Závislosti medzi priepustnosťou svetla a obsahom bielkovín vo filtrátoch v priebehu čerenia repnej šťavy vápnom

THE CORRELATION BETWEEN TRANSMITTANCE AND THE PROTEIN CONTENT OF RAW JUICE FILTRATE DURING LIMING

Božena Wnuk – Technická univerzita Lódž, Poľsko

Základné výsledky o chovaní sa bielkovín v procese predčerovania repnej šťavy vápnom publikoval už v tridsiatych rokoch minulého storočia Vašátko (1, 2). Potvrdil, že v procese progresívneho predčerovania repnej šťavy vápnom pri určitej hodnote pH predčerenej šťavy sa získa optimum koagulácie repných proteínov a ďalšie zvýšenie hodnoty pH spôsobuje pokles koagulácie bielkovín. Výskumom transmitancie filtrátov čerených a saturovaných štiav sa zaoberali o. i. aj Baczek a Jesic (3, 9), ktorí v roku 1974 navrhli metódu stanovenia optimálneho bodu koagulácie v priebehu čerenia vápnom a saturácie. Najvyššia hodnota transmitancie odpovedala optimálnej hodnote pH čerenia šťavy vápnom alebo saturácii, čiže optimálnej koagulácii koloidov. S ohľadom na nedostatočnú správnosť výsledkov bola metóda modifikovaná (6) zavedením stanovenia absorbancie dekantátu (pri vlnovej dĺžke), získaného po sedimentácii vyzrážanej zrazeniny v priebehu čerenia a saturácie. Potom bola metóda znova modifikovaná (8) spôsobom, že absorbancie dekantátov sa merali oproti absorbanciam dekantátov prefiltrovaných cez membránový filter. Z rozdielu nameraných výsledkov týchto dvoch hodnôt absorbancií stanovil sa stupeň zákalu dekantátu, ktorý umožnil presné určenie bodu optimálnej koagulácie.

Uvedené metódy neurčujú bezprostredný obsah odstránených koloidných zlúčenín, iba stav čistoty šťav a ich transmitanciu. Jednou zo zložiek repných koloidov sú bielkoviny, ktoré môžu byť stanovené napr. jednoduchou Lowryho metódou (4, 7, 11, 12). Podľa toho tieto výskumy majú cieľ porovnanie priebehu zmien transmitancií filtrátov šťavy v procese čerenia vápnom vo vymedzených teplotách so zmenami obsahu bielkovín v týchto filtrátoch stanovených Lowryho metódou.

Metodika výskumov

V pokusoch boli použité surové repné šťavy, ktoré boli podrobené progresívnemu predčerovaniu vápnom pri teplotách 40 °C, 50 °C a 60 °C. Do surovej šťavy, vyhriatej takmer na určenú teplotu, sa po kvapkách pridávalo vápenné mlieko o hustote cca 20 °Bé za dôkladného miešania (elektromagnetické miešadlo s možnosťou udržania a kontroly danej teploty). V priebehu predčerovania šťavy vápnom sa odoberali vzorky z predčerovanej šťavy v rozmedzí pH od 10,0–12,5. Po ochladení šťavy na laboratórnu teplotu sa vo vzorkách meralo pH a následne boli podrobené dekantácii a dekantáty boli sfiltrované. V takto získaných filtrátoch sa stanovil zdanlivý obsah sušiny (Bx) (5), transmitancia (pri vlnovej dĺžke svetla λ = 560 nm) a obsah bielkovín Lowryho metódou (7, 11, 12). Tie isté analytické stanovenia boli vykonané tiež v surovej šťave pred predčerením vápnom (tab. I.).

Stanovenie bielkovín Lowryho metódou v roztokoch vzoriek ako aj v šťavách surových a vo filtrátoch predčerenej šťavy vápnom obsahovali albumíny od 20 do 1 000 $g.ml^{-1}$. Šťavy pred stanovením boli zriedené destilovanou vodou v pomere 1 : 50. Do skúmaviek boli odobraté roztoky vzoriek, alebo roztoky zriedené destilovanou vodou a filtráty predčerenej šťavy v množstve 1,0 ml, pridalo sa 5,0 ml **činidla C**, ktorým bol zásaditý roztok medi pripravený 30 min pred stanovením, pozostávajúci zo zmesi **činidla A** (2 % ($m.v^{-1}$) roztok $CuSO_4$ v 0,1M roztoku NaOH), **činidla B_1** (1,0% roztok $CuSO_4$,) a **činidla B_2** (2,0% roztok vinanu sodného) v pomeroch $A : B_1 : B_2$ = 100 : 1 : 1. Potom sa roztok skúmaviek dôkladne premiešal. Po 10 minútach sa pridalo 0,5 ml **činidla D** (činidlo Folin-Cioclateho rozmiešané v destilovanej vode v pomere 1 : 1), obsah skúmaviek sa okamžite energicky premiešal a ponechal sa 30 min v kľude. Potom sa zmerali absorbancie roztokov voči porovnávacím roztokom pri vlnovej dĺžke svetla λ = 670 nm. Porovnávacím roztokom bola destilovaná voda (1 ml), do ktorej boli pridané činidlá **C** a **D,** rovnako ako v skúmaných vzorkách.

