



## Spektrofotometrijsko određivanje boje

|| M. Mihoci \*

Hebe d. o. o.  
Ul. Vlahe Bukovca 2  
21 000 Split

### Uvod

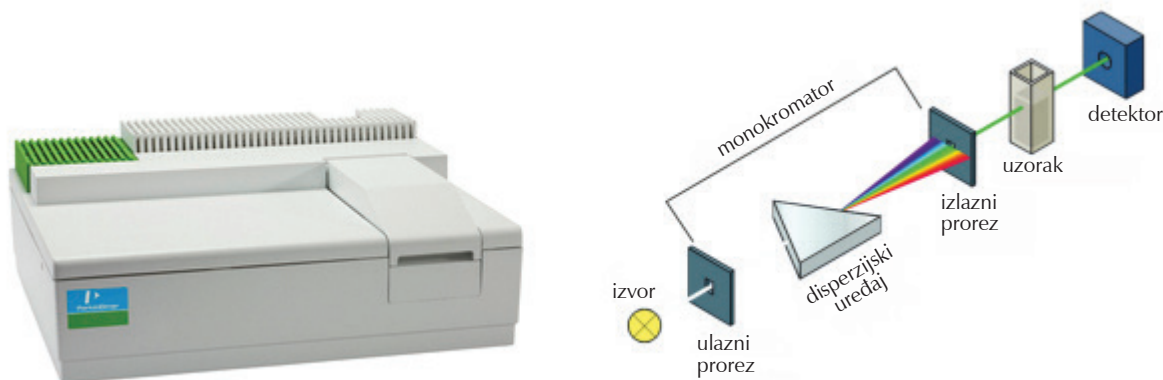
U posljednje vrijeme sveopćom implementacijom računala i razvojem tehnologije, spektrofotometrija je postala neizostavna tehnika za brojne analize. Ultraljubičasta (UV) i vidljiva apsorpcijska (VIS) spektroskopija primjenjuje se za kvantitativnu, ali i za kvalitativnu analizu. To je najčešće primjenjivana metoda u kemijskim i kliničkim laboratorijima svijeta od bilo kojeg drugog pojedinačnog postupka. Temelji se na ovisnosti energije zračenja i kemijskog sastava tvari. Za određivanje u UV, Vis i IR dijelu spektra upotrebljavaju se instrumenti – spektrofotometri. Najvažniji dijelovi instrumenta koji se primjenjuju u apsorpcijskoj spektrofotometriji jesu: izvor svjetlosti, monokromator, kivete i držači za kivete, uređaj za mjerenje intenziteta propuštene svjetlosti (detektor).

U spektrofotometriji za vidljivi dio spektra najčešće se upotrebljava lampa s volframovom niti, dok se za ultraljubičasti dio spektra upotrebljava deuterijeva lampa. Spektrofotometar je uređaj koji mjeri promjene u refleksiji, transmisiji ili zračenju, u intervalima, duž valnih duljina vidljivog dijela spektra. Kao rezultat mjerenja faktora refleksije ili transmisije u pojedinim valnim područjima (intervalima) dobiva se spektrofotometrijska krivulja. Prilikom određivanja boja najčešće se primjenjuju spektrofotometrijske krivulje u valnom području od 400 nm do 700 nm.

