

## Kémiai folyamatok hatása a tárolt paradicsomsűrítmény színére I.

### Hidroximetilfurfurol jelentősége a nem enzimes barnulási reakcióban

ACZÉL ATTILA

Szegedi Konzervgyár

Érkezett: 1967. július 28.

A technológiai feldolgozás során, helytelen hőkezelés esetén, valamint hosszabb ideig tartó tárolásnál a paradicsomsűrítmény komponensei sokféle elválást szenvednek, melyek egyrészt táplálkozásélettani, másrészt értékesíthetőségi szempontból hátrányosan befolyásolják a készítményt. A változások közül külön ki kell emelni azt a nem enzimátikus barnulási reakciót, mely a készítmény elszíneződéséhez vezet. A folyamat mechanizmusával *Maillard* (1) foglalkozott először, szerinte a reakció – kedvező körülmények között – aminosavak és redukált cukrok között játszódik le és végső lépésként barna elszíneződésű termékeket eredményez. A folyamat egyes lépései az utóbbi időben tisztázódtak. Ezek szerint első lépésként egy enol jön létre, mely *Amadori*-féle átrendeződéssel keto-formába megy át. A következő lépésként víz kilépésével *Schiff*-bázis keletkezik. Innen a folyamat két irányba haladhat: vagy közvetlen polimerizáció játszódik le, vagy közbenső termék – hidroximetilfurfurol – létrejöttével kondenzáció. Mindkét esetben barna színű melanoidinek képződnek. A folyamat sematikus ábrázolása (1. ábra).

Kísérletek azt mutatták, hogy a folyamat lefutása az esetek többségében hidroximetilfurfurolnak, mint közbenső terméknek keletkezése mellett kondenzációval játszódik le (2,3).

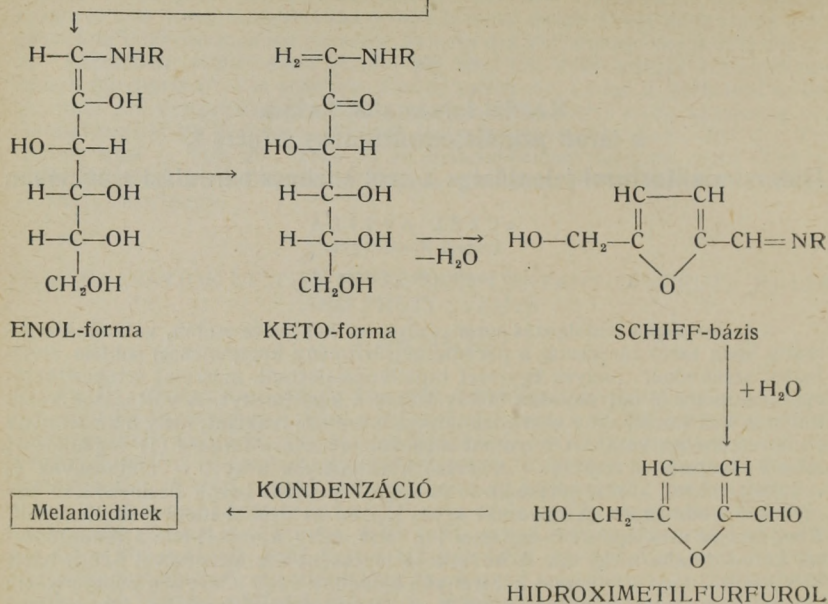
Tapasztalatunk szerint a paradicsomsűrítmény, melyben különböző barnító hatású antioxidáns található, tárolás folyamán *Maillard*-reakció lejátszódására hajlamos. Kísérleteket végeztünk a folyamat közti termékének – a hidroximetilfurfurolnak – a kimutatására és meghatározására. Mintaként 30 ref. %-ú sűrített paradicsomot használtunk, a Szegedi Konzervgyár termékét, melyhez 5% aminosavat (lizint) kevertünk. Azért esett választásunk összetevő komponensként a lizinre, mert ez az aminosav – mint sok irodalmi adat utal erre – a *Maillard* reakcióban résztvesz (4, 5, 6). A sűrítményt 1 évig tároltuk üvegelve 25–27 °C-on raktári körülmények között. Nullpróbaként ugyanezen anyagot kasználtuk –20 °C-on tárolva.