Na základe získaných výsledkov stanovenia absorbancií vzoriek roztokov albumínov (použitý albumín Egg Albumín, Fluka, Product of Netherlands) zostrojila sa krivka vzoriek, predstavujúca závislosť odčítaných hodnôt. Z grafu vzoriek sa odčítal obsah bielkovín vo filtrátoch v $g.100\ g^{-1}$ filtrátu alebo surovej šťavy tiež v $g.100\ g^{-1}$ sušiny týchto roztokov.

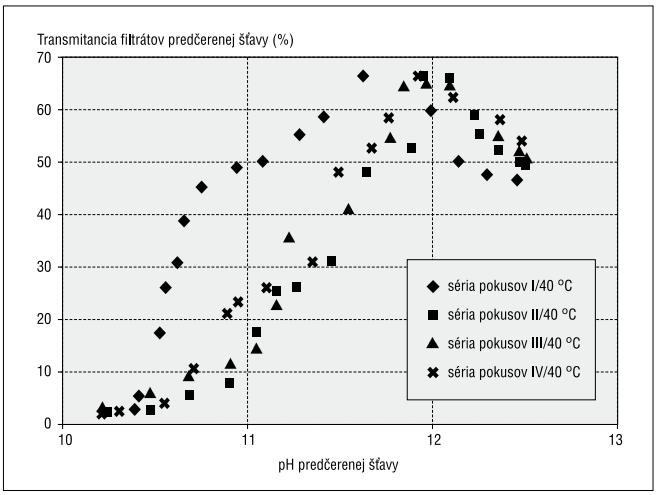
Tab. I. Metodika výskumov

Proces	Teplota predčerenia surovej repnej šťavy vápnom (°C)	Analytické stanovenia v surových šťávach a vo filtrátoch predčerenej šťavy
Progresívne predčerovanie surovej repnej šťavy	40	pH, Bx
	50	bielkoviny Lowryho metódou
	60	

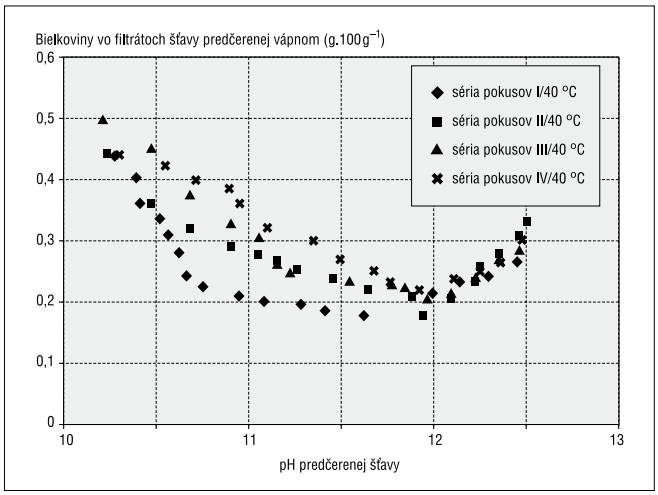
Diskusia výsledkov

Na obr. 1., 2. a 3. sú uvedené závislosti transmitancie filtrátov predčerenej šťavy od pH šťavy predčerovanej vápnom pri teplotách 40 °C, 50 °C a 60 °C. Transmitancia sa zvyšovala v závislosti od pH, ale iba do určitej hodnoty, nad ktorou sa dosiahli už nižšie hodnoty transmitancie. V každom pokuse sa pri stanovených

Obr. 1. Transmitancia filtrátov šťavy predčerovanej pri teplote 40 °C v závislosti od pH predčerovanej šťavy



