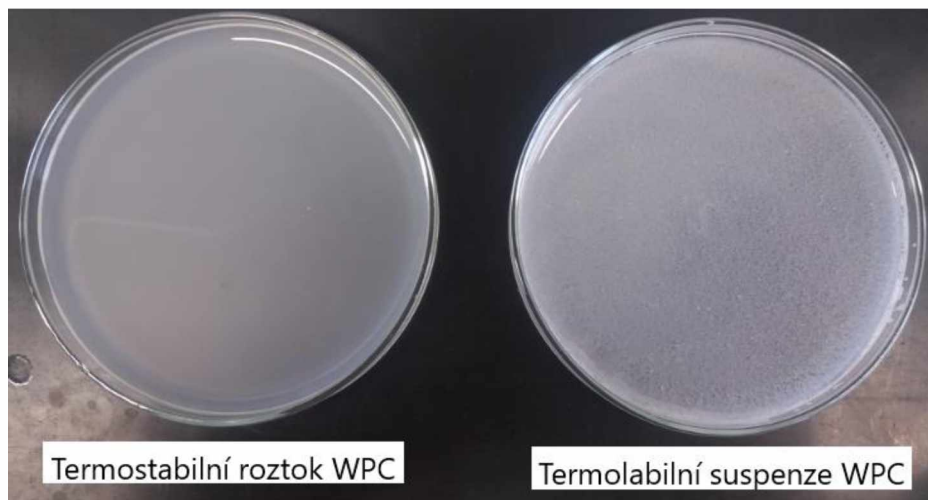
Dále už byly testovány pouze vzorky retentátů, jejichž pH bylo upraveno 50% roztokem NaOH na hodnotu pH v rozmezí 6,8–7,1. Jednalo se o vzorky s označením 19R a 29R. Bylo zjištěno, že oba vzorky roztoku WPC jsou termostabilní, neboť u nich při zahřívání na 95 °C po dobu 10 minut nebylo patrné vyvločkování bílkovin a nedošlo ke vzniku gelu. Na následujícím obrázku je fotografie porovnání barvy a konzistence vzorku 19R s úpravou pH před zahříváním a po 10 minutách zahřívání na teplotu 95 °C. Výsledek při ověření termostability vzorku 29R s úpravou pH byl obdobný, a proto fotografie není uvedena. Udržování konstantní teploty 95 °C bylo na magnetickém míchadle komplikované, setrvačností nastaveného ohřevu bylo dosaženo nejvyšší teploty 113 °C. I přesto zůstaly roztoky WPC termostabilní.



Obrázek č. 23: Ověření termostability roztoku WPC – vzorek 19R s úpravou pH

Na Obrázku č. 23 můžeme vidět, že konzistence roztoku WPC se po zahřívání nemění. Vzorek zůstává kapalný, bez přítomnosti bílkovinných vloček. Vlivem záhřevu ovšem dochází ke změně barvy koloidního roztoku bílkovin. Roztok je oproti počátku sytě zakalený. To je pravděpodobně způsobeno denaturací bílkovin. Ta je nicméně při zvýšených teplotách přirozená. Zásadní je fakt, že bílkoviny netvoří sraženiny, což je zároveň velice důležitý předpoklad pro zpracování těchto roztoků v průmyslovém měřítku.

Na Obrázku č. 24 je uvedena fotografie porovnání vzhledu roztoku termostabilního a termolabilního koncentráту syrovátkových bílkovin po zahřívání.



Obrázek č. 24: Rozdíl v barvě a konzistenci termostabilního roztoku WPC a termolabilní suspenze WPC

4 Závěr

Tato práce se zabývala problematikou sladké syrovátky a jejího zpracování. V teoretické části byl popsán vznik syrovátky, její chemické složení a vlastnosti. Byla diskutována historie zpracování a využití syrovátky od nakládání se syrovátkou jako s problematickým odpadem až po moderní technologické zpracování syrovátky jako zdroje nutričně významných syrovátkových bílkovin. V návaznosti na to byl popsán vývoj separace syrovátkových bílkovin za účelem výroby syrovátkového proteinového koncentráту (WPC) s využitím různých metod. Užití té které metody má přitom vliv na vlastnosti výsledného produktu a po literární rešerši jsem došla k závěru, že z pohledu nároků na kvalitu produktu, šetrnost ke zpracovávané surovině, ekologické a ekonomické aspekty procesu v současné době moderní membránové procesy nemají konkurenci. Následná rešerše tak zahrnovala popis tlakových membránových procesů a elektromembránových procesů. Detailně byla popsána ultrafiltrace a elektrodialýza, neboť se jedná o stěžejní procesy pro výrobu WPC se sníženým obsahem minerálů.

