

Farbivá bazy čiernej (*Sambucus nigra*)

I. Vlastnosti a stanovenie farbív bazy čiernej

MILAN DRDÁK — GABRIEL GREIF — JANA FARKAŠOVÁ

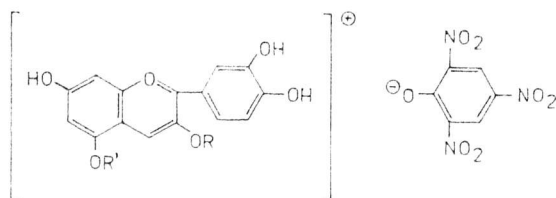
Súhrn. Práca je úvodnou štúdiou do problematiky vlastností a využitia farbív bazy čiernej. Podáva sa informácia o použitej metóde stanovenia antokyánov v surovej šťave bazy čiernej, o vplyve pH na absorpciu roztokov farbív a o podmienkach pre posúdenie farebnej stability meranej na prístroji Momcolor D. Uvádzajú sa základné údaje o degradácii farbív na podklade použitia pH diferenčnej metódy stanovenia antokyánov počas záhrevu pri rôznom pH modelových roztokov.

Cieľom sústredeného úsilia pracovníkov potravinárskeho výskumu je znížiť počet a množstvo prídavkov cudzorodých látok do potravín. Vďaka mnohým námietkam hygienikov sa presne vymedzil okruh prídavných látok do potravín. Výsledkom výhrad proti používaniu syntetických farbív, ktoré nie sú prirodzenou súčasťou požívatín je vzrastajúci záujem o získavanie farbív z prirodzených zdrojov. Z tohto hľadiska sú plody bazy čiernej zaujímavou surovinou.

Podstatnú časť farbív bazy čiernej tvoria antokyány. K prvým prácam, ktoré sa zaoberali farbivami bazy čiernej, patria publikácie Karrera a Widmera [1] a Nolana a Caseya [2]. Výsledkom ich práce je izolácia sambucínchloridu ($C_{27}H_{31}O_{15}Cl$), chryzantemínu a sambucínkyanínu ($C_{47}H_{50}O_{26}Cl_{26}$). Posledný sumárny vzorec predstavuje bimolekulovú zlúčeninu zloženú z chryzantemínu a kyanidínu, pentózy a glukózy. Ďalšie práce sa zaoberajú upresnením štruktúry cukornej zložky a aglykónu [3–8]. Základ cukornej zložky tvorí 0- β -D-xylopyranozyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glukopyranóza a aglykón (antokyánidín), teda zložky, ktoré sa izolovali vo forme pikrátu (obr. 1).

Ak R = glukóza	R' = H	— chryzantemín-pikrát,
R = sambioza,	R' = H	— sambukyanín-pikrát
R = R' = glukóza		— kyanidín 3,5-diglukozyd-pikrát.

Ing. Milan Drdák, CSc., Ing. Gabriel Greif, Ing. Jana Farkašová, Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Jánska 1, 812 37 Bratislava.



Obr. 1. Izolované farbivá bazy čiernej vo forme pikrátov.
Fig. 1 The isolated dyes of common elder in the form of picrates.

Úspešná aplikácia prírodných farbív vyžaduje poznať okrem základných štúdií štruktúry aj konkrétne reakcie a zmeny v prostredí, v ktorom sa budú používať, čo súčasne vyžaduje mať k dispozícii optimálne metódy na dôkaz a stanovenie sledovanej zložky. Predkladaná práca sa zameriava na výber vhodnej metódy stanovenia farbív bazy čiernej, ako aj na ich zmeny vyvolané úpravou pH prostredia a účinkami teploty a času.

Experimentálna časť

Použitý materiál

Plody bazy čiernej sa zbierali pri optimálnej zrelosti (august, september). Pri zbere sa bobule oddeľovali od vrcholíkov. Do spracovania sa plody skladovali v polyetylénových vreckách pri teplote -18°C . Rozmrazená surovina sa po homogenizácii lisovala, šťava sa odstreďovala pri 3000 min^{-1} 15 min, pasterizovala v prietokovom pastéri (95°C , 30 s) a ihneď chladila. Získaná šťava sa po filtrácii a príslušnom riedení tlmivými roztokmi použila vo vlastnej práci.

