

Mendelova univerzita v Brně
Zahradnická fakulta v Lednici

TEPELNÁ STABILITA PEKTINŮ

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Pavel Híc, Ph.D.

Vypracovala:

Bc. Petra Vališová

Lednice 2016

Na této straně se v tištěné podobě nachází zadání diplomové práce.

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem práci: Tepelná stabilita pektinů vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Lednici dne:

.....

podpis

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji vedoucímu diplomové práce Ing. Pavlu Hícovi, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost, poskytnutí cenných rad a informací při zpracování mé diplomové práce. Také bych chtěla poděkovat mé rodině, která mě podporovala během celého studia.

OBSAH

1. ÚVOD.....	7
2. CÍL PRÁCE	9
I. LITERÁRNÍ PŘEHLED	10
3. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	10
3.1 Hydrokoloidy	10
3.1.1. Polysacharidy	11
3.1.2 Bílkoviny	12
3.1.3 Syntetické polymery	13
3.2 Pektiny a jejich rozdělení	14
3.2.1 Rozdělení pektinů z hlediska esterifikace	16
3.2.2 Rozdělení pektinů – Neutrální pektiny, kyselé pektiny a pektinové kyseliny	17
3.2.3 Rozdělení pektinů z hlediska obsahu neutrálních cukrů	18
3.2.4 Rozdělení pektinů z hlediska rozpustnosti	19
3.3 Výroba technického pektinu	19
3.4 Mechanismus gelů.....	21
3.4.1 Ovlivňující činitele – Suroviny	24
3.4.2 Ovlivňující činitele – Druhy a obsah u kyselin a cukrů	26
3.4.3 Nastavení času a teploty	29
3.5 Enzymové reakce pektinů	32
3.6 Možnosti stanovení vlastností pektinů	34
3.6.1 Rosolotvorná mohutnost.....	36
3.7 Použití pektinů	36
II. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	38
4. MATERIÁL A METODIKA PRÁCE.....	38
5. VÝSLEDKY	44
6. DISKUZE	53
7. ZÁVĚR	56
8. SOUHRN	56
9. RESUME	58
10. POUŽITÁ LITERATURA	59
11. PŘÍLOHY	67

SEZNAM TABULEK, GRAFŮ A OBRÁZKŮ

Seznam tabulek

Tabulka 1 Obsah galakturonové kyseliny (GalA), stupeň esterifikace (SM) a acetylace (SA) pektinů různého původu (VELÍŠEK (a), 2002).

Tabulka 2 Obsah galakturonové kyseliny a neutrálních cukrů v některých pektinech (VELÍŠEK (b), 2002).

Tabulka 3 Analýza rozptylu vlivu použitého pektinu na celkovou pevnost ovocné pomazánky – digitální penetrometr.

Tabulka 4 Analýza rozptylu vlivu použitého pektinu na celkovou pevnost ovocné pomazánky – mechanický penetrometr.

Tabulka 5 Analýza rozptylu vlivu pektinu Grinsted YF 738 na pevnost ovocné pomazánky – digitální penetrometr.

Tabulka 6 Analýza rozptylu vlivu pektinu Grinsted YF 738 na pevnost ovocné pomazánky – mechanický penetrometr.

Tabulka 7 Analýza rozptylu vlivu pektinu Ribbon D 075 na pevnost ovocné pomazánky – digitální penetrometr.

Tabulka 8 Analýza rozptylu vlivu pektinu Ribbon D 075 na pevnost ovocné pomazánky – mechanický penetrometr.

Tabulka 9 Analýza rozptylu vlivu pektinu AF 010 na pevnost ovocné pomazánky – digitální penetrometr.

Tabulka 10 Analýza rozptylu vlivu pektinu AF 010 na pevnost ovocné pomazánky – mechanický penetrometr.

Seznam grafů

- Graf 1** Porovnání pevnosti ovocných pomazánek vyrobených z jednotlivých pektinů měřený na digitálním penetrometru.
- Graf 2** Souhrnný přehled výsledků – mechanický penetrometr
- Graf 3** Porovnání pevnosti ovocných pomazánek vyrobených z pektinu Grinsted YF 738 – digitální penetrometr
- Graf 4** Porovnání pevnosti ovocných pomazánek vyrobených z pektinu Grinsted YF 738 – mechanický penetrometr
- Graf 5** Porovnání pevnosti ovocných pomazánek vyrobených z pektinu Ribbon D 075 – digitální penetrometr
- Graf 6** Porovnání pevnosti ovocných pomazánek vyrobených z pektinu Ribbon D 075 – mechanický penetrometr
- Graf 7** Porovnání pevnosti ovocných pomazánek vyrobených z pektinu AF 010 – digitální penetrometr
- Graf 8** Porovnání pevnosti ovocných pomazánek vyrobených z pektinu AF 010 – mechanický penetrometr

Seznam obrázků

- Obrázek 1** Základní struktura pektinu (VELÍŠEK (a), 2002).
- Obrázek 2** Mechanismus β -eliminace (IMESON, 2010).
- Obrázek 3** Přehled kyselin a regulátorů kyselosti (BABIČKA, 2012).
- Obrázek 4** Stanovení rozsahu tvorby gelu u vysoce esterifikovaného pektinu (html 5).
- Obrázek 5** Schéma štěpení pektinových látek (KYZLINK, 1951).

1. ÚVOD

Potravinářské hydrokoloidy patří mezi tzv. potravinářské přísady neboli aditiva, které významně upravují strukturní vlastnosti potravin. Jsou velmi různorodé a složitě se dělí na jednotlivé skupiny. Většina z těchto látek jsou polysacharidy, ale patří sem i látky bílkovinné povahy. Potravinářské hydrokoloidy jsou přítomny v různém množství prakticky ve všech přirozených potravinách. Ovlivňují jejich texturu, strukturu a do jisté míry i chuť a aroma.

Mezi hydrokoloidy patří i pektiny – vysokomolekulární koloidní sloučeniny obsahující řetězce galakturonové kyseliny. Pektinové látky jsou typické pro nezralé ovoce (jablka, angrešt, rybíz, citrusové ovoce) jako zpevňující složky. Enzym pektináza je rozkládá na pektin, který s cukrem a kyselinami tvoří rosoly. Jako všeobecně používaný rosolotvorný a stabilizační prostředek je v současnosti neopomenutelnou složkou velkého množství výrobků potravinářského, farmaceutického a kosmetického průmyslu.

Právě tvorba a pevnost gelu je jedním z hlavních předmětů diplomové práce. Pektiny jsou schopny za určitých podmínek tvořit stabilní pevné rosoly. Této jejich schopnosti se využívá v potravinářském průmyslu. Pektiny se podle stupně esterifikace rozdělují na nízko a vysoko esterifikované. Obě skupiny se od sebe liší mechanismem tvorby rosolu.

Odhaduje se, že 80 až 90 % z komerční produkce pektinu, se používá při výrobě želé a džemů. Nicméně i přes jeho dostupnost ve velkém množství rostlinných druhů, jsou komerční zdroje pektinu velmi omezené. Proto je třeba zkoumat další zdroje pektinu nebo upravit již existující zdroje pro získání pektinu žádané jakosti. Moderní výroba potravin, jako je genetické inženýrství, může být použita k úpravě pektin *in vitro*. Současné poznatky o molekulární podstatě želatiny mohou pomoci pochopit některé aspekty tohoto komplexního jevu. Systematickým studiem těchto pozorování lze usnadnit porozumění reakčních procesů v tvorbě gelu, což vede k lepšímu řízení procesů a produktů.

2. CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce je prostudování literatury a popsání důvodů a zásad použití hydrokoloidních preparátů v technologii výroby potravin s hlavním zaměřením na pektiny.

Cílem experimentální části je vytvořit produkty obsahující pektin a změřit fyzikální vlastnosti, jako je viskozita nebo mechanická pevnost gelů. Důraz je kladen především na vliv teploty a doby záhřevu na pevnost a tvorbu gelu.

I. LITERÁRNÍ PŘEHLED

3. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

3.1 Hydrokoloidy

Termín hydrokoloidy se běžně používá k označení řady polysacharidů a proteinů, které jsou v dnešní době široce používány v různých průmyslových odvětvích a vykonávají řadu funkcí, včetně zahušťování, želírování vodných roztoků, stabilizační pěny, emulzí a disperzí, inhibují krystalické formace ledu a cukru a řídí uvolňování příchutí (Phillips, Williams, 2009).

Podle KODETA et al. (1993) jsou hydrokoloidy potravinářské polymery. Polymerní látky se nazývají proto, že jejich molekuly jsou složeny ze stovek až mnoha set tisíc jednodušších molekul. Svoji strukturou jsou zařazovány mezi polysacharidy, bílkoviny nebo syntetické polymery. Typickým polysacharidem je např. škrob, celulóza, rostlinné gemy. Typický bílkovinným polymerem je želatina, kasein, vaječný albumin a další. V dnešní době jsou hydrokoloidy používány v nejrůznějších oblastech průmyslu. Rozpustné polysacharidy slouží jako plnidla, zahušťovadla, zvyšují viskozitu výrobků, působí jako stabilizátory disperzí, některé jsou gelotvornými látkami. Ve vodě jsou schopné bobtnat a přecházejí tak v hustý roztok nebo disperzi.

Hydrokoloidy patří mezi nejčastěji používané přísady v potravinářském průmyslu. Fungují mimo jiné také jako čiridla a flokulační činidla, kromě toho zvýrazňují chuť a inhibují krystalizaci. V současné době je také prokázán pozitivní účinek v oblasti lidského zdraví (LI, NIE, 2015).

Mezi potravinové polysacharidy patří škrobové produkty, které jsou užívány častěji než polysacharidy známé jako neškrobové. Termín hydrokoloidy často zahrnuje obě kategorie. Škrob zaujímá jedinečné postavení, protože je to přírodní polysacharid a je velmi dobře dostupný. Část je spotřebována bez předchozího oddělení od doprovodných živin v podobě bílkovin, tuku, vlákniny a minerálních látek, ale přesto množství izolované v čisté formě výrazně převyšuje všechny ostatní neškrobové polysacharidy (STEPHEN et al., 2006).

Potravinové hydrokoloidy nejsou zařazeny do jedné určité kategorie, jsou regulovány buď jako potravinářské přídatné látky, nebo jako složky potravin. Výjimkou

je želatina, která se nepovažuje za aditivum, nemá tedy přiřazeno E-číslo (na rozdíl např. od želírovacích prostředků jako pektin, agar, karagenan aj.). Naprostá většina potravinových hydrokoloidů je v současné době upravena jako potravinářské přídatné látky. (html 1, PHILLIPS, WILLIAMS, 2009).

Označení E kódem s 3–4 místným číslem říká, že dané aditivum je evidováno v systému Evropské unie, a je zařazeno jako látka zdravotně nezávadná, aplikace do potravin je povolena a to v přísně definovaném množství (html 9).

Absenci přiřazeného kódu u želatiny potvrzuje i vyhláška č. 4/2008, kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin (VYHLÁŠKA č. 4/2008).

Jako přímo použitelný právní předpis se pro potravinářské přídatné látky použije nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008 o potravinářských přídatných látkách, v platném znění. Nařízením Komise (EU) č. 231/2012, v platném znění, se stanoví specifikace pro potravinářské přídatné látky uvedené v přílohách II a III nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008. Pro vyhledávání povolených přídatných látek, informací a podmínek o použití lze využít databázi přídatných látek dostupnou na stránkách Evropské komise - DG SANTE (Generální ředitelství pro zdraví a bezpečnost potravin) (html 2).

Řada hydrokoloidů tvoří za určitých podmínek stabilní a pevné gely. Je to želatina, pektin, agar-agar apod.. Tyto potravinářské gely vznikají za odlišných podmínek jak teplotních, tak koncentračních, ale jsou podmíněny i přítomností dalších potravinářských látek (cukr). Tyto hydrokoloidy se používají u potravin, kde je gel požadovanou vlastností, tzn. ovocné želé, gumovité cukrovinky, rybí aspik atd. (KODET et al., 1993).

3.1.1. Polysacharidy

Polysacharidy neboli glykany se skládají z více než deseti monosacharidových jednotek a obsahují až několik tisíc, stovek tisíc až milionů strukturních jednotek, spojených vzájemnými glykosidovými vazbami. Tyto látky jsou tvořeny buď výlučně identickými monomery, častěji se však skládají z molekul dvou a více různých monosacharidů, nebo obsahují deriváty monosacharidů. Lze je proto dělit na homopolysacharidy nebo heteropolysacharidy. Z dalšího hlediska rozlišení uvádí

(VELÍŠEK (a), 2002) řetězce lineární a cyklické, kdy lineární se dále člení na nevětvené a větvené.

Polysacharidy, v užším slova smyslu, jsou glykosidické kondenzáty mnoha jednoduchých cukerných molekul. V potravinách jsou vyztužujícími látkami nebo látkami, v nichž se ukládají energetické rezervy. Při energetické hydrolýze kyselinami nebo enzymy se konzervárensky zajímavé polysacharidy rozpadají ve své složky, kterými mohou být buď pentosy, hexosy, popřípadě i cukry obou těchto skupin. Podle toho dělíme polysacharidy na tzv. pentozany ($C_5H_8O_4$)_n, hexosany ($C_6H_{10}O_5$)_n a pentoso-hexosany. Ve vodě bývají polysacharidy koloidně rozpustné (glykogen, dextriny, zmazovatělý škrob), bobtnavé (některé slizy) nebo nerozpustné (škrob, celulóza) (KYZLINK, 1988).

Nejvýznamnější metodou strukturní analýzy polysacharidů je metylační analýza. Je založena na metylaci všech hydroxylových skupin v polysacharidu jodmethanem v bazickém prostředí (např. hydrid sodný v dimethylsulfoxidu), na kyselé hydrolýze úplně methylovaného produktu a na identifikaci takto získaných methylderivátů monosacharidů. Z jejich struktury a vzájemného poměru lze určit způsob vazby monosacharidových jednotek a zjistit, jedná-li se o lineární nebo větvený polysacharid (ČERNÝ, TRNKA, 1995).

Z využitelných polysacharidů má v potravinářství největší význam škrob. Mezi další patří například glykogen nebo fruktosany. Některé polysacharidy, z největší části rostlinného původu, nemůže člověk využít, a nemají proto v lidské výživě přímou funkci. Zvyšují však objem potravy a upravují peristaltiku střev. I když jsou tyto látky balastní, jsou v potravinářství významné, neboť jejich přísada příznivě ovlivňuje vzhled a konzistenci některých pokrmů. V potravinách rostlinného původu řadíme k balastním látkám celulosu, hemicelulosu, lignin, látky pektinovitě, různé rostlinné gummy, slizy atd. (DAVÍDEK et al, 1983).

3.1.2 Bílkoviny

Bílkoviny (proteiny) jsou polymery aminokyselin, které vznikly procesem proteosyntézy. Obsahují v molekule běžně více než 100 aminokyselin, vzájemně vázaných peptidovou vazbou do nerozvětvených (lineárních) řetězců. Kromě peptidových vazeb se na vytváření struktury proteinů podílejí ještě jiné vazby, zejména disulfidové, esterové a amidové (VELÍŠEK (a), 2002).

Proteiny neboli bílkoviny, patří k nejdůležitějším živinám. Proteiny a peptidy se skládají výhradně, nebo z velké většiny, z aminokyselinových zbytků, vázaných vzájemně peptidovými vazbami. Podle velikosti molekuly rozeznáváme: a) oligopeptidy (2 až 10 vázaných aminokyselin), b) polypeptidy (11 až 100 vázaných aminokyselin), c) proteiny (více než 100 vázaných aminokyselin). V peptidech a proteinech bývá běžně vázáno více jak 20 různých aminokyselin, některé se však vyskytují velice řídké (DAVÍDEK et al, 1983).

Bílkoviny lze rozdělit dle několika kritérií. Podle chemického složení se dělí na jednoduché (složené pouze z aminokyselinových jednotek) a složené (obsahující i nebílkovinnou složku). Složené (kondenzované) bílkoviny se dále mohou dělit na: a) lipoproteiny (obsahují lipidovou složku), b) glykoproteiny (obsahují sacharidovou složku), c) fosfoproteiny (obsahují zbytky kyseliny fosforečné), d) metaloproteiny (obsahují kationty kovů), e) hemoproteiny (obsahují krevní barvivo hemoglobin), f) nukleoproteiny (obsahují části nukleových kyselin). Podle terciární struktury bílkovin je můžeme rozdělit na fibrilární (skleroproteiny, tvar dlouhého vlákna) a globulární (sferoproteiny, tvar klubka). Proteiny se mohou dělit dle jejich rozpustnosti na albuminy (rozpuštěné v čisté vodě) a globuliny (rozpuštěné ve slabých roztocích kyselin, zásad a solí) (html 3).

3.1.3 Syntetické polymery

Z chemického hlediska jsou tyto látky polymery, tj. látky vzniklé polymerací. Polymerace je chemický proces, při kterém se většinou malá jednoduchá molekula, nazývaná monomer, řetězí v mnoha opakováních, až dojde ke vzniku velké molekuly, tzv. makromolekuly. Počet opakování této části molekuly udává polymerační stupeň. Existuje také mnoho polymerů přírodního původu, jako například škrob, celulóza aj. Do této skupiny lze zařadit některé druhy aditiv, například některá změkčovadla, tvrdidla (snižují tvárnost a zvyšují mechanickou odolnost), plniva (zvětšují objem), retardéry hoření (zpomalují hoření nebo mu přímo zabraňují), pigmenty (dávají materiálu jinou barvu, mohou chránit proti účinkům UV záření), antioxidanty (html 4).

Syntetické polymery rozdělujeme: 1) podle typu chemických reakcí, kterými vznikají, na: a) polymery připravené polymerací, b) polymery připravené polykondenzací, c) polymery připravené polyadící. 2) Podle tvaru makromolekulárního řetězce na polymery a) lineární, b) rozvětvené, c) plošně zesíťované, d) prostorově

zesíťované. 3) Podle struktury a fyzikálních kritérií na: a) termoplasty – zahříváním měknou, stávají se plastickými a mohou se opakovaně tvarovat např. polyetylen, polypropylen), b) termosety – přechodně tvárné, zahříváním se chemicky mění a tím ztrácejí plastičnost; mají molekulu trojrozměrně zesíťovanou, jsou tvrdé, netavitelné a nerozpustné ve většině rozpouštědel (např. bakelit), c) elastomery – pružné, účinkem vnější síly se deformují a poté opět zaujímají původní tvar, zahříváním měknou; mají dlouhé a velmi málo propojené řetězce (např. syntetický kaučuk) (KOOLMAN, RÖHM, 2012).

