

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**ÉDESIPARI TERMÉKEK SZÍNEZÉKTARTALMÁNAK  
MENNYISÉGI ANALÍZISE FIZIKAI MÓDSZEREKKEL**

Készítette:  
KOVÁCS MIHÁLY

MOSONMAGYARÓVÁR

2020



SZÉCHENYI  
EGYETEM  
UNIVERSITY OF GYŐR

SZÉCHENYI ISTVÁN EGYETEM  
MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR  
MOSONMAGYARÓVÁR

WITTMANN ANTAL NÖVÉNY-, ÁLLAT- ÉS ÉLELMISZER-  
TUDOMÁNYI MULTIDISZCIPLINÁRIS DOKTORI ISKOLA

Doktori iskola vezetője:

**Prof. DR. ÖRDÖG VINCE DSc**

Egyetemi tanár

Pulay Gábor Élelmiszertudományi Doktori Program

Programvezető:

**Prof. DR. VARGA LÁSZLÓ DSc**

Egyetemi tanár

Témavezető:

**Prof. DR. DÓKA OTTÓ DSc**

Egyetemi tanár

**ÉDESIPARI TERMÉKEK SZÍNEZÉKTARTALMÁNAK  
MENNYISÉGI ANALÍZISE FIZIKAI MÓDSZEREKKEL  
DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**

Készítette:

**KOVÁCS MIHÁLY**

Mosonmagyaróvár

2020

A tápérték, az íz és az állag mellett a szín az élelmiszerek egyik legfontosabb minőségi jellemzője. A vonzó színben megjelenő élelmiszerek rendszerint növekvő fogyasztást eredményeznek, ezért az élelmiszerszínezékek fontos adalékanyagok az élelmiszerekben, különösen azokban a termékekben, amelyeknek célcsoportját kifejezetten a fiatalabb korosztály jelenti.

Az élelmiszeriparban engedélyezett színezékek eredete alapján természetes, természetazonos, és mesterséges színezékeket különböztetünk meg. Hazánkban a színezékek élelmiszeripari felhasználhatóságáról az Európai Parlament és a Tanács 1333/2008/EK rendelete rendelkezik, meghatározva pontosan, hogy melyik színezék milyen termékkategóriához, és mekkora mennyiségben használható fel.

Az élelmiszerszínezékek műszeres minőségi és mennyiségi meghatározására alkalmazott leggyakoribb módszerek a HPLC és a spektrofotometria. Mivel ezeknek a módszereknek a beruházási és működtetési költségei viszonylag nagyok, valamint a minták előkészítése bonyolult, ez elősegítette az élelmiszerszínezékek további alternatív mennyiségi és minőségi módszereinek fejlesztését. Ilyen alternatív módszer például a vékonyréteg kromatográfia (TLC), a kapilláris elektroforézis (CE), a színmérés, vagy a fotoakusztikus spektrometria (PAS).

## 1. ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgálataink fő célja az volt, hogy édesipari termékekben (keménycukorkákban és pezsgőtablettákban) található természetes és mesterséges színezőanyag/ok mennyiségét optikai módszerek segítségével, úgymint színméréssel és lézeres fotoakusztikus spektrometriával (LPAS) határozzuk meg. Ehhez a termékek színezőanyag-tartalma(i), és a termék színe, vagyis a mérhető színjellemzők (a reflexiós spektrokoloriméterrel mért CIELab színkoordináták, vagy a LPAS rendszerrel mért fotoakusztikus jel) között összefüggéseket (kalibrációs egyeneseket) kerestünk, amiket a módszerek validálása után késztermék ellenőrzésben (minőségbiztosításban) fel lehet használni. A kapott eredményeket összehasonlítottuk a referencia módszerként használt spektrofotometriai mérésekkel.

A színmérési, és a fotoakusztikus kalibrációs összefüggéseket felhasználtuk a pezsgőtabletták összetételének vizsgálatára a préselés előtti porkeverési folyamat alatt. Ehhez két keverési próbagyártást végeztünk, és egy adott időponthoz tartozó keveredés mértékének a megállapításához, leállítva a keverést, a keverő különböző pontjaiból vettünk mintákat. A keverés ideje akkor tekinthető megfelelőnek, ha a művelet további folytatása már az összetevők eloszlásán és így a színezőanyagok koncentrációján nem változtat.

A vizsgált keménycukorka, és pezsgőtabletták mintákat a gyártási folyamatnak megfelelően készítettük, járulékos anyagok (ásványi anyagok, aromák, savak) felhasználásával. Vizsgálatainkba három természetes (antocianin, béta-karotin, betanin) és egy mesterséges, azoszínezéket (neokocin) vontunk be.

A szilárd állapotban történő keménycukorka vizsgálatokhoz négy szilárd, eltérő antocianin tartalmú cukorka mintát (kalibrációs mintasort) és egy vakmintát készítettünk, amelyek antocianin tartalma 0,000 (vakminta), 0,481, 0,937, 2,001, és 5,695 mg/g volt. A kalibráló

oldatokhoz vakmintát és antocianint adtunk, illetve citromsavval állítottuk be a pH-t.

Az antocianint és béta-karotint tartalmazó kalibrációs mintákat két sorozatra oszthatjuk. Az első sorozat csak antocianin színezéket tartalmazott. A minták antocianin-tartalma 0,00 mg/g (vakminta), 5,06; 8,14; 10,65; 14,75 és 17,42 mg/g volt. A második sorozat antocianint és béta-karotint is tartalmazott. Az antocianin mennyisége ezekben a mintákban azonos ( $9,50 \pm 1,20$  mg/g), míg a minták béta-karotin-tartalma 0,00 mg/g (vakminta, béta-karotin szempontjából), 0,16; 0,22; 0,37 és 0,42 mg/g volt.