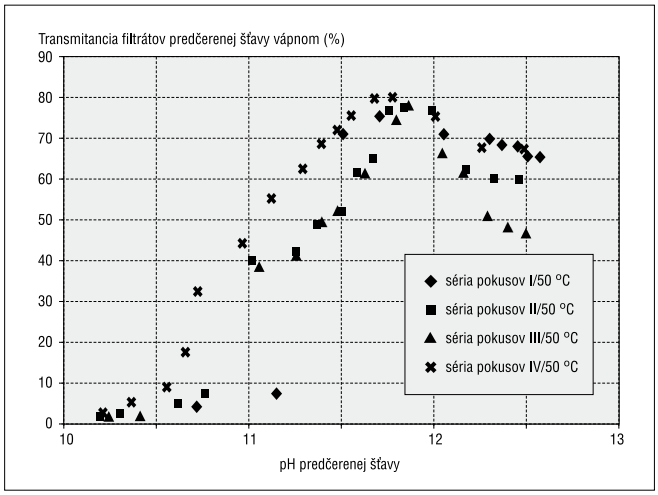
Obr. 2. Obsah bielkovín vo filtrátoch šťavy predčerovanej pri teplote 40 °C v závislosti od pH predčerovanej šťavy (štyri opak.)



hodnotách pH predčerenej šťavy dosiahla najvyššia hodnota transmitancie, čiže v zhode s konštatovaním Baczka a Jesica (3) optimálna koaguláci koloidov – optimálny bod predčerenia surovej repnej šťavy vápnom. Obsah bielkovín v surových šťavách podrobených predčereniu vápnom a stanovených Lowryho metódou, bol intervale od 0,348 g.100 g^{-1} do 0,597 g.100 g^{-1}. V prípade štyroch opakovaní pokusov vykonaných pri teplote 40 °C, najvyššie hodnoty transmitancie (65,2–66,6 %) sa dosiahli pri hodnotách pH od 11,62 v pokusoch I/40 °C do 11,96 v pokuse III/40 °C. V sérii pokusov vykonaných pri teplote predčerovania 50 °C, optimálne hodnoty pH, pri ktorých sa dosiahli najvyššie hodnoty transmitancií (od 75,6 do 80,0 %) boli v hraniciach od pH 11,7 v pokusoch I/50 °C do 11,86 v pokusoch opakovaní III/50 °C. V sérii pokusov vykonaných pri teplote 60 °C, optimálne hodnoty pH, pri ktorých sa dosiahla najvyššia hodnota transmitancie (od 79,9 do 87,6 %) boli v hraniciach od pH = 11,8 v sériách I/60 °C, III/60 °C a IV/60 °C do pH =11,97 v pokusoch II/ 60 °C.

Pri tých istých optimálnych hodnotách pH predčerenej šťavy, pri ktorých sa dosiahli najvyššie hodnoty transmitancie filtrátov, získali sa taktiež najnižšie hodnoty obsahu bielkovín vo filtrátoch predčerenej šťavy. Na obr. 4., 5. a 6. sú znázornené obsahy bielkovín vo filtrátoch predčerenej šťavy v závislosti od pH šťavy pred čerenej pri teplotách 40 °C, 50 °C a 60 °C. Obsah bielkovín vo filtrátoch predčerenej šťavy klesal v závislosti od pH predčerovanej šťavy, ale iba do určitej hodnoty (optimálny bod, pri ktorom sa dosiahla najnižšia hodnota pôvodného obsahu bielkovín), po prekročeniu ktorej obsah bielkovín vo filtráte stúpal. Bielkoviny, vyzrážané pri vyšších hodnotách pH predčerovania pravdepodobne podliehajú peptizácii a prechádzajú opäť do filtrátu. Pri pokusoch vykonaných pri teplote 40 °C (obr. 4.) sa dosiahol najnižší obsah bielkovín vo filtrátoch šťavy predčerenej vápnom (cca 0,2 g.100 g^{-1}) pri pH predčerenia od 11,62 (pokusy I/40 °C) do 11,96 (pokusy III/40 °C). Pri pokusoch vykonaných pri teplote predčerenia 50 °C (obr. 5.) dosiahla sa najnižšia hodnota bielkovín vo filtrátoch predčerenej šťavy vápnom (cca 0,1 g.100 g^{-1}) pri pH predčerenia od 11,7 (pokusy I/50 °C) do 11,86 (pokusy III/50 °C). V pokusoch vykonaných pri teplote 60 °C (obr. 6.) sa dosiahol najnižší obsah bielkovín vo filtrátoch predčerenej šťavy (cca 0,3 g.100 g^{-1}) pri pH predčerenia od 11,8 (séria pokusov I/60 °C, III/60 °C a IV/60 °C) do 11,97 (pokusy II/60 °C).