3.2 Pektiny a jejich rozdělení

Pektiny jsou polysacharidy skládající se z molekul glykosidicky vázané D-galakturonové kyseliny. Je to komplex koloidních polysacharidů rostlinného původu, které obsahují značné množství vázaných anhydrogalakturonových jednotek, pravděpodobně v řetězovém uspořádání. Karboxylové skupiny těchto galakturonových kyselin mohou být částečně esterifikovány metanolem nebo částečně, příp. zcela neutralizovány různými kationty. Jednotky galakturonové kyseliny jsou spojeny glykosidicky α (1→4) vazbou. Jednotky s volnou karboxylovou skupinou se snadno štěpí, esterifikované zřetelně hůře (KODET et al., 1993).

Polysacharidy vyztužují a zpevňují pletiva rostlin a tkáně některých živočichů a buněčné stěny mnohých mikroorganismů, dodávají jim pevnost a elasticitu. Podstatnou část stěn buněk rostlin a některých bakterií a hlavní součást podpurných tkání rostlin tvoří celuloza. Její vláknité molekuly vznikají spojováním 1 400 až 10 000 zbytků D glukosy β (1→4) glykosidickými vazbami. Při částečné hydrolyse celulosy vzniká převážně celobióza, která je považována za stavební jednotku tohoto polysacharidu. Stavební funkce plní v rostlinách a některých mikroorganismech i řadu dalších polysacharidů. Částečně methylované poly-D-galakturonové kyseliny s vazbami α (1→4), zvané pektiny jsou přítomny ve střední buněčné lamelle ovoce a v jiných rostlinných pletivech (VODRÁŽKA, 1996).

Pektiny jsou skupinou značně polydisperzních polysacharidů o proměnném složení. Nacházejí se v pletivech vyšších rostlin jako součást stěn primárních buněk a mezibuněčných prostor. Vznikají a ukládají se hlavně v ranných stádiích růstu, kdy se zvětšuje plocha buněčných stěn. Přítomnost pektinů a jejich změny během růstu, zrání,

skladování a zpracování mají značný vliv zejména na texturu ovoce a zeleniny (VELÍŠEK (b), 2002).

Pektin je lineární polymer, jehož základní struktura je tvořena řetězcem jednotek kyseliny D-galakturonové propojených glykosidickou vazbou α (1 \rightarrow 4). V hlavním řetězci se po určitém úseku vyskytuje L-rhamnosa, na kterou se vazbou α (1 \rightarrow 4) váží neutrální cukry (KADLEC et al, 2009).

Podle VELÍŠKA (2002) je základní struktura tvořena lineárním řetězcem 25-100 jednotek D-galakturonové kyseliny, která se také nazývá polygalakturonová kyselina (viz **obrázek 1**). Jednotky galakturonové kyseliny jsou do různého stupně (průměrně ze 70 %) esterifikovány metanolem, některé α -D-galaktopyranuronáty nebo methyl-(α -D-galaktopyranuronáty) jsou acetylovány v poloze C-2 nebo C-3. Volné karboxylové skupiny galakturonové kyseliny mohou být neutralizovány různými kationy.

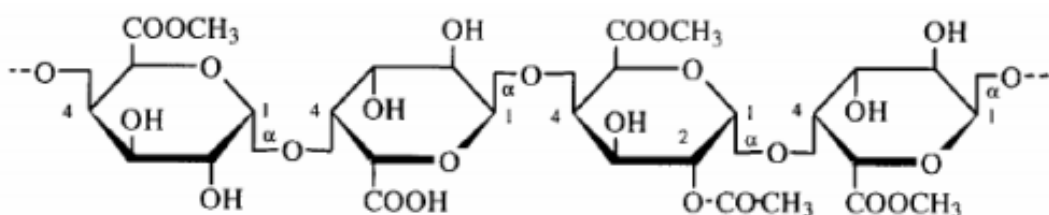
Pektiny mohou být také definovány jako směsi polysacharidů hojně se vyskytující v ovocných šťávách, zvláště v citrusových plodech a ve slupkách jablek. Často doprovázejí celulosu v membránách rostlinných buněk. Hlavní složku pektinů tvoří pektinová kyselina, tj. poly-D-galakturonová kyselina s (1 \rightarrow 4)- α -glykosidickými vazbami (viz **příloha 1**). Dále obsahují D-galaktan a L-araban. Karboxylové skupiny bývají částečně (okolo 10 %) esterifikovány metanolem (ČERNÝ, TRNKA, 1995).

V buněčných stěnách rostlinných pletiv jsou uloženy ve vodě nerozpustné nativní pektinové látky, vázané s celulosou (pektocelulosa). Jsou hlavní příčinou tvrdosti nezralého ovoce a přispívají i k pevnosti jiných rostlinných pletiv. Při postupujícím zrání plodů se enzymaticky štěpí, při stárnutí některých jiných morfologických částí rostlin se naopak mohou nahrazovat sloučeninami ještě pevnějšími (dřevnatění). Přirozené enzymové štěpení nativních pektinových látek během předklizňového uzrávání plodů obstarávají hlavně glykosid-hydrolasy, jejichž funkční soubor byl dříve označován jako protopektinasa (KYZLING, 1988).

Jedná se o gelotvorné činidlo, které v sobě obsahuje buněčnou strukturu, posiluje a podporuje jako "spojovací látka" strukturu rostlinné tkáně. Různá množství pektinu mohou být extrahována z různých surovin, například výlisky 10-15%, cukrová řepa 10 až 20%, citrusové slupky 20 až 35%. Vysoce hodnotné pektinové látky jsou přítomny v drti, nejvyšší koncentrace jsou uloženy v buněčné stěně. V rostlinné buňce, konkrétně v její stěně, jsou molekuly pektinu pevně spojeny s jinými molekulami, odkud je nelze extrahovat vodou. Tato ve vodě nerozpustná forma se nazývá

protopektin. Protopektin se stane rozpustným jen pomocí kyselé hydrolýzy a poté se extrahuje horkou vodou (html 5).

Pektin je zvratný koloid, to znamená, že může být rozpuštěn ve vodě, vysrážen, vysušen a opět rozpuštěn, aniž se změní jeho fyzikální vlastnosti. Přídavkem vody k suchému pektinu vzniká nejprve hmota podobná pastě. Pasta se mění v rosol, když přijde do vody a rosolovatění se urychlí zahřátím a přidáním cukru. Přídavkem alkoholu a různých minerálních solí se pektin vysráží. Toto vysrážení je elektrolytická koagulace. (KÁC, 1952).



Obrázek 1 – Základní struktura pektinu (VELÍŠEK (a), 2002).

3.2.1 Rozdělení pektinů z hlediska esterifikace

Kyselina galakturonová je částečně esterifikována metanolem. Poměr mezi esterifikovanými jednotkami a celkovým počtem jednotek kyseliny galakturonové v řetězci se nazývá stupeň esterifikace (viz **tabulka 1, příloha 2,**). Tento poměr má významný vliv na vlastnosti pektinu, především na schopnost vytvářet rosoly (DOBIÁŠ, 2004).

Esterifikace je poměr mezi esterifikovanými a neesterifikovanými karboxyly, tedy poměr mezi COOH₃ a COOH. Stupeň esterifikace slouží k rozčlenění pektinů do skupin, které se liší vlastnostmi a způsobem použití v konzervářenském průmyslu. Podle stupně esterifikace tedy dělíme pektiny na:

- a) vysoce esterifikované (≥ 70 %)
- b) středně esterifikované (50 – 70 %)
- c) nízce esterifikované (≤ 50 %) (GOLIÁŠ, NĚMCOVÁ, 2009).

Při používání vysokoesterifikovaného pektinu (70 % jednotek esterifikováno) pro výrobu ovocných pomazánek, je vždy nutné přidat značné množství cukru. Ten způsobí porušení hydratačního obalu pektinu a obnažení reakčních skupin, které se při tvorbě gelu spojují prostřednictvím vodíkových můstků a dalších nekovalentních vazeb.

Přídavek kyseliny upravuje pH prostředí na kyselé (2,6–4,1) tak, aby nedocházelo k disociaci neesterifikovaných karboxylových skupin a ke vzniku iontů a následnému odpuzování molekul. Dostatečná údržnost výrobků s vysokoesterifikovaným pektinem bývá zajištěna vysokým obsahem refraktometrické sušiny (alespoň 65 %) (VOTAVOVÁ, 2012).

Při současném trendu snižování energetické hodnoty potravinářských výrobků je také snaha omezit obsah cukru v ovocných pomazánkách nebo nahradit sacharózu nekalorickými sladidly. Při výrobě takových výrobků se využívají rosolotvorná činidla schopná tvořit gel i v prostředí s nízkým obsahem cukru, např. nízkoesterifikovaný pektin (stupeň esterifikace 36–38 %) nebo algináty či karagenany. Pro tvorbu rosolu je u nízkoesterifikovaného pektinu nutná přítomnost Ca^{2+} iontů. Tyto ionty umožní zesílení pektinových řetězců tak, že propojí vždy dvě karboxylové skupiny molekul kyseliny galakturonové. Problémem je najít optimální množství Ca^{2+} iontů, které je potřebné pro vytvoření rozstíratelného gelu požadované pevnosti. U obvykle používaného pektinu se množství pohybuje okolo 25–30 mg Ca^{2+} / 1 g pektinu. Vápenaté ionty se dodávají ve formě různých vápenatých solí, např. laktátů, hydrogenfosfátů nebo chloridů (KADLEC et al, 2009).

Tabulka 1 – Obsah galakturonové kyseliny (GalA), stupeň esterifikace (SM) a acetylce (SA) pektinů různého původu (VELÍŠEK (a), 2002).

Zdroj pektinu	GalA (%)	SM (%)	SA (%)
Meruňky	64	57	8
Broskve	90	79	4
Hrozny	63	69	2
Mrkev	61	63	13
Brambory	40	53	15
Řepa cukrová	65	62	35

3.2.2 Rozdělení pektinů – Neutrální pektiny, kyselé pektiny a pektinové kyseliny

Vlastní pektiny považujeme za lineární makromolekulární koloidy, které se skládají z řady molekul kyseliny galakturonové, spojených mezi sebou glykosidicky, kyslíkovými můstky. Větší nebo menší část molekul galakturonové kyseliny má

esterifikovánu karboxylovou skupinu metylalkoholem. Jsou-li esterifikovány všechny karboxylové skupiny polymeru, mluvíme o neutrálním pektinu, je-li jich esterifikována část, mluvíme o pektinech více nebo méně kyselých (soli = pektinany) a není-li esterifikována žádná, mluvíme o pektinových kyselinách (soli = pektany)(KYZLINK, 1951).

3.2.3 Rozdělení pektinů z hlediska obsahu neutrálních cukrů

Pektiny obsahují kromě hlavních řetězců galakturonové kyseliny přerušované rhamnosou ještě řadu neutrálních cukrů v postranních řetězcích. V největším množství je přítomna L-arabiosa a D-galaktosa, méně často D-xylosa, D-glukosa, D-mannosa, L-fukosa a D-glukonová kyselina. Obsah významnějších neutrálních cukrů v některých případech uvádí **tabulka 2** (VELÍŠEK (a), 2002).

Tabulka 2 – Obsah galakturonové kyseliny a neutrálních cukrů v některých pektinech (VELÍŠEK (b), 2002).

	GalA (%)	Rha+Fuc (%)	Ara (%)	Xyl (%)	Man (%)	Gal(%)	Glc (%)
Jablka	58,0	3,0	23,0	1,0	1,0	5,0	3,0
Mrkev	54,7	3,8	11,7	0,2	0,7	8,3	1,2
Brambory	43,6	1,3	7,0	0,4	0,5	5,5	4,5

Pektiny tvoří komplexy s celulosou (pektocelulosa) i s jinými polysacharidy (arabinany, galaktiny). Jednotlivé složky těchto komplexů jsou spojeny příčnými vazbami vytvářenými kyselinou fosforečnou a ionty Ca^{2+} a Mg^{2+} (VODRÁŽKA, 1996).

Přírozené enzymatické štěpení obstarává enzym, případně enzymový komplex, zvaný protopektináza. Uměle je možno provést rozklad zahříváním pektinů v kyselém prostředí (kyselá hydrolýza – nejlépe za tlaku a teploty okolo 100 °C). V tom i onom případě vzniká celulosa a tzv. protopektiny. Ty se mohou zásahem těchto činitelů dále štěpit na vlastní pektiny a těžko oddělitelné doprovázející glycidy (např. galaktosa a arabany)(KYZLINK, 1951).

3.2.4 Rozdělení pektinů z hlediska rozpustnosti

Pektinové látky jsou složité struktury obsahující malá množství ferulové kyseliny esterově vázané na neutrální cukry a dělí se do skupin podle rozpustnosti na rozpustné pektiny, kam patří pektinové kyseliny. Jsou to polygalakturonáty s větším množstvím methylových skupin. Soli pektinových kyselin se nazývají pektinany a jsou lépe rozpustné než volné kyseliny. Enzymy katalyzující štěpení pektinových kyselin jsou lyázy. Dále do této skupiny lze zařadit pektové kyseliny – neesterifikované polygalakturonáty tvořící soli - pektáty. Enzymy působící na tyto látky se nazývají hydrolázy a doprovodné neutrální polysacharidy – například arabinany a arabinogalaktany různých struktur. Druhou část tvoří nerozpustné pektiny, kam patří protopektiny – nativní pektiny buněčných stěn asociované s celulosou. Společně s hemicelulosou tvoří páteř buněčné stěny. Hydrolýzou enzymu zvaného protopektinása se přeměňují na rozpustné nízkomolekulární pektinové látky (OPLETAL, 2011).

3.3 Výroba technického pektinu

Pektin je čištěný sacharidický preparát, získaný ze zředěného kyselého extraktu vnitřní části kůry citrusového ovoce, nebo z jablečných výlisků. Obchodní preparát je zředěn z důvodu standardizace sacharózou a je vždy smísen s vhodným potravinářským pufrem pro úpravu pH a jeho udržení. Obchodní preparáty jsou specifikovány hodnotou pH, geletvornou mohutností, viskozitou, stupněm esterifikace a charakteristikou prostředí (KODET et al, 1993).

Při výrobě komerčního pektinu je hlavním cílem získat ve vodě rozpustné pektiny s co největším stupněm esterifikace, s vysokou molekulovou hmotností a výtěžkem. Většina pektinů se vyrábí extrakcí horkým vodným roztokem kyseliny s následujícím vysrážením v organickém rozpouštědle (viz **příloha 9**). Extrakční doba a teplota se mění v závislosti na surovině a požadovaném konečném produktu (IMESON, 2010).

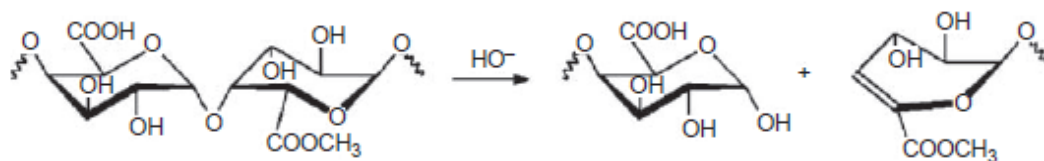
Kůra citrusových plodů jako vedlejší produkt průmyslu zpracování citrusů, je vhodným zdrojem pektinu. V průmyslové výrobě, se pektin získává tím, že se kůra ponoří do vody, tato směs se uvede do varu a přidá se koncentrovaná kyselina chlorovodíková, sírová, dusičná nebo jiný druh kyseliny k dosažení pH na hodnotu 2,0. Filtrace extraktu je zdoluhavý proces, protože extrakt obsahující pektin s rozpadlou slupkou je korozivní a viskózní. Slupka mandarinky (včetně Citrus Ushiu, což

představuje více než 80% z citrusového ovoce vyrobeného v Japonsku), není vhodná jako surovina pro tento proces, protože kůra je křehká, a po zahřátí se stává kašovitá, což zabraňuje separaci pektinu od zbytků. Proto v Japonsku není pektin vyráběn chemicky. SAKAI, OKUSHIMA (1980) se pokusili o výrobu pektinu novým mikrobiálním způsobem, jakým pektiny mohou být enzymaticky extrahovány, bez macerace kůry (SAKAI et al, 1993).

V posledních letech byly patentovány různé alternativní postupy, většina pektinů je však produkována při těžbě surovin s horkou vodnatou minerální kyselinou. Cílem je vždy výroba suspenze, která obsahuje pevný zbytek, který může být snadno oddělen od kapalné fáze. Kapalný extrakt může být zpracován tak, že se odstraní nečistoty (centrifugace, filtrace) předtím, než se přistoupí k izolaci pevného pektinu (PHILLIPS, WILLIAMS, 2009).

Továrna na výrobu pektinů přijímá zbytky jablek, citrusů nebo pomerančové kůry od výrobců šťáv. Ve většině případů je tento materiál dostatečně promyt a vysušen, takže je možné jej přepravovat a skladovat bez znehodnocení. Je-li zapotřebí mokré kůry citrusů, musí být využito ihned na příjmu z důvodu rychlé zkázy. Surovina je ponořena do horké vody, obsahující pomocnou látku, obvykle minerální kyseliny nebo enzymy. Samotná voda bude extrahovat jen velmi omezené množství pektinu. Poté, co se extrahuje pektin, zbývající pevná látka se oddělí a koncentruje se tím, že se odstraní část vody. Pevné látky mohou být odděleny filtrem, odstředivkou nebo jinými prostředky. Tyto roztoky se znovu filtrují, dokud je potřeba (HUI, BARTA, 2006).

Po předčištění surového materiálu, kůry nebo výlisků, dojde k promíchání s horkým vodným roztokem kyseliny, ve kterém se z buněčných stěn uvolní pektin pomocí chemické reakce způsobené nízkým pH a vysokou teplotou. Typické těžební podmínky jsou kombinací rozsahu teplot 50-90°C po dobu 3-12 hodin a pH 1-3. Při výrobě nízké esterifikovaného pektinu, je žádoucí kombinace nízkého pH a nízké teploty, protože tyto podmínky jsou příznivé pro hydrolýzu esterových vazeb přes hydrolýzu glykosidickými vazbami. Pektiny mohou být také extrahovány zásadami. Nicméně, v neutrálních a alkalických podmínkách, je pektin velmi náchylný k beta-eliminaci (viz **obrázek 2**), přičemž glykosidické vazby z pektinového pevnostního charakteru jsou štěpeny v důsledku snížení molekulové hmotnosti. Proto se extrakce zásadami nepoužívá pro výrobu komerčního pektinu často. Následuje filtrace, kdy dojde k odstranění nerozpustné rostlinné tkáně. Jako filtrační látku lze využít dřevo, celulózu nebo perlit. (IMESON, 2010).



Obrázek 2 Mechanismus β -eliminace (IMESON, 2010).

