

DOROTA WALKOWIAK-TOMCZAK

Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

## WPLYW DOSTĘPNOŚCI TLENU I ŚWIATŁA NA STABILNOŚĆ ANTOCYJANÓW W MODELOWYCH NAPOJACH ARONIOWYCH

EFFECT OF ACCESSIBILITY OF OXYGEN AND LIGHT  
ON STABILITY OF ANTHOCYANINS IN MODEL CHOKEBERRY DRINKS

**Streszczenie.** Celem badań było określenie wpływu dostępności tlenu i światła oraz wartości pH na zmiany stężenia antocyjanów w modelowych napojach aroniowych podczas przechowywania. Badane roztwory przygotowano poprzez rozcieńczenie koncentratu soku aroniowego buforem o pH 3,0 i 5,0 do stężenia antocyjanów 25 mg%. Roztwory przechowywano 6 tygodni w warunkach tlenowych lub względnie beztlenowych, z dostępem lub bez dostępu światła, w temperaturze 10°C. Największą stabilność barwników stwierdzono w próbkach bez dostępu światła, w warunkach względnie beztlenowych. Największa degradacja antocyjanów nastąpiła w próbach z dostępem światła i tlenu, w których ubytek barwników sięgał 90%. Zastosowanie mniejszej wartości pH roztworów modelowych pozwoliło istotnie zwiększyć stabilność antocyjanów we wszystkich próbkach.

**Słowa kluczowe:** antocyjany, stabilność, aronia, przechowywanie

### Wstęp

Antocyjany nadają zabarwienie, od pomarańczowego poprzez czerwone i różowe do fioletowego i granatowego, owocom i niektórym warzywom, jak również kwiatom. Barwniki te wyekstrahowane z materiałów roślinnych są stosowane jako dodatki do żywności dla nadania lub wzmocnienia barwy produktów spożywczych, takich jak napoje, soki, konserwy, cukierki, galaretki, koncentraty deserów. W ostatnich latach zainteresowanie antocyjanami wzrosło ze względu na ich właściwości bioaktywne, stąd mają one również zastosowanie jako składniki preparatów farmaceutycznych, m.in.

wspomagających leczenie chorób oczu (YOU DIM i IN. 2000, GIUSTI i WROLSTAD 2003, KONCZAK i ZHANG 2004, ZAFRA-STONE i IN. 2007).

Antocyjany to polifenole z grupy flawonoidów, które najczęściej występują jako glikozydy antocyjanidyn (aglikonów). Ze względu na wiele możliwości przyłączenia grup hydroksylowych i metoksyloowych w pierścieniu kationu flawyliowego występuje duża ich różnorodność. Liczba i rodzaj podstawników, jak również glikozylacja i acylacja antocyjanidyny, wpływają na stabilność barwników antocyjanowych (GIUSTI i WROLSTAD 2003). Podczas przetwarzania surowców oraz przechowywania produktów zmieniają się zawartość i struktura antocyjanów (BROWNMILLER i IN. 2008). Antocyjany w procesach technologicznych podlegają degradacji pod wpływem tlenu, wysokiej temperatury, światła, co prowadzi do powstania związków bezbarwnych, a ostatecznie brązowych polimerów (OSZMIĄŃSKI 2002, CZAPSKI i WALKOWIAK-TOMCZAK 2008). Barwniki syntetyczne są bardziej stabilne, jednak zainteresowanie konsumentów żywnością pochodzenia naturalnego, w tym barwnikami roślinnymi, powoduje, że są one szeroko stosowane w przemyśle spożywczym. Ich dodatek do żywności nie budzi obaw konsumentów, są one w pełni akceptowane przez wszystkich.

