

УДК 547.973:54.056(045)

DOI <https://doi.org/10.32851/tnv-tech.2022.2.4>

## ВИДІЛЕННЯ АНТОЦΙΑНІВ (ПІГМЕНТІВ) МЕТОДОМ ОПТИМАЛЬНОГО ПІДБОРУ ЕКСТРАКЦІЇ КЛІТОРІЇ ТРІЙЧАСТОЇ (*CLITORIA TERNATEA*)

**Крижак Л. М.** – кандидат технічних наук,

доцент кафедри туризму та готельно-ресторанної справи

Вінницького торговельно-економічного інституту Державного торговельно-економічного університету

ORCID ID: 0000-0002-4882-897X

Харчові барвники належать до групи харчових добавок. З метою покращення зовнішнього вигляду продуктів харчування багато століть використовували натуральні барвники. Але у XX столітті з'явилися стійкі штучні барвники, які поступово почали витісняти натуральні. Перевагами їх застосування є дешевизна, малі дозування, стійкість до дії температури, світла, зміни рН середовища, отримання різноманітних відтінків шляхом змішування. Також більшість штучних харчових барвників містять азосполуки, а таких барвників немає в переліку дозволених харчових добавок в Україні. Проте асортимент природних барвників дуже малий, отже, виникає необхідність в пошуку перспективних натуральних аналогів з рослинної сировини.

В роботі показано перспективна доцільність використання у харчовій промисловості в якості барвника – кліторії трійчастої (*Clitoria ternatea* L.) Особливе місце серед біологічно активних речовин в рослинній сировині кліторії трійчастої, займають антоціанові барвники фенольної природи, які відносяться до біофлавоноїдів. Вони обумовлюють забарвлення квітів від блакитного до синього кольору. Антоціани квітів (*Clitoria ternatea* L.), що легко розчиняються у воді, можна використовувати як синій харчовий барвник у кислих та нейтральних харчових продуктах, з метою відновлення і підвищення інтенсивності природного забарвлення, фарбування безколірних продуктів та надання їм привабливого товарного вигляду.

На основі проведених досліджень виявлено оптимальні умови вилучення пігменту рослинного походження з кліторії трійчастої методом екстракції. Найбільш оптимальний режим вилучення речовин відбувається за температури 73,1 °С, часу 45 хвилин, гідромодулі 1:303. Відповідно, ґрунтуючись на трьох різних методиках, можна виробити свій власний оптимальний метод екстракції, враховуючи такі фактори, як температура, час, гідромодуль.

**Ключові слова:** харчовий барвник, кліторія трійчаста, антоціани, синій чай анчан, екстракція.

### **Kryzhak L. M. Isolation of Anthocyanins (pigments) by the method of optimal selection of *clitoria ternatea* extraction**

Food dyes belong to the group of food additives. Natural dyes have been used for centuries to improve the appearance of food. But in the twentieth century, stable artificial dyes appeared, which gradually began to displace natural ones. The advantages of their use are cheapness, small dosages, resistance to temperature, light, changes in pH, obtaining different shades by mixing. Moreover, most artificial food dyes contain azo compounds, such dyes are not on the list of permitted food additives in Ukraine. However, the range of natural dyes is very small, so there is a need to find promising natural analogues of vegetable raw materials.

The paper shows the long-term feasibility of use in the food industry as a dye – *clitoria ternatea* (*Clitoria ternatea* L.) A special place among the biologically active substances in the plant material of *clitoria ternatea*, occupy anthocyanin dyes of phenolic nature, which belong to bioflavonoids. They determine the color of flowers from light blue to dark blue. Anthocyanins of flowers (*Clitoria ternatea* L.), easily soluble in water and can be used as a dark blue food coloring in acidic and neutral foods, to restore and increase the intensity of natural color; coloring colorless products and give them an attractive appearance.

