

IWONA ŚCIBISZ, MARTA MITEK

WPLYW PROCESU MROŻENIA I ZAMRAŻALNICZEGO PRZECHOWYWANIA OWOCÓW BORÓWKI WYSOKIEJ NA ZAWARTOŚĆ ANTOCYJANÓW

Streszczenie

Celem pracy było określenie stabilności barwników antocyjanowych w czasie produkcji mrozonek z owoców borówki wysokiej (*Vaccinium corymbosum* L.). Ponadto zbadano wpływ czasu i temperatury przechowywania mrozonek na zawartość związków antocyjanowych.

Podczas procesu zamrażania nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian zawartości antocyjanów ogółem. Metodą chromatografii cieczowej wyodrębniono z owoców 14 związków antocyjanowych. Pochodne malwidyny i delfinidyny były dominującymi barwnikami, stanowiącymi ponad 75% wszystkich zidentyfikowanych antocyjanów. Owoce zamrożone, w porównaniu z surowcem świeżym, charakteryzowały się nieznacznie większą zawartością pochodnych delfinidyny oraz petunidyno-3-arabinozydu. Obserwowany przyrost zawartości antocyjanów w owocach mrożonych związany mógł być z poprawą efektywności ekstrakcji barwników. Podczas 6-miesięcznego przechowywania zamrażalniczego owoców w temp. -18 i -35°C nie następowały istotne zmiany zawartości antocyjanów.

Słowa kluczowe: owoce borówki wysokiej, antocyjany, mrożenie, przechowywanie

Wprowadzenie

Bogatym źródłem barwników antocyjanowych są owoce borówki wysokiej, zwanej potocznie w naszym kraju amerykańską. Zawartość antocyjanów w owocach tego gatunku waha się w bardzo szerokim zakresie od 25 do 495 mg/100 g. Zależy ona od odmiany, wielkości owoców, stopnia ich dojrzałości, warunków klimatycznych i agrotechnicznych uprawy oraz okresu i warunków przechowywania owoców [9]. Owoce borówki wysokiej charakteryzują się bardzo różnorodnym składem antocyjanowym, co wyróżnia je spośród innych owoców jagodowych [5]. Zawierają 14 antocyjanów podstawowych, będących monoglikozydami malwidyny, delfinidyny, petunidyny, cyjani-

Dr inż. I. Ścibisz, dr hab. M. Mitek prof. SGGW, Zakład Technologii Owoców i Warzyw, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa

dyny oraz peonidyny, a w niektórych odmianach borówki występują również antocyjany acylowane. Reszty glikozydowe antocyjanów tworzą trzy monosacharydy: galaktoza, glukoza oraz arabinoza [3].

Borówka wysoka uprawiana w Polsce przeznaczona jest prawie wyłącznie na rynek owoców świeżych. W krajach, w których borówkę uprawia się w dużych ilościach, głównym kierunkiem ich przerobu jest mrożenie. Najczęściej borówki mrożone są w tunelach fluidyzacyjnych, dzięki czemu otrzymuje się bardzo wysokiej jakości produkt, określany mianem IQF (Individualy Quick Frozen). Na rynku światowym, obok opakowań detalicznych, występują także owoce mrożone w opakowaniach zbiorczych, które jako półprodukt, kierowane są do produkcji dżemów, konfitur i nadzień cukierniczych [13].

Celem pracy było określenie wpływu procesu mrożenia oraz przechowywania zamrażalniczego na zawartość antocyjanów w owocach borówki wysokiej.

Material i metody badań

Przedmiotem badań były owoce borówki wysokiej odmiany Earlyblue pochodzące z gospodarstwa sadowniczego w Piskórcie koło Prażmowa, oddalonego 15 km od Warszawy. Zebrane owoce pochodziły ze zbioru trzeciego i były całkowicie wybarwione, o dojrzałości konsumpcyjnej, bez oznak zepsucia oraz bez uszkodzeń mechanicznych. Owoce zebrano 22 lipca 2004 roku.

Umyte i osuszone powierzchniowo świeże owoce borówek w ilości po 0,5 kg pakowano w torebki foliowe, które umieszczano w komorach zamrażalniczych w temp. $-18 \pm 2^\circ\text{C}$ (typ dkkGS150) oraz $-35 \pm 2^\circ\text{C}$ (typ Husqvarna 25). Na zaplanowany cykl doświadczenia zużyto 40 kg owoców. Pierwsze analizy chemiczne mrozonek wykonywano po upływie co najmniej 24 godz. od chwili umieszczenia owoców w komorze zamrażalniczej. Owoce świeże do momentu wykonania wszystkich analiz chemicznych przechowywano w warunkach chłodniczych (6°C), maksymalnie 36 godz. od terminu zbioru. Przed przystąpieniem do analiz owoce borówek rozmrażano do uzyskania temperatury pokojowej, co trwało około 1,5 godziny.