Tlmivé roztoky

Tlmivé roztoky s $\text{pH} > 2$ sa pripravili z monohydrátu kyseliny citrónovej ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) a dodecylhydrátu hydrogénfosforečnanu sodného ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) a s nižšou hodnotou pH prídavkom HCl . Hodnota pH roztokov sa merala na pH-metri (Acidimeter 323, Dropta, Praha).

Tlmivý roztok na stanovenie antokyánov pH 1 sa pripravil zmiešaním roztokov KCl a HCl v pomere 25 : 67, $c(\text{KCl}) = 0,2\text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ a $c(\text{HCl}) = 0,2\text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$; pH 4,5 zmiešaním roztoku octanu sodného, HCl a vody v pomere 100 : 60 : 90, $c(\text{CH}_3\text{COONa}) = 1\text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, $c(\text{HCl}) = 1\text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$.

Metóda stanovenia farbiív

V práci sa overila vhodnosť používania pH-diferenčnej metódy Fulekiho a Francisa [9, 10] na stanovenie antokyánov bazy čiernej. Metóda sa zakladá na meraní absorpcie roztokov farbiív pri pH 1 a 4,5. Ak poznáme priemerné absorpčné koeficienty A_1 cm, obsah antokyánov vo vzorke sa vypočíta podľa vzťahov

$$X = \frac{\Delta A \cdot 100}{7,75}, \quad \begin{aligned} \Delta A &= A_1 - A_{4,5} \\ A_1 &= A \cdot R, \\ A_{4,5} &= A \cdot R, \end{aligned}$$

kde X je množstvo antokyánov ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$), A_1 — absorpcia roztoku (pH 1) v 1 cm kyvete, $A_{4,5}$ — absorpcia roztoku (pH 4,5) v 1 cm kyvete, 7,75 — priemerný absorpčný koeficient ($A_1^1 \% \text{ cm}$) roztoku antokyánov pri pH 1,0 delený 100, R — riedenie, A — absorpcia meraného roztoku (pH 1 alebo 4,5) meraná v absorpčnom maxime.

Postup: 10 ml vyčistenej šťavy sa doplní tlmivým roztokom pH 1 na 250 ml a tlmivým roztokom pH 4,5 na 500 ml, pričom sa upraví s presnosťou $\pm 0,1$. Absorpcia sa meria v čírych roztokoch po ustálení rovnováhy v 1 cm kyvete v absorpčnom maxime.

Meranie farby vzoriek

Na meranie farby vzoriek sa použil Momcolor D (MOM, Budapešť). Meranie sa realizovalo v prechádzajúcom svetle v 10 mm kyvetách, clone 10 mm oproti bielemu štandardu dodaného výrobcom No. 78-57-00 s normovanými hodnotami trichromatických zložiek $X_1 = 63,55$, $X_2 = 16,30$, $Y = 82,16$, $Z = 97,84$. Zmeny farby sa vyjadrujú pomocou vypočítanej farebnej diferencie ΔE_{UVW} vzhľadom na používaný biely štandard

