

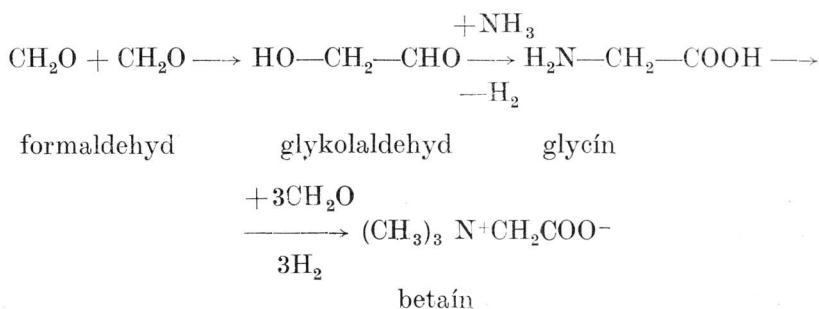
Porovnanie dvoch spôsobov získavania sacharózy z cukrovej repy vzhľadom na obsah betaínu. III

MIROSLAV ŠPAŇÁR — MILAN KOVÁČ — ZUZANA JANČEKOVÁ — IVAN KOZÁR

Súhrn. Práca sa zameriava na analytické porovnanie klasickej a novej technológie výroby cukru z hľadiska obsahu betaínu v medziproduktoch a produktoch porovnávaných technológií (difúzna šťava, ťažká šťava, melasa a cukor). Sledovanie obsahu betaínu, ako aj jeho prechodu jednotlivými stupňami cukrovarníckej výroby sa uskutočnilo metódou vysokotlakovej kvapalinovej chromatografie. Uvedená práca je súčasťou komplexného analytického zhodnotenia a porovnania dvoch technológií výroby cukru, v rámci ktorého sa sleduje široká oblasť prírodných a cudzorodých látok.

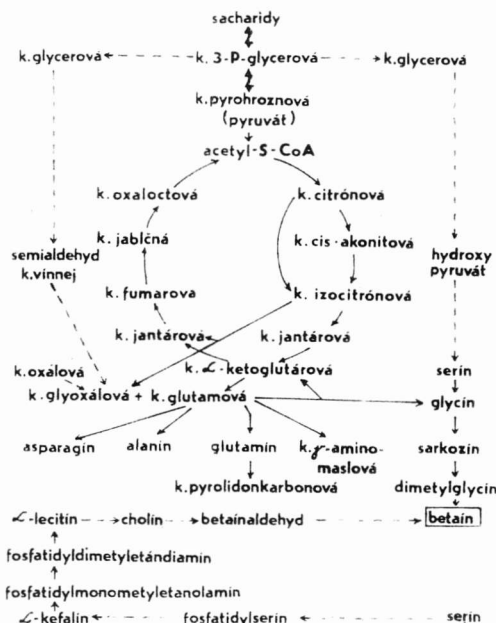
Betaín je popri aminokyselinách a proteínoch jednou z najdôležitejších látok v repe. Cukrová repa obsahuje 0,1—0,2 % betaínu. Vzhľadom na svoju malú reaktivitu sa pri zahrievaní, či už s vápnom alebo pri zahusťovaní cukrových štiav, nemení ani pri vysokej teplote, a tak prechádza prakticky celým technologickým procesom až do melasy, kde sa hromadí [1].

Betaín v cukrovej repe môže vznikať z formaldehydu, ktorý sa vytvára pri asimilácii [2]:



RNDr. Miroslav Špaňár, Ing. Milan Kováč, CSc., Ing. Zuzana Jančeková, CSc., Ivan Kozár, Výskumný ústav potravinársky, Trenčianska 53, 825 09 Bratislava.

