

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Katedra analytické chemie

Využití elektrodialýzy při čištění potravinových doplňků

Eliška Knettigová

Bakalářská práce

2018

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology
Department of Analytical Chemistry

The use of electrodialysis for purification of dietary supplements

Eliška Knettigová

Bachelor thesis

2018

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Eliška Knettigová**
Osobní číslo: **C15088**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Název tématu: **Využití elektrodialýzy při čištění potravinových doplňků**
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Vypracujte rešerši o elektro membránových procesech, detailněji se zaměřte na elektrodialýzu a její využití jako separační metody pro potravinářské účely.
2. Popište prebiotika jako doplňky stravy, zejména oligosacharidy (struktura, význam, možnosti jejich výroby a čištění).
3. Proveďte odsolení přípravku BIMUNO pomocí elektrodialýzy a ověřte stanovení síranového popelu v sušině.
4. Výsledky zhodnoťte z hlediska kvality odsoleného produkt.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Ing. Martin Hájek, Ph.D.

Katedra fyzikální chemie

Konzultant bakalářské práce:

Ing. Tomáš Kotala

Membrain s.r.o., Stráž pod Ralskem

Datum zadání bakalářské práce:

20. února 2018

Termín odevzdání bakalářské práce:

4. července 2018



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2018

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem tuto práci 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., autorský zákon, 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. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Eliška Knettigová

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala panu doc. Ing. Martinu Hájkovi, Ph.D., za jeho odborné vedení, cenné rady a konzultace, které mi velice pomohly při zpracování bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat společnosti MemBrain s.r.o. za umožnění stáže a naměření dat. Jmenovitě bych pak chtěla poděkovat Ing. Tomáši Kotalovi za odborný dozor a pomoc při zpracování experimentální části bakalářské práce. Ráda bych poděkovala svým rodičům za umožnění studia na této škole a podporu při studiu.

ANOTACE

Bakalářská práce se zabývá elektrodialýzou a jejím využitím při čištění potravinových doplňků. V teoretické části práce jsou uvedeny základní principy a rozdělení elektromembránových procesů, pod které elektrodialýza spadá. Dále je v práci popsán význam prebiotik ve stravě a uvedena charakteristika, výroba a čištění galaktooligosacharidů, jakožto sloučenin s prebiotickými vlastnostmi. V experimentální části práce byl pomocí elektrodialýzy demineralizován funkční potravinový doplněk Bimuno[®], jehož majoritní složkou jsou právě galaktooligosacharidy. Účinnost demineralizace byla ověřena stanovením obsahu popela dvěma způsoby: (i) standardizovaná metoda stanovení síranového popela a (ii) orientační stanovení popela v roztoku pomocí konduktometrie. Metody byly srovnány a byly zhodnoceny výsledky práce. Práce byla úspěšná z pohledu snížení obsahu popela v sušině až na 0,1 % i z pohledu modifikované metody.

KLÍČOVÁ SLOVA

Elektromembránové procesy, membrány, elektrodialýza, prebiotika, galaktooligosacharidy

ANNOTATION

Bachelor work deals with electrodialysis and its use in dietary supplements purification. In the theoretical part, there are described basic principles of the electromembrane processes, whereby electrodialysis belongs to them. Then, there is explained the need of prebiotics in diet and also described the characteristics, production and purification of galactooligosaccharides as compounds with the prebiotic status. In the experimental part, a functional food supplement Bimuno[®], was being demineralised via electrodialysis. The quality of demineralisation was verified by the determination of ash content with two methods: (i) Standardized determination of sulphate ash and (ii) Tentative ash determination using conductivity. Both methods were compared and the results of the work were evaluated. The work was successful in lowering the ash content in dry matter to 0,1 % and also in modifying the method.

KEYWORDS

Electromembrane processes, membranes, electrodialysis, prebiotics, galactooligosaccharides

Obsah

Úvod.....	11
1 Teoretická část.....	12
1.1 Elektromembránové procesy.....	12
1.2 Membrány	13
1.3 Rozdělení elektromembránových procesů	15
1.3.1 Elektrodialýza	15
1.3.2 Elektrodialýza s bipolárními membránami (EDBM).....	18
1.3.3 Elektrodialýza pro iontovou záměnu	18
1.3.4 Elektrodeionizace (EDI)	19
1.3.5 Elektroforéza.....	20
1.4 Aplikace elektrodialýzy	21
1.5 Bimuno® a galaktooligosacharidy.....	26
2 Experimentální část	29
2.1 Příprava roztoku GOS	29
2.2 Elektrodialýza	29
2.3 Analytická část.....	31
3 Výsledky a diskuze.....	33
3.1 Elektrodialýza	33
3.2 Stanovení obsahu popela.....	34
4 Závěr.....	37
5 Seznam použité literatury.....	38

SEZNAM OBRÁZKŮ A ILUSTRACÍ

Obrázek 1: Schéma elektrodialýzy	16
Obrázek 2: Schéma elektrodeionizace	20
Obrázek 3: Schéma elektroforézy	21
Obrázek 4: Technologická mapa efektivních kombinací demineralizačních technologií pro zpracování mléčné syrovátky.....	25
Obrázek 5: Struktura GOS	26
Obrázek 6: Elektrodialyzér	29
Obrázek 7: Závislost vodivosti a pH na čase	34
Obrázek 8: Závislost obsahu popela na vodivosti	35

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Experimentální podmínky	30
Tabulka 2: Demineralizační data	33
Tabulka 3: Údaje pro stanovení obsahu popela konduktometricky.....	35
Tabulka 4: Konvergenční faktory	35

SEZNAM ZKRATEK

AM, ASM - anionselektivní membrána

C_f - koncentrace feedu (vstupní suroviny)

C_p - koncentrace produktu

D - diluát

DK - diluátová komora

ED - elektrodialýza

EDBM - elektrodialýza s bipolárními membránami

EDI - elektrodeionizace

EDM - elektrodialýza metathese

EDR - elektrodialýza s reverzací polarit

EFC - elektroforéza

EMP - elektromembránové procesy

GOS - galaktooligosacharid(y)

K - koncentrát

KK - koncentrátová komora

KM, KSM - kationselektivní membrána

KP - konduktometrický popel [%]

KP1 - konduktometrický popel před konvergencí [%]

KP2 - konduktometrický popel po konvergenci [%]

KT - kalibrační test

κ - specifická vodivost [mS/cm]

κ_w - specifická vodivost vody [mS/cm]

ME - membránová elektrolýza

MP - membránový pár

RO - reverzní osmóza

RS - refraktometrická sušina [°Bx]

RSP - reálný sulfátový/síranový popel

ST - standardní test

SČ - suma čtverců

Úvod

Elektromembránové procesy patří v současné době k velmi perspektivním moderním technologiím, které lze uplatnit v mnoha odvětvích průmyslu. Patří do skupiny membránových procesů, které jsou relativně novou, nicméně rychle se rozvíjející metodou separace pro své výhodné vlastnosti. Tyto procesy jsou upřednostňovány pro nižší energetickou náročnost, vyšší spolehlivost, šetrnost k životnímu prostředí a šetrnost k separovaným složkám. Velký význam proto tyto procesy mají při zpracovávání biologicky aktivních látek. Jako stěžejní vystupují elektromembránové procesy zejména v problematice čištění vod.

Klíčovou roli hrají iontově selektivní membrány, tedy tenké vrstvy nebo fólie, které jsou pro jisté látky propustné více, pro jiné méně. Velký rozmach elektromembránových procesů byl tedy úzce spojen s vynalezením těchto membrán v padesátých letech minulého století. V průběhu následujících let byly membrány vylepšovány a splňovaly více a více variabilních požadavků. V současné době jsou vysoce perms selektivní, mechanicky odolné a mají nízký elektrický odpor.

Elektromembránové technologie jsou nyní stále více používány v širokém spektru aplikací, tj. demineralizace, desalinace, stabilizace, purifikace, deacidifikace nebo separace látek. Aplikace v potravinářském sektoru nejsou výjimkou. Nejčastěji využívaným separačním procesem je zde elektrodialýza. Tu lze s výhodou použít při čištění a úpravě mnoha potravinářských produktů, jako například syrovátky, vína, melasy apod.

Hlavním cílem praktické části této bakalářské je demineralizovat elektrodialýzou potravinářský doplněk Bimuno[®], složený převážně z galaktooligosacharidů. Popis struktury, účinků, výroby a čištění této sloučeniny je taktéž náplní práce. Pro ověření správnosti procesu bude stanoven obsah popela před a po demineralizaci, a sice ověřeným standardizovaným postupem a nepřímou konduktometrickou metodou. Obě metody budou vzájemně srovnány a zároveň bude objasněno, zda bude moct být konduktometrická metoda používána při stanovení popela typově podobných produktů.

1 Teoretická část

1.1 Elektromembránové procesy

Elektromembránové procesy (EMP) představují velmi významnou skupinu membránových procesů. Společným jmenovatelem různorodých technologií v tomto odvětví je totožná hnací síla, a to gradient elektrického potenciálu, který je aplikován na soustavu membrán. [1] Konkrétně se využívá pohybu částic v elektrickém poli, kdy kladně nabitě částice migrují směrem k záporně nabitě elektrodě (katodě) a záporně nabitě částice migrují směrem ke kladně nabitě elektrodě (anodě). Do cesty těchto migrujících částic jsou vloženy neporézní polymerní membrány s funkčními skupinami s elektrickým nábojem, které umožňují průchod částic s opačným nábojem přes tuto membránu pod vlivem aplikovaného elektrického pole. [2]

Aplikační možnosti elektromembránových procesů jsou velmi široké. Uplatňují se například v problematice ochrany životního prostředí. Lze tak odstranit škodlivé chemikálie z odpadních vod a plynů, obnovit a opětovně využít cenné sloučeniny z odpadů, čímž lze uzavřít „technologickou smyčku“ při výrobě. Další uplatnění EMP nachází při čištění brakických vod¹, přípravě ultračisté vody, zpracování potravinářských „odpadních“ produktů, ale také při povrchových úpravách v automobilovém a spotřebním průmyslu a v neposlední řadě při dělení elektrolytů od neelektrolytů při čištění velkých organických molekul ve farmaceutickém průmyslu. [3]

Stále rostoucí využití membrán je patrné i v palivových článcích a bateriových systémech, ve kterých membrány regulují transport iontů z různých částí článku.

Membrány lze využít v potravinářských technologiích. Hlavní výhodou moderních membránových procesů je především skutečnost, že ve výsledném produktu nedochází ke ztrátě léčivých či nutričních hodnot, například přidavkem regeneračních a koagulačních činidel. Mezi další výhody EMP patří zejména vysoká účinnost separace látek bez fázových přeměn, snadná kontinualizace a automatizace, prostorová nenáročnost, nižší spotřeba energií oproti jiným postupům a v neposlední řadě již zmíněná možnost realizace uzavřených bezodpadových technologických uzlů i celých technologií. Nevýhodou EMP je nutnost odstranění tzv. membránových jedů předúpravou roztoků a fouling, respektive scaling. Foulingem se rozumí fyzikální ucpávání pórů částicemi. Scaling představuje ucpávání v důsledku složení

¹ Brakickou vodou je myšlena voda, ve které se koncentrace solí pohybuje na pomezí mezi sladkou a mořskou vodou. [46]

filtrovaného média, ze kterého krystalizují minerální látky na povrchu membrány a blokují průchod iontů. [4]

Dle účelu je dělíme do tří skupin:

Elektromembránové separační procesy slouží k demineralizaci roztoků nebo koncentrování elektrolytů v roztocích nebo k separaci elektrolytů od neelektrolytů. Konkrétně se jedná o elektrodialýzu (ED), elektrodialýzu s reverzáci polarit elektrod (EDR) a elektrodeionizaci (EDI).