W owocach świeżych, w owocach bezpośrednio po zamrożeniu oraz w mrożonkach po 2, 4 i 6 miesiącach przechowywania oznaczano zawartość: antocyjanów ogółem oraz poszczególnych glikozydów antocyjanowych. Oznaczenie antocyjanów ogółem prowadzono metodą Swain i Hillis [11]. Wyniki oznaczeń podano w przeliczeniu na cyjanidyno-3-glukozyd. Oznaczenie zawartości poszczególnych antocyjanów prowadzono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Próbkę owoców ekstrahowano mieszaniną aceton/metanol/woda (35/35/30) zakwaszoną 0,1% HCl. Po odparowaniu acetonu i metanolu w wyparce próżniowej próbkę наносzono na minikolumny Sep-Pak C₁₈. Cukry i pozostałe substancje nieabsorbujące się na złożu wypłukiwano 0,1% H₃PO₄. Pozostałość wymywano 75% metanolem zakwaszonym 0,1% HCl

i oznaczano przy użyciu chromatografu firmy Shimadzu z detektorem spektrofotometrycznym SPD-10 Avpt współpracującym z pompą LC10-Atpt, wyposażonym w piec. Rozdział prowadzono w kolumnie Luna RP – 18 (5 μ m) przy prędkości przepływu 1 cm^3/min . W oznaczeniu antocyjanów jako eluentu używano 100% acetonitrylu (odczynnik A) oraz 10% kwasu mrówkowego (odczynnik B), wg gradientu: 4 min 5,5% A, 7 min 9% A, 18 min 11% A, 21 min 14% A, 26 min 22% A, 30 min 30% A, 32 min 5,5% A, 35 min 5,5% A. Rejestrację antocyjanów prowadzono przy długości fali 520 nm. Identyfikację monomerów antocyjanów prowadzono na podstawie danych literaturowych [3, 5, 12], a wyniki ilościowe oznaczeń podawano w przeliczeniu na cyjanidyno-3-glukozyd.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono przy wykorzystaniu pakietu statystycznego Statgraphic Plus 4.1. Analizy wykonywano w trzech powtórzeniach. Wyniki badań oznaczeń zawartości antocyjanów ogółem oceniono przy użyciu analizy wariancji wieloczynnikowej. Do porównania średnich użyto testu t-Tukey'a, przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Zawartość antocyjanów ogółem jaką otrzymano w owocach borówki wysokiej odmiany Earlyblue (236,9 mg/100 g) jest wyższa od wyników podawanych przez Ehlenfeldt i Prior [4] oraz Lenartowicza i wsp. [8], którzy badali owoce borówki wysokiej uprawianej w naszym kraju.

Podczas procesu zamrażania nie obserwowano statystycznie istotnych zmian zawartości antocyjanów ogółem w owocach borówki wysokiej (tab. 1). Ilość antocyjanów ogółem w świeżym surowcu była zbliżona do zawartości stwierdzonej w owocach mrożonych zarówno, w temp. -18°C jak i w -35°C .

W celu dogłębnej analizy zmian zawartości poszczególnych związków antocyjanowych podczas procesu zamrażania przeprowadzono rozdział chromatograficzny barwników antocyjanowych. Metodą chromatografii cieczowej wyodrębniono z owoców borówki wysokiej 14 związków antocyjanowych (tab. 1). Glikozydy malwidyny, delfinidyny oraz petunidyny były głównymi antocyjanami w badanych owocach i stanowiły odpowiednio 50, 25 i 21% wszystkich antocyjanów. Glikozydy peonidyny oraz cyjanidyny stanowiły natomiast jedynie 4% wszystkich zidentyfikowanych związków antocyjanowych. Podobne wyniki uzyskali Cho i wsp., [3] oraz Taruscio i wsp. [12]. Owoce zamrożone, w porównaniu z surowcem świeżym, charakteryzowały się istotnie wyższą zawartością pochodnych delfinidyny oraz petunidyno-3-arabinozydu, którego ilość w owocach świeżych wynosiła 16,8 mg/100 g, natomiast w mrożonkach 18,1 mg/100 g (temp. -18°C) oraz 17,6 mg/100 g (temp. -5°C).