Velice důležitým aspektem pro další zpracování WPC je jeho termostabilita, díky které jsou bílkoviny rozpustné i po překročení kritické teploty pro indukci proteinových agregátů (75 °C). Bylo zjištěno, že termostabilita závisí na různých podmínkách. Zásadní bylo zjištění, že dvojmocné ionty mají mnohonásobně vyšší koagulační schopnost než ionty jednomocné, a jejich zvýšená koncentrace je z hlediska zachování termostability WPC nežádoucí. Většina metod k ověření termostability WPC je založena na záhřevu vzorku na určitou teplotu po určitý čas.

Na základě poznatků z teoretické části bylo cílem experimentální části této práce předupravit naturální syrovátku tak, aby se snížil obsah minerálů, a zejména dvojmocných iontů, před ultrafiltrací a následně byl připraven termostabilní WPC. Celá experimentální část byla provedena v laboratořích Membránového inovačního centra firmy MemBrain s.r.o. ve Stráži pod Ralskem. Pro předúpravu syrovátky byla využita nová metoda s přiděleným názvem parciální změkčení. Tato metoda nebyla nikdy předtím publikována ani využita pro úpravu syrovátky. Jednalo se o obměnu klasické elektrodialýzy. Cílem parciálního změkčení bylo zvýšení poměru koncentrace jednomocných ku dvojmocným iontům za účelem snadnější demineralizace dvojmocných iontů a jejich nízké koncentrace ve finálním produktu. Porovnáním analytických stanovení složení naturální syrovátky a syrovátky po parciálním změkčení bylo dokázáno, že metoda parciálního změkčení je úspěšná a zvyšuje poměr koncentrace jednomocných iontů ku dvojmocným iontům v syrovátce. Konkrétně byl poměr

koncentrace zvýšen na více než čtyřnásobek. Současně ale bylo zachováno složení sušiny naturální syrovátky. Zároveň byly zjištěny ideální podmínky experimentu pro další testování v budoucnu. V dalším kroku byla upravená syrovátka podrobena konvenční elektrodialýze s cílem snížit obsah minerálů o 75 až 80 %. Vyšší stupeň odsolení by již při aplikaci v průmyslovém měřítku nebyl efektivní z pohledu porovnání nákladů s výkonem elektrodialýzy. Bylo zjištěno, že míra odstranění iontů závisela na jejich počáteční koncentraci a pohyblivosti v elektrickém poli. Nejlépe se demineralizovaly ionty jednomocné o vysoké počáteční koncentraci, obtížněji ionty dvojmocné o nízké počáteční koncentraci. Demineralizovaná syrovátka byla podrobena ultrafiltraci, při které došlo k separaci syrovátkových bílkovin od ostatních složek sušiny a části rozpouštědla. Došlo k čtyřnásobnému zahuštění vstupní demineralizované syrovátky. Vzniklý retentát mohl být od té chvíle označen za roztok koncentráту syrovátkových bílkovin s obsahem zhruba 50 % bílkovin v sušině. Při ultrafiltraci bylo membránami zadrženo cca 96 % bílkovin a pouze 4 % bílkovin přešly do permeátu.

Poslední částí práce bylo ověření termostability finálního produktu – roztoku WPC. Za termostabilní byl považován vzorek, ve kterém při zahřívání na 95 °C po dobu 10 minut nedošlo k vyvločkování bílkovin ani ke vzniku gelu. Oba vzorky testovaných retentátů byly termostabilní. Při záhřevu na vysokou teplotu sice docházelo k denaturaci bílkovin, ne však k jejich vysrážení, což je zásadní předpoklad pro zpracování těchto roztoků v průmyslovém měřítku.

