

## II. Statistické vyhodnocení vlivu hemoglobinu na vztahy sledovaných vlastností

M. PAZLAR, P. KOČOVÁ, J. POKORNÝ

V předešlé práci [1] jsme se zabývali sledováním oxidace vepřového sádla a na základě moderní teorie autooxidace jsme vysvětlili průběh reakcí. Z literatury (2, 3) je známo, že hemoglobin značně urychluje oxidaci tukových emulzí. V suspensi v bezvodém prostředí je však podle našich výsledků [4] vliv hemoglobinu na stabilitu tuku jen nepatrný.

Při autooxidaci vepřového sádla jsou sledované vlastnosti ve vzájemných významných korelacích (5). V této práci jsme zjišťovali, zda hemoglobin ovlivňuje vzájemný poměr jednotlivých reakcí. Tento vliv by vedl k nízkým hodnotám korelačních koeficientů (při vysoké hladině významnosti) a ke zřetelným změnám regresních koeficientů lineárních závislostí.

### Experimentální část

#### Materiál

Byly použity 4 vzorky vepřového sádla (dva laboratorně a dva provozně připravené), jejichž vlastnosti jsou uvedeny v předešlé části [1].

#### Analytické metody

Chemické a fyzikální analytické metody jsou popsány v předešlé části [1].

Výsledky byly statisticky hodnoceny běžnými metodami (6) na samočinném počítači National Elliot 803 B. Proto musely být naše výpočty přizpůsobeny tomuto počítači. Výběrový koeficient korelace byl vypočten podle rovnice:

$$r = \frac{n [x, y] - [x] [y]}{\left( (n [x, x] - [x]^2) (n [y, y] - [y]^2) \right)^{1/2}}$$

Test významnosti koeficientu korelace rozdělení  $t$  o  $f = n-2$  stupňů volnosti byl:

$$t = \frac{n [x, y] - [x] [y]}{\left( (n [x, x] - [x]^2) (n [y, y] - [y]^2 - (n [x, y] - [x] [y])^2 \right)^{1/2}} \cdot \sqrt{n-2}$$

Výběrové koeficienty regrese byly vyjádřeny vzorci:

$$b = \frac{n [x, y] - [x] [y]}{n [x, x] - [x]^2}$$

$$a = \frac{[x, x] [y] - [x, y] [x]}{n [x, x] - [x]^2}$$

T a b. 1. Korelační koeficienty %

	E220		E225		E232		E266		ČK		TBA		BČ	
PČ	98,1 97,6	94,8 96,3	94,8 98,8	94,7 93,8	97,0 98,6	94,7 93,1	98,9 95,3	90,5 98,5	95,7 89,8	84,3 90,2	97,1 97,0	97,7 99,9	95,5 94,9	97,3 96,2
BČ	92,0 95,0	99,9 99,1	96,8 94,3	99,8 98,8	95,3 94,5	99,7 98,9	91,4 98,0	96,9 94,6	92,0 82,9	84,2 73,9	94,4 95,9	96,3 98,4		
TBA	88,7 99,0	97,3 91,6	88,5 98,9	97,7 92,0	88,7 98,9	97,8 92,3	(73,9) 98,7	89,8 85,1	(57,2) 84,6	88,7 77,4				
ČK	89,8 91,4	87,4 72,9	69,2 87,2	88,3 73,1	(62,8) 87,1	88,7 73,3	84,6 82,4	(75,9) 85,1						
E266	96,5 98,2	97,1 96,5	94,3 98,6	96,2 94,9	93,7 98,7	95,8 94,1								
E232	99,9 99,9	99,8 99,8	99,9 99,9	99,9 99,9										
E226	99,6 99,9	99,9 99,9												

A <sub>i</sub>	A <sub>1</sub>
A <sub>10</sub>	A <sub>100</sub>

T a b. 2 Korelační koeficienti %

	E220		E225		E232		E266		ČK		TBA		B	
PČ	99,6 99,6	99,5 99,5	99,0 99,6	99,4 99,3	98,9 99,6	99,4 99,2	95,7 97,0	97,5 97,4	72,0 64,9	72,2 90,4	96,0 97,6	94,4 95,8	95,6 91,4	99,2 96,7
B	93,9 94,3	97,8 95,1	91,3 94,1	97,3 94,1	90,7 94,1	97,2 93,7	92,7 82,5	98,1 94,4	61,2 80,5	69,9 92,6	83,9 97,9	90,0 93,0		
TBA	96,9 98,9	96,7 97,0	98,4 98,8	97,2 96,4	98,6 98,8	97,2 96,0	90,8 90,8	90,4 97,9	78,5 73,6	82,4 96,8				
ČK	77,6 68,8	76,8 91,1	79,2 67,9	76,8 89,6	79,4 67,8	76,6 88,9	80,1 61,4	79,9 94,6						
E266	96,9 95,8	97,3 98,7	95,9 95,7	96,7 98,4	95,7 95,8	96,7 98,2								
E232	99,6 99,9	99,9 99,8	99,9 99,9	99,9 99,9										
E225	99,7 99,9	99,9 99,9												