Kísérleti rész.

#### 1. Paradicsomsűrítmény hidroximetilfurfurol-tartalmának papírkromatográfiás meghatározása

*Iwaisky* és *Franzke* (7) munkáiból ismerünk egy meghatározási módot, mindkettő lehetségesnek tartja, hogy a hidroximetilfurfurol jelenléte a készítményben a nem enzimátikus barnulási reakció folyamatának bizonyítéka.

AMINOSAV + GLÜKOZ



1. ábra

A biológiai anyagok között fennálló nagy koncentrációkülönbség hatásaként előfordulhat, hogy a meghatározás során a hidroximetilfurfurol nem található a várt mennyiségben, illetve, hogy a nagy túlsúlyban levő szénhidrátok „elfátyolozzák” a kromatogramot, ennek következtében fedés jön létre. Egy ötletes elválasztási lehetőség révén – a hidroximetilfurfurol a szénhidrátoktól vízgőzdesztillációval elválasztható – a könnyen vízgőzdesztillálható furfurol kivonható a rendszerből. A folt helyzetének felderítésére a következő kompenzáló adatokat használtuk:

hidroximetilfurfurol	25 mg/25 ml vizes oldat,
glükóz	500 mg/25 ml vizes oldat,
fruktóz	500 mg/25 ml vizes oldat,
furfurol frissen deszt.	200 mg/25 ml vizes oldat.

Az egyes összetevők koncentrációját figyelembe véve a papírra mindenkor 0,015 ml anyagot vittünk fel egy 0,1 ml-es pipettával. A kromatográfiás meghatározást leszálló módszerrel végeztük, papírként Schleicher–Schüll 2040 a-t, futtatószerként butanol-etanol-víz 2,5 : 3,5 : 1 keverékét használtuk, futtatási idő 4 óra.

Megszáradás után a kromatogramot rezorcín-triklórecetsav oldatával (8) lefújtuk és 103 C°-on 7 percig szárítottuk. Ekkor a hidroximetilfurfurol világító téglavörös foltja jól észlelhető, növekvő előhívási idő esetén egy tompa barna

szín megjelenésével kell számolni. Kimérve több esetben a hidroximetilfurfurol  $R_f$ -értékét:

0,815 0,820 0,825 0,820 0,815 0,820 0,825

A fruktózhoz a következő  $R_f$ -értékek tartoznak:

0,401 0,405 0,390 0,394 0,400 0,390 0,405

A fenti előhívással a furfurol és a glükóz nem mutatható ki, ezeknél 2,4 dinitrofenilhidrazin oldatot használtunk előhívóként (9), ily módon a már meghatározott hidroximetilfurfurol és fruktóz  $R_f$ -értékek mellett meghatároztuk a glükózét is, mely a következőknek adódott:

0,355 0,365 0,375 0,360 0,365 0,355 0,375

Közismert, hogy a furfurol a papíron egy sárgás-barna folt megjelenésével reagál a 2,4 dinitrofenilhidrazinnal, így lehetővé válik hidrazonjának képzése és vizsgálata.

#### *A meghatározandó anyag feldolgozása*

25 g paradicsomsűrítményt, melyet a már fent leírt módon készítettünk és tároltunk, 120 ml vízben mágneses keverő segítségével alaposan elkevertünk, majd szobahőmérskleten egy órán át állni hagyunk. Utána szűrjük, a maradékot 100 ml vízzel felvettük és újból szűrjük. A vizes szűrletet kétszer 150 ml etilacetáttal kiráztuk (10). Az etilacetát extraktumot vákuumban maximálisan 50 C°-on kb. 10 ml-re bepároltuk. A papírkromatográfiás hidroximetilfurfurol meghatározáshoz a bepárolt etilacetátból 0,1 ml-es pipettával 0,015 ml-t kromatográfiás papírra vittünk fel. Továbbiakban a már leírtak szerint jártunk el. Előhívóként rezorcín-triklórectesavat és 2,4 dinitrofenilhidrazint használtunk.

