



**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA CHEMICKÁ**

FACULTY OF CHEMISTRY

**ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ**

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**VLIV DEZINFEKČNÍCH PROSTŘEDKŮ NA OBSAH  
Kyseliny mléčné při výrobě rafinovaného  
Cukru**

INFLUENCE OF DISINFECTANTS ON THE CONTENT OF LACTIC ACID IN THE PRODUCTION  
OF REFINED SUGAR

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

MASTER'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

Bc. Hedvika Novotná

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

Mgr. Radek Horák

**BRNO 2017**

## Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1119/2016  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Studentka: **Bc. Hedvika Novotná**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie  
Vedoucí práce: **Mgr. Radek Horák**  
Akademický rok: 2016/17

### Název diplomové práce:

Vliv dezinfekčních prostředků na obsah kyseliny mléčné při výrobě rafinovaného cukru

### Zadání diplomové práce:

V rámci diplomové práce bude zkoumána účinnost dezinfekčních prostředků přidávaných v cukrovarnictví na kontaminaci v určitých fázích výroby. Cílem práce pak bude posouzení výtěžnosti a kontaminace při biovýrobě a při zpracování konvenční řepy.

### Termín odevzdání diplomové práce: 5.5.2017

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

-----  
Bc. Hedvika Novotná  
student(ka)

-----  
Mgr. Radek Horák  
vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

V Brně dne 31.1.2017

## **Abstrakt**

Diplomová práce porovnává účinnost dezinfekčních prostředků na obsah kyseliny mléčné. Dezinfekčními prostředky, které byly použity k experimentální části jsou formalin a BetaStab<sup>®</sup>. Také byl pozorován a porovnáván obsah glukózy a kyseliny mléčné při zpracování konvenční řepy a biořepy.

Na základě analýzy naměřených dat bylo zjištěno, že nejvyšší dezinfekční účinek na obsah kyseliny mléčné měl formalin, průměrná hodnota kyseliny dosahovala 275 mg/l. Při použití dezinfekce BetaStab<sup>®</sup> byly hodnoty kyseliny v průměru 350 mg/l. Při zpracování konvenční řepy bez použití dezinfekce činilo toto průměrné množství 371 mg/l a u zpracování biořepy, která byla také neošetřená, dosáhl obsah kyseliny hodnoty 467 mg/l.

Obsah glukózy u difuzní šťávy dezinfikované formalinem dosáhl průměrné hodnoty 573 mg/l. Při aplikaci dezinfekce BetaStab<sup>®</sup> činil obsah glukózy v průměru 348 mg/l a podobná hodnota byla naměřená u zpracování biořepy – 328 mg/l. Nejvyšším obsahem glukózy disponovala neošetřená konvenční řepa, kde bylo dosaženo průměrné hodnoty 690 mg/l.

## **Abstract**

The diploma thesis compares the effectiveness of disinfectants on the content of the lactic acid. The disinfectants used for the experimental part are formalin and BetaStab<sup>®</sup>. The content of glucose and lactic acid was observed and compared after processing conventional beet and bio-beet.

Based on the analysis of the measured data, it was found that the highest disinfecting effect on the lactic acid content had formalin, the average lactic acid value was 275 mg/l. In experiment with BetaStab<sup>®</sup> disinfection the average value of the lactic acid was 350 mg/l. When the beet was processed without the use of disinfection, this average lactic acid was 371 mg/l and in the untreated treatment of the bio-beet, the lactic acid content was 467 mg/l.

The glucose content of formalin disinfection diffusion juice reached an average of 573 mg/l. When BetaStab<sup>®</sup> disinfection was applied, the average glucose content was 348 mg/l and a similar value was measured for the bio-beet treatment (328 mg/l). The highest glucose content had untreated conventional beet, where an average value of 690 mg/l was reached.

## **Klíčová slova**

Kyselina mléčná, dezinfekce, kontaminace, BetaStab, formalin, glukóza

## **Keywords**

Lactic acid, disinfection, contamination, BetaStab, formalin, glucose

NOVOTNÁ, H. *Vliv dezinfekčních prostředků na obsah kyseliny mléčné při výrobě rafinovaného cukru*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017, 51 s. Vedoucí diplomové práce Mgr. Radek Horák.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis studentky

## **Poděkování**

Chtěla bych touto cestou poděkovat svému vedoucímu diplomové práce panu Mgr. Radkovi Horákovi za cenné rady, pozitivní přístup, věcné připomínky a vstřícnost při konzultacích. Dále bych ráda poděkovala paní Ing. Martině Hrubanové za její ochotu a poskytnutí cenných informací. Děkuji také panu doktoru Pořízkovi za jeho cenné konzultace v oblasti statistiky a celé společnosti Moravskoslezské cukrovarny a.s. za příležitost.

# Obsah

1. Úvod.....	8
2. Teoretická část .....	9
2.1. Technologie cukru .....	9
2.1.1. Cukrovka .....	9
2.1.2. Příjem a výkup řepy .....	12
2.1.3. Doprava, praní a řezání řepy .....	14
2.1.4. Těžení šťávy .....	17
2.1.5. Epurace – čištění šťáv .....	20
2.1.6. Odpařování šťáv .....	22
2.1.7. Svařování cukrovin a krystalizace cukru .....	23
2.1.8. Rafinace cukru.....	24
2.2. Dezinfekční prostředky využívané v extrakci .....	26
2.2.1. Mikroorganismy v extraktoru.....	26
2.2.2. Vznik kyseliny mléčné v extraktoru.....	27
2.2.3. Metody zjišťování kontaminace.....	29
2.2.4. Dezinfekční prostředky v cukrovarnictví .....	30
3. Experimentální část.....	33
3.1. Chemikálie.....	33
3.2. Experimentální vybavení .....	33
3.3. Princip měření.....	33
3.4. Příprava vzorku a stanovení .....	34
3.5. Dávkování dezinfekce .....	35
4. Výsledky a diskuze .....	36
4.1. Vliv dezinfekce na obsah kyseliny mléčné.....	36
4.2. Vliv dezinfekce na obsah glukózy.....	41

5. Závěr .....	46
6. Seznam použitých zdrojů .....	48

## 1. Úvod

Cukrovarnictví má v České republice již dlouholetou tradici a prolíná svojí činností širokou škálu vědeckých oborů. Vývoj tohoto průmyslu se stále zdokonaluje jak z hlediska kvality svých výrobků, tak z hlediska ekonomického. Jedním z těchto aspektů cukrovarnického průmyslu je ochrana vstupních surovin před činností mikroorganismů, jejíž důsledkem dochází k vysokým ztrátám a zhoršení kvality cukru.

Činností mikroorganismů je v cukrovarnictví věnována dlouholetá pozornost. Působením mikroorganismů vzniká v difuzní šťávě řada metabolitů, které mají negativní vliv na proudění šťávy v extraktoru, zvyšují kyselost surové šťávy a podněcují pění štávy. Také stoupá intenzita tvorby melasy a tím pádem se snižuje výnos cukru. Důležitou a v posledních letech hojně sledovanou látkou, která vzniká vlivem mikrobiální aktivity v difuzní šťávě, je kyselina mléčná. Ta dnes slouží jako hlavní ukazatel mikrobiální kontaminace extraktoru.

Vývoj mikroorganismů redukuje rychlost difuze v extraktorech, správná funkce čistících systému cukrové řepy a celkové dodržování čistoty v rámci cukrovaru. Podstatnou složkou zamezení růstu mikroorganismů v extraktoru jsou však dezinfekční prostředky. Mezi nejhojněji používanou chemikálií v oblasti dezinfekce v cukrovarnictví je formalin. V posledních letech je však kladen důraz na eliminaci této látky z technologického procesu z důvodu negativního působení na lidský organismus a životní prostředí. Na základě této skutečnosti je věnována nadměrná pozornost různým přírodním alternativám dezinfekce formalinu. Mezi přírodní alternativy formalinu patří dezinfekce BetaStab<sup>®</sup>, která je založena na bázi  $\beta$ -chmelových kyselin.

V práci je sledována účinnost výše zmíněných dezinfekčních prostředků na obsah kyseliny mléčné, která byla měřena po dobu celé kampaně cukrovaru. Spolu s kyselinou mléčnou byl stanovován obsah invertního cukru – glukózy, jež je také produkován mikroorganismy. V teoretické části je stručně popsána technologie cukru, typy dezinfekčních prostředků a mikrobiální činnost.



## 2. Teoretická část

### 2.1. Technologie cukru

Výroba cukru je komplexní proces mnoha operací, které jsou navzájem propojeny širokým systémem potrubí a energetickou sítí. V rámci účinné a efektivní produkce je důležitá kvalitní spolupráce všech jednotlivých složek zahrnutých v tomto výrobním procesu. Následující kapitoly stručně popisují technologii výroby cukru.

#### 2.1.1. Cukrovka

Cukrovka (*Beta vulgaris*) neboli cukrová řepa je kulturní rostlina pěstovaná zejména pro svoji schopnost vytvářet řepný cukr (sacharózu). Je hojně využívána v potravinářském průmyslu, zejména pak v cukrovarnictví. Jedná se o dvouletou rostlinu z čeledi merlíkovitých. Je tvořena souborem listů (chrást) a zdužnatělým kořenem tzv. bulvou. Bulvu tvoří tři části a to korunka (epikotyl), krk (hypokotyl) a vlastní kořen (radix), který se využívá právě k technologickým účelům. [3,4]

Nejvhodnější podmínky pro optimální růst cukrovky a výnos cukru jsou v oblastech mírného zeměpisného pásma. Efektivní zemědělskou produkcí cukrovky disponují v České republice zejména tyto oblasti: Polabí, údolí Ohře, okolí Opavy, Morava, Povoltaví. Mezním faktorem pro účinné pěstování cukrovky v České republice je přiměřené rozdělení srážek. [2]

Posledním trendem v potravinářském průmyslu je výroba tzv. bioproduktů. Tento trend se uchytil také v cukrovarnickém průmyslu, kde je aplikován zejména k výrobě biocukru z tzv. biořepy. Bioprodukty jsou definovány zákonem č. 242/2000 Sb., v aktuálním znění, o ekologickém zemědělství jako produkty živočišného či rostlinného původu, které jsou produkovány za zákonem stanovených podmínek. Při výrobě bioproduktu je zakázáno používat umělá hnojiva, genové manipulace, pesticidy, umělá barviva a konzervační látky. Také jakékoli chemické a fyzikální zpracování není dovoleno. Povolené aditivní a pomocné látky a látky konvenčního zemědělského charakteru jsou povoleny do 30 % hmotnosti. [16]

#### *Složení cukrovky*

Jak již bylo řečeno, k technologické produkci cukru se používá výhradně bulva neboli kořen cukrovky. Složení kořene cukrovky se liší ve dřeni a řepné šťávě. Bulvu tvoří voda a sušina, jejíž obsah činí 22-25 %. Zhruba 6 % sušiny tvoří ve vodě nerozpustná část, již zmíněná dřevina.

Ta je tvořena hlavně celulosou, hemicelulosou, polysacharidy, ligninem, saponinem či pektinovými látkami. [1,5]

Řepná šťáva, která zaujímá zbývající obsah, se skládá z látek, které jsou rozpustné ve vodě. Mezi tyto látky patří také sacharóza, která zaujímá 14-20 %. Vliv na obsah sacharózy má manipulace agrotechniky, klimatické podmínky během růstu řepy a také konkrétní odrůda. Sacharóza vzniká za pomoci fotosyntézy v listech cukrové řepy, potřebnou tepelnou energii dodává sluneční záření. Produktem fotosyntézy v listech jsou monosacharidy, které se za současného působení fermentů přeměňují na sacharózu. Pomocí vodivého pletiva je sacharóza následně rozvedena do bulvy. Bulva však nedisponuje schopností vytvářet sacharózu z monosacharidů, pouze slouží k jejímu uspořádání v určitých částech rostliny. Nejhojnějším obsahem monosacharidů disponují tedy listy, které tak mají schopnost, jako jediná část, tvořit sacharózu. Vliv na tvorbu cukru má tedy jakékoliv lámání chrástů či choroby rostliny. Obsah sacharózy je v bulvě rozmístěn nerovnoměrně. Vysoký obsah sacharózy je obsažen zejména ve střední části bulvy, na vnějších stranách už je toto množství menší. Nejnižším obsahem sacharózy disponují hlava a kořinky bulvy. [3]

Zbývající skupinou látek, které se nachází v řepné šťávě jsou tzv. rozpustné necukry. Pojmenování čistě klade důraz na to, že z této skupiny látek je vyňata sacharóza. Tyto látky při extrakci sacharózy mohou vstupovat do surové šťávy, kde negativně ovlivňují její čistotu a následně výtěžnost cukru. [2,5]

Konkrétní obsah těchto látek je uveden v tabulce č. 1.

*Tabulka 1 Rozpustné necukry*

<b>Látka</b>	<b>Obsah (%)</b>
Monosacharidy (glukosa, fruktosa)	0,05 – 0,30
Oligosacharidy (raffinosa)	0,20 – 1,00
Organické kyseliny (šřavelová, jablečná, citrónová, mléčná)	0,15 – 0,50
Popel ( $K_2O$ , $Na_2O$ , $CaO$ , $MgO$ , $P_2O_5$ )	0,15 – 0,80
Dusíkaté látky (bílkoviny, amidy, betain, aminokyseliny, amonné sole, dusičnany)	1,00 – 2,00

Ve sklizené řepě probíhají fyziologické procesy, pokud jsou tyto procesy narušené, vzniká tzv. alterace řepy. Tento jev způsobují teplotní změny, zapaření či zmrznutí a dochází tak k nenávratnému poškození buněk v pletivech cukrovky. Kritickým bodem pro cukrovku je  $-9\text{ }^{\circ}\text{C}$ , kdy dochází k odvodnění protoplazmy a nárůstu krystalů ledu v mezibuněčných prostorech. Pokud dojde k úbytku 25 % vody, snižuje se životaschopnost buněk. Tento proces je pak následovaný rapidní tvorbou plísní, bakterií a kvasinek. Jejich produktem vznikají dextrany a levany, které jsou příčinou špatných filtračních vlastností šťávy. Při alteraci dochází k inverzi sacharózy na glukózu a fruktózu, které se při procesu epurace rozloží až na kyselinu mléčnou, následkem je enormní zavařování šťáv. Narůstá také obsah redukujících cukrů. Při reakci redukujících cukrů s aminokyselinami dochází ke tvorbě barevných produktů Maillardovy reakce. Tyto produkty výrazně přibarvují šťávy v průběhu odpařování. Negativní vliv na filtrační vlastnost šťávy a kompresibilitu kalu mají také odbourané pektiny. K jejich odbourávání dochází pomocí pektolytických enzymů, které jsou produkovány činností plísní. Dochází k měknutí bulev a k rozkladu pektinů na kyselinu galakturonovou, která se způsobuje obdobné problémy jako redukující cukry. Pro zahrnutí alterované řepy do procesu výroby je tedy nutno zabezpečit speciální podmínky jejího zpracování. [1]

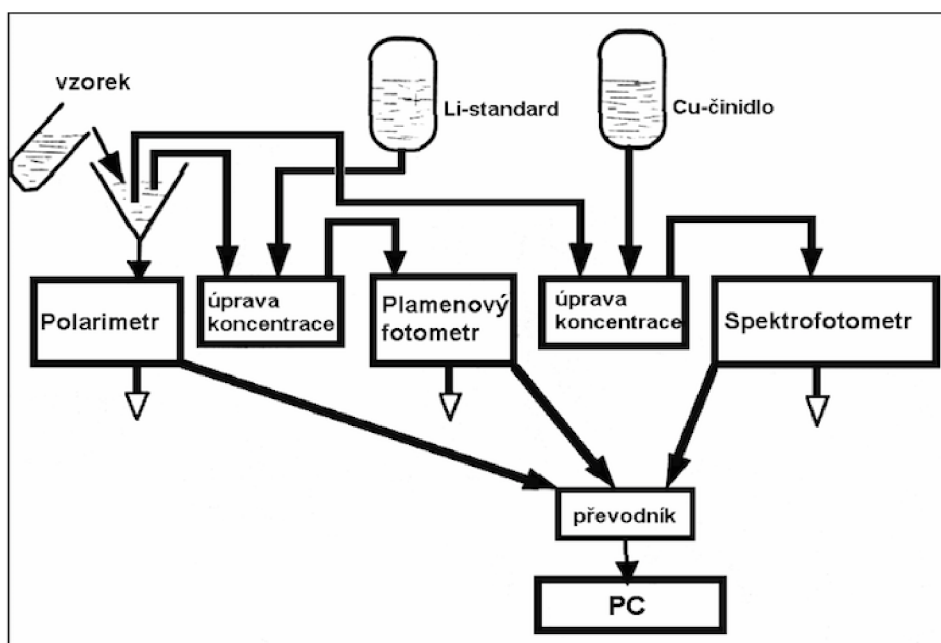
#### *Základní analytické pojmy v cukrovarnictví*