Aronia jest owocem zawierającym dużo polifenoli (powyżej 20 mg/g), w tym antocyjanów, wśród których dominują 3-O-galaktozyd, 3-O-glukozyd, 3-O-arabinozyd i 3-O-ksylozyd cyjanidyny (SLIMESTAD i IN. 2005, WOJDYŁO i IN. 2008). Dzięki znacznej ilości polifenoli aronia cechuje się dużą aktywnością przeciwutleniającą. Jej charakterystyczny cierpki smak wynika z dużej zawartości tanin i ogranicza możliwości bezpośredniego spożywania owoców i ich przetworów (OSZMIĄŃSKI i WOJDYŁO 2005). Aronia jest w przetworach stosowana najczęściej w połączeniu z innymi owocami lub w formie rozcieńczonej. Owoce są nie tylko cennym surowcem przetwórczym do produkcji nektarów, napojów, win, dżemów, lecz także źródłem barwników spożywczych i związków bioaktywnych (SLIMESTAD i IN. 2005). Antocyjany wyizolowane z aronii wykazują aktywność antymutagenną i antykancerogenną (GAŚSIOROWSKI i IN. 1997), również sok z aronii ma właściwości antyoksydacyjne (VALCHEVA-KUZMANOVA i IN. 2004, 2005).

Celem pracy było określenie wpływu warunków przechowywania modelowych napojów z koncentratu soku aroniowego na stabilność antocyjanów. Oceniano zmiany stężenia barwników w roztworach o różnej wartości pH, z dostępem lub bez dostępu światła oraz w warunkach tlenowych lub względnie beztlenowych.

## Material i metody

W badaniach wykorzystano koncentrat soku z aronii (O.K. Owocowe Koncentraty Sp. z o.o. w Przeworsku, Zakład Produkcyjny Siemiatycze) o początkowej zawartości ekstraktu 66% oraz antocyjanów 588 mg%. W celu sporządzenia modelowych roztworów koncentrat rozcieńczano buforami fosforanowymi według McIlvaine'a o wartości 3,0 i 5,0, do stężenia antocyjanów 25 mg%. Roztwory – po 10 cm<sup>3</sup> – rozlano do szklanych ampulek o różnej pojemności. Stosując ampułki o pojemności 10 cm<sup>3</sup>, przy całkowitym ich wypełnieniu uzyskano warunki względnie beztlenowe, co w ampulkach o pojemności 20 cm<sup>3</sup>, wypełnionych w połowie, uzyskano warunki tlenowe. Po zamknięciu ampulek w płomieniu palnika próbki poddano pasteryzacji w łaźni wodnej

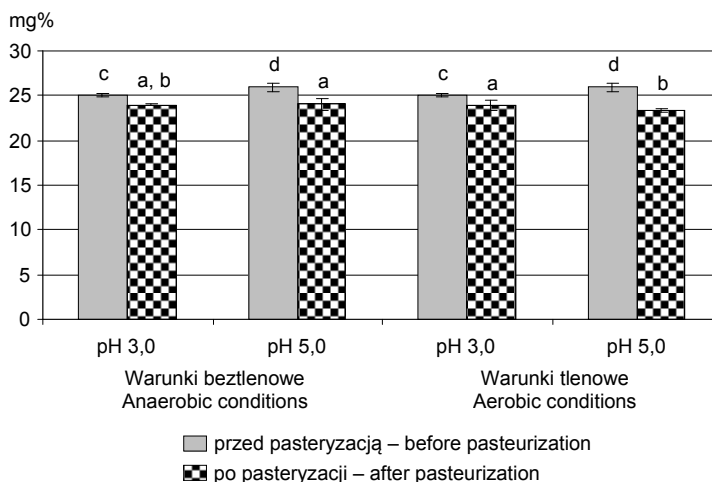
w temperaturze 85°C przez 10 min, po czym schłodzono je w zimnej wodzie. Następnie próbki umieszczono w termostacie w temperaturze 10°C, w warunkach z dostępem światła (świetlówki kompaktowe) lub w ciemności i przechowywano 6 tygodni. W tym czasie co 2 tygodnie pobierano próbki do analizy zawartości barwników.

