



Zachodniopomorski
Uniwersytet Technologiczny

CHEMIA ŻYWNOŚCI



Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa

**Centrum Bioimmobilizacji
i Innowacyjnych
Materiałów Opakowaniowych**

ul. Klemensa Janickiego 35

71-270 Szczecin



ĆWICZENIE 2.

Barwniki roślinne

Wstęp

pH – ujemny logarytm ze stężenia jonów wodorowych

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$$

pH jest miarą kwasowości roztworu:

Wartość pH	Roztwór
$0 < \text{pH} < 7$	Kwaśny
$\text{pH} = 7$	Obojętny
$7 < \text{pH} < 14$	Zasadowy

Wskaźniki pH (indykatory) – są to substancje, najczęściej organiczne, które posiadają inne zabarwienie w postaci cząsteczkowej oraz zdysocjowanej, a tym samym zmieniają barwę w roztworze o określonym odczynie (pH). Stosuje się je w postaci roztworów wodnych lub alkoholowych, które dodaje się do roztworu badanego lub też w postaci papierków wskaźnikowych, którymi są wysuszone kawałki bibuły filtracyjnej nasączone uprzednio roztworem wskaźnika.

Najczęściej stosowane wskaźniki pH:

Wskaźniki	Zakres zmiany pH	Barwa w postaci	
		kwasowej	zasadowej
Błękit tymolowy	1,2 – 2,8	Czerwona	Żółta
Żółcień metylowa	2,9 – 4,0	Czerwona	Żółta
Błękit bromofenolowy	3,0 – 4,6	Żółta	Niebieska
Oranż metylowy	3,1 – 4,4	Czerwona	Żółta
Czerwień metylowa	4,2 – 6,3	Czerwona	Żółta
Lakmus	5,0 – 8,0	Czerwona	Niebieska
Błękit bromotymolowy	6,0 – 7,6	Żółta	Niebieska
Czerwień obojętna	6,8 – 8,0	Czerwona	Żółta
Błękit tymolowy	8,0 – 9,6	Żółta	Niebieska
Fenoloftaleina	8,1 – 10,0	Bezbarwna	Malinowa
Tymoloftaleina	9,3 – 10,5	Bezbarwna	Niebieska
Nitramina	11,0 – 13,0	Bezbarwna	Pomarańczowa

Roślinne wskaźniki pH

Wiele roślin zawiera naturalne barwniki mające właściwości wskaźników pH. Niektóre nazywane są nawet roślinami wskaźnikowymi, pozwalającymi na określenie kwasowości gleby. Np. kwiaty niezapominajki na podłożu kwaśnym mają wyraźnie różowy odcień w odróżnieniu od niebieskich kwiatów rosnących na podłożu alkalicznym (dotyczy to jednak tylko tych roślin, które kwitną po raz pierwszy; niezapominajka jest rośliną wieloletnią).

Najpopularniejszym wskaźnikiem pH pochodzenia naturalnego jest lakmus. Jest to niebieski barwnik otrzymywany z porostów *Rocella* i *Lecanora* występujących na wybrzeżu Morza Śródziemnego i Atlantyku. Nazwa „lakmus” pochodzi od holenderskiego słowa *lacmoes* (od *moes* = "papka, pulpa"). Roztwór lakmusu w środowisku zasadowym barwi się na niebiesko, zaś w obecności kwasów na czerwono. Zakres zmiany barwy przypada na pH ok. 5-8.

Innymi barwnikami mającymi właściwości wskaźników są barwniki antocyjanowe (antocyjany) oraz betalainowe (betalainy).

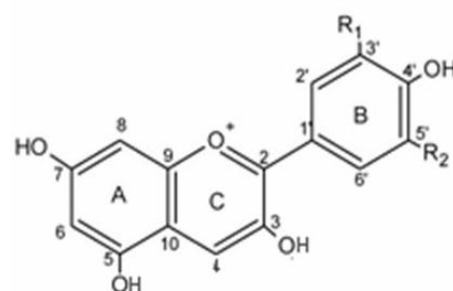
Antocyjany nadają zabarwienie wielu owocom (np. czarna jagoda, aronia), warzywom (np. czerwona kapusta), kwiatom (np. pelargonia, dalia, róże, fiołki i inne) oraz nasionom i liściom roślin. Ich stężenie w owocach związane jest ze stopniem ich dojrzałości i najczęściej rośnie w miarę dojrzewania owocu.

Antocyjany występują szeroko w całym świecie roślin z wyjątkiem glonów i rodzin takich jak kaktusowate oraz komosowate (np. komosa, burak, szpinak). Rodziny te mają swoją odrębną grupę barwników zwanych barwnikami betalainowymi (betalainami). Obecność betalain w roślinie wyklucza obecność w nich antocyjanów.

