

Szőlő antocianin színanyag-por előállítása és analitikai vizsgálata I.

Biacs Péter Károly, Tóth Árpád**, Pap László**
és Biacs Péter Ákos***

*Budapesti Műszaki Egyetem, Budapest

**Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet, Budapest

Érkezett: 1994. szeptember 5.

Az élelmiszeriparban sok helyen, sok termékben használnak színező, aromásító és más adalékanyagokat. Kényelmi, illetve gazdasági okokból (stabilitás, hozzáférhetőség, választék, előállítási ár stb.) a mesterséges vagy a természetazonos színezékek használata terjedt el. Alapos toxikológiai vizsgálatok után azonban egyre több ilyen színezékről derül ki, hogy alkalmazásuk az emberi szervezetre hátrányosan, sőt károsan hat (toxikusak, allergiát okoznak). A természetes színezékek - mint az élelmiszereink eredeti összetevői - nem rendelkeznek ilyen hátrányos hatásokkal, sőt egyesek gyógyászati szempontból kimondottan előnyösen hatnak az emberi szervezetre (pl. francia antocianin kapszulák, céklapor).

Napjainkban a tisztán természetes anyagokat tartalmazó élelmiszerek olyan igényes termékeknek számítanak, amelyek iránt nagy a kereslet. Ezt a megnövekedett keresletet kielégítendő, intenzív kutatómunka folyik világszerte az újabb természetes színezékek és aromák előállítása érdekében. A természetes szín- és aromaanyagok ipari felhasználhatóságát legnagyobb mértékben ezen anyagok meglehetősen instabil volta limitálja. Közismert a karotinoidok oxidációval szembeni érzékenysége, az antocianinok pH függő stabilitása vagy az illóolajok terpenizálódási hajlama. Az alkalmazott ipari kutatások éppen ezért elsősorban a stabilitási problémák megoldását tűzték ki célul.

Szőlő antocianin színanyag-por előállítása

Magyarországon a vörösbor-gyártás során meglehetősen nagy mennyiségű préselt szőlőtörköly marad vissza, amely legalább 50 %-ban tartalmaz vörös színű antocianin színanyagokat. Hagyományos extrakciós eljárásokkal (Kampis 1985, Wallin 1980, Langston 1985) ezek színanyag-tartalma csak körülbelül 60 - 70 %-ban nyerhető ki. Munkánk során megpróbáltunk olyan új előállítási módszert kidolgozni, amellyel kíméletes körülmények között, csak természetes anyagok felhasználásával, nagyobb mennyiségben kinyerhető, stabil, a környezeti hatásoknak jobban ellenálló antocianin színanyag-por gyártható.

Az antocianin színanyag-por előállítására chilei kék csemegeszőlő héját használtuk fel, amelyből 50 °C-os, többlépcsős sósavas - etanolos, illetve borkősavas - etanolos extrakcióval (Biacs, 1994/1) vontuk ki a színanyag komponenseket.

Mindkét színanyag kivonat pH értékét 3,0-ra állítottuk be, majd előzetes próbasűrítés után, vákuum alatt, Heidolph VV 2000 rotációs vákuumbepárlóval (45 °C-os vízfürdő, 210 l/min fordulatszám) 33 - 48 % szárazanyagtartalomra sűrítettük be. Az antocianin színanyag-granulátumokat kíméletes körülmények között (10 mbar vákuum, max. 40 - 50 °C) Labormim szakaszos vákuumszárítóval (Pap, 1991) készítettük el. Az antocianin sűrítmények vákuumszárításának elősegítésére és a kapott színanyag granulátum stabilitásának növelésére élelmiszeripari hordozóanyagokat adagoltunk a sűrített kivonatokhoz. A rendelkezésre álló élelmiszeripari hordozóanyagok és mikrokapszullázó szerek közül az oldódás és a kialakuló viszkozitás előzetes vizsgálata alapján a maltodextrint és gumiarábikumot választottuk ki, amelyeket a sűrítmények és a hordozóanyagok szárazanyagtartalmára vonatkoztatva 1, 49, 50, ill. 60 % arányban kevertük a sűrítményekhez (Biacs 1994/2).

