

A fűszerpaprika színezéktartalmának meghatározására szolgáló Benedek-féle és a vékonyrétegekromatográfiás módszer összehasonlító vizsgálata

HARKAYNÉ VINKLER MARGIT
Konzerv- és Paprikaipari Kutatóintézet, Budapest

Érkezett: 1974. június 3.

Élelmiszertudományi ismereteink bővülésével új irányt vett élelmiszereink minősítésének feladatköre. Az eddig elsőbbséget élvező kalorikus tápanyagaink meghatározása mellett – előtérbe került azoknak a kis mennyiségben jelenlevő alkotórészeknek a vizsgálata is, amelyeknek bár mennyiségük csekély, de biológiai aktív anyagok lévén, az élő szervezetben jelenlétük nagy fontosságú.

E szempontok hívták fel a figyelmet a fűszerpaprika karotinoid színezőanyagaina is, amelyek között találhatunk vitamin hatással rendelkező komponenseket (pl. beta-karotin, beta-kriptoxantin) és erős színező hatással rendelkező alkotórészeket (pl. kapszantin, kapszorubin). Világszerte egyre erősödik a törekvés a mesterséges élelmiszerszínezékek mellőzésére és egészségre ártalmatlan természetes színezékekkel való helyettesítésére. Ezek sorában a paprika színezékek kiemelkedő jelentőségűek.

A fűszerpaprika színezéktartalmának vizsgálatával, mint minősítendő értékmérő tulajdonságával, már az elmúlt században is foglalkoztak. Az 1895-ben érvénybe lépő élelmiszermínősítő törvény már külön fejezetben foglalkozik a fűszerpaprika őrlemény minősítésével – akkor még teljesen szubjektív módon – amelynek maradványai szinte a mai napig is fennmaradtak.

A fűszerpaprika színezékek vizsgálatában, szerkezetük felderítésében hazánk kezdettől fogva vezető szerepet töltött be. *Zechmeister* (1, 2, 3), *Cholnoky* és munkatársai (4, 5, 6) vizsgálatai nyomán váltak ismertté a fűszerpaprika piros és sárga színezőanyagai: kapszantin, kapszorubin, valamint zeaxantin, lutein stb.

Kidolgozott elválasztási módszerük, az oszlopkromatográfiás eljárás, lehetővé tette a karotinoid színezőanyag komponensek pontos elválasztását, de hosszadalmassága miatt nem terjedt el a gyakorlati, minősítő laboratóriumi munkában.

Az 50-es években indult meg a törekvés egy gyors vizsgálati módszer kidolgozására, amely lehetővé teszi a paprika összes színezéktartalmának meghatározását és számszerű kifejezését. Ekkor dolgozta ki hazánkban *Benedek* (7) minősítő módszerét, de a jelentős fűszerpaprika termeszéssel és feldolgozással, ill. export-importtal foglalkozó országok is, minősítő eljárásokat alakítottak ki, pl. Spanyolországban *Sancho* (8), Bulgáriában *Tenov-Hubenova* (9), az Egyesült Államokban az *ASTA* módszerek (10) kerültek kidolgozásra.

Új tudományágak rohamos fejlődése gyakran vezet el új vizsgálati módszerek kidolgozásához. A kis mennyiségben jelenlevő alkotórészek (pl. vitaminok,

színezékek, adalékanyagok stb.) meghatározására alkalmazott rétegekromatográfiás eljárások hívták fel újból a figyelmet a fűszerpaprika karotinoid színezőanyagainak egyenkénti meghatározására és sürgette ezt a munkát az objektív vizsgálati, minősítő módszerek kidolgozásának az igénye is, amely a mérendő értékmérő komponensek vizsgálatát irányozta elő a fűszerpaprikában.

E fenti megfontolások alapján került kidolgozásra a Konzerv- és Paprikaipari Kutatóintézetben egy rétegekromatográfiás elválasztási eljárás (*Vinkler és Richter – Kiszél*, 11), amelynek segítségével lehetőség nyílik a hat – legnagyobb mennyiségben jelenlevő komponens – elválasztására és mennyiségi meghatározására, ezzel nyomon követve a termesztés, feldolgozás és raktározás során a karotinoid színezőanyagokban bekövetkező változásokat.

