

**UNIVERZITA P. J. ŠAFÁRIKA V KOŠICIACH
PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA
ÚSTAV CHEMICKÝCH VIED
KATEDRA BIOCHÉMIE**



RNDr. Danica Sabolová, PhD.

NÁVODY NA PRAKTICKÉ CVIČENIA Z BIOTECHNOLÓGIE

KOŠICE 2012

© 2012 RNDr. Danica Sabolová, PhD

Recenzenti: Doc. Ing. Peter Oravec, CSc.

Ing. Alžbeta Medveďová, PhD.

Rozsah strán: 66

Elektronický vysokoškolský učebný text pre Prírodovedeckú fakultu UPJŠ v Košiciach.

Za odbornú a jazykovú stránku tohto vysokoškolského učebného textu zodpovedá autor.

Rukopis neprešiel redakčnou ani jazykovou úpravou.

Vydavateľ: Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach

Umiestenie: <http://www.upjs.sk/pracoviska/univerzitna-kniznica/e-publikacia/#pf>

Dostupné od: 03.12.2012

ISBN 978-80-7097-989-1

OBSAH

1. BEZPEČNOSŤ PRI PRÁCI	4
Cvičenie č. 1 – Zásady bezpečnosti práce v chemickom laboratóriu	5
2. ALKOHOLOVÉ KVASENIE A ALKOHOLICKÉ NÁPOJE	8
Cvičenie č. 2 – Alkoholové kvasenie	12
3. BIOPOLYMÉRY - PEKTÍNY	14
Cvičenie č. 3 – Rozbor technického pektínu, príprava džemu	17
4. MLIEKO A MLIEČNE VÝROBKY	19
Cvičenie č. 4 – Mlieko, pasterizácia mlieka	30
Cvičenie č. 5 – Analýza mlieka mliečne kvasenie	33
Cvičenie č. 6 – Príprava kyslomliečnych výrobkov a syra	36
5. KONZERVÁCIA POTRAVÍN	38
Cvičenie č. 7 – Oxid siričitý ako konzervačný prostriedok	43
6. BIOLOGICKÉ OXIDÁCIE	46
Cvičenie č. 8 – Antioxidačné pôsobenie vitamínu C na cytochróm c	48
7. ANTIBIOTIKÁ	50
Cvičenie č. 9 a 10 – Bakteriocíny	52
8. KOZMETIKA, MYDLÁ A ČISTIACE PROSTRIEDKY	54
Cvičenie č. 11 – Kozmetika	61
9. POTRAVINOVÉ ADITÍVA – FARBIVÁ	62
Cvičenie č. 12 – Potravinové farbivá, spektrálna analýza potravín	64

Predslov

Tento vysokoškolský učebný text je určený pre poslucháčov Prírodovedeckej fakulty UPJŠ v Košiciach, ktorí si zapísali **praktické cvičenia z Biotechnológie**, ale aj všetkým ostatným študentom, ktorí majú záujem zoznámiť sa s praktickými aplikáciami biotechnológií. Cieľom praktického kurzu je zoznámiť študentov so základnými biotechnologickými metódami a ich aplikáciami.

Poslucháči si v praxi overia teoretické poznatky získané na prednáškach z Biotechnológie ako je priebeh fermentačných procesov, výroba vína, príprava kyslomliečnych výrobkov a syrov, príprava kultivačných médií, očkovanie a kultivácia mikroorganizmov atď. Súčasťou praktických cvičení je aj využívanie analytických a spektrálnych metód, ktoré sú neoddeliteľnou súčasťou biochémie.

Skriptá sú vydávané iba v elektronickej podobe a sú sprístupnené na webovej stránke univerzity: <http://kosice.upjs.sk/~kbch/sk>, z dôvodu, že stále sa bude dať aktualizovať a modernizovať obsah laboratórnych úloh.

Autorka

1. BEZPEČNOSŤ PRI PRÁCI

Cvičenie č. 1 – Zásady bezpečnosti práce v chemickom laboratóriu

Úloha: Oboznámiť študentov so základnými bezpečnostnými pravidlami, ktoré by mali dodržiavať počas laboratórnych cvičení

1. Každý študent je povinný poznať a dodržiavať základné bezpečnostné predpisy pri práci s ohňom, elektrickým prúdom a chemikáliami (zvlášť nebezpečné jedy, ostatné jedy, kyseliny, zásady). Preškolenie prevedie na začiatku kurzu vedúci cvičení.
2. Každé poranenie je nutné nahlásiť vedúcemu cvičenia a úrazy zapísať do "Knihy úrazov".
3. Prístup do laboratória majú iba osoby, ktoré tam pracujú. Študenti sa môžu pohybovať iba v priestoroch vyhradených ku cvičeniu. Platí prísny zákaz manipulácie so zariadením a prístrojmi, ktoré nie sú určené k prevádzaniu konkrétneho cvičenia.
4. Vstup do laboratória je povolený iba v prezuvkách a ochrannom laboratórnom plášti.
5. Každý študent zodpovedá za priebeh svojej práce, za zverené zariadenia, prístroje, materiál a za udržiavanie poriadku a čistoty na pracovnom stole.
6. V laboratóriu platí zákaz pitia, jedenia a fajčenia.
7. Výlevka v umývadle sa nesmie znečisťovať pevným odpadom (zápalkami, filtračným papierom, agarom a pod.)
8. Po ukončení cvičenia je nutné vypnúť prístroje a zariadenia, odložiť nástroje a pomôcky, umyť používané sklo, náradie a upratať pracovné miesto.
9. Po ukončení laboratórnej práce je nutné si poriadne umyť ruky.

.....
Poznámky:

Práca s chemikáliami:

- Používať ochranné pomôcky (napr. gumené rukavice, okuliare...)
- Pri poliatí kyselinou → dôkladne omyť tečúcou vodou a neutralizovať 1% roztokom NaHCO₃ (hydrogénuhličitan sodný)
- Pri poliatí hydroxidom → dôkladne omyť tečúcou vodou a neutralizovať 1% roztokom kyseliny octovej (príp. citrónovej)

- Pri zasiahnutí očí → oplachovať dlhšiu dobu pod prúdom vody, vyhľadať lekára!
- Pri požití kyseliny → vypiť suspenziu oxidu horečnatého v studenej vode
- Zásada pri zriedžovaní kyselín: kyselinu vlievať pomaly do vody!
- Nikdy nepipetovať ústami! (používať pipetovacie násadce)

Úrazy elektrickým prúdom:

- Nemanipulovať bez vyzvania s elektrickými šnúrami, zásuvkami, žiarovkami
- Pri vypínaní šnúry elektrického spotrebiča jemne pridržať zásuvku
- Poznať umiestnenie hlavného vypínača elektrického prúdu pre laboratórium

Nebezpečenstvo požiaru:

- Poznať umiestnenie hasiacich prístrojov na pracovisku, ich náplň a použitie
- Poznať umiestnenie únikového východu z pracoviska
- V prípade vzniku požiaru uhasiť požiar dostupnými hasiacimi prostriedkami alebo previesť opatrenia k zamedzeniu jeho šírenia
- Vznik požiaru ohlásiť (alebo zabezpečiť jeho ohlásenie) na telefónne číslo 150
- Previesť opatrenia pre záchranu ohrozených osôb a majetku

Dôležité telefónne čísla:

Tiesňové volania (Európa) - 112

Rýchla záchranná služba - 155

Polícia - 158

Hasičský a záchranný zbor – 150

Ďalšie zásady práce v laboratóriu:

- opatrnosť pri umývaní laboratórneho skla
- nepokladať zátky od chemikálií na pracovné stoly, činidlá po použití uzavrieť
- pri práci s horľavinami dbať na dobré odvetrávanie pór, ktoré sa môžu vznietiť od plameňa alebo tepelného zdroja

- pri rozliatí horľaviny zhasnúť horáky, vypnúť elektrické spotrebiče a intenzívne vetrať
- pozor na možné nahromadenie pár etanolu nad liehom v liehovom kahane a ich prípadné vznietenie pri zapaľovaní knôtu kahanu
- pri vzplanutí malého množstvo liehu v kadičke udusiť plameň položením nehorľavej misky, prípadne k uduseniu plameňa použiť vlhkú handru
- pri práci s éterom pracovať v digestóriu a dbať na intenzívne vetranie

Hasenie požiaru na pracovisku:

- pri vzniku požiaru je nutné zachovať klud, nestratiť duchaprítomnosť a okamžite účelne zasiahnuť
- najprv pomôžeme osobám zasiahnutým plameňom (uhasenie odevu), potom vypneme elektrinu a odstránime horľaviny z blízkosti plamene
- voda nie je vhodná k haseniu látok, s ktorými reaguje za tvorby horľavých plynov. Je vhodná na hasenie horiaceho liehu (dobré sa s ním mieša). Elektrické vedenie sa vodou nehasí !!!

Hasiace prístroje:

- Práškové hasiace prístroje sa hodia k haseniu textilu, obrazov, archívov. Nesmú sa používať k haseniu voľne uloženého papiera.
- Snehové hasiace prístroje (obsahujú kvapalný CO₂) sú vhodné k haseniu horľavých kvapalín, vrátane acetylénu. Môžeme ich využiť k haseniu elektrického vedenia pod prúdom. Nesmú sa nimi hasiť voľne uložené organické látky.
- Penové hasiace prístroje sa používajú na hasenie všetkých minerálnych olejov, benzínov, tukov, lakov a organických hmôt. Nehodia sa k haseniu liehu, éteru, ktoré chemickou penu rozkladajú. Nesmú sa používať k haseniu zariadení pod elektrickým prúdom!

Ak nevieme požiar zlikvidovať vlastnými silami, je nutné volať hasičov (150) !!!

2. ALKOHOLOVÉ KVASENIE A ALKOHOlickÉ NÁPOJE

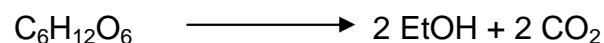
GLYKOLÝZA

V cukroch je ukryté veľké množstvo chemickej energie, ktorú prostredníctvom nich organizmy uskladňujú. Štiepením molekúl cukru na menšie molekuly s nižšou hladinou chemickej energie ju potom bunky uvoľňujú. Takéto štiepenie cukrov sa nazýva glykolýza. Glykolýza je metabolická dráha premeny glukózy na dve molekuly pyruvátu za čistého výťažku dvoch molekúl ATP a dvoch molekúl NADH. Pribieha v cytozole buniek.

ETANOL

Etanol je najznámejším produktom metabolizmu kvasiniek a jeho výrobou sa zaoberali už staroveké národy. Etanol vzniká alkoholovým kvasením za anaeróbných podmienok. Východiskovými surovinami sú cukor, škrob a celulóza. Z jedného kilogramu cukru sa dá vyrobiť približne 0,65 litra čistého liehu.

Kvasenie cukru na alkohol a oxid uhličitý bolo známe už v minulosti. Keďže pri takomto kvasení vznikalo veľké množstvo plynu, ktorý unikal v podobe bubliniek, zdalo sa, akoby kvasná zmes vrela. Preto bolo kvasenie nazvané latinským slovom „fermentatio“, teda fermentácia podľa „fervere“ t.j. vriieť. Začiatkom 19. storočia odhalil francúzsky chemik GAY-LUSSAC jeho priebeh a vyjadril ho rovnicou:



- Praktická výťažnosť je 88 – 95% (vedľajšie produkty – glycerol, organické kyseliny a vyššie alkoholy).
- K výrobe etanolu sa hodí najmä cukrová repa, krmná repa, zemiaky, obilniny a kukurica.

Etanol je hodnotným palivom pre spaľovacie motory s približne polovičnou výhrevnosťou ako má benzín či nafta. V zmesi s benzínom (5 – 10%) je možné etanol spaľovať bez zvláštnych úprav motora. Bioteanol ako alternatíva pre vznetové motory rozširuje možnosť využitia domácich, plne obnoviteľných zdrojov energie.

Mikroorganizmy produkujúce etanol:

- 1. Baktérie** - *Zymomonas*, *Clostridium*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Lactobacillus*, *Thermoanaerobacterium*, *Zymobacter*, atď.
- 2. Kvasinky** - *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Zygosaccharomyces*, *Candida*, atď.
- 3. Vláknité huby** - *Rhizopus*, *Aspergillus*, atď.

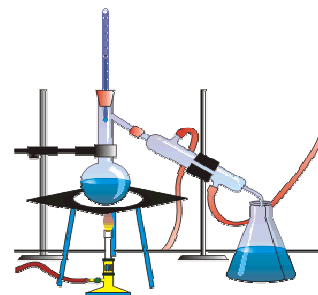
V priemyselných liehovaroch sa najviac používajú kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, ktoré najlepšie spĺňajú všetky kritériá.

Výroba etanolu:

1. Príprava fermentačného média
2. Propagácia kvasiniek
3. Fermentácia
4. Destilácia

Destilácia

- Destilácia vykvasených záparov sa prevádza v kontinuálnych destilačných zariadeniach.
- Koncentrácia vytekajúceho surového alkoholu je 90-92%, ktorý sa po zriedení na 40-50% opakovane destiluje (rektifikuje), pričom sa oddelia prchavé zložky (kyseliny a estery od alkoholu).
- Surový alkohol sa delí na frakcie :
 - predkvap
 - čistý alkohol
 - dokvap

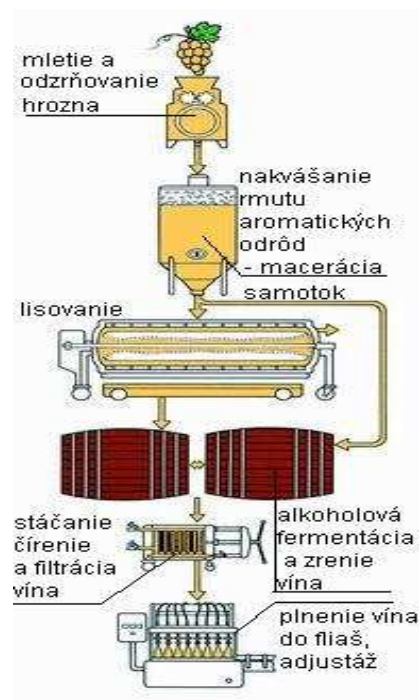


VÍNO

- Je alkoholický nápoj vznikajúci kvasením hroznového muštu.

Technologický postup :

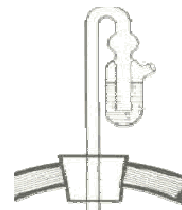
1. Mletie a odzrňovanie viniča
2. Lisovanie a úprava muštu
3. Alkoholové kvasenie a zrenie vína
4. Stáčanie, čírenie a filtrácia vína
5. Plnenie vína do fľaš



Druhy vínnych kvasiniek: *Saccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Bretanomyces*, *Candida*, *Hanseniospora*, *Trulopsis* , atď.

Pri kvasení sa činnosťou kvasiniek mení cukor na alkohol, oxid uhličitý a vedľajšie produkty. V prvej fáze nastáva búrlivé kvasenie, (obdobie burčiaku) ktoré trvá niekoľko dní.

Po ukončení búrlivého kvasenia sa víno prvý krát stáča. Oddelia sa kaly a v ďalších týždňoch mladé víno dokvasuje. V tejto fáze nádoby s mladým vínom uzatvoríme kvasnou zátkou. Optimálna teplota kvasenia je 14 až 18 °C.



V ďalšom stupni nastáva samočistenie vína. Kvasinky vplyvom zvyšujúceho sa obsahu alkoholu hynú a spolu s nečistotami sadajú na dno nádoby. Alkoholová fermentácia bielych vín s použitím čistých kultúr vínnych kvasiniek trvá podľa teploty a zloženia muštu 10 dní až niekoľko mesiacov. Po ukončení kvasenia sa víno opäť stáča, filtruje a sceľuje (miešanie rôznych várok). Nakoniec sa plní do fľaš a podľa potreby nechá dozrieť.

