

## Barevnost a obsah některých biologicky aktivních látek v přírodninách a v produktech přírodního původu

### Colour and content of some biologically active substances in natural products and products of natural origin

Jan Šubert • Jozef Kolář • Jozef Čižmárik

Došlo 12. dubna 2021 / Přijato 8. června 2021

#### Souhrn

Příspěvek upozorňuje na korelace mezi výsledky instrumentálního měření barevnosti a obsahem některých biologicky aktivních organických látek (karotenoidy, chlorofyl, anthokyaniny, kurkuminoidy aj.) v přírodninách a v produktech přírodního původu. Dostatečně těsné korelace mohou vést po doplnění regresní analýzou a kalibrací k vývoji postupů pro rychlé stanovení obsahu těchto látek a jejich skupin měřením barevnosti bez náročnější úpravy vzorků.

**Klíčová slova:** biologicky aktivní látky • měření barevnosti • korelace • stanovení obsahu

#### Summary

The paper draws attention to the correlations between the results of instrumental colour measurements and the content of some biologically active organic substances (carotenoids, chlorophyll, anthocyanins, curcuminoids, etc.) in natural products and products of natural origin. After supplementation by regression analysis and calibration, sufficiently close correlations can lead to the development of procedures for rapid determination of the content of these substances and their groups by colour measurement without more demanding sample treatment.

J. Šubert

Dušínova 1512/42, 664 34 Kuřim

doc. RNDr. Jozef Kolář, CSc. (✉)

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta

Katedra sociální a klinické farmacie

Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové

e-mail: kolarjosef02@gmail.com

J. Čižmárik

Univerzita Komenského v Bratislave

Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutickej chémie, SR

**Key words:** biologically active substances • colour measurement • correlation • content determination

#### Úvod

Na souvislost barevnosti organických látek s jejich strukturou bylo poukázáno již nejednou dříve<sup>1)</sup>. Údaje o jejich barevnosti lze získat mimo subjektivní hodnocení měřením založeným na číselném vyjadřování barev v trichromatickém systému<sup>2-4)</sup>. Východiskem k instrumentálnímu měření barevnosti je spektrální propustnost nebo spektrální odraz látek ve viditelné spektrální oblasti. Realizovat ho lze klasickou spektrofotometrií ve viditelné spektrální oblasti a následným výpočtem, častěji ale měřením měřidlem barevnosti a zejména v posledním desetiletí také s využitím obrazové analýzy, přičemž tyto aplikace mají vzestupný trend<sup>5-7)</sup>. Výsledky měření barevnosti lze použít ke zjištění existence a těsnosti závislosti barevnosti látek a jejich koncentrace korelační analýzou. Byly popsány četné korelace některých parametrů z instrumentálního měření barevnosti ve vhodně voleném barevném prostoru a obsahu biologicky aktivních látek v přírodninách a v produktech přírodního původu, stanoveného jinou analytickou metodou. Korelační analýza nevyjadřuje funkční vztah<sup>8)</sup>, analytické využití jejich výsledků proto předpokládá doplnění regresní analýzou ke stanovení vhodného matematického modelu příslušné závislosti. Ta byla v části dále citovaných prací již provedena. Dále výběr vhodného kolorimetrického parametru<sup>2-4)</sup> a kalibrací<sup>9)</sup> jako výchozí předpoklady k rychlému a nezávadnému stanovení obsahu příslušných látek (resp. analýz bez nutnosti větší úpravy vzorku). Většinou se jedná o látky barevné, v některých případech však byly zjištěny korelace barevných charakteristik vzorků s obsahem látek nebarevných, jako je např. glukosa<sup>9)</sup>, kyselina askorbová<sup>10)</sup> či kyselina chlorogenová<sup>11)</sup>. Záměrem našeho příspěvku je poukázat na tyto korelace u biologicky aktivních látek organického původu a jejich skupin se zaměřením na látky lidskému zdraví prospěšné, obsažené v přírodninách a v produktech přírodního původu.

V příspěvku jsou příklady těsnějších korelací s korelačním koeficientem nejméně 0,9 a některých korelací s nižším korelačním koeficientem, pokud byl statisticky významný.

U některých dalších biologicky aktivních látek lze korelovat jejich koncentraci, resp. obsah s parametry z instrumentálního měření barevnosti po chromogenní reakci těchto látek s vhodně voleným činidlem. Tyto aplikace nejsou předmětem příspěvku.

### Korelace výsledků měření barevnosti a obsahu některých biologicky aktivních látek a jejich možné analytické využití

Korelace výsledků instrumentálního měření barevnosti a obsahu biologicky aktivních látek v přírodninách

a v produktech přírodního původu byly pravděpodobně nejčastěji popsány u **karotenoidů**, u kterých byl navíc v barevném prostoru CIELAB<sup>2–4)</sup> podrobněji studován vztah mezi jejich chemickou strukturou a zbarvením<sup>12)</sup>. Některé z těsnějších korelací popsaných ve skupině karotenoidů jsou uvedeny v tabulce 1. Pro případné analytické využití jsou z nich výhodné zejména korelace lineární<sup>8, 23, 24)</sup>.