On the basis of the conducted researches the optimum conditions of extraction of a pigment of a vegetable origin from a clitoral ternary by an extraction method are revealed. The most

*optimal mode of extraction of substances occurs at a temperature of 73.1 °C, time 45 minutes, hydraulic modules 1: 303. Accordingly, based on three different methods, you can develop your own optimal method of extraction, taking into account such factors as temperature, time, hydromodule.*

**Key words:** food coloring, clitoral triplet, anthocyanins, blue anchan tea, extraction.

**Вступ.** Харчові барвники відіграють важливу роль у харчовій промисловості, змінюючи або надаючи кольори продуктам харчування, щоб підвищити привабливість для покупця та сенсорну прийнятність. Їх поділяються на штучні та натуральні залежно від їхнього походження. Штучні харчові барвники – це хімічні речовини, що походять з похідних кам'яновугільних смоли, і більшість з них містять азосполуки [1]. Натуральні харчові барвники складаються з пігментів, таких як антоціани, каротиноїди, хлорофіл тощо, які добувають в основному з рослин та мікроорганізмів [2].

Попит на харчові продукти з натуральними барвниками збільшився, оскільки вважається, що споживання синтетичних барвників спричиняє алергію, харчову непереносимість, гіперактивність, дратівливість та порушення сну у дітей [3].

Антоціани є найбільшою групою водорозчинних пігментів, вони володіють антибактеріальні, антипроліферативні, гіпоглікемічні властивості, та належать до флавоноїдів, підкласу сімейства поліфенолів, надають привабливий помаранчевий, червоний, пурпурний, фіолетовий та синій колір фруктам, овочам та квітам. У природі виявлено понад 700 антоціанів, які відіграють життєво важливу роль у запиленні та захисті клітин рослин від ультрафіолетового (УФ) випромінювання [4].

За результатами пошуково – дослідної роботи слід зауважити, що застосування антоціанів в якості харчового барвника забезпечить споживача рядом переваг для людського організму. Сині антоціани зазвичай містяться у синіх квітках та деяких фруктах. Кліторія трійчаста є одним з джерел антоціанів, що містять поліацильовані антоціани стабільного синього кольору [5; 6].

*Clitoria ternatea L.* квітка блакитного кольору, в сухому вигляді є багатим джерелом поліацильованих антоціанів, і їх вища стабільність порівняно з неацильованими антоціанами забезпечує перевагу при використанні як натуральний харчовий барвник [7].

Таким чином, антоціани квітів кліторії трійчастої можна використовувати як синій барвник у кислих та нейтральних харчових системах.

**Постановка проблеми.** На сьогоднішній день вибір натуральних синіх харчових барвників вкрай обмежений. Харчова промисловість вкладає значні кошти у пошук натуральних замінників, але поки що безуспішно.

У зв'язку з прогресивними тенденціями використання натуральних пігментів у харчових продуктах виробники та науковці вклали значні зусилля та кошти у розробку натуральних барвників, шляхом мікробної ферментації [8]. Незважаючи на безліч варіантів від жовтого до пурпурного, натуральні сині барвники залишаються невиявлені.

В даний час тільки три синтетичні сині пігменти схвалені в Європі як харчові добавки. Діамантовий синій FCF (E 133) (отриманий з нафтохімії), індигокармін (E 132) (синтетичне похідне індиго) та патентований синій V (131). Однак доступний лише один природний пігмент – фікоціанін, отриманий зі «Спіруліни», який складається із суміші трьох видів ціанобактерії, а саме *Arthrospira platensis*, *Arthrospira fusiformis* та *Arthrospira maxima*.

Незважаючи на велику різноманітність пігментів, що синтезуються рослинами, небагато квітів або плодів мають синій колір. В якості рослинної сировини було

обрано кліторію трійчасту (*Clitoria ternatea*), яка є одним із джерел антоціанів, що містять поліацильовані антоціани стабільного синього кольору [9]. Сушені квітки *Clitoria ternatea* традиційно використовуються як трав'яний чай у Південно-Східній Азії і, таким чином, мають історію безпечного вживання для здоров'я людини [10].

Тому, перспективним напрямком є застосування її в харчовій промисловості, що дозволить скласти конкуренцію продуктам в склад яких входять хімічно синтезовані харчові барвники.

