

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS

KOVÁCS MIHÁLY

MOSONMAGYARÓVÁR

2020



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

Készítette:

KOVÁCS MIHÁLY

Mosonmagyaróvár

2020

ÉDESIPARI TERMÉKEK SZÍNEZÉKTARTALMÁNAK MENNYISÉGI ANALÍZISE FIZIKAI MÓDSZEREKKEL

Írta:
KOVÁCS MIHÁLY

Készült a Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi
Kar Wittmann Antal Növény-, Állat- és Élelmiszer- tudományi
Multidiszciplináris Doktori Iskola Pulay Gábor Élelmiszertudományi Doktori
Program keretében.

Témavezető: **Prof. DR. DÓKA OTTÓ**

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

(aláírás)

A jelölt a doktori szigorlaton.....%-ot ért el,

Mosonmagyaróvár,

.....
a Szigorlati Bizottság Elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen/nem)

Első bíráló (**Prof. Dr. Végvári György**) igen/nem

(aláírás)

Második bíráló (**Dr. habil. Horváth András**) igen/nem

(aláírás)

Esetleg harmadik bíráló (Dr.) igen/nem

(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján%-ot ért el.

Mosonmagyaróvár,

.....
A Bírálóbizottság elnöke

Doktori (PhD) oklevél minősítése.....

.....
Az EDT elnök

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVÍTÉSEK JEGYZÉKE	6
1. BEVEZETÉS	8
2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS	10
2.1 Élelmiszeriparban használt színezékek és jogi szabályozásuk.....	10
2.2 A vizsgálatokban felhasznált színezékek tulajdonságai.....	23
2.2.1 Antocianinok (Antociánok) (E 163).....	23
2.2.2 Béta-karotin (E 160a).....	26
2.2.3 Betanin (E 162)	28
2.2.4 Neokokcin (E 124).....	30
2.3 Élelmiszerszínezékek mennyiségi meghatározása	31
2.3.1 UV/VIS spektrofotometria	39
2.3.2 Színmérés a CIELab színrendszerben.....	39
2.3.3 A fotoakusztikus spektrofotometria elméleti alapjai.....	44
2.4 A keménycukorkák és a pezsgőtabletták gyártási folyamata	48
3. CÉLKITŰZÉSEK.....	51
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	52
4.1 A vizsgált anyagok.....	52
4.2 A minták előkészítése.....	55
4.2.1 Spektrofotometriás mintaelőkészítés	56
4.2.2 Keménycukorka minták és előkészítésük	58
4.2.3 Pezsgőtabletta minták és előkészítésük.....	63
4.2.4 Keverési folyamatok anyagának és módszerének bemutatása	64
4.3 Vizsgálatokhoz használt műszerek.....	66
4.3.1 Merck Spectroquant Pharo 100 UV-VIS spektrofotométer	66
4.3.2 HunterLab MiniScan XE Plus reflexiós spektrokoloriméter	67
4.3.3 Saját fejlesztésű fotoakusztikus spektrométer (LPAS)	69

5. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK.....	73
5.1 Az antocianin tartalmú minták vizsgálatának eredményei.....	73
5.1.1 Az antocianin tartalmú minták spektrofotometriás és színmérési eredményei	73
5.1.2 Az antocianin tartalmú minták (L)PAS vizsgálatának eredményei.....	81
5.2 A béta-karotin és antocianin tartalmú minták vizsgálatának eredményei	85
5.2.1 A béta-karotin és antocianin tartalmú minták színmérési eredményei.....	85
5.2.2 A béta-karotin és antocianin tartalmú minták LPAS eredményei.....	88
5.3 A betanin tartalmú minták vizsgálatának eredményei	91
5.3.1 A betanin tartalmú minták színmérési eredményei.....	91
5.3.2 A betanin tartalmú minták LPAS eredményei	93
5.4 A neokocin tartalmú minták vizsgálatának eredményei	94
5.4.1 A neokocin tartalmú minták színmérési eredményei.....	94
5.4.2 A neokocin tartalmú minták LPAS eredményei	96
5.5 A keverési próbagyártásból származó minták vizsgálatának eredményei	97
5.5.1 A keverési próbagyártásból származó minták színmérési eredményei.....	97
5.5.2 A keverési próbagyártásból származó minták LPAS eredményei.....	104
6. KÖVETKEZTETÉSEK.....	106
7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	111
8. ÖSSZEFOGLALÁS	113
9. FELHASZNÁLT IRODALOM	114
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	136

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ADI: Elfogadott napi beviteli mennyiség (Acceptable Daily Intake)

AOAC: Hivatalos Analitikai Vegyészek Szövetsége (Association of Official Analytical Chemists)

a*: Vörös-zöld színindex a CIELab színrendszerben

b*: Kék-sárga színindex a CIELab színrendszerben

CIE: Nemzetközi Világítástechnikai Bizottság (Commission Internationale de l'Éclairage)

CIELab: A Nemzetközi Világítástechnikai Bizottság által megalkotott szabvány színrendszer

CM: Színmérés (Colorimetry)

CTC: Szén-tetraklorid (CCl₄)

C*: Színtelítettség, vagy króma, a színpontnak a világossági (L*) tengelytől mért távolsága a CIELab színtérben

DAD: Dióda soros detektor ([Photo]diode Array Detection)

DCM: Diklórmetán

EFSA: Európai Élelmiszer-biztonsági Hivatal (European Food Safety Authority)

EU: Európai Unió

FDA: Amerikai Élelmiszer- és Gyógyszerengedélyeztetési Hivatal (Foundation US Food and Drug Administration)

FDS: Első derivált (derivatív) spektrofotometria (First Derivative Spectrophotometry)

FSA: Brit Élelmiszer-biztonsági Hivatal (Food Standards Agency)

HPIC: Nagyhatékonyságú ionkromatográfia (High Performance Ion Chromatography)

HPLC: Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (High Performance Liquid Chromatography)

IARC: Nemzetközi Rákkutatási Ügynökség (International Agency for Research on Cancer)

IFIC: Nemzetközi Élelmiszer Információs Tanács (International Food Information Council)

JECFA: A FAO és a WHO közös szakértői testülete (Joint Expert Committee on Food Additives)

LOD: Kimutatási határ (Limit of Detection)

LPAS: Lézer megvilágítású fotoakusztikus spektrofotometria (Laser-Based Photoacoustic Spectrophotometry)

L*: világossági színindex a CIELab színrendszerben

MS: Tömegspektrometria (Mass Spectrometry)

MS/MS: Tandem tömegspektrometria (Mass/Mass Spectrometry)

NéBiH: Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal

PAS: Fotoakusztikus spektrofotometria (Photoacoustic Spectrophotometry)

SP: Spektrofotometria

TMAC: Összes monomer antocianin-tartalom (Total Monomeric Anthocyanin Content)

TLC: Vékonyréteg kromatográfia (Thin Layer Chromatography)

USA: Amerikai Egyesült Államok (United States of America)

USDA: Amerikai Egyesült Államok Földművelésügyi Minisztériuma (United States Department of Agriculture)

WHO: Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization)

1. BEVEZETÉS

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. Alkalmazásuk elősegíti az élelmiszerek megjelenésének standardizálását, illetve további előnyük, hogy csökkentik a különböző időszakokban gyártott azonos termékek színének esetleges különbségeit, kiegyenlítve a bennük lévő természetes színezőanyagok közötti eltéréseket.

Az élelmiszeriparban engedélyezett színezékek eredete alapján természetes, természetazonos, és mesterséges színezékeket különböztetünk meg. Bár a szintetikus színezőanyagok, ezen belül is főként az azofestékek számos tulajdonsága előnyösebb, mint a természetes színezékeké, például jobb a színezőképessége, olcsóbb, hőre-, fényre- és kémiaiilag is stabilabb, állandó a minősége és elegendő van készleten, felhasználásukat gátolja azonban, az a tény, hogy az élettani, illetve táplálkozásbiológiai szerepük továbbra sem teljesen tisztázott. A mesterséges színezékekkel kapcsolatosan kételyek, illetve a fogyasztói elvárások miatt az élelmiszeripari szereplők egyre több termékben váltják ki a mesterséges színezékeket természetes alternatívákkal.

Az élelmiszerszínezékek műszeres minőségi és mennyiségi meghatározására alkalmazott leggyakoribb módszerek a HPLC és a spektrofotometria, de számos alternatív módszer is elérhető, mint például az oszlop és vékonyréteg kromatográfia, a kapilláris elektroforézis (CE), a színmérés (CM), vagy a fotoakusztikus spektrofotometria (PAS).

Az alábbiakban édesipari termékekben (keménycukorkákban és pezsgőtablettákban) található természetes és mesterséges színezőanyagok mennyiségének meghatározását vizsgáltuk fotoakusztikus spektrofotometriával és színméréssel. Méréseinket összehasonlítottuk a hagyományos módszernek tekinthető spektrofotometriával kapott eredményekkel. A vizsgálatokat oldat és szilárd mintákon is elvégeztük.

Az élelmiszerszínezékek koncentrációjának meghatározása mellett, kísérletet tettünk arra, hogy táplálék-kiegészítők (cukorka, pezsgőtabletta) gyártási folyamatának préselés előtti keverési folyamatát optimalizáljuk, felhasználva az optikai módszerekkel végzett koncentráció méréseink tapasztalatait.

2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 Élelmiszeriparban használt színezékek és jogi szabályozásuk

A szín az élelmiszerek egyik legfontosabb minőségi mutatója a tápanyag tartalom, az íz, és a textúra mellett. Mivel a fogyasztók általánosságban az élénk színű termékeket kedvelik, ezért szükség volt a színezékek szigorú minőségi és mennyiség szabályozására.

A szín jelentősen befolyásolja az ízérzetet. Az 1990-es években a PepsiCo piacra dobta a Crystal Pepsi-t, ami ízesítését tekintve azonos volt a hagyományos Pepsi kólával, de színezékeket nem tartalmazott. A termék nagyon hamar megbukott, ugyanis a fogyasztók nem társították az áttetsző színt a kóla ízhez (SPENCE, 2015; LIN et al. 2018).

Annak ellenére, hogy más iparágakban több mint tízezer színezéket használnak, csak néhány engedélyezett az élelmiszeriparban. A szabályozások különösen azoknál a termékeknél szigorúak, ahol az elsődleges fogyasztók gyermekek, vagy fiatalok.

Következésképpen általánosságban elmondható, hogy az élelmiszerek gyártása során nagy hangsúlyt kell fordítani a megfelelő színezék(ek) és a szükséges mennyiség kiválasztására, hogy kielégítse a fogyasztók igényeit, és megfeleljen a jogi szabályoknak is (DOWNHAM és COLLINS, 2000).

A színezékek alkalmazása biztosítja a termékek megjelenésének uniformizálását, függetlenül a szezonális hatásoktól (elfedve például a nyersanyagok színezéktartalmának, vagy a színezékek összetételének természetes változékonyságát) és kompenzálja a természetes színezékek gyártás vagy tárolás alatt fellépő veszteségeit (FURIA, 1980; IFIC, 2004).

Az engedélyezett élelmiszerszínezékek lefedik a teljes színpalettát, és összetételüket tekintve nagyon változatosak. A színezékek lehetnek természetes, a természetazonos, és a mesterséges eredetűek. A mesterséges színezékek tovább oszthatók szerves, és szervesetlen alcsoportokra. Szerkezetük alapján a mesterséges színezékek öt legfontosabb csoportja az azo, a xantén, a trifenilmetán, a kinolin, és az indigó festékek csoportja (1. táblázat) (SHAMINA et al. 2007; AMCHOVA et al. 2015; GRIFFITH, 2016).

1. táblázat: Az élelmiszeriparban használt mesterséges színezékek csoportosítása (MINIOTI et al. 2007; SHAMINA et al. 2007)

Mesterséges színezékek csoportja	Színezékek
Azofestékek	E 102 Tartrazin (FD&C Yellow No. 5) E 110 Narancssárga FCF (Sunset Yellow FCF, FD&C Yellow No. 6) E 121 Citrus Red No. 2 E 122 Azorubin (Karmazsin) E 123 Amarant (FD&C Red No. 2) E 124 Neokokcin (Ponceau 4R) E 129 Alluravörös AC (FD&C Red No. 40) E 151 Brilliantfekete BN E 154 Barna FK (Chocolate Brown FK) E 155 Barna HT (Chocolate Brown HT) E 180 Litolrubin BK Orange B
Xantén festékek	E 127 Eritrozin (Red No. 3)
Trifenilmetán festékek	E 131 Patentkék V E 133 Brilliantkék FCF (FD&C Blue No. 1) E 142 Zöld S (FD&C Green No. 4) E 143 Fast Green FCF (FD&C Green No. 3)
Kinolin festékek	E 104 Kinolinsárga (FD&C Yellow No. 10)
Indigó festékek	E 132 Indigókármin (Indigotin, FD&C Blue No. 2)

Az azofestékek a szerves színezékek legnagyobb csoportját alkotják, több mint 3000 különböző színezékkal. Szerkezetükben közös, a

nevüket adó azo ($-N=N-$) funkciós csoport (YAMJALA et al. 2016). Az azofestékek részaránya meghaladja a világ színezőanyag gyártásának több mint felét, ami körülbelül évi egy millió tonna gyártott mennyiséget jelent (CHUNG, 2016; ELBANNA et al. 2017). Táplálkozásbiológiai szempontból az azofestékek fő problémája az, hogy egyes bélbaktériumok képesek felbontani az azocsoportot azoreduktáz (azobenzén reduktáz) enzimükkel, és ennek következtében karcinogén aromás aminok keletkeznek (BENTO et al. 2015). Több azofesték (benzidin alapú azofestékek: Congo Red, o-tolidin bázisú azofestékek, és o-dianizidin bázisú azofestékek: Direct Red 2, Direct Blue 15) élelmiszeripari használatát már betiltották a klinikai vizsgálatokkal igazolt rákkeltő hatásuk miatt (GOLKA et al. 2004).

A legfontosabb természetes színezékek csoportjai az antocianinok, a karotinok, a klorofillek, és a betanin (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016).

Kezdetben az élelmiszerek színezésére használt anyagok természetes forrásokból, mint sáfrány (*Crocus sativus L.*) szárított bibeszárából, kurkuma (*Curcuma longa L.*) gyöktörzséből, festő buzér (*Rubia tinctorum L.*) gyökeréből, illetve más virágokból és állatokból származó kivonatokból, vagy ásványi színezőanyagokból származtak (SHAMINA et al. 2007; SEZGIN és AYYILDIZ, 2017). A történelmi írott források alapján Kínában i.e 2600-ban, az Indus völgyben i.e 2500-ban, az ókori Egyiptomban i.e 1500-ban már többféle színezőanyagot, elsősorban növényi kivonatot használtak az élelmiszerek színezésére (SHAMINA et al. 2007; SEZGIN és AYYILDIZ, 2017; SIGURDSON et al. 2017). A bor mesterséges színezéséről már legalább i.e 300 óta vannak ismereteink (BARROWS et al. 2003).

Az élelmiszerekhez felhasznált színezékek fajtáit az ipari forradalom felfedezései alapvetően megváltoztatták. A XIX. század második felében az élelmiszeriparban gyakran rutinszerűen használtak olyan súlyosan mérgező színes szervetlen vegyületeket festékként, mint például a vörös ólomoxidot, a miniumot (Pb_3O_4), a cinóbert (higany-szulfidot, HgS), vagy a réz-arzenátot ($Cu_3(AsO_4)_2$) (DOWNHAM és COLLINS, 2000), köszönhetően a nagyon enyhe törvényi szabályozásnak.

Az első szerves mesterséges festéket, a Perkin-lilát (mauve) véletlenül állította elő Sir William Henry Perkin köszénkátrányból 1856-ban (DOWNHAM és COLLINS, 2000; ADAMS, 2005). Nem sokkal később további mesterséges festékeket állítottak elő, mint például 1858-ban a Fukszint (Magenta), vagy az Alizarint (Turkey Red) 1868-ban (MORRIS és TRAVIS, 1992; JARMAN és BALLSCHMITER, 2012). A felfedezett mesterséges festékeket a köznyelvben köszénkátrány festékeknek (coal-tar colors) kezdték elnevezni, a Perkin által használt kiindulási anyag után (BURROWS, 2009).

Az azo funkciós csoportot Peter Griess fedezte fel 1858-ban. Az első azofestéket, a 4-fenilazoanilint Mène állította elő 1861-ben (ZOLLINGER, 1958), amit 1863-ben anilinsárga (Aniline Yellow) néven hoztak forgalomba, annak ellenére, hogy szerkezetét csak három évvel később, 1866-ban határozta meg Carl Alexander von Martius és Griess. 1863-ban Martius felfedezte a Bismarck barna festéket (Bismarck brown Y) (ALLEN, 1971). A XX. század elejére a felfedezett köszénkátrány festékek száma már majdnem elérte a hétszázat, és több mint 80 már kereskedelmi forgalomban volt (BURROWS, 2009). Az új mesterséges színezékek általánosságban kevésbé mérgezőek, stabilabbak, fényesebb

színűek és jobb színező képességűek voltak, mint a fém sók, ám a 80 festék döntő része (64) ártalmas volt az egészségre (GRIFFITHS, 2005).

A XIX. században még csak néhány, a színezékeket érintő szabályozást fogadtak el (Dánia 1836, Németország 1860). A legtöbb ország a XX. század elején kezdte kidolgozni az engedélyezett színezékek listáját, az egészségügyi kockázatok felismerése miatt kialakult egyre növekvő társadalmi nyomás hatására. Az 1906-ban elfogadott Pure Food and Drug Act (Tiszta élelmiszer és drogtörvény) megtiltotta a mérgező festékek (pl. a színes nehézfém sók) élelmiszeripari felhasználását az Egyesült Államokban (WROLSTAD és CULVER, 2012). Ez követően, 1907-ben az Amerikai Egyesült Államok Földművelésügyi Minisztériuma (USDA) közzétette a biztonságosnak tekintett élelmiszerszínezék listáját, ami hét szerves színezéket tartalmazott (ZAJAC és BARROWS, 2017). Az elfogadott mesterséges színezékek száma 1931-re már 15-re nőtt (BARROWS et al. 2003).

1938-ban az Egyesült Államok kongresszusa elfogadta a Food Drug and Cosmetic Act -ot (Élelmiszer, Drog, és Kozmetikum Törvény), ami az élelmiszerek, a drogok, a gyógyászati eszközök és a kozmetikumok teljeskörű biztonsági szabályozását az FDA (Food and Drug Administration) kezébe adta (WROLSTAD és CULVER, 2012).

Az élelmiszerszínezékek szabályozásának új korszaka egy 1950-ben történt élelmiszerbiztonsági incidenssel kezdődött, amikor több száz gyermek került hasi fájdalommal és hasmenéssel kórházba, azt követően, hogy olyan Halloween-i cukorkákat és popcorn-t ettek, amit nagy mennyiségű, akkoriban biztonságosnak tartott FD&C Orange No. 1-gyel színezték (1. ábra) (BARROWS et al. 2003).

A nyilvánosság felháborodása miatt az FDA azonnal hozzákezdett a szabályozások felülvizsgálatához, és szigorításához.



1. ábra: "Popcorn macska", ami jelentős mennyiségű (1-2%) FD&C Orange No. 1 színezéket tartalmazott, megbetegítve ezzel több száz gyermeket az 1950-es években (URL¹)

1958-ban az FDA közzétette azoknak az élelmiszer-összetevőknek a listáját, amelyek történelmi vagy tudományos bizonyítékokkal alátámaszthatóan biztonságosak voltak ("Általában biztonságosnak tekinthető"; GRAS, Generally Recognized as Safe) (ABDELMIGID, 2009). Következésképpen 11 színezéket betiltottak 1955 és 1960 között, köztük a FD&C Orange No. 1-t is (BURROWS, 2009).

Az 1970-es, és 1980-as évektől kezdődően több engedélyezett, és biztonságosnak tartott azofestékkel, például a Tartrazin-nal (E 102), a Narancssárga FCF-fel (E110), vagy a Neokokcinnal (E 124) kapcsolatban merültek fel egészségügyi aggályok, azok feltételezett allergizáló hatása miatt (RAO és SUDERSHAN, 2008; WROLSTAD és CULVER, 2012).

Több állatkísérlet megállapította a Tartrazin (E 102), a Narancssárga FCF (E 110), az Azorubin (E 122), az Amarant (E 123), a Neokokcin (E 124) és az Alluravörös AC (E 129) mutagén, sőt karcinogén

hatását, az adagolt mennyiségtől függően (TSUDA et al. 2001; ABDELMIGID, 2009), és baktériumokkal (pl. *Escherichia coli*) végzett kísérletek szintén igazolták az E 110, és az E 123 citotoxikus és mutagén hatását (SWEENEY et al. 1994; CHUNG, 2016), így feltételezhetően hasonlóképpen mutagének és karcinogének az emberi szervezetre nézve is.

Már az 1950-es években publikálták, hogy néhány Amaranntal (E 123) etetett nőtény egérben mellrák kialakult ki. Mivel a kontroll vizsgálatok nem támasztották alá ezt a megfigyelést, továbbra is az E 123-at tekintették az egyik legbiztonságosabb mesterséges színezéknek. Az 1960-as évek végén szovjet kutatók szintén azt állították, hogy az Amarant (E 123) bélrendszeri daganatok kialakulását okozta patkányokban, és ártalmas hatású volt a nemi mirigyekre és az embriókra. Az eredmények hatására az USA-ban megismételték a kísérleteket, de ezek szintén nem erősítették meg a szovjet kutatási eredményeket. A médiában, viszont az amerikai kísérletek kivitelezésével kapcsolatban számos tudományosan aggályos részlet derült ki, ami felháborította a közvéleményt, ezért 1976-ban az FDA úgy döntött, engedve a nyilvánosság erős nyomásának, hogy betiltja az Amarant élelmiszeripari felhasználását az Egyesült Államokban, ám a színezék mind a mai napig engedélyezett EU-ban (BURROWS, 2009; CHUNG, 2016). Az Amarant-tal kapcsolatos társadalmi félelmek hatására több élelmiszervállalat (például az M&M's-t gyártó Mars) több éven keresztül önkéntesen beszüntette a piros színű cukorkák gyártását, még azokat a termékeket is, amelyeket nem Amarant-tal, hanem más vörös színű színezékekkel, például Eritrozin-nal (E 127), vagy Alluravörös AC-vel (E 129) készültek (BURROWS, 2009).

Már az 1970-es években felmerült, hogy az azoszínezékek felelősek lehetnek a gyermekkori hiperaktivitás kialakulásáért (BATEMAN et al. 2004; RAO és SUDERSHAN, 2008; BURROWS, 2009), és egy 2007-ben az Egyesült Királyságban elvégzett tanulmány („Southampton study”) bizonyítékokkal is szolgált a viselkedési zavarok, mint a fokozott figyelemhiányos hiperaktivitás-zavarok (ADHD, Attention Deficit Hyperactivity Disorder) és a kisgyermekek mesterséges élelmiszerszínezékek fogyasztása közötti kapcsolatokra. Ebben a vizsgálatban hat színezőanyagot („Southampton six”) teszteltek a Tartrazint (E 102), a Kinolinsárga WS-t (E 104), a Narancssárga FCF-t (E 110), az Azorubint (E 122), Neokokcint (E 124) és az Alluravörös AC-t (E 129) (McCANN et al. 2007). 2008-ban az EFSA (European Food Safety Authority) megvizsgálta ezt a tanulmányt, és arra a következtetésre jutottak, hogy a rendelkezésre álló adatok nem voltak elégségesek a hipotézis igazolására, de ennek ellenére jelentősen csökkentették a Kinolinsárga (E 104), a Narancssárga FCF (E 110) és a Neokokcin (E 124) elfogadható napi beviteli mennyiségét (ADI, Acceptable Daily Intake), míg a másik három vizsgált színezék ADI-értékét változatlanul hagyták (EFSA, 2008; PEREZ-IBARBIA et al. 2016). Ez például a Neokokcin esetében azt jelentette, hogy 4 mg/testtömeg kg érték 0,7 mg/testtömeg kg értékre változott (ABBEY et al. 2014). Eközben a brit FSA (Food Standards Agency), majd később a magyar Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NéBiH) kiadott egy ajánlást az élelmiszergyártók számára, hogy mondjanak le önként a vizsgált hat mesterséges színezék („Southampton Six”) használatáról termékeikben. Az Európa Tanács 354/16 (2008) rendeletének megfelelően kiadott a 36/2014. (XII. 17.) FM rendelet értelmében, Magyarországon 2015. április 1. óta a vendéglátó

ipari termékek előállítóinak kötelező feltüntetni az élelmiszerek, vagy az italok címkéjén a potenciális veszélyt („A gyermekek tevékenységére és figyelmére káros hatást gyakorolhat”), abban az esetben, ha azok a hat említett azofesték valamelyikét tartalmazzák (ELBANNA et al. 2017).

Red 2G azoszínezéket (E 128) szintén a közelmúltban (2007-ben) tiltották be az Európai Unióban az egészségügyi kockázatok miatt, mivel a színezék képes volt az emberi szervezet számára toxikus anilin vegyületté alakulni (PEREZ-IBARBIA et al. 2016).

A legutóbbi évszázadban az engedélyezett mesterséges színezékek száma fokozatosan csökkent, az USA-ban például csak hét maradt a korábban használt több, mint 700 mesterséges színezék közül, és további szigorítások és korlátozások várhatók a jövőben (DOWNHAM és COLLINS, 2000; KUMARI és MEGHWAL, 2016). Az Élelmiszeradalék Szakértői Bizottság (JECFA, Joint Expert Committee on Food Additives) folyamatosan vizsgálja klinikai tesztekkel a színezékek rövid és hosszú távú allergológiai és toxikológiai hatásait (mutagenitás, karcinogenitás, genotoxicitás, citosztaticitás és citotoxicitás) (GAUTAM, 2015; SEZGIN és AYYILDIZ, 2017). A színezékek maximális elfogadható/megengedhető napi beviteli értékének (ADI) meghatározása szigorú tudományos eljárás szerint történik. Ennek során állatkísérletekkel meghatározzák azt a maximális napi mennyiséget, ami az egyed egész élete során fogyasztva sem okoz egészségügyi kockázatot, majd ezt a mennyiséget elosztják százzal, ami egy humán biztonsági faktor (FUNG et al. 2018).

Az Európai Unióban az Európai Bizottság (EC, European Commission), míg az Egyesült Államokban az FDA teszi közzé a biztonságos színezékek “pozitív listáját”, valamint az esetleges

korlátozásokat és határértékeket (GRIFFITHS, 2005; PEREZ-IBARBIA et al. 2016).

A jogi szabályozások nem teljesen egyeznek meg a különböző országokban (2. táblázat). Ez különösen a mesterséges színezékek előírásainak esetében igaz, míg az engedélyezett természetes színezékek listája majdnem azonos. Például az Alluravörös AC-t (E 129) betiltották számos EU tagállamban, míg a Fast Green FCF-t (E 143) a teljes Európai Unióban, ellentétben a Patent Blue V-vel (E 131) és Green S-sel (E 142) ami tiltott az Egyesült Államokban de engedélyezett az EU-ban (BURROWS, 2009).

2. táblázat: Az engedélyezett és a betiltott azoszínezékek listája néhány országban (YAMJALA et al. 2016)

Ország	E 102	E 110	E 121	E 122	E 123	E 124	E 129	E 151	E 154	E 155	E 180	Orange B
USA	✓	✓	✓	X	X	X	X	X	X	X	X	✓
EU	✓	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓	X
India	✓	✓	X	✓	X	✓	X	X	X	X	X	X
Kína	✓	✓	X	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	X
Japán	✓	✓	X	X	✓	X	✓	X	X	X	X	X
Ausztrália	✓	✓	X	✓	X	✓	✓	✓	X	✓	X	X

Jelmagyarázat: ✓: engedélyezett azoszínezék; X: betiltott azoszínezék

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. Jelenleg Magyarországon 42 élelmiszerszínezék engedélyezett, amit a következő táblázatban foglaltunk össze (3. táblázat). A csillaggal (*) jelölt oszlopok a színezékek eredetét mutatják.