Mimo tyto korelace byla popsána ve skupině karotenoidů řada méně těsných lineárních a nelineárních korelací. Z nich lze zmínit např. lineární korelaci hodnot souřadnice  $a^*$  a celkového obsahu karotenoidů v pomerančové šťávě (korelační koeficient 0,88)<sup>25)</sup>, lineární korelaci poměru souřadnic  $a^*/b^*$  a obsahu lykopenu v rajčatech (korelační koeficient 0,89)<sup>26)</sup>, li-

Tab. 1. Některé těsnější korelace mezi parametry získanými měřením barevnosti a obsahem karotenoidů v přírodninách a v produktech přírodního původu

Přírodnina nebo produkt	Proměnné	Korelace a korelační koeficient <sup>8)</sup>
panenský olivový olej <sup>13)</sup>	$C_{ab}^*/L^*$ , karotenoidy $b^*$ , karotenoidy	0,9939 0,9851
květ tykve <sup>14)</sup>	$b^*$ nebo $C_{ab}^*$ , karotenoidy $b^*$ , $\beta$ -karoten	nelineární, 0,95 lineární, 0,93
tykev <sup>15)</sup>	$a^*$ , karotenoidy	lineární, 0,91 <sup>a)</sup>
meruňky <sup>16)</sup>	$a^*$ , karotenoidy $a^*$ , $\beta$ -karoten	0,90 <sup>a)</sup> 0,90 <sup>a)</sup>
šťáva z červeného grapefruitu <sup>17)</sup>	$a^*$ , lykopen	lineární, 0,963
rajčata <sup>18)</sup>	$a^*/b^*$ , lykopen ( $a^*/b^*$ ) <sup>2</sup> , lykopen	lineární, 0,94 lineární, 0,95
rajčata <sup>19)</sup>	$a^*/b^*$ , lykopen	lineární, 0,96 <sup>b)</sup> , 0,95 <sup>c)</sup>
rajčatové pyré <sup>20)</sup>	$a^{*2}$ , lykopen $a^{*4}$ , lykopen	0,930 0,972
včelí med <sup>21)</sup>	$x$ , $\beta$ -karoten	lineární, 0,98
citronová kůra <sup>22)</sup>	$a^*$ , lutein	nelineární, -0,903

a) Pearsonův korelační koeficient

b, c) hodnoty získané měřením kolorimetrem a obrazovou analýzou

Tab. 2. Některé těsnější korelace mezi parametry získanými měřením barevnosti a obsahem chlorofylu v přírodninách a v produktech přírodního původu

Přírodnina nebo produkt	Proměnné	Korelace a korelační koeficient <sup>8)</sup>
sušené listy petržele <sup>29)</sup>	$h_{ab}$ , chlorofyl $a+b$ $h_{ab}$ , chlorofyl $a$	lineární, 0,973 lineární, 0,977
listy petržele <sup>30)</sup>	$a^*$ , chlorofyl $a$	-0,98 <sup>a)</sup>
červený špenát <sup>31)</sup>	$b^*$ , chlorofyl	0,984
listy červené řepy <sup>31)</sup>	$b^*$ , chlorofyl	0,996
listy ječmene <sup>32)</sup>	$G$ , chlorofyl $R + G$ , chlorofyl	lineární, -0,922 lineární, -0,931
amaranth a quinoa listy <sup>33)</sup>	$R$ a $G$ , chlorofyl	nelineární, -0,98
soja listy <sup>34)</sup>	$b^*$ , chlorofyl $a$	lineární, -0,90 <sup>a)</sup>
citronová kůra <sup>22)</sup>	$h_{ab}$ , chlorofyl $a^*$ , chlorofyl	nelineární, 0,947 nelineární, -0,931
hlávkový salát <sup>35)</sup>	$G/R$ nebo $G - R$ , chlorofyl	lineární, 0,92

a) Pearsonův korelační koeficient

neární korelaci souřadnice  $b^*$  a obsahu luteinu v rajčatech (Pearsonův korelační koeficient 0,87)<sup>15)</sup>, korelaci souřadnice  $b^*$  a  $\beta$ -karotenu anebo barevného tónu  $h_{ab}$  a lykopenu (Pearsonův korelační koeficient 0,867 a  $-0,895$ ) v cherry rajčatech<sup>27)</sup>. Dále korelace souřadnice  $b^*$  a obsahu  $\beta$ -karotenu,  $\beta$ -kryptoxantinu nebo luteinu + zeaxantinu v pomerančové šťávě (korelační koeficienty 0,643, 0,691,  $-0,655$ )<sup>28)</sup> anebo nelineární korelaci souřadnice  $a^*$  a obsahu  $\beta$ -kryptoxantinu v citronové kůře (korelační koeficient 0,799)<sup>22)</sup>.

Častěji byly popsány také korelace parametrů barevnosti přírodnin anebo produktů přírodního původu a obsahu **chlorofylu**. Některé z těchto korelací jsou uvedeny v tabulce 2.

Mimoto byly popsány méně těsné korelace obsahu chlorofylu s parametry barevnosti přírodnin a produktů přírodního původu, jako korelace poměru  $C_{ab}^*/L^*$  a chlorofylu v panenském olivovém oleji (korelační koeficient 0,8421)<sup>13)</sup>, lineární korelace hodnot chroma  $C_{ab}^*$  a chlorofylu  $b$  v sušených listech petržele (korelační koeficient 0,811)<sup>29)</sup> a další.

U dalších biologicky aktivních organických látek a jejich skupin byly popsány korelace s parametry barevnosti mimo jiné ve skupinách flavonoidů, kurkuminoidů, betalainů a u řady látek mimo tyto skupiny. Některé těsnější z nich jsou uvedeny v tabulce 3.