**Метою статті** є дослідження оптимального методу підбору екстракції гарячою водою висушених подрібнених квітів *Clitoria ternatea*, який є успішним для отримання пігментів – антоціанів. Отриманий пігмент в подальшому будуть використані в якості харчового барвника або функціонального харчового інгредієнта, та надавати споживачам цілий ряд переваг для здоров'я.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Науковим дослідженням щодо пошуку сировини та розроблення технологій виробництва натуральних антоціанових барвників присвячені роботи багатьох учених: Abidin Z., Manah N., Hadi A., Saugi N., Fuad F., Mazni N., Thuy N., Minh V., Ben T., Nguyen M., Ha H., Tai N., Hock Eng Khoo, Azrina Azlan, Jeyaraj E., Lim Y., Choo W. та ін. [5; 6; 8; 11; 12] займалися вивченням натуральних та синтетичних антоціанових барвників, їхніх фізико-хімічних характеристик та впливу на організм.

**Виклад основного матеріалу.** Екстракція – перший важливий крок у вилученні активних інгредієнтів з рослинної сировини. Метою вибору відповідного методу екстракції є отримання максимального виходу та високу концентрацію сполук – антоціанів. Оскільки антоціани чутливі до тепла, світла, кислот і лугів, вибір відповідного методу екстракції для отримання максимальної кількості антоціанів без розпаду має вирішальне значення [12].

Вибір розчинника проводили на основі подальшого використання екстракту у харчовій промисловості, завданням стало використання безпечних органічних розчинників. В ряді проведених досліджень зарубіжними науковцями Pham et al., Jaafar et al., Shen et al. [13 – 15], використовувалася водно-спиртова екстракція [тобто 37 % етанол, 50 % етанол, 50 % метанол] для вилучення антоціанів з квітів кліторії трійчастої. Тим не менш, FDA [16] віднесло метанол до класу 2 розчинників, які мають токсичність, а етанол — до розчинників класу 3, використання яких має обмежуватися належною виробничою практикою. Дистильована вода є найкращим розчинником для проведення процесу екстракції антоціанів, оскільки воду можна розглядати як нетоксичний розчинник.

Враховуючи вище викладене можна стверджувати, що водна екстракція є найоптимальніший варіант для подальших досліджень.

**Вилучення антоціанів методом екстракції.** Методи екстракції пігментів з *Clitoria ternatea*, були відібрані з трьох опрацьованих, методом відбору, зарубіжних наукових праць (таблиця 1).

Для екстрагування використовували сировину – сухі квіти Butterfly pea flower tea Anchan, урожай 2021 року, виробник ТОВ «Е-Фекторі», Україна. Квіти подрібнювали до розміру часток 1–3 мм з метою кращого виходу пігменту в водний розчин.

Експериментально підібрані три методи були виконані на практиці. Усі досліді повторювали тричі, проводили статистичну обробку результатів. Після закінчення екстрагування суспензії проводили центрифугування протягом 15 хвилин, з метою відділення твердої фракції яка змішана з невеликою кількістю дистильованої води і віджата для виділення додаткової кількості антоціанів в екстракт.

Таблиця 1

**Результати вилучення пігменту – антоціанів при різних режимах екстрагування**

<b>Відібрані варіанти</b>	<b>Методика вилучення антоціанів</b>
I метод вилучення (гідромодуль 1:10)	Холодна екстракція антоціанів: 10 г порошку кліторії замочували 100 мл води і залишали на 24 години при 25 °С [17]
II метод (гідромодуль 1:37)	Тепла екстракція антоціанів за температури 54 °С. Для цього 2,7 г порошку кліторії замочували в 100 мл води і залишали екстрагуватися в термостаті на 74 хвилини при 54 °С [18]
III метод (гідромодуль 1:333)	Гаряча екстракція антоціанів за температури 59,6 °С. Для цього 3 г порошку кліторії замочували в 100 мл води і залишали екстрагуватися в термостаті на 37 хвилин при 59,6 °С [19]

Одержані лабораторні зразки поміщали в сушильну шафу, та піддавалися сушінню до утворення твердого сухого залишку при температурі 60 °С протягом 11 годин. Після закінчення сушіння чашки Петрі із сухим залишком зважували на цифрових ювелірних вагах, марки МН-200. Вихід антоціанів розраховували шляхом розподілу сухої маси зібраного екстракту на масу вихідного зразка, помножений на 100 %. Отримані результати екстрагування занесені в таблицю 2.