Struktura i własności chemiczne

Antocyjany to barwniki roślinne o kolorze czerwonym, niebieskim lub fioletowym. Należą one do szerszej grupy związków zwanej flawonoidami. Mają charakter glikozydów, czyli w ich skład wchodzi część cukrowa (zwane glikonami) pochodzące najczęściej od glukozy, a rzadziej od: galaktozy, ksylozy, ramnozy i arabinozy oraz grupy nie cukrowe (zwane aglikonami). Aglikon antocyjanów nosi nazwę antocyjanidyny. Z roślin wyizolowano ponad 500 różnych antocyjanów, wyróżniono wśród nich 15 typów budowy części aglikonowych, z których 6 spotyka się w naturze najczęściej (Rys. 1).

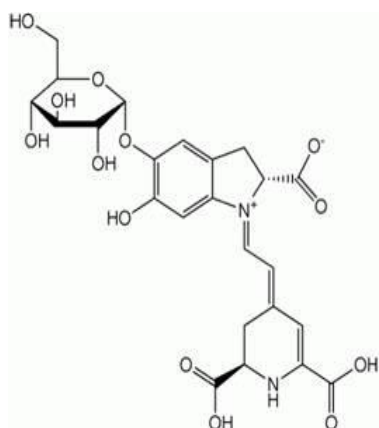
antocyjanidyna	R ₁	R ₂	barwa	Symbol E
pelargonidyna	H	H	Pomarańczowa, łososiowa	E163d
cyjanidyna	OH	H	Purpurowo-różowa	E163a
peonidyna	OCH ₃	H	Purpurowo-różowa	E163e
delfinidyna	OH	OH	Fioletowa, niebieska	E163b
petunidyna	OCH ₃	OH	Fioletowa	E163f
malwidyna	OCH ₃	OCH ₃	Fioletowa	E163c



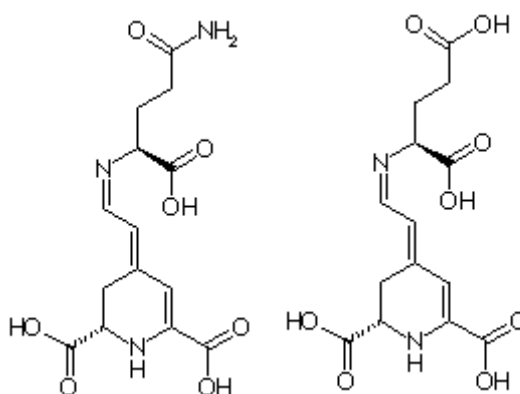
Rys. 1. Najczęściej występujące modyfikacje pierścienia B antocyjanidyny

Barwa antocyjanów zależy od pH środowiska, w jakim się one znajdują. W przypadku pH poniżej 7 (kwaśne) są one czerwone, a w pH obojętnym lub zasadowym ($\text{pH} > 7$) mają barwę niebieską lub fioletową. Jeśli jednak występują one w kompleksie z jonami glinu lub żelaza (III), to mimo kwaśnego odczynu środowiska, również mają barwę niebieską. Tak jest np. w kwiatach chabra bławatka cyjanidyna nadaje barwę niebieską a róży ten sam barwnik nadaje barwę czerwoną.

Betalainy dzieli się ze względu na ich strukturę na dwie grupy: czerwono-fioletowe betacyjany i żółte betaksantyny. Jak dotąd, opisano ponad 50 betalain. Podstawowym elementem ich struktury jest układ chromoforowy trzech sprzężonych wiązań podwójnych- 1,7-dwuazaheptametynowy. W burakach ćwikłowych głównym betacyjanem jest betanina (Ryc. 2), a główną betaksantyną – wulgaksantyna I i wulgaksantyna II (Ryc. 3). Dwie wulgaksantyny różnią się jedynie pojedynczą boczną grupą cząsteczki. Sok z buraków jest purpurowy w środowisku kwaśnym (np. w obecności kwasu octowego w barszczu). Zabarwienie to utrzymuje się do $\text{pH}=7$. Po dodaniu do takiego roztworu amoniaku następuje zmiana barwy na niebieskofioletowy, a przy $\text{pH}=12$ na brązowy.



Rys. 2. Betanina



Rys. 3. Wulgaksantyna I (po lewej) i II (po prawej)

Własności biologiczne

W świecie roślinnym antocyjany i betalainy pełnią istotną rolę sygnalizacyjną w oddziaływaniach roślin z innymi organizmami. Polega ona między innymi na przyciąganiu ptaków, małych ssaków czy owadów, które odgrywają istotną rolę w zapyłaniu roślin. Drugą ważną funkcją tych barwników jest ochrona roślin przed patogenami.