Rozdelenie vín

Slovenské vína sa členia podľa cukornatosti hrozna; obsahu prítomného alkoholu; odrody viniča; použitej technológie výroby a finálnej kvality na:

- *Stolové víno*
- *Stolové víno so zemepisným označením (Oblasťné víno)*
- *Akostné víno*
 - Akostné odrodové víno*
 - Akostné značkové víno*
- *Akostné víno z ohraničenej vinohradníckej plochy*
- *Akostné víno s prívlastkom*
 - kabinet*
 - neskorý zber*
 - výber z hrozna*
 - bobuľový výber*
 - hroziakový výber*
 - cibébový výber*
 - ľadové víno*
 - slamové víno*
- *Upravované víno*
- *Odalkoholizované víno*
- *Nízkoalkoholické víno*
- *Víno na priemyselné spracovanie*
- *Víno vyrobené v Tokajskej vinohradníckej oblasti*

Podľa obsahu cukru:

Suché vína – obsahujú najviac 4g zbytkového cukru na liter

Polosuché vína – obsahujú 4 - 12 g zbytkového cukru na liter

Polosladké vína – obsahujú 12 - 45 g zbytkového cukru na liter

Sladké vína – obsahujú minimálny obsah 45 g zbytkového cukru na liter

Podľa obsahu CO₂:

- *tiché*
- *sýtené*
- *perlivé*
- *šumivé*

Cvičenie č. 2 – Alkoholové kvasenie

Úlohy:

1.) Príprava alkoholu destiláciou z vykvaseného záparu

Princíp:

Alkoholové kvasenie je anaeróbna fermentácia typická pre kvasinky a niektoré rody baktérií. Jedná sa o mezofilné a acidorezistentné mikroorganizmy. Z jednoduchých cukrov pri nej vzniká etanol oxid uhličitý a vedľajšie produkty.

Pomôcky, chemikálie, sklo, materiál:

aparátúra na destiláciu - (topné hniezdo, varná banka so zábrusom (2 l), Liebigov chladič, Erlenmayerova banka so zábrusom (1 l), hadice na prívod a odvod vody chladenia, varné telieska, teplomer so zábrusom), alkoholový zápar, liehomer, pyknometer

Pracovný postup:

Pripravíme si destilačnú aparátúru. Do 2 l varnej banky vlejeme vykvasený alkoholový zápar spolu s varnými telieskami a necháme predestilovať. Banku opláchneme, prelejeme do nej získaný destilát a predestilujeme ho druhýkrát. Pri tejto destilácii predkvap vylievame, zachytávame len čistý alkohol pri teplote od 78 °C do 80 °C. Presnú koncentráciu získaného alkoholu zistíme liehomerom aj pyknometricky. Stanovené množstvo alkoholu z oboch metód porovnáme a zapíšeme do protokolu.

2.) Príprava bieleho vermutu

Pomôcky, materiál, sklo, chemikálie:

3 l sklenený demižón, sklenený lievnik, kvasná zátka, cukor, ryža, kvasnice, citrón, korenie (podľa pracovného postupu), kyselina vínna

Pracovný postup:

Prevaríme 2,4 l vody s 0,9 kg cukru. Po vychladnutí pridáme 1,2 dkg kvasníc a 0,3 kg ryže. Prikryjeme a necháme postáť. Potom pridáme 30 ks klinčekov, 6 bobkových listov, 6 ks čierneho korenia, 3 ks nového korenia, ¼ muškátového orecha (nastrúhaného) a 1 citrón (umytý narezaný na plátky). Prelejeme do

demižóna a zazátkujeme kvasnou zátkou. Po 4 týždňoch prelejeme to do 0,7 l sklenených nádob a pridáme do každej po 1 lyžičke kyseliny vínnej. Necháme 1 týždeň stáť, kým sa víno nevyčíri a potom ho stočíme do fliaš. Pri príprave červeného vermutu víno ofarbíme červeným potravinárskym farbivom.

Pyknometrická metóda stanovenia hustoty:

Výpočet:
$$\rho = \frac{m}{V} = \frac{m_2 - m_1}{V} = \frac{m_2 - m_1}{m_3 - m_1}$$

kde:

m_1 = hmotnosť prázdneho pyknometra

m_2 = hmotnosť pyknometra s meranou kvapalinou

m_3 = hmotnosť pyknometra s destilovanou vodou

Postup:

Suchý prázdny pyknometer zvážíme. Potom ho naplníme kvapalinou, uzavrieme zátkou, prebytočnú kvapalinu osušíme filtračným papierom a zvážíme. Rovnako potom zvážíme pyknometer s destilovanou vodou.

Presnejšie vypočítame hustotu podľa:

$$\rho = \frac{m_2 - m_1}{m_3 - m_1} \cdot (\rho_{\text{H}_2\text{O}} - \rho_v) + \rho_v$$

kde $\rho_{\text{H}_2\text{O}}$ = hustota vody pri danej teplote (pri 20 °C je 0,9982 g.cm⁻³)

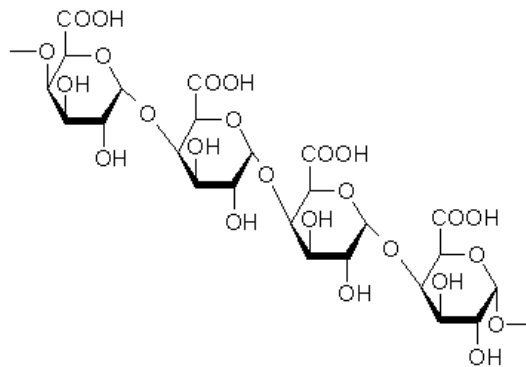
ρ_v = hustota vzduchu (pri t = 20 °C a tlaku 101,325 kPa je 0,0012 g.cm⁻³)

Z chemických tabuliek odčítame percento alkoholu prislúchajúce nameranej hustote. Výsledok porovnáme s hodnotou nameranou alkoholometrom a zapíšeme do protokolu.

3. BIOPOLYMÉRY - PEKTÍNY

Pektíny (E 440) sú kyslé polysacharidy, ktoré sú súčasťou medzibunkových priestorov mladých pletív vyšších rastlín, bunkovej steny a vakuol. Nachádzajú sa najmä v dužinatých plodoch (jablká, citrusové ovocie...), ľahko bobtnajú, viažu vodu a tým ovplyvňujú hospodárenie s ňou.

Po chemickej stránke sú to polygalakturonáty. Sú to deriváty kyseliny α -D-galakturonovej, ktorá je viazaná 1-4 glykozidickou väzbou. Často bývajú jej karboxylové skupiny metylované, alebo sú prítomné vo forme vápenatej soli.



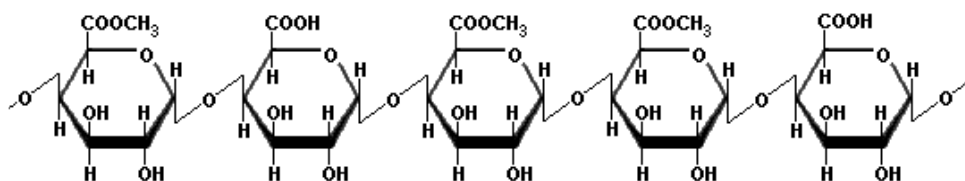
Kyselina poly- α -D-galakturonová

Kyselina polygalakturonová býva čiastočne esterifikovaná metanolom. Stupeň esterifikácie je daný pomerom esterifikovaných jednotiek k celkovému počtu jednotiek kyseliny v reťazci. Tento pomer má významný vplyv na vlastnosti pektínu, najmä na rozpustnosť a schopnosť vytvárať rôsoly. Priemyslovou extrakciou prírodného materiálu môžeme získať pektín so stupňom esterifikácie (SE) asi 75%.

Rozlišujeme: vysokoesterifikované pektíny - SE >50%

nízkoesterifikované pektíny - SE <50%

Pektíny sú dobre rozpustné vo vode a nerozpustné v organických rozpúšťadlách. Toto sa využíva pri priemyselnej výrobe pektínov, kde sa pektín získava z vodného roztoku zrážaním organickými rozpúšťadlami (etanol, metanol, izopropanol).



metylester kyseliny α -D-galakturonej

Pektíny sa enzymaticky odbúravajú v dvoch stupňoch. Esterázy hydrolyzujú estery pričom vyniká kyselina pektínová a metanol. Potom pektináza (polygalaktouronidáza) hydrolyzuje glykozidické väzby a vznikajú pektínové kyseliny s kratším reťazcom.

Schopnosť pektínov tvoriť gély sa využíva v potravinárskom priemysle. Zahrievaním so sacharózou, prípadne v slabo kyslom prostredí pektíny rôsolovatejú. Získavajú sa z mnohých surovín najmä z jabĺk, ríbezlí, repných odrezkov, malín, mrkvy pôsobením zriedenej kyseliny chlorovodíkovej pri 70-90°C. Pektín sa potom vyzráža alkoholom, resp. hlinitými soľami, oddelí sa a vysuší.

Tabuľka 1. Obsah pektínu v rastlinách:

Materiál	Obsah pektínu (% sušiny)
citrusové šupky	10 – 35
jablčné výlisky	10 – 15
jablčné šupky	19 – 20
repné odrezky	10 – 20
hrozno	6 – 9
zemiaky	2 - 3
čierne ríbezle	1,5
marhule	0,6
višne	0,4



Využitie pektínových látok:

potravinárstvo – príprava džemov a marmelád

farmaceutický priemysel – regulácia vstrebávania účinných liečiv ako sú kyselina

askorbová, penicilín alebo inzulín

textilný priemysel

ŽELÍROVANIE

Želírovaním sa nazýva príprava džemov a marmelád s použitím želírovacích prípravkov. Ide o formu spracovania plodov, pričom ovocná masa nadobudne požadovanú „želé“ - konzistenciu už po niekoľkých minútach varenia s prípravkami, ktoré obsahujú pektíny a s cukrom, ktorý spracované ovocie konzervuje. Práve pektíny majú schopnosť tvorby rôsolu, no samotné bez pomoci cukru nemajú konzervačnú schopnosť.

Členenie výrobkov z ovocia

- **Marmeláda** – výrobok z ovocia alebo zeleniny polotuhej až tuhej homogénnej rôsolovitej konzistencie, s prídavkom cukru alebo iných sladidiel, resp. prídavných látok.
- **Džem** – výrobok polotuhej rôsolovitej konzistencie, vyrobený z ovocia s prídavkom cukru, alebo iných sladidiel, ktorý musí obsahovať celé ovocie alebo rozpoznateľné kúsky ovocia.
- **Rôsol** – výrobok rôsolovitej konzistencie vyrobený z ovocnej šťavy, alebo vodného extraktu z ovocia s prídavkom cukru, resp. iných sladidiel a prídavných látok
- **Lekvár** – výrobok z ovocia polotuhej až tuhej konzistencie vyrobený odparovaním vody bez alebo s prídavkom cukru; časť cukru môže byť nahradená škrobovým sirupom.

Používané želírujúce látky pri spracovaní ovocia:

pektín, karagenan, jedlá želatína, arabská guma, xantánová guma, algináty ...

Cvičenie č. 3 – Rozbor technického pektínu, príprava džemu

Úlohy:

1.) Stanovenie pektínových látok alkalimetrickou titráciou

Princíp:

Metóda titračného stanovenia pektínu je založená na tom, že polygalakturónová kyselina je natoľko silná, že ju možno priamo titrovať odmerným roztokom hydroxidu. Pri stanovení sa titrujú najprv karboxylové skupiny. Po zmydelnení metoxylových skupín sa spätnou titráciou zistí množstvo spotrebovaného hydroxidu na deesterifikáciu.

Pomôcky, materiál, sklo, chemikálie:

Roztok hydroxidu sodného [$c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$], roztok kyseliny sírovej [$c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$], brómtymolová modrá, fenolftaleín, Pektogel 1, byreta 25 cm^3 , titračná banka 500 cm^3

Pracovný postup:

Navážime 0,5 g hrubého pektínu a rozpustíme v 100 cm^3 destilovanej vody v kužeľovitej banke (500 cm^3). Titrujeme roztokom NaOH na brómtymolovú modrú – spotreba a. Po dosiahnutí neutrálneho bodu pridáme presne 35 cm^3 roztoku NaOH – spotreba b. Po premiešaní vzorky banku uzatvoríme a odstavíme na 2 hodiny pri laboratórnej teplote (max. 25 °C). Potom okyslíme prebytkom roztoku H_2SO_4 – spotreba c. Pridáme niekoľko kvapiek fenolftaleínu a znova titrujeme NaOH – spotreba d – do fialového farebného prechodu, ktorý je menej ostrý než pri prvej titrácii.

Výpočet: Množstvo čistého pektínu v mg kg^{-1} (w_p):

$$w_p = \frac{176,1x + 190,1y}{1000}, \text{ kde } x \text{ je } 0,1 V_a; \quad y = 0,1 (V_b + V_d - V_c)$$

V_a - spotreba NaOH [$c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$] (titrácia voľných karboxylových skupín) [cm^3];

V_b - spotreba NaOH [$c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$] [cm^3], pridané na deesterifikáciu (35 cm^3);

V_c - množstvo H_2SO_4 [cm^3] na okyslenie alkalického roztoku [$c(1/2 \text{ H}_2\text{SO}_4) = 0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$]

V_d - spotreba NaOH [$c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$] [cm^3] pri titrácii okysleného roztoku;

176,1 – relatívna molekulová hmotnosť nesterifikovanej jednotky;

190,1 – relatívna molekulová hmotnosť esterifikovanej jednotky.

Stupeň esterifikácie (S), t.j. pomer esterifikovaných karboxylových skupín k celkovým karboxylovým skupinám sa vypočíta zo vzťahu:

$$S = \frac{V_b + V_d - V_c}{V_a + V_b + V_d - V_c}$$

Použitie:

Metóda sa používa na stanovenie čistého pektínu v potravinárskom pektíne, alebo pektíne izolovanom z ovocia a ovocných výrobkov a na stanovenie jeho stupňa esterifikácie.

2.) Príprava ovocného džemu

Princíp:

Pektíny sú lineárne makromolekulárne koloidy zložené z molekúl kyseliny D-galaktouronovej. V priemysle sú často využívané ako želírovacie prostriedky.

Pomôcky, chemikálie, sklo, materiál:

jablká, kryštálový cukor, pektogel, široká kadička 400 cm^3 , zavárací pohár s viečkom

Pracovný postup:

Zrelé jablká očistíme, nakrájame na drobno. Povaríme vo vode a prepasírujeme cez sito. Pridáme cukor (na 1 kg ovocia– 500 g cukru). Dreň s cukrom povaríme ešte pol hodiny za stáleho miešania. Ak je zmes málo hustá môžeme pridať do džemu príslušné množstvo pektogelu. Uvarený horúci džem vlejeme do umytých pohárov. Po uzavretí ich obrátíme hore dnom.

4. MLIEKO A MLIEČNE VÝROBKY

Mlieko je tekutina, ktorá je vylučovaná mliečnou žľazou všetkých cicavcov. Vlastné materské mlieko však nie je určené iba pre výživu mláďat, ale surové mlieko (kravské, ovčie, kozie, byvolie atď.) a zvlášť mliečne výrobky z týchto mliek už niekoľko tisícročí tvoria i hlavnú potravinovú zložku človeka

Zloženie mlieka sa u jednotlivých cicavcov výrazne líši:

- Ľudské mlieko je riedke a má vysoký obsah laktózy (mliečny cukor).
- Kravské mlieko má nižší obsah cukru a vyšší obsah proteínov, obsahuje asi 3,5 - 6,5 % mliečného tuku, 4 - 8,5 % mliečnej sušiny a asi 88 % vody. Jeho hlavný proteín (80 %) je kazeín.

