



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **116028** (13) **U**
(51) МПК (2017.01)
C09B 61/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	u 2016 10057	(72) Винахідник(и):	Феденко Володимир Савелійович (UA)
(22) Дата подання заявки:	03.10.2016	(73) Власник(и):	ДНІПРОПЕТРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	10.05.2017		УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА,
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.05.2017, Бюл.№ 9		просп. Гагаріна, 72, м. Дніпропетровськ, 49010 (UA)

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ МОДИФІКАЦІЇ АНТОЦІАНОВОГО БАРВНИКА

(57) Реферат:

Спосіб визначення модифікації антоціанового барвника включає виділення пігментного екстракту з антоціановмісної рослинної сировини, підготовку препарату до аналізу, діагностику модифікації антоціану за спектральними характеристиками у видимому діапазоні розчину пігменту за відсутності та присутності іонів металу. Готують препарати у нейтральному середовищі, вимірюють диференційний спектр препаратів антоціану, і при наявності максимуму в діапазоні 630-675 нм із позитивним значенням інтенсивності діагностують модифікацію антоціанового барвника.

UA 116028 U

Корисна модель належить до способів отримання натуральних барвників із природних сировинних матеріалів, а саме антоціанових барвників із підвищеною стабільністю і модифікованими кольоровими характеристиками.

Спосіб може бути використаний для діагностики впливу металів у стабілізованих антоціанових композиціях при виробництві харчових продуктів із підвищеними органолептичними та біологічними показниками, а також при фарбуванні текстильних матеріалів і створенні косметичних засобів. Можливість використання способу в цих галузях пов'язана із загальною властивістю антоціанів до забарвлення матеріалів різного призначення і відповідає сучасній тенденції заміни синтетичних барвників на екологічно безпечні природні пігменти. У зв'язку з цим розроблені методи виділення барвників із антоціановмісної рослинної сировини [1, 2]. Однак для ефективного використання антоціанових барвників необхідна їх стабілізація. Один із поширених методів стабілізації антоціанів - зв'язування з іонами металів із утворенням металокомплексних сполук, що змінює кольорові характеристики цих пігментів і розширює діапазон їх використання [3,4].

Залежно від призначення цільового продукту у створенні фарбувальних композицій використовують сполуки різних металів відповідно до встановлених нормативних показників їх гранично допустимої концентрації. Поширене використання у різних галузях цих натуральних барвників обумовлює необхідність створення відповідних способів діагностики модифікації антоціанових пігментів.

Відомий спосіб визначення модифікації кольорових характеристик антоціанового барвника шляхом візуального порівняння забарвлення антоціанового екстракту у присутності та відсутності іонів металів [5].

До причин, що перешкоджають підвищенню достовірності визначення, слід віднести відсутність кількісного діагностичного показника та обмеженість розрізнення кольорових змін зоровим аналізатором спостерігача.

Найбільш близьким аналогом до запропонованої корисної моделі, є спосіб модифікації антоціанового барвника із антоціановмісної сировини, підготовку препарату до аналізу, встановлення характеристик поглинання у видимому діапазоні розчину пігменту за відсутності та присутності іону металу, діагностику модифікації барвника за змінами цих показників [6].

Спосіб включає підготовку препарату до тестування шляхом розведення вихідного антоціанового екстракту буферним розчином та додаванням розчину іону металу. Виміри спектрів поглинання проводять для серії препаратів із різним значенням рН - вихідного антоціанового екстракту без присутності іону металу ($\text{pH} < 2$) та попередньо підготовлених препаратів пігменту із додаванням іону металу при різних значеннях рН у діапазоні від 3 до 8. Модифікацію барвника встановлюють у разі позитивних значень різниці положення максимуму та його інтенсивності між порівнювальними препаратами.

Необхідність встановлення діагностичних показників для серії препаратів у діапазоні рН ускладнює визначення модифікації барвника. Крім цього діагностичні ознаки відомого способу у деяких варіантах тестування не дозволяють встановити факт модифікації пігменту [6], що пов'язано із складністю процесу утворення металокомплексу. Залежно від величин рН розчину для антоціанів характерна динамічна рівновага різних структурних форм, серед яких здатною до зв'язування з іонами металу є хіноїдна форма, що домінує в діапазоні рН 6-8 [7]. Утворення металокомплексу за рН 3-6 пов'язано із зміщенням динамічної рівноваги у бік реакційно здатної хіноїдної форми за надлишку іонів металу у середовищі. Тому залежно від умов модифікації та комплексоутворюючої здатності іону металу можливе часткове зв'язування пігменту. Наявність у розчині суміші модифікованого і немодифікованого антоціану призводить до складання питомого поглинання цих форм згідно правилу адитивності. Унаслідок такого складання утворюється розширений максимум, положення та інтенсивність якого можуть зменшуватись відносно вихідного екстракту пігменту, що не відповідає критеріям ідентифікації та унеможливорює діагностику за відомим способом. Тому ускладнена процедура тестування не охоплює усіх можливих варіантів створення стабілізованих антоціанових композицій шляхом взаємодії пігменту з іоном металу, що знижує достовірність діагностики за відомим способом.