A módszer alkalmazhatóságának elbírálására összehasonlító vizsgálatokat végeztünk a hazánkban elfogadott minősítő módszer: a jelenleg szabvány módszerként elfogadott *Benedek* eljárás, valamint saját rétegekromatográfiás eljárásunkkal, az eredményeket matematikai-statisztikai módszerekkel elemeztük.

Vizsgálati módszerek

Benedek módszer az összes színezéktartalom meghatározására

A fűszerpaprika benzolos extraktjának színintenzitását méri Pulfrich fotométeren, S 50 színszűrőn (7). Az összes színezőanyag mennyiségének kifejezése g/kg kapszantinban történik, Cholnoky által kidolgozott táblázat segítségével.

A vizsgálati módszerek fejlődésével a színszűrővel rendelkező fotométereket fokozatosan kiszorították a spektrofotométerek. Ezzel egyidőben *Benedek* felülvizsgálta módszerét és spektrofotométereken történő mérésekhez az eredetileg megadott S 50 színszűrő helyett, a 492 nm-en történő mérést javasolta (*Benedek és Mécs*, 12).

Méréseinket UNICAM SP 1800 típusú spektrofotométeren, a *Benedek* által javasolt 492 nm hullámhosszon végeztük.

Rétegekromatográfiás eljárás az összes színezéktartalom, valamint az alkotó komponensek egyenkénti meghatározására

A fűszerpaprika őrleményből a zsírsavakkal észterifikált karotinoidokat elszappanosítással szabadítjuk fel, megfelelő tisztítás után, aktivált Kiszélgel G rétegen, petroléter-benzol-jégecet-aceton futtató keverékkel választjuk szét az egyes komponenseket. Az összes piros és sárga színezékek, ill. a komponensek meghatározása esetén, a megfelelő sávokat metilalkohollal eluáljuk és az oldatok színintenzitását a színezékek abszorpciós maximumán mérjük, mennyiségüket g/kg-ban fejezzük ki.

Kísérleti eredmények értékelése

Azonos fűszerpaprika mintákból, ötszörös ismétlésben az 1. pontban ismertetett mindkét vizsgálati módszerrel összes színezéktartalom és a rétegekromatográfiás módszerrel a komponensek mennyiségi meghatározását végeztük el. A vizsgálati eredményeket az 1. táblázat tartalmazza.

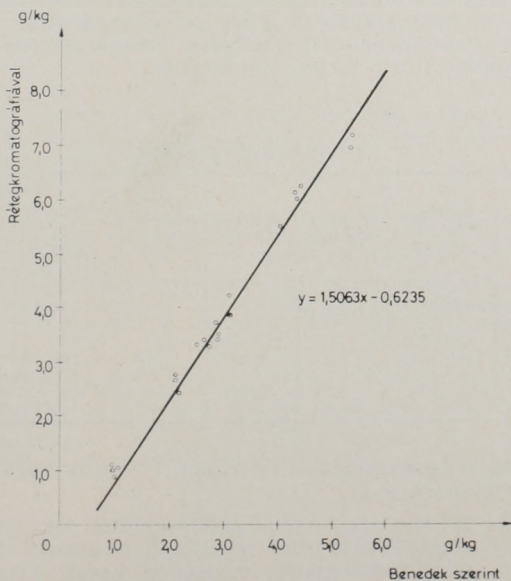
A kísérleti eredményeket vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a rétegekromatográfiásan meghatározott összes színezék mennyisége minden esetben nagyobbak adódtak, mint a *Benedek* eljárással kapott eredmények.

A számszerű összefüggéseket *matematikai-statisztikai* módszerrel határoztuk meg.