Pezsgőtabletta minták vizsgálatához egy betanint, másrészt neokocint tartalmazó - kalibráló porminta sorozatot használtunk. A betanint tartalmazó porminták színezéktartalma 10, 20, 30, 40, 50 és 60 mg/g volt, a neokocint tartalmazó mintasor pedig 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,30; 0,40 és 0,50 mg/g-os mintákból állt. A keverési folyamatok vizsgálatát két próbagyártásból származó mintasorozaton végeztük el. Az egyik mintasorozat a 30 mg/g-os betanin, a másik pedig a 0,50 mg/g-os neokocin tartalmú pezsőtabletták gyártási folyamatából (keveréséből) származott. A betaninos próbagyártásból 1, 3, 6, 10, 15, 20 és 25, a neokocinosból pedig 1, 3, 6, 10, 15, 18, 20 és 25 percnyi keverés után vettünk mintákat.

A spektrofotometriás vizsgálatok mintaelőkészítése során a mintaoldatokból 20-20 ml-t bemértünk 25 ml-es sötét fiolákba, majd hozzáadtunk 5-5 ml szén-tetrakloridot ( $\text{CCl}_4$ ), diklórmétánt ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), vagy hexánt ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ), az extrakciós módszertől függően (**1. táblázat**). A színezékek tartalmazó vizes oldatok és a szerves oldószerek keverékét tartalmazó fiolákat előbb 60 s-ig ráztuk manuálisan, majd 4, vagy 15 percig 2000 rpm-mel centrifugáltuk (3K12, Sigma centrifuga). Ezt követően a színezőanyagokat tartalmazó vizes fázis abszorbanciáját felvettük a 380-700 nm-es tartományon.

1. táblázat: A spektrofotometriás mintaelőkészítések során használt extrakciós módszerek

extrakciós módszer	oldószer	extrakció (manuális rázás, s)	centrifugálás, (min, rpm)
A	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	60	4, 2000
B	Hexán	60	4, 2000
C	CCl <sub>4</sub>	60	4, 2000
D	CCl <sub>4</sub>	60	15, 2000

A színezékek kimutatási határát (LOD) úgy határoztuk meg, hogy a (színezéket nem tartalmazó) vakminta, vagy a kalibráló sorozat legkisebb koncentrációjú oldatának háromszoros szórását elosztottuk a kalibrációs egyenesek meredekségével.

A spektrofotometrikus vizsgálatainkhoz egy Merck Spectroquant Pharo 100 UV-VIS spektrofotométert használtunk.

A CIELab színekoordináták meghatározása egy HunterLab MiniScan XE Plus típusú hordozható reflexiós színmérő készülékkel történt.

A fotoakusztikus méréseket egy egyedileg épített LPAS rendszerrel végeztük. Fényforrásként egy kék (473 nm, 50mW, Changchun New Industries Optoelectronics, MBL-III-473-50), és egy zöld színű (532 nm, 30 mW, Roitner Laser Technik GmbH.) diódlézert használtunk. A lézernyalábot egy mechanikus fénymodulátorral szaggattuk meg (HMS Light Beam Chopper 220). A fényszaggatás frekvenciája 17, vagy 23 Hz volt. A mechanikailag szaggatott fénysugár egy 12,7 mm átmérőjű kvarcüveg ablakon át jutott be a fotoakusztikus cellába. A mintakamrát egy 3 mm hosszú és 300 µm belső átmérőjű kapillárison keresztül kapcsoltuk össze egy miniatűr (4,2mm×4,75mm) mikrofonnal (Sennheiser KE 4-211-2). A mikrofonból származó jelet egy kétcsatornás fázisérzékeny erősítő (Stanford SR530) dolgozta fel.

## 2. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

### 2.1 Az antocianin tartalmú minták vizsgálatának eredményei

Ha a színezékeket tartalmazó cukorka mintákat vízben feloldjuk, akkor a minták olaj, vagy aromatartalma miatt kolloid oldatokat kapunk, amelyek spektrofotométerrel közvetlenül nem mérhetők. A spektrofotométeres méréshez, ezért az olajokat (aromásokat) el kellett távolítani szerves oldószerekkel, amihez három különböző oldószerral ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , hexán,  $\text{CCl}_4$ ) történő extrakciót hasonlítottunk össze. Megállapítottuk, hogy egy (2,1 mg/g) antocianin tartalmú cukorka minta színezéktartalmát a  $\text{CCl}_4$ -os extrakcióval tudjuk legjobban meghatározni. Az ezzel az oldószerral végzett extrakcióval kaptuk a legjobb visszanyerést (93,2%) a standard addícióra. A centrifugálás növelésével az elválasztás javult, és a standard addíció visszanyerése elérte a 96,5%-ot (**2. táblázat**), ezért további vizsgálatok mintaelőkészítése a „D” extrakcióval történt.

2. táblázat: A különböző módszerekkel extrahált mintaoldatok spektrofotometriás mérési eredményei (elméleti színezéktartalom: 2,1 mg / g cukorka ( $\lambda=520\text{nm}$ ))

Extrakciós módszer	normál módszer (E163 mg/g)	st. addíciós módszer (E163 mg/g)	St. addíciós módszer visszanyerése	LOD (mg/g)
„C” extrakció	1,630±0,045	1,821±0,051	<b>89,5%</b>	0,006
„D” extrakció	2,184±0,143	2,263±0,148	<b>96,5%</b>	0,028

Az antocianin spektrofotometriás kalibráló egyeneseit a RABINO-MANCINELLI módszer alapján készítettük el. Mivel az antocianin abszorbanciája függ az oldatok pH-jától, ezért a kalibrációs oldatok és a mintaoldatok pH-jának azonosnak kellett lennie.

