

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra rostlinné výroby



**Vliv enzymů, aplikovaných na zpracované bulvy cukrové
řepy, ovlivňující kvalitu saturované šťávy**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Petra Langrová

Vedoucí práce: prof. Ing. Josef Pulkrábek, CSc.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv enzymů, aplikovaných na zpracované bulvy cukrové řepy, ovlivňující kvalitu saturované šťávy" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 6. dubna 2016

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. Ing. Josefu Pulkrábkovi, CSc. za odborné vedení, trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování diplomové práce věnoval. Děkuji také panu Ing. Vladimíru Ulrichovi, za poskytnuté materiály a informace potřebné pro vypracování této práce. V neposlední řadě patří velké díky celému týmu cukrovarnické laboratoře, pod vedením Mgr. Lenky Juřenové, který mi poskytl prostory a zajistil veškerý materiál pro samostatnou analýzu použitou v této diplomové práci.

Vliv enzymů, aplikovaných na zpracované bulvy cukrové řepy, ovlivňující kvalitu saturované šťávy

Souhrn

Práce je zaměřena na stanovení přítomnosti dextranu a jeho případného množství v cukrovarnických mezivýrobcích. Dextran je polysacharid, který vzniká na bulvě cukrové řepy nevhodným skladováním, nízkými teplotami, či poraněním řepné tkáně, která je následně velice citlivá k infekcím produkovaných mikroorganismem *Leuconostoc mesenteroides*. Infekce vede ke vzniku polysacharidů a jiných vedlejších produktů, které mají negativní vliv na technologické zpracování cukrové řepy. Z těchto polysacharidů je v postižené řepě nejvíce zastoupen levan a dextran, jejichž obsah výrazně zvyšuje viskozitu cukerných šťáv. To se následně projevuje na krystalizaci uhličitanu vápenatého při II. saturaci a tím dochází ke zhoršení filtrovatelnosti.

V případě přítomnosti dextranu či jiných polysacharidů dochází k dalším problémům v technologickém procesu výroby cukru. Pro jejich odstranění je použita enzymatická hydrolýza pomocí enzymu dextranázy, nebo α amylázy. Ta štěpí polysacharid dextran na menší oligosacharidy, které se nezachytí ve filtračním zařízení a nezpůsobí tak snížení výrobní kapacity. Komerčně dostupná dextranáza je ale finančně náročná, proto probíhají výzkumy k nalezení ekonomičtějších řešení.

Diplomová práce hodnotí přítomnost dextranu v extrahované šťávě metodou ICUMSA GS8-19 z roku 2009. Metoda spočívá v hodnocení přítomnosti dextranu v difuzní, těžké a II. saturované šťávě. Stanovovali jsme i alkalitu, pH, sedimentační a filtrační koeficient, polarizaci, sacharizaci a čistotu. Cílem této práce je vyhodnotit korelace mezi naměřenými hodnotami a aplikací 2 enzymů, které se používají k odstranění těchto problémů.

Po dokončení experimentu a zhodnocení naměřených výsledků se nám nepodařilo prokázat souvislosti mezi laboratorně naměřenými hodnotami v provozní laboratoři cukrovaru společnosti Tereos TTD Dobruška. Námi naměřené hodnoty neprokázali vzájemně ovlivnitelný vztah. Jediná prokazatelná souvislost byla při stanovení množství propláchnutých filtrů po II. saturaci za den, s množstvím použitých enzymů. V případě prokázání vysokého množství dextranu se filtry začali postupně zanášet nepropustnou vrstvou makromolekul, a v případě, že by nebyla použita enzymatická cesta pro likvidaci těchto polysacharidů, by jediným řešením bylo časté proplachování filtrů nebo snížení provozní kapacity spjaté s následným prodloužením zpracovatelské kampaně. Dále jsme prokázali účinnost α amylázy, která byla použita při zpracování řepy po Novém roce. Tento enzym měl podobné účinky na

odbourání polysacharidů a zprůchodnění filtrů. Proto je možné v následujících kampaních nahradit finančně náročný enzym dextranázu lacinější α amylázou.

Klíčová slova: cukr, cukrovka, dextran, dextranáza, α amyláza, filtrovatelnost

The influence of enzymes applied on processed sugar beet bulbs on the quality of saturated juice

Summary

The thesis focuses on the determination of dextran presence and its potential amount in sugar-made semi-products. Dextran is a polysaccharide which is created on a sugar beet tuber due to inappropriate storing, because of low temperatures or wound of beet tissue, which is subsequently prone to infections caused by *Leuconostoc mesenteroides* microorganism. The infection results in creation of polysaccharides and other secondary products which have a negative influence on technological processing of beet. Levan and dextran create the highest amount of these polysaccharides in sugar beet. They significantly increase the viscosity of sugar juice. It is subsequently seen on crystallization of calcium carbonate during the second saturation and this causes the deterioration of filterability. In case of dextran or other polysaccharides presence other problems arise in the technological process of sugar production. For its elimination enzymatic hydrolysis is used with the aid of dextranase or α amylase. This element splits dextran polysaccharide into smaller oligosaccharids which are not caught in filtration device and therefore do not cause reduction in production capacity. Commercially accessible dextranase; however, is financially demanding so that there are researches trying to find more economical ways. This diploma thesis evaluates the presence of dextran in extracted juice by means of ICUMSA GS8-19 (year 2009). The method evaluates the presence of dextran in diffused, heavy and II. saturated juice. The research was focused on determination of alkalinity, pH, sedimentation and filtration coefficient, polarization, sugar content and purity. The aim of this thesis is to evaluate the correlation between recorded numbers and the application of the two enzymes which are used for removal of these problems. After completion of the experiment and evaluation of measured results in operating laboratory of sugar factory Tereos TTD Dobruška, connection among laboratory measured data was not proved. Our recorded data did not prove reciprocal relation. The only proved connection was about number of rinsed filters (per day) after II. saturation and amount of used enzymes. The amount of enzymes influences how many times per day filters must be rinsed in order to get rid of deposit. In case of high amount of dextran, filters started to be clogged by impervious layer of molecules and in case that enzymatic way was not used for elimination of this saccharide, the only

solution was frequent filters rinsing or reduction in working capacity connected to subsequent prolongation of processing campaign.

Further, we proved the efficiency of α amylase which was used during beet processing (after New Year). This enzyme had the same impact on elimination of polysaccharides and clearance of filters. It is to say that in following campaigns it is possible to substitute financially demanding enzyme for cheaper α amylase.

Keywords: sugar, sugar beet, dextran, dextranase, α amylase, filterability

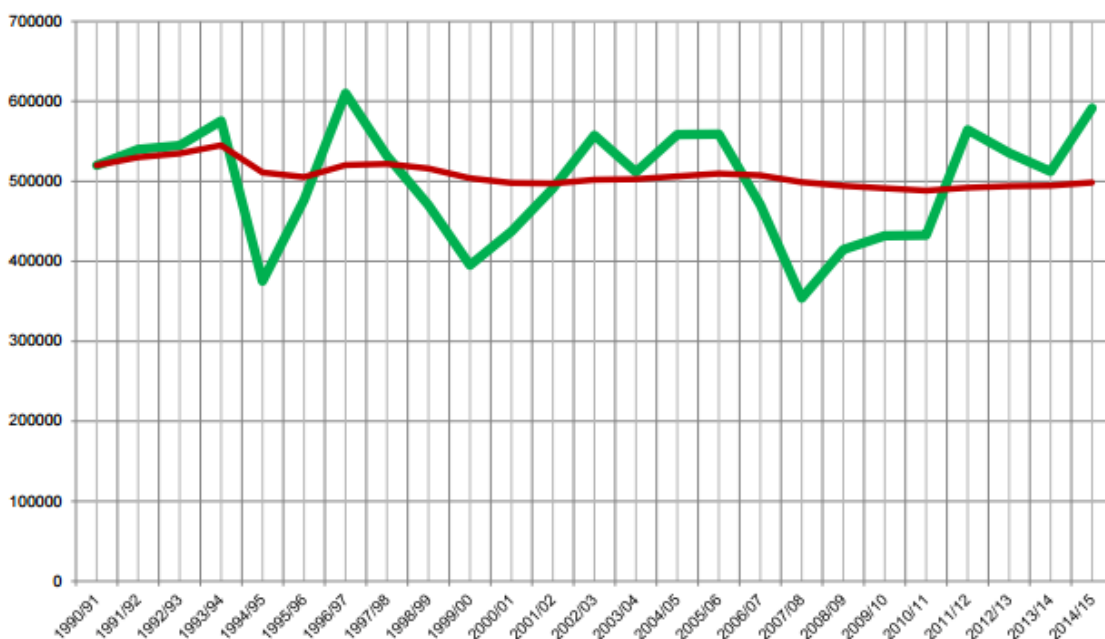
Obsah

1	Úvod	10
2	Cíl práce.....	12
2.1	Hypotéza	13
3	Literární rešerše.....	13
3.1	Historie cukrovarnictví	13
3.2	Technologie výroby	15
3.3	Dextran	18
3.4	Enzymy	20
3.4.1	Amyláza	20
3.4.2	Dextranáza	21
4	Materiál a metody	22
4.1	Pracovní postup při stanovení dextranu.....	23
4.2	Pomůcky a chemikálie	23
4.3	Dílčí přísady.....	24
4.3.1	Příprava standardního roztoku dextranu	24
4.3.2	Roztok kyseliny trichlóroctové	25
4.3.3	Čistý denaturovaný alkohol	25
4.3.4	Křemelina.....	25
4.4	Příprava šťáv	25
4.5	Příprava kalibračních roztoků	25
4.6	Stanovení dextranu ve šťávách.....	27
4.7	Polarizace.....	27
4.8	Sacharizace	27
4.9	Alkalita.....	28
4.9.1	Měření alkality I. saturované šťávy	28
4.10	pH	28
4.11	Filtrační koeficient.....	28
4.12	Sedimentační koeficient.....	28
5	Výsledky.....	29
5.1	Uspořádání provozního měření	29

5.2	Výběr parametrů sledování procesu filtrace po II. saturaci.....	29
5.3	Souhrn výsledků.....	30
5.4	Vyjádření vztahů mezi naměřenými hodnotami.....	33
6	Diskuze.....	38
7	Závěr	45
8	Seznam literatury.....	46
9	Seznam tabulek a obrázků	49
10	Seznam zkratek	49

1 Úvod

Cukrová řepa je svým produkčním a energetickým potenciálem nejvýkonnější plodinou mírného pásma a má nezastupitelnou úlohu jako předplodina v osevním postupu. Je to dvouletá rostlina řadící se mezi okopaniny, která se rozmnožuje pomocí semen. V prvním roce vegetace tvoří přízemní růžici listů a bulvu, ze které se následným zpracováním získává cukr a v druhém roce vegetace tvoří květní lodyhu, na které dozrávají semena. Cukrová řepa je základní surovina pro výrobu cukru a její pěstování má v České republice dlouholetou tradici.



Obrázek 1 Vývoj roční a průměrné výroby cukru v ČR (t)

Celková spotřeba cukru v České republice je asi 400 až 450 tisíc tun, což na jednoho obyvatele odpovídá průměrné spotřebě cukru mezi 39-40 kg. Jako potravinu zajišťuje cukr podstatnou dávku celkového denního příjmu energie. Vysoká úroveň spotřeby cukru, zejména ve vyspělých zemích, je dána širokou nabídkou průmyslově vyráběných potravin, jako jsou čokoláda a cukrovinky, nealkoholické nápoje, mlékárenské výrobky, zmrzliny, džemy, sirupy, pečivo, sušenky, cukrářské výrobky aj. Zbývající část cukru se spotřebuje v domácnostech, kde se používá k přímému slazení kávy a čaje, k pečení a při vaření. Vedle své funkce sladidla je cukr látkou, dodávající potravinám objem, upravuje jejich texturu, působí jako konzervační činidlo, ochucovadlo a fermentační substrát.

Na zabezpečení současné výše produkční kvóty, postačuje plocha cukrové řepy kolem 40 000 hektarů při cukernatosti 16 %, za předpokladu stabilizovaného hektarového výnosu na

úrovni 60 tun z hektaru. Na produkci lihu je v České republice pěstováno kolem 13 500 hektarů cukrové řepy a několik tisíc hektarů je pro technické využití cukru.

V EU je rozsah produkce cukru regulován kvótami. Odbyt cukrové řepy vychází z dohody s cukrovarem. Cukr je významným energetickým zdrojem v potravinářství a také se využívá pro výrobu bioethanolu, léčiv a aminokyselin. Cukrová řepa je plodina mírného pásu, proto její produkci mnohem více ovlivňují klimatické podmínky ve vnitrozemských než přímořských státech.

Kořen cukrovky, označován jako bulva, obsahuje 23-25 % sušiny, z toho je asi 5 % nerozpustného podílu, který se nazývá dřevina a tvoří jej především celulóza, pentozany, lignin a pektinové látky. Zbývající obsah sušiny tvoří rozpustné látky řepné šťávy, mezi nimiž převažuje z 16-18 % sacharóza. Zbytek, asi 2,5 %, připadá na skupinu látek, které se souhrnně nazývají rozpustné necukry. Mezi rozpustné necukry patří monosacharidy: glukóza, fruktóza; oligosacharidy: rafinóza; organické kyseliny: šťavelová, jablečná, citronová, mléčná; saponiny: bezdušikáté glykosidy, bílkoviny, aminokyseliny, amidy, popeloviny aj. Z chemicko-technologického hlediska rozdělujeme látky obsažené ve sklizených bulvách cukrovky na dřevinu a řepnou šťávu. Řepnou dřevinu se rozumí souhrn ve vodě nerozpustných látek. Zbytek tvoří řepná šťáva, tj. voda a v ní rozpuštěné látky. Řepná bulva obsahuje asi 76 % vody a 24 % sušiny.

