

APARATURA

BADAWCZA I DYDAKTYCZNA

Wpływ warunków ogrzewania roztworów koncentratu soku z buraka ćwikłowego na parametry barwy i zawartość barwników betalainowych

KATARZYNA GOŚCINNA, DOROTA WALKOWIAK-TOMCZAK, JANUSZ CZAPSKI
**UNIwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu,
Instytut Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego**

Słowa kluczowe: burak ćwikłowy, barwa, koncentrat soku, betalainy, płaszczyzna odpowiedzi

STRESZCZENIE

Celem pracy było określenie wpływu ogrzewania roztworów koncentratu soku z buraka ćwikłowego rozcieńczonego do zawartości ekstraktu 14%, na zmiany parametrów barwy i barwników betalainowych. Zmiany te badano w zależności od pH roztworu, czasu i temperatury ogrzewania. Badania przeprowadzono z zastosowaniem metody płaszczyzn odpowiedzi wykorzystując układ doświadczalny Box-Behnkena.

W czasie ogrzewania następowała degradacja fioletowych barwników betalainowych, tym większa, im dłuższy był czas i temperatura ogrzewania. Na zawartość żółtych barwników betalainowych największy wpływ miało pH. Największą stabilność barwników betalainowych stwierdzono w próbach o pH 4,5. Wartości składowych barwy X, Y, Z wzrastały w czasie ogrzewania, co związane jest ze spadkiem zawartości barwników fioletowych. Parametr L* określający jasność, a* określający udział barwy czerwonej oraz parametr b* określający udział barwy żółtej wzrastały w czasie ogrzewania. Największy wpływ na zmianę tych wyróżników miał czas ogrzewania, a najmniejszy wpływ miało pH. Wartość tonu barwy h* wzrastała w czasie ogrzewania, co wskazuje na zmianę barwy w kierunku żółtej.

Effect of heating conditions of solutions of red beet juice concentrate on colour parameters and betalain contents

Keywords: red beet, juice concentrate, betalains, colour, heating, response surface

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the changes of colour parameters and betalain pigments contents in solutions of red beet juice concentrate (14% extract) during heating in dependence on pH, time and temperature of heating. Analyses were conducted in model systems using the response surface method according to Box-Behnken design.

During heating of solutions, violet betalain contents decreased with an increase in time and temperature of heating. The pH value had the greatest effect on yellow betalain pigment contents. The highest stability of betalains was determined in pH 4,5. Values of the X, Y and Z components increased during heating, what was associated with decreasing of violet pigment contents. Lightness of colour L^* , the share of the red colour a^* and share of the yellow colour b^* increased during heating. The time of heating had the greatest effect on these responses, the effect of pH value was relatively small. Values of hue angle h^* increased, what indicate a change in colour tone towards yellow.

1. WPROWADZENIE

Barwa owoców i warzyw oraz ich przetworów jest jedną z najważniejszych cech oceny sensorycznej uwzględnianej przez konsumenta. Akceptacja i pożądalność barwy tych produktów wpływa na decyzję konsumenta o ich kupnie lub spożyciu. Ponadto barwa, zwłaszcza jej ton i natężenie, wskazuje na stopień dojrzałości, smak i aromat owoców i warzyw, a często również ich przetworów. W przypadku tych ostatnich, barwa może służyć także ocenie prawidłowości przebiegu technologii i przechowywania produktów. Nieodpowiednie warunki przetwarzania i przechowywania przetworów owocowo-warzywnych, mogą przyczynić się do zwiększenia strat związków bioaktywnych i wartości odżywczej, w tym zawartości związków kształtujących barwę produktów. Barwnikami buraków ćwikłowych są betalainy, obejmujące czerwono-fioletowe betacyjany i żółte betaksantyny [1]. Zawartość betalain oraz ich stosunek ilościowy decydują o natężeniu i tonie barwy buraków i ich przetworów, zwłaszcza soków. Warunki przetwarzania oraz przechowywania soków i koncentratów, decydują o zawartości barwników w produkcie, a tym samym o jego barwie.

