

УДК 547.979.8 : 547.973

ЦВЕТОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОМПОЗИЦИОННЫХ КАРОТИНОИДНО-АНТОЦИАНОВЫХ ЭКСТРАКТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

© *В.М. Болотов, Е.В. Комарова, Е.С. Филатова*, В.В. Хрипушин*

*Воронежский государственный университет инженерных технологий,
пр. Революции, 19, Воронеж, 394036 (Россия), e-mail: kaftpr14@mail.ru*

Выявлены закономерности химических превращений каротиноидных и антоциановых пигментов при производстве натуральных красителей, которые могут быть использованы в пищевой промышленности не только для придания продукции определенной цветовой гаммы, но и расширения ассортимента продуктов, обладающих повышенной биологической активностью.

Выявленные с помощью ВЭЖХ и спектральных методов анализа особенности вырабатываемых колорантов позволили предложить новый способ получения композиционных каротиноидно-антоциановых красителей из смешанного каротиноидно-антоцианового отечественного сырья бескислотным экстрагированием 96% этанолом. Результаты хроматографических и спектроскопических исследований таких красителей показали различное содержание каротиноидов и антоцианов, зависящее от их соотношения в экстрагируемой смеси из растительного сырья. Каротиноиды ассоциированы с антоцианами и флавонолами за счет электронодонорных свойств сопряженной системы π -связей полиенов и электроноакцепторных свойств углеводсодержащих полифенолов. Максимумы поглощения электронных спектров спиртовых экстрактов каротиноидно-антоциановых красителей смещаются относительно растворов индивидуальных колорантов: для каротиноидов с 420, 460 и 480 нм до 424, 445 и 473 нм, а для антоцианов – с 549 до 542 нм.

Особое внимание в данной работе уделяется изучению цветометрических характеристик каротиноидно-антоциановых экстрактов с использованием RGB и Irgb-систем. С их помощью выявлены закономерности изменения цветовых характеристик и изучена стабильность при хранении образцов колорантов.

Ключевые слова: экстракты, антоцианы, каротиноиды, цветность, RGB.

Введение

Для расширения технологических свойств природных пищевых красителей и возможностей их применения нами разрабатываются новые способы получения этих продуктов на основе отечественного растительного сырья.

Сложный химический состав, достаточно высокая реакционная способность органических соединений, а также межмолекулярная ассоциация молекул с хромофорными и ауксохромными группами обуславливают особенности технологий получения натуральных красителей [1–3].

Болотов Владимир Михайлович – доктор технических наук, профессор кафедры химии и химической технологии органических соединений и переработки полимеров, e-mail: za.bolotova@mail.ru

Комарова Елена Владимировна – кандидат технических наук, доцент кафедры химии и химической технологии органических соединений и переработки полимеров, e-mail: allennkak@mail.ru

Филатова Елена Сергеевна – кандидат технических наук, специалист отдела по связям с общественностью, e-mail: elena.filatova87@bk.ru

Хрипушин Владимир Васильевич – кандидат химических наук, доцент кафедры химии и химической технологии органических соединений и переработки полимеров, e-mail: hvivat@yandex.ru.

Изучение литературы и проводимые исследование показывают, что свойства природных красящих соединений определяются не только их химической структурой, но и природой межмолекулярных взаимодействий как между собой, так и с другими органическими соединениями [4, 5].

Например, нами показано, что при нагревании каротиноидсодержащего растительного сырья (корнеплоды посевной красной моркови – *Daucus Sativus Roehl*, плоды тыквы – *Cucurbita pepo L.*) в присутствии кислорода воздуха в условиях сохранения системы сопряженных π -связей каротиноидов

* Автор, с которым следует вести переписку.

происходит не только их окисление с введением в молекулу гидроксильных групп, но и ограниченный гидролиз природных углеводсодержащих компонентов растений. Частичный гидролиз таких полисахаридов, как гемицеллюлозы, пектиновые соединения и другие приводит к образованию олигомерных форм, способных ассоциироваться за счет гидроксильных групп с электродонорными π -связями каротиноидных полиенов. Образование ассоциата между гидрофобными каротиноидами и гидрофильными углеводами позволяет получать гидрофилизированные каротиноиды в виде комплекса (ассоциата) и экстрагировать их из растительного сырья водно-этанольными растворами с объемным содержанием этанола не менее 10% [6]. Спектральные и хроматографические исследования составов экстрактов с использованием ВЭЖХ показали, что соотношение исходных каротиноидов и образовавшихся фитоксантин $C_{40}H_{56}O$, $C_{40}H_{56}O_2$, а также степень гидрофизации пигментов регулируются условиями процесса. Разбавление полученного водно-спиртового экстракта вызывает разрушение комплекса и помутнение раствора.