Lze konstatovat, že všechny dílčí procesy, které vedly k produkci termostabilního koncentráту syrovátkových bílkovin, byly navrženy a experimentálně provedeny úspěšně, jelikož byl obdržen produkt s požadovanými vlastnostmi. Díky zařazení metody parciálního změkčení vykazoval výsledný produkt nižší koncentraci dvojmocných iontů, než by vykazoval při provedení konvenční elektrodialýzy bez této předúpravy. Je velice pravděpodobné, že právě díky sníženému obsahu dvojmocných iontů byl finální produkt termostabilní.

Nakonec je vhodné zmínit, že velkou poptávku po syrovátkových proteinových koncentrátech (WPC) dokazuje globální roční produkce 250 milionů tun tohoto potravinářského produktu. V zájmu mnoha firem v potravinářském sektoru je proto intenzivně vyvíjet metody, které zefektivní či usnadní výrobu syrovátkového proteinového koncentráту. Proto je velice pravděpodobné, že ověření úspěšnosti zařazení metody parciálního změkčení syrovátky za účelem produkce termostabilního WPC bude i nadále experimentálně testováno ve větším měřítku.

5 Seznam použité literatury

- [1] *Celostátní přehledky sýrů ...: výsledky přehledek a sborník přednášek semináře Mléko a sýry* .. Praha: Česká společnost chemická, Odborná skupina pro potravinářskou a agrikulturní chemii, 2010. ISBN isbn978-80-7080-760-6.
- [2] *Celostátní přehledky sýrů ...: Výsledky přehledek a sborník přednášek semináře Mléko a sýry* .. Praha: Česká společnost chemická, Odborná skupina pro potravinářskou a agrikulturní chemii, 2014. ISBN isbn978-80-7080-909-9.
- [3] MANDLE, Robert a Wayne MCRAE. *Renaturing reversibly denatured polypeptides and proteins by electro dialysis of solutions thereof in denaturants*. 1986. Spojené státy americké. US 4678553. Uděleno 7.7.1987. Zapsáno 11.7.1986.
- [4] SISO, M.I.González. The biotechnological utilization of cheese whey: A review. *Bioresource Technology* [online]. 1996, **57**(1), 1-11 [cit. 2020-03-12]. DOI: 10.1016/0960-8524(96)00036-3. ISSN 09608524. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0960852496000363>
- [5] SMITHERS, Geoffrey. Whey and whey proteins—From ‘gutter-to-gold’. *International Dairy Journal* [online]. 2008, **18**(7), 695-704 [cit. 2020-03-24]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2008.03.008. ISSN 09586946. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694608000344>
- [6] LAPČÍKOVÁ, Petra. *Kontrola jakosti syrovátky jako suroviny pro zpracovatele*. Brno, 2015, 80 s. Diplomová práce. Mendelova univerzita v Brně. Vedoucí práce Ing. Miroslav Jůzl, Ph.D.
- [7] CHANFRAU, J., J. PÉREZ, M. FIALLOS, R. LEONOR, V. ABRIL a M. GUERRERO. Milk whey- from a problematic byproduct to a source of valuable products for health and industry: An overview from biotechnology. *La Prensa Medica Argentina* [online]. 2017, **103**(4), 1-11 [cit. 2020-03-19]. Dostupné z: https://www.scholarsliterature.com/article_pdf/4/scientific_4_157_07022019062146.pdf