Do opisu barwy potrzebne są trzy wielkości, które przedstawiane są w przestrzeni trójwymiarowej. Jednym z najczęściej stosowanych modeli oceny barwy jest system CIE $L^*a^*b^*$ oraz CIE $L^*C^*h^*$ opracowany przez Commission Internationale d'Éclairage (Międzynarodowa Komisja Oświetle-

niowa CIE 1976). Podstawowymi parametrami układu CIE są składowe barwy X, Y, Z, wyrażające ilości wystandaryzowanych barw podstawowych (czerwonej, zielonej, niebieskiej) dla standardowego źródła światła. Z tych wartości można obliczyć pozostałe współrzędne układu CIE, tzw. parametry barwy: L^* , a^* , b^* , C^* i h^* [2]. Parametr L^* opisuje jasność barwy i przyjmuje wartości od 0 (absolutna czerń) do 100% (absolutna biel). Parametry a^* i b^* wyrażają chromatyczność barwy. Zmiany udziału barw zielonej (wartości ujemne) i czerwonej (wartości dodatnie) reprezentuje parametr a^* , natomiast barw niebieskiej (wartości ujemne) i żółtej (wartości dodatnie) parametr b^* . Parametr C^* wyraża nasycenie barwy, zaś h^* kąt tonu barwy [3]. Do pomiaru barwy stosuje się aparaturę kolorymetryczną, która umożliwi precyzyjną ocenę barwy wyrażoną liczbowo, w odniesieniu do wzorca.

Buraki ćwikłowe należą do bardzo popularnych i uprawianych na szeroką skalę warzyw korzeniowych w naszej strefie klimatycznej. Cechują się cennymi właściwościami żywieniowymi i dietetycznymi. Buraki ćwikłowe wykazują właściwości antymutagenne [4] i antyoksydacyjne [1, 5]. Zawierają składniki mineralne (wapń, potas), sacharydy, błonnik pokarmowy i foliany [6]. Są wykorzystywane jako źródło naturalnych barwników spożywczych (E 162). W przetwórstwie buraków ćwikłowych ważne miejsce zajmuje produkcja koncentratu soku, który jest wykorzystywany następnie do produkcji soków i napojów warzywnych

i warzywno-owocowych, zup i koncentratów obiadowych oraz barwników spożywczych. Te ostatnie są wytwarzane i stosowane w postaci zagęszczonych płynnych koncentratów lub w formie wysuszonej [7].

Metoda płaszczyzn odpowiedzi umożliwia wielokierunkową analizę wpływu badanych czynników. Pozwala na ocenę istotności wpływu różnych czynników na badaną cechę, gdyż obliczone równania matematyczne opisują jednocześnie oddziaływanie kilku czynników oraz ich interakcję. Metoda ta umożliwia ponadto optymalizację wartości czynników doświadczalnych w celu uzyskania określonej wartości cechy (odpowiedzi) [8]. Zaletą metody jest możliwość szybkiej interpretacji wyników na podstawie obliczonych równań oraz wykreślonych dwu- i trójwymiarowych wykresów.

Celem pracy było określenie wpływu warunków ogrzewania roztworów koncentratu soku z buraka ćwikłowego, w układzie modelowym, na zmiany wartości parametrów barwy w systemie CIE L*a*b* oraz zawartości barwników betalainowych. Badania przeprowadzono z zastosowaniem metody płaszczyzny odpowiedzi, wykorzystując plan doświadczalny Box-Behnkena dla 3 czynników doświadczalnych.

2. MATERIAŁY I METODY

2.1 Koncentrat z buraka ćwikłowego

W badaniach wykorzystano koncentrat soku z buraka ćwikłowego o zawartości barwników fioletowych 423,0 mg/100 g, zawartości barwników żółtych 127,9 mg/100 g oraz stosunku zawartości barwników fioletowych do żółtych 3,31.