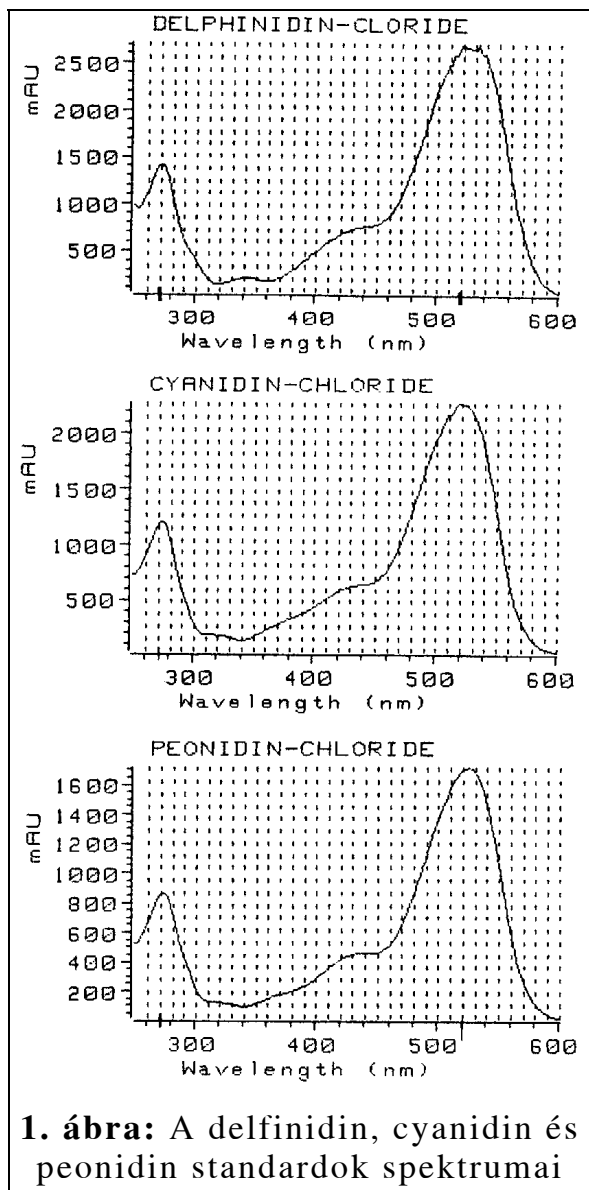
1. táblázat: A felhasznált adalékanyagok és keverési arányuk

Minták jele	Hordozó anyagok	Keverési arány	Extrakció típusa
B1	maltodextrin	50%	borkősav+ EtOH
B2	maltodextrin	60%	borkősav+ EtOH
B3	maltodextrin, gumiarábikum	49,5%:1%	borkősav+ EtOH
S1	maltodextrin	50%	sósav+EtOH
S2	maltodextrin	60%	sósav+EtOH
S3	maltodextrin, gumiarábikum	49,5%:1%	sósav+EtOH
S4	maltodextrin, gumiarábikum	49%:2%	sósav+EtOH

A szárítás végeztével a keletkezett habot lehűtöttük, majd elszívó szekrény alatt csökkentett nedvességtartalmú térben, 20 % relatív páratartalom mellett összetörtük és egy fémszita segítségével felaprítottuk. A kapott higroszkópos kristályos granulátumot jól záró üvegedényekbe töltöttük és fénytől elzárva tároltuk.

