

Obsah antokyanínov v odrodách červených a čiernych ríbezlí

ALEXANDER PRÍBELA – CECÍLIA DANIŠOVÁ – SLÁVKA JEDLIČKOVÁ –
LADISLAV PECHO

Súhrn. Sledoval sa obsah antokyanínov v niektorých známych a novošľachtených odrodách červených a čiernych ríbezlí. Z červených odrôd mali relatívne vysoký obsah antokyanínov Jonkheer van Tet's a Tatran – vyše 400 mg/kg, v odrodách Detvan – 286 mg/kg, BO-80 – 240 mg/kg a v odrode BO-84 iba 160 mg/kg. Z čiernych ríbezlí obsahuje odroda BO 539 a BO 663 vyše 4000 mg/kg antokyanínov, zatiaľ čo Otelo a Roodknop vyše 2500 mg/kg. Z antokyanínov najbohatšie zastúpené boli delfinidín-3-rutinozid 40–60 %, kyanidín-3-rutinozid 30–35 %, v menších množstvách kyanidín-3-glukozid a delfinidín-3-glukozid.

Pre priemyslové spracovanie, ale aj zužitkovanie bobuľových plodov v domácnosti sú významné odrody červených a čiernych ríbezlí, bohaté na antokyanínové farbivá. Preto sa šľachteniu ovocných plodín venuje veľká pozornosť aj z hľadiska obsahu senzoricky aktívnych zložiek, najmä cukrov, kyselín, trieslovín a farebných zložiek.

O obsahu antokyanínových farbív v červených a čiernych ríbezliach v jednotlivých odrodách je v literatúre pomerne málo údajov [1–7]. Kým v odrodách čiernych ríbezlí sa zistilo od 670 do 2450 mg/kg antokyanínov [5, 6], v odrodách červených ríbezlí sa uvádza 84 až 280 mg/kg antokyanínov [3]. Pomerne rozdielne sú aj údaje o identifikovaných antokyanínoch v červených a čiernych ríbezliach. V oboch druhoch sa zistili rovnaké tri antokyaníny: kyanidín-3-rutinozid, kyanidín-3-glukozid a delfinidín-3-glukozid [3], navyše sa v červených ríbezliach identifikovali ešte štyri antokyaníny: kyanidín-3-xylo-rutinozid, kyanidín-3-glukozylrutinozid, kyanidín-3-sambubiozid a kyanidín-3-soforozid [1–3]. V čiernych sa identifikovali ešte tri antokyaníny: kyanidín-3,5-diglukozid, delfinidín-3-rutinozid a delfinidín-3,5-diglukozid [1, 3].

Prof. Ing. Alexander Príbelá, DrSc., Ing. Cecília Danišová, Ing. Slávka Jedličková,
Katedra chémie a technológie sacharidov a potravín, Chemickotechnologická fakulta SVŠT,
Radlinského 9, 812 37 Bratislava

RNDr. Ladislav Pecho, VÚ OOD, 927 01 Bojnice.

Podávame výsledky o obsahu antokyanínov v niektorých osvedčených a niektorých novších odrodách červených a čiernych ríbezlí.

Experimentálna časť

Materiál

Na analýzy sme použili vzorky červených ríbezlí odrôd označených Detvan, Jonkheer van Tet's, Tatran, BO-80 a BO-84, z čiernych odrôd Otelo, Roodknop, BO-539 a BO 663. Vzorky sme získali z VÚ OOD v Bojniciach. Plody sme zmrazili na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a skladovali pri $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Metódy