Применяемые нами способы бескислотного экстрагирования природных антоцианов этиловым спиртом с объемной долей этанола 96% из различного антоцианосодержащего растительного сырья позволяет получать красители антоцианов с повышенным содержанием красящих веществ [7, 8]. В условиях процесса в состав экстракта переходят менее полярные карбинольные и хиноидные структуры таутомерных форм пигмента. Получающийся после отгонки этанола концентрат антоцианового красителя после подкисления приобретает красный цвет катионной структуры.

Исследование химического состава вырабатываемых антоциановых красителей по предложенной технологии показывает, что краситель содержит не только антоцианы, но и флавонолы, присутствующие в исходном сырье [9]. Совместное экстрагирование антоцианов и флавонолов этиловым спиртом обусловлено не только растворимостью этих соединений, но и образованием комплекса между молекулами антоцианов и флавонолов.

На основании выполненных исследований нами предложен способ получения композиционных каротиноидно-антоциановых красителей из смесового каротиноидно-антоцианового сырья с использованием в качестве экстрагента этилового спирта с объемным содержанием этанола 96% [10].

Результаты хроматографических и спектроскопических исследований показывают, что в композиционных красителях содержатся каротиноиды и антоцианы в различных соотношениях. Каротиноиды ассоциированы с антоцианами и флавонолами за счет электродонорных свойств сопряженной системы π -связей полиенов и электроноакцепторных свойств углеводсодержащих полифенолов. Максимумы поглощения электронных спектров спиртовых растворов смещаются для каротиноидов с 420, 460 и 480 нм до 424, 445 и 473 нм, а для антоцианов – с 549 до 542 нм [11].

В представленной работе изучены цветометрические характеристики композиционных каротиноидно-антоциановых экстрактов с использованием RGB и Irgb-систем [12].

Экспериментальная часть

Измерения цветометрических характеристик проводили на планшетном сканере Hewlett Packard Scanjet 3400C в цветовом режиме RGB, разрешение сканирования – 300 dpi с использованием специализированной приставки к сканеру. Толщина оптического слоя составляла 20 мм.

Индивидуальные и композиционные каротиноидно-антоциановые экстракты готовили экстрагированием 50 см³ водно-этанольного раствора с объемной долей этанола 96% 0,15 г гидрофилизированного каротиноидсодержащего растительного сырья (КР) – корнеплоды посевной красной моркови *Daucus Sativus* Roehl и антоцианосодержащего сырья (АЦ) – высушенные выжимки ягод черной смородины *Ribes nigrum* в количестве от 0 до 0,15 г. Экстрагирование пигментов проводили последовательной одно-, двух- и трехкратной обработкой сырья растворителем при температуре 60 °С в течение 45–90 мин. Экстракты хранились в течение 30 суток в темноте при комнатной температуре в герметичных стеклянных сосудах.

Результаты и их обсуждение

При проведении исследований считали, что цвет является триплетом из значений цветовых компонентов. Значение каждого цветового компонента в RGB-модели измеряется от 0 до 255 усл. ед. Для системы RGB базисный белый цвет оценивали как

$$C_W = 255 \cdot R + 255 \cdot G + 255 \cdot B, \quad (1)$$

модельный красный цвет:

$$C_R = 255 \cdot R + 0 \cdot G + 0 \cdot B, \quad (2)$$

модельный желтый:

$$C_Y = 255 \cdot R + 255 \cdot G + 0 \cdot B. \quad (3)$$

Интенсивность (I) и нормированные показатели цвета экстрактов (r,g,b) оценивали соотношениями:

$$I = (R + G + B)/3; \quad (4)$$

$$r = R/(R + G + B);$$

$$g = G/(R + G + B); \quad (5)$$

$$b = B/(R + G + B).$$

Из представленных на рисунке 1 цветометрических характеристик первичного этанольного экстракта из композиционной смеси АЦ и КР сырья различного состава следует, что раствор пигментов имеет красный цвет ($R > 0$, $G = 0$, $B = 0$).