- *Sacharizace S* - stanovení obsahu sušiny (% hm.), stanovuje se nepřímo refraktometricky na základě měření indexu lomu.
- *Polarizace P* – stanovení obsahu cukru (% hm.), stanovuje se polarimetricky za využití změn optické otáčivosti cukerného roztoku. Rušení měření jinými opticky aktivními látkami, než je sacharóza, se zabraňuje tzv. čiřením. Do cukerného roztoku se přidává vzorek s olovnatými či hlinitými solemi.
- *Obsah necukrů N* – jedná se o rozdíl mezi hodnotami *P* a *S* (% hm.).
- *Obsah popela A* – stanovuje se za pomoci konduktometrie (% hm.)
- *Obsah redukujících látek RL* – jedná se o množství látek, které mají schopnost redukovat alkalické měďnaté činidlo za daných podmínek. Mezi tyto látky patří glukóza a fruktóza.
- *Čistota Q* – ukazatel jakosti meziproductů a produktů, uvádí obsah sacharózy v sušině,  $Q = P/S \cdot 100$  (%). [1,2]

### 2.1.2. Příjem a výkup řepy

Cukrovka se vykupuje na základě stanovených kupních podmínek mezi dodavatelem a cukrovarem. Mezi důležité parametry, které ovlivňují výkup suroviny, patří obsah sacharózy,  $\alpha$ -aminodusíku, který je škodlivý, dále pak obsah draslíku a sodíku.  $\alpha$ -aminodusík je aminový dusík, který se nachází v poloze  $\alpha$ - v aminokyselinách a amidech ve šťávě. Zmíněný dusík se vyskytuje v celém procesu výroby až po melasu, na jejíž tvorbě se také podílí. Z tohoto důvodu je označován jako škodlivý. Uvedené parametry jsou předpokladem technologické jakosti cukrovky. Na základě jejich hodnot lze spočítat výtěžnost cukru či jeho ztráty. Tyto parametry jsou stanovovány analyticky, a tak je důležité, aby cukrovar disponoval správně vybavenou surovinovou laboratoří. Dále se z cukrové řepy stanovuje také obsah minerálních a rostlinných příměsí. [1,4]

Pro analytické zpracování těchto dat slouží například automatický systém Betalyser, který se skládá z jednotlivých částí (obr.1).



Obrázek 1 Automatický systém Betalyser [2]

Kadlec uvádí pro výpočet výše uvedených parametrů tyto vzorce:

- *Alkalitní koeficient AK*: udává poměr koncentrace alkalických kovů ku koncentraci  $\alpha$ -aminodusíku. Na základě jeho hodnoty se také klasifikuje skladovatelnost cukrové

řepy, kdy limitní hodnotou je 4. Nižší hodnoty pak poukazují na fakt, že cukrovou řepu nelze skladovat.

$$AK = [K+Na] / [\alpha N]$$

- *Ztráta cukru v melase:*

$$C_M = a * [K+Na] + b * [\alpha N] + c$$

- *Výtěžnost:*

$$P_{kor} = P - C_M - 0,6$$

$C_M$  popisuje teoretický zbytek cukru v melase (%),  $[K+Na]$  udává koncentraci iontů  $K^+$  a  $Na^+$  v cukrové řepě (mol/dt),  $[\alpha N]$  uvádí koncentraci  $\alpha$ -aminodusíku v cukrové řepě (mol/dt).  $P_{kor}$  značí výtěžnost cukru (%) a  $P$  je obsah cukru v cukrové řepě (%). Koeficienty  $a, b, c$  se liší dle autorů. Například Reinefeld uvádí tyto hodnoty:  $a = 0,343$ ;  $b = 0,094$ ;  $c = -0,31$ . Buchholz a kol. udávají:  $a = 0,12$ ;  $b = 0,24$ ;  $c = -0,48$ . Bubník a Kadlec uvádí následující:  $a = 0,11$ ;  $b = 0,23$ ;  $c = 1,10$ . [1]

Nověji vybavené cukrovarny používají ke kvalitní analýze dat automatický systém přejímky cukrovky, který zaručuje vysoký výkon zpracování dat a díky tomu okamžitou zpětnou vazbu informací dodavatelům. Automatický systém je objektivní, přesný a má také pozitivní vliv na snížení nákladů a ulehčení práce. [1]

Ukládání řepy probíhá formou mokrého či suchého skladování. U moderních cukrovarů se využívá suchého skladování, jelikož mokrý způsob je náročný na manipulaci s řepou a je tak nevýhodný z hlediska kvalitního a šetrného zpracování této suroviny. Při suchém způsobu ukládání se řepa sype do příkopu, který je vyplněn gumou, aby nedošlo k mechanickému poškození řepy při pádu. Následuje přeprava řepy ze spodní části příkopu k očištění od zeminy pomocí pásového dopravníku. Poté dojde k přepravě řepy buď přímo do závodu ke zpracování anebo na betonové úložiště. Při mokrému způsobu se řepa vykládá proudem vody pomocí zařízení Elfa. Poté putuje plavicím kanálem, který disponuje lapačem kamenů. Opět je možno řepu přivést až do závodu k jejímu zpracování anebo se ukládá v betonovém úložišti, kde je nutno takto uloženou řepu neustále větrat. Samotná ukládka je tvořena povrchovými mělkými splavy, jsou to betonové plochy obdélníkového tvaru, které mají zhruba 4 % sklon ke středu ukládky. Středem splavu vede tzv. Riedingerův plavicí kanál. Řepa se vyskladňuje pomocí přenosných splachovačů cukrovky, tzv. Fölscheho hubic, které se nachází podél ukládky. Řepa je tak vedena pomocí vodního proudu do zmiňovaného plavicího kanálu a odtud putuje přímo ke zpracování. [1,3]

Pokud je do cukrovaru dodávána silně znečištěná řepa, je nutno před uložením tuto řepu předeprat. Děje se tak promýváním vodou a přidáním dezinfekce vápenným mlékem či jinými chemickými fungicidy. Takto upravená řepa se pak ukládá do akumulární části ukládky, která je neustále větrána ventilátory. [2]

### **2.1.3. Doprava, praní a řezání řepy**

#### *Doprava řepy*

Doprava řepy z ukládky probíhá buď suchou nebo mokrou cestou. V prvním případě se dopravuje pomocí pásových dopravníků, v druhém pak pomocí plavících kynet a žlabů proudem vody. Součástí plavících kynet jsou různé lapače písku a kamenů. Tyto lapače pracují na základě sedimentace těžších složek při snížené rychlosti proudu. Důležitým aspektem v tomto procesu je tedy rychlost proudu vody s řepou, jejíž optimální hodnota rychlosti plavení je 1,6-1,9 m/s. Tuto rychlost zajišťuje optimální sklon kynety. Je třeba brát v potaz, že veškerá zařízení umístěná v kynetě (lapače nečistot) snižují rychlost proudění vody. Rychlost se řídí také pomocí tzv. hradítek nebo turniketů. [1,4]

Následuje odebrání řepy společně s vodou do vysokého plavícího žlabu, který je umístěn zhruba 6 m nad zemí, k tomu slouží řepné čerpadlo. Součástí žlabu jsou další lapače kamene a chrástu. Po oddělení hrubých nečistot se odseparuje znečištěná plavící voda pomocí různých zařízení (válečkový odlučovač, vibrační síto aj.), aby nedošlo ke kontaminaci čisté vody v pračce v následujícím procesu. [4]

#### *Praní řepy*

Účelem praní je důkladné zbavení všech doposud ulpělých nečistot na povrchu řepy. Tento proces má vliv na kontaminaci řepy v extraktoru a na mechanické opotřebení dalších výrobních prvků. Princip řepných praček spočívá v protiproudém přívodu čisté vody k již vyprané řepě. Optimální teplota vody se pohybuje v rozmezí 5-15 °C. Voda v pračce nesmí být kontaminovaná a měla by být neutrální. Existují tři typy praček: hřeblová, trysková vibrační a bubnová. V moderních cukrovarech je hojně využíván systém dvou až tří různých druhů praček následujících po sobě. [4]

- *Hřeblová pračka* – otevřený žlab délky 10-12 m, obsahuje přehazovací a vyhrnovací ramena. Pohon zajišťuje elektromotor a převodovka.

- *Trysková vibrační pračka* – pohyb řepy je zajištěn pomocí dvou vibračních sítí anebo kotoučovým odlučovačem za současného promývání tryskami s vodou. Rotační posun zajišťuje důkladné omytí řepy.
- *Bubnová pračka* – horizontální buben délky 11 m, jehož průměr činí necelé 4 m. Buben pohání rolny. Tvoří jej tři části: předpírací buben, bubnová pračka a flotační odlučovač kamenů. [1]

Po vyprání řepa prochází ještě dezinfekčním procesem, jelikož značná část kontaminace se vyskytuje právě na povrchu bulev. Jako dezinfekční prostředek se používá například roztok chlornanu sodného či suspenze vápenného mléka. [2]

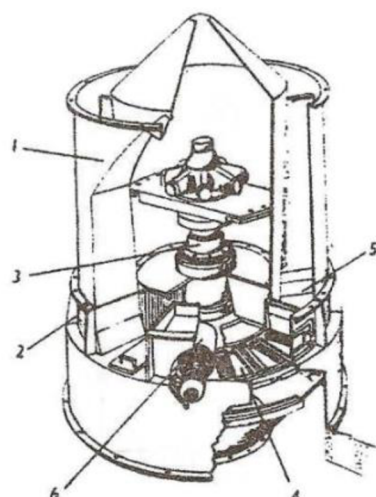
Z důvodu vysoké úrovně mechanizace při celém procesu zpracování řepy dochází ke značnému výskytu různých úlomků řepy a kořínků. Vzhledem k tomu, že toto množství není zanedbatelné s ohledem na výtěžnost cukru z těchto komponent, jsou tyto kořínky a úlomky řepy dále zpracovávány na speciální lince a vráceny zpět do extraktorů. [1]

#### *Řezání řepy*

Po vyprání se řepa dopraví do zásobníku, který je umístěn nad řezačkami. Dopravu řepy k řezačkám zajišťuje buď pásový dopravník či kapsový výtah. Ještě před vstupem do řezačky se řepa podrobí dalšímu čištění od rostlinného balastu, které umožňuje buď soustava rotujících válců nebo pneumatický odlučovač nečistot. K řezání řepy slouží soustava řezaček s instalovanými vložkami nožů (Gollerovy nože). [2]

Řezačky existují dvojího druhu:

- *Deskové řezačky* – řezací deska je umístěna horizontálně. Tento typ řezačky je v cukrovarech hojně užívaný. Je tvořena násypným košem tzv. lubem a řezací deskou (obr. 2). Do lubu je dopravována řepa do výšky zhruba 3 m. Řezací deska je silná asi 40 mm a dosahuje průměru 1500-2500 mm. Je opatřena systémem nožů a protinožů. Čištění nožů probíhá pomocí kartáčového zařízení anebo tlakovým vzduchem. [1]
- *Bubnové řezačky* – rotující buben, ve kterém jsou umístěny nožové vložky. Uvnitř bubnu je řepa uložena v neotáčivých kanálech a tlačena k nožům. Jedná se o vysoce výkonné zařízení, které je používáno zejména v moderních cukrovarech. Výhodou je také snadná výměna nožových vložek, efektivní čistící systém nožů a izolace nežádoucích těles. [3,2]



**Desková řezačka řepy**

- 1- lub
- 2- litinové víko
- 3- hřídel
- 4- řezací deska
- 5- protinože
- 6- kartáč na čištění nožů

**Obrázek 2 Schéma deskové řezačky [2]**

Aby mohlo dojít k extrakci cukru z cukrové řepy je nutné ji tedy nejdříve nařezat na tzv. sladké řízky. Sladké řízky jsou většinou žlábkovitého tvaru, což má své opodstatnění v rámci dalšího zpracování. Výhodou je pružnost. Existují symetrické a nesymetrické řízky žlábkovitého tvaru. Tvar řízku je podstatný zejména pro výpočty postupu extrakce a difúze. Časový interval průběhu extrakce je závislý na tloušťce řízku. Jakost řízků se pak klasifikuje dle Silinova čísla, což je délka řízků vyjádřená v metrech na 100 g; dále dle Švédského čísla, který určuje poměr množství řízků s délkou nad 5 cm ku délce pod 1 cm a obsahu drti uváděné v procentech. Sladké řízky jsou po nařezání přepraveny do automatické pásové váhy, kde se zvaží ještě před vstupem do extraktoru. [1,2]



**Obrázek 3 Sladké řízky [30]**

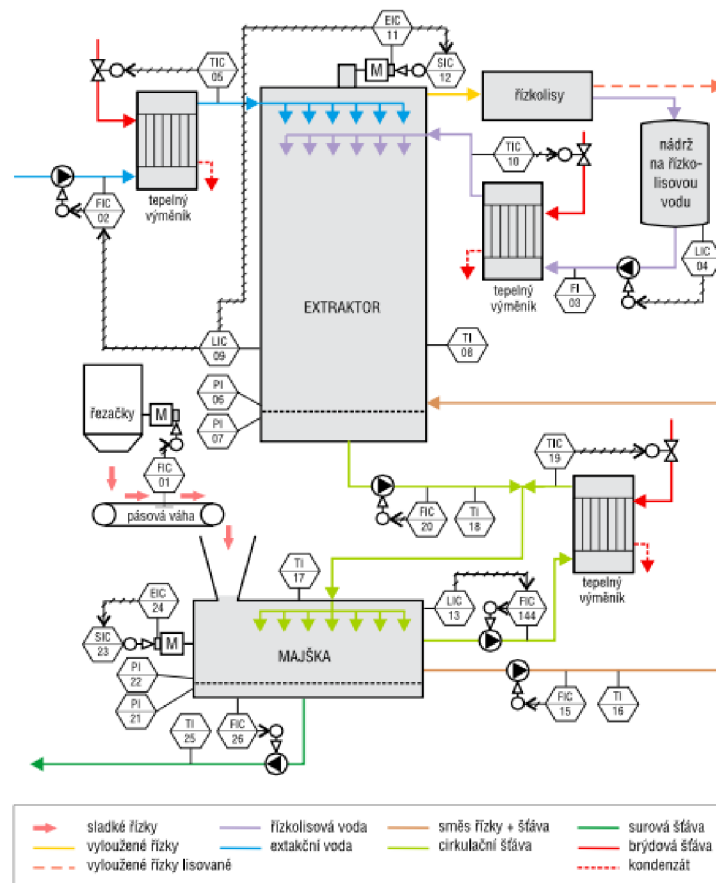


#### 2.1.4. Těžení šťávy

Těžení šťávy ze sladkých řízků probíhá v mechanizovaných a plně automatizovaných kontinuálních aparátech tzv. extraktorech. Řízky jsou vedeny protiproudě v extrakční kapalině. Před vstupem do extraktorů jsou sladké řízky nejdříve zahřáty ve spařovacím mísidle a poté hnány do extraktoru, kde proběhne jejich extrakce za využití vody, jejíž teplota se pohybuje v rozmezí 70-75 °C. Řízky mohou být hnány do extraktorů také přímo bez využití mísidla. Ve vstupní části pak dochází k denuraci buněčných stěn řízků při teplotě 75 °C. Z extraktoru poté vystupuje surová šťáva. Stabilizace teplot a hmotnostních toků je hlavním účelem řízení extraktoru. [2,6]