Tabulka 1 Hlavní látky v řepné dřevině

Hlavní látky	%
Pentozany, celulóza	70-90
Pektiny	25-30
Nerozpustné org. látky	4
Inhibiční voda	0,5

Tabulka 2 Hlavní látky v řepné šťávě

Hlavní látky	%
Voda	76
Látky rozpustné ve vodě	18
Necukry – bílkoviny	0,06-1
Sacharóza	87

Cukrovka byla vyšlechtěna tak, aby při poměrně dlouhé vegetační době a v podmínkách úrodných půd mírného zeměpisného pásma poskytovala maximální výnosy cukru. Při pěstování na odlišných typech a druzích půd a v odchylném klimatu ztrácí cukrovka rychle schopnost vytvářet požadované výnosy a kvalitu. Cukrovka je velmi citlivá plodina, která silně reaguje na nepříznivé vlivy, ať už na množství srážek, poškození kroupami, vysoký sluneční svit, či poškození mrazem. Mrazem poškozená, poraněná, či špatně a dlouho skladovaná řepa je náchylná ke vzniku infekcí produkovaných mikroorganismem

Leuconostoc mesenteroides. Ten na řepné bulvě způsobuje vznik polysacharidů (dextranů a levanů), které mají negativní vliv na krystalizaci uhličitanu vápenatého při II. saturaci. Aby se zamezilo těmto problémům způsobujícím snížení výrobní kapacity, až přerušení výrobního procesu, jsou do extrahovaných šťáv aplikovány enzymy, které tyto polysacharidy štěpí na menší molekuly, které se nezachycují na filtrech. Mezi enzymy, které se využívají nejvíce, patří dextranáza. Její účinky na rozklad polysacharidů jsou ověřeny mnohými cukrovary. Nevýhoda ale spočívá ve finanční náročnosti. V našem pokusu byl vedle standardně aplikované dextranázy použit i enzym α amyláza, která se běžně používá k rozkladu škrobu a je finančně dostupnější. Celý tento výzkum má ale řadu ovlivňujících faktorů, které musíme zohlednit. Jedná se zejména o způsob a délku skladování řepy na finálních úložištích. Ztráty dýcháním i při správném uložení bývají v mezích 0,01 do 0,02 % cukru denně. Při nesprávném uložení jsou ztráty mnohem vyšší. V uložené řepě se zvyšuje množství rozpustných pektinových látek, hemicelulózy, a může docházet i k mikrobiální kontaminaci, při které se tvoří rušivé necukry, jako již zmíněné dextransy a levany. Jsou ale i faktory, které ovlivnit nemůžeme. Velký dopad na konečnou kvalitu cukrových bulv má počasí, které ovlivňuje vznik infekcí. Počasí nemůžeme na kampaňovou sklizeň předvídat, proto musí být v cukrovarnickém závodě připraveno dostatečné množství enzymů, které je možné ihned použít při prvních náznacích zhoršení filtrovatelnosti. Výhodou používaných enzymů je, že pokud je jednu řepnou kampaň snížený výskyt infekcí, než technolog předpokládal a enzymy se nespotřebují, je možné je uskladnit a aplikovat následující kampaň se stejnými účinky.

2 Cíl práce

Problematiky týkající se zhoršení filtrovatelnosti uhličitanu vápenatého při II. saturaci se stala velmi aktuálním tématem k řešení. Nejen v českých, ale i v zahraničních cukrovarech dochází vlivem špatného počasí, skladovacích podmínek či nevhodného zacházení s cukrovou bulvou ke vzniku polysacharidů, které vedou k problémům ve zpracování cukrové řepy na cukr. K zamezení těchto problémů je nutná aplikace enzymů, které vzniklé polysacharidy odbourají za vzniku menších molekul a dají tak možnost průchodu šťáv přes filtry, které by se jinak makromolekulami ucply.

Cílem diplomové práce je posoudit účinky enzymů na kvalitu (filtrovatelnost) II. saturevané šťávy aplikovaných na zpracovávané bulvy cukrové řepy a následně vyhodnotit náklady použití vybraných enzymů v provozu cukrovaru.

2.1 Hypotéza

Filtrovatelnost kalu ve šťávě po II. saturaci můžeme ovlivnit přidavkem enzymu ke zpracované řepě.

3 Literární rešerše

3.1 Historie cukrovarnictví

Fenomén cukru se do našich pamětí zapsal z hlediska pozoruhodných paradoxů. Naše řepné cukrovarnictví bylo po vzniku ČSR ověčeno aureolou „bílého zlata“ a „národního pokladu“. Vzápětí se ale nadlouho ponořilo do vleklé odbytové krize a stalo se zátěží pro státní rozpočet (Dudek, 2011).

V řepě objevil sladkou šťávu Francouz Olivier de Serres v roce 1605, který shledal obdobu se šťávou z cukrové třtiny. Cukr z řepy poprvé vyrobil A.S. Marggraf roku 1747. Teprve jeho žák F. K. Achard se pokusil ve Slezsku v roce 1796 o výrobu cukru z řepy ve velkém a v roce 1799 dostala řepa název „cukrová“ (Jůzl a kol., 2000).

Podle Antonína (2006) se o rozvoj cukrovarnictví zasloužil především Napoleon Bonaparte. Během napoleonské války byl zamezen dovoz cukrové třtiny, přesněji cukru vyrobeného z třtiny v Karibiku.

Po Napoleonových porážkách blokáda skončila a opět se začal dovážet třtinový cukr ze zámoří. Byl levný, bylo ho dost a řepné cukrovarnictví, které bylo stále ještě v plenkách, mu nebylo schopno konkurovat. Opět se ale začalo prosazovat kolem roku 1830, zprvu nesměle, ale posléze stále výrazněji.

Po roce 1831 vznikají v hojném počtu v našich zemích další cukrovary. Jejich počet nevzrůstal rovnoměrně a plynule. V některých obdobích byl ovlivňován kladně nebo záporně různými vnějšími vlivy, především ekonomickými a politickými.

- v letech 1835–1838 vzniklo 62 cukrovarů (roční průměr 15)

- v období 1849–1851 bylo založeno 35 cukrovarů (roční průměr 12)

- v pětiletí 1868–1872 vzrostl počet nově vybudovaných cukrovarů na 105 (roční průměr 20)

Nejvíce závodů vzniklo v roce 1870 (34) a v roce 1871 (33).

Pucherna (1981) uvádí, že v kampani 1872/73 dosáhl počet cukrovarů, zpracovávající řepné bulvy v našich zemích, svého maxima 214. Do konce 19. století bylo pak vybudováno již jen 18 cukrovarů a za dalších 18 let, do skončení první světové války byly založeny pouze dva nové cukrovary. Po roce 1921 řídil vázané hospodářství s cukrem stát. Po uvolnění obchodu s cukrem od 1. října 1926 uzavřely československé cukrovary prozatímní kartelní dohodu. Po

uplynutí její jednorocní platnosti byla s účinností od 1. října 1927 uzavřena kartelní dohoda, platná 10 let, která byla v roce 1937 prodloužena na dalších 10 let. V kampani 1924/25 se objevují první známky nesouladu mezi výrobou a spotřebou. V kampani 1925/26 již bylo zřejmé, že výroba cukru převyšuje jeho spotřebu. Mezi lety 1925 až 1935 docházelo ke snahám o snížení výrobních nákladů, a tak bylo v tomto období zrušeno 26 závodů (Vodica, Frimlová, 1981). Nebývalý rozvoj byl v letech 1831 až 1945, kdy vzniklo 323 cukrovarů a 168 jich zaniklo. V letech 1945 až 1948 došlo k postupnému znárodnění všech cukrovarů a v roce 1948 byla správa cukrovaru převzata s konečnou platností pod národní podnik Cukrovary a rafinerie cukru. Ze soukromých cukrovarů se tak staly národní podniky (Hradiský, Svačina, 2012). Od roku 1990 až 2004 má cukrovarnický průmysl zcela liberální vývoj bez regulací, podpor a celní ochrany. Restrukturalizací průmyslu klesá jejich počet a díky přítomnosti zahraničních investičních skupin zůstává z původních 58 cukrovarů pouhých 11 a osevní plocha klesá ze 100 000 hektarů na 60 000 hektarů. Další změny v cukrovarnictví nadešly se vstupem České republiky do Evropské unie. O pět let později, v roce 2009, se jejich počet opět zmenšil, a to na 7 závodů (Duffek, 2011). Na přelomu roku 2008 a 2009 je prakticky dokončena restrukturalizace cukrovarnického průmyslu a pomocí finančních nástrojů se podařilo odevzdat do Restrukturalizačního fondu EU necelých 6 mil. tun cukru, o které se snížila kvóta EU (Hradiský, Svačina, 2012).

I přes mnohé počáteční problémy má dnešní pěstování cukrovky a výroba cukru na území současné České republiky tradici více než 170 let a stále patří k důležitým úsekům zemědělsko-potravinářské výroby. Řepářství ovlivnilo příznivě rozvoj rostlinné i živočišné výroby a to zejména v oblastech vhodných pro pěstování cukrovky, kde přispělo k hospodářské prosperitě zemědělců.

Cukrovarnický průmysl významně ovlivnil rozvoji dalších průmyslových odvětví, zejména strojírenství a oborů navazujících na zpracování cukru a melasy. Počátky průmyslové výroby cukru na našem území se datují od roku 1831, kdy došlo k rozvoji pěstování cukrovky a zakládání cukrovarů. Skutečným průmyslem se stává cukrovarnictví až po roce 1850 a jeho úroveň významně ovlivnila řada technologických postupů a strojních zařízení, vyvinutých českými cukrovarníky. Dnešní světová výroba cukru dosahuje přes 135 milionů tun ročně, z toho je asi 25 % řepného a 75 % třtinového cukru (Kadlec, 2000).

Tabulka 3 Světová produkce a spotřeba cukru podle zemí

(Sugar Year Book 2008, ISO, 2009)

10 největších producentů – 2008			10 největších spotřebitelů – 2008 (2007)		
Poř.	Země	Výroba (mil. t)	Poř.	Země	Spotřeba (mil. t)
1	Brazílie	32,29	1	Indie	22,55 (20,88)
2	Indie	25,94	2	EU-27	20,47 (19,31)
3	EU-27	16,38	3	Čína	14,73 (13,82)
4	Čína	15,40	4	Brazílie	11,86 (12,47)
5	Thajsko	7,77	5	USA	9,81 (9,11)
6	USA	6,96	6	Rusko	6,18 (6,50)
7	Mexiko	5,94	7	Mexiko	5,03 (4,94)
8	Pákistán	5,00	8	Indonésie	4,61 (4,40)
9	Austrálie	4,62	9	Pákistán	4,54 (4,25)
10	Rusko	3,79	10	Egypt	2,70 (2,70)

Tabulka 4 Největší producenti cukru z třtiny a z řepy (2007)

(Sugar Year Book 2008, ISO, 2009)

10 největších producentů cukru ze třtiny			10 největších producentů cukru z řepy		
Poř.	Země	Výroba (mil. t)	Poř.	Země	Výroba (mil. t)
1	Brazílie	33,20	1	EU-27	18,19
2	Indie	29,09	2	USA	4,46
3	Čína	12,55	3	Rusko	3,40
4	Thajsko	7,15	4	Ukrajina	2,02
5	Mexiko	5,42	5	Turecko	1,92
6	Austrálie	4,63	6	Čína	1,35
7	Pákistán	4,34	7	Japonsko	0,70
8	USA	3,22	8	Egypt	0,68
9	Indonésie	2,81	9	Írán	0,65
10	Guatemala	2,36	10	Bělorusko	0,50

Cukr se vyrábí na poli a cukrovar ho pouze z řepy izoluje. Proto je technologie výroby stěžejním pro získání kvalitního cukerného krystalu.

3.2 Technologie výroby

Technologie cukrovarnického průmyslu slouží k průmyslové výrobě přírodních sladidel z cukrové řepy (*Beta vulgaris*) a cukrové třtiny (*Saccharum officinarum*). Vzhledem ke krátké době sklizně a omezené skladovatelnosti je cukrovarnictví průmyslem kampaňovým a jeho činnost je soustředěna do období pouhých 2,5 měsíců. Zpracování řepy má být provedeno pokud možno co nejrychleji s vyloučením dlouhého skladování. Denní ztráta cukernatosti při skladování je 0,035 % (Hrabě a kol., 2008). Pěstování cukrovky, její sklizeň, přejímka, skladování a následné zpracování představují proces, jehož úspěšné zvládnutí je možné jen při dobré organizaci a návaznosti jednotlivých dílčích etap. Cukrovka se přejímá podle cukernatosti, kterou hodnotí surovinové laboratoře závodu a po odečtení minerálních a rostlinných příměsí vypočítají předpokládané ztráty cukru ve vyrobené melase (Kadlec,

2000). Po přejímce se řepa ukládána na betonové plochy, odkud se plavícím kanálem dopraví do bubnové pračky. V prací lince jsou lapače kamene, odlučovače vody a příměsí, hřeblová a trysková pračka řepy. Z vyprané řepy se na řezačkách připraví řepné řízky, z nichž se extrakcí převede cukr z řepy do cukerného roztoku a vzniknou tak vyloužené cukerné řízky a difuzní šťáva (Bretschneider, 1980). K umrtvení buněčné protoplazmy dochází zahřátím na teplotu nad 60 °C. Extrakcí se získá asi 1/3 cukru ze šťávy, zbývající 2/3 cukru se získají difuzí. Při extrakci přechází z řepné šťávy i dřeně kromě sacharózy ještě další rozpustné látky (pektiny, bílkoviny, popeloviny), jejichž přechod do roztoku závisí na teplotě, pH a čase. Pektinové látky, které přejdou do šťávy, se obtížně odstraňují a způsobují vážné potíže při filtraci, krystalizaci a mohou přecházet až do melasy (Hrabě a kol., 2008).

Difuzní šťáva se musí nejprve vyčistit, což znamená, zbavit ji co největšího množství necukrů. Tento čistící proces se nazývá epurace, která kromě čištění difuzní šťávy zahrnuje i I. a II. saturaci a filtraci. Podle Bubníka 2006 jsou hlavním cílem epurace:

- a) odstranit maximální podíl rozpuštěných necukrů
- b) odstranit pevné látky přítomné ve šťávě
- c) neutralizovat a dezinfikovat surovou šťávu
- d) minimalizovat rozklad sacharózy
- e) získat šťávy s vysokou tepelnou odolností

Obecně se ustálil postup čištění surové šťávy pomocí vápenného mléka a oxidu uhličitého. Použití vápna se osvědčilo nejen pro svou speciální vhodnost, ale i pro relativně nízkou cenu. Přebytek vápna z roztoku se odstraňuje saturací oxidem uhličitým za tvorby sraženiny uhličitánu vápenatého, která slouží jako dobrý adsorpční a filtrační prostředek.

Difuzní šťáva se při teplotě 70-75 °C předčeří vápenným mlékem na hodnotu 0,20-0,30 % CaO. Potom se dočeří v dočeřiči na hodnotu 1,0-1,5 % CaO dle určení technologa. Při předčeření a dočeření surové šťávy se vápno přidává ve formě vápenného mléka. Přidané vápno otupí kyselou reakci surové šťávy a zastaví tvorbu invertního cukru. Dále strhává do tvořící se sraženiny části řepné dřeně, bakterie a jejich spory a dezinfikuje surovou šťávu (Bubník, 1998).

Po dočeření je šťáva zahřáta na teplotu 87-90 °C a saturována saturačním plynem na alkalitu 0,08-0,10 % CaO. Hlavním cílem první saturace je vysrážet krystalický uhličitán vápenatý, na jehož povrchu se následně adsorbují barevné látky, povrchově aktivní látky a další necukry. Krystalický uhličitán vápenatý rovněž urychluje filtraci šťávy. Mezi hlavní chemické reakce probíhající při I. saturaci patří reakce mezi hydroxidem vápenatým a kyselinou uhličitou, dále

rozpuštění plynného CO_2 v kapalně fázi, absorpce CO_2 , rozpuštění tuhého $\text{Ca}(\text{OH})_2$ a krystalizace CaCO_3 (Kadlec, 2000).

