

Vplyv organických kyselín na stabilitu betanínu

ROLANDO CRUZ ALTAMIRANO—MILAN DRDÁK—PETER ŠIMON
—ALICA RAJNIAKOVÁ—JOLANA KAROVIČOVÁ

Súhrn. V modelových roztokoch kyseliny octovej, mliečnej, vínnej a citrónovej (pH 5.4) sa sledoval rozklad betanínu pri teplote 75 °C v pravidelných časových intervaloch. Z nameraných hodnôt sa vypočítali kinetické parametre (rýchlostná konštanta, polčas rozkladu) pre reakciu 1. poriadku klasickou metódou a rozpracovanou Guggenheimovou metódou. Druhou metódou sa odstránila systematická chyba (absorbancia reakčných produktov), čo sa prejavilo na hodnotách kinetických parametrov a na hodnote korelačných koeficientov. Vypočítané rýchlostné konštanty boli v druhom prípade približne dvakrát väčšie ako pri klasickej metóde. Za daných podmienok sa neprejavil vplyv aniónu kyselín na rýchlosť rozkladu betanínu, ale iba vplyv protónu.

Bohatým zdrojom prírodných farbív je červená repa (*Beta vulgaris* var. *rubra*). Skupina farbív v červenej repe sa označuje ako betalainy (červené farbivá — betakyaníny, žlté farbivá — betaxantíny). Červené farbivá predstavuje červenofialový betanín, ktorý prezentuje 75—95 % všetkých farbív. Ďalšími červenými farbivami sú izobetánin, prebetánin a izoprebetánin.

Stabilitu betanínu ovplyvňuje pH prostredia, teplota, kyslík, svetlo a vodná aktivita [1—9]. Doteraz publikované práce pokladajú za najdôležitejší vplyv pH prostredia v rozmedzí 3—7. Uvedení autori sa zhodujú na priebehu reakcie podľa kinetiky 1. poriadku.

V predkladanej práci sme sa zamerali na štúdium vplyvu organických kyselín na stabilitu betanínu. Kyselina izoaskorbová a *L*-askorbová sa použili v publikovaných prácach vzhľadom na ich antioxidačné pôsobenie v modelovom systéme [10, 11]. Skúmali sme vplyv kyseliny octovej, vínnej, citrónovej a mliečnej na deštrukciu betanínu v oblasti jeho najvyššej stability (pH hodnota okolo 5) ako bežných potravinárskych kyselín.

Ing. Rolando Cruz Altamirano, CSc., doc. Ing. Milan Drdák, DrSc., Ing. Alica Rajniaková, CSc., Ing. Jolana Karovičová, CSc., Katedra sacharidov a konzervácie potravín, Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

Ing. Peter Šimon, CSc., Katedra fyzikálnej chémie, Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

Materiál a metódy

Izolácia betanínu

Na izoláciu betanínu sme použili modifikovanú metódu [12]. Pred izoláciou sme využili postup výroby koncentráту farbív z červenej repy, ktorý sme vypracovali [13]. Postup pozostáva z rozdrvenia červenej repy, lisovania, odstredenia (3000 min^{-1} , pasterizácie ($90\text{--}95^\circ\text{C}$, 1 min) a fermentácie. Pasterizovanú šťavu sme inokulovali 5 % *Saccharomyces oviformis* (Tokaj 76 D V 10-25-34) zo zbierky KVUVV v Bratislave. Fermentácia šťavy po úprave pH na 5,5 a pri teplote 28°C trvala 48 h. Po odstredení sme šťavu koncentrovali pri 40°C na 1/5 pôvodného objemu. Koncentrát farbív sme rozdelili na kolónie Sephadexu G-25 ($40 \times 360 \text{ nm}$). Farbivá sme eluovali 1 % kyselinou octovou a rozdelili na 5 frakcií. Prvá reprezentovala skupinu žltých dusíkatých farbív (vulgaxantíny). Druhá frakcia bola červená až červenofialová a pozostávala z betanínu a izobetanínu. Tretiu frakciu predstavovala zmes aglykónov betanidínu. Tretiu frakciu predstavovala zmes aglykónov betanidínu a izobetanidínu. Poslednú zónu tvorila kyselina betalámová [14]. Izolovanú betanínovú frakciu sme odparili pri 25°C vo vákuovej odparke a koncentrát lyofilizovali (Leybold-Heraeus GT-2). Suchý preparát sme potom rekryštalizovali 0,2 % HCl pri 4°C . Čistotu betanínu sme overili stanovením absorpčného koeficientu $A_{1\text{ cm}}^{1\%} = 1160$ (Specord UV/VIS, Carl Zeiss, Jena).