$$\Delta E_{UVW} = [(\Delta U)^2 + (\Delta V)^2 + (\Delta W)^2]^{\frac{1}{2}},$$

kde

$$U = 13W(u - u_0),$$

$$V = 13W(v - v_0),$$

$$W = 25Y^{\frac{1}{3}} - 17,$$

$$u = \frac{4X}{X + 15Y + 3Z},$$

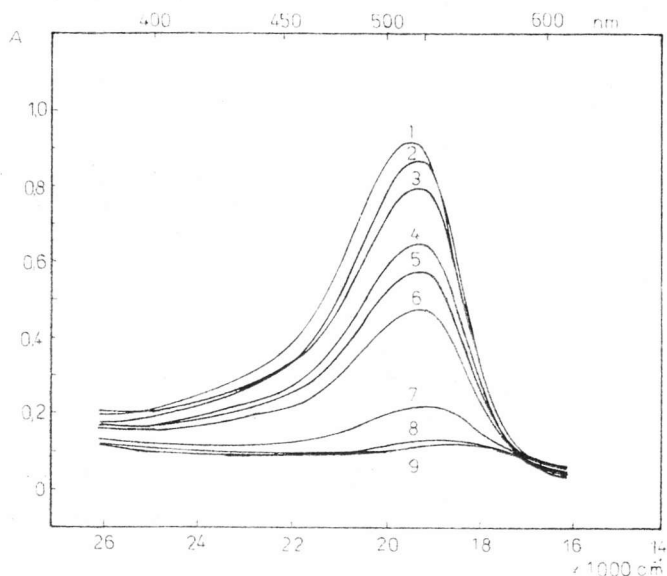
$$v = \frac{9Y}{X + 15Y + Z},$$

kde u_0 a v_0 sú chromatické súradnice bieleho zmluvného svetla C.

Výsledky a diskusia

Sledovanie vplyvu pH na absorpciu roztokov farbív

Na priebeh absorpčných kriviek a polohu absorpčného maxima λ_{\max} má vplyv použité rozpúšťadlo. Štruktúra antokyánov a elektrónový deficit na flavýliovom jadre antokyánov spôsobuje vysokú reaktivitu týchto zlúčenín a vzájomné premeny vplyvom meniacej sa hodnoty pH. Zmena pH značne vplýva na intenzitu absorpcie, t. j. mólový absorpčný koeficient (ϵ_{\max}). Obrázok 2 znázorňuje zmeny priebehu absorpčných kriviek (Spekord UV VIS,



Obr. 2. Absorpčné krivky farbív bazy čiernej pri rôznom pH.
1 – pH 1,1; 2 – pH 1,9; 3 – pH 2,3; 4 – pH 2,7; 5 – pH 3,0; 6 – pH 3,3;
7 – pH 4,0; 8 – pH 4,5; 9 – pH 5,5.

Fig. 2. Absorption curves of common elder dyes at different pH.

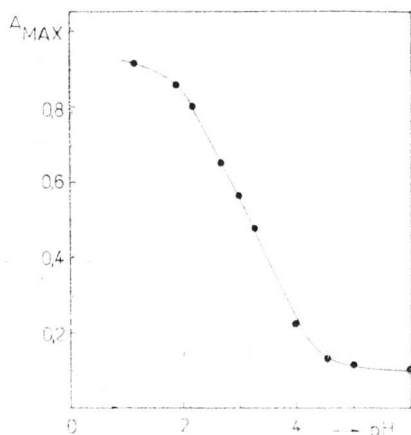
Carl Zeiss, Jena) v závislosti od zmeny pH. Z grafického priebehu je evidentný vplyv pH na absorpciu roztokov antokyánových farbív bazy čiernej, ako aj na polohu absorpčného maxima, ktoré pri zvýšenej hodnote pH je menej ostré a je v širšej oblasti vlnových dĺžok. Závislosť zmeny absorbancie farbív bazy čiernej od zmeny pH znázorňuje obrázok 3. Krivka má typický priebeh pre antokyánové farbivá. Z obrázku vyplýva, že pri pH menšom ako 2 a väčšom ako 4 nespôsobuje už výraznejšia zmena pH podstatnú zmenu absorban- cie ako v oblasti pH 2–4. Ukázalo sa teda výhodným používať metódu sta-

novenia antokyánov podľa Fulekiho a Francisa, pretože v odporúčanej oblasti merania absorbancie výsledky nie sú zafažované prílišnými zmenami absorbancie v závislosti od dodržania reálnych podmienok nastavenia hodnôt pH v meraných vzorkách. Najväčšia hodnota absorbancie bola nameraná pri pH 1, keď prevláda kationová forma antokyánov.