Extraktory, které jsou nejčastěji využívány v cukrovarnictví jsou trojího typu:

- *Bubnový extraktor* – jedná se o extraktor, jehož tvar je ležatý otáčející buben. Jeho vnitřní konstrukce disponuje vestavbou zajišťující protiproudý tok sladkých řízků. Teplotu 70-75 °C zde vytváří pára.
- *Žlabový extraktor* – zde jsou řízky vháněny vzhůru prostřednictvím dvou protiběžných šnekovic nebo hřídele s lopatami sestavené do šroubovice. Potřebná teplota je zde zajištěna také parou.
- *Věžový extraktor* – řízky jsou vháněny do věže vzhůru pomocí lopatek, které jsou součástí dutého hřídele. Na plášti věže jsou navíc umístěna pevná ramena, která také napomáhají distribuci řízků do věže. Na rozdíl od dvou předešlých typů není věžový extraktor vytápěn, protože řízky spolu se šťávou prochází zahřívacím procesem již před vstupem do extraktoru na teplotu 78 °C. Na obr. 3 je znázorněno technologické schéma věžového extraktoru BMA se základními okruhy měření a regulace. [4]



**Obrázek 4** Technologické schéma stanice věžového extraktoru BMA [7]

Při těžení šťávy probíhají různé chemické, mikrobiologické a enzymové přeměny látek, které jsou uvolňovány z řepné šťávy a dřeně. Mezi tyto látky se řadí sacharóza, pektiny, popel a bílkoviny. Uvolňování látek se děje za využití volné extrakce a difúze. Při volné extrakci dochází k uvolnění látek, které putují z povrchových otevřených buněk řízků narušených při řezání řepy. V rámci výrobního procesu dochází k extrakci cukru z jedné třetiny buněk. Zbývající dvě třetiny jsou pak získány pomocí difúze. Difúze látek probíhá prostřednictvím usmrčené buněčné stěny. Protoplasma se denaturuje nad teplotu 70 °C, aby došlo k uvolnění sacharózy z buněčné stěny. Rychlost difúze je dána rozdílem koncentrací cukru v extrahovaných řízkách a extrakční kapalině, závisí také na tloušťce extrakčního materiálu (řízků) a velikosti buněk. Nejprve dochází k difúzi jednoduchých solí, poté probíhá difúze sacharózy a nakonec difundují koloidně dispergované látky. Nežádoucím jevem při extrakci je velké množství uvolněných pektinových látek. Pektiny v alkalickém prostředí reagují za vzniku pektátu vápenatého, který pak narušuje proces extrakce, filtrace, krystalizace i odstředování a zvyšuje tak tvorbu melasy.

Aby množství prošlých pektinů bylo co nejmenší, volí se při extrakci teplota pod 80 °C a hodnota pH by se měla pohybovat okolo 5,8. Zároveň řízky nesmí setrvat v extraktoru delší dobu jak 2 hodiny. Výsledným extraktem je poté surová šťáva. [7]

Extrakci a difúzi definují Fickovy zákony:

1. *Fickův zákon (diferenciální forma)* – závislost množství sacharózy v roztoku na určitých parametrech.

$$dm = - D A dc/dx d\tau$$

2. *Fickův zákon (parciální diferenciální rovnice)* – změna koncentrace s časem

$$\partial c/\partial \tau = D (\partial^2 c/\partial x^2 + \partial^2 c/\partial y^2 + \partial^2 c/\partial z^2)$$

kde  $\tau$  - doba extrakce

$c$  – koncentrace sacharózy

$D$  – difúzní koeficient

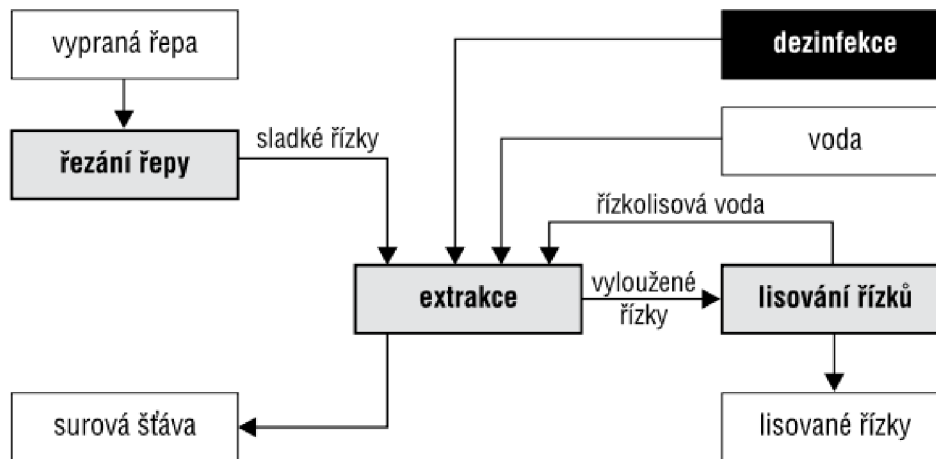
$m$  – množství sacharózy prošlé difúzí

$A$  – plocha fázového rozhraní

$x, y, z$  – rozměry řízku,  $x$  charakterizuje jeho tloušťku. [2]

Povrch cukrovky a vracená řízkolisová voda v extraktoru jsou bohaté na výskyt mikroorganismů. Činností mikroorganismů (plísně, kvasinky, aerobní a fakultativně anaerobní bakterie...) dochází k rozkladu sacharidů za vzniku organických kyselin. Kyselina mléčná a kyselina octová patří mezi nejčastěji se vyskytující metabolity vzniklé rozkladem sacharózy. Mikrobiologické kontaminaci se při těžení šťáv předchází nastavením optimální teploty (70-75 °C) za současného použití dezinfekčních prostředků (chlornan sodný, formalin...). [8]

Vyslazené řízky se poté zpracovávají jako krmivo pro hospodářská zvířata. Pro tyto účely se sladké řízky mohou nechat konzervovat za pomoci lisování, silážování a sušení. Je ale možno vyslazené řízky zkrmovat již před konzervací. Pomocí lisování se odstraňuje z řízků voda, získaná sušina se pohybuje okolo 24-30 %. Poté dochází k sušení lisovaných řízků, jedná se o vysoce energeticky náročný proces. Při konzervaci silážováním se používá biochemických a chemických metod tak, aby se zamezilo úbytku sušiny. [8]

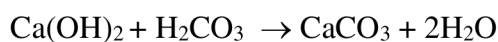


*Obrázek 5 Schéma těžení šťávy[7]*

### 2.1.5. Epurace – čištění šťáv

Surová šťáva obsahuje spoustu látek, které je potřeba odseparovat. Mezi tyto látky patří bílkoviny, polysacharidy, saponin, barevné látky a koloidně dispergované látky. Hnědá barva surové šťávy je způsobena přítomností melaninů a komplexních sloučenin s ionty železa. Epurace si klade za cíl odstranit veškeré tyto nežádoucí komponenty s minimálními ztrátami sacharózy. Při epuraci dochází také k odstranění všech přítomných necukrů a pevných látek ve šťávě. Surová šťáva se neutralizuje a dezinfikuje. Vzniklá lehká šťáva by měla disponovat vysokou tepelnou odolností, aby nedocházelo k výrazným změnám zbarvení a pH v dalším procesu odpařování. [1]

Epurace je proces několika operací: předčeření, dočeření, 1. saturace, separace kalu, 2. saturace, filtrace. Surová šťáva se čistí pomocí vápenného mléka a oxidu uhličitého, kdy dochází k řadě rozkladných a srážecích reakcí. Vysokomolekulární necukry jako pektin, araban, galaktan a bílkoviny jsou vysráženy účinkem vápna, vápenatých a hydroxylových iontů. Dochází také k vysrážení aniontů ve formě vápenatých solí (sírany, fosforečnany, citrany, jablečnany...). Invertní cukr, galaktosa a kyselina galakturonová jsou rozkládány za vzniku kyseliny mléčné. K uskutečnění všech reakcí je dostačující malé množství CaO (0,2-0,3%), avšak takto malé množství by nebylo snadné oddělit a šťávy by byly tepelně nestabilní. Po předčeření tedy vstupuje do procesu výroby samotné čeření, při kterém šťávy reaguje s podstatně větším množstvím CaO (0,9-1,2 %). Takto ošetřená šťáva získá požadovanou termostabilitu, dobře sedimentuje a filtruje. Saturace pak slouží k separaci nadbytečného CaO ze šťáv pomocí CO<sub>2</sub> dle rovnice:



Krystalický uhličitan vápenatý zaujímá roli filtru, který na sebe váže barevné látky a necukry. [8]

Vzniklý saturační kal je nutno separovat, děje se tak sedimentací a filtrací. Nejdříve se kal zahušťuje v tzv. dekantérech a poté se filtruje přes membránové komorové filtry, mechanizované kalolisy či vakuové rotační filtry. Saturační kal je důležitým odpadem v cukrovarnictví. Používá se jako účinné hnojivo. Množství saturačního kalu činí v cukrovarech 6-8 %. Sušina kalu je tvořena uhličitanem vápenatým z 50 % a organickými látkami. Při produkci kalu se apeluje na to, aby obsahoval co nejmenší množství cukru s co nejvyšším množstvím sušiny, v rámci prevence ztrát cukru a znečištění životního prostředí. [3,8]

Následujícím krokem je 2. saturace, jejíž cílem je odstranění vápenatých solí. Předchází se tak tvorbě inkrustací při dalším procesu odpařování. Šťáva se zahřívá na 95-98 °C. Při 2. saturaci dochází k těmto chemickým reakcím:

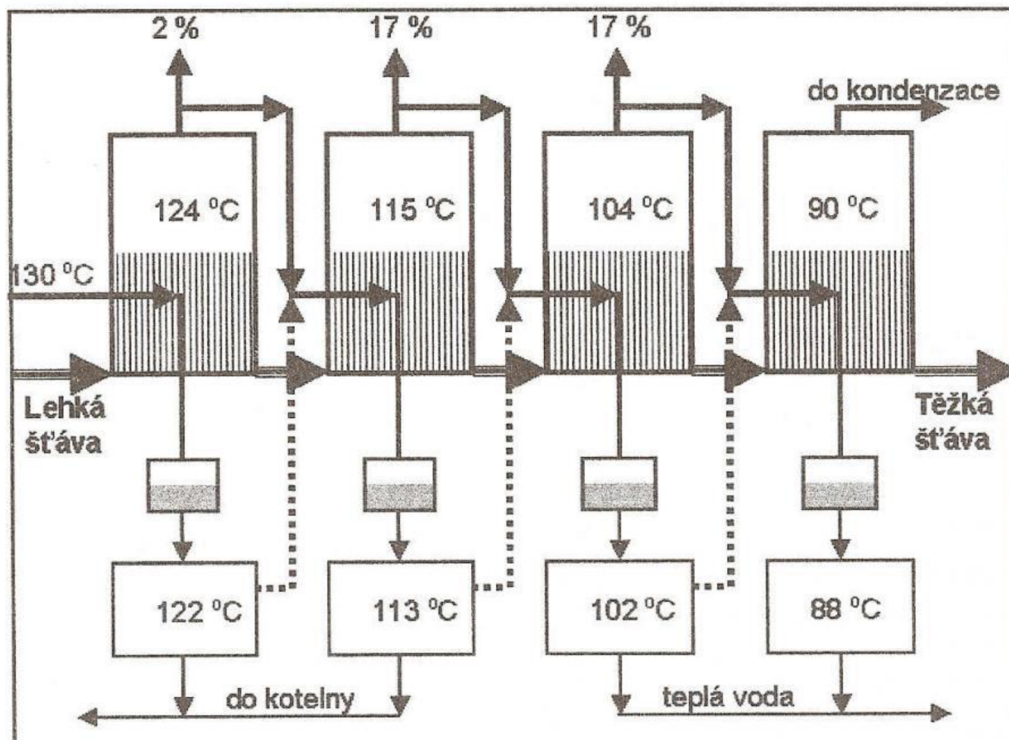
- $(\text{CO}_3)^{2-} + \text{Ca}^{2+} \rightarrow \text{CaCO}_3$  (srážecí reakce, pH = 9,0-9,5)
- $2\text{KOH} + \text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{K}_2\text{CO}_3 + 2\text{H}_2\text{O}$  (reagují alkalické hydroxidy s kyselinou uhličitou, způsobuje pokles alkality)
- $\text{K}_2\text{CO}_3 + \text{CaA}_2 \rightarrow \text{CaCO}_3 + 2\text{KA}$  (reagují rozpustné vápenaté soli s alkalickými uhličitanými hlavně organických kyselin, dochází k maximálnímu vysrážení vápenatých solí)
- $\text{K}_2\text{CO}_3 + \text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow 2\text{KHCO}_3$   
 $\text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$

Tyto dvě reakce jsou nežádoucími jevy 2. saturace a probíhají během další saturace  $\text{CO}_2$  (předsaturování při  $\text{pH} < 9$ ). Vzniklé hydrogenuhličitanů způsobují zavápnění šťáv a tvorbu inkrustace. Výše zmíněnou teplotou se předchází vzniku těchto hydrogenuhličitanů, hydrogenuhličitan vápenatý se například za bodu varu rozloží na uhličitan vápenatý s vodou a oxidem uhličitým. [2]

Šťáva po 2. saturaci prochází ještě filtračním procesem, aby došlo k odstranění zbytku jemných kalových částic. Po filtraci vzniká světle žlutá lehká šťáva o sacharizaci 16-18 %, pH 9,0-9,5 a čistotě 92-94 %. K dosažení optimálního zbarvení lehké šťávy je možno využít síření. [8]

### 2.1.6. Odpařování šťáv

Odpařování šťáv probíhá v tzv. odparkách. Parní systém využívaný v cukrovarnictví je systém zajišťující jak odpařování lehké šťávy, tak výrobu potřebné elektrické energie ke správné funkci protitlakových parních turbín. Vyrobena topná pára slouží jako výhřevný systém cukrovaru a jednak k zahuštění lehké šťávy (sacharizace 16-18%) na těžkou šťávu s těmito jakostními hodnotami: sacharizace 64-70 %, čistota 92-94 %, jemný zákal a hnědé zbarvení. Systém je energeticky úsporný, neboť topnou parou se vytápí pouze první těleso a ostatní se vytápí tzv. brýdovými parami neboli výpary z předcházejících těles. [8]



*Obrázek 6 Schéma odparky [31]*

Odpařování šťáv rozkládá sacharózu, amidy a invertní cukr. Druhé jmenované zapříčiňuje úbytek alkality a zvýšení obsahu barevných látek. Během odpařování dochází ke vzniku inkrustací na topných stěnách způsobených výskytem vápenatých solí, tomuto jevu se předchází využitím protiinkrustačními prostředky. [1]

### 2.1.7. Svařování cukrovin a krystalizace cukru

Krystalizace je jedna z nejstarších a nejrozšířenějších procesů ve výrobní sféře. Při krystalizaci se separuje látka z taveniny, roztoku, plynu či emulze, přitom vzniká krystalová mřížka. Sacharóza krystalizovaná z cukerných roztoků se řadí mezi nejmasivněji získané čisté látky globální produkce krystalizace. [9]

Podstatnou roli v procesu krystalizace hraje difuze. Molekuly sacharózy přechází z roztoku k difuzní vrstvě v okolí krystalu, kterou difundují, a poté dochází difuzi molekul na povrchu krystalu a následnému umístění do krystalové mřížky. [8]

Proces krystalizace charakterizuje rozpustnost sacharózy ve vodě a tvorba nasycených a přesycených roztoků. Pro stanovení rozpustnosti sacharózy ve vodě se využívá buď sacharizace nasyceného roztoku  $S$  (%) anebo tzv. Herzfeldova čísla

$$H_0 = S/(100-S).$$

U technického cukerného roztoku rozpustnost sacharózy  $H_n$  definuje součin

$$H_n = H_0 K_n,$$

kde  $K_n$  je koeficient nasycení, kterého ovlivňuje složení zmíněného roztoku. Čím je čistota roztoku nižší, tím se zvyšuje hodnota koeficientu. [8]