Elektromembránové syntézní procesy jsou založeny na elektrochemické či chemické reakci za současně probíhající elektromembránové separace, čímž lze docílit vzniku požadované chemikálie nebo produktu. Do této skupiny patří elektrodialýza s bipolárními membránami (EDBM), elektroforéza (EFC), membránová elektrolýza (ME) a elektrodialýza metathese (EDM).

Elektromembránové systémy pro konverzi energie zahrnují palivové články, průtočné baterie s iontově selektivní membránou nebo membránové superkondenzátory. Ve všech těchto zařízeních se využívá přeměny chemické energie na elektrickou. [5], [6]

1.2 Membrány

Jak již bylo zmíněno, elektromembránové procesy jsou založeny na iontové selektivitě membrán a samotný proces je proveditelný díky existenci Donnanova membránového potenciálu. Membránovým potenciálem se rozumí potenciálový rozdíl na polopropustné membráně, jež odděluje dva roztoky. Popsán byl již v roce 1911. [6]

Iontový charakter membrány je dán funkční skupinou kyselého nebo zásaditého typu. Tyto skupiny jsou ve vodném prostředí disociované a mohou vyměňovat ionty zcela analogicky jako iontovýměnná pryskyřice, nicméně při EMP není hlavním cílem klasická výměna iontů, nýbrž kontrolovaný selektivní transport iontů přes membránu. Jako nosiče těchto skupin se používají sloučeniny organického i anorganického původu. Iontově selektivní membrány rozlišujeme do skupin dle několika kritérií. [2] [5]

Podle typu funkčních skupin se membrány dělí na kationtově selektivní a aniontově selektivní, často označované jako katexové, respektive anexové. Kationtově selektivní membrány obsahují v polymerní matici vázané záporně nabitě, kyselé funkční skupiny, nejčastěji SO_3^{2-} , COO^- , PO_3^{2-} a další vhodné skupiny, které umožňují průchod kladně nabitých částic a brání transportu aniontů. Aniontově selektivní membrány obsahují zásadité, kladně nabitě skupiny, většinou

kvartérní amoniové soli, umožňující průchod záporně nabitých částic a bránící transportu kladně nabitých částic. [5] [7]

Průmyslově vyráběné membrány nikdy nedosahují ideální selektivity pouze pro protionty, tedy ionty nabitě opačně oproti funkčním skupinám v membráně, jejichž převod je žádaný. Vlivem migrace mohou v jisté míře procházet i ko-ionty, tedy ionty shodného náboje jako funkční skupiny membrány. Tato vlastnost je charakterizována jako tzv. selektivita membrán a její hodnota se vyjadřuje na základě převodových čísel kationtů a aniontů. [8]

Typickým materiálem pro výrobu membrán jsou organické uhlíkaté polymery a perfluorované polymery. Využívají se i membrány z anorganických materiálů a hybridní membrány. Uvedené materiálové složení má vliv na charakteristickou strukturu membrán a tím je rozděluje na homogenní a heterogenní. [5]

Homogenní membrány jsou tvořeny jedním polymerem, nejčastěji na bázi styrenu síťovaného divinylbenzenem, se zavedenými funkčními skupinami. Membrány mají díky minimální tloušťce relativně malý odpor, ovšem ve srovnání s heterogenními membránami vykazují horší mechanickou odolnost, což se dá řešit zabudováním armující textilie, ale také jsou několikanásobně dražší.

Heterogenní membrány jsou vyráběny homogenizací jemně namletého ionexu, zajišťující separační vlastnosti, a inertního polymeru (polyethylen, polyolefin) tvořícího pojivo, který zajišťuje požadované mechanické vlastnosti. Klíčovým bodem ve výrobě heterogenních membrán je správná volba poměru matrice a ionexu pro zajištění ideálních elektrochemických i mechanických vlastností. Velkou výhodou heterogenních membrán je jejich velká mechanická pevnost, tvarová stálost a chemická odolnost. Nevýhodou jsou horší elektrochemické vlastnosti než u membrán homogenních. [2]

Zvláštním typem jsou bipolární membrány, které obsahují dvě opačně nabitě iontově výměnné vrstvy, které jsou navzájem v kontaktu. Spojují se lisováním, lepením pomocí vodivého materiálu či ko-extruzí. Tyto membrány nemají separační charakter, nýbrž slouží jako zdroj H^+ a OH^- iontů. Pro zvýšení účinku se často používá katalyzátor, který snižuje elektrický potenciál pro rozklad vody. Aktivační energie disociace vody je totiž příliš vysoká a katalyzátor ji dokáže snížit tvorbou velmi reaktivních aktivovaných komplexů. [5]

Pro maximální účinnost membrán se vyžaduje splnění požadovaných vlastností, kterými jsou:

- Vysoká permselektivita - veličina udávající podíl náboje přeneseného protiionty z celkově přeneseného náboje a tím určuje, jak dobře membrána selektivně odděluje kationty od aniontů
- Nízký elektrický odpor - iontově selektivní membrány by měly mít nízký elektrický odpor a tím umožnit menší pokles potenciálu během EMP
- Dobrá mechanická stabilita - membrány by měly být mechanicky pevné a měly by mít nízký stupeň bobtnavosti či smršťování při přechodu z odsolených do koncentrovaných iontových roztoků
- Vysoká chemická stabilita - membrána by měla být stabilní v rozmezí pH 0 až 14 a za přítomnosti oxidačních činidel
- Vysoká teplotní stabilita

Splnění všech výše uvedených preferovaných vlastností současně je prakticky nemožné, jelikož působí protichůdně. Například velký stupeň zesíťování polymeru nebo větší tloušťka membrány sice výrazně zlepšují její mechanickou pevnost, zároveň ale zvyšují elektrický odpor. Proto se již upustilo od snahy připravit univerzální membránu použitelnou pro všechny aplikace. V současné době je přístup výrobců zcela opačný. Při vývoji nových typů membrán je vždy nutné vycházet z dané technologie se specifickými požadavky pro danou aplikaci. [9] [10] [11]

1.3 Rozdělení elektromembránových procesů

1.3.1 Elektrodialýza

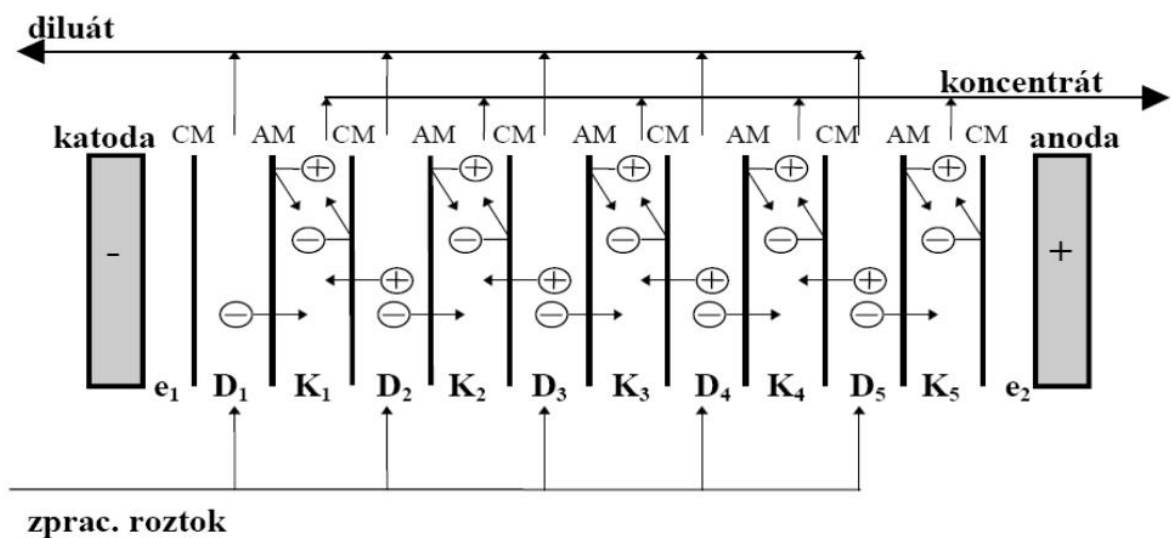
Elektrodialýza (ED) je nejrozšířenějším elektromembránovým separačním procesem, kterým je možno dosáhnout téměř úplné demineralizace, tj. 0,3-1,0 % popela v sušině. Popelem se rozumí obsah veškerých anorganických látek ve vzorku a zahrnuje využitelné minerální látky a látky nevyužitelné, tzv. písek.

Pro transport iontů skrze iontově selektivní membrány se využívá gradientu elektrického potenciálu, který je indukovan vložením stejnosměrného napětí na elektrodialyzační jednotku párem elektrod. Obsahující vhodnou kombinaci iontově selektivních membrán o různé propustnosti pro jednotlivé složky v roztoku, kationty migrují ke katodě skrze kationselektivní membrány (KM) a zároveň jsou zadržovány anionselektivními membránami (AM). Naopak anionty putují přes anionselektivní membrány k anodě a jsou zastavovány na kationselektivních

membránách. Zařízení pro technickou realizaci procesu ED se nazývá elektro dialyzér. [7] [9] [12]

Základním prvkem elektro dialyzéru je membránový svazek, znázorněný na Obrázku 1, kdy vstupním roztokem je čištěný roztok o určité koncentraci solí. Svazek se skládá z tenkých plochých listů KM a AM membrán, které jsou od sebe odděleny inertními rozdělovači neboli spacery, nejčastěji se síťovou výplní. Ty slouží k rovnoměrnému rozvodu roztoků po celé aktivní ploše membrán, zajišťují mechanickou stabilitu svazku a také promíchávání roztoků uvnitř komor. Prostory mezi membránami, vytvořené spacery, nazýváme pracovní komory – diluátové (DK) a koncentrátové (KK). V diluátových komorách cirkuluje odsolený roztok, tzv. diluát a v koncentrátových komorách tzv. koncentrát.

Celý membránový svazek je umístěn mezi dvě krajní ploché elektrody – anodu a katodu – umístěné v oddělených elektrodo v ých komorách, kdy vedle krajní membrány je umístěn rozdělovač odlišné konstrukce. Elektrody jsou omývány elektrodo v ým roztokem, jehož účelem je odvádět plyny vznikající při elektrodo v ých reakcích. Nejčastěji se jedná o roztok indiferentní soli, např. Na_2SO_4 .



e_x – elektrodo v ý roztok, D_x – diluát, K_x – koncentrát, CM – kationselektivní membrána, AM – anionselektivní membrána

Obrázek 1: Schéma elektro dialýzy [11]

Část svazku sestávající z jedné AM a jedné KM a odpovídající dvojice průtočných komor, DK a KK, představuje základní opakující se strukturu ED jednotky označovanou často jako membránový pár (MP). ED modul je typickým zařízením typu „rám a deska“ (sandwichového typu), jehož výhodou je snadné nastavení kapacity ED jednotky instalací většího či menšího počtu membránových párů do svazku. Zvyšováním počtu membránových párů se zvýší kapacita elektrodialyzéru, přičemž v průmyslovém měřítku se využívá 100 až 600 membránových párů. [13] [8]

Důležitou výkonovou charakteristikou elektrodialyzačního procesu je stupeň odsolení, φ , který představuje míru relativního poklesu koncentrace v diluátovém proudu na výstupu, c_p , vzhledem ke koncentraci na vstupu, c_f , definovaný obecně rovnicí:

$$\varphi = \left(1 - \frac{c_p}{c_f}\right) \cdot 100 [\%]$$

Analogickou veličinou koncentrace, použitelnou pro výpočet, je specifická vodivost diluátu na počátku a na konci procesu. [8]