Po první saturaci je kal sedimentován na dekantérech a filtrován. Při filtraci dochází k oddělení suspendovaných hmot od roztoku filtrační přepážkou. Aby filtrace probíhala, musí být tlaky před filtrační přepážkou a za ní rozdílne. Průběhem filtrace se filtrační odpor zvyšuje. K překonání tohoto odporu je potřeba pracovat se zvýšeným tlakem. Filtrační zařízení je rozděleno na filtrační koláč s vlastním filtračním prostředím zachycujícím suspendované částice, kdežto porézní filtrační přepážka je pouze nosným prostředím pro filtrační koláč (Švejka, Janda, 1981). Filtrace probíhá na filtračních kalolisech. Jedná se o tlakové rámové filtry s membránovými deskami. První saturovaná šťáva se před první filtrací nemá zahřívat, protože vysoká teplota působí na kalolisech potíže: uvolňuje se pára a kal i šťáva přisychají na rámy kalolisů. Nevýhodou kalolisů je, že kal zůstává dlouho ve styku se šťávou, takže probíhají nežádoucí rozkladné reakce (Bretschneider, 1980). Sedimentací sraženiny saturované šťávy lze oddělit asi 80 % čiré šťávy, která se vede po zahřátí na II. saturaci. Úkolem druhé saturace je snížit obsah vápníku ve šťávě na minimum a dále zvýšit čistotu šťávy. Neodstraní-li se vápenaté soli, odparka se rychle inkrustuje. Při optimálním pH vzniká maximální množství CO_3^{2-} a vysráženého CaCO_3 tzn., že tvrdost šťávy je nejmenší a její čistota největší. Kal z II. saturace je následně odfiltrován (Kovařík, 1973).

Šťáva po II. saturaci obsahuje poměrně malé množství kalových částic, jedná se prakticky o chemicky čistý uhličitán vápenatý. K filtraci se používají zahušťovací filtry, nízkotlaké listové filtry – ced'áky, diskové filtry nebo naplavovací filtry. Vzhledem k jemné struktuře kalových částic, které snadno ucpávají póry filtrační plachetky, se používají pomocné filtrační prostředky, které pomáhají vytvořit příznivou strukturu kalového koláče. Kal po II. saturaci se v epurační lince vrací zpět na předčeření, kde slouží jako krystalizační zárodky pro koagulaci koloidně dispergovaných látek. Zfiltrovaná šťáva se nazývá lehkou šťávou, kterou je možno dále sít k potlačení nežádoucího zbarvení a změkčovat na ionexech, za účelem omezení tvorby vápenatých inkrustací na topných stěnách odparky. Lehká šťáva má sacharizaci 15-17 % hm., čistotu 90-93 % hm., pH 9,0-9,5 a světle žlutou barvu (Kadlec, 2000). Před samotnou odparkou a tvorbou krystalu je nutné lehkou šťávu upravit. Dochází proto k šíření s důsledkem zamezení zůstatku vápenatých solí a snížení alkality. Dále se přidává fosforečnan sodný, bránící vzniku inkrustací v odparce, dochází k změkčení lehké šťávy, magnetické úpravě a mnoho dalších.

Po předchozích úpravách se lehká šťáva zahušťuje na těžkou o sacharizaci 60-65 %, a poté se sváří v zničích na cukrovinu, což je směs sacharózy a matečného sirobu. Pro cukerné roztoky

je příznačné, že mohou tvořit přesycené roztoky, kdy za sníženého tlaku dochází k odpaření vody a krystalizaci sacharózy. Tím se získá cukrovina, neboli krystalizát, což je heterogenní směs krystalů a matečného sirobu. Vlastní krystalizační proces se skládá ze dvou fází: první je nukleace (vznik zárodků), na kterou navazuje vlastní růst krystalů. K oddělení krystalů od matečného sirobu slouží filtrační odstředivky (Kadlec, 2000). Dále putuje cukr na sváření, kde za sníženého tlaku dochází k odpaření vody a ke krystalizaci sacharózy. Další procesní fází je sušení a chlazení. Čerstvě usušený cukr obsahuje vázanou vlhkost, která se pozvolna z cukru uvolňuje. Z tohoto důvodu se provádí tzv. stabilizace cukru. S ohledem na sezónní výrobu cukru a zajištění rovnoměrného zásobování spotřebitelského i průmyslového trhu po celý rok, je nutné zajistit správné skladování finálního produktu.

Podle Bretschneidera (1980) nastávají problémy v technologii při zpracování narušené řepy, ať namrzlé, alterované, nebo dlouho skladované. V takto poničené cukrové řepě vznikají koloidně dispergované látky, které přechází do difuzní šťávy, a proto se musí při vyluhování na difuzním zařízení volit optimální pracovní podmínky. Pro vyluhování se volí tlustší řízky a pracuje se při nižší teplotě, aby se omezilo odbourávání řepné tkáně. K dosažení potřebného vyloužení se zvyšuje odtah a tím se získá méně viskózní šťáva, která se lépe čistí i filtruje. Tato šťáva obsahuje mnoho invertního cukru a necukrů, které se účinkem vápenného mléka při vyšší teplotě rozkládají a způsobují vznik těžko filtrovatelný kal po saturaci. Proto se šťáva zředuje již při vyluhování, aby se snížila její viskozita.

Problémy spojené s filtrací má na svědomí růst bakterií rodu *Leuconostoc*. Jedná se o slizotvorné bakterie produkující polysacharidy, a to dextransy, které jsou produktem bakterií *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc dextranicum*, aj. Ty přispívají ke zhoršení posklizňové kvality. K mikrobiální kontaminaci jsou náchylné zejména namrzlé, poraněné, nebo dlouho uskladněné řepy, kdy dochází k odbourání pektinů a arabanů a tvorbě dextranů a levanů. Tyto bakterie jsou schopny konvertovat sacharózu do zmíněných nerozpustných dextranů, které přispívají k ucpaní filtrů, potrubí a nádrží. Tvorbou dextranu dochází k problémům ztráty sacharózy, případně její špatné využitelnosti a zvyšují viskozitu procesních sirupů, čímž inhibují krystalizační proces (Bubník, 2006).

3.3 Dextran

Dextran byl objeven v roce 1874 německo-polským průmyslníkem Karlem Wilhelmem Scheiblerem. Stalo se to při pozorování záhadného zhušťování šťávy z cukrové řepy a cukrové třtiny. Bylo zjištěno, že toto zhušťování způsobuje látka s empirickým vzorcem ($C_6H_{10}O_6$), která má pozitivní optickou rotaci. V roce 1861 Pasteur dokázal, že byl tento sliz

mikrobiologického původu a následně tuto bakterii pojmenoval *Leuconostoc mesenteroides* (Scheibler, 1874).

Hlavním důvodem zhoršení cukrové řepy je infekce produkovaná právě tímto mikroorganismem, hlavně pokud převládají teplé a vlhké podmínky prostředí. *Leuconostoc mesenteroides* produkuje dextrany a další látky, které mají specifické vlastnosti a mohou narušit zpracování cukrové řepy. Namrzlá či poraněná cukrová řepa je na tuto mikrobiální infekci více citlivá. Rychlejší infekce je ovlivněna následným teplým počasím.

Dextrany jsou polydisperzní polysacharidy s lineární strukturou. Zahrnují z 95 % glukózové jednotky spojené (1 → 6) glykosidovými vazbami a z 5 % větvení (1 → 4), (1 → 3) a někdy i (1 → 2) vazby (Khaliková, 2005). Bylo zjištěno, že stupeň větvení lze snížit parciální kyselou hydrolyzou. Účinek však není nijak dramatický. Přesná struktura každého dextransu totiž závisí na konkrétní produkci mikrobiálního kmene, který se na ní podílí (Lindberg, Svensson, 1907).

Tvorba dextransu ovlivňuje negativně krystalizaci uhličitanu vápenatého během zpracování. To má za následek tvorbu menších částic uhličitanu vápenatého, které ucpávají filtry po II. saturaci. Proto dochází ke snížení zpracování cukrové řepy. Vysoká koncentrace dextransu vede ke zvýšení viskozity, která způsobuje problém v krystalizaci cukru. Nicméně tento problém více převládá u zpracování cukrové třtiny.

Dextrany mohou být zodpovědné za problémy při zpracování cukru a mají velký vliv na jeho výslednou kvalitu. Mohou být vytvořeny různými mikroorganismy, a proto se nejedná o dobře definované látky se specifickými vlastnostmi. Dle Edye a kol. (1995) jsou dextrany v cukrovarnickém průmyslu převážně lineární, větví se pouze dextrany s nízkou molekulovou hmotností. Dextrany se ve zpracování cukru vyskytují v důsledku zpoždění zpracování a zřídka jako důsledek špatné výrobní hygieny.

Sahadeo (1998) prokázal, že přítomnost těchto polysacharidů v melase vedla ke zvýšení viskozity a čistoty. Enzymatická hydrolyza dextransu se provádí pomocí enzymu dextransázy, která štěpí polysacharid na menší oligosacharidy. Lze očekávat, že použití dextransázy se sníží přítomnost dextransu, což vede ke snížení viskozity a pravděpodobně lepšímu zpracování. Nicméně, s jeho tvorbou jsou spojeny i vedlejší produkty, jako kyselina octová, kyselina mléčná, ethanol, mannitol a oxid uhličitý, stejně jako několik oligosacharidů.

Aplikace dextransázy v cukrovarnickém průmyslu byl navrhnout Tilbury (1969, 1971) a Fulcher a Inkerman (1974). Jednalo se o degradaci dextransů do menších molekul, které nezpůsobovaly problémy ve zpracování. Inkerman byl průkopník v použití dextransázy v australském průmyslu a publikoval vynikající výzkum jeho uplatňování v Austrálii

(Inkerman, 1980). Použití dextranázy se stala rutinním a životaschopným postupem australských cukrovarů během období zpracování zhoršené třtiny.

Ekonomická aplikace je závislá na dostupnosti vhodných enzymů, množství dextranu na řepné bulvě, závislosti na čase, teplotě a koncentraci enzymu. Tento proces se nedoporučuje pro všeobecné použití, vzhledem k vysokým nákladům za enzymy. Lepší je se zaměřit na případné zavedení efektivní sklizňové techniky (Atkins a McCowage, 1984).

Konvenční technologie zpracování jsou obvykle neúčinné, pokud jde o odstranění dextranu. V případě, kdy jsou zvýšené koncentrace dextranu nevyhnutelné, je technicky možné některé z nepříznivých účinků ve zpracování a zlepšení kvality zmírnit pomocí již zmiňovaného enzymu dextranázy.

3.4 Enzymy

Hlavní součástí řepné šťávy jsou 3 základní složky: voda, sacharóza a necukry. Necukry se dále rozdělují na dusíkaté, bezdusíkaté, barevné látky a anorganické cukry. Pro tuto práci jsou prioritní necukry dusíkaté a to zejména enzymy. Podle Bretschneidera (1980) jsou enzymy makromolekulární bílkovinné katalyzátory reakcí probíhajících v živém organismu cukrovky. Studium těchto enzymů má značný význam pro vymezení optimálních podmínek při dlouhodobém uložení řepy. Jak již bylo zmíněno, na odstranění dextranů je komerčně hojně využíván enzym dextranáza, který je ale velice finančně nákladný. Proto jsou analyzovány i jiné alternativy k odstranění těchto polysacharidů, jako např. α amyláza, která též patří do skupiny hydroláz, ale prioritně se používá ke štěpení škrobu.

3.4.1 Amyláza

Amyláza je enzym, který zajišťuje štěpení škrobu na jednodušší sacharidy. Patří mezi hydrolázy a je první enzym, který byl nalezen a poprvé izolován pod jménem *diastáza* Anselmem Payenem roku 1833. Existují tři typy amylázy: α -amyláza, β -amyláza a γ -amyláza. Obecně je tento enzym přítomen ve slinách člověka a některých jiných savců, kde začíná chemický proces trávení. Potraviny, které obsahují velké množství škrobu, ale jen málo cukru, jako je rýže a brambory, mohou získat lehce nasládlou chuť, protože žvýkáním amylázy jsou přeměněny některé jejich části škrobu na cukr.

Enzym α -amyláza (α -1,4-glukan-4-glukan - hydroláza) hydrolyzuje α -1,4 glykosidovou vazbu. Jeho optimální pH je v rozmezí od 7,0-7,2. V organismu se vyskytuje ve dvou formách, jako slinný (S-typ, S-AMS) a pankreatický (P-typ, P-AMS) izoenzym (Kocna, 2004). Molekulová hmotnost α -amylázy je 55,000. Při stanovení jak hmotnostní koncentrace, tak katalytické aktivity enzymu je nutno zvažovat přítomnost inhibitorů v séru a vznik

makroforem enzymů. Běžně používané stanovení aktivity α -amylázy je založeno na štěpení chromogenního substrátu. Její aktivita spočívá v katalýze vnitřních α -1,4 glykosidových vazeb škrobu a obdobných polysacharidů za vzniku dextrinů a posléze maltózy. Současné syntetické substráty jsou odvozeny od maltózy a jako chromogen je nejčastěji používán 4-nitrofenylfosfát. Stanovení izoenzymů α -amylázy je umožněno inhibicí jednoho z obou izoenzymů specifickou monoklonální protilátkou (Quarino a kol., 2005). Makroformu α -amylázy lze stanovit gelovou filtrací, elektroforeticky, precipitací s PEG, nebo ELISA technikou. Kvantitativní stanovení poměru makroformy enzymu je nejpřesnější s použitím gelové chromatografie na Sephadexu G-100 a stanovením aktivity α -amylázy v jednotlivých frakcích enzymaticky standardním postupem s 4-nitrofenylfosfát blokovaným maltoheptaosidem (Ventrucci a kol., 1999). Důležitým aspektem pro průkaz makroamylázového komplexu je nestabilita komplexu s imunoglobuliny. Při zmrazení a rozmrazení séra dochází k disociaci komplexů, proto je potřebné prokazovat makroamylázu v čerstvě odebraném vzorku séra (Lawson, 2001).

3.4.2 Dextranáza

Nárůst bakterií *Leuconostoc* a *Lactobacillus spp.* je nejdůležitějším faktorem přispívajícím k posklizňovému zhoršení třtinového cukru a mrazem poškozeného řepného cukru (Brown a kol., 1992). Problémy způsobené dextranem, obsaženém v surovém cukru, zahrnují ztráty sacharózy, zvýšenou viskozitu procesních sirupů a špatnou obnovu sacharózy v důsledku inhibice krystalizace. Dextranázy jsou používány v různých analytických metodách pro měření glukanu obsaženého v cukerných šťávách a na surový cukr (Brucke a kol., 2001). Jedním z hlavních průmyslových aplikací dextranázy je snížení komplikací ve výrobních procesech cukru. Třtinový dextran izolovaný z rozkladných třtinových šťáv a surového cukru má průměrnou molekulovou hmotnost 5000 kDa a je polydisperzní od přírody. Dextrany izolované z různých cukrových produktů mají velmi podobnou strukturu, 95 % α -1,6 vazeb a 5 % větvení, pravděpodobně přes α -1,3 vazby. Většina metod používá k odstranění dextranu z cukerných roztoků enzymatickou hydrolyzu. Dextranázy snižují molekulové hmotnosti a tím i viskozitu šťávy (Cuddihy, 1999). Ochranné známky, jako je Novo dextranázy *Purpureocillium lilacinum* (Dánsko) a dextranáza Hutten DL-2 z *Chaetomium gracile* (Japonsko) byly úspěšně použity při čištění dextranem kontaminované výroby cukru. Dokonce i na relativně nízké úrovni dextranu v surové šťávě (tj, 75 mg/l) rychlost filtrace výrazně poklesla. Dávka 10 ppm dextranázy NOVO 50 L enzymů do extrakce je dostatečná pro obnovení zpracovávané kapacity (Bruijn, 2000). Glukodextranázy hydrolyzují jen dextran a lineární isomaltosacharidy, ale ne cykloisomaltoligosacharidy. Současně snižuje

i viskozitu. Komerčně dostupná glukodextranáza je drahá, protože je izolována z *Arthrobacter globiformis* a její odloučení od endodextrinázy vyrobené stejnými bakteriálními druhy je náročné. Proto snaha vyrobit rekombinantní glukodextrinázy stále probíhají (Inkerman, 1977).