2.2 Plan doświadczenia

Jako zmienne niezależne A, B, C przyjęto:
A - temperatura ogrzewania: 70 – 80 – 90°C
B - czas ogrzewania: 0 – 60 – 120 min
C - pH: 3 – 4,5 – 6,0

Dla umożliwienia porównywania czynników wyrażonych różnymi miarami przeprowadzono normalizację ich wartości. Najniższy poziom czynnika oznaczono kodem -1, a najwyższy +1. Wybrano układ doświadczalny Box-Behnken'a obejmujący 17 punktów pomiarowych, w tym doświadczenie dla punktu centralnego o kodzie 0, 0, 0 powtórzono 5-krotnie.

2.3 Przeprowadzenie doświadczenia

Na podstawie planu doświadczenia przygotowano rozcieńczenia koncentratu w roztworach buforu fosforanowego o pH: 3,0; 4,5 i 6,0. Fiolki o pojemności 25 ml napełniono roztworem koncentratu, a następnie ogrzewano je w termostacie wodnym, w odpowiedniej temperaturze, przez czas zgodny z planem doświadczenia.

2.4 Pomiar barwy

Parametry barwy oznaczano w świetle przechodzącym, przy użyciu kolorymetru Konica Minolta CM-3600d, w kuwetach szklanych o grubości 0,2 cm. Pomiary prowadzono w systemie CIE L* a*b*, stosując typ obserwatora 10° oraz iluminant D65.

2.5 Oznaczenie zawartości barwników betalainowych

Zawartość barwników betalainowych oznaczono spektrofotometryczną metodą różnicową wg Nilssona [9]. Zawartość barwników fioletowych wyrażono jako betaninę, a barwników żółtych jako wulgaksantynę. Metoda polega na równoczesnym oznaczeniu fioletowych betacyjanów i żółtych betaksantyn. Przed pomiarem absorbancji próbę rozcieńczono buforem fosforanowym o pH 6,5 w takiej proporcji, aby wartość absorbancji mieściła się w zakresie 0,2 – 0,8. Jako próbę zerową stosowano bufor fosforanowy. Absorbancję mierzono przy trzech długościach fali: 476, 538 i 600 nm.

Wartość absorbancji dla barwników fioletowych przy 538 nm (Ecz) z uwzględnieniem absorpcji światła spowodowanej obecnością zanieczyszczeń obliczono wg wzoru 1:

$$Ecz = 1,095 \times (E538 - E600) \quad (1)$$

gdzie: E538 – zmierzona absorbancja roztworu przy 538 nm,
E600 – zmierzona absorbancja roztworu przy 600 nm,
1,095 – współczynnik uwzględniający wzrost absorbancji przy 538 nm wskutek obecności zanieczyszczeń.

Zawartość barwników fioletowych (CZ) wyrażoną w procentach betaniny obliczono wg wzoru 2:

$$CZ = R \times Ecz / 1120 [\%] \quad (2)$$

gdzie: R – krotność rozcieńczenia próby,
1120 – absorbancja roztworu betaniny o stężeniu 1% mierzona przy długości fali 538 nm w kucie 1 cm.

Wartość absorbancji dla barwników żółtych przy 476 nm (E_z) z uwzględnieniem absorpcji światła spowodowanej obecnością barwników fioletowych oraz zanieczyszczeń obliczano wg wzoru 3:

$$E_z = E_{476} - E_{538} + 0,677 \times E_{cz} \quad (3)$$

gdzie: E_{476} – zmierzona absorbancja roztworu przy 476 nm,

E_{538} – zmierzona absorbancja roztworu przy 538 nm,

0,677 – współczynnik uwzględniający wzrost absorbancji przy 476 nm wskutek obecności zanieczyszczeń,

E_{cz} – wartość absorpcji dla barwników fioletowych.