Pracovní režimy

Od obecného schématu ED pak lze odvodit nejčastěji využívané provozní režimy, přičemž volba se odvíjí především od druhu zpracovávaného roztoku a požadovaném výstupním produktu. Rozlišujeme vsádkové uspořádání (tzv. Batch system), kdy je celý objem roztoku po průchodu elektrodialyzérem vrácen zpět do zásobníku, dokud není dosaženo požadovaného stupně odsolení. Kontinuální provoz s recyklem (tzv. Feed and bleed) funguje na stejném principu jako vsádkový režim, ale průběžně je část roztoku odváděna k dalšímu zpracování a stejné množství nezpracovaného roztoku je do systému vráceno. Při jednorůchodovém kontinuálním uspořádání (tzv. One-pass system) protéká zpracovávaný roztok systémem pouze jednou a pro dosažení požadovaného stupně odsolení jsou pak řazeny elektrodialyzéry za sebou. Toho se využívá u velkých průmyslových aplikací. [1] [2]

Omezení

Mezi největší omezení elektrodialýzy patří koncentrační polarizace, která nastává jako výsledek rozdílu v počtu transportovaných iontů v roztoku a v membráně a také limitní proudová hustota. Shodně s ostatními membránovými procesy hrozí poničení membrán již zmiňovanými membránovými jedy, které nevratně poškozují funkci membrán. Jedná se o ionty schopné nevratně obsadit funkční skupiny v iontově selektivní membráně a tím ji inaktivovat. Slabě ionizované organické sloučeniny pronikají membránou velmi obtížně a akumulují se na

povrchu membrán, čímž blokuje transport iontů. Problémem jsou také povrchově aktivní látky, které blokuje povrch membrán a zvyšují odpor elektrodialyzéru, a látky schopné adsorpce. [2]

V minulosti bylo hlavním problémem, omezující využití elektrodialýzy, pozvolné poškozování membrán při ED chemickou degradací a scalingem, což znamená potahování membrán nepropustným filmem anorganickými látkami se špatnou rozpustností. V sedmdesátých letech byl tento problém výrazně omezen díky objevu procesu nazvaného „reverzace polarit“. Při tomto procesu se tok proudu skrze elektrodialyzační svazek periodicky obrací, a to změnou polarit na elektrodách. Ve chvíli změny polarit na elektrodách se z koncentrátového proudu stává diluátový a diluátový proud se mění na koncentrátový. Jakmile je proud obrácen, nánosy ulpělé na membránách z předchozího cyklu jsou rozpuštěny. [14]

Další varianty elektrodialýzy

Kromě konvenční elektrodialýzy, která již byla popsána výše, byly vyvinuty také její modifikace, respektive kombinace s dalšími separačními procesy, chemickou či elektrochemickou reakcí. Největšího aplikačního významu dosahuje integrace ED a EDI do jednoho technologického celku. Tento přístup využívá jejich rozdílný princip i funkci separací a synergicky kombinuje různý aplikační potenciál vzhledem ke koncentracím a charakteru zpracovávaných roztoků. [5]

1.3.2 Elektrodialýza s bipolárními membránami (EDBM)

Jedná se o kombinaci klasické elektrodialýzy s bipolárními membránami. V elektrodialyzačním modulu membránový pár sestává ze tří komor, dvou monopolárních membrán (jedna kationsektivní, druhá anionsektivní) a jedné bipolární membrány. Principem je štěpení vody na bipolární membráně za vzniku vodíkového kationtu a hydroxidového aniontu, které následně reagují s kationty a anionty odstraněných ze zpracovávaného roztoku za vzniku kyselin, respektive zásad.

Širšímu průmyslovému uplatnění EDBM brání zejména krátká životnost bipolárních membrán a jejich vysoká cena. [13]

1.3.3 Elektrodialýza pro iontovou záměnu

V tomto případě pracuje elektrodialyzér na standardním principu. Je zde ale pozměněna struktura membránového svazku tak, aby při procesu docházelo k iontové záměně či metatézi. Zpracovávaný roztok tak mění svoji chemickou podstatu.

Příkladem je membránový svazek složený pouze z kationselektivních membrán, čehož se využívá v procesu změkčování vody, nebo je naopak tvořen pouze z anionselektivních membrán. Toho se využívá při záměně citrátových iontů za hydroxylové při deacidifikaci ovocných džusů. Zařízení tedy funguje jako kontinuální měnič iontů a koncentrace solí ve zpracovávaném roztoku zůstává stejná. [15]

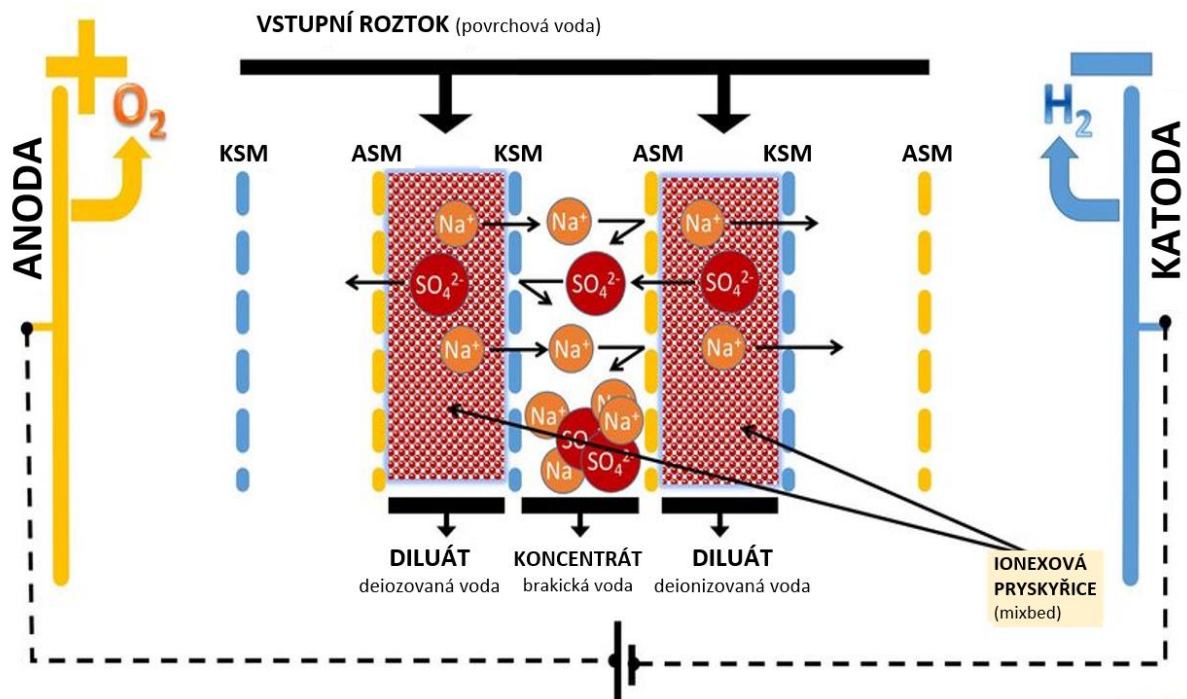
1.3.4 Elektrodeionizace (EDI)

Jak již bylo uvedeno výše, limitující faktor klasické ED – koncentrační polarizace, znesnadňuje demineralizaci zředěných roztoků. Pro dosažení vysokého stupně odsolení takovýchto roztoků je třeba použít modifikovaný proces elektrodialýzy – elektrodeionizaci. Velkou výhodou oproti klasickým ionexovým kolonám je zejména fakt, že zde odpadá nutnost manipulace s agresivními chemikáliemi, jako tomu je při regeneraci ionexů. Jde tedy o proces zcela kontinuální. [16]

Jedná se o hybridní separační proces kombinující ED s iontově výměnnou technologií (viz schéma na Obrázku 2). Diluátové komory jsou vyplněny směsným ionexovým ložem (tzv. mixbed – směs silně kyselého anexu a silně bazického anexu), který koncentruje procházející ionty a výrazně tak zvyšuje vodivost. Při vysokém stupni odsolení zároveň dochází k disociaci vody na H^+ a OH^- ionty, které rovněž migrují v elektrickém poli a kontinuálně udržují částice katexu v H^+ a částice anexu v OH^- formě. Tímto je možné dosáhnout odstranění i slabě disociovaných látek (CO_2) a vodivosti vody nižší než $0,1 \mu S \cdot cm^{-1}$. Možné je i provedení s bipolárními membránami. [17]

V současnosti nachází elektrodeionizace největší uplatnění při výrobě ultračisté vody pro elektronický a farmaceutický průmysl a velmi často je řazena jako následný krok po reverzní osmóze (voda ze samotné reverzní osmózy vykazuje vodivost okolo $2 \mu S \cdot cm^{-1}$). Uplatnění nachází EDI i při odstraňování těžkých a toxických kovů z odpadních průmyslových vod.

I přes hůře proveditelný servis elektrodeionizačních modulů je EDI velmi oblíbenou technologií pro čištění produktů a recyklaci vody. Je tomu tak díky omezení či úplnému odstranění chemikálií a nakládání s odpady při samotném procesu, jelikož je v současnosti velmi dbáno na ekologický aspekt veškerých technologií. [9] [15] [17]

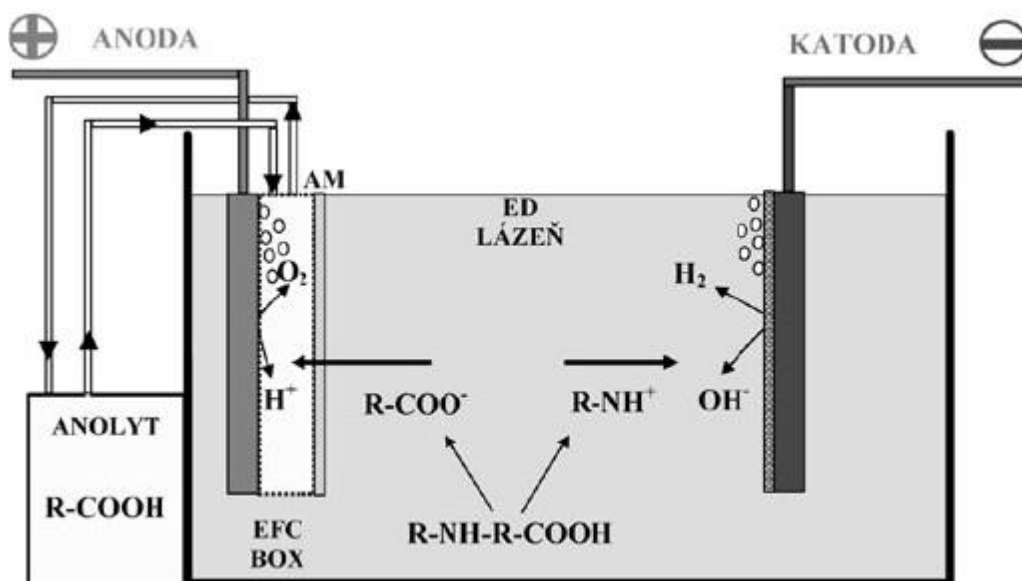


Obrázek 2: Schéma elektrodeionizace [18]

1.3.5 Elektroforéza

Elektroforéza je názorným příkladem uplatnění elektromembránových syntézních procesů v oboru povrchových úprav, a sice v procesu elektroforézního nanášení tenkých organických povlaků pro antikorozi ochranu kovových výrobků. Iontově selektivní membrány zde zastupují důležitou funkci, a to automatickou kontrolu pH.