V průběhu let byly charakteristiky dextrinázy vylepšeny, zejména pokud jde o teplotní stabilitu. Nicméně, dextrinázy jsou obecně mnohem méně tolerantní k typickému zpracování, než jsou známější amylázy používané pro odstranění škrobu. Aktivní enzymy nejsou snadno dostupné a jsou obvykle výrazně dražší než amylázy. Komerčně dostupné dextrinázy reagují náhodně štěpením 1, 6 vazby, a tak počáteční produkty jsou menší dextrany, následované oligosacharidy, disacharidy a monosacharidy. Inkerman a James (1976) prokázali, že je nezbytné degradovat dextrany na menší dextrany, aby se zlepšila zpracovatelnost. Problém v cukrovarnickém průmyslu je dostupnost komerčních dextrináz. Vzhledem k tomu, že se jedná o sporadický problém, tj. nedochází k němu v každé řepné kampani, je na trhu dextrináza zastoupena pouze v malém množství. Nicméně, i nevyužitá dextrináza z jedné kampaně může být při správném skladování použita i v následujících kampaních. Účinnost dextrinázy je ve výrobním procesu závislá na hodnotě pH, Brixech, teplotě, retenčním čase (Rt), množství vzniklého dextranu, činnosti a aplikací dextrinázy (Chavan, 2001).

4 Materiál a metody

Cílem práce je posoudit účinky enzymů na kvalitu (filtrovatelnost) II. saturované šťávy, aplikovaných na zpracované bulvy cukrové řepy. Proto probíhala sledování a měření v cukrovaru Tereos TTD Dobrovice. Cukrová řepa je velice citlivá plodina náchylná k tvorbě infekcí produkovaných mikroorganismem *Leuconostoc mesenteroides*. Vznikem infekce dochází k tvorbě polysacharidů zhoršujících krystalizaci uhličitanu vápenatého při II. saturaci. Tím se omezuje průchodnost šťáv filtry, což má za následek snížení provozní kapacity, nebo časté proplachování filtrů ve filtračních zařízeních. K odstranění těchto problémů je využita enzymatická hydrolyza. Ta štěpí polysacharid dextran, vzniklý infekcí, na menší oligosacharidy, které se nezachytí ve filtračním zařízení a nezpůsobí tak snížení výrobní kapacity. Komerčně dostupná dextrináza je ale finančně nákladná, proto probíhají výzkumy k nalezení ekonomičtějších řešení.

Veškeré postupy pro stanovení dextranu v extrahovaných šťávách byly popsány v cukrovarem zakoupené metodě ICUMSA GS8-19 z roku 2009. Tato metoda probíhala za účelem vyhodnocení faktorů, které buď pozitivně, nebo negativně ovlivňují krystalizaci uhličitanu vápenatého při II. saturaci. Do výzkumu byly zařazeny 3 šťávy: difuzní, těžká a II. saturovaná

šťáva, ve kterých bylo stanovováno množství dextransu, pH, alkalita, filtrační a sedimentační koeficient, polarizace a sacharizace. Všechny analyzované šťávy byly odebírány v časovém intervalu 30 minut na vyznačených odběrných místech stanovených cukrovarem. Každou odebranou šťávu bylo nutné před analýzou upravit buď přefiltrováním, zředěním na metodou stanovenou koncentrací, či zchlazením na pokojovou teplotu. Každému jednotlivému stanovení předcházela i příprava roztoků a směsí, které se následně do analyzovaného vzorku přidávají, jako například kyselina trichloroctová (TCA), křemelina, či bezvodý líh.

Pro sledování účinků používaných enzymů jsme v roce 2014 zavedli v provozní laboratoři cukrovaru stanovení filtračního koeficientu u I. saturované šťávy. Vyzkoušeli jsme i stanovení této veličiny u II. saturované šťávy a ověřili jsme, že metodika pro II. saturovanou šťávu je nevhodná. Proto jsme v kampani 2015 zvolili pro sledování filtračních vlastností jen filtrační koeficient u I. saturované šťávy. Následně jsme v kampani 2015/16 měřili i alkalitu, pH, polarizaci, sacharizaci a čistotu.

Mezi těmito naměřenými hodnotami jsme následně hledali statistické korelace pro získání závislostí ovlivňující tento technologický problém. Dalším faktorem ovlivňujícím filtrovatelnost šťáv byl i přídavek enzymů, jejichž název, množství, čas dávkování, rok výroby a celkový obsah byl po celou dobu kampaně pečlivě zaznamenáván vedoucím výroby. U dávkovaných enzymů jsme následně hodnotili vliv rozkladu dextransů související s průchodností filtrů.

4.1 Pracovní postup při stanovení dextransu

Pro stanovení dextransu byla použita metoda, která měří zákal způsobený polysacharidy po přidání alkoholu do šťávy pomocí spektrofotometru při vlnové délce 720 nm. Pro námi zvolené stanovení dextransu byla použita metoda ICUMSA GS8-19 z roku 2009.

4.2 Pomůcky a chemikálie

- Kyselina trichloroctová (TCA)
- Standard dextransu T500 Pharmacosmos
- Čistý ethanol
- Křemelina
- Spektrofotometr
- Vodní lázeň
- Třepačka
- Analytické váhy
- Stopky

- Odměrné baňky 100 ml, 25 ml
- Pipety
- Nálevka
- Filtrační aparatura
- Kádinka
- Filtrační papír Whatman Grade 5

4.3 Dílčí přídávky

1. Standardní roztok dextransu
2. Roztok kyseliny trichloroctové (TCA)
3. Čistý denaturovaný alkohol
4. Křemelina
5. Šťáva

4.3.1 Příprava standardního roztoku dextransu

Nejprve bylo nutné stanovit obsah vody v dodaném standardu dextransu. Předsušená miska se při 105 °C po dobu 1 hodiny umístila do exikátoru na minimálně ½ hodiny a po této době se zvažila na 4 desetinná místa. Váha se poté vynulovala a na misku se navázily přibližně 2 g dextransu. Navážka se zapsala opět na 4 desetinná místa. Dextrans se následně sušil při 105 °C po dobu 3 hodin a poté se miska s dextransem umístila opět do exikátoru a po ½ hodině se zvažila na 4 desetinná místa. Množství vody je následně důležité pro skutečnou navážku nesusušeného dextransu. Tato navážka (N) se vypočítá ze vztahu $N = \frac{0,4 \times 100}{100 - w_v}$, kdy w_v označuje množství vody v dextransu.

Na analytických vahách se rychle navázilo předchozí zjištěné množství nesusušeného bezvodého dextransu s přesností 0,1 mg. Ten se zakápnul 2-4 ml destilované vody pro vytvoření suspenze. Částice suspenze se nechali po dobu 10 minut a občasně promíchání nasáknout vodou. Po uplynulé době se postupně přilévala destilovaná voda, dokud se suspenze nerozpustila. Po přidání asi 50 ml destilované vody se suspenze kvantitativně přelila do 200 ml odměrné baňky a doplnila na objem alespoň 100 ml. Baňka se umístila na 30 minut do lázně s vroucí vodou. Po uplynuté době se baňka zchladila na pokojovou teplotu ve vodní lázni a poté doplnila po rysku destilovanou vodou.

4.3.2 Roztok kyseliny trichlóroctové

Kyselina trichlóroctová se v množství $20 \pm 0,1$ g rozpustila v destilované vodě a poté převedla do 200 ml odměrné baňky. Roztok se poté doplnil po rysku destilovanou vodou. Toto činidlo lze uchovávat po dobu 2 týdnů v tmavé láhvi v lednici.

4.3.3 Čistý denaturovaný alkohol

Čistý ethanol s $2,0 \pm 0,2$ % m/m methanolu s obsahem vody nižším než 0,5 % m/m. V případě viditelných drobných částic je nutné ethanol přefiltrovat přes filtrační papír. Poté ho lze uchovávat ve vzduchotěsné nádobě.

4.3.4 Křemelina

Křemeliny Celite Hydlo Super Cel®, distributor VWR International GmbH, se v množství 50 ± 5 g přidal do 1 litru destilované vody a zalil 50 ± 5 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové. Tento roztok se 5 minut promíchával a následně přefiltroval pomocí velké Büchnerovy nálevky. Křemelina se promývala destilovanou vodou, dokud se kyselina nevypláchne. Přítomnost kyseliny lze otestovat pomocí lakmusového papírku. Propraná křemelina se sušila po dobu 6 hodin při teplotě $96-100$ °C a poté uchovávala ve vzduchotěsné nádobě.

4.4 Příprava šťáv

Pro stanovení dextranu v této práci byly použity 3 šťávy (difuzní, těžká a II. saturovaná šťáva) odebrané v 30 minutovém časovém intervalu na předem určených místech v provozu dobrovického cukrovaru. Abychom eliminovali stopy dužiny, bylo nutné difuzní šťávu přepasírovat přes jemné sítko. Těžká šťáva byla nutná naředit v poměru 1:5 s destilovanou vodou a II. saturovaná šťáva se před stanovením filtrovala přes filtrační papír.

4.5 Příprava kalibračních roztoků

Pro každou šťávu bylo nutné vytvořit vlastní kalibrační křivku.

Použité šťávy se po výše zmíněných úpravách museli vytemperovat na pokojovou teplotu. Poté se do šesti měřících 100 ml odměrných baněk přililo pomocí odměrného válce 50 ml šťáv, ke kterým se připipetoval předem připravený roztok kyseliny trichloroctové (TCA), standardní roztok dextranu a doplnil se destilovanou vodou dle Tabulky č. 5.

Tabulka 5 Zředěné standardní roztoky dextransu

Baňka č.	Neupravovaná šťáva [ml]	Roztok TCA [ml]	Standardní roztok dextransu c =2 mg/l [ml]	Destilovaná voda [ml]	Konc. dextransu v neupravované šťávě [mg/l]
1	50	10	0,0	40,0	0
2	50	10	2,5	37,5	25
3	50	10	5,0	35,0	50
4	50	10	10,0	30,0	75
5	50	10	15,0	25,0	100
6	50	10	0,0	40,0	Blank

Připravené roztoky se přelili do kádinek o objemu 150 ml. Následně se přidalo 6-8 g kyselinou prané křemeliny a dobře promíchalo. Takto připravená směs se přefiltrovala přes Bünchenovu nálevku s využitím filtračního papíru Whatman Grade 5 pod vakuovou odsávací. Prvních 10-15 ml filtrátu se použilo pro propláchnutí nálevky a baňky. Připravený filtrát se přepipetoval do dvou čistých a suchých 25 ml odměrných baněk v množství 12,5 ml. Do baňky obsahující přefiltrovaný blank roztok se přilila destilovaná voda po rysku a vše se dobře promíchalo. Toto je test blanku. Do ostatních baněk se pomalu pomocí byrety přilávalo 12,5 ml absolutního alkoholu a následně promíchalo jemným kroužením. Čas, po který se přilával alkohol, by měl být mezi 30-60 vteřinami. Protože se extinkce musí odečíst v přesném okamžiku po promíchání, je doporučeno, aby byl alkohol do standardních dextransů přidán ve stejných časových intervalech 3-4 minut. Obsah baňky se promíchal pomalým trojím otočením vzhůru. Od okamžiku přidání prvního množství alkoholu je nutné odměřit 20 minut pro následné měření na spektrofotometru. Po uplynutí 20 minut se měřil roztok ve dvou 5 cm kyvetách při vlnové délce 720 nm. Nejprve se kyveta naplnila blank roztokem a poté vzorkem, na který se spektrofotometr vynuloval. Pohledová strana kyvety se očistila hadříkem a zkontrolovala. Poté se změřily i zbylé roztoky, u nichž se zaznamenala korekce proti blanku. Skutečná koncentrace dextransu v každé z baněk se vypočítala dle Tabulky č. 5. Současně je nutné zohlednit obsah vody v dextransu a skutečnou zjištěnou hmotnost.

4.6 Stanovení dextranu ve šťávách

Šťávy se připravily stejným způsobem jako v návodu přípravy kalibračních roztoků. Odměřilo se pomocí odměrného válce 50 ml šťáv, které se převedli do 100 ml odměrných baněk. K odměřené šťávě se připipetovalo 10 ml připraveného roztoku kyseliny trichlóroctové (TCA) a doplnilo po rysku destilovanou vodou. Baňky se zazátkovaly a dobře promíchaly. Poté se obsah přelil do kádinek o objemu 150 ml a přidaly se 2 vrchovaté lžičky kyselinou prané křemeliny (6-8 g). Vše se dobře promíchalo a poté přefiltrovalo pod vakuovou odsávačkou přes filtrační papír Whatman Grade 5. Prvních 10-15 ml filtrátu se použilo k propláchnutí nálevky a baňky. Pomocí pipety se ze zbylého filtrátu převedlo 12,5 ml do dvou suchých a čistých 25 ml odměrných baněk. Baňky se ve vodní lázni ochladily na 20 °C. Do jedné baňky se pomalu a za stálého pomalého kroužení přiléval ke značce 25 ml absolutní alkohol. Alkohol se přiléval po stejných časových intervalech a od okamžiku přilítí prvního alkoholu se odečítal 20 minutový interval pro následné měření. Po nalití alkoholu se baňky promíchali pomalým trojím otočením vzhůru. Baňka se nesmí prudce protřepávat, to by mohlo způsobit koagulaci dextranového zákalu. Do druhé baňky se přilévala destilovaná voda po rysku. Tato baňka slouží jako blank roztok. Dvě minuty před uplynulým 20 minutovým intervalem se naplnila 5 cm kyveta blank roztokem, na který se při vlnové délce 720 nm odečte a poznamená korekce na měřený vzorek. Pohledová strana kyvety musí být čistá. Při měření je nutná i vizuální kontrola vzorku, v případě, že začne zákal koagulovat, je nutné analýzu zopakovat.

4.7 Polarizace

Týká se stanovení obsahu sacharózy v hmotnostních procentech pomocí polarimetru Saccharomat.

Na analytických vahách se navážilo $52 \pm 0,05$ g vzorku, převedlo kvantitativně do 200 ml odměrné baňky, přidalo se přibližně 10 ml octanu olovnatého, promíchalo a doplnilo v odměrné baňce po rysku destilovanou vodou a opět promíchalo. Pokud má roztok před doplněním pěnu, přidá se pár kapek dietyléteru. Takto připravený roztok se přefiltroval přes filtrační papír a filtrát aplikoval do polarimetru. Měřil se při vlnové délce 587 nm.

4.8 Sacharizace

Týká se stanovení hustoty při 20 °C pomocí refraktometru.

Do prostoru hranolu se kápnul vzorek, tak aby bylo oko hranolu zcela zakryto vzorkem o teplotě cca 20 °C. Vzorek se zakryl víčkem a měřil se index lomu, teplota a výsledná hodnota v Brixech.

