

## Vplyv teploty a pH na stabilitu antokyanínových farbív v koncentrátoch bazy chabzdovej

MÁRIA KOVÁČOVÁ - ALEXANDER PRÍBELA  
- ANNA DURMISOVÁ - IVANA KOZÁROVÁ

Súhrn. Vhodnou formou stabilizácie antokyanínov bazy chabzdovej je ich uskladnenie vo forme koncentrátov šťiav s  $R_f = 50 - 60 \%$ . Optimalizáciou úpravy šťavy pred zakonzentrováním a podmienok skladovania (teplota, pH) sa dosiahne dobrá údržnosť antokyanínov. Vysokú stabilitu vykazujú koncentráty uchovávané pri  $4^\circ\text{C}$ . V koncentrátoch pri  $t = 20^\circ\text{C}$  je údržnosť antokyanínov závislá od intenzity okyslenia. Zníženie pH na hodnotu 1,0 pôsobí na stabilitu antokyanínov pozitívne vzhľadom na koncentrát s prirodzeným pH (5,3). Koncentrát z enzymaticky opracovanej šťavy (celuláza) má po 7 týždňoch skladovania údržnosť antokyanínov o 15,94 % vyššiu v porovnaní s koncentrátom z čerstvej šťavy za rovnakých podmienok skladovania ( $\text{pH} = 1,0$ ,  $20^\circ\text{C}$ ).

V súčasnom období sa neustále zvyšuje snaha odborníkov o používanie "pravých" prírodných farbív v potravinárskom priemysle. Výskum smeruje k výrobe farebných koncentrátov s dostatočne vysokou farbiacou mohutnosťou a dobrou stabilitou farbív v procese skladovania farbiacich prípravkov a tiež hotových výrobkov.

Antokyanínové preparáty, ktoré sú vhodné na prifarbovanie kyslých potravín, je možné pripraviť izoláciou z rastlinných zdrojov [1,2,3]. Problematike stability antokyanínov počas skladovania sa venuje veľa autorov. Zistili, že za inak rovnakých podmienok skladovania sú deacylované formy

---

Ing. Mária Kováčová, prof. Ing. Alexander Príbel, DrSc., Anna Durmisová, Ivana Kozárová, Katedra sacharidov a konzervácie potravín, Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

antokyanínov najmenej stabilné [4,5]. Výsledkom štúdia antokyanínov [6] je poznatok, že zo sledovaných druhov sú najstabilnejšie antokyaníny zo sladkých zemiakov (batata), potom z bazy čiernej, ďalej z hrozna a najmenej stabilné sú deacylované pigmenty zo sladkých zemiakov.

Medzi teplotou a rýchlosťou degradácie existuje priama súvislosť. Tento poznatok je overovaný v rade publikácií o tepelnej stabilite [7,8].

Okrem teploty je evidentný vplyv pH prostredia na stabilitu antokyanínov. Podľa [8] pri skladovaní extraktu antokyanínov z červenej kapusty pri  $\text{pH} = 1,0$  je menší úbytok farbív než pri hodnotách  $\text{pH} = 3,5$ . Pri sledovaní farby v červených vínach [9] pri 4 hladinách  $\text{pH}$  (2,8 - 3,8) sa zistilo, že väčšia polymerizácia antokyanínov s tanínom je pravdepodobne príčinou vyššej stability vín pri nižšej hodnote  $\text{pH}$ . Tepelnú stabilitu antokyanínov v intervale 65 - 95°C a pri hodnotách  $\text{pH}$  1,0 - 5,0 sledovali autori v práci [10]. Zistili, že degradácia pigmentov prebieha ako reakcia 1. poriadku, pričom pigmenty boli najstabilnejšie pri  $\text{pH} = 3,0$ . Podľa [7] sa rýchlosť degradácie antokyanínov zvyšuje s  $\text{pH}$  pri teplotách nižších ako 70°C. Pri vyššej teplote už  $\text{pH}$  nemá vplyv na rýchlosť degradácie antokyanínov. Bronum-Hansen a Flink [11] prišli k záveru, že v práškových koncentrátoch antokyanínov je minimálna degradácia farbív pri úprave  $\text{pH}$  extraktu pred sušením na hodnotu 3,0 a teplote nižšej ako 75°C.