3. táblázat: A Magyarországon engedélyezett színezékek listája az Európai Parlament és a Tanács 1333/2008/EK rendelete alapján:

E szám	A színezék elnevezése(i)	*
E 100	Kurkumin	T
E 101	a) Riboflavin b) Riboflavin- 5'- foszfát	T
E 102	Tartrazin	MSzv
E 104	Kinolinsárga, Quinoline Yellow	MSzv
E 110	Narancssárga FCF, Sunset Yellow FCF, Orange Yellow S	MSzv
E 120	Kármin(sav), kosnil, Cochinea	T
E 122	Azorubin, karmazsin	MSzv
E 123	Amarant	MSzv
E 124	Neokocin, Ponceau 4R, Kosnil vörös A	MSzv
E 127	Eritrozin	MSzv
E 129	Allurvörös AC, Allura Red AC	MSzv
E 131	Patentkék V, Patent Blue V	MSzv
E 132	Indigókármin, Indigotin	MSzv
E 133	Brilliantkék FCF, Brilliant Blue FCF	MSzv
E 140	Klorofilok és klorofilinek	T
E 141	Klorofilok és klorofilinek rézkomplexei	T
E 142	Zöld S, Green S	MSzv
E 150a	Karamell	TA
E 150b	Szulfitos karamell	TA
E 150c	Ammóniás karamell	TA
E 150d	Szulfitos-ammóniás karamell	TA
E 151	Brillantfekete BN, Fekete PN	MSzv
E 153	Növényi szén	TA
E 154	Barna FK, Brown FK	MSzv
E 155	Barna HT, Brown HT	MSzv
E 160a	a) Béta-karotin b) Vegyes karotinok	T
E 160b	Annatto, Bixin, Norbixin	T
E 160c	Paprikakivonat, kapszantin, kapszorubin	T
E 160d	Likopin	T
E 160e	Béta-apo-8'- karotinal (C30)	T
E 160f	Béta-apo-8'-karotinsav etilésztere	T
E 161b	Lutein	T
E 161g	Kantaxantin	T
E 162	Betanin; Cékjavörös kivonat	T
E 163	Antocianinok (Antociánok)	T
E 170	Kalcium-karbonát	MSzl
E 171	Titán-dioxid	MSzl
E 172	Vas-oxidok és vas-hidroxidok	MSzl
E 173	Alumínium	MSzl
E 174	Ezüst	MSzl
E 175	Arany	MSzl
E 180	Litolubin BK	MSzv

A *-gal jelölt oszlop jelmagyarázata:

T: természetes színezék, TA: természetazonos színezék,

MSzl: mesterséges szerves színezék,

MSzv: mesterséges szerves színezék

Az engedélyezett 42 színezék közül 15 használható korlátozások nélkül (*quantum satis*) (zölddel jelölve), a többi opcionálisan, pl. bizonyos meghatározott élelmiszerkategóriákhoz, vagy mennyiségi megkötésekkel használható. A kékkel jelölt színezékek maximális adagolási mennyisége egyedileg, vagy keverve más színezékekkel 300 mg/kg édesipari termékekben (cukorkák, pezsgőtabletták), kivéve az E 122, és az E 155 színezékeket, ahol ez az érték maximum 50 mg/kg. A pirossal jelölt színezékek nem használhatók édesipari termékek gyártása során.

A mesterséges színezékek számos tulajdonsága (jobb színezőképesség, szélesebb színpaletta, kémiai- és hőstabilitás, állandó minőség, versenyképes ár) lényegesen felülmúlja a természetes színezékekét, azonban a nem tisztázott fiziológiai és táplálkozási hatásuk jelentősen behatárolja az alkalmazhatóságukat (GONZÁLEZ et al. 2002; GRIFFITHS, 2016).

Az egyre szigorodó szabályozások ellenére is, a mesterséges színezékek fogyasztása többszörösére nőtt az elmúlt néhány évtizedben. Az Egyesült Államokban például a napi mesterséges színezék bevitel az egy főre jutó 12 mg/nap mennyiségről (1950), 62 mg/nap-ra (2010) emelkedett (STEVENS et al. 2015).

Napjainkban, egyre több élelmiszer előállító vállalat kezdte lecserélni a mesterséges színezékeket termékeiben a természetes alternatívákkal, hogy termékeiket “clean label”-ként (tisztá címkés, mesterséges anyag mentes) dobják piacra, összhangban azzal a trenddel, hogy a fogyasztók a mesterséges színezékek feltételezett toxikológiai veszélyei miatt egyre inkább előnyben részesítik az egészségesebb termékváltozatokat (BURROWS, 2009; SLOAN, 2011; SHAHID et al.

2013; CASSIDAY, 2017). Ebből kifolyólag az elmúlt évtizedben a természetes színezékek fogyasztása évente 10-15%-kal nőtt, ami várhatóan folytatódni fog a következő években is (CORTEZ et al. 2017). Ugyanakkor ezzel párhuzamosan a mesterséges színezékek fogyasztása szintén emelkedik, de a fogyasztás növekedése jelentősen kisebb, mint a természetes színezékeké (PARMAR és PHUTELA, 2015).

A természetes színezékek fő fejlesztési irányai a stabilitás és a színező hatás növelése, valamint a gyártási költségek csökkentése, a legnagyobb kihívás pedig az, hogy a gyártók, hogyan tudnak lépést tartani az élelmiszeripar diktálta megnövekedett igényekkel (NÁTHIA-NEVES és MEIRELES, 2018). A biotechnológiai módszerek, mint a sejt- és szövettenyészetek (PTC), az algák vagy gombák (pl. *Monascus purpureus*) egysejttenyészetei segítséget nyújthatnak a megnövekedett igények kielégítésében (WISSGOTT és BORTLIK, 1996).

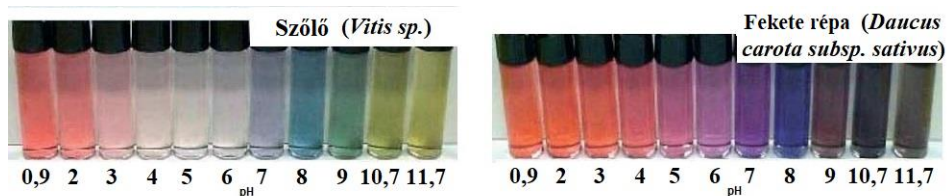
A mikro- és a nanokapszulázás jelentősen növeli a természetes színezékek stabilitását, ehhez a legígéretesebbnek tűnő polimerek a β -cyclodextrin, a pektin, a (növényi) gumi, és a denaturált fehérjék (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016; CORTEZ et al. 2017).

2.2 A vizsgálatokban felhasznált színezékek tulajdonságai

Vizsgálatainkba négy színezéket, három természetes és egy mesterséges színezéket vontuk be. A természetes színezékek közé az antocianin (szőlő kivonat, fekete répalé) (E 163), a béta-karotin (E 160a), és a betanin (E 162) tartozott, amelyek mindegyike korlátozások nélkül (*quantum satis*) használható az élelmiszeriparban. A negyedik vizsgált színezék a neokokcin (E 124) nevű szerves, mesterséges azoszínezék volt.

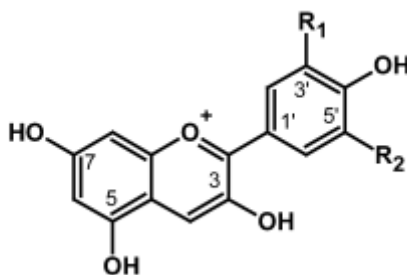
2.2.1 Antocianinok (Antociánok) (E 163)

Az antocianinok (antociánok) a legnagyobb vízdékony, természetes, növényi és különösen a zárvatermőkben előforduló színezékcsoport. Eddig, több mint 600 különböző antocianint fedeztek fel (PRIOR és WU, 2012). Az antocianinok képesek reverzibilisen megváltoztatni a molekulaszervezetüket (többszörös deprotonálódás) a pH megváltozásával (TORSKANGERPOLL és ANDERSEN, 2005; WROLSTAD és CULVER, 2012; RAKIC et al. 2015). A szerkezettől függően az antocianinok színe rózsaszín, vörös, ibolya, kék, vagy ciánkék lehet (2. ábra) (CAROCHO et al. 2015; CUI et al. 2016).



2. ábra: Szőlő (*Vitis sp.*) és fekete répa (*Daucus carota subsp. sativus*) színezék kivonatának színárnyalatváltozásai az oldat pH-jától függően (CEVALLOS-CASALS és CISNEROS-ZEVALLOS, 2004)

Az antocianinok általában két vagy három egységből tevődnek össze, úgy, mint antocianidinekből, szénhidrátokból és néha oxosavakból (acil csoportból). A természetben 17 antocianidint fedeztek fel (FRANCIS, 1992), közülük a hat leggyakoribb a cianidin, a delfinidin, a malvidin, a pelargonidin, a peonidin és a petunidin (CASTAÑEDA-OVANDO et al. 2009; COOKE et al. 2005). A leggyakoribb antocianidinek szerkezeti képletét a 3. ábra mutatja be, az abszorpciós maximumaik metanolban extrahálva, és 0,01% cc. HCl hozzáadásával a 4. táblázatban található.



3. ábra: A hat leggyakoribb antocianidin szerkezeti képlete (MORTENSEN 2006):

pelargonidin ($R_1, R_2 = H$), cianidin ($R_1 = OH, R_2 = H$),
delfinidin ($R_1, R_2 = OH$), peonidin ($R_1 = OCH_3, R_2 = H$),
petunidin ($R_1 = OCH_3, R_2 = OH$), malvidin ($R_1, R_2 = OCH_3$).

4. táblázat: A hat leggyakoribb antocianidin abszorpciós maximuma (231/2012/EU rendelet):

Antocianidin	Abszorpciós maximum (nm)
Pelargonidin	530
Peonidin	532
Cianidin	535
Malvidin	542
Petunidin	543
Delfinidin	546

Az antocianinok legfontosabb forrásai a szőlő (*Vitis vinifera*), a fekete bodza (*Sambucus nigra*), a vöröskáposzta (*Brassica oleracea convar. capitata var. rubra*), a rozella (*Hibiscus sabdariffa*), a vérnarancs (*Citrus sinensis*), a fekete berkenye (*Aronia melanocarpa*) és az édesburgonya (batáta) (*Ipomoea batatas*) (5. táblázat) (BRIDLE és TIMBERLAKE, 1997; BEYE et al. 2017).

Az antocianinokat szulfitos vagy savas vízzel, szén-dioxiddal, metanollal vagy etanollal végzett extrakcióval vonják ki ehető zöldségekből és gyümölcsökből (231/2012/EU rendelet).

5. táblázat: Néhány gyümölcs és zöldség antocianin-tartalma (WANG et al. 1997; HOMOKI et al. 2016; LI et al. 2016)

Gyümölcs/Zöldség	Antocianin-tartalom (mg/100 g)
Szőlő	30-750
Cseresznye	350-450
Málna (fekete)	214-428
Földi szeder	83-326
Kék áfonya	108-300
Meggy	109-261
Fekete ribizli	250
Tőzegáfonya	78
Málna (piros)	20-60
Szamóca	7-30
Vörös káposzta	25
Vöröshagyma	9-21
Ribizli (piros)	12-19
Alma (Scugog)	10

Az antocianinok antikarcinogén (rákellenes) hatása jól ismert tény, annak ellenére, hogy természetes antocianin források (kivonatok, keverékek) fogyasztásával az emberi vér antocianin-tartalma nem haladja meg 10^{-8} - 10^{-7} mol/l mennyiséget, ám a rosszindulatú sejtek növekedésének

gátlásához a tanulmányok szerint a 10^{-6} – 10^{-4} mol/l antocianin koncentráció szükséges (COOKE et al. 2005).

Az antocianinok stabilitása függ a kémiai szerkezetüktől, a koncentrációjuktól, a pH-tól a hőmérséklettől, a fény(kitettség)től, és az oxigén, az enzimek, a flavonoidok, a fehérjék, és a fémionok jelenlététől (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016). Stabilitásuk jelentősen növelhető bevonatképzéssel (kapszulázás) például maltodextrin felhasználásával (ZAIDEL et al. 2014).

2.2.2 *Béta-karotin (E 160a)*

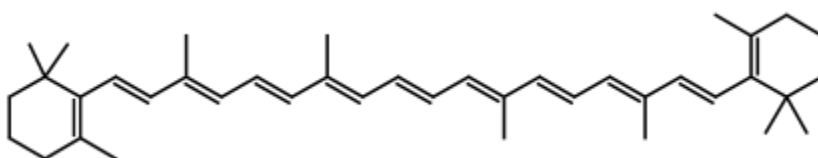
Karotinoidok az antocianinok mellett a legfontosabb és leggyakrabban használt természetes élelmiszerszínezékek (CASTAÑEDA-OVANDO et al. 2009). A természetben körülbelül 600 különböző féle karotinoidot írtak le magasabb rendű növényekben, baktériumokban, gombákban, rovarokban és madarakban (JANISZEWSKA-TURAK, 2016; SIGURDSON et al. 2017). Csak a növények, a gombák és a prokarióták képesek karotinoidokat előállítani, az állatoknak és az embereknek a táplálékokon keresztül kell bevenniük a szervezetükben (GREGOSITS, 2010; YUSUF et al. 2017; LANGI et al. 2018).

A sárga és narancssárgás gyümölcsök fő színezőanyaga az alfa és a béta-karotin (E 160a), a narancsszínű gyümölcsök béta-kriptoxantint (E 161c), a sötétzöldek és a tojássárgája luteint (E 161e) és zeaxantint (E 161h), a paradicsom pedig nagyobb mennyiségű likopént (E 160d) tartalmaz (AMORIM-CARRILHO et al. 2014). Jelentős kísérletek zajlanak a mikrobiológiai karotinoid termeléssel kapcsolatban. A

vizsgálatok három fő iránya a béta-karotin termelés *Dunaliella sp.*-vel (alga), vagy *Blakeslea trispora*-val (gomba), illetve az Asztaxantin termelés *Haematococcus pluvialis*-szal (alga) (WROLSTAD és CULVER, 2012; CARVALHO et al. 2014; RODRIGUEZ-AMAYA, 2016).

A béta-karotin az emberi szervezetben retinollá (A-vitamin) alakul át, ami esszenciális vegyület a szem (retina), a nyálkahártyák, és a bőr számára (BRABCOVÁ et al. 2013). A WHO tanulmányai alapján 190 millió fiatal és 19 millió terhes nő szenved A-vitamin hiánytól, elsősorban Afrikában és Dél-Kelet Ázsiában (WHO, 2011).

A béta-karotint ehető zöldségekből nyerik és összetételében az egyéb karotinoidok, elsősorban az alfa és a gamma-karotin mennyisége nem haladhatja meg a 3% -ot. A béta-karotin szerkezeti képletét a 4. ábra mutatja. A karotinoidok, mint például a béta-karotin, hajlamosak az élelmiszer feldolgozás és a tárolás során fellépő, a polién (többszörös kettős kötésű) láncok miatt kialakuló oxidációra, illetve a cisz-transz izomerizációra (SCOTTER, 2009; SIGURDSON et al. 2017). Az abszorpciós maximuma 453-456 nm-nél van (231/2012/EU rendelet).



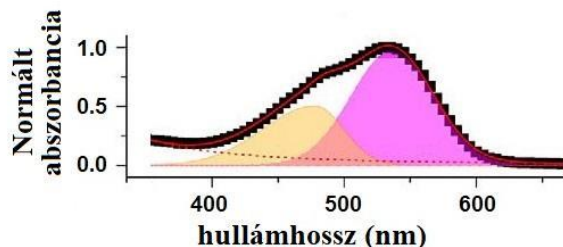
4. ábra: A béta (β) -karotin szerkezeti képlete (MORTENSEN, 2006)

2.2.3 Betanin (E 162)

A betalainok vízben oldódó természetes színezékek, melyeket nagyobb mennyiségben megtalálhatók a céklában (*Beta vulgaris*), a djulisban (*Chenopodium formosanum*), az amarántfélékben (*Amaranthaceae*), a közönséges fügekaktuszban (*Opuntia spp.*), a pitajában (*Stenocereu ssp.*) és a vörös sárkánygyümölcsben (pitahaja) (*Hylocereus polyrhizus*) (SAENZ et al. 2012; GUNESER, 2016; MARTINS et al. 2016). A betalainok két csoportra oszthatók a vörös-ibolya színű betacianinokra, és a sárgás-narancsos betaxantinokra (CAROCHO et al. 2015). A betacianinok szerkezete nem alakul át a pH változás hatására ellentétben az antocianinokkal (WROLSTAD és CULVER, 2012).

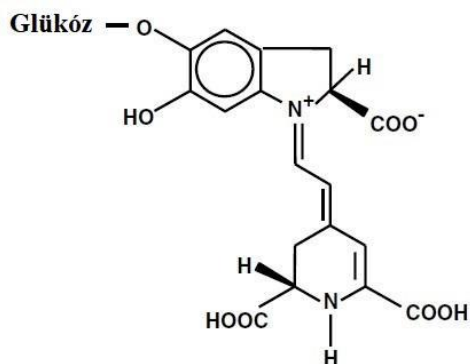
A betanin (céklavörös, E 162 színezék) leggyakoribb betacianin, amit főként cékla (*Beta vulgaris* L. var. *Rubra*) gyökeréből nyernek ki, de intenzív kutatások folynak a közönséges fügekaktusz (*Opuntia ficus-indica*) alternatív forrásként való hasznosításával kapcsolatban (DELGADO-VARGAS et al. 2000; RODRIGUEZ-AMAYA, 2016). A színezéket vagy a felaprított céklagyökér préselésével, vagy vizes extrakciójával vonják ki. A kivont színezék betanin (betacianin) tartalma 75-95 %, de kisebb mennyiségben betaxantinokat is tartalmazhat.

5-ös pH-jú vizes oldatban mérve, a betanin abszorpciós maximuma 535 nm-es hullámhossznál található (5. ábra) (231/2012/EU rendelet).



5. ábra: A kereskedelmi forgalomban kapható (dextrinnel hígított) betanin minta spektrofotometriával meghatározott abszorbanciája. A diagram alapján a színezék alkotói élesen szétválaszthatók betaxantinra (narancs) $A_{max}=478\text{nm}$ és betaninra/ izobetaninra (lila) $A_{max}=536\text{nm}$. (GONÇALVES et. al. 2012)

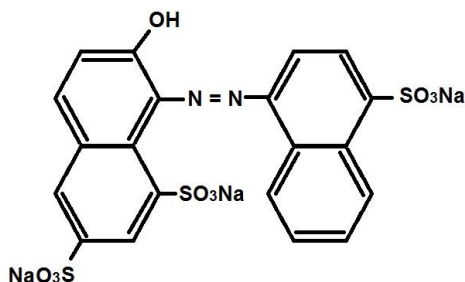
A betanint főként müzlik, jégkrémek, joghurtok, rágógumik, levesek, és szószok gyártásához használják (Európai Parlament és a Tanács 1333/2008/EK rendelete). A betanin szerkezeti képletét a 6. ábra mutatja:



6. ábra: A betanin szerkezeti képlete (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016)

2.2.4 Neokokcin (E 124)

A neokokcin (E 124) egy vörös, vízben jól oldódó mesterséges azoszínezék, ami több mint 100 különböző, például Ponceau 4R (Ponszó), Cochineal Red A, Food Red 7. Kosnil vörös néven ismert, szerkezetét a 7. ábra mutatja.



7. ábra: Neokokcin szerkezeti képlete (MINIOTI et al. 2007)

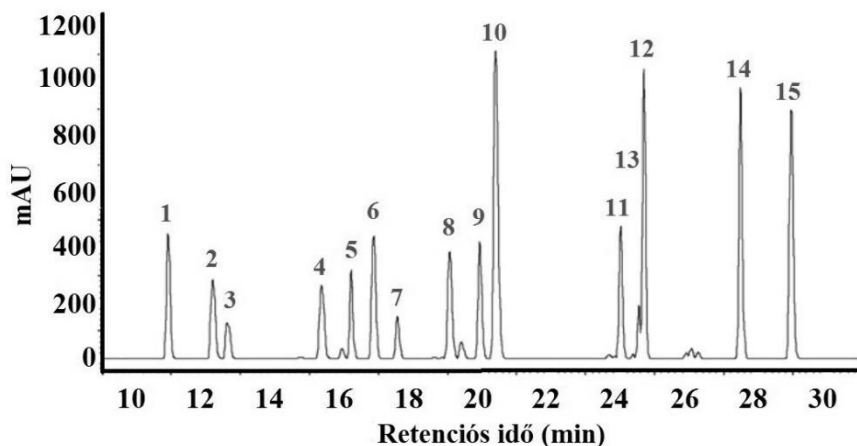
A neokokcin táplálkozás biológiai hatását intenzíven vizsgálják, több, más azoszínezékével egyetemben például a „Southampton tanulmány”-ban (McCANN et al. 2007), és az ADI értékét jelentősen csökkentették a közelmúltban. A neokokcin ADI értéke jelenleg Magyarországon 0,7 mg/testtömeg kg, de csak meghatározott élelmiszerekhez használható, míg az USA-ban, Norvégiában és Finnországban tilos élelmiszerszínezékként használni. Magyarországon a neokokcin szószokhoz, fűszerekhez, alkoholos italokhoz, üdítőkhoz, jégkrémekhez, tésztákhoz, és édesipari termékekhez, például cukorkákhoz, pezsgőtablettákhoz, süteményekhez, kekszekhez, és sós snackekhez használható (Európai Parlament és a Tanács 1333/2008/EK rendelete).

A neokokcin abszorpciós maximuma 505-508 nm-nél található (231/2012/EU rendelet; ABBEY et al. 2014; MINIOTI et al. 2007).

2.3 Élelmiszerszínezékek mennyiségi meghatározása

A HPLC (High Performance Liquid Chromatography) az élelmiszerszínezékek elválasztásának leggyakrabban használt és leginkább elterjedt analitikai módszere, köszönhetően a páratlan érzékenységének és szelektivitásának, amit a komponensek azonosításához és a mennyiségi meghatározáshoz általában UV/VIS, vagy diódasoros (DAD, photodiode array detection) detektorral kapcsolnak össze (CSAPÓ 2003; MINIOTI et al. 2007; LEE et al. 2008). A különböző HPLC-s technikák közül a fordított fázisú folyadék kromatográfia (RP-HPLC, Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography) jelenti a legjobb egyensúlyt a mérési sebesség, és annak hatékonysága között. A nagy teljesítményű ionkromatográfia (HPIC, High Performance Ion Chromatography) egy viszonylag gyors vizsgálati módszer, ahol nem szükséges bonyolult minta előkészítés, de sokkal drágább a RP-HPLC-nél (CHEN et al. 1998; GONÇALVES et al. 2012).

Az UV/VIS detektort sikeresen lehet használni egy, vagy néhány hullámhosszon, és használata optimális egy, vagy pár komponens meghatározására (GENNARO et al. 1997; GARCÍA-FALCON és SIMAL-GÁNDARA, 2005). A DAD képes a tartomány összes hullámhosszának pásztázására, ezért alkalmas módszer több (akár 40) színezék szimultán mérésére is (8. ábra) (PRADO és GODOY, 2007; MINIOTI et al. 2007; YOSHIOKA és ICHIHASHI, 2008; SHEN et al. 2014).



8. ábra: Több szerves, mesterséges színezéket tartalmazó mátrix HPLC kromatogramja. A komponenseket szimultán határozták meg HPLC-DAD-vel (MINIOTI et al. 2007)

Csúcsok jelmagyarázata: 1) E 102; 2) E 123; 3) E 132; 4) E 104 első csúcs; 5) E 124; 6) E 110; 7) E 104 második csúcs; 8) E 129; 9) E 128; 10) E 142; 11) E 122; 12) E 133; 13) E 104 harmadik csúcs; 14) E 131; 15) E 127

A HPLC-UV/VIS-t és a DAD-t számos alkalommal használták különböző mátrixokban a főbb természetes (például betanin, antocianin, és béta-karotin), vagy mesterséges színezékek mennyiségi meghatározásának szabvány, vagy referencia módszereként (6. táblázat).

6. táblázat: Az antocianin (E 163), a betanin (E 162), a béta-karotin (E 160a) és a neokokcin (E 124) mennyiségi meghatározása HPLC-vel

Vizsgált komponens	Hullám-hossz	Detektor	Mátrix	Tanulmány
E 163	520 nm	DAD	Gyümölcs	LONGO és VASAPOLLO, 2006
E 163	520 nm	DAD	Gyümölcs (juice)	LEE et al. 2008
E 163	520 nm	DAD	Gyümölcs	LIANG et al. 2011
E 163	535 nm	UV/VIS	Gyümölcs	HOMOKI et al. 2016
E 163	520 nm	DAD	Gyümölcs	LI et al. 2016
E 163	515 nm	DAD	Gabona	PEDRO et al. 2016
E 163	520 nm	DAD	Zöldség	SU et al. 2016
E 163 +E 162	530 nm	DAD	Gyümölcs	STINTZING et al. 2006
E 160a	450 nm	UV/VIS	Élelmiszer kiegészítő	BRABCOVÁ et al. 2013
E 160a	455 nm	DAD	Üdítő, Zöldség, Gumicukor	SHEN et al. 2014
E 160a	450 nm	DAD	Gyümölcs	GUIAMBA et al. 2016
E 162	536 nm	UV/VIS	Zöldség/juice	GONÇALVES et al. 2012
E 162	538 nm	DAD	Gyümölcs	GUESMI et al. 2012
E 124	520 nm	UV/VIS	Édesség	GENNARO et al. 1997
E 124	508 nm	UV/VIS	Üdítők	GARCÍA-FALCON és SIMAL-GÁNDARA, 2005
E 124	508 nm	DAD	Édességek	MINIOTI et al. 2007
E 124	525 nm	DAD	Cukorka, rágó	PRADO és GODOY, 2007
E 124	520 nm	DAD	Cukorka	YOSHIOKA és ICHIHASHI, 2008

Mivel számos élelmiszerszínezék optikai spektruma nagyon hasonló, azonosításuk (kvalifikáció) sok esetben tömegspektrometriás detektálással (pl. MS, mass detector; MS/MS) történik (LONGO és VASAPOLLO, 2006; STINTZING et al. 2006; LIANG et al. 2011; GUESMI et al. 2012; LI et al. 2016; SU et al. 2016; YAMJALA et al. 2016).

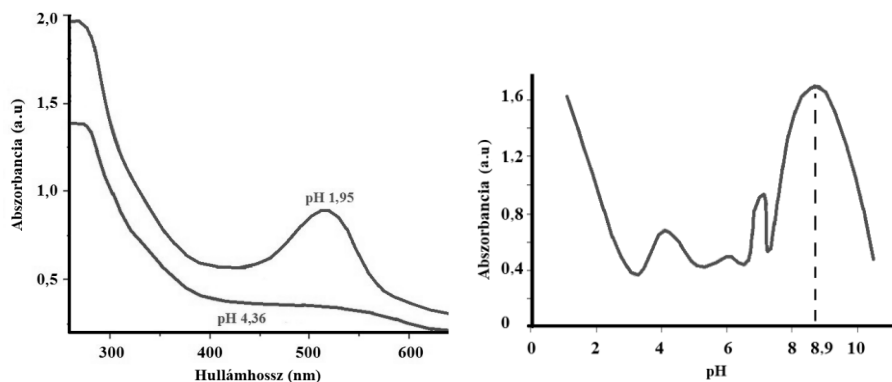
A HPLC vizsgálatok minta előkészítésére számos módszert használnak, például a folyadék-folyadék extrakciót (LLE, liquid-liquid extraction), a szilárd fázis extrakciót (SPE, solid phase extraction), vagy a szuperkritikus folyadék extrakciót (SFE, supercritical fluid extraction) (ÁVILA et al. 2011). Az extrakciós, vagy clean-up lépések elhagyása, vagy minimalizációja a vizsgálatok előtt egy lehetséges mód lehet a mintaelőkészítés lerövidítésére, és költségének csökkentésére (GARCÍA-FALCON és SIMAL-GÁNDARA, 2005; BRABCOVÁ et al. 2013).

Az UV-VIS spektrofotometria a színezéktartalom meghatározásának egy kedvelt alternatív módszere, köszönhetően a berendezés egyszerű felépítésének, az alacsonyabb költségeknek összehasonlítva a HPLC-vel, a nagy pontosságnak, és a vizsgálatok jó reprodukálhatóságának, ami még bonyolult mátrixok esetén is igaz (7. táblázat).