Stanovenie antokyánov

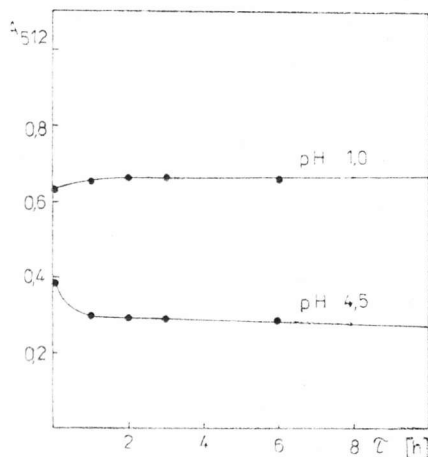
Na stanovenie antokyánov možno použiť dostupné metódy založené na zmenách absorbancie pri zmene pH (10–12), odfarbením oxidom siričitým [13] alebo peroxidom vodíka [14]. Vzhľadom na ďalší cieľ práce sa použila metóda podľa Fulekiho a Francisa [9, 10], ktorí odporúčajú meranie pri pH 1, čo zodpovedá červenej farbe flavýliového kationu antokyánov. Pri pH 4,5 prechádzajú antokyány na slabo fialovú pseudobázu.

Využitie diferenciálnych metód zmenou pH vyžadujú určitý čas potrebný na ustálenie rovnováhy medzi farbivom a prostredím, čomu sme venovali časť práce. Obrázok 4 znázorňuje ustáľovanie rovnováhy v prostredí s hodnotou pH 1 a 4,5. Z výsledku vyplýva, že na ustálenie rovnováhy treba dodržať čas 2 h pred meraním absorbancie po úprave pH. Po tomto čase hodnota absorbancie pri nižšom pH sa zvyšuje minimálne a rovnako iba nepatrne klesá pri vyššej hodnote pH. Absorbancia sa merala na Spekole (Carl Zeiss, Jena) v 1 cm kyvetách, keď sa absorpčné maximum meraných rozto-



Obr. 3. Zmena absorbancie roztoku farbív bazy čiernej v závislosti od zmeny pH.

Fig. 3. A change of solution absorbance of common elder dyes in dependence on pH change.



Obr. 4. Ustáľovanie rovnováhy roztokov bazy čiernej pri pH 1 a 4,5.

Fig. 4. Balance fixation of common elder solutions at pH 1 and 4,5.

kov upresnilo na 512 nm. Overenie vhodnosti a podmienok diferenciálnej metódy stanovenia antokyánov poukázali jednoznačne na jej výhodu a použiteľnosť najmä pri kinetických meraniach degradácie antokyánov. Postup umožňuje s požadovanou presnosťou stanoviť obsah antokyánov pri prevzatom priemernom absorpčnom koeficiente. Tejto metóde sme dali prednosť pred metódami, ktoré využívajú premenu všetkých foriem okyslením na červenú formu flavýliového katiónu [15] a sú vhodné iba na zistenie monomérnych foriem antokyánov (kondenzované, resp. polymerizované antokyány dávajú iba slabú reakciu). Priame metódy stanovenia neočakávajú teda interferenciu rôznych hnedých degradačných produktov vznikajúcich z antokyánov, prípadne ďalšími reakciami (neenzymatické hnednutie). Použitá metóda umožňuje ešte vypočítať tzv. degradačný index, ktorý označuje stupeň degradácie antokyánov vo vzorke. Pri stanovení sa minimalizujú vplyvy hnedo sfarbených degradačných produktov.