Zawartość barwników żółtych (\hat{Z}) wyrażoną w procentach wulgaksantyny obliczano wg wzoru 4:

$$\hat{Z} = R \times E_z / 750 [\%] \quad (4)$$

gdzie: R – krotność rozcieńczenia próby,

750 – absorbancja roztworu wulgaksantyny o stężeniu 1% mierzona przy długości fali 476 nm w kuwecie 1 cm.

3. WYNIKI I Dyskusja

Wpływ czynników doświadczalnych na barwę i zawartość barwników betalainowych określono na podstawie wykresów oraz równań płaszczyzn odpowiedzi. W Tabeli 1 przedstawiono parametry równań płaszczyzn odpowiedzi dla zawartości barwników i parametrów barwy.

Podczas ogrzewania zawartość barwników fioletowych zmniejszała się, a zawartość barwników żółtych wzrastała (Rys. 1). Pod wpływem wysokiej temperatury barwniki fioletowe ulegają rozpadowi do związków brązowych, które w stosowanej metodzie spektrofotometrycznej oznaczane są razem z barwnikami żółtymi [10]. Analizując wartości współczynników równań powierzchni odpowiedzi zaobserwowano, że największy wpływ na zmianę zawartości barwników fioletowych miały czas i temperatura ogrzewania. Wpływ pH był znacznie mniejszy. Na zawartość betaksantyn największy wpływ miało pH oraz interakcje między temperaturą ogrzewania i pH. Zmiany w zawartości barwników betalainowych miały swoje odzwierciedlenie w zmianie stosunku zawartości barwników fioletowych do żółtych (Rys. 1). Współczynnik ten malał wraz ze wzrostem czasu i temperatury ogrzewania, co miało wpływ na zmiany tonu barwy roztworów koncentratu. Naj-

wyższą zawartość barwników fioletowych i jednocześnie najwyższy stosunek barwników fioletowych do żółtych odnotowano dla pH 4,5, co jest zgodne z danymi literaturowymi, według których betacyjany wykazują najwyższą stabilność przy pH zbliżonym do 5,0 [10, 11].

W czasie ogrzewania wartości składowych barwy X i Y wzrastały, co związane było ze spadkiem zawartości barwników fioletowych. Największy wpływ na te parametry miał czas ogrzewania, a w dalszej kolejności temperatura ogrzewania. Wpływ pH był nieistotny statystycznie ($p < 0,05$). W czasie ogrzewania rozcieńczonego koncentratu obserwowano wzrost wartości parametru L^* oraz parametru b^* (Rys. 2), co wskazuje na pojaśnienie barwy i wzrost udziału barwy żółtej. Zmiana barwy w kierunku żółtej miała swoje odbicie w wartości tonu barwy h^* , który w czasie ogrzewania wzrastał w zakresie od 29,86 do 35,42. Jednocześnie obserwowano wzrost parametru a^* (Rys. 2), a więc udziału barwy czerwonej. Liczne prace naukowe wskazują na spadek tego parametru w czasie ogrzewania na skutek degradacji barwników fioletowych [12]. Odmienne wyniki można jednak wytłumaczyć, analizując przestrzenny model CIE $L^*a^*b^*$ (Rys. 3). Degradacja fioletowych barwników i jednoczesny wzrost zawartości barwników żółtych prowadzą do przesunięcia barwy z fioletowej poprzez czerwoną w kierunku żółtej. Należy zwrócić także uwagę, że w środowisku o pH 3,0 wodne roztwory mogą zmieniać barwę w kierunku fioletowego, co jest wynikiem dysocjacji grup karboksylowych [13].

Na parametry $L^*a^*b^*$ oraz C^* i h^* podobnie jak na składowe barwy X i Y największy wpływ miał czas ogrzewania, a wpływ pH był istotny statystycznie ($p < 0,05$) tylko w przypadku parametru h^* .

Wykazano istotną ujemną korelację pomiędzy barwnikami betacyjanowymi a parametrami barwy oraz wysoką dodatnią korelację pomiędzy większością parametrów barwy (Tab. 2).