Дані результати в таблиці 2 показано, що із запропонованих методів вилучення пігментів, гаряча екстракція є найоптимальнішою (за часом, гідромодулем і виходом антоціанів).

За результатами проведених досліджень, були отримані числові значення, виходу пігменту (антоціанів) від температури, часу екстракції та гідромодуля.

На рисунку 1 можна простежити, що зі збільшенням температури підвищується вихід антоціанів. Планується проведення додаткових експериментів з інтервалом температури від 40 °С до 80 °С (з кроком 5 °С).

На рисунку 2 помітно, що зі збільшенням часу екстракції можливе зниження виходу пігменту.

На рисунку 3 також можна побачити, що гідромодуль (а саме об'єм розчинника) впливає на вихід антоціанів при екстракції з твердої фази в розчин. Чим більший об'єм розчинника, тим більше антоціанів може дифундувати.

Відповідно, ґрунтуючись на трьох різних методиках, можна виробити свій власний оптимальний метод екстракції, з врахуванням таких факторів, як температура, час, гідромодуль. За допомогою алгебраїчних підрахунків і екстраполювання прямої на графічній залежності виявлено, що найбільш оптимальний вихід

Таблиця 2

**Результати вилучення антоціанів при різних режимах екстрагування**

<b>Показники</b>	<b>I метод</b>	<b>II метод</b>	<b>III метод</b>
Температура екстрагування, оС	25	54	59,6
Час екстрагування, хв	1440	74	37
Значення гідромодуля	1:10	1:37	1:333
Кількість сухої сировини, г	5,875	1,625	0,222
Вихід антоціанів, %	58,75	60,12	73,26