Z korelací méně těsných byly popsány častěji korelace flavonoidů, a to buď celkových flavonoidů (ve včelím medu s využitím souřadnice  $a^*$  byl korelační koeficient roven 0,86<sup>45)</sup>, v propolisu s hodnotami chroma  $C_{ab}^*$  byl Spearmanův korelační koeficient 0,630<sup>46)</sup>), nebo i jednotlivých flavonoidů (např. luteolin v šafránu, souřadnice  $b^*$ , korelační koeficient

0,835<sup>47)</sup>). Statisticky významné korelace obsahu jednotlivých flavonoidů (luteolin, kvercetin, kaempferol) s hodnotami souřadnic barevného prostoru CIELAB  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  byly popsány v práci<sup>48)</sup> v rámci studia rostliny nevadlec hřeбенitý. Další statisticky významné korelace obsahu flavonoidů, jako jsou baikalin a wogonosid s hodnotami souřadnic  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , byly popsány u kořene šiřáku bajkalského<sup>49)</sup>. Při sledování stability kyanidin-3-glukosidu z malin byla zjištěna korelace mezi jeho obsahem a hodnotami  $b^*$  nebo  $h_{ab}$  s korelačním koeficientem  $> 0,91$ <sup>50)</sup>. Ve studii<sup>51)</sup> bylo korelováno jednotlivě několik různých kolorimetrických parametrů s obsahem celkových anthokyaninů a mimoto jedenácti jednotlivých anthokyaninů a jejich skupin v červeném víně. Vysokých hodnot Pearsonova korelačního koeficientu (u celkových anthokyaninů vždy a u jednotlivých anthokyaninů a jejich skupin většinou  $> 0,9$ ) při přímé závislosti proměnných bylo dosaženo v korelacích s parametry  $a^*$ ,  $C_{ab}^*$  a  $s_{uv}^*$  z barevného prostoru CIELUV. Autoři<sup>52)</sup> sledovali korelace barevných biologicky aktivních látek v květech chryzantém pěstovaných v květináči. Mezi zajímavější z nich patří mimo korelace celkových karotenoidů nebo luteinu či violaxanthinu se souřadnicí  $b^*$  (Pearsonův korelační koeficient 0,881, 0,804 a 0,674) a těsnější korelace celkových anthokyaninů, nebo kyanidin-3-O-(6''-O-malonyl-glukosidu) či kyanidin-3-O-(3'',6''-O-dimalonyl- $\beta$ -glukopyranosidu) s hodnotou souřadnice  $a^*$  (Pearsonův korelační koeficient 0,896, 0,884 a 0,864). V barevném prostoru HSV korelovala sytost barvy  $S$  světlice barvířské s obsahem polyfenolu hydroxysaffrol yellow A, Pearsonův korelační koeficient byl 0,779, při korelaci s hodnotou

Tab. 3. Některé těsnější korelace mezi parametry získanými měřením barevnosti a obsahem dalších biologicky aktivních látek v přírodninách a v produktech přírodního původu

Přírodnina nebo produkt	Proměnné	Korelace a korelační koeficient <sup>a)</sup>
šťáva z pomerančovníku čínského <sup>10)</sup>	$\Delta E^*$ , anthokyaniny	$-0,965^a)$
plody bobkovišně lékařské <sup>36)</sup>	$a^*$ , anthokyaniny $C_{ab}^*$ , anthokyaniny	lineární, $-0,9297$ lineární, $-0,9170$
jahody <sup>37)</sup>	$B$ , anthokyaniny $S$ (HSL), anthokyaniny	lineární, $-0,954^a)$ lineární, $0,947^a)$
kurkuma <sup>38)</sup>	$(R - G)/(R + G + B)$ , kurkuminoidy	lineární, 0,9611
oddenek kurkumy <sup>39)</sup>	$a^*$ , kurkuminoidy	$0,95^a)$
kurkuma <sup>40)</sup>	$G$ , kurkumin	lineární, $-0,9963$
zázvor <sup>41)</sup>	$a^*$ , 6-shogaol $b^*$ , 6-shogaol $L^*$ , 6-shogaol	nelineární, 0,99 lineární, $-0,96$ lineární, $-0,97$
šťáva z červené řepy <sup>42)</sup>	$a^*$ , betalainy $C_{ab}^*$ , betalainy	$-0,9678^a)$ $-0,9672^a)$
laskavec trojbarevný <sup>31)</sup>	$b^*$ , betakyaniny	0,982
extrakt z červené řepy v mikrotobolkách <sup>43)</sup>	$a^*$ , betanin	$0,993^a)$
třezalka (olejové maceráty) <sup>44)</sup>	$a^*$ , hypericin $h_{ab}$ , hypericin	lineární, 0,9981 lineární, $-0,9922$

a) Pearsonův korelační koeficient

$R$  v barevném prostoru RGB byl Pearsonův korelační koeficient 0,758<sup>53</sup>). Pozoruhodně těsné lineární korelace byly zjištěny při studiu sušení listů meduňky lékařské mezi hodnotami některých parametrů barevnosti v barevném prostoru CIELAB a obsahem hydroxyskořicových kyselin jako ekvivalentů kyseliny rozmarýnové (nejlépe souřadnice  $b^*$ , kdy byl korelační koeficient 0,9945)<sup>54</sup>). Obsah kyseliny askorbové ve šťávě z čínské pomerančovníku koreloval podle<sup>10</sup>) s hodnotami chroma  $C_{ab}^*$ , Pearsonův korelační koeficient byl 0,813. Statisticky významné korelace s parametry z instrumentálního měření barevnosti (nejlépe ze zkoušených korelovaly hodnoty  $\Delta E^*$ ) byly dále popsány u alkaloidů obsažených v kořenu oměje Carmichaelova. Spearmanův korelační koeficient pro benzoylhypakonitin, benzoylakonitin, benzoylmesakonin a pro celkový obsah těchto alkaloidů byl 0,634, 0,577, 0,564 a 0,698<sup>55</sup>). Odkazy na některé další korelace obsahu biologicky aktivních látek v přírodních a v produktech přírodního původu s výsledky instrumentálního měření barevnosti lze nalézt v přehledu<sup>56</sup>).

