

Debreceni Egyetem
Természettudományi és Technológiai Kar
Növénytani Tanszék

Növényi színanyagok vizsgálata

Szerző: Szabó Kristóf
III.évfolyam Biológia BSc
Témavezető: Dr. Mikóné dr. Hamvas Márta
egyetemi docens

Debrecen, 2026.

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	3
2. Célkitűzések	4
3. Irodalmi áttekintés	5
3.1. Klorofillok	5
3.2. Karotionidok	6
3.3. Flavonoidok	7
3.4. Antocianinok	11
3.5. Betalainok	13
3.6. Kondenzált tanninok (proantocianinok)	13
3.7. Egyéb különleges színyanyagok, és a színyanyagok gyakorlati felhasználása	14
3.8. Színyanyagok tartósítása	16
3.9. Színelemzés ImageJ-vel	16
3.10. Spektrofotometria	17
3.10.1. A klorofillok spektrofotometriás vizsgálata	18
3.10.2. A karotinoidok spektrofotometriás vizsgálata	19
3.10.3. Az antocianinok spektrofotometriás vizsgálata	19
4. Anyagok és módszerek	21
4.1. Begyűjtött növények és kezelésük	21
4.2. Preparátumok készítése és fénymikroszkópos vizsgálata	21
4.3. A fotoszintetikusán aktív pigmentek (klorofillok és karotinoidok) kivonása és spektrofotometriás mérése	22
4.3.1. Wellburn-módszer	22
4.4. Az antociánok kivonása és spektrofotometriás mérése	23
5. Eredményeink és eredményeink megbeszélése	24
5.1. Preparátumok elemzése	24
5.1.1. Preparátumok kiértékelése	24

..5.1.2. Preparátumok színének elemzése ImageJ-vel	29
.5.2. Klorofillok, karotinoidok mérési eredményei	30
5.3. Antocianinok mérési eredményei	33
5.4. Egyazon növény kétféle extraktumának összevetése	36
5.5. Szárítás hatása a pigmenttartalomra	38
6. Összefoglalás	40
7. Irodalomjegyzék	41
8. Köszönetnyilvánítás	45

1. Bevezetés

A növényvilágot a zárvatermők megjelenéséig a zöld, sárgás és barnás színek jellemezték. A virágos növények megjelenésével koevolúcióban a beporzó élőlényekkel, kialakultak az egyre dekoratívabb, színesebb virágok. A virágok színanyagai közül az ősből csoport a karotinoidok csoportja. A vakuoláris színanyagok (antocianinok, betalainok) felhalmozása a virágokban, termésekben és levelekben a szárazföldi növények viszonylag későbbi „innovációja”, amely hozzájárult a diverzifikációjukhoz, és kulcsfontosságú volt a szárazföldön való elterjedésükben (Jones és mtsai. 2013). A növényi színanyagok kémiai, strukturális szempontból több csoportba sorolhatóak, mint például a klorofillek, karotinoidok, flavonoidok, betalainok és egyéb ritka pigmentek, valamint ezeken belül sok alcsoport (Davies, 2004). „A növényi színek úgy jönnek létre, hogy a bennük lévő pigmentek elektronszerkezete kölcsönhatásba lép a napsugárzással, hogy megváltoztassa a hullámhosszokat, egy részük elnyelődik, más részük visszasugárzódik vagy visszaverődik a növényi szövetek által” (Davies, 2004). Amit visszavernek, azt a színt érzékeli a szemünk. Az emberek a hullámhosszok közül nagyjából a 380 és 730 nm közé esőket látják, ez számunkra a „látható fény spektruma” (Davies, 2004). Így például a 430 és 680 nm abszorbancia maximummal rendelkező klorofillt zöldnek fogjuk látni, mert a zöld színt nem abszorbálják, hanem visszaverik. Sokszor viszont a színek több visszavert hullámhossz keverékéből alakulnak ki. A növények leggyakrabban a vörös pigmenteket, az antociánokat halmozzák fel a változatos színek kombinációk létrehozásához, ami a sejtnedv savasságával tovább változtatható (Davies 2004). Így a pigmentek két módon írhatók le: az abszorbancia maximumuk hullámhossza és az általunk látott szín által (Davies, 2004) A növényi színanyagok típusaiktól és funkciójuktól függően más-más részeiben lehetnek jelen a növénynek. Vannak, amelyek az egész növényben jellemzőek lehetnek, mint például a flavonoidok, nagyon sok szervben a karotinoidok, de a klorofillok, - amelyek leginkább a levelekben vannak jelen a fotoszintézis fő pigmentjeiként- , is megjelenhetnek a virágban vagy a termésben is (Davies, 2004). Sokszor az adott növényi szöveten belül meghatározott helyen, sejtrétegben vannak a pigmentek, például az antocianinok sokszor a szirmok epidermális sejtjeiben (Davies, 2004). A színanyagok oldhatóságukban is különbözhetnek, vannak vízben és zsírban oldódók. Sok színanyagnak pozitív hatása van az ember egészségére, például a karotinoidok és az antocianinok fontos antioxidánsok, így pozitív hatásuk van többek között a szív és érrendszerre (Lila, 2004 in Davies (ed.), 2004). A klorofillok csökkenthetik a vérnyomást, jótékony hatásuk lehet a vércukorszint

szabályozására, az agyi aktivitásra és több egyéb dologra. A forrás minden nagyobb színanyag-csoportnál említ kutatásokat, melyek valószínűsítik ezek pozitív hatását a rák megelőzésében (Lila, 2004). A növényi színanyagoknak tehát rendkívül sok pozitív hatása van az emberi egészségre, nem meglepő tehát hogy annyi próbálkozás és eljárás született a színanyagok tartósítására. Ezeket azonban nehéz kivitelezni, mert a pigmentek a környezetükre, különösen a fényre nagyon érzékenyek, stabilitásuk csökkenését okozzák (Lásd. **1. táblázat**).

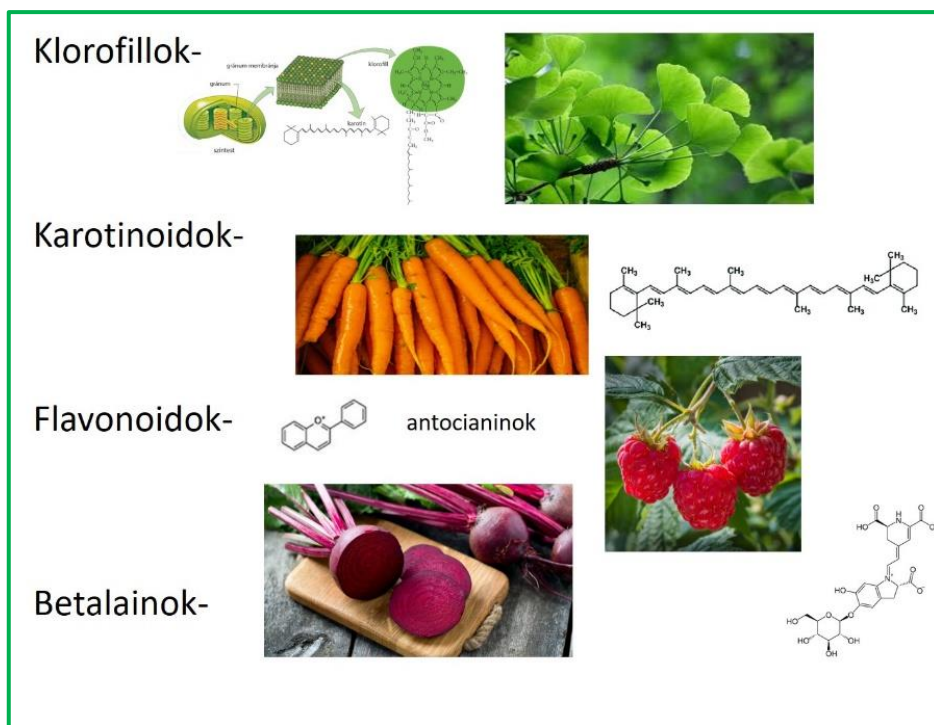
2. Célkitűzések

A virágok, termések, őszi lomblevelek színgazdagsága meghatározó élmény a természetben nyitott szemmel járó ember számára. A növények iránti érdeklődésemhez nagy mértékben hozzájárult a növények szín- és formagazdagsága. Szerettem volna többet tudni arról, hogy milyen színanyagok alakítják ki a növények színeit, mi ezeknek a jelentősége a növények életében, és hogyan hasznosítja, hasznosíthatja ezeket a pigmenteket az emberiség. Ehhez a munkám során az alábbi célokat kívántam megvalósítani:

- A növényi színanyagok jobb megismerése, szakirodalmának áttekintése
- Színanyagokat halmozó növények, növényi szervek begyűjtése, belőle preparátumok készítése mikroszkópos vizsgálatokhoz
- A növényi minták hatékony szárításának megvalósítása
- A szárított és friss minták színanyagainak kivonása többféle módszerrel, a módszerek hatékonyságának összehasonlítása.
- A színanyagokat tartalmazó extraktumok spektrofotometriás vizsgálata
- Az adatok értékelése, összevetése
- A szárítás hatásainak vizsgálata, szárított és frissen begyűjtött minták pigmenttartalom eredményeinek összehasonlításával

3. Irodalmi áttekintés

A növények színanyagai között vannak a növényvilágra általánosan jellemzőek, ezek közül a legfontosabbak a fotoszintézishez szükséges pigmentek (klorofillok, karotinoidok, xantofillok: neoxantin, zeaxantin, violaxantin és fukoxantin) és vannak, amelyek speciális funkciót töltenek be, a növény környezethez való adaptálódását és szaporodását segítik elő (1. ábra). Ezek általában a speciális anyagcseretermékek közé soroltak (antociánok, kondenzált tanninok stb.). Kérdésként vetődik fel, hogy hova sorolhatók például a termések, virágok karotinoidjai, a sárgarépa narancssárga színét adó karotin, a paradicsom piros színéért felelős likopin? Fő csoportjaikat az 1. ábra és az 1. táblázat mutatja. Kémiai szerkezetükben közös a gyűrűk és a delokalizált, gerjeszthető elektronok jelenléte.



1. ábra: A növények fő színanyag csoportjai, kémiai szerkezetük.

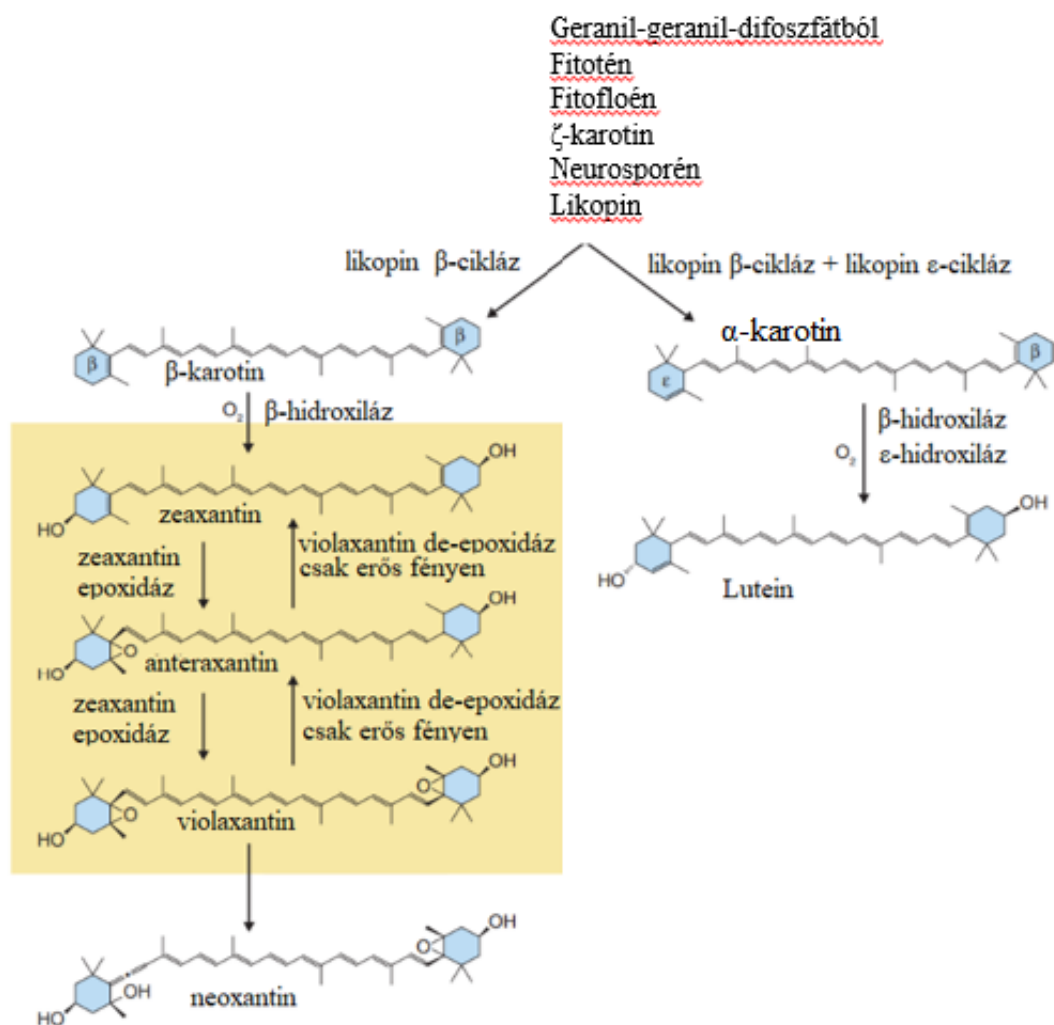
3.1. Klorofillok

A klorofillok nem csak a növények számára, de a világ számára is a legfontosabb vegyületek közé tartoznak, mert nélkülözhetetlenek a fotoszintézishez (Willows, 2004). Szerkezetileg egy tetrapirrol gyűrűből állnak, amely porfirinvázatot alkot, melynek közepén egy magnézium atom van, „melynek nagy szerepe van a fényenergia elnyelésében” (Młodzińska, 2009). A tetrapirrol gyűrűhöz kapcsolódik még egy fitol oldallánc is (Młodzińska, 2009). Két

legfontosabb típusa a klorofill *a* és a klorofill *b*. A kettő aránya különbözhet (*a/b*), attól függően, hogy a növény mennyire napos környezethez adaptálódott. A több napfényt kedvelő növényekben az arány nagyobb (Willows, 2004). Ez a különbség a fotoszisztémák (PSI és PSII) arányának különbségéből és a hozzájuk kapcsolódó fényelnyelő komplexek (LHCs) méretéből és összetételéből adódik (Willows, 2004). A fotoszisztémák tartalmazzák a klorofill *a*-t, de klorofill *b*-t nem, míg az LHC-k sok klorofill *b*-t tartalmazzák (Willows, 2004). A klorofill-*a* hoz képest a klorofill-*b*-ben egy metilcsoportot egy aldehid csoport vált le (Ergun és mtsai. 2004).

3.2. Karotionidok

Szendrei és Csupor, (2011) alapján a karotinoidok a természetben gyakori, jellemzően piros, citromsárga és narancsárga színű növényi színanyagok. A növényi életfolyamatokban betöltött szerepük legfőképpen a fotoszintetikus apparátus működésének támogatása és védelme. Többek között az emberek számára is elengedhetetlenek, mivel bizonyos képviselőik (pl. a béta-karotin) az A-vitamin prekursoraként (provitaminként) szolgálnak. Kémiai szerkezetük alapján izoprénvázas vegyületek, gerincük egy 40 szénatomból álló, konjugált kettőskötés-rendszert tartalmazó szénhidrogénláncból épül fel, melynek végein különféle funkciós csoportok lehetnek, ez alapján két fő csoportba sorolhatók: az oxigénmentes karotinokra (mint például a béta-karotin és a likopin), valamint az oxigéntartalmú származékokra, amelyeket xantofilloknak nevezünk. Mivel alapvetően lipofil (zsíroldékony) karakterűek, így oldhatóságuk inkább a triterpénekhez és szterolokhoz hasonló. Vízben csak néhány speciális, oxidált forma oldódik, mint például a sáfrány jellegzetes színanyaga, a krocin (Szendrei és Csupor, 2011). A karotinoidok bioszintézisét és a xantofill ciklust a **2. ábra** foglalja össze.