Zawartość antocyjanów ogółem oznaczano spektrofotometrycznie metodą różnicową według FULEKIEGO i FRANCISA (1968), przy długości fali 510 nm wobec buforu o pH 1,0 jako próby odniesienia. Do obliczeń przyjęto współczynnik o wartości 775 jako absorbancję 1-procentowego roztworu barwnika w kuwecie o grubości 1 cm.

Analizę statystyczną przeprowadzono z wykorzystaniem programu komputerowego Statistica ver. 8.

## Wyniki i dyskusja

Zawartość barwników antocyjanowych w badanych roztworach modelowych zmieniła się w trakcie pasteryzacji i przechowywania w zależności od wartości pH roztworów oraz warunków dostępności tlenu i światła. Po przeanalizowaniu zawartości antocyjanów w próbkach wyjściowych po ich przygotowaniu oraz po pasteryzacji stwierdzono straty barwników (rys. 1). Ubytek barwników w przypadku próbek o pH 3,0 wyniósł około 4%, bez względu na stopień dostępności tlenu w ampulkach. W roztworach o pH 5,0 ubytek antocyjanów był znacznie większy i wyniósł od 7% w warunkach

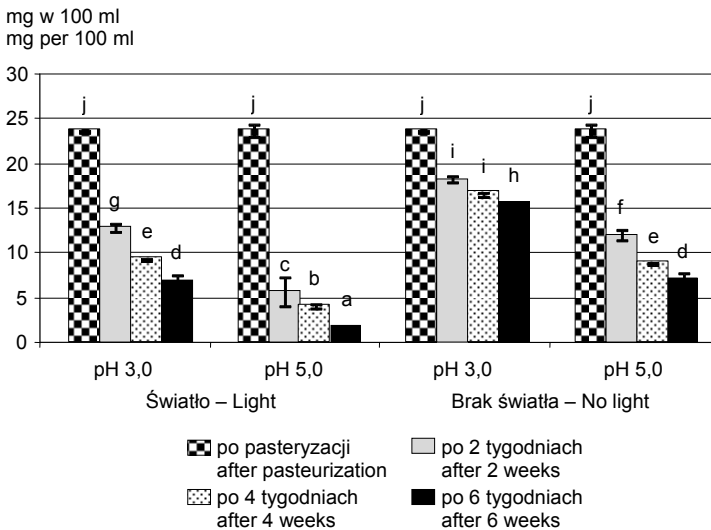


Rys. 1. Wpływ pasteryzacji na zawartość antocyjanów w modelowych napojach aroniowych w zależności od wartości pH i dostępności tlenu. Wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie przy  $p \leq 0,05$

Fig. 1. Effect of pasteurization on anthocyanin contents in model chokeberry drinks in dependence on pH value and accessibility of oxygen. Mean values followed by different letters differ statistically significantly at  $p \leq 0,05$

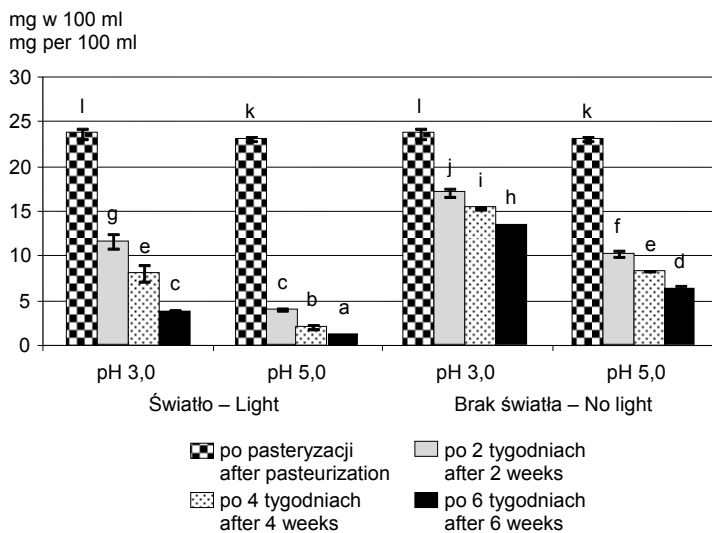
względnie beztlenowych do prawie 10% w warunkach tlenowych. Jednoczynnikowa analiza wariancji potwierdziła istotny statystycznie wpływ ( $p \leq 0,05$ ) zabiegu pasteryzacji oraz dostępności tlenu w ampułkach na ubytek zawartości antocyjanów, a wpływ wartości pH był nieistotny. Po przeanalizowaniu jednoczesnego wpływu wszystkich czynników jakościowych, na podstawie wieloczynnikowej analizy wariancji i testu NIR, stwierdzono, że istotny wpływ na zawartość antocyjanów miał jedynie proces pasteryzacji oraz jego efekt interakcyjny z dostępnością tlenu, natomiast wpływ wartości pH i dostępności tlenu był nieistotny (rys. 1).