- [8] ONWULATA, Charles a Peter HUTH. *Whey processing, functionality and health benefits*. 1st ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2008. ISBN 0813809037.
- [9] MALÝ, Josef a Jitka MALÁ. *Chemie a technologie vody*. 2., dopl. vyd. Brno: ARDEC, 2006. ISBN 80-860-2050-9.
- [10] Vodní ekotoxikologie: Rozdělení odpadních vod. *Inovace studijních programů AF MENDELU směrem k internacionalizaci studia* [online]. [cit. 2020-03-24]. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=2307&typ=html
- [11] SMITH, Karen. *Dried Dairy Ingredients* [online]. [cit. 2020-05-25]. Dostupné z: https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:zj15xs4kEQ0J:https://www.cdr.wisc.edu/sites/default/files/insider/resources/dried_dairy_ingredients.pdf+&cd=1&hl=cs&ct=clnk&gl=cz&client=firefox-b-d
- [12] KOSIKOWSKI, F.V. Whey utilization and whey products. *Journal of Dairy Science*. 1979, **62**, 1149-1160. ISSN 0022-0302.
- [13] SMITHERS, Geoffrey. Whey-ing up the options – Yesterday, today and tomorrow. *International Dairy Journal* [online]. 2015, **48**, 2-14 [cit. 2020-04-03]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2015.01.011. ISSN 09586946. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694615000229>
- [14] BHATTACHARJEE, Sangita, Chiranjib BHATTACHARJEE a Siddhartha DATTA. Studies on the fractionation of β -lactoglobulin from casein whey using ultrafiltration and ion-exchange membrane chromatography. *Journal of Membrane Science* [online]. 2006, **275**(1-2), 141-150 [cit. 2020-04-16]. DOI: 10.1016/j.memsci.2005.09.013. ISSN 03767388. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376738805006514>
- [15] MORAIS, Harriman, Marialice SILVESTRE, Mauro SILVA, Viviane SILVA, Marina BATISTA, Ana SIMÕES E SILVA a Josiane SILVEIRA. Enzymatic hydrolysis of whey protein concentrate: effect of enzyme type and enzyme. *Journal of Food Science and Technology* [online]. 2015, **52**(1), 201-210 [cit. 2020-04-17]. DOI: 10.1007/s13197-013-1005-z. ISSN 0022-1155. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s13197-013-1005-z>

- [16] KAUR, Navpreet, Poorva SHARMA, Seema JAIMNI, Bababode KEHINDE a Shubhneet KAUR. Recent developments in purification techniques and industrial applications for whey valorization: A review. *Chemical Engineering Communications* [online]. 2019, **207**(1), 123-138 [cit. 2020-04-16]. DOI: 10.1080/00986445.2019.1573169. ISSN 0098-6445. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00986445.2019.1573169>
- [17] *Membránové procesy v potravinářství: Sborník ze semináře projektu KUSmem* [online]. In: . Stráž pod Ralskem, 2015 [cit. 2020-04-21]. Dostupné z: http://www.ctpp.cz/data/files/Sbornik_Membranove%20procesy.pdf
- [18] REBOUILLAT, Serge a Salvadora ORTEGA-REQUENA. Potential Applications of Milk Fractions and Valorization of Dairy By-Products: A Review of the State-of-the-Art Available Data, Outlining the Innovation Potential from a Bigger Data Standpoint. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*. 2015, **06**(03), 176-203. DOI: 10.4236/jbnb.2015.63018. ISSN 2158-7027. Dostupné také z: <http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/jbnb.2015.63018>
- [19] PALATÝ, Zdeněk, ed. *Membránové procesy*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2012. ISBN 978-80-7080-808-5.
- [20] ČERVENKA, Vojtěch. *Posouzení využití membránových procesů v podmínkách farmaceutické firmy*. Ostrava, 2016. Diplomová práce. Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava. Vedoucí práce Ing. Jan Thomas, PhD.
- [21] JIRÁNKOVÁ, Hana. *Membránové procesy v potravinářství: Membránové procesy v potravinářství a mlékárenství*. 23. října 2015. Česká Lípa: Česká membránová platforma o.s., str. 4-11. ISBN ISBN 978-80-904517-5-9.
- [22] Skripta VŠCHT Praha: Izolace biomakromolekul. In: *Ústav biochemie a mikrobiologie VŠCHT Praha* [online]. Praha [cit. 2020-04-21]. Dostupné z: old-biomikro.vscht.cz/vyuka/ib/skripta.pdf
- [23] ŠARLÁK, Michal. *Studium transportu iontu přes iontovýměnné membrány*. Ostrava, 2016. Diplomová práce. Technická univerzita Ostrava. Vedoucí práce Ing. Jan Thomas, PhD.