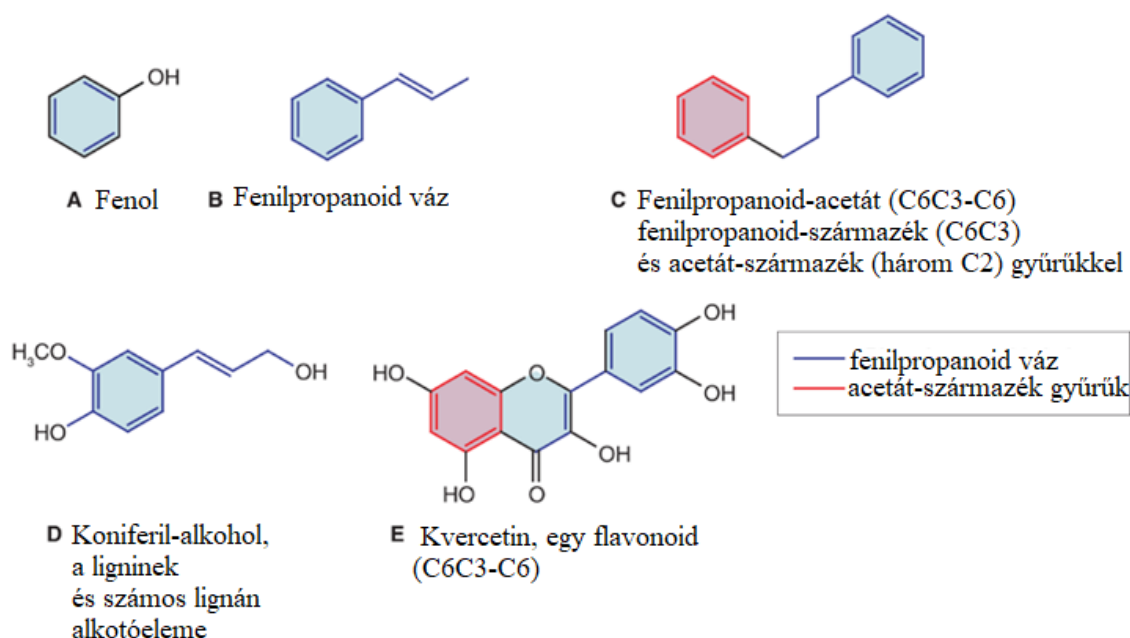


2.ábra A karotinoidok bioszintézise és a xantofill-ciklus. A geranilgeranil-difoszfátból keletkező fitotén négy lépésen keresztül alakul át likopinné két desaturáz enzim segítségével. A likopin ciklizálódik, így kialakítva az α - és β -karotint, melyek előanyagai a kloroplasztisz főbb xantofilljainak a luteinnek (ez jön létre az α -karotinból), a zeaxantinnak, a violaxantinnak és a neoxantinnak. A xantofill-ciklus ki van emelve, mint a fölös (a működéshez optimális feletti) fényenergia elvezetésének fontos mechanizmusa. (Felhasznált forrás: Jones R., Oughan H., Thomas H., Waaland S. The molecular life of plants. 2012.)

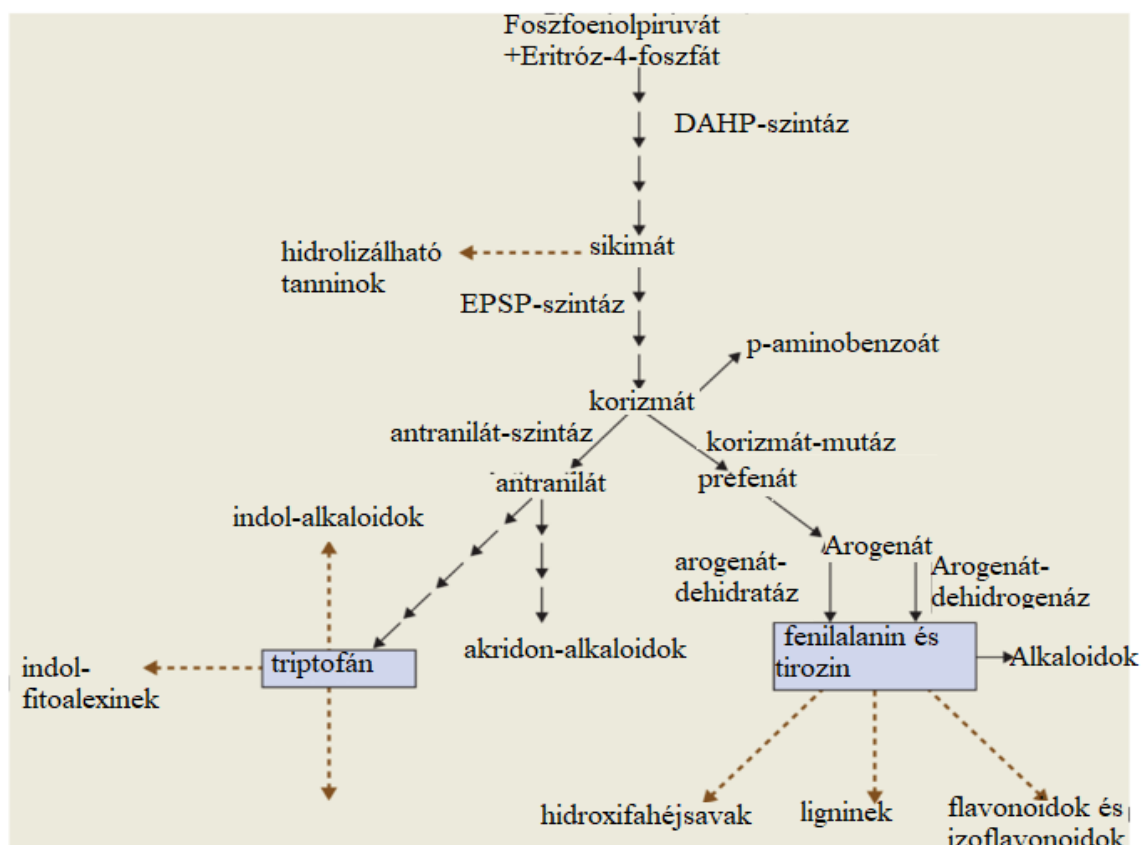
3.3. Flavonoidok

A flavonoidoknak rengeteg szerepe van a növények életében, mint a mikroorganizmusoknak való jeladás, patogénekkal szembeni védelem, az abiotikus és biotikus stressz enyhítése, az auxin transzport befolyásolása és a növényi termékenység elősegítése. (Schwinn és Davies, 2004). Ezek mellett másik fontos szerepe a virágszírmok színezése, illetve az iránymutatás

a beporzóknak. Ezek a legfontosabb színanyagok virágokban (Schwinn és Davies, 2004). A legtöbb flavonoid vízdékony és a vakuólumokban halmozódik fel. A flavonoid színezettség létrejötte bonyolult, több faktortól, például a pigment elsődleges szerkezetétől, a pH-tól, a molekulák kölcsönhatásaitól és néhány esetben még fém-komplexek képzésétől is függ (Schwinn és Davies, 2004). A flavonoidok egy-két fenilgyűrűből, 15 szénatomos szerkezetből állnak, melyeket egy 3 szénatomos híd köt össze, amely gyakran egy úgynevezett C-gyűrűt alkot, melynek oxidációs szintje alapján különítik el a flavonoidok különböző csoportjait. Ezen pigment molekulák is tartalmaznak olyan elektronokat, melyek fény által könnyen gerjesztett állapotba hozhatók, ez is adja a színüket (Schwinn és Davies, 2004). A **3. ábra** szemlélteti kémiai szerkezetüket, bioszintézisük különböző útvonalait pedig a **4., 5., és 6. ábra** mutatja.



3. ábra A fenolos vegyületek kémiai szerkezete. (A) A fenilpropanoidok kiinduló szerkezetét képező fenol. (B) A fenilpropanoid vázszerkezet. (C) A fenilpropanoid-acetát szerkezete, amely bemutatja a molekula különböző részeinek eredetét. (D) Koniferil-alkohol, a lignánok fenilpropanoid komponense. (E) Kvercetin, egy fenilpropanoid-acetáton alapuló szerkezetű flavonol. (Felhasznált forrás: Jones R., Oughan H., Thomas H., Waaland S. The molecular life of plants. 2012.)

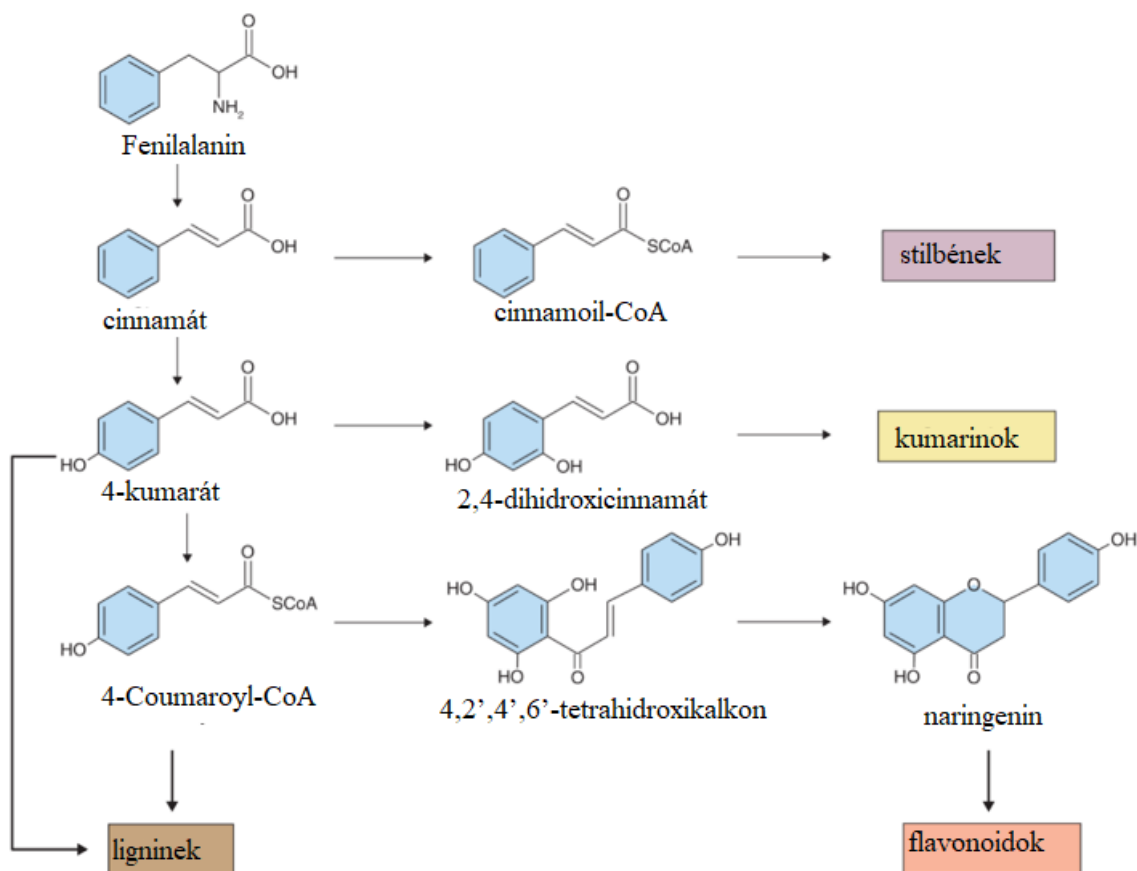


4. ábra A fenilalanin, tirozin és triptofán aromás aminosavak bioszintézise, amelyek a fenolok és alkaloidok természetes anyagainak forrásai. (Felhasznált forrás: Jones R., Oughan H., Thomas H., Waaland S. The molecular life of plants. 2012.)

A **4. ábra** jól szemlélteti, hogy a speciális anyagcseretermékek, így egyes alkaloidok, fenolos vegyületek kiinduló vegyületei aromás aminosavak. A fenilalanin, tirozin és triptofán nem csak a fehérjeszintézis monomerjei, hanem olyan speciális vegyületek kiinduló vegyületei, mint a fenolos-vegyületek, köztük a nagyon fontos sejtfalanyag a lignin, a hidroxifahéjsavak, a színyanyagokat magába foglaló flavonoidok és bizonyos alkaloidok. A triptofán szolgáltatja az indol-hormonok, indol-alkaloidok és a védekező anyagként szintetizálódó fitoalexinek „alapanyagát”. Ezek az aminosavak tehát összekötik a növények primer anyagcseréjét és a speciális anyagcseretermékek bioszintézisét. Szintézisük az elsődleges C-anyagszere termékeiből indul (foszfoenol-piruvát, eritroz-4-foszfát) és a kloroplasztisban lejátszódó sikimisav-úton keresztül szintetizáló korizmátból, mint utolsó közös intermediérből 2 különböző reakcióson halad tovább (**4. ábra**).

A speciális anyagcseretermékek kémiaiag nagyon változatosak, és speciális funkciókat tudnak betölteni. A fenil-alaninból is nagyon sokféle vegyület keletkezhet, a már említett lignineken és önmagában is rengeteg molekulát magába foglaló flavonoidokon kívül

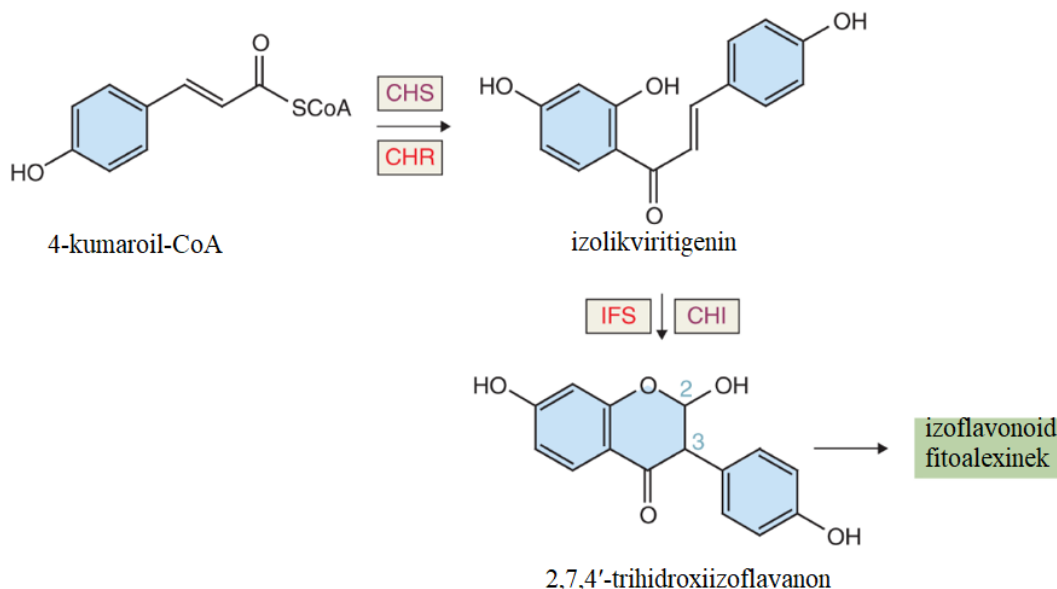
a kumarinokat és a fahéjsav-származékok közé tartozó stilbéneket, melyek a növények védelmi mechanizmusát erősítik (5. ábra). Humán hatását tekintve, pedig a fitoösztrogénekhez sorolják (int.2.).



5. ábra A fenil-alaninból keletkező cinnamátból, a 4-kumarátból és a 4-kumaril-CoA-ból származó fenilpropanoidok. A 4-kumaril-CoA-ból egy köztes vegyületen keresztül jön létre a naringenin, ami a flavonoidok kiindulási vegyületeként jelentős. (Felhasznált forrás: Jones R., Oughan H., Thomas H., Waaland S. The molecular life of plants. 2012.)

A flavonoidok szintézisének közös kiinduló vegyülete a naringenin (5. ábra). A flavonoidok monomerként, dimerként, különböző hosszúságú oligomerenként óriási változatosságot mutatnak, és a növényi test legtöbb részében, szövetében megtalálhatók. Szemben a zsírdékony karotinoidokkal és klorofillokkal, amelyek a plasztiszokban találhatók, a flavonoidok legtöbbje vízdékony és a vakuólumok sejtnedvében halmozódik fel. Óriási jelentőségűek a virágok pigmentációjában, ez az oka annak, hogy a 4-kumaril-CoA továbbalakulását katalizáló kalkon-szintetáz (CHS) enzim génjének és expressziójának módosítása a növényi biotechnológia egyik legkorábban vizsgált és alakított területe (Jones és mtsai. 2012).

A kalkon-szintetáz összehangoltan együttműködhet egy másik enzimmel is, a NADPH-függő kalkon-reduktázzal (CHR), ami egy más vegyületet, az izolikviritigenint eredményezi. Ebből a vegyületből szintetizálódnak az izoflavonoidok, és a patogénekkel szemben termelődő fitoalexinek (6. ábra).