Преимущественная красная окраска экстракта связана с большей концентрацией антоцианов в растворе в катионной форме по сравнению с каротиноидами из-за большего их количества в сырье (содержание антоцианов в сырье в среднем составляет $5 \cdot 10^{-3}$ моль на 100 г, а каротиноидов – $2 \cdot 10^{-4}$ моль на 100 г [13]).

В условиях экстрагирования в состав бескислотного этанольного раствора переходит не только высокополярная катионная форма антоцианов красного цвета, но и менее полярная бесцветная карбинольная форма, уменьшающая интенсивность R-компоненты экстракта [4]. С увеличением длительности экстрагирования возрастает концентрация карбинольной формы за счет таутомерного равновесия антоцианов в растворе (рис. 1а, кривая 1). Одновременно в состав экстракта переходят и желтые гидрофилизированные каротиноидные пигменты.

Увеличение доли каротиноидного сырья в составе композиции и длительности экстрагирования повышает концентрацию в растворе гидрофилизированных каротиноидов желтого цвета, что и приводит к увеличению суммы R и G экстракта (рис. 1, 2).

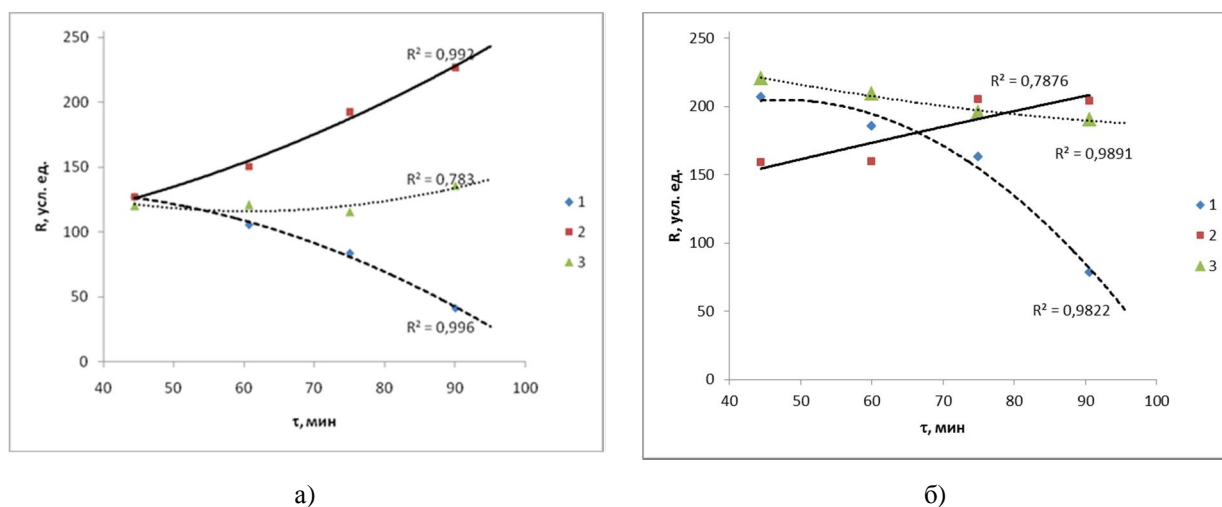


Рис. 1. Изменения R-компоненты цветовой окраски первичного (а) и вторичного (б) этанольных экстрактов из композиционного антоциан-каротиноидного (АЦ-КР) растительного сырья в зависимости от времени экстрагирования (τ) при различных весовых соотношениях АЦ:КР (1 – 1 : 1, 2 – 1 : 2, 3 – 1 : 3)

Более низкое значение величины R-компоненты первичного этанольного экстракта из смеси АЦ и КР сырья в соотношении 1:3 связано с меньшей концентрацией антоцианов и каротиноидных соединений (рис. 1а, кривая 3).