Řadu korelací uvedených v tabulkách 1, 2 a 3 nebo v textu lze využít (a některé z nich již byly využity) k vývoji postupů ke stanovení obsahu příslušných látek. Jako nejvýhodnější z nich se pro tento účel jeví korelace lineární s přímou závislostí proměnných. Při použití kalibrační křivky sice není nutné, aby byla závislost naměřené veličiny na koncentraci stanovované složky lineární, při srovnávání s jedním standardem se ale linearita předpokládá<sup>57</sup>). V obecně rovněž jsou proto preferovány lineární závislosti vedoucí ke kalibrační přímce<sup>8, 23, 24</sup>) a ověřování linearity je v kvantitativní instrumentální analytice součástí validačních schémat<sup>23, 24</sup>). Přesto lze nalézt v odborné literatuře i práce doporučující pro stanovení analytu využití kolorimetrického parametru, jehož závislost na koncentraci lineární obvykle není<sup>58</sup>). Tento kolorimetrický parametr ( $L^*$ ) ale někteří jiní autoři v dané souvislosti odmítají, protože charakterizuje pouze světlost vzorku. Např. v práci<sup>59</sup>) pro stanovení lykopenu preferují před souřadnicí  $L^*$  hodnotu  $(a^*/b^*)^2$  vycházející ze souřadnic barevnosti v barevném prostoru CIELAB. Použití této transformace současně převádí při málo rozdílném korelačním koeficientu nepřímou závislost proměnných, jejíž využití v instrumentální analytice není běžné, na závislost přímou a lineární. Obdobně tomu je v práci<sup>27</sup>) při korelaci obsahu lykopenu s  $h_{ab}$  (Pearsonův korelační koeficient  $-0,895$ ) a se souřadnicí  $a^*$  (Pearsonův korelační koeficient 0,877). V rámci citovaných prací mohou být dalšími příklady převodu nepřímé závislosti proměnných na závislost přímou volbou kolorimetrického parametru korelace obsahu betaninu v mikrotobolkách, kdy s hodnotou  $h_{ab}$  byl Pearsonův korelační koeficient  $-0,918$ , s hodnotou  $a^*$  ale 0,993<sup>43</sup>), tedy kladný a vyšší. Při korelaci obsahu anthokyaninů v jahodách<sup>37</sup>) s hodnotou souřadnice  $B$  byl Pearsonův korelační koeficient  $-0,954$ , s hodnotou parametru

$S$  barevného prostoru HSL 0,947 a při využití hodnot souřadnice  $a^*$  barevného prostoru CIELAB 0,942. U obsahu hypericinu v olejových macerátech z třezalky byl korelační koeficient při jeho korelaci s  $h_{ab}$   $-0,9928$  a 0,9981 při korelaci s hodnotou souřadnice  $a^{*44}$ ). Při korelaci obsahu kyselin hydroxyskořicových v listech meduňky lékařské byl korelační koeficient s hodnotou souřadnice  $a^*$   $-0,9928$ , se souřadnicí  $b^*$  0,9945<sup>54</sup>). V některých případech může linearitu závislosti proměnných zajistit místo změny kolorimetrického parametru korelace poměru souřadnic barevného prostoru CIELAB  $a^*/b^*$  po jeho transformaci na  $(a^*/b^*)^2$ , která vedla při korelaci s obsahem lykopenu v rajčatech k lepším výsledkům<sup>59</sup>). Autoři<sup>19</sup>) v obdobné situaci popsali lineární korelaci obsahu lykopenu s poměrem souřadnic  $a^*/b^*$  bez jeho transformace (korelační koeficient byl 0,95–0,96), přičemž při korelaci s parametry  $h_{ab}$  nebo  $\Delta E^*$  byly závislosti proměnných nelineární a nepřímé. V barevném prostoru RGB se k linearizaci při korelaci obsahu karotenoidů a chlorofylu ve špenátu osvědčilo korelovat místo složek  $G$  a  $R$  jejich převrácené hodnoty  $1/G$  a  $1/R$ <sup>60</sup>). Při korelaci obsahu kurkuminoidů v kurkumě bylo dosaženo v barevném prostoru RGB přímé lineární korelace s korelačním koeficientem 0,9611 použitím poměru  $(R - G)/(R + G + B)$ <sup>38</sup>). Při korelaci obsahu chlorofylu v hlávkovém salátu v barevném prostoru RGB s barevnými složkami  $R$  a  $G$  byly sice korelace lineární, v prvním případě však byla závislost proměnných nepřímá s korelačním koeficientem  $-0,79$ , ve druhém přímá s korelačním koeficientem rovným 0,35. S použitím poměru  $G/R$  však byla korelace lineární, závislost proměnných přímá a hodnota korelačního koeficientu vzrostla na 0,92<sup>35</sup>). K obdobnému výsledku vedla korelace rozdílu  $G - R$ <sup>35</sup>). Korelace součtu hodnot  $G + R$  sice vedla k vysokému korelačnímu koeficientu ( $-0,931$ ), závislost proměnných ale byla nepřímá<sup>32</sup>). Pokud jde o míru využití jednotlivých barevných prostorů, nejčastěji jde o prostory CIELAB a CIELCH a dále o barevný prostor RGB, jehož využívání se zvyšuje v souvislosti s nárůstem využívání obrazové analýzy. Jiné barevné prostory, jako jsou CIELUV, HSV či HSL, byly využívány jen málo.