Stanovenie celkových antokyanínov. Zmrazené ovocie sa nechá rozmraziť pri 4 až $6\text{ }^{\circ}\text{C}$ 18 h. Celé množstvo vzorky sa postupne homogenizuje v mixéri pri frekvencii 6–10 tis/min, až sa plody rozdrvia na jemnú konzistenciu. Po dôkladnom premiešaní celej zhomogenizovanej vzorky sa odváži 10 g (červené ríbezle), resp. 5 g (čierne ríbezle) na analytických váhach v uzatvorených odvažovačkách s presnosťou na tri desatinné miesta. Vzorka sa spláchnie do 50 cm^3 kadičky 10 cm^3 okysleného (1 % HCl) metanolu a zahrieva na vodnom kúpeli 5 min. Extrakt sa prefiltruje cez fritu S 4 do 100 cm^3 odmernej banky. Zvyšok z frity sa roztiera v trecej miske opakovane malými dávkami okysleného metanolu a premieša sa. Zo vzorky sa odpipetuje po 10 cm^3 (pri červených ríbezliach), resp. 5 cm^3 (pri čiernych ríbezliach) do dvoch 50 cm^3 odmerných baniek. Do prvej banky sa pridá 35 cm^3 tlmivého roztoku s pH 1,0 (roztok KCl $0,2\text{ mol/dm}^3$ a HCl $0,1\text{ mol/dm}^3$ sa zmiešajú v pomere 25 : 67 obj. dielov), do druhej 35 cm^3 tlmivého roztoku s pH 4,5 (roztok octanu sodného $0,1\text{ mol/dm}^3$, roztok HCl 1 mol/dm^3 a redest. voda sa zmiešajú v pomere 100 : 60 : 90 obj. dielov). Zmeria sa pH roztoku v prvej banke, upraví sa na pH 1,0 prídavkom zriedenej kyseliny chlorovodíkovej (1 : 1) a doplní po značku tlmivým roztokom s pH 1,0. Do druhej banky sa pridá 35 cm^3 tlmivého roztoku s pH 4,5, zmeria sa pH, podľa potreby sa upraví roztokom hydroxidu draselného (30 %) na pH 4,5 a banka sa doplní po značku tlmivým roztokom s pH 4,5. Banky sa po premiešaní vložia na 2 h do tmy (aby sa ustálila rovnováha medzi flavýliovou a karbinolovou formou antokyanínov). Potom sa zmeria spektrum v oboch roztokoch a pri maxime sa odčíta absorbancia.

Obsah celkových antokyanínov c_{AK} v mg/kg sa vypočíta podľa vzťahu

$$c_{AK} = \frac{A \cdot r \cdot 1000 \cdot M_v}{m \cdot l \cdot 28\,000},$$

kde $A = A_{pH\,1} - A_{pH\,4,5}$, r je stupeň riedenia, M_v – rel. molekulová hmotnosť kyanidín-3-rutinozidu (595, ktorý je významnou zložkou antokyanínov ríbezlí, m – návažok vzorky v g, l – hrúbka kvety v cm, 28 000 – molárny absorpčný koeficient kyanidín-3-rutinozidu, 1000 – prepočet na 1 kg ovocia.

Stanovenie degradačného indexu (DI) a farebného odtieňa. Degradáčny index sa vypočíta ako pomer absorbancie roztoku antokyanínov pri pH 1,0 a rozdielu absorbancií pri pH 1,0 a 4,5

$$DI = \frac{A_{pH\,1,0}}{A_{pH\,1,0} - A_{pH\,4,5}}.$$

Ako farebný odtieň roztoku antokyanínov sa označuje pomer absorbancií pri vlnovej dĺžke maximálnej absorbancie a pri vlnovej dĺžke minimálnej absorbancie A_{max}/A_{min} . V našom prípade A_{max} bola pri 519 nm a A_{min} pri 420 nm.

Rozdelenie antokyanínových farbív HPLC. Vylisovanú a prefiltrovanú šťavu ríbezlí sme prečistili cez vymieňače iónov (silne kyslý katex Lewatit S 100 v H^+ -cykle, Bayer SRN). Vymieňač iónov sme nechali napučať 12 h v destilovanej vode, premývali HCl ($c = 2 \text{ mol/dm}^3$ v metanole) a potom vodou odstránili prebytočnú HCl do neutrálnej reakcie. Vymieňačom iónov sme naplnili kolónu $35 \times 150 \text{ mm}$. Na stĺpec sme naniesli 100 cm^3 šťavy a premyli 100 cm^3 vody, tým sa odstránili sprievodné látky. Zachytené antokyaníny sme vytlačili z kolóny 0,1 % HCl v metanole. Eluát sme zahustili na vákuovej odparke pri teplote kúpeľa 40°C . Získaný koncentrát sme použili na rozdelenie vysokoúčinnou kvapalinovou chromatografiou.

Podmienky delenia: HPLC Varian 8500, zapisovač M A-25.

Detektor: spektrofotometer $\lambda = 520 \text{ nm}$.

Kolóna: $150 \times 3,2 \text{ mm}$, náplň Separon SIX C 18, veľkosť častíc $5 \mu\text{m}$.