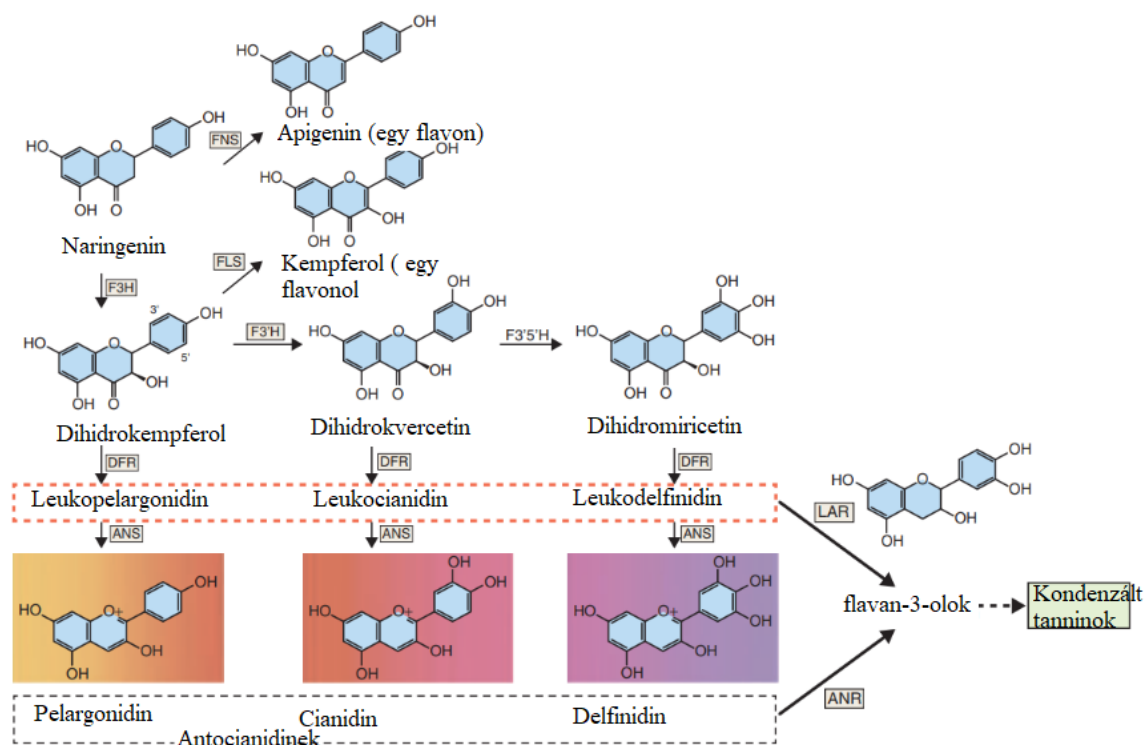
6. ábra A 4-kumaril-CoA-tól az izoflavonoidokig és a fitoalexinekig vezető szintézisút. A flavonoid-bioszintézisben is szerepet játszó enzimek a kalkon-szintáz (CHS) és a kalkon-izomeráz (CHI). Az izoflavonoid-szintézisre specializálódott enzimek a kalkon-reduktáz (CHR) és az izoflavon-szintáz (IFS). Megjegyzendő, hogy az izoflavonoidokban a fenilcsoprot az oxángyűrű 3. pozíciójához kapcsolódik, míg a naringenintől származó flavonoidokban a kötés a 2. pozícióban található (összevethető az 5. ábrával).

(Felhasznált forrás: Jones R., Oughan H., Thomas H., Waaland S. The molecular life of plants. 2012.)

3.4. Antocianinok

Az egyik legnagyobb csoport a flavonoidokon belül. Jellemzően narancssárga, rózsaszín, piros, magenta, lila és kék színek alapját alkotják (Schwinn és Davies, 2004). Ionescu és mtsai. (2025) alapján kémiai szempontból glikozilált antocianidinek, szerkezetük így két részre tagolható: egy antocianidin és egy szénhidrát részre. Az antocianidin rész a flavonoidokra jellemző C6-C3-C6 szerkezetű flavilium-ion vázzal rendelkezik, mely az A, - C, - és B gyűrűből áll (5. ábra). A több, mint 30 felfedezett antocianidin közül a

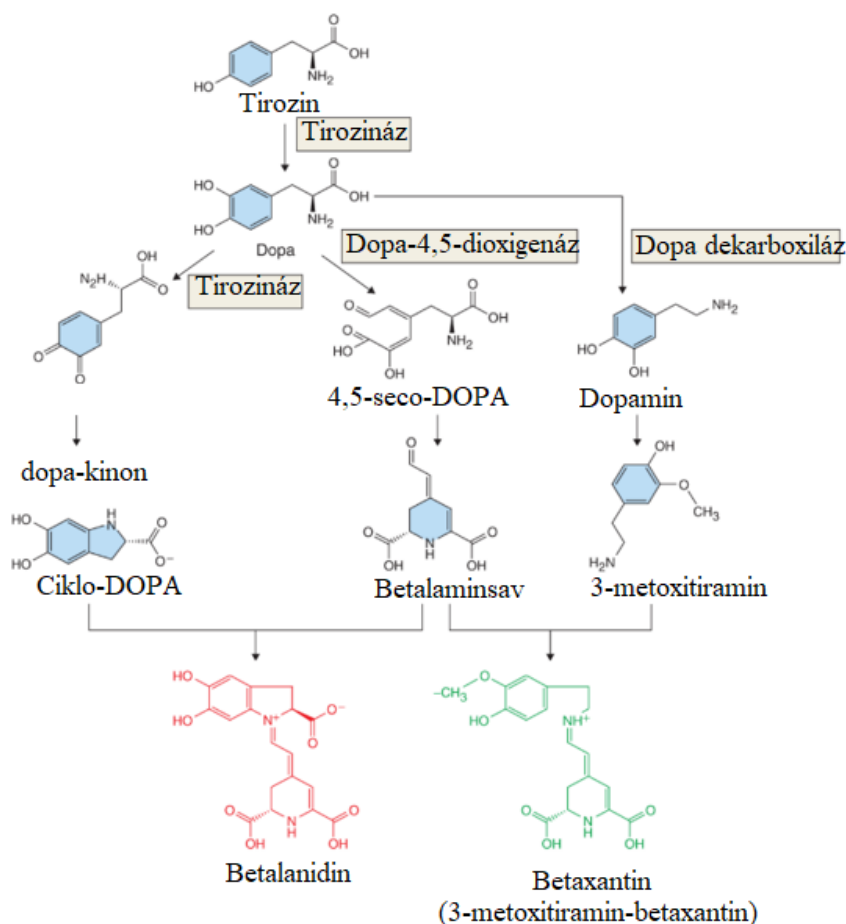
leggyakoribbak a pelargonidin, malvidin, cianidin, peonidin, delfidin, és a petunidin. Nem véletlen, hogy ezek nevében, a forrásként szolgáló növények tudományos neveit lehet felfedezni. A szénhidrát rész legtöbbször glükóz és ramnóz, melyek lehetnek szabadok vagy különböző savak által aciláltak. Összesen több mint 600 antocianint határoztak már meg, melyek közül a leggyakrabban azonosított a cianidin-3-glükozid (Ionescu és mtsai. 2025). A vakuólumok sejtnedvében halmozódnak fel, színük a sejtnedv pH értékétől függ. Ezt a jelenséget preparátumainkon is bemutatjuk (**10. ábra**). Az antocianinok szintézisét a **7. ábra** szemlélteti.



7. ábra A naringenin flavonokká, flavonolokká és köztes termékekké történő átalakulása az anyagcsere-hálózatban, amely az antocianinok és a kondenzált tanninok szintéziséhez vezet. Enzimek jelölése: ANR, antocianidin-reduktáz; ANS, antocianidin-szintáz; DFR, dihidroflavonol-4-reduktáz; F3H, flavanon-3-hidroxiláz; F3H, flavonoid-3-hidroxiláz; F3-5-H, flavonoid-3,5-hidroxiláz; FLS, flavonol-szintáz; FNS, flavon-szintáz; LAR, leucoantocianidin-reduktáz. (Felhasznált forrás: Jones R., Oughan H., Thomas H., Waaland S. The molecular life of plants. 2012.)

3.5. Betalainok

Vízoldékony, vakuoláris sárga (betaxantinok) és ibolya (betacianinok) pigmentek, melyek az antocianiokat cserélik le a legtöbb növénycsaládban a Caryophyllales renden belül. A cékla fő színanyagai (Zrýd és Christinet, 2004). Két fő csoportjuk van, a sárga betaxantinok és a vöröstől violáig terjedő színű betacianinok (Młodzińska, 2009). Bioszintézisük útját a **8. ábra** mutatja.



8. ábra A betalainok bioszintézisének útja, szerkezete és ismert enzimjei.

(Felhasznált forrás: Jones R., Oughan H., Thomas H., Waaland S. The molecular life of plants. 2012.)

3.6. Kondenzált tanninok (proantocianinok)

A Flavonoidok 3 fő metabolikus átalakulási útvonalainak egyike ezen molekulákhoz vezet (**7. ábra**). A szintelen flavan-3-ol vegyületek, mint például a katekinek és a kondenzált tanninok polimerek, amelyek például deszikkációkor, oxidálódva a magköpenyek

jellegzetes színét adják (Tanner, 2004) Létezik vörös, flavan-4-ol változatuk is (Tanner, 2004). Ezek a vegyületek a növények védekező anyagai. Nyálkahártya összehúzó hatású ún. „cseranyagok”. A katekinek jelentős mennyiségben vannak jelen a teában, kakaóban, csokoládében, borban, sok gyümölcsben és zöldségben.

3.7. Egyéb különleges színyanyagok, és a színyanyagok gyakorlati felhasználása

Fás szárúakban a geszt színét adó tartósító funkciót is betöltő flobafének. A bútortipar legdrágább alapanyagainak számító mahagóni, fekete dió, tiszafa különleges színeit is ezek adják. *Alkanna tinctoria* – báránypirosító. Anthaxantin –zöldalga színyanyagok, lazac flamingó rózsaszín színét adják. Kurkumin, sárga-narancssárga pigment a *Curcuma oblonga* rhizómájában. Fűszerkeverékek, például a curry-por alapanyaga.

A fentebb ismertetett legfontosabb színyanyagok tulajdonságait az **1. táblázat** foglalja össze.

1. Táblázat: A színyanyagok oldhatósága, kémiai struktúrája és stabilitása (Ghosh és mtsai., 2022 alapján)

Növényi színyanyag	Oldhatóság és kémiai struktúra	Stabilitás	Hivatkozás
Klorofilokl	Zsírdékonyak. Porfirinek, melyekben a pirrol gyűrű metinhidak és a kettős kötésrendszer által van összekötve, melyben a központi magnézium atomot a négy pirrol nitrogénjei koordinálják.	Bomlását okozhatja fény, hosszabb melegítés, oxigén, savas környezet, enzimek és alacsony hőmérsékleten történő tárolás	(Jurić és mtsai., 2020a; Singh és mtsai., 2020)
Antocianinok	Vízoldékonyak. Flavilium (2-fenilbenzopirilium) szerkezet változó hidroxil és metoxil csoportokkal	A cukorrészek acilezése és az antocianidin glikozilációja növeli a stabilitást. Aszkorbinsav, enzim (β -G antocianáz) a bomlásukat okozza. Érzékenyek a hőmérsékletre, fényre, oldószerre, pH-ra, oxigénre és proteinek jelenlétére	(Eker és mtsai., 2020; Jurić és mtsai., 2020b)
Betalainok	Vízoldékonyak. Betalaminsav iminium konjugátumai, ciklo-dopa [ciklo-3-(3,4-dihidroxyfenilalanin)] és amino vegyületekkel.	A Betalainok stabilitása javul a nagyobb pigment koncentráció, alacsony ph, kelátképző szerek, nagyobb fokú glükóziláció és aciláció, csökkentett vízakaktivitás, sötétség és alacsony hőmérséklet hatására. A betalainok stabilitása csökken lebontó enzimek (peroxidáz, polifenol- oxidáz, glükózidáz) kisebb mértékű glükóziláció és aciláció, magas vízakaktivitás, fémkationok, 3 és 7 közötti pH, magas hőmérséklet, valamint fény és oxigén hatására.	(Hussain és mtsai., 2018; Jurić és mtsai., 2020b)
Karotinoidok	Zsírdékonyak. C40 tetraterpének/tetraterpenoidok nyolc C5 izoterpenoidból	Bomlásuk szintje növekszik a sejtszerkezet leromlásával, megnövekedett felületi porozitás, oxigén és fény hatására.	(Lu és mtsai., 2020; Shilpa és mtsai., 2020)

3.8. Színanyagok tartósítása

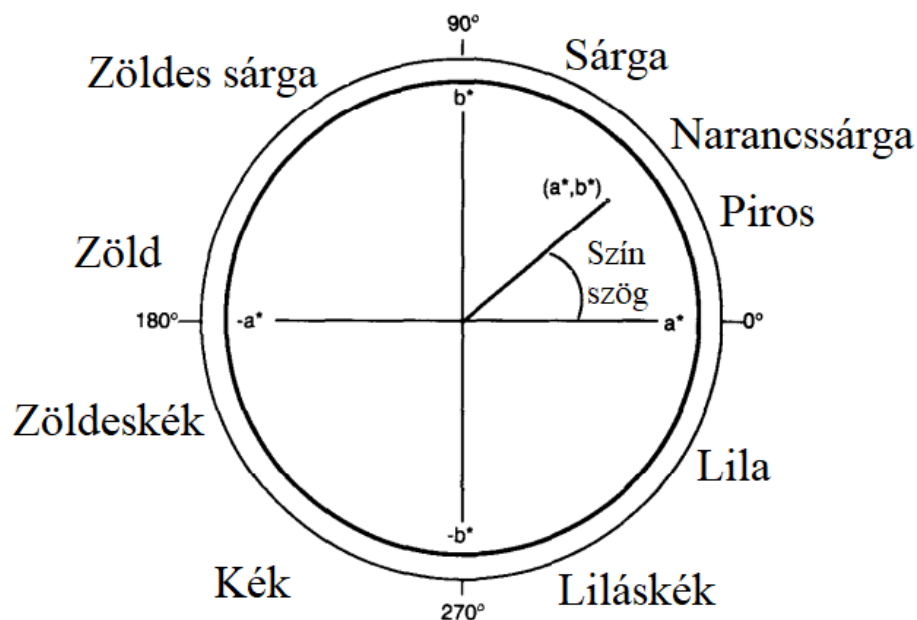
Branisa és mtsai. (2017) alapján a leggyakoribb tartósítási módszere a növényeknek a szárítás, ennek viszont mindig van valamilyen hatása a pigmentekre. Hat gyakori szárítási módszert hasonlítottak össze: konvekciós kemencés szárítás, fagyasztva szárítás, mikrohullámú szárítás, szobahőmérsékleten történő levegőn szárítás napfény hatására, szobahőmérsékleten történő levegőn szárítás napfény hatása nélkül és élelmiszer-száritóval történő szárítás, majd próbálták kiértékelni a hatásukat többek között a klorofill, karotinoid és antocianin tartalomra. A napon való szárítás a legegyszerűbb és legolcsóbb, de nem elég hatékony nagy mennyiségek esetén. Minden esetben a liofilizálás, azaz fagyasztva szárítás adta a legnagyobb értéket, mert ott nem volt a hő bontó hatása. A klorofill esetében ezután jött a szárítás sötétben, majd pedig a mikrohullám segített szárítás. Ez utóbbinál tapasztalható volt a roncsoló hatás, bár az függött a fokozattól és a szárítási időtől. A karotinoidok esetében a legjobb szárítási mód ismét a liofilizálás volt, bár a szerző kiemeli más forrásokra hivatkozva, hogy ezt nem lehet itt általánosítani. A második legjobb a mikrohullámmal segített, a harmadik pedig az árnyékban való szárítás volt. Az antocianinok esetén a levegőn, sötétben történő szárítás volt a leghatékonyabb, a liofilizálás és a mikrohullám-segített pedig az antocianin-vegyületek jelentős degradációjához vezetett. Arra jutottak, hogy az antocianinok esetében a kíméletesebb szárítási körülmények a legjobbak.

A klorofill kioldásához aceton:víz, v:v, 4:1 arányát használták, a tartalom meghatározásához pedig a spektrofotométerrel 663,6 nm-en a klorofill-a esetében, 646,6 nm-en a klorofill-b esetében és 440,5 nm-en a karotinoidok esetében mért abszorbancia értékekből számoltak. Az antocianinok kivonása 0.1% HCl (v/v)-t tartalmazó metanollal történt, a mennyiség kiszámításához az 510 és 700 nm-en mért abszorbancia értékeket használták (Branisa és mtsai. 2017).

3.9. Színelemzés ImageJ-vel

Schindelin és mtsai. (2012) alapján a biológia területenkénti összefonódása a számítástechnikával a hatalmas mennyiségű feldolgozandó adat effektív kezelése miatt indult el, és olyan területek kialakulásához vezetett, mint például a bioimage informatics, melyben összeolvad a számítógépes képfeldolgozás és a biológia. Az ImageJ egy nyílt forráskódú képelemző szoftver, melyet főként biológusok fejlesztettek ki. Több funkciója között sorolható fel a képek színterének elemzése, például a CIELAB színtér által. Voss

(1992) alapján ez egy háromdimenziós színtér, amelyet a Nemzetközi Világítástechnikai Bizottság (CIE) hozott létre 1976-ban. Fő célja, hogy az ember által érzékelhető összes színt objektíven, matematikai alapon ábrázolja egy háromdimenziós térben. A 3 tengely: az L^* , a^* és b^* . Az L^* a világosságot jelenti, amely a függőleges tengely, 0 (fekete) és 100 (fehér) közötti értéken. Az a^* a Vörös-Zöld komponens, amely tengely a színezetet mutatja a zöld (negatív értékek) és a vörös (pozitív értékek) között. A b^* érték pedig a Sárga-Kék komponens, amely a tengely a kék (negatív értékek) és a sárga (pozitív értékek) közötti tartományt ábrázolja. A színtér a^* és b^* tartományát/tengelyeit a **9. ábra** mutatja. A gyakorlatban az ImageJ-ben digitalizált képek elemzése a 'Lab Stack' funkció alkalmazásával történt, amely lehetővé teszi a felvételek CIELAB színtérbe történő konvertálását és csatornákra bontását.



