

CHARAKTERYSTYKA PARAMETRÓW TERMODYNAMICZNYCH REAKCJI KOPIGMENTACJI ANTOCYJANÓW Z FLAWONOIDAMI

Anna Bąkowska, Jan Oszmiański, Alicja Z. Kucharska

Streszczenie. Celem badań było wyznaczenie parametrów termodynamicznych reakcji kopigmentacji trzech wybranych antocyjanów z dwoma kopigmentami: kwasem kwercetyno-5'-sulfonowym (QSA) i flawonami otrzymanymi z kłącza tarczycy bajkalskiej. Określono również wpływ pH, temperatury i rodzaju kopigmentu na wielkość efektu kopigmentacji. Interakcje pomiędzy badanymi związkami badano metodą spektrofotometryczną.

Przeprowadzone badania wykazały wpływ pH i temperatury na efekt kopigmentacji. Ujemne zmiany entropii, ΔS , która jest miarą uporządkowania układu, potwierdzają fakt, że w ustalonych w pracy warunkach tworzy się kompleks pomiędzy cząsteczką antocyjanu i kopigmentu. Otrzymane wyniki wskazują, że QSA tworzy bardziej stabilne kompleksy w porównaniu z flawonami tarczycy. Porównanie uzyskanych wielkości parametrów termodynamicznych reakcji kopigmentacji antocyjanów z QSA z odpowiednimi tworzonymi z udziałem flawonów wskazuje, że utworzone kompleksy antocyjan — QSA charakteryzują się wyższą stabilnością, ale niższym powinowactwem i uporządkowaniem systemu. Ujemne wartości wszystkich parametrów termodynamicznych dowodzą, że reakcja kopigmentacji jest procesem egzotermicznym i spontanicznym, a temperatura jest głównym parametrem wpływającym na ten proces.

Słowa kluczowe: antocyjany, kopigmentacja, termodynamika, tarczycza bajkalska, QSA

WSTĘP

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie konsumentów żywnością barwioną jedynie naturalnymi barwnikami. Zmusza to jej producentów do rezygnacji ze stosowania barwników syntetycznych i zastosowania do barwienia żywności naturalnych barwników, m.in. antocyjanowych. Związane to jest ze znacznymi ograniczeniami, gdyż barwniki antocyjanowe są bardzo niestabilne. Z tego powodu poszukuje się bezpieczniejszej z punktu widzenia zdrowotnego metody stabilizacji antocyjanów. Takim sposobem wydaje się kopigmentacja antocyjanów z flawonoidami.

Reakcja kopigmentacji, jako sposób stabilizacji barwy barwników antocyjanowych, już od dłuższego czasu jest przedmiotem badań w wielu ośrodkach naukowych [Baranac i in. 1996, Dangles i Brouillard 1992, Mazza i Brouillard 1990]. Przeprowadzone do tej pory badania nad tym sposobem utrwalania antocyjanów potwierdziły możliwość tworzenia stabilnych kompleksów pomiędzy antocyjanami a innymi związkami, zwanymi kopigmentami. Udowodniono również, że kompleksy te wpływają znacząco na poprawę stabilności barwy nadawanej przez antocyjany [Bąkowska i in. 2003, Mazza i Brouillard 1990]. Nie zbadano dostatecznie charakteru reakcji kopigmentacji. Zgłębić te niewiadome pozwoliły badania wyznaczające parametry termodynamiczne reakcji kopigmentacji.

