

Praktikum z experimentálních metod biofyziky a chemické fyziky II.

Vypracoval: Jana Čurdová, Martin Kříž, Vít Marek.

Dne: 14. června 2003

Úloha: 4

Nadmolekulární rozptyl světla - studium interakcí protein-polyfenolových koloidů ve vybraných nápojích (pivo, víno, ...) a modelových systémech.

Úkol:

1. Na laboratorním dvouúhlovém zákalometru proměřte zákal 2 různých monodisperzních vzorků a jejich směsi v přístrojové kyvetě
2. S využitím aparatury BETA-2000 proměřte zákal nefiltrovaného nestabilizovaného piva a téhož vzorku po filtraci
3. Proměřte změny zákalu při titračním testu na obsah zákalotvorných bílkovin
4. Proměřte průběh titračního testu na obsah tanoidů ve 2 vzorcích pív

Teorie:

Při elastickém rozptylu světla je intenzita světla rozptýlená do daného úhlu závislá také na velikosti rozptylující částice. Důležitý je přitom poměr velikosti částice a vlnové délky dopadajícího záření. U malých částic (velikost $< \lambda/6$) mluvíme o Rayleighově rozptylu. Intenzita rozptýleného záření je popsána vztahem (1). ϑ je úhel rozptylu, M hmotnost částice, c její koncentrace a ν frekvence dopadajícího záření.

$$I(\vartheta) \sim I_0 (1 + \cos^2(\vartheta)) M c \nu^4 \quad (1)$$

Pro částice větší než je vlnová délka (rozměr $> \lambda$) převládá dopředný rozptyl (Mieův rozptyl).

K měření rozptylu lze použít laboratorní zákalometr *MZN-2002*. V tomto přístroji je úzký svazek světla soustředěn do kyvety a rozptýlené záření detegováno pod úhly 0° , 12° a 90° . Procházející záření slouží jako reference. Přístroj je kalibrován podle mezinárodního zákaloměrného standardu formazinu.

V této úloze jsou studovány interakce protein-polyfenolových koloidů v pivu. Hlavním zdrojem zákalu jsou zde komplexy tanoidů (polyfenolů) s bílkovinami. Ke studiu proto použijeme taninový test a PVP test. Taninový test spočívá v titraci piva taninem, který precipituje bílkoviny obsažené v pivu. Opakem je PVP test. Zde se do piva přidává polyvinylpyrrolidon, který naopak simuluje bílkoviny a interaguje s tanoidy.

Výsledky měření a diskuse:

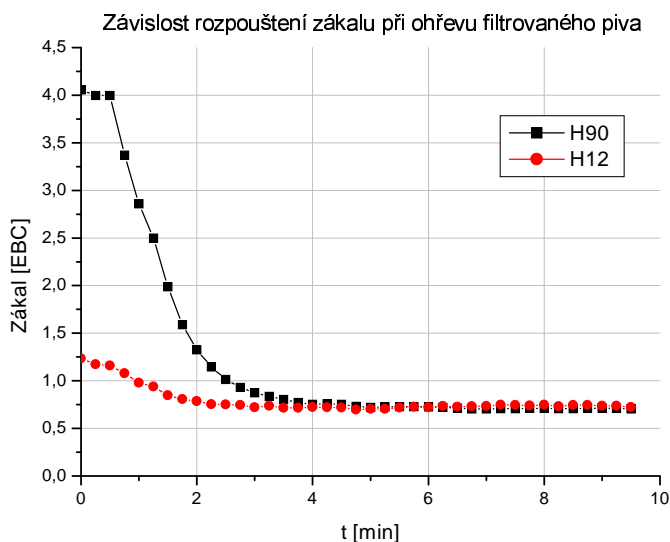
1. Pro měření jsme si připravili vzorky rozpuštěním 1 ml latexového koloidu (vzorek 1) a 1 ml $5 \mu\text{m}$ částic ve 200 ml vody. Množství vody jsme odměřili v odměrném válci a vzorky postupně vložili do dvouúhlového laboratorního zákalometru. Rozptyl oproti standardu (formazin) je zapsán v tabulce 1. Zde jsou uvedeny i hodnoty jejich směsi. Vzorek 1 obsahující malé latexové částice ($\sim 50\text{nm}$) podle teorie rozptyluje světlo v dopředném směru méně, než vzorek 2 s většími částicemi.
2. V dalším měření jsme pozorovali závislost tvorby zákalu piva na teplotě. Jako vzorek jsme použili starší pivo (obsahuje již precipitované bílkoviny) chlazené na -1° . Pivo bylo neprefiltrované, takže obsahovalo i kvasinky ($\sim 10 \mu\text{m}$). Zahříváním v lázni se zvyšuje kinetická energie v pivu obsažených bílkovin a zákal se rozpouští. Jak je z obrázku 1 vidět, je zde silný

Tabulka 1: Zákal ve vzorku I, II a jejich směsi.