Typickou vlastností technických cukerných roztoků je tvorba přesycených roztoků, které jsou hlavní podmínkou vzniku krystalizace. Při izotermickém odpařování vody nebo snížení teploty vody nasyceného technického roztoku dojde k překročení rovnovážné koncentrace nasyceného roztoku. Výsledkem je cukerný roztok s vyšším obsahem cukru než u nasyceného roztoku. Po zaočkování roztoku krystalky cukru dochází ke krystalizaci. Tu tvoří proces nukleace a poté růst krystalů. Při nukleaci dochází ke vzniku zárodků krystalů cukru. Intenzita krystalizace závisí na tzv. přesycení, což je rozdíl mezi koncentrací nasyceného roztoku a skutečnou koncentrací v roztoku. Přesycení se nazývá také metastabilní oblast, kterou charakterizuje růst krystalů. Závisí na teplotě, čistotě a přítomnosti tuhé fáze. [2]

Přesycení definuje koeficient přesycení  $K_p$ :

$$K_p = H/H_n,$$

kde  $H$  je hmotnostní poměr  $P/W$  ( $W$  je voda) v roztoku a  $H_n$  hmotnostní poměr  $P/W$  v nasyceném roztoku. [8]

Svařování je automatizovaný proces, který probíhá na varně, která je umístěná na několika podlažích za sníženého tlaku v tzv. periodických či kontinuálních zrnících. Vzniká zde tzv. cukrovina – heterogenní směs matečného sirobu a krystalů. Zrnice jsou umístěny na nejvyšším podlaží varny, v nižších částech varny jsou pak krystalizátory, do kterých je přiváděna cukrovina ze zrnice. V krystalizátorech vzniká homogenní směs cukroviny a mísícího sirobu, která dále krystalizuje za současného míchání a ochlazování. Po první krystalizaci vzniká tzv. surový cukr žlutohnědé barvy, který obsahuje zbytky matečného sirobu. Matečný sirob se odstraňuje v periodických nebo kontinuálních odstředivkách. Krystalizace u první cukroviny probíhá zhruba 2-6 h a u poslední tzv. zadinové cukroviny tato doba činí 24-70 h. Takto dlouhá doba krystalizace u zadinových cukrovin je způsobena vysokým obsahem necukrů. Produktem, který obsahuje takto vysoký obsah necukrů je tzv. melasa, získává se z poslední cukroviny. Melasu tvoří z padesáti procent cukr o sacharizaci 80 % a čistotě 60-64 %. Význam melasy je důležitý v kvasném a biochemickém průmyslu, je surovinou pro výrobu droždí, kyseliny mléčné, ethanolu, kyseliny citrónové, betainu či aminokyselin. Dále se využívá jako příměs krmiv nebo pro výrobu organických rozpouštědel. [8]

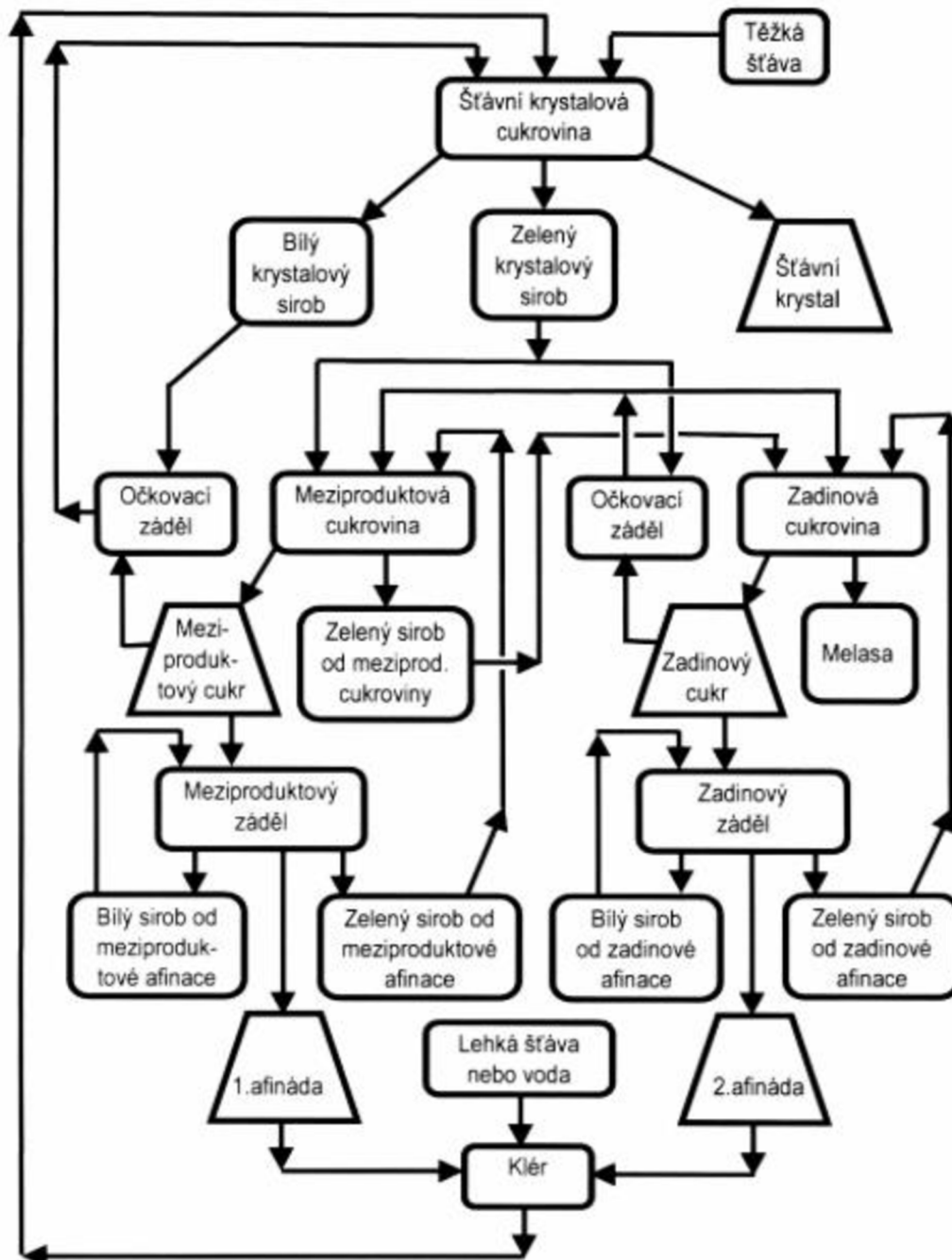
### **2.1.8. Rafinace cukru**

Rafinace je proces, při kterém dochází k výrobě známého bílého cukru. Toto umožňuje tzv. afinace, která zajistí separaci zbytků matečného sirobu na povrchu krystalů cukru. Afinace je uskutečněna v afinačním mísidle, kde dochází k promíchání surového cukru a mísícího sirobu za vzniku tzv. zádělu neboli umělé cukroviny. Veškeré barevné látky a popeloviny jsou tak rozptýleny v mísícím sirobu, který je kvalitnější svým složením oproti původnímu matečnému sirobu na krystalech cukru. Poté dochází k odstředění zádělu v afinačních odstředivkách. V této fázi dochází ke vzniku zeleného afinačního sirobu, který se odmetá a následuje vlastní afinace. Zde dojde k propláchnutí cukru vodou anebo cukerným roztokem, dochází k odmetání vzniklého bílého afinačního sirobu. Takto vzniklý cukr se nazývá afináda. Afináda se rozpouští ve vodě, lehké šťávě či sirobu, a to způsobuje vznik tzv. kléru. Klér prochází procesy alkalizace, filtrace a případného obarvování. [2]



Po rafinaci následují další procesy zpracování cukru. Příkladem je sušení, kdy je vlhkost krystalu vyměňována s okolím a sacharóza tak krystalizuje na povrchu krystalů. Sušení probíhá v sušárnách, existuje několik typů těchto sušáren: fluidní, talířové, bubnové a turbinové. chlazení a skladování cukru. Po sušení dochází k balení a skladování cukru. [8]

Cukr je využíván hojně v potravinářství jako sladidlo, je to také významná surovina pro různé chemické a biochemické přeměny. Výhodou cukr je jeho dlouhodobá trvanlivost a nízká cena.



Obrázek 7 Výroba šťávního krystalu s jedním klérem [31]

## 2.2. Dezinfekční prostředky využívané v extrakci

Při těžení šťávy může dojít k nemalým ztrátám cukru při extrakci zejména vlivem kontaminace mikrobiální činnosti. Tato kontaminace je nežádoucí jev a předchází se mu pomocí různých dezinfekčních prostředků. Výskyt mikroorganismů je hlavně na povrchu bulvy, která je infikována v důsledku znečištění uhlíkové půdy nebo jakýmkoliv porušením. K jejich množení dochází také v důsledku špatného odtoku plavící vody anebo prostřednictvím kontaminované řízkolisové vody v extraktorech. [1]

Činnost mikroorganismů je podmíněna zejména přivětivým prostředím, které surová šťáva zajišťuje svým složením (sacharóza, organické kyseliny, pektiny aj.), teplotou i hodnotou pH v rozmezí 5,5-6,0. Hlavními produkty jejich činnosti jsou kyselina mléčná (80 %) a kyselina octová. Tyto kyseliny vznikají rozkladem sacharózy za působení mikroorganismů. Obsah kyseliny mléčné snižuje hodnotu pH surové šťávy pod 5,8 za teploty 20 °C. [2]

Dle Baryga jsou reálné ztráty na cukru ještě větší, než jsou publikovány ve studiích, ve kterých jsou ztráty vypočteny z obsahu kyseliny mléčné. [29]

Jiná studie uvádí, že produkce kyseliny mléčné závisí na stupni mikrobiální aktivity a také je ovlivněna typem extrakčního zařízení. Pokud dojde v extraktoru k nadměrné mikrobiální aktivitě, kyselina mléčná (a jiné) vzniká degradací sacharózy bez ohledu na hodnoty pH a teplotu extrakce. [22]

### 2.2.1. Mikroorganismy v extraktoru

V surové šťávě se mohou vyskytovat tyto typy mikroorganismů:

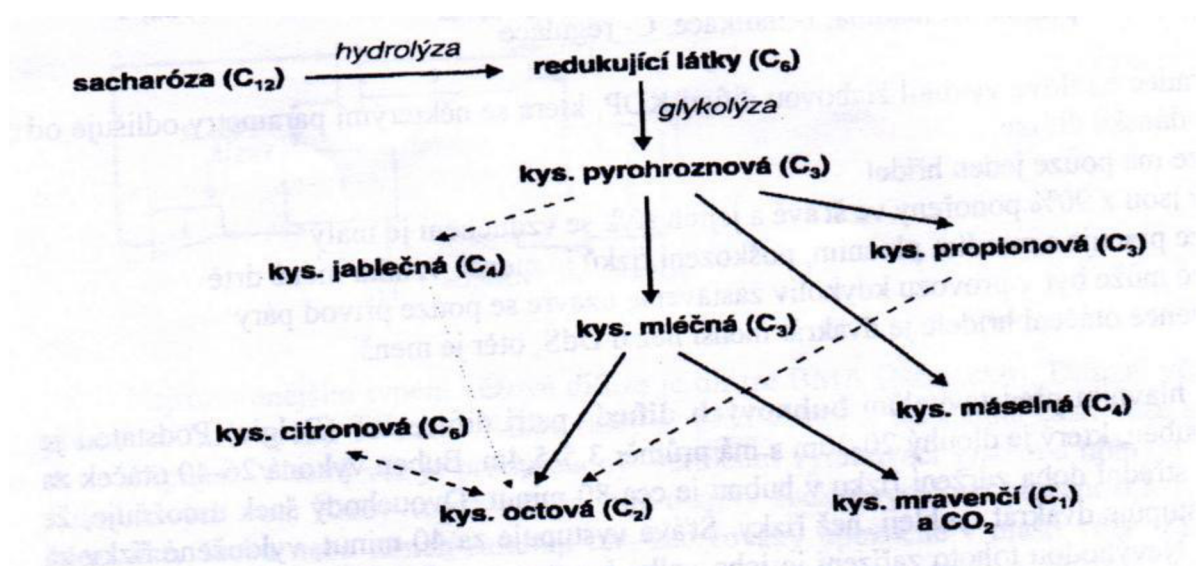
- Mezofilní mikroorganismy – jsou to aerobní a fakultativně anaerobní bakterie, vyskytující se na šťávním konci extraktoru, kde je pro ně ideální teplota 15-45 °C. Jejich působením dochází k rozkladu sacharidů za současného vzniku organických kyselin, invertního cukru a polysacharidů. Vlivem slizotvorných bakterií jako jsou např. *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus salivarius* a *Bacillus* vznikají dextransy a levany. Ty jsou slizovitého charakteru a při nadměrném přemnožení mohou způsobit ucpání potrubí s difuzní šťávou. Bretschneider uvádí, že z jednoho gramu dobře očištěných sladkých řízků činí výskyt mikrobiálních zárodků zhruba 1 milion, u špatně očištěné řepy je to pak až 20x více. Spory rodu *Bacillus* přežívají teploty nad 100 °C. Z kvasinek se sem řadí *Candida*, *Torula*, *Saccharomyces* a z plísňí rody

*Aspergillus, Fusarium, Trichoderma a Penicillium*. Většina těchto mikroorganismů je však při teplotě 70-77 °C v difuzerech zničena. [10]

- Termofilní mikroorganismy – vyskytují se ve střední části extraktoru a na jeho vodním konci, kde je teplota 45-80 °C. Zejména při teplotě 55 °C převládá v extraktoru činnost termofilních bakterií. Tyto bakterie se vyznačují nadměrnou spotřebou sacharózy. Dosažením teploty 70 °C se sice rozmnožování mikroorganismů zastaví, avšak spory tuto teplotu přežívají. Jakmile tedy dojde k ochlazení pod 70 °C, růst bakterií opět započne. Mezi tyto mikroorganismy patří opět aerobní a fakultativně anaerobní bakterie, kokovité bakterie, anaerobní sporotvorné bakterie (r. *Clostridium*) aj. [1]

### 2.2.2. Vznik kyseliny mléčné v extraktoru

Kyselinu mléčnou způsobují bakterie mléčného kvašení. Jedná se o bakterie fakultativně anaerobní a mikroaerofilní. Jsou to chemoorganotrofní a grampozitivní bakterie. Tvar bakterií je většinou tyčinkovitý, vláknitý, v malé míře se pak vyskytuje v kulovitém tvaru. Mléčné bakterie rozkládají sacharózu v surové šťávě za vzniku kyseliny mléčné za anaerobních podmínek. [11]



Obrázek 8 Schéma rozkladu sacharózy [31]

Mezi prvotní operací přecházející vzniku kyseliny mléčné vlivem bakterií je samotná glykolýza jinak Embden – Meyerhofova metabolická dráha. Princip tkví v transformaci hexózu. Většina živých organismů má společnou fázi cesty glykolýzy k pyruvátu

( $\text{CH}_3\text{-CO-COO}^-$ ). Ten je pak za anaerobních podmínek zpracován v metabolismu různých mikroorganismů pokaždé jinak. Šilhánková uvádí, že hlavní princip přeměny pyruvátu spočívá pokaždé v transformaci redukováného kofaktoru NADH na  $\text{NAD}^+$ .  $\text{NAD}^+$  pak dehydrogenuje další molekulu substrátu. Glykolýza probíhá postupnou fosforylací hexóz na fruktóza-1,6-bisfosfát, jehož štěpením vzniká dvakrát triosafosfát, který je následně oxidován na 1,3-bisfosfoglycerát. Během oxidace dochází k redukci koenzymu  $\text{NAD}^+$  na  $\text{NADH} + \text{H}^+$ . Dochází k uložení části energie ve formě ATP a spotřebování další části energie na přeměnu makroergické sloučeniny fosfoenolpyruvátu na pyruvát za současného vzniku ATP. Celková energetická bilance po odbourání jedné molekuly hexózy jsou 2 ATP. A to proto, že 2 ATP vznikají z přeměny jednoho triosofosfátu, z celé hexózy jsou to potom 4 ATP, z nichž se 2 ATP použijí k počáteční fosforylaci hexóz na fruktóza-1,6-bisfosfát. [11]

Kyselina mléčná (2-hydroxypropanová) spadá do skupiny alifatických hydroxykyselin. Jedná se o netěkavou polární látku, která se vyskytuje ve dvou isomerech (obr. 9).