Fűszerpaprika minták színezéktartalma Benedek és rétegekromatográfiás módszerrel vizsgálva

Minta-szám	Összes színezék-tartalom Benedek szerint**	Rétegekromatográfiás módszerrel mért színezéktartalom**, g/kg						
		Összes színezék-tartalom	Kapszan-tin	Kapszo-rubin	Zeaxan-tin* Lutein	Beta-karotin* beta-Kriptoxantin	Egyéb piros komponensek	Egyéb sárga komponensek
1	1,01	1,10	0,66	0,06	0,15	0,10	0,02	0,03
2	2,11	2,54	1,29	0,25	0,36	0,34	0,08	0,22
3	2,55	3,09	1,99	0,26	0,42	0,31	0,07	0,08
4	2,97	3,67	1,95	0,26	0,52	0,52	0,23	0,21
5	3,05	3,96	2,52	0,27	0,48	0,38	0,08	0,15
6	3,06	3,48	2,23	0,21	0,50	0,40	0,08	0,08
7	4,06	5,56	2,95	0,34	1,02	0,88	0,16	0,08
8	4,36	6,21	3,40	0,37	1,10	1,06	0,10	0,15
9	4,93	6,83	3,52	0,42	1,07	1,09	0,24	0,48
10	5,29	7,28	3,63	0,56	0,51	0,96	0,26	0,58

Megjegyzés: ** öt párhuzamos mérés átlagereedményei



1. ábra

A Benedek és a rétegekromatográfiás eljárásokkal nyert vizsgálati eredmények közötti összefüggés alakulása (összes színezéktartalom)

A vizsgálati módszereket grafikusan ábrázoltuk: a vízszintes tengelyen a *Benedek* módszerrel nyert értékeket, mint független változót; a függőleges tengelyen pedig a rétegekromatográfiával meghatározott mennyiségeket. A pontok egy ferde egyenes körül csoportosultak, amelyet az 1. ábra mutat be.

Az egyenes alakját megfigyelve, feltételezhető volt, hogy a két változó között az összefüggés lineáris,

$$y = bx + a$$

alakban kereshetjük a megoldást. A legkisebb négyzetek elve alapján kiszámítottuk a regressziós egyenes konstansait:

$$b = 1,5063$$

$$a = -0,6235$$

A regressziós egyenes tehát:

$$y = 1,5063 \times -0,6235$$

Annak eldöntésére, hogy a két módszer valóban különbözik-e egymástól, azaz „b” szignifikánsan különbözik-e 1-től, illetve „a” nullától; vagy a kapott értékek csak a véletlen hibákból adódnak, „t” próbát végeztünk.

$$t_b = 25,101$$

$$t_a = 27,748$$

A számított értékek mindkét esetben nagyobbak voltak a táblázati értéknél, tehát „b” szignifikánsan különbözik 1-től, „a” pedig nullától.

Az eljárások összehasonlítását a varianciaanalízis módszerével folytattuk. Az analízis eredményeit a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat

Varianciaanalízis táblázat

Variancia komponens	Szórásnégyzet összeg	Szabadság fok	Szórás négyzet	Szórás négyzet hányados	Táblázati érték		
					F ₉₅	F ₉₉	F _{99,9}
Teljes	155,0418	44					
Lineáris regresszió ...	153,6966	1	153,6966	5565	4,67	9,07	17,8
Regresszió körül Paralelek között	0,5847	13	0,0272	1,075	2,06	2,79	4,04
	0,7605	30	0,256	—	—	—	—

A szórásnégyzet hányadosok és a táblázati F értékek összehasonlításából a következők állapíthatók meg:

$5565 > 4,67$ azt mutatja, hogy az összehasonlított két vizsgálati módszer szignifikánsan eltér egymástól. A *Benedek*-féle eljárás és a rétegekromatográfiás módszerrel kapott összes színezékartalom eredmények eltérését nem véletlen hiba hozza létre, hanem ez abból adódik, hogy *Benedek* szerint a színezékoldat abszorpcióját az abszorpciózás görbe leszálló ágán mérjük, ezen a mérési hullámhosszon (492 nm) pedig a sárga komponensek

is jelentősen érzetik hatásukat, míg az eredményként megadott összes színezék mennyiségét kapszantinban fejezzük ki. A rétegekromatográfiás eljárásnál minden komponenst saját abszorpciós maximumán, az összes színezéket is abszorpciós maximumán határozzuk meg és fejezzük ki g/kg vizsgált komponensre vonatkoztatva a meghatározott színezék mennyiségét.