Antocianin színanyag-granulátumok komplex vizsgálata

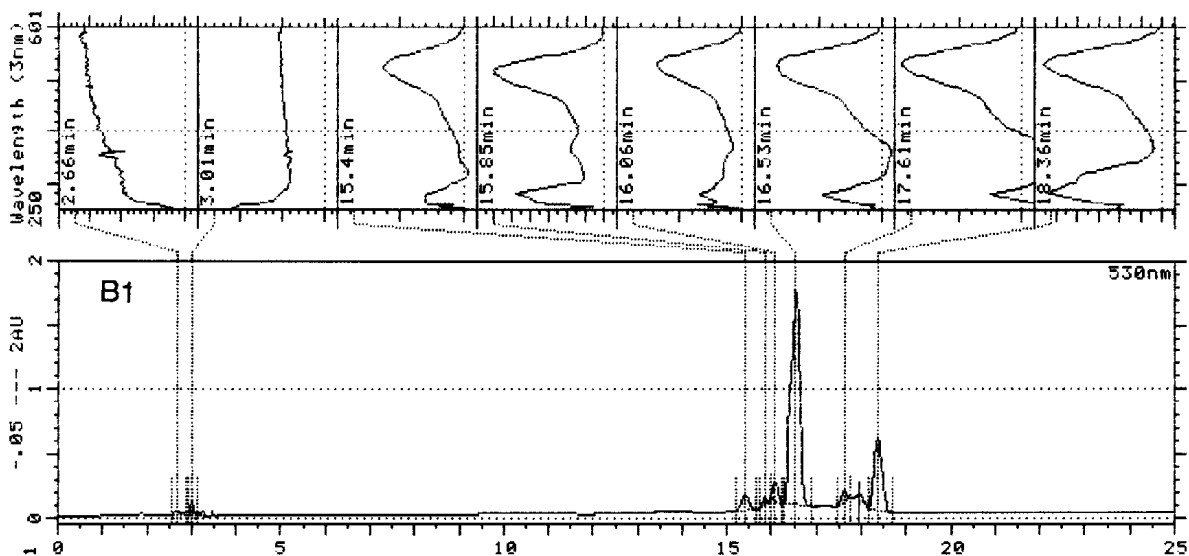
Analitikai vizsgálataink során a kromatográfiai módszerek közül a HPLC-t, a spektroszkópiás módszerek közül a PAS-t és egy roncsolásmentes módszert a CIELAB színmérést alkalmaztuk.



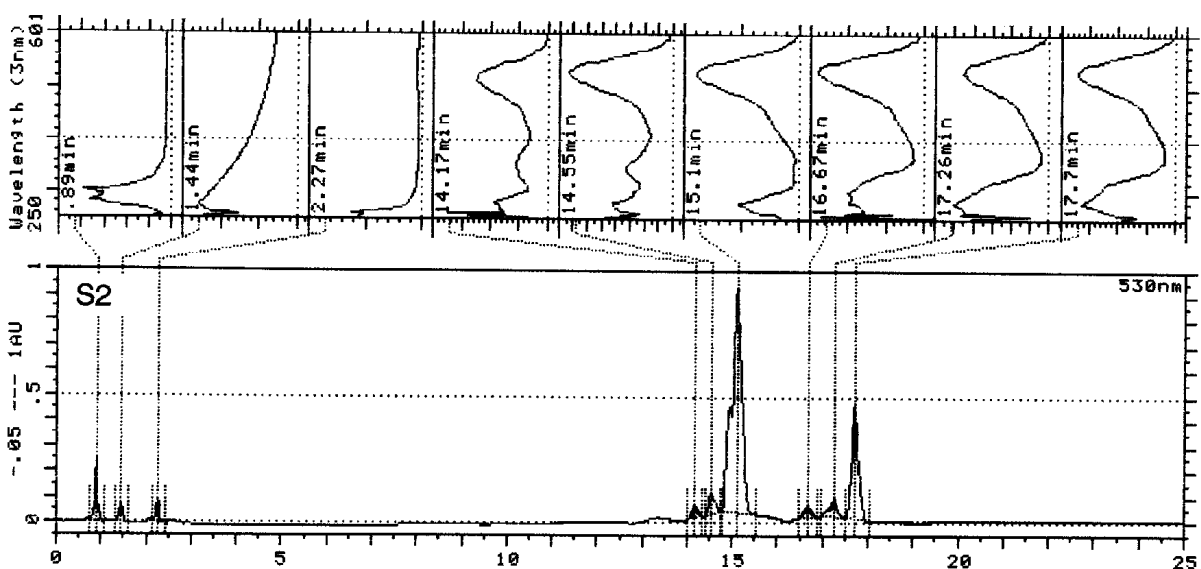
jelenlévő delfinidin, cyanidin, peonidin, petunidin, malvidin és pelargonidin szőlő antocianidin komponenseket.