7. táblázat: Az antocianin (E 163), a betanin (E 162), a béta-karotin (E 160a) és a neokokcin (E 124) mennyiségi meghatározása UV-VIS spektrofotometriával

Vizsgált komponens	Hullám - hossz	pH	Mátrix	Tanulmány
E 163	530 nm; 657 nm	Nem vizsgálták	Zöldség	RABINO és MANCINELLI, 1986
E 163	520 nm; 700 nm	1,0; 4,5	Gyümölcs	LEE et al. 2005
E 163	520 nm; 700 nm	1,0; 4,5	Juice	LEE et al. 2008
E 163	520 nm; 700 nm	1,0; 4,5	Zöldség	NISHA et al. 2009
E 163	530 nm	Nem vizsgálták	Gyümölcs	DÓKA et al. 2011
E 163	520 nm; 700 nm	1,0, 4,5	Gyümölcs	OANCEA et al. 2012
E 163	525 nm	Nem vizsgálták	Virágok	MAK et al. 2013
E 163	520 nm; 700 nm	1,0, 4,5	Gyümölcs	MERCALI et al. 2013
E 163	520 nm	Nem vizsgálták	Zöldség	ASSOUS et al. 2014
E 163	524 nm; 700 nm	1,0, 4,5	Gyümölcs	MUNAWAR és JAMIL, 2014
E 163	530 nm; 657 nm	Nem vizsgálták	Zöldség	DRANCA és OROIAN, 2016
E 163	510 nm; 700 nm	1,0; 4,5	Zöldség	ZHANG et al. 2016
E 160a	450 nm	Nincs adat	Zöldség	ISLAM et al. 2016
E 160a	440 nm	Nincs adat	Gabona	RENUKA et al. 2016
E 162	535 nm	Nincs adat	Gyümölcs	OBÓN et al. 2009
E 124	507 nm	3,0	Üdítő	THANI et al. 2018

Mivel a spektrofotometriás mintákat folyékony formában (oldatként) vizsgálják, az oldatok pH-ja jelentősen befolyásolhatja a színezékek színét és következésképpen az abszorbanciájukat, különösen antocianinok esetében (9. ábra) (PEDRO et al. 2016; RABINO és MANCINELLI, 1986), ahol kémiai szerkezetük változik a pH függvényében változik.



9. ábra: Az antocianinok abszorbanciájának összehasonlítása két pH értéken - mátrix: fekete rizs (*Oryza sativa* L.) (balra), és az antocianinok abszorbanciájának pH függése egy adott hullámhosszon ($\lambda=480$ nm) – mátrix: *Sorghum bicolor* (jobbra) (PEDRO et al. 2016; DEVI et al. 2012)

A pH különbségen alapuló spektrofotometriás meghatározási módszert már az 1940-es évek óta használják. Ez az AOAC (Association of Official Analytical Chemists) által is elfogadott módszer, egy egyszerű, gyors, és kisebb költségekkel járó alternatívája a HPLC-nek (LEE et al. 2008). A módszer elve, hogy két különböző hullámhosszon (például 520 és 700 nm-en) és két különböző pH-értéken (pl. pH=1,0-en kálium-klorid puffer, és pH=4,5-en nátrium-acetát pufferrel alkalmazásával) kapott abszorbanciák különbségét használják antocianin mennyiségi meghatározására (LEE et al. 2005; NISHA et al. 2009):

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}1,0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}4,5} \quad (1)$$

ahol A_{520} és A_{700} az 520 nm-en és a 700 nm-en mért abszorbanciák.

A Rabino-Mancinelli modellben egy adott pH-n mért abszorbancia különbséget használják (RABINO és MANCINELLI, 1986):

$$A = A_{530} - 0,25 \cdot A_{657} \quad (2)$$

ahol A_{530} és A_{657} az 530 nm-en és a 657 nm-en mért abszorbanciák.

Az összes antocianin monomer tartalmat általában cianidin-3-glükozid egyenértékben szokták megadni:

$$C_{antocianin} \left[\frac{mg}{g} \right] = \frac{A \cdot M \cdot df}{\varepsilon} \cdot \frac{V}{m} \quad (3)$$

ahol A: abszorbancia, M: az antocianin monomer moláris tömege, df: hígítási faktor, ε : moláris abszorpciós koefficiens, V: a mintaoldat térfogata (ml), m: a minta mennyisége (g).

Cianidin-3 glükozid esetében $M = 449,2$ g/mol, és $\varepsilon = 26900$ l/(mol·cm). (MERCALI et al. 2013; PAPP, 2014)

A spektrofotometria csak részlegesen alkalmas több színezéket tartalmazó mátrixok színezék tartalmának meghatározására matematikai módszerek használata nélkül (YOSHIOKA és ICHIHASHI, 2008). Ha több színezőanyag vagy ezek alkotóinak spektrumai átfedik egymást, az első derivált spektrofotometria (FDS, First Derivative spectrophotometry) hasznos módszer lehet (SAYAR és ÖZDEMIR, 1998; TURAK et al. 2014), ahol az $A=f(\lambda)$ függvény helyett ennek első deriváltját használják:

$$\frac{dA}{d\lambda} = f'(\lambda) \quad (4)$$

ahol A: abszorbancia, és λ : hullámhossz.

Az első derivált értéke nullánál kezdődik és végződik, és az abszorbancia maximumánál szintén nulla értéket vesz fel.

A kromatográfiai módszerek viszonylag nagy beruházási és működtetési költségei, valamint a bonyolult mintaelőkészítés igénye

elősegítette az élelmiszerszínezékek olyan további alternatív mennyiségi és minőségi módszereinek fejlesztését, mint a

- Vékonyréteg kromatográfia (TLC, Thin Layer Chromatography)
- Kapilláris elektroforézis (CE, Capillary Electrophoresis) és a Micelláris elektrokinetikus kapilláris kromatográfia (MEKC, Micellar Electrokinetic Chromatography) (WATANABEA és TERABEB, 2000)
- Diffúz reflektometria (Diffuse Reflectometry) (SOROURADDIN és SAADATI, 2010)
- Színmérés, vagy kolorimetria (CM, Colorimetry)
- Fotoakusztikus spektrofotometria (PAS, Photoacoustic Spectroscopy)

TLC egy gyors, és egyszerű módszer a minták komponenseinek azonosítására, ami általában minimális minta előkészítést igényel (BELE és KHALE, 2011). Abban az esetben, ha a TLC-s szétválasztást spektrofotometriás analízissel (pl. UV/VIS spektrofotometriával, tömegspektroszkópiával) kombináljuk, akkor olcsó és megbízható módszert kapunk a színezékek mennyiségi vizsgálatára (SOBAŃSKA et al. 2017).

A színmérést kvantitatív elemzésre (LIANG et al. 2011; RUNGPICHAYAPICHET et al. 2015) és gyors minőségbiztosítási ellenőrző módszerként pl. a színváltozás, vagy a színstabilitás vizsgálatára is lehet használni (WROLSTAD, 2005; STINTZING et al. 2006; OBÓN et al. 2009; TAN et al. 2014).

A fotoakusztikus spektroszkópia egy direkt vizsgálati módszer, ami nem igényel semmilyen minta előkészítést. Alkalmas egy (DÓKA et al. 2005; DÓKA et al. 2011), vagy több különböző színezék szimultán (COELHO et al. 2010) meghatározására.

2.3.1 UV/VIS spektrofotometria

Az első spektrofotométerekeket az 1930-as években építették. A spektrofotometria az első kombinált UV-látható abszorpciójú spektrométer (Cary Model 11) 1947-ben történt megalkotását és piacra dobását követően vált hétköznapi módszerré a színezékek és más komponensek meghatározásában (HU et al. 1987; THOMAS, 1991).

2.3.2 Színmérés a CIELab színrendszerben

Az elektromágneses spektrum 380 nm és 780 nm közötti tartományát látható fénynek hívják (8. táblázat). A szín fiziológiai értelemben az emberi szemben a látható fény által kiváltott inger, míg pszichológiai értelemben a színinger által létrejövő érzet.

8. táblázat: A színek felosztása a 380-780 nm-es (látható) hullámhossz tartományon (IARC, 2010)

Abszorpciós hullámhossz (nm)	Szín
380-435	Ibolya
435-480	Kék
480-490	Zöldeskék
490-500	Kékeszöld
500-560	Zöld
560-580	Sárgászöld
580-595	Sárga
595-605	Narancs
605-780	Vörös

A kolorimetria az optikának a színek objektív meghatározásával és leírásával foglalkozó ága. Az ipari minőségbiztosításban a színeket hosszú

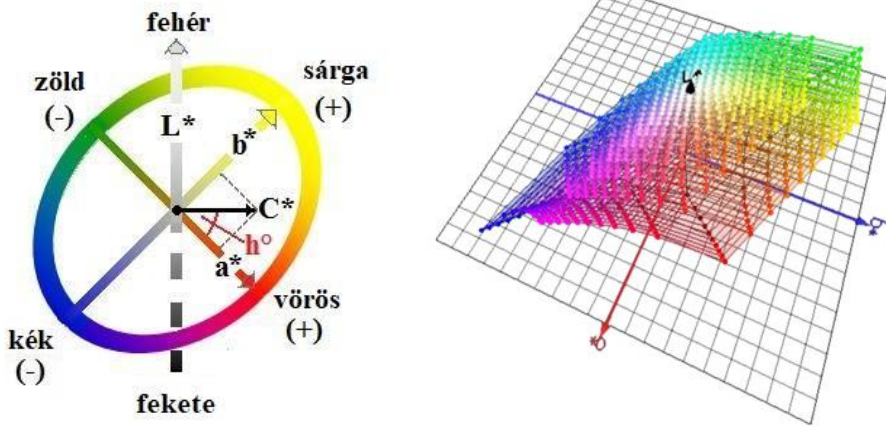
ideig csak vizuálisan ellenőrizték, de a műszeres módszerek megjelenésével párhuzamosan, a textil, és a papíriparban, majd később pedig az élelmiszeriparban is elkezdték ezt részben helyettesíteni és kiváltani az objektív színméreessel (HIRSCHLER és ZWINKELS, 2007). Az additív színkeverésben, ha különböző hullámhosszú fénysugarak jutnak az emberi szembe egyszerre vagy egymás után közvetlenül, akkor a kevert fénysugarak (színek) egy harmadik szín érzetét eredményezik. Az additív színkeverés tulajdonságait a Grassmann-törvények írják (LUKÁCS, 1982).

A kolorimetria kezdetén a színeket a három valódi alapszínű (R) a 700 nm hullámhosszú vörös (R), az 546,1 nm-es zöld (G) és a 435,8 nm-es kék (B) szín additív színkeverésének segítségével írták le (LUKÁCS, 1982; HOVORKÁNÉ, 2007).

$$\{C\} \equiv \begin{pmatrix} R \\ G \\ B \end{pmatrix} \quad (5)$$

1913-ban a színrendszerek szabványosítása céljából megalapították a Nemzetközi Világítástechnikai Bizottságot (CIE, Commission Internationale de l'Eclairage). 1931-ben a CIE, közzétette a CIE 1931, vagy másnéven CIE XYZ színrendszert, ami a látható színingerek helyett (R, G és B) az ezek átalakításával kapott virtuális vörös (X), zöld (Y) és kék (Z) alap fényingereket (tristimulus) használta (CIE, 2004).

1976-ban a CIE lecserélte a CIE XYZ-t, a CIE 1976 vagy CIELab színrendszerrel, ami jelenleg a világon a legelterjedtebb színrendszer. A CIELab rendszerben minden színpont (szín) egy 3 dimenziós koordináta rendszerben (színtérben) helyezkedik el és egy színpont pozícióját koordinátái (L^* , a^* , b^*) egyértelműen meghatározzák (10. ábra).



10. ábra: Az alap és a származtatott színindexek ábrázolása a $L^*a^*b^*$ térbeli derékszögű koordináta rendszerben (balra) és 3D-ben (jobbra)

Az L^* , a^* , b^* indexeket az alap X , Y , és Z fényingerekből (tristimulusból) a következő képletekkel számíthatjuk ki:

$$L^* = 116 \cdot (Y/Y_n)^{1/3} - 16 \quad (6)$$

$$a^* = 500 \cdot [(X/X_n)^{1/3} - (Y/Y_n)^{1/3}] \quad (7)$$

$$b^* = 200 \cdot [(Y/Y_n)^{1/3} - (Z/Z_n)^{1/3}] \quad (8)$$

, ahol X_n , Y_n és Z_n a tökéletes visszaverő felület (tükör) tristimulus értékei (MORTIMER és VARLEY, 2012).

L^* világossági index a minta világosságát fejezi ki egy 0-100-as tartományon, ahol a 0 a legsötétebb, azaz fekete, míg a 100 a legvilágosabb, azaz fehér. Az a^* (vörös-zöld index) megadja egy szín helyét a színtér zöld-vörös tengelyén, a b^* (sárga-kék index) pedig kék-sárga tengelyen, ahol a negatív a^* ($-100 \leq a^* < 0$) zöld(es), a pozitív a^* ($0 < a^* \leq 100$) piros(as), negatív b^* ($-100 \leq b^* < 0$) kék(es), a pozitív b^* ($0 < b^* \leq 100$) pedig sárgá(s) színt jelöl (LUKÁCS, 1982). További

színindexek határozhatók meg az alap színkoordinátákból. Ezek közül a legfontosabbak a króma, vagy más néven színtelítettség (C^*), Hue-index (h°_{ab}) és a teljes színinger különbség (ΔE^*).

A króma (C^*_{ab}), a színtelítettség mennyiségi mutatószáma és nagysága leírható egy adott színpontnak az azonos világossági indexű (L^*) szürke szintől ($a^*=0$, $b^*=0$) való távolságával, vagyis a Δa^* és a Δb^* befogók által meghatározott derékszögű háromszög átfogójával egyenlő, ami a 10. ábrán is látható.

$$\Delta C^* = \sqrt{\Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \quad (9)$$

A Hue-index (h°_{ab}) vagy más néven színezeti szög, a színvektor pozitív a^* féltengelyétől (vörös iránytól) való elforgatásának mértékét jelenti a CIELab színtérben (11. ábra). A színezeti szög az a^* és a b^* színkoordinátákból a következő összefüggéssel számítható ki:

$$h^{\circ}_{ab} = \arctan \frac{b^*}{a^*} \quad (10)$$

A színezeti szöggel elkerülhető a negatív értékek használata, mert értékei egy 360° -os tartományon vannak kifejezve és már 1° -os színezeti szög eltérés is érzékelhető szabad szemmel (WROLSTAD et al. 2005). A 9. táblázat a különböző Hue-indexekhez tartozó színárnyalatokat tartalmazza:

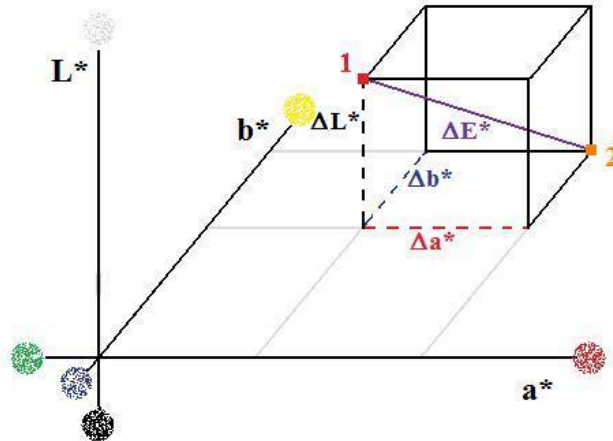
9. táblázat: A különböző Hue értékekhez tartozó színárnyalatok (WROLSTAD et al. 2005)

Hue-index (h°_{ab})	Szín
0° - 90°	Kékesvörös
90° - 180°	Sárga
180° - 270°	Zöld
270° - 360°	Kék

A teljes színinger különbség (ΔE^*) kifejezi a színtérben értelmezett két színpont közötti térbeli távolságot. Ez a gyakorlatban a ΔL^* , Δa^* és Δb^* élek által határolt téglatest testátlóját jelenti, aminek hossza a térbeli Pithagoras-tétellel (16. ábra) számítható ki (LUKÁCS, 1982; LARRAIN et al. 2008):

$$\Delta E^* = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \quad (11)$$

A ΔE^* mindig két színpontból számolható (mért színpont és referencia pont) a vizsgálatoknál referencia pontként a legvilágosabb, azaz a fehér színt választottuk ($L^*=100$; $a^*=0$; $b^*=0$).



11. ábra: A teljes színinger különbség (ΔE^*) szemléletes ábrázolása a színtérben

A teljes színinger különbség használata lehetőséget teremt az objektív (műszeres) és a szubjektív (vizuális) színmérések összehasonlítására. A vizuális különbség és a ΔE^* között összefüggéseket a 10. táblázat mutatja be:

10. táblázat: *A teljes színíngér különbség (ΔE^*) és a vizuális színérzékelés kapcsolata* (MOKRZYCKI és TATOL, 2011)

ΔE^*	0-1,0	1,0-2,0	2,0-3,5	3,5-5,0	5+
Vizuális különbség	Nem látható	Enyhén látható különbség	Látható különbség	Mérsékelt különbség	Jelentős különbség

További származtatott, új indexeket is szokás alkalmazni (MOKRZYCKI és TATOL, 2011), amiket a mért értékekből lehet definiálni. Vizsgálataink során mi is alkalmaztuk ezt a lehetőséget és a mért értékekből további jellemzőket definiáltunk, úgy mint, a $2\text{-lg}(L^*)$ -t, a $\text{lg}(a^*+100)$ -t, és a $\text{lg}(b^*+100)$ -t. A két utolsó index kiküszöböli a negatív értékek használatát, mert ha az a^* , vagy a b^* negatív értéket is vesz fel, a származtatott index nulla, vagy pozitív marad.

2.3.3 *A fotoakusztikus spektrofotometria elméleti alapjai*

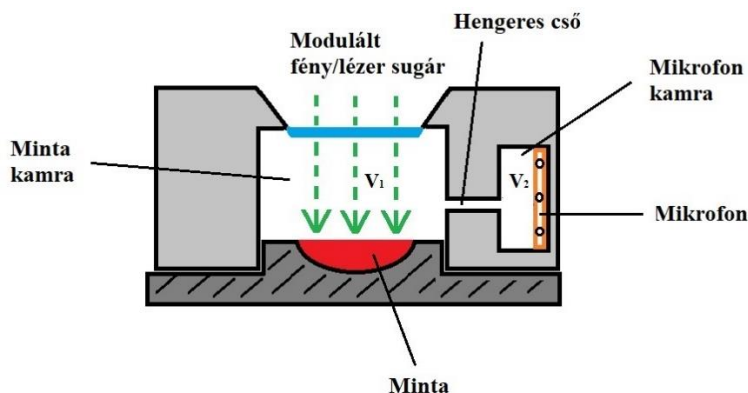
Az élelmiszervizsgálatokban a spektrofotometria, illetve a gáz és a nagyfelbontású folyadékkromatográfia (HPLC) mellett, bizonyos területeken, a fotoakusztikus spektrofotometria (PAS; Photoacoustic Spectrometry) is igen hasznos kiegészítő eljárásá fejlődött ki. A fotoakusztikus spektroszkópia több előnyös tulajdonsággal is rendelkezik a hagyományos módszerekhez képest (HPLC, spektrofotometria), például vegyszermentes, nem igényel különösebb mintaelőkészítést, vagy mintakezelést, továbbá roncsolásmentes.

A fotoakusztika felfedezése a XIX. század második felében kezdődött és Alexander Graham Bell nevéhez fűződik. Bell 1880-ban egy vékony résekkel ellátott lemezt készített a napfény szagztatására (SALMANI et al. 2016) és azt tapasztalta, hogy a szagztatott fénysugár

hatására hang keletkezett. Azt is megfigyelte, hogy a kibocsátott hang frekvenciája és a szaggatott fény frekvenciája kapcsolatban állt egymással (BELL, 1880). A Bell által feltalált eszközt fotofonnak nevezték el (HEGEDIS, 2010).

A fotoakusztikus spektroszkópiában (PAS) a mintát modulált (szaggatott) fénysugárral világítják meg. A minta abszorpciós tényezőitől függő mértékben részlegesen elnyeli (abszorbeálja) a modulált, monokromatikus sugárzást és ennek az energiának egy része nemsugárzásos folyamatok során hővé alakul. Ennek következtében a minta hőmérséklete a szaggatással azonos frekvenciáján periodikusan oszcillál. A keletkező termikus hullámok a mintát körülvevő gázt is periodikus felmelegítik (MARQUERINI et al. 1991). A lezárt kamrában a gáz tágulásának és összehúzódásának hatására nyomásváltozás (akusztikus hullám) keletkezik, ami feszültség változásként mérhető mikrofon segítségével (KANSTAD és NORDAL, 1980).

A fotoakusztikus spektroszkópia legkritikusabb pontja a megfelelő mérőcella kiválasztása és kialakítása, mivel a berendezés akusztikai jellemzőit döntően ez határozza meg (WOLFF et al. 2005). A mikrofon helyzetétől függően, a fotoakusztikus cella lehet rezonáns (Helmholtz), vagy nem-rezonáns cella. A nem-rezonáns cellában a mikrofon a mintakamrában található, míg a Helmholtz cellában (12. ábra) a minta és a mikrofonkamra külön térben helyezkedik el és vékony hengeres cső köti össze őket (KAPIL et al. 2003).



12. ábra: A fotoakusztikus cella sematikus ábrája

V_1 : a mintakamra térfogata, V_2 : a mikrofonkamra térfogata

Az ablak és a kamra falának nagyon kis fényelnyelésű (abszorpciójú) anyagból, például polírozott alumíniumból, polírozott rozsdamentes acélból, vagy kvarcüvegből kell lennie azért, hogy a minimalizálja, gyakorlatilag kiküszöbölje a háttér (koherens) zajt, ami az ablakon vagy a kamra falán elnyelődött fény következtében alakul ki. Bármilyen szennyeződés a kamra falán szintén növeli a háttérzajt, ezért a kamra tisztíthatóságára a cella tervezésénél külön hangsúlyt kell fordítani (például a fém felületek polírozásával) (FAVIER et al. 1993).

A mikrofon jelét (feszültséget) fotoakusztikus jelnek, a fotoakusztikus jelnek a beeső fény hullámhosszától való függését pedig fotoakusztikus spektrumnak nevezzük. A keletkező fotoakusztikus jel függ az elnyelt (fény) energiájától (A : abszorbanciától), a nem sugárzásos hőátadási tényezőktől (α : hődiffúziós együtthatótól, k : minta hővezetési tényezőjétől, c : a fajlagos hőkapacitásától, ρ : sűrűségtől), és a hőszugárzási tényezőktől (a körülvevő gáz minőségétől) (ROSENCWAIG és GERSHO, 1976; ROSENCWAIG, 1980; CHARLAND és LEBLAN, 1993).

$$\text{PA jel intenzitása} = f \left(\begin{array}{c} \text{abszorbeált energia,} \\ \text{nem sugárzásos hőátadási tényezők,} \\ \text{hősugárzási tényezők} \end{array} \right) \quad (12)$$

Mivel a fotoakusztikus (PA) jel egyenesen arányos az abszorbeált fény intenzitásával, a PA jel nagyságrendje, és így az érzékenysége erős sugárzó fényforrások (pl. lézerek) alkalmazásával jelentősen megnövelhető.

Az 1930-as években Viegerov végezte el az első kísérleteket a fotoakusztikus spektroszkópia analitikai módszerként való használatával kapcsolatban (HARREN et al. 2000). A fotoakusztikus jelenség független a minták halmazállapotától, ezért a fotoakusztikus spektroszkópia gáz, folyadék és szilárd halmazállapotú mintákhoz is használható (KREUZER et al. 1972; ROSENCWAIG, 1973; KANSTAD és NORDAL, 1980; HODGKINSON et al. 2005; ROUXEL et al. 2016). A PAS szintén alkalmas „bonyolult” (opak) minták vizsgálatára, mint például porokhoz, gélekhez, diszperziókhöz, vagy szuszpenziókhöz (KAPIL et al. 2003).

A fotoakusztikus rendszert a gyors mérési sebesség, a mérési pontosság jellemzi. A rendszer kiépítése, működtetése a kromatográfias módszerek költségének a töredékébe kerül. A PAS méréseket nem érintik a minta pH-jával kapcsolatos problémák (pl. deprotonálódás hatására kialakuló színváltozás), ellentétben azokkal a módszerekkel, ahol a mintákat fel kell oldani (pl. spektrofotometria).

További előnye a módszernek, hogy a fény modulációs frekvenciájának változtatásával a fotoakusztikus jelet a minta változó vastagságú felületi rétegéből kapva roncsolásmentes belső vizsgálatot végezhetünk (ROSENCWAIG és GERSHO, 1976).

2.4 A keménycukorkák és a pezsgőtabletták gyártási folyamata

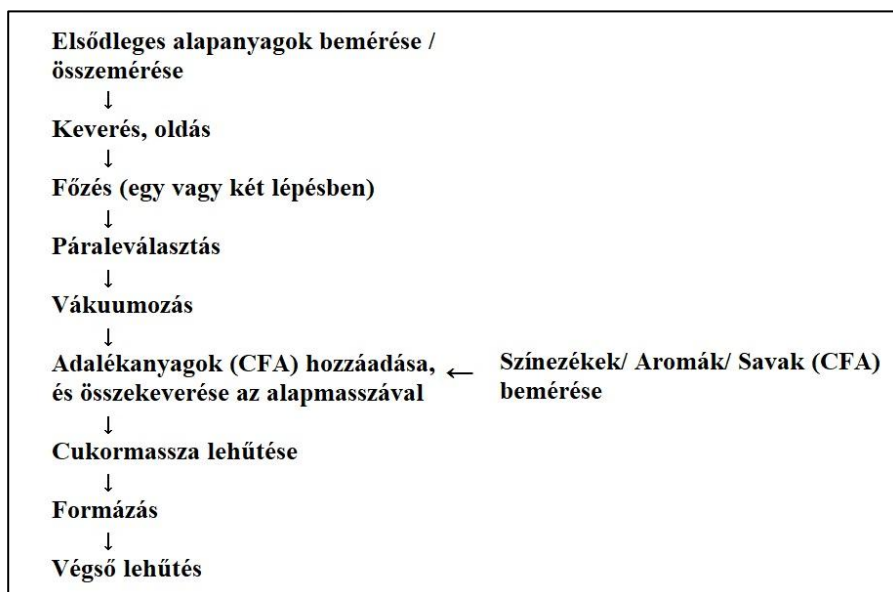
A cukoralapú keménycukorkák kemény, amorf és üvegszerű édesipari termékek, amiket glükóz szirupból, kristálycukorból (szacharóz) és vízből készítenek (FAVIER et al. 1998). Az elsődleges alapanyagok bemérését és összekeverését követően, az alapoldat cukorkoncentrációját víz eltávolításával (bepárlás) megnövelik. A főzési hőmérséklet a cukorka terméktípusától függ (11. táblázat), és alapvetően meghatározza a késztermék végső nedvességtartalmát. Keménycukorkák esetében 140-149 °C-os főzési hőmérsékletet használnak.

11. táblázat: Különböző cukorkák főzési hőmérsékletei (BROWN, 2014)

Cukorka típusa	Főzési hőmérséklet (°C)
Gumicukor	105
Fondant; Fudge	112
Nugát; Puha karamella	118
Mályvacukor	121
Toffee; Butterscotch (vajkaramella)	132
Keménycukorka	140-149
(Kemény) karamella	170

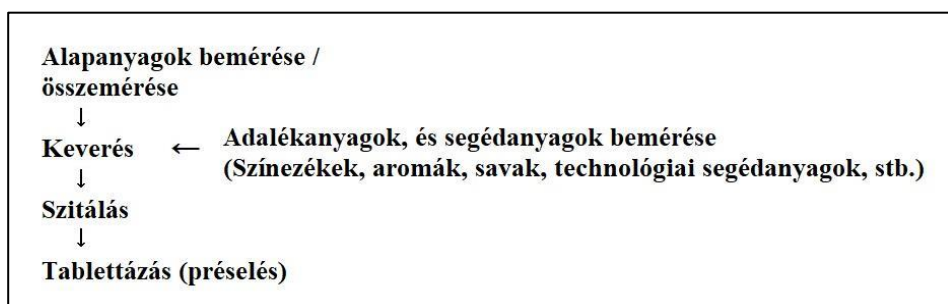
A főzés utáni vákuum használatával (vákuum nyomás: 0,2-0,3 bar) a főzési hőmérséklet csökkenthető a végső nedvességtartalom megtartásával. A színezékeket, aromákat, savakat és más receptúra specifikus összetevőket a főzési lépés után adják a még meleg és folyékony cukor alapmasszához. Ezután a masszát homogénre keverik és szabályozott hőmérsékletű asztalon, szalagon, vagy dobon, arra a hőmérsékletre hűtik, ami megfelelő a formázáshoz. A formázás történhet

préssel és vágással (rotary, vagy chain die cut), vagy depozitor segítségével majd az elkészült szemeket lehűtik a szilárdulási hőmérséklet alá (GTT, Glass Transition Temperature). Receptúrától függően a formázás előtt a termékeket húzathatják, tölthetik (por, vagy folyékony töltelékkel), illetve a kész szemek kaphatnak bevonatot (coating) (REINHEIMER et al. 2012; Magyar Élelmiszerkönyv 2-84 Édesipari termékek). A végső nedvességtartalom a keménycukorkákban a Magyar Élelmiszerkönyv szabályozása alapján 2-4 m/m%. A keménycukorkagyártás technológiai folyamatábrája a 13. ábrán látható.