Для вторичного бескислотного этанольного экстракта красящих веществ из композиционной смеси составов АЦ:КР от 1 : 1 до 1 : 3 наблюдается увеличение не только R, но и G-компоненты, характеризующих усиление желтого цвета экстрактов ($R>0$, $G>0$, $B=0$) (рис. 1б).

Вторичный этанольный экстракт пигментов из сырья АЦ : КР = 1 : 1 по цветометрическим параметрам ($R>0$, $G=0$, $B=0$) и закономерностям их изменений имеет сходство с аналогичным первичным экстрактом (рис. 1а, 1б, кривые 1), что связано с преимущественным экстрагированием карбинольной формы антоцианов.

Увеличение доли каротиноидного сырья увеличивает в составе вторичных экстрактов концентрацию гидрофилизированных каротиноидов желтого цвета с соответствующим увеличением R- и G-параметров (рис. 1б – кривая 2, рис. 2 – кривая 1).

Повышение соотношения АЦ и КР сырья до 1 : 3 приводит к увеличению интенсивности общей окраски экстракта (повышение значений R и G-компонент) и увеличению красного оттенка раствора из-за более значительного уменьшения величины G-компоненты (рис. 1б – кривая 3, рис. 2 – кривая 2). Наблюдаемое в этом случае изменение цветности экстракта может быть связано (как и для первичного экстракта) уменьшением возможности образования комплекса пигментов антоциан-каротиноид.

Изучение нормированных rgb-цветовых показателей экстрактов из композиционного сырья в составе АЦ : КР = 1 : 1 при продолжительности экстрагирования 45 мин (рис. 3) показывает, что с увеличением времени хранения происходит смещение окраски от красного цвета к желтому (уменьшение «г» и увеличение «g»).

По-видимому, наблюдаемые закономерности изменения красного цвета экстракта происходят из-за превращения красной катионной формы антоцианов в халконовые соединения желтого цвета.

Вторичные и третичные экстракты пигментов в аналогичных условиях экстрагирования имеют большую устойчивость красного цвета из-за стабилизирующего влияния электронодонорных каротиноидных соединений на электрооакцепторные антоцианы в катионной форме красного цвета (рис. 4).

Увеличение времени экстрагирования красящих веществ с 45 до 60 мин повышает содержание каротиноидов и стабилизирует красную окраску раствора (рис. 5).

Вторичный экстракт в аналогичных условиях экстрагирования содержит меньше антоцианов в красной катионной форме и каротиноидов, что приводит к ослаблению красного цвета и увеличению желтого и синего из-за увеличения концентрации халконов и хиноидных структур антоцианов (рис. б).

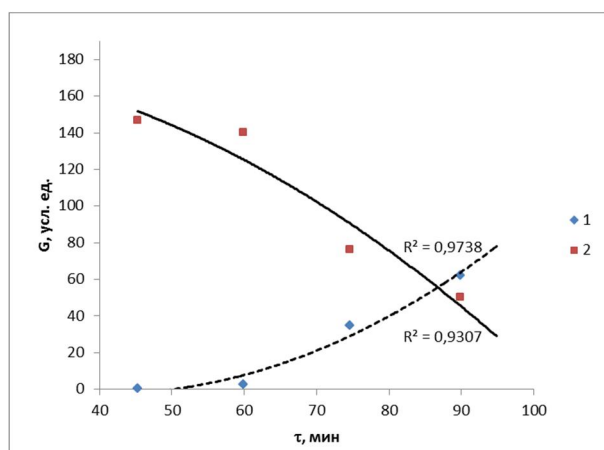


Рис. 2. Изменения G-компоненты цветовой окраски вторичного этанольного экстракта из композиционного антоциан-каротиноидного (АЦ-КР) растительного сырья в зависимости от времени экстрагирования (τ) при различных весовых соотношениях АЦ : КР (1 – 1 : 1, 2 – 1 : 3)