**Obrázek 9** Isomery kyseliny mléčné [33]

Na základě vzniklých produktů mléčného kvašení rozeznáváme tyto mléčné bakterie:

- Homofermentativní mléčné bakterie – pyruvát se zde redukuje za spolupráce redukováného kofaktoru na laktát neboli kyselinu mléčnou, což je hlavní a jediný produkt. [11]

Homofermentativní kvašení je takové kvašení, při kterém vzniká více jak 80 % kyseliny mléčné, vždy zároveň s ní vznikají vedlejší produkty (kyselina octová, ethanol...), takže její produkce není 100 %. [12]

Do této skupiny patří např. bakterie rodu *Lactococcus* a *Streptococcus*., které produkují L-mléčnou kyselinu. [13]

- Heterofermentativní mléčné bakterie – jsou například bakterie rodu *Lactobacillus* či *Leuconostoc*. Po hydrolyze sacharózy dochází k produkci L- a D- mléčné kyseliny z glukosy a fruktózy. Spolu s nimi vznikají další produkty: EtOH, CO<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>COOH. [13]

Tento typ bakterií postrádá enzym aldolasu (enzym štěpící hexoza-1,6-bisfosfát). Hexosy jsou převedeny oxidačním mechanismem na pentosa-5-fosfát a oxid uhličitý. Po enzymovém štěpení pentosy-5-fosfátu vzniká acetylfosfát a glyceralddehyd-3-fosfát. Acetylfosfát spolu s redukovaným kofaktorem pak vytváří ethanol. Glyceralddehyd-3-fosfát rozkládá glykolýza za vzniku pyruvátu a laktátu. [11]

### 2.2.3. Metody zjišťování kontaminace

V minulosti byla v rámci kontroly kontaminace extraktoru využívána tzv. resazurinová metoda, což je oxidoreduktační metoda, při které jsou mikroorganismy schopny redukovat modrý resazurin prostřednictvím červeného resorufinu na bezbarvý dihydroresorufin. Tato metoda však neposkytuje kvalitní a přesné výsledky o stavu v extraktoru. Mezi hlavní dnešní metody zjišťování kontaminace tedy patří:

- Metody signalizující mikrobiální kontaminaci – v rámci těchto metod se využívá měření pH, které je typickým ukazatelem kontaminace. Účinnou metodou je pravidelné sledování pH hodnot uprostřed extraktoru ve srovnání s pH hodnotou v surové šťávě. Měří se titračně nebo pomocí barevných reakcí. Hodnota pH však bývá silně ovlivněna přítomností necukrů, je tedy vhodné kombinovat toto měření i s jinými metodami. Nejhojněji využívanou metodou v současnosti je měření obsahu kyseliny mléčné, která je jasným indikátorem mikrobiologické činnosti v extraktoru. Provádí se titračně, chromatograficky enzymovou elektrodou nebo izotachoforézou. [1]
- Metody čítající počet mikroorganismů – kultivační metody, jejichž provedení je značně pracné a časově náročné, z těchto důvodů v dnešním cukrovarnickém průmyslu nerealizovatelné. Jedná se buď o přímé počítání mikroorganismů pod mikroskopem anebo plotnovou zředovací metodu dle Kocha. [14]

Byly potvrzeny i výzkumy jiných účinnějších metod. Například zjišťování kontaminace pomocí měření redoxního potenciálu, stanovení koncentrace ATP a obsahu kyslíku, které se jeví jako rychlejší a přesnější metoda. [14]

#### 2.2.4. Dezinfekční prostředky v cukrovarnictví

Mezi hlavní parametry, které ovlivňují mikroorganismy patří určitě teplota. Již při teplotě nad 75 °C dochází k pozastavení metabolismu mikroorganismů. V cukrovarnickém průmyslu při těžení těžké šťávy však tato teplota mimo to zapříčiňuje uvolňování již zmíněných pektinových látek, které mají negativní vliv na kvalitu surové šťávy. Aby se tedy docílilo sterility surové šťávy, kombinuje se těžení při teplotě okolo 75 °C v kombinaci s dezinfekčními prostředky. Vlivem dezinfekce se zamezí ztrátám cukru o 50-60 %. [1]

Dezinfekce probíhá již u vstupu extraktoru, dále se dezinfekce pouští do dvou středních částí extraktoru a také se ošetřuje vracená řízkolisová voda. Dávkování dezinfekce je řízeno na základě měření kontaminace extraktoru. Dezinfekce se dávkuje pomocí čerpadla, které je řízeno z velínu extraktoru. V rámci prevence rezistence mikroorganismů je vhodné typy dezinfekce střídat. Také se doporučuje periodické dávkování (občas, v daných dávkách) oproti dávkování kontinuálnímu (konstantní tok dezinfekce), jehož vlivem pak dochází ke vzniku rezistencí. [15]

Kadlec uvádí tento typ dezinfekčních prostředků:

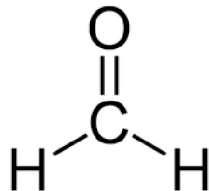
*Tabulka 2 Typy dezinfekčních prostředků*

Dezinfekce	Složení
Chlorové vápno	Prášek, $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ , $\text{CaCl}_2$ , $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , obsahuje min. 25 % aktivního chloru
Chlornan sodný	Vodný roztok $\text{NaClO}$ , 14-15 % aktivní chlor
Technický formalín	40 % vodný roztok formaldehydu ( $\text{HCHO}$ )
Jodonal	Min. 1,75 % aktivního jodu, tekutý, baktericidní
Persteril	Vodný roztok silně korosivní $\text{CH}_3\text{COOOH}$ (36-40%)
Dithiokarbamáty	30-40 % vodné roztoky derivátů dithiokarbamátů (př. Busan 881)

Mezi další obchodní produkty dezinfekčních prostředků patří např.: Kebosany (kvarterní amniové soli, amfotensid a jodoform), Struktole (kationické látky), Nalco, Antiformin (thiokarbamáty), Ekarox B10 (30 % kyselina peroctová) aj. [14]

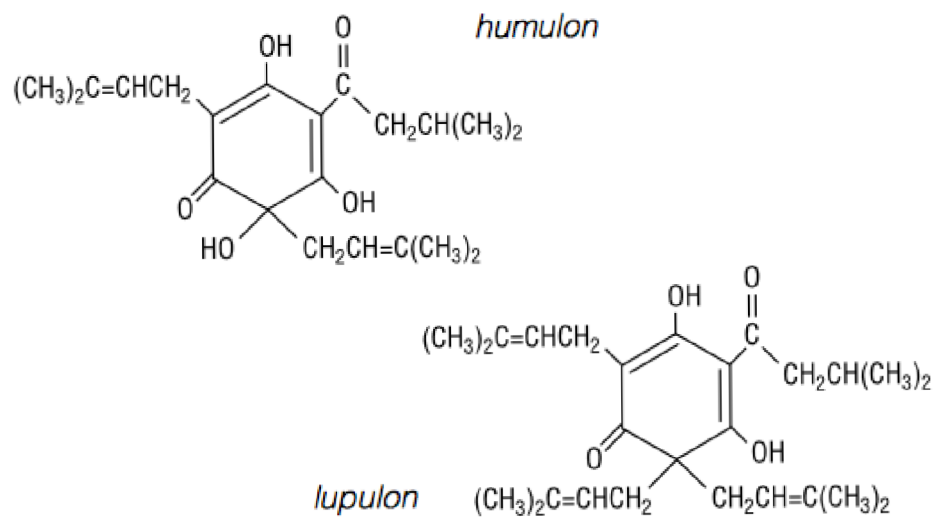
V této práci byly v rámci experimentu využity následující dva typy dezinfekce:

- Formalin – jedná se o 30-40% vodný roztok formaldehydu. Formaldehyd (aldehyd kyseliny mravenčí, methanal) je bezbarvý plyn pronikavého zápachu. Dobře se rozpouští ve vodě, alkoholu a jiných polárních rozpouštědlech. Formaldehyd je karcinogenní a jeho páry dráždí dýchací cesty, vyrábí se katalytickou oxidací methanolu. Formaldehyd snadno polymerizuje, a tak se skladuje ve formě vodného roztoku stabilizovaného pomocí methanolu. V průmyslu má pestré využití jako surovina pro výrobu barviv, léčiv, gumárenských produktů, močovino-formaldehydových pryskyřic, lepidel, hnojiv, koberců aj. Formalin/formaldehyd se zejména využívá jako konzervační a dezinfekční prostředek pro své baktericidní, fungicidní, virocidní a sporocidní účinky. V bílkovinách a nukleových kyselinách mikroorganismů reaguje s karboxyskupinami a aminoskupinami. Způsobuje denaturaci proteinů. [17,18]



*Obrázek 10* Strukturní vzorec formaldehydu [32]

- BetaStab<sup>®</sup> – jedná se o přírodní derivát biocidů. Je to vodný zásaditý roztok, který je tvořen pryskyřičnými kyselinami a přírodními pryskyřicemi. Pryskyřičné kyseliny se získávají z chmelu pomocí kapalného či superkritického CO<sub>2</sub>. Konkrétně se jedná o tzv. beta chmelové kyseliny, humulon a lupulon o koncentraci 9-11 % (obr.11). Princip aplikace BetaStabu<sup>®</sup> spočívá v absorpci chmelových kyselin bakteriální buňkou, ve které tímto dojde ke snížení pH. Buňka je poté neschopná přijmout potravu přes buněčnou stěnu a nastává postupně smrt zapříčiněná „hladověním“. [19,20]



**Obrázek 11** Chmelové kyseliny [19]



### **3. Experimentální část**

Experimentální část byla prováděna v cukrovaru v Hrušovanech nad Jevišovkou ve společnosti Moravskoslezské cukrovary a.s. během kampaně 2016/2017.

#### **3.1. Chemikálie**

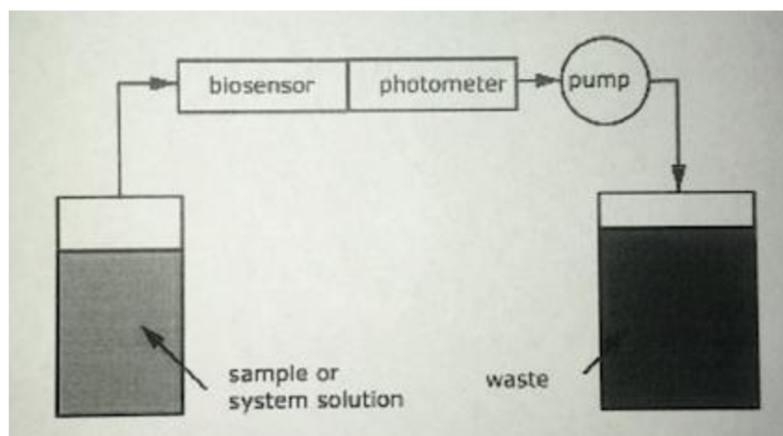
V rámci experimentální části byly využity následující chemikálie: vodný zásaditý roztok na bázi chmelových kyselin BetaStab<sup>®</sup> (BetaTec), formalin - 37% vodný roztok formaldehydu (Brenntag), kalibrační roztok – glukóza 216,2 mg/dl, laktát 90,0 mg/dl (Glucocapil, Dr. Müller), hemolyzační roztok - 1000 µl NaF, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, EDTA, KCl, Triton (Dr. Müller),

#### **3.2. Experimentální vybavení**

Ke stanovení glukózy a kyseliny mléčné byl využit automatický analyzátor SUPER GL Compact (Dr. Müller), Eppendorf zkumavky s reakční směsí, kapiláry s otevřenými konci (Dr. Müller), zásobník pro reagentie a odpad (Dr. Müller), enzym Glu/Lac (Dr. Müller)

#### **3.3. Princip měření**

SUPER GL Compact je zařízení, které umožňuje stanovení glukózy a laktátu na enzymaticko-amperometrickém principu s biosenzorem. Zařízení obsahuje pumpy, jejichž činností je proveden transport roztoku analyzátoru, kalibračního roztoku a vzorku skrze senzor. Uvnitř senzoru se nachází elektrody, které dělí od roztoků multivrstevnatá membrána, na níž se nachází imobilizované enzymy. Vlivem chemické reakce s imobilizovaným enzymem dochází ke změně na elektrodě, jejíž signál je pak výsledkem měření. [21]

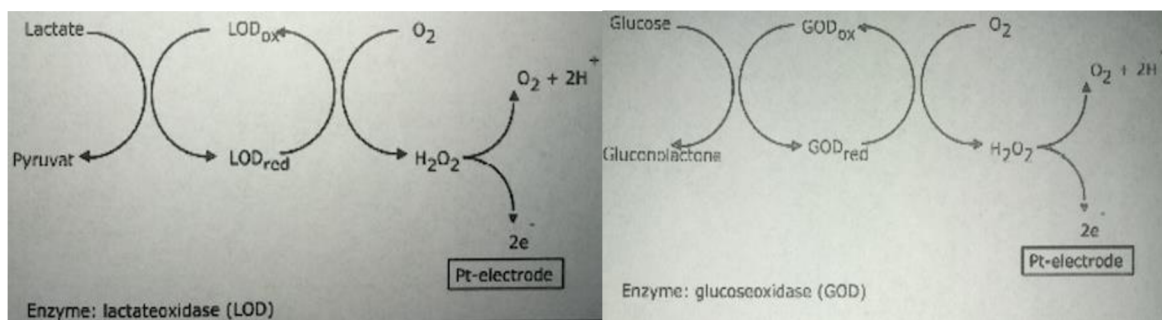


*Obrázek 12 Průtokový diagram[21]*

### 3.4. Příprava vzorku a stanovení

Obsah kyseliny mléčné a glukózy se měřil z difuzní šťávy z extraktoru, který se nachází na tzv. řepníku. V této části cukrovaru je řepa přiváděna do praček, řezaček a poté do extraktoru, kde dochází ke tvorbě difuzní šťávy. Difuzní šťáva se odebírá z kohoutu extraktoru do sterilních nádob z každého extraktoru zvlášť až po odpuštění většího množství šťávy, aby se propláchla celá dopravní cesta difuzní šťávy. Vzorky byly odebírány a měřeny každé dvě hodiny. V laboratoři byl odebrán vzorek ze sterilní nádoby pomocí kapiláry (20  $\mu$ l). Kapilára se poté ponoří do zkumavky s reakční směsí a vzorek je zde rozmíchán. Poté se kontrolní vzorek vloží spolu s kalibračním roztokem do příslušného zásobníku a ten je vložen do analyzátoru. Po vložení zásobníku se vzorkem dojde k aktivaci analýzy v přístroji automaticky. Obsah kyseliny mléčné a glukózy jsou glukometrem uváděny v mg/dl, poté se množství převádí na mg/l. Celková analýza přístroje trvá pár minut.

Kyselina mléčná (laktát) se rozkládá v příslušném biosenzoru na pyruvát a peroxid vodíku za pomoci enzymu laktát oxidázy. Poté dochází k oxidaci uvolněného peroxidu vodíku na platinové elektrodě. Výsledkem je proud, který je přímo úměrný koncentraci kyseliny mléčné ve vzorku (obr. 13).



**Obrázek 13** Reakce v laktátovém a glukózovém senzoru [21]

Obdobně je stanovován obsah glukózy, kde však do oxidace glukózy vstupuje enzym glukózoxydáza umístěn v glukózovém senzoru. Glukóza je štěpena na glukonolaktone a peroxid vodíku. Obsah glukózy a kyseliny mléčné je přístrojem měřen současně.