A különböző minták kromatogramjainak összehasonlítását a megfelelő retenciós időkhöz tartozó csúcsok magasságainak összehasonlítása alapján végeztük. A kromatográfiai vizsgálatok eltérő színanyag mennyiségeket tartalmazó mintákból történtek, a minták színanyag eloszlására kapott kromatogram csúcsmagasságait valamelyik kiválasztott színanyag mintára vonatkoztatva, annak összes anyagmennyiségével arányosan - egy normáló faktorral beszorozva - megváltoztattuk (Biacs 1994/3).

A HPLC analízisünket Waters 660 MS pumpával, injektorral és programvezérlővel, valamint Waters 990 MS diódasoros detektorral felszerelt berendezésen végeztük. Az antocianin komponensek elválasztására egy 250 x 4,6 mm-es, 10 μ m-es töltetű, Waters u - Bondapak C-18 fordított fázisú analitikai oszlopot alkalmaztunk. A kromatogramokat gradiens elúcióval, 1.5 ml/min térfogatáram mellett, vizes trifluor-ecetsav és acetonitril eluenssel (pH = 2), 25 perc időtartam alatt 3 jellemző hullámhosszon 280, 330 és 530 nm-en vettük fel. A kromatogramok csúcsainak megfelelő spektrumokat a delfinidin, cyanidin és peonidin standardok spektrumai (Biacs 1993) alapján azonosítottuk (1. ábra). A kromatográfiai elválasztás során mind a borkősavas - etanolos (2. ábra), mind a sósavas - etanolos (3. ábra) kivonatok esetében a spektrumok alapján hat jól elváló csúcsot azonosítottunk, amelyek jól reprezentálták a délamerikai szőlőfajtákban



2. ábra: A B1 borkősavas kivonat kromatogramja és spektrumai



3. ábra: Az S2 sősavas kivonat kromatogramja és spektrumai

A kapott normált csúsmagasságokat (P)- így a minták kromatogramjait - általunk konstruált minőségi mérőszám, a mintázat (M) alapján hasonlítottuk össze :

$$\text{Mintázat: } M_i = \frac{P_{i,\text{minta}}}{P_{i,\text{referencia}}}$$

ahol $P_{i,\text{minta}}$ a vizsgált minta kromatogramjában található i-edik csúcs magassága,

$P_{i,\text{referencia}}$ az összehasonlító minta krom.-ban található i-edik csúcs magassága, (Referenciának esetünkben az S4 minta normált csúsmagasságát választottuk.)

A **PAS analízis**ünket (Nagel 1988, Kocsányi 1983) a BME - KÉKI kísérleti fotoakusztikus spektrofotométerén (CSX4500F xenon lámpa, Jobin-Yvon H20FIR monokromátor, 2 db Lock-in erősítő 1 s időállandóval, 4 db

interferenciaszűrő) végeztük 4 nm lépésközzel 400 - 720 nm közötti hullámhossztartományban, 17 Hz-es fényzaggatás és 1x10⁴ jel ill. 3x10² referencia jel erősítés mellett. Referencia spektrumnak a tiszta szén spektrumát vettük fel, amelyre a minták abszorpciós jellegű intenzitásváltozásait (rel. PAS jel) vonatkoztattuk.

A színvizsgálat során Momcolor - D tristimulusos színmérővel objektív, fényelektromos úton, vörös etalon mellett határoztuk meg az antocianin színanyag granulátumok színére jellemző mérőszámokat (Lukács 1982). A mért színínger összetevőkből (X, Y, Z) kiszámítottuk a CIELAB színínger mérő tér koordinátáit (a*, b*, L*), a koordináták alapján pedig meghatároztuk a minta és az etalon világossági tényező-beli különbségét (dL*). A mérőszámokat és a koordinátákat két ill. - háromdimenziós térben ábráztuk, és ezek alapján próbáltuk csoportosítani a mintákat