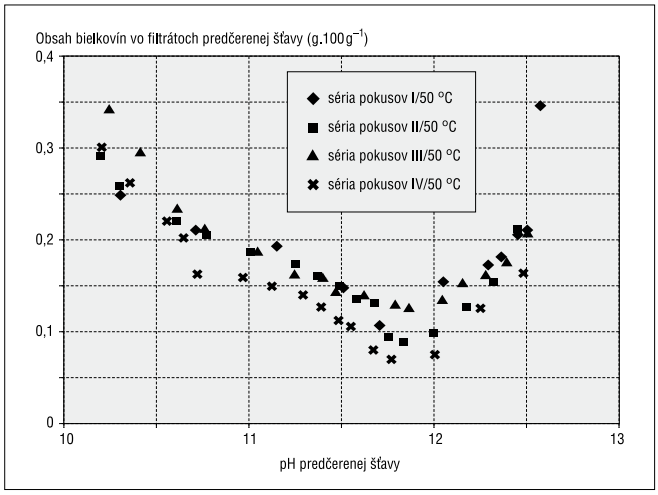
Obr. 3. Transmitancia filtrátov šťavy predčerenej vápnom pri teplote 50 °C v závislosti od pH predčerenej šťavy



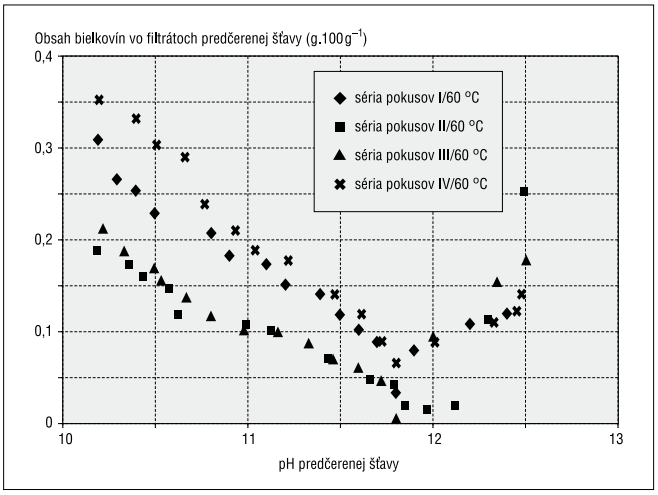
Obr. 7., 8. a 9. predstavujú obsahy bielkovín vo filtrátoch predčerovanej šťavy vápnom pri teplotách 40 °C, 50 °C a 60 °C v závislosti od ich transmitancii vo filtrátoch. Získali sa rovnice korelácií, pri ktorých sú nasledujúce kvadraty koeficientov korelácie: v pokusoch pri teplote 40 °C je R^2 = 0,7382 (R = 0,8592), v pokusoch s teplotou predčerenia 50 °C R^2= 0,5888 (R = 0,7673),pri pokusoch pri teplote 60 °C je R^2 0,5379 (čiže R = 0,7334). Vo všetkých prípadoch stanovené koeficienty korelácií majú vyššie hodnoty ako kritické hodnoty koeficientov korelácie R_0 (v prípade n = 60, α = 0,05, R_0 je 0,25, v prípade n = 70, α = 0,05, R_0 je 0,2319) (10). Z uvedených záverov môžeme konštatovať, že medzi týmito premennými sa korelácia nachádza.

Na obr. 10. sú uvedené transmitancie filtrátov predčerenej šťavy pri teplotách 40 °C, 50 °C a 60 °C odpovedajúce optimálnym bodom koagulácie, čiže najnižšej hodnote bielkovín vo filtráte a najvyššej transmitáncie v jednotlivých pokusoch. V priebehu pridávania vápna do surovej repnej šťavy pri teplote 40 °C maximálna hodnota transmitancie bola v intervale 65,2–66,6 % v štyroch postupne opakovaných pokusoch, pri teplote 50 °C v hraniciach 75,6–80,0 %, v prípade teploty 60 °C od 79,9 do 87,6 %.