13. ábra: A keménycukorka gyártás folyamatábrája

A pezsgőtabletták a tabletták speciális fajtája, amelyek vízben jól oldódnak, és oldódásuk közben széndioxid szabadul fel, ami a fogyasztók számára üdítő hatású. A tablettákat gyakran ásványi anyagokkal, vitaminokkal, fehérjékkel vagy más speciális táplálkozási igényt kielégítő komponensekkel gazdagítva gyártják. A pezsgőtabletták alapanyagait (pl. kristálycukrot), valamint adalék és segédanyagait (pl. savakat, nátrium-hidrogén karbonátot, színezékeket) bemérik, és beadagolják a kettős (csavaros) kúpos keverőbe, ahol a receptúrának megfelelően keverési ciklust alkalmaznak. A keveréket a keverés befejeződése után szítálgják, majd a port egy tablettázógépben a végleges formára préselik (PATEL et al. 2015). A teljes gyártási folyamat során kritikus a gyártási környezet (üzemcsarnok) páratartalmának szabályozása, hiszen a pezsgőtabletták kémiai szerkezete instabil és már csekély mennyiségű víz is beindíthatja a pezsgési reakciót (KHAN et al. 2014). A pezsgőtabletták gyártás folyamatát a 14. ábra mutatja be.



14. ábra: A pezsgőtabletták gyártási folyamatábrája

3. CÉLKITŰZÉSEK

Vizsgálataink fő célja az volt, hogy a termékek színezőanyag-tartalma(i), és a termék színe, vagyis a mérhető színjellemzők (a reflexiós spektrokoloriméterrel mért CIE színkoordináták, vagy a LPAS rendszerrel 473 nm, és/vagy 532 nm-en mért fotoakusztikus jel) között összefüggéseket (kalibrációs görbéket) találjunk, amiket a módszerek validálása után késztermék ellenőrzésben (minőségbiztosításban) fel lehet használni.

További célként a kapott eredményeket fel kívántuk használni ezen termékek (cukorkák, pezsgőtabletták) gyártástechnológiájának – pontosabban, a préselés előtti keverési folyamat - optimalizálására. A gyártási folyamat optimalizálásakor abból a feltevésből indultunk ki, hogy a keverés akkor tekinthető optimálisnak, ha a művelet további folytatása már az összetevők eloszlásán és így a színezőanyagok koncentrációján nem változtat.

A termékek készítése során az összetevőket a préselés előtt 45 percig keverik. Ezt az időt szeretnénk volna a lehető legrövidebbre csökkenteni. Ehhez két keverési próbagyártást készítettünk, és egy adott időponthoz tartozó keveredés mértékének a megállapításához, leállítva a keverést, a keverő különböző pontjaiból vettünk mintákat. Felhasználva a kalibrációs összefüggéseket a mintasorok optikai vizsgálatainál, következtetni lehet a termék összetételére, így a homogenitására a keverési folyamat alatt. Ilyen módon, ha a két próbagyártás keverési ideje elegendően hosszú volt, akkor meg tudjuk határozni azt az időpontot, ahonnan kezdve az összetétel lényegében nem változik, így a keverési folyamat optimalizálható.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1 A vizsgált anyagok

A szín az egyik legfontosabb tulajdonsága az élelmiszereknek, ezért adagolásuk és meghatározásuk a késztermékben kritikus a gyártási folyamat során. A legelterjedtebb minőségbiztosítási meghatározási módszerek (pl. HPLC, spektrofotometria) jelentős beruházási és működtetési költséget, illetve további járulékos berendezések beszerzését igénylik.

Doktori tanulmányaim során az édesipari termékekben található színezőanyag/ok mennyiségének analitikai meghatározását vizsgáltam meg optikai módszerek segítségével, úgymint színméréssel és fotoakusztikus spektrofotometriával (PAS), melyek viszonylag olcsó, gyors és megbízható eljárásként valós alternatívát nyújthatnak az élelmiszeriparban is. A színmérési vizsgálatok egy HunterLab MiniScan XE Plus reflexiós színmérővel, míg a fotoakusztikus mérések egy saját fejlesztésű PAS rendszerrel történtek. A kapott eredményeket összehasonlítottuk a referencia módszerként használt, párhuzamosan végzett spektrofotometriai mérésekével.

A vizsgálatokba összesen három természetes és egy mesterséges vörös, vagy sárga színezéket vontunk be: az antocianint (E 163), a béta-karotint (E 160a), a betanint (E 162) és a neokocint (E 124). A színezékek főbb tulajdonságait a 12. táblázatban soroltuk fel. A vizsgált mátrixok édesipari termékek: keménycukorka minták, és pezsgőtabletták voltak. Ezeket a mintákat a gyártási folyamatnak megfelelően készítettük, járulékos anyagok (ásványi anyagok, aromák, savak) felhasználásával.

12. táblázat: A vizsgált élelmiszerszínezékek főbb tulajdonságai

Színezékek elnevezésének magyarázata:

L-WS: folyékony, vízben oldódó (liquid, water soluble)**WSP:** por, vízben oldódó (water soluble, powder)

Színezék	E szám	Színezéktartalom (m/m%)	Halmazállapot
Antocianin (Szőlő kivonat; Chr. Hansen; AC 12 WSP)	E 163	100	por
Antocianin (Fekete répalé; Sensient; Black Carrot Juice Concentrate L-WS)	E 163	95	folyadék
Béta-karotin Naturex; Natural carotene COOF3221)	E 160a	5	folyadék
Betanin	E 162	Nincs információ	szilárd (por)
Neokokcin	E 124	Nincs információ	szilárd (por)

A vizsgált mintákat 12 csoportba soroltuk (mintacsoport A-L), ami a 13. táblázatban található.

13. táblázat: A vizsgált mintasorozatok felsorolásaMátrixok jelmagyarázata: **KC:** keménycukorka, **PT:** pezsgőtabletta

Minta (csoport)	Mátrix	Színezék				Vizsgálati módszer		
		E 163	E 160a	E 162	E 124	LPAS	CM	SP
A csoport	víz	✓	X	X	X	✓	✓	X
B csoport	víz	✓	X	X	X	✓	✓	X
C csoport	víz	X	✓	X	X	✓	✓	X
D csoport	víz	✓	X	X	X	X	X	✓
E csoport	KC	✓	X	X	X	X	✓	✓
F csoport	KC	✓	X	X	X	X	✓	✓
G csoport	KC	✓	X	X	X	✓	✓	✓
H csoport	KC	✓	✓	X	X	✓	✓	X
I csoport	PT	X	X	✓	X	✓	✓	X
J csoport	PT	X	X	X	✓	✓	✓	X
K csoport	PT	X	X	✓	X	✓	✓	X
L csoport	PT	X	X	X	✓	✓	✓	X

Az A, B és C mintáknál (14., 15. és 16. táblázat) két antocianin (szőlő kivonatot, és fekete répalé színezéket) tartalmú és egy béta-karotin tartalmú színezék (desztillált) vizes oldatából készítettünk egy-egy kalibrációs sorot, a színezéktartalom alapvető összefüggéseinek vizsgálatára. Mindhárom oldatsorból hiányzott a "cukorka mátrix". A kalibrálóoldatokat (15. ábra) színméréssel, és fotoakusztikus spektrometriával teszteltük.

14. táblázat: Antocianin (E 163) tartalmú szőlő kivonat mintaoldatok

Minta	E 163-tartalom (mg/g)	LPAS	CM	SP
A1	0,00	✓	X	X
A2	0,87	✓	X	X
A3	1,35	✓	X	X
A4	2,25	✓	X	X
A5	6,23	✓	X	X
A6	0,53	X	✓	X
A7	1,52	X	✓	X
A8	3,05	X	✓	X
A9	7,88	X	✓	X

15. táblázat: Antocianin (E 163) tartalmú fekete répalé mintaoldatok

Minta	E 163-tartalom (mg/g)	LPAS	CM	SP
B1	0,13	✓	X	X
B2	0,45	✓	X	X
B3	0,82	✓	X	X
B4	1,64	✓	X	X
B5	3,08	✓	X	X
B6	8,89	✓	X	X
B7	0,13	X	✓	X
B8	0,24	X	✓	X
B9	0,47	X	✓	X
B10	2,52	X	✓	X

16. táblázat: *Béta-karotin (E 160a) tartalmú kalibrálóoldatok*

Minta	E 160a-tartalom (mg/g)	LPAS	CM	SP
C1	0,089	✓	✓	X
C2	0,158	✓	✓	X
C3	0,232	✓	✓	X
C4	0,913	✓	✓	X



15. ábra: *Antocianin: 1) szőlő kivonat (balra), 2) fekete répalé (középen), és béta-karotin (jobbra) tartalmú kalibrálóoldatok (Minták A1-A4, B7-B10, C1-C4)*

4.2 A minták előkészítése

A LPAS és a színmérés is a direkt módszerek közé tartozik, eltérően a spektrofotometriától, vagyis nem igénylik a vizsgált komponens extrakcióját, vagy más bonyolult mintaelőkészítést.

Oldat formájú méréseknél, elsősorban az antocianin esetében, mivel az antocianin abszorbanciája függ az oldatok pH-jától, a kalibrációs oldatokat és a mintaoldatokat azonos pH-ra állítottuk be.

A mérések között a szilárd mintákat simítózáras önzáró tasakban napfénytől védve, száraz, hűvös helyen, míg a mintaoldatokat sötétített, vagy alufóliával körbetekert gömbömbikban tároltuk, és a mikrobiológiai instabilitás miatt maximum egy napon belül felhasználtuk őket.

4.2.1 Spektrofotometriás mintaelőkészítés

A referenciamódszerként használt spektrofotometriás vizsgálatok során megállapítottuk, hogy ha a színezékeket tartalmazó cukorka mintákat vízben feloldjuk, akkor a minták olajtartalma (pl. eukaliptusz olaj) miatt kolloid oldatokat kapunk, amelyek spektrofotométerrel közvetlenül nem mérhetők. A nem-valódi oldat keletkezését alátámasztja, hogy az oldatok festéktartalma fennmaradt szűréskor a 0,45 mikrométeres nylon szűrőn (VWR Syringe Filter, 25 mm átmérő, 514-0067). A kalibrációs, vagy a mintaoldatok olajtartalmát szerves oldószerekkel távolítottuk fel, amihez szükség volt a mintaelőkészítés extrakciós lépésének módszerfejlesztésére.

Összehasonlítottuk 2,1 mg/g antocianin tartalmú cukorkából készített mintaoldat extrakcióját három különböző oldószerral (DCM, hexán, CTC). Az extrakciós módszerek részleteit a 17. táblázatban foglaltuk össze.

A spektrofotometriás vizsgálatok mintaelőkészítése során a mintaoldatokból 20-20 ml-t bemértünk 25 ml-es sötét fiolákba, majd hozzáadtunk 5-5 ml szén-tetrakloridot (CTC) (Merck), diklórmétánt (DCM), vagy hexánt, az extrakciós módszertől függően (17. táblázat).

A színezékek tartalmazó vizes oldatok (18.-19. táblázat) 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 - ami DCM, és CTC esetében a felső, hexánnál pedig az alsó fázis volt - abszorbanciáját 520 nm-en mértük spektrofotométerrel, vagy felvettük a spektrumot a 380-700 nm-es tartományon.

17. táblázat: A spektrofotometriás mintaelőkészítések során használt extrakciós módszerek

extrakciós módszer	oldószer	extrakció (manuális rázás, s)	centrifugálás, (min, rpm)
A	DCM	60	4, 2000
B	Hexán	60	4, 2000
C	CTC	60	4, 2000
D	CTC	60	15, 2000

18. táblázat: Antocianin tartalmú mintasor különböző oldószerekkel való extrakciók tesztelésére (a mintaelőkészítések fejlesztésére)

SP mintaelőkészítés: D1-D12 minták: „A” extrakciós módszer,
D13-D20 minták: „A”, „B”, és „C” extrakciós módszerek

Minta	E 163-tartalom (mg/ml)	LPAS	CM	SP
D1	0,048	X	X	✓
D2	0,095	X	X	✓
D3	0,190	X	X	✓
D4	0,380	X	X	✓
D5	0,760	X	X	✓
D6	1,140	X	X	✓
D7	1,521	X	X	✓
D8	0,000	X	X	✓
D9	0,190	X	X	✓
D10	0,380	X	X	✓
D11	0,760	X	X	✓
D12	1,140	X	X	✓
D13	0,048	X	X	✓
D14	0,095	X	X	✓
D15	0,190	X	X	✓
D16	0,380	X	X	✓
D17	0,760	X	X	✓
D18	1,140	X	X	✓
D19	1,521	X	X	✓

19. táblázat: Antocianin tartalmú mintasor a spektrofotometriás mintaelőkészítések fejlesztésére

SP mintaelőkészítés: „C” extrakciós módszer

Minta	E 163-tartalom (mg/ml)	LPAS	CM	SP
E1	0,108	X	✓	✓
E2	0,217	X	✓	✓
E3	0,434	X	✓	✓
E4	0,867	X	✓	✓
E5	1,735	X	✓	✓
E6	2,602	X	✓	✓
E7	3,469	X	✓	✓
E8	0,000	X	✓	✓
E9	0,217	X	✓	✓
E10	0,434	X	✓	✓
E11	0,867	X	✓	✓
E12	1,301	X	✓	✓
E13	1,735	X	✓	✓
E14	2,168	X	✓	✓
E15	2,602	X	✓	✓

4.2.2 Keménycukorka minták és előkészítésük

Az F és G mintasorok (20. és 21. táblázat) készítésekor a kereskedelmi forgalomban kapható antocianin (szőlőkivonat, Chr. Hansen; AC 12 WSP) tartalmú keménycukorkák színezék tartalmát határoztuk meg oldat és szilárd formában. A késztermék oldott állapotban történő spektrofotometriás, és színmérési vizsgálatihoz hat kalibráló mintaoldatot (mintasorozatot) készítettünk vakoldatból (színezékmentes desztillált vízben feloldott cukorkából és citromsavból) és antocianin (Chr. Hansen; AC 12 WSP) addíciójával a következő koncentrációkkal: 0,149, 0,297, 0,594, 1,188, 1,782 és 2,376 mg/ml (F1-F6 minták).

A mintaoldatokat kereskedelmi forgalomban kapható, magyar gyártó által készített antocianin (szőlőkivonat, Chr. Hansen; AC 12 WSP) tartalmú keménycukorkából készítettük. A késztermék címkéje alapján 2,1 mg/g antocianin színezéket tartalmazott. A négy szilárd mintából (F7-F10 minták) $21,1 \pm 1$ m/m%-os oldatokat készítettünk, majd a spektrofotometriás mérések előkészítése során a „D” extrakciót használtuk. Minden oldat pH-ját $2,8 \pm 0,1$ -re állítottuk be citromsav oldattal.

20. táblázat: Antocianin tartalmú szilárd keménycukorka mintasor

SP mintaelőkészítés: „D” extrakciós módszer

Minta	E 163-tartalom (mg/ml)	LPAS	CM	SP
F1	0,149	X	✓	✓
F2	0,297	X	✓	✓
F3	0,594	X	✓	✓
F4	1,188	X	✓	✓
F5	1,782	X	✓	✓
F6	2,376	X	✓	✓
Minta	E 163-tartalom (mg/g)	LPAS	CM	SP
F7-F10	2,1	X	✓	✓

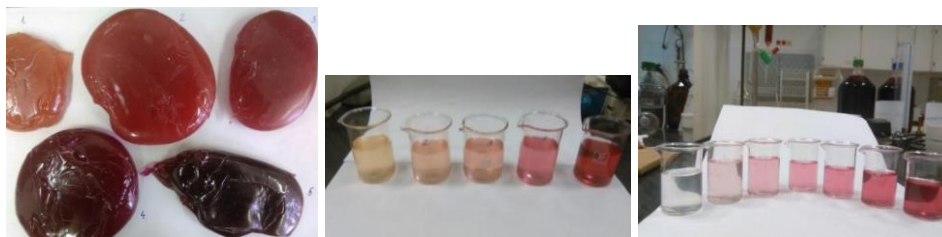
A szilárd állapotban történő késztermék vizsgálatokhoz öt szilárd, eltérő antocianin tartalmú cukorka mintát (kalibrációs mintasort) készítettünk az ipari eljárásnak megfelelően (G7-G11 minták). Az antocianin tartalmú mintasor glükózszirup, kristálycukor, és víz felhasználásával, és a cukoroldat bepárlásával történt. A még meleg, de már megfelelő állagú cukoroldathoz citromsavat, aromát, és a mintákhoz eltérő mennyiségű antocianint adtunk, majd az alapanyagokat homogénre kevertük és lehűtöttük. A kalibráló oldatokhoz (G1-G6 minták) vakmintát és antocianin színezéket adtunk, illetve citromsavval állítottuk be a pH-t,

melyek antocianin-tartalma 0,135, 0,269, 0,404, 0,539, 0,808 és 1,078 mg/ml volt. A folyadék formában történő méréshez a G7-G11 keménycukorka mintákból 20,2 m/m%-os oldatokat készítettünk. A kalibráló és a mintaoldatok pH-ja $2,33 \pm 0,09$ volt. A minták színét oldatként spektrofotometriával és színméréssel, míg szilárd formában, feloldás nélkül (egészben, és összetörve) színméréssel, és fotoakusztikus spektrometriával vizsgáltuk (16. ábra). A spektrofotometriás mintaelőkészítés során a „D” típusú extrakciót használtuk.

A G12-G14 minták 2,1 mg/g elméleti antocianin (szőlőkivonat) tartalmú kereskedelmi forgalomban kapható keménycukorka minták voltak, amiket dörzsmozsárban történő összetörést követően színméréssel, és fotoakusztikus spektrometriával vizsgáltunk meg.

21. táblázat: Antocianin (E 163) tartalmú szilárd keménycukorka mintasorozat (G7-G11), és a kalibrálóoldatai (G1-G6), SP mintaelőkészítés: „D” extrakciós módszer

Minta	E 163-tartalom (mg/ml)	LPAS	CM	SP
G1	0,135	X	✓	✓
G2	0,269	X	✓	✓
G3	0,404	X	✓	✓
G4	0,539	X	✓	✓
G5	0,808	X	✓	✓
G6	1,078	X	✓	✓
Minta	E 163-tartalom (mg/g)	LPAS	CM	SP
G7	0,000 (vakminta)	✓	✓	✓
G8	0,481	✓	✓	✓
G9	0,937	✓	✓	✓
G10	2,001	✓	✓	✓
G11	5,695	✓	✓	✓
G12-G14	2,1	✓	✓	X



16. ábra: A szilárd, eltérő antocianin tartalmú cukorka mintasor, az ebből feloldás után készített mintaoldatok (középen), és a mennyiségi meghatározáshoz készített antocianin tartalmú kalibrációsor (jobbra)(Minta G7-G11, illetve G1-G6)

Tíz antocianint és béta-karotint tartalmazó kalibrációs mintát (H1-H10 minták) készítettünk a fotoakusztikus és színmérési vizsgálatokhoz (22. táblázat).

A minták (17. ábra) az ipari gyakorlatnak megfelelően készültek glükózsirup, kristálycukor és víz felhasználásával. A gyártás során a cukormasszát 143 °C-ra főztük fel a cukorkagyártó gép gözzel fűtött csőspiráljában. A forró anyag ezután egy atmoszférikus nyomású tartályba került, ahol a képződött pára eltávozott. Ezután a massa gravitációs módon egy tűs szelepen keresztül egy második tartályba került, ahol vákuumszivattyú segítségével 0,213 bar nyomást állítottunk be, ezzel további pára eltávolítása vált lehetővé. A főzés után a meleg, és még „folyékony” cukormasszához azonos mennyiségű citromsavat (2,6 mg/g) és aromát, valamint mintánként eltérő mennyiségű színezéket adtunk. A minták homogénre keverése és megszilárdítása 20 °C-os hőmérsékletű hidegasztalon történt.

Az elkészített mintákat két sorozatra oszthatjuk. Az első sorozat (H10 és H5-9 minták) csak antocianin színezéket (antocianin-tartalom:

100%) 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 (H7 és H1-4 minták) antocianint (antocianin-tartalom: 100%) és béta-karotint (béta-karotin-tartalom: 5%) is tartalmazott. Az antocianin mennyisége ebben az öt mintában fix ($9,50 \pm 1,20$ mg/g) volt, 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. A mintákat szilárd formában egészben és por formában vizsgáltunk színméréssel, valamint por formában LPAS-val. Ehhez nem volt szükség semmilyen speciális mintaelőkészítésre, a mintákat dörzsmozsárban finom porrá törtük össze.

22. táblázat: A béta-karotin (E 160a) és antocianin (E 163) tartalmú keménycukorka mintasorozat

Minta	E 163-tartalom (mg/g)	E 160a tartalom (mg/g)	LPAS	CM	SP
H1	9,65	0,16	✓	✓	X
H2	9,06	0,22	✓	✓	X
H3	10,10	0,37	✓	✓	X
H4	8,42	0,42	✓	✓	X
H5	5,06	0,00	✓	✓	X
H6	8,14	0,00	✓	✓	X
H7	10,65	0,00	✓	✓	X
H8	14,75	0,00	✓	✓	X
H9	17,42	0,00	✓	✓	X
H10	0,00	0,00	✓	✓	X



17. ábra: A H9 (balra) antocianint és béta-karotint tartalmazó és a H10 (jobbra) vak, sem antocianint sem béta-karotint nem tartalmazó keménycukorka minta

4.2.3 Pezsgőtabletta minták és előkészítésük

Pezsgőtabletta minták vizsgálatához két - egyrészt betanint, másrészt neokocint tartalmazó - kalibráló porminta sorozatot használtunk. Mindkét mintasorozat a színezékek mellett vitaminokat, ásványi sókat és egyéb komponenseket is tartalmazott. A színezékek kémiaiilag nem kötődtek az említett komponensekhez, csak fizikai keverés történt, mint ahogy a késztermékekben is. A betanint tartalmazó porminták (I1-I6 minták) színezéktartalma 10, 20, 30, 40, 50 és 60 mg/g volt (23. táblázat), a neokocint tartalmazó mintasor (J1-J6 minták) pedig 0,05, 0,10, 0,15, 0,20, 0,30, 0,40 és 0,50 mg/g-os mintákból állt (24. táblázat). Mindkét mintasorozaton három-három párhuzamos, független mérést hajtottunk végre színméréssel. A fotoakusztikus méréseknél minimum három, de helyenként hat, illetve tíz mérést is végeztünk a szórások ellenőrzése miatt.

23. táblázat: Por formájú betanin (E 162) tartalmú mintasorozat

Minta	E 162-tartalom (mg/g)	LPAS	CM	SP
I1	10	✓	✓	X
I2	20	✓	✓	X
I3	30	✓	✓	X
I4	40	✓	✓	X
I5	50	✓	✓	X
I6	60	✓	✓	X

24. táblázat: Por formájú neokocin (E 124) tartalmú mintasorozat

Minta	E 124-tartalom (mg/g)	LPAS	CM	SP
J1	0,01	✓	✓	X
J2	0,05	✓	✓	X
J3	0,10	✓	✓	X
J4	0,20	✓	✓	X
J5	0,30	✓	✓	X
J6	0,50	✓	✓	X

4.2.4 Keverési folyamatok anyagának és módszerének bemutatása

A keverési folyamatok vizsgálatát két próbagyártásból származó mintasorozaton végeztük el. Ez azt jelenti, hogy a Pez Production Europe Kft. gyártóüzemében a termékek gyártása során az egyes komponenseket az előírt mennyiségben, nagy tételben egy kúpos keverőbe öntik, majd ezt követően 45 percig keverik. Egy adott időponthoz tartozó keveredés mértékének a megállapításához, leállítva a keverést, a keverő különböző pontjaiból vettünk mintákat. Az egyik mintasorozat (K1-K7 minták) a 30 mg/g-os betanin (25. táblázat), a másik (L1-L8 minták) pedig a 0,50 mg/g-os neokocin tartalmú (26. táblázat) pezsgőtabletták gyártási folyamatából (keveréséből) származott. A mintákat betanin próbagyártásából 1, 3, 6, 10, 15, 20 és 25, a neokocinnál pedig 1, 3, 6, 10, 15, 18, 20 és 25 percnyi

keverés után vettünk. A próbagyártásokból származó mintákon 3-3 párhuzamos színmerést, illetve fotoakusztikus mérést végeztünk.

25. táblázat: A keverési próbagyártásból származó betanin (E 162) tartalmú por alakú mintasorozat

Minta	E 162-tartalom (mg/g)	Keverési idő (min)	LPAS	CM	SP
K1	30	1	✓	✓	X
K2	30	3	✓	✓	X
K3	30	6	✓	✓	X
K4	30	10	✓	✓	X
K5	30	15	✓	✓	X
K6	30	20	✓	✓	X
K7	30	25	✓	✓	X

26. táblázat: A keverési próbagyártásból származó neokocin (E 124) tartalmú por alakú mintasorozat

Minta	E 124-tartalom (mg/g)	Keverési idő (min)	LPAS	CM	SP
L1	0,50	1	✓	✓	X
L2	0,50	3	✓	✓	X
L3	0,50	6	✓	✓	X
L4	0,50	10	✓	✓	X
L5	0,50	15	✓	✓	X
L6	0,50	18	✓	✓	X
L7	0,50	20	✓	✓	X
L8	0,50	25	✓	✓	X

4.3. Vizsgálatokhoz használt műszerek

4.3.1 Merck Spectroquant Pharo 100 UV-VIS spektrofotométer

Vizsgálatainkhoz egy Merck Spectroquant Pharo 100 UV-VIS spektrofotométert használtunk, amivel 4 nm-es spektrális felbontással mértük a 380-700 nm közötti spektrumtartományt. A spektrofotométer fényforrása egy wolfram (W) izzó volt, ami alkalmas teszi a készüléket a 320 és 1100 nm közötti hullámtartomány spektrum vizsgálatára is.

A spektrofotometriás vizsgálatok előtt szükség van a vizsgált komponensek elkülönítése. Ennek a részletes leírása a 4.2.1-es fejezetben található. Az antocianinok mennyiségi meghatározása során a minták abszorbanciájának kiszámítása a Rabino-Mancinelli módszer szerint történt (RABINO és MANCINELLI, 1986), amit a 2.3-as fejezetben mutattunk be.

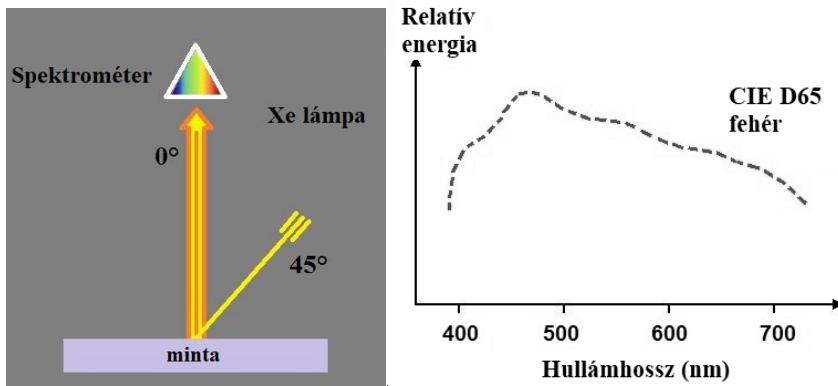
4.3.2 HunterLab MiniScan XE Plus reflexiós spektrokoloriméter

A HunterLab MiniScan XE Plus típusú hordozható reflexiós színmérő készüléket használtuk a színekoordináták meghatározásához (18. ábra).



18. ábra: A vizsgálatok során használt HunterLab MiniScan XE Plus típusú reflexiós spektrokoloriméter

A CIE ajánlásokat tett a fényforrások standardizálására és a mérőgeometriára. Mérőgeometriának a vizsgált minta felületének megvilágítási szögét, valamint az észlelés irányát nevezzük együttesen (CIE, 2004). A méréseket CIE D65-ös xenonlámpa (Xe) megvilágítással és szabványos 45/0°-os mérőgeometriával végeztük (19. ábra). Ez az jelenti, hogy a mintát 45°-os szögben világítjuk meg és a vizsgált minta felületéről a 0°-os szögben, vagyis a merőlegesen visszaverődő fényt analizáljuk.