1,075 < 2,06 a két eljárással kapott eredmények között azonban lineáris összefüggés van, amelyet az $y = 1,51x - 0,62$ egyenlet ír le.

A két módszer véletlen hibájának összehasonlítására kiszámítottuk az érzékenységi hányadost:

$$\text{ÉH} = \frac{b}{\sqrt{\frac{V/y}{V/x}}} = 0.5456 < 1.$$

Az érzékenységi hányados 1-nél kisebbnek adódott, tehát a véletlen hiba szempontjából a *Benedek* módszer valamivel kedvezőbb. Ez azzal magyarázható, hogy kevesebb műveleti lépésből tevődik össze, sokkal egyszerűbb, azonban nem eléggé érzékeny, nem reagál élesen a színezéktartalom változásaira. Ezért indokolt a sokkal bővebb felvilágosításokat nyújtó, az egyes komponensek meghatározását lehetővé tevő rétegekromatográfiás módszer alkalmazása, különös tekintettel a nemesítői munkában, a gyártmány ellenőrzésében.

— . —

Köszönetemet szeretném kifejezni *Zukál Endrének* a matematikai-statisztikai értékelésben nyújtott hasznos segítségért, valamint *Vidács Ferencnek* a kísérleti munkában való közreműködéséért.

- (1) *Zechmeister L. – Cholnoky L.*: Naturwissenschaftlichen 23, 204, 1935.
- (2) *Zechmeister L. – Cholnoky L.*: Liebigs Ann. 523, 101, 1936.
- (3) *Zechmeister L. – Cholnoky L.*: Die Chromatographische Adsorptionmethode. Verlag von Julius Springer, Wien. 1938.
- (4) *Cholnoky L. – Györfi K. – Pánczél M.*: MTA Kémiai Tud. Oszt. Közleményei 5, 419, 1955.
- (5) *Cholnoky L. – Szabó D. – Szabó J.*: MTA Kémiai Tud. Oszt. Közleményei 2, 179, 1957.
- (6) *Cholnoky L. – Györfi K. – Nagy E. – Pánczél M.*: MTA Kémiai Tud. Oszt. Közleményei 10, 23, 1958.
- (7) *Benedek L.*: Z.U.L. 107, 228, 1958.
- (8) *Sancho J. – Navarro F.*: Anales de la Real Sociaded Espagnola de Fisica y Quimica B-QUIMICA 58, (7–8), 565, 1962.
- (9) *Tenov R. – Hubenova A. G.*: Hranitelna Promüslennoszt 7, 16, 1969.
- (10) Official Analytical Methods AOAC 44–45, 1966
- (11) *Vinkler M. – Kiszél-Richter M.*: Acta Alimentaria 1, 24, 1972.
- (12) *Benedek L. – Mécs J.*: Konzerv-Paprikaipar, 2, 61, 1971.

СОПОСТАВЛЕНИЕ МЕТОДА БЕНЕДЕКА И СЛОИСТО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА СЛУЖАЩЕГО ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ КРАСЯЩИХ ВЕЩЕСТВ ПРЯНОГО ПЕРЦА

Харкаи-нэ Винклер М.

Автор проводил сравнительные испытания по определению содержания красящих веществ пряного перца методом Бенедека принятого в Венгрии для оценки этих значений, а также слоисто-хроматографическим методом разработанным в Исследовательском Институте Консервной и Пряно-перцовой Промышленности. Результаты оценивал математическо-статистическим методом.