9. ábra a CIELAB a^* - b^* színkör (forrás: Voss 1992)

3.10. Spektrofotometria

Passos és Saravia (2019) cikkje alapján az elektromágneses spektrum nagy frekvenciatartományból áll, melyeket külön spektrumokra lehet osztani. Az UV-látható fény, azaz a 180-800 nm hullámhosszú frekvenciák közötti tartomány energiája számos molekula által elnyelődik, más abszorbancia maximumokkal, ami által különböző vegyületek minőségi és mennyiségi vizsgálata válik lehetővé. A módszer olcsó, és általában nem nagyon munka- és időigényes (Karpínska 2012, Passos és Saravia 2019). Hátránya viszont az

alapvetően alacsony szelektivitása, amely a spektrumok átfedéséből származik, így limitált az egyszerre vizsgálható vegyületek száma. Erre megoldásként szolgálhat a vegyületek szétválasztása kémiaiilag, vagy akár a különválasztásuk nélküli vizsgálatuk matematikai algoritmusokkal kevesebb számú átfedő anyag esetén. Az oldószer is okozhat problémát, úgynevezett „zajt”, a mérés során, de ez kiküszöbölhető, ha először csak ennek az abszorbanciáját mérjük le (ez a „blank”), majd ezt kivonjuk a mért spektrumunkból. Az extraktumok zavarosságát 750 nm-en mérik, és ezt minden mért abszorbancia értékéből levonják (Szöllősi és mtsai. 2010).

3.10.1. A klorofilok spektrofotometriás vizsgálata

Ergun és mtsai. (2004) cikkje alapján a klorofill a és b fontos az élelmiszeripar számára és indikálhatja a környezet szennyeződését, például a fitoplanktonok vizsgálatánál, vagy a szintjének csökkenése (klorózis) a szárazföldi növényekben utalhat a levegő szennyezettségére. A két vegyületnek különböző oldhatósága van szerves oldószerekben, és részben átfedő fényelnyelési spektrumuk. Leggyakrabban acetont, etanolt és metanolt használnak kivonószerként, bár ritkábban használnak kloroformot, petróleumot vagy DMSO-t is. Aminot és Rey (2000) cikke alapján a spektrofotométeres vizsgálathoz a 90%-os acetonnal történő kivonás kiválóan alkalmas, mert vékonyabb abszorpciós csúcsokat és nagyobb, precízebben meghatározható extinkciós együtthatókat eredményez néhány másik kivonószerhez képest, legalábbis a klorofilok algákból történő kivonása esetén. Ergun és mtsai. (2004) az aprított növényi részek mozsárral történő morzsolása (Simon és Helliwell, 1998 -ra hivatkozva), majd szűrése után több oldószer közül, mint például az aceton, etanol, vagy propanol, az aceton és propanol 1:1 arányú keveréke adta a legnagyobb abszorbancia értékeket 663.2 nm-en vizsgálva, így ez lehet a legjobb közülük a klorofilok kivonására. Mindkét forrás kiemeli, hogy az acetonnal és az aceton-propanol keverékkel történő kivonáshoz ajánlott inkább a mozsárral történő feldolgozás például a szonikációs kád vagy a lassú áztatás módszere helyett. Ergun és mtsai. (2004) említi még, hogy más forrásban (Heath, 1989) valamivel effektívebbnek találták a kloroform/metanol kombinációit, de ezek mérgező és a kloroform karcinogén hatása miatt használatuk kerülendő, ha van egy hasonlóan jó alternatíva. Ismét másik forrásban (Szöllősi és mtsai. 2010) pedig 80%-os acetont használ 0,1% NH_4OH tartalommal, hogy a klorofilokat, mint apoláros anyagokat oldatban tartsa. Alapvetően a klorofill a és b abszorbszciós tartományai erősen átfedik egymást, így a spektrofotometriás mérések eredményeiből a pigmentek pontosan nem határozhatóak meg, hacsak nem használunk matematikai módszereket.

3.10.2. A karotinoidok spektrofotometriás vizsgálata

Amorim-Carrilho és mtsai. (2014) alapján a különböző növények közötti karotinoid-tartalom eltérése és a mintán belüli esetleges variancia, illetve a karotinoidok környezetükre való nagyfokú érzékenysége miatt a kivonásuknak nincs standard módszere. Mindazonáltal a kivonat készítések alapvető lépései sokszor megegyeznek, melyek közé tartozik először a karotinoidok növényből történő kivonása, majd pedig a kívánt karotinoidok elválasztása szerves oldószerrel történő kioldással, illetve esetlegesen előtte az oldat szaponifikációval történő kezelése, hogy megszabaduljunk a klorofillektől és egyéb lipidektől továbbá pedig a karotinoidok észteresedett formáitól, ezekkel könnyítve a spektrális analízist. A szerves oldószer kiválasztásában fontos szerepe van továbbá a karotinoidok polaritásának és az analitikai mátrix struktúrájának. Általában a poláros oldószerek, mint az etanol és az aceton inkább a poláros karotinoidok (xantofillek) kioldására jobbak, míg az apolárosak, mint a hexán inkább az apolárosak (karotinok) és észteresedett karotinoidok kioldására. Viszont utóbbiak használatát ezen szakdolgozatban kerüljük egészségre káros hatásuk miatt. Rodriguez-Amaya (2001) alapján a kivonás során sokszor használnak egy gyenge lúgot, pl 0,1% ammónium-hidroxidot, hogy semlegesítse az esetlegesen az extrakció során felszabaduló savakat, lúgos közeget hozzon létre, mivel a karotinoidok ebben a közegben stabilak, savas körülmények között pedig lebomlanak. A legtöbb karotinoidnak három abszorpciós maximuma van, és minél több bennük a konjugált kettős kötés, annál nagyobb hullámhosszú (annál kisebb energiájú) fényt nyelnek el (Amaya, 2001).

3.10.3. Az antocianinok spektrofotometriás vizsgálata

Março és mtsai. (2011) eredményei alapján az antocianinok színére és stabilitásukra nagy hatással van a pH, hőmérséklet, fény, a kivonószer és más molekulák jelenléte. Az UV inkább egyirányú fotodegradációt okoz, míg savas és lúgos körülmények között eltérő kémiai szerkezetet vehetnek fel, melyben a különböző formák egyensúlyban vannak, és amely folyamat visszafordítható egy bizonyos szintig. Oldott állapotban, savas közegben (pH 2 alatt) a flavilium-kation a domináns, legstabilabb forma. Castañeda-Ovando és mtsai. (2009) is megerősítik, hogy pH:1 értéken a flavilium kation (vörös szín) a domináns forma, és hozzájárul a lila és vörös színekhez. pH 2 és 4 között a kék, kinoid forma dominál, 5 és 6 között csak a színtelen karbinol-pszeudobázis és az enyhén sárga kalkon figyelhető meg, 7-nél magasabb pH-értéken az antocianinok a szubsztituens csoportjaiktól függően bomlanak le. 4 és 6 közötti pH-értéken az antocianinok négy szerkezeti formája létezik egyszerre: a

flavilium kation, a vízmentes kinoid alakú bázis, a színtelen karbinol bázis és a halványsárga kalkon. A kinoid bázisok és a karbinol közötti egyensúly a flavilium kationon keresztül jön létre. A pH emelkedésével a vízmentes bázis mennyisége is növekszik, és savasabb körülmények között a vörös flavilium-ion a domináns forma. Az antocianidinek stabilitását a B gyűrű szubsztituensei és a további hidroxil- vagy metoxilcsoportok jelenléte befolyásolja, amelyek csökkentik az aglikon stabilitását semleges közegben; ezért van az, hogy a muskátli fő színanyaga a pelargonidin a legstabilabb antocianidin. Az aglikonokkal ellentétben a monoglikozidok és a diglikozid-származékok stabilabbak semleges pH-körülmények között. Ezt a viselkedést az magyarázza, hogy a cukormolekulák elkerülik az instabil intermedierek lebomlását fenolsavvá és aldehidvegyületekké. Az antocianinok stabilitásával és a pH-függő színváltozásával kapcsolatos vizsgálatok arra a következtetésre jutottak, hogy ezen vegyületek színváltozása jelentősebb lúgos környezetben (Castañeda-Ovando és mtsai. 2009). A színváltozásuk lúgos közegben jelentősebb az ott megfigyelhető általában kisebb stabilitás miatt, bár néhány esetben a kékes árnyalatok ott is lehetnek intenzívek és viszonylag stabilak (Cabrita és mtsai. 2000). Castañeda-Ovando és mtsai. (2009) cikkje alapján előfordulhat továbbá kopigmentáció, amikor az antocianin egy másik, általában színtelen anyaggal molekuláris asszociációt vagy komplexet alkot, amely általában a színintenzitás megváltozását vagy hiperkróm eltolódást és vöröseltolódást okoz. A hatás mértéke pH függő, szembetűnőbb magas pH-n, ahol színtelen formában vannak a molekulák. Ez az anyag többek között lehet flavonoid, fémion, szerves sav, alkaloid, nukleotid vagy másik antocianin.

A leggyakoribb kivonószerek közé tartozik az etanol, aceton és a metanol, melyet valamilyen savval savasabbá tesznek, hogy a flavilium-kation formán történjen a vizsgálat. (Castañeda-Ovando et al. 2009) Elnyelési maximumuk függ a kivonószertől, és a pH-tól, de jellemzően 500 és 550 nm között van, a flavilium-kation formában általában 520nm körül.

4. Anyagok és módszerek

4.1. Begyűjtött növények és kezelésük

A begyűjtött anyag legnagyobb részét sötétben, szilika géllel szárítottam (táblázatokban „Sz” jelzésű minták), másik részüket sikerült friss állapotban is extrahálnunk („F” jelzésűek). Azért ezt a módszert választottam, mert ez kíméletesebbnek tűnt az antocianinok megőrzéséhez a hővel történő szárításnál, aminek káros hatásai Branisa és mtsai. (2017) eredményei bizonyítottak. Ugyanakkor azt reméltük, hogy módszerünk gyorsabb, mint a levegőn szárítás, ami szintén sokat számíthat a degradáció elkerülésében. A legtöbb mintám virágszirom volt, ezért célom volt, hogy a vélhetőleg nagy színanyag-tartalmú, lágy szöveti struktúrából a szilika gél minél hamarabb kivonja a vizet. A szárítást nagyjából egy hétig végeztem, fénytől védett helyen, hogy elkerüljem a minták színagainak fotodegradációját, amíg a minták teljesen száraznak nem érződtek, utána pedig száraz, sötét helyen tároltam őket. A virágok legnagyobb része nemesített, dísznövény fajta volt, amelyeket virágoskertből gyűjtöttem. A zöltség mintáim boltból származtak, többek között a szárított goji bogyó és a lilahagyma is, melyek szárítását így nem én végeztem, a lilahagyma hártyás buroklevele feltételezhetően természetes úton száradt, a goji bogyó szárítása pedig így élelmiszeripari technikával történt, viszont karotinoid tartalma magas kellett, hogy maradjon, mivel ez a termék egyik legfőbb értékmérő tulajdonsága.

4.2. Preparátumok készítése és fénymikroszkópos vizsgálata

Célom az volt, hogy a lehető legtöbb fajta, színanyagokat tartalmazó növényi részt bemutassam, hagyományos növényanatómiai laboratóriumi eljárásokkal preparálva, mint a metszet, nyúzat és macerátum készítése a növénytől függően, hagyományos eszközökkel, mint a borotvapenge és a lándzsatű. A mintákat digitális feltéttel rendelkező Olympus DP73 fénymikroszkóppal vizsgáltuk, és készítettünk a preparátumokról képeket.

A kész képek elemzéséhez a CIELAB színtért alkalmaztam. Mivel a nyers a^* és b^* koordináták (9. ábra) önmagukban nehezen értelmezhetőek és statisztikailag nem tekinthetőek független változóknak, McGuire (1992) javaslata alapján a belőlük számított színszöveget (Hue, h°) határoztam meg ImageJ szoftverben, ezzel objektíven meghatározva a minták színét, egyúttal kiküszöbölve a minták eltérő fajtájából és a kézi preparálás miatti

esetleges metszestvastagság-eltérésekből adódó torzító hatásokat. Továbbá a színtelítettséget meghatározó Chroma (C^*) érték kiszámolásával ellenőriztem a színszög megbízhatóságát az adott mintán, ugyanis a túl alacsony Chroma érték esetén ez megbízhatatlan lenne a zaj nagyobb mértéke vagy a fakó szín miatt (Voss, 1992). Minden képről 5 területet mértem, melyek kijelölésekor törekedtem kizárólag a sejti régiók kijelölésére, hogy elkerüljem a háttér okozta optikai hígító hatást és az ebből adódó telítettségcsökkenést. A CIELAB-értékeket, beleértve a világosságot (L^*) ugyanazon területről mértem le. Az így nyert adatsorok statisztikai feldolgozása során a vörös tartományban ($0^\circ/360^\circ$) jelentkező periodicitást korrigáltam, majd az átlag és szórás Excelben történő kiszámolásával jellemeztem a preparátumok megfigyelt részeinek színtulajdonságait. Az így korrigált színszög értékekből az átlag számítása után visszaállítottam az eredményeket a standard $0-360^\circ$ skálára. A számításokhoz a következő egyenleteket használtam:

$$h^\circ = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

A mérési eredményeimből számolt értékeket a **2. táblázat** tartalmazza.

4.3. A fotoszintetikusan aktív pigmentek (klorofillok és karotinoidok) kivonása és spektrofotometriás mérése

4.3.1. Wellburn-módszer

Az ismert tömegű mintákat 80%-os acetonnal (0,1% NH_4OH tartalommal) tártuk fel gyors eldörögölés után, hogy az aceton esetleges párolgása ne zavarja a mérési eredményeket, majd 2 percig rázattuk vortexen, és tovább extraháltuk egy éjszakán át sötétben 4°C -on.

Másnap a mintákat centrifugáltuk először 6000 rpm-en 6 percig, majd 13000 rpm-en 10 percig, 4°C -on. Ezt követően a felülúszókat átpipettáztuk egy üres Eppendorf csőbe. A klorofill tartalom meghatározása spektrofotometriás módszerrel történt. A minták abszorbanciáját 470nm, 646,8 nm, 663,2 nm és 750 nm hullámhosszon mértük 80%-os acetonban. A pigmenttartalom meghatározása a Wellburn (1994) által megadott számításokat alkalmazva, Szöllősi és mtsai. (2010) protokollját követve történt.

A friss, nagy nedvességtartalmú minták esetében a kivonás 0,125 g / 2 ml, azaz 1:16 (m:V) arányban történt, míg a szárított mintákból ennek tizedét, 0,0125 g-ot mértünk be 2 ml kivonószerhez. (F: 62,5 mg/ml, illetve Sz: 6,25 mg/ml kivonatok)

Ha szükséges volt a méréshez hígítottuk a kivonatot, és az eredményt a hígítás mértékével korrigáltuk.

4.4. Az antociánok kivonása és spektrofotometriás mérése

A mintákat sósavas metanol oldattal eldörögöltük, majd 2 percig rázattuk vortexen. Itt is követtük a klorofill/karotinoid tartalom meghatározásnál alkalmazott arányokat, a friss, nagy nedvességtartalmú minták esetében a kivonás 0,125 g / 2 ml, azaz 1:16 (m:V) arányban történt, míg a szárított mintákból ennek tizedét, 0,0125 g-ot mértünk be 2 ml kivonószerhez. (F: 62,5 mg/ml, illetve Sz: 6,25 mg/ml kivonatok)

Az extraktumokat egy teljes éjszaka sötétben 4 °C-on tartottuk. Másnap a leülepedett mintákat vortexeltük, majd először 6 percig 6000 rpm-en, majd peddig 10 percig 13000 rpm-en centrifugáltuk. A felülúszókat átpipettáztuk egy üres Eppendorf csőbe (Francis 1982, M-Hamvas et al. 2010). Az így kapott felülúszókból az antocián tartalom meghatározása spektrofotométerrel történt. A kivonat fényelnyelését 3 hullámhosszon, 530 nm, 536 nm, 600 nm és 657 nm-en mértük.

Kétféle módszert alkalmaztunk a pigmenttartalom kiszámításához: (1.) Hodges és Nozzolillo (1996) módszerével a kapott eredmény: $\mu\text{mol antocián g}^{-1} \text{ tömeg} = (\text{Absz}_{536\text{nm}} - \text{Absz}_{600\text{nm}}) \times 33$, ahol 33 az 1 $\mu\text{Mol/ml}$ antocián oldat extinkciós koefficiense (ϵ : 33000 Mol/L= mMol/ml). Kivonataink 1 ml-e 0,0625 g nedves, vagy 0,00625 g száraz tömegű mintából készült, így a számoláshoz használt képlet így módosult: F: $\mu\text{M antocián g}^{-1} \text{ Nt} = ((\Delta\text{OD} \times \text{mérési hígítás} \times 33)/0,0625 \text{ g} = \mu\text{M/g Nt})$ és Sz: $\mu\text{M antocián g}^{-1} \text{ Szt} = ((\Delta\text{OD} \times \text{mérési hígítás} \times 33)/0,00625 \text{ g Szt})$. Ahol nedves tömeget mértünk be, ott kalkuláltunk egy száraz tömegre vonatkoztatott értéket is. a becsléshez 90%-os víztartalommal számoltunk.

