

УДК 543.421:547.97

Н.Ю. КОЛБАС

Беларусь, Брест, БрГУ имени А.С. Пушкина

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЦВЕТОВЫХ ПАРАМЕТРОВ РАСТВОРОВ АНТОЦИАНОВ (НА ПРИМЕРЕ ЦИАНИДИН-ГЛЮКОЗИДА)

Спектрофотометрические методы анализа находят все более широкое применение не только в химии, но и в промышленности. Оценка цвета (окраски) и его вариаций особенно важна для характеристики всех видов продукции, т.к. этот параметр во многом определяет ее потребительские свойства.

Еще в 1860 г. Максвелл ввёл аддитивную цветовую систему *RGB* (от англ. «*red*» – красный, «*green*» – зелёный, «*blue*» – синий), которая базируется на физиологических особенностях восприятия цвета человеком. Эта система в настоящее время доминирует в цветовоспроизведении различных типов мониторов. Дополнительными цветами являются голубой, фиолетовый и жёлтый (рисунок 1); весь видимый спектр в совокупности дает белый цвет, а отсутствие света – черный.

Современная спектрофотометрическая система анализа окраски растворов базируется не просто на определении доли каждого из цветов в общей окраске, как, например, показано в работе S. Zoio с соавторами [1], а оценивает яркость, насыщенность, интенсивность. Характеристика параметров в цветовом пространстве CIE $L^*a^*b^*$ с помощью дифференциальной колориметрии дает возможность оценить цвет глобально, рассмотрев модификации во всем видимом спектре. В основе аббревиатуры CIE $L^*a^*b^*$ лежит две составляющие: первая – CIE (от фр. «*Commission Internationale de l'Éclairage*» – Международная комиссия по освещению, которая отвечает за разработку технических стандартов в области света, освещения, цвета и цветовых пространств), вторая – $L^*a^*b^*$, основана на трех каналах: L^* – соответствует яркости (*luminosity*); канал a^* характеризует положение цвета в диапазоне от зеленого ($-a^*$), через серый, до красного ($+a^*$); канал b^* определяет цвет от синего ($-b^*$) через серый до желтого ($+b^*$). Таким образом, параметры a^* и b^* пересекаются в двухмерном пространстве (рисунок 2-А). Значение канала L^* варьирует от 100 (белый) до 0 (черный). Любой цвет при максимальном снижении светлоты становится чёрным, а при повышении – белым. Таким образом, все три канала пересекаются в трехмерном пространстве (рисунок 2-Б). Система CIE $L^*a^*b^*$ эффективна для измерения цветовых различий и отслеживания

изменений цвета во времени, хотя и не обязательно дает точное определение цвета [2].

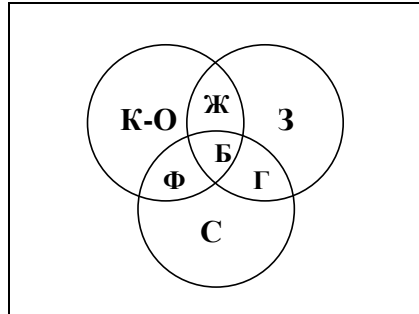


Рисунок 1 – Аддитивное смешение цветов:

К-О – красно-оранжевый; З – зеленый; С – синий; Б – белый; Г – голубой; Ж – желтый; Ф – фиолетовый