Nejčastěji používanou metodou je smíchání koncentrovaného extraktu s organickým rozpouštědlem, ve kterém je pektin nerozpustný. Podle mezinárodních potravinářských norem lze použít jako organická rozpouštědla pouze methanol, ethanol, nebo isopropanol. Takto pročištěný pektinový extrakt se smíchá s dostatečným množstvím alkoholu, čímž se získá natolik pevná sraženina, kterou lze, podle výrobcem zvolené technologie (filtrace nebo odstředění), odejmou. Promývací kapalina může obsahovat dostatečné množství zásad k úpravě pH na požadovanou hodnotu. Jakmile se pektin izoluje oddělením od alkoholu, vysuší se a rozemele na jemný prášek. Pektin vyrobený tímto způsobem, bude mít vysoký stupeň esterifikace, viskozitu, proměnlivou pevnost gelu, v závislosti na povaze a kvalitě surovin. Může být upravena smícháním jednoho nebo více dávek s cukrem, čímž se získá standardní provedení (PHILLIPS, WILLIAMS, 2009).

Výsledný pektin je bílý, někdy nažloutlý, výjimečně světle hnědý prášek. Obsahuje minimálně 65 % kyseliny galakturonové, bráno na sušinu bez popela. Maximálně 25 % karboxylových skupin smí být amidováno (KODET et al, 1993).

Obrázek 13.3 znázorňuje zjednodušené schéma výrobního procesu. (IMESON, 2010)

3.4 Mechanismus gelů

Gely mají souvislou síť pevného materiálu, který obklopuje kapalnou fázi. Pevná látka se obvykle skládá z molekul s dlouhým řetězcem ve struktuře fibril propojených primárními nebo sekundárními vazbami na dělicích místech podél celé molekuly. Gely demonstrují vlastnosti obou pevných látek a kapalin. Podobnost s pevnými látkami se odráží v jejich strukturální tuhosti a charakteristické pružné reakci. Pro kapaliny v jejich stlačitelnosti, elektrické vodivosti a tlaku par. Gelování začne s kontinuálním poklesem Brownova pohybu koloidních částic uzavřených uvnitř gelu. Tento pokles

pochází z použití dlouhého doletu sil mezi molekulami, který v sekvencích vede k hydrataci a soudržnosti částic. Následně se zvýšením viskozity vyrovná postupující gelovatění: kapalina je absorbována pevnou látkou a následně pomalu imobilizována. Frakce z velkého molekulárního prostoru v síti mohou také reagovat s jinými částmi a přispět tak ke zvýšení tuhosti celé konstrukce (NUSSINOVITCH, HIRASHIMA, 2014).

Vzhledem k tomu, že pektin je nabitý hydrokoloid, je citlivý na změny pH, a na druh a množství kationtů přítomných v systému. Gelovatění lze považovat za stav mezi rozpustností a vysrážení polymeru, a proto záleží na charakteru rozpouštědla (PHILLIPS, WILLIAMS, 2009).

Kooperativní interakce mezi lokálně uspořádanými polymery způsobuje silnou meziřetězcovou interakci vytvářející 3D-síť. Speciálně H-vázané systémy, v Karagenan, gellanu, agaróza nebo pektinu s vysokým stupněm esterifikace tvoří termoreverzibilní gely (viz **příloha 3**). Tyto gely jsou založeny na termodynamických vlastnostech systémů a řízení teploty. V přítomnosti K^+ protiiontu existují silné interakce s polyelektrolyty tvořící iontové páry, které snižují náboj a rozpustnost (NISHINARI, DOI 1993).

Sdružení pektinových řetězců vede k tvorbě trojrozměrných sítí, které slouží k tvorbě gelu. Dva nebo více řetězových segmentů se spojuje dohromady a začíná komunikovat. Jedná se o delší segmenty pravidelné sekvence, které jsou narušené začleněním rhamnosy nebo větvením řetězců. Existují různé typy asociací řetězců a jsou určeny stupni esterifikace. Pro vysoce esterifikované pektiny platí dva rozhodující faktory ovlivňující tvorbu gelu: 1) přidavek sacharózy nebo jiných cukrů, který má dehydratační účinek na molekuly pektinu, což usnadňuje přístup polymeru a umožňuje křížové vazby s vodíkovými můstky, 2) snížení pH na střední hodnotu, což potlačuje disociaci volných karboxylových skupin a tím snižuje elektrostatické odpuzování mezi řetězci (html 5).

Jak už bylo uvedeno, existují různé typy asociací řetězců, které jsou určeny stupni esterifikace. Čím vyšší je stupeň esterifikace tím je také vyšší hodnota pH, která při gelaci nastává. Zcela methoxylovaný pektin (100% stupeň esterifikace), nemusí tudíž vyžadovat pro tvorbu gelu jakoukoliv kyselinu (WALTER, 1991).

Tuto tezi potvrzuje i (VELÍŠEK (a), 2002), který popisuje mechanismus tvorby gelu závislý na stupni esterifikace pektinu. Vysokoesterifikované pektiny tvoří gely s cukrem v kyselém prostředí. Cukr váže vodu a snižuje tak stupeň hydratace pektinu. Kyseliny potlačují disociaci karboxylových skupin. Čím je vyšší stupeň esterifikace, tím

menší množství kyselin je potřeba. Totálně esterifikovaný pektin tvoří gely pouze s cukrem. Rychle želírující pektiny tvoří gel při pH 3,3, pomalu želírující při pH 2,8. Gely nejsou termoreverzibilní. Avšak v přítomnosti alginátu sodného se v kyselém prostředí (pH<3,5) tvoří pevnější gely a to i bez přídavku vápníku a při nízké koncentraci cukru. V tomto případě jsou gely termoreverzibilní.

Požadovaná vysoká koncentrace cukru pro želírování vysoce esterifikovaných pektinů může být vysvětlena tím, že některé cukry mají navíc stabilizační účinek na hydrofobní interakce. Nízce esterifikované pektiny také želírují podle mechanismu, který je popsán výše. Mohou však tvořit gel i v relativní nezávislosti na obsah rozpustné sušiny a hodnoty pH, pokud jsou přítomny multivalentní kationty, např. ionty vápníku. Pektinové řetězce se během procesu gelovatění shlukují. Vzhledem k jejich ohnutému tvaru vytvářejí mezi sebou dutiny, které obsahují karboxylové a hydroxylové skupiny. Obě tyto formace dutin karboxylových a hydroxylových skupin jsou příznivé pro spojování pektinových řetězců pomocí vápníkové gelace. Pokud jde o nízce esterifikované, amidové pektiny, přidané vazby pomocí vodíkových můstků jsou vytvořeny vzhledem k přítomnosti amidových skupin. Čím více amidových skupin je přítomno, tím více vazeb je možno vytvořit pro výsledné pevnější gely (html 5).

Vysoce esterifikovaný pektin suspenduje do studené směsi alkoholu a vody v přítomnosti amoniaku a tím vznikají "amidové" pektiny. V průběhu tohoto procesu jsou esterové skupiny nahrazeny amidovými skupinami, a výsledný amidový pektin má tendenci být více tolerantní k iontům vápníku a má nižší gelující teplotu při aplikaci ve srovnání s konvenčním, nízce esterifikovaným pektinem. Pro zvýšenou toleranci k vápníku je nízce esterifikovaný, amidový pektin mnohem lépe využitelný u ovocných výrobků, než nízce esterifikovaný konvenční pektin (HOEFLER, 2004).

Aby se vytvořil stabilní gel, musí být přítomno alespoň 65 až 70 % cukru, který váže vodu a snižuje tak hydrataci pektinu, pH má mít hodnotu 3,0, neboť v kyselém prostředí se zvýší přitažlivé síly mezi polárními skupinami pektinu a molekulami vody, čímž se pektin udržuje v dispergovaném stavu. Tvorba gelu v přítomnosti pektinu je reverzibilní a zahřevem se gel opět ztekutí (DAVÍDEK et al, 1983).

Nízkoesterifikované pektiny (< 50 % esterifikovaných karboxylových skupin) tvoří gely jen v přítomnosti vápenatých iontů. Želatinace závisí na teplotě, pH, iontové síle a množství přidaného vápníku. V kyselém prostředí (pH 3,5) je potřeba k želatinaci více vápníku než v prostředí méně kyselém. Kombinovaný vliv pH a přídavku cukru

vede k tvorbě gelu při snížené koncentraci iontů Ca^{2+} . Gely z nízkoesterifikovaného pektinu jsou termoreverzibilní (VELÍŠEK (b), 2002).

Mechanismus gelovatění a struktury gelů je v současné době předmětem teoretického a experimentálního zájmu. Otázky týkající se stupně heterogenity gelů (závislost tepelné stability a gelové kompozice) zůstávají do značné míry nezodpovězeny. Rozmanité morfologie, které mohou být vytvořeny v určitém druhu gelu, byly analyzovány z hlediska teoretického modelu mechanismu tvorby gelu, fázi kapalina-kapalina. Ve formě gelu, který se vyvíjí v důsledku tvorby spojení zón krystalů, je podrobně analyzován vztah mezi řetězci polymerů a kinetickou krystalizací. Gely jsou velmi důležité kvůli svému technologickému významu, především v potravinářském a obalovém průmyslu (DICKINSON, 1991).

Rosolování ovocných pomazánek závisí na několika činitelích, z nichž nejdůležitější je pektin (BALAŠTÍK, 1975).

Přesnou dobu ukončení varu ovocných pomazánek lze definovat podle rosolotvorných zkoušek: a) vařící rosol se kápne na studený talířek, po vychladnutí se zkusí kapka posunout prstem. Zůstane-li kapka v celku, rosol je hotový, b) kápnutím malého množství rosolu do studené vody. Pokud kapka klesne celistvá na dno nádoby (nesmí se roztříštit), je rosol hotový, c) do rosolu ponoříme vařečku, vyjmeme ji a otáčíme ji ve vodorovné poloze, až rosol tuhne. Stéká-li rosol v souvislé vrstvě a pak padá ve větších kusech (ne po kapkách), je rosol hotový (VLACHOVÁ, 1986).

3.4.1 Ovlivňující činitelé – Suroviny

Kritéria kvality pro výrobu marmelád a džemů rozhodujícím způsobem určuje chuť, barva a konzistence, stejně jako stav distribuce ovoce. Charakteristická povaha konečného produktu je dále určena přidáním cukrů, pektinu a jablečné kyseliny (html 5).

Vyhláška č. 153/2013 uvádí následující definici pro požadovaný stav surovin: ovoce musí být bez stop červivosti, bez vegetačních deformací plodů, bez zbytků stopek, listů a dalších organických a anorganických mechanických příměsí, zbavené jádřinců, s peckami nebo bez pecek, loupané nebo neloupané, celé nebo dělené na přibližně stejné díly, velikost jednotlivých složek v obalu vyrovnaná, řezy neroztřepané. Z hlediska chutě a vůně musí být přirozená, svěží, odpovídající použitým druhům ovoce, bez cizích příchutí a pachů (Vyhláška č. 153/2013).

Čerstvé ovoce se pro vysoké náklady a ze sezónních důvodů používá pouze v menším množství. Proto se nejvíce pro výrobní účely využívá ovoce zmražené, konzervované nebo ovoce ošetřené použitím oxidu siřičitého. Existují kritéria kvality pro použití ovoce: optimální stav zralosti, plná ovocná chuť, odrůdově specifická barva, žádné vady (žádné skvrny, žádné otlaky), odpovídající konzistence, obsah rozpustné sušiny v závislosti se standardy jakosti nebo dokonalé hygienické podmínky surovin a obalů (Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008).

Ovoce potřebné pro výrobu džemů by mělo obsahovat dostatek kyselin a pektinu, čímž se dosáhne ideálních podmínek pro výrobu těchto produktů i bez přídavku těchto látek. Avšak v komerční praxi, tohoto ideálního stavu není dosaženo. Některé plody obsahují dostatek pektinu i kyselin pro daný účel, zatímco jiné jsou z hlediska obsahu těchto látek nevyhovující (SINHA et al. 2012).

Z ovoce bohatého na pektin a kyseliny je nejvýznamnější stolní odrůda jablek, ostružiny, rybíz, citron, limetky, grapefruity, pomeranče, kyselé tropické ovoce a kyselé odrůdy hroznů, švestky nebo třešně. Plody s nízkým obsahem kyseliny, ale bohaté na pektin jsou sladké odrůdy třešně a višně, nezralé fíky, zralý meloun a nezralý banán. Plody, které jsou bohaté na kyseliny, ale s nízkým obsahem pektinu, jsou meruňky a většina odrůd jahod. Plody, které mohou být klasifikovány jako obsahující mírnou koncentraci jak kyseliny, tak pektinu, jsou zralé odrůdy vinné révy, zralé ostružiny nebo zralá jablka. Ovoce s nízkým obsahem jak kyseliny, tak pektinu je zastoupeno granátovými jablky, zralými broskvemi, zralými fíky nebo přezrálými hruškami (HUI, BARTA 2006).

V případě ovoce obsahujícího menší množství pektinu, ale bohatého na kyselinu, by mělo být přidáno ovoce bohaté na pektin nebo obchodní pektin. Obě tyto metody mají své výhody. Kombinace ovoce bohatého na kyseliny s ovocem bohatým na pektin je dražší než použití kyseliny nebo komerčního pektinu ale nevýhodou je, že je ovlivněna chuť džemu. Je proto nezbytné, aby bylo zajištěno, že plody se smísí ve vhodném poměru. Na druhou stranu, komerční pektin nemá žádný nepříznivý vliv na chuť konečného produktu vyrobeného z konkrétního ovoce (CRUESS, 1948).

V čerstvém stavu obsahuje šťavnaté, masité ovoce až 80-85 % vody. Dalšími složkami kromě vody, jsou sacharidy, dále organické kyseliny, polymerní uhlohydráty jako pektiny a škroby, dusíkaté sloučeniny, minerály, rostlinné fenoly a vitaminy. Složení ovoce ovlivňuje mimo jiné i druh, stupeň zralosti, podmínky pěstování a klima. Ovocné odrůdy používané při výrobě džemů, rosolů a marmelád musí být speciálně

vybrány pro vlastní obsah pektinu a hodnotu pH a titračních kyselin. Hodnota pH a titrační kyseliny jsou indikátory pro obsah organických kyselin a jejich solí obsažených v ovoci. Oba tyto faktory ovlivňují tvorbu gelu. Při výrobě džemů s vysoce esterifikovanými pektiny je pH obvykle stanoveno v rozsahu 2,8-3,2 (kyselina citrónová), protože tento pH rozsah je velmi příznivý vzhledem k tvorbě gelu, chuti a trvanlivosti. Dalším činitelem ovlivňujícím tvorbu a pevnost gelu je obsah vápníku - nízké esterifikované pektiny a amidové pektiny tvoří gely v kombinaci s vodíkovými ionty. Obecně lze říci, že nerozpustné části ovoce jsou zvláště bohaté na vápník, nicméně veškeré množství vápníku v ovoci není dostupné. Pouze určitou část nazývanou jako „volný vápník“ může pektin využít. Zbývající ionty vápníku zvané též jako „vázaný vápník“ jsou pevně navázány na komplexní činitele (html 5).

3.4.2 Ovlivňující činitelé – Druhy a obsah u kyselin a cukrů

Cukry jsou jednou z hlavních složek džemů, rosolů a marmelád a rozhodujícím způsobem ovlivňují trvanlivost těchto výrobků prostřednictvím obsahu rozpustné sušiny. Zároveň poskytují chuť, aroma, konzistenci a zbarvení. Pro výrobu džemu je většinou používán rafinovaný cukr nebo bílý cukr (sacharóza). Během vaření je sacharóza částečně invertována. Tato chemická reakce (štěpení sacharózy na glukózu a fruktózu) je ovlivněna hodnotou pH, teplotou a časem. Tvorba invertního cukru zabraňuje krystalizaci sacharózy v konečném produktu, na druhé straně kompletní inverze sacharózy může vést ke krystalizaci glukózy v produktu. Džemy a marmelády vyrobené na vakuových vařičích jsou zpravidla jen mírně invertovány (html 5).

Invertní cukr je směs D-glukózy a D-fruktózy, která vzniká kyselou nebo enzymovou (působením enzymu invertázy) hydrolýzou sacharózy. Název je odvozen od toho, že optická rotace této směsi je vlivem D-fruktózy značně záporná (levotočivý roztok), zatímco rotace původní sacharózy je kladná (pravotočivý roztok). Hydrolýza, resp. inverze sacharózy může být úplná nebo částečná, čemuž odpovídá množství získaných jednotlivých cukrů. Úplnou hydrolýzou se získá invert obsahující 47,5 % glukózy, 47,5 % fruktózy a 5 % sacharózy, který vykazuje vyšší stupeň sladkosti, nižší vodní aktivitu a vyšší hygroskopičnost než původní cukerný roztok. Produkt 50% inverze je asi o 20 % sladší než běžný cukr, i než stoprocentně invertovaná sacharóza.

Toho lze využít při přípravě nealkoholických nápojů ke snižování obsahu cukru (html 6).

Kromě rafinovaného cukru nebo bílého cukru lze použít například tekutý cukr, invertní tekutý cukr, invertní cukrový sirup, glukózový sirup, dextrózu nebo lze použít náhražky cukru jako například fruktózu nebo polyoly (html 5).

Pro dosažení optimální pH hodnoty pro proces želírování je přidáno jedlé kyseliny a jejich soli. Nejčastěji se používají tyto přísady: E 270 Kyselina mléčná, E 330 Kyselina citronová, E 334 Kyselina vinná, E 513 Kyselina sírová (celkový přehled kyselin a regulátorů kyselosti viz **obrázek 3**) (BABIČKA, 2012).

Přehled kyselin a regulátorů kyselosti			
E	Název	E	Název
E 327	Mléčnan vápenatý	E 363	Kyselina jantarová
E 330	Kyselina citronová	E 380	Citrát amonný
E 331	Citráty sodné	E 500	Uhličitan sodný
E 332	Citráty draselné	E 501	Uhličitan draselný
E 333	Citráty vápenaté	E 503	Uhličitan amonný
E 334	Kyselina vinná	E 504	Uhličitan hořečnatý
E 338	Kyselina fosforečná	E 507	Kyselina chlorovodíková
E 339	Fosforečnan sodný	E 513	Kyselina sírová
E 340	Fosforečnan draselný	E 514	Síran sodný
E 341	Fosforečnan vápenatý	E 515	Síran draselný
E 343	Fosforečnan hořečnatý	E 522	Síran draselný-hlinitý
E 350	Jablečnan sodný	E 524	Hydroxid sodný
E 351	Jablečnan draselný	E 525	Hydroxid draselný
E 352	Jablečnan vápenatý	E 526	Hydroxid vápenatý
E 353	Kyselina metavinná	E 527	Hydroxid amonný
E 354	Vínan vápenatý	E 528	Hydroxid hořečnatý
E 355	Kyselina adipová	E 529	Oxid vápenatý
E 356	Adipát sodný	E 541	Fosforečnan sodno-hlinitý
E 357	Adipát draselný	E 578	Glukonát vápenatý

Obrázek 3 Přehled kyselin a regulátorů kyselosti (BABIČKA, 2012).

