



**MASARYKOVA
UNIVERZITA
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
ÚSTAV CHEMIE**



ROSTLINNÁ BARVIVA

Bakalářská práce

Veronika Podešvová

Vedoucí práce: Mgr. Jaromír Literák, Ph.D.

Brno 2017

Bibliografický záznam

Autor:	Veronika Podešvová Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita Ústav chemie
Název práce:	Rostlinná barviva
Studijní program:	Chemie
Studijní obor:	Chemie se zaměřením na vzdělávání Biologie se zaměřením na vzdělávání
Vedoucí práce:	Mgr. Jaromír Literák, Ph.D.
Akademický rok:	2016/2017
Počet stran:	50 + 9
Klíčová slova:	rostlinná barviva; barva; chlorofyly; karotenoidy; anthokyany; experimenty s rostlinnými barvivy

Bibliographic Entry

Author Veronika Podešvová
Faculty of Science, Masaryk University
Department of chemistry

Title of Thesis: Plant pigments

Degree programme: Chemistry

Field of Study: Chemistry Education
Biology Education

Supervisor: Mgr. Jaromír Literák, Ph.D.

Academic Year: 2016/2017

Number of Pages: 50 + 9

Keywords: plant pigments; colour; chlorophylls; carotenoids;
anthocyanins; experiments with plant pigments

Abstrakt

Rostlinná barviva jsou velmi zajímavou, ale také náročnou kapitolou v učebnicích biologie či chemie na středních školách. Cílem teoretické části této bakalářské práce bylo provést rešerši vědeckých a didaktických článků a zpracovat přehledný text, který přibližuje téma rostlinných barviv především učitelům a může jim pomáhat při výuce. V experimentální části byly shromážděny nenáročné experimenty s rostlinnými barvivy, které byly následně vyzkoušeny a přizpůsobeny, aby mohly být studenty bezpečně provedeny v laboratorní výuce. Jeden z pokusů byl s dětmi vyzkoušen v projektu MjUNI, který je pořádán Masarykovou univerzitou. Bakalářská práce také obsahuje pracovní listy, které napomáhají studentům při provádění pokusů a testují znalosti, které získali.

Abstract

Plant pigments are a highly interesting yet challenging topic in textbooks used in high schools. The main goal, of the theoretical section inside this bachelor's thesis, was to carry out the search of scientific and didactic articles and to elaborate a comprehensive text, which would bring the topic of plant dyes closer to high school teachers, possibly aid them with their teaching of the mentioned subject. On the other hand, the diploma's practical section gathers several experiments, which were afterwards tested and also adapted for students in order to be carried out in laboratory classes safely. One of the experiments was tried during the project MjUNI arranged by Masaryk university. Overall the thesis also contains several handouts, ment to help students with the experiments as well to test their newly gained knowledge.



MASARYKOVA UNIVERZITA
Přírodovědecká fakulta

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Akademický rok: 2016/2017

Ústav: Ústav chemie
Studentka: Veronika Podešvová
Program: Chemie
Obor: Chemie se zaměřením na vzdělávání
Biologie se zaměřením na vzdělávání

Ředitel Ústavu chemie PĚF MU Vám ve smyslu Studijního a zkušebního řádu MU určuje bakalářskou práci s názvem:

Název práce: Rostlinná barviva

Název práce anglicky: Plant pigments

Oficiální zadání:

Studentka provede rešerši v didaktické literatuře (*Journal of Chemical Education*, *Chemistry Education Research and Practice*, webové stránky věnované výuce chemie a dalších přírodních věd) na téma rostlinná barviva. Úkolem studentky bude následně zpracovat přehledný didaktický text věnovaný chemické povaze rostlinných barviv, jejich funkci a využití člověkem a doplnit tento text o návody na experimenty s rostlinnými barvivy, které lze využít ve výuce chemie nebo v zájmových kroužcích. Úkolem studentky bude návody prakticky vyzkoušet a případně přizpůsobit.

Literatura:

ŠULCOVÁ, Renata a Dana PISOVÁ. *Přírodovědné projekty pro gymnázia a střední školy*. Vyd. 1. Praha: Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, 2008. 146 s. ISBN 9788086561660.

KOMENSKÝ, Jan Amos. *Schola ludus (Obsaž.) : Veškerých Spisů Jana Amose Komenského. Svazek IX.*

ŠULCOVÁ, Renata, Hana BŮHMOVÁ a Eva STRATILOVÁ URVÁLKOVÁ. *Zajímavé experimenty z chemie kolem nás*. Vyd. 1. Praha: Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, 2009. 47 s. ISBN 9788086561431.

Jazyk závěrečné práce: čeština

Vedoucí práce: Mgr. Jaromír Literák, Ph.D.

Datum zadání práce: 20. 5. 2016

V Brně dne: 5. 12. 2016

Souhlasím se zadáním (podpis, datum):

Veronika Podešvová
studentka

Mgr. Jaromír Literák, Ph.D.
vedoucí práce

doc. Mgr. Marek Nečas, Ph.D.
zástupce ředitele Ústavu chemie
pro pedagogické záležitosti

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala Mgr. Jaromíru Literákovi, Ph.D. za cenné rady, věcné připomínky, vstřícnost při konzultacích a vypracování bakalářské práce a za možnost účastnit se projektu MjUNI. Dále bych chtěla poděkovat také rodině a přátelům, kteří mě po celou dobu studia podporují a při psaní bakalářské práce mi byli velkou oporou.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svoji bakalářskou práci vypracovala samostatně s využitím informačních zdrojů, které jsou v práci citovány.

Brno 22. května 2017

.....
Veronika Podešvová

OBSAH

I	Teoretická část.....	9
1	Úvod.....	9
2	Barva a světlo.....	9
2.1	Vznik barvy.....	9
2.2	Komplementarita barev.....	10
2.3	Chemická podstata vzniku barvy.....	11
3	Klasifikace rostlinných barviv.....	12
4	Vybraná barviva.....	12
4.1	Chlorofyly.....	13
4.1.1	Charakteristika.....	13
4.1.2	Chemická struktura.....	13
4.1.3	Vlastnosti a reakce.....	15
4.1.4	Využití.....	15
4.2	Karotenoidy.....	16
4.2.1	Charakteristika.....	16
4.2.2	Chemická struktura.....	16
4.2.2.1	Karoteny.....	16
4.2.2.2	Xanthofyly.....	18
4.2.3	Vlastnosti a reakce.....	19
4.2.4	Využití.....	19
4.3	Flavonoidy.....	20
4.3.1	Charakteristika.....	20
4.3.2	Anthokyany.....	21
4.3.2.1	Charakteristika.....	21
4.3.2.2	Chemická struktura.....	21
4.3.2.3	Vlastnosti a reakce.....	23
4.3.2.4	Použití.....	24
5	Rostlinná barviva v potravinách.....	25
5.1	E kódy.....	25
6	Použité chemické metody při experimentech s rostlinnými barvivy.....	26
6.1	Extrakce.....	26

6.2	Tenkvrstvá chromatografie	27
6.3	Spektrofotometrie.....	27
II	Experimentální část	28
1	Úvod	28
2	Výroba barevné limonády	28
3	Červená rostlinná barviva jako indikátory pH	31
3.1	Změna barvy květů po vystavení páram NH_3	33
4	Rozdělení a identifikace rostlinných barviv s využitím tenkvrstvé chromatografie a spektrofotometrie.....	34
5	Duha z rajčatové šťávy.....	42
6	Důkaz přítomnosti anthokyanů v lentilkách.....	44
III	Závěr.....	45
IV	Zdroje	46
1	Literatura	46
2	Elektronické zdroje.....	48
3	Zdroje obrázků	49
V	Seznam příloh.....	50

I TEORETICKÁ ČÁST

1 ÚVOD

Rostlinná barviva jsou barevné látky organického původu, které mají velký význam v biosféře. Většina z nich hraje velmi důležitou roli v mnoha biochemických procesech, jako je například fotosyntéza. Studium rostlinných barviv se tedy zabývají nejen obory chemické, ale také obory biologické.

Přesněji můžeme rostlinná barviva definovat jako látky mající schopnost absorpce elektromagnetického záření ve viditelné oblasti spektra. Nacházejí se v rostlinných buňkách, nejčastěji v plastidech a ve vakuolách, což jsou speciální orgány rostlin schopné tyto látky syntetizovat a akumulovat. Jejich společným strukturním znakem je vysoký počet konjugovaných dvojných vazeb v molekulách. Charakteristická je jejich barevnost, která je lidmi od nepaměti využívána v potravinářském, barvířském, farmaceutickém, textilním, či kosmetickém průmyslu.

Téma rostlinných barviv bývá pro studenty atraktivní především díky relativně jednoduchým, ale velmi efektivním experimentům, které lze s rostlinnými barvivy provádět. Některé z nich budou předvedeny a popsány v praktické části této práce.

2 BARVA A SVĚTLO

2.1 VZNIK BARVY

Světlo je elektromagnetické záření o určitých vlnových délkách. Předměty mohou vyzařovat světlo o určitých vlnových délkách nebo z dopadajícího záření určité vlnové délky absorbovat, a to pak je schopno zachytit oko. Barevné vidění je umožněno fotoreceptory zvané čípky, které se nacházejí v oční sítnici. V lidském oku existují tři funkční typy čípků. Každý typ těchto světločivých buněk je maximálně citlivý vůči rozdílným vlnovým délkám, tedy různým barvám. Podrážděním těchto buněk vzniká nervový impuls, který je následně přenesen do mozku a vyhodnocen jako barevný vjem.

Mnoho let se vědci domnívali, že barva vzniká přimícháním barevné složky k bílému světlu. Když však bílé světlo pomocí optického hranolu nebo difrakční mřížky rozložíme, uvidíme všechny barvy, které jsou tvořeny svazky fotonů o stejné vlnové délce. Tím je dokázáno, že bílé světlo je směsí všech barev.

Každá barva odpovídá určitému rozmezí vlnových délek světla (viz Tabulka č. 1). Barvy viditelné lidským okem jsou fialová, modrá, zelená, žlutá, oranžová a červená.

Světlo dopadající na objekt může být odraženo, pohlceno, nebo může samotným objektem projít. Pokud předmět všechny vlnové délky viditelného záření odráží, je vnímán jako bílý. Naopak když jsou všechny vlnové délky předmětem pohlcovány, jeví se pak jako černý. Barevnost objektů vzniká, pokud je předmětem pohlcováno všechno světlo s výjimkou určité skupiny vlnových délek. Spojnicí mezi barvou absorbovanou objektem z bílého světla a barvou, kterou objekt bude mít, určuje komplementarita barev.

Tabulka č. 1: Vlnové délky světla a odpovídající barvy

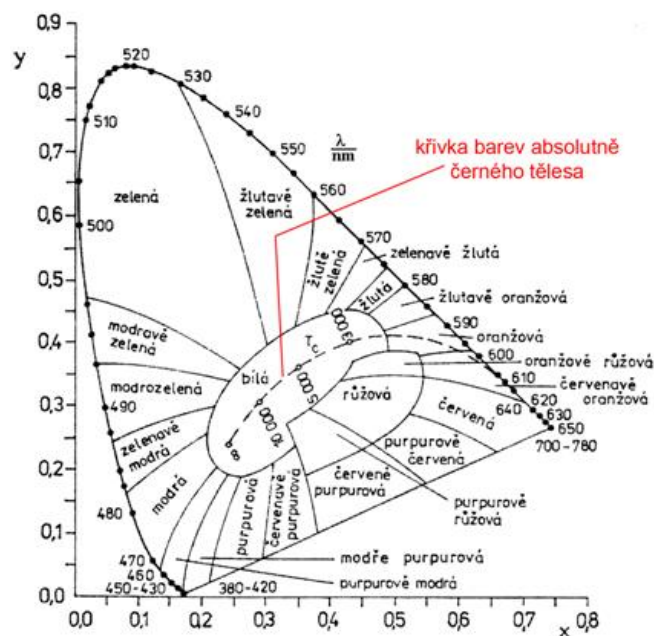
barva	přibližná vlnová délka (nm)
fialová	400
modrá	475
zelená	510
žlutá	570
oranžová	590
červená	650

2.2 KOMPLEMENTARITA BAREV

Každá barva v barevném spektru má svou komplementární neboli doplňkovou barvu. Tato skutečnost bývá znázorňována pomocí barevného trojúhelníku (viz Obrázek č. 1), kde doplňkové barvy stojí naproti sobě. Znamená to, že pokud objekt pohlcuje záření o vlnové délce 475 nm, tedy světlo modrou barvu, díky komplementaritě barev uvidíme předmět jako oranžový.