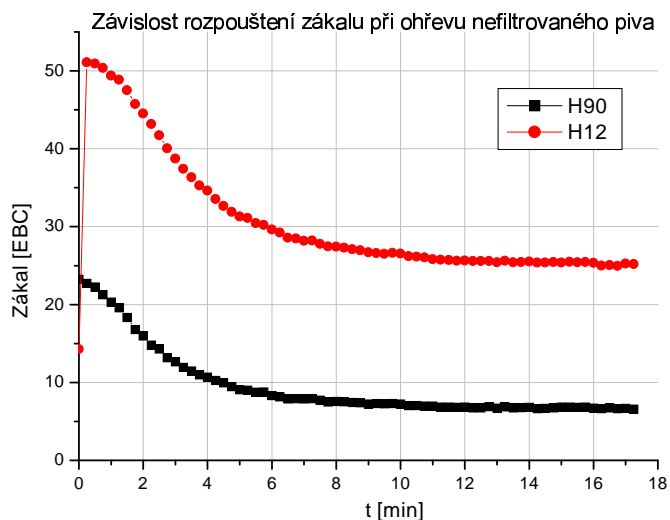
	vzorek I	vzorek II	směs I+II
H90 [ECB]	1,44	0,34	1,02
H12 [ECB]	0,15	1,75	0,65

kde H90 je rozptýl oproti standardu (formazin) při úhlu 90°, H12 při úhlu 12°

dopředný rozptýl způsobený kvasinkami. Stejně měření jsme provedli také pro přefiltrované pivo. Záznam ohřevu je na obrázku 2. Zde kvasinky už chybí.