A kalibráló oldatok és minták színmérése alapján azt tapasztaltuk, hogy az alap CIELab ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) színekoordináták a színezék koncentrációjának emelkedésével egy telítődési görbét követnek, viszont egy szűkebb koncentráció-tartományon belül a színindexek jó közelítéssel lineárisan változnak a színezéktartalom növekedésével.

A telítődési görbék leírására az alapfüggvények tízes alapú logaritmusát képeztük ( $\lg L^*$ ,  $\lg a^*$ ,  $\lg b^*$ ), hogy eredményül lineáris összefüggéseket kapjunk az antocianin-tartalom függvényében. A logaritmus függvény használatát a negatív  $a^*$  (zöldes szín), vagy  $b^*$  (kékes szín) megakadályozza, hiszen negatív értékek logaritmusai nem értelmezhetők a valós számhalmazon. Ezt úgy küszöböltük ki, hogy az  $a^*$  és  $b^*$  értékekhez százat adtunk, és az így kapott érték logaritmusai már valós számok lesznek, az  $a^* = -100$ , és  $b^* = -100$  esetek kivételével. Az is megfigyelhető, hogy a színezéktartalom növekedésével a világossági index csökken (a minta színe sötétedik), ezért, hogy a csökkenő függvényt elkerüljük a  $2 - \lg L^*$  transzformációt hajtottuk végre.

A **3. táblázat** az antocianin tartalmú minták mért, illetve számított színekoordinátáira illesztett egyenesek determinációs koefficienseit mutatja két vizsgált pH-n.

Jól látható, hogy a legjobb illeszkedést a  $2 - \lg(L^*)$  transzformált színekoordináta, míg a legrosszabbat a Hue-index eredményezte mindkét különböző pH-jú oldatsor esetén.



3. táblázat: A kalibráló mintasorok színjellemzőinek és az antocianin-tartalom közötti lineáris összefüggések determinációs koefficienseinek ( $R^2$ ) összehasonlítása.

A 2-3. oszlop (E 163 színezék mennyiség: 0,149-2,376 mg/ml;  $n=3$ ) és a 4.-5. oszlop (E 163 színezék mennyiség: 0,135-1,078 mg/ml;  $n=3$ ) a kalibráló oldatsorok (feloldott minták), a 6.-7. oszlop a porminták (E 163 színezék mennyiség: 0,000-5,695 mg/g  $n=7$ ) (összetört, feloldás nélküli) eredményeit mutatják

Színindex	Oldat (pH: 2,8±0,1)		Oldat (pH:2,33±0,09)		Por minta	
	$R^2$	LOD (mg/ml)	$R^2$	LOD (mg/ml)	$R^2$	LOD (mg/g)
L*	<b>0,9631</b>	<b>0,004</b>	<b>0,9905</b>	<b>0,001</b>	<b>0,9570</b>	<b>0,747</b>
a*	0,8849		<b>0,9781</b>	<b>0,007</b>	0,8119	
b*	<b>0,9503</b>	<b>0,029</b>	0,6134		0,6019	
$\Delta E^*$	0,5866		0,8300		<b>0,9591</b>	<b>0,842</b>
Hue	0,0296		0,3531		0,5612	
C*	<b>0,9064</b>	<b>0,004</b>	<b>0,9807</b>	<b>0,005</b>	0,7983	
2-lg(L*)	<b>0,9932</b>	<b>0,003</b>	<b>0,9990</b>	<b>0,001</b>	<b>0,9672</b>	<b>0,650</b>
lg(a*+100)	0,8659		<b>0,9671</b>	<b>0,008</b>	0,7990	
lg(b*+100)	<b>0,9540</b>	<b>0,030</b>	0,6126		0,6102	

A spektrofotometriás, illetve a három legjobb illeszkedésű kolorimetriás kalibrációs egyenes (2-lg(L\*), L\* és b\*) segítségével (pH: 2,8±0,1) meghatároztuk négy különböző kereskedelmi forgalomban kapható cukorkaminta antocianin-tartalmát. A három említett színindexszel meghatározott színezéktartalom 14-28 %-kal volt magasabb a referenciamódszerrel kapott eredményhez képest. A spektrofotometriához a legközelebbi eredményt a 2-lg(L\*) index adta. A kapott eredményeket a **4. táblázat** tartalmazza.

4. táblázat: 2,1 mg/g elméleti antocianin tartalmú kereskedelmi forgalomban kapható cukorkák antocianin-tartalma (mg/g) oldat alakban mérve spektrofotometriával (SP) és színméréssel (átlag $\pm$ SD, n=3, pH: 2,8 $\pm$ 0,1)

Minta	Antocianin-tartalom (mg/g) oldat formában mérve			
	SP	Színmérés		
		L*	b*	2-lg(L*)
F7	2,324	2,942 $\pm$ 0,029	3,234 $\pm$ 0,043	2,626 $\pm$ 0,024
F8	2,332	3,186 $\pm$ 0,054	2,333 $\pm$ 0,031	2,826 $\pm$ 0,045
F9	2,554	3,042 $\pm$ 0,024	2,669 $\pm$ 0,026	2,708 $\pm$ 0,020
F10	2,644	3,421 $\pm$ 0,025	3,812 $\pm$ 0,013	3,025 $\pm$ 0,021
<b>átlag</b>	<b>2,463<math>\pm</math>0,161</b>	<b>3,148<math>\pm</math>0,190</b>	<b>3,012<math>\pm</math>0,589</b>	<b>2,796<math>\pm</math>0,159</b>

Ezután szilárd, általunk készített antocianin tartalmú keménycukorka minták színezéktartalmát határoztuk meg a mintaoldattal azonos 2,33 $\pm$ 0,09 pH-n mért spektrofotometriás kalibrációs egyenes segítségével. A minták antocianin-tartalmát szintén meghatároztuk az L\*, az a\*, a 2-lg(L\*) és a lg(a\*+100) színindexekkel.