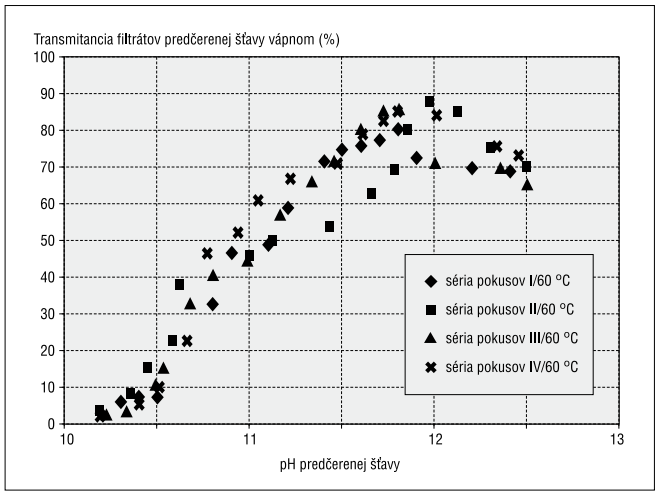
Obr. 4. Obsah bielkovín vo filtrátoch šťavy predčerenej vápnom pri teplote 50 °C v závislosti od pH predčerenej šťavy (štyri opakovania)



Obr. 6. Obsah bielkovín vo filtrátoch šťavy predčerenej vápnom pri teplote 60 °C v závislosti od pH predčerenej šťavy (štyri opakovania)



Obr. 5. Transmintácia filtrátov šťavy predčerenej vápnom pri teplote 60 °C v závislosti od pH predčerenej šťavy



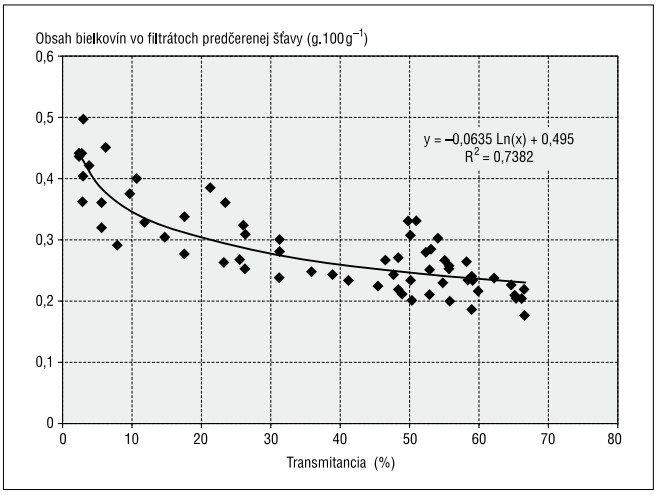
Na obr. 11. je uvedený obsah bielkovín vo filtrátoch šťavy predčerenej vápnom pri teplotách 40 °C, 50 °C a 60 °C odpovedajúci optimálnym bodom koagulácie, čiže najvyššej transmitancii a najnižšiemu obsahu bielkovín vo filtrátoch v jednotlivých pokusoch. V experimentoch predčerovania surovej šťavy vápnom pri teplote 40 °C obsah bielkovín vo filtrátoch bol od 1,09 do 1,27 g.100 g^{-1} sušiny v optimálnych bodoch koagulácie, v pokusoch pri teplote 50 °C v hraniciach 0,55 do 0,797 g.100 g^{-1} sušiny a pri teplote predčerovania 60 °C v intervale od 0,029 do 0,397 g.100 g^{-1} sušiny.

Na obr. 12. je uvedený obsah bielkovín vo filtrátoch získaných v optimálnych bodoch koagulácie bielkovín v závislosti od transmitancie týchto filtrátov, ktoré vykazovali najvyššiu transmitanciu a najnižší obsah bielkovín v jednotlivých opakovaniach. Z obrázoku je vidieť, že pre filtráty získané v optimálnom bode predčerenia surovej šťavy je charakteristická teplota predčerovania, čím je vyššia teplota procesu predčerovania, tým je menší obsah bielkovín a vyššia transmitancia. Obsah bielkovín vo filtrátoch, získaných v optimálnom bode koagulácie bielkovín pri teplote 40 °C je od 1,09 do 1,27 g.100 g^{-1} sušiny a transmitancia od 65,2 do 66,6 %. V prípade prečerovania šťavy pri 50 °C obsah bielkovín vo filtrátoch bol nižší ako pri teplote 40 °C: 0,550–0,797 g.100 g^{-1} sušiny a transmitancia filtrátov sa zvýšila na 75,6 až 80,0 %. Pri teplote predčerenia 60 °C obsah bielkovín vo filtrátoch predčerenej šťavy získaných v optimálnom bode koagulácia v porovnaní s teplotou predčerenia 50 °C bol ešte nižší (0,029–0,397 g.100 g^{-1} sušiny) a trasmitancia stúpla (79,9–87,6 %).