Z uváděných příkladů a dalších prací je zřejmé, že průběh korelační funkce a hodnotu korelačního koeficientu může často ve značné míře ovlivnit volba a mimoto i případná transformace kolorimetrického parametru. I po těchto krocích ale v řadě případů zůstávají hodnoty korelačního koeficientu dosti vzdáleny těm, které jsou dosahovány při aplikaci běžných metod instrumentální analýzy založených na kalibraci. Přesto je řada publikovaných prací zaměřena analyticky přímo názvem nebo v závěrech či souhrnu zmiňuje možné využití korelací mezi obsahem biologicky aktivních látek v přírodních a v produktech přírodního původu a parametry z instrumentálního měření barevnosti k hodnocení či přímo stanovení obsahu příslušných látek. Týká se to častěji obsahu karotenoidů a v jejich

rámci zejména lykopenu<sup>15, 18–20, 27, 59, 60</sup>, dále chlorofyly<sup>32–35, 60</sup>, kurkuminoidů a kurkuminu<sup>38, 40</sup>, ale i jiných látek, jako např. betalainů<sup>42</sup>.

Údaje o přesnosti a správnosti výsledků kolorimetrických měření vzorků přírodnin a produktů přírodního původu a na nich založených stanovení lze nalézt v publikovaných pracích jen ojedinele. Podle<sup>17</sup>) byla reprodukovatelnost měření kolorimetrických parametrů charakterizována relativní směrodatnou odchylkou < 1 %, jde však pouze o jednu ze složek variability výsledků stanovení příslušných látek touto cestou. V práci<sup>38</sup>) byly porovnány výsledky kolorimetrického stanovení kurkuminoidů s využitím parametrů barevného prostoru RGB s výsledky stanovení spektrofotometrií v ultrafialové oblasti, přičemž nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly. Z výsledků testování postupu stanovení kurkuminu lze jako charakteristiku přesnosti s využitím barevného prostoru RGB a obrazové analýzy vyčíslit relativní směrodatnou odchylku v průměru 0,71 %, což je hodnota příznivá; z výsledků testování stanovení kurkuminu HPLC byla průměrná relativní směrodatná odchylka 1,2 %<sup>40</sup>). Při analýze tří různých vzorků kurkumy ( $n = 5$ ) byl nevážený průměr výsledků stanovení obsahu kurkuminu měřením barevnosti 4,97 %, HPLC 5,33 %<sup>40</sup>) při prakticky shodném odhadu přesnosti výsledků obou metod. V jiných případech může být přesnost a správnost výsledků stanovení obsahu s využitím výsledků měření barevnosti nižší. Většinou ale jde o stanovení rychlá, s nenáročnou přípravou vzorku či dokonce nedestruktivní, takže by neměl být problém zvýšit přesnost a správnost jejich výsledků větším počtem opakování vzhledem ke skutečnosti, že směrodatná odchylka aritmetického průměru několika paralelních stanovení klesá se zvyšováním jejich počtu<sup>57</sup>).

Jinou možnou cestou ke zlepšení přesnosti a správnosti výsledků stanovení obsahu založených na výsledcích měření barevnosti může být zvýšení těsnosti korelace proměnných jako základního předpokladu použitím více než jednoho kolorimetrického parametru ve vícenásobné korelaci a vícenásobné regresi, včetně PLS. Příkladem může být studie<sup>28</sup>), ve které korelace souřadnice  $b^*$  (anebo  $a^*$ ,  $L^*$ ,  $C^*_{ab}$  či  $h_{ab}$ ,  $b^*$  byla nejlepší volbou) a obsahu  $\beta$ -karotenu,  $\beta$ -kryptoxantinu nebo luteinu + zeaxantinu v pomerančové šťávě vedly ke korelačním koeficientům < 0,70, zatímco vícenásobná korelace obsahu těchto látek s  $L^*$ ,  $a^*$  a  $b^*$  nebo s  $L^*$ ,  $C^*_{ab}$  a  $h_{ab}$  vedla ke korelačním koeficientům > 0,98 ( $\beta$ -kryptoxanthin) až > 0,99 ( $\beta$ -karoten a lutein + zeaxanthin). Další zvyšování počtu kolorimetrických parametrů ve vícenásobné regresi ale nemusí přinést výrazné zvýšení korelačního koeficientu. Ukazují to výsledky autorů<sup>53</sup>), kteří korelovali s obsahem účinné látky hodnoty sedmi kolorimetrických parametrů z různých barevných prostorů. Výsledkem bylo zvýšení korelačního koeficientu z 0,794 (nejvyšší hodnota v rámci kolorimetrických parametrů korelovaných jednotlivě) na 0,897.

## Seznam použitých zkratk a symbolů (viz také<sup>2–4</sup>)

$C^*_{ab}$	chroma (měrná čistota) barvy v barevném prostoru CIELCH (CIE $L^* C^* h$ )
CIE	Mezinárodní komise pro osvětlování ( <i>Commission Internationale de l'Éclairage</i> )
CIELAB, CIELCH, CIELUV	barevné prostory CIE bližší lidskému vidění (CIE $L^* a^* b^*$ , CIE $L^* u^* v^*$ )
$h_{ab}$	měrný úhel barevného tónu v barevném prostoru CIELCH
$L^*$ , $a^*$ , $b^*$	souřadnice barevného prostoru CIELAB
PLS	metoda částečných nejmenších čtverců
$R$ , $G$ , $B$	složky barevného prostoru RGB
$S$	syty barvy v barevném prostoru HSL nebo HSV
$s_{uv}^*$	syty barvy v barevném prostoru CIELUV
$X$ , $Y$ , $Z$	trichromatické složky barevného prostoru CIE XYZ
$\Delta E^*$	barevný rozdíl v barevném prostoru CIELAB