Dávkovanie: $5 \mu\text{l}$

Mobilná fáza: 20 % metanol – roztok A, 80 % metanol – roztok B, pH mobilnej fázy 1,6 (upravené HCl $0,025 \text{ mol/dm}^3$).

Gradient: začiatok 25 % roztoku B, 1 % min., koniec 75 % roztoku B.

Gradientový čas 5 min, tlak 14 MPa.

Zapisovač: 50 mV, posun papiera 5 mm/min.

Štatistické metódy: Na štatistické hodnotenie výsledkov sme použili interval spoľahlivosti $\bar{x} \pm t s / \sqrt{n}$, kde t = koeficient t pre $\alpha = 0,05$, s = smerodajná odchýlka, n = počet paralelných stanovení.

Ako mieru presnosti sme zvolili relatívnu smerodajnú odchýlku $s_r = s/\bar{x}$.

Korelačný koeficient sme vypočítali podľa vzťahu [8]

$$r = \frac{s(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{s(x - \bar{x})^2 (y - \bar{y})^2}.$$

Výsledky a diskusia

Obsah celkových antokyanínov vyjadrených ako kyanidín-3-rutinozid v niektorých už pestovaných aj novošlachtených odrodách červených a čiernych ríbezlí je v tab. 1.

T a b u l k a 1. Obsah celkových antokyanínov v plodoch červených a čiernych ríbezlí

Table 1. Contents of total anthocyanins in red and black currant fruits

Odrody ¹	Celkové antokyaníny ² [mg/kg]		DI	A_{519}/A_{420}
	$\bar{x} \pm ts/\sqrt{n}$	s_r [%]		
Červené ríbezle ³				
Detvan	285,9 ± 7,3	2,44	1,17	3,2
Jonkheer van Tet's	412,0 ± 11,4	2,23	1,17	3,6
BO-80	239,6 ± 5,7	2,28	1,17	2,4
BO-84	160,1 ± 2,1	1,24	1,32	2,5
Tatran	406,8 ± 5,5	1,08	1,18	3,1
Čierne ríbezle ⁴				
Otelo	2 628,1 ± 29,2	1,06	1,25	5,4
BO 539	4 022,0 ± 110,7	1,73	1,11	5,9
Roodknop	2 561,1 ± 21,6	0,81	1,21	4,2
BO 663	4 390,3 ± 75,8	1,22	1,11	4,5

¹Varieties; ²Total anthocyanins; ³Red currant; ⁴Black currant.

Ako vidno z údajov v tab. 1, obsah antokyanínov v červených ríbezliach sa pohybuje od 160 do 412 mg . kg⁻¹, pričom najbohatšia je holandská odroda Jonkheer van Tet's, ktorá sa pestuje u nás od r. 1976, a Tatran (kríž. Red Lake x Gopertora). Naopak relatívne chudobná na antokyaníny je odroda BO-84. Stredný obsah má Detvan a BO-80. Obsah červených pigmentov závisí aj od stupňa vyzretia plodov a ďalších faktorov. Na analytické účely sa však plody zbierali v technologickej zrelosti, keď sú najvhodnejšie na spracovanie.

Relatívna smerodajná odchýlka, ktorá charakterizuje presnosť stanovenia pre $n = 4$ až 6, pohybuje sa okolo 1 až 2,4 %. Podobne medze intervalu spoľahlivosti ($\bar{x} \pm ts/\sqrt{n}$), ktoré charakterizujú kolísanie výsledkov paralelných stanovení, pohybovali sa od 2 do 17. Ak porovnáme dosiahnuté výsledky v

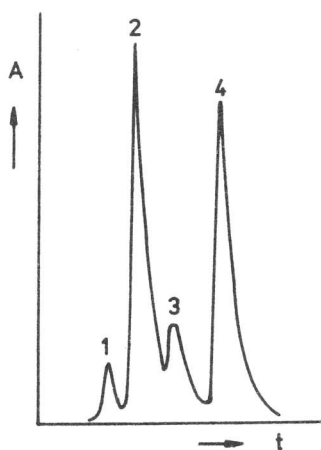
tab. 1 s jediným údajom z literatúry, vidíme, že dve hodnoty presahujú hornú hodnotu obsahu antokyanínov [7].