A legkevesebb (0,481 mg/g) színezéket tartalmazó minta esetében jelentősen eltérő eredményeket kaptunk a spektrofotometriához képest, amit azzal magyarázhatunk, hogy ilyen kis koncentráció-tartományban a CIELab koordinátákkal nem lehetséges a színezéktartalom meghatározása. A 0,937 mg/g antocianin-tartalmú minta színezéktartalma L\*-gal számítva 1%-kal, 2-lg(L\*)-gal számítva 6%-kal tért el a referencia módszer eredményétől. Ugyanez a 2,001 mg/g antocianin-tartalmú mintára 27, és 21%, a 5,695 mg/g antocianin-tartalmú mintára pedig 5 és 2%. A másik két vizsgált színkoordináta segítségével (a\*, és lg(a\*+100) ) kapott színezéktartalmak még inkább eltértek a spektrofotometriás eredményektől. A vizsgálatok eredményeit az **5. táblázatban** mutatjuk be.

5. táblázat: A szilárd keménycukorka mintasor spektrometriával (SP),  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $2\text{-lg}(L^*)$ , és  $\lg(a^*+100)$  színindexekkel számított antocianin-tartalma (mg/g) (átlag $\pm$ SD, pH: 2,33 $\pm$ 0,09)

Minta	SP	Antocianin-tartalom (mg/g) oldat formában mérve			
		Színmérés			
		$L^*$	$a^*$	$2\text{-lg}(L^*)$	$\lg(a^*+100)$
G8	<b>0,481<math>\pm</math>0,006</b>	0,715 $\pm$ 0,017	0,197 $\pm$ 0,006	0,798 $\pm$ 0,014	0,096 $\pm$ 0,007
G9	<b>0,937<math>\pm</math>0,073</b>	0,950 $\pm$ 0,004	0,615 $\pm$ 0,005	0,993 $\pm$ 0,003	0,568 $\pm$ 0,005
G10	<b>2,001<math>\pm</math>0,020</b>	2,532 $\pm$ 0,010	2,510 $\pm$ 0,002	2,419 $\pm$ 0,010	2,569 $\pm$ 0,002
G11	<b>5,695<math>\pm</math>0,043</b>	5,436 $\pm$ 0,019	4,808 $\pm$ 0,006	5,789 $\pm$ 0,027	4,736 $\pm$ 0,005

Az előbb említett szilárd cukorkamintákat dörzsmozsárban finom porrá törtük, majd a minták mért színindexértékeire kalibrációs egyeneseket illesztettünk, amelyek determinációs koefficienseit a **3. táblázat** mutatja. A folyadék kalibrálósorhoz hasonlóan a por alakú mintákon a legjobb illeszkedést ismét a  $2\text{-lg}(L^*)$  transzformált koordináta, míg a legrosszabbat a Hue-index mutatta. Ezután porrá tört kereskedelmi forgalomban kapható cukorkákat antocianin-tartalmát a három legjobb illeszkedésű kalibrációs egyenessel ( $2\text{-lg}(L^*)$ ,  $\Delta E^*$  és  $L^*$ ) meghatároztuk. A valós minták a három említett CIELab koordinátával meghatározott színezéktartalma 6-11%-kal volt magasabb az elméleti értéknél (2,1 mg/g). Az elméleti értékhez legközelebb a  $2\text{-lg}(L^*)$  index segítségével kapott eredmény volt. A kapott eredményeket a **6. táblázat** tartalmazza.

6. táblázat: A 2,1 mg/g elméleti antocianin tartalmú kereskedelmi forgalomban kapható késztermékek fotoakusztikus spektrometriával (LPAS) és színméréssel ( $L^*$ ,  $\Delta E^*$ , és a  $2\text{-lg}(L^*)$ ) meghatározott színezék-tartalma (mg/g) por (összetört, feloldás nélküli) alakban mérve (átlag $\pm$ SD,  $n_{LPAS}=3$ ,  $n_{színérés}=7$ )

Minta	Antocianin-tartalom (mg/g) por formában mérve			
	LPAS	Színmérés		
		$L^*$	$\Delta E^*$	$2\text{-lg}(L^*)$
G12	2,292 $\pm$ 0,136	2,316 $\pm$ 0,021	2,281 $\pm$ 0,016	2,204 $\pm$ 0,020
G13	2,304 $\pm$ 0,143	2,185 $\pm$ 0,405	2,174 $\pm$ 0,410	2,081 $\pm$ 0,394
G14	2,212 $\pm$ 0,079	2,507 $\pm$ 0,280	2,479 $\pm$ 0,274	2,394 $\pm$ 0,277
<b>Átlag</b>	<b>2,269<math>\pm</math>0,213</b>	<b>2,336<math>\pm</math>0,302</b>	<b>2,311<math>\pm</math>0,300</b>	<b>2,226<math>\pm</math>0,295</b>

A folyékony antocianint, vagy más vizsgált színezéket tartalmazó minták LPAS jele, és az antocianin-tartalom között nem volt egyértelmű összefüggés feltételezhetően a falhatás miatt. Folyadékok esetében a fotoakusztikus jelet a mikrofon helyett tús hidrofonnal lehet detektálni.