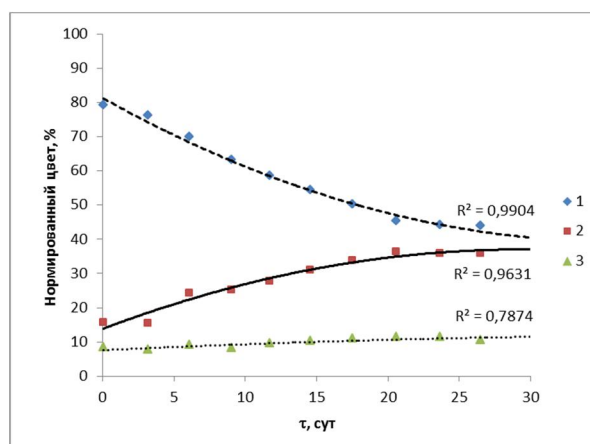
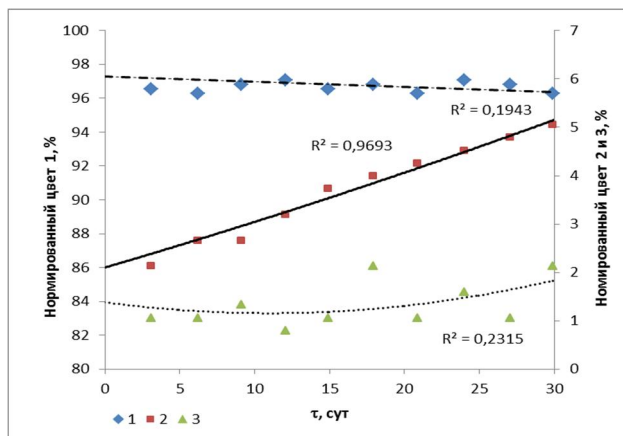
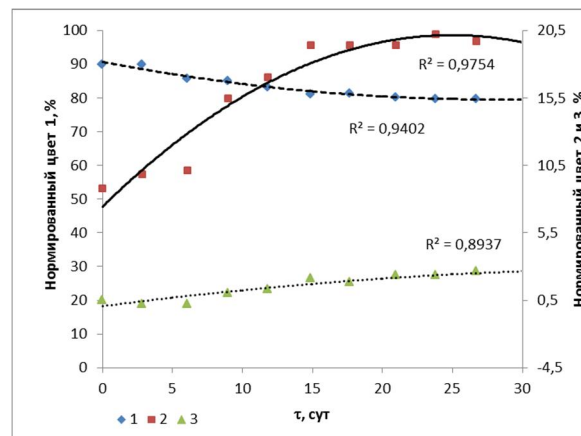


Рис. 3. Изменения нормированных rgb-цветовых характеристик первичного этанольного экстракта из композиционного антоциан-каротиноидного растительного сырья (весовое соотношение АЦ : КР = 1 : 1) при времени экстрагирования 45 мин от длительности хранения (τ) (1 – r, 2 – g, 3 – b)



а)



б)

Рис. 4. Изменения нормированных rgb-цветовых характеристик вторичного (а) и третичного (б) этанольных экстрактов из композиционного антоциан-каротиноидного растительного сырья (весовое соотношение АЦ:КР=1 : 1) при времени экстрагирования 45 мин от длительности хранения (τ) (1 – r, 2 – g, 3 – b)

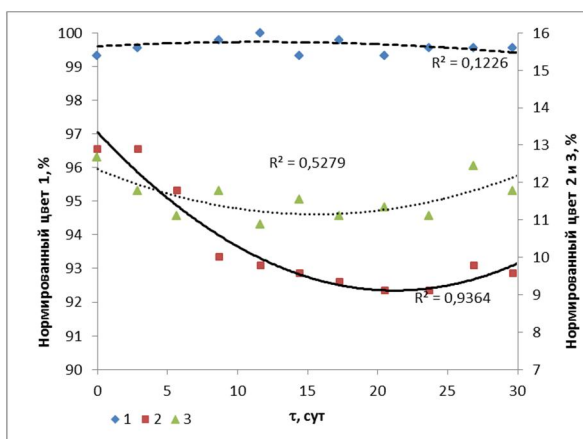
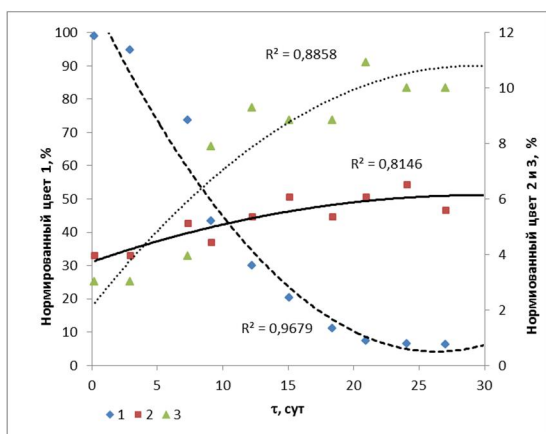
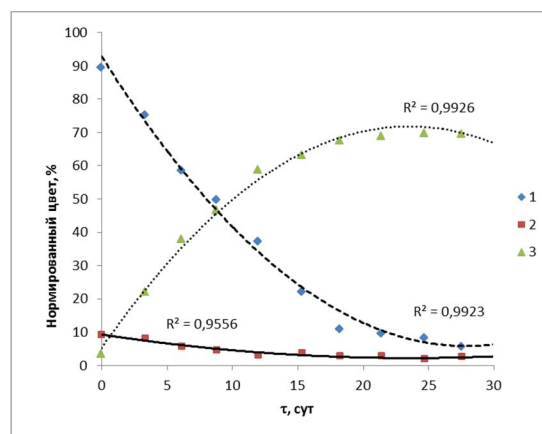