Eredmények és értékelésük

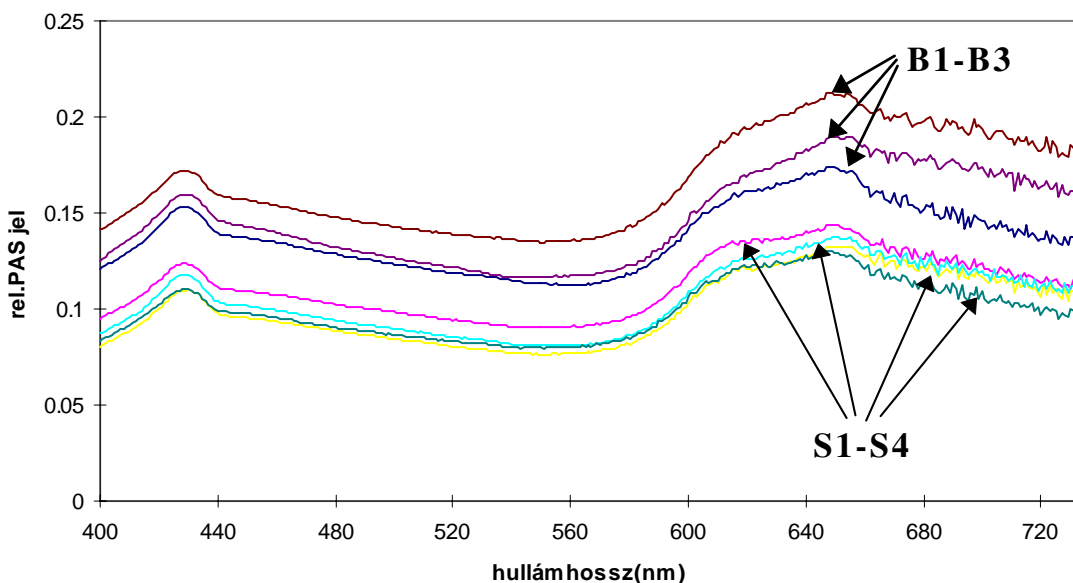
Vizsgálataink során megállapítottuk, hogy a kétféle sűrítmenyből készített antocianin színanyag granulátumok között szabad szemmel alig érzékelhető színárnyalatbeli különbség volt. Ez a színkülönbség feltehetőleg az extrakció, illetve a pH-beállítás során alakult ki, az adalékolt hordozó- és mikrokapszulázó anyagok hatására a szín pedig csak módosult az adalékanyagok koncentrációjának függvényében. Az általunk alkalmazott analitikai módszerek alapján megpróbáltuk meghatározni a legtöbb színanyagot tartalmazó, legerősebb színű mintákat, hogy ki tudjuk választani a célnak legmegfelelőbb extrakciós és adalékolási módszereket.

A HPLC analízis minőségi mérőszámai alapján elkülöníthető minták közül a B1 jelű, borkósavas - etanosos extrakcióval előállított, 50 % maltodextrin hordozóanyaggal stabilizált minta kapta a legmagasabb számértékeket (2. táblázat). A táblázat adatai alapján ezenkívül jól elkülöníthetőek a kétféle extrakciós eljárással készült minták : a sósavas - etanosos kivonással készült minták 1 alatti, a borkósavas - etanosos kivonással készültek 1 feletti értékeket kaptak.

2. táblázat: A HPLC analízis minőségi mérőszámai
(referencia az S4-es minta)