4.9 Alkalita

Týká se stanovení obsahu CaO v předčeření, čeření a v saturaci, jako ukazatel průběhu čištění šťáv.

4.9.1 Měření alkality I. saturované šťávy

Odebral se vzorek šťávy, dobře se promíchal a nechal přefiltrovat přes papírový filtr. Poté se odměřilo 28 ml přefiltrované šťávy do bílé misky. Přidalo se pár kapek fenolftaleinu a titrovalo se 0,1 M HCl do odbarvení. Pro kontrolu se po prvním odbarvení dokápla kapka fenolftaleinu na okraj misky a po případném dalším zružovění se vzorek dotitroval. Koncentrace CaO v g/l se vypočítala dle vzorce $C = \frac{V_{HCl}}{10} [\text{g CaO/l}]$.

4.10 pH

Hodnota pH určuje záporně vzatý dekadický logaritmus aktivity oxoniových kationtů.

Do kádinky se nalilo cca 100 ml vzorku a poté se vložila elektroda pH metru, která se nesmí dotýkat stěn a dna kádinky. Po ustálení se odečetla hodnota pH na displeji pH metru.

4.11 Filtrační koeficient

Filtrační koeficient se určuje pomocí mikrofiltru. Je to dělená pipeta o obsahu 10 cm³, opatřená na konci filtrační hlavicí, do které se vkládá kotouček kvantitativního filtračního středně hustého papíru. Filtrační plocha je přesně 2 cm². Hlavice filtru se ponořila 1-2 cm hluboko do kalné saturované šťávy, jejíž homogenita je zajištěna míchadlem. Měřila se doba potřebná k filtraci šťávy mezi 0-2 cm³ a 4-6 cm³ pipety. Při filtraci se udržoval konstantní podtlak 53 kPa (400 torr). Filtrační koeficient se následně vypočítal dle vzorce $F_k = \frac{1}{2}(t_2 - t_1)$, kde t_1 určuje čas potřebný k filtraci šťávy v rozmezí 0-2 cm³ a t_2 určuje čas potřebný k filtraci šťávy v rozmezí 4-6 cm³ (Friml, Tichá, 1977).

4.12 Sedimentační koeficient

Stanovení se provádí v odměrném válci o objemu 1000 cm³ a průměru 60 mm. Na válci je nanášena 35 cm dlouhá stupnice, dělená po 1 cm. Počátek stupnice je nahoře a 35. dílek je v rovině dna válce. Válec se naplnil přesně do výše počátku stupnice šťávou z I. saturace, odebranou přímo ze saturačního zařízení. Šťáva se důkladně promíchala tyčinkou, na jejímž konci byla upevněna zátka. Po promíchání se suspenze nechala v klidu sedimentovat a na konci každé minuty se zaznamenala výška rozhraní mezi kalnou a čistou vrstvou. Z rozdílů příslušných hodnot se vypočítala rychlost pohybu rozhraní pro jednotlivé minutové intervaly v cm.min⁻¹. Jako sedimentační koeficient S_k se uvádí největší zjištěná hodnota. Zároveň se jako index minuta uvádí, ve které bylo maximální rychlosti dosaženo (Friml, Tichá, 1977).

5 Výsledky

5.1 Uspořádání provozního měření

Provozní měření jsme mohli zahájit po zvládnutí analytického stanovení dextranů. Přestože jsme měli obšírné poznatky z literatury, byla aplikace analytické metodiky náročná, a proto jsme koncentraci dextranů začali zjišťovat až od 22. listopadu 2015.

Dávkování enzymů řídil vedoucí výroby cukrovaru na základě zhodnocení průtoku šťávy II. saturací. Zhodnocení probíhalo na základě denního množství proplachu filtrů.

Ve dnech 4. a 5. 12. 2015 rozhodl vedoucí výroby, vzhledem ke zhoršujícímu se průtoku na filtraci po II. saturaci a kvalitě zpracovávané cukrovky, o zahájení dávkování dextranázy na řepu před řezačkami. Dávkování probíhalo za pomoci vysokotlakých rozstříkovačů a bylo ukončeno po spotřebování veškerého množství zakoupené dextranázy.

Na začátku ledna 2016 bylo patrné, že dochází znovu ke zhoršující se kvalitě zpracovávané cukrovky a proto bylo 3. ledna při potížích s průtokem šťávy na II. saturaci zahájeno dávkování α amylázy (obchodní název Brenalco).

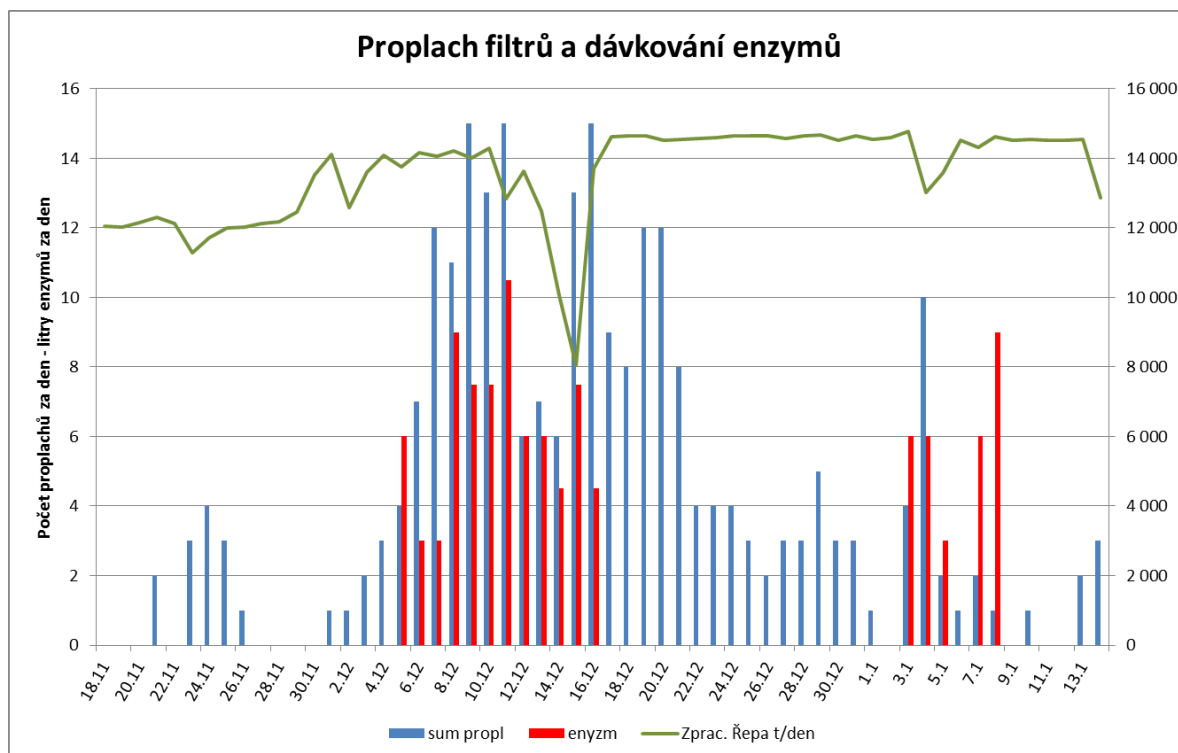
5.2 Výběr parametrů sledování procesu filtrace po II. saturaci

Pro stanovení dextranů byly doporučeny dle literatury 3 šťávy: difúzní, těžká a saturovaná. V difúzní šťávě jsme dextrany stanovit nemohli, protože se pro přípravu extrakční vody pro extraktory RT používají výpalky, nebo digestát z fermentace výpalků a pro extraktor BMA teplá voda. Není proto možné odebrat směsný vzorek difúzní šťávy a výpalky používané k extrakci rušily stanovení dextranů.

Nepodařilo se nám reprodukovatelně stanovit ani dextran v první saturované šťávě.

Proto jsme koncentraci dextranů stanovovali ve II. saturované šťávě.

Druhá saturovaná šťáva má velmi malý obsah kalu a stanovení filtračního koeficientu nebo objemu kalu nemá smysl. Proto jsme popis filtračních parametrů prováděli u I. saturované šťávy. Pro hodnocení filtračních vlastností šťávy jsme zvolili počet proplachování filtrů za den. O proplachování filtrů rozhodoval provozní technik tak, aby zachoval průtok šťávy potřebný ke zpracování normovaného množství zpracování cukrovky.



Obrázek 2 Proplach filtrů a dávkování enzymů

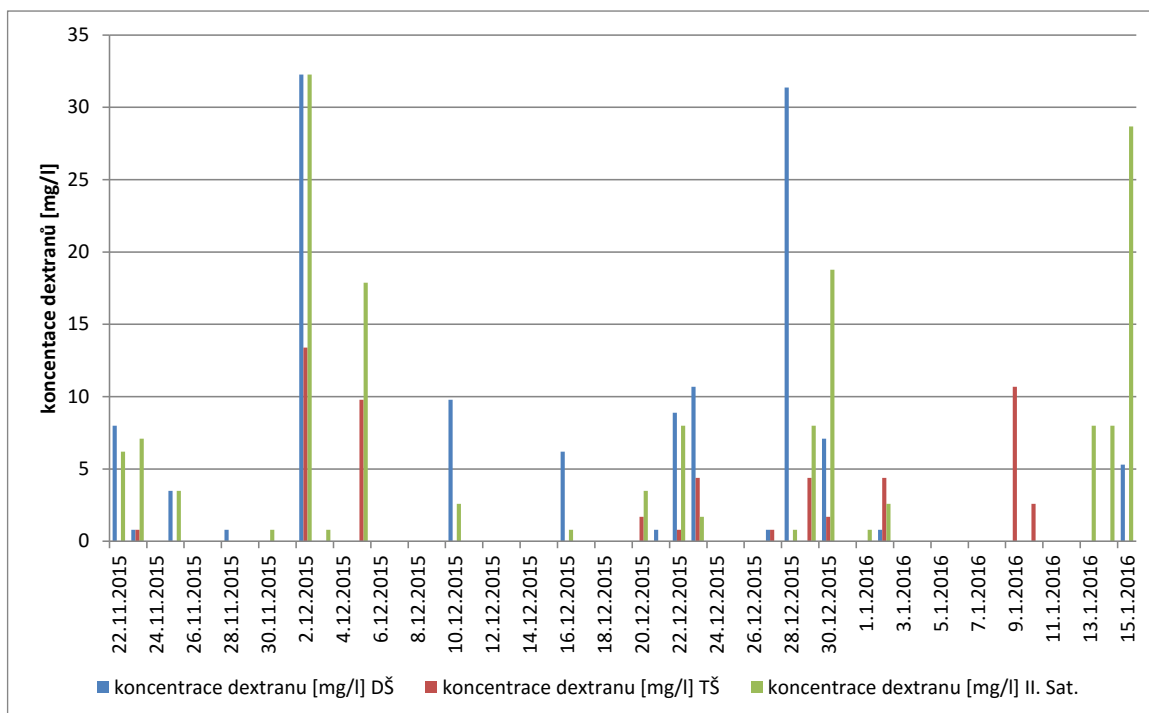
Grafické znázornění závislosti proplachů filtrů po II. saturaci, dávkování enzymů (dextranázy a α amylázy) a denního zpracování cukrovky. (K poklesu zpracování cukrovky ve dnech 15. a 16. 12. 2015 došlo při čištění potrubí a tělesa II. saturace).

5.3 Souhrn výsledků

Vzorky pro analýzu jsme odebírali v průběhu 30 minut na oficiálních vzorkovacích místech v provozu cukrovaru Tereos TTD Dobruška. Po odebrání byly vzorky přemístěny do provozní laboratoře cukrovaru pro následnou analýzu. V následujícím grafu a tabulce jsou zaznamenány koncentrace dextransu v jednotlivých odebraných šťávách. Z 25 odebraných vzorků byl dextrans v difuzní šťávě prokázán 15x, v těžké šťávě 12x a v II. saturované šťávě 20x. Maximální koncentrace dextransu nastala dne 2. 12. 2015 u všech třech analyzovaných šťáv a to u difuzní a II. saturované v maximu 32,26576 a u těžké šťávy 13,38382. Po této analýze jsme se rozhodli pro následující vyhodnocení využít výsledků naměřené II. saturované šťávy, která prokázala nejvyšší citlivost k přítomnosti polysacharidu dextransu s jeho vysokou koncentrací ve vzorku.

Tabulka 6 Koncentrace dextranů v analyzovaných vzorcích a filtrační koeficient (Fk) v I. saturované šťávě

Datum	Koncentrace dextranu [mg/l]			Vlastnosti šťávy
	DŠ	TŠ	II. saturovaná šťáva	FK
22. 11. 2015	7,98898	0	6,1907	
23. 11. 2015	0,79586	0,79586	7,08984	
25. 11. 2015	3,49328	0	3,49328	
28. 11. 2015	0,79586	0	0	
30. 11. 2015	0	0	0,79586	
2. 12. 2015	32,26576	13,38382	32,26576	4,4
3. 12. 2015	0	0	0,79586	5,8
5. 12. 2015	0	9,78726	17,87952	6,2435
10. 12. 2015	9,78726	0	2,59414	6,9575
16. 12. 2015	6,1907	0	0,79586	7,958
20. 12. 2015	0	1,695	3,49328	4,094
21. 12. 2015	0,79586	0	0	3,757
22. 12. 2015	8,88812	0,79586	7,98898	8,793
23. 12. 2015	10,6864	4,39242	1,695	6,2035
27. 12. 2015	0,79586	0,79586	0	5,6315
28. 12. 2015	31,36662	0	0,79586	7,1505
29. 12. 2015	0	4,39242	7,98898	3,938
30. 12. 2015	7,08984	1,695	18,77866	6,065
1. 1. 2016	0	0	0,79586	5,98
2. 1. 2016	0,79586	4,39242	2,59414	9,555
9. 1. 2016	0	10,6864	0	5,14
10. 1. 2016	0	2,59414	0	29,29
13. 1. 2016	0	0	7,98898	8,92
14. 1. 2016	0	0	7,98898	4,0185
15. 1. 2016	5,29156	0	28,6692	8,883



Obrázek 3 Koncentrace dextransu ve stanovených šťávách

Grafické znázornění výsledků stanovení koncentrace dextransu ve třech analyzovaných šťávách: difuzní, těžké a II. saturované

Tabulka 7 Korelace koncentrace dextransu v difuzní, těžké a II. saturované šťávě

	DŠ	TŠ	II. Sat.
DŠ	1		
TŠ	0,278301	1	
II. Sat.	0,385269	0,442993	1

5.4 Vyjádření vztahů mezi naměřenými hodnotami

Tabulka 8 Popisná statistika dextransu ve II. saturované šťávě

Dextran ve II. saturované šťávě	
Stř. hodnota	7,056668
Chyba stř. hodnoty	1,272661765
Medián	2,59414
Modus	2,59414
Směr. Odchylka	8,537274659
Rozptyl výběru	72,88505861
Špičatost	0,831089938
Šikmost	1,354421131
Minimum	0
Maximum	32,26576
Počet	25
Největší (1)	32,26576
Nejmenší (1)	0
Hladina spolehlivosti (95,0 %)	2,564881255

Tabulka 9 Popisná statistika filtračního koeficientu v I. saturované šťávě

Filtrační koeficient I. saturované šťávy	
Stř. hodnota	8,355533
Chyba stř. hodnoty	0,881551
Medián	6,9575
Modus	9,555
Směr. Odchylka	5,913623
Rozptyl výběru	34,97094
Špičatost	9,11509
Šikmost	3,083594
Minimum	3,757
Maximum	29,29
Počet	20
Největší (1)	29,29
Nejmenší (1)	3,757
Hladina spolehlivosti (95,0 %)	1,776649

Tabulka 10 Korelace mezi koncentrací dextranů v II. saturované šťávě s Fk I. saturované šťávy

	Dextran v II. sat. šťávě	FK I. sat. šťávy
Dextran v II. sat. šťávě	1	
FK I. sat. šťávy	-0,147166054	1

Z vyhodnocené korelace mezi koncentrací dextranů ve II. saturované šťávě a filtračním koeficientem I. saturované šťávy není patrná žádná závislost. Množství dextranů v II. saturované šťávě nám tedy neovlivňuje laboratorně měřený filtrační koeficient.