Mnoho slunečního záření se rozptyluje již v atmosféře. Nejméně se rozptyluje, tudíž nejvíce proniká na zemský povrch, záření o vlnové délce kolem 650 nm, což odpovídá

červené barvě. Tomuto faktu se velmi dobře přizpůsobily rostliny, tím že obsahují barviva absorbující právě červenou a modrou barvu. Díky komplementaritě barev mají tedy barvu zelenou.



Obrázek č. 1: Barevný (kolorimetrický) trojúhelník

2.3 CHEMICKÁ PODSTATA VZNIKU BARVY

Při vysvětlení souvislostí mezi strukturou látek a jejich barevností je důležitý pojem chromofor, což je část molekuly, která je zdrojem barevnosti. V molekule se jedná zpravidla o kovalentní nenasycené vazby, které jsou v konjugaci, např. C=C, C=O, N=N, C≡C, C≡N aj. Barva vzniká excitací elektronu v těchto vazbách z nižší energetické hladiny do energetické hladiny vyšší. Přechod elektronů do vyšší energetické hladiny je způsoben absorpcí UV záření nebo elektromagnetického záření viditelné oblasti spektra.

U rostlinných barviv se vyskytují tzv. konjugované chromofory, např. C=C–C=C. Energeticky nejvýše jsou elektrony π vazeb, případně nevazebné elektronové páry heteroatomů. Konjugace způsobuje snížení energie, která je potřebná k přechodu elektronů π vazeb do vyšší hladiny. Pokud prodloužíme konjugovaný řetězec, posunujeme tak hodnoty maximální absorpce záření k vyšším hodnotám vlnové délky. Proto mohou chromofory rostlinných barviv adsorbovat světlo z viditelného spektra (380 – 700 nm) a ne pouze z UV záření, kde jsou hodnoty vlnové délky nižší (400 – 10 nm).

3 KLASIFIKACE ROSTLINNÝCH BARVIV

Rostlinná barviva můžeme dělit podle struktury či podle důležitých vlastností.

Rozdělení dle struktury:

- Dusíkaté heterocyklické sloučeniny – např. hemová barviva odvozená od pyrrolu
- Kyslíkaté heterocyklické sloučeniny – např. flavonoidy a anthokyany odvozené od heterocyklických fenolických sloučenin
- Fenoly a chinony – např. kurkuminoidy
- Terpenoidy – např. karotenoidy odvozené od tetraterpenu

Rozdělení dle důležitých vlastností:

- Lipochromy – barviva rozpustná v tucích; barviva plastidová (obsažená v plastidech rostlin), např. chlorofyly, β -karoten atd.
- Hydrochromy – barviva rozpustná ve vodě; barviva vakuolární (obsažená ve vakuolách rostlin, určující barvu květů a plodů), např. anthokyany, flavonoly, flavony atd.

4 VYBRANÁ BARVIVA

V této kapitole se budeme zabývat nejvýznamnějšími rostlinnými barvivy, které se v přírodě nacházejí. Jsou to především chlorofyly, díky kterým může probíhat fotosyntéza a jsou tedy nepostradatelnou součástí života na Zemi. Dalšími významnými barvivy jsou karotenoidy, které dávají rostlinám žlutou, oranžovou či červenou barvu a úzce spolupracují s chlorofyly. V neposlední řadě nesmíme opomenout flavonoidy, především anthokyany, což jsou barviva zbarvující mnoho druhů ovoce, zeleniny a květin do oranžova, červená, fialová či modra.

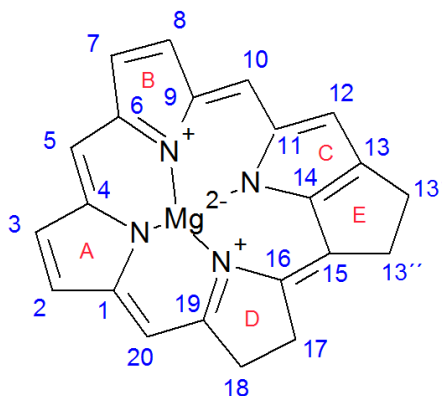
4.1 CHLOROFYLY

4.1.1 CHARAKTERISTIKA

Chlorofyly jsou skupina zelených barviv, které se nacházejí v plastidech rostlin a zajišťují proces fotosyntézy. Název vznikl spojením řeckých slov *chloros* („zelený“) a *phyllon* („list“). Vyskytují se téměř ve všech pletivech vyšších rostlin, mechů, řas a dokonce i v některých bakteriích. Původně se název chlorofyl používal pouze pro zelené pigmenty účastnící se fotosyntézy, nyní se však tento název vztahuje na všechna fotosyntetizující barviva s porfyrinovou chemickou strukturou. Dosud bylo popsáno již několik druhů chlorofylů a je velmi pravděpodobné, že u některých druhů řas se vyskytují i druhy další. Nejvýznamnějšími chlorofyly z ekologického a potravinářského hlediska jsou chlorofyl *a* a chlorofyl *b* a jejich rozkladné produkty feofytiny.

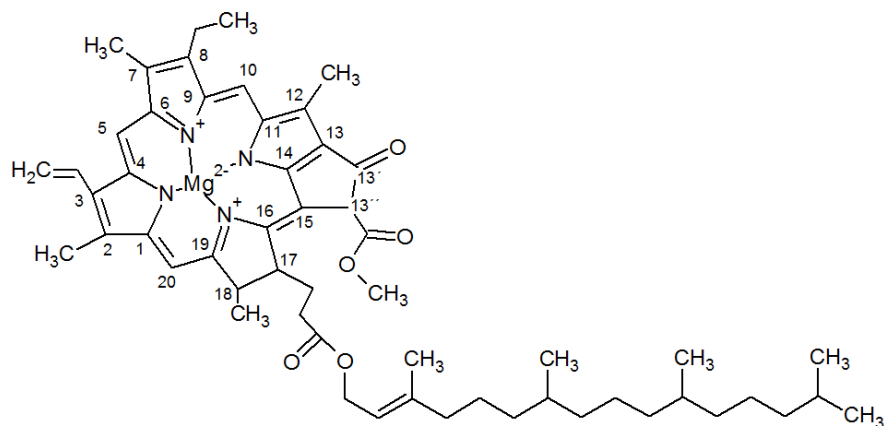
4.1.2 CHEMICKÁ STRUKTURA

Základní strukturální jednotkou většiny chlorofylů je porfyrinový kruh, přesněji cyklický tetrapyrrol 17,18-dihydroporyfin. Na rozdíl od ostatních porfyrinových barviv obsahuje částečně redukovaný D cyklus (sedmáctý a osmáctý uhlík je spojen jednoduchou vazbou, nikoli dvojnou) a nový cyklus E, který vznikl cyklizací propionové kyseliny v poloze C-13. Charakteristickým strukturálním znakem chlorofylů je také centrální atom, chelátově vázaný hořečnatý iont.



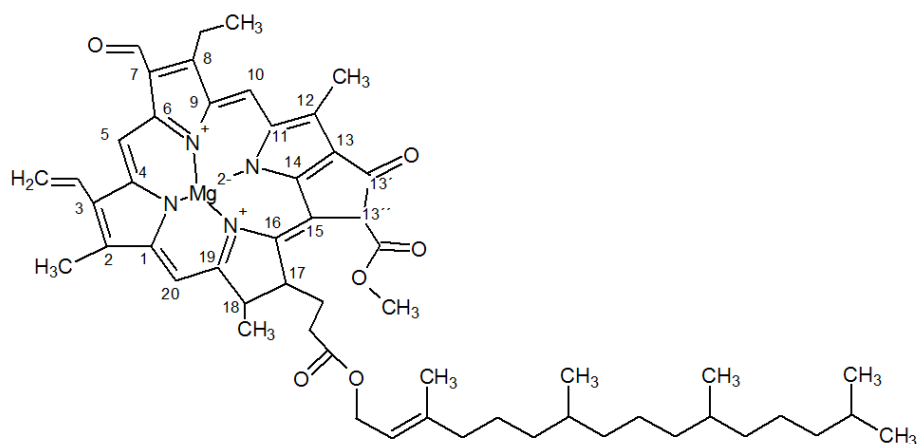
Obrázek č. 2: 17,18-Dihydroporyfin

Chlorofyl *a* má navíc v polohách C-2, C-7, C-12 a C-18 navázané methylové skupiny, v poloze C-3 vinyl, v poloze C-8 ethylovou skupinu a v poloze C-17 zbytek propionové kyseliny, která byla esterifikována fytolem. Dále je na porfyrinovém kruhu navázána oxoskupina, a to v poloze C-13' a methoxykarbonylová skupina v poloze C-13''.



Obrázek č. 3: Chlorofyl *a*

Chlorofyl *b* se liší od chlorofylu *a* pouze na sedmém uhlíku, kde se místo methylu nachází formylová skupina.



Obrázek č. 4: Chlorofyl *b*

Rozkladné produkty feofytiny vznikají z chlorofylů odštěpením hořečnatého kationtu a protonizací dvou atomů dusíku.

4.1.3 VLASTNOSTI A REAKCE

Chlorofyly jsou obecně spíše nestabilní zelená barviva. Velmi citlivě až degradačně reagují na působení tepla, světla, ionizujícího záření, kyselin či enzymů. Chlorofyly jsou rozpustné v tucích a dalších organických rozpouštědlech. Díky hydrofobnímu konci, což je zbytek fytolu, který je navázán na porfyrinový cyklus, jsou nerozpustné ve vodě. Rozdílné substituenty na sedmém uhlíku chlorofylu *a* a chlorofylu *b* zapříčiňují absorpci světla o různých vlnových délkách a také jejich různou barvu. Chlorofyl *a* je zeleno-modrý, zatímco chlorofyl *b* je spíše zeleno-žlutý.

Nejvýznamnější reakce chlorofylů probíhají při zpracovávání potravin, ve kterých se chlorofyly nacházejí. Působením enzymů a kyselin ztrácejí chlorofyly centrální atom hořčíku a přecházejí na jejich rozkladné produkty feofytiny a feoforbiny. Důležitá je také tvorba komplexů s některými kovy (např. se zinkem, mědí, cínem), se kterými tvoří velmi pevné vazby.

4.1.4 VYUŽITÍ

Největší využití mají chlorofyly jako přírodní zelená barviva. Výhodou je, že se v přírodě nacházejí téměř v neomezeném množství. Celkové množství vyprodukovaného chlorofylu na Zemi činí ročně asi $11,5 \cdot 10^8$ tun. (Velíšek, 2002)

Jako barviva se používají především v potravinářství. Nejčastěji jsou získávány ze suchozemských rostlin, především z kopřiv, vojtěšky a dalších pícnin, efektivní je však také získávání barviv z fytoplanktonu. Chlorofyly se v potravinářském průmyslu užívají v podobě směsí, jelikož získávání jednotlivých chemických látek je velmi nákladné. Na trhu se používají například při barvení těstovin, polévek, cukrovinek, jogurtů či nápojů.

Textilní průmysl se pokoušel chlorofyly také využít, zejména v oblasti barvení tkanin. Pro barvení textilií ale nejsou chlorofyly příliš vhodné, jelikož jejich měďnaté komplexy s kovy jsou rozpustné v organických rozpouštědlech, tudíž by mohly být z vláken lehce odstraněny (např. při praní).

Široké využití nacházejí chlorofyly také v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu.

4.2 KAROTENOIDY

4.2.1 CHARAKTERISTIKA

Karotenoidy jsou důležité oranžové, žluté a červené pigmenty nacházející se v tělech rostlin (hlavně v ovoci a v zelenině), hub, řas, mikroorganismů a také živočichů (např. ve vaječném žloutku, v červeně zbarvených lososovitých rybách či korýších). V rostlinách jsou spjaty s chlorofyly a zásadně se podílejí na procesu fotosyntézy. Zachycují energii o jiné vlnové délce než chlorofyly, kterou pak chlorofylům předávají. Rostlina tak může využívat širší spektrum světla. Mnoho karotenoidů je biologicky aktivní, známé jsou především jako provitamin A. V neposlední řadě nesmíme opomenout také jejich antioxidační schopnost a důležitou funkci v imunitním systému.