Elektroforetické lakování funguje na principu membránové elektrolyzy, ale technologická koncepce je odlišná. Hlavním cílem při lakování je kvalitní nanášení laku i za cenu napěťových ztrát a neúplného využití plochy membrány. Podle toho, zda je polymer v kationtové či aniontové formě, rozlišujeme kataforézu a anaforézu, přičemž kataforézní varianta v současné době převládá. Při kataforéze je lakovaný předmět zapojen jako katoda a ponořen do elektroforetické lázně. Po zapojení stejnosměrného elektrického napětí (150-350 V) se na celý jeho povrch rovnoměrně nanáší lak v disociované formě, přesněji ionty opačné polarity než je polarita lakovaného předmětu. Po obvodu lázně jsou instalovány protielektrody s iontově výměnnou membránou, která brání degradaci laku. Nanášená vrstva se pak fixuje např. vypálením. Schéma elektroforézy je znázorněno na Obrázku 3. [5]



Obrázek 3: Schéma elektroforézy [11]

1.4 Aplikace elektrodialýzy

Elektrodialýza a obecně elektromembránové separační technologie si již vybudovaly významné postavení v mnoha odvětvích, kterými jsou ochrana životního prostředí, farmacie, potravinářství a vodohospodářství a další.

Procesy ED lze podle požadovaného produktu rozdělit na koncentrační a demineralizační. Při koncentračních procesech je cílem získat co nejvyšší koncentraci solí z původního roztoku – příkladem je výroba NaCl z mořské vody. Pomocí ED je získáván 20% roztok solanky, ze kterého se po vypaření na krystalizační odparce získá čistá krystalická sůl, použitelná v potravinářství i jako surovina pro průmyslovou výrobu Cl₂ a NaOH. [15]

Při demineralizačních procesech je požadovaným produktem diluát, neboli odsolený roztok a nejvýznamnějším procesem je získávání pitné vody z brakických vod. Brakické vody mají koncentraci solí mezi sladkou a mořskou vodou. Největší nevýhodou pro produkci pitné vody je fakt, že nemohou být odstraněny látky bez náboje, tzn. mikroorganismy nebo organické kontaminanty. ED se stává velmi nákladnou separační metodou, pokud jsou koncentrace rozpuštěných látek ve vstupní vodě příliš vysoké a také při požadavku na velmi vysoký stupeň odsolení. Proto se ED v oblasti odsolování vod vyplácí jen v určitém koncentračním rozmezí solí. [13]

Významné uplatnění nachází ED při odstraňování dusičnanů pocházejících z hnojiv, které kontaminují spodní vody. ED je zde upřednostňována před ostatními biologickými a fyzikálně-

chemickými technologiemi, jelikož jde o velmi efektivní proces, který zároveň řeší i problém tvrdosti vody. [3]

Z ekonomického hlediska jsou nejvýhodnější procesy, kdy se využívá jak finální koncentrátový, tak diluátový roztok. Bohužel jsou však tyto procesy také technologicky nejnáročnější. Typickým příkladem je zpracování oplachových vod galvanických lázní, kdy se koncentrát vrací zpět do lázně a diluát je opakovaně využíván k oplachu. [2]

Své místo má ED i v biotechnologiích. Zajímavou aplikací EDBM je výroba vitamínu C z L-askorbanu sodného s až 98% výtěžností. Mikroorganismy produkovaný glutamin, jež se používá pro lékařské i potravinářské účely, je po fermentaci značně „znečištěn“ anorganickými solemi. Opět lze využít šetrného procesu ED i EDBM. [19] [9]

Široké spektrum využití elektromembránových separačních procesů uzavírá použití ED v kožedělném průmyslu, konkrétně při odstranění nezreagované kyseliny dusičné, octové, glykolové atd. po výrobě glyoxalu, tj. hlavní látky pro kožedělný průmysl. [9]

Aplikace v potravinářství

Při výrobě, zpracování a nakládání s potravinami je zásadní šetrnost zvoleného procesu, neboť špatné zacházení může velmi negativně ovlivnit jak sensorickou, tak výživovou jakost. Proto ED našla velmi rychle uplatnění i v tomto odvětví. Nejsou třeba žádné pomocné chemikálie ani výrazné změny teplot. Navíc je proces energeticky nenáročný, snadný na obsluhu a zároveň velmi efektivní. ED se používá jak pro koncentrování a čištění potravin, tak i k pozměnění určitých vlastností dané potraviny.

Technologie odsolování brakických vod pro výrobu napájecí vody kotlů a vody pro průmyslové procesy byla stěžejní v této problematice do devadesátých let, kdy ji postupně nahradila reverzní osmóza. Pozornost se tedy zaměřila na potravinářství. Byly prováděny demineralizace šťávy z cukrové třtiny a syrovátky. ED byla použita pro odkyselení (deacidifikaci) ovocných džusů a stabilizaci vín. Velmi specifickou aplikací je extrakce cytoplasmatických proteinů z tolíce vojtěšky. Elektrodialýzou lze dosáhnout srážení syrovátkových proteinů nebo redukce disulfidických vazeb v těchto proteinech. [20] [15]

Jak již bylo uvedeno dříve, význačnou vlastností bipolárních membrán je schopnost disociace molekul vody, čehož se následně využívá při výrobě kyselin a zásad. V potravinářském sektoru je tato vlastnost využívána zejména pro úpravu pH, které ovlivňuje vlastnosti potravin na molekulární úrovni. Konkrétní technologie pochází z patentu z roku 1990, popisující proces pro

úpravu pH vodného roztoku s využitím bipolárních membrán, čehož bylo v návaznosti použito v úpravě kyselosti cukerných roztoků, ovocných a zeleninových džusů, vín, omáček, rajčatových past atd.

Omezení enzymatického hnědnutí džusu

EDBM je hojně využívána k omezení procesu enzymatického hnědnutí jablečného džusu. Ten má díky vysokému obsahu dužniny skvělé nutriční i sensorické vlastnosti. Výroba kvalitního džusu je ale obtížná kvůli vysokému obsahu látek náchylných k enzymově katalyzovaným oxidacím. Navenek se oxidace projeví ztmavnutím džusu, což má negativní dopad na prodej. Řešením je cílená ireverzibilní inaktivace enzymu polyfenoloxidázy úpravou pH z počátečních 3,5 na 2,0, kdy jablečný džus cirkuluje na kationtové straně bipolární membrány. Zde se generují H^+ ionty, které sníží pH. Aby byly zachovány organoleptické vlastnosti džusu, musí být pH zvýšeno na původní hodnotu – analogicky k prvnímu procesu tedy začne džus cirkulovat na aniontové straně bipolární membrány, kde se produkují OH^- ionty a pH se zvýší na požadovanou hodnotu. Jde tedy o velmi šetrný, jednoduchý a efektivní způsob non-termální stabilizace tekutin v potravinářství.

Výroba sójových proteinových izolátů

V současné době se v potravinářském průmyslu sójový protein vyskytuje ve velké míře ve formě izolátu. Klasická separace tohoto proteinu využívá srážení v isoelektrickém rozmezí² pH (4,2-4,6), kdy se ke snížení z původní hodnoty rozpuštěných sójových vloček o pH 9 ± 2 používá kyselina chlorovodíková. Po centrifugaci a promytí sraženiny následuje neutralizace hydroxidem sodným. Finální produkt je vysušen rozprašováním. Nevýhodou této separace je denaturace bílkovin v kyselém/zásaditém prostředí, vysoký obsah popela a proměnlivá rozpustnost proteinu po rehydrataci.

V této souvislosti byl vyvinut postup, který pro vysrážení proteinu využívá bipolární membrány. Produkci protonů z bipolární membrány se dosáhne isoelektrického bodu proteinu, jenž lze vysrážet až z 95 %. Po centrifugaci a promytí sraženiny se zvýší pH hydroxidem sodným, který je generován na aniontové straně membrány. Tím získá finální produkt rozpustnost při rehydrataci. Velkou výhodou oproti konvenčnímu isoelektrickému srážení je eliminace pomocných chemikálií k úpravě pH, možnost opakovaného použití vzniklých

² Isoelektrické rozmezí je rozmezí pH, při kterém má bílkovina nebo aminokyselina nulový sumární náboj, tzn., že se nepohybuje v elektrickém poli a neváže se na iontoměničce. [45]

chemických odpadů, snížení spotřeby vody, nízká spotřeba elektrické energie a nižší obsah popela v konečném produktu. [20]

Odsolování sacharidů

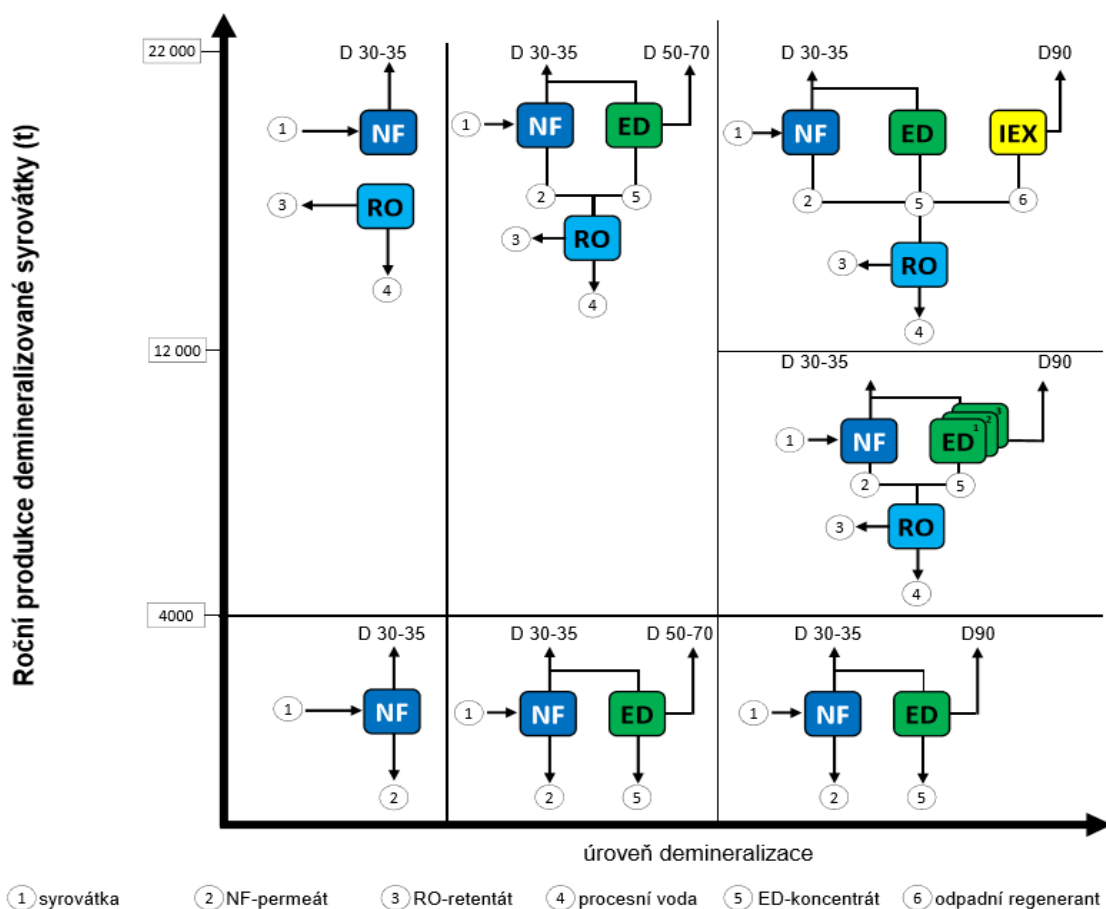
ED nabízí široké uplatnění při odstraňování kyselin a solí od roztoků monosacharidů, disacharidů i oligosacharidů. Výhodou je, že umožňuje regeneraci kyselin z koncentráту. Ty jsou poté opětovně používány při hydrolýze. Vstupní roztok může obsahovat koncentraci kyselin až do 4 hm. % a obsah cukrů do 20 hm. %. Pro dobře probíhající demineralizační proces je vhodné před samotný proces ED zařadit předúpravu vstupního roztoku adsorpcí a tlakovými membránovými procesy, které odstraní pevné částice a organické makromolekuly. [21]

Aby se předešlo srážení fosforečnanů, ovlivněné koncentrací této sloučeniny a pH roztoku, je do roztoku koncentráту během procesu přidávána RO voda pro zředění a kyselina pro snížení pH.