Dojčatá produkujú enzým laktázu, ktorý štiepi mliečny cukor. Tvorba laktázy u ľudí v dospelosti klesá (podľa etnického pôvodu), v mnohých prípadoch do takej miery, že sa laktóza stane nestráviteľná. Ľudia, ktorí nemôžu tráviť mlieko s obsahom laktózy trpia tzv. *laktózovou intoleranciou*.

Základné zloženie mlieka:

Voda – hlavná zložka mlieka

Sacharidy – laktóza, galaktóza, glukóza

Bielkoviny – kazeín, albumín, globulín

Lipidy – mliečny tuk, kyselina maslová, palmitová a olejová

Anorganické minerálne látky – chloridy a fosforečnany vápnika, horčíka, sodíka

Vitamíny – tiamín, riboflavín, niacín, kyselina pantoténová, tokoferol, kalciferol
provitamín A a kyselina askorbová

Enzýmy – laktáza, lipáza, amyláza, peroxidáza, kataláza, reduktáza, fosfatáza

Tepelné ošetrenie mlieka je jednou z najdôležitejších tepelných operácií pri výrobe mliečnych výrobkov.

Pasterizácia je spôsob tepelnej úpravy, nazvanej podľa francúzskeho chemika a bakteriológa *Louisa Pasteura*, ktorý sa zaoberal účinkami tepla v procese ničenia choroboplodných zárodkov.

Druhy pasterizácie:

Nízka - dlhodobá pasterizácia – mlieko sa zahrieva približne polhodiny pri teplote 62°C - 65°C. Touto formou ošetrenia sa zabezpečí či úplná devitalizácia vegetatívnych foriem choroboplodných zárodkov a takmer úplné usmrtenie saprofitických mikroorganizmov. Pri tejto forme pasterizácie sa takmer úplne zachovávajú fyzikálne, chemické a biologické vlastnosti mlieka. Táto forma pasterizácie je vhodná aj pre spracovanie ovčieho a kozieho mlieka priamo na farme.

Stredná - krátkodobá pasterizácia – mlieko sa zahrieva 5 sekúnd pri teplote nepresahujúcej 71°C - 75°C. Táto forma pasterizácie síce nespôsobuje takmer žiadne straty vitamínov, ale technologické zariadenia si vyžadujú spracúvať veľké objemy mlieka.

Vysoká – mlieko je pasterizované pri vysokej teplote 85 °C - 120°C po čas 4 - 15 sekúnd.

Ultravysoko-teplotný ohrev mlieka (**UHT** – „Ultra Heat Treatment“) mlieko je pasterizované pri ultra vysokej teplote 135°C po čas 1 - 2 sekúnd.

Podľa obsahu tuku delíme kravské mlieko na:

- **plnotučné**, s obsahom tuku najmenej 3,5 %
- **polotučné** (čiastočne odtučnené), s obsahom tuku 1 – 3,5 %
- **nízkotučné**, s obsahom tuku 0,5 – 1 %
- **odtúčené**, s obsahom tuku menej ako 0,5 %

Podľa trvanlivosti sa mlieko delí na:

- čerstvé, s dobou trvanlivosti 3-5 dní, predávané v sklenených fľašiach, PE baleniach a škatuliach z povoskovaného papiera
- s predĺženou trvanlivosťou (až 10 dní), predávané v PET fľašiach, alebo hermeticky uzatváraných škatuliach s PE uzáverom

- trvanlivé mlieko (trvanlivosť 3-6 mesiacov), ktoré sa predáva v škatuliach s vrstvami papiera, plastu a hliníka (tzv. „obaly typu Tetra Pak“), tieto mlieka možno do otvorenia uchovávať aj pri izbovej teplote

Mliečne výrobky

Syry

Syry patria medzi ľahko stráviteľné potraviny. Podľa spôsobu zrážania mlieka a výrobných postupov rozlišujeme syry sladké, kyslé a sušené.

Rozdelenie syrov

Podľa druhu mlieka na **kravské, ovčie, kozie**.

Podľa obsahu tuku v sušine:

- vysokotučné nad 60 %
- smotanové 50 – 60 %
- plnotučné 45 – 50 %
- tučné 40 – 45 %
- polotučné 30 – 40 %
- nízkotučné 20 – 30 %
- odtučnené do 10%.



Podľa spracovania – **tvrdé syry a tavené syry**.

Podľa spôsobu zrenia – syry, ktoré zrejú v celej hmote rovnako (väčšina tvrdých syrov a bryndza)

– syry, ktoré zrejú od povrchu do vnútra (syry typu camembert, syry zrejúce pod mazom a kyslé syry)

Výroba syrov je považovaná za najnáročnejšiu mliekarenskú technológiu. Na 1 kg syra je potrebných asi 7 – 12 kg mlieka. Podstatná časť vyrobeného mlieka u nás a vo svete sa spracováva práve na syry.

Prírodné syry sa vyrábajú tak, že sa bielkovina z mlieka vyzráža a oddelí sa srvátka.

Spôsoby výroby syra:

- samovoľným, resp. kyslým zrážaním mlieka. Vzniknutá zrazenina sa spracuje na tvaroh a to sú tzv. **kyslé syry**,
- enzymatickým zrážaním sladkého mlieka (pomocou syridla). Vzniku zrazenina, ktorá sa po oddelení srvátky spracuje na rôzne druhy tzv. **sladkých syrov**.

Syridlo obsahuje enzýmy: chymozín a pepsín. Pripravuje sa zo žalúdkov malých teliat, kozliat a jahniat (14 dní – 3 mesiace starých). Žalúdky sa rozrežú vylúhujú vo vode a pridá sa soľ. Zmes sa precedí, roztok sa nechá usadiť a syridlo sa odloží do chladu.

Postup výroby kyslých syrov

Kyslé syry, sú prevažne tvarohy a syry vyrábané z tvarohu (napr. olomoucké tvarôžky a pod.). Podstata výroby spočíva v nasledovných technologických postupoch:

- príjem a kvalitatívne odskúšanie mlieka
- pasterizácia mlieka (vysoká teplota)
- odstredenie tuku podľa požadovaných hodnôt v syre
- úprava teploty mlieka na teplotu zrážania (20 – 40°C), podľa druhu syra
- prídavok čistých mliekarenských kultúr
- zrážanie mlieka (až 18 – 22 hod.)
- krájanie syreniny na hranoly a ich vyťažovanie (prípadne mierne ohrievanie)
- oddelenie srvátky cedením, alebo odstredením, kontrola kvality, resp. úprava hodnôt sušiny
- balenie na spotrebiteľské účely, alebo na ďalšie spracovanie

Postup výroby sladkých syrov

Sladké, alebo enzymatickým zrážaním vyrobené syry majú podstatnú časť technológie spoločnú, ale v jednotlivých technologických úkonoch sa odlišujú, čím vzniká široká paleta druhov syrov s rôznym zložením, dobou zretia, s rôznym povrchom, konzistenciou a pod. Hlavné technologické zásady výroby prírodných sladkých syrov sú nasledovné:

- kvalitatívny výber a príjem mlieka, kontrola kvality

- pasterizácia mlieka (nižšia teplota), úprava obsahu tuku odstredovaním
- príprava mlieka na syrárskej vani – teplota sýrenia, obsah vápenatých solí a prídavok mliekarských a syrárskych čistých kultúr
- enzymatické zrážanie mlieka syridlom
- spracovanie syreniny – krájanie, miešanie, vytužovanie, úprava kyslosti vodou
- odpustenie srvátky, formovanie syreniny do foriem, odkvapkávanie, lisovanie
- otáčanie syra, vyberanie z foriem
- solenie syrov v soľnom kúpeli, alebo na sucho
- zretie syrov v pivniciach
- ošetrovanie povrchu, resp. ich balenie
- kontrola kvality, spotrebiteľské balenie syrov, expedícia

Prospešné mikroorganizmy v Mlieku

Baktérie mliečneho kysnutia

rod ***Bifidobacterium***

- bifidogénne kmene tvoria prirodzenú súčasť črevnej mikroflóry cicavcov (majú význam najmä u kojených novorodencov) a prostredníctvom vytvorených metabolitov sa výrazne podieľajú na potlačovaní nežiaducej mikroflóry v zažívacom trakte
- hlavné produkty kysnutia sú kyselina mliečna a octová (2:3), bifidobaktérie produkujú tiež tiamín, laktoflavín a ďalšie vitamíny zo skupiny B a K
- optimálna teplota rastu: anaeróbne prostredie; 37 – 43 °C; pH 6,5 – 7,0; prítomnosť dusíka a uhličitanov (v samotnom mlieku rastie veľmi zle)
- využitie: súčasť zákysových kultúr pri výrobe kyslo-mliečnych nápojov (*Bifidobacterium bifidum*)

rod ***Lactobacillus***

- zvyšuje dieteticko-liečebné účinky kyslo-mliečnych výrobkov, pretože produkuje antibiotické látky acidolín a laktocidín (*Lactobacillus acidophilus*), ktoré potlačujú nežiaducu mikroflóru v zažívacom trakte
- využitie: pri výrobe kyslo-mliečnych výrobkov – acidofilné mlieko, (*Lactobacillus acidophilus*), ako doplnková kultúra pri výrobe tvrdých

bochníkových syrov a dlho-zrejúcich syrov (*Lactobacillus casei*), sú súčasťou zmesných jogurtových kultúr a doplnkom kultúr pri výrobe syrov s vysoko-ohrievanou syreninou (*Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus helveticus*), súčasť zmesných kultúr pri výrobe kefíru a kefírového mlieka (*Lactobacillus kefir*)

rod ***Leuconostoc*** a ***Lactococcus***

- tvorí (najmä pri nižšom pH) okrem kyseliny mliečnej aj aromatické látky (biacetyl), organické kyseliny, oxid uhličitý a etanol
- využitie: sú podstatnou arómatvornou zložkou smotanových kultúr (*Leuconostoc mesenteroides cremoris* a *dextranicum*, *Lactococcus lactis* a *cremoris*)

rod ***Micrococcus*** a ***Pediococcus***

- využitie: je súčasťou mazovej syrárskej kultúry (*Micrococcus*), súčasťou mikrofóry kultúr pre výrobu kyslomliečnych výrobkov typu Biokys (*Pediococcus*)

rod ***Propionibacterium***

- za anaeróbných podmienok produkujú organické kyseliny, najmä propiónovú aj octovú a oxid uhličitý (vytvára dierky v syrovom ceste)
- využitie: doplnková kultúra pri výrobe syrov ementálskeho typu (*Propionibacterium freundenreichii*) alebo u nízko-ohrievaných syrov s tvorbou ôk

rod ***Streptococcus***

- najmä *Streptococcus thermophilus* uplatňujúci sa pri výrobe jogurtuov, *Streptococcus lactis* používaný ako súčasť kultúr pri výrobe kyslomliečnych výrobkov a niektorých druhov syra

Kvasinky

rody ***Saccharomyces***, ***Torulopsis***, ***Candida***, ***Kluyveromyces***

- využitie: ako doplnkové kultúry pri výrobe masla (obmedzujú oxidáciu, potlačujú rozvoj plesní) a niektorých syrov (lepšie prerastanie plesne, zlepšujú konzistenciu - roztierateľnosť), doplnková kultúra používaná pri

výrobe kyslomliečnych nápojov – kefír, kumys (skvasujú laktózu na oxid uhličitý a etanol – typická chuť a vôňa)

Plesne

rod *Penicillium*

- proteolytické schopnosti (rozklad mliečnych bielkovín až na aminokyseliny), lipolytická aktivita a tvorba špecifických aromatických látok ovplyvňujú chuť a vôňu syrov
- **vyžitie:** pri výrobe plesňových syrov – *Penicillium camemberti* (zrenie syrov od povrchu – napr. Hermelín), *Penicillium roqueforti* (syr roquefortského typu – napr. Niva)

Škodlivé mikroorganizmy v mliekárenstve:

Baktérie

rod *Clostridium*

- spôsobujú maslové kvasenie, tj. rozkladajú mliečny cukor na kyselinu maslovú, CO₂ a vodu, mlieko a mliečne výrobky majú nepríjemnú chuť a vôňu, pri zrení tvrdých syrov spôsobujú vydúvanie

rod *Bacillus*

- niektoré druhy rozkladajú aj bielkoviny a vyvolávajú hnilobný proces

Vláknité huby a kvasinky

- niektoré rody vláknitých húb (*Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus*,) a kvasinky (*Saccharomyces*, *Candida*, *Torulopsis amara*) spôsobujú chyby mliečnych výrobkov.

Kyslomliečne výrobky

Kyslomliečne výrobky, často označované ako fermentované výrobky, tvoria významnú skupinu mliečnych výrobkov. Majú nezastupiteľné miesto vo výžive ľudí, najmä detí a ľudí staršej generácie. Kyslomliečne výrobky sa najčastejšie vyrábajú z

kravského mlieka, ale môžu sa vyrábať aj z mlieka ovčieho, alebo kozieho. Pri výrobe kyslomliečnych výrobkov sa používajú špecifické mikroorganizmy, prevažne kyslomliečne baktérie. Kyslomliečne baktérie vyvolávajú v mlieku charakteristické biochemické zmeny, najmä premenu mliečneho cukru – laktózy na kyselinu mliečnu a tvorbu aromatických látok. Kyselina mliečna znižuje aktívnu kyslosť mlieka v dôsledku čoho dochádza k vyzrážaniu mliečnych bielkovín a vytvoreniu charakteristickej textúry kyslomliečnych výrobkov.

Charakteristickým znakom kyslomliečnych výrobkov, vrátane jogurtov je prítomnosť živých mikroorganizmov. V jednom grame kyslomliečného výrobku musí byť prítomných najmenej 1×10^7 živých mikroorganizmov, špecifických pre konkrétny druh výrobku.

Sortiment kyslomliečnych výrobkov je veľmi široký. Podľa použitej kultúry (označenie pre rôzne mikroorganizmy používané pri priemyselnej výrobe) sa rozlišujú tieto základné druhy:

- **jogurty** sú charakterizované jogurtovou kultúrou zloženou z baktérií *Lactobacillus delbrueckii* resp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*
Jogurty musia mať vyššiu sušinu ako mlieko preto sa pri výrobe jogurtov pridáva do mlieka sušené mlieko alebo iné mliečne bielkoviny, resp. sa používajú niektoré špeciálne technológie ako napríklad zahusťovanie mlieka.
- **jogurtové mlieko** je charakterizované jogurtovou kultúrou, vyrába sa z mlieka, zvýšenie sušiny sa nevyžaduje
- **acidofilné mlieko** obsahuje kultúru *Lactobacillus acidophilus* (táto kultúra je uznávaná ako probiotická kultúra)
- **kefír** je charakterizovaný kultúrou vyrobenou z kefírových zŕn, *Lactobacillus kefir* sp. rodu *Leuconostoc*, *Lactococcus* a *Acetobacter* rastúcich v špecifických podmienkach; kefírové zrná sú charakterizované kvasinkami fermentujúcimi laktózu (*Kluyveromyces marxianus*) a kvasinkami nefermentujúcimi laktózu (*Saccharomyces omnisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces exiguus*)
- **kefírové mlieko** obsahuje kefírovú kultúru ale má nižší počet živých mikroorganizmov ako kefír

- **zakysané (alebo kyslé) mlieka** sú charakterizované mnohými ďalšími špecifickými kyslomliečnymi baktériami, napríklad pri výrobe Zakysanky sa používa tzv. základná (smotanová) kultúra, ktorá je zložená z *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* resp. *dextranicum* a *Leuconostoc mesenteroides* resp. *cremoris*
- **zakvasené mlieka** sa vyrábajú s použitím kvasiniek *Streptococcus. lactis*, *S. cremoris*, *Leuconostoc cremoris* a *L. dextranicum*, pri ich výrobe môže vznikáť malé množstvo alkoholu

Dôležitú skupinu kyslomliečnych výrobkov tvoria **kyslomliečne výrobky** s probiotickými kultúrami. Probiotická kultúra je monokultúra alebo zmesná kultúra mikroorganizmov, ktoré priaznivo ovplyvňujú organizmus človeka a podporujú funkciu prirodzenej mikroflóry v organizme človeka. Medzi najrozšírenejšie probiotické kultúry patrí *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium species* a *Lactobacillus casei*. Ich priaznivé pôsobenie podporujú tzv. prebiotiká ako napríklad inulín alebo oligofruktóza.