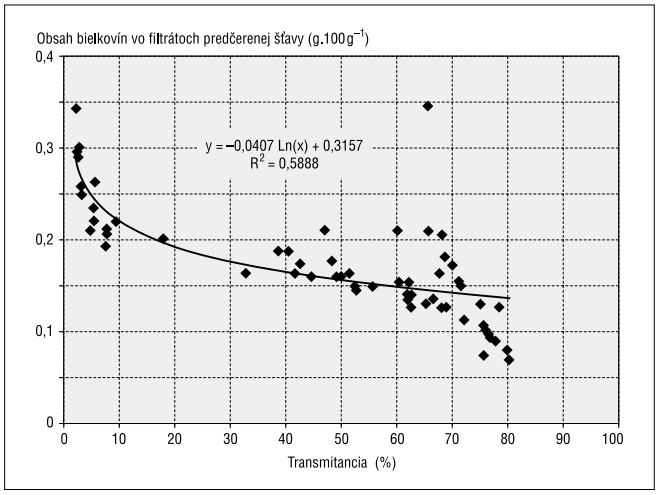
Závery

1. Transmitancia filtrátov šťavy predčerenej vápnom sa zvyšovala so stúpajúcou hodnotou pH šťavy, avšak iba do určitej maximálnej hodnoty, po jej prekročení dochádzalo k zníženiu hodnoty transmitancie filtrátov – čo je v zhode s konštatovaním Baczka a Jesica (3), ktorí ju stanovili ako optimálny bod koagulácie v priebehu čerenia surovej repnej šťavy vápnom.
2. V optimálnom bode koagulácie, t.j. pri optimálnej hodnote pH predčerovania šťavy vápnom, získali sa maximálne hodnoty transmitancie filtrátov a jednoznačne minimum obsahu bielkovín v týchto filtrátoch. Potvrdzuje to, že Lowryho metóda môže byť kompletne zaradená na stanovenie optimálneho bodu koagulácie bielkovín v procese predčerovania surovej repnej šťavy.
3. Získané korelačné koeficienty rovníc závislostí medzi transmitanciou a obsahom bielkovín vo filtrátoch šťavy predčerenej vápnom majú vyššie hodnoty (od 0,7334 do 0,8592), ako kritické hodnoty korelačných koeficientov korelácie R_0 (pre n = 60, α = 0,05, R_0 je 0,25, v prípade n = 70, R_0 je 0,2319 (10)), z čoho vyplýva záver, že existuje korelácia medzi týmito premennými.
4. Pre filtráty, získané v optimálnom bode predčerovania surovej šťavy vápnom, je charakteristická teplota predčerovania, so zvyšujúcou sa teplotou predčerenia klesal obsah bielkovín vo filtrátoch a zvýšila sa ich transmitancia.
5. V optimálnych bodoch predčerenia surovej šťavy vápnom pri teplote 40 °C transmitancia filtrátov bola od 65,2 do 66,6 %, pri teplote predčerenia 50 °C bola väčšia, od 75,6 do 80,0 %, a pri teplote 60 °C bola ešte väčšia, zvýšila sa na 79,9–87,6 %.

Obr. 7. Obsah bielkovín vo filtrátoch šťavy predčerenej vápnom v závislosti od transmitancie filtrátov predčerenej šťavy pri teplote 40 °C (výsledky sú priemerom 4 stanovení)

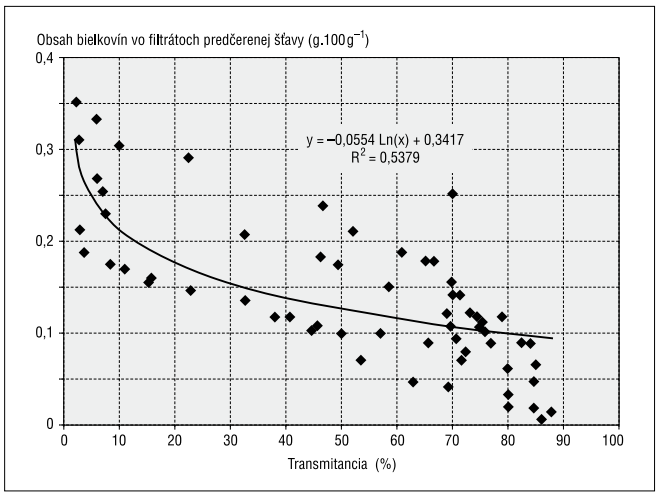


Obr. 8. Obsah bielkovín vo filtrátoch šťavy predčerenej vápnom v závislosti od transmitancie filtrátov predčerenej šťavy pri teplote 50 °C (výsledky sú priemerom 4 stanovení)