### Teorijski dio određivanja boja

Nastanak i doživljaj boje ovisi o spektralnom sastavu svjetla koje pada na promatrani predmet, molekularnoj strukturi materijala s kojeg se svjetlo reflektira ili propušta te čovjekovim osjetom boje putem vidnog sustava i mozga. Također vrlo je bitno da svaka instrumentalna metoda koja je široko primjenjiva uzme u obzir ove navedene čimbenike. Instrumentalne metode za određivanje boje pružaju objektivne podatke, a ne subjektivni doživljaj te uz odgovarajuće održavanje i umjeravanje daju vrlo precizne i točne rezultate. Temelj bilo kojeg instrumentalnog određivanja je ljudsko oko koje detektira boju putem "receptora". U mrežnici se nalaze dvije vrste receptora (fotoosjetljivih stanica) koji su živcima povezani s mozgom, a to su štapići (omogućuju osjet svjetline) i čunjići (omogućuju osjet boje). Tri različite vrste čunjića L, M i S percipiraju primarne boje koje se definiraju kao crvena, zelena i plava. Kombinacijom tih primarnih boja u ljudskom mozgu nastaju ostale boje.<sup>1</sup> L čunjići su osjetljivi na veće valne duljine (crveni dio spektra), M su osjetljivi na srednje valne duljine (zeleni dio spektra) i S čunjići na manje valne duljine (plavi dio). Svjetlost svih valnih duljina pretvara se u tri signala, po jedan za svaki tip čunjića. Taj princip trikromatičnosti je osnova kolorimetrije. Trikromatičnost je važna jer su odzivi pojednostavljeni u tri signala, pa bi različite spektralne kombinacije mogle dati percepciju jednake boje. Ta se pojava naziva metamerizam i znači da ljudsko oko ne može vidjeti razliku između uzoraka različitih spektralnih svojstava. Činjenica da se osjetljivosti čunjića preklapaju, znači da integrirana svjetlost ne stimulira pojedinačno jednu vrstu čunjića, već sve njih u različitim omjerima, a rezultat stimulacije su različite nijanse boja.<sup>2</sup>

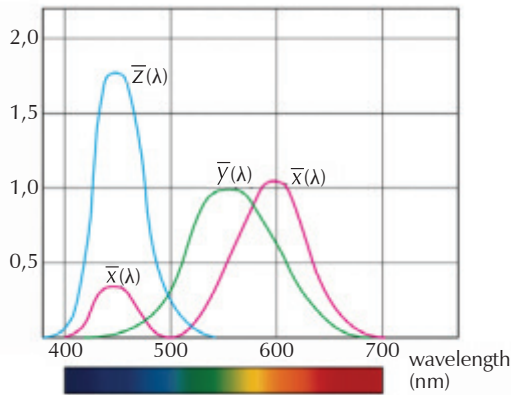
Boja je psihofizičko svojstvo, što znači da će isti uzorak pod jednakim osvjetljenjem dva različita promatrača percipirati drugačije ili čak isti promatrač, ali u različitim dijelovima dana.<sup>3</sup> Iz tog razloga, potrebno je eliminirati tu promjenjivost kako bi se opisala boja. Osjetljivost čunjića je za svaku boju drugačija. No, u slučaju da se nađe prosjek kako promatrači s normalnim vidom



Slika 1 – Spektrofotometar PerkinElmer Lambda 25 UV/VIS i princip spektrofotometrije (izvor: PerkinElmer)

\* Marijana Mihoci, mag.chem.  
e-pošta: marijana.mihoci@hebe.hr

vide boju, moglo bi se govoriti o standardnom promatraču. To je učinila Internacionalna komisija za rasvjetu CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) dvadesetih godina prošlog stoljeća, definirajući 1931. godine standardnog promatrača.<sup>4</sup>



Slika 2 – CIE 1931 – standardni promatrač (tristimulusne vrijednosti spektralnih boja)

Refleksija ili transmitancija mjere se u intervalima svakih 10 nm na području od 400 do 700 nm. Rezultat se izražava kao postotak, čiji maksimum iznosi 100 %. Vrijednosti tristimulusa, XYZ, dane su sljedećim jednadžbama:

$$X = \sum_{380}^{770} \rho_{\lambda} \bar{x}_{\lambda} P_{\lambda} \Delta\lambda / Y \quad (1)$$

$$X = \sum_{380}^{770} \rho_{\lambda} \bar{y}_{\lambda} P_{\lambda} \Delta\lambda / Y' \quad (2)$$

$$X = \sum_{380}^{770} \rho_{\lambda} \bar{z}_{\lambda} P_{\lambda} \Delta\lambda / Y' \quad (3)$$

$$Y' = \sum_{380}^{770} \bar{y}_{\lambda} P_{\lambda} \Delta\lambda, \rho_{\lambda} \quad (4)$$

pri čemu je spektralna refleksija uzorka označena s  $\lambda P\lambda$ ,  $\lambda P\lambda$ ,  $\lambda P\lambda$  su poznate vrijednosti povezane sa standardnim izvorom svjetlosti (D65), a  $\Delta\lambda$  je izražena u nm.