Tylko w przypadku zawartości barwników betalainowych uzyskano dopasowanie dla płaszczyzny 2-go stopnia, istotne na podstawie testu F na poziomie $< 0,001$. Dla pozostałych badanych odpowiedzi uzyskano dopasowanie 1-go stopnia (Tab. 1).

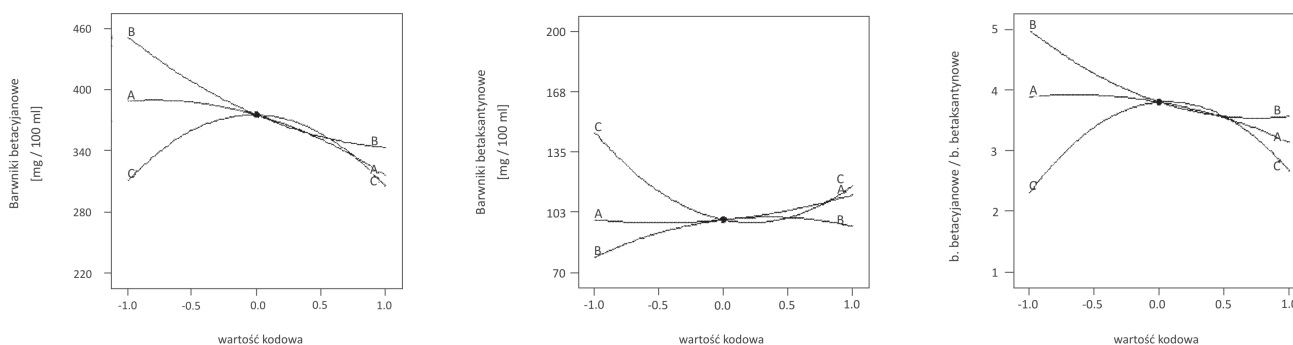
Dla zachowania pożądanego barwy i dużej zawartości betacyjanów, soki z buraka ćwikłowego należy poddawać obróbce cieplnej po lekkim zakwaszeniu i ograniczyć czas działania wysokiej temperatury.

Tabela 1 Charakterystyka równań powierzchni odpowiedzi dla badanych wyróżników roztworu koncentratu soku buraczanego po ogrzewaniu

Table 1 Characteristics of response surface equations for estimated variables of solutions of red beet concentrate after heating

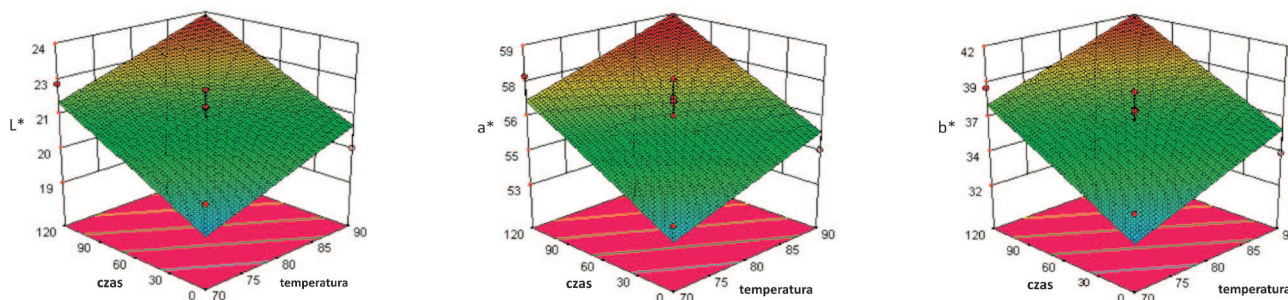
Parametr	Czynnik doświadczalny						Model	Istotność testu F	Stopień dopasowania
	Wyraz wolny	A	B	C	C ²	A*C			
Zawartość barwników fioletowych	374,16	-36,61	-53,9		-66,97		2	0,001	< 0,0001
Zawartość barwników żółtych	98,16	6,69		-14,02	32,61	-30,7	2	0,033	0,0001
Barwniki fioletowe/ barwniki żółte	3,81		-0,61		-1,28		2	0,0203	0,0004
L*	21,47	1,11	1,58				1	0,0025	0,0159
a*	56,37	1,17	1,85				1	0,0026	0,0343
b*	36,85	1,95	2,78				1	0,0020	0,0181
C*	67,37	2,03	3,04				1	0,0023	0,0265
h*	33,1	0,85	1,19	0,68			1	0,0017	0,0076
X	7,9	0,65	0,9				1	0,0029	0,0221
Y	3,39	0,31	0,41				1	0,0030	0,0176
Z	-	-	-				mean	-	0,1887