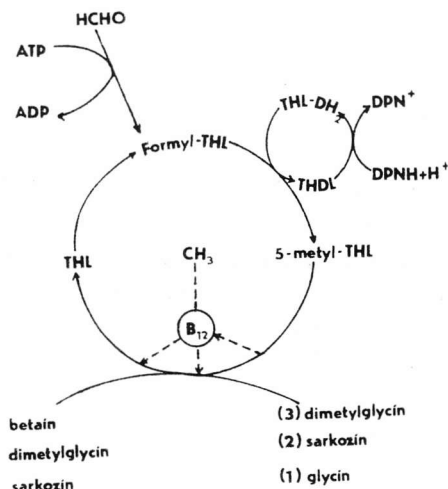
Steinmetzer [3] vysvetľuje biosyntézu betaínu v cukrovej repe vzhľadom na známe metabolické cykly. Východisko k biosyntéze betaínu by malo byť v oxidačnej látkovej výmene sacharidov, pričom kyselina α -ketoglutárová, ktorá sa tvorí v Krebsovom cykle, umožňuje prechod k látkovej výmene aminokyselín. Ak sa vychádza z glutamátu, prebiehajú dve hlavné reakcie, biosyntéza glutamínu a biosyntéza glycínu cez transaminačné reakcie glyoxalát-glutamát. Mechanizmus metylácie glycínu na betaín môže prebiehať dvoma spôsobmi



Obr. 1. Biosyntéza betaínu cez látkovú výmenu tukov.
Fig. 1. Betaine biosynthesis over metabolism of lipids.

(obr. 1, 2). Prvý spôsob (obr. 1) vedie cez látkovú výmenu tukov prostredníctvom glyceridov serínu a oxidáciou cholínu na betaín. Tento spôsob nie je pre biosyntézu betaínu vhodný, lebo cukrová repa obsahuje pomerne málo aminokyselín obsahujúcich síru. Pravdepodobnejšia je priama metylácia glycínu s prenosom metylskupín cez kyselinu tetrahydrofolistovú (obr. 2). Úplné vysvetlenie metabolickej cesty biosyntézy betaínu závisí od enzýmov a substrátov, ktoré sa zúčastňujú na týchto reakciách a doteraz nie sú presne známe. Betaín je veľmi dôležitý v látkovej výmene zvierat pri transmetylačných reakciách ako látka, ktorá poskytuje organizmu metylové skupiny a podporuje tým priberanie na váhe. Okrem toho, že betaín podporuje rast zvierat a je veľmi účinný počas biosyntézy metionínu a kreatínu, má aj ochranný účinok proti preťaženiu pečene, lebo podporuje vyzrážanie pečňových tukov. Betaín ako

prírodný derivát glycínu sa môže používať v potrave zvierat, lebo je iba malá pravdepodobnosť vzniku nežiadúcich vedľajších a spätných reakcií pri celkom obmedzených metabolických cestách betaínu. Demetylovaný betaín vytvára glycín, ktorý sa v látkovej výmene využije. Betaín sa pridáva do kŕmnych zmesí vo forme betaínhydrochloridu, čo je chemicky veľmi stála látka a nereaguje s inými zložkami krmiva. Rozsiahle využitie má betaín aj v humánnej medicíne a farmakológii. Okrem známeho použitia betaínhydrochloridu na



Obr. 2. Biosyntéza betaínu — priama metylácia glycínu.
Fig. 2. Betaine biosynthesis — the direct glycine methylation.

doplnenie sekrécie kyselín v žalúdku sa môžu používať rozličné soli betaínu ako farmakoterapeutiká na ošetrovanie arteriosklerózy a ochranu pečene pred preťačením [2].

Ako hepatotropné látky viacerí autori navrhovali soli betaínu s kyselinou askorbovou, jantárovou, jablčnou, mravčou a tiooctovou. Na ošetrovanie alkohollickej gastritis sa odporúchal betaín-glutamát, na profylaxiu zubného kazu betaínhydrofluorid [3].