6. V priebehu pridávania vápna do surovej repnej šťavy pri teplote 40 °C obsah bielkovín vo filtrátoch získaných v optimálnych bodoch koagulácie bol od 1,09 do 1,27 g.100 g^{-1} sušiny, pri pokusoch vykonaných pri 50 °C sa znížil do hodnôt 0,550–0,797 g.100 g^{-1} sušiny a pri teplote predčerenia 60 °C poklesol až na hodnoty od 0,029–0,397 g.100 g^{-1} sušiny.

Obr. 9. Obsah bielkovín vo filtrátoch šťavy predčerenej vápnomv závislosti od transmitancie filtrátov predčerenej šťavy pri teplote 60 °C (výsledky sú priemerom 4 stanovení)



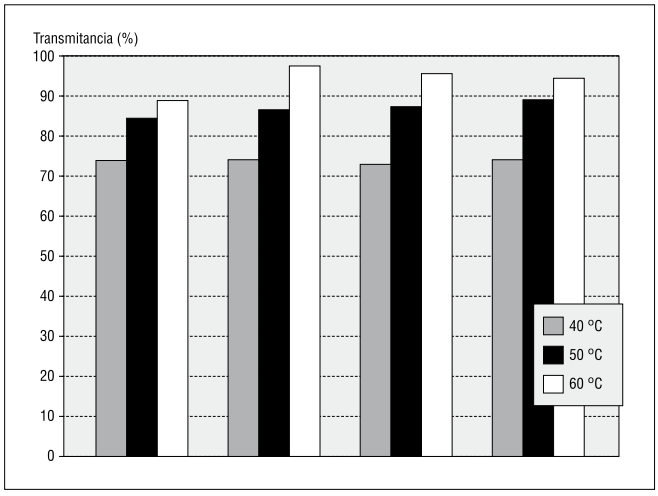
Súhrn

V optimálnom bode koagulácie, t.j. pri optimálnej hodnote pH čerenej šťavy, nadobúda maximálnu priepustnosť filtrátov a súčasne i minimum obsahu bielkovín. To potvrdzuje, že Lowryho metóda na stanovenie bielkovín môže byť kompletne použitá na stanovenie optimálneho bodu koagulácie v priebehu čerenia surovej repnej šťavy vápnom. So stúpajúcou teplotou predčerovacieho procesu surovej šťavy, filtráty získané v optimálnom bode čerenia vápnom vykazovali menší obsah bielkovín a vyššiu priepustnosť svetla.

Kľúčové slová: čerenie surovej repnej šťavy vápnom, priepustnosť svetla, obsah bielkovín, Lowryho metóda.

Preklad: Alexander Dandár

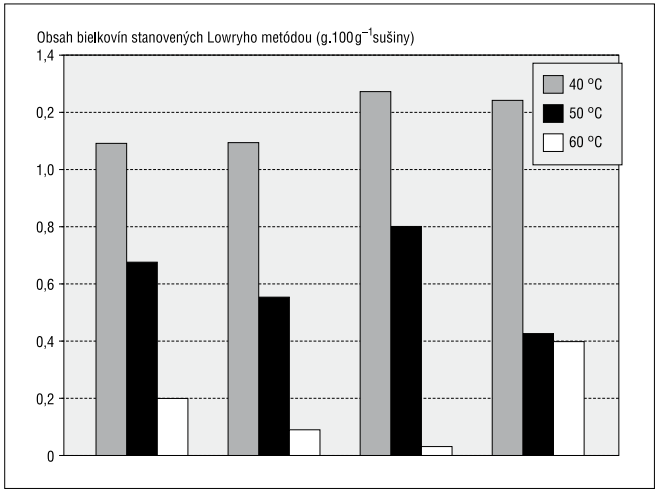
Obr. 10. Transmitancie filtrátov predčerenej šťavy vápnom stanovené v optimálnych bodoch koagulácie v závislosti od teploty predčerenia