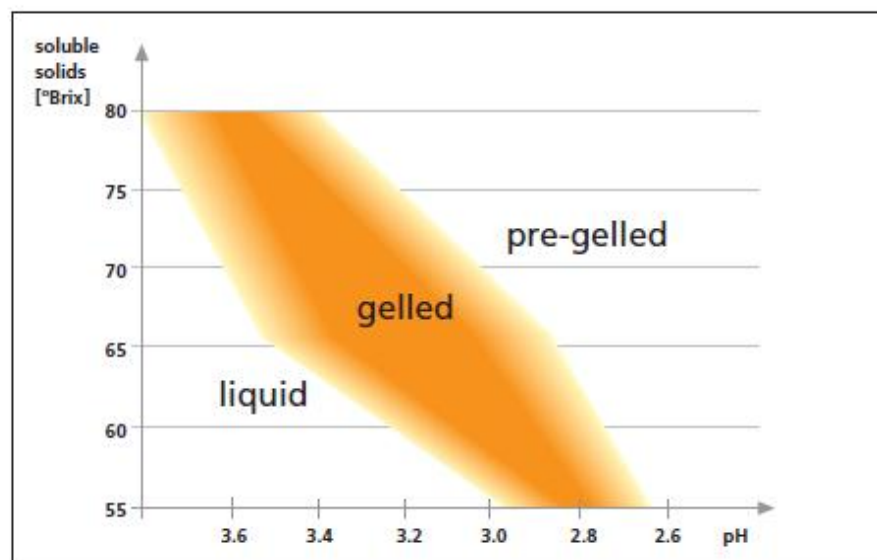
Jedlá kyselina přítomná v ovoci nebo přidána k produktu má tendenci potlačit disociace volných karboxylových skupin v pektinu. Zatímco disociované karboxylové skupiny se odpuzují navzájem vzhledem k jejich podobným negativní nábojům, nedisociované karboxylové skupiny tvoří síťovou strukturu, ve které je voda vázaná (html 5).

Při pH výrazně převyšující hodnotě pK u kyselin má molekula dostatečný negativní náboj, aby se zabránilo želatinaci. Když je hodnota pH postupně snížena,

pektin je schopný při velmi vysokém obsahu cukru tvořit gel (obsah kolem 80% na refraktometrické stupnici). Tento obsah je postupně snižován jako je pH redukováno. U hodnoty pH výrazně pod 3, velmi rychle tuhnoucí pektiny se stupněm esterifikace větším jak 72 % budou tvořit gel při obsahu cukru 55 % nebo méně. Existuje tedy důkaz, že ve spojovacích zónách jsou gelové hydrofobní vazby mezi esterovými skupinami zapojeny stejně jako vodíkové vazby. (OAKENFULL, SCOTT, 1984).

Mírou síly kyselin, tedy jejich kyselosti (acidity), je hodnota disociační konstanty K_A . Disociační konstanta kyseliny K_A je číselným vyjádřením protolytické rovnováhy, která nastane při disociaci kyseliny v roztoku. V praxi se obvykle konstanta acidity vyjadřuje ve formě záporného dekadického logaritmu disociační konstanty kyseliny při teplotě 25°C jako pK_A . Obdobným způsobem se vyjadřuje také síla zásad (bází), mírou jejich síly je disociační konstanta bazicity K_B nebo záporný dekadický logaritmus této hodnoty pK_B (html 7).

Rychle tuhnoucí pektiny se liší v jejich optimální hodnotě pH od pomalu tuhnoucích pektinů. Zatímco pomalu tuhnoucí pektiny dosahují největší pevnost gelu při pH 3,0 a méně, optimální hodnota pH pro rychle tuhnoucí pektiny vystupuje na vyšší hodnoty pH. U extra rychle tuhnoucích přípravků může pH v hodnotě nižší než 3 být velmi nepříznivé, a to zejména v případě, že obsah rozpustné sušiny je zřetelně nad hranicí 60 %. Želírování pak může nastávat během chladicího procesu s reálným rizikem předběžného zgelovatění (html 5).



Obrázek 4 Stanovení rozsahu tvorby gelu u vysoce esterifikovaného pektinu (html 5)

Další pohled na **obrázek 4** objasňuje, proč obsah rozpustné sušiny kolem 60% a hodnota pH 3,0 jsou vhodné pro rychle tuhnoucí preparáty, stejně tak i pro pomalu tuhnoucí pektiny. S vysokým obsahem rozpustné sušiny a při nízké hodnotě pH je nutné použít pomalu tuhnoucí pektiny, protože jinak může dojít k předběžnému zgelovatění; na druhé straně při vysokém obsahu rozpustné sušiny a při vysokých hodnotách pH, jsou rychle tuhnoucí pektiny uváděny jako vhodné, protože jinak dojde ke zkapalnění (html 5).

Je-li obsah cukru konstantní, jak by tomu normálně ve výrobě mělo být, je účinek změny hodnoty pH viděn jako ztráta pevnosti nad kritickou hodnotu pH a vede k postupnému snižování teploty tuhnutí, jako i k zvyšování hodnoty pH směrem k této hodnotě. Velmi vysoká teplota tuhnutí definuje dolní mez praktického rozmezí pH pro tvorbu gelu. Při teplotě tuhnutí, která se blíží bodu varu, je gelová struktura narušena. Protože mechanismus tvorby gelu není plně reverzibilní, kompletní gelové sítě již nemohou vytvářet formace a systém je tak náchylný k synerezi nebo v extrémních případech k nehomogenním přerušným výsledkům (MAY, 1989).

Kyselení pektinové hmoty patří k nejdůležitějším úkonům, neboť přesná dávka kyseliny ve hmotě ovlivňuje kvalitu gelu, využije beze zbytku želírující schopnosti celé dávky pektinu a získá se čas, který je potřebný pro nalití celé dávky hmoty, aniž by došlo k předčasné tvorbě gelu. Při nižší dávce kyseliny želé není pevné a má marmeládovnou konzistenci. Při předávkování kyseliny dojde k rychlé tvorbě gelu, což se projevuje potížemi při dopravě hmoty a lití. Přebytek kyseliny způsobuje i syneresi, tzv. „pocení želé“, gel není schopen pevně vázat vodu. Velmi často se zapomíná, že tvorba gelu začíná ihned po přidavku celé dávky kyseliny a proto by hmota před litím neměla být míchána a dopravována dlouhým potrubím, neboť dochází k rozbití, tzv. stržení gelu i za dodržení základního předpokladu, že teplota hmoty bude okolo 90 °C (BRETSCHNEIDER, ČOPÍKOVÁ, 1984).

3.4.3 Nastavení času a teploty

Teplota je jedním z nejdůležitějších kroků v procesu výroby džemů, protože rozpouští cukr a způsobuje sjednocení cukru, kyseliny a pektinu, které dohromady tvoří ucelenou strukturu. To obvykle způsobuje koagulaci určitých organických sloučenin, které mohou být odstředěny z povrchu v průběhu varu a jejich odstraňování činí želé

jasnější. Hlavním účelem varu je zvýšení koncentrace cukru do bodu, kdy dochází k želírování (ASHISH, 1988).

Technologický krok – var je nezbytnou částí v procesu výroby džemů, a tento úsek by měl být co možná nejkratší. Prodloužení varu je spojeno se ztrátami chuti a vůně, změnami barvy a hydrolýzou pektinu, a důsledkem toho je také nedostatečná pevnost gelu. Při výrobě džemu je žádoucí koncentrovat produkt odpařením přebytečné vlhkosti. Ve velkovýrobách se vaření obvykle provádí v otevřených varných nádobách z nerezové oceli. Při varu by měla být šťáva nebo ovocná pulpa promíchávána, pokud je třeba odstranit koagulovaný materiál z povrchu, je nutno jej seškrábnout. Var pokračuje až do dalšího technologického kroku-chlazení, kdy bude produkt tvořit požadovanou konzistenci. Nejběžnější způsob stanovení koncové fáze je tím, že se hmota aplikuje na velkou lžici. Pokud se hmota chová jako sirup, proces ještě není dokončen. Pokud se hmota částečně zpevnila a rozbíjí se na ploše lžičky nebo tvoří gelovitou strukturu, bod varu je považován za ukončený. Řádnými kontrolami teplot varu je zabráněno nadměrné koncentraci rozpustných pevných látek, inverzi cukru a hydrolýze pektinu (HUI, BARTA 2006).

Je dobře známo, že vysoká teplota snižuje želírující schopnost pektinu. Minimální teplota, při které degradace pektinu probíhá, není definována. Když je pektin extrahován zahříváním pod tlakem, ztrácí své vlastnosti tvorby gelu. Pokud je pektin zahříván na 100 ° C po dobu 30 minut, ztrácí polovinu své gelotvorné schopnosti. Přidáváním cukru lze snížit důsledky hydrolýzy pektinu, a proto by celý proces výroby neměl probíhat bez přídavku cukru. Proces varu by měl být prováděn pouze v nádobách z nerezové oceli, hliníku, skla nebo smaltovaného materiálu. Měděné a železné kotle nejsou vhodné především kvůli vzájemné interakci kyselin a solí, která může vést i k odbarvení extraktu (VERMA, JOSHI 2000.)

Vysoce esterifikované pektiny tuhnou rychleji a při vyšších teplotách než pektiny s nižším stupněm esterifikace. Gelace extrémně vysoce esterifikovaných pektinů, jak bylo prokázáno při testování, může začít již při 90 ° C (194 ° F), u nízce esterifikovaných pektinů při teplotě 60 ° C (140 ° F). Na základě těchto rozdílů v nastavení teploty a nastavení času, jsou tyto typy pektiny rozděleny jako:

- Velmi rychlé tuhnutí s velmi vysokým nastavením teploty (Pektin Classic AF 101, pektin Classic CF 101)
- Rychlé tuhnutí s vysokou teplotou (Pektin Classic AF 201, pektin Classic CF 201)
- Středně rychlé tuhnutí se středním nastavením teploty (Pektin Classic AF 401, pektin Classic CF 301)
- Pomalé tuhnutí se středním nastavením teploty (Pektin Classic AF 501, pektin Classic CF 401)

Nastavená teplota závisí vedle suroviny, výrobní technologie a stupni esterifikace, také na obsahu cukru a hodnotě pH výrobku, jakož i na přidaném množství pufracích solí a rychlosti ochlazování. Doba tuhnutí je definována jako čas, ve kterém ovocný přípravek začíná krystalizovat při určité, konstantní teplotě po ukončení procesu vaření. U rychle tuhoucích pektinů se vyžaduje 10 minut při teplotě 90 °C (194 °F), u pomalu tuhoucích pektinů je vyžadováno 20 minut při teplotě 65 °C (149 °F) (html 5).

Molekulární struktura pektinu je poměrně odolná vůči teplu. Při pH přibližně 3,5 je pektin při vysokých teplotách depolymerován pouze okrajově. Tepelná stabilita pektinu se výrazně zlepšuje, když se aktivita vody v systému sníží přidáním cukru (html 8).

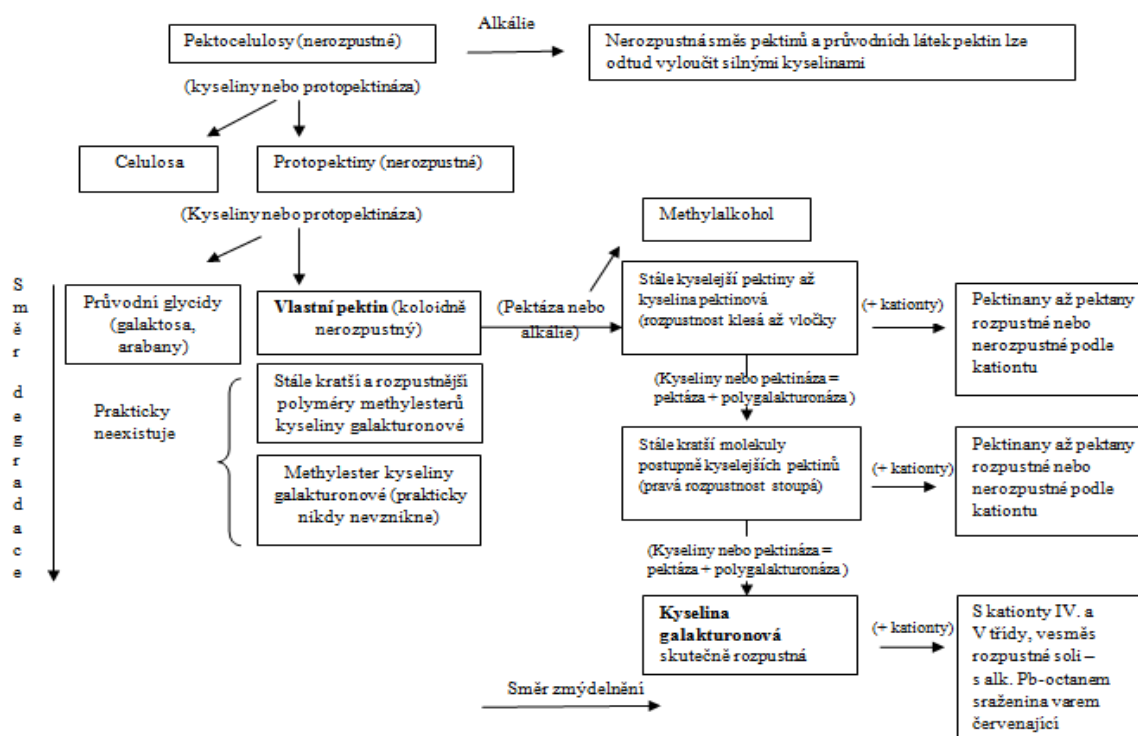
V roztoku jsou pektiny mnohem více ohroženy degradací než v práškovém stavu. Přítomnost cukru v roztoku do určité míry pektiny chrání, zvyšující se teplota naopak degradaci urychluje. Obecně nejvyšší stabilitu vykazují roztoky při pH = 3,5 – 4,0. Při pH nižším než uvedený interval a vyšší teplotě dochází k hydrolýze glykosidických vazeb (a tím ke ztrátě rosolotvorné mohutnosti) a k deesterifikaci pektinu. Při snížení teploty je významná jen deesterifikace. Zvýšení teploty vede okamžitě k tzv. beta eliminaci - velmi rychlému štěpení pektinového řetězce, poklesu viskozity a rosolotvorných schopností pektinu. Při teplotě 80 °C a pH 3,4 dochází po dvou hodinách zahřívání ke ztrátě rosolotvorné mohutnosti o 10 - 15 °SAG. Při teplotě 100 °C a stejném pH dochází ke stejné ztrátě již za 20 minut. Částečnou ochranou proti rozkladu pektinu je přítomnost cukru (DOBIÁŠ, 2004).

3.5 Enzymové reakce pektinů

Enzymy přítomné v ovoci jsou schopny hydrolyzovat pektin na kyselinu pektinovou a alkohol. Tyto enzymy jsou známy pod názvem pektináza (KÁČ, 1952).

K hydrolyze pektinových látek dochází jednak působením enzymů, jednak v kyselém nebo alkalickém prostředí. Na enzymové hydrolyze pektinů ovoce a zelenin se podílí řada nativních enzymů nebo enzymů produkovaných mikroorganismy. Rozlišují se dvě základní skupiny enzymů, pektinesterasy a pektindepolymerasy. Pektinesterasy katalyzují hydrolyzu methylesterů na nízkoesterifikované pektiny. Vznikající kyseliny reagují s přítomnými bivalentními ionty a může dojít ke spontánnímu želírování (ovocné šťávy), případně tvrdnutí (zpracování brambor nebo kvěťáku). Enzymy štěpícími glykosidové vazby (pektindepolymerasami) jsou glykosidasy a lyasy. Glykosidasy zvané polygalakturonasy hydrolyzují α -(1 \rightarrow 4) glykosidovou a esterovou vazbu a štěpí pektiny úplně, nebo téměř úplně deesterifikované. Nacházejí se ve vyšších rostlinách a mikroorganismech. Pektinlyasy štěpí glykosidové vazby mezi esterifikovanými galakturonovými kyselinami β -eliminací. Pektinlyasy jsou produkovány jen plísněmi (VELÍŠEK (a), 2002).

Přírozené enzymatické štěpení obstarává enzym, případně enzymový komplex, zvaný protopektináza (viz **obrázek 5**). Uměle je možno provést rozklad zahříváním pektocelulos v kyselém prostředí (kyselá hydrolyza – nejlépe za tlaku a teploty okolo 100 °C). Poté vznikají protopektiny, ty se mohou zásahem stejných činitelů dále štěpit na vlastní pektiny a těžko oddělitelné doprovázející glycidy. Vlastní pektiny lze definovat jako makromolekulární koloidy, skládající se z řady molekul kyseliny galakturonové, které mají esterifikovanou karboxylovou skupinu metylalkoholem. Jsou-li esterifikovány všechny karboxylové skupiny polymeru, mluvíme o neutrálním pektinu, je-li jich esterifikována část, mluvíme o pektinech kyselých (soli=pektinany) a není-li esterifikována žádná, mluvíme o pektinových kyselinách (soli=pektany). Odštěpování metoxyly ve tvaru metylalkoholu (zmýdelnění pektinu) způsobuje hydrolytický enzym, označovaný jako pektáza, zatím co štěpení řetězců (degradace pektinu) bývá dílem jiného hydrolytického enzymu, zvaného pektináza. (KYZZLINK, 1951).



Obrázek 5 Schéma štěpení pektinových látek (KYZLINK, 1951)

Pektinesteráza transformuje pektin na níže esterifikovaný. Objevuje se v mnoha rostlinách, především v citrusech a rajčatech. Pektinesteráza je také produkována plísněmi (optimum pH 4,5) a bakteriemi (optimum pH – neutrální). Tento enzym atakuje pektinové řetězce tím, že redukuje konce nebo volné karboxylové skupiny a pak působí podél molekuly. Tímto způsobem pektinesteráza deesterifikuje pektin obsahující bloky volné karboxylové skupiny, které jej činí mimořádně citlivým na vápník. Pektinesteráza má vysokou specifitu vůči methylesteru polygalakturonátu, ale methylester jiných jednotek není napaden. Ethylester polygalakturonát se hydrolyzuje, i když pomaleji než methylester. Ostatní estery nejsou napadeny vůbec nebo jen velmi pomalu. Pektinesteráza může být dále rozlišena podle její reakce na kationty jako aktivátor (polyfenolů a detergentů) a jako inhibitor (v případě že blokuje konečný produkt). Všechny pektinesterázy, které jsou přítomny v ovoci, jsou inhibovány vysokými koncentracemi cukru, což je z hlediska technologického zpracování velice důležité (MATHEWSON, 1998).