**Střet zájmů:** žádný.

## Literatura

1. **Griffiths J.** Colour and constitution of organic molecules. London: Academic Press 1976.
2. **Wyszecki G., Stiles W. S.** Color science: Concepts and methods, quantitative data and formulae. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Wiley 1982.
3. **Berger-Schunn A.** Practical color measurement: A primer for the beginner, a reminder for the expert. New York: Wiley 1994.
4. **Ohta N., Robertson A. R.** Colorimetry: Fundamentals and applications. Chichester: Wiley 2005.
5. **Capitán-Vallvey L. F., Lopez-Ruiz N., Martinez-Olmos A., Erenas M. M., Palma A. J.** Recent developments in computer vision-based analytical chemistry: A tutorial review. Anal. Chim. Acta 2015; 899, 23–56. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.10.009> (2.2.2021).
6. **Schults E. V., Monogarova O. V., Oskolok K. V.** Digital colorimetry: Analytical possibilities and prospects of use. Moscow Univ. Chem. Bull. 2019; 74(2), 55–62. <https://doi.org/10.3103/S002713141902007X> (2.2.2021).
7. **Fan Y., Li J., Guo Y., Xie L., Zhang G.** Digital image colorimetry on smartphone for chemical analysis: A review. Measurement 2021; 171, 108829. <https://doi.org/10.1016/j.measurement.2020.108829> (2.2.2021).
8. **Kružlicová D.** Chemometria. Trnava: Univerzita sv. Cyrila a Metoda 2015.
9. **Yap M., Fernando W. M., Brennan C. S., Jayasena V., Coorey R.** The effects of banana ripeness on quality indices for puree production. LWT 2017; 80, 10–18. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.01.073> (25.2.2021).
10. **Choi M. H., Kim G. H., Lee H. S.** Effects of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (*Citrus sinensis*) juice during refrigerated storage. Food Res. Int. 2002; 35, 753–759. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00071-6](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00071-6) (2.2.2021).

11. **Xiong Y., Xiao X., Yan Y., Zou H., Li J.** Study of the correlation between effective components content and color values of *Lonicera japonica* based on chromatometry. *Chin. Arch. Tradit. Chin. Med.* 2013; 31, 667–670.
12. **Meléndez-Martínez A. J., Britton G., Vicario I. M., Heredia F. J.** Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoid pigments. *Food Chem.* 2007; 101, 1145–1150. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.03.015> (2.2.2021).
13. **Isabel Minguez-Mosquera M., Rejano-Navarro L., Gandul-Rojas B., Sánchez-Gómez A. H., Garrido-Fernandez J.** Color-pigment correlation in virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1991; 68, 332–336. <https://doi.org/10.1007/BF02657688> (9.2.2021).
14. **Seroczyńska A., Korzeniewska A., Sztangret-Wisniewska J., Niemirowicz-Szczytt K., Gajewski M.** Relationship between carotenoids content and flower or fruit flesh colour of winter squash (*Cucurbita maxima* Duch.). *Folia Hortic.* 2006; 18, 51–61.
15. **Itle R. A., Kabelka E. A.** Correlation between L\* a\* b\* color space values and carotenoid content in pumpkins and squash (*Cucurbita* spp.). *HortScience* 2009; 44, 633–637. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.44.3.633> (9.2.2021).
16. **Ruiz D., Reich M., Bureau S., Renard C. M., Auder-gon J. M.** Application of reflectance colorimeter measurements and infrared spectroscopy methods to rapid and nondestructive evaluation of carotenoids content in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *J. Agric. Food Chem.* 2008; 56, 4916–4922. <https://doi.org/10.1021/jf7036032> (9.2.2021).
17. **Lee H. S.** Objective measurement of red grapefruit juice color. *J. Agric. Food Chem.* 2000; 48, 1507–1511. <https://doi.org/10.1021/jf9907236> (9.2.2021).
18. **Arias R., Lee T. C., Logendra L., Janes H.** Correlation of lycopene measured by HPLC with the L\*, a\*, b\* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content. *J. Agric. Food Chem.* 2000; 48, 1697–1702. <https://doi.org/10.1021/jf990974e> (9.2.2021).
19. **Saad A. M., Ibrahim A., El-Biale N.** Internal quality assessment of tomato fruits using image color analysis. *AgricEngInt: CIGR Journal* 2016; 18, 339–352. <http://www.cigrjournal.org> (11.2.2021).
20. **Hyman J. R., Gaus J., Foolad M. R.** A rapid and accurate method for estimating tomato lycopene content by measuring chromaticity values of fruit puree. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 2004; 129, 717–723. <https://doi.org/10.21273/JASHS.129.5.0717> (10.2.2021).
21. **Nikolova K., Gentscheva G., Ivanova E.** Survey of the mineral content and some physico-chemical parameters of Bulgarian bee honeys. *Bulg. Chem. Commun.* 2013; 45, 244–249.
22. **Conesa A., Manera F. C., Brotons J. M., Fernandez-Zapata J. C., Simón I., Simón-Grao S., Alfosa-Simón M., Martínez Nicolás J. J., Valverde J. M., García-Sánchez F.** Changes in the content of chlorophylls and carotenoids in the rind of Fino 49 lemons during maturation and their relationship with parameters from the CIELAB color space. *Sci. Hortic.* 2019; 243, 252–260. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.08.030> (11.2.2021).
23. **Raposo F.** Evaluation of analytical calibration based on least-squares linear regression for instrumental techniques: A tutorial review. *TrAC – Trends Anal. Chem.* 2016; 77, 167–185. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.12.006> (14.2.2021).
24. **Jurado J. M., Alcázar A., Muñoz-Valencia R., Ceballos-Magaña S. G., Raposo F.** Some practical considerations for linearity assessment of calibration curves as function of concentration levels according to the fitness-for-purpose approach. *Talanta* 2017; 172, 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.05.049> (14.2.2021).
25. **Meléndez-Martínez A. J., Gómez-Robledo L., Melgosa M., Vicario I. M., Heredia F. J.** Color of orange juices in relation to their carotenoid contents as assessed from different spectroscopic data. *J. Food Compos. Anal.* 2011; 24, 837–844. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.05.001> (14.2.2021).
26. **Helyes L., Pék Z., Lugasi A.** Tomato fruit quality and content depend on stage of maturity. *HortScience* 2006; 41, 1400–1401. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.41.6.1400> (14.2.2021).
27. **Pandurangaiah S., Sadashiva A. T., Shivashankar K. S., Sudhakar Rao D. V., Ravishankar K. V.** Carotenoid content in cherry tomatoes correlated to the color space values L\*, a\*, b\*: A non-destructive method of estimation. *J. Hort. Sci.* 2020; 15, 27–34. <https://doi.org/10.24154/JHS.2020.v15i01.004> (15.2.2021).
28. **Meléndez-Martínez A. J., Vicario I. M., Heredia F. J.** Application of tristimulus colorimetry to estimate the carotenoids content in ultrafrozen orange juices. *J. Agric. Food Chem.* 2003; 51, 7266–7270. <https://doi.org/10.1021/jf034873z> (14.2.2021).
29. **Berset C., Caniaux P.** Relationship between color evaluation and chlorophyllian pigment content in dried parsley leaves. *J. Food Sci.* 1983; 48, 1854–1857. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1983.tb05100.x> (17.2.2021).
30. **Sledz M., Witrowa-Rajchert D.** Influence of microwave-convective drying of chlorophyll content and colour of herbs. *Acta Agrophysica* 2012; 19, 865–876.
31. **Ali M. B., Khandaker L., Oba S.** Comparative study on functional components, antioxidant activity and color parameters of selected colored leafy vegetables as affected by photoperiods. *J. Food Agric. Environ.* 2009; 7, 392–398.
32. **Hu H., Liu H. Q., Zhang H., Zhu J. H., Yao X. G., Zhang X. B., Zheng K. F.** Assessment of chlorophyll content based on image color analysis, comparison with SPAD-502. In: 2<sup>nd</sup> International conference on information engineering and computer science. Wuhan: 2010, 1–3. doi: 10.1109/ICIECS.2010.5678413 (20.2.2020).
33. **Riccardi M., Mele G., Pulvento C., Lavini A., d'Andria R., Jacobsen S. E.** Non-destructive evaluation of chlorophyll content in quinoa and amaranth leaves by simple and multiple regression analysis of RGB image com-