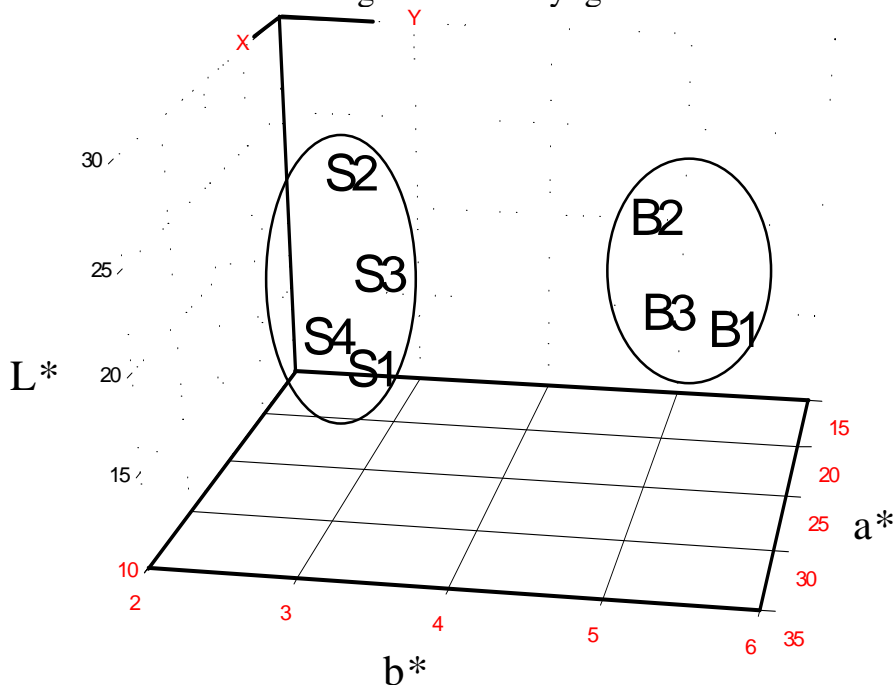
	M(S1)	M(S2)	M(S3)	M(B1)	M(B2)	M(B3)
1. csúcs	0,802	0,454	0,00	1,496	1,295	1,663
2. csúcs	0,779	0,611	0,427	1,524	1,118	1,144
3. csúcs	0,869	0,816	0,816	1,316	1,033	1,091
4. csúcs	0,901	0,706	0,856	2,163	1,455	1,635
5. csúcs	0,901	0,824	0,866	1,923	1,213	1,402
6. csúcs	1,001	0,854	0,943	1,145	1,017	1,068

A PAS mérések spektrumai alapján szintén jól elkülöníthetőek voltak a kétféle extrakciós eljárással készült minták (4. ábra). A legnagyobb abszorpciós jellegű intenzitásváltozást a B1 jelű minta adta, ami megfelelt a HPLC analízis eredményének.



4. ábra: A színanyag minták PAS spektrumai

A CIELAB színmérés eredményei alapján a kétféle extrakciós módszerrel készült mintákat jól el lehetett különíteni (5. ábra), azonban ezzel az eljárással nem tudtuk kiválasztani a legtöbb színanyagot tartalmazó mintát.



5. ábra: A CIELAB színvizsgálat eredményei

Összefoglalásul elmondhatjuk, hogy a minták csoportosítását és a legtöbb színanyagot tartalmazó, legerősebb színű minta kiválasztását a PAS és a HPLC módszerekkel azonos eredményt produkálva, egyaránt el tudtuk végezni.

Mindkét analitikai módszer a hordozó- illetve mikrokapszulázó anyagoknak a szárítás során a színanyagokra kifejtett védőhatását és a színanyagok kivonására használt extrahálószeres extrakciós hatékonyságát vette alapul. Mivel a HPLC módszer műszer- és anyagköltsége (oldószeres) igen magas, valamint a vizsgálat körülményesebb (porokat újra fel kell oldani) és több időt vesz igénybe, a jövőben célszerűbb az ilyen vizsgálatokat a kevésbé anyagigényes és gyors PAS módszerrel elvégezni.

Irodalomjegyzék

- Biacs P.K. (1993): Természetes színanyagok HPLC - s vizsgálata. Kézirat
- Biacs P.K. (1994/1): Szőlő antocianin színanyagainak vizsgálata. BME Diplomamunka, 70
- Biacs P.K. (1994/2): Szőlő antocianin színanyagainak vizsgálata. BME Diplomamunka, 74 - 75
- Biacs P.K. (1994/3): Szőlő antocianin színanyagainak vizsgálata. BME Diplomamunka, 109
- Kampis A. (1985): *Borgazd.*, **33**, 152 - 154
- Kocsányi L.- Richter P. (1983): A PAS alapjai és élelmiszeripari alkalmazása. BME tanulmány
- Langston Metty, S.K. (1985): Anthocyanin Colorant from Grape Pomace. United States Patent, No 4500556
- Lukács. Gy. (1982): Színmérés. Műszaki Könyvkiadó, Budapest
- Nagel E. M. (1988): Photoakustische Untersuchungen an Pflanzen. Univ. Karlsruhe
- Pap L. (1991): *Food Technol. International*, 141 - 143
- Wallin. B. K. (1980): Process of Purifying Plant Anthocyanin Colors. United States Patent, No 4211577

Szőlő antocianin színanyag-por előállítása és analitikai vizsgálata I.