Stabilita antokyanínov závisí tiež od prostredia vytváranom surovinou alebo roztokom, čiže od prostredia, v ktorom sa antokyaníny vyskytujú. Šťavy a extrakty z arónie čiernoplodej boli skladované 420 dní pri teplotách 7 a 20°C. Stabilita antokyanínov bola oveľa vyššia v šťavách ako v extraktoch. Hnednutie aj degradácia antokyanínov boli nižšie v oboch prípadoch pri nižšej teplote [12].

Práca sa zamerala na prípravu koncentrátov z plodov bazy chabzdovej. Sledoval sa vplyv úpravy šťavy pred zakonzentrováním, ako aj účinok  $\text{pH}$  a teploty na stabilitu antokyanínov počas skladovania koncentrátov.

## Materiál a metódy

Plody bazy chabzdovej nazbierané koncom septembra v okolí Koliby v Bratislave sa oddelili od vrcholíkov a uskladnili v mikroténových vrec-kách po 0,5 kg v mraziacom boxe pri  $-18^{\circ}\text{C}$ .

### Použitý enzým

Celuláza EC 3.2.1.4 endo-1,4(1,3;1,4)- $\beta$ -D-glukan-4-glukanhydroláza, konkrétne priemyslový enzýmový preparát celuláza bez nosiča, výrobcu ZD Kestřany, Bioprovoz Kolín, ČR, aktivita  $c_x = 29\,500\text{ mg RL.g}^{-1}$ , s prímesami xylanázy,  $\beta$ -glukozidázy, amyloglukozidázy, celobiázy, pektinázy,  $\alpha$ -amylázy,  $\beta$ -amylázy, alkalickéj proteázy, opt. pH = 4,0 - 6,0.

### Druhy štiav použité na prípravu koncentrátov

Použili sa 3 druhy štiav:

- šťava bez enzymatického opracovania (čerstvá),
- enzymaticky opracovaná šťava enzýmom celuláza v množstve  $750\text{ mg.kg}^{-1}$  homogenizátu bazy chabzdovej, dávkovanie enzýmu sa zvolilo na základe predchádzajúcich skúseností [14],
- ultrafiltrovaná šťava - 1.permeát, pred filtráciou cez membránu PL-20 bol homogenizát bazy chabzdovej opracovaný zmesou enzýmov celuláza ( $750\text{ mg.kg}^{-1}$ ) a pektolytickým enzýmom Trenolin P v množstve  $90\text{ mg.kg}^{-1}$  drviný. Šťavy sa odstredili 15 min pri  $5000\text{ ot.min}^{-1}$ , pasterizovali 45 s pri  $90^{\circ}\text{C}$  a zahustili na rotačnej vákuovej odparke pri teplote vodného kúpeľa do  $60^{\circ}\text{C}$  na RS = 50 - 60 %.

### Podmienky skladovania koncentrátov

Koncentráty vyššie uvedených 3 druhov štiav sa skladovali pri 3 teplotách (4, 20 a  $37^{\circ}\text{C}$ ) a troch rôznych hladinách pH (1, 3 a prirodzené pH = 5,3). Na úpravu pH sa použila kyselina fosforečná ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ). Koncentráty sa označili pH<sub>1</sub> resp. pH<sub>3</sub> podľa zodpovedajúcej hodnoty pH a skladovali v uzatvorených liekovkách obalených v hliníkovej fólii.

### Sledovanie stability antokyanínov v koncentrátoch

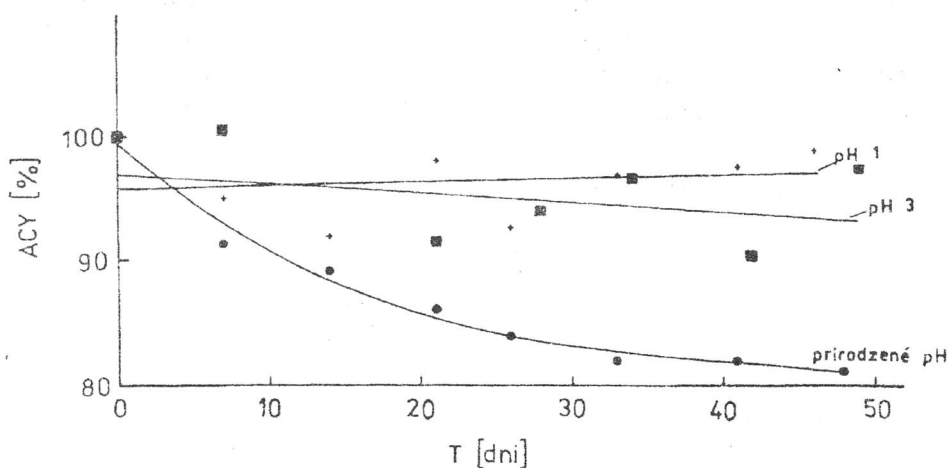
Obsah antokyanínov sa stanovil vo vopred zvolených časových intervaloch pH - diferenčnou metódou [13]. Z hodnôt absorbancií roztoku s pH = 1,0 pri 518 nm a 420 nm a roztoku s pH = 4,5 pri 518 nm sa vypočítal farebný odtieň (FO) antokyanínov.