- ponents. *Photosynth. Res.* 2014; 120, 263–272. <https://doi.org/10.1007/s11120-014-9970-2> (21.2.2021).
34. **Rigon J. P. G., Capuani S., Fernandes D. M., Guimarães T. M.** A novel method for the estimation of soybean chlorophyll content using a smartphone and image analysis. *Photosynthetica* 2016; 54, 559–566. <https://doi.org/10.1007/s11099-016-0214-x> (21.2.2021).
  35. **Ibrahim N. U. A., Abd Aziz S., Jamaludin D., Harith H. H.** Development of smartphone-based imaging techniques for the estimation of chlorophyll content in lettuce leaves. *Food Res.* 2021; 5(Suppl 1), 33–38. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.5\(S1\).036](https://doi.org/10.26656/fr.2017.5(S1).036) (21.2.2021).
  36. **Kasim R., Suuml M., Kasim M. U.** Relationship between total anthocyanin level and colour of natural cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.) fruits. *Afr. J. Plant Sci.* 2011; 5, 323–328. <http://www.academicjournals.org/ajps> (26.2.2021).
  37. **Yoshioka Y., Nakayama M., Noguchi Y., Horie H.** Use of image analysis to estimate anthocyanin and UV-excited fluorescent phenolic compound levels in strawberry fruit. *Breeding Sci.* 2013; 63, 211–217. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.63.211> (27.2.2021).
  38. **Supannarach S.** The study of using picture to measure the curcuminoids amount in turmeric (*Curcuma longa* Linn.) by comparing with ratio of RGB colors. In: Proceedings of the 51<sup>st</sup> Kasetsart University Annual Conference. Bangkok: Kasetsart University 2013 (27.2.2021).
  39. **Pal K., Chowdhury S., Dutta S. K., Chakraborty S., Chakraborty M., Pandit G. K., Dutta S., Paul P. K., Choudhury A., Majumder B., Sahana N., Mandal S.** Analysis of rhizome colour content, bioactive compound profiling and ex-situ conservation of turmeric genotypes (*Curcuma longa* L.) from sub-Himalayan terai region of India. *Ind. Crops Prod.* 2020; 150, 112401. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112401> (27.2.2021).
  40. **Wongthanyakram J., Harfield A., Masawat P.** A smart device-based digital image colorimetry for immediate and simultaneous determination of curcumin in turmeric. *Comput. Electron. Agric.* 2019; 166, 104981. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2019.104981> (27.2.2021).
  41. **Doui M., Mikage M.** The relationship between the color value and pungent compound contents of ginger subjected to heating, soaking in hot water, or steaming. *J. Trad. Med.* 2012; 29, 115–123. <https://doi.org/10.11339/jtm.29.115> (28.2.2021).
  42. **Prieto-Santiago V., Cavia M. M., Alonso-Torre S. R., Carrillo C.** Relationship between color and betalain content in different thermally treated beetroot products. *J. Food Sci. Technol.* 2020; 57, 3305–3313. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04363-z> (28.2.2021).
  43. **Antigo J. L. D., Bergamasco R. D. C., Madrona G. S.** Effect of pH on the stability of red beet extract (*Beta vulgaris* L.) microcapsules produced by spray drying or freeze drying. *Food Sci. Technol.* 2018; 38, 72–77. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.34316> (28.2.2021).
  44. **Heinrich M., Daniels R., Stintzing F. C., Kammerer D. R.** Comprehensive phytochemical characterization of St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) oil macerates obtained by different extraction protocols via analytical tools applicable in routine control. *Pharmazie* 2017; 72, 131–138. <https://doi.org/10.1691/ph.2017.6749> (28.2.2021).
  45. **Al-Dabbas M. M., Otoom H. A., Al-Antary T. M.** Impact of honey color from Jordanian flora on total phenolic and flavonoids content and antioxidant activity. *Frese-nius Environ. Bull.* 2019; 28, 6898–6907.
  46. **Falcão S. I., Freire C., Vilas-Boas M.** A proposal for physicochemical standards and antioxidant activity of Portuguese propolis. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2013; 90, 1729–1741. <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2324-y> (1.3.2021).
  47. **Anuar N., Taha R. M., Mahmud N., Mohajer S., Musa S. A. N. I. C., Abidin Z. H. Z.** Correlation of colour, antioxidant capacity and phytochemical diversity of imported saffron by principal components analysis. *Pigment Resin Technol.* 2017; 46, 107–114. <https://doi.org/10.1108/PRT-09-2015-0091> (1.3.2021).
  48. **Guo S., Li Q., He W. W., Kang T. G.** Correlation between effective components and powder color of *Celosia cristata* flos. *Chin. J. Exp. Tradit. Med. Form.* 2016; 24, 014. Abstract: [https://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTotal-ZSFX201624014.htm](https://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotal-ZSFX201624014.htm) (25.2.2021).
  49. **Chai C. C., Mao M., Yuan J. F., Peng S. T., Wang J. Y., Liu N., Wei J., Li X. X., Zhang K., Li F.** Correlation between color of *Scutellariae radix* pieces and content of five flavonoids after softening and cutting by different methods. *China J. Chin. Mater. Med.* 2019; 44, 4467–4475. Abstract: doi: 10.19540/j.cnki.cjcm.20190630.306. (2.3.2021).
  50. **Zhang Y., Hu X. S., Chen F., Wu J. H., Liao X. J., Wang Z. F.** Stability and colour characteristics of PEF-treated cyanidin-3-glucoside during storage. *Food Chem.* 2008; 106, 669–676. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.030> (8.3.2021).
  51. **García-Marino M., Hernández-Hierro J. M., Rivas-Gonzalo J. C., Escribano-Bailón M. T.** Colour and pigment composition of red wines obtained from co-maceration of Tempranillo and Graciano varieties. *Anal. Chim. Acta* 2010; 660, 134–142. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.10.055> (31.3.2021).
  52. **Lu C., Li Y., Wang J., Qu J., Chen Y., Chen X., Huang H., Dai S.** Flower color classification and correlation between color space values with pigments in potted multiflora chrysanthemum. *Sci. Hortic.* 2021; 283, 110082. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110082> (12.3.2021).
  53. **Xu M., Du C., Zhang N., Shi X., Wu Z., Qiao Y.** Color spaces of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) for quality assessment. *J. Tradit. Chin. Med. Sci.* 2016; 3, 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.jtcms.2016.11.004> (2.3.2021).
  54. **Argyropoulos D., Müller J.** Kinetics of change in colour and rosmarinic acid equivalents during convective drying of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants* 2014; 1(1), e15–e22. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2013.12.001> (7.3.2021).
  55. **Li R. Q., Wu C., Xu L., Ma Y. C., Chen Y., Chao Z. M.** Correlation between color and contents of chemical