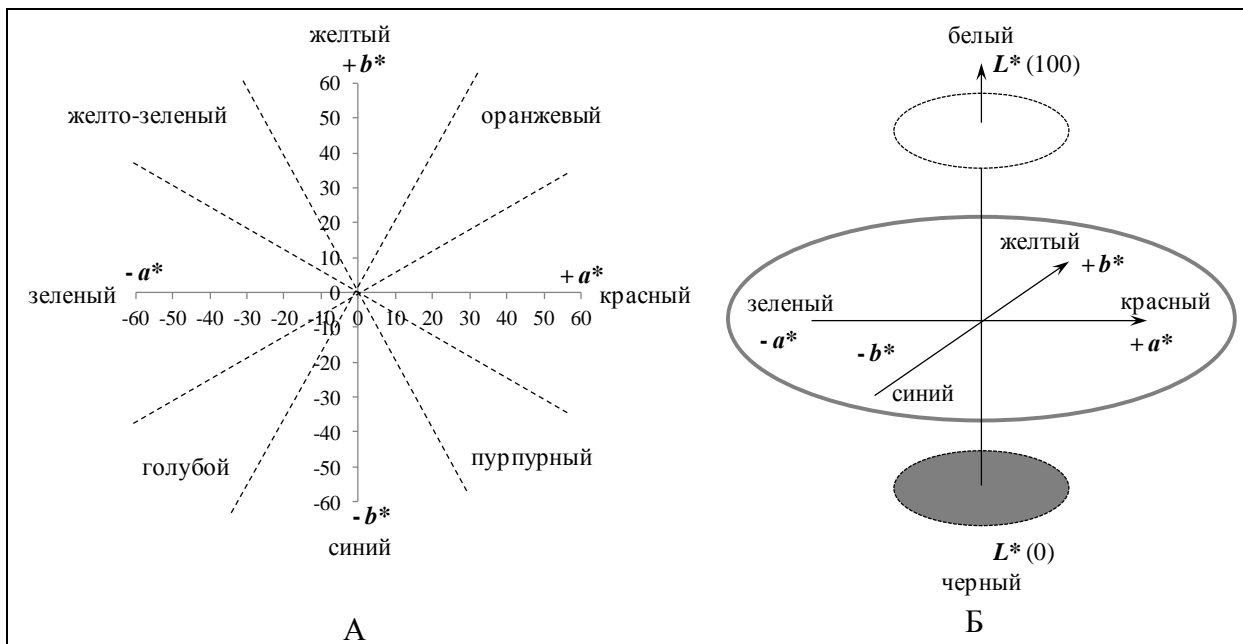


Рисунок 2 – Диаграмма цвета в системе CIE $L^*a^*b^*$

Учитывая трехмерность цвета, для его характеристики вводят такие параметры как h_{ab} – угол оттенка в 3D системе и C_{ab}^* – цветовая насыщенность. Угол оттенка определяется как арктангенс b^*/a^* и имеет значения от 0° до 360° (0° (или 360°) – соответствует пурпурно-красному цвету, 90° – желтому, 180° – зеленому и 270° – синему). Эта система позволяет избежать использования отрицательных чисел, а разница в 1° легко различима человеческим глазом. C_{ab}^* является мерой интенсивности или насыщенности и рассчитывается как $(a^* + b^*)^{1/2}$ [2]. Общая окраска рассчитывается как $[(L^* - 100)^2 + (a^* - 0)^2 + (b^* - 0)^2]^{1/2}$ [3].

Таким образом, вышеотмеченные показатели цвета можно разделить на количественные (L^* , a^* , b^* , C^*_{ab}) и качественные (h_{ab}).

Необходимо отметить, что для последующей компьютерной визуализации окраски применяют конвертер для системы RGB [4].

В нашем исследовании были проанализированы цветовые параметры растворов антоциана – цианидин-3-О-глюкозида (Цн-3-глк) различной концентрации.

Антоцианы нашли широкое применение в промышленности как натуральные красители, обладающие антиокислительным и лечебно-профилактическим действием. Однако необходимо учитывать, что эти пигменты легко деградируют во время обработки сырья и хранения готовой продукции, что влияет на качество продукции. Общее содержание антоцианов и показатели их полимерной окраски измеряются с помощью классических спектрофотометрических методов [1; 5]. Идентификация индивидуальных антоцианов и их концентрация определяется с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Цн-3-глк (2-(3,4-дигидроксифенил)хроменилиум-3,5,7-триол) в чистом виде представляет собой окрашенные красно-оранжевые кристаллы. Окраска растворов антоциана зависит от рН-среды. В нашем эксперименте использовали модельный раствор, на основе буферного (0,1 М КН Фталат–HCl), который был доведен до рН = 3,7 лимонной кислотой. Исходный раствор антоциана был $200 \pm 1,0$ мкМ ($97 \pm 0,4$ мг/л). Далее концентрация была снижена сначала на 10 %, а затем на 20 % и последний раствор был разбавлен в 2, 4, 8 и 16 раз. Все образцы готовили в трехкратной повторности.

Спектрофотометрические параметры окраски были измерены на специализированном спектрофотометре CM-5 (Konica Minolta, Япония), программное обеспечение Spectra MagicNX.

Изменение окраски (ΔE^*_{ab}) рассчитывали как $[(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$; изменение угла оттенка – $\Delta H = [(\Delta E^*_{ab})^2 - (\Delta L^*)^2 - [(\Delta C^*_{ab})^2]^{1/2}$; относительный процентный вклад яркости в изменение окраски – $\% \Delta^2 L = [(\Delta L^*)^2 / (\Delta E^*_{ab})^2] \cdot 100$, цветовой насыщенности – $\% \Delta^2 C = [(\Delta C^*_{ab})^2 / (\Delta E^*_{ab})^2] \cdot 100$, оттенка – $\% \Delta^2 H = [(\Delta H^*)^2 / (\Delta E^*_{ab})^2] \cdot 100$ [3].