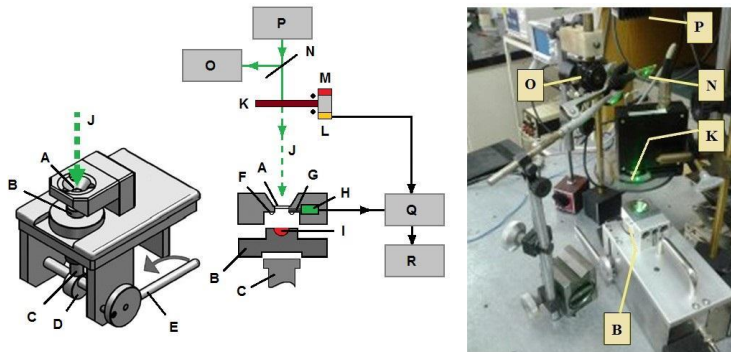
19. ábra: A MiniScan XE Plus (HunterLab) 45/0°-os mérési geometriájának sematikus ábrája (balra) és a CIE D65 jelzésű fényforrás relatív spektrális energia eloszlása (jobbra)

A készüléket a mérési sorozat megkezdése előtt a gyártó által hitelesített fekete, illetve fehér etalonokkal (lemezekkel) kalibráltuk. A 2,5 inches (6,35 cm) henger alakú kvarcüveg mintatartót mintatartó edényt kb. 0,5 cm vastagon töltöttük fel pormintával, vagy mintaoldattal, majd a minták tetejére egy fényvisszaverő, fehér színű kör alakú lemezt helyeztünk. A mérések alatt a külső fényt ki kellett zárni, ezért egy fekete burkolóval letakartuk a mintatartót.

A színmérő készülék a különböző szabványok által definiált CIE színekoordinátákat (L^* , a^* , b^* , C^* , h° , X , Y , Z) közvetlenül meghatározta, illetve alkalmas volt arra, hogy a vizsgált minta reflexiós spektrumát felrajzolja a 400-700 nm-es látható színtartományban 10 nm-es felbontásban.

4.3.3 Saját fejlesztésű fotoakusztikus spektrométer (LPAS)

A 20. ábra mutatja az általunk használt egyedi építésű PAS rendszer sematikus elrendezését.



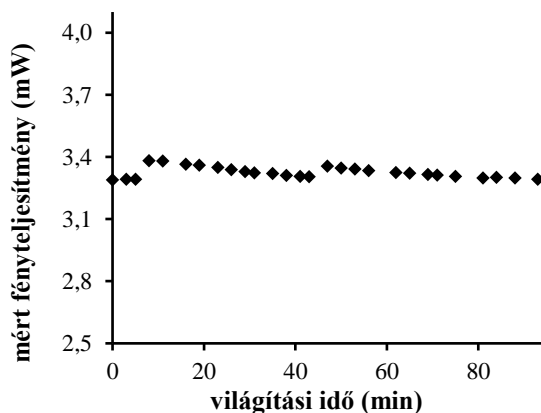
20. ábra: A vizsgálatok során használt fotoakusztikus rendszer sematikus ábrája (balra) és a fotoakusztikus spektrométer a valóságban (jobbra)

(DÓKA et al. 2011)

A: kvarcüveg ablak; B: mintatartó; C: fém tengely; D: excentrikus kerék; E: mintatartó emelőkarja; F: O - gyűrű; G: kapilláris (hengeres) cső; H: mikrofon; I: minta; J: modulált (szaggatott) fénysugár; K: mechanikai chopper (modulátor); L: fotodióda; M: LED; N: nyalábosztó; O: fénytéljesítmény mérő (power meter); P: fényforrás*; Q: lock-in erősítő; R: számítógép
*PAS fényforrása: Xenon lámpa monokromátorral, LPAS fényforrása: dióda lézer pointer

A hagyományos PAS vizsgálatokhoz xenon (Xe) lámpát (1000W, Oriel Technology), a lézeres PAS vizsgálatokhoz (LPAS, laser photoacoustic spectrometry) pedig két különböző - egy kék (473 nm, 50mW, 47-63 Hz, Changchun New Industries Optoelectronics, MBL-III-473-50), és egy zöld színű (532 nm, 30 mW, Roitner Laser Technik GmbH.) - diódalézert használtunk. A xenonlámpa intenzív fényforrással (lézer) való kiváltásának előnye az, hogy a fotoakusztikus jel, és így a

rendszer jel/zaj viszonya jelentősen növelhető. A 532 nm-es dióda lézer pointer névleges teljesítménye 30mW (<400mA) volt, de ezt a valóságban 33,0 – 34,4 mW-nak (átlagosan 33,5 mW) mértük. A kibocsátott fény stabilitása $\pm 2,37\%$ volt, amit a saját vizsgálatainkkal is megerősítettük. A beérkező fény stabilitásának ellenőrzésére a modulálás előtt körülbelül a fénysugár 10%-át ráirányítottuk egy üveglappal (nyalábosztóval) a fény teljesítménymérőre (Newport Power Meter 2935T-C). Az 532 nm-es lézer stabilitását 90 percig mértük (21. ábra), és az eredmények alapján a lézer teljesítményét gyakorlatilag állandónak tekinthetjük, hiszen a relatív szórás 0,81% volt (átlagos fényteljesítmény a Newport fényteljesítmény mérővel mérve 3,325 mW).



21. ábra: Az 532 nm-es lézer fény kibocsátási teljesítményének időbeli stabilitása.

Monokromátort (Jobin-Yvon, H-10, 16 nm-es spektrális felbontás) csak a hagyományos PAS rendszerben a Xe lámpához használtunk, hiszen a LPAS-nál használt lézer fix, monokromatikus sugárzást bocsát ki. A monokromatikus Xe lámpafényt, vagy a lézerfény nyalábot egy mechanikus fénymodulátorral (chopper) szaggattuk meg (HMS Light Beam Chopper 220). A fényszaggatás frekvenciája 17, vagy 23 Hz volt.

Az általunk használt fotoakusztikus rendszerben a mechanikailag szaggatott fénysugár egy 12,7 mm átmérőjű kvarcüveg ablakon át jutott be a fotoakusztikus cellába. A mérésekhez egy hengeres 50 mm átmérőjű és 20 mm magasságú polírozott acél mintatartó kamrát használtunk, amelynek felső részén a minták számára egy 5 mm mély és 10 mm átmérőjű félgömb volt kiképezve. A mintatartó félgömb alakú mélyedésének feltöltésére egészen kevés anyagmennyiség (kb. $0,25 \text{ cm}^3$) is elegendő volt. A mintatartó peremét egy excenter tengely mechanikusan egy tömítő O gyűrűhöz nyomta, úgy, hogy a mintatartó és a kamra ablaka között egy 2 mm magas teljesen zárt üreg maradt, ami mintakamra légtérét adta. A kamra miniaturizálása ($\sim 1\text{-}2 \text{ cm}^3$) javítja a PA rendszer jel/zaj viszonyát, hiszen a fotoakusztikus jel nagysága fordítottan arányos a fotoakusztikus cella (kamra), vagyis a mintát körülvevő levegő térfogatával (ZHAO et al. 2011, STARECKI és GERAS, 2014).

A mintakamrát egy 3 mm hosszú és $300 \mu\text{m}$ belső átmérőjű kapillárison keresztül kapcsoltuk össze egy miniatűr ($4,2\text{mm}\times 4,75\text{mm}$) mikrofonnal, ahová (Sennheiser KE 4-211-2). A mikrofon tápfeszültségét minielem (AAA) szolgáltatatta, így a fotoakusztikus cella független volt a hálózati feszültség ingadozásaitól. Mikrofon érzékenysége 10 mV/Pa volt 1000 Hz -en.

A mikrofonból származó jelet (fotoakusztikus jelet) egy kétcsatornás fázisérzékeny erősítő (lock-in) (Stanford SR530) dolgozta fel. A lock-in erősítő viszonylag nagy háttérzajjal terhelt mért bemeneti jelből is ki tudja szűrni a zajkomponenseket a modulált jel demodulálásával, jó jel/ zaj viszonyú eredményeket adva (HOFMANN et al. 2012), ha ismert a mérendő jel frekvenciája. A lock-in erősítőt soros

porton (RS-232) keresztül számítógéppel kötöttük össze, ami a mérést vezérelte, illetve az adatgyűjtést, majd ennek feldolgozását végezte.

A xenonlámpa teljesítménykülönbségeinek kiküszöbölésére a minta fotoakusztikus jelét normáltuk a fekete, erősen abszorbeáló felületen (szén) kapott jelre. A két jel hányadosát mértékegység nélkül (a. u., *arbitrary units*) fejeztük ki.

Minden vizsgálatnál három egymástól független párhuzamos mérést végeztünk, ahol egy mérés eredményének a lock-in erősítő 256 kiolvasásának átlagát vettük, és a végső eredmény a három egymástól független mérés átlaga volt.

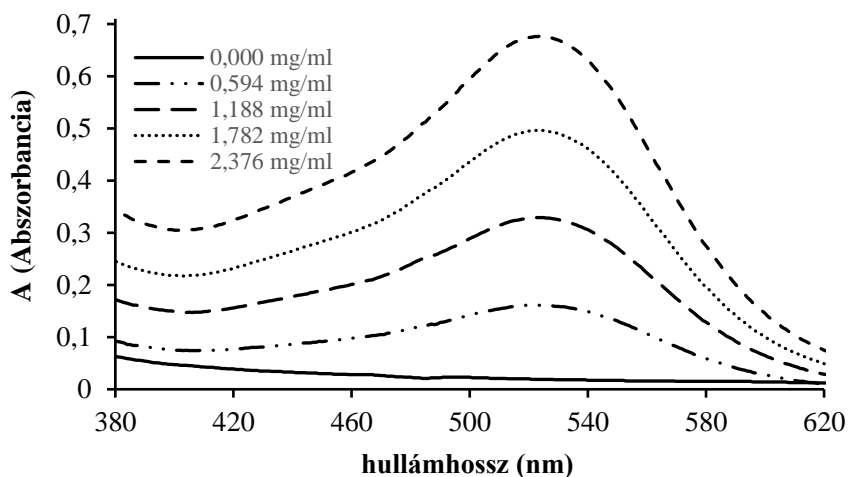
A színezékek kimutatási határát (LOD, limit of detection), úgy határoztuk meg, hogy a (színezéket nem tartalmazó) vakminta, vagy a kalibráló sorozat legkisebb koncentrációjú oldatának háromszoros szórását elosztottuk a kalibrációs egyenesek meredekségével.

5. Eredmények és értékelésük

5.1 Az antocianin tartalmú minták vizsgálatának eredményei

5.1.1 Az antocianin tartalmú minták spektrofotometriás és színmérési eredményei

Első lépésként meghatároztuk a kalibráló oldatok spektrumát spektrofotométerrel a 380-700 nm-es hullámhossz-tartományban. Az 520-530 nm-es tartományon az antocianin abszorbanciájának egy viszonylag széles maximuma volt (az abszolút maximum 525 nm-nél volt), ahogy az a 22. ábrán látható, hasonlóképpen, mint ahogy RAKIC et al. (2015) publikálta.



22. ábra: Antocianin tartalmú kalibrálóoldatok abszorbanciája a hullámhossz függvényében (minták: F1, F3-F7; pH 2,8±0,1)

A használt spektrofotometriás vizsgálatok mintaelőkészítése során összehasonlított három oldószer közül a legjobb visszanyerésű (93,2%) a szén-tetrakloridos (CTC) extrakció volt. Hexánnal közel hasonló

visszanyerést kaptunk, de az eredmény szórása (2,61%) nagyobb volt, mint a szén-tetrakloridos (1,84%) vizsgálaté. Ezért oldószerként a további vizsgálatokhoz a szén-tetrakloridot választottuk. Az összehasonlítás eredményeit a 27. táblázat mutatja.

27. táblázat: *Különböző oldószerrel extrahált mintaoldatok spektrofotometriás mérési eredményei (elméleti színezéktartalom: 2,1 mg/g cukorka) (minták: D12-D20, $\lambda=520\text{nm}$)*

Extrakciós módszer	oldószer	E 163-tartalom (mg/g)	Visszanyerés (%)
„A” extrakció	DCM	1,892±0,054	90,1%
„B” extrakció	Hexán	1,955±0,051	93,1%
„C” extrakció	CTC	1,958±0,036	93,2%

Következő lépésként a centrifugálás módosításával az elválasztást akartuk javítani. Ehhez a keménycukorka mintaoldatoknál meghatároztuk a standard addíciós módszer visszanyerését. A centrifugálás növelésével („D” extrakció) a visszanyerés javult, és elérte a 96,5%-ot (28. táblázat). Ezért további vizsgálatok során a mintaelőkészítés a „D” extrakcióval történt.

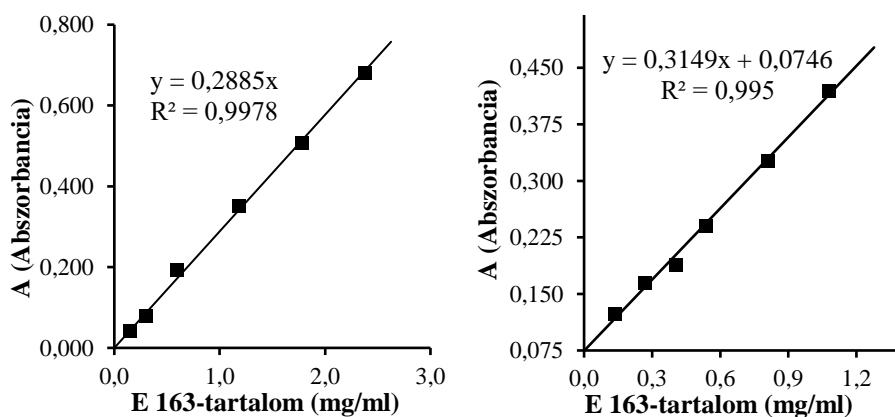
28. táblázat: *A különböző módszerekkel extrahált mintaoldatok spektrofotometriás mérési eredményei (elméleti színezéktartalom: 2,1 mg/g cukorka ($\lambda=520\text{nm}$))*

Az extrakciós módszerek részleteit a 14. táblázat tartalmazza

Extrakciós módszer	normál módszer (E 163 mg/g)	st. addíciós módszer (E 163 mg/g)	st. addíciós módszer visszanyerése	Minták	LOD (mg/g)
„C” extrakció	1,630±0,045	1,821±0,051	89,5%	E1-E15	0,006
„D” extrakció	2,184±0,143	2,263±0,148	96,5%	F1-F7	0,028

A minták vizsgálatakor a 380-700 nm közötti spektrumtartományon felvettük abszorbanciákat, majd a kapott spektrumokból elkészítettük a kalibráló egyeneseket (23. ábra) RABINO és MANCINELLI (1986) által kifejlesztett módszer alapján.

Mivel az antocianin abszorbanciája függ az oldatok pH-jától, ezért a kalibrációs oldatok és a mintaoldatok pH-jának azonosnak kellett lennie.

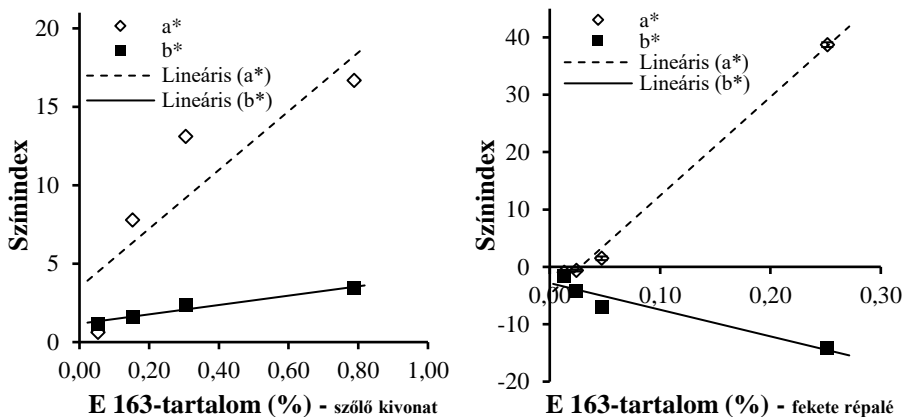


23. ábra: Antocianin-tartalom kalibrálógörbéje a Rabino-Mancinelli módszer ($\lambda_1=530$ nm, $\lambda_2=657$ nm) szerint kapott abszorbanciák alapján balra: pH $2,8 \pm 0,1$; átlag \pm SD; $n=3$; LOD: 0,113 mg/ml; minták: F1-F6 jobbra: pH: $2,33 \pm 0,09$; átlag \pm SD; $n=3$; LOD: 0,032 mg/ml; minták: G1-G6

(KOVÁCS et al. 2017)

Következő lépésként ugyanezen kalibráló oldatok és minták színmerését végeztük el. Az antocianin tartalmú színezékek színének elhelyezkedését a színtérben befolyásolja a színezékek alapanyaga, amit a bennük található szénhidrátok és antocianidinek eltéréseivel magyarázhatunk (CEVALLOS-CASALS és CISNEROS-ZEVALLOS, 2004).

A vizsgálatok döntő részében használt szőlőkivonat a sárga, és vörös félegyenesek által határolt síknegyedben ($a^* > 0$, és $b^* > 0$), míg a fekete répalé színezék a vörös, és a kék félegyenesek által határolt síknegyedben ($a^* > 0$, $b^* < 0$) helyezkedett el (24. ábra).



24. ábra: Antocianin tartalmú oldatok - szőlő kivonat (balra) és fekete répalé (jobbra) kalibrálógörbéje színméréssel
($n=3$, minták: A6-A9 és B7-B10)

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 (LIANG et al. 2011).

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 továbbiakban közvetlenül mért alap színekoordinátákon (L^* , a^* és b^*) kívül, az ezekből számított (C^* , Hue, ΔE^*), és a leírt módon létrehozott származtatott ($2 - \lg(L^*)$, $\lg(a^* + 100)$, $\lg(b^* + 100)$) színekoordináták színezéktartalomtól való függését is vizsgáltuk.

A 29. táblázat a szőlőkivonat tartalmú minták mért, illetve számított színekoordinátáira illesztett egyeneseinek determinációs koefficienseit mutatja két vizsgált pH-n. Jól látható, hogy a legjobb illeszkedést a $2 - \lg(L^*)$ transzformált színekoordináta, míg a legrosszabbat a számított Hue-index eredményezte mindkét különböző pH-jú oldatsor esetén.

29. 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*	0,9631	0,004	0,9905	0,001	0,9570	0,747
a*	0,8849		0,9781	0,007	0,8119	
b*	0,9503	0,029	0,6134		0,6019	
ΔE^*	0,5866		0,8300		0,9591	0,842
Hue	0,0296		0,3531		0,5612	
C*	0,9064	0,004	0,9807	0,005	0,7983	
2-lg(L*)	0,9932	0,003	0,9990	0,001	0,9672	0,650
lg(a*+100)	0,8659		0,9671	0,008	0,7990	
lg(b*+100)	0,9540	0,030	0,6126		0,6102	

Ezt követően négy különböző valós kereskedelmi forgalomban kapható cukorka mintának (F7-F10 minták) határoztuk meg a spektrumát. Az abszorbanciák ismeretében a spektrofotometriás kalibrációs egyenes segítségével meghatároztuk kapható keménycukorkák antocianin-tartalmát.

Ezután a mintaoldattal megegyező pH-n (pH: 2,8±0,1) mért kalibrációs egyenesek közül kiválasztva a három legjobb kolorimetriás illeszkedést (2-lg(L*), L* és b*), szintén meghatároztuk a keménycukorkák antocianin-tartalmát. A három említett színindexszel meghatározott színezéktartalom 14-28 %-kal volt magasabb a referenciamódszerrel kapott eredményhez képest. A spektrofotometriához

a legközelebbi eredményt a $2\text{-lg}(L^*)$ index adta. A kapott eredményeket a 30. táblázat tartalmazza.

30. táblázat: 2,1 mg/g elméleti antocianin tartalmú, kereskedelmi forgalomban kapható cukorkák antocianin-tartalma (mg/g) oldat alakban, spektrofotometriás (SP) és színmérési kalibrációs egyenesek segítségével (L^ , b^* , és $2\text{-lg}(L^*)$ szinkordináták alapján) meghatározva (átlag \pm SD, $n=3$, pH: $2,8\pm 0,1$)*

Minta	Antocianin-tartalom (mg/g) oldat formában mérve			
	SP	Színmérés		
		L^*	b^*	$2\text{-lg}(L^*)$
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
átlag	2,463\pm0,161	3,148\pm0,190	3,012\pm0,589	2,796\pm0,159

Ezután a szilárd késztermékek méréséhez készített keménycukorka mintasor (G8-G11) színezék tartalmának a mérését végeztük el. A mintákat feloldottuk vízben, a majd az antocianin-tartalmukat a minta oldattal azonos $2,33\pm 0,09$ pH-n mért spektrofotometriás kalibrációs egyenes segítségével meghatároztuk.

A minták antocianin-tartalmát szintén meghatároztuk az L^* , az a^* , a $2\text{-lg}(L^*)$ és a $\lg(a^*+100)$ színindexekkel. A legkevesebb színezéket tartalmazó G8-as minta esetében (0,481 mg/g antocianin-tartalom) jelentősen eltérő eredményeket kaptunk a spektrofotometriához képest, amit azzal magyarázhatunk, hogy ilyen kis koncentráció-tartományban a CIELab koordinátákkal nem lehetséges a színezéktartalom meghatározása. G9-es minta (0,937 mg/g antocianin-tartalom) színezéktartalma L^* -gal számítva 1%-kal, $2\text{-lg}(L^*)$ -gal számítva 6%-kal tért el a referencia módszer eredményétől. Ugyanez a G10-es mintára (2,001 mg/g

antocianin-tartalom) 27, és 21%, a G11-es mintára (5,695 mg/g antocianin-tartalom) pedig 5 és 2%. A másik két vizsgált színkoordináta segítségével (a^* , és $\lg(a^*+100)$) kapott színezéktartalmak még inkább eltértek a spektrofotometrikus eredményektől. A vizsgálatok eredményeit a 31. táblázatban mutatjuk be.

31. táblázat: A szilárd keménycukorka mintasor spektrometriával, L^ , a^* , $2-\lg(L^*)$, 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^*	$2-\lg(L^*)$	$\lg(a^*+100)$
G8	0,481\pm0,006	0,715 \pm 0,017	0,197 \pm 0,006	0,798 \pm 0,014	0,096 \pm 0,007
G9	0,937\pm0,073	0,950 \pm 0,004	0,615 \pm 0,005	0,993 \pm 0,003	0,568 \pm 0,005
G10	2,001\pm0,020	2,532 \pm 0,010	2,510 \pm 0,002	2,419 \pm 0,010	2,569 \pm 0,002
G11	5,695\pm0,043	5,436 \pm 0,019	4,808 \pm 0,006	5,789 \pm 0,027	4,736 \pm 0,005

Az előbb említett öt szilárd cukorka mintát (G8-G11) egy dörzsmozsárban finom porrá törtük, majd a folyadékmintákhoz hasonlóan meghatároztuk az alap CIELab színkoordinátákat és a származtatott további színjellemzőket. A kapott értékekre egyeneseket illesztettünk, amelyek determinációs koefficienseit a 29. táblázat mutatja. A folyadék kalibrációsorhoz hasonlóan a por alakú mintákon a legjobb illeszkedést ismét a $2-\lg(L^*)$ transzformált koordináta, míg a legrosszabbat a Hue-index mutatta.

Ezután kereskedelmi forgalomban kapható cukorkákat törtünk össze (G12-G14 minták) és megmértük a színkoordinátáikat, ugyanúgy, mint a kalibrációs minták esetében. Ismételten kiválasztva a három legjobb illeszkedést ($2-\lg(L^*)$, ΔE^* és L^*) a kapott kalibrációs egyenesekből meghatároztuk a cukorkák antocianin-tartalmát.

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-lg(L*) index segítségével kapott eredmény volt. A kapott eredményeket a 32. táblázat tartalmazza.

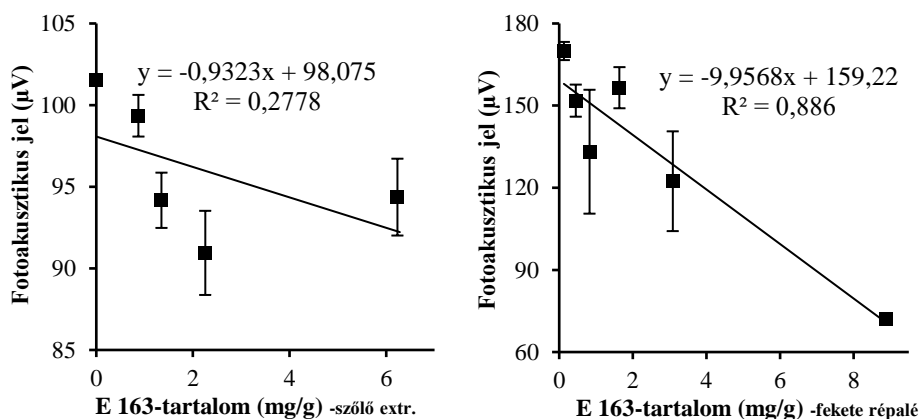
32. táblázat: 2,1 mg/g elméleti antocianin tartalmú kereskedelmi forgalomban kapható cukorkák antocianin-tartalma (mg/g) por (összetört, feloldás nélküli) alakban, fotoakusztikus spektrometriás (LPAS) (átlag±SD, n=3) és színmérési kalibrációs egyenesek segítségével (L, ΔE*, és 2-lg(L*) színkoordináták alapján) meghatározva (átlag±SD, n=7)*

Minta	Antocianin-tartalom (mg/g) por formában mérve			
	LPAS	Színmérés		
		L*	ΔE*	2-lg(L*)
G12	2,292±0,136	2,316±0,021	2,281±0,016	2,204±0,020
G13	2,304±0,143	2,185±0,405	2,174±0,410	2,081±0,394
G14	2,212±0,079	2,507±0,280	2,479±0,274	2,394±0,277
Átlag	2,269±0,213	2,336±0,302	2,311±0,300	2,226±0,295

5.1.2 Az antocianin tartalmú minták (L)PAS vizsgálatának eredményei

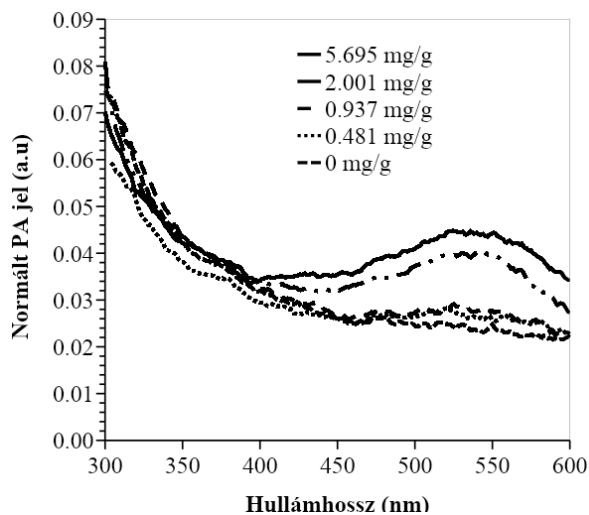
A fotoakusztikus vizsgálatok kezdetén arra a kérdésre kerestük a választ, hogy lehetséges-e a folyékony antocianin tartalmú minták vizsgálata. A szőlő kivonatot, vagy fekete répalé tartalmú kalibrációs oldatokat a technológia szempontjából hasznos koncentráció-tartományban készítettük el, majd a saját fejlesztésű, lézeres fotoakusztikus rendszerrel vizsgáltuk (25. ábra). Azt tapasztaltuk, hogy a fotoakusztikus jel, és az antocianin-tartalom között nincs egyértelmű összefüggés. A fekete répalé valamivel jobb lineáris összefüggést adott a

szőlő kivonathoz képest, de a minták szórása elérte a 15-17%-ot. A folyékony kalibrációs sorok feltételezhetően a falhatás miatt nem mérhetők az általunk épített rendszerrel. LUO és XING (2010) a folyadékok lézeres fotoakusztikus vizsgálatához a mikrofont tús hidrofonnal (HPM05/3, Precision Acoustics Ltd.) helyettesítették, ami képes volt detektálni a fotoakusztikus jelet.



25. ábra: Antocianin tartalmú kalibrálóoldatok: szőlő kivonat (balra) és fekete répalé (jobbra) kalibrálógörbéje fotoakusztikus spektroszkópiával ($n=3$, $\lambda=473\text{nm}$, minták: A1-A5, és B1-B6)

A korábban spektrofotometriával meghatározott antocianin tartalmú szilárd cukorka mintákat (G7-G11) összetörtük, majd a minták fotoakusztikus spektrumát mértük a közeli UV és a látható spektrumtartományban (300 és 600 nm között). A kapott spektrumokat mutatja a 26. ábra. Jól látható, hogy a minták az antocianin-tartalomtól függetlenül 500 és 600 nm között egy széles abszorpciós sávval rendelkeztek (maximum 530 nm-nél).