Podczas 6-tygodniowego przechowywania badanych roztworów koncentratu aroniowego nastąpił dalszy ubytek zawartości antocyjanów. Straty barwników były większe w warunkach tlenowych niż we względnie beztlenowych oraz większe przy dostępności światła niż w ciemności (rys. 2 i 3). W każdym przypadku największy ubytek barwników nastąpił po pierwszych 2 tygodniach, średnio we wszystkich próbkach o 50% w porównaniu z zawartością po pasteryzacji. W kolejnych okresach pomiarowych ubytki barwników zwiększały się średnio o następne 10% w stosunku do zawartości po pasteryzacji i wynosiły około 60% po 4 tygodniach oraz 70% po 6 tygodniach (tab. 1). Jednak poszczególne wartości, w zależności od pH oraz dostępności światła i tlenu, znacznie się różniły od średnich wyliczonych dla danego okresu przechowywania. Najmniejszą zawartość antocyjanów w roztworach po przechowywaniu stwierdzono w próbkach o pH 5,0 z dostępem światła i tlenu. Tutaj ubytek barwników wyniósł 95% w porównaniu z zawartością po pasteryzacji. Największą stabilność antocyjanów



Rys. 2. Zmiany zawartości antocyjanów w modelowych napojach aroniowych podczas przechowywania w warunkach względnie beztlenowych. Wartości średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy  $p \leq 0,05$

Fig. 2. Changes of anthocyanin contents in model chokeberry drinks during storage in relatively anaerobic conditions. Mean values followed by the same letter do not differ statistically significantly at  $p \leq 0.05$



Rys. 3. Zmiany zawartości antocyjanów w modelowych napojach aroniowych podczas przechowywania w warunkach tlenowych. Wartości średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie przy  $p \leq 0,05$

Fig. 3. Changes of anthocyanin contents in model chokeberry drinks during storage in aerobic conditions. Mean values followed by the same letter do not differ statistically significantly at  $p \leq 0.05$

Tabela 1. Ubytek antocyjanów w modelowych napojach aroniowych podczas przechowywania (%)  
Table 1. Loss of anthocyanins in model chokeberry drinks during storage (%)

Czas przechowywania Storage time	Warunki względnie beztlenowe Relatively anaerobic conditions				Warunki tlenowe Aerobic conditions			
	światło light		brak światła no light		światło light		brak światła no light	
	pH 3,0	pH 5,0	pH 3,0	pH 5,0	pH 3,0	pH 5,0	pH 3,0	pH 5,0
Po pasteryzacji* After pasteurization*	4,3	7,4	4,3	7,4	4,4	9,8	4,4	9,8
2 tygodnie** 2 weeks**	45,4	75,8	22,4	48,8	50,7	82,8	28,2	55,6
4 tygodnie** 4 weeks**	60,3	82,6	29,7	62,7	66,0	91,3	35,0	64,3
6 tygodni** 6 weeks**	70,3	92,4	33,8	69,8	83,9	95,1	43,4	72,7

\*Ubytek antocyjanów w odniesieniu do prób przed pasteryzacją.