Príprava vzoriek

Betanín sme rozpustili v redetilovanej vode, ktorej pH sme upravili na hodnotu 5,4 zodpovedajúcou kyselinou (octová, mliečna, citrónová, vínna). Pripravené vzorky po vytvorení N_2 atmosféry sme po uzatvorení zahrievali pri 75°C ($\pm 0,1$).

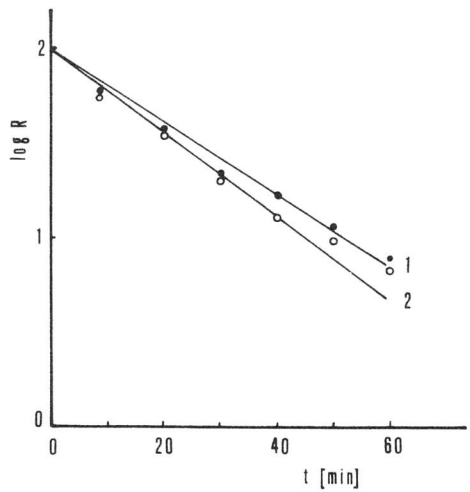
Sledovanie úbytku betanínu

Absorbanciu sme merali pri 537 nm (Spekol 11, Carl Zeiss, Jena) na začiatku a v konštantných časových intervaloch v 1 cm kyvetách.

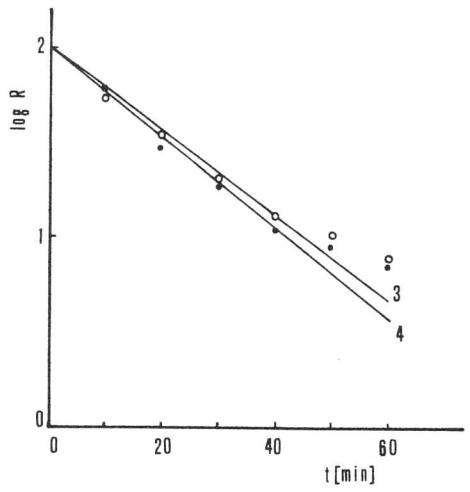
Výsledky a diskusia

Z hľadiska posúdenia stability prírodných farbív je dôležité sledovanie ich úbytku na základe kinetických meraní. Výsledky štúdie termodeštrukcie betanínu pri 75°C pri konštantnej hodnote pH (5,4) docielenej v potravinárstve

využívanými kyselinami sú znázornené na obr. 1 (kyselina citrónová a vínna) a na obr. 2 (kyselina octová a mliečna). Priebeh zmien je na obrázkoch kvôli lepšej ilustrácii znázornený v tvare $\log R = f(\tau)$, kde R je retencia betanínu a τ je



Obr. 1. Priebeh zmien retencie betanínu počas záhrevu pri 75 °C v prítomnosti kyseliny citrónovej (1) a vínnej (2).
Fig. 1. Time behaviour of betanine retention during the heating at 75°C in the presence of citric (1) and tartaric (2) acid.



Obr. 2. Priebeh zmien retencie betanínu počas záhrevu pri 75 °C v prítomnosti kyseliny mliečnej (3) a octovej(4).
Fig. 2. Time behaviour of betanine retention during the heating at 75°C in the presence of lactic (3) and acetic (4) acid.

čas záhrevu. Priebeh závislosti, ako aj testovanie priebehu funkcie potvrdilo predpoklad reakcie 1. poriadku. Z nameraných hodnôt úbytku betanínu sme vypočítali rýchlostné konštanty (reakcia 1. poriadku) a polčas rozkladu $\tau_{1/2}$. Výsledky spolu s korelačným koeficientom za predpokladu lineárneho priebehu sú zhrnuté v tab. 1.