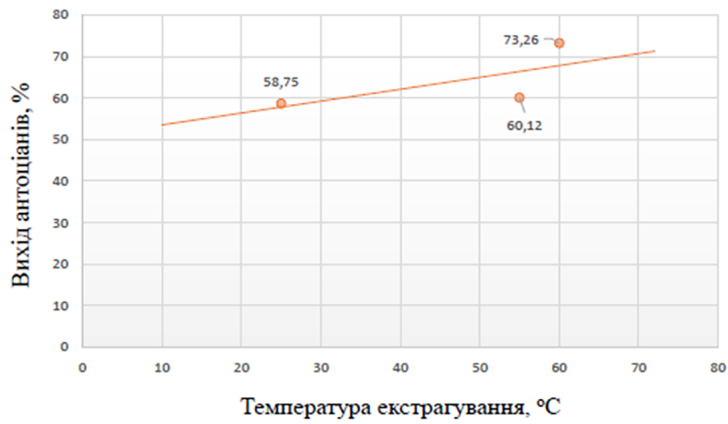


Рис. 1. Залежність виходу пігменту від температури

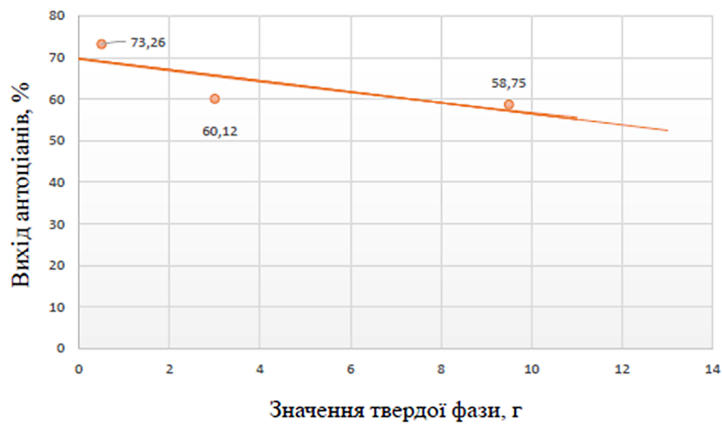


Рис. 2. Залежність виходу пігментів від часу

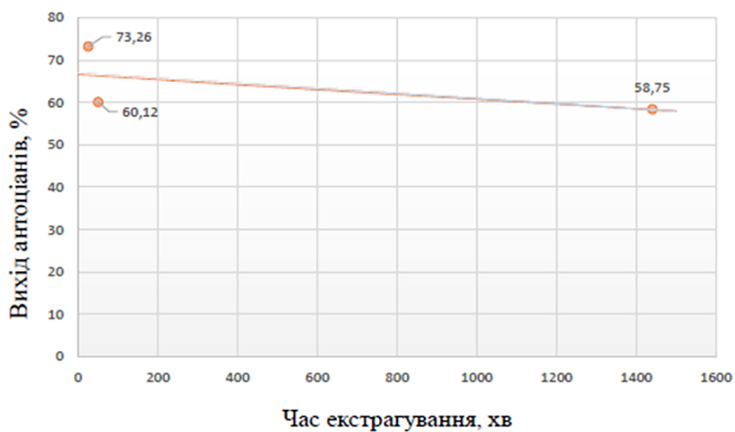


Рис. 3. Залежність виходу пігментів від гідромодуля

екстракції (до 70 %) буде здійснюватися при температурі 73,1 °С, часу 45 хвилини, гідромодулі 1:303.

**Висновок.** На підставі проведених аналітичних досліджень встановлено, що кліторія трійчаста є одним із джерел антоціанів, що містять поліацильовані антоціани стабільного синього кольору. Оскільки кількість доступних синіх харчових барвників обмежена, антоціани квітів кліторії будуть гарною альтернативою для використання як натуральний синій харчовий барвник. Найбільш оптимальний режим вилучення речовин з сухих квітів кліторії трійчастої відбувається за температури 73,1 °С, часу 45 хвилини, гідромодулі 1:303.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Dilrukshi P. G. T., Munasinghe H., Silva A. B. G., De Silva P. G. S. M. Identification of synthetic food colours in selected confectioneries and beverages in jaffna District, Sri Lanka. *J. Food Qual.* 2019.
2. Sen T., Barrow C. J., Deshmukh S. K. Microbial pigments in the food industry – challenges and the way forward. *Front. Nutr.* 6:7. 2019.
3. Feketea G., Tsabouri S. Common food colorants and allergic reactions in children: myth or reality? *Food Chem.* 2017. P. 578–588.
4. Salacheep S., Kasemsiri P., Pongsa U., Okhawilai M., Chindaprasirt P., Hiziroglu S. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and bioactive compounds from butterfly pea petals using Taguchi method and Grey relational analysis. *J. Food Sci. Technol.* 2020. Vol. 57. P. 3720–3730.
5. Abidin Z. H. Z., Manah N. S. A., Hadi A. N., Saugi N. S., Fuad F. A., Mazni N. A., et al. The colour stability of natural blue dye extracted from *Clitoria ternatea L.* *Pigment Resin Technol.* 2019. Vol. 48. P. 265–271.
6. Thuy N. M., Minh V. Q., Ben T. C., Thi Nguyen M. T., Ha H. T. N., Tai N. V. Identification of anthocyanin compounds in butterfly pea flowers (*Clitoria ternatea L.*) by ultra performance liquid chromatography/ultraviolet coupled to mass spectrometry. *Molecules.* 2021.
7. Marpaung A. M., Lee M., Kartawiria I. S. The development of butterfly pea (*Clitoria ternatea*) flower powder drink by co-crystallization. *Indone Food Sci. Technol. J.* 2020. Vol. 3. P. 34–37.
8. Microbial Pigments in the Food Industry—Challenges and the Way Forward Tanuka Sen, Colin J. Barrow, and Sunil Kumar Deshmukh 2019; 6: 7. DOI: 10.3389/fnut.2019.00007
9. Крижак Л. Антоціани із квітів *Clitoria ternatea*. *Вісник Хмельницького національного університету. Хмельницький*, 2022. № 1(305) С. 270–273.
10. Houghton A. Appelhagen I. Martin C. Natural Blues: Structure Meets Function in Anthocyanins. 2021. 10(4), 726; DOI: org/10.3390/plants10040726
11. Khoo, Hock Eng & Azlan, Azrina & Tang, Sou & Lim, See. Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients. *Food & Nutrition Research.* 2017. No. 61. 1361779. DOI: 10.1080/16546628.2017.1361779
12. Jeyaraj E. J., Lim Y. Y., Choo W. S. Extraction methods of butterfly pea (*Clitoria ternatea*) flower and biological activities of its phytochemicals. *J. Food Sci. Technol.* 2020. Vol. 58. P. 2054–2067.
13. Pham T. N., Nguyen D. C., Lam T. D., Van Thinh P., Le X. T., Nguyen D. V. V., et al. “Extraction of anthocyanins from Butterfly pea (*Clitoria ternatea L.* Flowers). International Conference on Mechanical Engineering. (Bristol: Iop Publishing Ltd). 2019.
14. Jaafar N. F., Ramli M. E., Salleh R. M. Optimum extraction condition of *Clitoria ternatea* flower on antioxidant activities, total phenolic, total flavonoid and total anthocyanin contents. *Trop. Life Sci. Res.* 2020. Vol. 31. 1–17.
15. Shen Y., Ardoin R., Osorio L. F., Cardona J., López Prado A. S., Osorio L. F., et al. Effects of different solvents on total phenolic and total anthocyanin contents of