- constituents in *Aconiti lateralis radix praeparata*. *Chin. J. Pharm. Anal.* 2019; 39, 1315–1322. doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.07.20 (2.3.2021).
56. **He X. F., Wang L. L., Zhang J.** Application of color analysis method in the field of medical research based on chromaticity. *Chin. J. Pharm. Anal.* 2018; 38, 1471–1475. <http://dx.doi.org/10.16155/j.0254-1793.2018.09.01> (4.3.2021).
57. **Eckslager K., Horsák I., Kodejš Z.** Vyhodnocování analytických výsledků a metod. Praha: SNTL – Nakladatelství technické literatury 1980.
58. **Kumpanenko I. V., Roshchin A. V., Ivanova N. A., Bloshenko A. V., Shalynina N. A., Korneeva T. N.** Colorimetry: Choice of colorimetric parameters for chromophore concentration measurements. *Russ. J. Gen. Chem.* 2014; 84, 2295–2304. <https://doi.org/10.1134/S1070363214110498> (2.2.2021).
59. **Ye X., Izawa T., Zhang S.** Rapid determination of lycopene content and fruit grading in tomatoes using a smart device camera. *Cogent Eng.* 2018; 5, 1504499. <https://doi.org/10.1080/23311916.2018.1504499> (21.3.2021).
60. **Agarwal A., Dongre P. K., Gupta S. D.** Smartphone-assisted real-time estimation of chlorophyll and carotenoid contents in spinach following the inversion of red and green color features. *bioRxiv.* 2021; <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.03.06.434237v1.full.pdf> (21.3.2021).