## Výsledky a diskusia

### 1. Koncentráty z enzymaticky neopracovanej (čerstvej) šťavy

#### a) Vplyv pH koncentrátu na stabilitu antokyanínov počas skladovania pri $t = 4^{\circ}\text{C}$

Z obr.1 je zrejmé, že najmenej stabilné sú koncentráty pri prirodzenom pH. Kým v tomto koncentráte je vyjadrená závislosť údržnosti ACY od dĺžky skladovania polynomicou regresiou (polynóm 3.stupňa), v okyslených koncentrátoch osciluje údržnosť ACY v rozsahu 92,0 - 100,0 % (pH = 1,0) a 89,5 - 100 % (pH = 3,0). Toto kolísanie je v rámci presnosti metódy ( $s_r = 3,04$  % pre pH = 1,0). Je teda zrejmé, že zníženie hodnoty pH sa pozitívne prejavilo na stabilite koncentrátov.



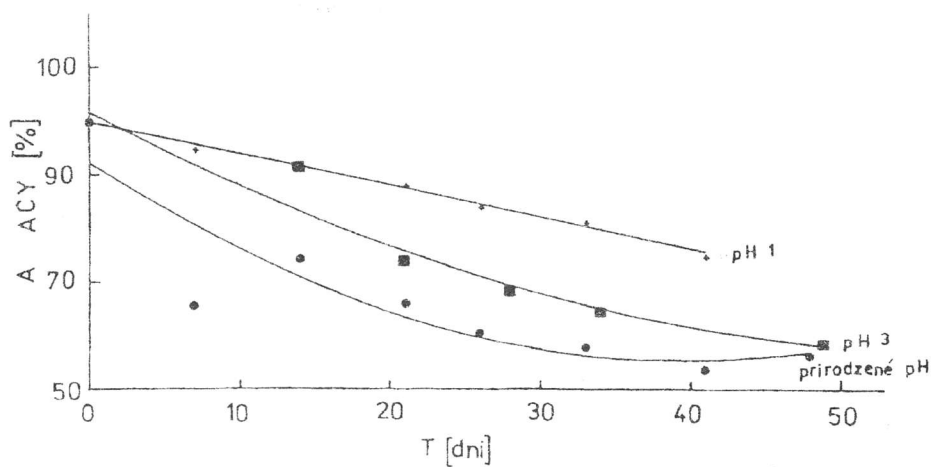
Obr. 1. Závislosť údržnosti antokyanínov v koncentrátoch z enzymaticky neopracovanej šťavy skladovaných pri rôznych hladinách pH ( $4^{\circ}\text{C}$ ). T - dĺžka skladovania, ACY - antokyaníny.

Fig. 1. Dependence of shelf life of anthocyanins in concentrates not enzymatically worked and stored at various pH levels ( $4^{\circ}\text{C}$ ). T - time of storage, ACY - anthocyanins.

*b) Vplyv pH koncentrátu na stabilitu antokyanínov počas skladovania pri  $t = 20^{\circ}\text{C}$*

Aj v týchto koncentrátoch malo zníženie pH na hodnotu 1,0 pozitívny vplyv na stabilitu antokyanínov (obr.2).