Ezt a módszert torzítja, hogy a zöld levelek (pl. pletyka) klorofill tartalma is elnyelést mutat ezeken a hullámhosszakon.

(2.) Mancinelli et al. (1984) módszerével, ahol a számítás: $\Delta\text{Absz } 530 \times \text{g}^{-1} = (\text{A}_{530\text{nm}} - 0,25 \times \text{A}_{657\text{nm}}) \times \text{mérési hígítás}$. Ez a mérés a klorofillok elnyelésével korrigáltan adja meg az antocián koncentrációt. A módszert *Lemnaceae* fajokra sikerrel alkalmazták

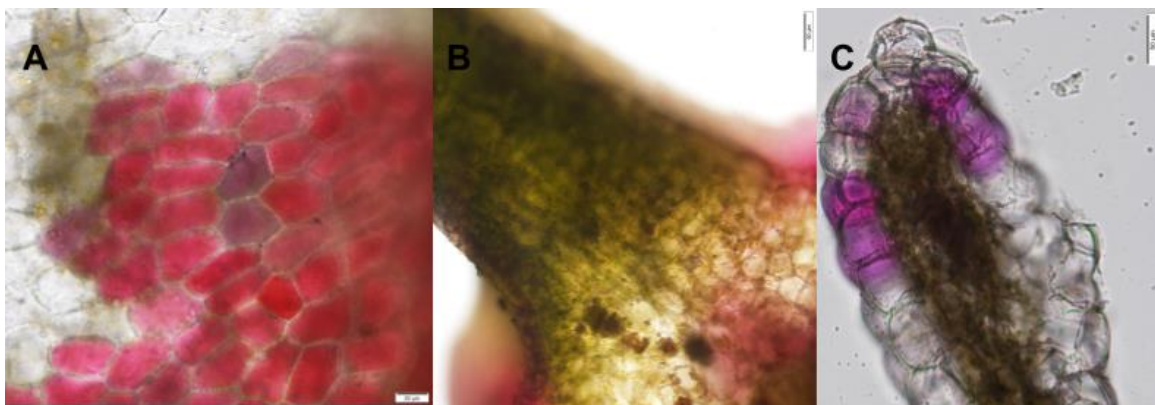
(Oláh és mtsai. 2009). Itt is becsültünk száraz tömegre vonatkozó értékeket a friss mintáknál, az előzőekben leírt számítással.

5. Eredményeink és eredményeink megbeszélése

5.1. Preparátumok

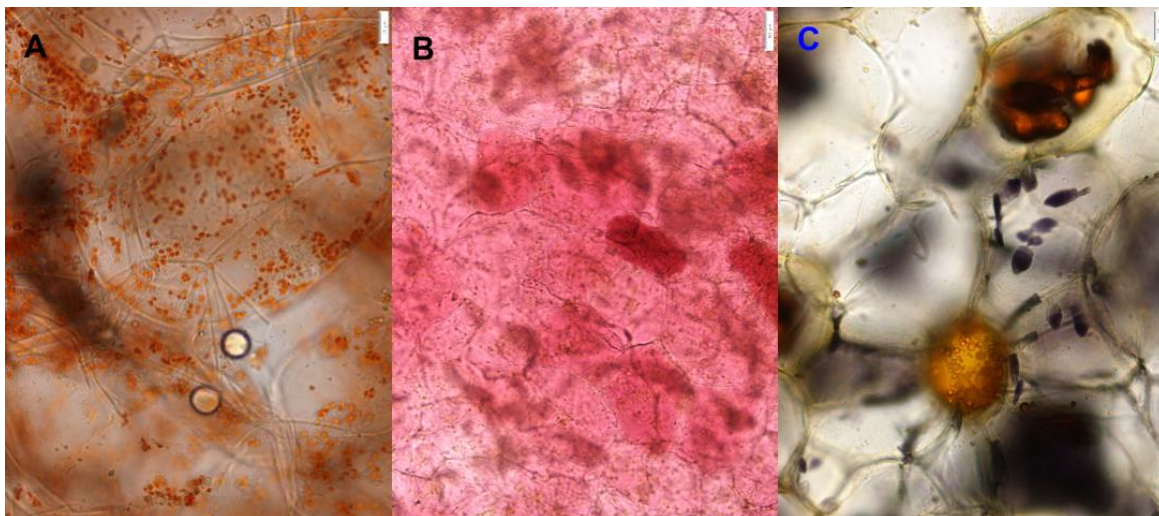
5.1.1. Preparátumok kiértékelése

Francis (1982) alapján az antocianinok a növényekben általában kinonoid bázisként vannak jelen az enyhén savas közeg miatt. De gyakran találkozunk azzal a jelenséggel, hogy egy növényen eltérő színű virágok vannak, és hogy a szeszszcencia során változik a virágok színe azzal, hogy módosul a sejtnedv pH-ja. A **10-11. ábrákon** néhány általunk készített preparátumon mutatjuk be a színyanyagokat, és eltérő lokalizációjukat a sejtekben.

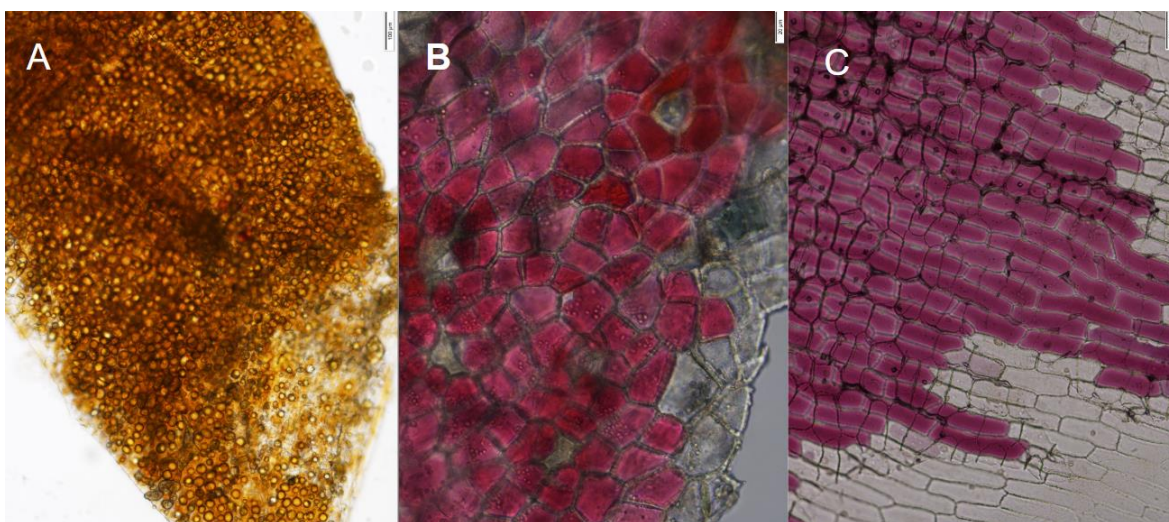


10.1 ábra Színyanyagok a növények különböző szerveiben, például a levelekben: A: antocianinok a bibircses kecskerágó (*Euonymus verrucosus*) őszi leveléből készült nyúzatban, B: betalainok a vakuólumokban és klorofilok a kloroplasziszokban a cékla (*Beta vulgaris subsp. vulgaris var. conditiva*) levél főér menti keresztmetszetében, C: klorofilok

a mezofillum plasztiszaiban és antocianinok az epidermisz vakuólumaiban a zebra-pletyka (*Tradescantia zebrina*) levelének keresztmetszetében.



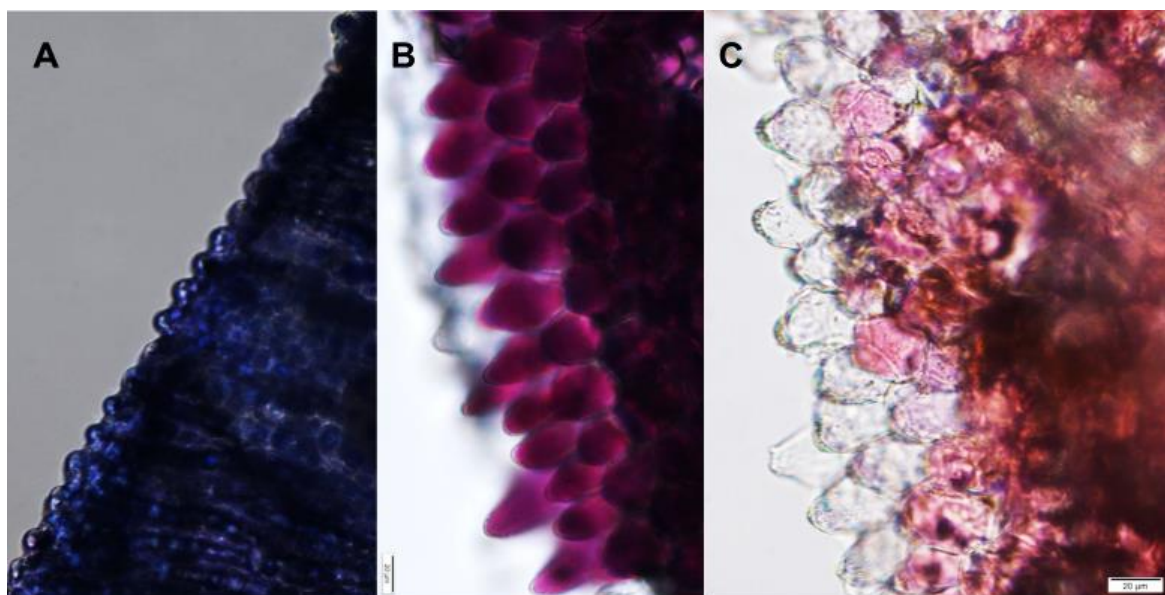
10.2. ábra Színanyagok a növények különböző szerveiben, például a termésekben: A: kápia paprika (*Capsicum annuum*) karotinoidjai a bogyótermés falából származó sejtek kromoplasztiszaiban, mellettük olajcseppek, B: kékszőlő (*Vitis vinifera*) macerátum a termésfal mezokarpium sejtjeiből, vakuoláris antocianinokkal színeződött sejtek, C: kurkuma (*Curcuma longa*) rizóma cortex idioblasztjaiban raktározott kurkuminoid-oleorezinek és lugol-oldattal sötétkékre festődött keményítőszemcsék a raktározó parenchima sejtjeiben.



10.3. ábra Színanyagok a növények különböző szerveiben: A: bibircses kecskerágó (*Euonymus verrucosus*) magköpenyében karotinoidok és olajcseppek, B: bibircses kecskerágó (*Euonymus verrucosus*) termésfal (perikarpium) piros színét adó vakuoláris

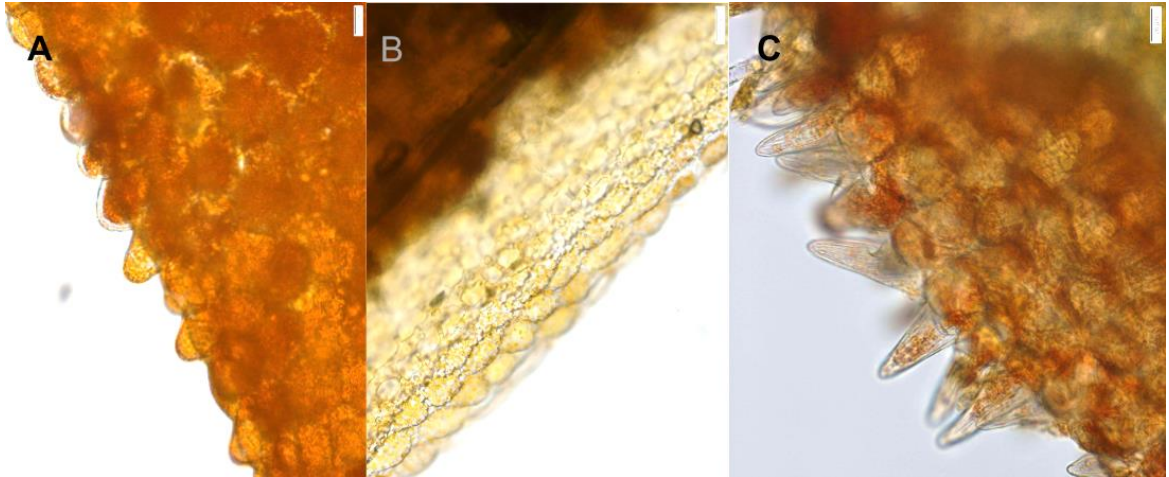
antocianinok, C: lilahagyma buroklevél epidermisz nyúzat antocianin tartalmú vakuólumokkal.

A színyanyagok a növények leveleiben, terméseiben is jelen vannak és fontos szerepet töltenek be (10.1., 10.2 és 10.3. ábrák), de legváltozatosabbá a virágokat teszik, ahol fő funkciójuk a beporzók odavonzása. Fontos megjegyeznünk, hogy a rovarok szemei ezeket a virágokat másmilyen mintázatúnak, színűnek látják, mint az emberi szem. Az érzékelt színt befolyásolja a papillás epidermisz, a redőzött kutikula fényszórása is. A kék, bordó, piros színek leggyakrabban a vakuólumnedvben felhalmozódó antocianinoknak köszönhetők (11.1. ábra)

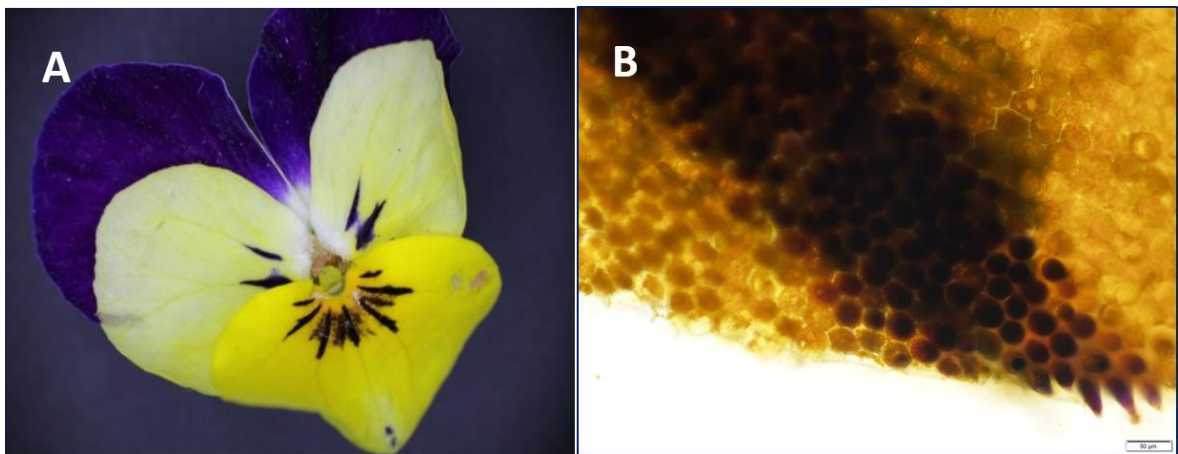


11.1. ábra Színyanyagok a növények különböző szerveiben, a virágszirmok színyanyagai: antocianinok a papillás sejtek vakuólumaiban: A: „kerti kékvirág” (*Ceratostigma*

willmottianum – kínai ólomvirág), B: lila árvácska (*Viola × wittrockiana*), C: tearózsa *Rosa hybrida* szíromlevelei.



11.2. ábra Színanyagok a növények különböző szerveiben, a virágszirmok színanyagai: karotinoidok a papillás sejtek kromoplasztiszaiban: A: bársonyvirág (*Tagetes patula*), B: narancssárga árvácska (*Viola × wittrockiana*), C: citromsárga árvácska (*Viola × wittrockiana*).



11.3. ábra Színanyagok a növények különböző szerveiben, a virágszirmok színanyagai: A: sárga és kék mintás árvácska (*Viola × wittrockiana*), B: a sárga színt a kromoplasztiszok karotinoidjai, a kék színt a kromoplasztiszok színét elfedő vakuoláris antocianinok adják.

A bársonyvirág és a sárga árvácska szirmok preparátumaiban jól láthatók a kromoplasztiszok (**11.2. ábrák**). A bársonyvirág az egyik legismertebb lutein forrás a szemünk működését támogató étrendkiegészítőkhöz. Az árvácska virág fogyasztható, egyre divatosabb, mint hidegtálak ehető díszítőeleme. Fogyasztásával antioxidáns karotinoidokat juttatunk a szervezetünkbe.

Ha olyan sárga árvácska szirmokat választunk, melyekben lila mintázat látható (11.3.A ábra), akkor láthatóvá válik, hogy a lila színmintázat a vakuólumnedv antocián tartalmának köszönhető, amely ilyenkor elfedi a citoplazmában lévő kromoplasztiszok sárga színét (11.3.B. ábra). Az árvácska preparátumon remekül bemutatatható a zsíroldékony karotinoidok és a vízoldékony antocianinok együttes jelenléte a sejtekben (Wanner, 2004).

Az antocianinok színének pH függése a növényi preparátumokon is bemutatatható (12. ábra) híg NaOH vagy HCl oldat segítségével.