Статистическая обработка данных проведена программным пакетом R (версия 2.14.1).

Полученные в ходе эксперимента данные представлены в таблице. Окраска исходного раствора Цн-3-глк – довольно светлая ($L^* = 61,05 \pm 0,08$), красно-оранжевая ($a^* = 68,74 \pm 0,11$ при $b^* = 45,4 \pm 0,38$; $h_{ab} = 33,09^\circ \pm 0,2$), яркая и насыщенная ($C^*_{ab} = 82,39 \pm 0,3$). При разбавлении цвет раствора смещается в сторону блекло-розового ($a^* = 11,27 \pm 0,15$ при $b^* = 0,14 \pm 0,007$; $h_{ab} = 0,73^\circ \pm 0,04$, рисунок 3-Б, Г), становится практически белым, более светлым ($L^* = 97,43 \pm 0,07$) и менее насыщенным ($C^*_{ab} = 11,27 \pm 0,15$).

Таблица – Изменение параметров окраски раствора цианидин-3-*O*-глюкозида по мере его разбавления (при рН = 3,7)

Концентрация, мкМ	Параметры СIE $L^*a^*b^*$					Параметры R:G:B
	L^*	a^*	b^*	C^*_{ab}	h_{ab}	
$200,0 \pm 1,0$	$61,05 \pm 0,08$	$68,74 \pm 0,11$	$45,40 \pm 0,38$	$82,39 \pm 0,3$	$33,09^\circ \pm 0,2$	255 : 82 : 74
$180,3 \pm 1,22$	$61,29 \pm 0,30$	$69,07 \pm 0,21$	$43,98 \pm 1,03$	$81,88 \pm 0,72$	$32,49^\circ \pm 0,53$	255 : 79 : 76
$159,88 \pm 0,89$	$62,89 \pm 0,76$	$67,21 \pm 0,83$	$36,96 \pm 2,44$	$76,71 \pm 1,91$	$28,79^\circ \pm 1,3$	255 : 89 : 91
$80,04 \pm 0,58$	$68,98 \pm 0,03$	$61,17 \pm 0,03$	$26,21 \pm 0,05$	$67,1 \pm 0,03$	$22,03^\circ \pm 0,03$	255 : 115 : 125
$40,02 \pm 0,29$	$85,43 \pm 0,07$	$36,21 \pm 0,007$	$4,21 \pm 0,001$	$36,46 \pm 0,007$	$6,63^\circ \pm 0,014$	255 : 187 : 206
$20,01 \pm 0,14$	$92,91 \pm 0,06$	$20,97 \pm 0,106$	$1,04 \pm 0,021$	$21,00 \pm 0,11$	$2,85^\circ \pm 0,06$	255 : 221 : 234
$10,0 \pm 0,07$	$97,43 \pm 0,07$	$11,27 \pm 0,15$	$0,14 \pm 0,007$	$11,27 \pm 0,15$	$0,73^\circ \pm 0,04$	255 : 239 : 245

Наиболее заметное изменение цветовых параметров выявлено при разбавлении в 2, 4, 8 и 16 раз (рисунок 3-В).