Ezután korábban spektrofotometriával meghatározott antocianin tartalmú szilárd cukorka mintákat összetörtük, majd a kalibrációs minták 532 nm-en mért fotoakusztikus jelének antocianin-tartalomtól való függésének segítségével, meg tudtuk meghatározni a kereskedelmi forgalomban kapható minták antocianin-tartalmát. A kereskedelmi forgalomban kapható összetört cukorka minták (G12-G14 minták) a fotoakusztikus jel alapján meghatározott színezéktartalma 8%-kal volt magasabb az elméleti értéknél (2,1 mg/g), ami nagyon hasonló a színmérési eredményekhez, sőt az LPAS eredmények szórása még kisebb is volt. A kapott eredményeket a **6. táblázat** mutatja.

## 2.2 Az béta-karotin és antocianin tartalmú minták vizsgálatának eredményei

A **7. táblázat** a béta-karotin tartalmú kalibrálóoldatok mért, illetve számított színkoordinátáira illesztett egyeneseinek a determinációs koefficienseit mutatja. A  $\lg(b^*+100)$  kivételével az összes vizsgált színindex lineáris függvénye volt a színezéktartalomnak, és determinációs koefficienseik nagyobbak voltak, mint  $R^2=0,9$ . Az  $a^*$  és a béta-karotin-tartalom között egyenes arányosság volt ( $R^2=0,9958$ ).

7. táblázat: A kalibráló mintasor színjellemzőinek a béta-karotin-tartalomtól való (lineáris) függésének determinációs koeficiensei ( $R^2$ ) (E 160a színezék mennyiség: 0,089 mg/g - 0,913 mg/g;  $n=3$ )

Színindex	Oldat ( $R^2$ )	LOD (mg/g)
L*	<b>0,9798</b>	<b>0,206</b>
a*	<b>0,9958</b>	<b>0,005</b>
b*	<b>0,9236</b>	<b>0,017</b>
$\Delta E^*$	<b>0,9596</b>	<b>0,052</b>
Hue	<b>0,9759</b>	<b>0,014</b>
C*	<b>0,9275</b>	<b>0,016</b>
2-lg(L*)	<b>0,9818</b>	<b>0,184</b>
lg(a*+100)	<b>0,9965</b>	<b>0,005</b>
lg(b*+100)	0,8912	

Az antocianint és béta-karotint tartalmazó szilárd cukorka mintasorok CIELab koordinátáinak a színezéktartalomtól való lineáris összefüggéseinek determinációs koeficienseit **8. táblázat** mutatja. A mintákat szilárd (összetörés nélkül), és por formában is vizsgáltuk. Az antocianin-tartalom és a 2-lg(L\*) származtatott világossági index között lineáris kapcsolat volt a vizsgált koncentráció-tartományban (szilárd:  $R^2=0,9426$ , por:  $R^2=0,9497$ ). Szilárd minták esetén a többi vizsgált koordináta  $R^2$ -e kisebb volt, mint 0,9. Por formában az L\*, és a  $\Delta E^*$  szintén lineáris kapcsolatban volt a színezéktartalommal. A **3. táblázatban** ismertetett másik antocianin tartalmú por formájú mintasornál szintén az említett három (L\*,  $\Delta E^*$ , 2-lg(L\*)) színjellemző determinációs koeficiense volt a legnagyobb. Meg kell azt is jegyeznünk, hogy minden színkoordináta esetén a determinációs koeficiens nagyobb volt por formában, mint szilárdan.

A béta-karotin-tartalom és b\* között jó közelítéssel (szilárd:  $R^2=0,9253$ , por:  $R^2=0,9575$ ) lineáris kapcsolat volt a vizsgált tartományban, ami a származtatott lg(b\*+100) indexre is igaz volt. A Hue-index és a béta-karotin koncentráció között szintén lineáris kapcsolatot

találtunk a vizsgált koncentráció-tartományban, viszonylag nagy determinációs koefficiens értékkel (szilárd:  $R^2=0,9550$ , por:  $R^2=0,9763$ ). A további vizsgált színkoordináták ( $L^*$ ,  $\Delta E^*$ ,  $C^*$ ,  $2\text{-lg}(L^*)$ ,  $\lg(a^*+100)$ ) determinációs koefficiense mind por, mint szilárd formában rosszabb volt, mint  $R^2=0,9$ .

8. táblázat: Az antocianin tartalmú (2.-5. oszlop, E 162 színezék mennyiség: 0,00-17,42 mg/g), és béta-karotint is tartalmazó (6.-9. oszlop, E 160a színezék mennyiség: 0,00-0,42 mg/g) keménycukorka minták színkoordinátáinak determinációs koefficienseinek összehasonlítása ( $n=5$ )

Színindex	Antocianin-tartalom				Béta-karotin-tartalom			
	Szilárd minta		Por minta		Szilárd minta		Por minta	
	$R^2$	LOD (mg/g)	$R^2$	LOD (mg/g)	$R^2$	LOD (mg/g)	$R^2$	LOD (mg/g)
$L^*$	0,8829		<b>0,9427</b>	<b>1,934</b>	0,2242			0,2502
$a^*$	0,5877		0,8396		0,3117			0,4591
$b^*$	0,7101		0,8376		<b>0,9253</b>	<b>0,031</b>	<b>0,9575</b>	<b>0,015</b>
$\Delta E^*$	0,8846		<b>0,9497</b>	<b>2,009</b>	0,1981			0,0106
Hue	0,4048		0,3329		<b>0,9550</b>	<b>0,023</b>	<b>0,9763</b>	<b>0,009</b>
$C^*$	0,2073		0,8780		0,3901			0,8114
$2\text{-lg}(L^*)$	<b>0,9426</b>	<b>6,847</b>	<b>0,9497</b>	<b>1,801</b>	0,2102			0,2502
$\lg(a^*+100)$	0,5847		0,8321		0,3142			0,4594
$\lg(b^*+100)$	0,7169		0,8427		<b>0,9289</b>	<b>0,032</b>	<b>0,9610</b>	<b>0,015</b>

Az LPAS jel és a minták cukorka minták antocianin-tartalma között mindkét vizsgált hullámhosszon is jó közelítéssel (473 nm:  $R^2=0,9764$ ; 532 nm:  $R^2=0,9570$ ) lineáris kapcsolat volt. A béta-karotin-tartalom és a mintákon mért fotoakusztikus jel kapcsolata csak 473 nm-en volt lineáris ( $R^2=0,8484$ ), míg a 532 nm-en fotoakusztikus jel nem függött a színezéktartalomtól, amit azzal magyarázhatunk, hogy ez már viszonylag messze van a béta-karotin abszorpciós maximumától (453-456 nm).