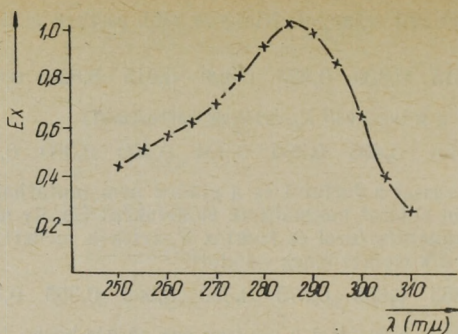
#### *Hidroximetilfurfurol kimutatása $R_f$ -értékének meghatározásával*

A nullpróba halvány, de körvonalazható foltot ad, melynek  $R_f$ -értéke a hidroximetilfurfurol próbaértékével összhangban van. Raktári körülményeknek megfelelően tárolt mintánál lényegesen intenzívebb foltot kapunk, melyet téglavörös szín jellemez,  $R_f$ -értéke pedig 0,820–0,835 között változik. A folt intenzitás a jelen esetben egy olyan fontos lelet, melynek segítségével kvantitatív spektrofotometriás hidroximetilfurfurol meghatározás végezhető.

A hidroximetilfurfurol jelenlétének bizonyítására további azonosítási lehetőségeket kerestünk.

#### *Hidroximetilfurfurol kimutatása abszorpciós spektrumának meghatározásával*

Az  $R_f$ -értékek általában nem elégségesek egy ismeretlen vegyület azonosításához, ezért célszerű más módszerekkel is igazolni feltevésünket. Ilyen értelemben az etilacetát oldatot, mely feltevésünk szerint a hidroximetilfurfurolt tartalmazza kromatografáljuk anélkül, hogy a kromatogram teljes kifejlődését megvárnánk. Ezáltal ugyanis lehetségessé válik a hidroximetilfurfurol-zóna fekvésének megfigyelése kvarclámpa alatt. Az ily módon jól körülhatárolható részt kivágjuk a papírból, a kivágott csíkot kis főzőpohárban 5 ml etilacetáttal kezeljük, majd 30 perc rázogatás után az oldat abszorpciós spektrumát tiszta etilacetáttal szemben meghatározzuk, az abszorpció maximum 285 m $\mu$ -nek adódott, összhangban a tiszta hidroximetilfurfurol vizes oldatában nyert értékkel (2. ábra).



2. ábra

### *Hidroximetilfurfurol kimutatása 2,4 dinitrofenilhidrazonjának spektrofotometriás meghatározásával*

Egy újabb lehetőség a meghatározandó anyag hidroximetilfurfurol-tartalmának egyértelmű kimutatására hidrazonjának meghatározása. Megállapítottuk, hogy kromatográfiás meghatározásnál, ha a papírt 2,4 dinitrofenilhidrazinnal fújtuk le, hidroximetilfurfurol jelenlétében annak hidrazinjja jelenik meg a papíron, mely szárítás után eluálható és spektroszkóposan mérhető.

A 2,4 dinitrofenilhidrazinnak használatát specifikus reagensként karbonilvegyületekhez már régen használják (11). Az utóbbi időben kromatográfiás meghatározásoknál is ez használatos (12). Összehasonlító anyagként a méréshez 2,4 dinitrofenilhidrazont használtunk, melyet tiszta hidroximetilfurfurolból állítottunk elő.

### *2,4 dinitrofenilhidrazon előállítása hidroximetilfurfurolból*

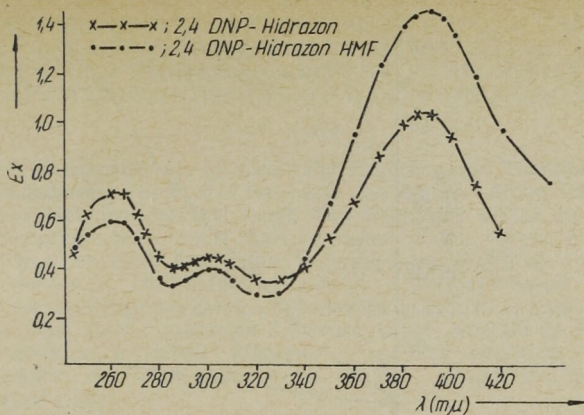
200 mg tiszta hidroximetilfurfurolt 100 ml etanolban oldottunk és rázogatás közben 0,5 g 2,4 dinitrofenilhidrazinnak 300 ml 5 normál HCl-ban oldott és szűrt oldatát adtuk hozzá. A lassanként megjelenő hidrazont két órán át szobahőmérsékleten állni hagytuk, majd nuccsolva szűrtük, 5 n alkoholos HCl-val és etanollal mostuk, exikátorban szárítottuk, nitrobenzoldból kétszer átkristályosítottuk.