Betaín pôsobí aj ako antioxidačný prostriedok a môže sa pridávať k tukovým a olejovým potravinám, aby sa zabránilo ich oxidácii. Betaín a niektoré jeho soli majú aj chuťové efekty (horká a sladká chuť), čo možno využiť v potravinárskom priemysle pri výrobe potravín a nápojov. Niektoré alkylderiváty betaínu, ktorých uhlíkový reťazec má 10—18 uhlíkov, majú dobrý antimikrobiálny účinok a povrchovú aktivitu.

Na stanovenie betaínu sa používajú rôzne analytické metódy. Jednou z najstarších je Stanekova metóda, ktorej podstata spočíva v zrážaní betaínu po-

mocou jodidu draselného. Veľký význam pri izolácii betaínu nadobudli metódy TLC a kolónovej chromatografie. Na stanovenie betaínu možno využiť aj NMR spektrometriu [4].

Oficiálnou metódou na stanovenie betaínu v cukrovarníckych produktoch je kolorimetrická metóda [5]. Jednou z metód, ktorá sa vyznačuje nespornými výhodami pri stanovení betaínu, je HPLC a metóda stanovenia betaínu pomocou reineckátu amónneho [6—9].

Experimentálna časť

Príprava vzoriek. Ako základnú surovinu sme použili cukrovú repu z Výskumnej a vývojovej šľachtiteľskej stanice semenných plodín a okopanín v Bučanoch. V priebehu spracovania a analýz sa skladovala pri teplote 2 °C v chladniarskom boxe. Za týchto podmienok sa relatívne predĺžil čas vegetačného pokoja plodiny, spomalili sa metabolické procesy prebiehajúce v cukrovej repe, potlačila sa mikrobiálna činnosť.

Klasická technológia. Na prípravu vzoriek pre klasickú technológiu sme si mulovali súčasnú cukrovarnícku technológiu od rezania repy až po cukor. Cukrovú repu sme po odstránení povrchových nečistôt rozdelili na dve približne rovnaké časti. Každú z nich sme použili pre inú technológiu. Jednotlivé časti sme rezali na rezacom nástavci laboratórneho mixéra.

Vzorky difúznej šťavy pre klasickú technológiu sme pripravovali extrakciou vodou na laboratórnom modelovom zariadení — upravený difúzny aparát KDP. Extrakcia sacharózy z repných rezkov trvala jednu hodinu pri teplote 70—75 °C. Hmotnostný odťah difúznej šťavy bol 120 % na repu. Aby sme zabránili mikrobiálnej činnosti pridali sme do vody niekoľko kvapiek formaldehydu. Po oddelení získanej šťavy od drte sme urobili klasickú epuráciu. Vyčistenú a prefiltrovanú ľahkú šťavu sme zahusťovali na vákuovej rotačnej odparke, kým refraktometrická sušina nedosiahla hodnotu v rozsahu 60—70 %, ktorá zodpovedala ťažkej šťave. Ťažkú šťavu sme po odobratí vzorky ďalej zahusťovali na presýtený cukrový roztok, ktorý sme po naočkovaní nechali kryštalizovať. Vzniknutú zmes kryštálov sacharózy a matečného luhu sme separovali na laboratórnej odstredivke. Melasu i predchádzajúce vzorky sme odkladali do mraziarskeho boxu.

Nová technológia. Čistenie cukrovej repy a získanie repných rezkov sú jednotné operácie pre obidve technológie. Vzorky pre novú technológiu sme pripra-

vovali na tom istom type extrakčného zariadenia ako predchádzajúce vzorky. Na extrakciu sme však použili zmes voda—acetón. Difúzny proces prebiehal jednu hodinu pri teplote 30—40 °C. Hmotnostný odťah difúznej šťavy predstavoval 180 % na repu. Po odstránení drte sme do získanej šťavy navážili množstvo aktívneho uhlia zodpovedajúce 0,1 % na sacharózu, aby sme pri destilácii acetónu zo šťavy zabránili peneniu, ako aj vzniku organických inkrustácií. Pred destiláciou sme pridali do šťavy 0,03 % CaO na otupenie acidity. Oxid vápenatý a aktívne uhlie sme nechali pôsobiť 20 min. Potom sme z prefiltrovanej šťavy odparili acetón na vákuovej rotačnej odparke. Ďalej sme pokračovali v epurácii rovnako ako pri klasickej technológii. Získané vzorky sme odkladali do mraziarenského boxu.