MATERIAŁ I METODY

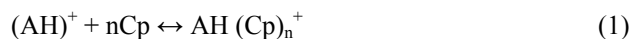
Do badań użyto trzech, powszechnie występujących w przyrodzie, antocyjanów: cyjanidyno-3-glukozydu, malwidyno-3-glukozydu oraz cyjanidyno-3-rutynozydu. Cyjanidyno-3-glukozyd wyizolowano z owoców jagody kameczackiej (*Lonicera kamtschatica*), cyjanidyno-3-rutynozyd z owoców szakłaka (*Rhamnus catharacticus* L.). Z czarnych owoców winorośli (*Vitis vinifera*) otrzymano malwinidyno-3-glukozyd. Antocyjany otrzymano metodą chromatografii kolumnowej w Zakładzie Technologii Owoców i Warzyw Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Stężenie antocyjanów było stałe i wynosiło 3×10^{-4} M. Jako kopigmenty zastosowano flawony, mało znany do tej pory preparat flawonów (bajkalina, bajkaleina, wogonina i inne) z tarczycy bajkalskiej (*Scutellaria baicalensis* Georgi) o stężeniu $3,6 \times 10^{-4}$ M w przeliczeniu na bajkalinę (przygotowany w Zakładzie Technologii Owoców i Warzyw Akademii Rolniczej we Wrocławiu poprzez ekstrakcję metanolem w 60°C, odparowanie rozpuszczalnika i suszenie liofilizacyjne) oraz kwas kwercetyno-5'-sulfonowy (QSA) o stężeniu 3×10^{-4} M (otrzymany z Katedry Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Politechniki Rzeszowskiej).

Dla wszystkich próbek wykreślono widma absorpcyjne w zakresie 380-780 nm. Pomiarów dokonano na spektrofotometrze UV – 2401PC firmy SHIMADZU w kuwetach kwarcowych o długości optycznej 1 cm z magnetycznym mieszadłem. Temperatura roztworów w kuwetach była regulowana poprzez termostat VEB MLW PRÜFGERÄTE-WERK MEDINGEN-SITZ FREITAL typ U2C. Pomiarów dokonano w zakresie temperatur 20-50°C. Reakcje kopigmentacji badano w dwóch buforach (cytrynianowym i fosforanowym) o pH 3,65.

Bufor cytrynianowy otrzymano z cytrynianu sodu w ilości 6 g/l dm³ zakwaszonego 50-procentowym kwasem cytrynowym, natomiast bufor fosforanowy sporządzono z 0,02 M octanu sodu zakwaszonego 0,06 M kwasem fosforowym.

Obliczenia termodynamiczne

Antocyjany są barwnikami wrażliwymi na zmiany odczynu środowiska. Zmiana pH roztworu prowadzi do zmiany formy w jakiej występują, co jest ściśle związane ze zmianą ich barwy. W środowisku o pH równym 3,65, tj. pH, w którym prowadzono niniejsze badania, barwniki te w przeważającej części występują w formie kationu flawyliowego. Z tego też powodu reakcja kopigmentacji może być schematycznie przedstawiona zgodnie z równaniem:



gdzie: $(\text{AH})^+$ – kation flawyliowy,
 Cp – cząsteczka kopigmentu,
 n – współczynnik stechiometryczny.

Stała równowagi reakcji K wynosi:

$$K = \frac{[\text{AH}(\text{Cp})_n^+]}{[(\text{AH})^+][\text{Cp}]^n} \quad (2)$$

Zależność pomiędzy stałą reakcji kopigmentacji a współczynnikiem kopigmentacji można przedstawić w postaci równania:

$$(A - A_0)/A_0 = K [\text{Cp}]^n \quad (3)$$

gdzie: $(A - A_0)/A_0$ – współczynnik kopigmentacji,
 K – stała równowagi reakcji kopigmentacji, M^{-1} ,
 n – współczynnik stechiometryczny,
 A, A_0 – absorbancje roztworów antocyjanów dla określonej długości fali odpowiednio bez i w obecności kopigmentu.

Logarytmiczna postać równania (3) może być używana do określenia wartości stałej równowagi K oraz współczynnika stechiometrycznego n:

$$\ln((A - A_0)/A_0) = \ln(Kr) + n \ln[\text{Cp}]_0 \quad (4)$$

gdzie: Cp_0 – początkowe stężenie cząsteczki kopigmentu,
 r – stosunek absorbancji kationu flawyliowego do kopigmentu w maksimum intensywności do odpowiedniej absorbancji wolnego kationu (A/A_0).