W tabeli podano wartości współczynników istotnych na poziomie ufności $p < 0,05$: A – temperatura ogrzewania, B – czas ogrzewania, C – pH



Rysunek 1 Przekroje przez pole powierzchni odpowiedzi dla zmian zawartości barwników betalainowych podczas ogrzewania roztworu koncentratu soku z buraka ćwikłowego przy kodowych wartościach pozostałych zmiennych równych 0; oznaczenia: A – temperatura ogrzewania, B – czas ogrzewania, C – pH

Figure 1 Cross-sections through response surfaces for changes of betalains concentration during heating of solutions of red beet concentrate at the code value of the remaining variables equaling 0; designations: A – temperature, B – time, C – pH



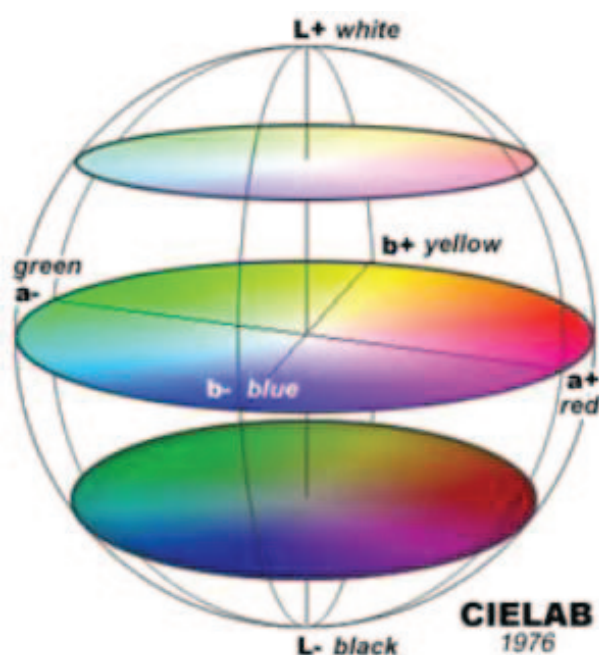
Rysunek 2 Powierzchnie odpowiedzi dla zmian parametrów barwy L*, a*, b* przy pH 4,5

Figure 2 Response surfaces for colour parameters L*, a*, b* at pH 4,5

Tabela 2 Współczynnik korelacji pomiędzy badanymi wyróżnikami
Table 2 Correlation coefficient between estimated variables

	Beatacyjany	Beataksantyny	Beatacyjany/ Beataksantyny	L*	a*	b*	C*	h*	X	Y	Z
Beatacyjany	1,000	-0,654	0,915	0,680	-0,596	-0,694	-0,650	-0,727	-0,683	-0,701	0,204
Beataksantyny		1,000	-0,871	0,296	0,199	0,307	0,257	0,654	0,295	0,317	-0,293
Beatacyjany/ Beataksantyny			1,000	-0,499	-0,400	-0,512	-0,461	-0,555	-0,500	-0,522	0,282
L*				1,000	0,981	0,999	0,996	0,992	0,999	0,998	0,104
a*					1,000	0,981	0,994	0,956	0,983	0,975	0,168
b*						1,000	0,996	0,993	0,998	0,998	0,092
C*							1,000	0,980	0,996	0,992	0,128
h*								1,000	0,986	0,990	0,029
X									1,000	0,999	0,131
Y										1,000	0,120
Z											1,000