B	B <sub>1</sub>
B <sub>10</sub>	B <sub>100</sub>

T a b . 3. Korelační koeficienty %

	E <sub>220</sub>		E <sub>226</sub>		E <sub>232</sub>		E <sub>236</sub>		ČK		TBA		B	
PČ	99,8 99,8	99,2 98,2	99,9 99,8	99,4 96,3	99,9 99,7	99,5 94,4	96,1 99,5	86,6 97,4	59,4 57,9	46,5 91,6	97,0 97,5	92,6 99,6	99,2 96,6	93,9 97,0
B	99,0 95,5	95,3 91,0	99,0 95,3	95,9 87,1	98,9 94,9	96,0 83,7	94,3 95,3	80,4 92,1	59,3 55,1	60,8 83,6	94,3 89,8	99,8 98,2		
TBA	97,8 97,9	94,3 96,8	97,6 98,3	94,8 94,6	97,7 98,6	94,8 92,4	97,2 97,7	80,4 96,4	69,8 67,0	62,0 90,7				
ČK	61,5 56,9	52,5 95,7	60,8 58,2	51,3 95,8	60,8 58,6	50,1 95,5	65,6 56,5	65,6 94,8						
E <sub>223</sub>	96,6 99,6	89,8 98,8	96,5 99,7	88,3 97,3	96,4 99,6	87,4 95,8								
E <sub>232</sub>	99,9 99,9	99,8 98,7	99,9 99,9	99,9 99,8										
E <sub>226</sub>	99,9 99,9	99,9 99,6												

C	C <sub>1</sub>
C <sub>10</sub>	C <sub>100</sub>

T a b . 4. Korelační koeficienty %

	E <sub>220</sub>		E <sub>223</sub>		E <sub>232</sub>		E <sub>236</sub>		ČK		TBA		B	
PČ	97,2 94,1	94,7 89,9	95,6 95,6	95,4 86,6	95,2 95,1	94,9 88,9	99,3 93,5	98,2 97,9	98,9 96,1	98,4 98,0	97,0 85,3	94,1 94,2	98,6 96,0	99,4 96,5
B	94,2 87,3	93,2 92,0	92,6 93,6	93,5 89,3	92,3 93,7	92,9 93,4	97,0 97,3	97,1 95,4	97,3 96,2	98,0 96,7	98,2 83,2	94,5 96,6		
TBA	91,5 93,1	94,7 92,1	89,8 89,7	93,1 88,3	89,3 89,6	92,7 93,1	95,8 77,6	97,0 95,8	98,1 92,7	98,6 98,5				
ČK	96,4 92,0	96,1 90,2	94,9 94,6	95,7 86,8	94,6 94,3	95,2 92,6	98,1 94,2	99,4 97,5						
E <sub>236</sub>	96,5 83,8	95,2 95,8	94,6 97,2	95,3 93,7	94,2 97,6	94,8 94,1								
E <sub>232</sub>	99,7 99,7	99,7 99,8	99,9 99,9	99,9 99,9										
E <sub>223</sub>	99,8 99,8	99,8 99,7												

D	D <sub>1</sub>
D <sub>10</sub>	D <sub>100</sub>

Tab. 5. Regresní koeficient  $B \cdot 10^{-3}$

	E220		E236		E232		E236		ČK		TBA		B	
B	2,50 2,64	2,69 2,37	3,25 3,36	3,35 3,05	4,88 3,56	3,53 3,21	0,274 0,271	0,301 0,282	0,012 0,013	0,011 0,009	0,114 0,051	0,056 0,106	0,157 0,133	0,167 0,185
PČ	13,6 19,2	15,6 12,7	25,1 15,6	19,4 15,5	29,1 16,6	20,4 16,4	1,92 1,14	1,77 1,41	0,068 0,087	0,063 0,022	0,333 0,245	0,274 0,305		
TBA	37,7 52,0	53,3 34,7	50,9 64,1	68,8 44,3	56,2 67,9	73,1 48,6	— 4,52	4,84 2,14	— 0,047	0,076 0,030				
ČK	186 177	647 309	239 1010	816 1202	— 1069	863 1275	23,6 88,7	65,9 40,2						
E236	0,095 0,098	0,114 0,112	0,076 0,070	0,090 0,079	0,055 0,066	0,086 0,074								
E232	1,42 1,31	1,31 1,30	1,08 1,06	1,05 1,06										
E236	1,22 1,23	1,25 1,23												