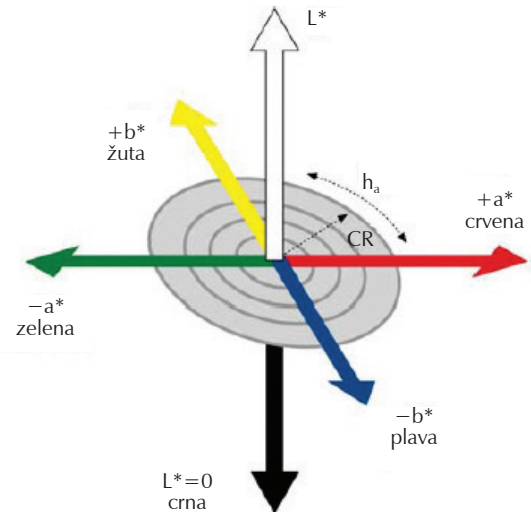
Dakle, kako čovjekovo oko vidi, boju ovisi o stimulaciji receptora za crvenu, zelenu i plavu komponentu, pa su zato potrebne tri vrijednosti kako bi se opisale sve moguće boje. Ako zamislimo da su primarne boje na osima trodimenzionalnog sustava, dobili smo sustav boja. Stručnjaci su razvili mnoge sustave boja, a svaki ima svoje prednosti i mane. Ključni sustavi su međunarodno standardizirani, pa se primjenjuju u industrijskoj proizvodnji. Najraširenija je primjena XYZ i CIE  $L^*a^*b^*$  sustava boja. U XYZ sustavu boja primjenjuju se X, Y i Z oznake za komponente boje, pri čemu X i Y oznaka označavaju koordinate boje, a Z svjetlinu. Položaj boje unutar prostora boja može se definirati precizno primjenjujući ove tri koordinate. No iz kromatskog dijagrama nije moguće odrediti koliko se boje razlikuju jer prostor boja nije percepcijski jednoličan. Iz tog razloga bilo je potrebno razviti prostore boja s ujednačenim percepcijskim razmacima.<sup>3,4</sup>

CIE  $L^*a^*b^*$  prostor boja zasnovan je na suprotnoj teoriji boja. Funkcija svjetline  $L^*$  daje skalu neutralne boje od crne do bijele (od 0 do 100 jedinica svjetline), a kromatičnost boje definira se u odnosu na neutralnu os koja ima vrijednost 0 kromatičnosti. CIE  $a^*$  je koordinata za crvenu-zelenu, a CIE  $b^*$  za žutu-plavu. CIE  $L^*a^*b^*$  svoju primjenu nalazi u formuli boja, procesnoj kontroli i kontroli kvalitete. Svaka boja definira se svjetlinom i kromatičnošću s tri točke na svakoj osi. Kako bi se došlo do CIE  $L^*a^*b^*$  prostora boja, potrebna je računaska operacija primjenjujući XYZ vrijednosti za objekt i bijelu točku izvora svjetlosti  $X_o, Y_o, Z_o$ .<sup>4,5</sup>

$$L^* = 116 (Y / Y_o)^{1/3} - 16 \quad (5)$$

$$a^* = 500 \left[ (X / X_o)^{1/3} - (Y / Y_o)^{1/3} \right] \quad (6)$$

$$b^* = 200 \left[ (Y / Y_o)^{1/3} - (Z / Z_o)^{1/3} \right] \quad (7)$$



Slika 3 – CIE  $L^*a^*b^*$  prostor boja (Izvor: CIE LAB – Color Models-Technical Guides)

Suvremeni spektrofotometri sadrže informacije o CIE standardnom promatraču, krivuljama spektralne emisije za mnoge standardne izvore svjetla i mikroročunalo za izračunavanje CIE tristimulusnih vrijednosti. Na temelju CIE koordinata koje se mogu izračunati za boje pod različitim izvorima svjetla, može se odrediti boja.<sup>6</sup>