Úbytok farbív a zmeny farby počas záhrevu

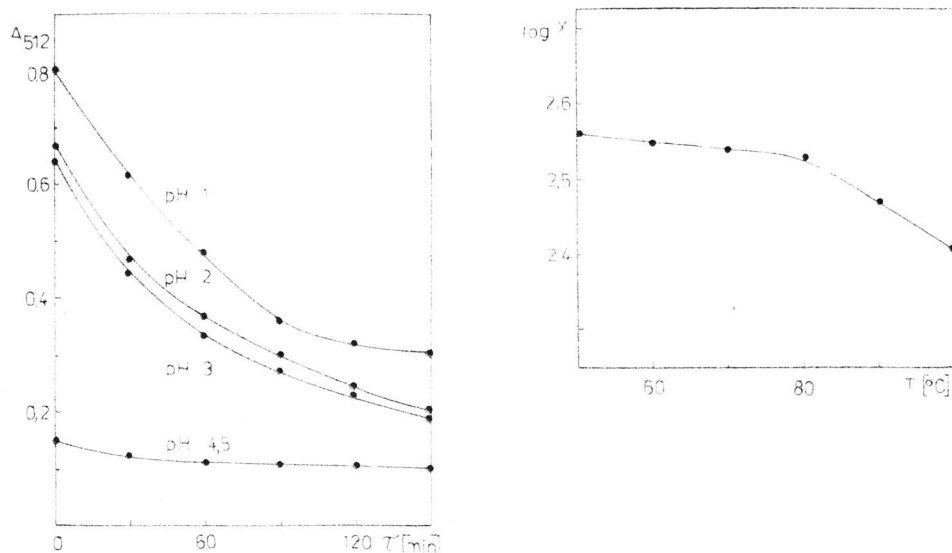
Na aplikáciu farbív bazy čiernej treba poznať ich stabilitu v závislosti od pH, teploty a času a možné zmeny farby vyvolané ich účinkami. Na posúdenie uvedeného sa pripravilo niekoľko modelov pokusov.

V pripravených sadách vzoriek z čerstvo vylisovanej šťavy plodov *Sambucus nigra* po úprave pH na hodnoty 1,0, 2,0, 2,7, 3,0 a 4,5 sa sledoval úbytok farbív (absorbancia pri 512 nm) a zmeny farebnosti pri teplotách 50, 60, 75, 80, 97 a 100 °C v pravidelných časových intervaloch (30 min) počas 150 min. Súčasne sa merali zmeny farby na Momcolore D. So zvyšujúcou sa teplotou v jednotlivých časových intervaloch sa zaznamenal logicky očakávaný pokles absorbancie a farby vyjadrenej ako zmena farebnej diferencie oproti bielemu štandardu. K relatívne vyšším zmenám dochádzalo v roztokoch do hodnoty pH 3 (prevláda katiónová forma). Pri vyšších teplotách je z technologického hľadiska dôležité vytváranie hnedej zrazeniny (degradácia farbív a vzájomné reakcie s ostatnými zložkami prostredia), a to v rozdielnych časových intervaloch a pH, napr. pri teplote 75 °C asi po 90 min (katiónová forma), kým pri 97 °C už po 30 min. Pri priamom prifarbovaní šťavou bez predchádzajúceho tepelného zaťaženia treba mať toto pri návrhu technológie na zreteli. Pre názornosť je na obrázku 5 zobrazená závislosť zmeny absorbancie roztokov farbív bazy čiernej pri rôznom pH a pri teplote 100 °C počas 150 min. Grafický priebeh závislosti $\Delta E_{UVV} = f(\tau)$ pri sledovaných hodnotách pH má vo všetkých prípadoch charakter podobný, ako majú závislosti $A_{512} = f(c)$. Za určitých zjednodušujúcich predpokladov sa dá teda očakávať priama závislosť zmeny farby od úbytku antokyánových farbív. Vyžaduje

to však ďalšiu podrobnejšiu analýzu vzájomných závislostí jednotlivých farebných parametrov, farbív a farebných kondenzačných produktov.

Posledná časť práce sa zameriava na sledovanie úbytku antokyánových farbív stanovených na princípe diferenčnej metódy [10] vo vzorkách z čerstvo vylisovanej šťavy s hodnotou pH 3,9 po konštantnom čase zohrevu 30 min pri teplotách 50–100 °C.

Na obrázku 6 je zobrazená závislosť úbytku antokyánov ($\log X$) pri rozličných teplotách. Úbytok farbív po 30 min pri 80 °C bol 12,7 %, kým pri 90 °C už 24,6 % a pri 100 °C to bola už tretina pôvodného množstva. Zvýše-



Obr. 5. Pokles absorbancie roztokov farbív bazy čiernej počas zohrevu pri teplote 100 °C.
Fig. 5. Absorption decrease of common elder dyes solutions during heating at temperature of 100 °C.