\*\*Ubytek antocyjanów w odniesieniu do prób po pasteryzacji.

\*Loss of anthocyanins in relation to samples before pasteurization.

\*\*Loss of anthocyanins in relation to samples after pasteurization.

stwierdzono w próbkach o pH 3,0 bez dostępu światła i tlenu, w których ubytek barwników po 6 tygodniach przechowywania wyniósł 34%.

Wieloczynnikowa analiza wariancji Anova wykazała istotny wpływ ( $p \leq 0,05$ ) dostępności tlenu i światła, wartości pH oraz czasu przechowywania na zawartość antocyjanów w roztworach, a także efekt interakcyjny badanych czynników. Po przebadaniu wpływu poszczególnych czynników na zawartość antocyjanów, na podstawie analiz jednoczynnikowych, stwierdzono, że istotny był wpływ światła, pH oraz czasu przechowywania, natomiast wpływ dostępności tlenu był nieistotny. Wpływ badanych czynników na zawartość barwników antocyjanowych (wieloczynnikowa analiza wariancji i test NIR) przedstawiono na rysunkach 2 i 3, odpowiednio w warunkach względnie beztlenowych oraz tlenowych.

Różnice w barwie poszczególnych antocyjanów zależą od rodzaju aglikonu (miejsca przyłączenia i liczby grup hydroksylowych i metoksyloowych w kationie flawyliowym), reszty cukrowej i miejsca jej podstawienia oraz acylacji glikozydu (HEREDIA i IN. 1998). Równie istotny wpływ ma kwasowość środowiska, gdyż wpływa na przemiany kationu flawyliowego. W zależności od zawartości kwasów organicznych w owocach, czyli m.in. od stadium dojrzałości, obserwujemy zmianę tonu barwy. Podobnie wykorzystując preparaty antocyjanów jako dodatki barwiące do żywności, można uzyskać różną barwę produktu spożywczego w zależności od jego kwasowości. Zasadniczo produkty te powinny wykazywać odczyn kwaśny, co pozwala uzyskać zabarwienie od pomarańczowo-czerwonego do czerwono-fioletowego, odpowiadające np. barwie truskawkowej przez wiśniową do jagodowej. Każda z nich może być atrakcyjna i pożądana, z wyjątkiem tonów czerwono-brązowych, kojarzonych z produktem starym, przejrzalym, o zmienionych cechach smakowo-zapachowych. Taka właśnie zmiana barwy towarzyszy degradacji antocyjanów pod wpływem ogrzewania, utleniania, działania jonów metali i światła.

Prawie wszystkim procesom technologicznego przetwarzania owoców towarzyszy obróbka termiczna, np. podczas blanszowania, pektynolizy miazgi czy pasteryzacji produktu. Wszystkie te zabiegi prowadzą do rozpadu antocyjanów, a co za tym idzie, do pogorszenia wartości żywieniowej i funkcjonalnej produktów z powodu osłabienia aktywności przeciwutleniającej (GÓRSKA i ŚCIBISZ 2011). Podczas krótkiej obróbki termicznej (3 min, 95°C) obserwowano 43-procentowy ubytek antocyjanów w miazdze owoców borówki czernicy (SADILOVA i IN. 2006). Z drugiej zaś strony podczas blanszowania zachodzi inaktywacja enzymów, które mogłyby prowadzić do dalszej degradacji antocyjanów.

W czasie ogrzewania i przechowywania produktów zawierających antocyjany, naturalne bądź dodane, zachodzi degradacja barwników. W badaniach dotyczących wpływu ogrzewania w zależności od czasu procesu, wartości pH oraz początkowego stężenia barwników określano stopień degradacji antocyjanów w modelowych roztworach antocyjanowych różnego pochodzenia, m.in. z aronii (CZAPSKI i WALKOWIAK-TOMCZAK 2005). Badania prowadzono metodą powierzchni odpowiedzi. Na zawartość antocyjanów po ogrzewaniu największy wpływ miało ich początkowe stężenie, następnie czas ogrzewania, natomiast wartość pH i temperatura miały mniejsze znaczenie. Istotny wpływ dostępności światła na stabilność antocyjanów podczas przechowywania, w zależności od metody kopigmentacji, stwierdzili BĄKOWSKA i IN. (2003). Bez względu na

obecność i rodzaj kopigmentu obserwowano zmniejszenie stabilności cyjanidyno-3-glukozydu pod wpływem światła.