## Eksperimentalni dio

PerkinElmer spektrofotometri serije Lambda 25, 35 i 45 pravi su dvoznačni UV/VIS spektrofotometri koji omogućuju mjerenje u transmisiji, refleksiji ili zračenju, u intervalima, duž valnih duljina vidljivog dijela spektra, pri čemu se dobije spektrofotometrijska krivulja. Uz odgovarajuću programsku podršku UVWinLab omogućena je nadogradnja s programskom podrškom ASSP<sup>7</sup> koji predstavlja naprednu aplikaciju računanja baziranu na sustavu Windows kroz šest aplikacijskih modula (Aritmetičko, Boja, Filter, Arhitektonsko staklo, Zaštitno staklo i Baza podataka spektra) sukladno važećim normama. Snažan programski paket ASSP<sup>7</sup> uključuje module za određivanje boje prema CIE  $L^*a^*b^*$ , XYZ Tristimulus, Yxy Chromaticity, Hunter  $L^*a^*b^*$  i drugim organizacijama za standardizaciju. Također, uključuje jednostavan korisnički odabir izvora svjetlosti, sustava boja te postupak računanja i određivanja boja prema ASTM, CIE, AATCC ili DIN normama.

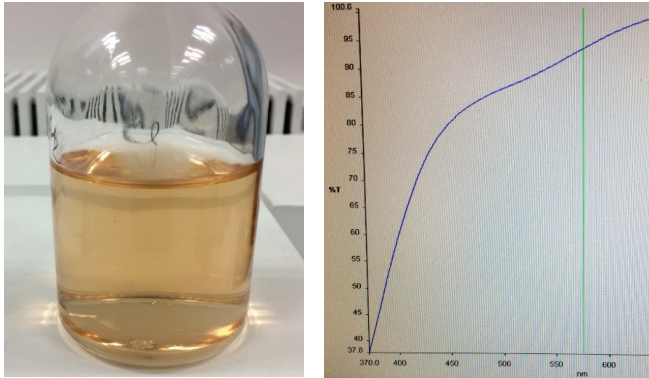
Postupak mjerenja vrlo je jednostavan. Snimljen je obojeni uzorak prikazan na slici 4a, pri čemu su dobiveni sljedeći podaci:

Illuminant : D65  
Observer : 10° CIE Year : 1864

CIE  $L^*, a^*, b^*$

$L^*$  : 96,40  $a^*$  : 1,12  $b^*$  : 8,53  
Cab\* : 8,60 hab\* : 82,52

pomoću kojih je program samostalno izračunao i odredio koordinate na temelju kojih je određena boja uzorka.



Slika 4 – a) uzorak kojem smo određivali boju  
b) spektrofotometrijska krivulja uzorka

## Zaključak

Boja se ne može mjeriti! Boja nije svojstvo fizičkog svijeta, već psihički doživljaj izazvan fizičkim podražajem (stimulusom). Ono što se zapravo mjeri je taj stimulus, tj. svjetlo koje je ušlo u promatračevo oko i u njegovom mozgu proizvelo doživljaj boje.

Programska podrška ASSP predstavlja programsko rješenje Perki-

Elmera za određivanje boja koje ubrzava sam proces izračuna. Upravo ovakve aplikacije predstavljaju budućnost u tekstilno-tehnološkoj i grafičkoj industriji te farmaceutici, pri čemu točnost i preciznost rezultata, uz brzinu same analize, zadovoljavaju određene norme. Povezivanjem rezultata mjernih (objektivnih) i vizualnih (subjektivnih) analiza omogućuje se točno određivanje boja, ali i definiranje kriterija kvalitete s kojom će se na osnovi daljnjih istraživanja moći postaviti kriteriji za postizanje još većeg razvoja kvalitete i reprodukcije proizvoda.