В основу корисної моделі поставлено задачу визначення модифікації антоціанового барвника шляхом змін підготовки препаратів і встановлення їх спектральних відмінностей, забезпечення спрощення і підвищення достовірності діагностики модифікувального впливу металу на антоціановий пігмент.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі визначення модифікації антоціанового барвника, який включає виділення пігментного екстракту з антоціановмісної рослинної сировини, підготовку препарату до аналізу, діагностику модифікації за спектральними характеристиками у видимому діапазоні розчину пігменту за відсутності та присутності іонів

металу, згідно з корисною моделлю, готують препарати у нейтральному середовищі, вимірюють диференціальний спектр препаратів антоціану і при наявності максимуму в діапазоні 630-675 нм із позитивним значенням інтенсивності діагностують модифікацію антоціанового барвника.

Спосіб базується на загальній властивості антоціанів до утворення металокомплексних сполук. Зв'язування з іоном металу модифікує хромофорну систему пігменту, що призводить до змін його спектральних характеристик у видимому діапазоні та кольору (від червоного до пурпурового та синього). Внаслідок цього покращується технологічні показники цих екологічно безпечних, біологічно активних, натуральних барвників (стабільність, кольорова різноманітність), що розширює діапазон їх використання у різних галузях (виробництво харчових продуктів, текстильних матеріалів, косметичних засобів). Модифікувальний вплив може бути встановлений на основі характеристик диференційного спектра антоціану, які відображують зміни хромофорної системи унаслідок зв'язування пігменту з іоном металу у нейтральному середовищі за умов домінування реакційно здатної хіноїдної форми.

Підготовка серії препаратів із різними значеннями рН середовища виключається. Зміни спектральних характеристик пігменту, які обумовлені зв'язуванням іону металу, встановлюють за однією процедурою вимірів у нейтральному середовищі двох порівнюваних препаратів замість проведення більш тривалого аналізу вихідного екстракту антоціану і серії препаратів у присутності іону металу у діапазоні значень рН. Оскільки модифікація барвника відбувається за умов домінування реакційно здатної хіноїдної форми, діагностичні критерії більш адекватно відповідають хімічним особливостям процесу комплексоутворення. Тому діагностика можлива у разі наявності суміші модифікованої та немодифікованої форм пігменту, що призводить до розширення максимуму поглинання. Внаслідок цього забезпечується спрощення і підвищення достовірності визначення модифікації антоціанового барвника.

Запропонований спосіб здійснюють наступним чином.

Виділяють пігмент із антоціановмісної рослинної сировини. Готують препарати пігменту за відсутності та присутності іону металу у нейтральному середовищі. Вимірюють на спектрофотометрі диференційний спектр препарату антоціану у присутності іонів металу відносно препарату у відсутності іонів металу. При наявності максимуму в діапазоні 630-675 нм із позитивним значенням інтенсивності діагностують модифікацію антоціанового барвника.

Приклад 1. Для визначення впливу металу на модифікацію ціанідин 3-глюкозиду проводили екстракцію пігменту 1 %-ним розчином HCl в ізопропанолі з коренів проростків кукурудзи гібриду Промінь 170 МВ (8 діб пророщування). Готували препарат антоціану у присутності Ca^{2+} шляхом додавання розчину хлориду кальцію і доведення рН середовища до нейтрального (рН 7) за допомогою розчину NaOH. Аналогічним чином готували препарат при відсутності Ca^{2+} за умов однакової концентрації антоціану. Вимірювали диференційний спектр розчину антоціану в присутності Ca^{2+} відносно розчину антоціану у відсутності іону металу на спектрофотометрі Спекорд М40 у видимому діапазоні (350-800 нм). Аналізуючи спектральну криву, встановили положення максимуму ($\lambda_{\text{макс}}^{\text{диф}} = 670 \text{ нм}$) та його інтенсивність ($\Delta A^{\text{диф}} = 0,09$). Наявність

максимуму із позитивним значенням $\Delta A^{\text{диф}}$ свідчило про модифікацію антоціанового пігменту шляхом утворення комплексу з Ca^{2+} .

Паралельно проводили діагностику відомим способом [6]. Вимірювали спектр поглинання у видимому діапазоні екстракту у відсутності Ca^{2+} (рН 7) відносно розчинника. Положення максимуму поглинання стосовно 582 нм, а його інтенсивність 0,42. Аналогічним чином встановили положення максимуму (580 нм) та його інтенсивність (0,40) для екстракту пігменту у присутності Ca^{2+} . Зміни положення максимуму ($\Delta \lambda_{\text{макс}}$) становили - 2 нм, а зміни інтенсивності (ΔA) - -0,02, що не підтвердило факт модифікації пігменту.