Oveľa vyšší obsah antokyanínov, a to 10- a viacnásobný, majú skúmané odrody čiernych ríbezlí. Mimoriadne bohaté na antokyaníny sú novošľachtené odrody evidované pod značkou BO 663 a BO 539. Odrody Otel a Roodknop majú asi o 40 % menej antokyanínov než novošľachtené odrody. Relatívne smerodajné odchýlky v čiernych ríbezliach sú asi o polovicu nižšie než pri červených ríbezliach, čo je vysvetliteľné vyšším obsahom antokyanínov. Medze intervalu spoľahlivosti sa pohybujú od 22 do 111.

Pri hodnotení antokyanínov, najmä v procese spracovania ovocia na výrobky, používajú sa ako kritérium úbytku antokyanínov degradačné indexy. V tabuľke 1 vidno, že degradačné indexy v odrodách červených a čiernych ríbezlí sa pohybujú od 1,1 do 1,3, čo zodpovedá stavu čerstvých surovín, Degradáciou antokyanínov sa hodnoty tohto indexu zvyšujú. Farba výrobkov s degradačným indexom do 2,0 je senzoricky prijateľná, pri degradačnom indexe 5 sú výrazne hnedkasté.

Aj tzv. farebný odtieň antokyanínov, udávaný v prípade antokyanínov ríbezlí ako pomer A_{519}/A_{420} , pohybuje sa od 2,4 do 5,9; čím je táto hodnota vyššia, tým je farebný odtieň výrobku červenší. Preto v čiernych ríbezliach sú hodnoty A_{519}/A_{520} vyššie ako v červených.

Okrem celkového obsahu antokyanínov sme extrakty niektorých odrôd rozdelili na jednotlivé antokyaníny (obr. 1).



Obr. 1. Chromatografický záznam rozdeľných antokyanínov z čiernych ríbezlí odrody Roodknop HPLC. 1-4 – čísla jednotlivých antokyanínov.

Fig. 1. Chromatographic recording of anthocyanins from black currant of the variety Roodknop divide using HPLC. 1-4 – numbers of individual anthocyanins.

Obsah jednotlivých frakcií vyjadrených v mg/kg, ako aj ich percentuálne zastúpenie sú uvedené v tab. 2.

Z výsledkov v tab. 2 vyplýva, že zastúpenie jednotlivých oddelených anto-

T a b u l k a 2. Zastúpenie jednotlivých antokyanínov farbív
v ríbezliach

T a b l e 2. Proportion of the individual anthocyanins colours
ins

Odroda ¹		Jednotlivé frakcie antokyanínov ²			
		Ky-3-G	Df-3-R	Df-3-G	Ky-3-R
Čierne ríbezle ³					
BO 663	mg/kg	293.8	2 795.4	1 066.1	235.0
	%	6.7	63.7	24.3	5.3
BO 539	mg/kg	180.3	2 116.2	481.0	1 244.5
	%	4.5	52.6	12.0	30.9
Roodknop	mg/kg	148.4	1 038.9	468.1	905.7
	%	5.8	40.5	18.3	35.4
Otelo	mg/kg	169.3	1 309.6	285.1	864.1
	%	6.5	49.9	10.8	32.8
Červené ríbezle ⁴					
Jonkheer van					
Tet's	mg/kg	21.4	273.5	117.0	–
	%	5.1	66.5	28.4	–

¹Variety; ²Anthocyanins fractions; ³Black currant; ⁴Red currant.

kyanínov je rozdielne. Relatívne najmenej je zastúpená prvá zložka, ktorej obsah sa pohybuje od 4,5 do 6,7 % z celkovej plochy pík. Naopak najväčší podiel, 40–66 %, reprezentuje druhá frakcia. Pomerne malé zastúpenie sme zistili aj vo frakcii 3, ktorej obsah bol 12–28 % z celkovej plochy pík. Štvrtá frakcia mala 31–35 % zastúpenie okrem odrody BO 663, kde jej obsah dosiahol iba 5 %. V odrode Jonkheer van Tet's štvrtá frakcia chýbala. Podľa relatívneho zastúpenia antokyanínov v čiernych ríbezliach podľa Francisa a Andersena [7] možno predpokladať, že pík 1 je kyanidín-3-glukozid, pík 2 je delfinidín-3-rutinozid, pík 3 je delfinidín-3-glukozid a pík 4 je kyanidín-3-rutinozid (pozri obr. 1).