A	A--1
A--10	A--100

Tab. 6. Regresní koeficient  $B \cdot 10^{-3}$

	E220		E236		E232		E236		ČK		TBA		B	
BČ	3,21 2,79	2,82 3,32	3,69 3,53	3,61 4,08	3,88 3,74	3,81 4,26	0,271 0,239	0,273 0,341	0,005 —	0,005 0,014	0,038 0,056	0,048 0,047	0,114 0,092	0,122 0,137
B	25,4 26,3	22,5 22,5	28,6 33,2	28,7 27,3	30,0 35,2	30,3 28,5	2,21 2,02	2,23 2,34	— 0,041	— 0,102	0,282 0,563	0,374 0,323		
TBA	78,2 47,9	53,7 66,1	91,8 60,6	69,0 80,7	97,0 64,2	72,9 84,1	6,44 3,86	4,95 6,99	0,144 0,066	0,116 0,308				
ČK	342 373	304 195	403 466	389 235	426 493	410 244	31,0 —	31,2 21,2						
E236	0,085 0,084	0,096 0,103	0,073 0,066	0,075 0,084	0,069 0,063	0,071 0,080								
E232	1,21 1,34	1,35 1,28	1,05 1,06	1,06 1,05										
E236	1,15 1,27	1,28 1,23												

B	B--1
B--10	B--100

Tab. 7. Regresní koeficient  $B \cdot 10^{-5}$

	E220		E225		E232		E226		ČK		TBA		B	
PČ	2,53 2,38	2,47 1,73	3,08 2,95 23,4	3,16 1,93	3,18 3,07	3,37 1,84	0,104 0,221	0,164 0,191	— —	— 0,004	0,083 0,056	0,075 0,049	0,115 0,116	0,119 0,111
B	21,7 19,0	18,8 14,0	26,4	24,1 15,2	27,3 24,3	25,8 14,2	0,886 1,762	1,205 1,573	— —	— 0,036	0,700 0,426	0,643 0,418		
TBA	28,9 40,9	28,8 35,0	35,1 50,9	37,0 38,8	36,3 53,2	39,5 36,9	1,23 3,81	1,87 3,87	0,050 0,056	— 0,091				
ČK	— —	— 345	—	— 391	— —	— 380	— —	19,3 37,9						
E256	0,041 0,093	0,068 0,110	0,034 0,075	0,053 0,095	0,033 0,072	0,049 0,096								
E232	1,26 1,29	1,36 1,09	1,03 1,04	1,07 0,97										
E226	1,22 1,24	1,28 1,13												

C	C 1
C 10	C 100

Tab. 8. Regresní koeficient  $B \cdot 10^{-5}$

	E <sub>220</sub>		E <sub>226</sub>		E <sub>232</sub>		E <sub>236</sub>		ČK		TBA		B	
BČ	2,71 2,59	2,62 1,98	3,20 4,43	3,23 2,33	3,30 4,58	3,37 3,74	0,380 0,268	0,262 0,270	0,025 0,025	0,028 0,029	0,065 0,066	0,082 0,073	0,149 0,134	0,176 0,106
B	17,4 17,3	14,6 18,5	20,6 39,6	17,9 21,9	21,2 41,2	18,6 34,6	2,46 2,00	1,46 2,40	0,165 0,183	0,159 0,264	0,435 0,464	0,467 0,680		
TBA	38,3 33,0	30,0 26,3	45,0 40,8	36,1 31,1	46,4 42,3	37,6 48,8	5,49 —	2,96 3,42	0,376 0,316	0,324 0,382				
ČK	105 95,9	92,6 66,5	124 178	113 78,1	128 184	118 138	14,7 10,2	9,23 8,99						
E <sub>236</sub>	0,132 0,087	0,092 0,120	0,108 0,039	0,075 0,096	0,104 0,038	0,071 0,075								
E <sub>232</sub>	1,24 1,35	1,28 1,34	1,03 1,04	1,05 1,05										
E <sub>226</sub>	1,20 1,30	1,22 1,22												