### 3.5. Dávkování dezinfekce

Kampaň v cukrovaru trvala od září 2016 do konce ledna 2017. BetaStab<sup>®</sup> byl použit jako testovací dezinfekce po dobu 7 dní a dávkoval se každých 6 hodin do 3. komory extraktoru v množství 5 l. Biokampaň trvala celkově 14 dní a za jejího chodu nebyl použit žádný dezinfekční prostředek. Během kampaně se také na 7 dní nepoužívala žádná dezinfekce pro zpracování konvenční řepy. Formalin byl dávkován, kromě výše uvedených časových cyklů, po dobu celé kampaně v množství 10 l každých 8 hodin.

V rámci práce jsou porovnávány účinky dezinfekce na mikrobiologickou kontaminaci. Teplota při extrakci činila 75 °C a hodnota pH se pohybovala v rozmezí 4-6. Vzorek difuzní šťávy byl odebrán a měřen na příslušné parametry (obsah kyseliny mléčné a glukózy) za různých technologických podmínek v extraktoru:

1. Těžení šťávy z řízků biořepy pro výrobu biocukru bez použití jakýchkoliv dezinfekčních prostředků.
2. Těžení šťávy z řízků konvenční řepy za současného použití dezinfekce BetaStab<sup>®</sup>.
3. Těžení šťávy z řízků konvenční řepy při použití dezinfekce Formalin.
4. Těžení šťávy z řízků konvenční řepy bez použití dezinfekčních prostředků.

Následné technologické podmínky byly vzájemně porovnávány v souvislosti s obsahem kyseliny mléčné a glukózy. K porovnání byly využity statistické metody.

## 4. Výsledky a diskuze

Hlavním důvodem ztrát cukru je množství invertních cukrů – glukóza a fruktóza, které vznikají rozkladem sacharózy. Důležitým faktorem vzniku těchto látek je kvalita cukrovky. Silně znečištěná a poškozená cukrová řepa (tzv. alterovaná řepa) má větší sklon ke tvorbě invertních cukrů než řepa kvalitativně vyhovující. Při procesu extrakce pak dochází k uvolnění výše zmíněných látek do difuzní šťávy. Jejich množství je také navyšováno mikrobiální činností, která způsobuje degradaci sacharózy za současného vzniku dalších invertních cukrů a kyseliny mléčné. Jak je již uvedeno v teoretické části, kyselina mléčná je hlavním ukazatelem činnosti mikroorganismů v difuzní šťávě.

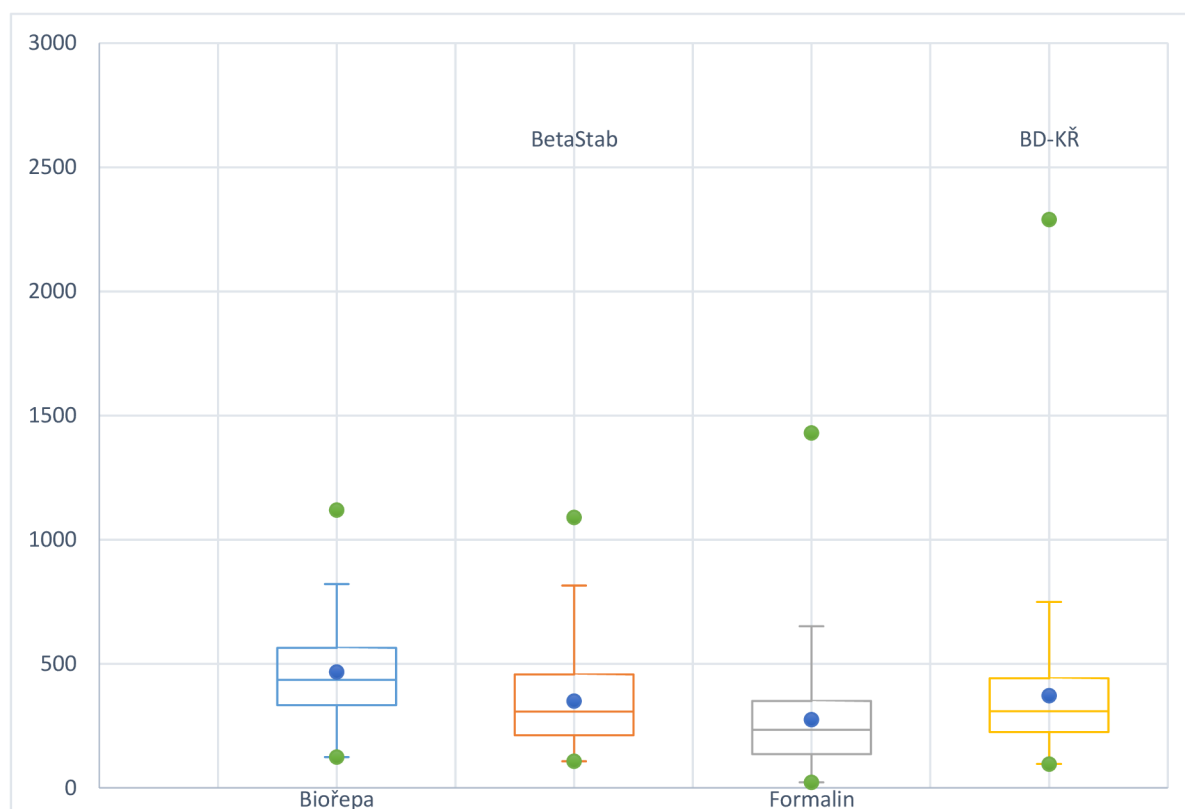
Mezi hlavní prostředky zamezující vzniku těchto komponent v difuzní šťávě patří dezinfekce. Vzhledem k výše uvedeným okolnostem byl hlavním parametrem pro stanovení účinnosti dezinfekčních prostředků obsah kyseliny mléčné a glukózy. Prim současné cukrovarnické technologie je nahradit doposud užívané typy dezinfekcí, jež mají prokazatelně neblahý vliv na lidské zdraví a životní prostředí (např. formalin), jinými přírodními alternativami (např. BetaStab<sup>®</sup>).

### 4.1. Vliv dezinfekce na obsah kyseliny mléčné

Pro vizuální znázornění rozložení obsahu kyseliny mléčné byl použit boxplot neboli krabicový graf, který graficky znázorňuje naměřená data dle jejich kvartilů. Během kampaně byly použity dva typy dezinfekčního ošetření extraktoru, které jsou zde zároveň srovnávány s extrakcí bez dezinfekčního ošetření konvenční řepy a biořepy. Dle vizuálního rozložení (graf 1) lze usoudit, že nejnižší obsah kyseliny mléčné obsahovala difuzní šťáva extrahovaná při použití dezinfekce formalin s průměrnou hodnotou obsahu kyseliny mléčné 274,643 mg/l (tab. 3). Při použití dezinfekce BetaStab<sup>®</sup> byl obsah kyseliny mléčné v průměru 350,425 mg/l. Při extrakci difuzní šťávy z konvenční řepy bez použití dezinfekčních prostředků (BD – KŘ) byla průměrná hodnota kyseliny mléčné 371,409 mg/l. Nejvyšší obsah zmíněné kyseliny byl stanoven při extrakci difuzní šťávy z biořepy, činil 467,2 mg/l. Při výrobě cukru z biořepy je legislativou zakázáno používání jakýchkoliv dezinfekčních prostředků.

**Tabulka 3** Statistické údaje-kyselina mléčná [mg/l]

Statistika	Biořepa	BetaStab	Formalin	BD -KŘ
Minimum	124,000	107,000	22,200	96,400
Maximum	1120,000	1090,000	1430,000	2290,000
Průměr	467,200	350,425	274,643	371,409
Směrodatná odchylka	209,771	193,785	196,518	250,715



**Graf 1** Obsah kyseliny mléčné [mg/l]

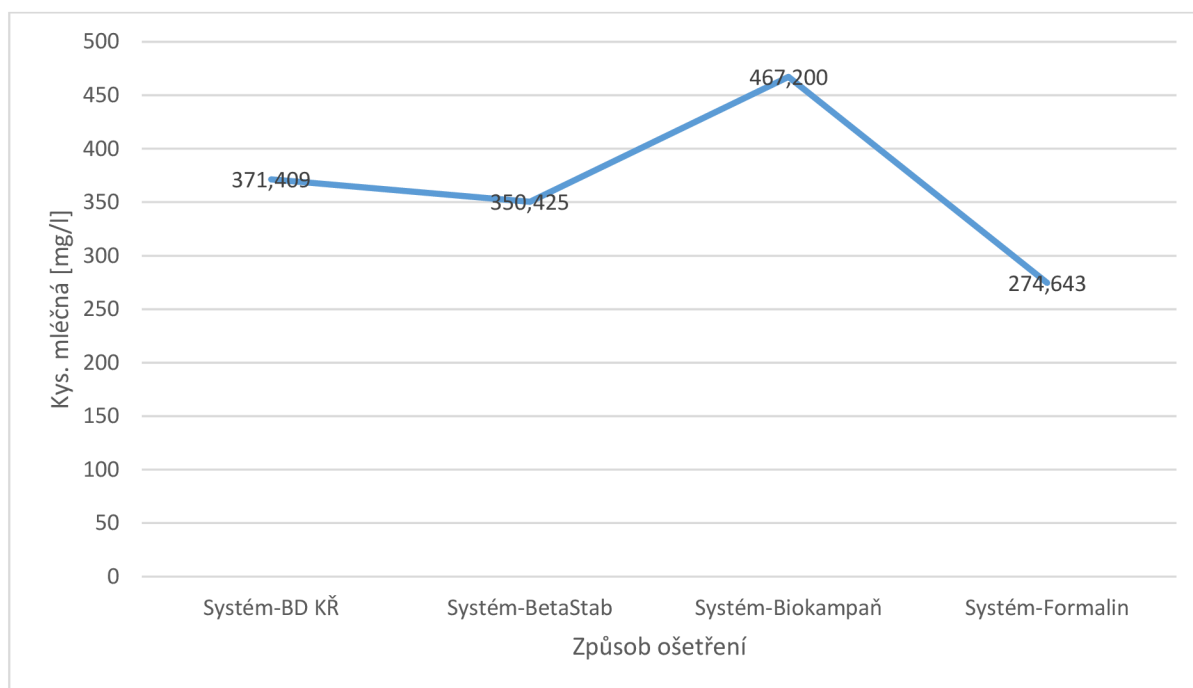
Pro potvrzení výše uvedených výsledků byla použita statistická metoda analýza rozptylu (ANOVA), která zkoumá závislost kvantitativního znaku (v našem případě obsah kyseliny mléčné) na kvalitativním znaku (způsob ošetření). Byly zkoumány dvě hypotézy, jež jsou uvedeny níže, na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  a pravděpodobnosti  $p < 0,05$ . Kritická hodnota je  $F$  rozdělení pro stupně volnosti 3 a 831 (v našem případě),  $F_{krit} = 2,6$ .

$H_0$  – neexistuje statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými způsoby ošetření extrakce, typ ošetření tedy nemá vliv na obsah kyseliny mléčné.

$H_A$  – negace  $H_0$ .

**Tabulka 4** Shrnutí anovy-kyselina mléčná

Kyselina mléčná	
R2	0,071
F	21,136
Pr > F	< 0,0001



**Graf 2** Analýza rozptylu kyseliny mléčné

Výsledné shrnutí analýzy rozptylu udává hodnoty  $F = 21,136$  (tab.4) a  $p < 0,0001$ . Hodnota  $F$  je zde rapidně vyšší než hodnota  $F_{krit} = 2,6$  a hodnota  $p$  je nižší než hladina významnosti  $\alpha = 0,05$ . Zamítáme tak hypotézu  $H_0$  a potvrzujeme hypotézu  $H_A$ . Lze tedy s určitostí potvrdit, že nastavené způsoby ošetření extrakce ovlivňují obsah kyseliny mléčné.

Grafické (graf 3 a 4) a statistické znázornění (tab. 3) jasně poukazují na rozdíl mezi obsahy kyseliny mléčné při extrakci za použití dezinfekcí ve prospěch formalinu. Abychom ověřili pravdivost tohoto tvrzení, bylo nutné jej také prověřit pomocí analýzy rozptylu. Opět byly zkoumány dvě hypotézy, zda existuje statisticky významný rozdíl mezi použitím dezinfekce formalin a BetaStab<sup>®</sup>. Analýza rozptylu byla propracovaná na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$

při pravděpodobnosti  $p < 0,05$ . Kritická hodnota se stupni volnosti (1, 623) pro tento soubor dat činila  $F_{krit} = 3,8$ .

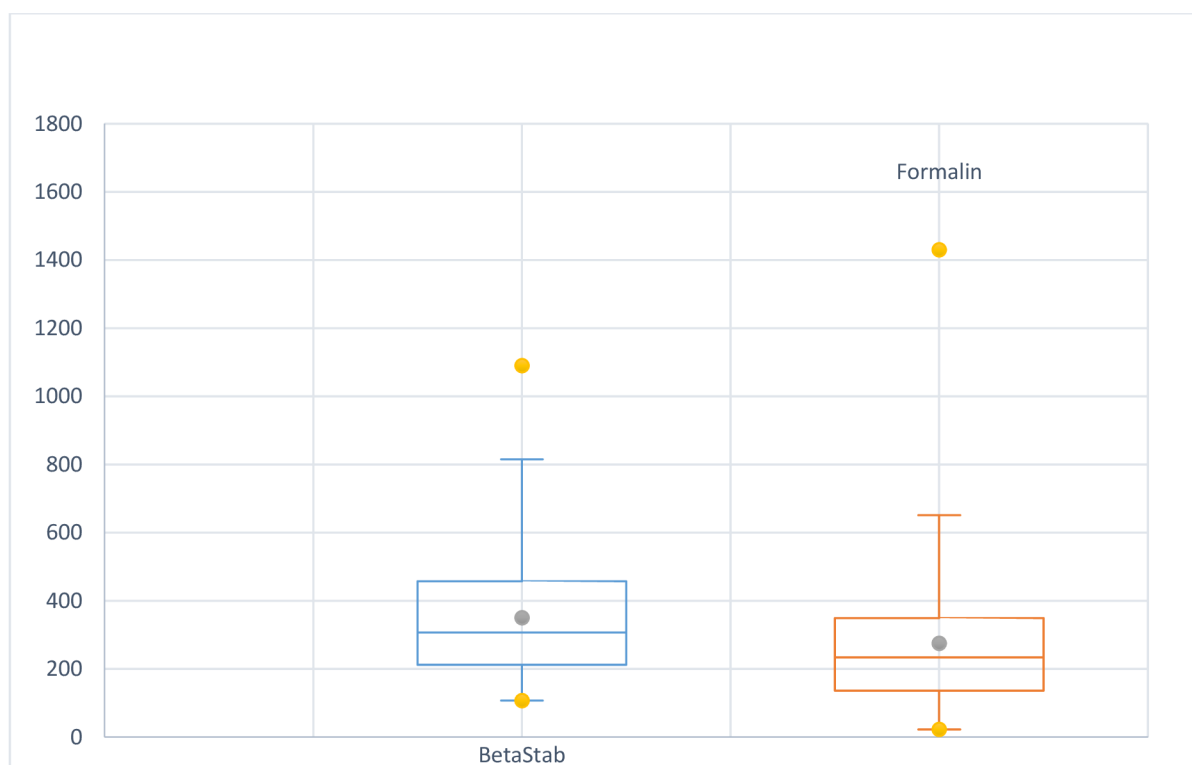
$H_0$  – neexistuje statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými dezinfekcemi.

$H_A$  – negace  $H_0$ .

Po analýze rozptylu nám vyšla hodnota  $F = 9,618$  (tab. 5), v porovnání s kritickou hodnotou  $F_{krit} = 3,8$  lze usoudit, že existuje statisticky významný rozdíl mezi dvěma použitými dezinfekcemi při extrakci. To potvrzuje také hodnota  $p = 0,002$ , která je tak nižší než hladina významnosti  $\alpha$ .