## Literatura

1. R. S. Berns, Principles of Color Technology. John Wiley&Sons, USA, 2000.
2. H. De Ridder, Naturalness and Image Quality: Hue, Saturation and Lightness Variation in Color Images of Natural Scenes, Conf. Proc. Aic Color Kyoto Jpn. 1997, p. 97.
3. ISO 3664 Graphic technology and photography – Viewing conditions.
4. R. W. G. Hunt, Measuring Colour. England: Ellis Horwood Limited, 1991.
5. T. Jakobsson, S. S. Bergstrom, K. A. Gustavsson, S. Lindberg, Human Sensitivity to Colour Shifts in Prints. Adv. Print Sci Technol. Pira Int Uk, 1998.
6. M. Stgar Kurečić, Osnove u boji, Kontrola boja – od percepcije do mjerenja.
7. PerkinElmer – Advanced SPECTROSCOPY Software Package (ASSP) for UVWinlab.

## HEBE d. o. o.

Tvrtka HEBE d. o. o. osnovana je 1991. godine u Splitu, a specijalizirana je za laboratorijsku opremu i usluge renomiranih tvrtki od kojih izdvajamo: PerkinElmer For The Better, Sciex, Thermo Scientific, Berghof, Beckman Coulter, Grace Materials Technologies, Peak Scientific i Spex Sample Prep. Kako bi se osigurala maksimalna djelotvornost u stvaranju i interpretaciji kemijskih informacija, nudi se izrazito širok asortiman proizvoda i instrumenata za kemijsku analizu uključujući atomsku apsorpcijsku spektrometriju (AAS), induktivno spregnutu plazmu s optičko emisijском spektrometrijom (ICP-OES), induktivno spregnutu plazmu s masenim detektorom (ICP-MS), decidirane živine analizatore (liquid i solid), mikrovalne sustave pripreme uzoraka, tekućinsku kromatografiju (HPLC, UPLC), plinsku kromatografiju (GC), masenu spektrometriju (GC-MS i LC-MS), Head Space i Thermal Desorber sampler, FT-IR/NIR spektrometriju, FT-IR mikroskopiju, hipernacijske sustave (TGA-MS, TGA-IR, TGA-IR-GC/MS, TGA-GC/MS), UV/Vis spektrofotometriju, spektrofotometriju, termalnu (TEA) i elementarnu analizu (EA), kao i veliku ponudu raznih kromatografskih kolona i standarda te originalne rezervne dijelove i potrošni materijal za sve instrumente.

Osim proizvoda za kemijsku analizu PerkinElmer nudi širok asortiman instrumentacije i na području biologije, molekularne biologije i genetičke dijagnostike koji uključuje robotske sustave za pripremu uzoraka, scintilacijske brojače, univerzalne čitače mikrotitarskih pločica i konfokalne mikroskope.

Dugogodišnje iskustvo, povjerenje, kvaliteta, stručna i servisna podrška vrijednosti su koje Vam jamčimo.

PerkinElmer je 19. listopada 2015. godine održao svoj prvi INTour u Hrvatskoj čiji je domaćin upravo Hebe d. o. o. kao ovlaštenu distributer. Radi se o informativnim danima koji obogaćuju dosad stečeno znanje te omogućuju educiranje o novim aplikacijama i tehnologijama vezanim uz područje okoliša, hrane, forenzike i farmaceutike. Tijekom posljednjih nekoliko godina INTour je ugostio više od 2500 znanstvenika diljem svijeta, koji su svojim znanjem i iskustvom pružili razumijevanje najnovijih dostignuća u znanstvenim aplikacijama i instrumentaciji.

INTour je svoj program započeo predstavljanjem najnovijih inovacija u PerkinElmeru. Nakon toga uslijedile su prezentacije koje su bile fokusirane na specifična područja primjene kao što su okoliš, gdje je bilo dosta riječi o primjeni ICP-MS-a, kao optimalnom rješenju za sve analize, zatim industriji hrane, forenzike i farmaceutike, gdje je pripremljen niz zanimljivih izlaganja koja omogućuju upoznavanje širokog asortimana PerkinElmer ponude (kromatografija, masena spektrometrija, termalna analiza, molekularna spektroskopija) te njihovu primjenu za dobivanje najboljeg rješenja prilikom analiza. Sve teme pružile su izvanrednu priliku za edukaciju o upotrebi instrumentacije i tehnologije u pojedinim segmentima rada. Program je završio poslovnim druženjem.