Tvaroh

Tvaroh je mliečny výrobok, ktorý patrí do skupiny čerstvých (nezrejúcich) syrov. Napriek svojmu priaznivému zloženiu u nás nie je v domácnostiach dostatočne využívaný. Napr. 100 gramov mäkkého tvarohu má energiu 527 kJ (126 kcal) a priemerne obsahuje 18,75 g bielkovín, 0,35 g tuku, 0,44 g mliečneho cukru (laktózy), 60 mg vápnika, 0,65 mg železa a 0,369 g vitamínu B2.

Tvarohy sú charakterizované množstvom sušiny a množstvom tuku v sušine nasledovne:

- **tvoroh mäkký**, vyrábaný z odtučneného mlieka, sušina najmenej 23% hmotnostných
- **tvoroh jemný**, sušina najmenej 23% hmotnostných, tuk v sušine najmenej 8% hmotnostných
- **tvoroh tučný**, sušina najmenej 28% hmotnostných, tuk v sušine najmenej 38% hmotnostných
- ostatné tvarohy (vysokotučný, plnotučný, polotučný, nízkotučný, odtučnený)

Tvaroh sa vyrába z tepelne ošetreného kravského mlieka. Podstatou výroby tvarohu je zrážanie mlieka kyselinou mliečnou, ktorá vzniká z mliečneho cukru

(laktózy) pôsobením kultúr kyslomliečnych baktérií. Vzniknutá tvarohová zrazenina sa ďalej spracováva krájaním a prípadne ohrievaním, kým sa neoddelí srvátka. Tvarohová zrazenina sa plní do filtračných vriec, alebo sa vypúšťa do tvarohárskych vozíkov, kde sa lisuje na požadovanú sušinu. Podľa spôsobu spracovania tvarohoviny má tvaroh rôznu konzistenciu a teda aj rôzne použitie v domácnosti.

Preto na obale tvarohu musí byť uvedená informácia o konzistencii tvarohu, napríklad hrudkovitý alebo roztierateľný.

Nevyhnutnou technologickou operáciou pri výrobe tvarohu je jeho chladenie. Tvaroh obsahuje určité množstvo kyslomliečnych baktérií preto je potrebné tvaroh skladovať pri teplote do 8 °C.

Na predĺženie trvanlivosti tvarohu a tvarohových výrobkov sa používa termizácia. Termizácia výrobkov z mlieka ako sú dezerty, krémy, tvarohy a tvarohové výrobky, je ohrev týchto výrobkov po skončení ich štandardného výrobného procesu na teplotu najmenej 50 °C a najviac 75 °C v trvaní najmenej 20 sekúnd. Pri termizácii možno používať prídavné látky ako sú škroby, modifikované škroby a želatína.

Bryndza

Bryndza je výrobok vyrábaný zo syrov z ovčieho mlieka, alebo zo zmesi syrov z ovčieho a kravského mlieka, pričom podiel syra z ovčieho mlieka musí byť v sušine bryndze vyšší ako 50 hmotnostných percent. Základnou surovinou na výrobu bryndze je **ovčí syr** (ovčí hrudkový syr), alebo jeho skladovaná forma - **skladovaný ovčí syr** (sudový ovčí syr) vyrobený z ovčieho mlieka a hrudkový syr vyrobený z kravského mlieka.

Bryndza patrí do skupiny prírodných syrov. Výroba bryndze má na území Slovenskej republiky dlhoročnú tradíciu. Jej výroba prešla dlhoročným vývojom od salašnickeho spôsobu až po moderné spracovanie v bryndziarniach a mliekarniach.

Výroba bryndze:

Výroba hrudkového syra si vyžaduje dodržanie správneho technologického výrobného postupu, ktorý zahŕňa nasledovné procesy:

- príprava mlieka na syrenie
- syrenie mlieka
- spracovanie syreniny
- formovanie hrudky

Zloženie ovčieho mlieka sa v priebehu laktácie výrazne mení, pričom tieto zmeny ovplyvňujú syriteľnosť mlieka, a tým aj kvalitu vyrobeného syra. Z hľadiska syriteľnosti na kvalitu syra má najväčší vplyv obsah bielkovín v mlieku, jeho kyslosť a obsah vápenatých solí. Veľmi dôležitým faktorom je i **teplota mlieka**. V období chladnejšieho počasia, mlieko vychladne pod optimálnu teplotu syrenia (30 – 32° C). Ak klesne teplota mlieka pod 25° C zhoršuje sa syrenie (čas zrážania) až o 46 %. Preto treba teplotu mlieka upraviť.

Potom sa sladké ovčie mlieko vyvráža (pridá sa syridlo), čím vznikne hrudkový ovčí syr. Zrážanie mlieka nesmie byť v žiadnom prípade kratšie ako 30 minút. Skrátenie času zrážania (v dôsledku zvýšeného prídavku syridla) má na kvalitu syra nepriaznivý vplyv, pretože sa dosahuje príliš tuhá konzistencia syra a syr má horkastú chuť. Ten sa v bryndziarni, krája, mieša, suší, formuje a umýva vodou potom sa nechá vyzrieť pri 20°C v syrárskych vaniach. Neskôr sa zo syra odstráni kôra, vytlačí sa z neho prebytočná tekutina (srvátka) a rozdrví sa. Drvenina sa posolí a rozotrie na valcoch, čím vznikne bryndza.

Bryndzu, vrátane ovčej bryndze je možné za účelom predĺženia trvanlivosti a zvýšenia zdravotnej bezpečnosti tepelne ošetriť niektorým zo spôsobov tepelného ošetrenia, napríklad termizáciou. Výrobca túto skutočnosť musí uviesť na obale slovom “termizovaná”.

Druhy bryndze:

- **ovčia bryndza** – vyrobená len z ovčieho hrudkového syra
- **letná bryndza** – vyrobená zo zmesi ovčieho hrudkového syra a kravského hrudkového syra
- **zimná bryndza** – vyrobená zo zmesi skladovaného ovčieho syra a kravského hrudkového syra

Cvičenie č. 4 – Mlieko, pasterizácia mlieka

Úlohy:

Reakcie na dôkaz pasterizácie mlieka

Princíp:

Princíp enzýmových skúšok spočíva vo vlastnosti peroxidázy, ktorá prenáša kyslík z peroxidov na organické látky (napr. fenoly), ktoré sa pritom zafarbia. Pretože peroxidáza sa ničí zahriatím mlieka na teplotu >80 °C, farebné reakcie v pasterizovanom mlieku neprebiehajú. Bolo pozorované, že peroxidáza je inaktivovaná pri:

t = 70 °C za 2,5 hod.

t = 74 °C za 6 min.

t = 75 °C za 2,5 min.

t = 76 °C za 1,5 min.

t = 77 °C za 0,5 min.

t = 78 °C za 14 sek.

t = 79 °C za 6 sek.

t = 80 °C za 2,5 sek.

Pri zahriatí mlieka na vyššiu teplotu sú inaktivované aj iné enzýmy ako: amyláza, aldehydoreduktáza, fosfatáza a dehydrogenáza.

1.) Skúšky amylázové:

Chemikálie, pomôcky:

1 % škrobový maz, Lugolov roztok, termostat, pasterizované a nepasterizované kravské mlieko

Postup:

Skúška Weinsteinova:

Príprava mazu: 50 cm³ vriacej vody prevaríme s 1 g škrobu 10 minút, pridáme 15 cm³ glycerínu, znova 10 minút varíme, ďalej pridáme 0,6 g chloridu sodného, 0,5 cm³ 0,25 M NaOH, za tepla pridáme 25 cm³ 96 % etanolu po čiastkach a doplníme vodou na objem 100 cm³.

Do 5 skúmaviek napipetujeme po 5 cm³ pasterizovaného mlieka a pridáme 1 % roztok škrobového mazu postupne v množstvách 0,1, 0,2, 0,4, 0,6 a 0,8 cm³. Tým istým postupom si pripravíme škálu s nepasterizovaným kravským mliekom.

Skúmavky necháme stáť v termostate 2 hodiny pri 37 °C, potom ich ochladíme a do každej z nich pridáme 0,1 cm³ Lugolovho roztoku. Po 1 minúte posúdime sfarbenie.

2.) Skúšky dehydrogenázové:

Princíp:

Dehydrogenáza mlieka - xantíndehydrogenáza katalyzuje oxidáciu xantínu na kyselinu močovú. Je dosť stála voči teplote. Účinnejšia je okolo 70 °C v prípade, že v prostredí vystupuje formaldehyd ako donor vodíka a metylénová modrá ako akceptor. Obidve tieto látky pridané do mlieka sa menia, a to formaldehyd sa oxiduje na kyselinu mravčiu a metylénová modrá sa redukuje na leukoformu.

Chemikálie, pomôcky:

0,4 % formaldehyd, 0,01 % metylénová modrá, kravské mlieko, vodný kúpeľ, teplomer

Postup:

Do jednej skúmavky napipetujeme 5 cm³ pasterizovaného mlieka a do druhej rovnaký objem mlieka nepasterizovaného. Do oboch potom pridáme 8-10 kvapiek formaldehydu a 1-2 kvapky metylénovej modrej, premiešame a vložíme do 70 °C teplého kúpeľa. Po čase badať odfarbovanie metylénovej modrej v skúmavke s nepasterizovaným mliekom, kým v druhej nie. Po odfarbení skúmavku dobre pretrepeme a modré sfarbenie sa obnoví následkom oxidácie leukoformy vzdušným kyslíkom. Po vložení do vodného kúpeľa opäť stráca farbu. Proces môžeme niekoľkokrát opakovať.

3.) Skúšky peroxidázové:

Chemikálie, pomôcky:

mazové činidlo (3 g škrobu + 3 g KI do 100ml destilovanej vody), 2 % H₂O₂,

1 % H_2O_2 , 2 % etanol, roztok p-fenylendiamínu, pasterizované a nepasterizované kravské mlieko

Postup:

Skúška Köhlerova:

K 3 cm^3 pasterizovaného mlieka pridáme 5 kvapiek mazového činidla a po pretrepaní kvapku 2 % H_2O_2 . Ten istý postup zopakujeme s nepasterizovaným mliekom. Vzniká modrý prúžok, ktorý sa zmení po zatrepaní na zmodrenie celého objemu mlieka, ak sa nejedná o mlieko pasterizované.

Skúška Storchova:

K 10 cm^3 nepasterizovaného mlieka pridáme pár kvapiek silne zriedeného H_2O_2 (0,2 – 1 %) a niekoľko kvapiek 2 % alkoholického roztoku para-fenylendiamínu. Ten istý postup zopakujeme s pasterizovaným mliekom. Mlieko, ktoré nebolo zahrievané sa sfarbí po zatrepaní za niekoľko minút na modro až indigovo, ostatné mlieko sa sfarbí na šedo alebo sa vôbec nesfarbí.

Cvičenie č. 5 – Analýza mlieka mliečne kvasenie

Úlohy:

1.) Titračné stanovenie vápnika v mlieku

Princíp:

Vápnik v mlieku má veľký význam z hľadiska výživy, ale aj z hľadiska technologického (syrárstva), pretože podporuje schopnosť mlieka vytvárať pôsobením syridla pevnú zrazeninu. Jeho obsah v kravskom mlieku sa pohybuje v priemere okolo 0,12 % (ako Ca).

Princíp stanovenia je v titrácii vápnika v zneutralizovanom mlieku komplexonom III za použitia vhodného indikátora. Obsah vápnika sa vyjadruje v mg na 100 g mlieka.

Chemikálie, pomôcky:

4 M roztok NaOH; odmerná banka 250 cm³, 2 titračné banky, byreta 25 cm³, mlieko, 0,01 M roztok komplexonu III (dvojsodná soľ kyseliny etyléndiaminotetraoctovej); zmesný indikátor, ktorý sa pripraví buď zmiešaním 0,95 g fluórexonu s 0,05 g fenolftaleínu a 100 g chloridu sodného a dokonale sa rozotrie v tretej miske, resp. zmiešame 1 g murexidu so 100 g chloridu sodného a rozotrieme v tretej miske.

Postup:

V 250 cm³ odmernej banke doplníme 10 g mlieka po značku destilovanou vodou a premiešame. 50 cm³ z takto zriedeného mlieka odpipetujeme do titračnej banky, doplníme na objem 100 cm³ destilovanou vodou, pridáme 5 cm³ 4 M NaOH a asi 2 g zmesného indikátora. Rýchlo titrujeme 0,01 M roztokom komplexonu III zo slabo zelenej farby do svetloružového zafarbenia pri použití indikátora s fluórexonom, resp. z ružovofialového do fialovomodrého zafarbenia pri použití indikátora s murexidom. Súčasne robíme aj slepý pokus s destilovanou vodou. Obsah vápnika v mg v 100 g mlieka vypočítame podľa vzorca:

$$x = \frac{0,40 \cdot 100(b - c)}{a}$$

kde x = obsah vápnika v mg v 100 g mlieka

b = spotreba 0,01 M komplexonu III v cm^3 na titráciu mlieka

c = spotreba 0,01 M komplexonu III v cm^3 na titráciu slepého pokusu

a = navážka mlieka v g

(1 cm^3 0,01M komplexonu III = 0,40 mg Ca).

2.) Stanovenie stupňa kyslosti ($^{\circ}\text{SH}$) mlieka

Princíp:

Titračná kyslosť sa udáva počtom cm^3 roztoku hydroxidu sodného s koncentráciou $c(\text{NaOH}) = 0,25 \text{ mol.l}^{-1}$, ktorý sa spotrebuje pri titrácii 100 cm^3 mlieka. Tento spôsob vyjadrujú v mliekárenstve používané stupne Soxhlet-Henkela ($^{\circ}\text{SH}$), ktoré sa v zahraničí aj doteraz používajú.

Pomôcky, chemikálie:

2 % etanolvý roztok fenolftaleínu, 0,25 M roztok NaOH, byreta 25 cm^3 , odmerný valec, pipeta, titračná banka

Postup:

Do titračnej banky odmeriame 50 cm^3 mlieka, pridáme 2 cm^3 fenolftaleínu a za stáleho miešania titrujeme 0,25 M NaOH dovtedy, kým sa biela farba nezmení na svetloružovú, ktorá sa nezmení počas jednej minúty.

Výpočet:

Kyslosť mlieka ($^{\circ}\text{SH}$) sa vypočíta vynásobením počtu cm^3 spotrebovaného 0,25 M NaOH dvomi ($^{\circ}\text{SH}$ sú pre 100 cm^3 mlieka). V prípade, že sa na titráciu použije iné množstvo mlieka ako 50 cm^3 , spotreba hydroxidu sodného sa vždy musí prepočítat' na 100 cm^3 alebo na 1 g.

3.) Príprava kefíru

Princíp:

Kefír sa vyrába z prevareného kravského mlieka pridaním kefírových zŕn. Pri teplote 12 až 15 $^{\circ}\text{C}$ sa mlieko nechá stáť 24 hodín s kefírovými zrnami, pričom dochádza k alkoholovému kvaseniu - tvorbe etanolu a CO_2 . Pri zvýšenej kultivačnej

teplote na 20 °C, dochádza k rozvoju baktérií mliečného kvasenia a k úbytku kvasiniek, čo má za následok väčšiu tvorbu kyseliny mliečnej a obmedzenie alkoholického kvasenia.