Tabuľka 1. Rýchlostné konštanty k , polčasy rozkladu $\tau_{1/2}$ a korelačné koeficienty r_k pre tepelnú degradáciu (75°C) betanínu v modelových roztokoch kyselín pre klasickú a Guggenheimovu metódu

Table 1. Rate constants k , half-life periods $\tau_{1/2}$ and correlation coefficients r_k related to the thermal degradation (75°C) of betanine in model acid solutions for classical and Guggenheim method

Kyselina ³	Klasická metóda ¹			Guggenheimova metóda ²		
	$k \cdot 10^3$ [min ⁻¹]	$\tau_{1/2}$ [min]	r_k	$k \cdot 10^3$ [min ⁻¹]	$\tau_{1/2}$ [min]	r_k
octová ⁴	29.85 ± 3.47	23.22	-0.9441	59.97 ± 4.27	11.55	-0.9803
mliečna ⁵	30.37 ± 2.91	22.82	-0.9610	55.08 ± 2.07	12.58	-0.9944
vínna ⁶	28.89 ± 2.99	23.99	-0.9549	53.28 ± 4.06	13.01	-0.9775
citrónová ⁷	31.20 ± 2.52	22.22	-0.9719	54.29 ± 2.60	12.77	-0.9910

1 — Classical method, 2 — Guggenheim method, 3 — Acid, 4 — Acetic acid, 5 — Lactic acid, 6 — Tartaric acid, 7 — Citric acid.

Výsledky získané klasickou metódou a ich hodnoty pre rýchlostnú konštantu a polčas rozkladu zodpovedajú doteraz nameraným hodnotám [8, 9] s tým, že uvažujú známu počiatočnú koncentráciu betanínu.

V tab. 1 pre porovnanie uvádzame i výsledky získané Guggenheimovou metódou. Pri meraní kinetických parametrov sme totiž zistili, že po určitom časovom intervale, ktorý s najväčšou pravdepodobnosťou zodpovedá úplnému odbúraniu červených farbív, sa hodnota absorbancie v dlhšom časovom intervale nemení a je 0,05. Potom teda celkovú absorbanciu A možno vyjadriť ako sumu absorbancie betanínu a degradačných produktov.

$$A = A_b + A_p, \quad (1)$$

kde A_b a A_p sú hodnoty absorbancie pre stav betanínu a produktov. Rovnicu (1) možno prepísať na tvar

$$A = \varepsilon_b C_b l + \varepsilon_p C_p l, \quad (2)$$

kde ε_b a ε_p sú absorpčné koeficienty betanínu a produktov, C_b a C_p sú zodpovedajúce koncentrácie a l je hrúbka kvety. Celkovo možno rozklad betanínu vyjadriť rovnicou



čo je zrejmé, keď C_b a C_p sú spojené vzťahom

$$C_b + C_p = C_0, \quad (4)$$

kde C_0 je počiatočná koncentrácia betanínu. Kombináciou rovnice (2) a (4) sme získali vzťah

$$A = (\varepsilon_b - \varepsilon_p) C_b l + \varepsilon_p C_0 l. \quad (5)$$

Za predpokladu, že rozklad betanínu sa riadi reakciou 1. poriadku prechádza posledná rovnica na tvar

$$A = (\varepsilon_b - \varepsilon_p) l C_0 e^{-k\tau} + \varepsilon_p C_0 l, \quad (6)$$

kde k je rýchlostná konštanta rozkladu betanínu. Podmienka pre stanovenie betanínu je výber podmienok keď $\varepsilon_b \gg \varepsilon_p$. Vtedy na začiatku rozkladu, keď $\tau \rightarrow 0$, je druhý člen zanedbateľný a rozklad sa riadi reakciou 1. poriadku. Na konci reakcie, pre $\tau \rightarrow \infty$, prvý člen v rovnici (6) zaniká a absorbancia má konštantnú hodnotu. Najjednoduchšie získanie rýchlostnej konštanty z rovnice (6) je výpočet diferencie.

$$A_1 - A_2 = (\varepsilon_b - \varepsilon_p) l C_0 (1 - e^{-k\Delta\tau}) e^{-k\tau}, \quad (7)$$

kde A_1 je absorbancia v čase τ a A_2 je absorbancia v čase $(\tau + \Delta\tau)$. Závislosť $\ln(A_1 - A_2) = f(\tau)$ bude lineárna, keď smernica má negatívnu hodnotu rýchlostnej konštanty a úsek na súradnicovej osi je $\ln(\varepsilon_b - \varepsilon_p) l C_0 (1 - e^{-k\Delta\tau})$. Časový interval pri meraní absorbancie musí byť konštantný (splnená podmienka stanovenia betanínu). Táto metóda je známa pre priebeh reakcie 1. poriadku ako Guggenheimova metóda [15]. Treba však povedať, že uvedená metóda bola odvodená pre priebeh reakcie 1. poriadku pre neznámu počiatočnú koncentráciu. V našom prípade sme sledovali odstránenie systematickej chyby vyvolanej absorbanciou degradačnými produktmi.