Príprava vzorky k analýze HPLC. Návažok vzorky sa rozpustí v 200 cm³ redestilovanej vody, pH sa upraví na hodnotu 3 zriedenou kyselinou sírovou. Takto upravená vzorka sa naniesie na kolónu v H⁺ cykle (Dowex 50 W-X8, 20—50 mesh). Kolóna sa premýva destilovanou vodou až do neutrálneho pH. Betaín sa vyeluuje 300 cm³ 4 % amoniaku. Kolóna sa premyje 100 cm³ destilovanej vody a eluát sa odparí do sucha. Sušina eluátu sa rozpustí v definovanom objeme a použije sa na analýzu pomocou HPLC.

Použité prístroje.

Vysokotlakový kvapalinový chromatograf VARIAN 8500;
refraktometrický detektor RIDK 101 Laboratorní přístroje, n. p., Praha;
jednolíniový zapisovač TZ 4100 Laboratorní přístroje, n. p., Praha.

Chromatografické podmienky.

Kolóna	Separon SIX NH ₂ 5 μm, 3,2 × 300 mm.
Mobilná fáza	acetonitril—voda (80 : 20).
Prietok	1 cm ³ .min ⁻¹ .
Detektor	RIDK 101.

Výsledky sa vyhodnotili pomocou analytickej čiary, ktorá sa zostrojila na základe referenčných roztokov betaínu v koncentrácii od 100 do 320 mg/100 ml redestilovanej vody.

Výsledky a diskusia

Cieľom práce bolo porovnať obsah betaínu a sledovať jeho prechod jednotlivými stupňami klasickej a novej technológie výroby cukru (tab. 1—3). Ako už bolo uvedené v predchádzajúcich experimentálnych prácach [10, 11], nová

Tabuľka 1. Stanovenie betaínu v difúznej šťave klasickej a novej technológie výroby cukru metódou HPLC (Výsledky sú prepočítané na polarizačný cukor, pc)
 Table 1. The betaine evaluation in the raw juice of the classical technology of sugar production and of the new one with use of HPLC method (The results are calculated on the polarizing sugar, pc)

Extrakcia ¹	Difúzna šťava ²	
	KT [betaín ³ g. 100 g ⁻¹ pc ⁴]	NT [betaín ³ g. 100 g ⁻¹ pc ⁴]
1	1,2846	1,2106
2	1,5706	1,2042
3	1,4533	0,8262
4	1,6282	1,3223
5	0,9500	1,0986
6	1,5927	1,3130
7	0,8699	0,8274
8	1,4321	1,3675
9	1,2608	0,8232
10	1,0151	1,0616
\bar{x}	1,3053	1,1055
s	0,2784	0,2151

KT — klasická technológia; Classical technology.

NT — nová technológia; New technology.

Priemerné hodnoty obsahu betaínu sú uvedené z desiatich extrakcií.

The average betaine content values are coming from ten extractions.