Antocyjany chronią tkanki przed szkodliwymi skutkami promieniowania UV. Pochłaniając promieniowanie UV obniżają ryzyko uszkodzeń struktury podwójnej helisy DNA, obniżając tym samym ryzyko powstawania krzyżowych połączeń nici DNA, które uniemożliwiają prawidłową syntezę białek i podział komórek..

Istnieją poglądy, że antocyjany mają znaczenie prozdrowotne dla organizmu człowieka. Obniżają one kruchość naczyń włosowatych, polepszają jakość widzenia wzmagając ukrwienie oka i stymulując produkcję istotnej w procesie widzenia rodopsyny, wykazują aktywność antywirusową. Wiele z tych poglądów nie jest jednak udowodnionych w

badaniach naukowych. Choć antocyjany są ważnymi przeciwutleniaczami, ich wpływ na organizm człowieka jest wciąż słabo poznany.

Zastosowanie

Antocyjany to rozpuszczalne w wodzie naturalne barwniki, których barwa zależy od pH środowiska i obecności jonów metali. Znalazły one powszechne zastosowanie jako barwniki w farmacji i przemyśle spożywczym, gdzie oznaczane są jako E 163. Istnieją jednak pewne ograniczenia w zastosowaniu antocyjanów w produkcji żywności. W niektórych przypadkach rozpuszczalność w wodzie jest czynnikiem ograniczającym zastosowanie antocyjanów oraz fakt, iż na barwę antocyjanów mają wpływ: pH środowiska, temperatura, dostęp tlenu, działanie światła nadfioletowego. Utracie barwy można zapobiegać stosując obniżoną temperaturę przechowywania, opakowania nieprzepuszczające światła lub pakowanie w atmosferze pozbawionej tlenu. W praktyce, trudno jest uzyskać czyste barwniki antocyjanowe i najczęściej do barwienia produktów spożywczych stosuje się surowe ekstrakty. Jako barwniki antocyjanowe wykorzystuje się głównie ekstrakt ze skórki winogron (E163(i)), oraz ekstrakt z czarnej porzeczki (E163(iii)).

Wszystkie betalainy są rozpuszczalne w wodzie, co stanowi ograniczenie w ich stosowaniu. Betalainy są trwałe w zakresie pH od 3,5 do 7,0, obejmującym prawie wszystkie produkty żywnościowe, przy maksymalnej trwałości w pH 5,5. Betanina jest wrażliwa na światło i podwyższoną temperaturę, przez co można ją stosować wyłącznie w żywności świeżej, w produktach pakowanych w modyfikowanej atmosferze lub produktach, które nie są poddawane obróbce termicznej. Najczęściej stosuje się ją w produktach mrożonych (lodach, jogurtach). Wysuszony sok buraczany jest bardziej trwały i jest stosowany jako barwnik sproszkowanych napojów typu instant. Jest także trwały przy wysokich stężeniach cukru i może być zastosowana do barwienia ciastek, galaretek i nadzień owocowych. Ekstrakt z korzenia buraka ćwikłowego jest barwnikiem żywności oznaczonym symbolem E 162.

Cześć doświadczalna

1. Pokroić liście czerwonej kapusty na drobne fragmenty (około 1 cm szerokości), umieścić w zlewce na 400 ml (zlewka powinna być wypełniona liśćmi w $\frac{3}{4}$), zalać wodą i gotować około 10 minut. Liście powinny być całkowicie zanurzone w wodzie. Po 10 min. gotowania odlać wywar do nowej zlewki.
2. Pokroić buraka w drobną kostkę, umieścić w zlewce na 400 ml (zapełnić w $\frac{3}{4}$), zalać wodą i gotować około 10 minut. Burak powinien być całkowicie zanurzony w wodzie. Po 10 min. gotowania odlać wywar do nowej zlewki.
3. Do 13 probówek nalać równe ilości wyciągu z czerwonej kapusty, do kolejnych 13 wyciągu z buraka (do około $\frac{1}{4}$ wysokości).

4. Do 12 probówek z wyciągiem z czerwonej kapusty dolać po 3 ml znajdujących się na stanowisku roztworów o pH od 1 do 13 (jedna probówka pozostaje bez dodatku roztworu jako próba kontrolna). Analogicznie postąpić z probówkami, w których znajduje się wyciąg z buraka.
5. Porównać barwy roztworów we wszystkich probówkach i zanotować wnioski w tabeli poniżej.

pH dodawanego roztworu	Barwa po 30 s	Barwa po 10 min.
Próba kontrolna (bez dodatku roztworu)		
1		
1.6		
5.8		
6.2		
6.6		
7.0		
7.4		
7.8		
8.1		
11.0		
12.8		
13		