Nízkou korelaci mezi obsahem dextranu a filtračním koeficientem je možné hledat v možnosti, že dextrany nebo jiné metabolity přímo zalepují filtrační plachetky.

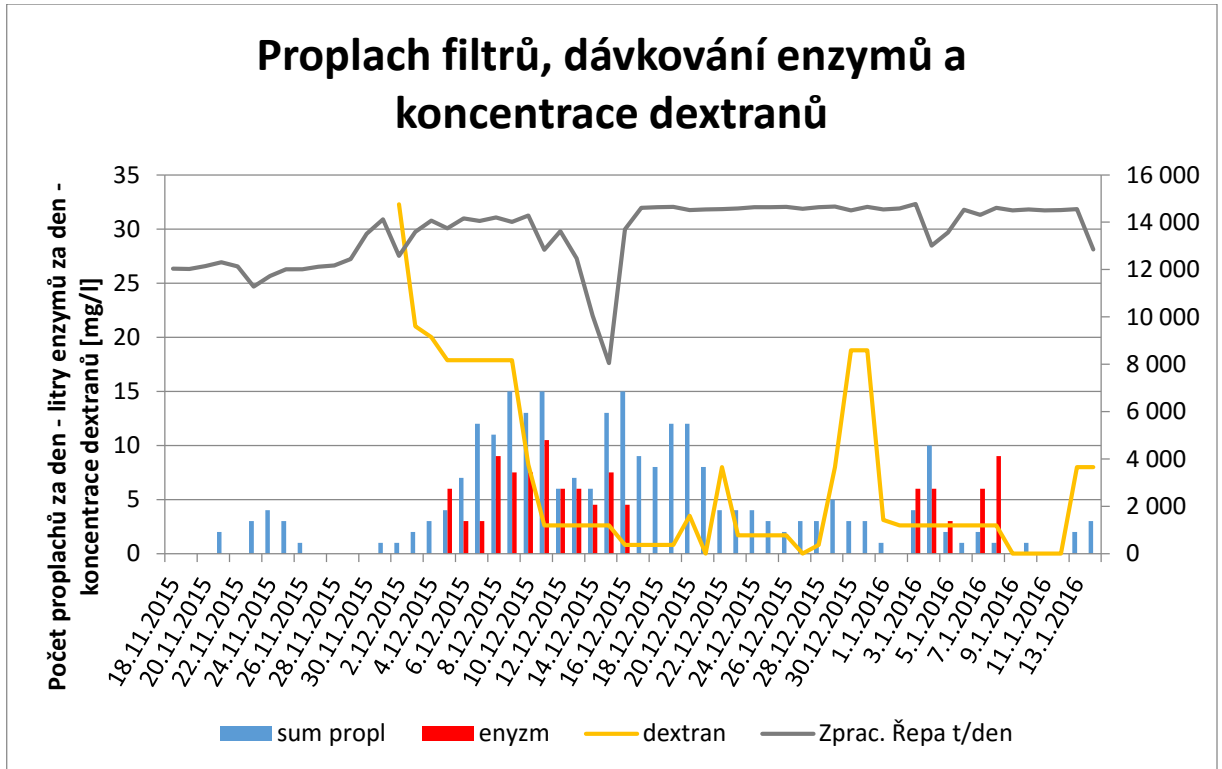
Tabulka 11 Filtrační koeficient I. saturované šťávy a suma proplachů filtrů

Datum	Fk	Suma proplachů
2.12	4,4	1
3.12	4,4	2
4.12	4,4	3
5.12	6,2435	4
10.12	6,9575	13
16.12	7,958	15
20.12	4,094	12
21.12	3,757	8
22.12	8,793	4
23.12	6,2035	4
27.12	5,6315	3
28.12	7,1505	3
29.12	3,938	5
30.12	6,065	3
1.1	5,98	1
2.1	9,555	0
9.1	5,14	0
10.1	29,29	1
13.1	8,92	2
14.1	4,0185	3

Tabulka 12 Korelace Fk I. saturované šťávy se sumou proplachů filtrů za den

	Fk	suma proplachů
Fk	1	
suma proplachů	-0,17705	1

Korelace filtračního koeficientu I. saturované šťávy se sumou proplachů filtrů II. saturované šťávy za den nebyla prokázána. Nelze tedy tvrdit, že v případě nadáleho měření filtračního koeficientu určíme postupné zanesení filtrů a jeho následné proplachování.



Obrázek 4 Proplach filtrů za den, dávkování enzymů a koncentrace dextranů

Grafické znázornění proplachů filtrů po II. saturaci za den, dávkování enzymů, koncentrace dextranů [mg/l] a množství zpracované řepy za den

Z tohoto grafu je patrné, že množství denního proplachu filtrů souvisí s množstvím dávkovaných enzymů. Při začátku aplikace enzymů se množství proplachů filtrů za den po II. saturaci zvýšilo. Je tedy patrná spojitost mezi těmito naměřenými veličinami.

Tabulka 13 Dávkování enzymů a náklady

Ceny enzymů	Dextranáza [Kč/l]	2 486		α amyláza [Kč/l]	548
-------------	-------------------	-------	--	-------------------------	-----

Datum	Dextranáza [l/den]	Náklady [Kč/den]	Náklady celkem	α amyláza [l/den]	Náklady [Kč/den]	Náklady celkem
5. 12. 2015	6	14 916	14 916			
6. 12. 2015	3	7 458	22 374			
7. 12. 2015	3	7 458	29 832			
8. 12. 2015	9	22 374	52 206			
9. 12. 2015	7,5	18 645	70 851			
10. 12. 2015	7,5	18 645	89 496			
11. 12. 2015	10,5	26 103	115 599			
12. 12. 2015	6	14 916	130 515			
13. 12. 2015	6	14 916	145 431			
14. 12. 2015	4,5	11 187	156 618			
15. 12. 2015	7,5	18 645	175 263			
16. 12. 2015	4,5	11 187	186 450			
3. 1. 2016				6	3 288	3 288
4. 1. 2016				6	3 288	6 576
5. 1. 2016				3	1 644	8 220
6. 1. 2016					0	8 220
7. 1. 2016				6	3 288	11 508
8. 1. 2016				9	4 932	16 440

Před zahájením kampaně byla vypracovaná tabulka pro záznam názvu a množství enzymů aplikovaných na bulvy cukrové řepy. Po poskytnutí prodejní ceny enzymů obchodním oddělením cukrovaru byla vypracovaná tabulka, z které je patrné množství zpracovaného enzymu s jeho finanční náročností. Během kampaně 2015/16 byla z větší části využita zakoupená dextranáza. Spotřebovalo se jí 75 litrů za celkem 186 450 Kč. Amylázy se spotřebovala jen 30 litrů za 16 440 Kč. Celkové výdaje za spotřebované enzymy v letošní kampani vyšly na 202 890 Kč. Kdyby se dextranáza nahradila levnější α amylázou, cukrovar

by na této kampani ušetřil 145 350 Kč, jelikož cena α amylázy by při spotřebě 105 litrů enzymů činila 57 540 Kč.

6 Diskuze

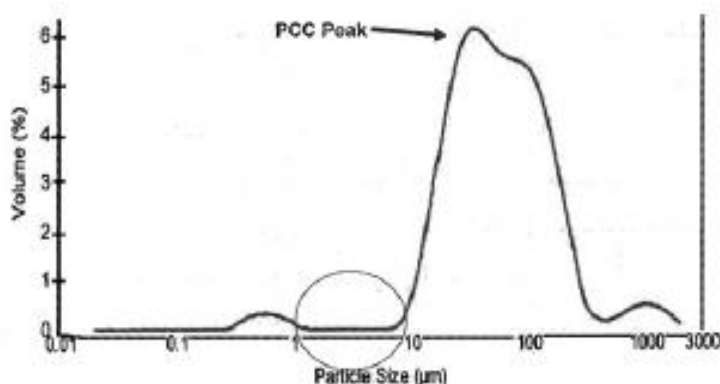
Poprvé byla dextranáza v cukrovarech Dobrovice a České Meziříčí použita v kampani 2013-14. Vedení společnosti se rozhodlo podle zkušeností cukrovarů firmy Agrana objednat dextranázu a vyzkoušet její účinky při zpracování dlouhodobě skladované cukrovky. Prokázalo se, že použití dextranázy při potížích s filtrací po II. saturaci, vedlo ke zlepšení filtračních vlastností a bylo možné udržet kapacitu zpracování. Pro kampaň 2014 objednal cukrovar 100 kg dextranázy. V této kampani se spotřebovalo pouze 20 kg enzymu a 80 kg enzymu zbylo pro použití v roce 2015.

Vzhledem k vysoké ceně dextranázy (2 486 Kč/l) se nabízela alternativa v použití α amylázy, která má podobný účinek, ale její cena je podstatně nižší (548 Kč/l). Od 5. - 6. 12. 2015 jsme v provozu cukrovaru Tereos TTD aplikovali enzym dextranázu z roku 2014 a následně od 3. - 8. 1 navázali s aplikací enzymu α amylázy. Nejen cukrovar Tereos TTD Dobrovice řeší problémy spojené se zpracováním dlouhodobě skladované cukrové řepy, ale i další cukrovary, které se s růstem konkurence snaží prodloužit délku zpracovatelské kampaně.

Heijbroek a kol. (1984) popisuje problémy, které nastaly v Nizozemí. Zde došlo od roku 2003 k uzavírce 3 cukrovarů. V provozu zůstaly jen 2 cukrovarnické podniky s denní spotřebou okolo 20 000 tun řepy. Proto muselo bezpodmínečně dojít k prodloužení cukrovarnické kampaně do zimních měsíců, s větším rizikem zpracování mrazem poškozené řepy. V roce 1998 byla v nizozemském cukrovaru použita velmi účinná aplikace enzymu dextranázy, která zabránila ucpání filtrů po II. saturaci. I když je tento enzym mocným bojovníkem s problematickou filtrovatelností, byl pro nizozemské zpracování příliš nákladný. Stejný problém nastal i u cukrovaru Tereos TTD, kde jsme analyzovali ekonomicky výhodnější enzym α amylázu, která by mohla drahou dextranázu nahradit.

Nizozemský cukrovar se inspiroval Britským zpracovatelským průmyslem, který místo aplikace dextranázy, experimentovali s použitím vysráženého uhličitanu vápenatého (PCC). Jediný rozdíl, který nizozemský cukrovar zavedl oproti britskému, spočíval v dávkování PCC v technologickém procesu, ale po mnoha experimentech se tento rozdíl prokázal jako neznatelný v ohledu rozložení částic kalu ve II. saturaci. Proto oba cukrovary začali dávkovat PCC kontinuálně. Oldfield a kol. (1975) zjistili, že v případě zhoršení kvality řepy dochází k ucpání filtrů. Průtok filtrů se zvýší v případě, když vzroste velikost částic. Zkušenosti v nizozemském Dinteloordu, Dánském Daniscu a britských cukrovarech prokázaly, že

přídavkem PCC se zvýšila velikost částic nad 5 μm , čímž se snížila tlaky při II. saturaci a došlo k výraznému poklesu počtu filtrů, které bylo nutné denně propláchnout (Nurmi, 2008).



Obrázek 5 Velikost částic po II. saturaci po aplikaci PCC stanovené v nizozemském Dinteloordu

V našem experimentu bylo prokázáno, že počet denně propláchnutých filtrů po II. saturaci je ovlivněno množstvím přidaného enzymu. Na Obrázku č. 2 je patrné, že při dávkování buď enzymu dextranázy, nebo α amylázy se denní počet propláchnutí filtru výrazně sníží.

Britský cukrovar následně provedl několik dalších experimentů ohledně PCC a došel k závěru, že mají stejné pozitivní účinky na rozložení vzniklých částic při II. saturaci, jako při použití dextranázy. Stejně tak i Shore a kol. (1982) dospěli k závěru, že výrobní metody s použitím PCC mají pozitivní vliv na rozložení krystalů částic ve II. saturaci.

S rostoucí délkou kampaně a zvyšující se dobou skladování cukrové řepy se podle Poela van der a kol. (2000) potýkal i rakouský cukrovarnický průmysl. Během skladování zde docházelo k nežádoucím změnám cukrové bulvy, jak v obsahu sacharózy, tak i invertního cukru. Doprovázené strukturální změny spojené se zmrzlou, či následným špatným skladováním poškozenou řepou, vedlo k ovlivnění filtrovatelnosti šťáv. To mělo za následek, ve většině případů, snížení rychlosti zpracování řepy a zvýšení délky řepné kampaně. Za normálních okolností cukrovar využíval pro zlepšení situace zvýšené dávkování vápenného mléka a alkalizačního činidla, nicméně, to bylo doprovázeno vyššími náklady na spotřebu vápence a koksů. Zhoršení struktury řepy není podle Krause a kol. (1999) hlavní problém. V mrazu poškozené řepě dochází i k přemnožení mikroorganismů a tvorbě produktů látkové výměny. Tím kromě organických kyselin a alkoholů vznikají i polysacharidy, jako je dextran a levan. Dextran má negativní vliv na filtrovatelnost extrahovaných šťáv. Proto je nutné přidávat buď uhličitan vápenatý, nebo dextranázu, které mají pozitivní vliv na filtrovatelnost po II. saturaci. Naše výsledky prokázaly i možnost využití α amylázy. Uhličitan vápenatý má vliv i na

krystaly, které jsou po II. saturaci čisté a rovnoměrně veliké. Filtrovaná šťáva je poté naprosto čirá a má nízkou viskozitu.

Rösner a kol. (2009) srovnává hodnoty pH surové šťávy v rakouských závodech s jinými továrnami, kdy v rakouských cukrovarech jsou obvykle nižší, zejména když se zpracovávají poškozené řepy. Dávkování roztoku hydroxidu sodného na tomto místě nejen že přispívá ke změně alkality, ale také chrání výměníky tepla a potrubí proti korozi. Přídavek hydroxidu sodného mělo za cíl dosáhnout hodnoty pH cca 6,2. Přídavek tohoto roztoku, před hlavním čeráním, byl vypočten na základě obsahu glukózy ve šťávě, která byla stanovena v tovární laboratoři.