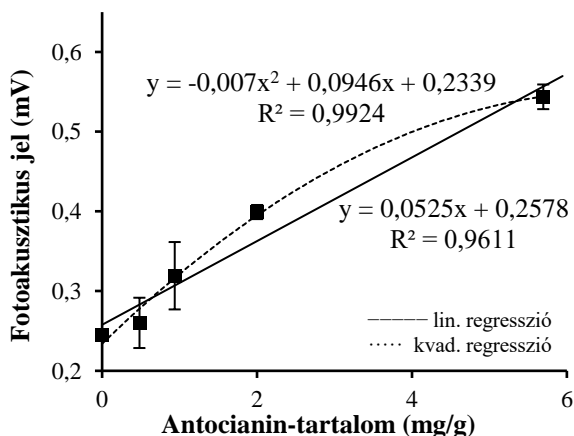
26. ábra: A por alakú antocianin tartalmú kalibrációs mintákon mért normált fotoakusztikus jel a 300-600 nm hullámhossz-tartományon (minták: G7-G11)

Kihasználva a fotoakusztikus módszer azon előnyét, hogy a mért jel tág határok között lineárisan növekszik a beérkező fényintenzitással a Xe lámpa helyett az Anyag és módszer fejezetben már részletesebben bemutatott 532 nm-es diódalézeret használtuk fényforrásként. A lézer fényintenzitásának a kb. ötszöröse volt a Xe lámpáénak 532 nm-nél, és ezenkívül nem volt szükség monokromátorra sem a mérőrendszerben. Ugyanakkor az is igaz, hogy ez a hullámhossz nem esik egybe a minták abszorpciós maximumával, de nagyon közel van hozzá, így jelentős jelnövekedést értünk el, ami értelemszerűen sokkal jobb jel/zaj viszonyt eredményezett.

Lézerrel mérve tehát a kalibrációs minták fotoakusztikus jelét 532 nm-nél, a fotoakusztikus jel antocianin-tartalomtól való függését kapjuk, amit a kereskedelmi forgalomban kapható minták antocianin-tartalmának meghatározásához tudunk felhasználni. A CIELab színindexekhez hasonlóan a fotoakusztikus jel is egy telítődési görbét követ, de adott

koncentráció tartományon belül (<5,7 mg/g) lineárisan változnak a színezéktartalom növekedésével (27. ábra). COELHO et al. (2010) hasonló viselkedést írt le több színezék (E 102, E 110, E 133) esetében, és tanulmányukban a kalibrációs egyeneseket adott koncentráció tartományra vonatkozóan adták meg. DÓKA et al. (2011) a 0,2-0,8 mg/g antocianin koncentrációtartományt vizsgálva ($\lambda=532$ nm), az eredményeinkhez hasonlóan szintén jó lineáris összefüggést ($R^2=0,9887$) kapott.

A 0,0-5,7 mg/g antocianin-tartalmú minták eredményeire jó közelítéssel egyértékű másodfokú függvényt is illeszthető ($R^2=0,9924$).



27. ábra: Szilárd (összetört, feloldás nélküli), antocianin tartalmú cukorka mintasor LPAS kalibrációs egyenese a fotoakusztikus jel alapján (átlag \pm SD, $\lambda=532$ nm, $n=3$; LOD: 0,336 mg/g, minták: G7-G11)

A kalibrációs egyenes elkészülte után a kereskedelmi forgalomban kapható összetört cukorkák (G12-G14 minták) fotoakusztikus jelét mértük, amely alapján az antocianin-tartalmukat meghatároztuk. A valós 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 32. táblázat mutatja.

5.2 A béta-karotin és antocianin tartalmú minták vizsgálatának eredményei

5.2.1 A béta-karotin és antocianin tartalmú minták színmérési eredményei

A béta-karotin tartalmú kalibrálóoldatok színmérésével kezdtük a vizsgálatunkat. Az alap CIELab koordinátákat (L^* , a^* és b^*) közvetlenül meghatároztuk, majd ezekből további színkoordinátákat határoztunk meg a korábbiakhoz hasonlóan. A 33. táblázat a béta-karotin tartalmú oldat formájú kalibráló sorok mért, illetve számított színkoordinátáira illesztett egyeneseinek a determinációs koefficienseit mutatja (KOVÁCS et al. 2019).

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 ($R^2=0,9958$). Az oldatok színe a vörös, és a sárga félegyeneseik által határolt síknegyedben helyezkedett el ($a^*>0$ és $b^*>0$).

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

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

Az antocianint és béta-karotint is tartalmazó szilárd cukorka mintasor közül először azokat a mintákat vizsgáltuk por és szilárd formában, amelyek csak antocianint tartalmaztak, majd ezután azokat, amelyek azonos ($9,50 \pm 1,20$ mg/g) mennyiségű antocianint, és változó mennyiségű béta-karotint tartalmaztak. Az antocianint és béta-karotint tartalmazó szilárd cukorka mintasorok CIELab koordinátainak a színezéktartalomtól való lineáris összefüggéseinek determinációs koefficienseit 34. táblázat mutatja.

Az antocianin-tartalom és a $2\text{-lg}(L^*)$ 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, volt 0,9.

Por formában a világossági index, és a ΔE^* szintén lineáris kapcsolatban volt a színezéktartalommal. Az 5.1.1 fejezetben (29. táblázatban) ismertetett másik antocianin tartalmú por formájú mintasornál szintén az említett három (L^* , ΔE^* , $2\text{-lg}(L^*)$) színjellemző determinációs koefficiense volt a legnagyobb. Meg kell azt is jegyeznünk, hogy minden színkoordináta esetén a determinációs koefficiens nagyobb volt por formában, mint szilárdan.

A béta-karotin-tartalom sárga-kék index (b^*) között jó közelítéssel (szilárd: $R^2=0,9253$, por: $R^2=0,9575$) lineáris kapcsolat van a vizsgált tartományban, ami a származtatott $\lg(b^*+100)$ indexre is igaz volt. Mivel a b^* értékei pozitívok, ezért a színtérben a sárga-kék tengelyen elhelyezett pontok a sárga tartományban helyezkednek el. Az a^* lineáris függvénykapcsolatának illeszkedése ($R^2=0,3117$) lényegesen rosszabb, mint az b^* -é, ami összhangban van azzal, hogy a béta-karotin színtónusa sárgás.

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: $R^2=0,9763$)

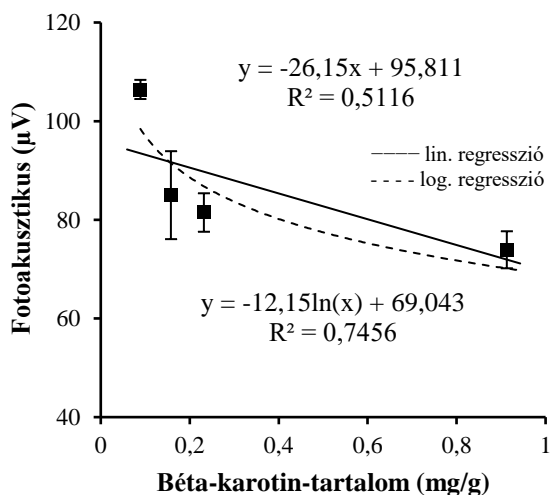
A további vizsgált színkoordináták (L^* , ΔE^* , C^* , $2\text{-lg}(L^*)$, $\text{lg}(a^*+100)$) determinációs koefficiense mind por, mint szilárd formában rosszabb volt, mint $R^2=0,9$.

34. 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		0,9427	1,934	0,2242			0,2502
a^*	0,5877		0,8396		0,3117			0,4591
b^*	0,7101		0,8376		0,9253	0,031	0,9575	0,015
ΔE^*	0,8846		0,9497	2,009	0,1981			0,0106
Hue	0,4048		0,3329		0,9550	0,023	0,9763	0,009
C^*	0,2073		0,8780		0,3901			0,8114
$2\text{-lg}(L^*)$	0,9426	6,847	0,9497	1,801	0,2102			0,2502
$\text{lg}(a^*+100)$	0,5847		0,8321		0,3142			0,4594
$\text{lg}(b^*+100)$	0,7169		0,8427		0,9289	0,032	0,9610	0,015

5.2.2 A béta-karotin és antocianin tartalmú minták LPAS eredményei

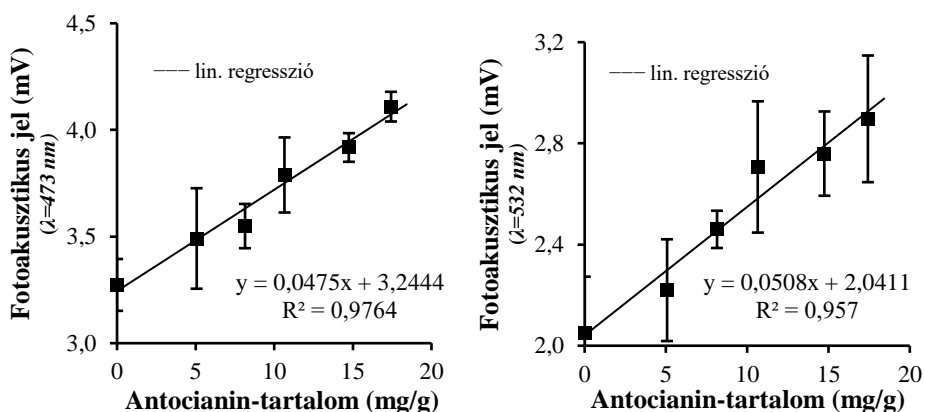
Az oldat formájú minták fotoakusztikus spektrometriás vizsgálatokor - az antocianinnál tapasztaltakhoz hasonlóan - szintén nem kaptunk jó lineáris ($R^2=0,4533$), vagy logaritmikus ($R^2=0,7456$) kapcsolatot fotoakusztikus jel béta-karotintól való koncentráció-függésére a vizsgált tartományban az általunk épített fotoakusztikus rendszerrel. A mintaoldatok fotoakusztikus jelének béta-karotin koncentráció-függését a 28. ábra mutatja.



28. ábra: Béta-karotin kalibrálógörbéje fotoakusztikus spektroszkópiával (átlag \pm SD, $n=3$, $\lambda=473\text{nm}$, minták: C1-C4)

A fotoakusztikus jel és a porrá tört (fel nem oldott) 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 logaritmikus illesztés nem alkalmazható a (0,00 mg/g koncentrációjú) vakminta miatt.

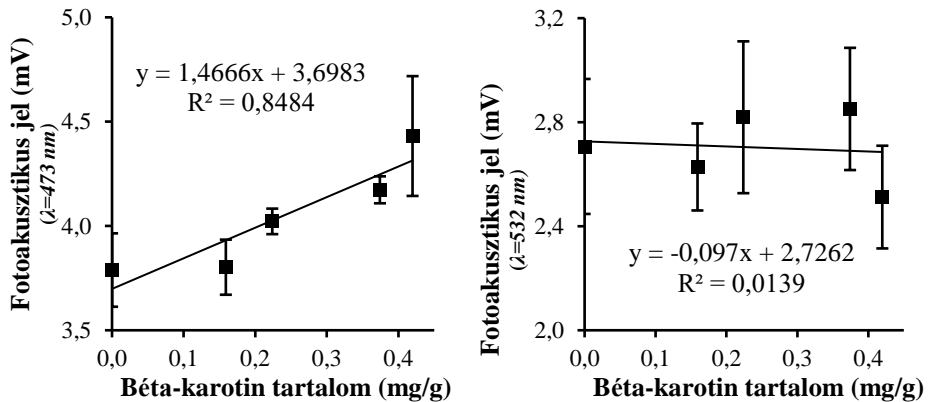
A 29. ábra mutatja a keménycukorka mintákban 473 és 532 nm-en mért fotoakusztikus jeleket az antocianin-tartalom függvényében, feltüntetve az eredmények szórásait.



29. ábra: Kalibrációs egyenesek az antocianin-tartalom és a normált fotoakusztikus jel között porrá tört (fel nem oldott) cukorka mintákban
balra: $\lambda_1=473$ nm; $\text{átlag}\pm\text{SD}$, $n=3$; LOD: 7,667 mg/g; minták: H5-H10
jobbra: $\lambda_2=532$ nm; $\text{átlag}\pm\text{SD}$, $n=3$; LOD: 13,141 mg/g; minták: H5-H10

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). A logaritmikus illesztés itt sem alkalmazható vakminta miatt.

A keménycukorka mintákon mért fotoakusztikus jelek a béta-karotin-tartalom függését a 30. ábra mutatja, feltüntetve az eredmények szórásait.



30. ábra: Kalibrációs egyenesek a béta-karotin-tartalom és a normált fotoakusztikus jel között porrá tört (fel nem oldott) cukorka mintákban
balra: $\lambda_1=473$ nm; $\text{átlag}\pm\text{SD}$, $n=3$; LOD: 0,360 mg/g; minták: H1-4, és H7
jobbra: $\lambda_2=532$ nm; $\text{átlag}\pm\text{SD}$, $n=3$; minták: H1-4, és H7

A minták antocianin-tartalma $9,50\pm 1,20$ mg/g volt.

5.3 A betanin tartalmú minták vizsgálatának eredményei

5.3.1 A betanin tartalmú minták színmérési eredményei

Első lépésként összefüggéseket - kalibrációs egyeneseket - alkottunk a por formájú pezsgőtabletták színezőanyag-tartalma és a reflexiós spektrokoloriméterrel mért CIE színkoordináták között (KOVÁCS et al. 2014). A színmérési eredményeit a következő, 35. táblázat mutatja be.

A betanin-tartalom és a világossági index között jó közelítéssel ($R^2=0,9700$) lineáris kapcsolat van a vizsgált tartományban. A pontokra illesztett lineáris függvény alapján azt mondhatjuk, hogy 10 mg/g betanin-tartalom növekedés 3,4 egységnyi csökkenést okoz a világossági indexben, azaz a minta színe sötétedik.

Mivel a vizsgált mintasorozat vörös színű színezéket, betanint tartalmaz, ezért a színmérésünk legfontosabb koordinátája a vörös-zöld színpárt jellemző színindex. A mért vörös színindex és a betanin koncentrációja lineáris kapcsolatot eredményezett a vizsgált koncentráció-tartományban, viszonylag nagy determinációs koefficiens értékkel ($R^2=0,9604$).

A b^* lineáris függvénykapcsolatának illeszkedése rosszabb, mint a világossági indexé, vagy az a^* -é ($R^2=0,8270$). Mivel a b^* értékei negatívak, ezért a színtérben a sárga-kék tengelyen elhelyezett pontok a kék tartományban helyezkednek el. A betanin (E 162) fő alkotói a lilás-vörös színű betacianinok, de kisebb mennyiségben sárga színű betaxantint, illetve barna színű bomlástermékeket is tartalmazhat (231/2012/EU rendelet). Ezek alapján feltételezhető, hogy a sárga és barna színezékek lényegében nem befolyásolják a végtermék színét.

A betanin-tartalom és a teljes színínger különbség között szintén lineáris kapcsolatot találtunk a vizsgált tartományon belül ($R^2=0,9655$). Vagyis egy tömegszázalék növekedés a ΔE^* -ot 3,11 egységgel csökkenti. A 10. táblázat alapján kapcsolatot kerestünk az objektív és a szubjektív színérés között. Ezen táblázat alapján azt mondhatjuk, hogy a 3,11 egység ΔE^* változás már szabad szemmel is jól látható színkülönbséget jelent.

Mivel a színtelítettség az a^* és b^* paraméterek négyzetösszegének a gyökeként értelmezhető, és a $(b^*)^2$ pedig érdemben nem változtatja meg a négyzetösszeg eredményét (a^* egy nagyságrenddel nagyobb b^* -nál), így az a^* és a C^* között szoros kapcsolat van. A C^* színezéktartalom függése ezek alapján nem meglepő, hogy szinte teljesen megegyezik az a^* színezéktartalom függésével.

A színezeti szög nagysága azt mutatja, hogy a mért pontok a kék-vörös síknegyedben a vörös tengelyhez közelebb helyezkedtek el.

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 ($R^2=0,9803$).

35. táblázat: A por alakú betanint (E 162) tartalmazó kalibráló mintasorok színjellemzőinek a lineáris illesztések során kapott determinációs koefficiense (E 162 színezék mennyiség: 10-60 mg/g; n=3)

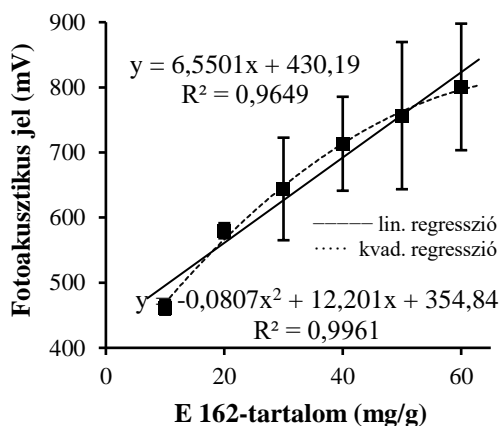
Színindex	R^2	LOD (mg/g)
L^*	0,9700	13,794
a^*	0,9604	4,436
b^*	0,8270	
ΔE^*	0,9655	14,972
Hue	0,2314	
C^*	0,9584	4,453
$2\text{-lg}(L^*)$	0,9803	12,152
$\lg(a^*+100)$	0,9571	4,613
$\lg(b^*+100)$	0,8280	

5.3.2 A betanin tartalmú minták LPAS eredményei

Ugyancsak kalibrációs egyeneseket készítettünk a színezőanyag tartalom és az 532 nm-en mért fotoakusztikus jel felhasználásával (KOVÁCS et al. 2014).

A fotoakusztikus jel és a minták betanin-tartalma között is jó közelítéssel ($R^2=0,9649$) lineáris, és kvadratikus ($R^2=0,9961$) kapcsolat volt, ugyanakkor meg kell jegyezni, hogy az eredmények relatív szórásai (STD/\bar{x}) 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%). A kapott összefüggés alapján 10 mg/g színezéktartalom növekedés 65,50 μ V fotoakusztikus jelnövekedést okoz. A 30 mg/g-os minta várható értéke $644,0 \pm 125,2$.

A 31. ábra mutatja a fotoakusztikusan mért jelet a betanin-tartalom függvényében, feltüntetve az eredmények szórásait.



31. ábra: A betanint tartalmazó mintákon mérhető fotoakusztikus jel a színezéktartalom függvényében

($\lambda=532$ nm; $\bar{x} \pm SD$; $n=3-10$; LOD: 5,085 mg/g; minták: I1-I6)

5.4 A neokokcin tartalmú minták vizsgálatának eredményei

5.4.1 A neokokcin tartalmú minták színmérési eredményei

A színmérések eredményei a por formájú neokokcin tartalmú mintasorozaton a következő eredményeket mutatják (36. táblázat) (KOVÁCS et al. 2014). A neokokcin-tartalom növekedésével a világossági index jó közelítéssel ($R^2=0,9949$) lineárisan csökkent a vizsgált tartományban (a minták színe sötétedett).

Mivel a vizsgált mintasorozat vörös színű színezéket, neokokcint tartalmazott, ezért a színmérésünk legfontosabb koordinátája a vörös-zöld színindex. A mért vörös színindex és a neokokcin koncentrációja között egyenes arányosság volt ($R^2=0,9731$) a vizsgált tartományban. Egy század tömegszázalékos színezéktartalom növekedés 1,13 egység növekedést jelentett a vörös-zöld színkoordinátában.

A b^* és a neokokcin-tartalom között nem találtunk egyértelmű függvénykapcsolatot a vizsgált tartományban. A legnagyobb determinációs koefficiens a lineáris illesztés adta ($R^2=0,7825$).

A neokokcin-tartalom és a teljes színindex különbség között lineáris kapcsolatot találtunk a vizsgált tartományon belül ($R^2=0,9941$). Vagyis 0,01 tömegszázalék növekedés a ΔE^* -ot 1,20 egységgel csökkenti. A 10. táblázat alapján azt mondhatjuk, hogy az 1,20 egység ΔE^* változás szemmel alig észrevehető színkülönbséget jelent, tehát a mintasorozatunk két, közvetlenül egymást követő színezéktartalmú mintája közötti különbségeket, csak műszeresen tudjuk kimutatni.

A C^* és a neokocin színezéktartalma között lineáris összefüggést kapunk ($R^2=0,9957$). A színezeti szög alapján a színpontok a vörös és a sárga félegyenesek által alkotott síknegyedben helyezkedtek el.

A koncentráció növekedésével a színezeti szög lineárisan csökkent ($R^2=0,8951$) a vizsgált tartományon. Vagyis a pontok egyre jobban a vörös félegyenes felé tartottak.

A származtatott színindexek közül a $2\text{-lg}(L^*)$ és $\lg(a^*+100)$ jó közelítéssel lineáris függvénye volt a neokocin-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^* -hoz hasonlóan a $\lg(b^*+100)$ és a neokocin-tartalom között pedig nem találtunk egyértelmű függvénykapcsolatot.

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

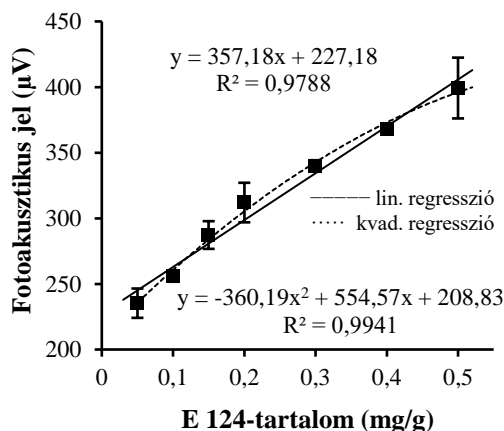
Színindex	R^2	LOD (mg/g)
L^*	0,9949	0,021
a^*	0,9731	0,025
b^*	0,7825	
ΔE^*	0,9941	0,022
Hue	0,8951	
C^*	0,9957	0,055
$2\text{-lg}(L^*)$	0,9960	0,020
$\lg(a^*+100)$	0,9837	0,026
$\lg(b^*+100)$	0,7827	

5.4.2 A neokocin tartalmú minták LPAS eredményei

A fotoakusztikus jel és a minták neokocin-tartalma között lineáris kapcsolatot találtunk ($R^2=0,9788$). A kvadratikus regresszió szintén jó egyértékű függvénykapcsolatot adott ($R^2=0,9941$) ebben a tartományban. Több szakirodalomban fellelhető fotoakusztikus tanulmányban is megállapították, hogy egy megadott koncentrációtartományon belül más mesterséges színezékekre (pl. E 110) is jól alkalmazható a lineáris regresszió (DÓKA et al. 2005; COELHO et al. 2010).

A kapott lineáris összefüggés alapján azt mondhatjuk, hogy 0,10 mg/g színezéktartalom növekedés 35,72 μV fotoakusztikus jelnövekedést okozott. A 0,05%-os minta várható értéke $399,3 \pm 28,8 \mu\text{V}$.

A 32. ábra mutatja a fotoakusztikusan mért jelet a neokocin-tartalom függvényében, feltüntetve az eredmények szórásait.



32. ábra: A neokocint tartalmazó mintákon mért fotoakusztikus jel a színezéktartalom függvényében

($\lambda=532 \text{ nm}$; $\text{átlag} \pm \text{SD}$; $n=3$; $\text{LOD}: 0,094 \text{ mg/g}$; minták: J1-J6)

5.5 A keverési próbagyártásból származó minták vizsgálatainak eredményei

5.5.1 A keverési próbagyártásból származó minták színmeréses eredményei

Az eddig bemutatott betanin és neokocin tartalmú mintákra kapott összefüggéseket a gyártási folyamat során a keverési szakaszban kivett minták vizsgálatára alkalmaztuk a továbbiakban (KOVÁCS et al. 2014).

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 táplálékkiegészítő gyártási folyamatából (keveréséből) származott.

Az 5.3-as és a 5.4-es fejezetekben leírt vizsgálatok közül csak az L^* , az a^* , a ΔE^* , 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 L^* , a^* , ΔE^* , C^* , $2\text{-lg}(L^*)$ és $\lg(a^*+100)$ értékeit 95%-os konfidencia intervallumon, amit a következő 37. táblázatban közlünk.

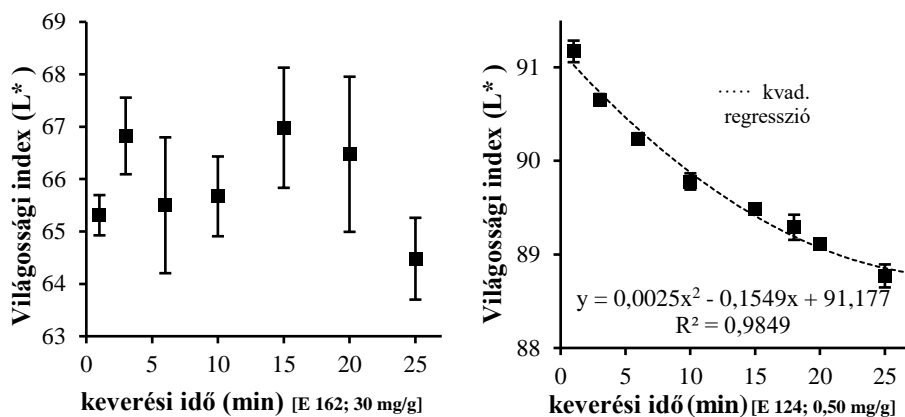
37. táblázat: A 30 mg/g betanin (E 162) és a 0,50 mg/g neokocin (E 124) tartalmú minta szinkordinátáinak várható értéke 95%-os konfidencia intervallumon (átlag \pm SD)

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
ΔE^*	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

A gyártási folyamat optimalizálásakor abból az alapfeltevésből indultunk ki, hogy a keverés akkor tekinthető optimálisnak, ha a művelet további folytatása már az összetevők eloszlásán, és így a színezőanyagok koncentrációján nem változtat. A termékek készítése során az összetevőket a préselés előtt 45 percig keverik. Ezt az időt szerettük volna a lehető legrövidebbre csökkenteni.

A hét névlegesen 30 mg/g betanin tartalmú minta L^* koordinátái közül a $73,60 \pm 7,19$ intervallumba mindössze kettő (a 3. és a 15. perchez tartozó érték) esett. A világossági indexek semmilyen analitikus trendet nem mutattak.

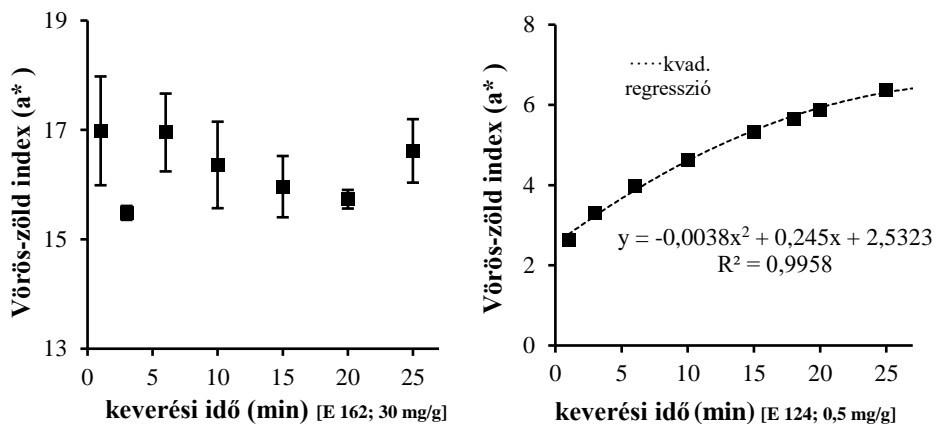
A nyolc névlegesen 0,50 mg/g neokokcin tartalmú minta L^* indexei egy telítődési görbét követtek a keverési idő növelésével párhuzamosan, és közülük a csupán három (a 15, a 18, és a 20 perc keverés után vett) minta L^* értéke esett a $89,18 \pm 0,32$ intervallumba. Az adatsorra másodfokú függvényt illesztettünk ($R^2=0,9849$), 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 33. ábra mutatja az L^* szinkordinátát a keverési idő függvényében, feltüntetve az eredmények szórásait.