Materiál, pomôcky:

kefírové zrná (aktivované), kravské mlieko, teplomer

Postup:

Kefírové zrná premyjeme prevarenou studenou vodou a potom prelejeme prevareným, na 20 °C vytemperovaným mliekom. Po vypĺvaní zrn na povrch mlieka ich scedíme a použijeme ako kefírový zákys. Prevarené kravské mlieko ochladíme na 15 – 20 °C a pridáme aktivované kefírové zrná. Tie necháme v mlieku pôsobiť 24 hodín. Pritom mlieko občas premiešame. Po zrazení sa mlieko precedí do fliaš, ktoré sa uzavru a nechajú pri teplote 12 – 15 °C kvasiť. Kefír sa nechá stáť 1 - 4 dni podľa toho, koľko alkoholu má obsahovať.

Cvičenie č. 6 – Príprava kyslomliečnych výrobkov a syra.

Úlohy:

1.) Príprava tvarohu

Princíp:

Tvaroh je kyslomliečny výrobok, ktorý sa vyrába z mlieka jeho zrážaním kyselinou mliečnou. Kyslomliečne výrobky obsahujú probiotiká, zdraviu prospešné baktérie. Probiotiká sú baktérie mliečneho kvasenia zastúpené najmä rodmi *Bifidobakterium* a *Lactobacilus*, resp. niektorými druhmi *Streptococcus*. Osídľujú črevný trakt a pomáhajú ku správne fungovaniu nielen čreva, ale podporujú aj imunitu organizmu.

Materiál, pomôcky:

kravské mlieko, teplomer, gáza

Postup:

Odstredené mlieko necháme skysnúť pri izbovej teplote (1 až 2 dni), dostaneme tzv. kyšku. Kyšku zahrievame za stáleho miešania pri teplote 28 až 32 °C. Tvaroh vystúpi na povrch srvátky za pol až 1 hodinu. Keď sa tvaroh silne prihreje, zrazí sa, stráca na mazľavosti a je suchý. Tvaroh so srvátkou prelejeme cez gázu, čím oddelíme srvátku. Tvaroh necháme lisovať a sušiť.

2.) Príprava jogurtov

Princíp:

Jogurt sa pripravuje naočkovaním zmesných jogurtových kultúr do kvalitného mlieka a potom prebieha fermentácia v temperovaných komorách.

Materiál, pomôcky:

mlieko, biely jogurt, sladené zahustené mlieko Salko, sezónne ovocie (umyté, suché), zaváracie poháre s uzáverom, termostat

Postup:

Vo väčšej nádobe prevaríme 1 l mlieka. Ochladíme ho na 30 °C, primiešame 1 Salko a 1 biely jogurt. Na spodok zaváracích pohárov vložíme suché ovocie resp. džem a zalejeme pripraveným jogurtom. Poháre uzatvoríme a necháme stáť v termostate 6 hodín pri $t = 42 - 45$ °C. Prikryté ich necháme vychladnúť a vložíme do chladničky.

3.) Príprava syrov

Princíp:

Syr je mliečny výrobok, ktorý obsahuje mliečnu bielkovinu, tuky a ostatné zložky mlieka. Syr sa vyrába zrážaním mlieka pomocou syridla (výroba sladkých syrov).

Materiál, pomôcky:

mlieko, syridlo, teplomer, gáza

Postup:

V nádobe zohrejeme mlieko na potrebnú teplotu - ak chceme pripraviť syry tvrdšie, na teplotu 28 – 35 °C, ak mäkšie, tak na teplotu 20 – 25 °C. Potom do mlieka pridáme syridlo (na liter približne 1 kávovú lyžičku). Premiešame a necháme syriť, opäť podľa druhu syrov - tvrdšie 15 - 60 minút, mäkšie 30 - 120 minút.

Pripravený syr prelejeme cez gázu, oddelíme srvátku a necháme voľne sušiť.

5. KONZERVÁCIA POTRAVÍN

Konzervovanie je úprava potravín, ktorá umožňuje predĺžiť ich prirodzenú skladovateľnosť.

Konzervačný účinok sa dá dosiahnuť buď **usmrcovaním mikroorganizmov**, alebo takou **úpravou prostredia**, pri ktorej mikroorganizmy nemajú vhodné podmienky pre látkovú výmenu a rozmnožovanie.

Súčasne je potrebné **inaktivovať enzýmy** a zabezpečiť pre potravinu **aseptický obal** a **vhodné mikroklimatické podmienky skladovania**.

V súčasnosti sa používajú tieto hlavné spôsoby konzervovania potravín:

1. **Fyzikálne** – **konzervácia teplom** – pasterizácia, sterilizácia, varenie, pečenie, sušenie
 - **konzervácia chladom** – chladenie a mrazenie
 - **konzervácia UV žiarením, ultrazvukom, filtráciou a vákuovým balením**
2. **Chemické** – **konzervácia chemickými prostriedkami** – organické kyseliny, soli, dusitany, dusičnany, CO₂, SO₂, alkohol, cukor, údenie ...
3. **Biologické** – **fermentovaním** - mliečne a alkoholové kvasenie, lyzozýmom a konzervovanie antibiotikami (dnes už zakázané)

Fyzikálne metódy konzervácie:

Konzervovanie teplom

Teplom sa usmrčujú mikroorganizmy a zároveň zastavuje činnosť enzýmov v potravinách (**pasterizácia, sterilizácia**). Sterilizovaná potravina má dlhšiu trvanlivosť ale znižuje sa jej výživová hodnota (vitamíny) a dochádza aj k sensorickým zmenám (farba, konzistencia).

Konzervácia tzv. suchým teplom znamená **sušenie**, ide o vysoké teplo bez prístupu vzduchu. Odparením vody zabránime baktériám a plesniam znehodnocovať potraviny.

Výhody sušenia: malý objem nasušených potravín, ktoré sa v takomto stave dajú ľahšie skladovať. Vo vysušenom stave sú plody sladšie, majú koncentrovanejšiu chuť a koreniny sú aromatickejšie než čerstvé.

Nevýhody sušenia: dochádza k veľkej strate vitamínov a enzýmov pričom najväčšie sú straty vitamínu A a C (50 - 90%).

Konzervácia vlhkým teplom znamená **konzerváciu v plechovkách** pod vysokým tlakom.

Sterilizácia

Tento spôsob konzervovania je založený na pôsobení zvýšenej teploty, ktoré má zabezpečiť inaktiváciu mikroorganizmov v určitom časovom intervale. Kvasinky, plesne a vegetatívne formy baktérií odumierajú už pri teplote 65°C až 80 °C, bakteriálne endospóry sú však tepelne veľmi stabilné, na ich zničenie tieto teploty nepostačujú. Proces sterilizácie je závislý nielen od druhu prítomných mikroorganizmov, ale aj od ich množstva.

Konzervovanie chladom

K zastaveniu rozmnožovania a rastu mikroorganizmov v potravinách účinkom zníženej teploty dochádza v prípade poklesu teploty na hodnoty -5 až -10 °C, pri plesniach je to až -12 °C. Enzymový systém sa výraznejšie spomaľuje pri teplotách – - 18 až -30 °C.

Chladienie – prevádza sa chladeným vzduchom, vodou alebo ľadom, teploty sa pohybujú okolo 0 °C (mäso, hydina, vajcia, ryby...)

Mrazenie – -18 až - 22 °C je optimálna teplota skladovania v mrazničke

Zmrazenie potraviny má byť čo najúčinnejšie aby sa vytvorili iba malé kryštáliky ľadu v potravine. Optimálna teplota zmrazovania je -30 °C. Z výživového hľadiska je

to najvhodnejší spôsob konzervovania, lebo sa neznižuje výživová hodnota a nedochádza k senzorickým zmenám.

Pomalé zmrazovanie – teploty okolo -10°C , stačí to k potlačeniu rastu mikroorganizmov, má to nevýhodu v tom, že v potravinách obsahujúcich dosť vody sa tvoria veľké kryštály ľadu, ktoré porušujú ich štruktúru.

Rýchle zmrazovanie – pri ňom sa potraviny zmrazia so hĺbky – 0,3 cm za 1 minútu pri -20 až -40°C . Po rozmrazení bývajú potraviny súdržnejšie.

Kryohydratický bod – t.j. bod pri ktorom zamrzne všetka voda v potravine (okolo -60°C).

Ultracentrifugácia

je spôsob konzervácie čírych ovocných štiav a podobných výrobkov, pri ktorom je materiál filtrovaný cez membránu nepriepustnú pre mikroorganizmy.

Baktofugácia

To je metóda používaná k odstráneniu bakteriálnych spór v mlieku odstredením, spolu s ďalšími postupmi najmä pasterizáciou.

Konzervovanie úpravou prostredia

Vytvára sa prostredie, ktoré nie je vhodné pre život a rozmnožovanie mikroorganizmov a zároveň sa spomaľuje činnosť ich enzýmov napr. :

- znižovanie obsahu vody, robí sa to zahusťovaním (sušením, údením)
- pridanie konzervačných látok (prírodné – soľ, cukor, chemické konzervanty...)
- zvyšovanie kyslosti (veľmi kyslé prostredie je nevhodné pre mikroorganizmy)

Chemická konzervácia

Chemické konzervanty sú látky, ktoré sa pridávajú do potravín z dôvodu zvýšenia ich trvanlivosti. Používajú sa najmä pre svoje antimikrobiálne účinky (zabraňujú znehodnoteniu potravín baktériami, kvasinkami, plesňami, mikroskopickými hubami). Účinok konzervačných látok sa vysvetľuje pôsobením na

membrány mikroorganizmov, prípadne blokovaním enzýmových systémov a tým brzdením alebo zastavením rastu buniek.

Najčastejšie používané konzervačné látky sú – kyselina sorbová, kyselina octová, kyselina benzoová, kyselina citrónová, chlorid sodný, dusitany, dusičnany, cukry atď...

Kyselina benzoová a jej soli (benzoan sodný, draselný, vápenatý) sú mierne toxické (LD50 ≈ 0,5 g/kg) a používajú sa ako konzervačné prísady (E210, E211, E212, E213). Konzervačný účinok spočíva v schopnosti kyseliny benzoovej inhibovať rast kvasiniek, baktérií a obzvlášť plesní. Kyselina benzoová sa používa na konzerváciu potravín kyslého charakteru (citrusové šťavy, sýtené nápoje).

Kyselina sorbová (E200) je konzervačná látka, ktorá je ľahko stráviteľná a preto sa využíva v potravinárstve, rovnako ako aj jej soli (sorban sodný - E201, sorban draselný - E202 a sorban vápenatý - E203). Používa sa na konzerváciu marmelád, džemov, vína, sušeného ovocia, atď.

Kyselina octová (E260) sa používa ako ochucovadlo a ochrana potravín pred baktériami, hubami a plesňami. Pridáva sa do majonézy a výrobkov z nej ako ochrana pred baktériami salmonelózy. V bežných koncentráciách nie je nebezpečná. Vo vysokých koncentráciách môže spôsobiť tvorbu vredov, krvácanie a poškodiť sliznice.

Dusitan a dusičnan sodný (E250, E251), príp. aj dusičnan draselný (E252) sa používajú v technológii mäsovej výroby (pridávajú sa do soliacich zmesí), z nich vzniknutý oxid dusnatý dodáva mäsu stálu červenú farbu, ktorá sa udrží aj pri tepelnom spracovaní. Okrem toho majú tieto látky výrazne baktériocídne (baktérie usmrcujúce) vlastnosti, okrem iných ničia aj *Clostridium botulinum* a tak zabraňujú otrave botulinotoxínom .

Oxid uhličitý (E290) je plyn, ktorý sa používa pri výrobe perlivých nápojov a kysnutého pečiva. Používa sa tiež ako látka zabraňujúca vzniku plesní a baktérií, ako rozpúšťadlo pri výrobe kávy a čaju bez kofeínu. V pevnom skupenstve sa používa pri uskladňovaní potravín pri nízkych teplotách.

Oxid siričitý (E 220) je jednou z najstarších konzervačných látok, ktorá pôsobí proti baktériám, menej však proti kvasinkám a plesniam. Pridáva sa ako konzervant k jahodám, malinám a ďalšiemu ovociu, určenému pre výrobu džemov a marmelád. Vodný roztok oxidu siřičitého sa pridáva do šťavy z hrozna pri výrobe

vína, kde zabraňuje rastu nežiaducich plesní, baktérií a kvasiniek. Ďalej sa pridáva do nealkoholických ovocných nápojov, džúsov, sušeného ovocia, zaváranín, čerstvých kreviet, kyslej nakladanej zeleniny a výrobkov zo zemiakov. Sírené sušené ovocie je nutné pred konzumáciou dôkladne opláchnuť.

Kyselina mliečna (E 270) konzervačná látka, okysľujúci prostriedok a antioxidant. Používa sa pri výrobe nealkoholických nápojov, piva, cukroviniek a dresingov. Prírodzene konzervuje kyslú kapustu, uhorky, jogurty a smotanu.

Príklady bežne používaných konzervačných látok v EÚ:

Označenie E	látka/trieda	niektoré potraviny, do ktorých sa používajú
E 200-203	Kyselina sorbová a sorbáty	syry, vína, sušené ovocie, ovocné šťavy, polevy
E 210-213	Kyselina benzoová a benzoáty	nakladaná zelenina, džemy a rôsoly s nízkym obsahom cukru, kandizované ovocie, ovocné konzervy, omáčky
E 220-228	Oxid siřičitý a siričitany	sušené ovocie, ovocné konzervy, výrobky zo zemiakov, víno
E 235	Natamycín	ošetrenie povrchu syrov
E 249-252	Dusitany a dusičnany	párky, slanina, šunka, salámy, syry

Cvičenie č. 7 – Oxid siričitý ako konzervačný prostriedok

Úlohy:

1.) Kvalitatívny dôkaz SO₂ redukciou v sušenom ovocí

Princíp:

Konzervovanie je úprava potravín, ktorá umožňuje maximálne predĺžiť ich skladovateľnosť, za súčasného zachovania čo najväčšieho podielu živín a má čo najmenej zmeniť ich pôvodné fyzikálno-mechanické aj senzorické vlastnosti.

Materiál a chemikálie:

skúmavky so zátkami, stojan na skúmavky, nôž, odmerný valec 50 cm³, malá liekovka 10 cm³, gumená zátka s 2 injekčnými ihlami, ihly 1,5x150, plastická striekačka 5 cm³, plastická striekačka 10 cm³, podložka na krájanie, parafilm, práškový zinok, destilovaná voda, papier impregnovaný octanom olovnatým Pb(CH₃COO)₂, kyselina chlorovodíková HCl (c = 5 mol.dm⁻³), siričitan sodný Na₂SO₃, sušené ovocie: jablká, hrušky, slivky, marhule, hrozienka, brusnice, ananás ...

Postup:

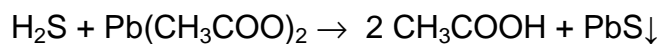
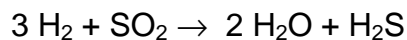
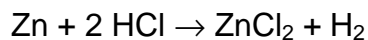
5 g nakrájaného sušeného ovocia dáme do 50 cm³ odmerného valca, pridáme 30 cm³ vody, uzatvoríme parafilmom a 2 minúty intenzívne pretrepávame. Vznikne zakalený roztok, ktorý oddekantujeme. Z roztoku odmeriame do malej skúmavky 5 cm³, pridáme na hrot špachtle práškový zinok a 0,5 cm³ HCl. Dobre pretrepeme. Do skúmavky potom zasunieme papierik navlhčený v Pb(CH₃COO)₂ a rýchlo zazátkujeme.