Odsolování syrovátky

Syrovátka je vedlejším produktem při výrobě sýrů. Dle technologie výroby lze získat syrovátku sladkou, kyselou a kaseinovou. Po mnoho let byla syrovátka považována za odpadní produkt – byla likvidována, rozprašována na pole jako hnojivo, nebo přinejlepším sušena jako syrovátkový prášek pro výživu zvířat. V poslední době ale četné studie prokázaly její četné zdravotní benefity [22]. Složení demineralizované syrovátky je vhodné zejména pro kojence, sportovce a chronicky nemocné osoby. Používá se ale běžně při výrobě koncentrovaných mlékárenských produktů, syrovátkových nápojů, cukrovinek, sušenek nebo kojenecké výživy.

Ve většině případů se používá ED s reverzací polarit, a to zejména z důvodu periodického odstraňování nežádoucích povrchových vrstev bílkovin a minerálních usazenin z povrchu membrán. Velmi důležité je také zajištění mikrobiální stability, která je zajištěna nízkou provozní teplotou okolo 10 až 15°C. Před samotnou ED je syrovátka obvykle prekoncentrována, aby se zvýšila koncentrace iontů a snížily se náklady procesu. Kromě ED s reverzací polarit se používá nanofiltrace a iontová výměna, případně se všechny procesy mohou kombinovat, čímž lze získat různě odsolený produkt, viz schéma na Obrázku 4, kde D značí stupeň demineralizace v %. NF značí nanofiltraci, RO reverzní osmózu a IEX iontovou výměnu. Lze dosáhnout odsolení na 4, 2,5 či 1 % popela v sušině, resp. stupně demineralizace D 50, D 70 a D 90. [12] [23]



Obrázek 4: Technologická mapa efektivních kombinací demineralizačních technologií pro zpracování mléčné syrovátky [5]

Stabilizace vín

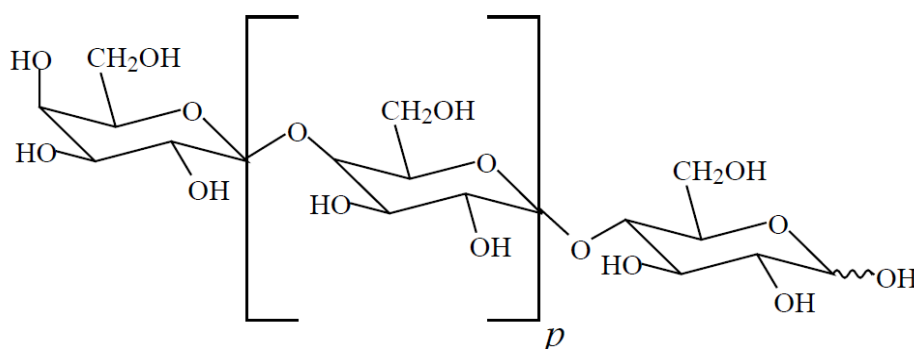
Stabilizací vína se rozumí označení pro řadu technologických úkonů, které vedou k tomu, aby se víno plněné do lahví uchovalo čiré a zachovávalo si typickou barvu a chuť. Stabilitu vína ovlivňují nejen mikrobiální a bílkovinné zákaly, ale rovněž zákaly vznikající z nadbytku železa nebo vysrážením vinného kamene (tj. hydrogenvinan draselný). Pro vinanovou stabilizaci se používaly tradiční techniky, které byly zdlouhavé či nešetrné. Velmi vhodnou alternativou se tedy stala ED, která je rychlejší, jednodušší a provozně úspornější-ušetří se aditiva a energie.

Problémem je malá selektivita procesu, neboť společně s vinany jsou aniontově selektivními membránami transportovány i anionty slabých organických kyselin a kationtově selektivními membránami ekvivalentní množství iontů K^+ , popř. Ca^{2+} . To negativně ovlivňuje organoleptické vlastnosti vína a proces ED tudíž není použitelný pro všechny druhy vín. [5]

1.5 Bimuno® a galaktooligosacharidy

Bimuno® je klasifikováno jako druh funkční potraviny ve formě bílého prášku s neutrální vůní. Tento potravinový prebiotický doplněk je konzumován pro své vědecky prokázané účinky – pomáhá udržovat zdravý zažívací a imunitní systém a správnou peristaltiku střev. Složky v doplňku, zodpovědné za tyto zdravotní benefity, se nazývají galaktooligosacharidy. [24] [25]

Galaktooligosacharidy (GOS) jsou nestavitelné neutrální sacharidy složené z 2 až 9 jednotek galaktózy a vyráběné enzymatickou reakcí (viz struktura GOS na Obrázku 5). Stupeň polymerace a typ glykosidické vazby se odvíjí od druhu enzymu použitého při výrobě a rovněž na experimentálních podmínkách. Bimuno® konkrétně obsahuje zejména β 1-3 vazby a hmotnostní obsah GOS, vztažený na sušinu, se pohybuje v rozmezí 48-50 %. Dalšími přítomnými sacharidy jsou laktóza, glukóza a galaktóza. Jedná se o rezidua z výroby, neboť hydrolyzační a transglykosylační reakce probíhají zároveň, tzn. galaktóza pocházející z GOS je hydrolyzována na jednodušší glukózu a laktóza je přítomna jako nezreagovaná vstupní surovina. [26] [27] [28]



Obrázek 5: Struktura GOS [29]

GOS mají mírně sladkou chuť - dosahují 30-60 % sladkosti vůči sacharóze. Jsou stálé při dlouhodobém skladování a mají velmi dobrou procesní stabilitu při zpracování při zvýšených teplotách a nízkém/vysokém pH. Uplatňují v potravinářském průmyslu jako sladidla, plnidla a náhražky cukrů. Přidávají se do chlebů, dezertů, nápojů pro sportovce, džemů a marmelád apod. Možný je i přídavek do produktů kojenecké výživy. [30]

Společně s fruktooligosacharidy, xylooligosacharidy, isomaltooligosacharidy a laktulózou splňují GOS kritéria pro prebiotický status. Prebiotika jsou definována jako nestavitelná potravní složka, která příznivě ovlivňuje konzumenta tím, že selektivně stimuluje růst a/nebo aktivitu jedné nebo omezeného počtu bakterií v tlustém střevě, a tím pomáhá zlepšit zdraví

konzumenta. Navíc bylo prokázáno, že prebiotika pozitivně regulují metabolismus lipidů, pravděpodobně skrze fermentační produkty bakterií. [31] [32]

V souvislosti s prebiotiky bych se ráda zmínila o probiotikách, aby byl objasněn vzájemný rozdíl. Prebiotiky se rozumí jakýsi „substrát“ pro růst a aktivitu bakterií, zatímco při podávání probiotik člověk přijímá prospěšné střevní bakterie přímo. Jedná se o nepatogenní, „živé“ mikrobiální přípravky s jednou nebo více kulturami. Nejvíce využívanými bakteriemi jsou laktobacily a bifidobakterie. Dostupné jsou však i přípravky obsahující i jiné mikroorganismy, jako například grampozitivní koky, bacily, kvasinky a *E. coli*.

Jako synbiotika označujeme přípravky obsahující směs probiotik a prebiotik. Tím lze dosáhnout aditivního či synergického působení těchto dvou komponent. [30]

Výroba

Jako substrát pro výrobu GOS se používá syrovátkový ultrafiltrační permeát nebo rafinovaná laktóza. Surovátkový permeát, bohatý na laktózu, se získává ultrafiltrací syrovátky, která se provádí za účelem koncentrování syrovátkového proteinu, jehož velké molekuly jsou na membráně zachyceny a zůstávají v retentátu, zatímco menší molekuly jako laktóza a soli membránou prochází za vzniku syrovátkového permeátu. Druhý substrát – laktóza je poměrně drahou vstupní surovinou a tolik se nevyužívá. Navíc bylo zjištěno, že syrovátkový permeát obsahuje další oligosacharidy, které taktéž zastávají funkci prebiotik. [33] Prebiotické přípravky jsou k dostání ve formě prášku, tablet, nápojů nebo fermentovaných mléčných výrobků. [30]

Směs galaktooligosacharidů, použitá v experimentální části této práce (Bimuno[®], Clasado Ltd, Milton Keynes, UK), byla získána na principu enzymatické aktivity galaktosyltransferáz bakterií *Bifidobacterium bifidum* NCIM 41171 při použití laktózy jako substrátu. Kromě bakterií jsou častým zdrojem výše uvedených enzymů také plísňe (*Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*) a kvasinky (*Kluyveromyces marxianus*). [25] [34]

Účinky

Mechanismus účinku GOS je konkrétně takový, že poté, co nestrávené (v nezměněném stavu) doputují do tlustého střeva, jsou zde selektivně metabolizovány některými střevními bakteriemi, čímž zároveň podporují jejich růst nebo aktivitu. V současnosti jsou cílovou skupinou pro prebiotické aplikace zejména laktobacily a bifidobakterie. [25]

Dalším prokázaným účinkem GOS je schopnost ochrany před střevními patogeny, a to díky jejich antiadhezivní aktivitě vůči těmto patogenům na povrchu gastrointestinálních epitelálních buněk. [35] Dále GOS zlepšují stravitelnost mléčných výrobků zvýšením laktózové tolerance a snižují hodnoty sérového cholesterolu. [36] Ve studii McBaina a Macfarlanea byla prokázána přímá souvislost mezi konzumací GOS a sníženou produkcí genotoxických enzymů, čímž je prebiotikům přisouzen velký potenciál v oblasti prevence nádorových onemocnění. [37] Další studie označuje prebiotika, resp. GOS, jako „psychobiotika“ a říká, že mikroflóra pozitivně ovlivňuje činnost mozku a chování jedince. [38]

Pozitivní efekt užívání prebiotik byl zaznamenán u domácích zvířat. Použití nestravitelných oligosacharidů roste také při výrobě krmiv pro hospodářská zvířata. [31] [39]

Čištění GOS

Bylo provedeno několik studií, zabývajících se využitím různých metod pro čištění GOS s cílem odstranit mono- a disacharidy. Tyto úpravy vedou ke zlepšení prebiotické aktivity a zároveň snižují kalorickou hodnotu a obsah laktózy v produktu. Přечиštěné oligosacharidy navíc vykazují zvýšenou viskozitu a způsobují méně Maillardových reakcí³ během tepelného zpracování.

Konkrétně může být čištění provedeno: srážením ethanolem, enzymatickou oxidací, superkritickou technologií (SFE), technikami molekulové vylučovací chromatografie, ionexovou chromatografií nebo technologickou úpravou aktivovaným uhlím. [40] [41]

Dále byla provedena metoda čištění GOS, využívající nanofiltrace s polyethersulfonovou membránou, a která má v této oblasti velký potenciál díky jednoduchosti, úspoře energie a nízkonákladové implementaci. [40] Další obměnou čištění a prekoncentrace GOS je postup o dvou krocích. Prvním krokem je mikrofiltrace, jejímž úkolem je snížení počtu suspendovaných pevných částic. Druhým krokem je nanofiltrace, díky níž je možné separovat oligosacharidy od směsi nonprebiotických cukrů. [42] V současné době jsou technologie čištění na vysoké úrovni, a proto je možné od některých výrobců získat suplementy s hmotnostním obsahem GOS až 90 %.

V této práci bude popsána metoda čištění GOS v přípravku Bimuno[®] pomocí ED.