¹Extraction; ²Raw juice; ³Betaine.

technológia výroby cukru sa zakladá na princípe blokovania koloidných a pektínových látok vo vysladených repných rezkoch organickým rozpúšťadlom, ktoré má nižšiu polaritu, ako je polarita vody. Tým, že tieto látky zostávajú po extrakcii blokované, predpokladá sa ich znížený obsah v difúznej šťave i v iných produktoch a medziproduktoch cukrovarníckej technológie. Obdobne dochádza počas extrakcie v novej technológii výroby cukru aj k zníženému prechodu nízkomolekulových látok, medzi ktoré môžeme zaradiť aj betaín. Prechod betaínu a jeho tvorba počas extrakcie sacharózy sa vyznačuje špecifickými vlastnosťami v porovnaní s väčšinou ostatných nízkomolekulových látok, ktoré prechádzajú z repy do difúznej šťavy. Významnou vlastnosťou betaínu je, že nedochádza k jeho odstraňovaniu počas epurácie. Vzhľadom na jeho malú reaktivitu prechádza celým technologickým procesom bez zmeny a hromadí sa v melase. Vzniká z formaldehydu, ktorý sa vytvára pri asimilácii. Pretože sa v prípadoch klasickej technológie pridáva formaldehyd na potlačenie mikrobiálnej činnosti, treba konštatovať, že prídavok je v minimálnej koncentrácii a nemôže ovplyvniť obsah betaínu v jednotlivých medziproduktoch a produktoch cukrovarníckych technológií.

V našej práci sme na sledovanie obsahu betaínu v cukrovarníckych produktoch a medziproduktoch obidvoch sledovaných technológií využili metódu

Tabuľka 2. Stanovenie betáinu v ťažkej šťave klasickej a novej technológie výroby cukru metódou HPLC

Table 2. The betaine evaluation in the thick juice of the classical technology of sugar production and of the new one with use of HPLC method

Extrakcia ¹	Ťažká šťava ²	
	KT [betanín ³ g.100 g ⁻¹ pc]	NT [betanín ³ g.100 g ⁻¹ pc]
1	1,1059	1,0528
2	1,1995	1,0862
3	0,8676	0,9295
4	1,2112	1,0557
5	1,0583	1,0343
6	1,2166	1,0790
7	1,1337	1,1437
8	1,1873	1,0807
9	0,9352	0,7770
10	1,2058	0,9340
\bar{x}	1,1121	1,0172
s	0,0411	0,0353

KT — klasická technológia; Classical technology.

NT — nová technológia; New technology.

Priemerné hodnoty obsahu betáinu sú uvedené z desiatich extrakcií.

The average betaine content values are coming from ten extractions.

¹Extraction; ²Thick juice; ³Betaine; ⁴Polarizing sugar.

Tabuľka 3. Stanovenie betáinu v melase klasickej a novej technológie výroby cukru metódou HPLC

Table 3. The betaine evaluation in the final molasses of the classical technology of sugar production and of the new one with use of HPLC method

Vzorka ¹	Melasa ²	
	KT [betanín ³ g.100 g ⁻¹ pc ⁴]	NT [betanín ³ g.100 g ⁻¹ pc ⁴]
1	3,9566	3,6846
2	3,7309	3,6472
\bar{x}	3,8387	3,6659

KT — klasická technológia; Classical technology.

NT — nová technológia; New technology.

¹Sample; ²Final molasses; ³Betaine; ⁴Polarizing sugar.

vysokotlakovej kvapalinovej chromatografie, ktorá sa vyznačuje nespornými výhodami oproti bežne používaným kolorimetrickým metódam a nadobúda neustále väčšie uplatnenie aj v oblasti cukrovarnickej analytiky. Medziprodukty a produkty sledovaných technológií výroby cukru sme porovnali na základe

desiatich extrakcií v prípade difúzných a ťažkých štiav. Z melasy sa analyzovali iba dve vzorky kvôli kapacite laboratórneho cukrovaru.