Grafickým znázornením údržnosti ACY od dĺžky skladovania je pri hodnote  $\text{pH} = 1,0$  priamka, kým pri vyšších hodnotách pH je grafom polynóm 2.stupňa. O spomalení degradácie antokyanínov okyslením koncentrátov na  $\text{pH} 1,0$  svedčí tiež hodnota polčasu rozpadu ACY, ktorá je v koncentrátoch s  $\text{pH} = 1,0$   $\sigma_{1/2} = 105$  dní, kým pri prirodzenom pH je podstatne nižšia ( $\sigma_{1/2} = 55$  dní). Aj okyslenie koncentrátu na  $\text{pH} = 3,0$  znižuje rýchlosť degradácie ACY ( $\sigma_{1/2} = 66$  dní). Antokyanínové farbivá sú veľmi nestále a rýchle sa rozkladajú predovšetkým pri vyšších teplotách a v prostredí s vyššími hodnotami pH. V modelových roztokoch v prostredí o  $\text{pH} 2 - 7$  sa antokyaníny vyskytujú v troch formách, pričom ich rovnováha je ovplyvňovaná skutočnou hodnotou pH [15]. Výpočtom sa zistilo, že údržnosť antokyanínov je po 7 týždňoch skladovania pri prirodzenom pH 57,12 %,  $\text{pH}_3$  57,92 % a  $\text{pH}_1$  71,19 %.



Obr.2. Závislosť údržnosti antokyanínov v koncentrátoch z enzymaticky neopracovanej šťavy skladovaných pri rôznych hladinách pH ( $20^{\circ}\text{C}$ ). T - dĺžka skladovania, ACY - antokyaníny.  
 Fig.2. Dependence of shelf life of anthocyanins in concentrates not enzymatically worked and stored at various pH levels ( $20^{\circ}\text{C}$ ). T - time of storage, ACY - anthocyanins.

*c) Vplyv pH koncentrátu na stabilitu antokyanínov  
počas skladovania pri  $t = 37^{\circ}\text{C}$*

Údaje o FO a údržnosti antokyanínov sú v tab.1.

Vysoká degradácia ACY je dôsledkom termolability antokyanínov, ktorá so zvyšovaním teploty narastá. Pri  $t = 37^{\circ}\text{C}$  je do 33 dní skladovania najstabilnejší koncentrát s pH 1,0. Miernejšie okyslenie koncentrátu na pH 3 sa v tomto sledovanom intervale prejavilo negatívne vzhľadom na koncentrát s prirodzeným pH. Avšak pri dlhšom skladovaní je úbytok antokyanínov výraznejší pri hodnote pH 1. Štiepenie glykozidov na aglykóny vplyvom teploty je pri hodnote pH 1 umocnené deštrukciou sacharidovej zložky kyslou hydrolýzou, čo vytvára podmienky pre tvorbu hnedo sfarbených produktov Maillardovými reakciami [15]. Dôkazom toho je fakt, že po 50 dňoch je údržnosť antokyanínov v koncentrátoch s prirodzeným pH 19,01 %, pH<sub>3</sub> 11,29 % a pH<sub>1</sub> 4,91 %.

Tabuľka 1. Hodnoty farebného odtieňa a údržnosti antokyanínov v koncentrátoch z enzymaticky neopracovanej šťavy skladovaných pri rôznych hladinách pH ( $37^{\circ}\text{C}$ ).

Table 1. Values of colour tone and shelf life of anthocyanins in concentrates from juice not enzymatically worked and stored at various pH levels ( $37^{\circ}\text{C}$ ).

dĺžka skladovania <sup>1</sup> [dni]	FAREBNÝ ODTIEŇ <sup>2</sup>			ANTOKYANÍNY <sup>3</sup> [%]		
	pH 1	pH 3	pH 5,3	pH 1	pH 3	pH 5,3
0	3,09	2,96	3,19	100,0	100,0	100,0
7	2,81	2,54	3,04	79,5	66,1	65,6
14	2,40	2,29	2,81	75,0	36,8	58,3
21	2,15	1,93	2,51	61,5	27,5	36,0
26 <sup>a</sup>	2,00	1,55	2,47	45,3	23,1	32,0
33 <sup>b</sup>	1,52	1,41	2,07	31,8	17,6	27,1
41 <sup>c</sup>	1,43	1,35	1,73	21,7	15,4	26,8
48 <sup>d</sup>	1,12	1,29	1,74	15,8	12,8	19,6

a - pre koncentráty s pH<sub>3</sub> 28 dní, b - pre koncentráty s pH<sub>3</sub> 34 dní, c - pre koncentráty s pH<sub>3</sub> 42 dní, d - pre koncentráty s pH<sub>3</sub> 49 dní.