12.ábra Az antocianinok pH-függőségének szemléltetése a preparátumokon: A1: egybibés galagonya (*Crataegus monogyna*) kontroll, A2: egybibés galagonya (*Crataegus monogyna*) emelkedett pH-n, B1: „kerti kékvirág” (*Ceratostigma willmottianum* –kínai ólomvirág) kontroll, B2: „kerti kékvirág” savas pH-n.

5.1.2 Preparátumok színének elemzése ImageJ-vel

Image J segítségével megpróbáltuk számszerűsíteni a preparátumok digitalizált képein a mintáink színét, „színkarakterisztikáját”. A mérési eredményeket a **2. táblázat**ban foglaltuk össze. Összesen 20 preparátumot elemeztünk, ami 12 növényfaj különböző részeiből készült. Az átlagértékek az ún. „színszögek” 21-352-ig terjednek., ahol a 21 a piros tartományba esik, a 352 a lilás-pirosba. A kápia paprika értéke: 48, ami a narancssárga tartományba esik, -nagyon helyesen (lásd **9.ábra**). Az általunk így értékelt képek a **10-11.2. és 12. ábrák**.

2. Táblázat: A preparátumok CIELAB színtérben meghatározott színkarakterisztikája

Minta	Átlag / hue angle	Szórás / hue angle	Szórás / Chroma	Átlag / Chroma	Átlag / Hatter_L_Ref
Bársonyvirág szírom (<i>Tagetes patula</i>)	60,3618	6,60	8,71	47,40	97,89
Bibircses kecskerágó <i>Euonymus verrucosus</i> levél	21,2922	8,87	7,23	57,63	145,76
Bibircses kecskerágó magköpeny	56,766	3,74	8,76	53,45	106,89
Bibircses kecskerágó termésfal	8,1244	6,76	2,43	39,00	78,20
Cékla (<i>Beta vulgaris</i> subsp. <i>vulgaris</i> var. <i>conditiva</i>) levél klorofill	84,2278	3,10	4,82	44,87	126,29
Cékla levél betalain	31,949	3,87	6,05	34,89	126,29
Galagonya (<i>Crataegus monogyna</i>) terméshéj	34,1922	2,43	3,63	51,76	68,15
Lúgos galagonya terméshéj vöröses átmeneti rész	35,1594	16,29	11,08	31,09	
Lúgos galagonya terméshéj zöldes rész	96,5316	5,24	3,82	19,14	
Lilahagyma (<i>Allium cepa</i>) húsos allelél külső epidermisz	352,8864	1,33	0,30	37,02	97,33
Kápia paprika (<i>Capsicum annuum</i>)	48,0304	3,33	6,07	43,74	
Kurkuma (<i>Curcuma longa</i>) rizoma kortex	61,1926	6,80	3,11	53,02	
Lila árvácska (<i>Viola × wittrockiana</i>)	340,32	3,46	6,25	41,85	71,70
Narancssárga árvácska (<i>Viola × wittrockiana</i>)	57,7438	2,59	2,96	32,48	85,09
Pletyka (<i>Tradescantia zebrina</i>) levél keresztmetszet	334,0004	2,69	3,78	45,90	164,17
Rózsaszírom (<i>Rosa hybrida</i>)	3,6826	9,29	4,07	25,30	182,89
Sárga árvácska (<i>Viola × wittrockiana</i>)	88,9608	1,96	2,69	28,18	107,99
Kínai ölomvirág (<i>Ceratostigma willmottianum</i>)	292,4168	2,32	5,36	19,49	112,69
Sósavas Kínai ölomvirág (<i>Ceratostigma willmottianum</i>)	345,4104	15,35	9,28	19,37	
Kékszőlő (<i>Vitis vinifera</i>)	26,104	3,45	3,12	46,83	

A lúgos galagonya, a kápia paprika, a kurkuma, a kékszőlő és a kékvirág sósavas mintáinak mérésénél nem történt korrekció a háttérrel, mert a képen nem látszott annak tiszta, üres része. A **11.3. ábra** mintáiról nem készült CIELAB színelemzés.

Eredményeink alapján mi is megerősítjük, hogy ez a módszer arra jó, hogy megpróbáljuk számszerűsíteni a különböző árnyalatait egy-egy fő színnek, de nem pótolja az analitikai módszereket a színanyagok kutatásában.

5.2. Klorofillok, karotinoidok mérési eredményei és megbeszélésük

A fotoszintetikus aktivitással rendelkező pigmentek mennyiségét a fényelnyelési spektrumok alapján Wellburn (1994) módszerével számoltuk, eredményeinket a **3. táblázat**ban foglaltuk össze és grafikusán is ábrázoltuk (**13. ábra**). Mintáink között voltak szárítottak („Sz”) és frissen gyűjtöttek („F”). A pigmenttartalmat megadtuk $\mu\text{g} / \text{ml}$ extraktum értékben és $\mu\text{g} / \text{mg}$ Szt értékben is. Ez utóbbit a friss minták esetében kalkuláltuk, feltételezve, hogy szárításkor a tömegük tizedére csökkenne. Így számolva a friss minták kalkulált adatai lettek a legmagasabbak.

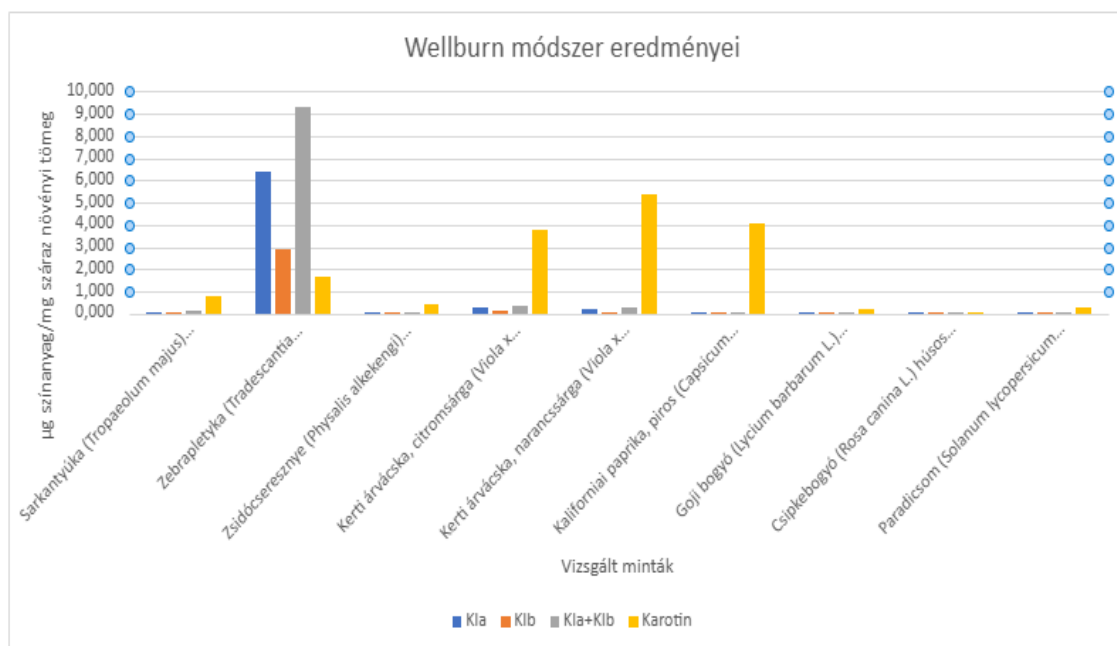
3. táblázat: A vizsgált növények klorofill és karotinoid tartalma

Minta	Sarkantyúka (Tropaeolum majus) Virágszirom (petalum)	Zebraletyka (Tradescantia zebryna) levél	Zsidócserekesnye (Physalis alkekengi) módosult csészelevel (calyx)	Kerti árvácska, citromsárga (Viola x wittrockiana 'Lemon') Virágszirom (petalum)	Kerti árvácska, narancssárga (Viola x wittrockiana 'Orange') Virágszirom (petalum)	Kaliforniai paprika, piros (Capsicum annuum L.) termésfal (exocarpium)	Góji bogyó (Lycium barbarum L.) termésfal (pericarpium)	Csipekebogyó (Rosa canina L.) húsos átermésfal (receptaculum)	Paradicsom (Solanum lycopersicon L.) termésfal (exocarpium)
Hígítás	1,000	3,000	1,000	10,000	10,000	10,000	1,000	1,000	3,000
μg Kla	0,521	40,052	0,214	1,642	1,086	0,189	0,045	0,016	0,057
μg Klb	0,271	17,921	0,135	0,740	0,565	0,328	0,104	0,054	0,098
μg színanyag/ 1ml	0,792	57,973	0,349	2,382	1,651	0,517	0,148	0,070	0,155
kivonószér Karotin	4,808	10,497	2,440	23,809	33,788	25,362	1,278	0,431	1,791
μg Kla	0,083	6,408	0,034	0,263	0,174	0,030	0,007	0,003	0,009
μg színanyag/ klb	0,043	2,867	0,022	0,118	0,090	0,052	0,017	0,009	0,016
mg száraz növényi tömeg	0,127	9,276	0,056	0,381	0,264	0,083	0,024	0,011	0,025
Karotin	0,769	1,680	0,390	3,809	5,406	4,058	0,205	0,069	0,286
Kla/Klb	1,921	2,235	1,593	2,219	1,921	0,577	0,430	0,297	0,577
Karotin/Klorofill	6,069	0,181	6,996	9,994	20,471	49,038	8,637	6,121	11,540

Az extraktumaink 1 ml-ében a karotinoidok össz mennyisége az alábbi sorrendben mutat csökkenést: narancssárga árvácska > kaliforniai paprika > citromsárga árvácska > zebraletyka lomblevel > sarkantyúka virág > *Physalis* csészelevel > paradicsom > góji bogyó > csipekebogyó termésfal.

A száraz tömegre vonatkoztatott értékek sorrendje nem változik, tehát a becsléshez használt 90%-os víztartalom reális érték (**13. ábra**).

Meglepő, hogy a letyka lomblevelében nem csak a klorofill tartalom magas, hanem a karotinoidok mennyisége is. A karotinoidok funkciója a lomblevelben eltér a gyümölcsök, szíromlevelek karotinoidjaitól, ezért tanulságos, hogy segédpigmentkénti mennyiségük ilyen jelentős.



13. ábra Wellburn módszerrel mért pigmenttartalmak

Közismert, hogy a paradicsom karotinoid tartalmát a piros likopin és a narancssárga β -karotin adja. A Szegedi Tudományegyetem, Mérnöki Kar, Élelmiszer-mérnöki Intézet kutatóinak adatai szerint a paradicsom összes karotinoid- és likopintartalma a zöldtől a mélyvörös érési szakaszig 1,87 mg/100 g-ról 7,37 mg/100 g-ra (összes karotinoid), 2,05 mg/100 g-ról 8,11 mg/100 g-ra (likopin) emelkedett. Megállapították, hogy ezek az eredmények jó egyezést mutatnak a szakirodalmi adatokkal, amelyek szerint az üvegházi paradicsom likopintartalma 7,0-8,3 mg/100g ehető adag között van (int.1.) Ez az adat 0,07-0,08 $\mu\text{g}/\text{mg}$ adatnak felel meg. A mi paradicsom mintánk héjában ez 0,286 $\mu\text{g}/\text{mg}$ értéknek adódott. Ez reális, hiszen mi a húsos, nagy nedvességtartalmú mezo- és endokarpiumot nem mintáztuk. Hasonlóan magas karotinoid értéket mértünk az egyre népszerűbb Goji bogyóban is 0,205 $\mu\text{g}/\text{mg}$ (20,5 mg/ 100g). Fratianni és mtsai. (2018) a goji gyümölcsök (*Lycium barbarum L.*) abrazív előkezelésének és az 50 - 70 °C-on történő szárítás hatásának értékeléséhez tanulmányozták a színváltozásokat és a karotinoidokat. Extrakciós módszert adaptáltak a goji bogyók fő karotinoid-észtereinek és elszappanosított karotinoidjainak vizsgálatára. A goji bogyókról megbizonyosodott, hogy magas zeaxantinforrást jelentenek, fő komponensük a zeaxantin-dipalmitát, melyből körülbelül 2 g/kg (2 mg/g) száraz tömeget tartalmaz. Emellett alacsony koncentrációban található benne β -karotin, anteraxantin, neoxantin, β -kriptoxantin és lutein. Szárítás után 15-20% karotinoid-vesztéssel rögzítettek. A xantofill-észterek stabilabbnak bizonyultak, mint a szabad karotinoidok. A szárítási

folyamat jelentősen módosította a szint mind az előkezelt, mind a kezeletlen mintákban, azonban az előkezelés csökkentette a szárítási időt, és így jobban megőrizte a goji bogyók színét akár 60 °C-os szárítási hőmérsékleten is. Mi a Fratianniék által mért érték tizedét mértük, aminek oka az eltérő extrakció. A minta magas cukortartalma miatt ragadt, így már a bemérés is pontatlan lehetett. Nem meglepő, hogy módszertani cikkek születnek a hatékony kivonással, karotinoid tartalom méréssel kapcsolatban a Goji-bogyó esetében.

Meglepő ugyanakkor a kerti árvacskáknak a kaliforniai paprikához hasonlóan magas karotinoid tartalma. Kozicka és Hallmann (2023) cikkjében hasonló módszertannal vizsgálták az árvacska (*Viola × wittrockiana*) színanyagait: a minták előkészítése során 100%-os acetont és (1 mg/5ml) magnézium-karbonátot használtak az extrakcióhoz, hideg (0 °C) ultraszónikus fürdővel. Méréseik során HPLC-DAD technikát alkalmaztak, ahol a xantofilokat 445 nm-en, a karotinoidokat és klorofilokat pedig 450 nm-en detektálták, a pontos mennyiségi meghatározást pedig standard görbék segítségével végezték el. A citromsárga árvacskában 4,2 mg/100 g volt a karotinoidok mennyisége nedves tömegben, így 90%-os víztartalommal számolva 0,42 mg/g (száraz tömeg). Az értékeiket összevetik Narbona és mtsai. (2021) eredményeivel, akik sárga árvacskájuk karotinoid tartalmát 8.3 mg/100 g-ra határozták nedves tömegben, ami 0,83mg/g száraz tömegben. Az általam mért összkarotinoid-tartalom a citromsárga árvacskában $23,81 \text{ mg}/62,5 \text{ g Nt} = 38,1 \text{ mg}/100\text{g Nt}$ száraz tömegében 3,8 mg/g. Ez az általuk mért mennyiség többszöröse, mely eltérés oka lehet a Kozicka & Hallmann (2023) által használt HPLC mérés szelektivitása, illetve, hogy az általam alkalmazott spektrofotometriás eljárás a Wellburn-egyenlettel az adott hullámhosszon elnyelő összes karotinoid-származékot méri. A magas színanyagtartalom alapvetően származhat abból, hogy a vizsgált növény egy direkt a színe miatt nemesített, dísnövény-kereskedelembé szánt hibrid. Továbbá a forrás leírja még hogy nagy különbségek lehetnek a szabadban és a konvencionális körülmények között termesztett növények között, ebből is származhat a paprika és az árvacska közötti különbség. Topuz és Ozdemir (2007) törökországi, mezőgazdasági ipari körülmények között nevelt különböző paprikafajták karotinoid-tartalmát vizsgálta többek között, Minguez-Mosquera és Hornero-Mendez (1993) módszere alapján. A kivonást acetonnal, majd a tisztítást dietil-éteres extrahálással, majd 10%-os metanolos KOH-oldattal végzett szaponifikációval csinálták. A tisztított minták HPLC-s, C18 fordított fázisú oszlopon történő elválasztása után 450 nm-en vizsgálták az abszorbanciát. A vizsgált kápia hibrideknél maximum 2390 mg/kg (d.w.)-t mértek, egy „730 F1” jelű hibridben, ami az általam mért 4058 mg/kg értéknél alacsonyabb, amit megint csak okozhatott a HPLC nagyfokú szelektivitása a spektrofotometriás

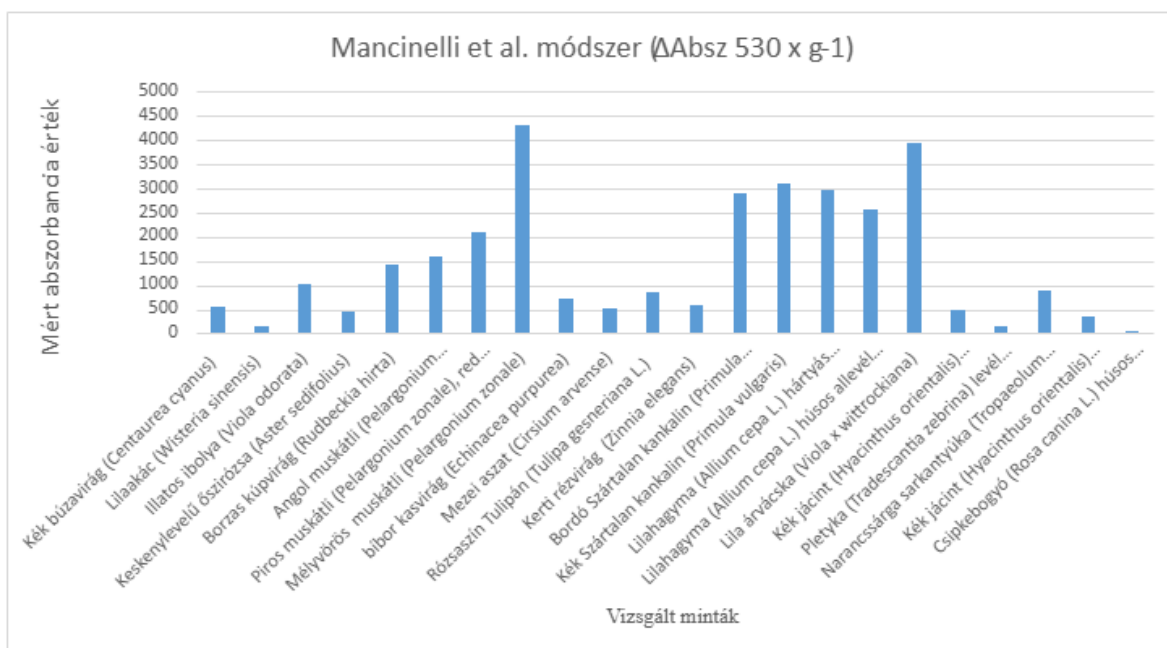
méréssel szemben, illetve okozhatta az általuk használt többlépcsős tisztítási folyamat során esetlegesen bekövetkezett pigmentvesztés is. A sarkantyúka alacsonyabb értékét okozhatta a színyanyagok tartósítása okozta veszteség, hiszen a karotinoidok levegőn való szárítása (ami a legközelebb áll az általam használt módszerhez) nem bizonyult hatékonynak (Branisa és mtsai. 2017).