### 2.3 A betanin tartalmú minták vizsgálatának eredményei

A vizsgált koncentráció-tartományban a betanin-tartalom és a  $L^*$  ( $R^2=0,9700$ ), az  $a^*$  ( $R^2=0,9604$ ),  $C^*$  ( $R^2=0,9584$ ) valamint a  $\Delta E^*$  ( $R^2=0,9655$ ) között jó közelítéssel lineáris kapcsolat volt. A származtatott színindexek közül a  $2\text{-lg}(L^*)$  illetve a  $\lg(a^*+100)$  is lineárisan függött a betanin-tartalomtól, sőt a kilenc színkoordináta közül a  $2\text{-lg}(L^*)$  lineáris függésének  $R^2$ -e volt a legnagyobb ( $R^2=0,9803$ ). A  $b^*$  lineáris függvénykapcsolatának illeszkedése ( $R^2=0,8270$ ) rosszabb, mint a  $L^*$ -é, vagy az  $a^*$ -é. A por formájú betanin tartalmú mintasorozaton végzett színmérések eredményei a **9. táblázatban** találhatók.

9. táblázat: A por alakú betanint (E 162) tartalmazó kalibráló mintasor színindexeinek a lineáris illesztések során kapott determinációs koefficiensei (E 162 színezék mennyiség: 10-60 mg/g;  $n=3$ )

Színindex	$R^2$	LOD (mg/g)
$L^*$	<b>0,9700</b>	<b>13,794</b>
$a^*$	<b>0,9604</b>	<b>4,436</b>
$b^*$	0,8270	
$\Delta E^*$	<b>0,9655</b>	<b>14,972</b>
Hue	0,2314	
$C^*$	<b>0,9584</b>	<b>4,453</b>
$2\text{-lg}(L^*)$	<b>0,9803</b>	<b>12,152</b>
$\lg(a^*+100)$	<b>0,9571</b>	<b>4,613</b>
$\lg(b^*+100)$	0,8280	

Az 532 nm-en mért LPAS jel és a minták betanin-tartalma között jó közelítéssel ( $R^2=0,9649$ ) lineáris, és kvadratikus ( $R^2=0,9961$ ) kapcsolat volt, ugyanakkor meg kell jegyezni, hogy az eredmények relatív szórásai több esetben meghaladták a 10%-ot (30 mg/g: 12,23%, 40 mg/g: 10,11%, 50 mg/g: 14,94, 60 mg/g: 12,14%).

### 2.4 A neokocin tartalmú minták vizsgálatának eredményei

A neokokcin-tartalom és a  $L^*$  ( $R^2=0,9949$ ),  $\Delta E^*$  ( $R^2=0,9941$ ), valamint a  $C^*$  ( $R^2=0,9957$ ) között jó lineáris kapcsolatot találtunk a vizsgált tartományon belül. A mért  $a^*$  és a neokokcin koncentrációja között egyenes arányosság volt ( $R^2=0,9731$ ) a vizsgált tartományban. A származtatott színindexek közül a  $2\text{-lg}(L^*)$  és  $\lg(a^*+100)$  jó közelítéssel lineáris függvénye volt a neokokcin-tartalomnak, és itt is a  $2\text{-lg}(L^*)$   $R^2$ -e volt az összes színkoordináta közül a legnagyobb ( $R^2=0,9960$ ). A  $b^*$  illetve a  $\lg(b^*+100)$  és a neokokcin-tartalom között nem találtunk jó ( $R^2=0,7825$ ) lineáris függvénykapcsolatot a vizsgált tartományban. A koncentráció növekedésével a Hue-index lineáris csökkenésnek  $R^2$ -e rosszabb volt, mint 0,9 a vizsgált tartományon ( $R^2=0,8951$ ). A por formájú neokokcin tartalmú mintasorozaton végzett színmérések eredményei a következő táblázatban találhatóak (**10. táblázat**).

10. táblázat: A por alakú neokokcint (E 124) tartalmazó kalibráló mintasorok színjellemzőinek és a neokokcin-tartalom közötti lineáris összefüggések determinációs koeficiensei ( $R^2$ ) (E 124 mennyiség: 0,01-0,50 mg/g;  $n=3$ )

Színindex	$R^2$	LOD (mg/g)
$L^*$	<b>0,9949</b>	<b>0,021</b>
$a^*$	<b>0,9731</b>	<b>0,025</b>
$b^*$	0,7825	
$\Delta E^*$	<b>0,9941</b>	<b>0,022</b>
Hue	0,8951	
$C^*$	<b>0,9957</b>	<b>0,055</b>
$2\text{-lg}(L^*)$	<b>0,9960</b>	<b>0,020</b>
$\lg(a^*+100)$	<b>0,9837</b>	<b>0,026</b>
$\lg(b^*+100)$	0,7827	

A 532 nm-en mért LPAS jel és a minták neokokcin-tartalma között lineáris kapcsolatot találtunk ( $R^2=0,9788$ ). A kvadratikus regresszió szintén jó egyértékű függvénykapcsolatot adott ( $R^2=0,9941$ ) ebben a tartományban.