Wzrost zawartości oznaczonych antocyjanów w mrożonych owocach związany mógł być z poprawą efektywności ekstrakcji barwników. Powstające w czasie mroże-

nia kryształy lodu mogły powodować mechaniczne uszkodzenie tkanek owoców, co ułatwiło przechodzenie związków antocyjanowych do roztworu ekstrakcyjnego. Według Stewart [10] użycie owoców mrożonych w produkcji soku borówkowego powoduje zwiększenie stopnia wydobycia barwników antocyjanowych, cukrów oraz innych składników ekstraktu.

Tabela 1

Zawartość antocyjanów ogółem oraz poszczególnych antocyjanów w świeżych i mrożonych owocach borówki wysokiej.

Total anthocyanins and individual anthocyanins contents in fresh and frozen highbush blueberries fruits.

Zawartość antocyjanów [mg/100 g owoców] Anthocyanin contents [mg/100 g fruits]		Owoce świeże Fresh fruits	Owoce mrożone Frozen fruit	
			Temperatura mrożenia [°C] Temperature of freezing [°C]	
			-18	-35
Antocyjany ogółem / Total anthocyanins		236,9a	240,6a	240,2a
Antocyjany Individual anthocyanins	Mv-3-gal	42,2a	42,5a	42,4a
	Mv-3-glu	37,6a	37,3a	37,5a
	Mv-3-ara	31,3a	31,7a	31,5a
	Dp-3-gal	17,8b	18,5a	18,4a
	Dp-3-glu	15,9b	16,8a	16,4a
	Dp-3-ara	22,7b	24,0a	23,6a
	Pt-3-gal	14,1a	14,0a	14,3a
	Pt-3-glu	16,6a	16,5a	16,2a
	Pt-3-ara	16,8b	18,1a	17,6a
	Cy-3-gal	1,0a	1,0a	0,9a
	Cy-3-glu	2,8a	2,4a	2,8a
	Cy-3-ara	4,5a	4,2a	4,3a
	Pn-3-gal	0,1a	0,0a	0,0a
Pn-3-glu	2,7a	2,5a	2,5a	
Ogółem / Total		226,1	229,5	228,4

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie oznaczone tą samą literą w wierszach nie różnią się statystycznie istotnie według testu t-Tukey'a na poziomie istotności $\alpha=0,05$ / Mean values followed by the same letter in a rows do not differ significantly at $p=0.05$ according to t-Tukey test.

Podczas 6-miesięcznego przechowywania zamrażalniczego owoców borówki wysokiej nie następowały istotne zmiany zawartości antocyjanów ogółem w żadnym z badanych terminów badań (tab. 2). Nie wykazano także istotnego wpływu temperatury przechowywania na zawartość poszczególnych antocyjanów. Podobne wyniki

otrzymali Ancos i wsp. [1] oraz González i wsp. [6] podczas przechowywania mrożonych malin i jeżyn. Zdecydowanie wyższe straty barwników antocyjanowych, sięgające nawet 90%, obserwowano podczas zamrażalniczego przechowywania wiśni [2].

Tabela 2

Zawartość antocyjanów ogółem oraz poszczególnych antocyjanów w mrożonych owocach przechowywanych 6 miesięcy w temp. -18 i -35°C.

Total anthocyanin and individual anthocyanins contents of frozen highbush blueberries stored during 6 months at -18 and -35°C.