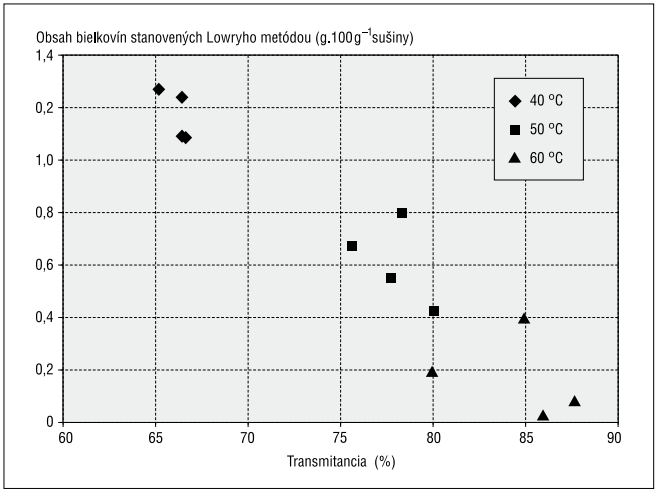
Literatúra

1 Vašátko, J.: Koagulation im Rübensafte. IV. Basisches Gebiet. Einfluß der Basen und Alkalien. *Z. Zuckerind. Čecho-slov. Rep.*, 59, 1934/35, s. 254–261.
2. Vašátko, J.: *Čistenie repnej šťavy.* Bratislava: Spolok chemikov Slovákov, 1950, 398 s.
3. Baczek, F. A.; Jesic, V. M.: Bestimmung des optimalen Flockungspunktes Vorkalkung und der erster Carbonatation. *Zucker*, 27, 1974, s. 475–476.
4. Ajdari Rad, M.; Senge, B.: Kontrolowanie przebiegu procesu oczyszczania soku metodą inline i online. *Gaz. Cukrow.*, 111, 2003 (1), s. 11–18.
5. Butwilowicz, A.: *Metody analyticzne kontroli produkcji w cukrowniach.* Warszawa: IPC, 1997, s. 44–64.
6. Büsching, L.: Wyznaczanie optymalnych wartości pH defekacji wstępnej i I. saturacji. *Zucker*, 30, 1977, s. 595, ref. *Informator STC*, 1978 (511), s. 9–15.

Obr. 11. Obsah bielkovín vo filtrátoch predčerenej šťavy stanovený v optimálnych bodoch koagulácie v závislosti od teploty predčerovania



Obr. 12. Obsah bielkovín vo filtrátoch šťavy predčerenej vápnom, získaných v optimálnych bodoch koagulácie v závislosti od transmitancie filtrátu a teploty predčerenia



7. Klyszejko-Stefanowicz, L.: *Ćwiczenia z biochemii PWN Warszawa*, 1999, s. 249.
8. Kraus, W. et al.: Badanie warunków dla optymalnej koagulacji podczas defekacji wstępnej soku buraczanego. *Zuckerind.*, 122, 1997, s. 91–99, ref. *Informator STC*, 8/979/97, 9/980/97, s. 17–22.
9. Poel van der, P. W.; Schiweck, H.; Schwartz, T.: *Sugar Technology*. Berlin: Dr. Albert Bartens, 1998, s. 491–493.
10. Szydłowski, H.: *Teoria pomiarów*. Warszawa: PWN, 1981, s. 266.
11. Toczko, M.; Grzelińska, A.: *Materialy do ćwiczeń z biochemii*. Warszawa: SGGW, 1995, s. 20.
12. Wnuk, B.: Možnosti použitia Lowryho metódy na stanovenie bielkovín v cukrovarníckych šťavách. *Listy cukrov. řepař.*, 127, 2011 (3), s. 105–109.

Wnuk B.: The Correlation between Transmittance and the Protein Content of Raw Juice Filtrate during Liming

At the optimal coagulation point, i.e., the optimum pH for limed juice, maximum values for filtrate transmittance at minimum protein content were obtained. This proves that the Lowry method for the determination of protein content is also appropriate for the determination of the optimal coagulation point during the liming of raw juice. With higher temperatures during liming, the filtrates obtained at the optimal liming point showed lower protein content and subsequently higher transmittance.

Key words: liming of raw juice, transmittance, protein content, Lowry method.

Kontaktná adresa – Contact address:

Dr Inż. Bożena Wnuk, Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Instytut Chemicznej Technologii Żywności, Zakład Cukrownictwa, ul. B. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź, Polska, e-mail: bozena.wnuk@p.lodz.pl