Równanie (4) opisuje zależności $\ln((A - A_0)/A_0)$ od stężenia początkowego kopigmentu w postaci prostej, gdzie nachylenie jest równe n i odciętej równej $\ln(Kr)$. Wartość swobodnej energii Gibbsa ΔG° wyliczono z zależności:

$$\Delta G^\circ = -RT \cdot \ln K \quad [\text{kJ/mol}] \quad (5)$$

gdzie: R – stała gazowa, 8,314 J/mol K,
T – temperatura układu, K.

Zmiany entalpii procesu ΔH wyliczamy z równania 6:

$$\text{tg} \alpha = -\Delta H/R \quad (6)$$

gdzie: $\text{tg} \alpha$ – nachylenie prostej wykreślonej dla zależności $\ln(A - A_0)/A_0$ od odwrotności temperatury,

ΔH – zmiany entalpii procesu, kJ/mol.

Ze zmodyfikowanego równania Gibbs-Helmholtza (7) wyliczono zmiany entropii (ΔS) reakcji kopigmentacji:

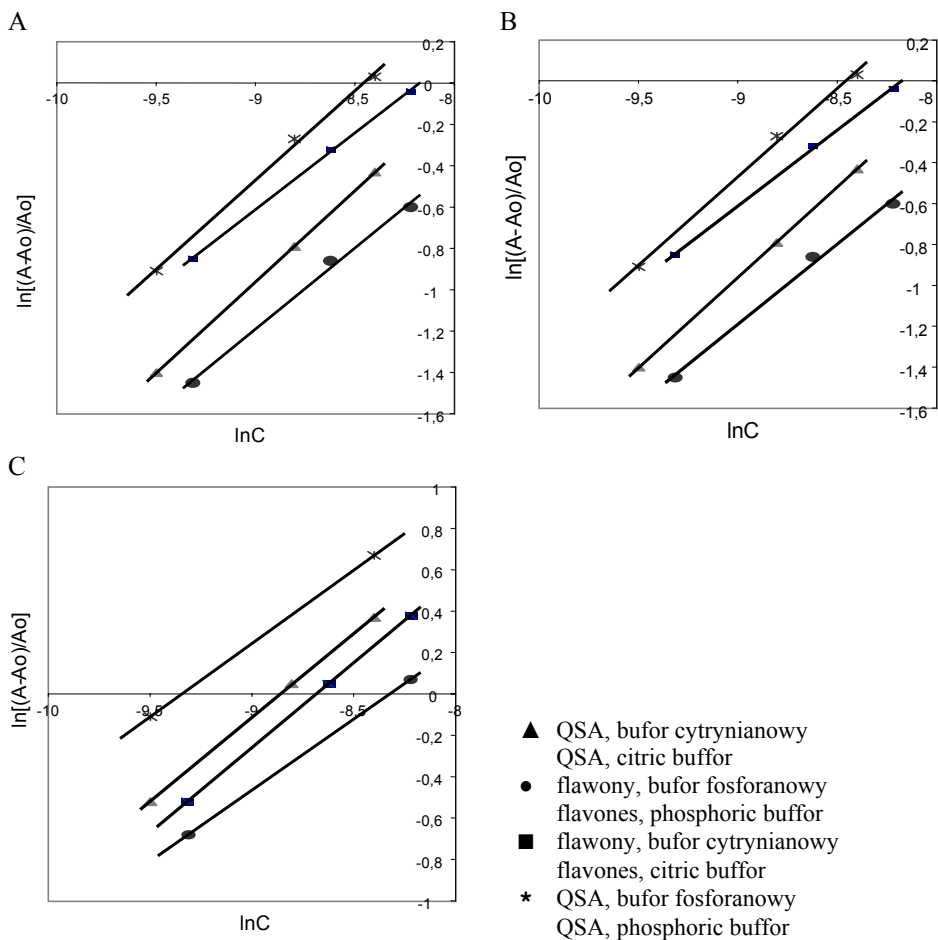
$$\ln(A - A_0/A_0) = \ln(r[\text{Cp}_0]) + \Delta S/R - \Delta H/(RT) \quad (7)$$

gdzie: ΔS – zmiany entropii, J/mol K.

WYNIKI I DISKUSJA

Stałą równowagi reakcji kopigmentacji K antocyjanów z wybranymi kopigmentami oraz współczynnik stechiometryczny reagentów n wyliczono z równania (4) i danych przedstawionych na rysunku 1.