Korelacja istotna statystycznie na poziomie $p < 0,05$



Rysunek 3 Model barwy CIE Lab.
 Źródło: <http://olejnik.no-jp.org/46.htm>

Figure 3 Colour model CIE Lab

4. WNIOSKI

1. Podczas ogrzewania roztworów koncentratu z buraka ćwikłowego następowała degradacja fioletowych barwników betalainowych oraz zmniejszenie się stosunku barwników fioletowych do żółtych.
2. W wyniku ogrzewania nastąpił wzrost jasności barwy L^* oraz udziału barwy czerwonej i żółtej (parametru a^* , b^* i h^*).
3. Na wszystkie badane odpowiedzi największy wpływ miał czas i temperatura ogrzewania, natomiast wpływ pH był mniejszy.
4. Największą stabilność barwników fioletowych i jednocześnie najwyższy stosunek barwników fioletowych do żółtych odnotowano dla próbek ogrzewanych przy pH 4,5.

Badania wykonano w ramach projektu „Nowa żywność bioaktywna o zaprogramowanych właściwościach prozdrowotnych”, PO IG 01.01.02-00-061/09 realizowanego w l. 2010-2014.

LITERATURA

- [1] Czyżowska A., Klewicka E., Libudzisz Z., The influence of lactic acid fermentation process of red beet juice on the stability of biologically active colorants. Eur. Food Res. Techn., 223, 2006, 110-116.
- [2] Hutchings J. B., Food colour and appearance. Black Acad. Profes., 1996.
- [3] Pastuszek W., Barwa w grafice komputerowej. Wyd. Nauk. PWN, 2000, Warszawa.
- [4] Edenharter R., Sager J. W., Gatt H., Muckel E., Platt K. L., Protection by beverages, fruits, vegetables, herbs, and flavonoids against genotoxicity of 2-acetylaminofluorene and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) in metabolically competent V79 cells. Mutation Research 521, 2002, 57-72.

- [5] Kanner J., Hardel S., Granit R., Betalains – a new class of dietary cationized antioxidants. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 2001, 5178-5185.
- [6] Jägerstad M., Pirogen V., Walker C., Ros G., Carnovale E., Holasova M., Nau H., Increasing natural food folates through bioprocessing and biotechnology. *Trends Food Sci. Technol.*, 16, 2005, 298-306.
- [7] Nemzer B., Pietrzykowski Z., Spórna A., Stalica P., Thresher W., Michałowski T., Wybraniec S., Betalainic and nutritional profiles of pigment-enriched red beet root (*Beta vulgaris* L.) dried extracts. *Food Chem.*, 127, 2011, 42-53.
- [8] Koocheki A., Azarpazhooh E., Evaluation of mass exchange during osmotic dehydration of plum using response surface methodology. *Int. J. Food Prop.*, 2010, 13, 155-166.
- [9] Nilsson T., Studies into the pigments in beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *Rubra* L.). *Lantbrukshögskolans Annaler.*, 36, 1970, 179-197.
- [10] Saguy I., Thermostability of beet pigments (betanine, vulgaxantin – I): Influence of pH and temperature, *J. Food Sci.*, 1979, 44, 1554-1561.
- [11] Czapski J., Barwniki buraka ćwikłowego. Charakterystyka i metody oznaczania. *Postępy Nauk Rolniczych*, 1984, 55-68.
- [12] Czapski J., Walkowiak-Tomczak D., Przewidywanie zmian barwy soku z buraka ćwikłowego podczas ogrzewania. *ABiD*, 2002, 1, 26-31.
- [13] Klewicka E., Betacyjaniny – biodostępność i biologiczna aktywność. *Żyw. Nauka Tech. Jakość*. 2012, 2 (81), 5-21.