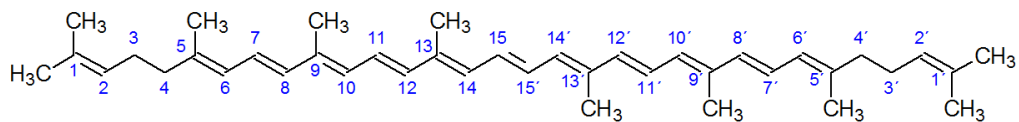
V dnešní době je známo asi 700 karotenoidních barviv, které se přirozeně nacházejí v přírodě. Karotenoidy dělíme na karoteny a xanthofyly. Nejvýznamnějšími karoteny jsou lykopen a β -karoten. Ze skupiny xanthofylů považujeme za nejdůležitější pigmenty lutein a zeaxanthin.

4.2.2 CHEMICKÁ STRUKTURA

Karotenoidní pigmenty řadíme mezi terpenoidy, což jsou sloučeniny s ustáleným počtem izoprenových jednotek. Izoprenovou jednotkou myslíme stavební jednotku odvozenou od izoprenu (2-methylbuta-1,3-dien). V případě karotenoidů mluvíme o tetraterpenech, kde základní strukturu tvoří osm izoprenových jednotek. Obvykle je molekula karotenoidního pigmentu tvořena čtyřiceti uhlíky. Karotenoidy jsou charakteristické svým vazebným uspořádáním. V centru molekuly se pořadí vazeb obrací, proto jsou tyto sloučeniny jako celek z hlediska konstituce středově symetrické.

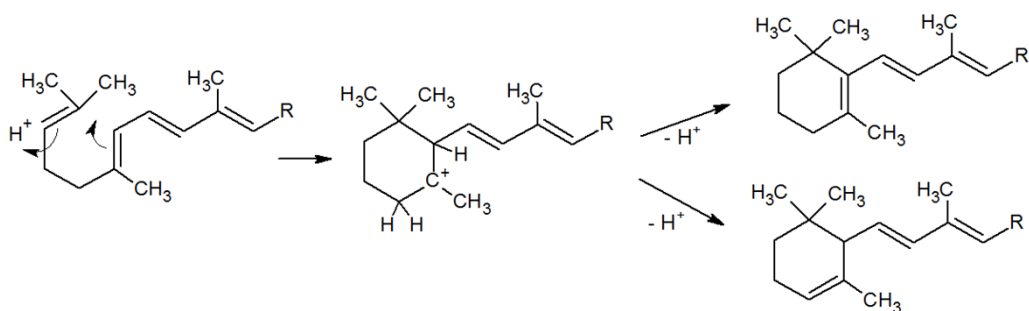
4.2.2.1 KAROTENY

Karoteny jsou polynenasycené uhlovodíky, které neobsahují žádné další funkční skupiny. Známé jsou karoteny acyklické a alicyklické. Běžně rozšířený a nejjednodušší acyklický karoten je červený lykopen a jeho hydroderiváty.



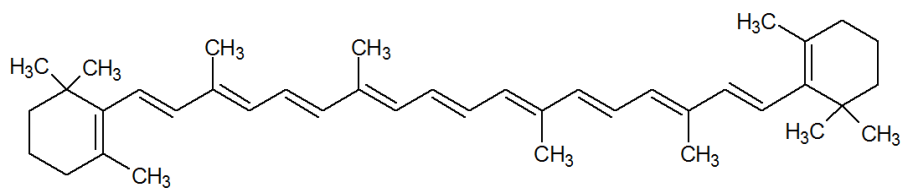
Obrázek č. 5: Lycoplen

Alicyklické karoteny vznikají enzymově katalyzovanou cyklizací z acyklických karotenů. Cyklizací vznikají α -karoteny, či β -karoteny, které se liší pozicí jedné dvojné vazby.

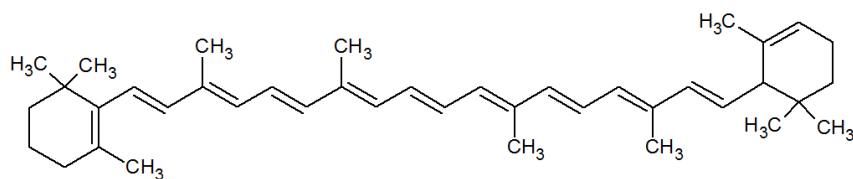


Obrázek č. 6: Schéma vzniku alicyklických α - a β -karotenů

Důležitým zástupcem skupiny alicyklických karotenů je žlutočervený β -karoten, který je prekurzorem retinolu.

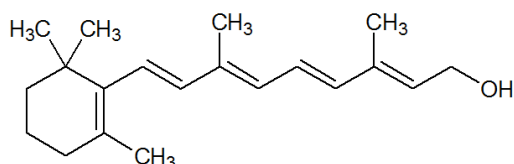


Obrázek č. 7: β -Karoten



Obrázek č. 8: α -Karoten

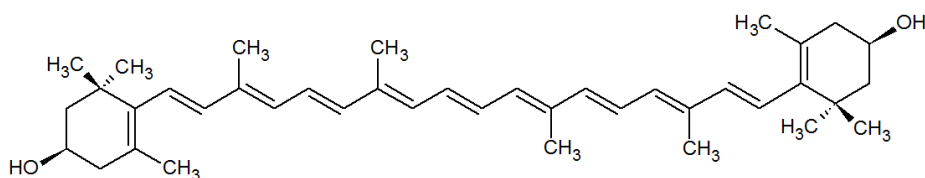
Retinol (vitamín A) vzniká rozpůlením molekuly β -karotenu a následnou hydroxylací koncového uhlíku. Je nezbytný při tvorbě zrakového pigmentu rhodopsinu či při dozrávání epitelů.



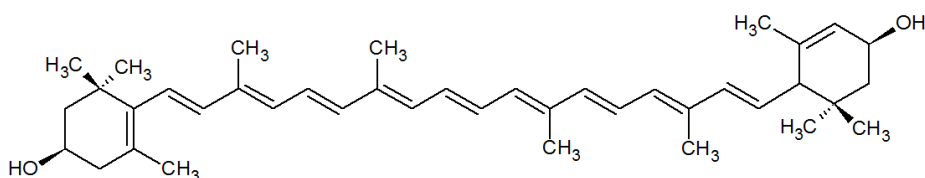
Obrázek č. 9: Struktura retinolu

4.2.2.2 XANTHOFYLY

Xantofyly jsou kyslíkaté deriváty alicyklických karotenů. Primárně vznikají biochemickou oxidací či hydroxylací příslušných karotenů. Nejznámější pigmenty ze skupiny xantofylů jsou dihydroxysubstituované pigmenty zeaxanthin a lutein. Hydroxylací β -karotenu v poloze C3 a C3' vzniká zeaxanthin, hydroxylací α -karotenu ve stejné poloze vzniká lutein



Obrázek č. 10: Zeaxanthin



Obrázek č. 11: Lutein

4.2.3 VLASTNOSTI A REAKCE

Karotenoidy jsou barevné, biologicky aktivní látky lipofilní povahy. Jejich žlutá, oranžová a někdy i červená barva je dána charakteristickým uspořádáním konjugovaných dvojných vazeb v molekulách. Karotenoidy nejsou příliš stabilní látky. Účinkem enzymů, světla, tepla či kyslíku dochází k izomeraci, oxidaci nebo až degradaci těchto pigmentů. Většina xanthofylů podléhá těmto vlivům snadněji než karoteny. Některé karotenoidy mohou s proteiny tvořit asociáty, které se nazývají karotenoproteiny. Tyto látky vykazují daleko větší stabilitu než volné karotenoidy.

Důležitou reakcí karotenoidů je jejich katalytické štěpení, které probíhá za přítomnosti enzymů ze skupiny oxidoreduktas. Asi 10 % karotenoidů tvoří prekurzory vitamínu A, které vznikají právě touto reakcí. Většina degradačních produktů katalytického štěpení karotenoidů způsobuje charakteristickou vůni potravin, ve kterých se tyto látky nacházejí.

4.2.4 VYUŽITÍ

Karotenoidní pigmenty se od nepaměti nejvíce využívají k obarvování potravin. Tato rostlinná barviva můžeme najít v ovoci (např. meruňka, mango, pomeranč), zelenině (např. mrkev, rajče, paprika, špenát, vodní meloun), ale i v jiných rostlinných materiálech (např. šafrán, anatto). K barvení můžeme použít jak čerstvé extrakty částí rostlin, tak i části sušené. V současnosti se používají průmyslově vyrobené karotenoidy, jelikož jejich výroba není příliš nákladná a je daleko efektivnější než extrakce pigmentů přímo z rostlin. Těmito syntetickými pigmenty bývají barveny sýry, jogurty, zmrzliny, ovoce, těstoviny a další potraviny.



Obrázek č. 12: Zelenina a ovoce obsahující karotenoidy



Obrázek č. 13: Anatto



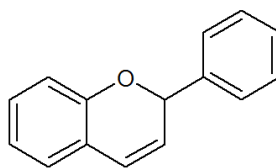
Obrázek č. 14: Šafrán

Karotenoidní pigmenty jsou hojně využívány také ve farmaceutickém průmyslu především jako doplňky stravy. Pro své antioxidační vlastnosti se používají také jako antikarcinogenní látky. β -Karoten a ostatní prekurzory vitamínu A slouží lidem, kteří nemají dostatečný přísun těchto látek v potravě, jako doplněk stravy.

4.3 FLAVONOIDY

4.3.1 CHARAKTERISTIKA

Flavonoidní látky jsou velmi rozšířená rostlinná barviva fenolové povahy. Pro své charakteristické vlastnosti byly z rostlinných fenolů vyčleněny a tvoří tak samostatnou skupinu. Molekula flavonoidu obsahuje dvě benzenová jádra a heterocyklický (obvykle pyranový) kruh. Základní sloučeninou, od které jsou odvozeny ostatní flavonoidy, je flavan.



Obrázek č. 15: Flavan

Další flavonoidní pigmenty vznikají substitucí flavanu hydroxyskupinami a methoxyskupinami a navzájem se od sebe liší pouze stupněm substituce a oxidace. Nejvýznamnější a nejrozšířenější skupinou flavonoidů jsou anthokyaniny (nazývané též anthokyaniny).

4.3.2 ANTHOKYANY

4.3.2.1 CHARAKTERISTIKA

Anthokyany jsou nejrozšířenější a také velmi početnou skupinou rostlinných barviv. Je známo asi 300 druhů různých anthokyanů, které jsou charakteristické svou oranžovou, červenou, fialovou a modrou barvou. Tyto rostlinné pigmenty můžeme nalézt hlavně v ovoci, zelenině a květinách, kde se hromadí ve speciálních buněčných organelách zvaných vakuoly. Je známo, že anthokyany hrají velmi důležitou roli v ekofyziologii a rozmnožování rostlin. Svou atraktivní barevností přilákávají opylovače a podílejí se také na ochraně rostliny před vnějšími biotickými a stresovými faktory.



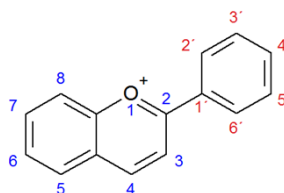
Obrázek č. 16: Ovoce obsahující anthokyany



Obrázek č. 17: Pomněnky obsahující anthokyany

4.3.2.2 CHEMICKÁ STRUKTURA

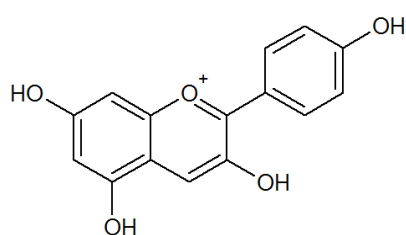
Anthokyany patří do skupiny glykosidů, což jsou deriváty sacharidů, které vznikají náhradou poloacetalové skupiny za jiný cukr nebo necukerný zbytek, tzv. aglykon. V případě anthokyanů se aglykony nazývají anthokyaniny. Volné aglykony se v přírodě vyskytují velmi zřídka, ve všech rostlinných materiálech jsou hlavními pigmenty glykosidy. Všechny anthokyaniny jsou odvozeny od flavyliového kationtu.