Získané priemerné hodnoty betaínu v difúzných šťavách klasickej technológie 1,30 g. 100 g⁻¹ pc (prepočítané na cukor), novej technológie 1,10 g. 100 g⁻¹ pc, v ťažkej štave klasickej technológie 1,11 g. 100 g⁻¹ pc, novej technológie 1,01 g. 100 g⁻¹ pc a v melase klasickej technológie 3,84 g. 100 g⁻¹ pc, novej technológie 3,66 g. 100 g⁻¹ pc ukazujú mierne vyšší obsah betaínu v klasickej technológii výroby cukru. Z uvedených hodnôt je zrejmé, že rozdiel medzi porovnávanými technológiami je v tomto prípade zanedbateľný. Rovnaký záver možno konštatovať aj v prípade konečného produktu cukru, kde sa vzorky analyzovali v predchádzajúcej cukrovarníckej kampani a obsah betaínu sa pohyboval v klasickej a novej technológii v rozmedzí 90—150 mg. kg⁻¹.

Prechod nízkomolekulových látok sa zvyšuje aj vplyvom súčinnosti teploty a vody počas extrakcie. Preto aj postupné znečisťovanie acetónu v dôsledku difúzie vody z repných rezkov do extrakčného média, a tým jeho postupné zriedzovanie vplýva nemalou mierou na prechod jednotlivých látok.

Uvedená práca tvorí súčasť komplexného analytického hodnotenia a porovnania klasickej a novej technológie výroby cukru na základe sledovania celého radu prírodných a cudzorodých látok v medziproduktoch a produktoch porovnávaných cukrovarníckych technológií.

Literatúra

1. VUKOV, K.: Physik und Chemie der Zuckerrübe als Grundlage der Verarbeitungsverfahren. Budapest, Akadémiai Kiadó 1972.
2. BRETSCHNEIDER, R. — ČOPIKOVÁ, J. — KADLEC, P. — KARLÍKOVÁ, B., Listy cukrov., 90, 1974, s. 155.
3. STEINMETZER, V., Zucker, 25, 1972, s. 48.
4. CHASTELLAIN, F. — HIRSBRUNNER, P., Z. anal. Chem., 278, 1976, s. 207.
5. SCHNEIDER, F., Sugar Analysis — Icumsa Methods. Peterborough, Icumsa 1979.
6. STEINLE, G. — FISCHER, E., Zuckerindustrie, 103, 1978, s. 129.
7. FORD, C. W., J. Sci. Food Agric., 35, 1984, s. 881.
8. RAJAKYLA, E. — PALOPOSKI, M., J. Chromatogr., 282, 1983, s. 595.
9. VIALLE, J. — KOLOSKY, M. — ROCCA, L. J., J. Chromatogr., 204, 1981, s. 429.
10. ŠPAŇÁR, M. — JANČEKOVÁ, Z. — KOVÁČ, M., Bull. PV, 24(4), 1985, č. 2—3, s. 163.
11. KOVÁČ, M. — JANČEKOVÁ, Z. — ŠPAŇÁR, M., Bull. PV, 25(5), 1986, č. 1, s. 31.

Сравнение двух способов извлечения сахарозы из сахарной свеклы ввиду содержания бетаина. III

Резюме

Работа трактует об аналитическом сравнении классической и новой технологии сахарного производства с точки зрения содержания бетаина в промежуточных продуктах и продуктах сравниваемых технологий (диффузионный сок, сгущенный сироп, меласса и сахар). Наблюдение за содержанием бетаина как и за его переходом через отдельные стадии сахарного производства проводили по методу высоконапорной жидкофазной хроматографии. Приведенная работа является составной частью комплексной аналитической оценки и сравнения двух технологий сахарного производства, в рамках которого ведутся наблюдения за широкой областью природных и посторонних веществ.

Comparison of two ways of the saccharose winning from sugar beet regarding to the betaine content. III

Summary

This paper is intended on an analytical comparison of the classical technology and of a new one of sugar production from the standpoint of the betaine content in the intermediates and in the products of compared technologies (raw juice, thick juice, final molasses and sugar). The method of the high-pressure liquid chromatography was used at the tracking of the betaine content as well as at the betaine transition over the individual steps of sugar production. This work is a component of the complex analytical evaluation and comparison of two technologies of sugar production. Within the of this evaluation the broad area of natural compounds as well as contaminants is studied.