Temperatura przechowywania [°C] Temperature of storage [°C]	Czas przechowywania [miesiące] Time of storage [months]							
	0	2	4	6	0	2	4	6
	Antocyjany ogółem [mg/100 g] Total anthocyanins [mg/100 g]				Mv-3-gal [mg/100 g]			
- 18	240,6aA	237,1 aA	236,3 aA	239,2 aA	42,5 aA	42,3 aA	42,1 aA	43,3 aA
- 35	240,2aA	239,2 aA	239,0 aA	237,1 aA	42,4aA	42,4 aA	42,3 aA	42,0 aA
	Mv-3-glu [mg/100 g]				Mv-3-ara [mg/100 g]			
- 18	37,3 aA	37,0 aA	37,0 aA	37,8 aA	31,7 aA	31,6 aA	31,4 aA	32,1 aA
- 35	37,5 aA	37,6 aA	37,5 aA	37,2 aA	31,5 aA	31,3 aA	31,4 aA	31,2 aA
	Dp-3-gal [mg/100 g]				Dp-3-glu [mg/100 g]			
- 18	18,5 aA	17,9 aA	17,6 aA	17,4 aA	16,8 aA	16,1 aA	16,0 aA	15,9 aA
- 35	18,4 aA	18,0 aA	17,8 aA	17,9 aA	16,4 aA	16,0 aA	15,8 aA	15,7 aA
	Dp-3-ara [mg/100 g]				Pt-3-gal [mg/100 g]			
- 18	24,0 aA	23,9 aA	23,8 aA	23,7 aA	14,0 aA	14,1 aA	14,2 aA	14,6 aA
- 35	23,6 aA	23,4 aA	23,2 aA	22,8 aA	14,3 aA	14,4 aA	14,5 aA	14,1 aA
	Pt-3-glu [mg/100 g]				Pt-3-ara [mg/100 g]			
- 18	16,5 aA	15,9 aA	16,0 aA	16,1 aA	18,1 aA	17,8 aA	17,6 aA	18,1 aA
- 35	16,2 aA	16,3 aA	16,0 aA	15,7 aA	17,6 aA	17,3 aA	17,2 aA	16,9 aA
	Cy-3-gal [mg/100 g]				Cy-3-glu [mg/100 g]			
- 18	1,0 aA	0,9 aA	1,0 aA	0,9 aA	2,4 aA	2,2 aA	2,3 aA	2,6 aA
- 35	0,9 aA	0,8 aA	0,8 aA	0,8 aA	2,8 aA	2,9 aA	2,9 aA	3,0 aA
	Cy-3-ara [mg/100 g]				Pn-3-gal [mg/100 g]			
- 18	4,2 aA	3,9 aA	4,0 aA	4,2 aA	0,0 aA	0,0 aA	0,0 aA	0,1 aA
- 35	4,3 aA	4,3 aA	4,4 aA	4,2 aA	0,0 aA	0,0 aA	0,0 aA	0,0 aA
	Pn-3-glu [mg/100 g]				Ogółem [mg/100 g] Total [mg/100 g]			
- 18	2,5 aA	2,4 aA	2,4 aA	2,5 aA	229,5 aA	226,0 aA	225,4 aA	229,0 aA
- 35	2,5 aA	2,5 aA	2,5 aA	2,3 aA	228,4 aA	227,2 aA	226,3 aA	223,8 aA

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie oznaczone tą samą małą literą w wierszach oraz dużą literą w kolumnach nie różnią się statystycznie istotnie według testu t-Tukey'a na poziomie istotności $\alpha = 0,05$ / Mean values followed by the same small letter in a rows and capital letter in column do not differ significantly at $p = 0.05$ according to t-Tukey test.

Porównując otrzymane wyniki można zauważyć, że pod koniec okresu przechowywania w temp. -18°C następował pewien pozorny wzrost zawartości antocyjanów w mrożonkach, który związany był prawdopodobnie z tzw. „ususzką”. W celu potwierdzenia tego wykonano oznaczenie zawartości suchej substancji w owocach przechowywanych w warunkach zamrażalniczych. Sucha substancja owoców składowanych w temp. -35°C przez 6 miesięcy nie różniła się statystycznie istotnie w porównaniu z wartością w owocach zaraz po zamrożeniu, natomiast w przypadku borówek przechowywanych w wyższej temperaturze (-18°C) obserwowano wzrost o 8% (tab. 3).

Tabela 3

Zawartość suchej substancji w mrożonych owocach przechowywanych 6 miesięcy w temp. -18 i -35°C .
Dry mater contents of frozen highbush blueberries stored during 6 months at -18 and -35°C .

Temperatura przechowywania [$^{\circ}\text{C}$] Temperature of storage [$^{\circ}\text{C}$]	Sucha substancja [%] Dry mater [%]			
	Czas przechowywania [miesiące] Time of storage [months]			
	0	2	4	6
- 18	15,8a	16,0ab	16,4b	17,1c
- 35	15,9a	15,8a	15,9a	16,2a

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Wartości średnie oznaczone tą samą małą literą w wierszach nie różni się statystycznie istotnie według testu t-Tukey'a na poziomie istotności $\alpha=0,05$.

Mean values followed by the same small letter in a rows do not differ significantly at $p=0.05$ according to t-Tukey test.

Z badań Kmiecika i wsp. [7] wynika, że straty barwników antocyjanowych podczas przechowywania owoców w zakresie ujemnych temperatur zależą przede wszystkim od gatunku zamrażanych owoców, a także, choć w mniejszym stopniu, od metody ich rozmrażania. W przypadku borówki czernicy najlepszą techniką rozmrażania owoców według tych autorów okazało się zastosowanie temperatury chłodniczej. Różnica zawartości antocyjanów w owocach rozmrażanych w temp. $2-4^{\circ}\text{C}$ a w temperaturze pokojowej $18-20^{\circ}\text{C}$, którą stosowano także do owoców borówki wysokiej w niniejszej pracy nie przekraczała 10%.