33. ábra: A próbagyártásból származó, névlegesen 30 mg/g betanin tartalmú minták (balra) és a 0,50 mg/g neokocin tartalmú minták (jobbra) L^* koordinátája a keverési idő függvényében (átlag \pm SD, $n=3$, minták: K1-K7, és L1-L8)

Betanin tartalmú mintákon mért a^* koordináták közül a $10,57\pm 1,95$ intervallumba egyetlen pont sem esett. A minták színezéktartalmának a kalibrációs egyenes alapján 65-70 mg/g-nak kellene lennie. Ebben az esetben sem figyelhetünk meg konvergenciát a keverési idő növekedésével.

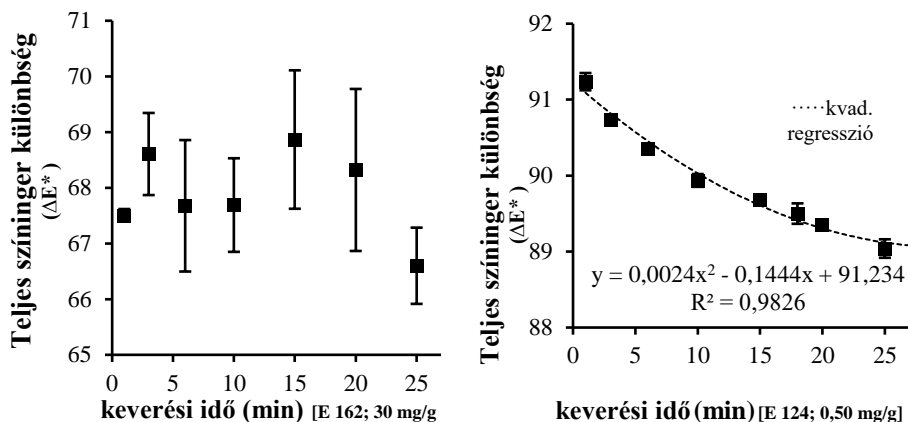
A neokocin minták a^* koordináták közül az $5,31\pm 0,05$ intervallumba egyetlen pont esett csak. A keverési idő növekedésével a vörös-zöld index is egy telítődési görbét követett, az a^* maximuma a kvadratikus regresszió alapján ($R^2=0,9958$) a 32,24 percnél volt. A 34. ábra mutatja az a^* színkoordinátát a keverési idő függvényében, feltüntetve az eredmények szórásait. A neokocin esetében a szórások olyan kicsik, hogy nem látszódnak az ábrán.



34. ábra: A próbagyártásból származó, névlegesen 30 mg/g betanin tartalmú minták (balra) és a 0,50 mg/g neokocin tartalmú (jobbra) minták a^* koordinátája a keverési idő függvényében (átlag \pm SD, $n=3$, minták: K1-K7, és L1-L8)

A betanin tartalmú különböző időpontokban kivett minták színei között szabad szemmel is enyhén észrevehető különbségek voltak, hiszen a ΔE^* értéke pl. a 10 és 15, illetve a 20 és 25 perces minták között is meghaladta az 1 egységet ($\Delta E^*_{15} - \Delta E^*_{10} = 1,18$, illetve $\Delta E^*_{20} - \Delta E^*_{25} = 1,72$). A hét betanin tartalmú minta közül hat ΔE^* értéke a $74,38 \pm 7,03$ intervallumba esett.

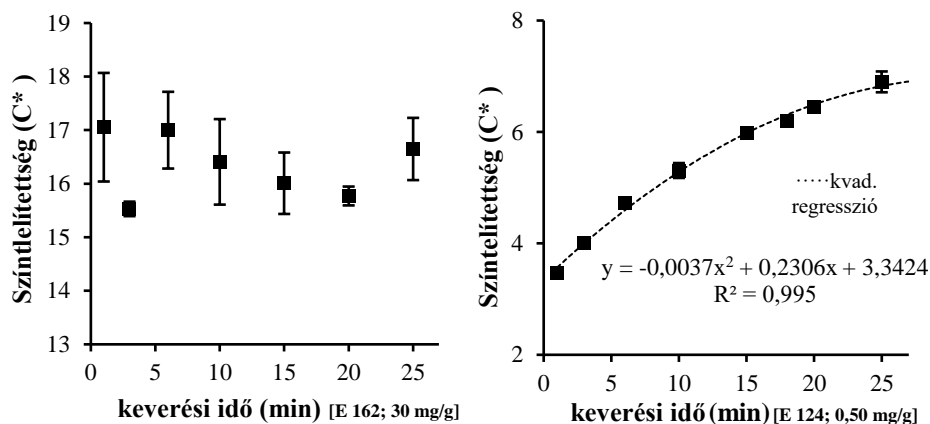
A neokocin minták esetében az első három pontot leszámítva, tehát 6 perc keverési idő után minden pont teljes színínger különbsége egy egység alatt volt, így ezeket a mintákat színük alapján egyáltalán nem, vagy alig lehet szabad szemmel megkülönböztetni, viszont a nyolc vizsgált mintából csak három teljes színínger különbsége esett a $89,38 \pm 0,30$ intervallumba. A ΔE^* minimuma a kvadratikus regresszió alapján ($R^2 = 0,9826$) a 30,08 percnél volt. A 35. ábra mutatja a teljes színínger különbséget számszerű eredményünkkel és szórásukkal együtt a keverési idő függvényében.



35. ábra: A próbagyártásból származó, névlegesen 30 mg/g betanin tartalmú minták (balra) és a 0,50 mg/g neokokcin tartalmú minták (jobbra) teljes színínger különbsége a keverési idő függvényében (átlag \pm SD, $n=3$, minták: K1-K7, és L1-L8)

A hét névlegesen 30 mg/g betanin tartalmú minta színtelítettség értékei közül egyetlen érték sem esett a $10,71 \pm 1,96$ intervallumba. A mért eredmények alapján az a^* -hoz hasonlóan a minták betanin-tartalmának 65-70 mg/g-nak kellene lenni.

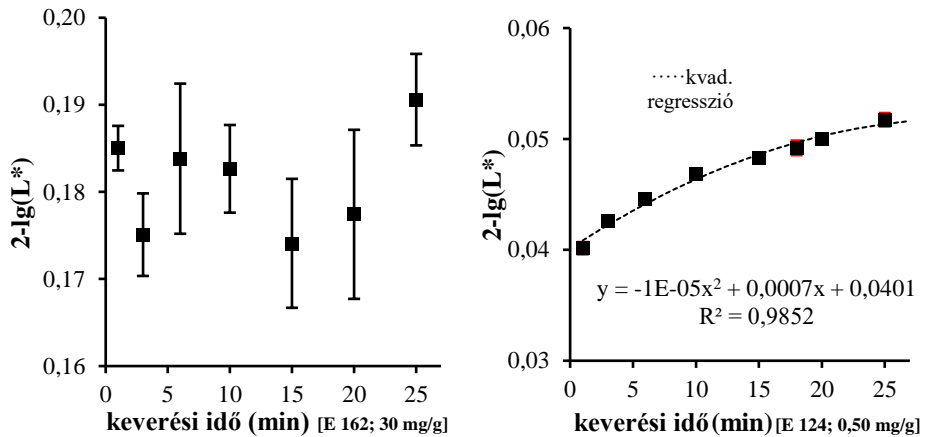
A nyolc névlegesen 30 mg/g neokokcin tartalmú minta C^* értékei közül csak egy (a 15 perces keverési időhöz tartozó) érték esett az $5,91 \pm 0,15$ intervallumba. A várható értéket 15 perc keverés után érte el. A mért eredmények alapján az a^* -hoz hasonlóan a C^* is a keverési idő függvényében növekedett, a C^* maximuma a kvadrátikus regresszió alapján ($R^2=0,9950$) a 31,16 percnél volt. A 36. ábra mutatja a színtelítettséget a keverési idő függvényében, feltüntetve az eredmények szórásait.



36. ábra: A próbagyártásból származó, névlegesen 30 mg/g betanin tartalmú minták (balra) és a 0,50 mg/g neokocin tartalmú minták (jobbra) szintleltettsége a keverési idő függvényében (átlag \pm SD, n=3, minták: K1-K7, és L1-L8)

Mind a hét 30 mg/g betanin tartalmú minta $2\text{-lg}(L^*)$ értéke a $0,187\pm 0,042$ intervallumba volt, köszönhetően a tartomány nagy szórásának ($\pm 22\%$).

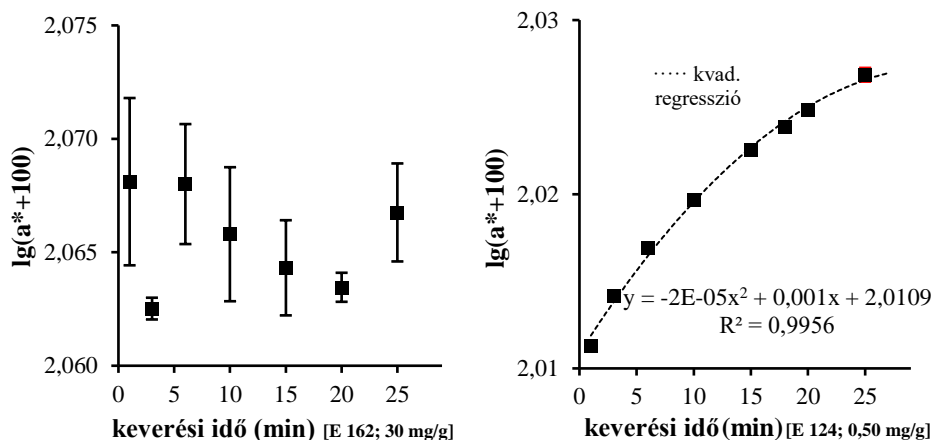
A neokocin minták közül csak a 15., a 18., a 20, és a 25. percben vett minta esett a $0,050\pm 0,002$ intervallumba. A $2\text{-lg}(L^*)$ maximuma a kvadratikus regresszió alapján ($R^2=0,9852$) a 30,92 percnél volt. A 37. ábra mutatja a $2\text{-lg}(L^*)$ színindexet a keverési idő függvényében, feltüntetve az eredmények szórásait.



37. ábra: A próbagyártásból származó, névlegesen 30 mg/g betanin tartalmú minták (balra) és a 0,50 mg/g neokocin tartalmú minták (jobbra) $2\text{-lg}(L^*)$ színindexe a keverési idő függvényében (átlag \pm SD, $n=3$, minták: K1-K7, és L1-L8)

Mindegyik 30 mg/g betanin tartalmú 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 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 kvadrátikus regresszió alapján ($R^2=0,9956$) 32,13 percnél volt. A 38. ábra mutatja a $\lg(a^*+100)$ színindexet a keverési idő függvényében, feltüntetve az eredmények szórásait.



38. ábra: A próbagyártásból származó, névlegesen 30 mg/g betanin tartalmú minták (balra) és a 0,50 mg/g neokocin tartalmú minták (jobbra) $\lg(a^*+100)$ színindexe a keverési idő függvényében (átlag \pm SD, $n=3$, minták: K1-K7, és L1-L8)

5.5.2 A keverési próbagyártásból származó minták LPAS eredményei

A mérések alapján meghatároztuk a 30 mg/g-os betanin tartalmú és a 0,50 mg/g -os neokocin tartalmú táplálékkiegészítő várható PAS értékeit 95%-os konfidencia intervallumon, amit a következő 38. táblázatban közlünk.

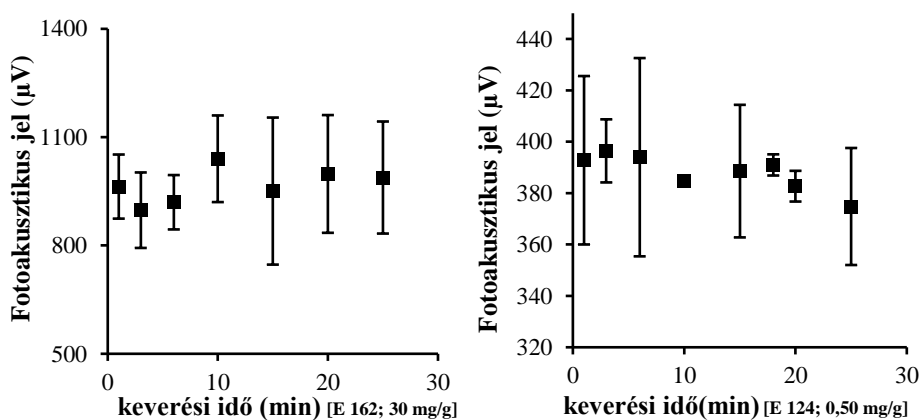
38. táblázat: A 30 mg/g betanin (E 162) és a 0,50 mg/g neokocin (E 124) tartalmú minta szinkordinátáinak várható értéke 95%-os konfidencia intervallumon (átlag \pm SD)

Index	30 mg/g E 162	0,50 mg/g E 124
PAS (μ V)	644,0 \pm 125,2	399,3 \pm 28,8

A próbagyártásból származó, névlegesen 30 mg/g betanin tartalmú minták betanin-tartalma fotoakusztikus kalibráló egyenes alapján

meghaladná a 60 mg/g-ot. Az eredmények relatív szórásai több esetben meghaladták az 10%-ot (3 perc: 11,65%, 10 perc: 11,54%, 20 perc: 16,34%, 25 perc: 15,70 %), sőt egy esetben a 20%-ot is (15 perc: 21,42%).

Mindegyik neokokcin tartalmú próbagyártási minta fotoakusztikus mért jele beleesett a $399,3 \pm 28,8$ intervallumba, ellenben a relatív szórások itt is több esetben meghaladták az 5%-ot (1 perc: 8,34%, 6 perc: 9,79%, 15 perc: 6,64 %, 25 perc: 6.07 %). A 39. ábra mutatja a fotoakusztikusan mért jelet a keverési idő függvényében, feltüntetve az eredmények szórásait.



39. ábra: A próbagyártásból származó, névlegesen 30 mg/g betanin tartalmú minták (balra) és a 0,50 mg/g neokokcin tartalmú minták (jobbra) fotoakusztikusan mért jele a keverési idő függvényében (átlag \pm SD, $n=3$, $\lambda=532$ nm, minták: K1-K7, és L1-L8)

6. KÖVETKEZTETÉSEK

A betanin tartalmú minták színe a vörös és a kék, a béta-karotin, és a neokocin tartalmúaké a vörös és a sárga félegyenesek által határolt síknegyedben helyezkedett el, míg az antocianin minták színe a színezék alapanyagától (színezék összetételétől) függött, és jelentősen befolyásolta a minta pH-ja a szakirodalmi adatokkal megegyezően (CEVALLOS-CASALS és CISNEROS-ZEVALLOS, 2004). Ezért az antocianin tartalmú kalibráló oldatok és a mintaoldatok pH-jának azonosnak kell lennie.

A színmérés mind szilárd (por és összetörés nélkül), mind folyékony formában jó összefüggéseket adott.

A szilárd cukorka minták színmérési vizsgálataiban azt tapasztaltuk, hogy a minták antocianin-tartalma a $2\text{-lg}(L^*)$, porrá törve pedig az L^* , a ΔE^* , és a $2\text{-lg}(L^*)$ színindexek segítségével határozható meg.

A szilárd, vagy a porrá tört minták béta-karotin-tartalmát a b^* , a Hue-index, vagy a $\lg(b^*+100)$ színindexszel tudjuk meghatározni.

A betanin, illetve neokocin tartalmú por alakú táplálékkiegészítők L^* , a^* , ΔE^* , C^* , és $2\text{-lg}(L^*)$ színkoordinátái lineáris kapcsolatban voltak a minták színezéktartalmával a vizsgált tartományon belül. Sőt a neokocin-tartalom és az vörös-zöld index között egyenes arányosság volt.

Meg kell jegyezni, hogy az antocianin, a betanin, és a neokocin tartalmú por alakú minták vizsgálatakor a $2\text{-lg}(L^*)$ színkoordináta színezéktartalomtól való lineáris függésének determinációs koefficiense volt a legnagyobb a vizsgált kilenc színkoordináta közül.

Az antocianin tartalmú kalibráló oldatok esetén a világossági index és a $2\text{-lg}(L^*)$ színindex színezéktartalomtól való lineáris függésének determinációs koefficiense volt a legnagyobb, bár a valós minták vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy kis antocianin tartalmú minták (pl. 0,481 mg/g) a színméressel meghatározott színezéktartalma jelentősen eltért a referencia módszer (spektrofotometria) eredményétől. Ezért a két színindex elsősorban a 0,9-5,7 mg/g antocianin tartalmú minták méréséhez használható.

A béta-karotin-tartalom meghatározására oldat formában az L^* , az a^* , a $2\text{-lg}(L^*)$, és a $\lg(a^*+100)$ színindexek voltak a legalkalmasabbak.

A 39. táblázatban összefoglaltuk a színezéktartalom meghatározására leginkább alkalmas (legnagyobb determinációs koefficiensű) színindexeket a különböző mintaformák (mintaoldat, porrá tört minta, szilárd minta) esetén.

39. táblázat: A színezéktartalom meghatározásához leginkább alkalmas színindexek (KOVÁCS et al. 2014; KOVÁCS et al. 2017; KOVÁCS et al. 2019). A félkövér indexek a legjobb lineáris függésű, vagyis a legnagyobb R^2 -ű színindexeket jelölik.

Színezék	Színindex		
	Oldat	Por minta	Szilárd minta
antocianin	L^* , $2\text{-lg}(L^*)$	L^* , ΔE^* , $2\text{-lg}(L^*)$	$2\text{-lg}(L^*)$
β -karotin	L^* , a^* , $2\text{-lg}(L^*)$, $\lg(a^*+100)$	b^* , Hue , $\lg(b^*+100)$	b^* , Hue , $\lg(b^*+100)$
betanin	Nem vizsgáltuk	L^* , a^* , ΔE^* , $2\text{-lg}(L^*)$	Nem vizsgáltuk
neokokcin	Nem vizsgáltuk	L^* , a^* , ΔE^* , C^* , $2\text{-lg}(L^*)$	Nem vizsgáltuk

A szilárd cukorka minták fotoakusztikus mérésénél lineáris kapcsolatokat találtunk a 532 nm-en mért fotoakusztikus jel és a színezéktartalom között az antocianin, a betanin, és a neokokcin színezékeknél. Továbbá az antocianin és a béta-karotin-tartalmat szintén meg lehet határozni fotoakusztikusan 473 nm-en.

A fotoakusztikus eredmények relatív szórásai meghaladják a színmérésnél kapott szórásértékeket. Ez utóbbinak, nagy valószínűséggel az az oka, hogy míg a fotoakusztikus mérésnél a fény-anyag kölcsönhatás a lézernyaláb keresztmetszetében történik (néhány mm^2), addig a színmérésnél ez a felület több nagyságrenddel nagyobb, és így a vizsgált minta egyenetlen színeződése a fotoakusztikus méréseknél nagyobb szórást eredményez. Az is látható, hogy a szórások a természetes színezékekre nagyobbak.

A folyadék halmazállapotú tartalmú különböző színezékeket (antocianin, béta-karotin) tartalmazó oldatokat színezéktartalmát nem tudtuk meghatározni a fotoakusztikus rendszerrel, ehhez a fotoakusztikus detektálás módosítására (hidrofon használatára) lett volna szükség, vagyis a minták vizsgálata csak por formában volt lehetséges.

Olyan cukorka mintákban, amelyek antocianint és béta-karotint is tartalmaznak, az antocianin-tartalom meghatározásra legalkalmasabb az LPAS 532 nm-es lézerral, vagy a teljes színinger különbség (ΔE^*) mérése, hiszen mindkét módszer esetén a determinációs koefficiens nagy az antocianinra, és kicsi a béta-karotinra. A minták béta-karotin-tartalmát pedig a Hue-index segítségével lehet meghatározni.

A neokokcin tartalmú pezsgőtabletta próbagyártása során vett minták színmérési eredményei, azt mutatják, hogy az L^* , az a^* , a ΔE^* , a C^* , a $2\text{-lg}(L^*)$, és a $\text{lg}(a^*+100)$ is egy telítődési görbét követ, és a telítődés

30,08-32,24 perc között következett be, vagyis a keverési folyamat ideje erre az időre csökkenthető.

A betanin tartalmú minták esetében telítődési görbét nem figyeltünk meg, és az eredmények a neokokcinhoz képes viszonylag nagy szórással oszcilláltak, így a keverési idő optimális időpontjának megállapítására szükséges a keverési folyamat vizsgálata 25-45 perc között is.

A fotoakusztikusan mért jel alapján csak annyit tudunk megállapítani, hogy 25 perc keverés után a keverési folyamat még nem fejeződött be – egyik színezékre sem.

A betanin tartalmú keverési pezsgőtabletta próbaminták színindexei nem érték el a kalibrációs vizsgálatokkal meghatározott várható értékeket. Ezt azzal magyarázhatjuk, hogy a tárolás során a termékek színezéktartalma csökken a színezőanyagok bomlási folyamatai miatt (STINTZING et al. 2006; OBÓN et al. 2009), és ez a degradáció a természetes színezékek (pl. betanin) esetében fokozottabb. Ezért a kalibrációs mintasorozatnak és a valós mintáknak közel azonos korúnak kell lennie.

A kalibrációhoz készített mintasorozatokon végzett színmérések megerősítik azt az ismert tényt, hogy mesterséges színezékek (pl. neokocin) általában sokkal jobb és egyenletesebb színező hatással rendelkeznek, mint a természetes színezékek (pl. betanin). Látható, hogy a neokocinra kapott szórások mindkét módszernél kisebbek voltak, mint a betaninra, illetve amíg betaninból néhány százalék, addig neokocinból néhány századszázalék is elegendő a kívánt szín eléréséhez. Ezt jól mutatja az egységnyi színezéktartalomra változásra (1%) jutó teljes színinger különbség (ΔE^*) változás is, amely betaninra 3,11, míg neokocinra 120-

as csökkenést eredményez. A szabad szemmel történő színváltozás észlelését és az objektív, műszeres mérést összekapcsoló 10. táblázat kategóriáit összehasonlítva azt láthatjuk, hogy a gyakorlatban alkalmazott szokásos koncentrációkra – por alakban – az érvényes, hogy míg betanin esetében szemmel jól látható különbségeket érzékelhetünk, addig neokocinra a különbségtétel csak műszeresen lehetséges.

A kapott eredmények és a szakirodalom alapján azt mondhatjuk, hogy az alkalmazott optikai módszerek alkalmasak édesipari termékek élelmiszerszínezék-tartalmának, illetve más színezőhatású komponensek (pl. kakaó) mennyiségének meghatározására a gyakorlat számára is fontos koncentráció-tartományban a megfelelő kalibráló egyenesek elkészítése után (DÓKA et al. 2013).

7. 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 ($A = A_{530} - 0,250 \cdot A_{657}$). 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 β -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 (ΔE^*) mérésével lehetséges a legjobban. Mindkét módszer esetén a determinációs együttható 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 színméressel a Hue-index segítségével lehet a legpontosabban meghatározni ($R_{antocianin}^2 = 0,3329$, $R_{\beta\text{-karotin}}^2 = 0,9763$).

6. tézis:

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

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Az élelmiszerek színe az egyik legfontosabb és legkritikusabb paramétere a fogyasztói megítélésnek a termék vásárlásakor. Ezért a gyártás folyamán külön figyelmet kell fordítani a színezőanyagok típusának és mennyiségének beállítására. A színezőanyagok mennyiségi vizsgálatát optikai módszerekkel - színméréssel, valamint fotoakusztikus spektroszkópiával -, oldottuk meg. A színméréseket egy HunterLab MiniScan XE Plus típusú színmérővel, a fotoakusztikus méréseket pedig egy általunk felépített fotoakusztikus spektrofotométerrel végeztük. Célunk volt, hogy a színezőanyag/ok koncentrációja és a termék színe között kapcsolatokat keressünk.

A kapott eredmények alapján megállapíthatjuk, hogy mindkét módszer közvetlenül, mintaelőkészítés és vegyszerek felhasználása nélkül alkalmazható édesipari mintákban főbb természetes élelmiszerszínezékek (E 160a, E 162, E 163) mennyiségének meghatározására. Az alkalmazott módszerek előnye, hogy por alakban (nem vizes fázisban) alkalmasak a színezéktartalom meghatározására, így nem kell számolni az oldószer hatásával, a mért jelek nem függenek a minta pH értékétől. A módszerek teljes vizsgálati ideje jelentősen gyorsabb, mint hagyományos módszereké és a technológiai gyakorlat számára fontos koncentráció-tartományban jól használhatóak, ezért a színmérés és a fotoakusztikus spektroszkópia - validálásukat követően - megbízható gyártásközi és késztermék ellenőrző módszerekké válhatnak az élelmiszeriparban.

További keverési vizsgálatokat végezve a módszerek segíthetik a keverési folyamat optimalizálását, és keverés hatékonyságának ellenőrzését.