Polygalakturonáza (PG) rozděluje glykosidické vazby blízko volných karboxylových skupin pomocí hydrolyzy. V důsledku toho je vysoce methoxylovaný pektin stěží napaden, zatímco níže methoxylovaný pektin tvoří dobrý substrát.

PG je vyráběna většinou z plísní, včetně některých kvasinek nebo bakterií, často se nachází ve vyšších rostlinách. Optimální pH je mezi 4,0 a 5,5. Jsou známy oba typy polygalakturonázy - endo i exo. Typ endo rozdělí pektinové řetězce náhodně, malé zvýšení redukující koncové skupiny bude doprovázeno významným snížením viskozity substrátového roztoku. Typ exo odštěpí mono nebo dimery z neredukujících konců, což znamená, že viskozita substrátového roztoku se snižuje jen velmi pomalu. Další rozdíly mezi PG se vztahují k jejich rozdílné závislosti na kationty, jejich konečným produktům a k jejich reakcím (frekvence) na primární produkty hydrolýzy (BLANSHARD, MITCHELL, 1979).

V potravinářském průmyslu, při zpracování potravin vznikají volné radikály, které mohou mít vliv na neenzymatickou depolymeraci polymerů polysacharidů. Peroxid vodíku je častou příčinou takovéto neenzymatické degradace a bylo prokázáno, že některé rostlinné buněčné stěny (včetně galakturonanu) mohou podléhat štěpení při inkubaci s 0,1 - 10 mM H₂O₂. Mnohem reaktivnějšími hydroxylovými radikály bylo také prokázáno, že způsobují štěpení v širokém rozsahu, včetně polymerů polysacharidů. FRY (1998) prokázal in vitro neenzymatickou degradaci několika buněčných stěn polymerů (opět včetně pektinu) systémem produkujícím hydroxylové radikály za podmínek, které se pravděpodobně vyskytnou v rámci buněčné stěny. Peroxidázy jsou přítomny v buněčných stěnách rostlin a jsou často spojeny s polysacharidy. Hydroxylové radikály jsou sice vysoce reaktivní, ale na druhou stranu mají také velmi krátkou životnost. To zvyšuje možnost, že lokalizování peroxidázy v blízkosti specifické buněčné stěny polymerů může mít za následek jejich neenzymatické štěpení (SEYMOUR, KNOX 2002).

3.6 Možnosti stanovení vlastností pektinů

Mechanické vlastnosti potravin jsou velmi důležitým, a u některých z nich nejvýznamnějším ukazatelem jejich užitné kvality. Pro konzumenta představují významnou část jeho vjemu, podle něhož vyhodnocuje tzv. spotřebitelskou přijatelnost potraviny. Instrumentální hodnocení měřením na speciálních přístrojích má předpoklady dobré reprodukovatelnosti i shodnosti samotné metodiky měření. Problémem je jednak porovnání těchto výsledků se sensorickými vjemy konzumentů, jednak často i definice měřených veličin. Fyzikální vlastnosti charakterizující potraviny měřené pomocí

přístrojů nejsou většinou látkovými charakteristikami ani konstantami, jako některé jiné fyzikální veličiny (například optické, tepelné, aj.) (KADLEC et al, 2012).

Existují různé metody založené na odlišných principech, které se používají pro měření pevnosti džemů a které mohou být rozděleny na dvě skupiny. Metody v rámci první skupiny měří pevnost gelové struktury v okamžiku, kdy dojde k prasknutí po překročení jejich elastické meze, zatímco ve druhé skupině je pevnost gelové struktury měřena tím, že je vypočítána deformace struktury džemu bez jejího elastického limitu. Způsoby zahrnuté do skupiny I. jsou: a) způsob Sucharipa's disk, b) Penetrometr, c) Pektinometr d) Delaware tester. Následující metody spadají do skupiny II.: a) Bloomův gelometer, b) metoda Sag, c) metoda Wageningen Sag d) B.A.R. tester nebo F.I.R.A tester. Z těchto metod je pektinometr používán značně v Německu, B.A.R. nebo F.I.R.A tester ve Velké Británii, Wageningen Sag v Nizozemsku a Delaware tester a metoda Sag v USA a mnoha dalších zemích (RANGANNA. 1986).

Bloomův gelometer je metoda založená na „propíchnutí“ (proražení) struktury gelu a slouží k měření pevnosti gelů u džemů, marmelád a dalších výrobků. Skládá se z násypky plné olovených částic, která prochází přes trubku na pánev, tak poskytuje sílu potřebnou k penetraci. Standardní nádoba obsahující gel je umístěna do Bloomova gelometru a je situována tak, aby se ploché čelo sondy dotýkalo povrchu gelu. Páka je aktivována a umožňuje oloveným částicím proudit ze zásobníku do lehké hliníkové misky v množství 200 +/- 5 g za 5 sekund. V případě, že píst pronikl 4 mm hluboko do struktury gelu, elektrický spínač vypne proud záběru. Částice se zváží a hmotnost v gramech je vyjádřena jako Bloom tohoto gelu. Bloomův gelometer je 18 x 19 x 63 cm vysoký a váha činí 13 kg. Ukázalo se, že rychlost průtoku 200 g za 5 sekund, především u měkkých gelů, vede k chybám, protože olovené částice procházejí příliš rychle. Proto bylo navrženo snížení průtoku na 40-50 g za 5 sekund. Bylo také zjištěno, že zpomalením rychlosti proudění částice do 45 g za 5 s se získá přesnějšího výsledku a bylo doporučeno, aby tato rychlost proudění byla začleněna jako oficiální standard (BOURNE, 2002).

Bylo zjištěno, že Bloomův gelometr vykazuje velmi uspokojivé výsledky pro stanovení pevnosti gelů a podobných výrobků. Gely tak mohou být standardizovány pro konzistenci v relativně úzkých parametrech. To je zvláště významné při výrobě želé a podobných výrobků, jakož i pro klasifikaci komerčního pektinu. Gely pro testování by měly být utěsněny, skladovány po dobu alespoň 24 hodin, a stanovovány při konstantní teplotě od 20 ° C do 23 ° C. Větší část změn proběhlo během prvních 24 hodin. Pevnost

gelu silně klesá s nárůstem teploty. S ohledem na povrchový škraloup u nezakrytého žele může metoda vykazovat nespolehlivé údaje. Vzhledem k oběma hodnotám – horní i dolní u naměřených hodnot, dojde k zprůměrování procentuální odchylky z 22 sérií vzorků (od velmi měkkých po velmi pevné), která představuje přibližně 5 % (FELLERS, GRIFFITHS, 1928).

3.6.1 Rosolotvorná mohutnost

Rosolotvorná mohutnost, dále jen RM, je definována jako počet hmotnostních dílů rozpustné sušiny (cukru), který je schopen převést na rosol standardní pevnosti za optimálních podmínek (65 °Rf, pH 2,1 – 2,5) jeden hmotnostní díl pektinového preparátu. Obecně jablečný surový pektin 150 – 210 SAG, citrusový surový pektin 200–250 SAG. RM se udává ve °SAG. Ty značí, s kolika gramy cukru v 65%, optimálně kyselém roztoku vytvoří 1 g pektinu rosol o normální pevnosti (VOTAVOVÁ, 2010).

Podle VELÍŠKA (2002) je RM počet dílů rozpustné sušiny, který je schopen zrosolovatět na jeden díl pektinového preparátu.

RM je míra účinnosti pektinu a udává násobek hmotnosti práškového pektinu, který zrosoluje optimálně okyselenou sacharózou (GOLIÁŠ, 2009).

Rosolotvorná mohutnost pektinů vyráběných z nezralého ovoce (angrešt) je lepší, než z ovoce zralého, které obsahuje již více pektolytických enzymů (INGR, 2005).

Rozeznáváme dva základní typy stanovení RM: a) v mezích elastické deformace (metoda dle Coxe-Highbyho), b) mimo elastickou deformaci (metoda dle Tarr-Bakera, metoda firmy Herbstreith) (VOTAVOVÁ, 2010).

3.7 Použití pektinů

Nejběžnější aplikací pro pektiny jsou ovocné džemy s 60-70 % celkové rozpustné sušiny a pH v rozmezí 3,0 - 3,3. Pro tuto aplikaci se využívá vysoce esterifikovaný pektin. Složení džemů je často regulováno příslušnými právními předpisy. Nízko energické džemy a marmelády nemohou být vyrobeny z vysoce esterifikovaného pektinu, když obsah rozpustné sušiny je menší než 60 %. Obvykle jsou vyráběny z nízce esterifikovaného pektinu. Využití pektinů je mnohem širší, lze je aplikovat i v pekařství, do ovocných bází nebo v mléčném průmyslu jako součást mléčných

produktů. V poslední době byl také zaznamenán vysoký nárůst využití pektinů při výrobě cukrovinek. (PHILLIPS, WILLIAMS, 2009).

Využití pektinu jsou různá. Může být aplikován například jako mukoadhezivní polymer, gelující činidlo, zahušťovadlo a pojivo vody, nebo může být používán v medicíně a farmaceutickém průmyslu. Vytváří gel, zahušťuje marmelády, které by jinak byly sladké šťávy. Pro použití v domácnosti se reakční směs zředí na správnou koncentraci s cukrem a kyselinou citronovou pro úpravu pH. V některých zemích je pektin také k dispozici jako roztok nebo extrakt, nebo také jako směs v prášku. Pektiny mohou být také použity ke stabilizaci kyselých proteinových nápojů, jogurtů nebo jako náhražka do pečiva. Typická koncentrace pektinu používaná jako potravinářská přísada se pohybuje v rozmezí 0,5-1 0%, což je přibližně stejné množství jako v čerstvém ovoci. V lékařství se pektin používá pro zvýšení viskozity a objemu stolice, což se využívá proti zácpě a průjmům. V kosmetických prostředcích působí pektin jako stabilizátor. Pektin působí také jako přirozená profylaktická látka proti otravě toxickými kationty (SRIVASTA, MALVIYA 2011).

II. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4. MATERIÁL A METODIKA PRÁCE

Experimentální část diplomové práce se zaměřuje na fyzikální a fyzikálně-chemické vlastnosti vybraných druhů pektinů. Důraz je kladen především na vliv teploty a doby zahřívání na mechanickou pevnost vzorků, která je následně měřena pomocí penetrometru. Cílem experimentu tedy je, na základě naměřených hodnot, objasnit tepelnou stabilitu jednotlivých pektinů.

Veškerá příprava jednotlivých vzorků dílčích experimentů je prováděna ve hmotnostních jednotkách (nikoliv v objemových).

Použité přístroje a pomůcky:

- ❖ Mechanický penetrometr SU 43A + Line recorder TZ 4221
- ❖ Digitální penetrometr EXTECH FHT 200
- ❖ Rotační viskozimetr RV 360 – B
- ❖ Abbeho refraktometr
- ❖ pH metr
- ❖ vaříč a temperační lázeň
- ❖ teploměry
- ❖ tlakový hrnec
- ❖ vysokorychlostní mixér
- ❖ váha s přesností na dvě desetinná místa
- ❖ stopky v případě měření doby zahřívání
- ❖ laboratorní sklo

Materiál:

- ❖ pektin Grinsted YF 738 – vysoce esterifikovaný pektin, speciálně vyvinut pro vytvoření gelové struktury u jogurtových výrobků.
- ❖ pektin Ribbon D 075 – je nízcce esterifikovaný pektin

- ❖ pektin AF 010 - je amidový (35 %) jablečný pektin, který se obvykle používá k přípravě ovocných pomazánek. I s menším obsahem cukru poskytuje stabilní gelování a tím zajišťuje vysokou produktivitu. Pektin AF 010 může být použit v sušině v rozmezí 3,0-3,5 pH pro přípravky s hodnotou Brix nižší než 55%.
- ❖ jablka Idared - zimní odrůda, konzumní zralost od ledna do pozdně jarních měsíců. Slupka je hladká, lesklá. Dužnina je bílá, jemná, křehká, šťavnatá. Chuť je sladce navinulá, aromatická.
- ❖ kyselina citronová *E 330* na cílené snížení hodnoty pH
- ❖ cukr krystal v případě tvorby pektinového gelu
- ❖ destilovaná voda

Stanovení obsahu veškerých kyselin - titračně

Veškerými kyselinami ve vzorku se rozumí všechny kyseliny (volné, těkavé a kyselé soli) zjištěné titračně. U silně zbarvených roztoků se užije potenciometrické indikace bodu ekvivalence. U nezbarvených roztoků lze použít jako indikátor fenolftalein, který při pH 8,1 barví titrovaný roztok růžovofialově.

Postup práce při potenciometrické titraci:

10 ml vzorku se převede do kádinky (případně se naředí vodou, aby byla dostatečně ponořena elektroda) a za stálého míchání (nejlépe elektromagnetickou míchačkou) se titruje 0,1 mol.l⁻¹ NaOH o známém faktoru do pH 8,1 za použití kombinované elektrody připojené k pH-metru.

Výpočet: obsah veškerých kyselin se vyjádří na převládající organickou kyselinu obsaženou v titrovaném vzorku:

1 ml 0,1 mol.l⁻¹ NaOH odpovídá

- 0,0064 g kyseliny citronové
- 0,0067 g kyseliny jablečné
- 0,0075 g kyseliny vinné

$$\% \text{ veškerých kyselin} = \frac{a \cdot f \cdot 0,0064 \cdot 100}{n}$$

a - spotřeba 0,1 mol.l-1 NaOH při titraci [ml]

n - množství vzorku použitého při titraci [ml]

f - faktor 0,1 mol.l-1 NaOH

Stanovení rozpustné sušiny refraktometricky

Princip

Index lomu světla v cukerném roztoku je závislý na koncentraci roztoku, kterou tedy můžeme podle změřeného indexu lomu určovat. Pro sacharózu bývají koncentrace uvedeny přímo na stupnici (tzv. cukerného) refraktometru - jinak se vyhledávají v tabulkách.

Seřízení refraktometru

Na hranol otevřeného refraktometru se skleněnou tyčinkou nakápne 3-5 kapek vody vytemperované na 20 °C, hranoly se rychle uzavřou a odečte se údaj na stupnici. U cukerného refraktometru musí přístroj ukazovat refrakci 0°, u refraktometru univerzálního 1,333. Je-li údaj přístroje odchýlný, upraví se jeho stupnice na výše uvedené základní polohy podle návodu, připojeného ke každému přístroji.

Vlastní měření

Mezi hranoly refraktometru se nanese vrstvička zkoušeného tekutého materiálu a hranolem se otáčí tak dlouho, až hranice světla a stínu protne nitkový kříž zorného pole. Na stupnici se pak odečte buď index lomu, nebo přímo obsah tzv. refraktometrické sušiny (= váhová procenta rozpuštěného cukru). Měření musí být provedeno při 20 °C. Nelze-li provést měření při 20 °C, musíme nalezený výsledek opravit o příslušnou korekci (GOLIÁŠ, NĚMCOVÁ, 2009).

Měření pevnosti gelu na penetrometru:

Penetrometry jsou příkladem zařízení, kdy kónicky tvarovaný objekt padá při stanovené výšce do materiálu. Je měřena hloubka proniknutí do materiálu. Jedná se o zařízení, která se dají použít například pro měření reologických vlastností. Hloubka proniknutí závisí na tvaru penetrátoru, hmotnosti, výšce pádu, penetrátoru a na vlastnostech měřeného materiálu. Pokud je měření prováděno za standardizovaných podmínek, penetrometr umožňuje stanovit jednoznačnou charakteristiku mechanických vlastností materiálu (KRKOŠKOVÁ. 1986).

Nejběžněji užívaným testem pro určení pevnosti je penetrační test, kde měřená síla je součtem tlakového a smykového napětí působící v hloubce ponoření razidla do materiálu a závisí na průměru razidla a koeficientu smykového napětí, ploše razidla a kompresním koeficientu. (BLAHOVEC et al., 1990).

Hodnoty z digitálního penetrometru byly naměřeny v jednotkách N a poté přepočítány na jednotky kPa pro vyjádření síly, která působila na určitou plochu (viz **příloha 6**).

U Mechanického penetrometru byla nejdříve provedena kalibrace, poté byly změřeny hodnoty zaznamenané do grafu a ty byly následně přepočítány pomocí koeficientu a vynásobeny tak, aby výsledná hodnota byla uvedena v jednotkách N. Tyto parametry byly následně přepočítány na jednotky kPa pro vyjádření síly, která působila na určitou plochu (viz **příloha 4 a 5**).

Měření viskozity na rotačním viskozimetru – typ RV 360 – B:

Tento typ rotačního viskozimetru představuje konstrukčně jednoduchý rotační viskozimetr s mechanickou indikací točícího momentu, dvěma sousými válci a se sadou třech druhů měřících válečků o průměru 38 mm, 30 mm a 24,5 mm (viz **příloha 7**). Pro vlastní měření je využit průměr 38 mm. Počet otáček je 10.min⁻¹. Při měření se postupuje tak, že se měřený produkt nalije do nádoby (průměr nádoby 49 mm). Naplněná nádoba se vsune do držáku viskozimetru. Horní část mechaniky, do níž byl upevněn váleček, se zasune nadoraz do spodní polohy. Následně se zapne pohon a po ustálení ručičky na stupnici se odečte počet dílků. Podle následujícího vzorce se počet dílků převede na hodnotu dynamické viskozity v Pa.s⁻¹: $\eta = 0,946 + (0,149 \times \text{počet dílků})$.

Statistické vyhodnocení

Získané výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí programů STATISTICA10 a Microsoft Office Excel 2007. Výsledky v programu STATISTICA10 byly zpracovány na základě jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA), která vyhodnotila vážené průměry, směrodatnou chybu s její kladnou a zápornou odchylkou.

Popis experimentu

V experimentu byl zkoumán vliv záhřevu (85 °C) na stabilitu pektinů, konkrétně na tepelnou stabilitu gelové struktury vyrobených ovocných pomazánek po určitou dobu. Experiment byl proveden u tří typů pektinů (pektiny Grinsted YF 738, Ribbon D 075 a AF 010), z kterých byly vytvořeny ovocné pomazánky vždy podle stejného technologického postupu (viz **příloha 8**). Poté byly tyto vzorky vystaveny záhřevu (85 °C) po dobu různě stanovené doby. Následně byla měřena pevnost gelu na mechanickém penetrometru, rotačním viskozimetru (typ RV 360 – B) a také na digitálním penetrometru EXTECH FHT 200. Cílem bylo porovnání naměřených hodnot udávající pevnost jednotlivých gelů mezi sebou a zjištění jaký vliv má délka tepelného záhřevu na pevnost vytvořeného gelu (tepelnou stabilitu pektinu).