Slepá skúška:

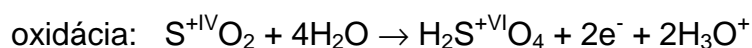
Do liekovky dáme na hrot špachtle Na₂SO₃ a injekčnou striekačkou pridáme 3 cm³ roztoku HCl (c = 5 mol.dm⁻³). Súčasne väčšou injekčnou striekačkou odsávame SO₂, ktorý sa vyvíja a zavedieme ho do skúmavky s 10 cm³ vody. K vodnému roztoku SO₂ pridáme na hrot špachtle práškový zinok a 1 cm³ HCl. Papierik navlhčený v Pb(CH₃COO)₂ zasunieme do liekovky. Liekovku uzatvoríme gumenou zátkou.

Rovnice reakcií:

Dôkazové reakcie:



Konzervačný účinok SO₂:



redukcia: všetky mikroorganizmy

2.) Kvalitatívny dôkaz SO₂ v sušenom ovocí pomocou jódškrobového mazu

Pomôcky a chemikálie:

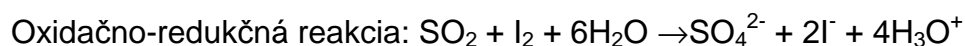
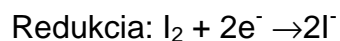
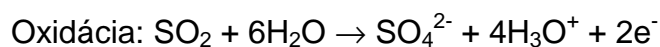
odmerný valec 10 cm³, skúmavky so zátkami, stojan na skúmavky, pipeta 1 cm³, stopky, roztok škrobu (w = 1%), roztok jódu (c = 0,01 mol.dm⁻³), destilovaná voda

Postup:

Do skúmavky odpipetujeme 5 cm³ roztoku zo sušeného ovocia, pridáme 2 cm³ roztoku škrobu a pretrepeme. Potom pridáme 0,5 cm³ roztoku jódu. Zmiešame a zmes sa zafarbí na modro. Roztok pretrepávame a sledujeme jeho postupné odfarbovanie. Čas potrebný na odfarbenie zapíšeme do protokolu.

Rovnice reakcií:

Dôkazové reakcie:



3.) Kvantitatívny dôkaz SO₂ v sušenom ovocí

Pomôcky a chemikálie:

analytické váhy, skladané filtre, lievnik, Erlenmayerova banka 50 cm³, byreta 25 cm³, pipeta, odmerný valec 50 cm³, nožnice, parafilm, nôž, doska na krájanie roztok škrobu (w = 1%), roztok jódu (c = 0,002 mol.dm⁻³), destilovaná voda

Postup:

Sušené ovocie rozrežeme nožom na veľmi malé kúsky a odvážime presné množstvo na analytických váhach. Výsledok (napr. marhúľ) zapíšeme.

Výsledok: m_E = g (napr. 5,042 g).

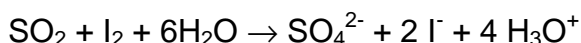
Potom ovocie dáme do 50 cm³ odmerného valca, pridáme 30 cm³ destilovanej vody a 3 minúty dobre pretrepávame a potom presne odčítame objem.

Výsledok: V_V = cm³ (zistený: 40 cm³).

Roztok nakoniec prefiltrujeme cez skladaný filter do Erlenmayerovej banky. 10 cm³ filtrátu (V_C = 10 cm³) preniesieme pipetou do kadičky a pridáme 0,5 cm³ roztoku škrobu. Počas neustáleho miešania prikvapávame do roztoku z byrety roztok jódu, kým nevznikne zreteľne modré sfarbenie (asi za 30 sek.). Potom odčítame presný objem jódu.

Výsledok: V = cm³ (zistený objem použitého jódu: 1,2 cm³).

Rovnice:



Výpočty:

Použité látkové množstvo jódu:

$$n(\text{I}_2) = \dots \text{ mol} \quad (C \cdot V = 0,002 \text{ mol.dm}^{-3} \cdot 0,0012 \text{ dm}^3 = 2,4 \cdot 10^{-6} \text{ mol})$$

Mólový pomer látok:

$$n(\text{I}_2) : n(\text{SO}_2) = \dots \quad [n(\text{I}_2) : n(\text{SO}_2) = 1 : 1]$$

Hmotnosť oxidu siričitého:

$$m(\text{SO}_2) = \dots \quad n(\text{SO}_2) \cdot M(\text{SO}_2) = 2,4 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot 64 \text{ g.mol}^{-1} = 0,153 \cdot 10^{-3} \text{ g v } 10 \text{ cm}^3$$

Korekčný faktor: východiskový objem/objem filtrátu (k = V_V/V_C)

$$k = \dots \quad 40 \text{ cm}^3 / 10 \text{ cm}^3 = 4$$

Celková hmotnosť oxidu siričitého:

$$m_c(\text{SO}_2) = k \cdot m(\text{SO}_2) = \dots \quad 4 \cdot 0,153 \cdot 10^{-3} \text{ g} = 0,614 \text{ mg v } 40 \text{ cm}^3$$

Prepočet na hmotnosť ovocia (na 1 g):

$$w = m_c / m_E(\text{SO}_2) = \dots \text{ ppm } (\mu\text{g/g}) \quad (614 / 5,042 \text{ g} = 121,4 \text{ ppm})$$

6. BIOLOGICKÉ OXIDÁCIE

Bunka získava energiu predovšetkým oxidačnými reakciami. Počas oxidácie sa tvoria jednoduché produkty, až po vznik CO_2 a H_2O .

Oxidačné procesy v organizme zabezpečujú špecifické oxidačno–redukčné enzýmy. Základná oxidácia v živočíšnych bunkách je dehydrogenácia. Ide o odobratie dvoch atómov vodíka zo substrátu, tie sa prenášajú na koenzýmy dehydrogenázy (NAD, FAD), ktoré sa redukujú. Vodíky sa potom v mitochondriách transportujú až na kyslík za vzniku vody. Uvoľnená energia sa využije na tvorbu ATP.

Oxidoreduktázy sú enzýmy katalyzujúce oxidačné procesy. Obsahujú okrem bielkovinovej časti aj nebielkovinovú zložku koenzým, podľa ktorého sa delia do troch skupín:

- 1) oxidoreduktázy s nikotínamidovými koenzýmami (NAD a NADP)
- 2) oxidoreduktázy s flavínovými koenzýmami (FAD a FMN) – obe prenášajú atómy vodíka zo substrátov na koenzýmy
- 3) cytochrómy - obsahujú nebielkovinovú zložku hém, sú schopné prenášať elektróny, pričom Fe^{3+} sa redukuje na Fe^{2+}

Cytochróm c

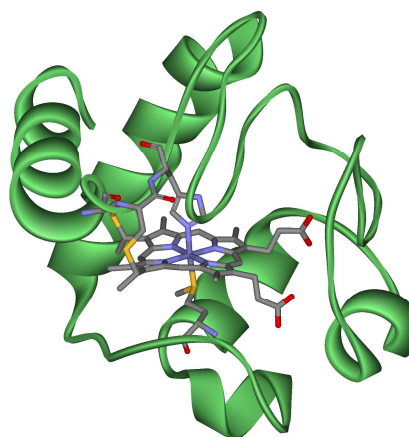
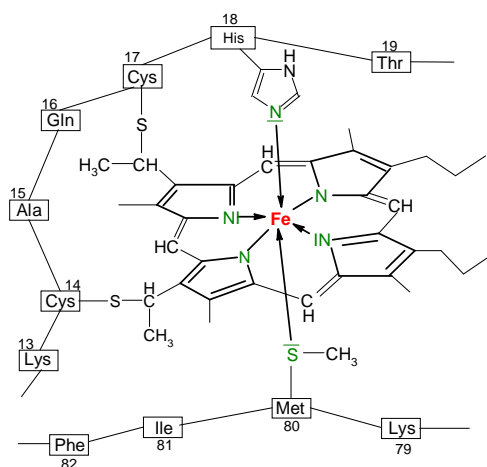
Cytochróm c (cyt c) je malý hémový proteín, ktorý sa nachádza na vnútornej membráne mitochondrií. Na rozdiel od iných cytochrómov je cyt c vysoko rozpustný proteín (rozpustnosť asi 100g/l) a je nevyhnutnou súčasťou elektrónového transportu v dýchacom reťazci, kde prenáša jeden elektrón. Je schopný sa oxidovať aj redukovať, ale neviaže kyslík.

Ako všetky proteíny i cytochrómy sú zložené z aminokyselín (AMK). Primárna štruktúra pozostáva z reťazca cca 100 AMK. Najhlbšie preštudovaná priestorová štruktúra mitochondriálneho cyt c bola izolovaná z konského srdcového tkaniva, ktorá sa skladá z 104 AMK. Vytvára globulárny systém zložený z piatich α závitníc,

ktorý vo svojej vnútornej dutine uzatvára cez tioéterovú väzbu protoporfyrín IX s naviazaným železom. Hém tak vytvára tzv. hémovú štrbinu - kavitu.

Sú známe aj viac-hémové cytochrómy izolované hlavne z prokaryotických organizmov (mitochondriálne cyt c obsahujú len jednu hémovú skupinu). Železo v porfyrínovom kruhu je viazané prostredníctvom dusíkov, čím sa vytvára rovina hému. Ďalej z priestorovo voľných strán kolmo na rovinu z jednej strany je železo viazané s dusíkom z histidínu (His) s poradovým číslom 18 a z druhej strany so sírou patriacou metionínu (Met) s poradovým číslom 80 v polypeptidickej reťazci. Týmto spôsobom je proteín rozdelený hémovou skupinou zhruba na dve polovice. Aminokyselinový zvyšok His-18 je na železnatý ión tak silne viazaný, že denaturáciou proteínu nedochádza k zrušeniu tejto väzby. Naproti tomu väzba Met-80 s iónom je výrazne slabšia, hlavne v oxidovanej forme cyt c a malými poruchami dochádza k jej zrušeniu. Molekula cyt c bola študovaná z pohľadu evolučnej biológie, kde sa zistilo, že invariantné podoby AMK v peptidickej reťazci musia obsahovať Cys-14, Cys-17, His-18, Met-80 a i. Ľudský cytochróm je homologický s cytochrómom šimpanzov, zatiaľ čo ostatné druhy opíc sa líšia jedným druhom AMK v jeho peptidickej reťazci.

Cytochrómy majú funkciu oxidačno-redukčných enzýmov s rôznou vnútrobunkovou lokalizáciou. Katalyzujú redoxné reakcie biochemických procesov ako je dýchanie či fotosyntéza. Objavených bolo vyše 50 rôznych typov cytochrómov. Vyskytujú sa v bunkových organelách mitochondrií a chloroplastov. Delia sa podľa absorpcie viditeľného svetla na skupiny: a, b, c, d.



cytochróm c

Cvičenie č. 8 – Antioxidačné pôsobenie vitamínu C na cytochróm c

Úlohy:

- 1.) Nameranie absorpčného UV spektra cytochrómu c v rozsahu 320 - 600 nm pri pH = 7,2**
- 2.) Nameranie absorpčného UV spektra oxidovaného cytochrómu c po pridaní H₂O₂**
- 3.) Nameranie absorpčných UV spektier cytochrómu c po pridaní kyseliny L-askorbovej o troch rôznych koncentráciách (300 mM, 30 mM, 3 mM)**
- 4.) Vyhodnotenie výsledkov na PC pomocou programu GRAFIT.**

Princíp:

Kyselina L-askorbová (vitamín C) patrí medzi zachytávače voľných radikálov. Ak ku oxidovanej forme cytochrómu c (vplyvom H₂O₂) pridáme kyselinu L-askorbovú dochádza k jeho spätnej redukcii.

Pomôcky a chemikálie:

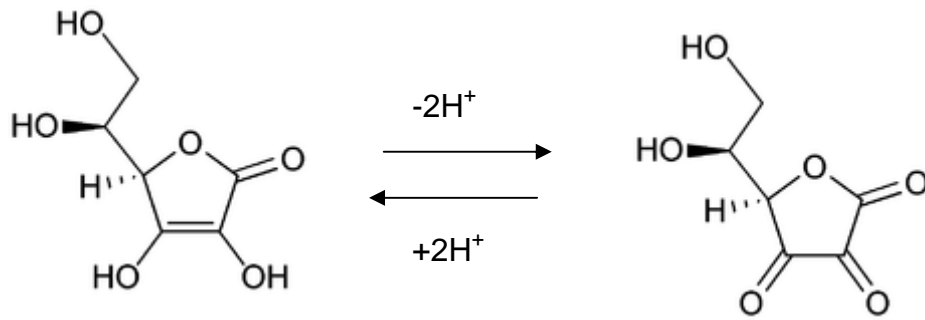
spektrofotometer SHIMADZU, sada pipiet o objemoch 1000 µl, 500 µl, 200 µl, 20 µl, kyvety, cytochróm c 10 mM, H₂O₂ 30 mM, kyselina askorbová – 300 mM, 30 mM, 3 mM, Na-fosfátový tlmivý roztok – 10 mM o pH = 7,2

Postup:

Zapneme UV-Vis spektrofotometer SHIMADZU a nastavíme základné parametre (vlnová dĺžka v rozsahu 320 – 600 nm, absorbanca 0,0 – 1.0),

- 1.) Do kyvetového priestoru vložíme kyvety – porovnávaciu bude obsahovať 3000 µl tlmivého roztoku, meracia 2995 µl tlmivého roztoku a vykonáme základné meranie nulového pozadia - tzv. „Base line“.
- 2.) Do meracej kyvety pridáme 5 µl cyt c a nameriame jeho spektrum.
- 3.) Do čistej meracej kyvety napipetujeme: 2945 µl tlmivého roztoku, 5 µl cyt c a nakoniec 50 µl H₂O₂, a spustíme meranie.
- 4.) Opakovane do čistej meracej kyvety napipetujeme: 2935 µl tlmivého roztoku, 5 µl cyt c, 10 µl vitamínu C (300 mM) a 50 µl H₂O₂. Vykonáme meranie.
- 5.) Pokračujeme v ďalších meraniach s tými istými množstvami cyt c a H₂O₂, iba koncentráciu vitamínu C budeme postupne znižovať (30 mM, 3 mM).

6.) Namerané hodnoty vyhodnotíme programom GRAFIT a podľa priebehu jednotlivých spektier v závere zhodnotíme antioxidačné pôsobenie vitamínu C na cytochróm c.



kyselina L-askorbová

kyselina L-dehydroaskorbová

7. ANTIBIOTIKÁ

Antibiotikum je látka, ktorá usmrčuje niektoré mikroorganizmy alebo bráni ich rastu. Dávnejšie sa tento termín užíval len pre antimikrobiálne látky prírodného pôvodu (a pre ostatné sa používal termín **chemoterapeutiká**), v súčasnej dobe sa veľmi často používa pre všetky látky s týmto účinkom bez ohľadu na ich pôvod. V súčasnosti je známych vyše 6000 látok s antibiotickým účinkom, ale len asi 70 z nich našlo uplatnenie v humánnej a veterinárnej medicíne, ostatné majú príliš výrazné nežiaduce účinky alebo sú pre pacienta toxické. Antibiotiká pôsobia najmä proti baktériám, niektoré sú však účinné aj proti hubám a parazitickým prvokom. Z chemického hľadiska sú antibiotiká rôznorodou skupinou látok, väčšinou však majú molekulovú hmotnosť menšiu než 2000 Da.

Antibiotiká možno rozdeliť podľa rôznych hľadísk – podľa chemickej štruktúry, účinnosti, mechanizmu pôsobenia a pod.