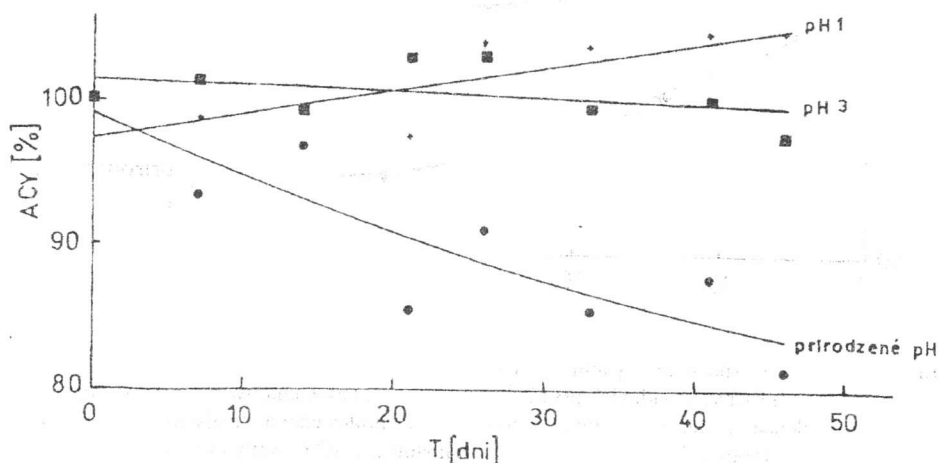
1 - time of storage, 2 - colour tone, 3 - anthocyanins, a - for concentrates with pH<sub>3</sub> 28 days, b - for concentrates with pH<sub>3</sub> 34 days, c - for concentrates with pH<sub>3</sub> 42 days, d - for concentrates with pH<sub>3</sub> 49 days.

## 2. Koncentráty z enzymaticky opracovanej šťavy

### a) Vplyv pH koncentrátu na stabilitu antokyanínov počas skladovania pri $t = 4^{\circ}\text{C}$

Prehľad o údržnosti ACY poskytuje obr.3.

Pri prirodzenom pH sa účinok enzýmu výrazne neprejavil (obr.3), degradácia antokyanínov prebieha takmer súhlasne s koncentrátom z čerstvej šťavy. Aj zníženie pH na hodnotu 3,0 viedlo k zamedzeniu degradácie antokyanínov podobne ako v koncentrátoch z čerstvej šťavy. Podstatne sa odlišuje priebeh údržnosti antokyanínov v koncentráte s pH<sub>i</sub> pripravenom z enzymaticky opracovanej šťavy resp. zo šťavy bez enzýmu. Na rozdiel od koncentrátu z čerstvej šťavy s kolísaním údržnosti antokyanínov okolo hodnoty 96,5 %, v koncentráte z enzýmovej šťavy absorbancia v absorpčnom maxime pri pH = 1,0 v 26. dni skladovania stúpa, v dôsledku čoho údržnosti ACY dosahujú hodnoty nad 100 % (obr.3). Môže to byť spôsobené tvorbou kondenzačných produktov.

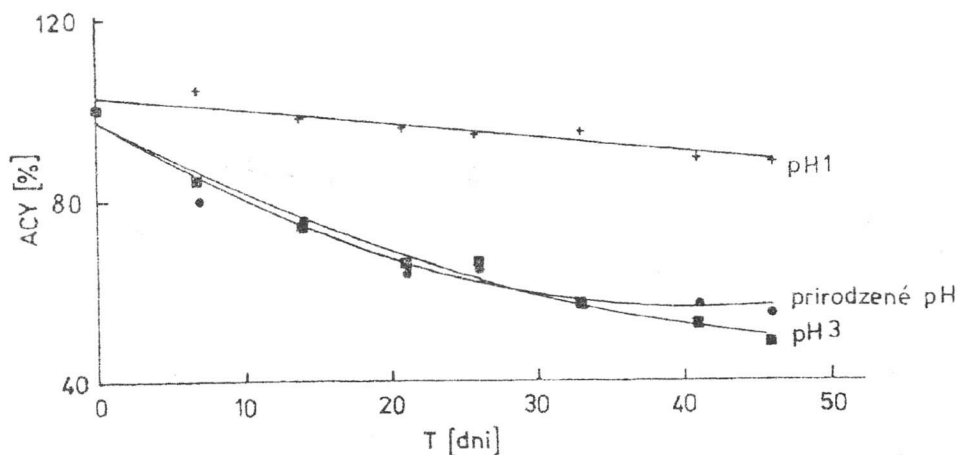


Obr.3. Závislosť údržnosti antokyanínov v koncentrátoch z enzymaticky opracovanej šťavy skladovaných pri rôznych hladinách pH ( $4^{\circ}\text{C}$ ). T - dĺžka skladovania, ACY - antokyaníny.