*Clitoria ternatea* L. petal and their anti-cholesterol oxidation capabilities. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2019.

16. Chemat F., Abert Vian M., Ravi H. K., Khadhraoui B., Hilali S., Perino S., et al. Review of alternative solvents for green extraction. *Molecules.* 2019.

17. APA Hassan, N. D., Muhamad, I. I., & Sarmidi, M. R. The Effect of Copigmentation on the Stability of Butterfly Pea Anthocyanins. *Key Engineering Materials.* 2013. P. 245–249. URL: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/kem.594-595.245>

18. Baskaran, A., Mudalib, S. K. A. Optimization of aqueous extraction of blue dye from butterfly pea flower. *Journal of Physics Conference Series.* November 2019. DOI:10.1088/1742-6596/1358/1/012001. URL: [https://www.researchgate.net/publication/337130513\\_Optimization\\_of\\_aqueous\\_extraction\\_of\\_blue\\_dye\\_from\\_butterfly\\_pea\\_flower](https://www.researchgate.net/publication/337130513_Optimization_of_aqueous_extraction_of_blue_dye_from_butterfly_pea_flower)

### REFERENCES:

1. Dilrukshi P. G. T., Munasinghe H., Silva A. B. G., De Silva P. G. S. M. (2019). Identification of synthetic food colours in selected confectioneries and beverages in jaffna District. *J. Food Qual. [Sri Lanka]*.

2. Sen T., Barrow C. J., Deshmukh S. K. (2019). Microbial pigments in the food industry – challenges and the way forward. *Front. Nutr.* 6:7.

3. Feketea G., Tsabouri S. (2017). Common food colorants and allergic reactions in children: myth or reality? *Food Chem.* P. 578–588.

4. Salacheep S., Kasemsiri P., Pongsa U., Okhawilai M., Chindaprasirt P., Hiziroglu S. (2020). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and bioactive compounds from butterfly pea petals using Taguchi method and Grey relational analysis. *J. Food Sci. Technol.* Vol. 57. P. 3720–3730.

5. Abidin Z. H. Z., Manah N. S. A., Hadi A. N., Saugi N. S., Fuad F. A., Mazni N. A., et al. (2019). The colour stability of natural blue dye extracted from *Clitoria ternatea* L. in poly Pigment Resin Technol. Vol. 48. P. 265–271.