³ Maillardova reakce je název pro neenzymatickou reakci mezi redukujícími sacharidy nebo produkty jejich degradace a aminokyselinami, nebo bílkovinami v potravinách. Při reakci dochází ke vzniku důležitých sensoricky aktivních látek, ale i některých sloučenin s karcinogenními vlastnostmi. [47]

2 Experimentální část

2.1 Příprava roztoku GOS

Byl připraven rekonstituovaný roztok přípravku Bimuno® o koncentraci cca 15 hm. %. Na teplotu 40-50 °C byla přehřáta voda z reverzní osmózy (RO voda) o hmotnosti 3 kg. Následně bylo za intenzivního míchání pomalu přisypáno 710 g GOS prášku (navážka byla kalkulována s očekávaným 5% obsahem vlhkosti). Ulpěné zbytky GOS prášku v nádobě byly vypláchnuty 800 ml vody a přidány k hlavnímu dílu. Takto byl roztok připraven k ED.

2.2 Elektrodialýza

Popis jednotky

Všechny demineralizační testy byly uskutečněny na zařízení EDR-Z 2017/10-0.8 (na Obrázku 6) ve vsádkovém režimu. Jedná se o elektrodialyzér s reverzací polarit s 10 páry heterogenních membrán a rozdělovači typu Z o tloušťce 0,8 mm. Heterogenní membrány značky Ralex® byly sestaveny v kompozici C-A-C. Jednotka se skládala ze zásobníků diluátu, koncentrátu a elektrodového roztoku. Dále obsahovala čerpadla, rotametry, potrubní hadičky, cely pro měření pH, vodivostní sondy a zdroj stejnosměrného regulovatelného napětí (max. 30 V, 3 A). V tomto případě bylo na jeden pár aplikováno napětí 1 V, tedy 10 V na celý membránový svazek. Pro zabránění zanášení membrán byla po každém odsolovacím procesu změněna polarita (z polarity „negativ“ na „pozitiv“ nebo naopak).



Obrázek 6: Elektrodialyzér

Demineralizace

Všechny testy byly identické z hlediska záznamu důležitých dat; tzn., že před spuštěním ED a poté každých 5 minut byly zaznamenávány hodnoty celkového napětí, napětí na svazku a proudu. U koncentrátového a diluátového roztoku byly sledovány hodnoty vodivosti, teploty a pH. Experimentální podmínky jsou patrné v Tabulce 1, kde K značí koncentrát, D diluátový roztok a E elektrodotový roztok. Při každém experimentu bylo na začátku odebráno okolo 0,5 litru roztoku feedu (tj. vstupní roztok) připraveného podle 2.1 Příprava roztoku GOS pro pozdější analýzu.

Tabulka 1: Experimentální podmínky

Typ testu		K	D	E
Solný test	Průtok [l/h]	50	50	50
	Objem [l]	1	1	0,5
	Teplota [°C]	25±1	25±1	25±1
Standardní test	Průtok [l/h]	60	60	70
	Objem [l]	2	0,5	0,5
	Teplota [°C]	15±1	15±1	15±1

Před samotným odsolováním roztoků GOS byly provedeny dva solné testy (jeden v režimu „pozitiv“ a druhý v režimu „negativ“). Solné testy jsou pravidelně zařazovány pro ověření membránové kondice a pro převedení membrán do síranového cyklu. Jako diluátový, koncentrátový i elektrodotový roztok byl použit roztok Na₂SO₄ o koncentraci 20 g/l. ED byla ukončena při dosažení vodivosti diluátu rovné nebo menší než 1 mS/cm.

Po solných testech následovaly standardní testy (ST) demineralizace roztoků GOS. Jako diluát byl použit připravený 15% roztok přípravku Bimuno® a jako koncentrát roztok Na₂SO₄ o koncentraci 2 g/l. Elektrodotovým roztokem byl roztok NaNO₃ o koncentraci 10 g/l. Byly provedeny čtyři odsolovací experimenty ve střídajících se režimech „pozitiv“ a „negativ“, jež zahrnovaly i jeden kalibrační test (KT) s odběrem vzorků během ED, a to při vodivosti 1,7; 1,2; 0,7 a 0,3 mS/cm (vzorky označeny 2D1, 2D2, 2D3, 2D4). Číslo před písmenem značí pořadí experimentu, číslo za písmenem značí pořadí odběru kalibračních vzorků při dané vodivosti. Jakmile měrná vodivost v koncentrátu překročila hodnotu 15 mS/cm a více, byla přidána RO voda a vodivost zůstala po zbytek ED přibližně stejná (resp. zůstávala stejná koncentrace solí).

To samé platilo pro pH koncentrátu, kde po dosažení hodnoty 5,5 byla přidávána kyselina a pH se již do konce procesu téměř nezměnilo. Byla sledována vodivost, teplota, pH, celkové napětí, napětí na svazku a proud v závislosti na čase. Experimenty byly zastaveny, když vodivost diluátu klesla na hodnotu 0,3 mS/cm. Bylo odebráno okolo 0,5 litru finálního koncentrátu a finálního diluátu pro pozdější analýzu již mimo elektrodialyzér. Při té se měřilo pH, vodivost, hustota a refraktometrická sušina (RS). Během KT bylo čtyřikrát odebráno 300 ml diluátového roztoku při zmíněných hodnotách vodivosti. Po každém experimentu byla jednotka propláchnuta RO vodou a nakonec přes noc zavodněna.

2.3 Analytická část

Stanovení popela

Při určení obsahu popela v roztocích sacharidů se obvykle s velkou přesností používá standardizovaná metoda, která je založena na stanovení síranového popela (dále také reálný sulfátový popel, RSP). Při této metodě je nejdříve kapalným vzorkem částečně vysušen při 70 °C po dobu 16-24 hodin při atmosférickém tlaku. Následně je vzorek karbonizován přidáním definovaného objemu 26% kyseliny sírové a umístěn do pískové lázně s náběhovou teplotou 150-180 °C a konečnou teplotou po cca 4 hodinách 280-300 °C. Poté je vzorek během cca 10 hodin spálen v muflové peci s komínkem při 550 °C (event. při 800 °C po dalším přidavku kyseliny). Po vychladnutí v exsikátoru je zvážením zjištěn obsah popela. Obsah síranového popela se získá vynásobením hodnoty popela korekčním faktorem „0,9“. [43] Toto stanovení bylo provedeno u vzorku feedu (1F), standardních finálních diluátů (1D, 3D, 4D).

Jak je již patrné z uvedeného postupu, je tato metoda velmi zdlouhavá. Proto jedním z cílů této práce bylo ověřit rychlejší, tj. nepřímou metodu stanovení obsahu popela ve vzorku, která je založena na konduktometrii (dále také konduktometrický popel; KP). Tato metoda využívá přímé závislosti mezi obsahem popela a měřenou vodivostí v daném cukerném roztoku.

V této práci jsem použila vztah, který byl původně určen pro roztoky rafinovaného cukru:

$$A = 1800 (\kappa - 0,9 \kappa_w), \quad (1)$$

kde A vyjadřuje obsah konduktometrického popela (% m/m), κ je naměřená vodivost cukerného roztoku (S/m), κ_w je vodivost vody upravené reverzní osmózou (S/m), číselné hodnoty „1800“ a „0,9“ jsou experimentálně zjištěné konstanty. [44]

Při vyhodnocování dat bylo bráno v potaz, že se v našem případě nejedná o roztok bílého rafinovaného cukru s definovaným minerálním profilem, pro který platí výše uvedený vztah, nýbrž o roztok směsi sacharidů s určitým zastoupením síranu sodného a jinou sušinou. Proto byla při výpočtu obsahu KP vynásobena konstanta „1800“ průměrnou hodnotou obsahu refraktometrické sušiny v kalibračních roztocích. Například při průměrném obsahu cukru 14,8 °Bx (Pozn.: 100 g roztoku obsahuje 14,8 g cukru a 85,2 g vody) byla konstanta „1800“ násobena hodnotou „0,148“, protože jde o kompenzaci na 5% roztok cukru, který se standardně používá v přímé konduktometrii. Pokud by byl uvažován shodný přístup (5 % roztok cukru), tak by navážka kapaliny musela být $5 \text{ g} * 100 \text{ ml} / 14,8 \text{ °Bx}$, tedy 33,8 g roztoku do 100 ml odměrné baňky. Z praktického hlediska ale bylo nejlepší pracovat v co nejzředěnějším roztoku (5 g roztoku do 100 ml odměrné baňky) a neměnit navážku v závislosti na sušině, protože se v potravinářských aplikacích elektrodiálýzy vždy pohybujeme v intervalu 15 – 18 hm. % cukru v roztoku.

Konkrétní postup měření KP je uveden v následujícím odstavci.

U vzorků získaných z ED (tj. standardní diluátové vzorky, kalibrační vzorky a vzorek nástřiku-feedu) bylo upraveno pH na hodnotu 6,7-7,0 (pomocí přídatku roztoku NaOH o koncentraci 5 hm. %) a byly vytemperovány na laboratorní teplotu. Následně bylo z jednotlivých vzorků odebráno 5 gramů roztoku do odměrných baněk o objemu 100 ml. Odměrná baňka byla doplněna po rysku vodou kvality RO permeátu a celý objem baňky byl promíchán. V těchto zředěných roztocích vzorků byla digitálním konduktometrem měřena specifická vodivost, a to od nejvíce demineralizovaného vzorku po nejméně demineralizovaný. Nakonec byly dle výše uvedeného vztahu vypočítány hodnoty obsahu konduktometrického popela.

3 Výsledky a diskuze

3.1 Elektrodialýza

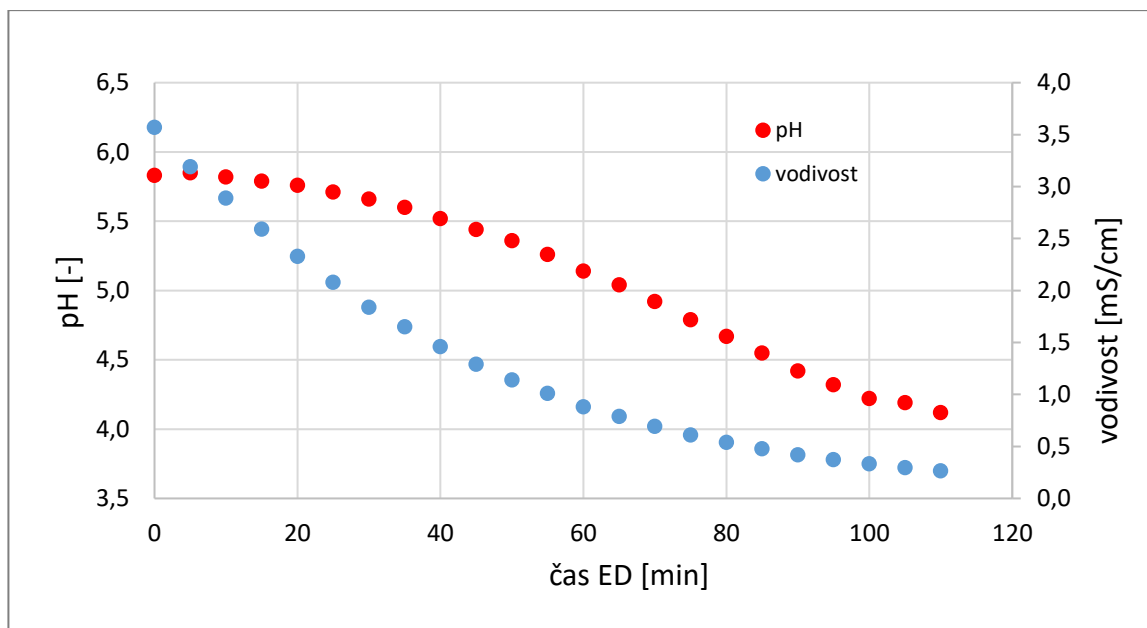
V Tabulce 2 můžeme vidět, jak se měnily sledované veličiny během kalibračního testu, kdy příslušné kalibrační vzorky byly odebírány při daných hodnotách vodivosti. Hodnoty měrné vodivosti a pH GOS roztoků se postupně snižovaly (2F, 2D1, 2D2, 2D3, 2D4), zatímco u koncentrátových roztoků (2C, 2C1) se zvýšily. Hodnoty obsahu RS ukazují, že i malý podíl GOS přecházel přes membrány do koncentráту společně se solemi – hodnoty sušiny v průběhu mírně klesají, zatímco ve finálním koncentráту byl oproti nulovému obsahu cukrů na počátku měřitelný nízký obsah. Vlivem ztráty iontů se snižovala hustota diluátu a naopak s přibývajícím ionty se zahušťoval koncentrátový roztok.