Fig.3. Dependence of shelf life of anthocyanins in concentrates enzymatically worked and stored at various pH levels ( $4^{\circ}\text{C}$ ). T - time of storage, ACY - anthocyanins.

*b) Vplyv pH koncentrátu na stabilitu antokyanínov počas skladovania pri  $t = 20^{\circ}\text{C}$*

Rýchlosť degradácie antokyanínov závisí od intenzity okyslenia koncentrátov. Kým mierne zníženie pH na hodnotu 3,0 sa na stabilite antokyanínov výrazne neprejaví, pri pH 1,0 sa dosiahne zvýšenie stability koncentráту v porovnaní s koncentrátom s prirodzeným pH. Po 7 týždňoch je údržnosť antokyanínov s prirodzeným pH 57,18 %, pH<sub>3</sub> 48,52 % a pH<sub>1</sub> 87,13 % (obr.4). Príprava koncentráту z enzymaticky ošetrenej šťavy je teda výhodná nielen z dôvodu zvýšenia výťažnosti štiav a farbív [14], ale tiež preto, že sa dosiahne zvýšenie údržnosti antokyanínov o 15,94 % v porovnaní s koncentrátom bez enzýmu skladovanom za rovnakých podmienok počas 7 týždňov (pH = 1,0, 20°C).



Obr.4. Závislosť údržnosti antokyanínov v koncentrátoch z enzymaticky opracovanej šťavy skladovaných pri rôznych hladinách pH (20°C). T - dĺžka skladovania, ACY - antokyaníny.

Fig.4. Dependence of shelf life of anthocyanins in concentrates enzymatically worked and stored at various pH levels (20°C). T - time of storage, ACY - anthocyanins.



*c) Vplyv pH koncentrátu na stabilitu antokyanínov počas skladovania pri  $t = 37^{\circ}\text{C}$*

V tab.2 sú hodnoty FO a údržnosti ACY pre jednotlivé druhy koncentrátov.

Do 26. dňa skladovania sa zníženie pH na hodnotu 1,0 prejavilo pozitívne na stabilite antokyanínov, okyslenie na pH 3 naopak pôsobilo negatívne vzhľadom na koncentrát s prirodzeným pH. Avšak počas ďalšieho skladovania je najstabilnejší koncentrát s prirodzeným pH. Po uplynutí 50 dní skladovania je údržnosť ACY v koncentrátoch s prirodzeným pH 18,21 %, pH<sub>3</sub> 5,16 a pH<sub>1</sub> 22,49 %. Enzymatickým ošetrovaním drvinu bazy chabzdovej sa zvýšila údržnosť ACY po 7 týždňoch skladovania v koncentráte s pH<sub>1</sub> o 17,58 %.

Tabuľka 2. Hodnoty farebného odtieňa a údržnosti antokyanínov v koncentrátoch z enzymaticky opracovanej šťavy skladovaných pri rôznych hladinách pH ( $37^{\circ}\text{C}$ ).

Table 2. Values of colour tone and shelf life of anthocyanins in concentrates from juice enzymatically worked and stored at various pH levels ( $37^{\circ}\text{C}$ ).

dĺžka skladovania <sup>1</sup> [dni]	FAREBNÝ ODTIEŇ <sup>2</sup>			ANTOKYANÍNY <sup>3</sup> [%]		
	pH 1	pH 3	pH 5,3	pH 1	pH 3	pH 5,3
0	3,04	3,07	3,06	100,0	100,0	100,0
7	2,34	2,48	2,43	88,6	59,2	59,9
14	2,12	2,19	2,48	76,2	40,0	48,2
21	2,03	2,02	2,07	58,9	29,1	38,7
26	1,92	1,76	2,25	42,5	23,8	36,0
33	1,33	1,44	1,85	25,9	19,7	33,6
41	1,16	1,31	1,75	18,8	17,6	29,2
48	1,14	1,27	1,76	17,2	12,5	22,1

1 - time of storage, 2 - colour tone, 3 - anthocyanins.