- [24] NOVÁK, Luboš, ed. *Elektromembránové procesy*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2014. ISBN 978-80-7080-865-8.
- [25] VAN DER BRUGGEN, Bart. Ion-exchange membrane systems—Electrodialysis and other electromembrane processes. *Fundamental Modelling of Membrane Systems* [online]. Elsevier, 2018, s. 251-300 [cit. 2020-05-11]. DOI: 10.1016/B978-0-12-813483-2.00007-1. ISBN 9780128134832. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128134832000071>
- [26] KNETTIGOVÁ, Eliška. *Využití elektrodialýzy při čištění potravinových doplňků*. Pardubice, 2018. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice. Vedoucí práce Doc. Ing. Martin Hájek, Ph.D.
- [27] NAGARALE, R.K., G.S. GOHIL a Vinod SHAHI. Recent developments on ion-exchange membranes and electro-membrane processes. *Advances in Colloid and Interface Science* [online]. 2006, **119**(2-3), 97-130 [cit. 2018-06-22]. DOI: 10.1016/j.cis.2005.09.005. ISSN 00018686. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001868605001107>
- [28] STRATHMANN, H. Electrodialysis, a mature technology with a multitude of new applications. *Desalination* [online]. 2010, **264**(3), 268-288 [cit. 2018-06-22]. DOI: 10.1016/j.desal.2010.04.069. ISSN 00119164. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0011916410002985>
- [29] *Studijní materiál: Elektrodialýza*. Praha. Dostupné také z: uchi.vscht.cz/uploads/pedagogika/labchi/E.pdf
- [30] KINČL, Jan. *Prezentace: Odsolování syrovátky elektrodialýzou*. Membránové inovační centrum Stráž pod Ralskem, 2013.
- [31] *Elektromembránové procesy. Czemp: Česká membránová platforma* [online]. [cit. 2020-05-11]. Dostupné z: <http://www.czemp.cz/cs/membranove-procesy/elektromembranove-procesy>
- [32] BAKER, Richard. *Membrane technology and applications*. 2nd ed. New York: J. Wiley, 2004. ISBN 04-708-5445-6.

- [33] MERKEL, Arthur, Amir ASHRAFI a Jiří EČER. Bipolar membrane electro dialysis assisted pH correction of milk whey. *Journal of Membrane Science* [online]. 2018, **555**, 185-196 [cit. 2020-05-14]. DOI: 10.1016/j.memsci.2018.03.035. ISSN 03767388. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376738817334233>
- [34] CAMACHO, Lucy, Jessica FOX a Johnson AJEDEGBA. Optimization of electro dialysis metathesis (EDM) desalination using factorial design methodology. *Desalination* [online]. 2017, **403**, 136-143 [cit. 2020-05-13]. DOI: 10.1016/j.desal.2016.07.028. ISSN 00119164. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0011916416309146>
- [35] SMĚRNICE KOMISE 2006/141/ES ze dne 22. prosince 2006 o počáteční a pokračovací kojenecké výživě a o změně směrnice 1999/21/ES. In: . Evropská komise, 2006. Dostupné také z: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2006L0141:20081028:C S:PDF>.
- [36] Demineralised whey: Demineralised whey powder. *FIT, dairy ingredients supplier: butter, milk powders, lactose, whey* [online]. [cit. 2020-04-15]. Dostupné z: <https://www.fitsa-group.com/en/produit/demineralised-whey/>
- [37] SUKOVÁ, Irena. *Syrovátka v potravinářství*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2006. Potravinářské informace. ISBN isbn80-72-71-173-3.
- [38] BAINES, David a Richard SEAL. *Natural Food Additives, Ingredients and Flavourings*. Woodhead Publishing, 2012. ISBN 9781845698119.
- [39] SPXFLOW: Demineralized Whey Powder. In: *SPXFLOW: Global Industrial Equipment & Global Manufacturing* [online]. [cit. 2020-05-13]. Dostupné z: https://www.spxflow.com/assets/original/ANH_Demineralized_Whey_Powder_ANH-610-GB.pdf