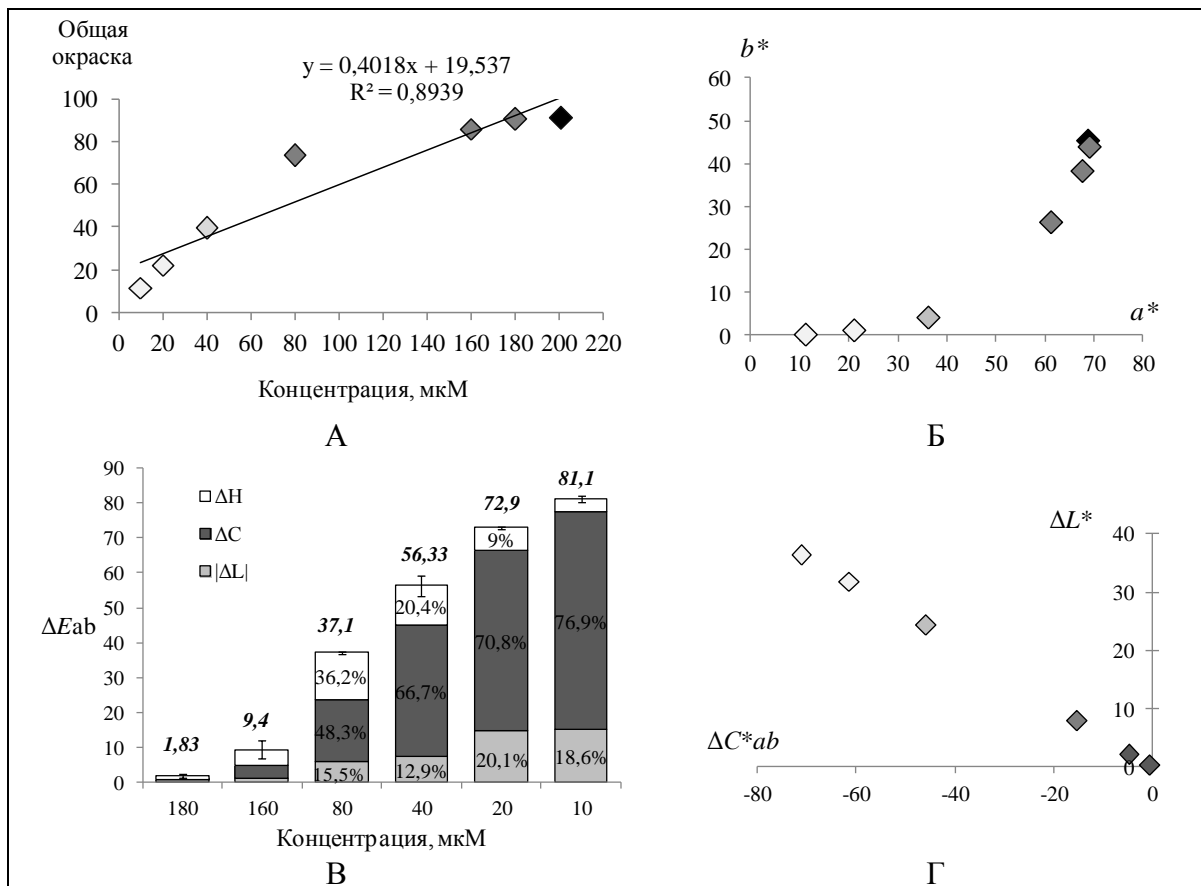


Рисунок 3 – Изменение окраски, яркости (ΔL^*) и цветовой насыщенности (ΔC^*_{ab}) раствора цианидин-3-*O*-глюкозида при разбавлении

В целом выявлена линейная зависимость между общей окраской и концентрацией Цн-3-глк (рисунок 3-А). Окраска анализируемых растворов Цн-3-глк при разбавлении изменяется значительно (рисунок 3-В), из составляющих этого показателя наиболее заметно изменяется угол оттенка (до 76,9 %).

Согласно литературным данным [2], образец красного цвета с разной степенью разбавления (от розового до красного), будет иметь тот же угол оттенка, но увеличивать значения цветовой насыщенности. При этом цветочная насыщенность будет увеличиваться с максимальной концентрацией пигмента, а затем уменьшаться по мере того, как цвет темнеет. Таким образом, розовый и темно-красный цвет могут иметь одинаковые значения цветочной насыщенности. В нашем исследовании цветочная насыщенность была различной для красно-оранжевого, розового и бледно-розового растворов Цн-3-глк.

Таким образом, примененный нами спектрофотометрический метод оценки окраски CIE $L^*a^*b^*$ показал свою адекватность и достоверность в анализе растворов Цн-3-глк и может быть применен как в аналитической практике, так и в производственных целях для органолептической (цветочной) характеристики антоциансодержащей продукции.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zoio, S. Evaluation of anthocyanin stability during storage of a coloured drink made from extracts of the Andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth.), açai (*Euterpe oleracea* Mart.) and black carrot (*Daucus carota* L.) / S. Zoio, D. Pallet, M. Dornier. – Fruits. – Vol. 66, № 3. – P. 203–2015.
2. Wrolstad, R. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products / R. Wrolstad, R. Durst, J. Lee // Trends in Food Sci! & Technology. – 2005. – Vol. 16. – P. 423–428.
3. Application of Differential Colorimetry To Evaluate Anthocyanin–Flavonol–Flavanol Ternary Copigmentation Interactions in Model Solutions / B. Gordillo [et al.] // J. Agric. Food Chem. – 2015. – Vol. 63, № 35. – P. 7645–7653.
4. Color Converter – RGB to HEX and more [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.workwithcolor.com/color-converter-01.htm> – Date of access: 21.03.2017.
5. Giusti, M. M. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy / M. M. Giusti, R. E. Wrolstad // Cur. Protocols in Food Anal. Chem. – 2001. – F1.2.1–F1.2.13.