Biacs P.K., Tóth Á., Pap L. és Biacs P.Á.

Laboratóriumi munkánk során szőlő antocianin színanyag porokat állítottunk elő chilei kék csemegeszőlő több lépésből álló kémleletes extrakciójával, tisztításával, besűrítésével és vákuumszárításával. A színanyag porok stabilitását élelmiszeripari hordozóanyagokkal próbáltuk növelni. A pormintákat NIR spektrofotométerrel, tristimulusos színmérővel és fotoakusztikus spektrofotométerrel vizsgáltuk. A spektrumok feldolgozását és értékelését több változós, osztályozó algoritmusokkal végeztük, amelyek alapján a színanyag mintákat színintenzitás, színezet szerint csoportosítottuk. Az eredeti kivonatokat és a portermékből visszaoldott színanyagporokat nagynyomású folyadék-kromatográfiával (HPLC) vizsgáltuk a minták csoportosítása és az egyes antocianinokra vonatkozó összetétel megállapítása

céljából. A legtöbb színanyagot tartalmazó minta kiválasztása és a minták csoportosítása a PAS és a HPLC módszerekkel azonos eredménnyel zárult, és ez igazolta az extrakciós módszerek hatékonyságát és az adalékanyagok által kifejtett védőhatást.

The Production and Analytical Study of Anthocyanin Pigment Powder from Grapes I.

Biacs, P.K., Tóth, Á., Pap, L. and Biacs, P.Á.

For the laboratory experiment were produced grape anthocyanin colour-rich powders from edible blue grapes grown in Chile using a multi-step procedure of extraction, separation, concentration by solvent distillation and vacuum-drying. The stability of pigment powders was increased by mixing with food grade additives. Samples were investigated by NIR spectrophotometry, tristimuli colour-measurement and photo-acoustic spectrophotometry (PAS). Data obtained from spectrophotometric analysis were processed and evaluated by multifactorial cluster algorithmic methods, which separated pigment-rich samples according colour-intensity and colour-values. Original extracts and re-dissolved powders were analysed by HPLC for anthocyanin-composition and sample classification into different groups. Most colourful samples were identified and put into different groups with the same result by using PAS and HPLC thus reflecting well on effectivity of extraction methods and protection by additives.

Herstellung und Analyse von Anthocyanin-Farbstoffpulver aus Weintrauben I.

Biacs, P.K., Tóth, Á., Pap, L. und Biacs, P.Á.

Für die Untersuchungen wurden farbstoffreiche Pulver aus Delikateß-Weintrauben (Chile) mittels eines mehrstufigen Verfahrens hergestellt, das aus Extraktion, Reinigung der Lösung, Eindampfen und Vakuumtrocknung bestand. Die Stabilität der Farbstoffpulver wurde durch Zugabe von Lebensmittelzusatzstoffen verstärkt. Die Pulverproben wurden mit Hilfe der NIR-Spektrophotometrie, Farbmessung und der photoakustischen Spektrophotometrie (PAS) untersucht. Die Aufarbeitung und Verwertung der Spektren wurden mit multifaktorialen und clustergebenden Algorithmen ermöglicht, wobei die Proben Gruppen auf Grund ihrer Farben und Farbenintensitäten gebildet werden konnten. Die originalen Extrakte und die wieder in Lösung gebrachten Pulverstoffe wurden zur Bestimmung der Anthocyanin-Zusammensetzung und Identifizierung der verschiedenen Proben Gruppen mittels HPLC untersucht. Die Auswahl der Proben mit grösserem Farbstoffgehalt und ihre Verteilung auf die Gruppen wurden mit PAS- und HPLC-Methode mit dem gleiche Ergebnis ermittelt, wodurch die Effektivität der Extraktionsverfahren und die Schutzwirkung der verwendeten Zusatzstoffe in Zusammenhang gut nachgewiesen werden konnten.