## 2.5 A keverési próbagyártásból származó minták vizsgálatainak eredményei

A 2.3-as és a 2.4-es fejezetekben leírt vizsgálatok közül csak az  $L^*$ , az  $a^*$ , a  $\Delta E^*$ , a  $C^*$ , a  $2\text{-lg}(L^*)$  és a  $\lg(a^*+100)$  adott jó lineáris kapcsolatot ( $R^2 > 0,95$ ) a betanin és a neokocin-tartalommal. Tehát a próbakeverések vizsgálatánál csak ezekre a paraméterekre fókuszáltunk. A mérések alapján meghatároztuk a 30 mg/g-os betanin tartalmú és a 0,50 mg/g-os neokocin tartalmú táplálékkiegészítő várható értékeit 95%-os konfidencia intervallumon az említett színindexekre, amit a következő **11. táblázatban** közlünk.

*11. táblázat: A 30 mg/g betanin (E 162), illetve a 0,50 mg/g neokocin (E124) tartalmú minták színjellemzőinek várható értéke 95%-os konfidencia intervallumon (átlag $\pm$ SD)*

Index	30 mg/g E 162	0,50 mg/g E 124
$L^*$	73,60 $\pm$ 7,19	89,18 $\pm$ 0,32
$a^*$	10,57 $\pm$ 1,95	5,31 $\pm$ 0,05
$\Delta E^*$	74,38 $\pm$ 7,03	89,38 $\pm$ 0,30
$C^*$	10,71 $\pm$ 1,96	5,91 $\pm$ 0,15
$2\text{-lg}(L^*)$	0,187 $\pm$ 0,042	0,050 $\pm$ 0,002
$\lg(a^*+100)$	2,060 $\pm$ 0,008	2,022 $\pm$ 0,000
LPAS ( $\mu$ V)	644,0 $\pm$ 125,2	399,3 $\pm$ 28,8

A névlegesen 30 mg/g betanin tartalmú keverési próbaminták  $L^*$  koordinátái közül a 73,60 $\pm$ 7,19 intervallumba mindössze kettő (3 és 15. perc) esett. A  $L^*$  értékek semmilyen analitikus trendet nem mutattak. Az  $a^*$ , és a  $C^*$  koordináták közül egy sem esett a várható érték intervallumba. A minták színezéktartalmának mindkét index alapján 65-70 mg/g-nak kellene lennie. Az  $a^*$  esetében sem figyelhetünk meg konvergenciát a keverési idő növekedésével. A hét minta közül hat  $\Delta E^*$  értéke a 74,38 $\pm$ 7,03 intervallumba esett. Minden minta  $2\text{-lg}(L^*)$  értéke a 0,187 $\pm$ 0,042 intervallumba volt, köszönhetően a tartomány nagy szórásának ( $\pm 22\%$ ), szintén mindegyik minta  $\lg(a^*+100)$  értéke beleesett a 2,060 $\pm$ 0,008 intervallumba. A keverési idő alatt nem figyeltünk meg semmilyen tendenciát a színindex változásában. A minták betanin-

tartalma LPAS kalibráló egyenes alapján meghaladná a 60 mg/g-ot. Az eredmények relatív szórásai több esetben meghaladták az 10%-ot (3, 10, 20 és 25 perc), sőt egy esetben a 20%-ot is (15 perc: 21,42%).

A névlegesen 0,50 mg/g neokocin tartalmú keverési próbaminták  $L^*$  értékei egy telítődési görbét követtek a keverési idő növelésével párhuzamosan és közülük a csupán három (15, 18, és 30 perc) minta  $L^*$  értéke esett a  $89,18 \pm 0,32$  intervallumba. Az adatsorra másodfokú függvényt illesztettünk ( $R^2=0,9849$ ), hogy meghatározzuk, mikor éri el a telítődési görbe a minimumát, vagyis azt az időpontot, ahol az  $L^*$  értéke várhatóan tovább, már nem csökken, vagyis a keverés optimálisnak tekinthető. Az  $L^*$  minimuma 30,98 percnél volt a kvadratikus regresszió alapján. A várható  $L^*$  értéket körülbelül 20 perc keverés után érte el. Az  $a^*$  koordináták közül az  $5,31 \pm 0,05$  intervallumba egyetlen pont esett csak. A keverési idő növekedésével az  $a^*$  is egy telítődési görbét követett, az  $a^*$  maximuma a kvadratikus regresszió alapján ( $R^2=0,9958$ ) a 32,24 percnél volt. A vizsgált mintákból csak három  $\Delta E^*$ -a esett a  $89,38 \pm 0,30$  intervallumba. A  $\Delta E^*$  minimuma a másodfokú illesztés alapján ( $R^2=0,9826$ ) a 30,08 percnél volt. A  $C^*$  értékek közül csak egy (15 perc) érték esett az  $5,91 \pm 0,15$  intervallumba. A mért eredmények alapján az  $a^*$ -hoz hasonlóan a  $C^*$  a keverési idő függvényében növekedett, a  $C^*$  maximuma a kvadratikus regresszió alapján ( $R^2=0,9950$ ) a 31,16 percnél volt. A  $2\text{-lg}(L^*)$  értékek közül csak a 15., a 18., a 20, és a 25. percben vett minta esett a  $0,050 \pm 0,002$  intervallumba. A  $2\text{-lg}(L^*)$  maximuma a másodfokú telítődési görbe alapján ( $R^2=0,9852$ ) a 30,92 percnél volt. A neokocin minták  $\lg(a^*+100)$  színindexe lineárisan növekedett. A  $2,022 \pm 0,000$  intervallumot 13 perc keverési idő után érte el. A  $\lg(a^*+100)$  maximuma a kvadratikus regresszió alapján ( $R^2=0,9956$ ) 32,13 percnél volt.