D	D 1
D 10	D 100

Tab. 10. Regresní koeficient  $B \cdot 10^{-5}$

	E220		E226		E232		E236		ČK		TBA		B	
BČ	98,2 98,0	96,4 93,7	96,6 97,5	96,5 90,6	95,9 97,4	96,5 88,2	93,1 94,3	92,0 95,4	87,6 85,3	79,3 74,7	92,5 92,5	92,7 91,3	95,4 95,3	97,2 91,8
E	92,0 94,9	96,8 91,3	93,9 88,4	96,5 89,2	92,4 88,6	96,4 86,9	91,4 91,9	94,0 91,5	84,2 83,0	82,1 57,6	92,1 86,3	92,3 92,3		
TBA	89,4 95,6	92,7 88,3	89,7 95,2	91,8 86,6	89,4 95,1	91,7 87,4	80,3 87,8	86,9 90,2	80,6 77,7	84,6 86,5				
ČK	84,0 86,4	86,2 69,0	72,3 67,0	65,0 68,4	66,9 66,5	64,7 74,9	82,8 58,0	60,3 72,9						
E236	93,0 94,1	95,1 96,8	91,5 93,5	94,6 95,7	89,6 93,7	94,2 94,8								
E232	99,6 99,9	99,8 99,3	99,9 99,9	99,9 99,9										
E226	99,7 99,9	99,9 99,7												

0	1
10	100

Tab. 9. Korelační koeficient %

	E220		E226		E232		E236		ČK		TBA		B	
PČ	2,64 2,66	2,68 2,21	3,33 3,53	3,33 2,61	3,68 3,71	3,52 2,82	0,292 0,265	0,260 0,257	0,012 0,012	0,012 0,012	0,062 0,061	0,068 0,059	0,152 0,132	0,164 0,138
B	15,4 19,3	15,7 14,3	22,8 20,4	19,4 18,0	23,8 21,5	20,4 18,6	2,02 1,52	1,55 1,64	0,079 0,091	0,072 0,067	0,409 0,361	0,391 0,446		
TBA	36,8 40,3	35,8 32,4	46,7 52,3	44,5 38,6	48,9 55,0	47,0 48,8	3,78 3,48	3,08 3,56	0,213 0,180	0,206 0,262				
ČK	160 166	118 92,9	160 241	143 106	153 251	151 192	16,7 11,5	10,9 11,2						
E236	0,102 0,094	0,097 0,111	0,083 0,062	0,077 0,087	0,075 0,059	0,073 0,078								
E232	1,28 1,32	1,31 1,26	1,05 1,05	1,06 1,04										
E226	1,20 1,26	1,24 1,21												

0	10
10	100



## V ý s l e d k y

V tab. 1—4 jsou uvedeny korelační koeficienty pro vztahy analytických hodnot sledovaných vzorků A—D, v tab. 5—8 příslušné regresní koeficienty b. Tab. 9 shrnuje korelační koeficienty mezi sledovanými hodnotami pro celý soubor všech analyzovaných vzorků na různých koncentracích hemoglobinu. V tab. 10 byly stejným způsobem seřazeny regresní koeficienty b.

## D i s k u s e

Našimi výsledky jsme potvrdili údaje literatury [2, 3], že hemoglobin suspendovaný v čistém tuku ovlivňuje jen nepatrně jeho oxidaci. Tento závěr se dá očekávat vzhledem k jeho nepatrné rozpustnosti, takže k reakci dochází prakticky pouze na rozhraní fází. Vzhledem k této malé rozpustnosti se neovlivnil ani tvar spektrálních křivek sledovaných vzorků.

Pro nízkou katalytickou účinnost, která je způsobena malou rozpustností, se nedaly očekávat výrazné rozdíly reakčního mechanismu, takže výsledky pokusů jsme byli nuceni statisticky zpracovat, abychom došli k závěrům. Nejnápadnější rozdíly jsou jak u korelačních tak i regresních koeficientů ve vztazích peroxidového čísla, benzidinového čísla, TBA testu, extinkce při 266 nm a v menší míře čísla kyselosti na jedné straně a extinkcemi při 220, 226 a 232 nm na straně druhé. Z toho plyne, že při stejných hodnotách prvé skupiny analytických metod mohou odpovídat nižší hodnoty extinkcí v oblasti blízké oblasti odpovídající konjugovaným dienum.