Rozdelenie antibiotík podľa mechanizmu pôsobenia:

- **Inhibítory syntézy bunkovej steny** : penicilíny, cefalosporíny, vankomycín, glykopeptidy, bacitracin, atď.
- **Inhibítory funkcie cytoplazmatickej membrány** : polyeny, polymyxíny, amfotericín B, gramicidín A, valinomycín, atď.
- **Inhibítory proteosyntézy**
 - väzbou na ribozomálnu podjednotku 30S: tetracyklíny
 - väzbou na podjednotku 30S a 50S: aminoglykozidy
 - väzbou na podjednotku 50S: makrolidy, likkosamidy, amfenikoly, diterpény,
 - zabránením vloženia aminokyseliny do bielkoviny: amfenikoly
- **Inhibítory syntézy a funkcií nukleových kyselín**
 - inhibícia DNA - gyrázy: aminoglykozidy, novobiocín, chinolóny
 - inhibícia RNA - polymerázy: ansamicíny, atď.
- **Inhibítory kyseliny listovej** : sulfonamidy, trimedoprim atď.

Rezistencia na antibiotiká (ATB)

1. prirodzená (primárna) rezistencia: mikroorganizmus je necitlivý k ATB z dôvodov geneticky a štruktúralne daných. Jedným z takých faktorov je napríklad aj stavba bunkovej membrány a bunkových stien grampozitívnych a gramnegatívnych baktérií.

2. Získaná (sekundárna) rezistencia: v tomto prípade sa pôvodne citlivé mikrobiálne kmene stanú vplyvom určitých podmienok rezistentné na konkrétne ATB. Sekundárna rezistencia mikroorganizmu je často získavaná prenosom plazmidov, buď konjugáciou alebo transformáciou. Mechanizmy podieľajúce sa na vzniku rezistencie:

- a) Mikroorganizmus tvorí enzýmy, ktoré inaktivujú ATB
- b) Stena mikrobiálnej bunky nie je viac permeabilná pre ATB
- c) Baktéria začne vo zvýšenej miere syntetizovať antagonistu. Zmena väzbového miesta ATB na celulárnych štruktúrach.

Podľa chemickej štruktúry sa antibiotiká zatriedujú do skupín:

1. Peptidové antibiotiká
2. β -laktámové antibiotiká - Penicilíny a cefalosporíny
3. Tetracyklíny
4. Makrolidové antibiotiká
5. Polyénové antibiotiká
6. Linkosamidy
7. Aminoglykozidové antibiotiká
8. Amfenikolové antibiotiká

Bakteriocíny

patria do skupiny antibakteriálnych látok. Odlišujú sa však od ostatných tak veľmi, že dostali vlastné pomenovanie. Sú to proteíny produkované rôznymi rodmi baktérií, či už grampozitívnymi alebo gramnegatívnymi. Bakteriocíny grampozitívnych baktérií majú široké spektrum citlivých buniek (napr. streptomycín). Gramnegatívne baktérie produkujú bakteriocíny s účinkom len na baktérie toho istého druhu, prípadne na jedince príbuzné. Inhibičný efekt týchto proteínov prvýkrát pozoroval Gratia v roku 1925.

Cvičenie č. 9 a 10 – Bakteriocíny

Úlohy:

1.) Zistenie vplyvu bakteriocínov na rast baktérií

Princíp:

Bakteriocíny alebo bakteriocín-like substancie predstavujú antimikrobiálne polypeptidy, ktoré sú produkované niektorými kmeňmi baktérií so schopnosťou inhibovať rast rovnakých druhov alebo druhove príbuzných baktérií.

Chemikálie, pomôcky:

skúmavky, Petriho misky, bakteriologická očkovačká kľučka, pipety, špičky, mikroskúmavky, termostat, 2 % agar (na jednu misku 20 cm³), 0,6 % agar (do jednej skúmavky 15 cm³), fyziologický roztok, Živný bujón 2 alebo TH (Todd-Hewittovo médium (TH Becton & Dickinson))

Komponenty na 1 l média: srdcová infúzia - 10g, kvasničný autolyzát - 5g, peptón pre bakteriológiu - 1 g, pečeneňový hydrolyzát - 5g, enzýmový kazeínový hydrolyzát - 2g, chlorid sodný - 4 g, hydrogénfosforečnan sodný - 0,4 g, hydrogénuhličitan sodný - 2g, glukóza - 3g, pH = 7,8.

Mikroorganizmy - produkčný kmeň *Enterococcus faecium*

indikátorový kmeň *Enterococcus malodoratus*

Postup:

Prvý deň:

- 1.) Pripravíme si Živný bujón 2 alebo TH médium (1l média / 30g TH)
- 2.) Pripravíme si 2 % a 0,6 % agarovú živnú pôdu (2g agaru/ 98ml bujónu resp. 0,6g / 99,4 ml bujónu)
- 3.) Skúmavky, živný bujón aj agar vysterilizujeme v tlakovom hrnci cca. 20min
- 4.) Do skúmaviek č.1a 2 si nalejeme po 10 cm³ živného bujónu 2 resp. TH média.
- 5.) V sterilnom boxe si pripravíme 2 % agarové platne (na spodnú stranu vyznačiť 4 body) a 0,6 % agar si nalejeme do sterilnej skúmavky č.3.
- 6.) Do skúmavky č.1 naočkujeme produkčný kmeň *Enterococcus faecium* BC25, ktorý budeme kultivovať cez noc v termostate pri 37 °C.
- 7.) Do skúmavky č.2 naočkujeme indikátorový kmeň *Enterococcus malodoratus* NCDO 846 a rovnako kultivujeme cez noc pri teplote 37 °C.

2.) Určenie antimikrobiálneho spektra

Postup:

Druhý deň:

- 1) Pripravené agarové platne dáme vysterilizovať na 1 hod. pod UV-lampu.
- 2) Nočnú kultúru produkčného kmeňa scentrifugujeme (pri 1000 otáčkach / min).
- 3) Odoberieme 500 μ l supernatantu a nariedime dvojkovým riedením s fyziologickým roztokom do 4 mikroskúmaviek.
- 4) Pipetou nanesieme 50 μ l z každého riedenia na vyznačené body agarovej platne.
- 5) 0,6 % agar v skúmavke č.3 mierne zahrejeme nad plameňom a ochladíme na 37°C, pridáme 200 μ l nočnej kultúry indikátorového kmeňa, premiešame a nalejeme na agarovú platňu. Necháme stuhnúť, uzatvoríme a otočíme hore dnom.
- 6) Petriho misky vložíme na 4 hod. do termostatu na 37 °C.
- 7) Citlivosť indikátorových kmeňov na produkované „bakteriocín-like“ substancie detegujeme a vyhodnotíme na základe veľkosti vzniknutých priehľadných zón okolo vyznačených bodov.

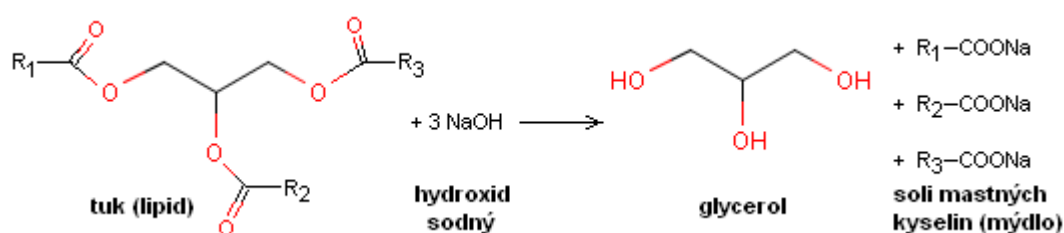
8. KOZMETIKA, MYDLÁ A ČISTIACE PROSTRIEDKY

Mydlo je zmes organických látok v pevnej alebo kvapalnej forme, pôsobiace ako anionický tenzid, teda látka, hromadiaca sa vo fázovom rozhraní a znižujúca povrchové napätie vodných roztokov. Je používané ako prostriedok osobnej hygieny, pre čistenie povrchov (najmä k odmasťovaniu) a k praniu bielizne. V užšom slova zmysle je to zmes hydrolyzovaných alkalických solí vyšších alifatických karboxylových kyselín (mastných kyselín) prírodného pôvodu. Molekuly týchto solí obsahujú nerozvetvený reťazec 10 až 22 atómov uhlíka. V dôsledku toho majú dve časti s veľmi rozdielnymi fyzikálno-chemickými vlastnosťami.

Metódy zmydelňovania

metóda za tepla - celá výroba prebieha pri pomerne vysokých teplotách (až do 80°C), ktoré umožňujú väčšiu kontrolu celého procesu, táto metóda je výhradne používaná v priemyselnej výrobe. Pri výrobe priemyselne vyrábaných mydiel pri procese zmydelňovania sa zámerne oddeľuje glycerín a predáva sa ako vedľajší produkt. Táto metóda takisto umožňuje výrobu transparentných mydiel.

metóda za studena - najjednoduchšia a najprírodnejšia metóda, veľmi vhodná pre domácnosti. Tuky (resp. oleje) a hydroxid reagujú prirodzene za nízkych teplôt, bez varenia. Tento postup neumožňuje oddelenie glycerínu, takto vyrobené mydlá ho obsahujú vo zvýšenej forme.



Priemyselná výroba

V priemyselnej výrobe je súčasťou konečnej úpravy produktu pri výrobe mydla je zvyčajne odstránenie chloridu sodného, hydroxidu sodného a glycerolu rozpustením surového mydla vo vriacej vode a opätovným vyzrážaním soľou (vysolenie).

Následne sa z mydla odstráni väčšina vody a suché mydlo s obsahom 6-12 % vody sa lisuje do malých peliet. Tieto sa potom upravujú do predávanej formy.

Pracie a čistiacie prostriedky

Účinok pracích a čistiacich prostriedkov úzko súvisí s **povrchovým napätím kvapalín**. Povrchové napätie je sila pôsobiaca na povrch kvapaliny na dĺžkovú jednotku a vzniká ako dôsledok nevyváženého silového pôsobenia medzi molekulami v povrchových vrstvách kvapalín. Povrchové napätie je možné znížiť použitím povrchovo-aktívnych látok (tenzidy).

Tenzidy majú molekuly, ktorých jedna časť je polárna a druhá nepolárna. Polárna časť je rozpustná vo vode a nepolárna časť je tak vytláčaná na povrch. Keďže voda má mimoriadne vysoké povrchové napätie, výsledkom je jeho výrazné zníženie. Ak sa na rozhraní bude vyskytovať nepolárna látka, nepolárna časť tenzidu sa bude rozpúšťať v nej a dôjde k výraznému zníženiu medzifázového povrchového napätia. Ak takúto zmes zamiešame, dôjde k vytvoreniu emulzie, kedy v polárnom prostredí vody budú plávať kvapôčky nepolárnej fázy. Okrem už spomenutého, majú povrchovo aktívne látky aj antiredepozičné vlastnosti, ktoré zabraňujú spätnému usadeniu nečistoty.

Zloženie pracích prostriedkov:

1. *tenzidy*
2. *aktivačné prísady:*
 - látky zmäkčujúce vodu - polyfosforečnany a citráty alkalických kovov, tvoriace rozpustné vápenaté a horečnaté komplexy. Zvyšujú účinnosť tenzidov. Zabezpečujú dobrú sypkosť, neprašnosť a stabilitu pracích prostriedkov pri ich uskladnení. Keďže fosfor je hlavnou príčinou eutrofizácie vody (nadmerný rast rastlín a rias vo vodách s vysokým obsahom živín, najmä dusíka a fosforu. Tento proces vedie po čase k úhynu ostatnej fauny a flóry vodného toku), ako náhrada na zmäkčovanie vody sa za polyfosforečnany používajú zeolity (sodné soli hlinitokremičitanov).
 - látky udržiavajúce pH a zásaditosť vodného roztoku – uhličitan a kremičitan sodný. Kremičitany sú súčasťou alkalicky reagujúcich čistiacich a pracích prostriedkov. Spôsobujú jemné napučanie vlákien, čím zabraňujú spätnému usadzovaniu nečistoty a zabraňujú zožltnutiu bielizne. Horečnaté kremičitany stabilizujú kyslíkaté bieliace látky (peroxoboritan sodný).
3. *optické zjasňovače (fluorescenčné látky)*
4. *parfémy a iné prídavné látky*

Rozdelenie čistiacich prostriedkov:

I. na umývanie riadu:

Práškové a pastové prostriedky sú zložené z abrazívnych látok (kremenné piesky, mleté vápence), ako účinné látky sa používajú tenzidy, alkalické uhličitaný, kremičitaný, fosforečnaný). Tekuté prostriedky sú koncentráty vyrábané rozpustením špeciálnych tenzidov a emulgátorov v kombinácii s komplexotvornými látkami, rozpúšťadlami (trietanolamín, etanol, formaldehyd), malým množstvom anorganických solí a ďalšími účinnými prísadami.

II. na čistenie sklenených povrchov:

Tieto prostriedky obsahujú najmä alkoholy, povrchovo aktívne látky, komplexotvorné látky, farbivo, alkalické zložky.

III. na čistenie hygienických zariadení:

Čistiace a dezinfekčné prostriedky obsahujú aniónové alebo neiónové tenzidy, kyseliny: sírovú, trihydrogenfosforečnú, citrónovú, šľavelovú, NaClO, NH₄NO₃, NaCl, FeCl₃, organické rozpúšťadlá: polyetylén glykol, deriváty močoviny a parfém. Dezodoranty obsahujú paradichlórbenzén, naftalén, parfémy, farbivá.

Kozmetika

Termín kozmetika má pôvod v gréckom slove kozmetikos = ozdobujúci. Definuje sa ako pestovanie telesnej krásy mechanickými a chemickými prostriedkami.

Podľa funkcie kozmetiku delíme na:

1. hygienické výrobky: Účelom **hygienických výrobkov** je čistenie a dezinfekcia tváre, tela, vlasov, zubov, ústnej dutiny a nechtov, korekcia ľudských pachov alebo odstránenie nežiadúceho ochlpenia.
2. ochranná kozmetika: Funkciou **ochrannej kozmetiky** je všeobecná ochrana kože a jej súčastí proti bežným vplyvom prostredia alebo špeciálna ochrana (proti slnečnému žiareniu, škodlivinám životného a pracovného prostredia).
3. regeneračné výrobky: **Regeneračné výrobky** predstavujú širokú a spotrebiteľsky atraktívnu skupinu hydratačných, revitalizačných, protivráskových, kondicionačných, anticelulitídových, zoštíhľujúcich a ďalších

výrobkov, ktorých účelom je udržiavať pleť, pokožku tela, vlasy a nechty v dobrom stave alebo spomaliť zjavné prejavy ich starnutia.

4. dekoratívna kozmetika: **Dekoratívna kozmetika** vytvára farebné efekty alebo zakrýva drobné defekty na koži, očných viečkach, riasach, obočí, perách, nechtoch a vlasoch.
5. vonná kozmetika: Skupinu **vonnej kozmetiky** tvoria parfumy, parfumové, toaletné a kolínske vody; jej úlohou je parfumovať a nie prekryvať telesné pachy.