### 3. Koncentrát z ultrafiltrovanej šťavy

Tento druh štiav sa ukázal nevhodný na prípravu koncentrátov. Pri všetkých spôsoboch skladovania bola v porovnaní s koncentrátmi z čerstvej a enzymaticky opracovanej šťavy degradácia antokyanínov najvyššia. Odseparovaním vysokomolekulových látok prietokom šťavy cez membránu PL-20 sa narušila stabilita systému. Potvrdil sa fakt, že stabilita antokyanínov závisí od prostredia, v ktorom sa vyskytujú [12]. V koncentrátoch skladovaných pri 20°C je už za 21 dní údržnosť ACY pomerne nízka. Pri prirodzenom pH 52,4 %, pH<sub>3</sub> 50 % a pH<sub>1</sub> 48,7 %. V koncentrátoch z čerstvej šťavy sú tieto hodnoty v závislosti od pH 66,2 - 88,2 % a z enzymaticky ošetrenej šťavy 63,8 - 95,5 %.

Záverom možno konštatovať, že na stabilizáciu antokyanínov bazy chabzdovej sa najviac osvedčilo zahustenie enzymaticky opracovaných štiav okyslených na pH 1 s kyselinou fosforečnou na Rf 50 - 60 % a skladovanie takto pripraveného koncentráту pri 4°C. Dobrá stabilita tohoto typu koncentrátu je tiež pri teplote skladovania 20°C.

#### *Použité skratky*

ACY	antokyaníny
FO	farebný odtieň

#### Literatúra

1. HAVLÍKOVÁ, L. - MÍKOVÁ, K.: Prům. Potr., 36, 1985, s.578.
2. DRDÁK, M. - MALÍK, F. - ŠILHÁROVÁ, A. - GREIF, G.: Bulletin PV, 22(2), 1983, s.30.
3. FRESOV, K. - DEEVA, S.: Karan. Prom., 36, 1987, s.5.
4. MAZZA, G. - BROVILLARD, R.: Food Chemistry, 25, 1987, s.207.
5. TEH, L.S. - FRANCIS, F.J.: J. Food Sci., 53, 1988, s.1580.
6. BASSA, I.A. - FRANCIS, F.J.: J. Food Sci., 52, 1987, s.1753.
7. HAVLÍKOVÁ, L. - MÍKOVÁ, K.: Z. Lebensm. - Unters. Forsch., 181, 1985, s.427.
8. LACHMAN, L. - PIVEC, V. - HAKR, F. - ŘEHÁKOVÁ, V.: Potravinářské Vědy, 9, 1991, s.287.
9. SIMS, C.A. - MORRIS, J.R.: Am. J. Enol. Vitic., 36, 1985, s.181.
10. MOK, C. - HETTIARACHCHY, N.S.: J. Food Sci., 56, 1991, s.553.
11. BRONUM-HANSEN, K. - FLINK, J.M.: J. Food. Technol., 20, 1985, s.713.

12. PLOCHARSKI, W. - ZBROSCZYK, J.: *Fruit Sci. Rep.*, 16, 1989, s.33.
13. FULEKI, T. - FRANCIS, F.J.: *J. Food Sci.*, 33, 1968, s.78.
14. KOVÁČOVÁ, M. - PRÍBELA, A. - KOZÁROVÁ, I.: *Bulletin PV*, 31(11), 1992, s.217.
15. DAVÍDEK, J. - JANÍČEK, G. - POKORNÝ, J.: *Chemie potravin*, Praha SNTL, 1983, 632 s.

Do redakcie došlo 13.8.1993.

### **Temperature and pH effect on anthocyanin pigments stability in danewort concentrates**

#### **Summary**

The fit form of danewort anthocyanins stabilization is their storage in the form of juice concentrates with Rf = 50 -60 %. Good shelf life of anthocyanins is achieved by the optimization of juice modification before concentration and storage conditions (temperature, pH). High stability is showed by concentrates stored at 4°C. The anthocyanins shelf life in concentrates at 20°C is dependent on acidulation intensity. pH reduction to the value of 1,0 act positively on anthocyanins stability considering the concentrate with natural pH (5,3). A concentrate with enzymatically worked juice (celulase) has the shelf life of anthocyanins after 7 weeks of storage about 15,94 % higher in comparison with the concentrate from fresh juice at the same storage conditions (pH = 1,0, 20°C).