Hein a kol. (2008) se ve svém článku zaměřuje na optimální aplikaci enzymu dextranázy, která se jako zředěný roztok rozpráší na povrch řepy před řezačkami, čímž je možné významně zlepšit filtrovatelnost šťáv pouze o aplikaci 2 mg/kg enzymu na bulvy cukrové řepy. Tento projekt trval od roku 1990, ale jeho výsledky byly publikovány až v roce 2008. Nicméně, vzhledem k vysokému nákladu spojenému s enzymem, bylo nutné potvrdit účinky analyticky. To bylo možné na základě detekce dextranu, ale i jeho degradačního produktu isomaltózy. V případě, kdy byl v surové šťávě přítomen dextran, se obsah isomaltózy zvýšil působením rozkladu dextranázy. Rozdíl v obsahu isomaltózy v surové šťávě před a po aplikaci enzymu dextranázy by podle Heina a kol. (2008) mohl být použit k posouzení stupně účinnosti aplikace enzymu ve velkém měřítku.

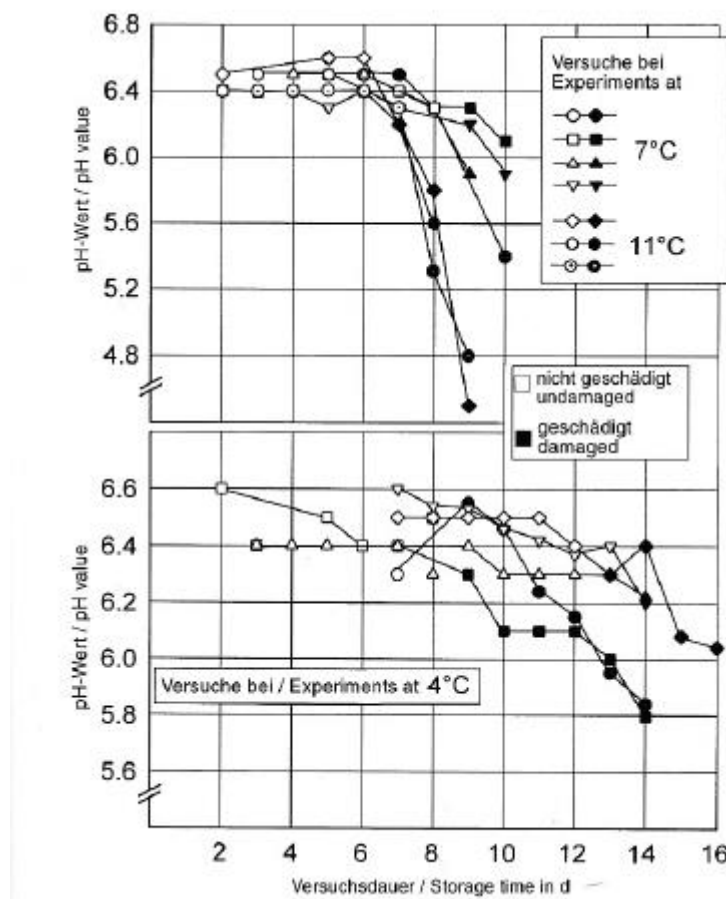
Cukrovarnický institut v Braunschweigenu investoval do výzkumu ke stanovení kvality mrazem poškozené řepy, které bylo podpořeno i německým ministerstvem financí. Projekt číslo 10323 N byl zaměřen na stanovení kvality mrazem poškozené řepy na základě parametru, měnicího se v důsledku mikrobiální aktivity bakterie *Leuconostoc mesenteroides* produkující polysacharid dextran. Hodnotili se parametry hluboce zmrazené řepy skladované při konstantních teplotách (4 °C, 7 °C, 11 °C) (Zuckerindustrie 122, 1997).

Tabulka 14 Sledované parametry (kurzívou: metabolity mikroorganismu *Leuconostoc mesenteroides*)

Metabolites in press juice prepared from brei	<i>D-lactic acid</i> , L-lactic acid, <i>acetic acid</i> , glucose, <i>fructose</i> , <i>leucrose athanol</i> , <i>mannitolu</i>
Affected parameters in press juice prepared from brei	Purity, pH value, acidity, ash (conductivity)
In 1 st carbonation slurry prepared from press juice	Filtration coefficient

V Tabulce 14 jsou uvedené parametry sledované v projektu. Jednalo se zejména o metabolity z vylisované šťávy extrahované z řepných řízků, stanovené parametry z izolované vylisované šťávy extrahované z řepných řízků a filtrační koeficient I. saturované šťávy.

Stanovení kvality řepy bylo hodnoceno z vylisované šťávy z řepných řízků, u které se stanovoval filtrační koeficient F_k . V případě, že byl filtrační koeficient velmi vysoký (500 s/cm^2), nebo úplně nedetekovatelný, byla řepa označena za poškozenou. Podle Schneidera a kol. (1967) byly sledovány i jiné parametry ovlivňující kvalitu zpracovaných bulev, jako například hodnota pH. V prvních několika dnech zůstala hodnota pH konstantní, pak začala klesat dle skladovacích teplot (viz obr. č. 6). Jedním z témat tohoto stanovení byl vývoj bakteriálního obsahu mezofilních a psychofilních bakterií. Při $13 \text{ }^\circ\text{C}$ byl největší nárůst po 6-8 dnech, při $8 \text{ }^\circ\text{C}$ po 8-12 dnech a při $3 \text{ }^\circ\text{C}$ po 11-18 dnech. Nicméně toto stanovení nebylo průkazné pro stanovení mrazem poškozené řepy.

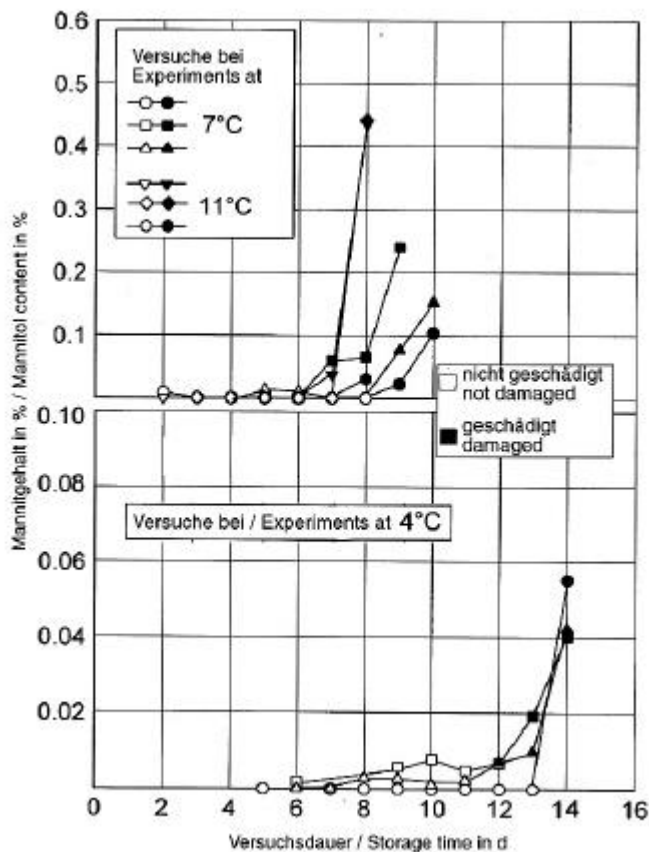


Obrázek 6 Změny hodnoty pH při různých teplotách skladování ($11 \text{ }^\circ\text{C}$, $7 \text{ }^\circ\text{C}$, $4 \text{ }^\circ\text{C}$)

Dalším měřeným faktorem byl obsah kyseliny D-mléčné, jejíž koncentrace se zvyšuje s dobou skladování. Ani tento parametr stejně jako pH nemůže být podle Schneidera a kol.

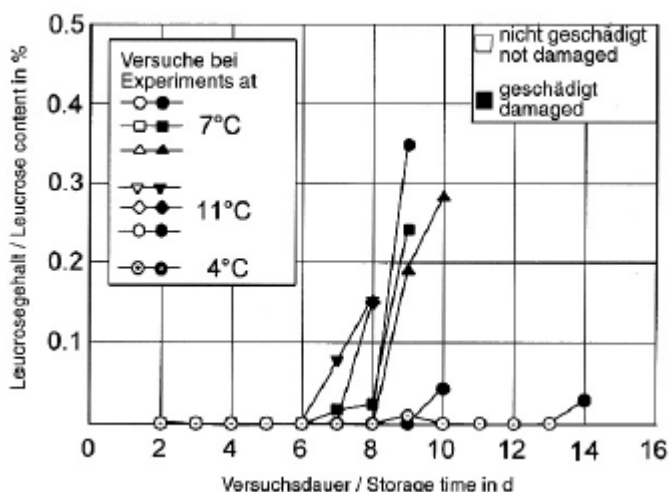
(1967) využita pro stanovení poškozené či nepoškozené řepy, jelikož obsah kyseliny mléčné se podle stupně poškození řepy mění.

Robyt (1995) stanovoval změnu v obsahu mannitolu během skladování. Mannitol je stejně jako kyselina D-mléčná metabolit mikroorganismu *Leuconostoc mesenteroides*. Vzniká až v poškozené cukrové řepě, proto nemohl být detekován v nepoškozené cukrové bulvě. Po několika dnech skladování se zvýšil obsah mannitolu, který koreluje se zvýšeným filtračním koeficientem, nebo se stupněm poškození řepy. Obrázek č. 7 zaznamenává procenta obsahu mannitolu při různých teplotách skladování.



Obrázek 7 Změny v obsahu mannitolu při různých teplotách skladování (11 °C, 7 °C, 4 °C)

Podobně jako obsah mannitolu stanovil i obsah leukrózy. Jedná se o oligosacharid složený ze 7 monosacharidových jednotek, který je vytvořen v poměrně nízkých koncentracích jako vedlejší produkt reakce enzymu dextranázy, který katalyzuje tvorbu dextranu. V důsledku toho, detekce leukrózy ukazuje na přítomnost dextranu, který vzniká pouze na poškozené cukrové řepě.



Obrázek 8 Změny v obsahu leukrózy při různých teplotách skladování (11 °C, 7 °C, 4 °C)

Nicméně po provedené analýze, kdy byla testována poškozená řepa skladována při 4 °C, se neprokázala přítomnost tohoto disacharidu. Důvodem patrně byla skutečnost, že při nízkých teplotách je bakteriální rozklad spojený s tvorbou dextransu poměrně nízký.

Tabulka 15 Charakterizace poškozené řepy (%)

Experiment number	1	2	3	4	5
% of damaged beets	0	5	10	20	50
Beet					
Purity in % of					
– undamaged beet	73.1	74.2	73.8	72.5	72.0
– damaged beet	–	51.4	52.2	49.1	49.2
– processed mixture	–	71.6	71.2	67.0	61.0
K in mixture in mmol/kg	3.75	3.47	3.48	3.85	3.93
Na in mixture in mmol/kg	0.50	0.50	0.43	0.55	0.55
α-amino-N in mixture in mmol/kg	1.57	1.52	1.44	1.73	1.81
Press juice					
pH value	6.6	5.6	4.9	4.6	4.3
Purity in %	91.8	87.4	85.7	85.6	80.0
Glucose in % on DS	0.4	0.76	0.8	0.93	1.6
Fructose in % on DS	0.11	1.1	1.6	1.53	2.5
D-Lactic acid in % on DS	0.02	0.27	0.47	0.49	0.82
Acetic acid in % on DS	0.02	0.23	0.45	0.47	1.05
Leucrose in % on DS	n.d.	0.57	0.68	1.06	1.34
Mannitol in % on DS	< 0.02	0.75	2.04	2.92	5.69

V Tabulce 15 Buchholz a kol. (1995) shrnuje provedené experimenty s množstvím aplikované poškozené cukrové řepy v %. Poškozená řepa má čistotu okolo 50 %, zatímco nepoškozená řepa měla čistotu mezi 72-74 %. Tento měřený parametr klesal s množstvím přidaného množství poškozené řepy. V důsledku smíchání jen 5-10 % poškozené řepy nedocházelo k výraznému rozdílu poklesu čistoty (cca 71 %). V důsledku toho nemohla být čistota použita pro hodnocení stupně poškození. Hodnota pH se se zvyšujícím procentem poškozené šťávy

snižovala. Kyselina D-mléčná a octová se v nepoškozených bulvách nacházeli v nízkých koncentracích a byly stanoveny v téměř stejných množstvích. Zajímavým hlediskem bylo prudké zvýšení koncentrace fruktózy s přidavkem pouhých 5 % poškozené řepy. Leukrózy nemohla být stanovena v nepoškozené řepě a po smíchání s 5 % poškozené tkáně její koncentrace stoupla na 0,57 % v sušině. Obsah mannitolu byl detekován v nepoškozené řepě o koncentraci nižší než 0,02 % v sušině, ale po smíchání s 5 % poškozené řepy jeho koncentrace stoupla na 0,75 % v sušině.

Sledované parametry nevykazovaly žádné významné změny korelující s mírou poškození cukrové řepy. Podle koncentrace fruktózy, kyseliny D-mléčné, mannitolu, leukrózy, či pH bylo nutné veškeré zkoumané vzorky popsat jako poškozené. Jediným sledovaným faktorem, který mohl určit rozhraní mezi poškozenou a nepoškozenou řepou se ukázal, jako i v předešlých studiích, filtrační koeficient. Ten prokázal problémy s filtrovatelností již při přidavku 5 % poškozené řepy. Tyto problémy byly řešeny přidavkem dextransového roztoku, nebo vápenného mléka do II. saturace, jehož spotřeba se zvyšovala se stupněm poškození.

V našem experimentu jsme pro sledování účinků používaných enzymů v roce 2014 zavedli v provozní laboratoři cukrovaru stanovení filtračního koeficientu u I. saturované šťávy. Vyzkoušeli jsme i stanovení této veličiny u II. saturované šťávy a ověřili jsme, že metodika pro II. saturovanou šťávu je nevhodná. Porovnali jsme stanovení sedimentačního koeficientu a filtračního koeficientu, ale nepodařilo se nám mezi výsledky najít shodu. Proto jsme v kampani 2015 zvolili pro sledování filtračních vlastností jen filtrační koeficient. Dle provedených experimentů jiných cukrovarů, jsme udělali korelaci mezi filtračním koeficientem a počtem propláchnutých filtrů za den. Korelace mezi těmito parametry je - 0,177 což určuje, že vztah mezi těmito hodnotami je zanedbatelný. Vzhledem k uspořádání provozního pokusu, kdy jsme aplikovali enzym, se prokazatelně zvýšila četnost čištění filtrů šťávy po II. saturaci.

Použití enzymů nastalo již při prvních náznacích problémů s filtrací, proto nebylo možné změřit parametry s přítomností dextransu, které by vedly ke snížení kapacity zpracování řepy. I když se nepodařilo laboratorně prokázat souvislost naměřených parametrů s přítomností dextransu ve šťávách, z grafického znázornění (obr. č. 4) je patrná souvislost poklesu množství dextransu s aplikovanými enzymy. Množství vytvořených dextransů je závislé na počasí, které ovlivňuje rozkladnou činnost mikroorganismů. Problémy s filtrovatelností nastávají jen při určitém množství vzniklého dextransu. Při těchto náznacích se aplikuje enzym a dojde k okamžitému poklesu koncentrace dextransu na konstantní množství ve šťávách.