Obr. 6 Úbytok farbív bazy čiernej po 30 min zohreve pri rôznych teplotách.
Fig. 6. Decrease of common elder dyes after 30 min of heating at different temperatures.

nie teploty z 50 na 60 °C, resp. na 70 °C sa prejavilo rovnomerným vzrastom strát farbív. Zvýšenie teploty na 80 °C znamenalo nepatrný vzrast priemer-
ných úbytkov v porovnaní s predchádzajúcimi teplotami, no vyššia teplota (90 °C) pri zvolenom čase zohrevu spôsobila zjavnú zmenu charakteru závislosti, čo sa prejavilo aj vylúčením jemnej zrazeniny, tak ako pri predchádzajúcich pokusoch. Výsledky poukázali na pomerne nízku stabilitu antokyánových farbív v čerstvo vylisovanej šťave z plodov bazy čiernej pri prirodzenom pH.

Literatúra

1. KARRER, E.—WIDMER, J.: *Helv. chim. Acta*, **10**, 1927, s. 80.
2. NOLAN, T. J.—CASEY, H. M. T.: *Proc. Roy. Irish Acad.*, **40**, 1939, s. 56.
3. REICHEL, L.—STOH, H.—REICHWALD, W.: *Naturwissenschaften*, **44**, 1957, s. 68.
4. REICHEL, L.—REICHWALD, W.: *Naturwissenschaften*, **47**, 1960, s. 40.
5. REICHEL, L.—REICHWALD, W.: *Pharmazie*, **32**, 1977, s. 40.
6. HARBORNE, J. B. — SHERRAH, H. S. A.: *Experientia* (Basel), 1958, s. 274.
7. SZECHENYI, L.: *Ind. Aliment. Agric.*, **80**, 1963, s. 521.
8. HAYASHI, K.: *Acta phytochim.*, **13**, 1942, s. 31.
9. FULEKI, T.—FRANCIS, F. J.: *J. Food Sci.*, **33**, 1968, s. 72.
10. FULEKI, T.—FRANCIS, F. J.: *J. Food Sci.*, **33**, 1968, s. 78.
11. SONHEIMER, E.—KERTESZ, Z. I.: *Anal. Chem.*, **20**, 1948, s. 245.
12. LEES, D. H.—FRANCIS, F. J.: *Hort. Sci.*, **7**, 1972, s. 83.
13. RIBEREAU-GAYON, P.—STONESTREET, R.: *Bull. Soc. chim. (France)*, 1965, s. 2649.
14. SWAIN, T.—HILLS, W. E.: *J. Sci. Food Agric.*, **10**, 1959, s. 63.
15. NIKETIĆ-ALEXIĆ, G. K.—HRAZDINA, G.: *Lebensm.-Wiss. — Technol.*, **5**, 1972, s. 63.
16. ČSN 01 1718, Měření barev.

Красители бузины черной (*Sambucus nigra*)

I. Свойства и определение красителей бузины черной

Резюме

Работа представляет собой введение в проблематику изучения свойств и использования красителей бузины черной. Она информирует об использованном методе определения антоцианов в сыром соке бузины черной, о влиянии pH на абсорбцию растворов красителей, об условиях для оценки цветовой устойчивости, измеряемой на приборе Momcolor D. Приводятся основные данные о деградации красителей на основе использования pH дифференциационного метода определения антоцианов в ходе нагревания при различном pH модельных растворов.

Common elder (*Sambucus nigra*) dyes

I. Characteristics and determination of common elder dyes

Summary

The work is an introductory study to the problems of characteristics as well as utilization of common elder dyes. It gives information about the method used in determining the anthocyanins in natural juice of common elder, on the pH influence on absorption of dye solutions and about conditions for appreciation of colour stability measured by Momcolor D instrument. Basic data on dye degradation on the basis of pH using a differentiation method for anthocyanin determination during heating at different pH of model solutions are given here, too.