Отже, порівняльний аналіз результатів підтвердив, що використання заявленого способу із спрощеною процедурою аналізу підвищило достовірність діагностики модифікації антоціанового пігменту порівняно із відомим способом.

Приклад 2. Аналогічно прикладу 1 проводили діагностики модифікації ціанідин 3-глюкозиду за участю іонів різних металів. Результати визначення положення максимуму в диференційному спектрі ($\lambda_{\text{макс}}^{\text{диф}}$) та його інтенсивності ($\Delta A^{\text{диф}}$) представлені у таблиці. Для порівняння наведені характеристики спектра поглинання ($\Delta \lambda_{\text{макс}}$, ΔA), які встановлені за відомим способом.

Таблиця

Іон металу	Диференційний спектр		Спектр поглинання	
	$\Delta\lambda_{\text{макс}}$, нм	$\Delta A^{\text{диф}}$, нм	$\Delta\lambda_{\text{макс}}$, нм	ΔA
Mg ²⁺	631	0,13	14	0,12
Mn ²⁺	673	0,09	-2	0
Fe ²⁺	649	0,43	-1	0,41
Co ²⁺	631	0,13	11	0,02
Ni ²⁺	675	0,06	-2	-0,11
Cu ²⁺	661	0,11	7	0,02
Zn ²⁺	668	0,04	-10	0,05
Sr ²⁺	673	0,05	-2	-0,04
Cd ²⁺	649	0,17	0	0,08
Ba ²⁺	630	0,07	-2	0,04
Pb ²⁺	631	0,31	17	0,22
Al ³⁺	659	0,05	-18	0,10
Cr ³⁺	661	0,25	-42	0,18
MoO ₄ ²⁻	659	0,15	4	0,08

Аналізуючи дані таблиці, слід зазначити, що запропонований спосіб дозволив встановити модифікацію антоціанового барвника для усіх іонів металу (100 %), тоді як за обома діагностичними ознаками відомого способу цей ефект підтверджено тільки для 5 іонів металу, що становить 36 % від їх загальної кількості. Отримані результати підтвердили підвищення достовірності визначення модифікації антоціанового барвника згідно заявленого способу.

Приклад 3. Аналогічно прикладу 1 визначали вплив іонів Sr²⁺ на екстракт дельфінідину із темнофіолетових квіток *Lupinus polyphyllus* Landl. Наявність у диференціальному спектрі $\lambda_{\text{макс}}^{\text{диф}}$

при 660 нм з інтенсивністю $\lambda_{\text{макс}}^{\text{диф}} = 0,10$ підтвердило модифікувальний вплив іону металу на антоціановий пігмент.

Таким чином, наведені приклади підтверджують, що при здійсненні запропонованого способу досягнуто спрощення і підвищення достовірності визначення модифікації антоціанового барвника за участю іонів металу на основі діагностичних показників диференційного спектра поглинання.

Джерела інформації:

1. Патент України № 30868, опубл. 15.12.2000, бюл. № 7, МПК⁶ C09B 61/00.
2. Патент України № 59834, опубл. 25.05.2011, бюл. № 10, МПК (2011) C09B 61/00.
3. Handbook of natural colorants / Ed. T. Bechtold, R. Mussak. - John Wiley and sons Ltd., 2009. - 434 p.
4. Handbook of natural pigments in food and beverages: industrial applications for improving food color / Ed. R. Carle, R. Schweiggert. - Woodhead Publishing, 2016. - 538 p.
5. Hale K.L., Tufan H.A., Pickering I.J. et al. // *Physiol. Plant.* - 2002. - V. 116. - P. 351-358.
6. Sigurdson G.T., Robbins R.J., Collins T.M., Giusti M.M. // *Food Chem.* - 2016. - V. 208. - P. 26-34.
7. Trouillas P., Sancho-Garcia J.C., De Freitas V. et al. // *Chem. Rev.* - 2016. - V. 116. - P. 4937-4982.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення модифікації антоціанового барвника, який включає виділення пігментного екстракту з антоціановмісної рослинної сировини, підготовку препарату до аналізу, діагностику модифікації антоціану за спектральними характеристиками у видимому діапазоні розчину пігменту за відсутності та присутності іонів металу, який **відрізняється** тим, що готують препарати у нейтральному середовищі, вимірюють диференційний спектр препаратів антоціану і при наявності максимуму в діапазоні 630-675 нм із позитивним значенням інтенсивності діагностують модифікацію антоціанового барвника.

Комп'ютерна верстка О. Рябко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601