Tabulka 2: Demineralizační data kalibračního testu

Vzorek	Označení	κ [mS/cm]	pH [-]	RS [°Bx]	Hustota [g/cm ³]	Popel sulfátový [%]
Feed	2F	3,53	6,63	15,4	1,0630	0,36
Diluát 1	2D1	1,65	5,56	14,9	1,0607	0,15
Diluát 2	2D2	1,18	5,30	14,8	1,0601	0,11
Diluát 3	2D3	0,68	4,98	14,8	1,0596	0,05
Diluát 4	2D4	0,26	4,20	14,8	1,0589	0,02

Jak již bylo uvedeno, nástřikem (feedem) se rozumí vstupní roztok. Diluáty s příslušným číslem značí kalibrační vzorky.

V následujícím grafu (Obrázek 7) je znázorněna závislost měrné vodivosti a pH na čase pro diluátový roztok třetího pokusu. Je patrný pokles pH i vodivosti, což je způsobeno migrací anorganických solí, slabých organických kyselin a anorganických kyselin přes membrány do koncentráту. Všechny čtyři demineralizační procesy měly obdobný průběh této závislosti.



Obrázek 7: Závislost vodivosti a pH na čase

3.2 Stanovení obsahu popela

V Tabulce 3 jsou uvedena data, která byla využita při výpočtu obsahu konduktometrického popela před konvergencí (KP1) v různě odsolených produktech (vzorcích). Bylo využito již uvedeného výpočetního vztahu (1) s konstantou „0,00027“. Ta byla získána vynásobením původní konstanty „0,0018“ (pro jednotky $\mu\text{S}/\text{cm}$) průměrnou hodnotou refraktometrické sušiny – „0,148“. Vyjádřením závislosti obsahu RSP na měrné vodivosti a obsahu KP1 na měrné vodivosti ve stejném grafu dostaneme dvě lineární křivky, které se liší hodnotou směrnice (viz Obrázek 8). Hodnota směrnice pro křivku KP1 je „0,00027“, tzn. odpovídá konstantě ve výše uvedeném vztahu. Tato směrnice je ale pro reálné vzorky nízká (směrnice křivky pro RSP je „0,00114“) a je třeba ji modifikovat. Tento problém byl řešen konvergenční metodou. Suma čtverců (SČ), vypočítaná jako suma rozdílů hodnot RSP a KP1 umocněná na druhou, byla v Řešiteli zadána jako účelová funkce hledající minimum, přičemž proměnnou buňkou Řešitele byla nastavena původní směrnice „0,0018“. Konvergence byla úspěšná, což dokazují konvergenční faktory, viz. Tabulka 4. Hodnota sumy čtverců se změnila z „0,09497“ na „0,0007“. Byla vytvořena nová závislost obsahu konduktometrického popela po konvergenci (KP2) na vodivosti. Z rovnice přímky této závislosti byla zjištěna i nová experimentální konstanta „0,0072“, která je zastoupena ve směrnici přímky („0,00107 = 0,0072 * 0,148“). Tímto postupem jsme získali novou rovnici pro výpočet obsahu popela konduktometricky, a to v roztocích GOS s obsahem RS 14,8 °Bx:

$$A = (1,07 * 10^{-3}) * (\kappa - 0,9\kappa_w).$$

Pro měření v roztocích s odlišným obsahem RS je třeba rovnici opět modifikovat.

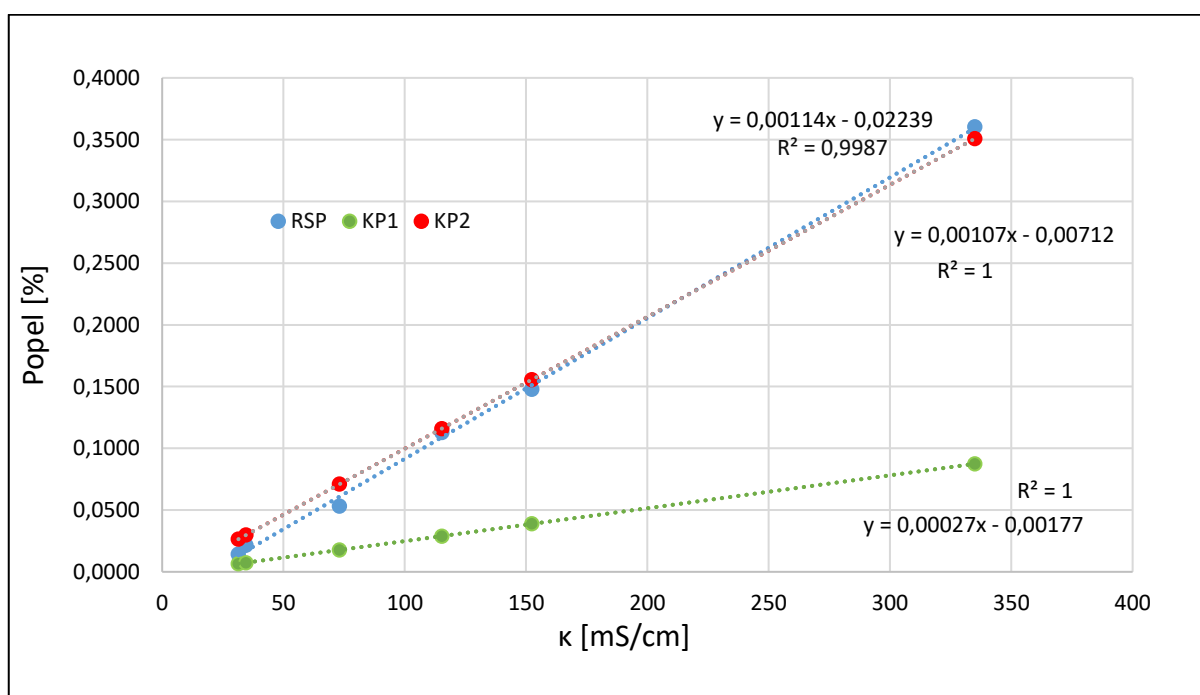
Tabulka 3: Údaje pro stanovení obsahu popela konduktometricky

vzorek	κ [$\mu\text{s}/\text{cm}$]	κ_w [$\mu\text{s}/\text{cm}$]	RSP [%]	KP1 [%]	$(\text{KP1}-\text{RSP})^2$	KP2 [%]	$(\text{KP2}-\text{RSP})^2$
1F	335	7,4	0,3605	0,0875	0,0745	0,350	0,000093
1D	31,4	7,4	0,0144	0,0066	0,0001	0,0264	0,000145
2D1	152,3	7,4	0,1479	0,0388	0,0119	0,1556	0,000060
2D2	115,2	7,4	0,1128	0,0289	0,0070	0,1160	0,000010
2D3	73,1	7,4	0,0533	0,0177	0,0013	0,0710	0,000313
2D4	34,5	7,4	0,0216	0,0074	0,0002	0,0297	0,000066

Tabulka 4: Konvergenční faktory

SČ před konvergencí	SČ po konvergenci	směrnice před konvergencí	směrnice po konvergenci
0,09497	0,0007	0,00027	0,00107

Pozn.: V hodnotě směrnice je vždy zahrnutý součin původní konstanty „0,0018“, resp. modifikované konstanty „0,0072“ a korekční faktor pro obsah RS, v tomto případě to byla průměrná hodnota obsahu RS kalibračních vzorků 2D1 až 2D4, tj. „0,148“.



Obrázek 8: Závislost obsahu popela na vodivosti

Podářilo se splnit stěžejní cíl práce, a to snížit obsah popela v sušině pod 0,3 %, tzn. provést 97% demineralizaci přípravku Bimuno®. Obsah popela vztažený na sušinu v diluátu 1D byl 0,10 % a v diluátu 2D4 0,15 %. Na základě získaných hodnot reálného síranového popela byla

změněna hodnota původní výpočetní konstanty ve vzorci za použití konvergenční metody tak, aby byl vzorec přizpůsoben pro roztoky GOS v této práci. Tento nový upravený vzorec tak může být velmi užitečný v dalších ED procesech. Velmi rychle totiž určí přibližné hodnoty specifických vodivostí, kterých má být dosaženo pro požadovaný obsah popela ve vzorku. To je realizováno skrze jednoduchou kalibrační závislost.

4 Závěr

Tato práce se zabývala obecnou problematikou elektromembránových separačních procesů, elektrodialýzou a jejími aplikacemi v potravinářství. V první části práce byly popsány základní principy elektromembránových procesů včetně charakteristiky iontově selektivních membrán, které představují základní prvek elektromembránových technologií. Dle uspořádání byly elektromembránové separační technologie rozděleny na jednotlivé procesy a stručně vysvětleny. Velká pozornost byla kladena na elektrodialýzu - především bylo popsáno konstrukční uspořádání, princip fungování, provozní režimy a možné obměny konvenční elektrodialýzy. Nakonec jsou uvedeny i aplikace elektrodialýzy v různých odvětvích.

V praktické části jsem pomocí elektrodialýzy demineralizovala funkční potravinový doplněk Bimuno®, jež sestává z galaktooligosacharidů a příměsí dalších jednodušších sacharidů. Detailní vysvětlení struktury, účinků, výroby a možností čištění galaktooligosacharidů je taktéž zmíněno. Důvodem demineralizace bylo cílené snížení obsahu solí, respektive popela ve výrobku na bezpečnou úroveň z hlediska doporučených denních dávek minerálů pro kojence. Při úspěšném průběhu elektrodialýzy by tak výrobek mohl být dále zpracováván a jako finální produkt bezpečně konzumován kojenci. Konkrétním cílem bylo dosáhnout 97% demineralizace, vyjadřující obsah popela v sušině na 0,3 %.

Celkem bylo provedeno šest demineralizačních procesů, které zahrnovaly dva solné testy a jeden kalibrační test. Během testů byly sledovány změny proudu, napětí, pH, vodivosti, teploty, hustoty a obsahu refraktometrické sušiny v čase. Ze získaných hodnot měrných vodivostí kalibračních vzorků byly určeny hodnoty obsahu konduktometrického popela. Byl při tom využit definovaný vztah s konstantou zohledňující hmotnostní koncentraci cukru. Hodnoty reálného/skutečného popela byly určeny karbonizací a spálením stejných vzorků dle standardizovaného postupu. Byly sestaveny závislosti obsahu konduktometrického a reálného popela na vodivosti roztoku. Pomocí konvergenční metody byla upravena směrnice křivky konduktometrického popela tak, že byla téměř identická s křivkou skutečného popela. Pomocí vztahu s novou upravenou konstantou lze velmi rychle určit orientační zastoupení popela v obdobných roztocích, a to s využitím časově nenáročné a levné konduktometrie.

Zároveň bylo dokázáno, že lze snížit obsah popela v sušině pod 0,3 %, jelikož obsah popela ve finálních diluátech byl 0,1 % a 0,15 %. Elektrodialýza se tímto bezesporu řadí mezi levné, energeticky úsporné a zároveň efektivní technologie pro čištění galaktooligosacharidů a typově podobných výrobků.