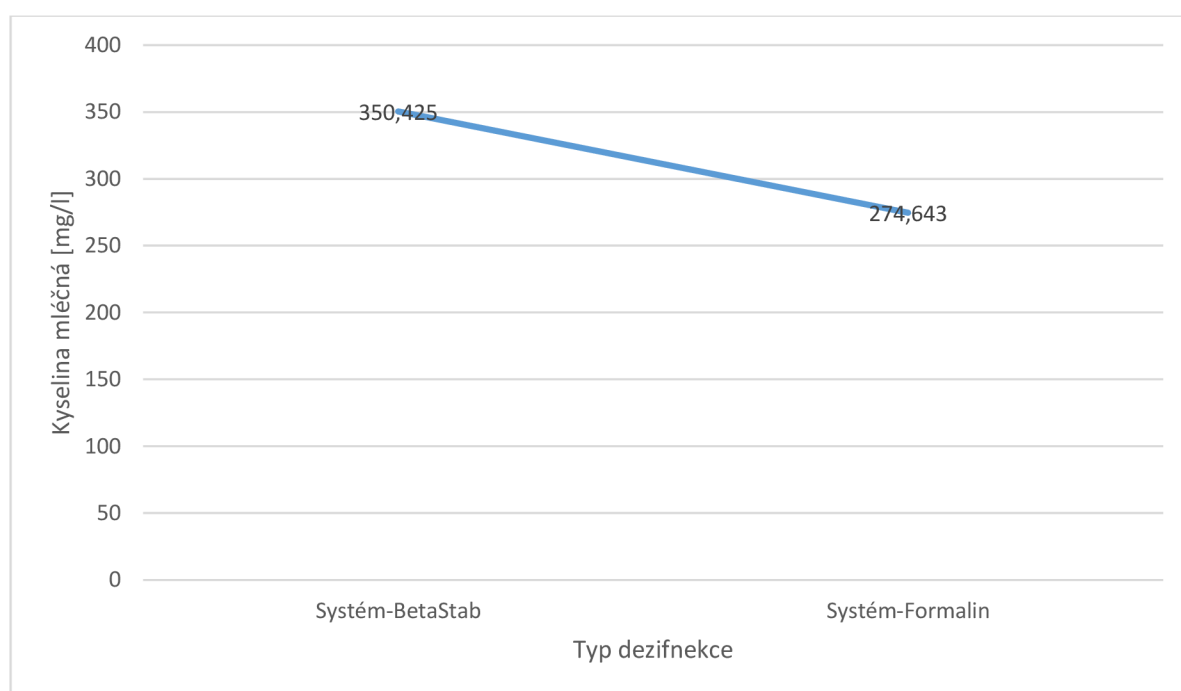
**Tabulka 5** Shrnutí anovy u porovnání dezinfekcí

Kyselina mléčná	
R2	0,015
F	9,618
Pr > F	0,002



**Graf 3** Porovnání dezinfekcí u kys. mléčné [mg/l]

Ve srovnání dezinfikované difuzní šťávy s difuzní šťávou u konvenční řepy a biořepy bez ošetření byl obsah kyseliny mléčné nejnižší při použití formalinu. Potvrzují se tak jeho silné baktericidní vlastnosti. Dezinfekce BetaStab<sup>®</sup>, která je založena na přírodní bázi, ovšem také účinně plnila svoji úlohu. Hraniční hodnota obsahu kyseliny mléčné je v cukrovaru interně stanovena na 600 mg/l, ta odpovídá technologickým požadavkům cukrovaru. Zajímavé je, že bez ošetření konvenční řepy dosahovaly průměrné hodnoty jejího obsahu kyseliny zhruba stejných průměrů jako při ošetření řepy BetaStabem<sup>®</sup>. Příčinou takového obsahu kyseliny mléčné u konvenční řepy bez ošetření je zřejmě silné biocidní ošetření již ve fázi jejího pěstování, dále kvalita cukrové řepy, která důležitým způsobem ovlivňuje činnost mikroorganismů. Při zpracování biořepy je použití dezinfekčních prostředků zakázáno, a to má za následek zvýšený obsah kyseliny mléčné. Jelikož není biořepa na polích jakkoli chemicky ošetřena, může docházet k mikrobiologické činnosti již před zpracováním, což také může vést ke zvýšení obsahu kyseliny mléčné.



**Graf 4** Anova dezinfekce-kys.mléčná

Obdobné výsledky testování účinnosti BetaStabu<sup>®</sup> v porovnání s formalinem uvádí Bennár et al. Průměrný obsah kyseliny mléčné při použití formalinu v této studii dosahoval 206 mg/l, při BetaStabu<sup>®</sup> 346 mg/l. Obsah kyseliny mléčné v neošetřené difuzní šťávě zde činil v průměru



591 mg/l. Při experimentu byly testovány tři různé varianty dávkování pro BetaStab<sup>®</sup> a formalin. [19]

K.A. Willems et al. testovali účinnost BetaStabu<sup>®</sup> v experimentálním skladovacím experimentu vlivem různých koncentrací dezinfekce a potvrdili výrazný účinek na zpomalení tvorby kolonií mikroorganismů. Experiment byl prováděn pomocí pravidelného měření pH. [23]

Pollach et al. se zabývali nahrazením formalinu právě zmíněným BetaStabem<sup>®</sup>. Výsledky studie jednoznačně naznačují velmi dostačující výsledky dezinfekce BetaStabu<sup>®</sup> ve srovnání s formalinem. Zmiňují také skutečnost, že některé mikroorganismy jsou více rezistentní vůči dezinfekci, a tak je nutno dezinfekci střídat. Ve studii poukazují v tomto směru na vysoký potenciál kyseliny kalafunové, která se nachází v pryskyřicích borovic a mohla by být aplikována ve střídavém použití spolu s BetaStabem<sup>®</sup>. V rakouských cukrovarech bylo množství kyseliny mléčné za použití BetaStabu<sup>®</sup> snižené zhruba o 2/3. [24]

Stejní autoři poukazují na další alternativy přírodních biocidů, které by mohly v extraktoru nahradit formalin v rámci ošetření rezistentních kmenů mikroorganismů. Jedná se o mastné kyseliny z jaderných jader, zejména pak kyselinu myristovou. Tento typ prostředku byl zkoumán v laboratorním prostředí včetně vlivu pH, teploty aj. a poté v kampani v závodu Agrana. Výhodou v rámci dalšího výrobního procesu je jeho srážlivost s vápníkem a následné odstranění přes buničinu, melasu a vápenný kal. [25]

Kramer et al. potvrdili účinnost chmelových kyselin hlavně proti gram pozitivním bakteriím in vitro a v praxi související aplikaci pro konzervaci potravin. [26]

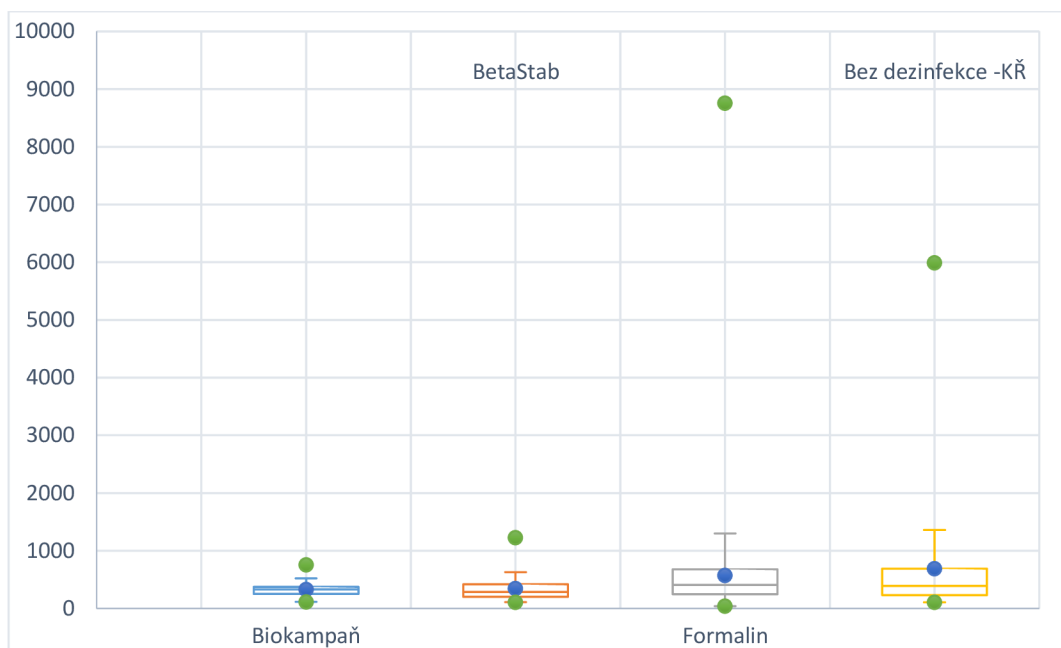
V současnosti je vypracováno více odborných prací, které se zabývají novými alternativami doposud užívaných dezinfekcí extraktoru především přírodními alternativami. [27, 28]

#### **4.2. Vliv dezinfekce na obsah glukózy**

Obsah glukózy je graficky znázorněn na grafu č. 5. Nejvyšší hodnoty glukózy v difuzní šťávě činily v průměru 690,110 mg/l (tab. 6) u typu konvenční řepy, která nebyla nijak ošetřena. Při použití formalinu bylo množství glukózy v průměru 573,099 mg/l. Jedná se o poměrně vysoké množství ve srovnání s dezinfekcí BetaStab<sup>®</sup> - 348,233 mg/l. Nejnižším průměrným obsahem glukózy disponovala difuzní šťáva extrahovaná při biokampani 328,236 mg/l.

**Tabulka 6** Statistické údaje-glukóza

Statistika	Biořepa	BetaStab	Formalin	BD - KŘ
Minimum	115,000	110,000	39,700	107,000
Maximum	755,000	1230,000	8760,000	5990,000
Průměr	328,236	348,233	573,099	690,110
Směrodatná odchylka	122,080	208,345	676,428	822,566



**Graf 5** Obsah glukózy [mg/l]

Pro ověření účinnosti způsobu ošetření byla opět zvolena metoda analýzy rozptylu. Anova porovnává, zda byl obsah glukózy ovlivněn různými způsoby ošetření extraktoru v rámci našeho experimentu. Uvedené zvolené hypotézy byly stanovovány na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  a pravděpodobnosti  $p < 0,05$ . Hladina kritické hodnoty, se stupni volnosti (3, 831) pro tento soubor dat, činila  $F_{krit} = 2,6$ .

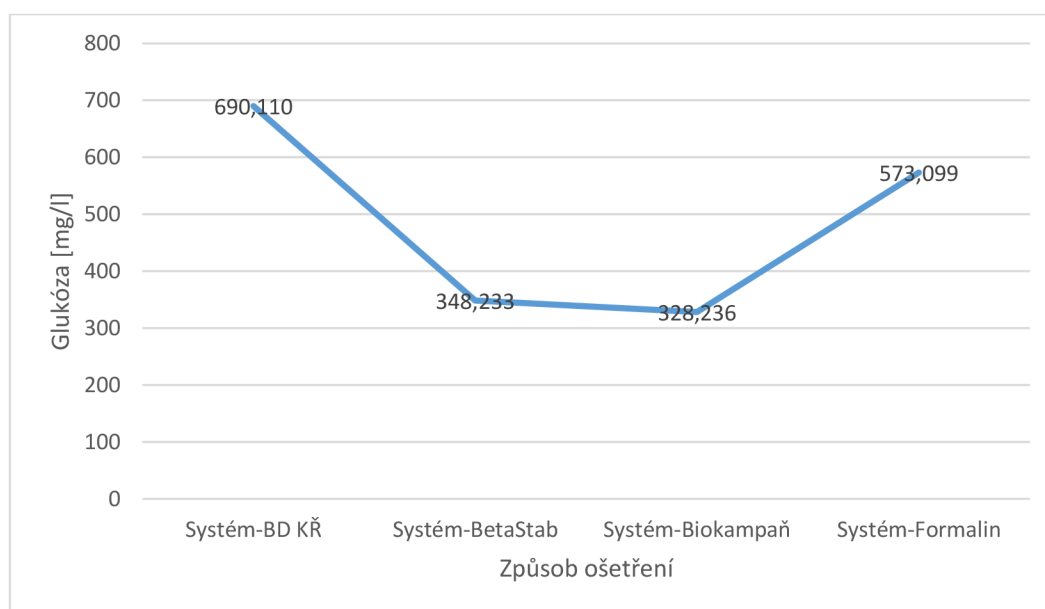
$H_0$  – neexistuje statisticky významný rozdíl mezi obsahem glukózy v extraktoru a způsobem jeho ošetření

$H_A$  – negace  $H_0$ .

**Tabulka 7** Shrnutí anovy-glukóza

Glukóza	
R2	0,024
F	6,879
Pr > F	0,000

Hodnota  $F$  pro analýzu rozptylu u glukózy vyšla 6,879 a hodnota  $p = 0$  (tab. 7). Na základě těchto zjištěných výsledků je potvrzena hypotéza  $H_A$  a zamítá se hypotéza  $H_0$ . Hladinu glukózy v difuzní šťávě jednoznačně ovlivňují nastavené parametry ošetření extraktoru.



**Graf 6** Anova-glukóza

Průměrná hodnota obsahu glukózy při použití Betastabu<sup>®</sup> se výrazně liší od hodnoty při použití formalinu (graf 6). Pro ověření, zda jednotlivé dezinfekce měly vliv na obsah glukózy byla opět použito nejprve grafické znázornění pomocí boxplotu (graf 7) a poté analýza rozptylu. Ta byla propracovaná na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  při hodnotě  $p < 0,05$ . Kritická hodnota, se stupni volnosti (1, 623) v tomto případě, byla  $F_{krit} = 3,8$ . Jednotlivé hypotézy byly stanoveny:

$H_0$  – neexistuje statisticky významný rozdíl mezi jednotlivými použitými dezinfekcemi na obsah glukózy

$H_A$  – negace  $H_0$

Dle shrnutí analýzy rozptylu (tab. 8) lze tvrdit, že použití dezinfekce mělo vliv na obsah glukózy v extraktoru. V porovnání BetaStabu<sup>®</sup> a formalinu, byl jednoznačně účinnější BetaStab<sup>®</sup>.

**Tabulka 8** Shrnutí anovy u porovnání dezinfekcí

	Glukóza
R2	0,013
F	7,957
Pr > F	0,005

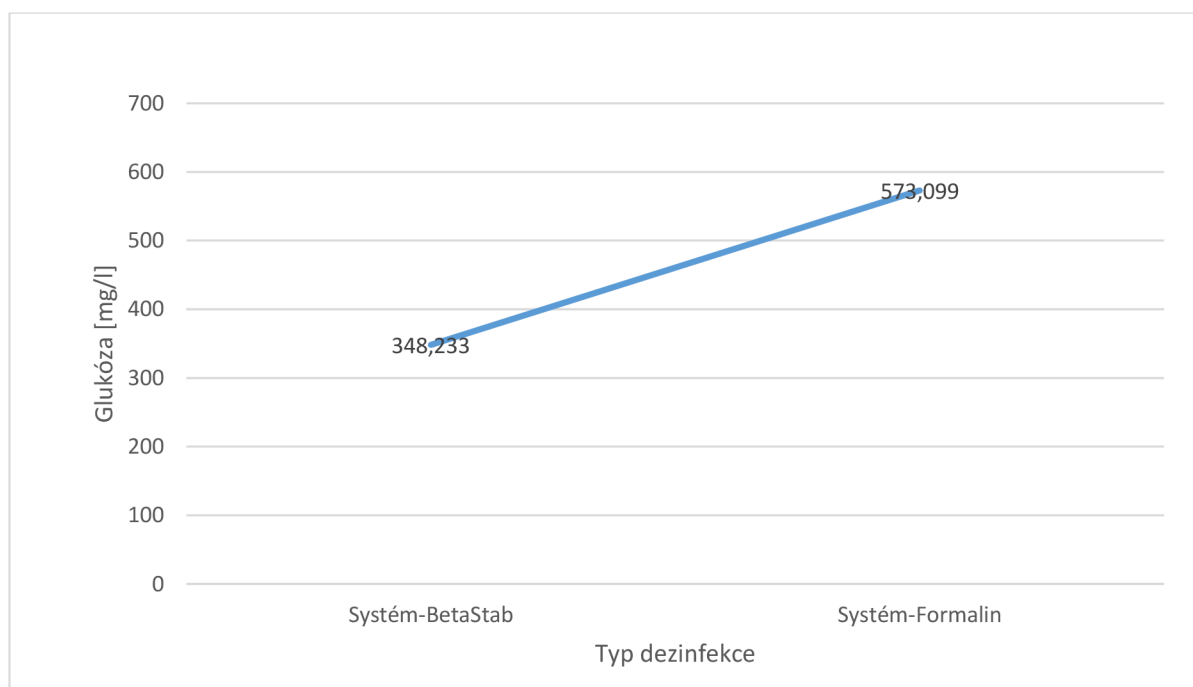


**Graf 7** Porovnání dezinfekcí-glukóza

Největší množství glukózy obsahovala konvenční řepa, která nebyla nijak ošetřena. Tento vysoký obsah invertního cukru se dá přisoudit přítomnosti mikroorganismů, kteří díky absenci dezinfekčního prostředku měli prostor pro svoji činnost rozkládat sacharózu na invertní cukry. Dalším faktorem je delší skladovatelnost cukrové řepy před vstupem do extrakčního procesu, díky které dostanou mikroorganismy více času na degradaci sacharózy. Jiným aspektem je také roční období, jelikož v prosinci a v lednu bývá řepa zmrzlá, tedy poškozená. Při použití formalinu bylo množství glukózy podstatně vyšší ve srovnání s dezinfekcí BetaStab<sup>®</sup> (graf 8). Kvalita cukrové řepy se v průběhu kampaně mění.