9. FELHASZNÁLT IRODALOM

1. ABBEY J, FIELDS B, O'MULLANE M (2014) Food Additives: Colorant. In: MOTARJEMI Y (Ed.) Encyclopedia of Food Safety. *Elsevier Science & Technology* 2 459-465
2. ABDELMIGID H M (2009) Risk Assessment of Food Coloring Agents on DNA Damage Using RAPD Markers. *The Open Biotechnology Journal* 3 101-107
3. ADAMS R (2005) The colourful history of the US colorants industry. *Focus on Pigments* 7 1-3
4. ALLEN R L M (1971) Colour chemistry: The chemistry of azo dyes. *Springer Bazel AG* 21-36 ISBN: 978-1-4615-6663-2
5. AMCHOVA P, KOTOLOVA H, RUDA-KUCEROVA J (2015) Health safety issues of synthetic food colorants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 73 914-922
6. AMORIM-CARRILHO K T, CEPEDA A, FENTE C, REGAL P (2014) Review of methods for analysis of carotenoids. *Trends in Analytical Chemistry* 56 49-73
7. ASSOUS M T M, ABDEL-HADY M M, MEDANY G M (2014) Evaluation of red pigment extracted from purple carrots and its utilization as antioxidant and natural food colorants. *Annals of Agricultural Science* 59 1-7
8. ÁVILA M, ZOUGAGH M, ESCARPA A, RÍOS Á (2011) Determination of sudan dyes in food samples using supercritical fluid extraction–capillary liquid chromatography. *The Journal of Supercritical Fluids* 55 977-982

9. BARROWS J N, LIPMAN A L, BAILEY C J (2003) Color additives: FDA's regulatory process and historical perspectives. *Food Safety Magazine* Oct/Nov 11-17
10. BATEMAN B, WARNER J O, HUTCHINSON E, DEAN T, ROWLANDSON P, GANT C, GRUNDY J, FITZGERALD C, STEVENSON J: (2004) The effects of a double blind, placebocontrolled, artificial food colourings and benzoate preservative challenge on hyperactivity in a general population sample of preschool children. *Archives of Disease in Childhood* 89 506-511
11. BELE A A, KHALE A (2011) An overview on thin layer chromatography. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2 256-267
12. BELL A G (1880) On the Production and Reproduction of Sound by Light. *American Journal of Sciences* 20 305-324
13. BENTO W D A S, LIMA B P, PAIM A P S (2015) Simultaneous determination of synthetic colorants in yogurt by HPLC. *Food Chemistry* 183 154-160
14. BEYE C, HILIGSMANN S, TOUNKARA L S, THONART P (2017) Anthocyanin content of two Hibiscus sabdariffa cultivars grown in Senegal. *Agronomie Africaine* 29 63-68
15. BRABCOVÁ I, HLAVÁČKOVÁ M, ŠATÍNSKY D, SOLICH P (2013) A rapid HPLC column switching method for sample preparation and determination of b-carotene in food supplements. *Food Chemistry* 141 1433-1437

16. BRIDLE P, TIMBERLAKE C F (1997) Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. *Food Chemistry* 58 103-109
17. BROWN A C (2014) Understanding Food: Principles and Preparation. *Cengage Learning* 520-521 ISBN 9781285954493
18. BURROWS A J D (2009) Palette of Our Palates: A Brief History of Food Coloring and Its Regulation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 8 394-408
19. CAROCHO M, MORALES P, FERREIRA I C F R (2015) Natural food additives: Quo vadis? *Trends in Food Science & Technology* 45 284-295
20. CARVALHO J C D, CARDOSO L C, GHIGGI V, WOICIECHOWSKI A L, VANDENBERGHE L P D S, SOCCOL C R (2014) Microbial Pigments. In: BRAR S K, DHILLON G S, SOCCOL C R (Eds.) Biotransformation of Waste Biomass into High Value Biochemicals. *Springer Science+Business Media*, New York 73-97 DOI: 10.1007/978-1-4614-8005-1-4
21. CASSIDAY L (2017) Clean label: The next generation. *Inform* 28 6-10
22. CASTAÑEDA-OVANDO A, PACHECO-HERNÁNDEZ M, PÁEZ-HERNÁNDEZ M E RODRÍGUEZ J A, GALÁN-VIDAL C A (2009) Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* 113 859-871
23. CHARLAND M, LEBLAN R M (1993) Photoacoustic Spectroscopy Applied to Biological Systems. *Bulletin of the Institute for Chemical Research, Kyoto University* 71 226-244

24. CHEN Q C, MOU S F, HOU X P, RIVIELLO J M, NI Z M (1998) Determination of eight synthetic food colorants in drinks by high-performance ion chromatography. *Journal of Chromatography A*, 827 73-81
25. CHUNG K T (2016) Azo dyes and human health: A review. *Journal of Environmental Science and Health, Part C: Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews* 34 233-261
26. CEVALLOS-CASALS B A, CISNEROS-ZEVALLOS L (2004) Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. *Food Chemistry* 86 69-77
27. CIE INTERNATIONAL COMMISSION ON ILLUMINATION (2004) Colorimetry third edition. 1-82
28. COELHO T M, VIDOTTI E C, ROLLEMBERG M C, MEDINA A N, BAESSO M L, CELLAN, BENTO A C (2010) Photoacoustic spectroscopy as a tool for determination of food dyes: Comparison with first derivative spectrophotometry. *Talanta* 81 202-207
29. COOKE D, STEWARD W P, GESCHER A J, MARCZYLO T (2005) Anthocyanins from fruits and vegetables – Does bright colour signal cancer chemopreventive activity? *European Journal of Cancer* 41 1931-1940
30. CORTEZ R, LUNA-VITAL D A, MARGULIS D, MEJIA E G D (2017) Natural Pigments: Stabilization Methods of Anthocyanins for Food Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16 180-198

31. CUI B, HU Z, ZHANG Y, HU J, YIN W, FENG Y, XIE Q, CHEN G (2016) Anthocyanins and flavonols are responsible for purple color of *Lablab purpureus* (L.) sweet pods. *Plant Physiology and Biochemistry* 103 183-190
32. CSAPÓ J, CSAPÓNÉ K ZS (2003) Élelmiszerkémia. *Mezőgazda Kiadó*, Budapest 368
33. DELGADO-VARGAS F, JIMENEZ A R, PAREDES-LOPEZ O (2000) Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains – Characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 40 173-289
34. DEVIP S, SARAVANAKUMAR M, MOHANDAS S (2012) The effects of temperature and pH on stability of anthocyanins from red sorghum (*Sorghum bicolor*) bran *African Journal of Food Science* 6 567-573
35. DOWNHAM A, COLLINS P (2000) Colouring our foods in the last and next millennium. *International Journal of Food Science and Technology* 35 5-22
36. DÓKA O (1993) Fototermikus jelenségek és alkalmazások. *Kandidátusi értekezés* 1-91
37. DÓKA O, BICANIC D, AJTONY ZS, KOEHORST R (2005) Determination of sunset yellow in multi-vitamin tablets by photoacoustic spectroscopy and a comparison with alternative methods. *Food Additives and Contaminants* 22 503–507
38. DÓKA O, FICZEK G, BICANIC D, SPRUIJT R, LUTEROTTI S, TÓTH M, BUIJNSTERS J G, VÉGVÁRI GY (2011) Direct photothermal techniques for rapid quantification of total anthocyanin content in sour cherry cultivars. *Talanta* 84 341-346

39. DÓKA O, PRÁGAI E, BICANIC D, KULCSÁR R, AJTONY ZS (2013) Colorimetry and photoacoustic spectroscopy as a suitable tool for determination of fat-free cocoa solids in dark chocolates. *European Food Research and Technology* 236 963-968
40. DRANCA F, OROIAN M (2016) Optimization of ultrasound-assisted extraction of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) from eggplant (*Solanum melongena* L.) peel. *Ultrasonics Sonochemistry* 31 637-646
41. EFSA (2008) Food additives and hyperactivity. *Tanulmány* 1-27
42. ELBANNA K, SARHAN O M, KHIDER M, ELMOGY M, ABULREESH H H, SHAABAN M R (2017) Microbiological, histological, and biochemical evidence for the adverse effects of food azo dyes on rats. *Journal of Food and Drug analysis* 25 667-680
43. FAVIER J P, MIKLOS A, BICANIC D (1993) New and versatile photoacoustic cell for studies of powdered specimens across broad spectral range. *Acta Chimica Slovenica* 40 115-122
44. FAVIER J P, BUIJS J, MIKLÓS A, LŐRICZ A, BICANIC D (1994) Photoacoustic characterization of different food samples. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung* 199 59-63
45. FAVIER J P, DADARLAT D, GIBKES J, VAN den BERG C, BICANIC D (1998) Thermal diffusivity of a hard boiled candy obtained by photothermal beam deflection and standard photopyroelectric method. *Journal Instrumentation Science & Technology* 26 113-124

46. FRANCIS F J (1992) A new group of food colorants. *Trends in Food Science & Technology* 3 27-30
47. FUNG F, WANG H S, MENON S (2018) Food safety in the 21st century. *Biomedical Journal* 41 88-95
48. FURIA T E (Ed.) (1980) CRC Handbook of Food Additives, 2nd Edition, Vol.I, *CRC Press*, Boca Raton, FL 339-384
49. GARCÍA-FALCÓN M S, SIMAL-GÁNDARA J (2005) Determination of food dyes in soft drinks containing natural pigments by liquid chromatography with minimal clean-up. *Food Control* 16 293-297
50. GAUTAM N (2015) Food colorants and their toxicology: an overview. *Sunsari Technical College Journal* 2 69-75
51. GENNARO M C , GIOANNINI E , ANGELINO S , AIGOTTI R , GIACOSA D (1997) Identification and determination of red dyes in confectionery by ion-interaction high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography* 767 87-92
52. GOLKA K, KOPPS S, MYSLAK Z W (2004) Carcinogenicity of azo colorants: influence of solubility and bioavailability. *Toxicology Letters* 151 203-210
53. GONZÁLEZ M, GALLEGO M, VALCÁRCEL M (2002) Automatic screening method for the rapid and simple discrimination between synthetic and natural colorants in food. *Analytica Chimica Acta* 464 237-247
54. GONÇALVES L C P, TRASSIM A D S, LOPES N B, DÖRR F A, DOS SANTOS M T, BAADER W J, OLIVEIRA V X, BASTOS E L (2012) A comparative study of the purification of betanin. *Food Chemistry* 131 231-238

55. GREGOSITS B (2010) A természetes eredetű karotinoidok felszívódása és szöveti megoszlása házityúkban. *Doktori disszertáció*, Szent István Egyetem, Gödöllő 1-113
56. GRIFFITHS J C (2005) Coloring Foods & Beverages. *Food Technology* 59 38-44
57. GUESMI A., LADHARI N., HAMADI N. B, SAKLI F (2012) A. Isolation, identification and dyeing studies of betanin on modified acrylic fabrics *Industrial Crops and Products* 37 342-346
58. GUIAMBA I, AHRNE L, KHAN M A M, SVANBERGA U (2016) Retention of β -carotene and vitamin C in dried mango osmotically pretreated with osmotic solutions containing calcium or ascorbic acid. *Food and Bioprocess Processing* 98 320-326
59. GUNESER O (2016) Pigment and color stability of beetroot betalains in cow milk during thermal treatment. *Food Chemistry* 196 220–227
60. HARREN F J M, COTTIG, OOMENS J, HEKKERT S T L (2000) Photoacoustic Spectroscopy in Trace Gas Monitoring, In: MEYERS R A (Ed.) *Encyclopedia of Analytical Chemistry John Wiley and Sons Ltd*, Chichester 2203-2226
61. HEGEDIS V A (2010) A fotoakusztikus spektroszkópia széleskörű alkalmazhatóságának alátámasztása az iparban, a biológiában és a környezetvédelemben. *Doktori disszertáció*, SZTE TTIK, Szeged 1-129
62. HIRSCHLER R, ZWINKELS J (2007) Use of CIE colorimetry in pulp, paper, and textil industries, In: Colorimetry: SCHANDA J (Ed.) *Understanding the CIE System. Wiley-Interscience*, Vienna 411-432

63. HODGKINSON J, JOHNSON M, DAKIN J P (2005) Quantitative analysis of a closed photoacoustic cell that uses a high compliance piezoelectric transducer. *Journal of Applied Physics* 98 1-14
64. HOFMANN M, BIERL R, RÜCK T (2012) Implementation of a dual-phase lock-in amplifier on a TMS320C5515 digital signal processor. *2012 5th European DSP Education and Research Conference (EDERC)*, Amsterdam 20-24 DOI: 10.1109/EDERC.2012.6532217
65. HOMOKI J R, NEMES A, FAZEKAS E, GYÉMÁNT GY, BALOGH P, GÁL F, AL-ASRI J, MONTIER J, WOLBER G, BABINSZKY, REMENYIK J (2016) Anthocyanin composition, antioxidant efficiency, and α -amylase inhibitor activity of different Hungarian sour cherry varieties (*Prunus cerasus* L.). *Food Chemistry* 194 222-229
66. HOVORKÁNE H ZS (2014) Fűszerpaprika örlemények érzékelt és mért színjellemzői. *Doktori disszertáció*, Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest 1-145
67. HU J Z, SKRABAL P, ZOLLINGER H (1987) A Comparison of the absorption spectra of a series of Blue disperse dyes with the calorimetric evaluation of their dyeings. *Dyes and Pigments* 8 189-209
68. IARC (2010) Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some Aromatic Amines, Organic Dyes, and Related Exposures. *Tanulmány Lyon* 99 55-67

69. IFIC (INTERNATIONAL FOOD INFORMATION COUNCIL) FOUNDATION US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA) (2004) Food ingredients & colors. *International Food Information Council (IFIC) Foundation*, Washington 1-8
70. ISLAM S N, NUSRAT T, BEGUM P, AHSAN M (2016) Carotenoids and b-carotene in orange fleshed sweet potato: A possible solution to vitamin A deficiency. *Food Chemistry* 199 628-631
71. JANISZEWSKA-TURAK E, PISARSKA A, KROLCZYK J B (2016). Natural food pigments application in food products. *Nauka Przyroda Technologie* 51 1-13
72. JARMAN W M, BALLSCHMITER K (2012) From coal to DDT: the history of the development of the pesticide DDT from synthetic dyes till Silent Spring. *Endeavour* 36 131-142
73. KANSTAD S O - NORDAL P E (1980) Photoacoustic and photothermal techniques for powder and surface spectroscopy. *Applications of Surface Science* 6 372-391
74. KAPIL J C, JOSHI S K, RAIA A K (2003) In situ photoacoustic investigations of some optically transparent samples like ice and snow. *Review of Scientific Instruments* 74 3536-3543
75. KHAN A, IQBAL Z, REHMAN Z, NASIR F, KHAN A, ISMAIL M, ROOHULLAH, MOHAMMAD A (2014) Application of SeDeM Expert system in formulation development of effervescent tablets by direct compression. *Saudi Pharmaceutical Journal* 22 433-444

76. KOVÁCS M, DÓKA O, KULCSÁR R (2014) Élelmiszer-színezékek színparamétereinek vizsgálata étrendkiegészítőkből színméréssel és fotoakusztikus spektroszkópiával. *Acta Ovariensis* 1 43-52
77. 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
78. 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
79. KREUZER L B, KENYON N D, PATEL C K N (1972) Air Pollution: Sensitive Detection of Ten Pollutant Gases by Carbon Monoxide and Carbon Dioxide Lasers. *Science* 177 347-349
80. KUMARI R, MEGHWAL M (2016) Benefits of food colours and safety in usage., *Ingredients South Asia* 1 22-24
81. LANGI P, KIOKIAS S, VARZAKAS T, PROESTOS C (2018) Carotenoids: From Plants to Food and Feed Industries, In: BARREIRO C, BARREDO J L (Eds.) Microbial Carotenoids. Methods in Molecular Biology. *Humana Press*, New York, NY 57-71
82. LARRAIN R E, SCHAEFER D M, REED J D (2008) Use of digital images to estimate CIE color coordinates of beef. *Food Research International* 41 380-385

83. LEE J, DURST R W, WROLSTAD R E (2005) Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal of AOAC International* 88 1269–1278
84. LEE J, RENNAKER C, WROLSTAD R E (2008) Correlation of two anthocyanin quantification methods: HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chemistry* 110 782-786
85. LI D, MENG X, LI B (2016) Profiling of anthocyanins from blueberries produced in China using HPLC-DAD-MS and exploratory analysis by principal component analysis. *Journal of Food Composition and Analysis* 47 1-7
86. LIANG Z, SANG M, FAN P, WU B, WANG L, YANG S, LI S (2011) CIELAB Coordinates in Response to Berry Skin Anthocyanins and Their Composition in *Vitis*. *Journal of Food Science* 76 490–497
87. LIN W S, HE P H CHAU C F, LIOU B K, LI S, PAN M H (2018) The feasibility study of natural pigments as food colorants and seasonings pigments safety on dried tofu coloring. *Food Science and Human Wellness* 7 220-228
88. LONGO L, VASAPOLLO G (2006) Extraction and identification of anthocyanins from *Smilax aspera* L. berries. *Food Chemistry* 94 226-231
89. LUKÁCS GY (1982) Színmérés. *Műszaki Könyvkiadó*, Budapest 1-340
90. LUO C, XING D (2010) Photoacoustic measurement of liquid viscosity. *Applied Physics Letters* 96 1-3

91. MAK Y W, CHUAH L O, AHMAD R, BHAT R (2013) Antioxidant and antibacterial activities of hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) and Cassia (*Senna bicapsularis* L.) flower extracts. *Journal of King Saud University – Science* 25 275-282
92. MARQUERINI M V, CELLA N, MANSANARES A M, VARGAS H, MIRANDA L C M (1991) Open photoacoustic cell spectroscopy. *Measurement Science and Technology* 2 396-401
93. MARTINS N, RORIZ C L, MORALES P, BARROS L, FERREIRA I C F R (2016) Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agroindustries to ensure consumer expectations and regulatory practices. *Trends in Food Science & Technology* 52 1-15
94. McCANN D, BARRETT A, COOPER C, CRUMPLER D, DALEN L, GRIMSHAW K, KITCHIN E, LOK K, PORTEOUS L, PRINCE E, SONUGA-BARKE E, WARNER J O, STEVENSON J (2007) Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *The Lancet* 370 1560-1567
95. MERCALI G D, JAESCHKE D P, TESSARO I C, MARCZAK L D F (2013) Degradation kinetics of anthocyanins in acerola pulp: Comparison between ohmic and conventional heat treatment. *Food Chemistry* 136 853-857
96. MINIOTI K S, SAKELLARIOU C F, NIKOLAOS S. THOMAIDIS N S (2007) Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector. *Analytica Chimica Acta* 583 103-110

97. MOKRZYCKI W, TATOL M (2011) Color difference Delta E - A survey. *Machine Graphics and Vision* 20 383-411
98. MORRIS P J T, TRAVIS A S A (1992) History of the International Dyestuff Industry. *American Dyestuff Reporter* 81 59-100
99. MORTENSEN A (2006) Carotenoids and other pigments as natural colorants. *Pure and Applied Chemistry* 78 1477–1491
100. MORTIMER R J, VARLEY T S (2012) In situ spectroelectrochemistry and colour measurement of a complementary electrochromic device based on surface-confined Prussian blue and aqueous solution-phase methyl viologen. *Solar Energy Materials & Solar Cells* 99 213–220
101. MUNAWAR N, JAMIL H M T bt H (2014) The Islamic Perspective Approach On Plant Pigments As Natural Food Colourants. *Procedia - Social and Behavioral Sciences* 121 193-203
102. NÁTHIA-NEVES G, MEIRELES M A A (2018) Genipap: A New Perspective on Natural Colorants for the Food Industry. *Food and Public Health* 8 21-33
103. NISHA P, NAZAR P A, JAYAMURTHY P (2009) A comparative study on antioxidant activities of different varieties of Solanum melongena. *Food and Chemical Toxicology* 47 2640-2644
104. OANCEA S, STOIA M, COMAN D (2012) Effects of extraction conditions on bioactive anthocyanin content of Vaccinium corymbosum in the perspective of food applications. *Procedia Engineering* 42 489-495

- 105.OBÓN J M, CASTELLAR M R, ALACID M, FERNÁNDEZ-LÓPEZ (2009) Production of a red–purple food colorant from *Opuntia stricta* fruits by spray drying and its application in food model systems. *Journal of Food Engineering* 90 471-479
- 106.PAPP N (2014) Csonthéjas gyümölcsök antioxidáns kapacitásának és a meggy polifenol-mintázatának vizsgálata. *Doktori disszertáció* Debreceni Egyetem, Debrecen 1-150
- 107.PARMAR M, PHUTELA U G (2015) Biocolors: The New Generation Additives. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 4 688-694
- 108.PATEL A A, PARIKH R H, SHARMA O P, MEHTA T A (2015) Development and optimization of effervescent tablets of promethazine. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 6 5077-5084
- 109.PEDRO A C, GRANATO D, ROSSO N D (2016) Extraction of anthocyanins and polyphenols from black rice (*Oryza sativa* L.) by modeling and assessing their reversibility and stability. *Food Chemistry* 191 12-20
- 110.PEREZ-IBARBIA L, MAJDANSKI T, SCHUBERT S, WINDHAB N, SCHUBERT U S (2016) Safety and regulatory review of dyes commonly used as excipients in pharmaceutical and nutraceutical applications. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 93 264-273
- 111.PRADO M A, GODOY H T (2007) Synthetic dyes are much used in processed foods. *Quimica Nova* 30 268-273

- 112.PRIOR R L, WU X (2012) Analysis Methods of Anthocyanins, In: XU Z, HOWARD L R (Eds.) Analysis of Antioxidant-Rich Phytochemicals. *John Wiley and Sons Ltd*, Chichester 149-180
- 113.RABINO I, MANCINELLI A L (1986) Light, temperature, and anthocyanin production. *Plant Physiology* 81 922-924
- 114.RAKIC V P, SKRT M A, MILJKOVIC M N, KOSTIC D A, SOKOLOVIC D T, ULRIH N E P (2015) Effects of pH on the stability of cyanidin and cyanidin 3-O- β -glucopyranoside in aqueous solution. *Hemijaska industrija* 69 511-522
- 115.RAO P, SUDERSHAN R V (2008) Risk assessment of synthetic food colours: a case study in Hyderabad, India. *International Journal of Food Safety, Nutrition and Public Health* 1 68-87
- 116.REINHEIMER M A, MUSSATI S F, SCENNA N J (2012) Optimization of operating conditions of a cooling tunnel for production of hard candies. *Journal of Food Engineering* 109 22-31
- 117.RENUKA N, MATHURE S V, ZANAN R L, THENGANE R J, NADAF A B (2016) Determination of some minerals and b-carotene contents in aromatic indica rice (*Oryza sativa* L.) germplasm. *Food Chemistry* 191 2-6
- RODRIGUEZ-AMAYA D B (2016) Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science* 7 20-26
- 118.ROSENCWAIG A (1973) Photoacoustic spectroscopy of solids. *Optics Communications* 7 305-308
- 119.ROSENCWAIG A, GERSHO A (1976) Theory of the photoacoustic effect with solids. *Journal of Applied Physics* 47 64-69

- 120.ROSENCWAIG A (1980) Photoacoustics and Photoacoustic Spectroscopy. *John Wiley & Sons* New York 1-12
- 121.ROUXEL J, COUTARD J G, GIDON S, LARTIGUE O, NICOLETTI S, PARVITTE B, VALLON R, ZENINARI V, GLIERE A (2016) Miniaturized differential Helmholtz resonators for photoacoustic trace gas detection. *Sensors and Actuators B: Chemical* 236 1104-1110
- 122.RUNGPICHAYAPICHET P, MAHAYOTHEE B, KHUWIJITJARU P, NAGLE M, MÜLLER J (2015) Non-destructive determination of b-carotene content in mango by near-infrared spectroscopy compared with colorimetric measurements. *Journal of Food Composition and Analysis* 38 32-41
- 123.SAENZ C, CANCINO B, ROBERT P (2012) Red betalains from *Opuntia* spp.: Natural colorants with potential applications in foods. *Israel Journal of Plant Sciences* 60 291-299
- 124.SALMANI S, MAJLES ARA M H, ZAKERHAMIDI M S, SAFARIE (2016) The acoustical sensor: The photoacoustic effect in an azo-dye. *Dyes and Pigments* 125 132-135
- 125.SAYAR S, ÖZDEMİR Y (1998) First-derivative spectrophotometric determination of Ponceau 4R, Sunset Yellow and Tartrazine in confectionery products. *Food Chemistry* 61 367-372
- 126.SCOTTER M (2009) The chemistry and analysis of annatto food colouring: a review. *Food Additives & Contaminants* 26 1123-1145

127. SEZGIN A C, AYYILDIZ S (2017) Food Additives: Colorants In: MENDEZ-VILAS A (Ed.) Science within Food: Up-to-date Advances on Research and Educational Ideas, *Formatex Research Center*, 87-94 ISBN: 978-84-947512-1-9
128. SHAHID M, ISLAM S U, MOHAMMAD F (2013) Recent advancements in natural dye applications: a review. *Journal of Cleaner Production* 53 310-331
129. SHAMINA A, SHIVA K N, PARTHASARATHY V A (2007) Food colours of plant origin. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 2 1-25
130. SHEN Y, ZHANG X, PRINYAWIWATKUL W, XU Z (2014) Simultaneous determination of red and yellow artificial food colourants and carotenoid pigments in food products. *Food Chemistry* 157 553-558
131. SIGURDSON G T, TANG P, GIUSTI M M (2017) Natural Colorants: Food Colorants from Natural Sources. *Annual Review of Food Science and Technology* 8 261-280
132. SLOAN A E (2011) Navigating the Natural Marketplace. *Food Technology* 65 24-33
133. SOBAŃSKA A W, PYZOWSKI J, BRZEZIŃSKA E (2017) SPE/TLC/Densitometric Quantification of Selected Synthetic Food Dyes in Liquid Foodstuffs and Pharmaceutical Preparations. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* 5 1-9
134. SOROURADDIN M H, SAADATI M (2010) A simple fabrication of portable diffuse reflectometer for simultaneous analysis of common food dyes. *Sensors and Actuators* 145 367-372

- 135.SPENCE C (2015) On the psychological impact of food colour. *Flavour* 4 1-16
- 136.STARECKI T, GERAS A (2014) Improved Open Photoacoustic Helmholtz Cell. *International Journal of Thermophysics* 35 2023-2031
- 137.STEVENS L J, BURGESS J R, STOCHELSKI M A, KUCZEK T (2015) Amounts of artificial food dyes and added sugars in foods and sweets commonly consumed by children. *Clinical Pediatrics (Phila)* 54 309-321
- 138.STINTZING F C, TRICHTERBORN J, CARLE R (2006) Characterisation of anthocyanin–betalain mixtures for food colouring by chromatic and HPLC-DAD-MS analyses. *Food Chemistry* 94 296-309
- 139.SU X, XU J, RHODES D, SHEN Y, SONG W, KATZ B, TOMICH J, WANG W (2016) Identification and quantification of anthocyanins in transgenic purple tomato. *Food Chemistry* 202 184-188
- 140.SWEENEY E A, CHIPMAN J K, FORSYTHE S J (1994) Evidence for Direct-acting Oxidative Genotoxicity by Reduction Products of Azo Dyes. *Environmental Health Perspectives* 102 119-122
- 141.TAN J B L, LIM Y Y, LEE S M (2014) Rhoeo spathacea (Swartz) Stearn leaves, a potential natural food colorant. *Journal of Functional Foods* 7 443-451

142. THANI M Z, AL-AMERI S A H, SULTAN M S (2018) Spectrophotometric Determination of Ponceau 4R in the Several Beverages Using Mixed Micelles after Cloud Point Extraction. *Journal of Al-Nahrain University* 21 8-13
143. THOMAS N C (1991) The Early History of Spectroscopy. *Journal of Chemical Education* 68 631-634
144. TORSKANGER POLL K, ANDERSEN Ø M (2005) Colour stability of anthocyanins in aqueous solutions at various pH values. *Food Chemistry* 89 427-440
145. TSUDA S, MURAKAMI M, MATSUSAKA N, KANO K, TANIGUCHI K, SASAKI Y F (2001) DNA Damage Induced by Red Food Dyes Orally Administered to Pregnant and Male Mice. *Toxicological Sciences* 61 92-99
146. TURAK F, DINÇ M, DÜLGER Ö, ÖZGÜR M U (2014) Four Derivative Spectrophotometric Methods for the Simultaneous Determination of Carmoisine and Ponceau 4R in Drinks and Comparison with High Performance Liquid Chromatography. *International Journal of Analytical Chemistry* 12th of Feb. 1-11
DOI: 10.1155/2014/650465
147. URL¹: www.fdstorytime.com/2018/01/19/national-popcorn-day-orange-cats-and-color-additive-amendments/
148. WANG H, CAO G, PRIOR R L (1997) Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45 304-309
149. WATANABEA T, TERABEB S (2000) Analysis of natural food pigments by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography* 880 311-322

150. WHO (2011) Guideline: Vitamin A supplementation in infants and children 6–59 months of age. *Publication Geneva* 1-29
151. WISSGOTT U, BORTLIK K (1996) Prospects for new natural food colorants. *Trends in Food Science & Technology* 7 298-302
152. WOLFF M, GRONINGA H G, BAUMANN B, KOST B, HARDE H (2005) Resonance investigations using PAS and FEM. *Acta Acustica* 91 1477-1481
153. WROLSTAD R E, DURST R W, LEE J (2005) Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trends in Food Science & Technology* 16 423-428
154. WROLSTAD R E, CULVER C A (2012) Alternatives to Those Artificial FD&C Food Colorants. *Review of Food Science and Technology* 3 59-77
155. YAMJALA K, NAINAR M S, RAMISETTI N R (2016) Methods for the analysis of azo dyes employed in food industry - A review. *Food Chemistry* 192 813-824
156. YOSHIOKA N, ICHIHASHI K (2008) Determination of 40 synthetic food colors in drinks and candies by high-performance liquid chromatography using a short column with photodiode array detection. *Talanta* 74 1408-1413
157. YUSUF M. SHABBIR M, MOHAMMAD F (2017) Natural Colorants: Historical, Processing and Sustainable Prospects. *Natural Products and Bioprospecting* 7 123-145
158. ZAIDEL D N A, SAHAT N S, JUSOH Y M M, MUHAMAD I I (2014) Encapsulation of Anthocyanin from Roselle and Red Cabbage for Stabilization of Water-in-Oil Emulsion. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* 2 82-89

- 159.ZAJAC A J, BARROWS J N (2017) FDA's Regulation of Color Additives. *Food Safety Magazine* Oct/Nov 38-43
- 160.ZHANG H, LIU R, TSAO R (2016) Anthocyanin-rich phenolic extracts of purple root vegetables inhibit pro-inflammatory cytokines induced by H₂O₂ and enhance antioxidant enzyme activities in Caco-2 cells. *Journal of Functional Foods* 22 363-375
- 161.ZHAO J J, ZHAO Z, DU L D, WU S H (2011) Macro Machined Photoacoustic Non-resonant Cell. *Key Engineering Materials* 483 411-416
- 162.ZOLLINGER H (1958) *Chemie Der Azofarbstoffe*. Springer US 180 ISBN: 978-3-0348-6838-9
- 163.1333/2008/EK: Az Európai Parlament és a Tanács 1333/2008/EK rendelete (2008. december 16.) az élelmiszer-adalékanyagokról
- 164.231/2012/EU: Bizottság 231/2012/EU rendelete (2012. március 9.) az 1333/2008/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet II. és III. mellékletében felsorolt élelmiszer-adalékok specifikációjának meghatározásáról

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

*Ezúton szeretnék köszönetet mondani konzulensemnek, **Prof. Dr. Dóka Ottó** professzor úrnak a mérések elvégzésében, és kiértékelésében, valamint a disszertáció megírásában nyújtott segítségéért, hasznos tanácsaiért, támogatásáért és fáradhatatlan munkájáért.*

*Köszönettel tartozom **Dr. Ajtony Zsolt** egyetemi docens úrnak a szakmai segítségért.*

*Köszönettel tartozom a **Győri Keksz Kft.** győri üzemének munkatársainak a szakmai támogatásukért.*

*Köszönettel tartozom a **PEZ Hungária Kft.** munkatársainak, kiemelten **Kulcsár Róbert** ügyvezető igazgató úrnak a szakmai segítségükért, és a vizsgált mintákért.*

*Utoljára, de nem utolsó sorban **családomnak** támogatásukért, belém vetett hitükért.*