6. Thuy N. M., Minh V. Q., Ben T. C., Thi Nguyen M. T., Ha H. T. N., Tai N. V. (2021). Identification of anthocyanin compounds in butterfly pea flowers (*Clitoria ternatea* L.) by ultra performance liquid chromatography/ultraviolet coupled to mass spectrometry. *Molecules.*

7. Marpaung A. M., Lee M., Kartawiria I. S. (2020). The development of butterfly pea (*Clitoria ternatea*) flower powder drink by co-crystallization. *Indone Food Sci. Technol. J.* Vol. 3. P. 34–37.

8. Microbial Pigments in the Food Industry—Challenges and the Way Forward Tanuka Sen, Colin J. (2019). Barrow, and Sunil Kumar Deshmukh; 6: 7. DOI: 10.3389/fnut.2019.00007

9. Kryzhak L. (2022). Antotsiany iz kvitiv *Clitoria ternatea*. [Antocyanes from *Clitoria ternatea* flowers]. *Visnyk Khmelnytskoho natsionalnoho universytetu. Khmelnytskyi.* № 1(305) C. 270-273 [in Ukrainian].

10. Houghton A. Appelhagen I. Martin C. (2021). Natural Blues: Structure Meets Function in Anthocyanins. 10 (4), 726; DOI: [org/10.3390/plants10040726](https://doi.org/10.3390/plants10040726)

11. Khoo, Hock Eng & Azlan, Azrina & Tang, Sou & Lim, See. (2017). Anthocyanins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients. *Food & Nutrition Research.* No. 61. 1361779. DOI: 10.1080/16546628.2017.1361779

12. Jeyaraj E. J., Lim Y. Y., Choo W. S. (2020). Extraction methods of butterfly pea (*Clitoria ternatea*) flower and biological activities of its phytochemicals. *J. Food Sci. Technol.* Vol. 58. P. 2054–2067.

13. Pham T. N., Nguyen D. C., Lam T. D., Van Thinh P., Le X. T., Nguyen D. V. V., et al. (2019). “Extraction of anthocyanins from Butterfly pea (*Clitoria ternatea* L. Flowers). *International Conference on Mechanical Engineering.* (Bristol: Iop Publishing Ltd).

14. Jaafar N. F., Ramli M. E., Salleh R. M. (2020). Optimum extraction condition of *Clitoria ternatea* flower on antioxidant activities, total phenolic, total flavonoid and total anthocyanin contents. *Trop. Life Sci. Res.* Vol. 31. 1–17.
  15. Shen Y., Ardoin R., Osorio L. F., Cardona J., López Prado A. S., Osorio L. F., et al. (2019). Effects of different solvents on total phenolic and total anthocyanin contents of *Clitoria ternatea* L. petal and their anti-cholesterol oxidation capabilities. *Int. J. Food Sci. Technol.*
  16. Chemat F., Abert Vian M., Ravi H. K., Khadhraoui B., Hilali S., Perino S., et al. (2019). Review of alternative solvents for green extraction. *Molecules.*
  17. APA Hassan, N. D., Muhamad, I. I., & Sarmidi, M. R. (2013). The Effect of Copigmentation on the Stability of Butterfly Pea Anthocyanins. *Key Engineering Materials.* P. 245–249. URL: <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/kem.594-595.245>
  18. Baskaran, A., Mudalib, S. K. A. (2019). Optimization of aqueous extraction of blue dye from butterfly pea flower. *Journal of Physics Conference Series.* November DOI:10.1088/1742-6596/1358/1/012001. URL: [https://www.researchgate.net/publication/337130513\\_Optimization\\_of\\_aqueous\\_extraction\\_of\\_blue\\_dye\\_from\\_butterfly\\_pea\\_flower](https://www.researchgate.net/publication/337130513_Optimization_of_aqueous_extraction_of_blue_dye_from_butterfly_pea_flower)
-