Podsumowując, można stwierdzić, że antocyjany z aronii są dobrym składnikiem do wytwarzania nektarów i napojów owocowych, pod warunkiem, że będą one przygotowywane i przechowywane bez dostępu tlenu i światła, a produkt będzie się charakteryzować stosunkowo małą wartością odczynu pH. Godne polecenia jest zwłaszcza stosowanie roztworów soków aroniowych jako dodatku do produktów spożywczych, gdyż nie tylko pozwala to wzmocnić intensywność barwy, lecz także wpływa na zwiększenie zawartości polifenoli i aktywności przeciwutleniającej (WOJDYŁO i IN. 2008).

## Wnioski

1. W wyniku pasteryzacji roztworów otrzymanych z koncentratu soku aroniowego zawartość antocyjanów zmniejszyła się o 4-10%, w zależności od wartości pH i dostępności tlenu.

2. Podczas 6-tygodniowego przechowywania modelowych roztworów koncentratu soku aroniowego nastąpiło zmniejszenie zawartości antocyjanów w zakresie od 34 do 95% w porównaniu z roztworami po pasteryzacji.

3. W celu ograniczenia strat antocyjanów w napojach owocowych należy je pakować w warunkach beztlenowych i przechowywać bez dostępu światła, jak również stosować małą wartość pH, co istotnie zwiększa stabilność badanych barwników.

## Literatura

- BĄKOWSKA A., KUCHARSKA A., OSZMIĄŃSKI J., 2003. The effects of heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin-polyphenol copigment complex. *Food Chem.* 81: 349-355.
- BROWNMILLER C., HOWARD L.R., PRIOR R.L., 2008. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blueberry products. *J. Food Sci.* 73, 5: 72-79.
- CZAPSKI J., WALKOWIAK-TOMCZAK D., 2005. Zmiany parametrów barwy roztworów antocyjanów w czasie ogrzewania. *Inż. Roln.* 9: 27-33.
- CZAPSKI J., WALKOWIAK-TOMCZAK D., 2008. Kinetyka zmian barwy antocyjanów w czasie ogrzewania roztworów barwników z aronii, czerwonych winogron i czarnego bzu. *Acta Agrophys.* 12, 3: 625-636.
- FULEKI T., FRANCIS F.J., 1968. Quantitative methods for anthocyanins. 2. Determination of total anthocyanins and degradation index for cranberry juice. *J. Food Sci.* 33: 78-83.
- GAŚSIOROWSKI K., SZYBA K., BROKOS B., KOŁACZYŃSKA B., JANKOWIAK-WŁODARCZYK M., OSZMIĄŃSKI J., 1997. Antimutagenic activity of anthocyanins isolated from *Aronia melanocarpa* fruits. *Cancer Lett.* 119: 37-46.
- GIUSTI M.M., WROLSTAD R.E., 2003. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochem. Eng. J.* 14: 217-225.
- GÓRSKA A., ŚCIBISZ I., 2011. Wpływ temperatury na zawartość barwników antocyjanowych w przetworach owocowych. *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.* 4: 14-15.
- HEREDIA F.J., FRANCIA-ARICHA E.M., RIVAS-GONZALO J.C., VICARIO I.M., SANTOS-BUELGA C., 1998. Chromatic characterization of anthocyanins from red grapes. *Food Chem.* 63: 491-498.