To je ovlivněno faktory jako jsou např. biocidní ošetření v rámci pěstování cukrové řepy, kvalita půdy, způsob manipulace s řepou cestou do cukrovaru a skladování řepy v cukrovaru. Například špatným seříznutím cukrovky při sklizni dochází ke zvýšené tvorbě necukrů, které poté přechází do difuzní šťávy. Tohle všechno může být příčinou nadměrného obsahu glukózy v difuzní šťávě při extrakci a následně příčinou ztrát cukru. Při biokampani byl naměřen v průměru nejnižší obsah glukózy. Proces vyluhování řízku při biovýrobě je optimalizován (zkrácená doba vyluhování), aby došlo k co nejmenší inverzi – vzniku glukózy.

Bennár et al. uvádí ve své studii, že při použití BetaStabu<sup>®</sup> činil průměrný obsah glukózy 457 mg/l. U použití dezinfekce formalinu je tato hodnota 353 mg/l. Je tedy evidentní, že v porovnání s našimi výsledky (formalin 573 mg/l, BetaStab<sup>®</sup> 348 mg/l) je toto měření rozdílné. Při kampani v Hrušovanech byl BetaStab<sup>®</sup> účinnější na obsah glukózy v difuzní šťávě než formalin. Příčinou je zřejmě různé dávkování a opět zde hraje roli kvalita řepy. Vliv na obsah glukózy má také typ extraktoru a objem difuze. Cukrovar v Hrušovanech používá šnekové extraktory, zatímco cukrovar v Seredi užívá věžové extraktory, které mají větší objem a je zde přidáváno také větší množství dezinfekce. [19]



**Graf 8** Anova dezinfekce-glukóza

## 5. Závěr

Cílem této diplomové práce bylo porovnat účinky dezinfekčních prostředků, které se používají k dezinfekci extraktoru v cukrovaru a posoudit jejich vliv na obsah kyseliny mléčné. V našem případě se jednalo o dezinfekci formalin, což je 37% roztok formaldehydu, a BetaStab<sup>®</sup>, který je tvořen  $\beta$ -chmelovými kyselinami a je tak přírodní alternativou formalinu. Kyselina mléčná vzniká v extraktoru vlivem mikrobiální činnosti a řadí se tak mezi hlavní signály mikrobiální kontaminace difuzní šťávy v extrakčním zařízení. Kromě kyseliny mléčné byl porovnáván také obsah glukózy v difuzní šťávě v určitých fázích výroby, kdy se během kampaně zpracovávala konvenční řepa a biořepa. Tyto sledované parametry jsou příčinou ztrát cukru během technologického procesu a z toho důvodu jim byla věnována pozornost.

Během kampaně byly nastaveny čtyři různé varianty zpracování sladkých řízků v extraktoru. V extraktoru se luhovala šťáva ze sladkých řízků konvenční řepy, které byly ošetřeny v určité fázi výroby formalinem, poté zvláště BetaStabem<sup>®</sup>, a v jiném případě nebyly ošetřeny žádnou dezinfekcí. Při zpracování biořepy se nepoužívala žádná dezinfekce, neboť pro výrobu bioproduktu je legislativou zakázáno užívat jakékoliv dezinfekce. Za těchto podmínek bylo měřeno množství kyseliny mléčné a glukózy pomocí glukometru, které bylo následně porovnáváno.

Pomocí analýzy rozptylu bylo potvrzeno, že nejúčinnější dezinfekcí z hlediska obsahu kyseliny mléčné byl formalin. Obsah této kyseliny v difuzní šťávě při použití formalinu byl v průměru 275 mg/l. Při zpracování konvenční řepy dezinfikované přírodním biocidem BetaStabem<sup>®</sup> činil tento obsah v průměru 350 mg/l, což je také optimální hodnota v rámci technologického procesu cukrovaru. Obsah kyseliny mléčné u nedezinfikované konvenční řepy byl v průměru 371 mg/l, což nebyl takový rozdíl od použití dezinfekce BetaStab<sup>®</sup>. Důvodem je zřejmě biocidní ošetření v rámci pěstování této řepy a kvalita aktuálně zpracovávané řepy pro tuto variantu, která je důležitým faktorem v technologickém procesu. Obsah kyseliny mléčné v difuzní šťávě vyluhované z biořepy byl v průměru 467 mg/l a byl tedy v porovnání čtyř variant nejvyšší. Příčinou je absence dezinfekce v extraktoru a dalších biocidních operací v rámci zpracování biořepy na polích.

Obsah glukózy, v porovnání čtyř různých variant, dosáhl nejvyššího množství při zpracování konvenční řepy bez ošetření dezinfekcí – 690 mg/l. To je přisuzováno absenci dezinfekce, díky které přítomné mikroorganismy degradovaly sacharózu na invertní cukry. Dalším již zmíněným faktorem může být kvalita zpracovávané řepy anebo skladování řepy, při kterém dostávají

prostor opět mikroorganismy. Obsah glukózy při zpracování konvenční řepy bez ošetření dezinfekce byl měřen v období prosince, kdy často dochází k narušení cukrové řepy vlivem mrazů. Glukóza naměřená při ošetření difuzní šťávy formalinem dosáhla průměrné hodnoty 573 mg/l. Dá se to přisuzovat opět variabilitě jakosti cukrové řepy, kterou ovlivňuje řada faktorů: kvalita půdy, mechanické manipulace s řepou při sklizni aj. Výrazný vliv na obsah glukózy má také poranění dřeně cukrové řepy, kdy dochází k infekci. Formalin byl používán po většinu kampaně, dá se tedy předpokládat, že během jeho použití byl rozsah zpracovávané řepy po jakostní stránce nejvíce pestrý. Při měření pro variantu z BetaStabem<sup>®</sup> činilo množství glukózy v průměru 348 mg/l, nedocházelo zde tedy k výrazné degradaci sacharózy na glukózu. Nejnižší průměrný obsah glukózy – 328 mg/l obsahovala difuzní šťáva z biořepy, to se dá přisoudit zkrácené době vyluhování, která je nastavena při biokampani záměrně z důvodu zamezení tvorby glukózy.

Formalin je velice účinný dezinfekční prostředek, avšak pro jeho zmíněné negativní vlastnosti je vhodné jej nahradit jinými alternativy. BetaStab<sup>®</sup> dosáhl optimálních výsledků v rámci dezinfekce extraktoru a mohl by tak být zařazen jako alternativa dezinfekčního prostředku formalinu. Důležité je však brát v potaz rezistenční schopnost mikroorganismů a při dezinfikování je nutno tyto prostředky střídat. V současné době jsou studovány a prokázány účinky také jiných přírodních alternativ jako např. kyseliny myristová a kalafunová.

## 6. Seznam použitých zdrojů

- [1] BUBNÍK, Zdeněk a Jaroslav GEBLER. *Úvod do cukrovarnické technologie*. Vyd. 1. Praha: VUC Praha, 2006, 250 s. ISBN 80-2397315-0.
- [2] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002, 300 s. ISBN 80-708-0509-9.
- [3] BRETSCHNEIDER, Rudolf. *Technologie cukru*. Vyd. 1. Praha 1: SNTL, 1969, 404 s.
- [4] ČEPIČKA, Jaroslav. *Obecná potravinářská technologie*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995, 246 s. ISBN 80-7080-239-1.
- [5] PETR, Jiří a František LOUDA. *Produkce potravinářských surovin*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1998, 213 s. ISBN 80-7080-332-0.
- [6] KADLEC, Pavel. *Procesy potravinářských a biochemických výrob*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2003, 308 s. ISBN 80-7080-527-7.
- [7] KMÍNEK, Miloš a Pavel KADLEC. Řízení extraktoru-regulace s rozloženými parametry. *Cukrovarnické listy* [online]. 2015, 347-349 [cit. 2017-05-11]. ISSN 1805-9708. Dostupné z: [http://www.cukr-listy.cz/on\\_line/2015/PDF/347-349.pdf](http://www.cukr-listy.cz/on_line/2015/PDF/347-349.pdf)
- [8] KADLEC, Pavel, Karel MELZOCH a Michal VOLDŘICH. *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2012, 588 s. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-145-0.
- [9] KADLEC, Pavel, Karel MELZOCH a Michal VOLDŘICH. *Procesy a zařízení v potravinářství a biotechnologiích*. Vyd. 1. Ostrava: Key Publishing, 2013, 497 s. Monografie (Key Publishing). ISBN 978-80-7418-163-4.
- [10] HAMPL, Bohuš. *Potravinářská mikrobiologie*. Vyd. 1. Praha 1: Státní nakladatelství technické literatury, 1968, 276 s.
- [11] ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Vyd. 3., opr. a dopl., v nakl. Academia 1. vyd. Praha: Academia, 2002, 363 s. ISBN 80-200-1024-6.
- [12] MASÁK, Jan, Jana PELECHOVÁ a Jiří PLACHÝ. *Speciální mikrobiální technologie*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1992, 300 s. ISBN 80-7080-142-5.



- [13] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 1264 s. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [14] BUBNÍK, J., H. ŠTARHOVÁ, A. HLINKOVÁ, V. POUR a P. KADLEC. Aplikace prostředku SUCAZUR při desinfekci extraktoru. *Cukrovarnické listy* [online]. 1998, 1-15 [cit. 2017-05-11]. ISSN 1805-9708. Dostupné z: <http://www.jako.cz/LCaR-1998-5-6-151-Bubnik.pdf>
- [15] ICIEK, Jan, Marek LUDWICKI a Stanislav WAWRO. Mikrobiální kontaminace při extrakci cukru. *Cukrovarnické listy* [online]. 2008, 176-178 [cit. 2017-05-11]. ISSN 1805-9708. Dostupné z: [http://www.cukr-listy.cz/on\\_line/2008/pdf/176-178.PDF](http://www.cukr-listy.cz/on_line/2008/pdf/176-178.PDF)
- [16] KOMRDA, Tomáš. Srovnání jakosti a zdravotní nezávadnosti bipotravin a konvenčních potravin. *Chemické listy* [online]. 2009, , 729-732 [cit. 2017-05-11]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009\\_09\\_729-732.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009_09_729-732.pdf)
- [17] GOODE, JOHN W. *Toxicology of Formaldehyde* [online]. , 217-227 [cit. 2017-05-11]. DOI: 10.1021/ba-1985-0210.ch014. ISBN 10.1021/ba-1985-0210.ch014. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ba-1985-0210.ch014>
- [18] PEČ, Pavel a Danuše PEČOVÁ. *Učebnice středoškolské chemie a biochemie*. Vyd. 1. Olomouc: Nakladatelství Olomouc, 2001, 518 s. ISBN 80-7182-034-2.
- [19] BENNÁR, Marek, Tatiana BOJŇANSKÁ, Júlia HAMBÁLKOVÁ, Viliam LOVAS a Antonín RICHTER. Vplyv dezinfekčných činidiel na extrakciu sacharózy z cukrovej repy. *Cukrovarnické listy* [online]. 2010, , 449-452 [cit. 2017-05-11]. ISSN 1805-9708. Dostupné z: [http://www.cukr-listy.cz/on\\_line/2010/PDF/449-452.PDF](http://www.cukr-listy.cz/on_line/2010/PDF/449-452.PDF)
- [20] BetaStab 10 A. *Betatec.com* [online]. [cit. 2017-05-11]. Dostupné z: [https://betatec.com/wp-content/uploads/2015/09/BETA\\_8807\\_BetaStab\\_CaneCane%20Sugar\\_ENGL\\_1.pdf](https://betatec.com/wp-content/uploads/2015/09/BETA_8807_BetaStab_CaneCane%20Sugar_ENGL_1.pdf)
- [21] Uživatelská příručka SUPER GL Comptact. Freital (DE): Dr. Müller, 2012.
- [22] SARGENT, D.; SPENCER, D. e.: 1995. cit: VAN DER POEL, P. W.; SCHIWECK, H.; Schwartz, t.: *Sugar Technology. Beet and Cane Manufacture*. Berlin: Verlag Dr. A. Bartens, 1998, 1120 s.

- [23] JUSTÉ, A., M.S. KRAUSE, B. LIEVENS, M. KLINGEBERG, C.W. MICHIELS a K.A. WILLEMS. *Protective effect of hop  $\beta$ -acids on microbial degradation of thick juice during storage* [online]. [cit. 2017-05-11]. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2007.03531.x. ISBN 10.1111/j.1365-2672.2007.03531.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2672.2007.03531.x>
- [24] POLLACH, Günter, Walter HEIN a David BEDDIE. *Application of hop  $\beta$ -acids and rosin acids in the sugar industry* [online]. 2002, , 921-930 [cit. 2017-05-11]. Dostupné z: [https://betatec.com/wp-content/uploads/2015/09/Application\\_acids\\_sugar\\_industry.pdf](https://betatec.com/wp-content/uploads/2015/09/Application_acids_sugar_industry.pdf)
- [25] POLLACH, G.; HEIN, W.; BEDDIE, D.: *The concept of different natural anti-bacterials for the sugar industry* (SPRI conference 2004, Atlanta). Zuckerindustrie 129 (2004) pp. 555-564
- [26] KRAMER, B., J. THIELMANN, A. HICKISCH, P. MURANYI, J. WUNDERLICH a C. HAUSER. *Antimicrobial activity of hop extracts against foodborne pathogens for meat applications* [online]. [cit. 2017-05-11]. DOI: 10.1111/jam.12717. ISBN 10.1111/jam.12717. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/jam.12717>
- [27] HEIN, W.; POLLACH, G.; EMERSTROFER, F.: *10 years' experience with natural antibacterials within Agrana*. Zuckerind., 131, 2006 (7), s. 477–491.
- [28] POLLACH, G.; HEIN, W.; RÖSNER, G.: *New findings towards solving microbial problems in sugar factories*. Zuckerindustrie 124 (1999) pp. 622-637.
- [29] BARYGA, A.: *Vliv mikrobiologické čistoty bílého cukru na jeho využití v potravinářském průmyslu*. Listy cukrov. řepář., 122, 2006 (12), s. 341–343.
- [30] *Projektysipvz.gytool.cz* [online]. [cit. 2017-05-11]. Dostupné z: <http://projektysipvz.gytool.cz/projektysipvz/default.aspx?uid=376>
- [31] *Web2.mendelu.cz* [online]. [cit. 2017-05-11]. Dostupné z: [http://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty/files/23/23-technologie\\_sacharidu\\_hrivna\\_b.pdf](http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty/files/23/23-technologie_sacharidu_hrivna_b.pdf)
- [32] *Cs.wikipedia.org* [online]. [cit. 2017-05-11]. Dostupné z: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Formaldehyd>

[33] *E-chembook.eu* [online]. [cit. 2017-05-11]. Dostupné z: <http://e-chembook.eu/izomerie-organickych-sloucenin>