Рис. 5. Изменения нормированных rgb-цветовых характеристик первичного этанольного экстракта из композиционного антоциан-каротиноидного растительного сырья (весовое соотношение АЦ:КР=1:1) при времени экстрагирования 60 мин от длительности хранения (τ) (1 – r, 2 – g, 3- b)



а)



б)

Рис. 6. Изменения нормированных rgb-цветовых характеристик вторичного (а) и третичного (б) этанольных экстрактов из композиционного антоциан-каротиноидного растительного сырья (весовое соотношение АЦ : КР=1 : 1) при времени экстрагирования 60 мин от длительности хранения (τ) (1 – r, 2 – g, 3 – b)

Увеличение доли каротиноидного сырья в композиционной смеси до соотношения АЦ : КР = 1 : 2 позволяет получить наиболее стабильный при хранении первичный экстракт красного цвета (рис. 7а).

Дальнейшее увеличение доли каротиноидного сырья до соотношения АЦ : КР = 1 : 3 позволяет получать экстракт с пониженной интенсивностью желтого цвета (рис. 7б).

Экстракты, полученные в других условиях, имеют меньшую интенсивность красного цвета и менее стабильны при хранении.

Концентрирование спиртовых экстрактов из смесового отечественного антоциан-каротиноидсодержащего сырья позволяет получать композиционные пищевые красители с оттенками окраски в зависимости от соотношения компонентов сырья.