Stosunek stechiometryczny reagentów jest określony poprzez wartość nachylenia prostej natomiast stała równowagi reakcji poprzez wyznaczenie punktu przecięcia prostej $\ln(A - A_0/A_0) = f(\ln[C_{p_0}])$ z osią Y. Stosunek stechiometryczny reagentów był



Rys. 1. Zależność $\ln[(A-A_0)/A_0]$ od stężenia kopigmentu w buforze cytrynianowym i fosforanowym o pH 3,65 dla: A – cyjanidyno-3-glukozydu, B – cyjanidyno-3-rutynozydu, C – malwidyno-3-glukozydu, stosunek molowy 1:2 dla flawonów, 1:3 dla QSA

Fig. 1. Plot of $\ln[(A-A_0)/A_0]$ as a function of logarithm of copigment concentration for: A – cyanidin-3-glucoside, B – cyanidin-3-rutinoside, C – malvidin-3-glucoside, mole ratio 1:2 for flavones, 1:3 for QSA

różny, dla cyjanidyno-3-glukozydu wahał się w granicach od 0,74 dla flawonów (w buforze cytrynianowym) do 0,88 dla QSA (w buforze cytrynianowym). Dla kompleksów tworzonych przez cyjanidyno-3-rutynozyd wartości współczynnika n wynosiły w buforze cytrynianowym 0,93 dla QSA i 0,84 dla flawonów, a w buforze fosforanowym 0,86 dla QSA i 0,66 dla flawonów. Kopigmentacja malwidyno-3-glukozydu charakteryzowała się porównywalnymi wartościami współczynnika n (0,69-0,82 dla flawonów w buforze fosforanowym).

Obliczone wartości stałej reakcji kopigmentacji, która jest miarą stabilności powstających w reakcji kopigmentacji kompleksów, dla cyjanidyno-3-glukozydu z flawonami i QSA wynosiły odpowiednio: dla flawonów $K = 430,7 \text{ M}^{-1}$ w buforze cytrynianowym i $K = 352,3 \text{ M}^{-1}$ w buforze fosforanowym, dla QSA $K = 1075,23 \text{ M}^{-1}$ w buforze cytrynianowym i $K = 1472,6 \text{ M}^{-1}$ w buforze fosforanowym. Kompleksy cyjanidyno-3-rutynozydu z flawonami tarczycy bajkalskiej charakteryzowały się mniejszą stabilnością w buforze fosforanowym ($K = 126,6 \text{ M}^{-1}$), natomiast w buforze cytrynianowym cząsteczki te tworzyły silniejsze wiązania ($K = 694,9 \text{ M}^{-1}$). Wyższymi wartościami stałej K charakteryzowały się kompleksy cyjanidyno-3-rutynozydu z QSA ($K = 869,29 \text{ M}^{-1}$ w buforze cytrynianowym i $K = 851,4 \text{ M}^{-1}$ w buforze fosforanowym). Stała reakcji K obliczona dla malwidyno-3-glukozydu zmieniała się w granicach od $306,7 \text{ M}^{-1}$ w wypadku flawonów w buforze fosforanowym do $1321,8 \text{ M}^{-1}$ dla QSA w buforze cytrynianowym. Uzyskane wartości stałych K wykazują istotny wpływ środowiska na stabilność tworzonych kompleksów. Spośród dwóch przebadanych buforów, cytrynianowy wpływa bardziej stabilizująco na kompleksy antocyjan-kopigment niż bufor fosforanowy. Powyższe wyniki wskazują również, że wyższą stabilnością charakteryzują się kompleksy utworzone pomiędzy antocyjanami i QSA w obu badanych buforach niż z flawonami tarczycy bajkalskiej. Najslabsze wiązania tworzą się między antocyjanami i flawonami w obu buforach. Duże różnice pomiędzy stabilnością poszczególnych kompleksów mogą być spowodowane odmienną budową antocyjanów i kopigmentów.