Delenie podľa disperznej sústavy finálneho prípravku:

1. roztoky (voda po holení)
2. emulzie (pleťový krém)
3. gély
4. suspenzie (zubné pasty)
5. kombinované suspenzie s emulziami (make-up)
6. aerosóly (antiperspirant, lak na vlasy)
7. tuhé prípravky (mydlo)
8. prášky:
 - a. voľné (zásypy)
 - b. zlisované (očné tiene, púder)

Najčastejšie používané rozpúšťadlá v kozmetike:

I. hydrofilné (voda, etanol, izopropyl alkohol, propylénglykol, glycerol)

- **voda**: používa sa destilovaná, prípadne deionizovaná zdravotne neškodlivá voda
- **etanol** pôsobí ako rozpúšťadlo, dobre prijíma vlhkosť, je dobrý nosič účinných látok. Tvorí základ výroby alkoholových kozmetických výrobkov. Pôsobením etanolu na pokožku možno dosiahnuť účinok:
 - čistiaci – pridaním etanolu sa zvýši čistiaca schopnosť vody (čistiace pleťové vody), prísada etanolu znižuje povrchové napätie medzi vodou a kožou a tým zvyšuje zmáčateľnosť kožného povrchu.
 - odtučujúci – zvyšuje rozpustnosť tukových nečistôt (pot, maz, mastné krémy),

dezinfekčný – ničiaci mikroorganizmy - 60%-ný etanol má najväčší bakteriocídny účinok

tonický – vzpružujúci a posilňujúci - pokožka sa dokonale natiahne (vody po holení, pleťové, osviežujúce vody)

adstringentný – sťahujúci, sťahuje rozšírené kožné póry (sťahujúce pleťové vody, vody po holení)

- **propylénglykol** - používa sa ako rozpúšťadlo, zahusťovadlo a látka, ktorá viaže vlhkosť (často ako náhrada glycerolu).
- **glycerol** - je hygroskopická látka, ktorá sa na kozmetické účely musí riediť, pretože koncentrovaný glycerol (nad 20%) by pokožku úplne vysušil, keďže má schopnosť odoberať vodu z buniek a tkanív. Dáva pleti pružnosť a vláčnosť. Využíva sa preto nielen ako súčasť pleťových vôd, ale aj do krémov (obmedzuje vysychanie krému) a ako pojidlo k získaniu hladkého spojitého vzhľadu zubnej pasty. V holiacich krémoch dáva pene stálosť a spomaľuje jej zasychávanie. Nemá dezinfekčné účinky. Používa sa aj na výrobu mydla.
- **D-sorbitol** - sa používa ako náhrada glycerolu do pleťových vôd, krémov, zubných pást a na výrobu tenzidov.
- **vyššie mastné alkoholy** (počet atómov uhlíka v molekule je 8 – 20) - nachádzajú sa v tukoch a olejoch morských cicavcov (delfín, veľryba, vorvaň). Majú dobré účinky na pokožku, pôsobia ako stabilizátory emulzných prípravkov a používajú sa na výrobu tenzidov.
- **voskové alkoholy** (počet atómov uhlíka v molekule je nad 20) sa používajú v kozmetike pre svoju vysokú teplotu topenia a tvrdosť. Pridávajú sa do tyčínok na pery a líčidiel. Nachádzajú sa v niektorých rastlinných a živočíšnych voskoch.
- **cholesterol** sa vyskytuje v živočíšnych bunkách. Vo vode sa nerozpúšťa, má emulgačné schopnosti, ľahko preniká do pokožky, podporuje životaschopnosť kožných buniek a ich regeneráciu. Používa sa do výživných kozmetických prípravkov a na ošetrovanie pleti a vlasov.

II. **lipofilné** (rastlinné a živočíšne oleje, tuky, vosky, minerálne oleje, vazelína, parafín)

Vytvárajú prostredie, v ktorom sa rozpúšťajú biologicky významné nepolárne látky (vitamíny, farbivá, liečivá). Ich negatívnou vlastnosťou je žltnutie, ktoré vzniká účinkom baktérií najmä v teplom a vlhkom prostredí. Nastáva ich oxidácia vzdušným kyslíkom pričom vznikajú rôzne aldehydy, ketóny a nižšie karboxylové kyseliny, ktoré nepríjemne zapáchajú. Katalytickou hydrogenáciou sa z olejov môžu pripraviť tuhé tuky. Tým sa získajú niektoré výhodnejšie vlastnosti – sú stálejšie, nemajú nepríjemný zápach. Tuky a oleje používané v kozmetike sa rafinujú (odstraňujú sa voľné mastné kyseliny, ktoré dávajú tukom príchuť a zápach).

Najčastejšie používané tuky a oleje v kozmetike:

- **Rastlinné** – olivový, slnečnicový, arašidový, mandľový, sezamový, klíčkový, avokádový, jojobový, ricínový, kakaový, kokosový olej
- **Živočíšne** – rybí tuk, norkový olej, korytnačkový olej, bravčová masť, jazvečí tuk, jelení tuk
- **Minerálne** – parafínový olej, vazelína

Vosky sú estery vyšších mastných kyselín a jednosýtnych (predovšetkým vyšších alifatických) alkoholov. Podobajú sa tukom, majú však vyššiu teplotu topenia. Nežltnú, ťažko sa rozpúšťajú v hydrofóbných rozpúšťadlách. Používajú sa v kozmetike pre svoju tvrdosť, obsah voskových alkoholov a emulgačné účinky.

Najčastejšie používané vosky v kozmetike:

- **Rastlinné vosky**
 - japonský vosk – získava sa z plodov škumpy voskovej
 - karnaubský vosk - (cerotan myricylnatý) je produkt z listov karnaubskej palmy
 - jojobový vosk – získava sa z kríka – jojoby
- **Živočíšne vosky**
 - včelí vosk – vylučujú včely pri stavbe plastov na ukladanie medu, je zmesou voskových alkoholov, kyseliny cerotovej a esterov cholesterolových zlúčenín
 - lanolín – získaný z ovčej vlny, je zmesou sterolov, alkoholov a ich esterov
 - cetaceum – tuk z lebečnej dutiny veľrýb (palmitan cetylnatý)
 - čínsky vosk produkuje hmyz - červec voskodarný (cerotan cetylnatý)

- **Minerálne vosky**

- parafín – získava sa destiláciou nafty (zmes uhľovodíkov)
- cerezín – získava sa zo zemného plynu a ropy (zmes parafínu a ozokeritu)
- ozokerit – (zemný vosk) je zložený z vysoko molekulových uhľovodíkov, rafináciou sa z neho získavajú parafín a cerezín.
- montánny vosk – získava sa extrakciou z hnedého uhlia.

Cvičenie č. 11 – Kozmetika

Úlohy:

1.) Príprava plet'ovej vody – RSB

Princíp :

Kyselina salicylová ako aj liečivé rastliny sa často pridávajú do kozmetických prípravkov, aby okrem ostatných funkcií získala kozmetika aj protizápalový charakter.

Chemikálie, pomôcky:

rezorcín, kyselina salicylová, kyselina boritá, etanol, destilovaná voda, dve kadičky 150 cm³, tyčinky, odmerný valec 100 cm³, liekovka

Postup:

1 g rezorcínu a 2 g kyseliny salicylovej rozpustíme v 72,5 cm³ etanolu. V druhej kadičke rozpustíme 3 g kyseliny boritej v 35,25 cm³ destilovanej vody. Mierne zahrejeme. Obidva roztoky zmiešame. Pripravený RSB prelejeme do liekovky.

2.) Príprava nechtíkovej masti

Materiál, pomôcky:

nechtík lekársky (kvety), 400 cm³ kadička, tyčinka, varič, nôž, lekárska vazelína (bravčová masť resp. obyčajná indulóna), gáza, nádobka na masť

Postup:

10g (asi dve plné hrste) nechtíka lekárskeho (*Calendula officinalis*) porežeme nadrobno. V kadičke rozpustíme 250 g lekárskej vazelíny (bravčovej masti alebo indulóny). Do horúcej masy vmiešame narezaný nechtík, necháme vzkypieť, premiešame a odstavíme z plameňa. Prikrytú masť necháme postáť a potom ju mierne prihrejeme a prefiltrujeme cez gázu do čistej pripravenej nádobky.

9. POTRAVINOVÉ ADITÍVA – FARBIVÁ

Látky ktoré menia vzhľad potravín delíme ich na farbivá a bielidlá.

FARBIVÁ - prírodné : Karotenoidy

Flavonoidy

syntetické : mono- i polyfunkčné azofarbivá, xanténové farbivá a iné

Prírodné farbivá

Karotenoidy sú červeno-žlté farbivá zeleniny a ovocia, je ich známych vyše 300 druhov. Najznámejšími sú beta-karotén, ďalej alfa-karotén, gama-karotén, luteín, zeaxantín, kapsantín a lycopén.

Flavonoidy sú skupina zlúčenín, ktoré majú analogickú základnú štruktúru (flavón, izoflavón atď.), ku ktorej sa pripájajú na rôznych miestach skupiny -OH , resp. -OCH₃. Tieto zlúčeniny sa vyskytujú v rôznych rastlinách čiastočne voľne, čiastočne vo forme glykozidov (komplex so sacharidom).

Z priaznivých fyziologických účinkov môžeme vyzdvihnúť antibakteriálne, antiparazitárne, hepatoprotektívne a ich antivírusové účinky.

Syntetické farbivá

Po chemickej stránke môžeme syntetické farbivá rozdeliť do niekoľkých skupín: azofarbivá, difenylmetánové, trifenylmetánové farbivá, nitrofarbivá, pyrazónové, xanténové, antrachidónové, chinolínové a indigové farbivá. Väčšinou sú rozpustné vo vode. Vo svojich molekulách obsahujú sulfoskupiny a používajú sa vo forme sodných solí.

Z veľkého počtu syntetických farbív sa u nás povoľuje niekoľko, ktoré podľa doterajších výskumov nie sú zdravotne závadné.

Azorubín E122 – červené farbivo a **košenilová červená E 124** – používajú sa na farbenie trvanlivých cukrárskych a cukrovinkárskych výrobkov, marmelád, džemov, ovocia, zeleniny, pudingov, mrazených krémov, nápojov, lososa, kaviáru a pod.

Tartrazín E 102 – žlté farbivo. Farbí sa ním horčica, kôrovce, brusnicový kompót.

Brilantná čierna E 151 a **modrá E 133** – používajú sa do cukrovínok a mrazených krémov.

Indigotín E 132 – modré indigoidné farbivo. Farbia sa ním cukrovinkárske výrobky, nepravý kaviár, sladené ovocie, pudingové prášky.

Erytrozín E 127 – xanténové červené farbivo na farbenie kompótov, sladeného ovocia...

Syntetickými farbivami sa odborníci neustále zaoberajú, vzhľadom na ich možné karcinogénne účinky. Zistil sa aj účinok na enzýmy tráviaceho traktu a pečene. Potravinový kódex prísne stanovuje povolené množstvá prídavných farbív, ktoré musia výrobcovia striktne dodržiavať.

BIELIDLÁ - sú to látky, ktoré môžu nežiaduce farbivá redukovať, alebo oxidovať na bezfarebné látky, eventuálne pozmeniť ich odtieň.

Najčastejšie používané bielidlá sú :

- redukujúce látky: oxid siričitý, kyselina siričitá, hydrogénsiričitany a disiričitany
- oxidačné činidlá: zlúčeniny s aktívnym kyslíkom a chlórrom (peroxid vodíka, persírany, atď. – väčšinou sú to už zakázané prídavné látky)

Cvičenie č. 12 – Potravinové farbivá, spektrálna analýza potravín

Úlohy:

1.) Stanovenie farbivosti koreninovej papriky

Princíp:

Vzorka koreninovej papriky sa extrahuje acetónom a stanoví sa intenzita zafarbenia fotometricky.

Chemikálie, pomôcky:

acetón, spektrofotometer, kyvety, odmerná banka 50 cm³, pipeta 5 cm³, Erlenmayerova banka 100 cm³, navažovacia lodička, koreninová paprika

Postup:

Navážime 0,5 g koreninovej mletej papriky, vsypeme do 100 cm³ Erlenmayerovej banky. Zvyšky na lodičke spláchneme 50 cm³ acetónu. Obsah viackrát pretrepeme a necháme stáť v tme 30 minút. Z hornej vrstvy opatrne odpipetujeme 5 cm³ do 50 cm³ odmernej banky a doplníme acetónom po značku. Intenzitu zafarbenia zmeriame fotometricky pri 469 nm.

Na zhotovenie kalibračnej krivky použijeme kapsantín. Ak je absorbanca vyššia ako 1.0, vzorku je potrebné riediť.

Výpočet:

Z nameranej absorbancie pri 469 nm vypočítame obsah kapsantínu v g.kg⁻¹ (w_p) pomocou kalibračnej krivky alebo podľa vzťahu:

$$w_p = (0,459 A + 0,008) \cdot 10$$

kde A je absorbanca pri 469 nm

Výsledok prepočítame na 100 % sušinu w_p/s (sušina v %).

Presnosť: Chyba celej analýzy je ± 1 až ± 2 % z výsledku.

Použitie: Metóda je vhodná na stanovenie farbivosti koreninovej papriky.

2.) Stanovenie chlorofylu

Princíp:

Chlorofyl sa extrahuje 85 % acetónom, zmieša s etyléterom a po premytí vodou sa stanoví absorbanca vysušeného extraktu pri 660 a 642 nm na rozlíšenie celkového chlorofylu a jeho zložiek.

Chemikálie, pomôcky:

etyléter, síran sodný bezvodý, acetón 85 %, uhličitan vápenatý, homogénizátor (mixér), spektrofotometer, kyvety, pipety 50 a 5 cm³, Büchnerov lievik, odmerne banky 100 a 200 cm³, lievik, filtračný papier, zelené rastliny (papriky, uhorky, špenát ...)

Postup:

2 g čerstvého materiálu zhomogenizujeme mixérom s 0,1 g CaCO₃ a 50 cm³ 85 % acetónu. Obsah prefiltrujeme cez Büchnerov lievik s hustým filtračným papierom, nádobu homogénizátora opláchneme acetónom. Zvyšok na filtri premývame acetónom, až kým filtrát nie je bezfarebný. Potom prepláchneme minimálnym množstvom etyléteru a filtrát doplníme 85 % acetónom do 200 cm³ odmernej banky. Zo vzorky pipetujeme 50 cm³ a zmiešame s 50 cm³ etyléteru. Obsah pretrepávame 10 až 15 minút. Časť éterového extraktu prefiltrujeme cez bezvodý síran sodný do 1 cm kyvety. Zmeriame absorbanciu pri 660 a 642 nm oproti vysušenému etyléteru.

Výpočet:

Celkový obsah chlorofylu v mg.kg⁻¹ (w_{ch}), resp. v mg.l⁻¹ vypočítame zo vzťahu:

$$w_{ch} = 7,12 A_1 + 16,8 A_2$$

Obsah chlorofylu \underline{a} (w_{cha}) je daný vzťahom

$$w_{cha} = 9,93 A_1 - 0,777 A_2$$

kde: A_1 je absorbanca etyléterového roztoku pri 660 nm v 10 mm kyvete,

A_2 je absorbanca etyléterového roztoku pri 642 nm v 10 mm kyvete.

Použitie:

Metóda je veľmi rýchla, vhodná na stanovenie celkového chlorofylu a jeho zložiek a , resp. b v potravinárskych a iných rastlinných materiáloch.

Literatúra:

1. El-Mansi E.M.T., Bryce C.F.A., Demain A.L., Allman A.R., Fermentation microbiology and biotechnology, second edition, CRC Press, New York, 2006
2. Smith J.E., Biotechnology, fifth edition. Cambridge University Press, 2009
3. Hui Y.H., Food Biochemistry & Food Processing, Blackwell Publishing, Iowa USA, 2006
4. Kirk-Othmer, Encyclopaedia of Chemical Technology, Vol. 3,4, Aufl. 1992
5. Belitz H.D., Grosch W., Lehrbuch der Lebensmittelchemie, Berlin 1982
6. Príbela A., Analýza potravín, edičné stredisko SVŠT, Bratislava 1987
7. Betina V., Nemeč P., Všeobecná mikrobiológia, Alfa, Bratislava, 1977
8. Košťíř J. , Biochemie, Avicenum, Zdravotnické nakladatelství, Praha 1974
9. Vodrážka Z., Biotechnologie., Nakladatelství VŠCHT, Praha,1991.

<http://www.vinozoslovenska.sk/index.php/sk/vzdelavanie/vyroba-vina>

<http://www.mlieko.sk>

<http://www.svps.sk>

<http://www.medinfo.sk>

<http://chemiegjo.webzdarma.cz>

http://www.vscht.cz/ktk/www_324/studium/OZ/zelenina_2.pdf