Z tab. I vidieť, že rýchlostná konštanta je približne dva razy väčšia pre rozpracovanú Guggenheimovu metódu v porovnaní s klasickou metódou. Odstránenie systematickej chyby, vylúčenie počiatočnej koncentrácie (v prvom časovom úseku sa môžu čiastočne prejaviť ďalšie vplyvy urýchľujúce rozklad betanínu) viedli k tomu, že vypočítaný korelačný koeficient pre Guggenheimovu metódu je vo všeobecnosti vyšší ako pri klasickej metóde.

Záverom treba uviesť, že v skúmaných systémoch rôznych kyselín v oboch prípadoch sa nenašiel štatisticky významný vplyv použitej kyseliny na rýchlostnú konštantu a polčas rozkladu. Možno teda povedať, že v oblasti hodnoty pH najvyššej stability betanínu nie je rozhodujúci zdroj protónu pre rozklad betanínu a taktiež rôzny anión kyseliny sa za daných podmienok experimentu významne neprejavil.

Literatúra

1. von ELBE, J. H.—MAING I.—AMUNDSON, C. H., *J. Food Sci.*, **39**, 1974, s. 334.
2. von ELBE, J. H., *Food Technol.*, **5**, 1975, s. 42.
3. WALFORD, I., *Development in Food Colours*. London, Applied Science Publishers, Ltd. 1980, 259 s.
4. PASCH, J. H.—von ELBE, J. H., *J. Food Sci.*, **40**, 1975, s. 1145.
5. SAGUY, I., *J. Food Sci.*, **44**, 1979, s. 1554.
6. SAGUY, F.—GOLDMAN, M., *J. Food Sci.*, **49**, 1984, s. 99.
7. DRDÁK, M.—NAŠČÁKOVÁ, M., *Bull. Potr. Výsk.*, **23 (3)**, 1984, č. 4, s. 313.
8. DRDÁK, M.—VALLOVÁ, M.—GREIF, G. et al., *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.*, **190**, 1990, s. 121.
9. DRDÁK, M.—VALLOVÁ, M., *Die Nahrung*, **34**, 1990, č. s. 307.
10. ATTOE, E.—von ELBE, J. H., *J. Food Sci.*, **50**, 1985, s. 106.
11. MUSCHIOLIK, G.—SCHAMNDKE, H., *Die Nahrung*, **22**, 1978, 7, s. 637.
12. ADAMS, J. P.—von ELBE, J. H.—AMUNDSON, C. H., *J. Food Sci.*, **41**, 1976, s. 78.
13. DRDÁK, M.—NAŠČÁKOVÁ, M., Patent 225529 (1985).
14. DRDÁK, M.—VALLOVÁ, M.—DAUČÍK, P. et al., *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.*, **108**, 1989, s. 547.
15. LAIDLER, K. J.: *Chemical Kinetics*. London, McGraw-Hill, 1965, 48 s.

Do redakcie došlo 11. 9. 1991

Organic acids influence on the betanine stability

Summary

In the model solutions of acetic, lactic, tartaric and citric acids (pH 5.4), betanine degradation at 75°C in regular time intervals has been investigated. From the measured values, kinetic parameters (reaction rate constant, half-life period) were calculated for first-rate reaction by help of classical method and in process of completion Guggenheim method. Application of second mentioned method resulted in the elimination of systematic error (reaction products absorbance), being reflected in the values of kinetic parameters and correlation coefficients. In the second case, calculated rate constants were approximately two times higher comparing with classical method. Under stated conditions, anion acid influence on betanine degradation rate did not show up, but only proton influence did.

Влияние органических кислот на стабильность бетанина

Резюме

В модельных растворах уксусной, молочной, винной и лимонной кислот (рН 5,4) исследовалось разложение бетанина при температуре 75°C ($\pm 0,1$) в регулярных интервалах времени. Из полученных данных вычислились кинетические параметры (скоростная константа, период полураспада) для реакции I. порядка классическим методом и разработанным методом Гугенгеима. Вторым методом устранилась систематическая ошибка (доля поглощенного света продуктов реакции), что показалось на величине кинетических параметров и на величину коэффициентов корреляции. Вычисленные константы скорости были во втором случае приблизительно два раза выше, чем у классического метода. При этих условиях не проявилось влияние аниона кислот на скорость разложения бетанина, только влияние протона.