Было доказано, что необходимо применять оба метода оценки. Между двумя методами находил линейную зависимость, но как метод исследования они сигнификантно различаются: это получается особенно из разнообразности методов оценки. Для быстрой оценки хорошо применим метод Бенедека потому что с точки зрения операции является простым, но является чувствительным на образующееся изменение содержания красящих веществ. Для испытания изменения компонентов красящих веществ каротиноидов предлагает применять метод слоистой хроматографии.

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNG DER ZUR BESTIMMUNG DES FARBSTOFFGEHALTES DES GEWÜRZPAPRIKAS DIENENDEN BENEDEKSCHEN METHODE UND DER DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHEN METHODE

M. Harkay-Vinkler

Vergleichende Untersuchungen wurden mit der in Ungarn als Bestimmungsverfahren des Farbstoffgehaltes des Gewürzpaprikas angenommenen Benedekschen Methode und mit einer im Institut für Konservenindustrie und Paprika-industrie entwickelten dünn-schichtchromatographischen Methode durchgeführt. Die Ergebnisse wurden mittels mathematisch-statistischen Methoden ausgewertet. Es wurde festgestellt, dass Ansprüche auf beiden Methoden bestehen. Ein linearer Zusammenhang wurde zwischen den beiden Verfahren festgestellt, sie weisen jedoch als Untersuchungsmethoden signifikante Abweichungen voneinander auf. Dies ist hauptsächlich eine Folge der Verschiedenheit der Auswertungsmethoden. Zur raschen Bewertungsuntersuchungen eignet sich die Benedekschen Methode vorzüglich, weil sie vom Standpunkt der Behandlungstechnik einfach ist, obwohl sie auf die im Farbstoffgehalt stattfindenden Änderungen nicht empfindlich reagiert. Zur Untersuchung der in den Carotinoid-Farbstoffkomponenten vorkommenden Änderungen wird das dünn-schichtchromatographische Verfahren empfohlen.

COMPARATIVE INVESTIGATION OF THE BENEDEK METHOD AND OF THE THIN-LAYER CHROMATOGRAPHIC METHOD FOR THE DETERMINATION OF THE PIGMENT CONTENT OF POWDERED PAPRIKA

M. Harkay-Vinkler

Comparative investigations were carried out with the Benedek method accepted in Hungary for the determination of the pigment content of powdered paprika and with the thin-layer chromatographic method developed in the Institute for the Preserving and Paprika Industry. The results were evaluated by mathematical-statistical methods. It was proved that claims actually exist for both methods. Though a linear relationship was found between both methods they significantly differ from one another. This is due mainly to deviations in the modes of evaluation. The Benedek methods lends itself to rapid evaluation tests since from the aspect of operations it is simple but it does not react sensitively to alterations in the pigment content. For the investigation of changes in the carotenoid pigment components the thin-layer chromatographic method is suggested.

ETUDE COMPARÉE DES MÉTHODES DE BENEDEK ET DE CHROMATOGRAPHIE EN COUCHES MINCES SERVANT DE DÉTERMINER LA TENEUR EN COLORANTS DU POIVRE ROUGE

M. Harkay - Winkler

La méthode de Benedek, approuvée en Hongrie en tant que méthode officielle du dosage des colorants du poivre rouge, a été comparée à l'analyse chromatographique en couches minces, développée à l'Institut de l'Industrie des Conserves et du Paprika. Afin d'évaluer les résultats on se servit des méthodes de la mathématique statistique.

Il s'est avéré que toutes les deux méthodes ont leur sphère d'application. Entre les résultats obtenus avec les deux méthodes il y a une corrélation linéaire. Les différences numériques entre les résultats sont, cependant, significatives, ce qui est dû, en premier lieu, aux différences des méthodes d'évaluation.

La méthode de Benedek se prête, en vertu de sa simplicité, à la qualification rapide, ne réagissant pourtant pas assez sensiblement aux changements qui puissent se produire dans la teneur en colorants. Par conséquent, il est recommandable d'utiliser la chromatographie en couches minces pour suivre les changements de la composition des colorants caroténoïdes.