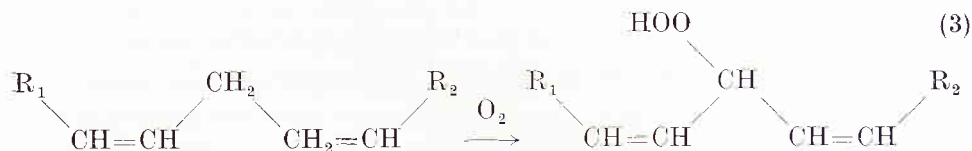
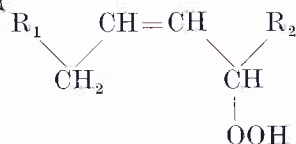
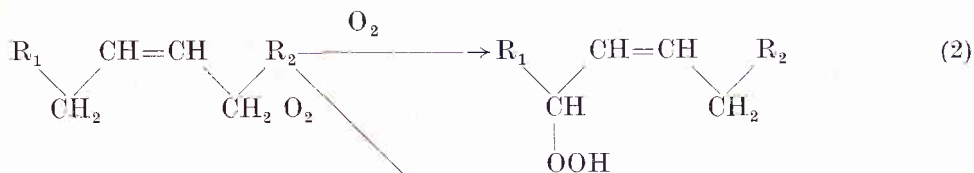
Nejpravděpodobnější vysvětlení je založeno na hypotéze, vyslovené Tappelem [2], že hematinové deriváty katalyzují rozklad peroxidů na sekundární oxidační zplodiny, které mají rozrušený konjugovaný dienový systém:



Obsah sekundárních a terciárních oxidačních produktů zůstává v první fázi oxidace relativně stejný vzhledem k obsahu peroxidů jako u nekatalyzované reakce.

Jinou možností vysvětlení je, že přírůstek rychlosti tvorby peroxidů, způsobený katalytickým účinkem vysokých koncentrací hemoglobinu se prakticky vyrovnává katalytickým urychlením jeho rozkladu ve smyslu Tappelovy hypotézy (1) za tvorby hydroperoxidů neobsahujících konjugované vazby, zatímco paralelně probíhající rozklad peroxidů způsobem, odpovídajícím nekatalyzované reakci, zůstává ve stejném rozsahu.

Nelze vyloučit možnost, že hemoglobin katalyzuje vznik nekongugovaných peroxidů hlavně z monoenoových kyselin:



#### Souhrn

Hemoglobin suspendovaný v tuku neovlivňuje při nízkých koncentracích 1 a 10 mg ve 100 g tuku, které přicházejí v běžných potravinářských produktech v úvahu ani rychlost ani průběh oxidace ani vzájemný poměr koncentrací oxidačních produktů. Mírný vliv jsme pozorovali pouze u koncentrace 100 mg hemoglobinu ve 100 g vzorku.

#### Literatúra

1. Kočová P., M. Pazlar, Z. Jordáková, J. Pokorný, Bulletin — Ústředný výskumný ústav potravinárskeho priemyslu, Bratislava.
2. Tappel A. L., Lipids and Their Oxidation, Avi Publ. Co., Westport 1962, p. 122.
3. Lundberg W. O., Autooxidation and Antioxidants, 1. Interscience Publ., New York 1960.
4. Pokorný J., M. Pazlar, Nahrung (v tisku).
5. Pazlar M., P. Kočová, J. Pokorný, Zeitschrift für Unters. u. Forschung (v tisku).
6. Líkař O., Statistické metody v laboratorní práci, SNTL, Praha 1957.



Влияние гемоглобина на окисление смалца.  
II. Статистическая оценка влияния гемоглобина на  
отношения исследуемых свойств.

Выводы

Гемоглобин суспендированный в смалце не оказывает влияние при низких концентрациях 1 и 10 мг в 100 г жира, которое количество обыкновенно имеет место в пищевых продуктах, ни на скорость ни на ход окисления, даже не влияет на взаимное отношение концентраций окисленных продуктов. Небольшое влияние мы наблюдали только при концентрации 100 мг гемоглобина в 100 г образца.

Haemoglobin influence on the oxidation of pork lard  
II. Statistical evaluation of the haemoglobin influence on  
relations of observed properties

Summary

Haemoglobin suspended in the fat does not influence in low concentrations 1 and 10 mg in 100 g of the fat occurring in usual food products either the rate or the course of the oxidation nor mutual relation of oxidative products concentrations. The slight influence has been observed only in the concentration of 100 mg of haemoglobin in the sample of 100 g.