Z porównania wyników zamieszczonych w tabeli 1 z danymi przedstawionymi przez Baranaca i in. [1997 a, 1997 b, 1997 c, 1999] i Dimitrića-Markovića i in. [2000] wynika, że badane w pracy kopigmenty są zdolne do tworzenia bardziej stabilnych kompleksów z cyjanidyno-3-glukozydem niż kwasy fenolowe z malwidyno-3,5-diglukozydem. Badany przez autorów [Baranac i in. 1996] kompleks malwidyno-3,5-diglukozyd z rutyną charakteryzuje się znacznie większą wartością stałej równowagi K (3300 M^{-1}) niż kompleksy badane w niniejszej pracy. Związane jest to zapewne z różnicami w budowie cząsteczek zarówno kopigmentu, jak i antocyjanu. Wyższe wartości stałej K uzyskane dla badanego w pracy QSA w porównaniu z wartościami uzyskanymi przez Baranaca i in. [1997 a] dla kwercetyny świadczą o większej zdolności stabilizującej barwę antocyjanów pochodnej sulfonowej kwercetyny.

Obliczona wartość swobodnej energii Gibbsa, ΔG° , w każdym badanym wypadku była wartością ujemną, co wskazuje na spontaniczność reakcji kopigmentacji. Szybciej reakcja ta zachodziła w próbkach z dodatkiem QSA ($\Delta G^\circ = -18,0 \text{ kJ/mol}$ w buforze fosforanowym i $\Delta G^\circ = -17,24 \text{ kJ/mol}$ w buforze cytrynianowym). Mniejszą spontanicznością reakcji cechowały się próbki z dodatkiem flawonów (dla kompleksu cyjanidyno-3-rutynozydu z flawonami w buforze fosforanowym uzyskano najwyższą wartość ΔG° ($-11,9 \text{ kJ/mol}$), co świadczy o wolniejszym tworzeniu się wiązań pomiędzy cząsteczkami). Uzyskane wartości ΔG° wskazują, że budowa reagentów wpływa bardziej na spontaniczność reakcji kopigmentacji niż środowisko, w którym reakcja ta przebiega.

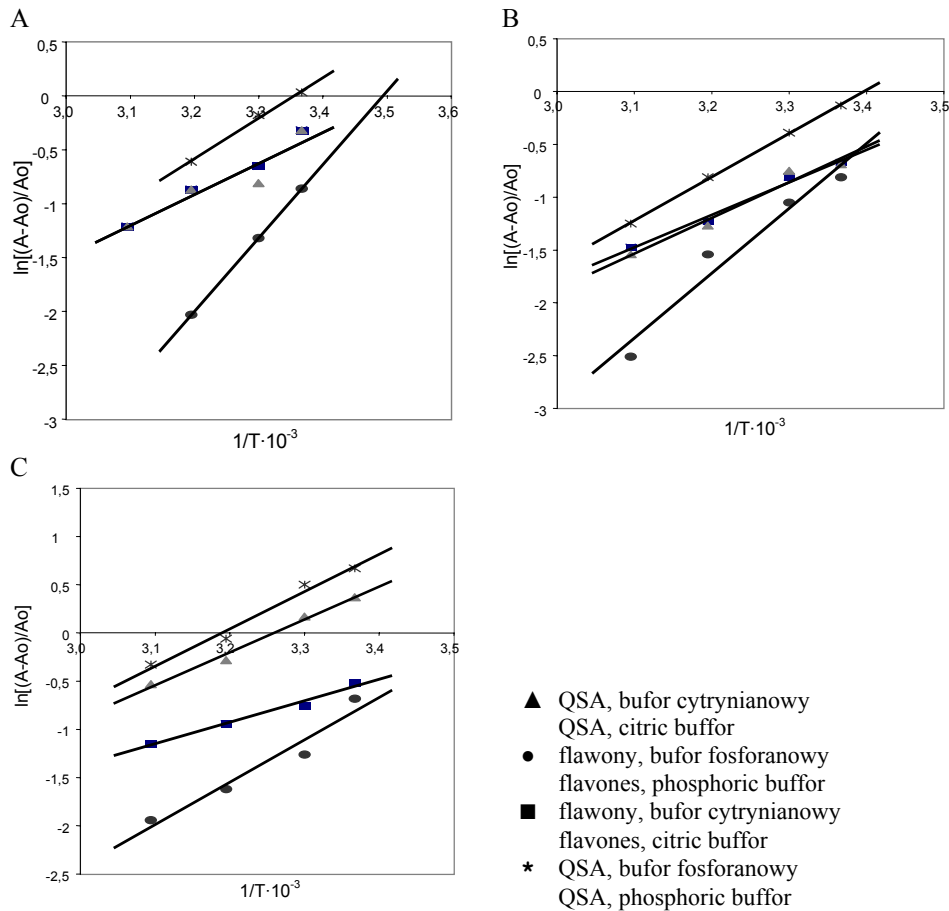
Tabela 1. Parametry termodynamiczne reakcji kopigmentacji antocyjanów z wybranymi kopigmentami w buforze cytrynianowym i fosforanowym o pH 3,65 (T = 298 K)