- ❖ Byly vyrobeny vzorky pro aplikace pektinu (1 %) – viz příprava jablečného džemu.
- ❖ Byla určena doba zahřívání a teplota – 0 min, 10, min, 20 min, 40 min, 60 min při teplotě 85 °C, vždy po třech vzorcích.
- ❖ Tuhnutí a skladování vzorků v chladárně (teplota 4 °C)
- ❖ Stanovení pevnosti na mechanickém penetrometru SU 43A a na digitálním penetrometru EXTECH FHT 200
- ❖ Statistické vyhodnocení v programu ANOVA

Příprava jablečného džemu

Omytá, neoloupaná jablka, byla nakrájena na menší části. Poté bylo naváženo 1500 g toho materiálu a přidáno 200 ml vody (očekává se, že toto množství bude v průběhu technologického procesu odpařeno, proto není uvedeno do výpočtů) a

následně byla tato směs vložena do tlakového hrnce, kde byla vařena 5 minut do změknutí.

Po uvaření došlo k rozmixování pomocí ručního tyčového mixéru a také byly odebrány kontrolní vzorky pro stanovení základních parametrů ($^{\circ}\text{Rf}$, pH).

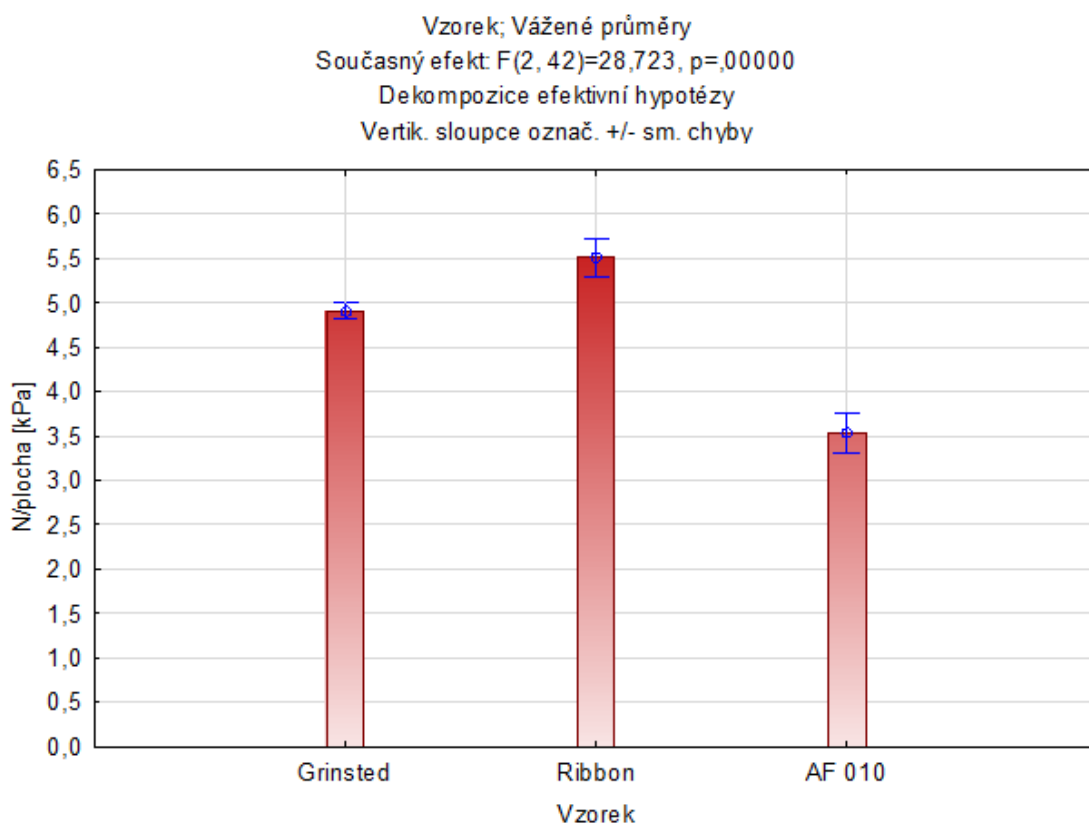
Pomocí směšovací rovnice byla vypočítána potřebná navážka cukru (pro dosažení 60°Rf), kyseliny citronové a pektinu (obsah pektinu = 1%)

Poté byla odebrána část navážky cukru, která byla smíchána s navážkou pektinu (v poměru 3:1) a takto vytvořenou směs byla rozmíchána v horké vodě při teplotě $60 - 70^{\circ}\text{C}$. Pektin se při styku s vodou lehce sbaluje do shluků, proto byl před rozpuštěním suchý, práškový pektin promíchán. Tato směs při rozpuštění netvoří shluky. K rozptýlení pektinu ve vodě je možno použít mixér. Následuje aplikace této směsi do ohříváné (80°C) rozmixované dřeně a poté udržování teploty při 90°C po dobu 10 minut. Před ukončením procesu se přidá navážené množství kyseliny citronové.

Takto zpracovaná směs se plní do předem připravených sklenic. Sklenice jsou plněny obsahem 100 g směsi, následně uzavřeny víčkem twist off. Po uzavření se sklenice neotáčí víkem dolů, pouze se uskladní v chladárně pro vytvoření potřebné gelové struktury.

Experimentálně byla provedena varianta pokusu, bez použití rostlinného materiálu (pouze voda, pektin, cukr a kyselina citronová). Nedošlo však k vytvoření pevné gelové struktury pravděpodobně kvůli nedostatku pevných částic. U takto vytvořených vzorků byla pevnost měřena pomocí viskozimetru.

5. VÝSLEDKY

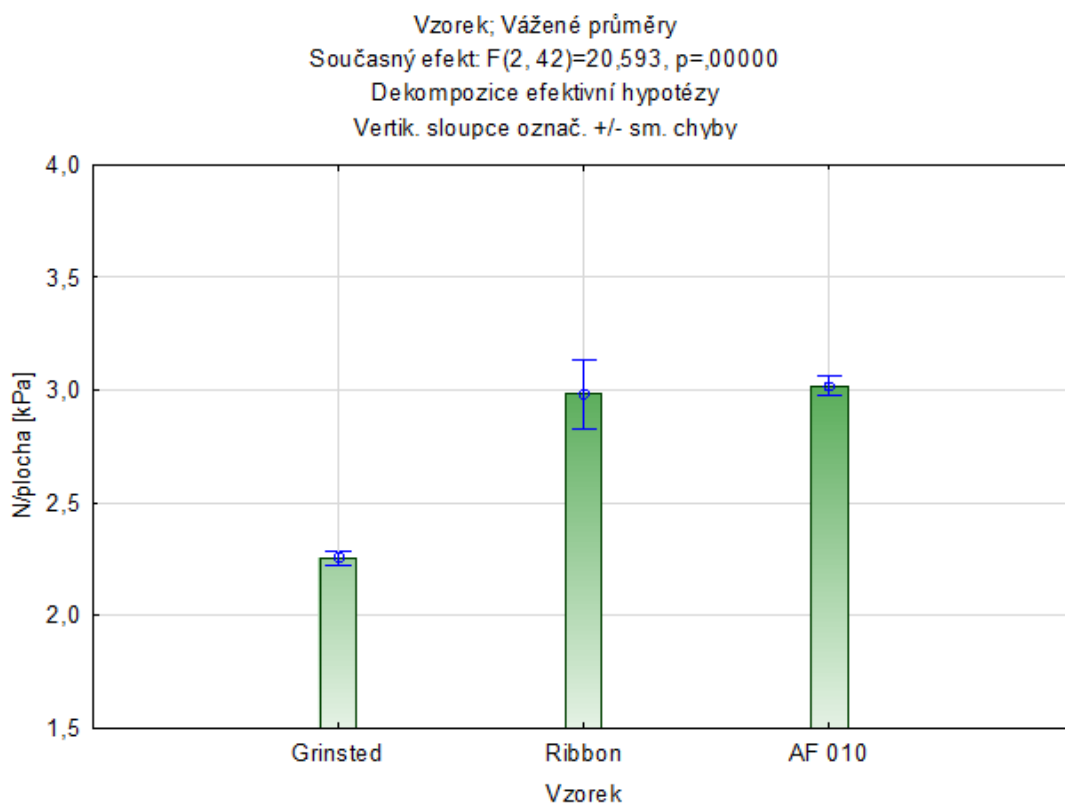


Graf 1: Porovnání pevnosti ovocných pomazánek vyrobených z jednotlivých pektinů měřený na digitálním penetrometru.

Tabulka 3 Analýza rozptylu vlivu použitého pektinu na celkovou pevnost ovocné pomazánky – digitální penetrometr

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti, velik. efektů a síly pro N/ plocha [kPa] Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy							
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p	Parciál. éte-kvadr.	Výstřednost	Pozor. Síla (alfa=0,05)
Abs. člen	972,0062	1	972,0062	1813,394	0,000000	0,977363	1813,394	1,000000
Vzorek	30,7915	2	15,3958	28,723	0,000000	0,577657	57,445	1,000000
Chyba	22,5126	42	0,5360					

Graf 1 a tabulka 3 porovnávají pevnosti pektinů měřených na digitálním penetrometru, které byly použity při výrobě ovocných pomazánek. Z výsledků vyplývá, že je statisticky prokazatelný vliv použitého pektinu na pevnost ovocné pomazánky. Největší pevnost byla zjištěna u pektinu Ribbon D 075 s průměrnou hodnotou 6,159 kPa . Tato hodnota je o 6,95 % vyšší než má pektin Grinsted YF 738, který má průměrnou hodnotu 5,371. Nejnižší pevnost byla naměřená u ovocné pomazánky vyrobené s použitím pektinu AF 010 s průměrnou hodnotou 4,309 kPa.

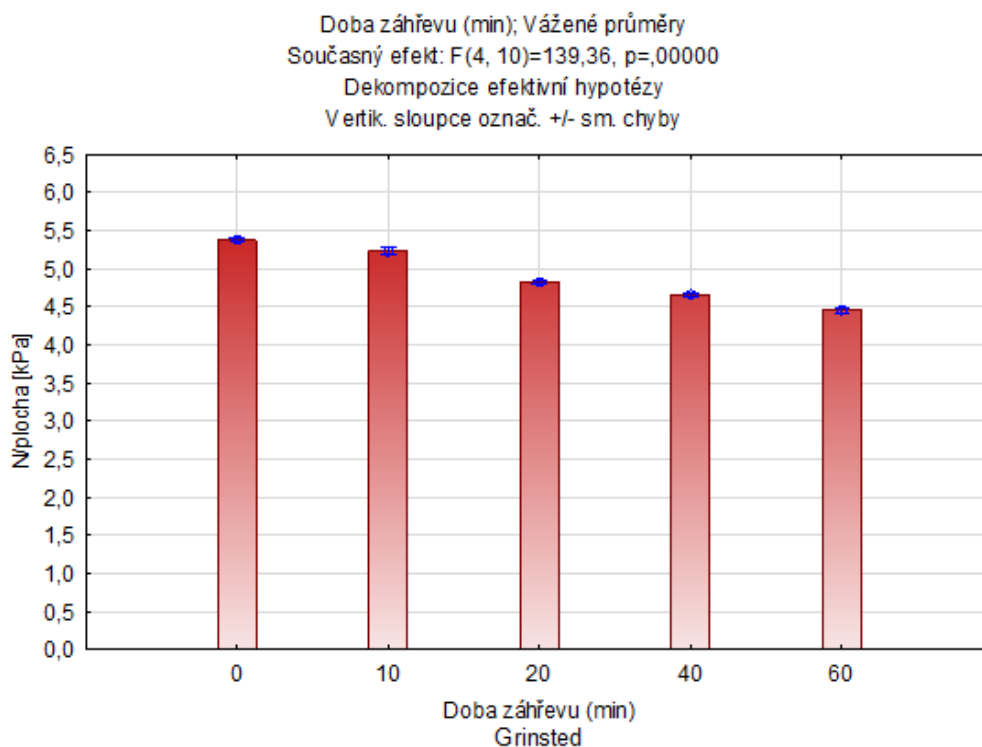


Graf 2: Porovnání pevnosti ovocných pomazánek vyrobených z jednotlivých pektinů měřených na mechanickém penetrometru.

Tabulka 4 Analýza rozptylu vlivu použitého pektinu na celkovou pevnost ovocné pomazánky – mechanický penetrometr

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti, velik. efektů a síly pro N/ plocha [kPa] Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy							
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p	Parciál. éte- kvadr.	Výstřednost	Pozor. Síla (alfa=0,05)
Abs. člen	340,5598	1	340,5598	2518,336	0,000000	0,983596	2518,336	1,000000
Vzorek	5,5697	2	2,7848	20,593	0,000000	0,495108	41,186	0,999944
Chyba	5,6797	42	0,1352					

V **grafu 2** jsou zaznamenány naměřené hodnoty všech pektinů na mechanickém penetrometru. Pektin Grinsted YF 738 dosahoval své nejvyšší průměrné hodnoty při 2,274 kPa, zatímco pektin Ribbon D 075 při 3,617 kPa a pektin AF 010 při 3,065 kPa. Na základě těchto výsledků lze popsat rozdíly mezi jednotlivými pektiny. Podle měření na přístroji penetrometr SU 43A je nejstabilnější vzorek Ribbon D 075, naopak nejméně stabilní je vzorek Grinsted YF 738. Mezi pektiny Ribbon D 075 a AF 010 není statisticky průkazný rozdíl. (Viz **tabulka 4**).

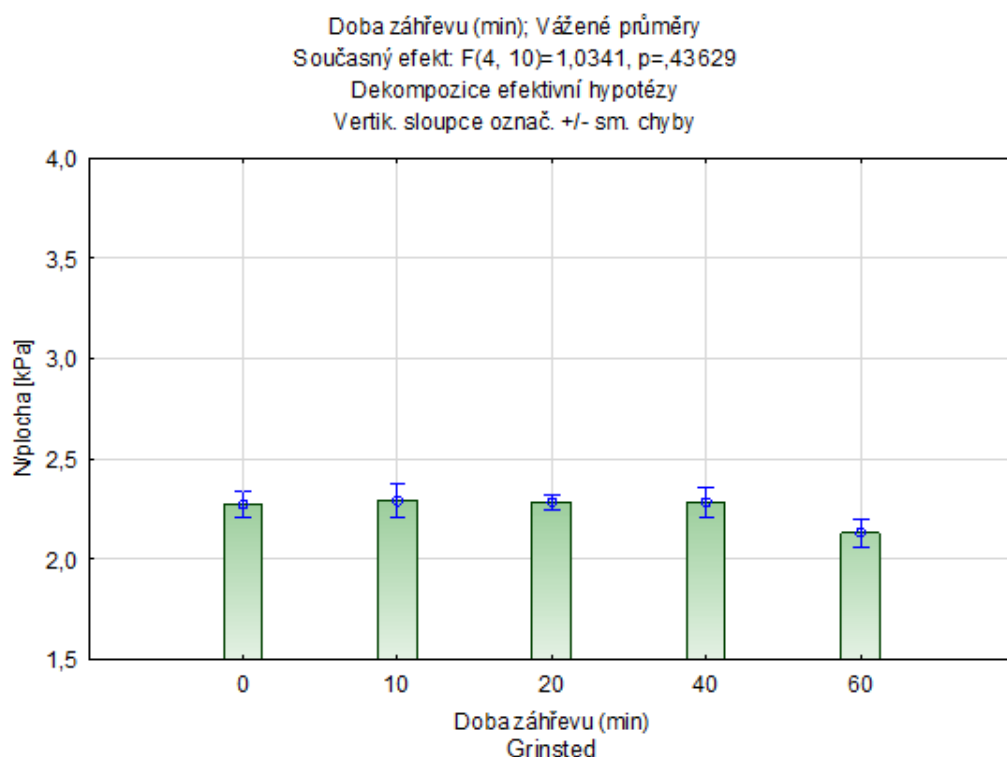


Graf 3: Porovnání pevnosti ovocných pomazánek vyrobených z pektinu Grinsted YF 738 – digitální penetrometr

Tabulka 5 Analýza rozptylu vlivu pektinu Grinsted YF 738 na pevnost ovocné pomazánky – digitální penetrometr.

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti, velik. efektů a síly pro N/ plocha [kPa] Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy							
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p	Parciál. étekvadr.	Výstřednost	Pozor. Síla (alfa=0,05)
Abs. člen	360,8051	1	360,8051	113533,9	0,000000	0,999912	113533,9	1,000000
Vzorek	1,7715	4	0,4429	139,4	0,000000	0,982377	557,4	1,000000
Chyba	0,0318	10	0,0032					

V **grafu 3** je zobrazený vliv délky záhřevu na změnu pevnosti ovocné pomazánky vyrobené pomocí pektinu Grinsted YF 738 měřené pomocí přístroje EXTECH FHT 200. Z analýzy výsledků vyplývá, že délka tepelné výdrže má na stabilitu ovocné pomazánky statisticky prokazatelný vliv (viz **tabulka 5**). S délkou tepelného ošetření pevnost klesala, přitom mezi nulovým ošetřením a ošetřením po dobu deseti minut byl zaznamenán pokles, který však není statisticky prokazatelný.

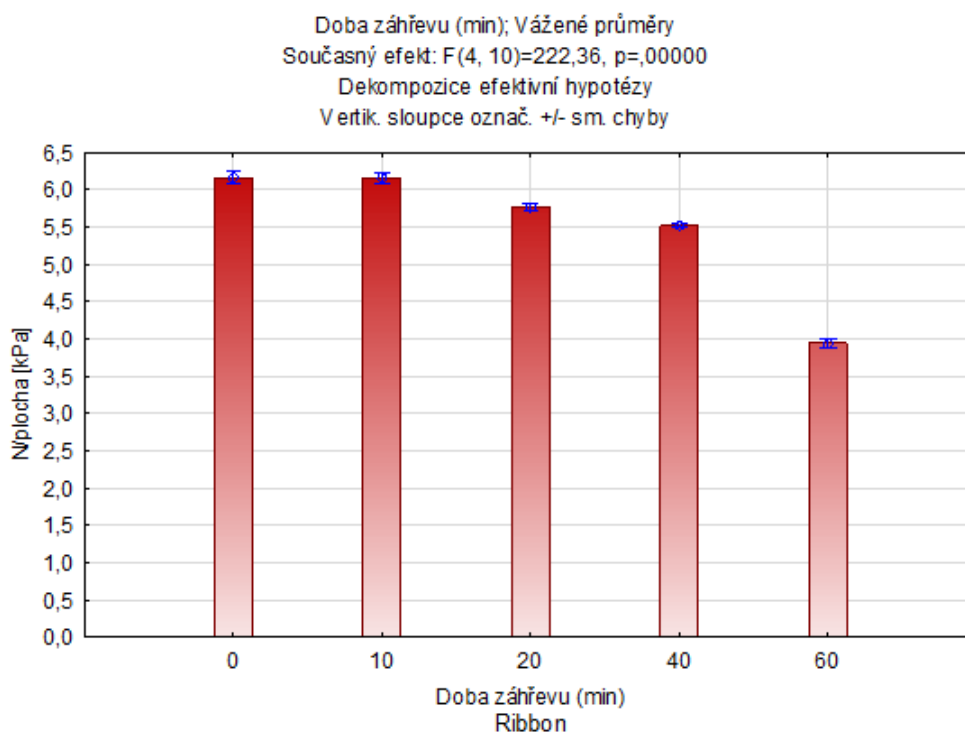


Graf 4: Porovnání pevnosti ovocných pomazánek vyrobených z pektinu Grinsted YF 738 – mechanický penetrometr

Tabulka 6 Analýza rozptylu vlivu pektinu Grinsted YF 738 na pevnost ovocné pomazánky – mechanický penetrometr.