Za týchto predpokladov by bolo správnejšie prepočítavať obsah celkových antokyanínov na delfinidín-3-rutinozid ako prevládajúci antokyanín. Doteraz sme v literatúre nenašli molárny absorpčný koeficient, ktorý je na prepočet potrebný. Z toho vyplýva, že obsah celkových antokyanínov počítaných na kyanidín-3-rutinozid je zaťažený určitou chybou.

Zaujímavé sú poznatky, že medzi obsahom antokyanínov a kyseliny askorbovej je významná korelačná závislosť $r \approx 0,9$, ako sme zistili [9], a to tak v červených, ako aj v čiernych ríbezliach. Približne rovnaký korelačný koeficient sme vypočítali z údajov uverejnených v práci Bloma a Skrede [6]. Možno to vysvetliť tak, že kyselina askorbová a flavanoid rutín – bohato zastúpené najmä v čiernych ríbezliach – majú ochranný účinok na degradáciu antokyanínov.

Záverom možno konštatovať, že obsah antokyanínov v rôznych odrodách čiernych a červených ríbezlí je diferencovaný podľa odrôd. Z hľadiska obsahu antokyanínov sú na spracovanie vhodné najmä holandská odroda Jonkheer van Tet's a novošľachtená odroda Tatran. Z čiernych ríbezlí sa najmä novošľachtené odrody vyznačujú vysokým obsahom antokyanínov, a to vyše 4000 mg/kg.

Do redakcie došlo 12. I. 1989.

Literatúra

1. TIMBERLAKE, C. F. – BRIDLE, P.: Anthocyanins. In: Walford, J.: Development in Food Colours I. London, Appl. Sci. Publ. Ltd 1980.
2. HABORNE, J. B. – HALL, E., Phytochemistry, 3, 1964, s. 453.
3. HUMLE, A. C.: The Biochemistry of Fruits and their Products. London, New York, Academic Press, 1979.
4. CARRENO-DIAZ, R. J. Food Sci., 34, 1969, s. 415.
5. SKREDE, G. – NAES, T. – MARTENS, M., J. Food Sci., 48, 1983, s. 1745.
6. BLOM, H. – SKREDE, G., J. Sci. Food Agric., 35, 1984, s. 332.
7. FRANCIS, G. W. – ANDERSEN, O. M., J. Chromatogr., 283, 1984, s. 45.
8. ECKSCHLAGER, K. – HORSÁK, I. – KODEJŠ, Z.: Vyhodnocování analytických výsledků a metod. Praha, SNTL 1980.
9. PRÍBELA, A. a kol.: Hodnotenie farby ríbezlí, bazy chabzdovej a červených vín. Záv. správa. Bratislava, CHTF SVŠT 1987.

Содержание антоцианинов в сортах красной и черной смородины

Резюме

Наблюдалось за содержанием антоцианинов в некоторых известных и новоселекционных сортах красной и черной смородины. Относительно высокое содержание антоцианинов показывали красные сорта Jonkheer van Tet's и Tatran – более 400 мг/кг, сорта Detvan – 286 мг/кг, BO-80 – 240 мг/кг и сорт BO-84 только 160 мг/кг. У черной смородины содержит сорт BO 539 и BO 663 более 4000 мг/кг антоцианинов, пока Otele и Roodknop более 2500 мг/кг. Из антоцианинов находились прежде всех делфинидин-3-рутинозид с 40 % до 60 %, цианидин-3-рутинозид с 30 %–35 %, меньше цианидин-3-глюкозид и делфинидин-3-глюкозид.

Anthocyanins contents in red and black currant varieties

Summary

The contents of anthocyanins have been studied in some known and newly bred varieties of red and black currant. In the red varieties, relatively high anthocyanin contents were found in the varieties Jonkheer van Tet's and Tatra – more than 400 mg/kg, in the Detvan variety 286 mg/kg, BO-80 240 mg/kg, and in the variety BO-84 only 160 mg/kg. In black currant, the varieties BO 539 and BO 663 contained over 4000 mg/kg anthocyanins, whereas Otelo and Roodknop over 2500 mg/kg. Delphinidine-3-ruthinoside and cyanidine-3-ruthinoside are the anthocyanins which were present in the highest proportions, i. e. 40–60 % and 30–35 %, respectively. Cyanidine-3-glucoside and delphinidine-3-glucoside were present in lower amounts.