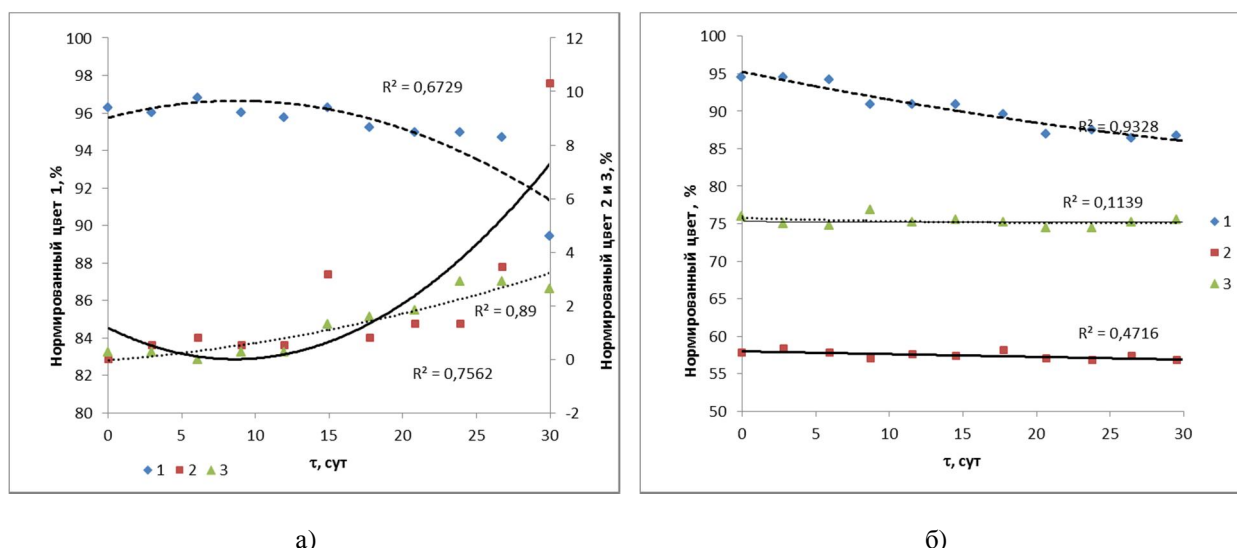


Рис. 7. Изменения нормированных rgb-цветовых характеристик первичных этанольных экстрактов при времени экстрагирования 45 мин от длительности хранения (τ) при различном составе композиционного антоциан-каротиноидного растительного сырья: а) весовое соотношение АЦ : КР=1 : 2; б) весовое соотношение АЦ : КР=1 : 3; (1 – r, 2 – g, 3 – b).

Выводы

Проведенные исследования показали, что вырабатываемые экстрагированием природные пищевые красители можно получать не только из растительного сырья с одним типом красящих соединений и определенной цветностью, но и комбинированием соотношений различного по природе растительного сырья с различающимися по химической структуре красящими веществами. Варьированием соотношения сырья получают красители с различной цветовой гаммой, что позволяет расширить ассортимент окрашенных продуктов питания.

Список литературы

1. Болотов В.М., Нечаев А.П., Сарафанова Л.А. Пищевые красители: классификация, свойства, анализ, применение. СПб., 2008. 240 с.
2. Болотов В.М., Саввин П.Н. Эффективность процесса экстракции антоциановых пигментов при различных условиях обработки растительного сырья // Вестник Воронежской государственной технологической академии. 2009. №1. С. 14–18.
3. Болотов В.М., Перикова Л.И., Комарова Е.В., Саввин П.Н. Ассоционные взаимодействия в каротиноидсодержащих биосистемах // Актуальная биотехнология. 2013. №1. С. 5–7.
4. Goto T. Structure and Color Variation of Natural Anthocyanins // Progr. Chem. Org. Nat. Prod. 1987. N2. Pp. 113–158.
5. Переверткина И.В., Волков А.Д., Болотов В.М. Влияние глицерина на экстрагирование антоциановых пигментов из растительного сырья // Химия растительного сырья. 2010. №2. С. 187–188.
6. Патент № 2221829 (РФ). Способ получения спирто-водорастворимого каротиноидного красителя из растительного сырья / Л.И. Перикова, В.М. Болотов, О.Б. Рудаков / 2004.
7. Патент № 2220172 (РФ). Способ получения антоцианового красителя из растительного сырья / А.П. Один, В.М. Болотов, А.Д. Хайрутдинова / 2003.

8. Патент № 2228344 (РФ). Способ получения антоцианового красителя из плодового сырья / А.П. Один, В.М. Болотов, А.Д. Хайрутдинова / 2004.
9. Болотов В.М., Саввин П.Н. Особенности экстрагирования антоцианов этиловым спиртом // Экстракция органических соединений: каталог докладов IV Международной конференции. Воронеж, 2010. С. 303.
10. Патент № 2516637 (РФ). Способ получения натурального смесового каротиноидно-антоцианового красителя / В.М. Болотов, Е.С. Шичкина, Е.В. Комарова, П.Н. Саввин / 2014.
11. Саввин П.Н., Комарова Е.В., Болотов В.М., Шичкина Е.С. Исследование натуральных каротиноидно-антоциановых красителей // Химия растительного сырья. 2010. №4. С. 135–138.
12. Байдичева О.В., Хрипушин В.В., Рудакова Л.В., Рудаков О.Б. Цветометрия – новый метод контроля качества пищевой продукции // Пищевая промышленность. 2008. №5. С. 20–22.
13. Химический состав пищевых продуктов. Кн. 2: Справочные таблицы содержания аминокислот, жирных кислот, витаминов, макро- и микроэлементов, органических кислот и углеводов / под ред. И.М. Скурихина, М.Н. Волгарева. М., 1987. 360 с.

Поступило в редакцию 9 октября 2015 г.

После переработки 9 февраля 2016 г.