Table 1. Thermodynamic parameters of copigmentation reaction of anthocyanins with chosen copigments in citric and phosphoric buffer, pH 3,65 (T = 289 K)

Kompleks Complex	Bufor Buffer	n	K mol ⁻¹	ΔG kJ·mol ⁻¹	ΔH kJ·mol ⁻¹	ΔS J·mol ⁻¹ K ⁻¹
Cyj-3-gl+QSA Cyj-3-gl+QSA	Cytrynianowy Citric	0,88	1075,2	-17,2	-25,7	-54,8
	Fosforanowy Phosphoric	0,86	1472,6	-18,0	-31,2	-41,8
Cyj-3-gl+flawony Cyj-3-gl+flavones	Cytrynianowy Citric	0,74	430,7	-15,0	-25,7	-50,9
	Fosforanowy Phosphoric	0,78	352,3	-14,5	-56,6	-145,1
Cyj-3-rut+QSA Cyj-3-rut+QSA	Cytrynianowy Citric	0,93	869,3	-16,7	-28,1	-36,9
	Fosforanowy Phosphoric	0,86	851,4	-16,6	-34,1	-60,0
Cyj-3-rut+flawony Cyj-3-rut+flavones	Cytrynianowy Citric	0,84	694,9	-16,2	-25,5	-29,5
	Fosforanowy Phosphoric	0,66	126,6	-11,9	-51,0	-115,6
Mal-3-gl+QSA Mal-3-gl+QSA	Cytrynianowy Citric	0,81	1321,8	-17,7	-28,4	-57,7
	Fosforanowy Phosphoric	0,71	758,3	-16,4	-32,2	-67,9
Mal-3-gl+flawony Mal-3-gl+flavones	Cytrynianowy Citric	0,82	1250,9	-17,6	-18,5	-28,3
	Fosforanowy Phosphoric	0,69	306,7	-14,1	-36,5	-90,9

Analiza wyników otrzymanych przez Baranaca [1997 a, 1997 b, 1997 c, 1999] i Dimitrića-Markovića [2000] wskazuje na znacznie wolniejsze tworzenie kompleksów pomiędzy malwidyno-3,5-diglikozydem a kwasami fenolowymi i apigenino-7-glukozydem niż z badanymi w tej pracy flawonami i QSA.

Badania nad wpływem temperatury na stabilność uzyskanych kompleksów stanowiły podstawę do wyznaczenia dwóch funkcji termodynamicznych układu: entalpii ΔH i entropii ΔS. Obliczenie zmian entalpii i entropii było możliwe po wykreśleniu zależności pomiędzy $\ln[(A - A_0)/A_0]$ a odwrotnością temperatury układu (rys. 2). Ujemna zmiana entropii, ΔS, jako miara uporządkowania systemu jest dowodem na to, że tworzenie kompleksów antocyjan-kopigment zachodzi w założonych w pracy warunkach. W buforze cytrynianowym wartości ΔS były większe w porównaniu z wartościami zmian entropii uzyskanymi w buforze fosforanowym dla badanych kompleksów (tab. 1). Największym uporządkowaniem systemu cechował się układ antocyjan – flawony w buforze fosforanowym. Z obliczonych wartości ΔH wynika, że największym powinowactwem reagentów charakteryzują się kompleksy badanych antocyjanów z flawonami w buforze fosforanowym (tab. 1). W buforze cytrynianowym antocyjany i kopigmenty wykazują dużo mniejsze powinowactwo względem siebie niż w odpowiednich