### *2,4 dinitrofenilhidrazon spektrofotometriás meghatározása*

2,5 mg-t az így előállított vegyületből 10 ml etilacetátban feloldottunk és 15 perc rázogatás, majd szűrés után spektrumát a szabad etilacetát összehasonlító oldatával szemben meghatároztuk. A hidroximetilfurfurolból előállított 2,4 dinitrofenilhidrazon három maximumot mutat 263 m $\mu$ -, 305 m $\mu$ -, 390 m $\mu$ -nál (3. ábra).

### *Meghatározás tárolt paradicsomsűrítményben*

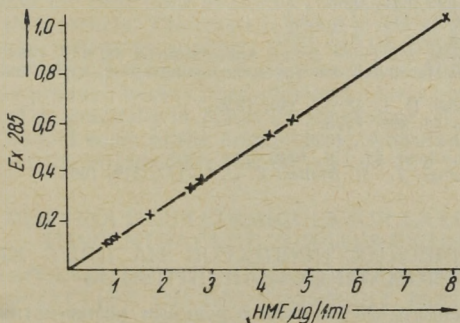
Mint már említettük, etilacetát extraktumot készítettünk, ezt kromatografáltuk, a papírt lefújtuk, s a folt, mely 2,4 dinitrofenilhidrazont tartalmaz, így a kromatogramból kimutatható.



3. ábra

#### Hidroximetilfurfurol kvantitatív spektrofotometriás mérése

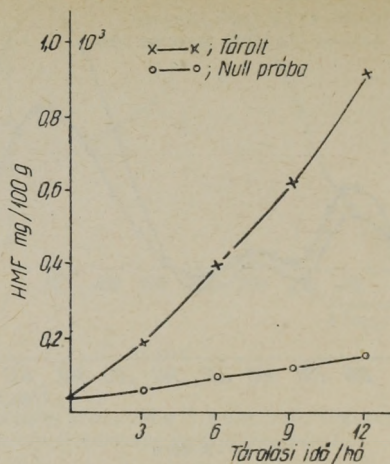
Lange és Müller (13) közlése után végeztük el ezen analitikai meghatározást. Zeiss spektrálfotométerrel dolgoztunk és 1 cm küvettában vízzel, mint összehasonlító oldattal szemben határoztuk meg az értékeket (4. ábra).



4. ábra

## 2. Hidroximetilfurfurol mennyiségi változása a tárolás folyamán

Paradicsomsűrítményünket egy éven keresztül tároltuk raktári körülményeknek megfelelően, három hónaponként – a már leírt módon – fotométeres mennyiségi hidroximetilfurfurol meghatározást végeztünk és megállapítottuk, hogy az irodalmi adatokkal összhangban (13) a hidroximetilfurfurol mennyisége meredeken emelkedik, míg a nullpróba esetében lényegesen kisebb növekedés tapasztalható (5. ábra). Továbbiakban a karotinoidoknak a tárolás folyamán fellépő változásaira fogunk kitérni.



5. ábra

#### IRODALOM

- (1) Maillard, L. C.: Ann. Chim. 5, 258, 1916.
- (2) Gottschalk, A.: Nature 165, 684, 1950.
- (3) Heintze, K.: D. L. R. 51, 69, 1955.
- (4) Ross, I.: Milchwiss. 14, 579, 1959.
- (5) Schormüller, J.: Z.U.L. 118, 112, 1962.
- (6) Dulkin, S. J.: Food Res. 21, 512, 1956.
- (7) Franzke, C., Iwainsky, H.: Fette, Seifen Anstrichmittel 58, 859, 1956.
- (8) Hais, J. K. Macek: Handbuch der Papierchromatographie, VEB Fischer Verlag, Jena 1958.
- (9) Koch, J., R. Kleesaat: D. L. R. 55, 246, 1959.
- (10) Fiehe, J.: Z. U. L. 56, 200, 1928.
- (11) Brady, O. L.: Analyst. 52, 77, 1926.
- (12) Jones, L. A.: Anal. Chem. 28, 191, 1956.
- (13) Schormüller, J. - Lange, J. - H. Müller: Z. U. L. 117, 379, 1962.

## ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ НА ЦВЕТ ХРАНЕННЫХ ТОМАТНЫХ КОНЦЕНТРАТОВ

### 1. Значение гидроксиметилфурфуrolа в реакции неэнзиматического коричневления

A. Ацел

Автор исследовал изменения цвета томатных концентратов возникнувших при хранении. Установил, что продукт в складских условиях склонный на реакцию Мейлльорда. Реакция происходящая при образовании переходных продуктов ведет к меланоидинам, которые способствуют образованию коричневого цвета. Весь процесс характеризуется определением гидроксиметилфурфуrolа переходного продукта. Установил, что при хранении переходный продукт составлял прилбл. 25 кратную величину первоначальной величины. При образцах храненных при температуре  $-20^{\circ}\text{C}$  повышение переходных продуктов составляют только 4 кратную величину.

EINFLUSS CHEMISCHER VORGÄNGE AUF DIE FARBE  
VON GELAGERTEN TOMATENKONZENTRAT.  
I. BEDEUTUNG DES HYDROXYMETHYLFURFUROLS IN DER  
NICHTENZYMATISCHEN BRÄUNUNGSREAKTION

A. Aczél

Verfasser untersuchte die im Laufe der Lagerung von Tomatenkonzentrat erfolgte Farbänderung. Er stellte fest, dass das Produkt unter Lagerungsverhältnissen zur Maillard-Reaktion neigt. Die Reaktion, welche unter Bildung eines Zwischenproduktes verläuft führt zu Melanoidinen, welche für die Bräunung verantwortlich sind. Der ganze Vorgang kann durch Bestimmung des Zwischenproduktes – Hydroxymethylfurfural – charakterisiert werden. Er stellte fest, dass die Menge des Zwischenproduktes im Laufe der Lagerung ständig zunahm und nach einer einjährigen Lagerung einen ungefähr 25-fachen Wert des Ausgangswertes erreichte. Während dieser Zeit wuchs die Menge des Zwischenproduktes der – als Nullprobe – bei 20 C° gelagerten Probe nur cca. um das Vierfache an.

EFFECT OF CHEMICAL PROCESSES ON THE COLOUR OF STORED  
TOMATO PURÉES.

I. SIGNIFICANCE OF HYDROXYMETHYLFURFURAL IN THE NON-  
ENZYMATIC BROWNING REACTION

A. Aczél

On examining the colour changes of tomato purées during storage, it was found that, under the conditions of storage, Maillard's reaction may take place very likely in the products. The reaction which proceeds through various intermediates leads to melanoidines which latter are responsible for the browning process. The entire process can be characterized and followed by determining the intermediate product: hydroxymethylfurfural. It was proved that the amount of this intermediate gradually increases during storage, attaining after one year of storage the 25-fold value of the original level. At the same time, the increase of the content of the intermediate was only 4-fold in a blank stored at -20°.

EFFET DES PROCESSUS CHIMIQUES SUR LA COULEUR DES  
CONCENTRATS DE TOMATES ENTREPOSÉS

I. IMPORTANCE DU FURFUROL HYDROXYMÉTHYLIQUE  
DANS LA RÉACTION DE BRUNISSEMENT NON ENZYMATIQUE

A. Aczél

L'auteur a étudié le changement de la couleur des concentrats de tomates survenu pendant l'entreposage. Il a établi que dans les conditions de l'entreposage la préparation est prédisposée à subir la réaction Maillard.

Cette réaction qui se fait avec la formation de produits intermédiaires mène à des mélanoidines qui sont responsables du brunissement. L'on peut caractériser le processus entier par le dosage du furfurolydroxyméthylque, son produit intermédiaire. Il a établi que pendant l'entreposage la quantité du produit intermédiaire était en croissance constante et après un entreposage d'une année sa quantité a été 25 fois celle de la valeur initiale. Dans un essai de contrôle maintenu à -20° C l'accroissement du produit intermédiaire n'a été que le quadruple pendant le même intervalle.