Bolotov V.M., Komarova V.E., Filatova E.S.; Hripushin V.V. COLOR-METRIC CHARACTERISTICS OF COMPOSITE CAROTENOIDE-ANTHOCYANIN EXTRACTS OF VEGETATIVE RAW MATERIALS*

*Voronezh State University of Engineering Technology, pr. Revolutsii, 19, Voronezh, 394036 (Russia),
e-mail: kaftpp14@mail.ru*

This article is devoted to revealing regularities of chemical transformations of carotenoid and anthocyanin pigments in the production of natural dyes, that can be used in the food industry not only to give the product a certain color, but also to expand the range of products having high biological activity.

The features produced by the colorants identified by HPLC and spectral analysis methods allowed us to propose a new method for producing composite carotenoide-anthocyanin dyes from mixed carotenoids-anthocyanin domestic raw materials by acid-free extraction in 96% ethanol. The chromatographic and spectroscopic results studies of these dyes showed different contents of carotenoids and anthocyanins, depending on their ratio in the mixture extracted from plant material. Carotenoids are associated with anthocyanins and flavonols due to the electron-donor properties of the conjugated system of π -bonds of electron-deficient polyene and properties of carbohydrate-containing polyphenols. The absorption maxima of electronic spectra of alcohol extracts carotenoide-anthocyanin dyes are shifted relating to the solutions of unique colorants: carotenoids with 420, 460 and 480 nm to 424, 445, and 473 nm, while for anthocyanins – from 549 to 542 nm.

Special attention is paid to the study of chromaticity characteristics of carotenoide-anthocyanin extracts using RGB and Irgb-systems. With their help, the regularities of the changes of the color characteristics have been identified and the storage stability of samples of colorants has been investigated.

Keywords: extracts, anthocyanins, carotenoids, chromacity, RGB.

References

1. Bolotov V.M., Nechaev A.P., Sarafanova L.A. *Pishchevye krasiteli: klassifikatsiia, svoistva, analiz, primeneniie*. [Food Dyes: classification, properties, analysis, application]. St. Petersburg, 2008, 240 p. (in Russ.).
2. Bolotov V.M., Savvin P.N. *Vestnik Voronezhskoi gosudarstvennoi tekhnologicheskoi akademii*, 2009, no. 1, pp. 14–18. (in Russ.).
3. Bolotov V.M., Perikova L.I., Komarova E.V., Savvin P.N. *Aktual'naia biotekhnologiya*, 2013, no. 1, pp. 5–7. (in Russ.).
4. Goto T. *Progr. Chem. Org. Nat. Prod.* 1987, no. 2, pp. 113–158.
5. Perevertkina I.V., Volkov A.D., Bolotov V.M. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2010, no. 2, pp. 187–188. (in Russ.).
6. Patent 2221829 (RU). 2004. (in Russ.).
7. Patent 2220172 (RU). 2003. (in Russ.).
8. Patent 2228344 (RU). 2004. (in Russ.).
9. Bolotov V.M., Savvin P.N. *Katalog dokladov IV Mezhdunarodnoi konferentsii «Ekstraktsiia organicheskikh soedinenii»*. [Catalog of the IV International Conference "The extraction of organic compounds"]. Voronezh, 2010, p. 303. (in Russ.).
10. Patent 2516637 (RU). 2014. (in Russ.).
11. Savvin P.N., Komarova E.V., Bolotov V.M., Shichkina E.C. *Khimiia rastitel'nogo syr'ia*, 2010, no. 4, pp. 135–138. (in Russ.).
12. Baidicheva O.V., Khripushin V.V., Rudakova L.V., Rudakov O.B. *Pishchevaia promyshlennost'*, 2008, no. 5, pp. 20–22. (in Russ.).
13. *Khimicheskii sostav pishchevykh produktov. Kn.2: Spravochnye tablitsy sodержaniia aminokislot, zhirnykh ki-slot, vitaminov, makro- i mikroelementov, organicheskikh kislot i uglevodov* [The chemical composition of foods. Book 2: Reference table of amino acids, fatty acids, vitamins, macro- and micronutrients, organic acids and carbohydrates], ed. I.M. Skurikhin, M.N. Volgarev. Moscow, 1987, 360 p. (in Russ.).

Received October 9, 2015

Revised February 9, 2016

* Corresponding author.