7 Závěr

Cukrová řepa je jednou z nejdůležitějších plodin a nejdůležitějším zdrojem pro výrobu cukru v Evropě. Cukr se stal základní potravinou v průběhu posledních dvou století. Celosvětová poptávka stále roste a překračuje 140 milionů tun ročně. Mezi lety 1931-1945 byl cukrovarnický průmysl na vrcholu zpracování s 323 cukrovarů. Po restrukturalizaci však došlo k postupnému poklesu jejich počtu až na pouhých 11. V letech 2009 je na území České republiky pouhých 7 fungujících cukrovarů. Vzhledem k této situaci se bezpodmínečně musela zvýšit produkce vyráběného cukru, se kterou souvisí prodloužení řepné kampaně. Ty se protahují až do zimních měsíců, kdy vzrůstá riziko poškození řepy. V případě, kdy cukrovar začne zpracovávat mrazem poničenou, špatně skladovanou, či jinak poškozenou řepu, dochází v technologickém procesu k řadě problémů. Při mikrobiální kontaminaci řepné bulvy vznikají nerozkladné polysacharidy s největším zastoupením dextranu, který způsobuje problémy spojené s filtrací šťáv. Tento problém se musí okamžitě řešit snížením výrobní kapacity, nebo přidáním enzymu dextranázy, která je mnohými cukrovarů vyzkoušena, jako spolehlivý rozkladač vzniklých polysacharidů dextranu. Nevýhoda tohoto enzymu je vysoká pořizovací cena, proto v mnoha cukrovarech dochází ke zkoumání jiných použitelných alternativ.

Britský cukrovarnický průmysl společně s dánským a nizozemským analyzovali aplikaci vysráženého uhličitanu vápenatého, přidaného na zpracované bulvy cukrové řepy kontinuálně. I když se přídavek tohoto roztoku osvědčil, jeho výroba nese řadu problémů. Stejně tak aplikace dělené dávky alkalizačního činidla na různé fáze provozu ve dvou rakouských cukrovarech měla sice dobrý vliv na filtrovatelnost šťáv, nicméně se prokázalo, že zvýšená reakční doba vykazovala významný vliv na zbytkový obsah vápníku. Německo investovalo do projektu podpořené i ministerstvem financí, s cílem zhodnotit kvalitu poškozené a nepoškozené řepy. Hodnotily mnoho parametrů, jako např. pH, kyselinu D-mléčnou, fruktózu, mannitolu, atd., ale ani jeden parametr nemohl být nakonec využit pro sledování rozhraní mezi poškozenou a nepoškozenou řepou, jelikož se naměřené hodnoty nepravidelně měnily se stupněm poškození. Stejně jako v předešlých cukrovarech, které hledali jiné alternativy odbourání těchto problémů, jsme se i v cukrovaru Tereos TTD snažili nalézt jinou variantu rozkladu dextranu, než použití finančně náročné dextranázy. Bohužel ani námi stanovené parametry neprokazovali souvislosti s tímto problémem. Jediný pozitivní přínos byl v aplikaci jiného a hlavně levnějšího enzymu. Jak již bylo zmíněno, po Novém roce jsme aplikovali na poškozené řepné bulvy doporučený enzym α amylázu, která má pozitivní účinky

na rozklad škrobu. Oproti enzymu dextranáze, která stojí 2 486 Kč/l, byl enzym α amyláza pořízen za 548 Kč/l. Po ukončení cukrovarnické kampaně jsme statisticky zhodnotili oba použité enzymy, s výsledkem prokazujícím jejich podobné účinky na rozklad dextranu. Aplikace enzymu je během kampaně závislá na mnoha faktorech, ale v letošním roce bylo celkem spotřebováno celkem 100 l. Při pořizovací ceně dextranázy, by cukrovar za kampaň 2015/16 zaplatil 248 600Kč, v případě použití α amylázy jen 54 800Kč, což je významné.

8 Seznam literatury

- Antonín, L. 2006. Bílé zlato. Historie cukru v kostce. Nymburk. Vega-L. s. 128. ISBN: 80-86757-24-2
- Atkins, P. C., McCowage, R. J. 1984. Dextran - an overview of the Australian experience. *Proc. Sug. Proc. Res. Inst.* p. 108-140
- Bretschneider, R. 1980. Technologie cukru: surovárna a rafinérie. SNTL – Nakladatelství technické literatury. Praha. s. 423. ISBN: 04-820-80
- Brown, C. F., Inkerman, P. A.. 1992. Specific method for quantitative measurement of the total dextran content of raw sugar. *J. Agric. Food Chem.* 40. p. 227–233
- Bruijn, J. M. 2000. Processing of frost damaged beets at CSM and the use of dextranase. *Zuckerindustrie* 125. p. 898–902
- Bubník, Z. 2006. Úvod do cukrovarnické technologie. Výzkumný ústav cukrovarnický. Praha. s. 250. ISBN: 80-239-7315-0
- Bubník, Z. 1998. Nové směry v technologii cukru. Ústav chemie a technologie sacharidů VŠCHT. Výzkumný ústav cukrovarnický, České vysoké učení technické. Praha. s. 300
- Bucke, C., Adlard M., Singleton V., Horn J. 2001. Assay method. U.S. patent application 20030100041
- Buchholz, K., Märlander, B., Puke, H., Glattkowski, H., Thielecke, K. 1995. Neubewertung des technischen Wertes von Zuckerrüben. *Zuckerindustrie* 120. s. 113-121
- Cuddihy, J. A., Rauh J. S., Mendez F., Bernhard C. 1999. Dextranase in sugar production: factory experience.
Dostupné z <<http://www.midlandresearchlabsinc.com/doclib/dexexper.pdf>.>
- Dudek, F. 2011. Zamyšlení: Fenomén cukru jako „bílého zlata“ v českých zemích (do roku 1938). In: Cukrovarnictví, cukrovary a cukrovarníci. Prameny a studie. Praha.
- Duffek, K. 2011. Český cukrovarnický průmysl – historie a současnost. In: Cukrovarnictví, cukrovary a cukrovarníci. Fenomén českého hospodářství v 19. A 20. Století. Praha

- Edye, L. A., Clarke, M. A., Roberts, E. J., Blanco, R. S. 1995. Dextran analysis by NMR. *Proc Sug Ind Technol* 54: p. 55-64
- Friml, F., Tichá, B. 1977. Laboratorní kontrola cukrovarnické výroby. Výzkumný ústav cukrovarnický. Praha 4-Modřany. s. 236. ISBN: 664-12-057
- Fulcher, R. P., Inkerman, P. A. 1974. Preliminary studies on the enzymic “removal” of dextran from deteriorated cane juice. *Proc Qld Soc Sug Cane Technol* 41: p. 179-186
- Heijbroek, W., Huijbregts, A. W. M. 1984. Some factors affecting frost damage to sugar beets. Proc. 47th IIRB Winter Congress Brussels. p. 25-52
- Hein, W., Rösner G., Emerstofer, F. 2008. Measures to prevent operational disturbances caused by dextrn. *Sugar Industry* 133. p. 135-143
- Hrabě, J., Buňka, F., Hoza, I. 2008. Technologie výroby potravin rostlinného původu. UTB. Zlín. s. 189. ISBN: 978- 80-7318-520-6
- Hradiský, J., Svačina, P. 2011. *Významná jubilea továren společnosti TEREOS TTD*. Dostupné z <http://www.cukr-listy.cz/on_line/2011/PDF/248-252.pdf>
- Chavan, S. M., Borawake S. D., Patil G. D. 2001. Enzymatic hydrolysis in sugar production: factory experience. *Sugar Ind. Abstr.* 63. p. 848
- Inkerman, P. A., Riddell, L. 1977. Dextranase III. Refinements to the Enzyme process for the treatment of deteriorated cane. *Proc. Queensl. Soc. Sugar Cane Technol.* 44. p. 215–233
- Inkerman, P. A. 1980. An appraisal of the use of dextranase. *Proc Int Soc Sug Cane Technol* 17. p. 2411-2427
- ICUMSA GS8-19. 2009. The Determination of Dextran in Beet Raw Juice and Thick Juice by a Modified Alcohol Haze Method- Tentative.
- Zuckerindustrie 119. 1997. Institut für Technologie der Kohlenhydrate. Über die Kampagne 1996/97 und neuere technische Entwicklungen. s. 257-276
- ISO (International Sugar Organization). *Sugar Year Book*.2009. Londýn, dostupné z <<http://www.isosugar.org/PDF%20files/SUGAR%20YEAR%20BOOK%20-%20sample.pdf>>
- Jůzl, M., Pulkrábek, J., Diviš, J. 2000. Rostlinná výroba-III (Okopaniny). Mendelova univerzita. Brno. s. 222 ISBN: 80-7157-446-5
- Kadlec, P. 2000. Technologie sacharidů. Vysoká škola chemicko-technologická. Praha. s. 138. ISBN: 80-7080-400-9
- Khalikova, E., Susi, P., Korpela, T. 2005. Microbial dextran hydrolyzing enzymes: Fundamentals and applications. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 69(2). p. 306-324

- Kocna, P. 2004. Biochemická diagnostika v gastroenterologii. In: Kapitoly z klinické biochemie. Praha. Karolinum. s. 131-157
- Kovařík, A. 1973. Separace kalu z I. saturevané šťávy. Listy cukrovarnické a řepářské. č. 89
- Kraus, W., Stark, Th., Ajdari Rad, M., Mauch, W. 1997. Untersuchungen zur optimalen Kolloidfällung in der Vorkalkung. Zuckerind. 122. p. 91-99
- Lawson, G. J. 2001. Prevalence of macroamylasaemia using polyethylene glycol precipitation as a screening method. Ann. Clin. Biochem. 38, Pt 1, p. 37-45
- Nurmi, H. 2008. Experiences in using precipitated calcium carbonate at Danisco Sugar. Sugar Industry 133. p. 508-511
- Oldfield, J. F. T., Dutton, J. V., Teaque, H. J., Williams, E. L. 1975. Effect of dextran on 2nd carbonatation filtration. Comptes rendus de la 15e Assemblée Générale de la CITS. p. 229-249
- Poel van der, P. W., Schwarz, T. 2000. Rüben- und Rohrzuckerherstellung. Zuckertechnologie. Verlag Dr. Albert Bartens KG. Berlin
- Pucherna, J. 1981. Historický přehled vývoje cukrovarnictví v českých zemích. In: Sto padesát let cukrovarnického průmyslu na území ČSSR. Praha. s.17
- Petr, L. 1987. Počasí a výnosy. Státní zemědělské nakladatelství. Praha. s. 365
- Quarino, L., Dang, Q., Hartmann, J., Moynihan, N. 2005. An ELISA method for the identification of salivary amylase. J. Forensic. Sci., 50. p. 873-876
- Robyt, J. F. 1995. Mechanismus in the glucansucrases syntheses of polyssacharides and oligosaccharides from sucrose. Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 51. p. 133-168
- Rösner, G. Hein, W., Emerstorfer, F. 2009. Optimal dosing of alkalizing agents in juice purification. Sugar Industry 134. p. 685-696
- Sahadeo, P. 1998. The effect of some impurities on molasses exhaustion. *Proc S Afr Sug Technol Ass* 72. p. 285-289
- Shore, M., Dutton, J. V., Houghton, B. J. 1982. Evaluation of deteriorated beet. Paper F. British Sugar 26th Technical Conference. p. 106-110 and 136-139
- Scheibler, C. 1874. Investigation on the nature of the gelatinous excretion which is observed in production of beet-sugar juices. *Deutsch Zuckerindrie* 24. p. 309-335.
- Schneider, F., Hoffmann-Walbeck, H.P., Abdou, M.A.F. 1967. Entwicklung von Mikroorganismen in Rübensäften, Schwemm-und Waschwasser bei niedrigen Temperaturen. *Zuckerindustrie* 20. s. 633-638
- Švejka, M., Janda, J. 1981. Mechanizovaný kalolis. Listy cukrovarnické a řepářské . č. 97

- Tilbury, R. H. 1969. The ecology of *Leuconostoc mesenteroides* and control of post-harvest biodeterioration of sugarcane in Jamaica. *Proc West Indies Sug Technol Ass.* p. 126-135
- Tilbury, R. H. 1971. Dextrans and dextranase. *Proc Int Soc Sug Cane Technol* 14. p. 1444-1458
- Ventrucci, M., Cipolla, A., Middonno, M. 1999. Macroamylase detection in serum using selective precipitation: a rapid and reliable assay. *Ital. J. Gastroenterol. Hepatol.* 31. p. 846-849
- Vodica, A., Frimlová, Z. 1981. Cukrovarnictví na území České socialistické republiky po druhé světové válce. In: 150 let cukrovarnického průmyslu na území ČSSR. Praha. s. 56

9 Seznam tabulek a obrázků

Tabulka 1 Hlavní látky v řepné dřeni	11
Tabulka 2 Hlavní látky v řepné šťávě.....	11
Tabulka 3 Světová produkce a spotřeba cukru podle zemí	15
Tabulka 4 Největší producenti cukru z třtiny a z řepy (2007)	15
Tabulka 5 Zředené standardní roztoky dextranu	26
Tabulka 6 Koncentrace dextranů v analyzovaných vzorcích a filtrační koeficient F_k v I. saturované šťávě.....	31
Tabulka 7 Korelace koncentrace dextranu v difuzní, těžké a II. saturované šťávě	32
Tabulka 8 Popisná statistika dextranu ve II. saturované šťávě.....	33
Tabulka 9 Popisná statistika filtračního koeficientu v I. saturované šťávě	34
Tabulka 10 Korelace mezi koncentrací dextranů v II. saturované šťávě s F_k I. saturované šťávy	34
Tabulka 11 Filtrační koeficient I. saturované šťávy a suma proplachů filtrů.....	35
Tabulka 12 Korelace F_k I. saturované šťávy se sumou proplachů filtrů za den.....	35
Tabulka 13 Dávkování enzymů a náklady.....	37
Tabulka 14 Sledované parametry (kurzívou: metabolity mikroorganismu <i>Leuconostoc mesenteroides</i>)	40
Tabulka 15 Charakterizace poškozené řepy (%)	43
Obrázek 1 Vývoj roční a průměrné výroby cukru v ČR (t)	10
Obrázek 2 Proplach filtrů a dávkování enzymů.....	30
Obrázek 3 Koncentrace dextranu ve stanovených šťávách	32

Obrázek 4 Proplach filtrů za den, dávkování enzymů a koncentrace dextranů	36
Obrázek 5 Velikost částic po II. saturaci po aplikaci PCC stanovené v nizozemském Dinteloordu	39
Obrázek 6 Změny hodnoty pH při různých teplotách skladování (11 °C, 7 °C, 4 °C).....	41
Obrázek 7 Změny v obsahu mannitolu při různých teplotách skladování (11 °C, 7 °C, 4 °C)	42
Obrázek 8 Změny v obsahu leukrózy při různých teplotách skladování (11 °C, 7 °C, 4 °C) ..	43

10 Seznam zkratk

- Fk: Filtrační koeficient
- Sk: Sedimentační koeficient
- PCC: Precipitated Calcium Carbonate (Vysrážený uhličitan vápenatý)
- DS: Dry substance (sušina)
- TCA: Kyselina trichloroctová
- Rt: Retenční čas
- ELISA: Enzyme-Linken ImmunoSorbent Assay (Imunologická metoda)
- PEG: Polyethylenglykol