Rys. 2. Zależność $\ln[(A-A_o)/A_o]$ od temperatury w buforze cytrynianowym i fosforanowym o pH 3,65 dla: A – cyjanidyno-3-glukozydu, B – cyjanidyno-3-rutynozydu, C – malwidyno-3-glukozydu, stosunek molowy 1:2 dla flawonów, 1:3 dla QSA

Fig. 2. Plot of $\ln[(A-A_o)/A_o]$ as a function of temperature for: A – cyanidin-3-glucoside, B – cyanidin-3-rutinoside, C – malvidin-3-glucoside, mole ratio 1:2 for flavones, 1:3 for QSA

kompleksach tworzonych w buforze fosforanowym. Ujemne wartości obu funkcji termodynamicznych ΔH i ΔS wskazują, że tworzenie kompleksów jest możliwe tylko w niższych temperaturach (20-25°C). Porównanie zmian entalpii i entropii uzyskanych przez Baranaca i in. [1996, 1997 a, 1997 b, 1997 c] oraz Danglesa i Brouillarda [1992] z wynikami uzyskanymi dla kompleksów badanych w niniejszej pracy wskazuje, że flawony w buforze fosforanowym wykazują najwyższy stopień powinowactwa względem badanych antocyjanów. Uzyskane wyniki świadczą również o większym uporządkowaniu układu antocyjan – flawony w buforze fosforanowym niż w buforze cytrynianowym.

Właściwości termodynamiczne reakcji kopigmentacji wybranych antocyjanów z kopigmentami przedstawiono w tabeli 1.

PODSUMOWANIE

Przeprowadzone badania wykazały, że pomiędzy cząsteczką antocyjanu i kopigmentu tworzy się kompleks, który stabilizuje barwę antocyjanu.

Otrzymane wartości parametrów termodynamicznych wskazują na egzotermiczny charakter reakcji kopigmentacji. Ujemne wartości zmian entalpii i entropii, dla każdego badanego kompleksu, świadczą o tym, że tworzenie stabilnego układu antocyjan – kopigment jest możliwe tylko w niższych temperaturach (20-25°C).

Obliczone wartości termodynamiczne dla reakcji antocyjanów z flawonami tarczycy bajkalskiej wykazały, że preparat ten jest dobrym stabilizatorem czerwonej barwy antocyjanów. Kompleksy tworzone z udziałem flawonów są nieco mniej stabilne od tych tworzonych z najlepszym spośród przebadanych do tej pory kopigmentów jakim jest QSA, jednak niskie koszty otrzymywania i duże wartości zdrowotne flawonów tarczycy bajkalskiej stawiają ten preparat przed syntetycznym i drogim kwasem kwercetyno-5'-sulfonowym.

Badania pozwoliły również na porównanie dwóch buforów: cytrynianowego i fosforanowego. Uzyskane wyniki wskazują, że bufor cytrynianowy jest bardziej sprzyjającym środowiskiem do tworzenia stabilnych kompleksów antocyjan-kopigment niż bufor fosforanowy (wartości stałej K i ΔG , obrazujące stabilność powstałych kompleksów, są większe w buforze cytrynianowym). Bufor fosforanowy z kolei jest środowiskiem, które zwiększa powinowactwo reagentów (większe zmiany ΔH w tym buforze). Wyjątek stanowi kompleks cyjanidyno-3-glukozydu z QSA, który w tym buforze wykazuje mniejsze powinowactwo. Bufor fosforanowy wpływa również na wzrost uporządkowania układu (zmiany ΔS są większe w tym buforze). Wyjątek stanowi kompleks cyjanidyno-3-glukozydu z QSA, dla którego większe zmiany ΔS zachodzą w buforze cytrynianowym.