- KONCZAK I., ZHANG W., 2004. Anthocyanins – more than nature's colours. *J. Biomed. Biotechnol.* 5: 239-240.
- OSZMIĄŃSKI J., 2002. Stabilizacja i zastosowanie barwnika antocyjanowego aronii do barwienia napoi. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 1, 1: 37-45.
- OSZMIĄŃSKI J., WOJDYŁO A., 2005. *Aronia melanocarpa* phenolics and their antioxidant activity. *Eur. Food Res. Technol.* 221: 809-813.
- SADILOVA E., STINTZING F.C., CARLE R., 2006. Thermal degradation of acylated and nonacylated anthocyanins. *J. Food Sci.* 71: 504-512.
- SLIMESTAD R., TORSKANGERPOLL K., NATELAND H.S., JOHANNESSEN T., GISKE N.H., 2005. Flavonoids from black chokeberries, *Aronia melanocarpa*. *J. Food Composit. Anal.* 18: 61-68.
- VALCHEVA-KUZMANOVA S., BORISOVA P., GALUNSKA B., KRASNALIEV I., BELCHEVA A., 2004. Hepatoprotective effect of the natural fruit juice from *Aronia melanocarpa* on carbon tetrachloride-induced acute liver damage in rats. *Exp. Toxicol. Pathol.* 56: 195-201.
- VALCHEVA-KUZMANOVA S., MARAZOVA K., KRASNALIEV I., GALUNSKA B., BORISOVA P., BELCHEVA A., 2005. Effect of *Aronia melanocarpa* fruit juice on indomethacin-induced gastric mucosal damage and oxidative stress in rats. *Exp. Toxicol. Pathol.* 56: 385-392.
- WOJDYŁO A., OSZMIĄŃSKI J., BOBER I., 2008. The effect of addition of chokeberry, flowering quince fruits and rhubarb juice to strawberry jams on their polyphenol content, antioxidant activity and colour. *Eur. Food Res. Technol.* 227: 1043-1051.
- YUJIM K.A., MARTIN A., JOSEPH J.A., 2000. Incorporation of the elderberry anthocyanins by endothelial cells increases protection against oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 29, 1: 51-60.
- ZAFRA-STONE S., YASMIN T., BAGCHI M., CHATTERJEE A., VINSON J.A., BAGCHI D., 2007. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Mol. Nutr. Food Res.* 51: 675-683.

## EFFECT OF ACCESSIBILITY OF OXYGEN AND LIGHT ON STABILITY OF ANTHOCYANINS IN MODEL CHOKEBERRY DRINKS

**Summary.** The aim of the study was to determine the effect of oxygen and light availability, as well as pH values on changes in anthocyanin concentrations in model chokeberry drinks during storage. Analysed solutions were prepared by dissolving chokeberry juice concentrate in a buffer at pH 3.0 and 5.0 to anthocyanin concentration of 25 mg%. Solutions were stored for 6 weeks under aerobic or relatively anaerobic conditions, with access or no access to light, at a temperature of 10°C. The highest stability of pigments was found in samples with no access to light under relatively anaerobic conditions. The highest degradation of anthocyanins was recorded in samples with accessibility of light and oxygen, in which pigment losses amounted to 90%. The application of a lower pH in model solutions made it possible to significantly enhance the stability of anthocyanins in all samples.

**Key words:** anthocyanins, stability, chokeberry, storage



Walkowiak-Tomczak D., 2012. Wpływ dostępności tlenu i światła na stabilność antocyjanów w modelowych napojach aroniowych. *Nauka Przyr. Technol.* 6, 2, #35.

---

*Adres do korespondencji – Corresponding address:*

*Dorota Walkowiak-Tomczak, Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 31/33, 60-624 Poznań, Poland, e-mail: tomczak@up.poznan.pl*

*Zaakceptowano do druku – Accepted for print:*

*13.01.2012*

*Do cytowania – For citation:*

*Walkowiak-Tomczak D., 2012. Wpływ dostępności tlenu i światła na stabilność antocyjanów w modelowych napojach aroniowych. *Nauka Przyr. Technol.* 6, 2, #35.*