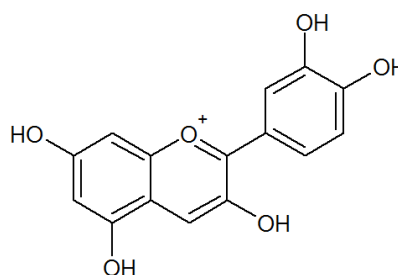
Obrázek č. 18: Flavyliový (2-fenylbenzopyryliový) kation

Všechny anthokyaniny mají v poloze C-4' navázanou hydroxylovou skupinu. Společným znakem šesti nejvýznamnějších anthokyaninů je substituce hydroxylové skupiny také do polohy C-3, C-5 a C-7. V poloze C-3' a C-5' může být navázán vodík, methoxyskupina nebo skupina hydroxylová.

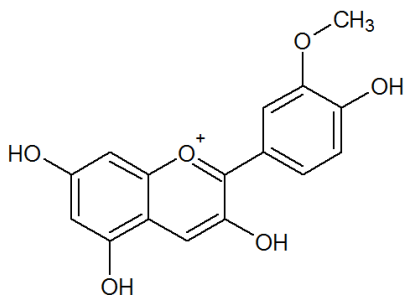
V přírodě a v potravinářském průmyslu má největší význam šest anthokyaninů: pelargonidin (červený), kyanidin (fialový) peonidin (fialový), delphinidin (purpurově modrý), petunidin (purpurově modrý) a malvidin (purpurový).



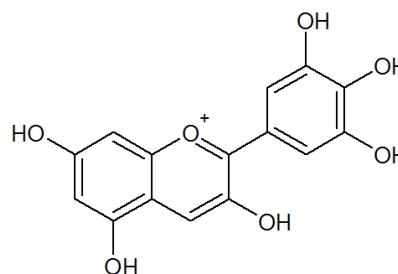
Obrázek č. 19: Pelargonidin



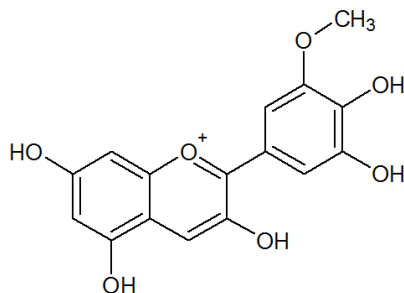
Obrázek č. 20: Kyanidin



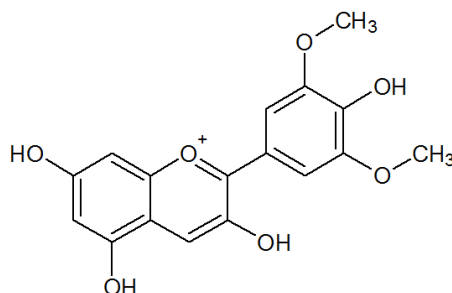
Obrázek č. 21: Peonidin



Obrázek č. 22: Delfinidin

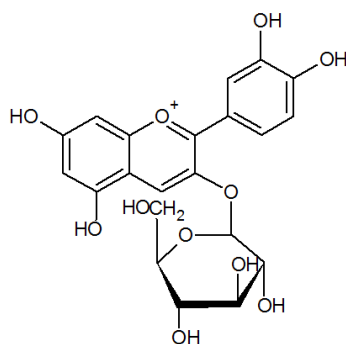


Obrázek č. 23: Petunidin



Obrázek č. 24: Malvidin

V anthokyanech můžeme nalézt pět sacharidů, a to D-glukosu, L-rhamosu, D-galaktosu, D-xylosu a L-arabinosu. Hydroxylové skupiny se glykosidují vždy v poloze C-3 a někdy také v poloze C-5. Nejčastěji se v přírodě vyskytují anthokyanové pigmenty kyanidin-3-glykosidy. Jako příklad uvádíme kyanidin-3-glukosid.



Obrázek č. 25: Kyanidin-3-*O*- β -D-glukosid

4.3.2.3 VLASTNOSTI A REAKCE

Hlavní charakteristickou vlastností anthokyanů je jejich barva a jejich stabilita, která je však podmíněna mnoha faktory. Barva a stabilita je nejvíce ovlivňována strukturou molekuly, působením enzymů, pH prostředí, teplotou, či působením kyslíku nebo záření. Anthokyanů ztrácejí barvu hydrolýzou glykosidické vazby. Druh sacharidu v molekule anthokyanu nemá příliš velký vliv na vlastnosti barviv, vlastnosti molekuly daleko více ovlivňuje poloha, do které je sacharid substituován.

Anthokyanů jsou rostlinná barviva, která jsou díky přítomnosti cukerné složky v molekule anthokyanu, rozpustná ve vodě. Ve vodném prostředí dochází k mnoha transformacím, které jsou výrazně ovlivněny pH prostředím, což se nejvíce odráží na jejich barevnosti (viz Tabulka č. 2). V aglykonu je až pět OH skupin, které mohou ztrácet v závislosti na pH protony. Tím dochází ke změně rozložení elektronové hustoty, vzdálenosti energetických hladin a schopnosti absorbovat různé barvy.

Důležitou reakcí je tzv. enzymové hnědnutí, kterou můžeme pozorovat například při zrání vín. Jde o proces, kdy rostliny mění barvu v důsledku zrání. Anthokyanů vytvářejí komplexy s jinými flavonoidy, které se následně rozpadají a tvoří výsledný

pigment jiné barvy, než byl původní anthokyan. Působením enzymů mohou rostliny barvu také úplně ztrácet. Přechod barevných anthokyanů na nebarevné složky způsobuje i oxidace vzdušným kyslíkem. Anthokyany mohou být před ztrátou barvy chráněny. Často proto tvoří komplexy s jinými látkami, např. s ostatními flavonoidy, bílkovinami či polysacharidy, které jsou sice bezbarvé, ale interakcí s anthokyany zvyšují stabilitu jejich zbarvení.

Tabulka č. 2: Vliv pH na barevnost anthokyanů

pH	barva
1 – 4	červená
4 – 4,5	bez barvy
4,5 – 7,5	purpurově červená
7,5 – 8	modrá
8 <	žlutá

4.3.2.4 POUŽITÍ

Anthokyany se hojně využívají jako potravinářská barviva. Nejvhodnější jsou pro barvení kyselých potravin, jelikož nejintenzivnější barvu mají v prostředí o $\text{pH} < 4$. I přes omezenou dostupnost rostlinných materiálů a ekonomickou náročnost zpracování rostlinných barviv, zájem o ně stále roste. K obarvování se nejčastěji používají pigmenty izolované z hroznů vinné révy, z plodů bezu černého, z červeného zelí, z borůvek nebo z květů ibišku. Anthokyany se používají k barvení vína, džusů, jogurtů, desertů či zmrzlin.



Obrázek č. 26: Vinná réva



Obrázek č. 27: Bez černý

Mnoho anthokyanů je pro své protizánětlivé a antikarcinogenní vlastnosti využíváno ve farmaceutickém průmyslu. Bylo prokázáno, že některé pigmenty ze skupiny anthokyanů působí proti koronárnímu onemocnění srdce či proti diabetu a obezitě. Dále také pozitivně ovlivňují zrak nebo signální dráhy v buňkách. (Santos-Buelga, 2014)

Anthokyaniny nemají příliš stabilní odstíny barev a na světle nejsou příliš stálé, proto se ke komerčnímu barvení textilu příliš nepoužívají.

5 ROSTLINNÁ BARVIVA V POTRAVINÁCH

Rostlinná barviva nacházejí největší uplatnění v potravinářském průmyslu. Udělují potravině barvu, kterou by sama o sobě vůbec neměla. Barva se během výrobního procesu může ztrácet, a tak se rostlinná barviva využívají i k obnovení nebo zesílení původní barvy. Barva potravin utváří často první dojem u spotřebitele, proto jsou rostlinná barviva při výrobě potravin klíčovou složkou.

Existuje mnoho pravidel a vyhlášek ohledně barvení potravin. K některým potravinám je zakázáno přidávat přídatná barviva. Jedná se například o dětskou výživu, med, ovocné šťávy či nektary. Pro barvení másla se mohou používat pouze karoteny. Díky technologické a ekonomické náročnosti izolace rostlinných barviv z rostlinných materiálů se používají přírodně identická barviva, což jsou po chemické stránce stejné látky jako přírodní barviva, avšak jsou vyráběny synteticky.

5.1 E KÓDY

Všechny látky, tedy i přidaná barviva, musejí být na obalu uvedeny, a to názvem, číselným E kódem, nebo obojím. E kód se skládá z písmene E a trojmístného číselného kódu, pod kterým je daná látka uvedena v mezinárodním číselném systému. Označení E kódem tak znamená, že látka prošla kontrolou a je bezpečná.

Rostlinná barviva spadají do kategorie „barviva“, která je v mezinárodním seznamu E kódů označována E 1xx. Kategorii „barviva“ rozdělujeme do dvou skupin, a to na barviva přírodní, včetně barviv přírodně identických, a na barviva syntetická. Některá barviva a jejich číselné kódy jsou uvedeny v Tabulce č. 3.

Tabulka č. 3: Seznam některých barviv, jejich E kódů a zbarvení

E kód	název	barva
E 100	Kurkumin	žlutá až oranžová
E 101	Riboflavin	žlutá až oranžová
E 140	Chlorofyly a chlorofyliny	zelená
E 141	Měďnaté komplexy chlorofylů	zelená
E 160 a	Karoteny	žlutá, oranžová, žlutozelená, červená
E 160 c	Paprikový extrakt, kapsanthin, kapsorubin	červená
E 160 d	Lykopen	červená
E 160 e	Beta-karotenal	žlutá až červená
E 161 b	Lutein	žlutá
E 162	Betalainová červeň, betanin	červená, oranžová, žlutá
E 163	Anthokyany	červená až modrá

6 POUŽITÉ CHEMICKÉ METODY PŘI EXPERIMENTECH S ROSTLINNÝMI BARVIVY

6.1 EXTRAKCE

Extrakce neboli vyluhování je jednoduchá metoda, pomocí které převádíme látky z jedné fáze do druhé. Extrakcí se získávají především přírodní látky, v následujících úlohách to budou rostlinná barviva. Abychom mohli pigmenty detailně studovat, potřebujeme je z rostlinných materiálů „vytáhnout“, což můžeme provést právě extrakcí. Při extrakci je velmi důležité rozpouštědlo, protože právě do fáze rozpouštědla přecházejí extrahované látky, se kterými se potom může dále manipulovat.

6.2 TENKOVSTVÁ CHROMATOGRRAFIE

Tenkovstvá chromatografie (TLC) je chemická separační metoda, kdy se nanosená látka dělí mezi stacionární a mobilní fáze. Stacionární fáze je většinou tvořena hliníkovou fólií, na kterou je nanosen sorbent (silikagel, oxid hlinitý atd.). Mobilní (pohyblivá) fáze je tvořena organickým rozpouštědlem, nebo směsí více druhů organických rozpouštědel. Nanosené látky jsou unášeny mobilní fází a interagují se sorbentem a rozpouštědlem. Nejsilnějším faktorem, podle kterého se dělené molekuly oddělují, je jejich polarita. Nepochárny látky se v systému pohybují rychleji než látky polárny, čímž se od sebe jednoduše oddělí.

Oddělené skvrny látek jsou charakterizovány retenčním faktorem (R_f), což je bezrozměrná veličina. Retenční faktor se vypočítá podílem vzdálenosti a (vzdálenost středu skvrny od startu) a vzdálenosti b (vzdálenost čela od startu).

6.3 SPEKTROFOTOMETRIE

Spektrofotometrie je analytická metoda, díky které můžeme charakterizovat a identifikovat látky pomocí toho, jak mnoho daná látka absorbuje záření při různých vlnových délkách. Pokud tuto závislost stanovíme v rozsahu vlnových délek, získáme absorpční spektrum neboli závislost množství absorbovaného světla na jeho vlnové délce. Každá látka má své absorpční spektrum a v něm tzv. absorpční maxima (což jsou lokální maxima ve spektru), která jsou pro každou látku charakteristická. Některé látky mají v absorpčním spektru více absorpčních maxim. Spektrofotometr se obvykle skládá ze zdroje záření, monochromátoru, kyvety se vzorkem a detektoru. Světlo vychází ze zdroje do monochromátoru, který určuje, jaké vlnové délky projdou a budou pokračovat do kyvety se vzorkem. Po průchodu vzorkem v kyvetě je světlo zachyceno detektorem, kde se vyhodnocuje jeho intenzita a porovnává se s intenzitou světla slepého vzorku, čímž je získána absorbance nebo transmitance.

II EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

1 ÚVOD

Experimenty bývají u studentů velmi oblíbené, proto by měly být nedílnou součástí hodin chemie. V této části si představíme několik zajímavých pokusů s rostlinnými barvivy, které byly vyzkoušeny a ve výuce by mohly být realizovány. První experiment demonstruje barvicí schopnosti anthokyanů. Studenti si pomocí návodu budou schopni vyrobit svou vlastní limonádu barvenou právě anthokyany. Další pokus ukazuje především acidobazické vlastnosti anthokyanů a závislost jejich barvy na pH a porovnává je s vlastnostmi karotenoidů. V posledním pokusu se studenti seznámí se základní metodou tenkovrstvé chromatografie, pomocí které budou schopni oddělit, a případně identifikovat, barviva obsažená v listech či v zelenině. Úloha zahrnuje také charakteristiku rostlinných barviv pomocí metody zvané spektrofotometrie. Barevné změny karotenoidů způsobené adicí bromu a důkaz přítomnosti násobných vazeb v karotenoidech jsou demonstrovány v úloze „Duha z rajčatové šťávy“. Pro studenty byly vytvořeny také pracovní listy s návody a doplňujícími otázkami.

2 VÝROBA BAREVNÉ LIMONÁDY

(McIndoe, Stoddard, 2013)

Úvod: Experiment popisuje výrobu šumivého nápoje barveného přírodními rostlinnými barvivy, která jsou extrahována z červené řepy a borůvek. Smícháním zásaditého roztoku hydrogenuhličitanu sodného s kyselým roztokem kyseliny citrónové dochází k neutralizaci a k uvolňování oxidu uhličitého, který zajišťuje charakteristické šumění.

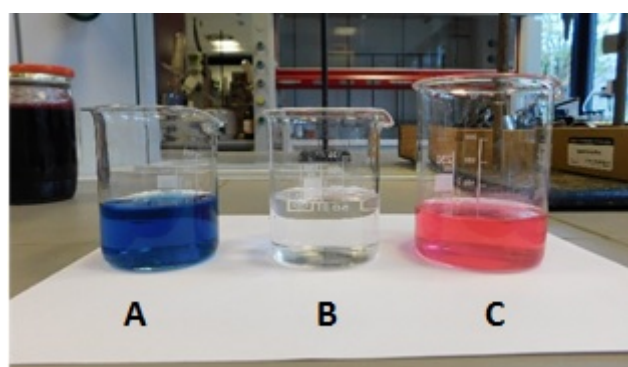
Pomůcky: kádinky, skleněné tyčinky, nůž, odměrný válec, laboratorní váhy

Chemikálie a suroviny: jedlá soda, kyselina citrónová, destilovaná voda, červené zelí, borůvky

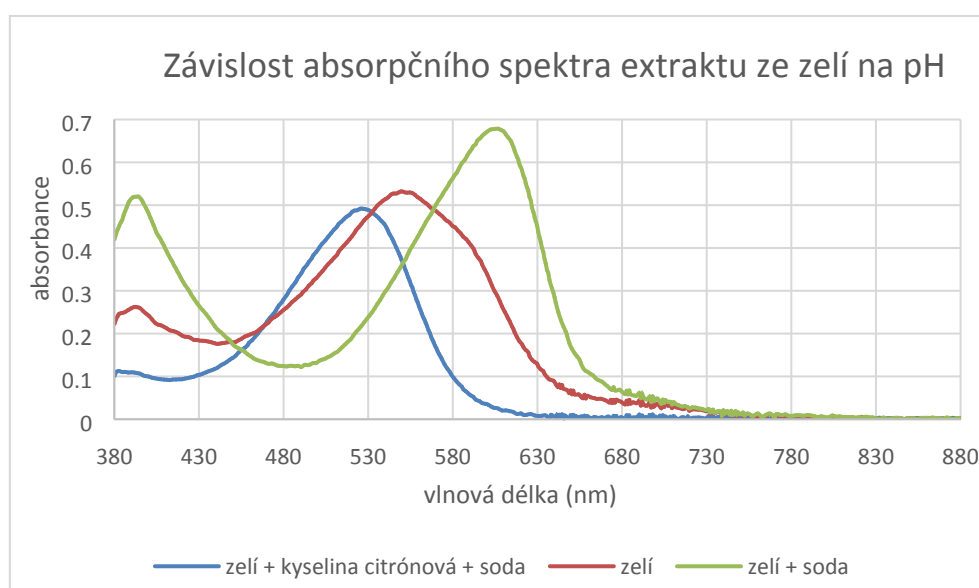
Provedení: Listy červeného zelí byly nakrájeny a zality horkou vodou. Následně proběhla dekantace. První kádinka byla naplněna asi 10 ml extraktu a doplněna do jedné třetiny

vodou. Dále bylo přidáno trošku jedlé sody; asi tolik, aby roztok získal po jejím rozpuštění světle modrou barvu. Druhá kádinka byla do poloviny naplněna vodou; bylo v ní navíc rozpuštěno asi 0,5 g kyseliny citrónové. Roztoky z obou kádinek byly smíchány, čímž vznikl růžový šumivý nápoj. V případě borůvek byl postup velmi podobný. Extrakt z borůvek byl v první kádince opět doplněn do jedné třetiny vodou. V druhé kádince byla smíchána voda s cukrem a jedlou sodou. Po smíchání obsahů obou kádinek vznikl zelený nápoj.

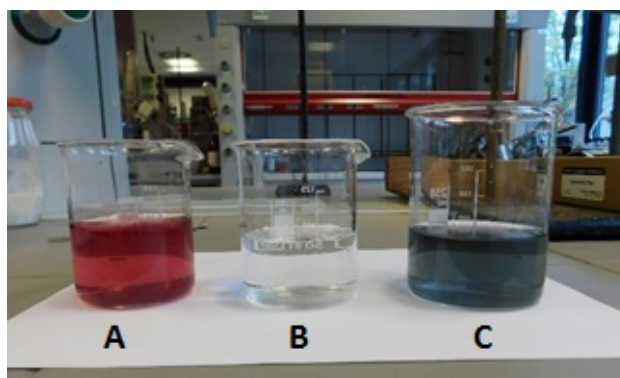
Pro zajímavost byly změřeny i absorpční spektra některých roztoků. Pro měření byl použit spektrofotometr Vernier SpectroVis Plus.



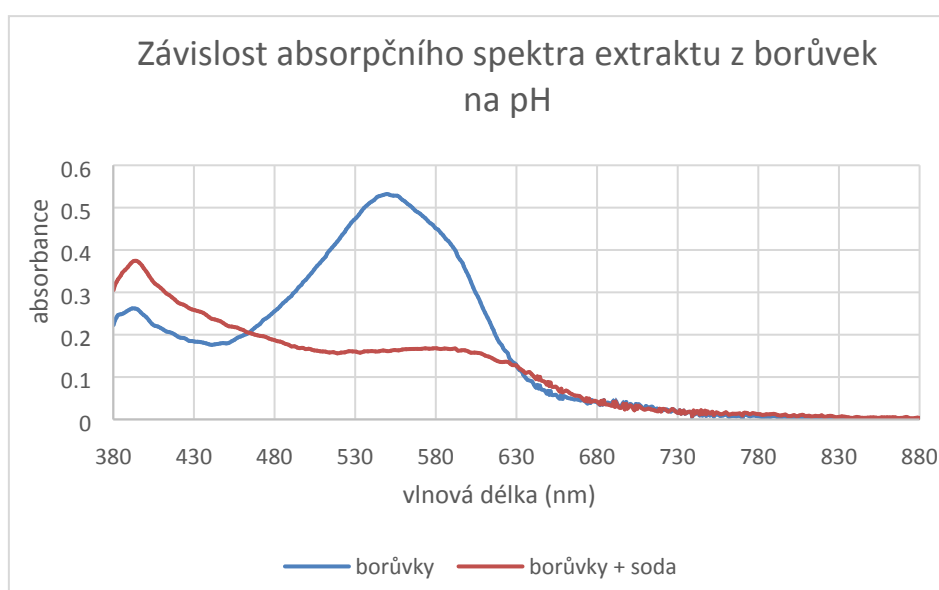
Obrázek č. 28: A – extrakt ze zelí + voda + soda; B – voda + kyselina citrónová; C – smíchané roztoky



Obrázek č. 29: Závislost absorpčního spektra extraktu ze zelí na pH



Obrázek č. 30: A – extrakt z borůvek + voda; B – voda+ cukr + soda; C – smíchané roztoky



Obrázek č. 31: Závislost absorpčního spektra extraktu z borůvek na pH

Komentář: Červená řepa a borůvky obsahují mnoho anthokyanů, které jsou charakteristické svými acidobazickými vlastnostmi a závislosti barvy na pH. Výsledná barva prvního roztoku byla růžová, jelikož anthokyany mají v kyselém prostředí růžové až červené zbarvení. Roztok barvený borůvkami měl po smíchání se suspenzí obsahující jedlou sodu a cukr zelenou barvu, protože výsledné pH roztoku bylo vyšší než 7. Z teoretické části víme, že anthokyany v zásaditém prostředí mají modrou až zelenou barvu.

Naměřená spektra téměř souhlasí s barevnými změnami roztoků. Pro ověření můžeme použít kolorimetrický trojúhelník a doplňkové barvy.

Takto připravená limonáda je zdravotně nezávadná a je možno ji ochutnat.

3 ČERVENÁ ROSTLINNÁ BARVIVA JAKO INDIKÁTORY PH

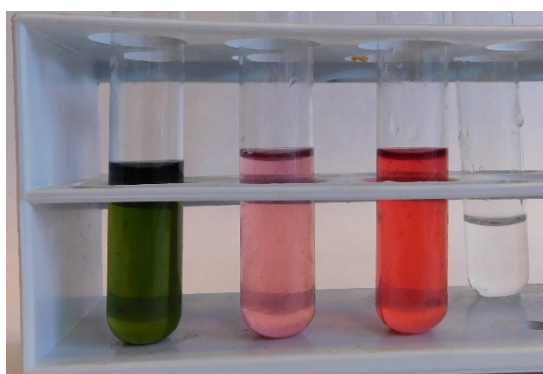
(Šulcová, Böhmová, 2007)

Úvod: V experimentu, ale i v praxi, se setkáme se dvěma typy rostlinných barviv, a to s karotenoidy a anthokyany. Na základě reakcí v prostředí o různém pH je možno určit, zda materiál, ze kterého byly barviva extrahována, obsahuje karotenoidy či anthokyany.

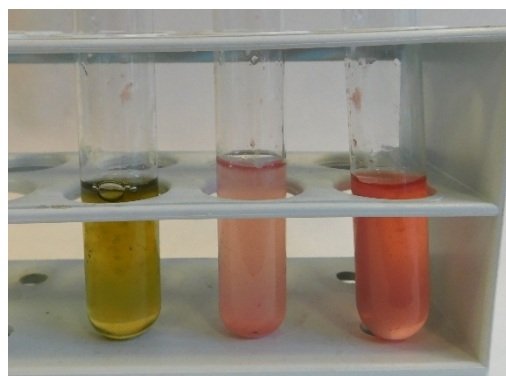
Pomůcky: zkumavky ve stojánku, kádinky, skleněné tyčinky, odměrný válec, nůž

Chemikálie a suroviny: 5% roztok kyseliny sírové, 5% roztok hydroxidu sodného, destilovaná voda, rajčatová šťáva, paprika, ovocný čaj, červená cibule, červené hroznové víno

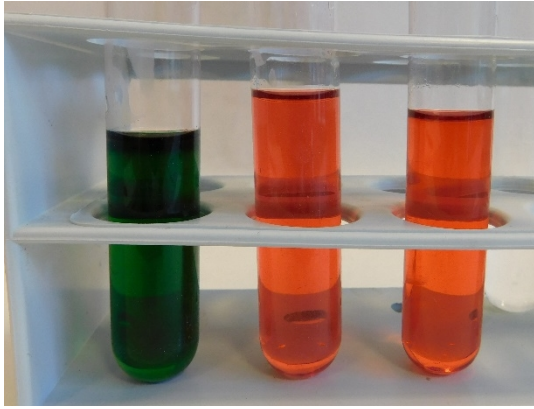
Provedení: Z každé suroviny bylo do vody různými metodami extrahováno rostlinné červené barvivo. Některé materiály byly vyluhovány horkou vodou, jiné nakrájeny a zality opět horkou vodou. Pro každý extrakt byly vyhrazeny tři zkumavky: do první zkumavky bylo nalito 3 cm³ roztoku NaOH, do druhé 3 cm³ vody a do třetí 3 cm³ roztoku H₂SO₄. Do každé zkumavky byly poté přidány 3 cm³ příslušného extraktu a byla pozorována barevná změna. Tento postup byl opakován se všemi extrakty z příslušných surovin. Pro zajímavost bylo změřeno absorpční spektrum ovocného čaje při různém pH.