Mindegyik neokocin tartalmú próbagyártási minta LPAS jele beleesett a  $399,3 \pm 28,8$  intervallumba, ellenben a relatív szórások itt is több esetben meghaladták az 5%-ot (1, 6, 15, és 25 perc).

### 3. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

#### 1. tézis

Egyszerű, gyors és ugyanakkor érzékeny spektrofotometriás módszert dolgoztunk ki keménycukorkák antocianin tartalmának meghatározására. A kalibrációt, azért, hogy a mintaoldat nagy cukor koncentrációja okozta interferenciát kiküszöböljük, mátrixillesztéses módszerrel végeztük. A mintából származó, már nagyon kis koncentrációban is a mintaoldat turbiditását, és ennek következtében jelentős pontatlanságot okozó lipideket, folyadék-folyadék extrakcióval távolítottuk el a kalibráló- és a mintaoldatokból. A vizsgált apoláros oldószerek közül a lipidek mintegy 100% hatásfokú egy lépéses eltávolításához a szén-tetrakloridot találtuk a legalkalmasabbnak. Az abszorbancia mérések során a klorofill, illetve annak bomlástermékei okozta spektrális interferenciák (Rabino-Mancinelli módszer) miatt az 530 nm-es elemzési hullámhosszon mért abszorbanciát korrigáltuk a 657 nm-en mért abszorbancia értékével ( $A = A_{530} - 0,250 * A_{657}$ ). A kifejlesztett spektrofotometriás módszerünk érvényesítésekor meghatároztuk annak lineáris tartományát (0,149-2,376 mg/ml), pontosságát (96,5%) és kimutatási határát (0,028 mg/g).

#### 2. tézis:

Megállapítottuk, hogy antocianin tartalmú keménycukorka mintáknál oldat, szilárd, valamint porminta esetében is a  $2 - \lg(L^*)$  index színezéktartalomtól való függése adta a legjobb lineáris regressziót ( $R^2=0,94-0,99$ ) a gyakorlat számára fontos koncentráció-tartományban, ezen belül az oldatok determinációs koefficiense volt a legjobb ( $R^2=0,9990$ ). A fentiek alapján azt mondhatjuk, hogy antocianin tartalmú keménycukorkák esetében a legpontosabb színezéktartalom meghatározást az oldat formájú minták  $2 - \lg(L^*)$  indexének meghatározása biztosítja.

**3. tézis:**

Mérésekkel bizonyítottuk, hogy béta-karotin tartalmú keménycukorka minták színezéktartalmát oldat formában a  $lg(a^* + 100)$ , míg szilárd és pormintánál *Hue index* segítségével tudjuk legpontosabb meghatározni a gyártási technológia számára fontos koncentráció-tartományban. Az  $\beta$ -karotin tartalmú kemény cukorkák esetében a legjobb lineáris korrelációt az oldatformában mért  $lg(a^* + 100)$  index ( $R^2=0,9965$ ) adta, így ezt javasoljuk meghatározási módszerként.

**4. tézis:**

Mérésekkel megállapítottuk, hogy olyan por formájú (összetört) cukorka mintákban, amelyek antocianint és béta-karotint is tartalmaznak, az antocianin-tartalom meghatározás fotoakusztikus spektrofotometriával 532 nm-en, vagy a teljes színinger különbség ( $\Delta E^*$ ) mérésével lehetséges a legjobban. Mindkét módszer esetén a determinációs koefficiens nagy az antocianinra ( $R^2 = 0,9611$  és  $0,9497$ ), és kicsi a béta-karotinra ( $R^2 = 0,01$ ).

**5. tézis:**

Mérésekkel igazoltuk, hogy antocianint és béta-karotint is tartalmazó minták béta-karotin-tartalmát színméréssel a Hue-index segítségével lehet a legpontosabban meghatározni ( $R^2_{antocianin} = 0,3329$ ,  $R^2_{\beta\text{-karotin}} = 0,9763$ ).

**6. tézis:**

Mintaszorozatokon végzett mérésekkel megállapítottuk, hogy por alakú táplálékkiegészítők (pezsgőtabletták) betanin, illetve neokocin tartalma lineáris kapcsolatban van ( $R^2>0,95$ ) a mintákon mért  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $\Delta E^*$ , és  $2 \cdot lg(L^*)$  színkoordinátákkal és az 532 nm-en mért fotoakusztikus (LPAS) jellel a vizsgált színezéktartalmon belül.

---

#### 4. PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

##### **Magyar nyelvű lektorált folyóiratban megjelent publikáció:**

1. KOVÁCS M, DÓKA O, KULCSÁR R (2014) Élelmiszer-színezékek színparamétereinek vizsgálata étrendkiegészítőkben színméréssel és fotoakusztikus spektroszkópiával. *Acta Agronomica Ovariensis* 1 43-52

##### **Idegen nyelvű lektorált folyóiratban megjelent publikációk:**

1. KOVÁCS M, DÓKA O, BICANIC D, AJTONY ZS (2017) Application of laser-based photoacoustic spectroscopy and colorimetry for quantification of anthocyanin in hard boiled candy. *Microchemical Journal* 135 100-104
2. KOVÁCS M, DÓKA O, RICHFIELD D (2019) Determination of two color agents in hard boiled candy by laser-based photoacoustic spectroscopy and colorimetry. *Carpathian Journal of Food Science and Technology* 11 126-132

##### **Konferencia részvétel:**

1. KOVÁCS M, KULCSÁR R, DÓKA O (2012): Étrendkiegészítők gyártási folyamatának optimalizálása színméréssel XXXIV. Óvári Tudományos Nap, 2012. október 5. Nyugat-magyarországi Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, Mosonmagyaróvár pp. 405-409