Wnioski

1. Pochodne malwidyny i delfinidyny są dominującymi antocyjanami owoców borówki wysokiej, stanowią one 75% wszystkich zidentyfikowanych antocyjanów.
2. Proces zamrażania owoców borówki wysokiej do temp -18°C i -35°C nie powoduje strat zawartości antocyjanów ogółem.

3. Stwierdzono większą zawartość pochodnych delfinidyny oraz petunidyno-3-arabinozydu w owocach mrożonych, co związane może być z poprawą efektywności ekstrakcji tych barwników w czasie ich oznaczania.
4. Sześciomiesięczne zamrażalnicze składowanie owoców borówki wysokiej w temp. -18°C oraz -35°C nie miało istotnego wpływu na stabilność antocyjanów.

Praca naukowa finansowana ze środków Komitetu Badań Naukowych w latach 2004-2006 jako projekt badawczy nr 2P06T05826. Była prezentowana podczas XII Ogólnopolskiej Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Lublin, 23–24 maja 2007 r.

Literatura

- [1] Ancos B., Gonzalez E. M., Cano M. P.: Ellagic acid, vitamin C, and total phenolic contents and radical scavenging capacity affected by freezing and frozen storage in raspberry fruit. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **(48)**, 565-4570.
- [2] Chaovanalikit A., Wrolstad R. E.: Anthocyanin and polyphenolic composition of fresh and processed cherries. *J. Food Sci.*, 2004, **1 (69)**, FDT73-FCT83.
- [3] Cho M. J., Howard L. R., Prior R. L., Clark J. R.: Flavonoid glycosides and antioxidant capacity of various blackberry, blueberry and red grape genotypes determined by high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *J. Sci. Food Agric.*, 2004, **(84)**, 1771-1782.
- [4] Ehlenfeld M. K., Prior R. L.: Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentration in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **(49)**, 2222-2227.
- [5] Gao L., Mazza G.: Quantitation and distribution of simple and acylated anthocyanins and other phenolics in blueberries. *J. Food Sci.*, 1994, **5 (59)**, 1057-1059.
- [6] González E., de Begoña A., Cano M.: Relation between bioactive compounds and free radical – scavenging capacity in berry fruits during frozen storage. *J. Sci. Food Agric.*, 2003, **(83)**, 722-726.
- [7] Kmiecik W., Jaworska G., Budnik A.: Wpływ różnych technik rozmrażania mrożonek z owoców jagodowych na ich jakość. *Roczn. PZH*, 1995, **2 (46)**, 135-143.
- [8] Lenartowicz W., Zbroszczyk J., Płocharski W.: The quality of highbush blueberry fruit. *Fruit Science Reports*, 1990, **2 (18)**, 77-85.
- [9] Mazza G., Miniati E.: Anthocyanins in fruit, vegetables and grain. CRS Press Boca Raton, Florida, 1993.
- [10] Stewart K.: Processing in cranberry, blueberry, currant, and gooseberry. W: *Processing fruits; science and technology* - pod red. Somogyi L. P., Technomic Pub. Co., Lancaster Pa., 1996.
- [11] Swain T., Hillis W. E.: The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci Food Agric.*, 1959, **1 (10)**, 63-68.
- [12] Taruscio T., Barney D. L., Exon J.: Content and profile of flavanoid and phenolic acid compounds in conjunction with the antioxidant capacity for a variety of Northwest Vaccinium berries. *Food Chem.*, 2004, **(52)**, 3169-3176.
- [13] Villata M.: Cultivated blueberries: a true-blue baking ingredient. *Cereal Food World*, 1998, **3 (43)**, 128-130.

INFLUENCE OF FREEZING PROCESS AND FROZEN STORAGE ON ANTHOCYANIN CONTENTS OF Highbush BLUEBERRIES**S u m m a r y**

The aim of this study was to determine the anthocyanin dyes during production of frozen investigate highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L). In addition, our objective was to determine the effect of frozen storage temperature and time on anthocyanins content.

During the freezing process the significant changes of total anthocyanins content of blueberry were not observed. A HPLC method was used for the separation of 14 individual anthocyanins. Derivates of malvidin and delphinidin constituted about 75% of the total anthocyanin content of fruits. Measurements of the individual anthocyanins showed there were significant differences between fresh and frozen fruits in contents of delphinidin glycosides and peonidin-3-galactoside. It is the most probable that the anthocyanin in frozen fruits becomes more easily extractable. No significant changes in anthocyanins content of blueberries were found during the long-term frozen storage at -18°C and -35°C.

Key words: highbush blueberries, anthocyanins, freezing, frozen storage 