- [40] ZIMÁK, Evžen. *Mliekarska technológia pre 3. ročník strednej priemyselnej školy potravinárskej, odbor spracovanie mlieka*. 2.upr.vyd. Bratislava: Alfa, 1991. Edícia potravinárskej literatúry (Alfa). ISBN isbn80-05-00682-9.
- [41] SÝKORA, Václav a Vladimír ZÁTKA. *Příruční tabulky pro chemiky*. 3., přeprac. a dopl. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1967.
- [42] BALDASSO, C., T.C. BARROS a I.C. TESSARO. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. *Desalination* [online]. 2011, **278**(1-3), 381-386 [cit. 2020-04-21]. DOI: 10.1016/j.desal.2011.05.055. ISSN 00119164. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0011916411004681>
- [43] YEE, Kevin, Dianne WILEY a Jie BAO. Whey protein concentrate production by continuous ultrafiltration: Operability under constant operating conditions. *Journal of Membrane Science* [online]. 2007, **290**(1-2), 125-137 [cit. 2020-04-21]. DOI: 10.1016/j.memsci.2006.12.026. ISSN 03767388. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376738806008490>
- [44] WEN-QIONG, Wang, Wa YUN-CHAO, Zhang XIAO-FENG, Gu RUI-XIA a Lu MAO-LIN. Whey protein membrane processing methods and membrane fouling mechanism analysis. *Food Chemistry* [online]. 2019, **289**, 468-481 [cit. 2020-04-21]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.03.086. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814619305631>
- [45] JIANG, Shanshan, Muhammad ALTAF HUSSAIN, Jianjun CHENG, Zhanmei JIANG, Hao GENG, Ying SUN, Changbao SUN a Juncai HOU. Effect of heat treatment on physicochemical and emulsifying properties of polymerized whey protein concentrate and polymerized whey protein isolate. *LWT* [online]. 2018, **98**, 134-140 [cit. 2019-08-01]. DOI: 10.1016/j.lwt.2018.08.028. ISSN 00236438. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0023643818306819>
- [46] COSTA, Naiara, Leandro CAPPATO, Marcus FERREIRA et al. Ohmic Heating: A potential technology for sweet whey processing. *Food Research International* [online]. 2018, **106**, 771-779 [cit. 2020-04-06]. DOI: 10.1016/j.foodres.2018.01.046.

ISSN 09639969. Dostupné z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996918300541>

- [47] HEBISHY, Essam, Yousef JOUBRAN, Eoin MURPHY a James O'MAHONY. Influence of calcium-binding salts on heat stability and fouling of whey protein isolate dispersions. *International Dairy Journal* [online]. 2019, **91**, 71-81 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2018.12.003. ISSN 09586946. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694618302747>
- [48] BURRINGTON, Kimberlee. Technical report: Whey Protein Heat Stability. *Think USA Dairy: brought to you by U.S. Dairy Export Council* [online]. [cit. 2019-08-01]. Dostupné z: https://www.thinkusadairy.org/assets/documents/Custom%20Site/C3-Using%20Dairy/C3.7-Resources%20and%20Insights/03-Application%20and%20Technical%20Materials/USDEC_Heat_Stability_Whey_Protein_Tech_Bulletin_v1.pdf
- [49] INCE-COSKUN, Alev a Ozgul OZDESTAN-OCAK. Effects of salt ions and heating on the behaviour of whey protein particle dispersions. *Food Hydrocolloids* [online]. 2020, **101** [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2019.105433. ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X19305223>
- [50] ZHU, Haiming a Srinivasan DAMODARAN. Effects of Calcium and Magnesium Ions on Aggregation of Whey Protein Isolate and Its Effect on Foaming Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 1994, **42**(4), 856-862 [cit. 2019-08-01]. DOI: 10.1021/jf00040a003. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf00040a003>
- [51] PARRIS, N., C.M. HOLLAR, A. HSIEH a K.D. COCKLEY. Thermal Stability of Whey Protein Concentrate Mixtures: Aggregate Formation. *Journal of Dairy Science* [online]. 1997, **80**(1), 19-28 [cit. 2019-08-01]. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(97)75908-3. ISSN 00220302. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022030297759083>
- [52] SCHMITT, Christophe, Claudine BOVAY, Anne-Marie VUILLIOMENET, Martine ROUVET a Lionel BOVETTO. Influence of protein and mineral composition on the formation of whey protein heat-induced microgels. *Food Hydrocolloids* [online].