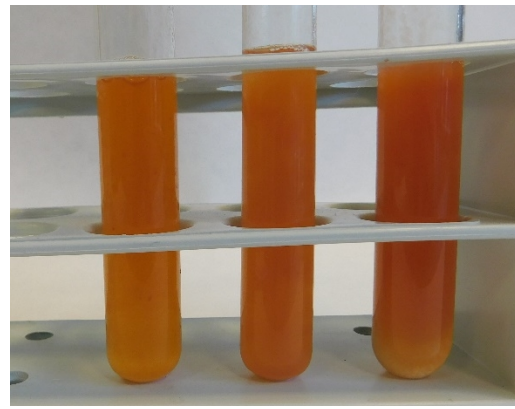
Obrázek č. 32: Borůvky
(zleva: zásadité pH, neutrální pH, kyselé pH)



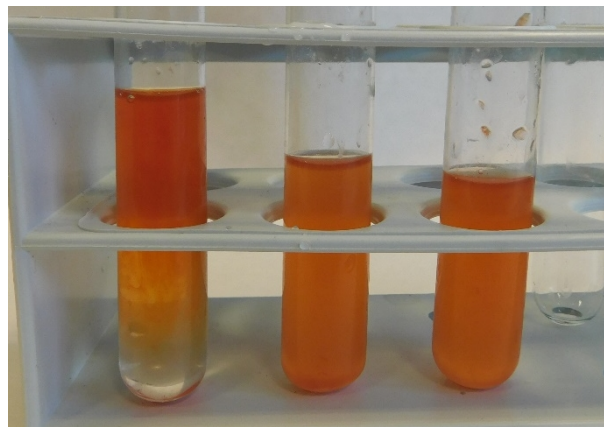
Obrázek č. 33: Červené víno
(zleva: zásadité pH, neutrální pH, kyselé pH)



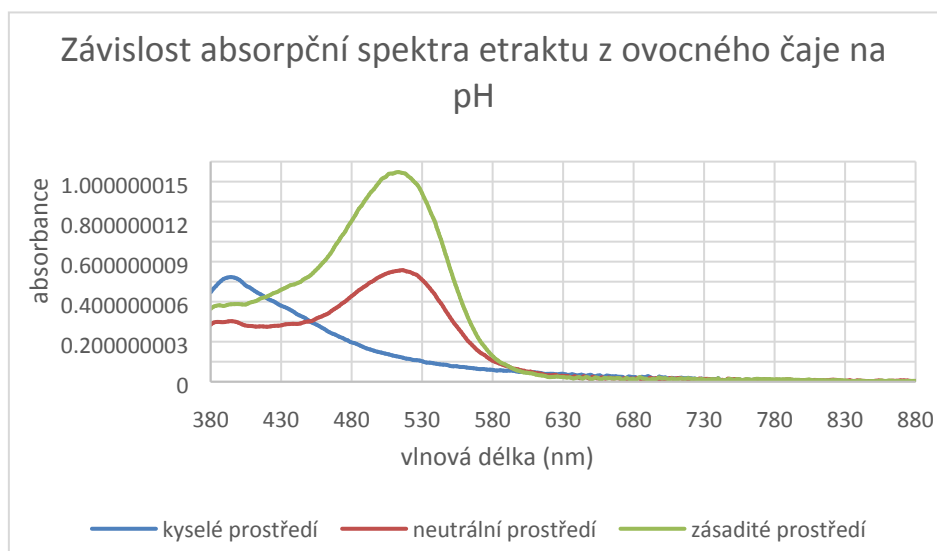
Obrázek č. 34: Ovocný čaj
(zleva: zásadité pH, neutrální pH, kyselé pH)



Obrázek č. 35: Rajčatová šťáva
(zleva: zásadité pH, neutrální pH, kyselé pH)



Obrázek č. 36: Červená paprika (zleva: zásadité pH, neutrální pH, kyselé pH)



Obrázek č. 37: Závislost absorpčního spektra extraktu z ovocného čaje na pH

Komentář: Použité suroviny obsahují dva druhy barviv: karotenoidy (lykopen, kapsanthin, β -karoten) a anthokyaniny, které jsou, jak již víme, tvořeny cukernou složkou a anthokyaniny (kyanidin, delphinidin, pelargonidin, peonidin). Právě různě protonované formy anthokyaninů se od sebe barevně liší podle toho, v jakém prostředí se nacházejí. Protonizovaná forma v kyselém prostředí má červenou barvu, kdežto deprotonovaná forma v bazickém prostředí má barvu modrou až zelenou. Konjugovaný systém dvojných vazeb v protonizované formě molekuly umožňuje odtržení vodíkového kationtu. Toto odtržení vyvolá posuny v rozložení elektronů a energetických hladin, čímž ovlivní i vlnovou délku světla pohlcovaného barvivem, tudíž i barvu molekuly. Karotenoidy tuto vlastnost nemají, takže hodnota pH nemá na jejich zbarvení vliv, proto je můžeme od anthokyanů, které na změnu pH reagují změnou zbarvení, bezpečně rozlišit.

Jak anthokyaniny reagují barevnou změnou na změnu pH si můžeme všimnout i v naměřením absorpčním spektru. Zejména v kyselém prostředí byly absorbovány nižší vlnové délky než v prostředí neutrálním, což koreluje s barevnou změnou extraktu.

3.1 ZMĚNA BARVY KVĚTŮ PO VYSTAVENÍ PÁRÁM NH_3

Úvod: Tento jednoduchý experiment potvrzuje přítomnost anthokyanů ve květech, jejich acidobazické vlastnosti a možnost jejich využití jako indikátory bazického prostředí.

Pomůcky: kádinky

Chemikálie a suroviny: vodný roztok amoniaku, různé květy

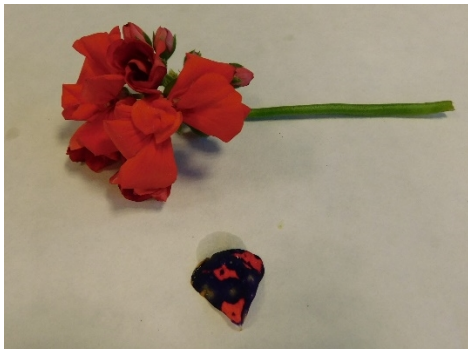
Provedení: Na dno kádinky byl nalit roztok amoniaku, jehož párami se za okamžik kádinka naplnila, a byl do ní vložen květ. Po chvíli byly pozorovány barevné změny.



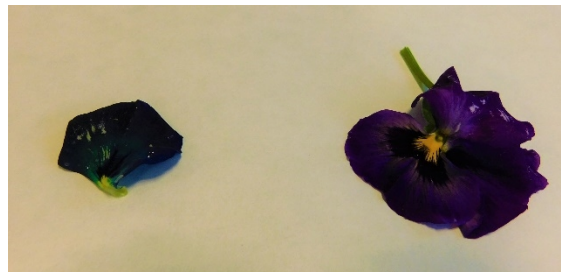
Obrázek č. 38: Tulipán
(neutrální prostředí, zásadité prostředí)



Obrázek č. 39: Okvětní lístky růže
(zásadité prostředí, neutrální prostředí)



Obrázek č. 40: Pelargonie
(neutrální a zásadité prostředí)



Obrázek č. 41: Maceška
(zásadité prostředí, neutrální prostředí)

Komentář: Páry amoniaku pronikají do pletiv rostlin, kde se ve vodě rozpouštějí, čímž roste hodnota pH. Pokud jsou v rostlinných pletivech přítomny anthokyany, dojde ke změně barvy. Obrázky pořízené během experimentu nám potvrzují, že v použitých květech se anthokyany opravdu nacházejí.

4 ROZDĚLENÍ A IDENTIFIKACE ROSTLINNÝCH BARVIV S VYUŽITÍM TENKOVRSŤVÉ CHROMATOGRRAFIE A SPEKTROFOTOMETRIE

(Šulcová, Pisková, 2008)

Úvod: Tento experiment představuje dvě významné a hojně využívané analytické metody. Z extrahované směsi barviv můžeme jednotlivé pigmenty separovat pomocí tenkovrstvé chromatografie (TLC). K identifikaci jednotlivých barviv nám slouží spektrofotometrie ve viditelné oblasti spektra.

Pomůcky: kádinky, zkumavky, filtrační kruh, filtrační nálevka, filtrační papír, stojan, odměrný válec, třecí miska s tloučkem, váhy, lžička, stříčka s destilovanou vodou, Pasteurova pipeta, Silufol, nůžky, spektrofotometr s příslušenstvím

Chemikálie a suroviny: destilovaná voda, uhličitán vápenatý, aceton, směs petrolether (nebo benzín) – isopropylalkohol (propan-2-ol) – voda (v objemovém poměru 100:10:0,25), listy břečťanu, mletá paprika

Provedení: Příprava vyvíjecí soustavy: Mobilní fáze petrolether – isopropylalkohol – voda (100:10:0,25) byla nalita do vyvíjecí komory do výšky asi 1 cm. Vyvíjecí soustava byla uzavřena a ponechána stranou.

Extrakce barviv: Poté bylo nastříháno asi 10 břečťanových listů, které byly spolu s malým množstvím uhličitanu vápenatého (asi polovina laboratorní lžičky) dány do třecí misky. Obsah misky byl několik minut lehce roztírán s asi 5 cm³ acetonu. Když vznikla z listů jemná kaše, bylo přidáno asi 15 cm³ acetonu a směs byla ještě několik minut jemně roztírána. Vzniklý homogenát byl přefiltrován přes filtrační papír, čímž byl získán zelený extrakt. S mletou paprikou byla provedena pouze extrakce a filtrace.



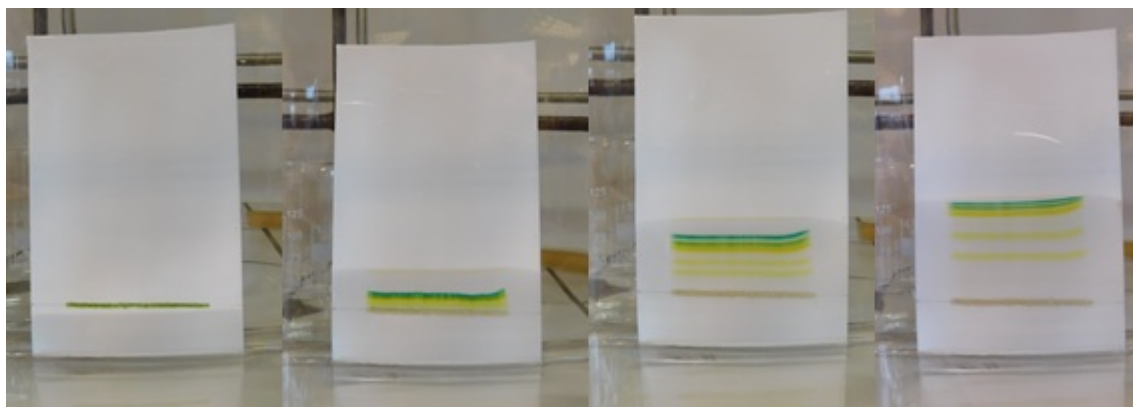
Obrázek č. 42: Nastříhané listy břečťanu



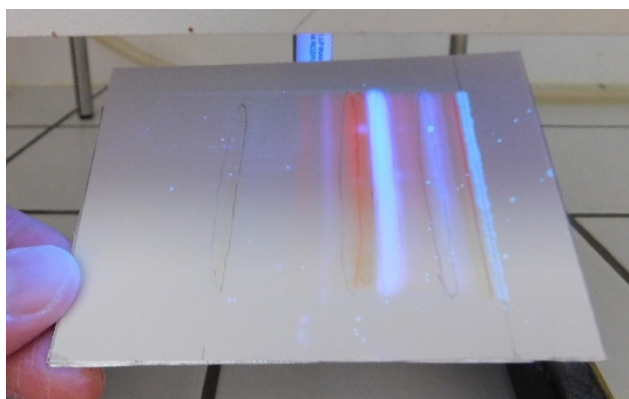
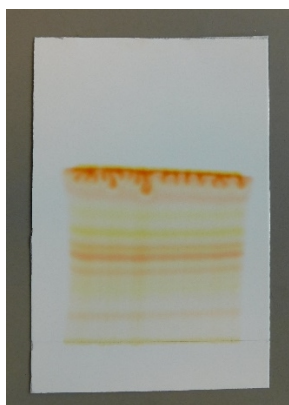
Obrázek č. 43: Filtrace břečťanového homogenátu

Příprava TLC desky: Z velké desky Silufolu byl odstříhnut takový pruh, aby mohl být do komory volně vložen. Asi 2 cm od spodního okraje byl tužkou jemně narýsován start.