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti, velik. efektů a síly pro N/ plocha [kPa] Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy							
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p	Parciál. éte- kvadr.	Výstřednost	Pozor. Síla (alfa=0,05)
Abs. člen	76,20243	1	76,20243	5500,001	0,000000	0,998185	550,001	1,000000
Vzorek	0,05731	4	0,01433	1,034	0,436295	0,292604	4,136	0,220998
Chyba	0,13855	10	0,01385					

V **grafu 4** je zobrazena téměř konstantní křivka znázorňující postupný vývoj aktivity pektinu Grinsted při tepelném záhřevu. Největší pevnost byla zaznamenána při průměrné hodnotě 2,27 kPa, zatímco nejnižší hodnota byla evidována při 2,13 kPa. Rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší hodnotou činí 0,14 kPa, což představuje statisticky neprůkazný rozdíl. I u dalších analyzovaných hodnot byl vyhodnocen statisticky neprůkazný rozdíl (viz **tabulka 6**).

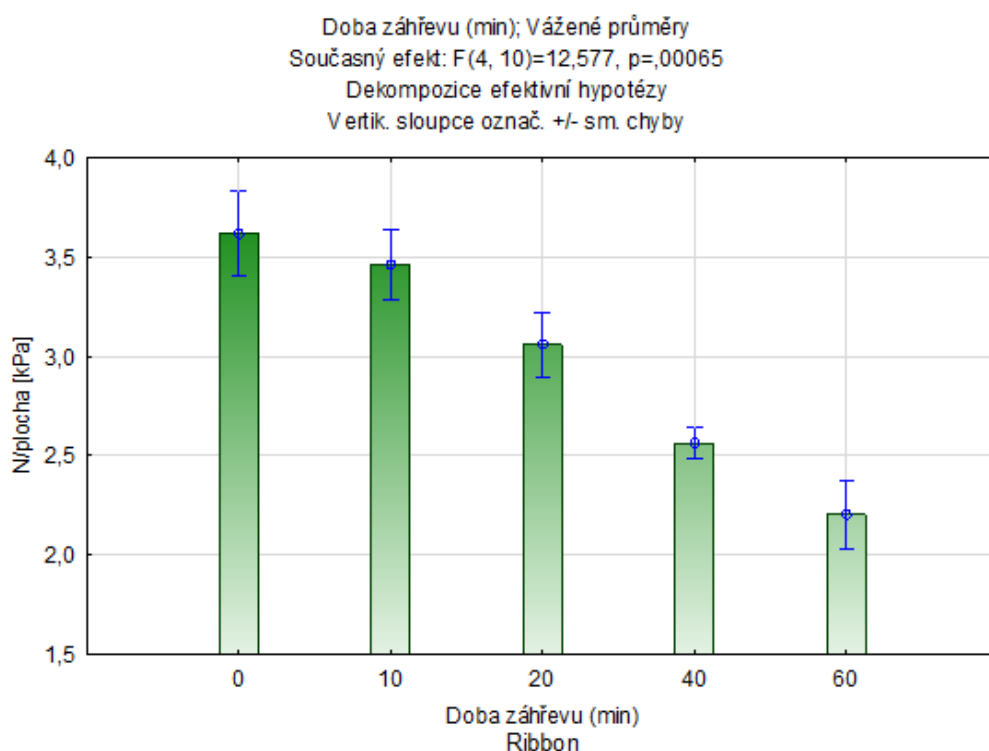


Graf 5: Porovnání pevnosti ovocných pomazánek vyrobených z pektinu Ribbon D 075 – digitální penetrometr

Tabulka 7 Analýza rozptylu vlivu pektinu Ribbon D 075 na pevnost ovocné pomazánky – digitální penetrometr.

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti, velik. efektů a síly pro N/ plocha [kPa] Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy							
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p	Parciál. étekvadr.	Výstřednost	Pozor. Síla (alfa=0,05)
Abs. člen	454,9964	1	454,9964	39993,96	0,000000	39993,96	39993,96	1,000000
Vzorek	10,1187	4	2,5297	222,36	0,000000	889,43	889,43	1,000000
Chyba	0,1138	10	0,0114					

V grafu 5 a tabulce 7 je analyzován pektin Ribbon D 075 při stanovení na digitálním penetrometru, který vykazuje postupné snižování, až na poslední sloupec, kdy po 60 minutách záhřevu došlo k výraznějšímu poklesu (rozdíl hodnot v průměru 1,58, u zbylých hodnot průměrově 0,213). V tomto případě lze označit statistický rozdíl za průkazný. Naopak u sloupce 0 a 10 nelze vykázat statisticky průkazný rozdíl.

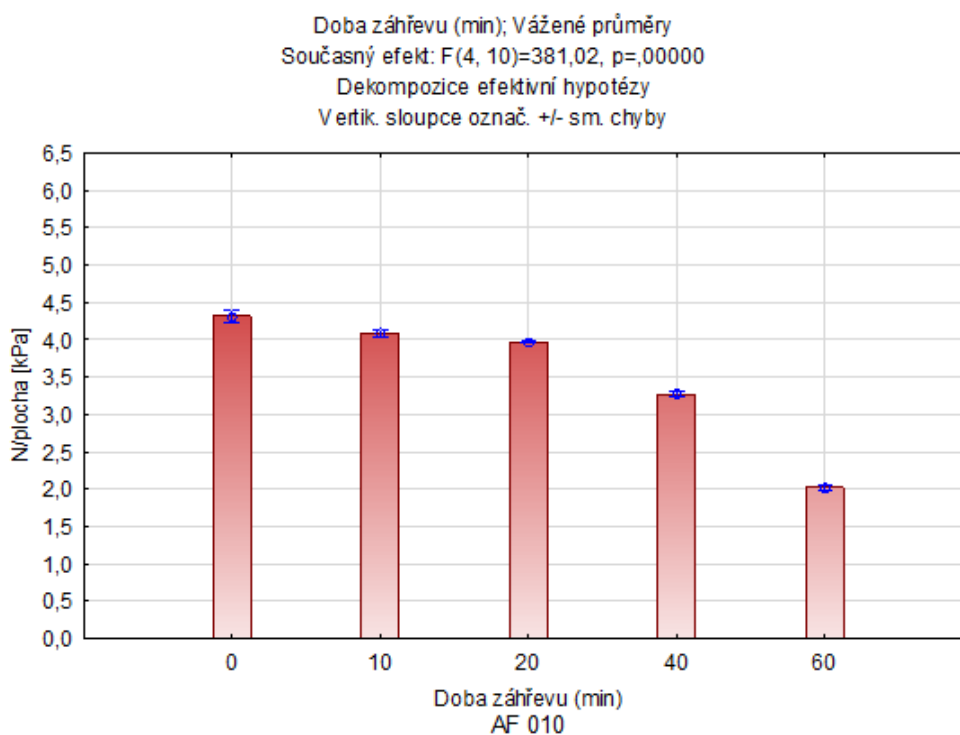


Graf 6: Porovnání pevnosti ovocných pomazánek vyrobených z pektinu Ribbon D 075 – mechanický penetrometr

Tabulka 8 Analýza rozptylu vlivu pektinu Ribbon D 075 na pevnost ovocné pomazánky – mechanický penetrometr.

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti, velik. efektů a síly pro N/ plocha [kPa] Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy							
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p	Parciál. éte- kvadr.	Výstřednost	Pozor. Síla (alfa=0,05)
Abs. člen	133,3013	1	133,3013	1572,696	0,000000	0,993682	1572,696	1,000000
Vzorek	4,2640	4	1,0660	12,577	0,000648	0,834182	50,307	0,997377
Chyba	0,8476	10	0,0848					

V grafu 6 a tabulce 8 je taktéž analyzován pektin Ribbon D 075 avšak při stanovení na mechanickém penetrometru. Výsledky zde vykazující postupně se snižující tendenci s téměř shodnými odchylkami. Mezi hodnotami v tomto grafu je statisticky neprůkazný rozdíl až na sloupce s hodnotami 20 a 40 a 40 a 60 (min).

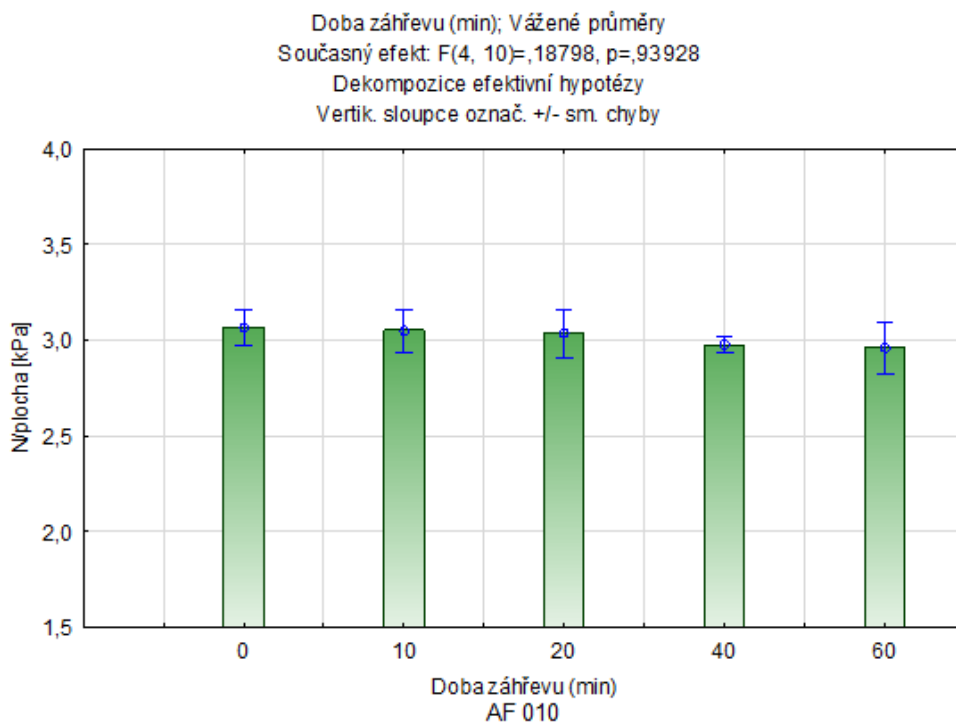


Graf 7: Porovnání pevnosti ovocných pomazánek vyrobených z pektinu AF 010 – digitální penetrometr

Tabulka 9 Analýza rozptylu vlivu pektinu AF 010 na pevnost ovocné pomazánky – digitální penetrometr.

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti, velik. efektů a síly pro N/ plocha [kPa] Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy							
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p	Parciál. éte- kvadr.	Výstřednost	Pozor. Síla (alfa=0,05)
Abs. člen	186,9963	1	186,9963	27384,05	0,000000	0,999635	27381,05	1,000000
Vzorek	10,4085	4	2,6021	381,02	0,000000	0,993481	1524,08	1,000000
Chyba	0,8476	10	0,0848					

Graf 7 ukazuje aktivitu amidového pektinu AF 010 měřenou prostřednictvím digitálního penetrometru. Jako u předešlých pektinů je zde také zobrazeno postupné snižování hodnot. Statisticky neprůkazný rozdíl je pouze mezi hodnotami 10 a 20, naopak mezi hodnotami 0 a 10, 20 a 40 a 40 a 60 je znázorněn statisticky průkazný rozdíl (viz **tabulka 9**).



Graf 8: Porovnání pevnosti ovocných pomazánek vyrobených z pektinu AF 010 – mechanický penetrometr

Tabulka 10 Analýza rozptylu vlivu pektinu AF 010 na pevnost ovocné pomazánky – mechanický penetrometr.

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti, velik. efektů a síly pro N/ plocha [kPa] Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy							
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p	Parciál. éte- kvadr.	Výstřednost	Pozor. Síla (alfa=0,05)
Abs. člen	136,6257	1	136,6257	3946,053	0,000000	0,997472	3946,053	1,000000
Vzorek	0,0260	4	0,0065	0,188	0,939281	0,069935	0,752	0,075980
Chyba	0,3462	10	0,0346					

Graf 8 taktéž ukazuje aktivitu amidového pektinu AF 010, ale při měření na mechanickém penetrometru. Zde jsou hodnoty jednotlivých pektinů velice podobné, a proto byly pomocí programu vyhodnoceny tyto parametry jako statisticky neprůkazný rozdíl (viz **tabulka 10**). I přesto lze zaznamenat mírné snižování aktivity pektinu, a tím tak jeho degradaci vlivem tepelného záhřevu.

6. DISKUZE

Experimentální část diplomové práce pojednává o tepelné stabilitě pektinů. Zde byly analyzovány vlastnosti jednotlivých druhů v souvislosti s tvorbou a pevností gelu, které byly měřeny na penetrometrických zařízeních (klasický, digitální). Pokusně byly také vytvořeny vzorky bez použití rostlinného materiálu, které byly měřeny pomocí rotačního viskozimetru. U všech analyzovaných vzorků ovocných pomazánek byly naměřeny hodnoty se snižující se tendencí, naměřené hodnoty tak korespondují s tezí autorů BĚHÁLEK (2015) a MERRILL, WEEKS (1945), kteří potvrzují postupnou degradaci pektinů vlivem záhřevu vysokými teplotami.

Zvýšením teploty dochází u polymerů k jejich měknutí a případně k tání (zesíťované polymery roztavit nelze). Při dalším zvyšování teploty dochází již ke změně struktury polymeru, nastává jeho rozklad - degradace. Degradace polymeru je nevratný proces a probíhá podle tří schémat: některé polymery tzv. depolymerují, u jiných dochází k destrukci nebo k degradačnímu síťování. a) Depolymerace – štěpení polymerů na nízkomolekulární látky, případně monomer, aniž by se měnilo jejich chemické složení. b) Destrukce – rozštěpení libovolné vazby v řetězci, odštěpování nízkomolekulárních látek (např. vody, chlorovodíku, alkoholu), přičemž dochází ke změně chemického složení polymeru a k prudkému poklesu molární hmotnosti. c) Degradací síťování – převládá nad štěpnými reakcemi (BĚHÁLEK, 2015).

Nejvýraznější změnou, ke které dochází při zahřátí roztoku pektinu, je rychlý a nevratný pokles viskozity. Bylo zjištěno, že velká část této změny nastane před změnami v obsahu methoxyly a redukující síle pektinového roztoku. Pro tuto problematiku byla popsána struktura pektinu v roztoku pomocí formule $[(G)_m]_n$. $(G)_m$ představuje polymer kyseliny galakturonové (m), který tvoří agregát obsahující počet (n) těchto jednotek držících při sobě pomocí sekundárních valemých sil. Tyto sekundární agregáty jsou zodpovědné za vysokou viskozitu pektinového roztoku a rychlý počáteční pokles viskozity způsobený záhřevem je zapříčiněn destrukcí těchto agregátů (MERRILL, WEEKS, 1945).

Rozdíly mezi naměřenými hodnotami z klasického penetrometru a digitálního penetrometru jsou evidentní. Odlišně naměřené a přepočítané hodnoty lze vysvětlit rozdílným poloměrem razidla používaného při stanovení pevnosti. Avšak v grafech lze zaznamenat také odchylky, které nejsou zapříčiněny rozdílným poloměrem. Například

v obecném srovnání (graf 1 a graf 2), kde jsou vyobrazeny všechny tři srovnávané pektiny při měření jednotlivými metodami, vykazují pektiny Grinsted YF 738 a pektin Ribbon D 075 zhruba stejné hodnoty, naopak pektin AF 010 zobrazuje u digitálního měření výrazně nižší hodnoty než při stanovení klasickou metodou. Detailnějšího rozbor jednotlivých pektinů (grafy 3-8) taktéž eviduje odchylky. Například při porovnávání pektinu Grinsted YF 738 (graf 3, graf 4) je u digitálního stanovení zřetelná klesající tendence, oproti tomu na grafickém vyobrazení klasického penetrometru je patrná spíše konstantní linie. Podobně je tomu i u pektinu AF 010. Rozdíly mezi hodnotami získanými z klasického penetrometru a digitálního penetrometru mohou být vysvětleny tím, že měření na klasickém penetrometru proběhlo asi čtyři dny po zhotovení vzorků, ale stanovení na digitálním penetrometru bylo realizováno asi až po 14 dnech. Delší skladování může zapříčinit u méně stabilních pektinů (AF 010) snižování pevnosti gelu.

Zbarvení u výsledných výrobků se lišilo (byla provedena pouze vlastní senzorická analýza). Pektin Ribbon D 075 byl ve srovnání s pektinem Grinsted YF 738 tmavější a barvou více do červena, naopak pektin Grinsted YF 738 byl světlejší a barvou více do hněda. Pektin AF 010 byl stejně tmavý jako pektin Ribbon D 075. To může být pravděpodobně způsobeno, jak uvádí KOPJAR et al, (2009), změnami v interakcích mezi složkami dotyčné potraviny. Během skladování totiž mohlo dojít k degradaci antokyanů obsažených v ovoci. Významný je také typ pektinu – čím vyšší stupeň esterifikace tím vyšší ztráty. Při zpracování jednotlivých vzorků byl také například pektin Grinsted hustší než pektin AF 010 a při zahřívání na povrchu vznikaly jemné sraženiny, které vytvářely kal. To může být vysvětleno rozdílnou průmyslovou výrobou – viz 3.3 Výroba technického pektinu.