- 2011, **25**(4), 558-567 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2010.05.010. ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X10001104>
- [53] VAN DER MEEREN, Paul, Mamdouh EL-BAKRY, Nico NEIRYNCK a Pascal NOPPE. Influence of hydrolysed lecithin addition on protein adsorption and heat stability of a sterilised coffee cream simulant. *International Dairy Journal* [online]. 2005, **15**(12), 1235-1243 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2004.12.007. ISSN 09586946. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694605000154>
- [54] ., Etou a Comlan . Study by Differential Scanning Calorimetry of the Thermal Stability of Whey Proteins Concentrate. *Biotechnology(Faisalabad)* [online]. 2007, **6**(3), 431-435 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.3923/biotech.2007.431.435. ISSN 1682296X. Dostupné z: <http://www.scialert.net/abstract/?doi=biotech.2007.431.435>
- [55] Laboratorní měření: pH metry. *PH metry, WTW* [online]. [cit. 2020-05-20]. Dostupné z: <http://www.wtwcz.com/ph-metry-27/>
- [56] ČIČMANEC, Pavel, Martin HÁJEK, Helena DROBNÁ a Karel FROLICH. *Fyzikální chemie pro bakalářské studium*. Vydání druhé opravené. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2019. ISBN 978-80-7560-244-2.
- [57] Laboratorní měření: Konduktometry. *Konduktometry, WTW* [online]. [cit. 2020-05-20]. Dostupné z: <http://www.wtwcz.com/konduktometry-30/>
- [58] PODMOLÍKOVÁ, Kateřina. *Technologie a analýza fermentovaných mléčných výrobků*. Pardubice, 2012. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice. Vedoucí práce Doc. Ing. Martin Adam, Ph.D.
- [59] Návod k obsluze: HI 96801 Refraktometr pro měření sacharosu. In: *Hanna Instruments* [online]. [cit. 2020-05-20]. Dostupné z: <https://www.hanna-instruments.cz/digitalni-refraktometr-pro-mereni-sacharosu-do-85-brix-#tabsCont>
- [60] Měření stupňů Brix a měřiče Brix. *Laboratorní, průmyslové, obchodní váhy: METTLER TOLEDO* [online]. [cit. 2020-05-27]. Dostupné z:

<https://www.mt.com/cz/cs/home/perm-lp/product-organizations/ana/brix-meters.html>

- [61] *Standardní operační postup SOP č. T015: Standardní solný test EDR-Z, EDR-Y*. 1. MemBrain s.r.o., Stráž pod Ralskem, 2019.
- [62] *Norma ČSN EN ISO 14891:2002: Mléko a mléčné výrobky - Stanovení obsahu dusíku - Rutinní metoda s užitím spalování dle Dumase*. 1. 2002.
- [63] BARTOŠÍK, Radek. *Možnosti fermentace syrovátky*. Zlín, 2017. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Vedoucí práce Ing. Zuzana Bubelová, Ph.D.
- [64] MASSEY, K., C. BLAKESLEE a H. PITKOW. A review of physiological and metabolic effects of essential amino acids. *Amino Acids* [online]. 1998, **14**(4), 271-300 [cit. 2020-04-23]. DOI: 10.1007/BF01318848. ISSN 0939-4451. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF01318848>
- [65] Conductivity Monitoring for Reverse Osmosis. *Sensorex* [online]. [cit. 2020-05-14]. Dostupné z: <https://sensorex.com/blog/2017/07/12/conductivity-monitoring-reverse-osmosis/>
- [66] KODÍČEK, Milan. Biochemické pojmy: Výkladový slovník. *Vscht.cz* [online]. [cit. 2020-05-19]. Dostupné z: https://e-learning.vscht.cz/knihy/uid_es-002/ebook.html?p=da
- [67] *Studijní text: Izoelektrický bod* [online]. [cit. 2018-07-10]. Dostupné z: http://orion.chemi.muni.cz/zakladni_pojmy_z_biochemie/page0143.htm