5.3. Az antocianinok mérési eredményei

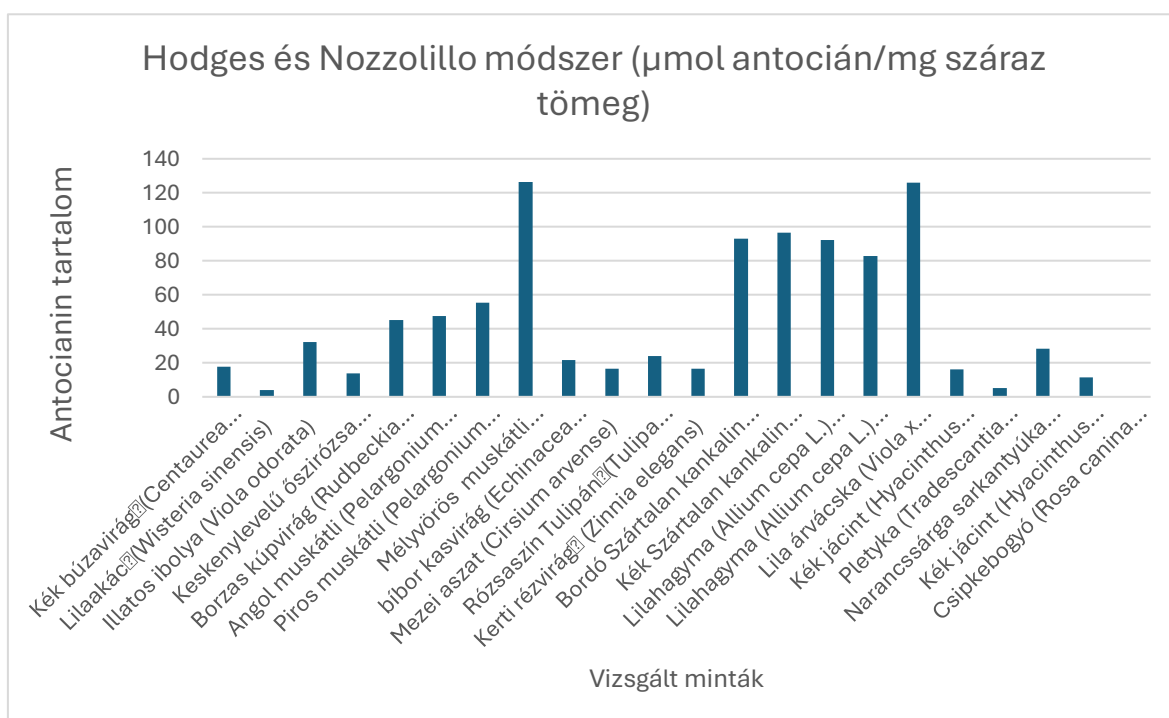
A spektrofotometriás mérések során 18 növényfaj 22 mintájának antocianin tartalmát vizsgáltuk. Eredményeinket a **4. táblázat** foglalja össze. Kétféle számítási módszert alkalmaztunk, melyek eredményei elsősorban a klorofill tartalmú mintákban mutattak különbségeket (**4. táblázat, 14. és 15. ábra**).

4. táblázat: A vizsgált minták antocián tartalma (Sz: szárított minta, F: frissen gyűjtött minta)

Minta	Hígítás	Minta típusa	Mancinelli et al. módszer (Δ Absz 530 x g-1)	Hodges és Nozzolillo módszer (μ mol antocián/mg száraz tömeg)
Kék búzavirág (<i>Centaurea cyanus</i>)	3	Sz	568,2	17,51904
Lilaakác (<i>Wisteria sinensis</i>)	3	Sz	133,2	4,07088
Illatos ibolya (<i>Viola odorata</i>)	10	Sz	1017,2	32,1024
Keskenylevelű őszirózsa (<i>Aster sedifolius</i>)	20	Sz	441,6	13,9392
Borzas kúpvirág (<i>Rudbeckia hirta</i>)	20	Sz	1431,2	44,9856
Angol muskátli (<i>Pelargonium grandiflorum</i>)	20	Sz	1590,4	47,6256
Piros muskátli (<i>Pelargonium zonale</i>), red bloom	40	Sz	2092,8	55,3344
Mélyvörös muskátli (<i>Pelargonium zonale</i>)	50	Sz	4304	126,192
Bíbor kasvirág (<i>Echinacea purpurea</i>)	20	Sz	736	21,648
Mezei aszat (<i>Cirsium arvense</i>)	20	Sz	524	16,5792
Rózsaszín Tulipán (<i>Tulipa gesneriana</i> L.)	20	Sz	860,8	24,1824
Kerti rézvirág (<i>Zinnia elegans</i>)	20	Sz	570,4	16,6848
Bordó Szártalan kankalin (<i>Primula vulgaris</i>)	50	Sz	2912	93,192
Kék Szártalan kankalin (<i>Primula vulgaris</i>)	50	Sz	3088	96,624
Lilahagyma (<i>Allium cepa</i> L.) hártvás buroklevél (tunica)	50	Sz*	2968	92,136
Lilahagyma (<i>Allium cepa</i> L.) húsos allelél (squama)	50	F	2576	82,632
Lila árvácska (<i>Viola x wittrockiana</i>)	50	F	3944	125,928
Kék jácint (<i>Hyacinthus orientalis</i>) lepellevelű virág (tepalum)	20	F	492,8	16,1568
Pletyka (<i>Tradescantia zebrina</i>) levél (folium)	20	F	159,2	5,1744
Narancssárga sarkantyúka (<i>Tropaeolum majus</i>) szírom	20	Sz	904	28,3008
Kék jácint (<i>Hyacinthus orientalis</i>) lepellevelű virág (tepalum)	20	Sz	348,8	11,616
Csipkebogyó (<i>Rosa canina</i> L.) húsos álmérősfal (receptaculum)	20	Sz	12,8	0,4224



14. ábra Mancinelli és mtsai. módszerével mért antocianin-tartalom értékek g⁻¹ száraz anyagban.



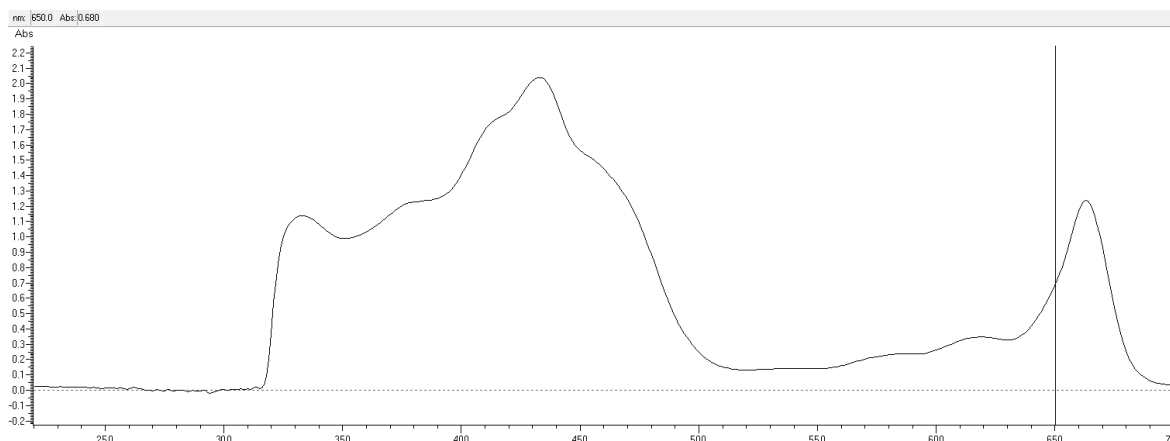
15. ábra Hodges és Nozzolillo módszerével mért antocianin tartalom.

A két számítási módszer más értékeket adott, de a minták összehasonlításában a tendenciák, az egymáshoz viszonyított értékek arányai megegyeznek. A legnagyobb antocianin érték mind a két módszer alapján a muskátlira jellemző (14. és 15. ábrák). A muskátli virágok színét a flavonolok és antocianinok adják, ezeket Mitchell és mtsai. (1998) elemezték és megállapították, hogy a különböző virágshínékhez hozzájáruló antocianidinek mind

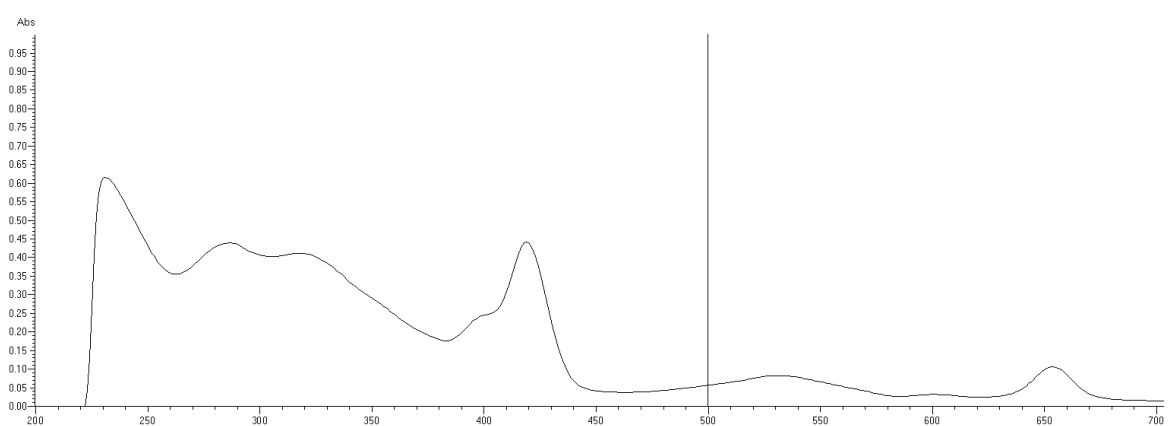
glikozidos formában (antocianinok) vannak jelen a virágokban. Különböző műszeres analitikai vizsgálatokkal három különböző antocianinicsoport jelenlétét bizonyították, az erősebben pigmentált fajták általában mindhármát tartalmazták. Hasonlóan magas antocianin tartalma volt továbbá a lila árvácskának. Da Silva és mtsai. (2020) szintén arra az eredményre jutottak, hogy az árvácska színváltozatok közül a lila színű tartalmazza a legtöbb antocianint. Lényegesen többet, mint a sárga és narancssárga változatok. A szerzők arra jutottak, hogy polifenol vegyületek közül a lila és kék színekért főként az antocianinok felelősek ezen virágokban, míg a sárga árnyalatokért főleg a flavonidok. Ez előbbi korrelálhat a színszög eredményeimmel, mert az antocianinoknál mindig a piros/bordó/lila kategóriába estek a meghatározott értékek. Ugyanakkor növényanatómiai könyvek a kromoplasztiszok, és így a karotinoidok szerepét emelik ki a sárga szín jelenlétében (Wanner 2004). Erre hivatkoztunk mi is a **11.3. ábránk** magyarázatában. Mi a sárga színváltozatokból magas karotinoid tartalmakat mértünk (**3. táblázat, 13. ábra**), de antocianin tartalmat sajnos nem mértünk ezekből a szirmokból. A magas karotinoid értékek megerősítik a kromoplasztiszok és benne a karotinoidok jelenlétét (**3. táblázat, 11.3. és 13. ábrák**), ugyanakkor ez nem zárja ki a flavonoidok jelenlétét sem.

5.4. Egyazon növény kétféle extraktumának összevetése

A zebrapletyka (*Tradescantia zebrina*) levelének acetonnal (**16. ábra**) és sósavas metanollal (**17. ábra**) készített oldatának abszorbancia spektrumai különböznek, az abszorbancia maximumok máshol vannak, ennek oka a két kivonószer eltérő hatékonysága a különböző színanyagok kivonására, a kevésbé poláros aceton inkább a klorofillokat oldja jobban, a polárosabb metanol pedig az antocianinokat. Továbbá megjegyzendő, hogy az antocianinok savas pH-n a legstabilabbak, metanol által kioldott klorofillok viszont ilyen körülmények között átalakulhatnak feofitinekké, amely az eltérő kivonószer mellett szintén közre játszhat a klorofillokra jellemző, 660-670 nm körüli abszorbancia maximum eltolódásában a két oldatban. Ezek mellett pedig az említett csúcs nagymértékű csökkenése, ellaposodása is megfigyelhető a sósavas metanolban, míg az antocianinokra jellemző, 530 nm körüli emelkedett.

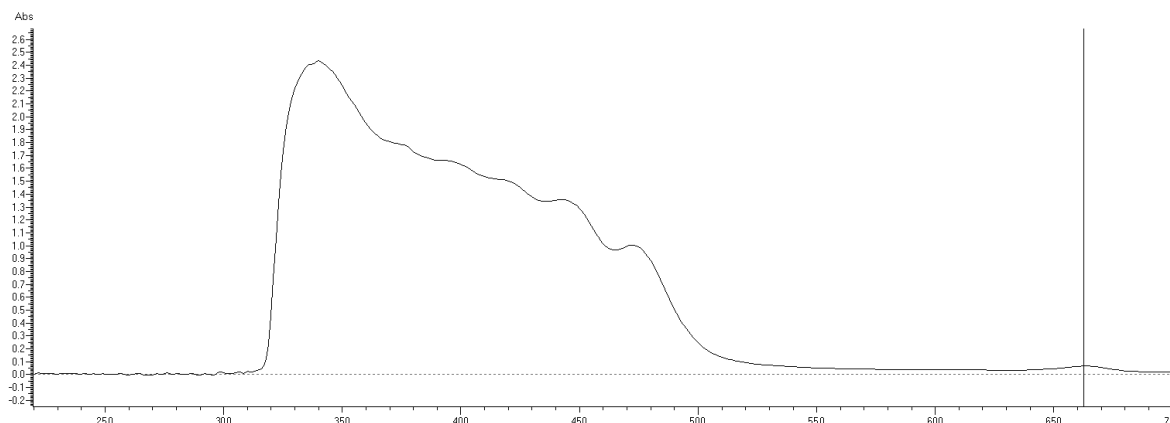


16. ábra Pletyka acetonos kivonatának abszorbancia spektruma

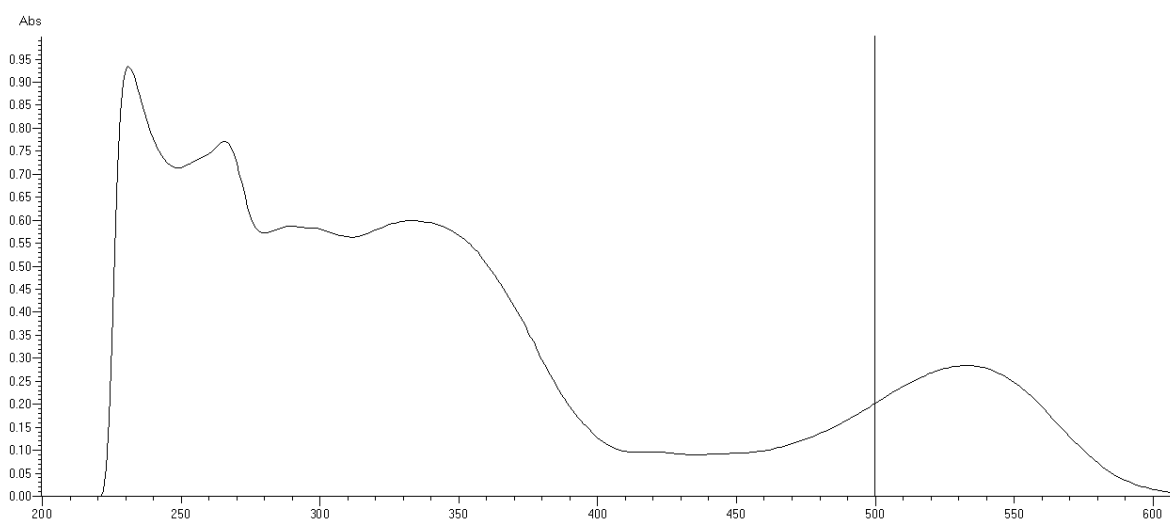


17. ábra Pletyka sósavas metanollal készült kivonatának abszorpciós spektruma, 20-szoros hígításon

A sarkantyúka szíromlevelének kétféle oldószerrel való extrakcióját azért végeztük el, mert kíváncsiak voltunk arra, hogy a sötét és világos sárga mintázatokat csak karotinoidok, vagy flavonoidok, vagy a kétféle pigment együtt alakítja ki. A spektrumok alapján (**18. és 19. ábrák**) valószínűsíthető, hogy mindkettő színanyag jelen van benne, ezt alátámasztja a karotinoidokra jellemző, 470nm környékén látható egyértelmű abszorbancia maximum az acetonos kivonatban, amely a sósavas metanolban eltűnt, pont ahogy a karotinoidoktól lehetett számítani, mivel azok savas körülmények között lebomlanak. Mindemellett pedig az antocianinok jelenlétére a sósavas metanollal készült kivonatban, 530nm-nél megjelenő csúcs utal.