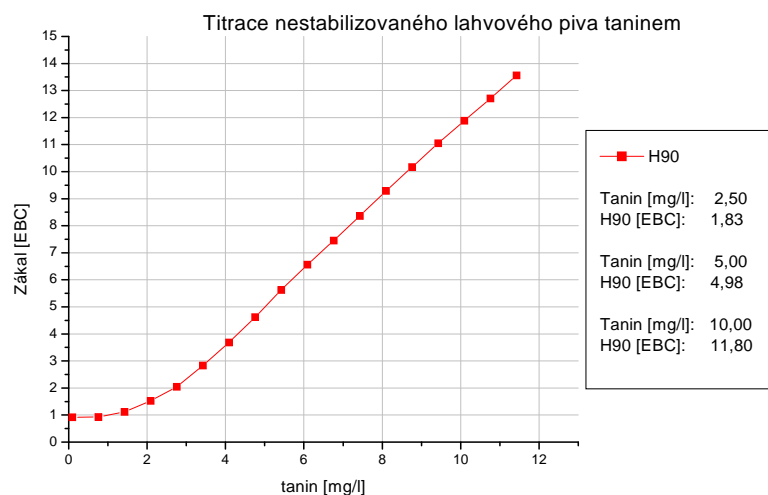


Obrázek 1: Ohřev nefiltrovaného piva

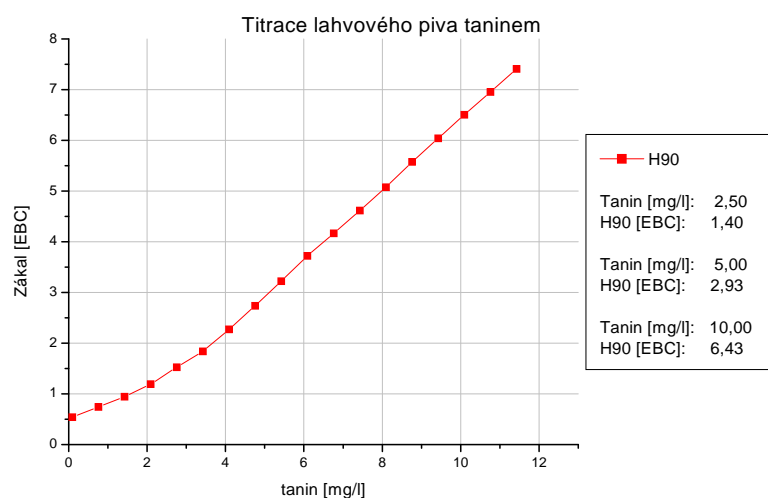


Obrázek 2: Ohřev filtrovaného piva

3. *Taninový test.* Do 5 ml přefiltrovaného staršího piva jsme za stálého míchání přidávali roztok taninu. Ten obsahoval 0,2 g taninu na 1 litr vody. Dávkování bylo nastaveno na 3 ml/hod. Tvorba zákalu v závislosti na přidaném množství taninu je patrná z obrázku 3. Stejným způsobem jsme provedli měření pro stabilizované pivo (obrázek 4). Menší nárůst zákalu svědčí o menším počtu bílkovin.

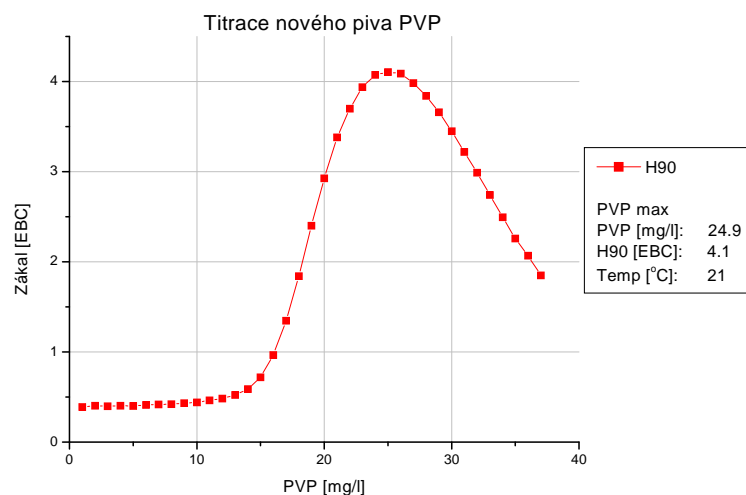


Obrázek 3: Taninový test nestabilizovaného piva

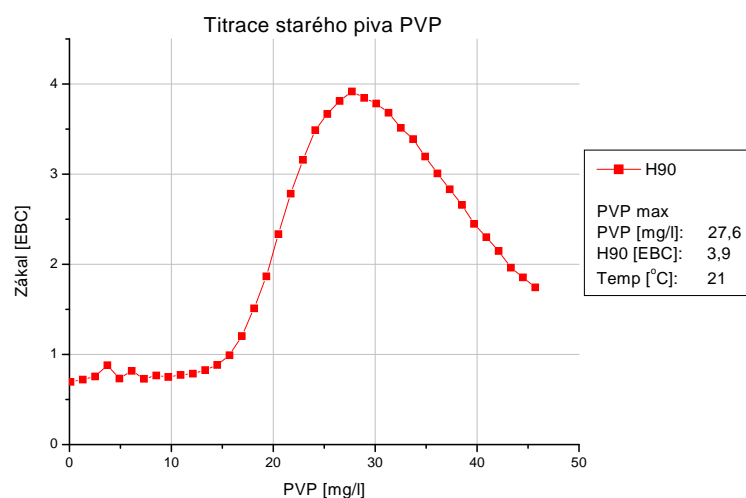


Obrázek 4: Taninový test stabilizovaného piva

4. *PVP test.* Posledním měřením byla titrace piva roztokem PVP. PVP precipituje tanoidy obsažené v pivě. Vzniklý zákal je však při přebytku PVP opět rozpouštěn. Obsah tanoidů je tak úměrný množství PVP při maximálním zákalu. Průběh titrace nového piva je zakreslen na obrázku 5. Stejný průběh titrace jsme naměřili i pro staré pivo, viz. obrázek 6.



Obrázek 5: PVP test nového piva



Obrázek 6: PVP test starého piva

Závěr:

Ověřovali jsme závislost rozptylu na velikosti rozptylujících částic. Při ohřevu piva jsme sledovali rozpouštění chladového zákalu. Nakonec jsme určovali pomocí taninového testu množství bílkovin v pivu a pomocí PVP testu množství tanoidů.