Chromatografické dělení: Na startovní čáru bylo potřeba pomocí kapiláry několikrát po sobě opatrně nanesen extrakt. Po nanesení byla destička vložena do vyvíjecí komory, komora byla uzavřena a celá soustava byla pozorována. Jakmile mobilní fáze přestala vzlínat, byla destička vyjmuta. Na destičce bylo zaznamenáno několik barevných skvrn, které byly zakresleny. Vzorek byl také zkoumán pod UV lampou při použití světla o vlnové délce 366 nm.



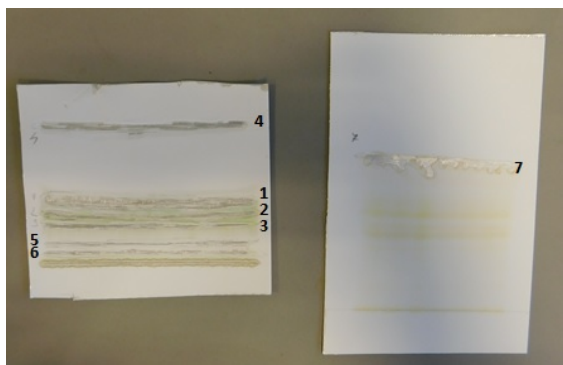
Obrázek č. 44: Průběh chromatografického dělení barviv z listů břečťanu



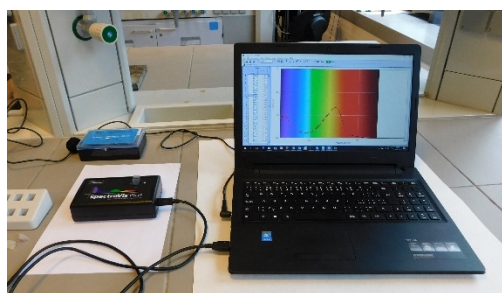
Obrázek č. 45: TLC barviv z mleté papriky Obrázek č. 46: Fluorescence některých barviv při 366 nm

Extrakce a měření absorpčních spekter rozdělených barviv: Sorbent s jedním barevným pruhem byl z destičky opatrně vyškrábán pomocí malého nožíku. Získaný materiál byl ve zkumavce smíchán s asi 5 cm³ acetonu. Po několika minutách byl roztok přefiltrován. Do spektrofotometrické kyvety bylo napipetováno vždy asi 2 cm³ extraktu. Kyveta byla vložena do měřicí cely a bylo proměřeno absorpční spektrum. Na základě porovnání pozice maxima a tvaru absorpčního spektra byla rostlinná barviva identifikována.

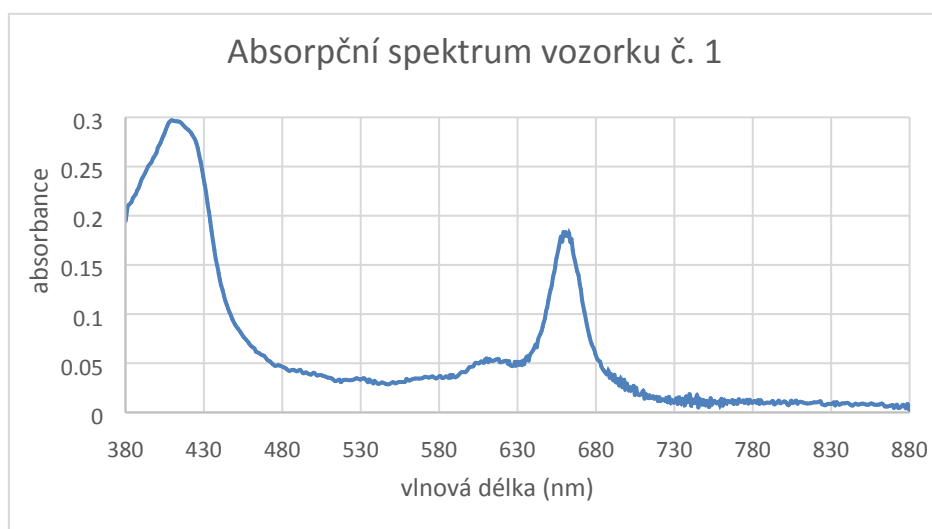
Podle získaných absorpčních spekter byly identifikovány rostlinná barviva takto: vzorek č. 1 – chlorofyl *a*, vzorek č. 2 – chlorofyl *b*, vzorek č. 3 – lutein, vzorek č. 5 – violaxanthin, či zeaxanthin, vzorek č. 6 – violaxanthin, či zeaxanthin, vzorek č. 7 – lykopen.



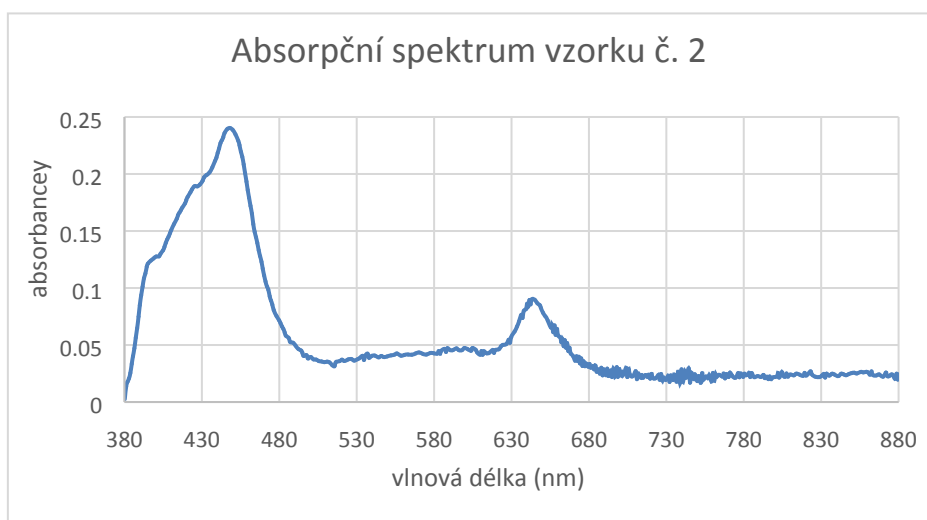
Obrázek č. 47: Očíslování zkoumaných barevných skvrn na destičce



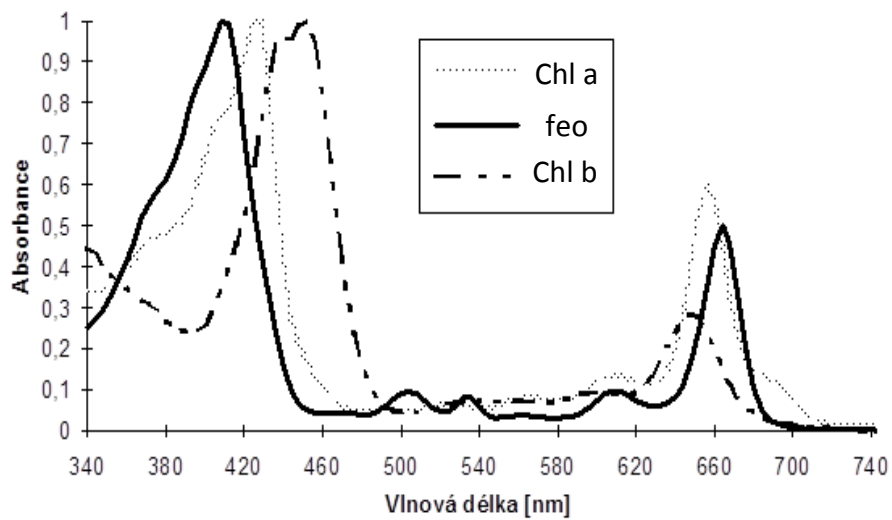
Obrázek č. 48: Zapojený spektrofotometr



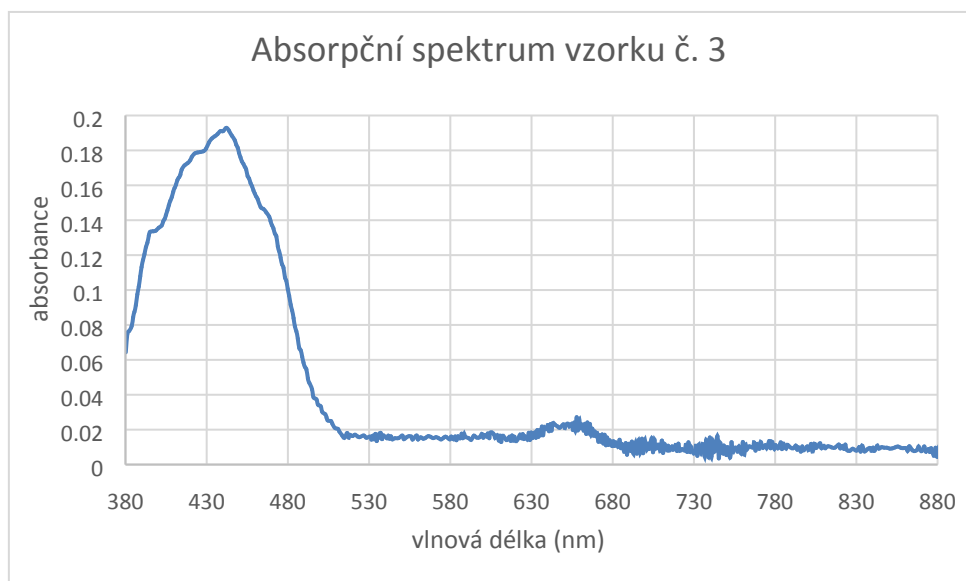
Obrázek č. 49: Absorpční spektrum vzorku č. 1



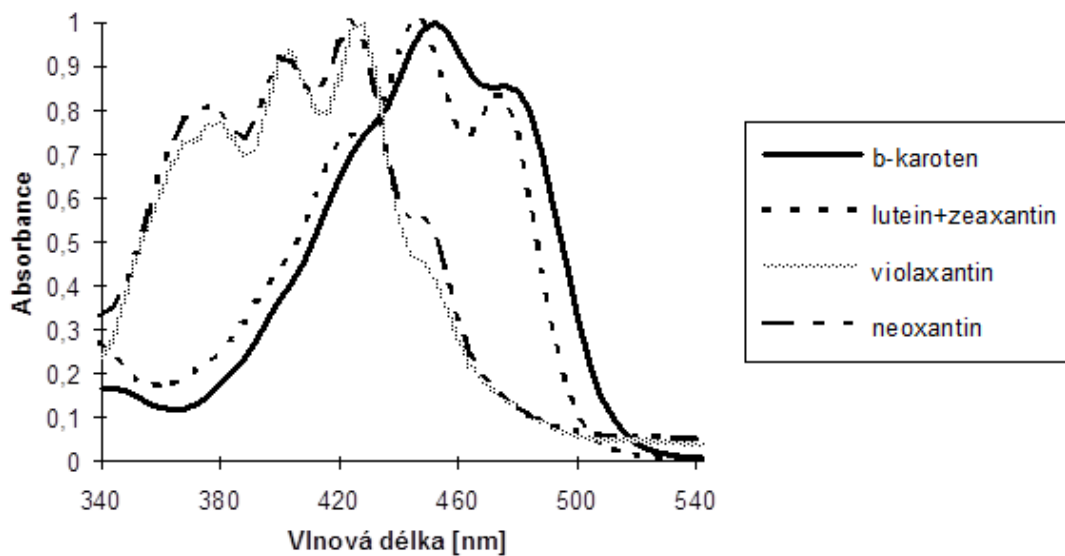
Obrázek č. 50: Absorpční spektrum vzorku č. 2