18. ábra Sarkantyúka acetonos kivonatának abszorpciós spektruma

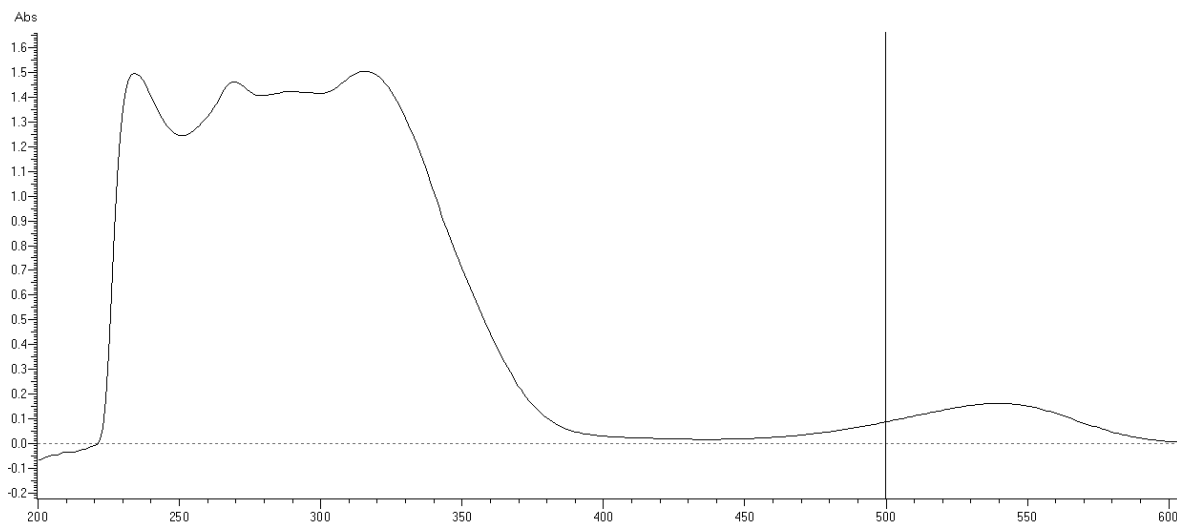


19. ábra Sarkantyúka sósavas metanollal készült kivonatának abszorpciós spektruma

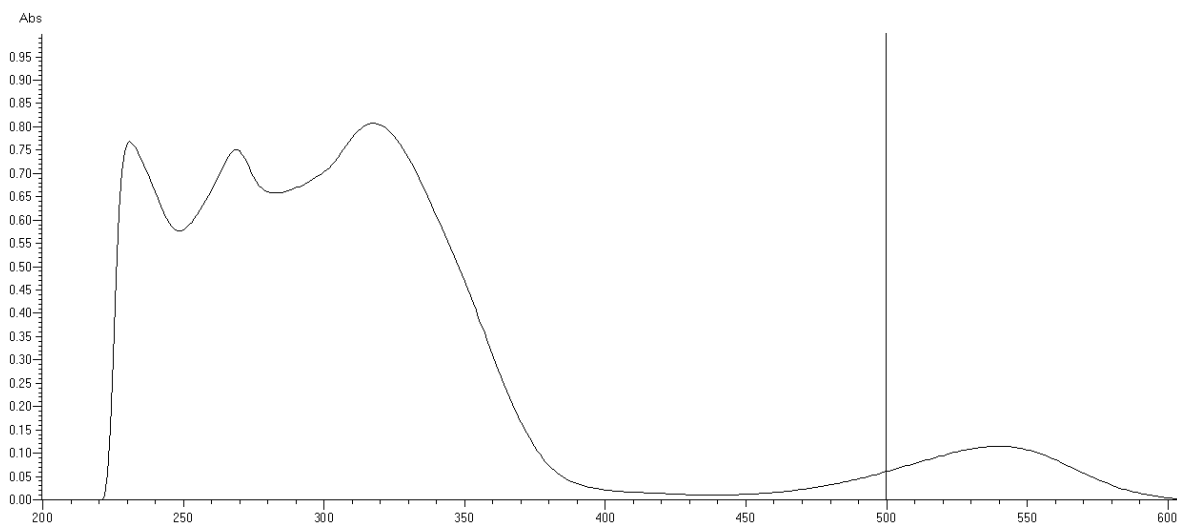
5.5. Szárítás hatása a pigmenttartalomra

A Kék jácint (*Hyacinthus orientalis*) lepellevelű virág (tepalum) friss és szárított mintájából is készítettünk kivonatot sósavas metanollal, hogy megvizsgáljuk az antocianin tartalmát a szárítás után (**4. táblázat** adatai alapján), illetve, hogy vizsgáljuk az abszorbancia maximumok esetleges eltolódását a teljes spektrumokon (**20. és 21. ábra**)

A **4. táblázat** adatai alapján a friss jácint több színanyagot tartalmazott, míg a spektrumok alapján a szintén az antocianinokra jellemző 540nm-nél lévő abszorbancia maximum viszonylag stabil volt, nem látható eltolódás. Ezt legfőképpen oxidáció okozhatta, mivel a szárítás alatt ügyeltem rá, hogy a mintáimat fény ne érje.



20. ábra Kék jácint (*Hyacinthus orientalis*) lepellevelű virág (tepalum) friss mintájából sósavas metanollal készült kivonatot



21. ábra Kék jácint (*Hyacinthus orientalis*) lepellevelű virág (tepalum) szárított mintájából sósavas metanollal készült kivonata

6. Összefoglalás

A növényi színanyagok fontos szerepet töltenek be a növények hatékony fotoszintézisében, a környezethez, leginkább annak fényviszonyaihoz való alkalmazkodásban, a különböző abiotikus- és biotikus stresszek kivédésében. A növény szinte minden szervében előfordulnak, más a funkciójuk a növények ezen különböző részeiben. Nem véletlen, hogy a speciális anyagcseretermékek, köztük a színanyagok kémiaiilag nagyon változatosak, sokféle, szerteágazó szintézis útvonalon keletkeznek (2, 4-8. ábrák).

Dolgozatomban a színanyagok két nagy csoportját vizsgáltuk, a karotinoidokat és az antocianinokat. Ezek sokszor az emberek számára is jótékony hatással bírnak, főként erős antioxidáns tulajdonságaiknak köszönhetően, ami miatt hatékony tartósításuk régóta foglalkoztatja az emberiséget. Azért választottam a szilikagéles szárítást, mert egy könnyen elérhető, kíméletes és hatékony módját kerestem a színanyagok tartósításának, ez a módszer pedig ígéretesnek tűnt, mert nem alkalmaz magas hőmérsékletet viszont a levegőn való szárításhoz viszonyítva gyorsabban kiszárítja a mintákat, kevesebb időt hagyva például az enzimátikus bomlásnak.

Munkám során az alábbi célokat sikerült megvalósítanom:

- Áttekintettem a legfontosabb szakirodalmakat a növényi színanyagokról; főbb csoportjaikról, bioszintézisükről, funkcióikról a növényekben, jótékony antioxidáns/gyökfogó hatásukról az emberi szervezetben.
- 18 növényfaj különböző szerveiből gyűjtöttem mintákat, melyeknek szárítására kipróbáltam a DNS mintákra használatos szilikagéles módszert, amely értékelhető mintákat eredményezett.
- Preparátumokat készítettem a friss növényi mintákból, melyeket dokumentáltam.
- A digitalizált képeket elemeztem ImageJ-vel, objektíven meghatározva színkarakterisztikáikat a CIELAB színtér Chroma (színtelítettség és Hue (színszög) értékeinek kiszámolásával.
- Kétféle kivonószerezrel extraktumokat készítettem a klorofill/karotinoid, illetve antocianin tartalom meghatározáshoz. A színanyagokat tartalmazó extraktumok fényelnyelési spektrumát spektrofotometriás módszerekkel vizsgáltam. A spektrumok alapján mértem a pigment tartalmakat, összevetettem a szárított és friss minták eredményeit, a kivonószerek hatékonyságát.

7. Irodalomjegyzék

- Aminot, A., Rey, F. (2000). Standard procedure for the determination of chlorophyll a by spectroscopic methods. *International Council for the Exploration of the Sea*, 112(25), 1-2.
- Amorim-Carrilho, K. T., Cepeda, A., Fente, C., & Regal, P. (2014). Review of methods for analysis of carotenoids. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 56, 49-73.
- Branisa, J., Jomova, K., Porubská, M., Kollar, V., Simunkova, M., & Valko, M. (2017). Effect of drying methods on the content of natural pigments and antioxidant capacity in extracts from medicinal plants: a spectroscopic study. *Chemical Papers*, 71(10), 1993-2002.
- Cabrita, L., Fossen, T., Andersen, Ø. M. (2000). Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. *Food Chemistry*, 68(1), 101-107.
- Castañeda-Ovando, A., de Lourdes Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859-871.
- da Silva, L. A., Fischer, S. Z., Zambiasi, R. C. (2020). Proximal composition, bioactive compounds content and color preference of *Viola x Wittrockiana* flowers. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22, 100236.
- Davies, K.M. (Ed.). (2004). Plant pigments and their manipulation. *Annual Plant Reviews*, Volume 14. Blackwell Publishing/CRC Press.
- Ergun, E., Demirata, B., Gumus, G. et al. (2004). Simultaneous determination of chlorophyll a and chlorophyll b by derivative spectrophotometry. *Anal Bioanal Chem* 379, 803–811.
- Francis J. F. (1982). Anthocyanins as Food Colors. Markakis P. (Ed). Academic Press, London, pp: 181–208.
- Fратиання, A., Niroa, S., Alama, M.D.R., Cinquantab, L., Di Matteoc, M., Adilettac, G., Panfilia G. (2018). Effect of a physical pre-treatment and drying on carotenoids of goji berries, (*Lycium barbarum* L.). *LWT - Food Science and Technology* 92, 318-323.

- Ghosh, S., Sarkar, T., Das, A., Chakraborty, R. (2022). Natural colorants from plant pigments and their encapsulation: An emerging window for the food industry. *Lwt*, 153, 112527.
- Hodges D.M.; Nozzolillo C. (1996). Anthocyanin és anthocyanoplast content of cruciferous seedlings subjected to mineral nutrient deficiencies. *Journal of Plant Physiology* 147, 749-754.
- Ionescu, C., Samide, A., Tigae, C. (2025). Trend in detection of anthocyanins from fresh fruits and the influence of some factors on their stability impacting human health: Kinetic study assisted by UV–Vis spectrophotometry. *Antioxidants*, 14(2), 227.
- Jones, R., Ougham, H., Thomas, H., Waaland, S. *The Molecular Life of Plants*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, (2013). ISBN 978-0-470-87012-9. pp.602-603.
- Karpińska, J. (2004). Derivative spectrophotometry—recent applications and directions of developments. *Talanta*, 64(4), 801-822.
- Karpinska, J. (2012). Basic principles and analytical application of derivative spectrophotometry. *Macro to nano spectroscopy*, book edited by Jamal Uddin, 253-256.
- Kozicka, M., és Hallmann, E. (2023). Identification and quantification of bioactive compounds in organic and conventional edible pansy flowers (*Viola× wittrockiana*) and their antioxidant activity. *Plants*, 12(6), 1264.
- Lila, M. A. (2004). Plant pigments and human health. In Davies, K.M. (Ed.) *Plant pigments and their manipulation*, Annual Plant Reviews, Volume 14. Blackwell Publishing/CRC Press. 2004. pp. 248-274.
- Mancinelli, A. (1984). Photoregulation of anthocyanin synthesis. VIII. Effects of light pretreatments. *Plant Physiology* 75: 447-453.
- Março, P. H., Poppi, R. J., Scarminio, I. S., & Tauler, R. (2011). Investigation of the pH effect and UV radiation on kinetic degradation of anthocyanin mixtures extracted from *Hibiscus acetosella*. *Food Chemistry*, 125(3), 1020-1027.
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27(12), 1254-1255.
- M-Hamvas, M., Máthé, C., Vasas, G., Jámbrík, K., Papp, M., Beyer, D., Mészáros, I., Borbély, G. (2010). *Cylindrospermopsin and microcystin-LR alter the growth*,

- development and peroxidase enzyme activity of white mustard (*Sinapis alba* L.) seedlings, a comparative analysis. *Acta Biologica Hungarica* 61 (Suppl.), 35-48.
- Mitchell, K.A., Markham, K.R., Boaset, M.R. (1998). Pigment chemistry and colour of *Pelargonium* flowers. *Phytochemistry*, Vol.47, No. 3, 355-361.
- Młodzińska, E. (2009). Survey of plant pigments: Molecular and environmental determinants of plant colors. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 51(1), 7–16.
- Oláh, V., Combi, Z., Szöllősi, E., Kanalas, P., Mészáros, I. (2009). Anthocyanins: possible antioxidants against Cr (VI) induced oxidative stress in *Spirodela polyrrhiza*. *Cereal Research Communications* 37, 533-536.
- Passos, M. L., Saraiva, M. L. M. (2019). Detection in UV-visible spectrophotometry: Detectors, detection systems, and detection strategies. *Measurement*, 135, 896-904.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2001). *A guide to carotenoid analysis in foods* (Vol. 71). Washington, DC, USA:: ILSI press.
- Szendrei, K. és Csupor, D. (2011). Növényi szerek helye a mai gyógyszerkincsben: Több mint színanyagok – a karotinoidok I. rész. *Gyógyszerészet*, 55(11), 667-671, 674.
- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Cardona, A. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature methods*, 9(7), 676-682.
- Schwinn, K. E., & Davies, K. M. (2004). 4 Flavonoids. Plant pigments and their manipulation, 92. In Davies, K.M. (Ed.). (2004). *Plant pigments and their manipulation*. Blackwell Publishing/CRC Press.
- Szöllősi, E., Oláh, V., Kanalas, P., Kis, J., Fenyvesi, A., Mészáros, I. (2010) Seasonal variation of leaf ecophysiological traits within the canopy of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. Trees. *Acta Biologica Hungarica* 61 (Suppl.), 172-188.
- Tanner, G. (2004). Condensed tannins. Plant pigments and their manipulation. *Ann. Plant Rev*, 14, 150-184. In Davies, K.M. (Ed.). (2004). *Plant pigments and their manipulation*. Blackwell Publishing/CRC Press.

- Topuz, A., Ozdemir, F. (2007). Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) grown in Turkey. *Journal of food composition and analysis*, 20(7), 596-602.
- Voss, D. H. (1992). Relating colorimeter measurement of plant color to the Royal Horticultural Society Colour Chart. *HortScience*, 27(12), 1256-1260.
- Wang, T., Li, C., Wang, Y., Peng, T., Wang, J. (2025). Differences in Anthocyanin Biosynthesis Drive Flower Coloration Variations in Pansy (*Viola* × *Wittrockiana* Gams). *Physiologia Plantarum*, 177(6), e70594.
- Wanner, G. Mikroskopisch-Botanisches Praktikum. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 2004. pp. 130-133.
- Wellburn, A.K. (1994) The spectral determination of chlorophylls a és b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology* 144, 307-313.
- Willows, R. D. (2004). Chlorophylls. Plant pigments and their manipulation, 14: 23-56. In Davies, K.M. (Ed.). (2004). Plant pigments and their manipulation. Blackwell Publishing/CRC Press.
- Zrýd, J. P., és Christinet, L. (2009). 6 Betalains. Plant pigments and their manipulation, 185. In Davies, K.M. (Ed.). (2004). Plant pigments and their manipulation. Blackwell Publishing/CRC Press.

Internetes források:

int.1.:<https://www.novenyvedoszer.hu/tudomany/karotinoid-tartalom-a-magyar-zoldsegekben>

int.2.:

https://kodpiskalo.blog.hu/2013/12/27/fitoosztrogenek_veszelyesek_vagy_jotekonya_k?layout=5

8. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm a családomnak és a barátaimnak, hogy támogattak munkám során, illetve a Debreceni Egyetem [Növénytani Tanszékének](#), hogy eszközöket biztosított, továbbá pedig köszönöm a témavezetőmnek, Dr. Mikóné Dr. Hamvas Márta tanárnőnek a kiváló szakmai segítséget.