V rámci experimentu byl zkoumán také technologický proces výroby džemů a jeho vliv na výslednou gelovou strukturu (viz **příloha 10 a 11**). Jednotlivé kroky procesu byly pozměňovány a nahrazovány s cílem zjistit ideální postup k dosažení pevné struktury gelu. Například při zpracování rostlinného materiálu došlo k odšťavnění a následnému scezení. U této varianty nedošlo k dostatečné tvorbě gelu, a proto byly pokusné vzorky měřeny na viskozimetru. Vysvětlením může být (podobně jako u vzorku s vodou) nedostatek pevných částic, na které by se pektin mohl navázat a vytvořit tak trojrozměrnou strukturu pro proces želírování nebo jak uvádí DOBIÁŠ, (2004) pektinové roztoky mají ve srovnání s ostatními rostlinnými polysacharidy nižší viskozitu, pektin má proto poněkud omezenou použitelnost jako zahušťovadlo.

Viskozita pektinových roztoků závisí na molekulové váze pektinu, stupni esterifikace, přítomnosti elektrolytů, na pH a koncentraci. Viskozita je přímo úměrně závislá na délce řetězce pektinu a na jeho koncentraci v roztoku. Ionty vápníku a ostatní polyvalentní ionty viskozitu pektinových roztoků J. Dobiáš: Technologie zpracování ovoce a zeleniny II – provizorní učební text TZOZ II - 2004/01 30 zvyšují. U vysokoesterifikovaných pektinů viskozita s rostoucím pH roste až po pH 4,0 – 5,0. S klesajícím stupněm esterifikace viskozita klesá. V další variantě byla jablka také odšťavňována, ale následně byla zahušťována vlastní jablečnou dření. U této varianty došlo k vytvoření gelové struktury, která však nebyla dostatečně pevná. Další možností byla suchá aplikace pektinu s cukrem, avšak ani u této metody nebyla vytvořena dostatečně pevná gelová struktura.

Pektin Ribbon dosáhl nejvyšších hodnot pevnosti. I když je tepelně nejméně stabilní (protože po 60 minutách záhřevu při teplotě 85 °C klesla pevnost produktu o 15 %) je tato hodnota po 30 minutách stále vyšší než hodnoty u ostatních pektinů. Tepelně nejstabilnější je pektin AF 010, protože nebyl zjištěn prokazatelný vliv délky záhřevu, avšak jeho pevnost je tak nízká, že nedosahuje hodnot pektinu Ribbon ani po 60 minutách záhřevu.

7. ZÁVĚR

Využití pektinů v potravinářství se stává stále rozšířenějším, především jako součást cukrářské výroby nebo zpracování ovoce. Průmyslově vyrobené pektiny jsou dostupné a poptávka po nich se zvyšuje díky trendu domácích džemů a marmelád.

Hydrokoloidy obecně mají poměrně rozmanité funkční vlastnosti a jsou závislé na koncentraci, pH, teplotě a případně také na jejich vzájemné interakci.

V diplomové práci byly sledovány vlastnosti pektinů, především tvorba a pevnost gelu v závislosti na době záhřevu a na teplotě. Tímto způsobem byla analyzována tepelná stabilita pektinů. U všech typů těchto lineárních polysacharidů kyseliny galakturonové byla zjištěna exponenciální závislost na teplotě a době záhřevu a tím tak byla potvrzena obecná teorie o postupné degradaci pektinů. Každý pektin reagoval na dané podmínky jinak. Podle naměřených hodnot lze určit jako nejstabilnější pektin Ribbon D 075, naopak nejméně stabilní se prokázal pektin Grinstead YF 738.

I jednotlivé technologické kroky výrobního procesu ovlivňují výslednou pevnost gelu. Obecně lze říci, že čím více pevných složek v materiálu, tím lepší schopnost tvorby gelu. Pektin se totiž může navázat a vytvořit tak trojrozměrnou strukturu pro proces želírování.

Závěrem lze tedy říci, že každý ze stanovovaných pektinů je tepelně nestabilní, podléhá tedy postupné degradaci vlivem záhřevu vysokou teplotou. Pektin Ribbon D 075, i přes nejvyšší hodnoty pevnosti, vykazuje nejvyšší stabilitu (po 60 minutách záhřevu dochází ke snížení o 15 %). Tepelně nejstabilnější je pektin AF 010, protože nebyl zjištěn prokazatelný vliv délky záhřevu, avšak jeho pevnost je ve srovnání s pektinem Ribbon D 075 nízká.

8. SOUHRN

Diplomová práce na téma Tepelná stabilita pektinů se zabývá analýzou fyzikálních vlastností potravinářských hydrokoloidů se zaměřením na pektiny.

V teoretické části je vysvětleno obecné použití hydrokoloidů v potravinářství s detailnějším popisem lineárních polysacharidů kyseliny galakturonové. Tato část diplomové práce rozděluje pektiny do skupin podle různých hledisek, popisuje mechanismus tvorby gelu, vysvětluje ovlivnění různými činiteli a také znázorňuje enzymatické reakce.

Experimentální část je zaměřena na fyzikální parametry vybraných typů pektinů v závislosti na době záhřevu a na vysoké teplotě. Primární fyzikální vlastností je viskozita, která byla měřena pomocí rotačního viskozimetru a pevnost, která byla měřena pomocí mechanického a digitálního penetrometru. Tím byla zjišťována tepelná stabilita.

Klíčová slova: hydrokoloidy, pektiny, záhřev, tepelná stabilita, tvorba gelu

9. RESUME

Thesis on Thermal stability of pectins analyzes the physical properties of food hydrocolloids focusing on pectins.

The theoretical part explains the general use of hydrocolloids in food with a detailed description of linear polysaccharide galacturonic acid. This part of the thesis pectins divides into groups according to various criteria, describes the mechanism of gel formation, explains the influence of various factors, and also shows the enzymatic reaction.

The experimental part is focused on the physical parameters of selected types of pectins, depending on the time of warming and high temperature. The primary physical properties as viscosity, which was measured using a rotational viscometer and strength which was measured by a mechanical and digital penetrometer. This was measured thermal stability.

Keywords: hydrocolloids, pectins, heating, thermal stability, gel formation

10. POUŽITÁ LITERATURA

BABIČKA, L. *Přídavné látky v potravinách: publikace České technologické platformy pro potraviny*. 1. vyd. Praha: Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny, 2012. ISBN 978-80-905096-3-4.

BALAŠTÍK J., Konzervář, technologie pro 2. ročník OU a UŠ Praha: SNTL – nakladatelství technické literatury, 1975.

BLANSHARD, J., MITCHELL J. *Polysaccharides in food*. Boston: Butterworths, 1979. ISBN 0408106182.

BOURNE, C. *Food texture and viscosity: concept and measurement*. 2nd ed. San Diego: Academic Press, c2002. Food science and technology international series.

BRETSCHNEIDER, R., ČOPIKOVÁ, J. Technologie cukrovarnictví- technologie cukrovinek. Praha: SNTL, 1984,

CRUESS, W. V. *Commercial Fruit and Vegetable Products: A Textbook for Student, Investigator, and Manufacturer*. 3. New York and London: McGraw-Hill Book Company, 1948

ČERNÝ, M., TRNKA, T. Sacharidy I. Praha: SciTech, 1995, ISBN 80-901304-4-5

DAVÍDEK, J., JANÍČEK, G., POKORNÝ, J. Chemie potravin. 1. vyd. Praha: SNTL, 1983.

DICKINSON, E. *Food polymers, gels, and colloids: Based on the Proceedings of an International symposium organized by the Food Chemistry Group of The Royal Society of Chemistry at Norwich*. 1st Ed. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1991. ISBN 0-85186-657-3.

GOLIÁŠ, J., NĚMCOVÁ A. *Skladování a zpracování ovoce a zeleniny: (návody do cvičení)*. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2009. ISBN 978-80-7375-331-3.

HOEFLER, A. C. *Hydrocolloids*. St. Paul, Minn.: Eagan Press, c2004. ISBN 1891127381

HUI, Y., BARTA, J. *Handbook of fruits and fruit processing*. 1st ed. Ames, Iowa: Blackwell Pub., 2006.

IMESON, A. *Food stabilisers, thickeners and gelling agents*. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell Pub., 2010. ISBN 1405132671.

INGR I., *Základy konzervace potravin*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2005. ISBN 80-7157-849-5

KÁC, V. *Technologie ovocných a zeleninových výrobků*. Průmyslové vydavatelství Praha, 1952.

KADLEC P., MELZOCH K., VOLDŘICH M. *Procesy a zařízení potravinářských a biotechnologických výrob: [technologie potravin]*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2012, ISBN 978-80-7418-086-6.

KADLEC, P., MELZOCH K., VOLDŘICH M. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: technologie potravin*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2009. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-051-4.

KODET J., ŠOTOLOVÁ I., ŠTĚRBA S. *Plnicí, zahušťovací, gelotvorné a stabilizační látky pro potraviny: (Potravinářské hydrokoloidy)*. 1. vyd. Praha: Středisko potravinářských informací, 1993. ISBN 80-85120-32-1

KOOLMAN J., RÖHM K. *Barevný atlas biochemie*. 1. české vyd. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-2977-0.

KRKOŠKOVÁ, Bernadetta. *Textúra potravin*. Bratislava: Alfa, 1986.

KYZLINK, Vladimír. *Teoretické základy konzervace potravin*. 1.vyd. Praha: SNTL, 1988.

KYZLINK, Vladimír. *Konzervační metody*. Praha: Průmyslové vydavatelství, 1951.

MATHEWSON, R. *Enzymes*. St. Paul, Minn.: Eagan Press, c1998. ISBN 0913250961.

NISHINARI, K.; DOI, E. *Food hydrocolloids: structures, properties, and function*, Springer, 1993, ISBN 0306445948, 9780306445941

NUSSINOVITCH, A., HIRASHIMA M. *Cooking innovations: using hydrocolloids for thickening, gelling, and emulsification*. CRC Press/Taylor & Francis: 2014, BocaRaton:, xxxiii, ISBN 9781439875896.

OPLETAL, Lubomír. *Přírodní látky a jejich biologická aktivita*. Vyd. 1. Praha: Karolinum, 2011. ISBN 978-802-4618-845.

PHILLIPS, G., WILLIAMS P. A. *Handbook of Hydrocolloids (2nd Edition)*. 2nd ed. S.I.: Woodhead Pub, 2009. ISBN 9781845694142

RANGANNA, S. *Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products*. 2nd ed. New Delhi: Tata McGraw-Hill, 1986. ISBN 9780074518519.

SEYMOUR, G., KNOX J. *Pectins and their manipulation*. Boca Raton, FL: Published in U.S. and Canada only by CRC Press, c2002. ISBN 1841272280.

SINHA K., SIDHU S., BARTA J., WU S., CANO M. *Handbook of fruits and fruit processing*. Second edition. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2012. ISBN 0813808944.

STEPHEN A. M., GLYN O. PHILLIPS, WILLIAMS P. A., edited by Alistair M. Stephen, Glyn O. Phillips, Peter A. Williams. *Food Polysaccharides and Their Applications*. 2nd ed. Hoboken: CRC Press, 2006. ISBN 9781420015164

VELÍŠEK (a), Jan. *Chemie potravin*. Vyd. 2., upr. Tábor: OSSIS, 2002, xii. ISBN 80-86659-00-3.

VELÍŠEK (b), Jan. *Chemie potravin*. Vyd. 2., upr. Tábor: OSSIS, 2002, xii. ISBN 80-86659-02-x.

VERMA, L., JOSHI, V. *Postharvest technology of fruits and vegetables: handling, processing, fermentation, and waste management*. New Delhi: Indus Pub. Co, 2000. ISBN 8173871086.

VLACHOVÁ L., *Zavařujeme ovoce, zeleninu a houby*. Praha: Merkur, 1986.

VODRÁŽKA, Zdeněk. *Biochemie*. 2., opr. vyd. Praha: Academia, 1996. ISBN 80-200-0600 1.

WALTER, R. H. *The Chemistry and technology of pectin*. San Diego: Academic Press, c1991. ISBN 0127338705.

INTERNETOVÉ ZDROJE:

ASHISH K. P. The effect of ingredient on the quality of confectionery jellies – dissertation report. CFTRI 1988, Mysore, pp. 1-22

BĚHÁLEK, Luboš. *Polymery: Podpora přírodovědného a technického vzdělávání v Pardubickém kraji* [online]. Praha, 2015 [cit. 2016-04-06]. ISBN 978-80-88058-68-7

BLAHOVEC, J., K. PATOČKA a M. VALENTOVÁ. *Mechanical characteristics of the basic parts of potato tubers* [online]. Zemed.Techn., 1990, **9**(36), 539-552 [cit. 2016-04-04]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/259934675_BLAHOVECJ-VALENTOVAM_PATOCKAK_Mechanical_properties_of_the_basic_parts_of_potato_tubers_In_Czech_ZemedTechn_36_1990_c9_s539-552

DOBIÁŠ, J.: Technologie zpracování ovoce a zeleniny I. Učební texty předmětu: Technologie zpracování ovoce a zeleniny I. Praha 2004. [Online] 2004.

FELLERS, R., GRIFFITHS P. Jelly-Strength Measurements of Fruit Jellies by the Bloom Gelometer. *Industrial & Engineering Chemistry* [online]. 1928, **20**(8), 857–859 [cit. 2016-03-16]. DOI: 10.1021/ie50224a028. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ie50224a028?journalCode=iechad>

FRY, Stephen C. Oxidative scission of plant cell wall polysaccharides by ascorbate-induced hydroxyl radicals. *Biochemical Journal* [online]. 1998, **332**(2), 507-515 [cit. 2016-03-30]. DOI: 10.1042/bj3320507. ISSN 0264-6021. Dostupné z: <http://biochemj.org/lookup/doi/10.1042/bj3320507>

KOPJAR, M., PILIŽOTA V., TIBAN N., ŠUBARIĆ D., BABIĆ J., AČKAR D., SAJDL M. Strawberry Jams: Influence of Different Pectins on Colour and Textural

Properties. *Czech Journal of Food Sciences*[online]. 2009, **27**(1), 20–28 [cit. 2016-04-07]. Dostupné z: <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/06081.pdf>

LI, J., NIE S., The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods. *Food Hydrocolloids*. 2016, 53, 46-61. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2015.01.035. ISSN 0268005x. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X15000612>

MAY, Colin D. Industrial Pectins: Sources, Production and Applications. *Carbohydrate Polymer* [online]. 1989, (12), 79-99 [cit. 2016-03-21]. Dostupné z: <http://ucanr.edu/datastoreFiles/608-412.pdf>

MERRILL, C., WEEKS M. The Thermal Degradation of Pectin. *Journal of the American Chemical Society* [online]. 1945,**67**(12), 2244-2247 [cit. 2016-04-06]. DOI: 10.1021/ja01228a061. ISSN 0002-7863. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja01228a061>

OAKENFULL, D., SCOTT, A. Hydrophobic Interaction in the Gelation of High Methoxyl Pectins. *Journal of Food Science* [online]. 1984, **49**(4), 1093-1098 [cit. 2016-03-16]. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1984.tb10401.x. ISSN 0022-1147. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1984.tb10401.x>

SAKAI T., OKUSHIMA M., Microbial Production of Pectin from Citrus Peel. *Applied and Environmental microbiology*[online]. 1980, **39**(4), 908–912. [cit. 2016-03-03]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC291442/>

SAKAI, T., SAKAMOTO T., HALLAERT J., VANDAMME J.. *Pectin, Pectinase, and Protopectinase: Production, Properties, and Applications*, ScienceDirect [online]. 1993 (39), s. 213 [cit. 2016-03-02]. DOI: 10.1016/S0065-2164(08)70597-5. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065216408705975>

SRIVASTAVA, P.; MALVIYA, R. Sources of pectin, extraction and its applications in pharmaceutical industry – An overview. *Indian Journal of Natural Products and Resources*. [online] [cit. 2014-02-13]. Uttar Pradesh. India, 2011. strana 10-18.

Dostupné z: [http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/11534/1/IJNPR%202\(1\)%2010-18.pdf](http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/11534/1/IJNPR%202(1)%2010-18.pdf)

VOTAVOVÁ, L.: Enzymy. Učební texty předmětu: Principy úchovy potravin. Praha: VŠCHT, 2010. [Online] 2012.

html 1 Želatina. *Bezpečnost potravin* [online]. Praha 1: Ministerstvo zemědělství, 2014 [cit. 2016-03-21]. Dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92261.aspx>

html 2 Přídavné látky (aditiva). *Státní zemědělská a potravinářská inspekce* [online]. Brno, 2015 [cit. 2016-03-21]. Dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz/clanek/pridatne-latky-aditiva.aspx>

html 3 Bílkoviny. *E-ChemBook* [online]. Praha, 2013 [cit. 2016-03-21]. Dostupné z: <http://www.e-chembook.eu/bilkoviny>

html 4 Syntetické makromolekulární látky. *E-ChemBook* [online]. Praha, 2013 [cit. 2016-03-21]. Dostupné z: <http://www.e-chembook.eu/synteticke-makromolekularni-latky>

html 5 Jams, Jellies and Marmalades. *Herbstreith&fox* [online]. Neuenbürg, 2014 [cit. 2016-03-21]. Dostupné z: <http://www.herbstreith-fox.de/>

html 6 Invertní cukr. *Bezpečnost potravin* [online]. Praha 1, 2014 [cit. 2016-03-21]. Dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92015.aspx>

html 7 Síla kyselin. *Prvky* [online]. Praha, 2009 [cit. 2016-03-21]. Dostupné z: <http://www.prvky.com/kyseliny.html>

html 8 Technical memorandum. *Aditiva concepts* [online]. Brabrand, 2015 [cit. 2016-04-03]. Dostupné z: <http://www.aditiva-concepts.ch/download/Pektin.pdf>

html 9 Aditiva v potravinách a jejich E kódy. *Chempoint.cz* [online]. 2016 [cit. 2016-04-06]. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/aditiva-v-potravinach-a-jejich-e-kody>

html 10 Naturaly gelling. *Drescher.com* [online]. Švýcarsko, 2011 [cit. 2016-05-05]. Dostupné z: http://www.drescher.com.ar/active/htm/novedades/novedades_obipektin/pectin_tech_brochure_tabbed_aw.pdf

LEGISLATIVNÍ ZDROJE:

Vyhláška č. 4/2008 Sb., kterou se stanoví druhy a podmínky použití přídatných látek a extrakčních rozpouštědel při výrobě potravin. In: *Sbírka zákonů*, 2008.

Vyhláška č. 153/2013 Sb., kterou se mění vyhláška č. 157/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro čerstvé ovoce a čerstvou zeleninu, zpracované ovoce a zpracovanou zeleninu, suché skořápkové plody, houby, brambory a výrobky z nich, jakož i další způsoby jejich označování, ve znění pozdějších předpisů. In: *Sbírka zákonů*. 2013.

NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1333/2008 ze dne 16. prosince 2008 o potravinářských přídatných látkách. In: *Úřední věstník Evropské unie*. 2008.

11. PŘÍLOHY