Kompleksy tworzone z cyjanidyno-3-glukozydem są stabilniejsze, a proces ich tworzenia bardziej spontaniczny (większe zmiany ΔG) w porównaniu z odpowiednimi kompleksami tworzonymi z cyjanidyno-3-rutynozydem. Różnice te przypisać można innym podstawnikom cukrowym w cząsteczce cyjanidyny. Porównanie kopigmentacji obu cyjanidyn z malwidyno-3-glukozydem wskazuje, że aglikon silniej wpływa na stabilność kompleksów antocyjan – kopigment niż podstawnik cukrowy. Obecność podstawników metylowych daje większy efekt stabilizujący malwidyny niż cząsteczka glukozy.

PIŚMIENNICTWO

- Baranac J.M., Petranović N.A., Dimitrić-Marković J.M., 1996. Spectrophotometric study of anthocyan copigmentation reactions. *J. Agric. Food Chem.* 44, 1333-1336.
- Baranac J.M., Petranović N.A., Dimitrić-Marković J.M., 1997 a. Spectrophotometric study of anthocyan copigmentation reactions. 2. Malvin and the nonglycosidized flavone quercetin. *J. Agric. Food Chem.* 45, 1694-1697.
- Baranac J.M., Petranović N.A., Dimitrić-Marković J.M., 1997 b. Spectrophotometric study of anthocyan copigmentation reactions. 2. Malvin and the nonglycosidized flavone morin. *J. Agric. Food Chem.* 45, 1698-1700.
- Baranac J.M., Petranović N.A., Dimitrić-Marković J.M., 1997 c. Spectrophotometric study of anthocyan copigmentation reactions. 4. Malvin and apigenin 7-glucoside. *J. Agric. Food Chem.* 45, 1701-1703.

- Baranac J.M., Petranović N.A., Dimitrić Marković J.M., 1999. A spectrophotometric study of the reaction of copigmentation of malvin and tannic acid. *J. Serb. Chem. Soc.* 64, 599-608.
- Bąkowska A., Kucharska A.Z., Oszmiański J., 2003. The effect of heating, UV irradiation and storage on stability of anthocyanin-polyphenol copigment complex. *Food Chem.* 81, 349-355.
- Dangles O., Brouillard R., 1992. Polyphenol interaction. The copigmentation case: thermodynamic data from temperature variation and relaxation kinetics. Medium effect. *Can. J. Chem.* 70, 2174-2189.
- Dimitrić-Marković J.M., Petranović N.A., Baranac J.M., 2000. A spectrophotometric study of the copigmentation of malvin with caffeic and ferulic acids. *J. Agric. Food Chem.* 48, 5530-5536.
- Mazza G., Brouillard R., 1990. The mechanism of co-pigmentation of anthocyanins in aqueous solutions. *Phytochemistry* 29, 1097-1102.

THERMODYNAMIC CHARACTERISTIC OF COPIGMENTATION OF ANTHOCYANINS WITH FLAVONOIDS

Abstract. The objective of this study was to investigate the thermodynamic parameters of the copigmentation reaction between three anthocyanins and two copigments: quercetin-5'-sulphonic acid (QSA) and flavones isolated from the roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi and also to determine the factors that affected the reaction, while defining its thermodynamic parameters. The interactions of these molecules were observed *via* UV-VIS absorption spectroscopy. It was established that the pH and temperature affected the copigmentation process.

The negative change of entropy, ΔS , as a measure of system ordering, is also a proof of copigment formation, under given condition. Our result indicates that the QSA formed the most stable complex with great affinity and system ordering. Comparing the obtained characteristics of QSA with flavones, it can be concluded that with QSA, where the affinity is lower, a more stable copigment is formed than in the case of flavones, where the situation is inverted. Temperature appears to be the basic parameter of the thermodynamic feasibility of the process, since the copigmentation process is exothermic and spontaneous.

Key words: anthocyanins, copigmentation, thermodynamic, *Scutellaria baicalensis*, QSA

*A. Bąkowska, J. Oszmiański, A.Z. Kucharska, Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Zbóż, Akademia Rolnicza we Wrocławiu, ul. Norwida 25, 50-375 Wrocław
e-mail: annab@star.ar.wroc.pl*