5 Seznam použité literatury

- [1] PALATÝ, Zdeněk, ed. *Membránové procesy*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2012. ISBN 978-80-7080-808-5.
- [2] JELÍNEK, Luděk. *Desalinační a separační metody v úpravě vody*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008. ISBN 978-80-7080-705-7.
- [3] KOTER, S. a A. WARSZAWSKI. Electromembrane Processes in Environment Protection. *Polish Journal of Environmental Studies*. 2000, **9**(1), 45-56.
- [4] Tlakové membránové procesy ve vodním hospodářství. *Asio: Čištění a úprava vod* [online]. b.r. [cit. 2018-07-10]. Dostupné z: <https://www.asio.cz/cz/264.tlakové-membránové-procesy-ve-vodním-hospodářství>
- [5] NOVÁK, Luboš, ed. *Elektromembránové procesy*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2014. ISBN 978-80-7080-865-8.
- [6] STRATHMANN, H. *Ion-exchange membrane separation processes*. 1st ed. Boston: Elsevier, 2004. ISBN 044450236X.
- [7] Electromembrane Processes. *CZEMP: The Czech Membrane Platform* [online]. b.r. [cit. 2018-03-15]. Dostupné z: <http://www.czemp.cz/en/membrane-processes/electromembrane-processes>
- [8] *Studijní materiál: Elektrodialýza*. Praha, b.r. Dostupné také z: uchi.vscht.cz/uploads/pedagogika/labchi/E.pdf
- [9] 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>
- [10] KŘIVČÍK, Jan. *Prezentace: Iontově selektivní membrány*. Stráž pod Ralskem, 2013.
- [11] *Prezentace: Elektromembránové procesy*. VŠCHT Praha, b.r. Dostupné také z: https://web.vscht.cz/paidarm/ACHP/prezentace/ACHP_e5.pdf
- [12] KOTALA, Tomáš. *Prezentace: Functional Food Ingredients Purification (GOS)*. Stráž pod Ralskem, 2016.
- [13] 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>
- [14] KIRK, Raymond, Donald OTHMER a Rakesh. AGRAWAL. *Separation technology*. 2nd ed. Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience, 2008. ISBN 978-0-470-12741-4.
- [15] BAKER, Richard. *Membrane technology and applications*. 2nd ed. New York: J. Wiley, 2004. ISBN 04-708-5445-6.
- [16] Elektrodeionizace. *MemBrain* [online]. Stráž pod Ralskem, 2018 [cit. 2018-07-10]. Dostupné z: <https://www.membrain.cz/elektrodeionizace.html>

- [17] ALVARADO, Lucía a Aicheng CHEN. Electrodeionization: Principles, Strategies and Applications. *Electrochimica Acta* [online]. 2014, **132**, 583-597 [cit. 2018-06-22]. DOI: 10.1016/j.electacta.2014.03.165. ISSN 00134686. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013468614007087>
- [18] CAKL, Jiří. *Prezentace: Separační procesy v organických a farmaceutických technologiích*. Pardubice, b.r.
- [19] SHEN, Jinyu, Jingran DUAN, Yuanshuai LIU, Yu LIXIN a Xinhui XING. Demineralization of glutamine fermentation broth by electrodialysis. *Desalination* [online]. 2005, **172**(2), 129-135 [cit. 2018-06-22]. DOI: 10.1016/j.desal.2004.05.010. ISSN 00119164. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0011916405800529>
- [20] BAZINET, L, F LAMARCHE a D IPPERSIEL. *Bipolar-membrane electrodialysis: Applications of electrodialysis in the food industry* [online]. 1998, **9**(3), 107-113 [cit. 2018-06-22]. DOI: 10.1016/S0924-2244(98)00026-0. ISSN 09242244. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224498000260>
- [21] Moderní membránová technologie pro zpracování cukrů. *MemBrain* [online]. b.r. [cit. 2018-03-15]. Dostupné z: <https://www.membrain.cz/files/aplikace/zpracovani-cukru.pdf>
- [22] ZEMEL, Michael. Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people (review). *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2003, (5), 251-258. DOI: 10.1016/S0955-2863(03)00030-5. ISSN 09552863. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0955286303000305>
- [23] KINČL, Jan. *Prezentace: Odsolování syrovátky elektrodialýzou*. Membránové inovační centrum Stráž pod Ralskem, 2013.
- [24] *The Professionals' Guide to BIMUNO: Unique Second Generation Prebiotic 'The Scientific Evidence'* [online]. In: . 2013 [cit. 2018-03-08]. Dostupné z: https://www.bimuno.com/media/resources/Bimuno_Professional_Brochure_2013.pdf
- [25] CARDELLE-COBAS, Alejandra, Nieves CORZO, Agustin OLANO, Carmen PELÁEZ, Teresa REQUENA a Marta ÁVILA. Galactooligosaccharides derived from lactose and lactulose: Influence of structure on Lactobacillus, Streptococcus and Bifidobacterium growth. *International Journal of Food Microbiology* [online]. Madrid, 2011, **149**(1), 81-87 [cit. 2018-03-08]. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.026. ISSN 01681605. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168160511003230>
- [26] EKHART, P.F. a E. TIMMERMANS. Techniques for the production of transgalactosylated oligosaccharides (TOS). *Bulletin: Fédération internationale de laiterie* [online]. Borculo, b.r., (313), 59-64 [cit. 2018-03-08]. ISSN 0250-5118. Dostupné z: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BE9601567>
- [27] JELENA, Vulevic, Drakoularakou ALEXANDRA, Parveen YAQOOB, Tzortzis GEORGE a Glenn GIBSON. Modulation of the fecal microflora profile and immune function by a novel transgalactooligosaccharide mixture (B-GOS) in healthy elderly volunteers. *The American Journal of Clinical Nutrition* [online]. b.r., **88**(5), 1438-1446 [cit. 2018-03-08]. DOI: 10.3945/ajcn.2008.26242.
- [28] RODRIGUEZ-FERNANDEZ, Maria, Alejandra CARDELLE-COBAS, Mar VILLAMIEL a Julio BANGA. Detailed kinetic model describing new oligosaccharides synthesis using different β -galactosidases. *Journal of Biotechnology* [online]. b.r., **153**(3-4), 116-124 [cit. 2018-03-08]. DOI:

- 10.1016/j.jbiotec.2011.03.012. ISSN 0168-1656. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168165611001490?via%3Dihub>
- [29] Galactooligosaccharide. *Wikipedia: The Free Encyclopedia* [online]. b.r. [cit. 2018-07-04]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Galactooligosaccharide>
- [30] GIBSON, G. a R. RASTALL. *Prebiotics*. Hoboken, NJ: John Wiley, 2006. ISBN 04-700-2313-9.
- [31] GIBSON, Glenn, Hollie PROBERT, Jan LOO, Robert RASTALL a Marcel ROBERFROID. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews* [online]. 2004, **17**(02), 259- [cit. 2018-03-01]. DOI: 10.1079/NRR200479. ISSN 0954-4224. Dostupné z: http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0954422404000204
- [32] GIBSON, Glenn a Marcel ROBERFROID. Dietary Modulation of the Human Colonie Microbiota:: Introducing the Concept of Prebiotics. *The Journal of Nutrition* [online]. 1995, **125**(6), 1401-1412 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1093/jn/125.6.1401. ISSN 1541-6100.
- [33] LAMSAL, Buddhi. Production, health aspects and potential food uses of dairy prebiotic galactooligosaccharides. *Journal of the Science of Food and Agriculture* [online]. 2012, **92**(10), 2020-2028 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1002/jsfa.5712. ISSN 00225142. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.5712>
- [34] SRIVASTAVA, Anita, Saroj MISHRA a Subhash CHAND. Transgalactosylation of lactose for synthesis of galacto-oligosaccharides using *Kluyveromyces marxianus* NCIM 3551. *New Biotechnology* [online]. 2015, **32**(4), 412-418 [cit. 2018-03-13]. DOI: 10.1016/j.nbt.2015.04.004. ISSN 18716784. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871678415000862>
- [35] SEARLE, Laura, Gareth JONES, George TZORTZIS, Martin WOODWARD, Robert RASTALL, Glenn GIBSON a Roberto LA RAGIONE. Low molecular weight fractions of BiMuno® exert immunostimulatory properties in murine macrophages. *Journal of Functional Foods* [online]. 2012, **4**(4), 941-953 [cit. 2018-03-08]. DOI: 10.1016/j.jff.2012.07.002. ISSN 17564646. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1756464612001077>
- [36] GOSLING, Aaron, Geoff STEVENS, Andrew BARBER, Sandra KENTISH a Sally GRAS. Recent advances refining galactooligosaccharide production from lactose. *Food Chemistry* [online]. 2010, **121**(2), 307-318 [cit. 2018-03-08]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.12.063. ISSN 03088146. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814609014836>
- [37] MACFARLANE, a A.J. MCBAIN. *Journal of Medical Microbiology* [online]. b.r., **50** [cit. 2018-07-02]. DOI: 10.1099/0022-1317-50-9-833. ISSN 0022-2615.
- [38] FOSTER, Jane. Targeting the Microbiome for Mental Health: Hype or Hope?. *Biological Psychiatry* [online]. 2017, **82**(7), 456-457 [cit. 2018-03-08]. DOI: 10.1016/j.biopsych.2017.08.002. ISSN 00063223. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0006322317318541>
- [39] TORRES, Duarte, Maria GONÇALVES, José TEIXEIRA a Lígia RODRIGUES. Galacto-Oligosaccharides: Production, Properties, Applications, and Significance as Prebiotics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2010, **9**(5), 438-454 [cit. 2018-03-08]. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2010.00119.x. ISSN 15414337. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1541-4337.2010.00119.x>
- [40] MICHELON, Mariano, Ana MANERA, Andrea CARVALHO a Francisco MAUGERI FILHO. *Concentration and purification of galacto-oligosaccharides using nanofiltration membranes* [online]. b.r. [cit. 2018-03-01]. DOI: 10.1111/ijfs.12582. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/ijfs.12582>

- [41] HERNÁNDEZ, Oswaldo, Ana RUIZ-MATUTE, Agustín OLANO, F. MORENO a M. SANZ. Comparison of fractionation techniques to obtain prebiotic galactooligosaccharides. *International Dairy Journal* [online]. 2009, **19**(9), 531-536 [cit. 2018-03-08]. DOI: 10.1016/j.idairyj.2009.03.002. ISSN 09586946. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694609000521>
- [42] MACHADO, Mariana, Susane TREVISAN, Jane PIMENTEL-SOUZA, Glaucia PASTORE a Miriam HUBINGER. Clarification and concentration of oligosaccharides from artichoke extract by a sequential process with microfiltration and nanofiltration membranes. *Journal of Food Engineering* [online]. b.r., **180**, 120-128 [cit. 2018-03-08]. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2016.02.018. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0260877416300504>
- [43] KOTALA, Tomáš. *Standardní operační postup SOP č. A036: Stanovení síranového popela v roztocích sacharidů*. 1. Stráž pod Ralskem, 2017.
- [44] *Laboratorní návod: Rozbor rafinovaného cukru, surového cukru a melasy: Rozbor rafinovaného cukru*. VŠCHT Praha, b.r. Dostupné také z: sch.vscht.cz/materialy/stud_mgr/lab_obor_1a_2015.pdf
- [45] *Studijní text: Izoelektrický bod* [online]. b.r. [cit. 2018-07-10]. Dostupné z: http://orion.chemi.muni.cz/zakladni_pojmy_z_biochemie/page0143.htm
- [46] Brakická voda. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001 [cit. 2018-07-10]. Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/wiki/Brakick%C3%A1_voda
- [47] Maillardova reakce. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001 [cit. 2018-07-10]. Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/wiki/Maillardova_reakce