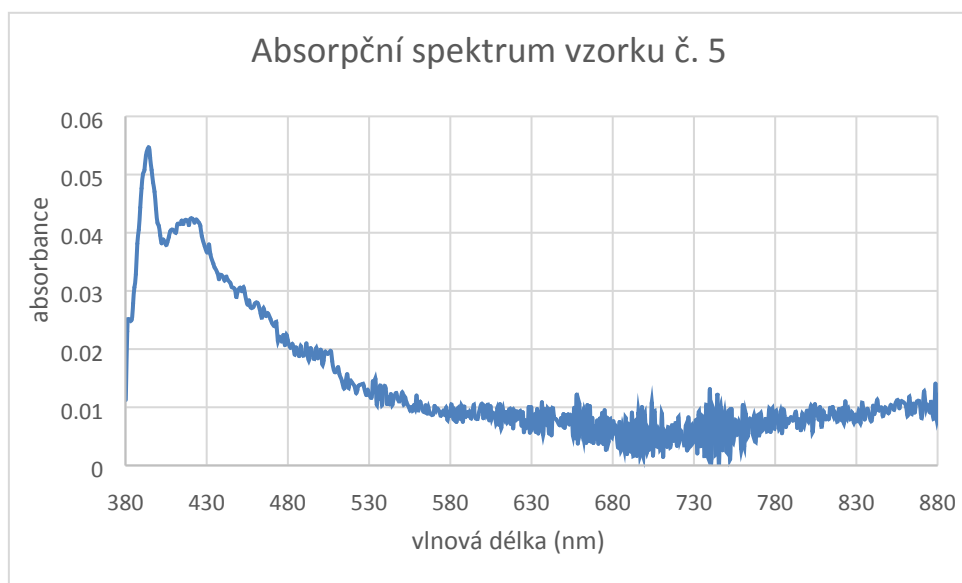
Obrázek č. 51: Publikované absorpční spektrum chlorofylu *a* a *b* (<http://www.biofyzika.upol.cz/cs/>)



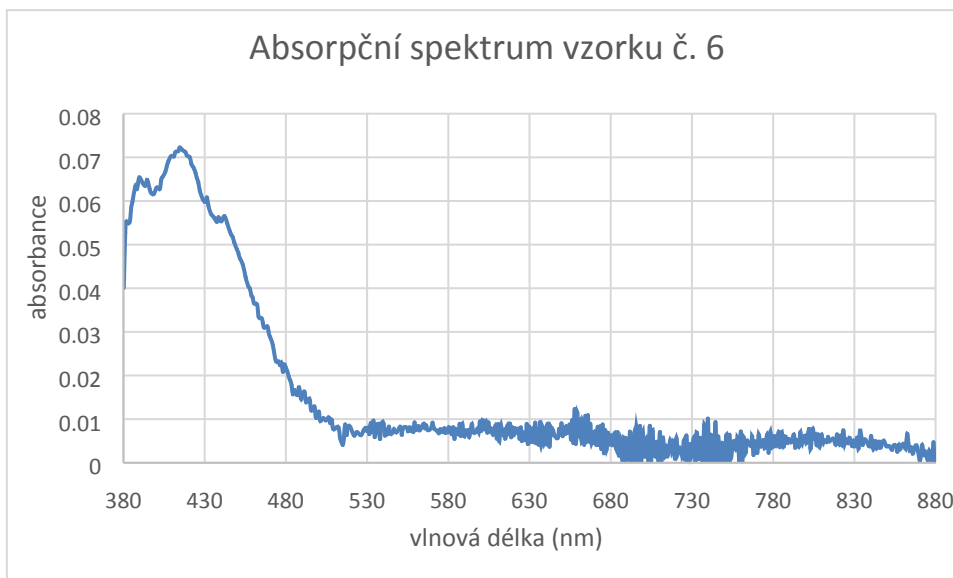
Obrázek č. 52: Absorpční spektrum vzorku č. 3



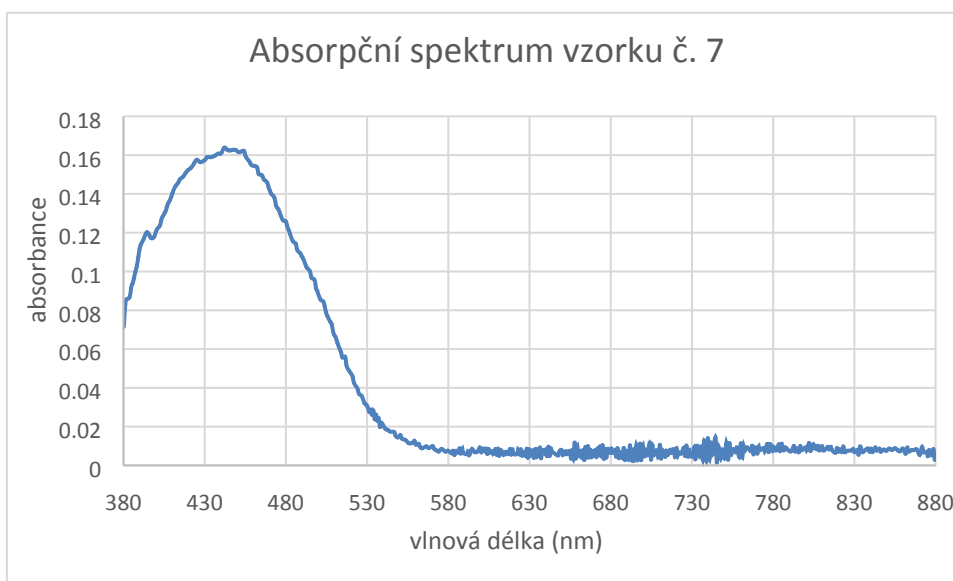
Obrázek č. 53: Publikované absorpční spektrum luteinu, zeaxanthinu a violaxanthinu
 (<http://www.biofyzika.upol.cz/cs/>)



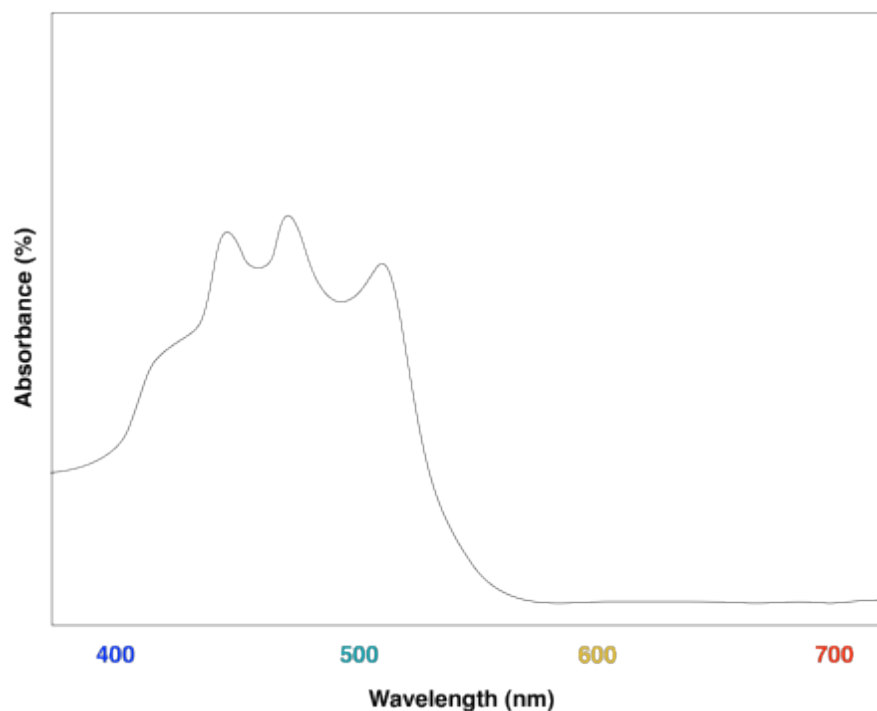
Obrázek č. 54: Absorpční spektrum vzorku č. 5



Obrázek č. 55: Absorpční spektrum vzorku č. 6



Obrázek č. 56: Absorpční spektrum vzorku č. 7



Obrázek č. 57: Publikované absorpční spektrum lykopenu (<https://employees.csbsju.edu/>)

Tabulka č. 3: Publikované a naměřené vlnové délky absorpčních maxim sledovaných pigmentů

barvivo	vlnová délka publikovaných absorpčních maxim (nm)	vzorek	vlnová délka naměřených absorpčních maxim (nm)
Chlorofyl <i>a</i>	436; 663	č. 1	413; 664
Chlorofyl <i>b</i>	460; 646	č. 2	451; 646
Lutein	460; 490	č. 3	445
Lykopen	443; 471; 502	č. 7	450
Violaxanthin	436	č. 5	395
Zeaxanthin	450	č. 6	420

Komentář: Při TLC byla destička z vyvíjecí komůrky vytažena, jakmile přestala mobilní fáze vzlínat nahoru. Po určité době totiž přestane čelo mobilní fáze postupovat a další

čekání nedává smysl, protože se jednotlivé zóny dělených látek k sobě přibližují a zároveň se rozmývají.

Při přechodu excitované molekuly do základního stavu může dojít k emisi záření. Některé látky po excitaci světlem jsou schopny opět světlo vyzářit. Sekundární záření, které je charakterizováno vyzářením energie ve velmi krátké době po excitaci, se nazývá fluorescence. Některé molekuly, například chlorofyl *a* a jeho rozkladné produkty, mají schopnost fluorescence, což bylo v experimentu také ověřeno.

Rostlinná barviva byla identifikována pomocí spektrofotometru především porovnáním naměřených absorpčních maxim s publikovanými hodnotami.

V tomto experimentu bylo také zjištěno, že listová barviva neobsahuje pouze zelené barvivo, ale také ostatní barevné pigmenty. Tato rostlinná barviva však bývají překryta zeleným barvivem chlorofylem, proto mají listy břečťanu zelenou barvu. Ostatní pigmenty obsažené v listech (např. červené až žluté karotenoidy) jsou viditelné v podzimních měsících. Chlorofyly se v tuto dobu totiž rozkládají dříve než karotenoidy, proto mají listy na podzim barvu žlutou až červenou. Mletá červená paprika obsahovala pouze karotenoidy.

5 DUHA Z RAJČATOVÉ ŠŤÁVY

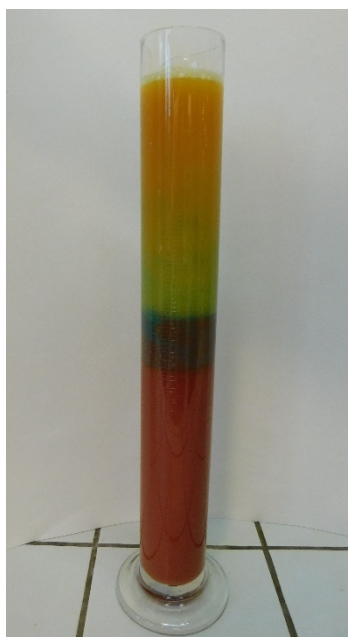
(MacBeath, Richardson, 1986)

Úvod: Experiment demonstruje přítomnost dvojných vazeb v karotenoidech a efekt zkracování systému konjugovaných vazeb na barvu působením bromové vody. Pro vysokou toxicitu bromu by měl být pokus prováděn pouze učiteli a ve výuce by měl být použit pouze při demonstračních výstupech.

Pomůcky: odměrný válec

Chemikálie a suroviny: bromová voda, rajčatová šťáva

Provedení: Do odměrného válce o objemu 500 cm³ bylo nalito asi 500 cm³ rajčatové šťávy. Poté bylo přidáno asi 10 cm³ bromové vody. Roztok byl lehce zamíchán a byly pozorovány barevné změny.



Obrázek č. 58: Duha z rajčatové šťávy a bromové vody

Komentář: V rajčatové šťávě se nachází červenooranžový karotenoid lykopen, který má velké množství konjugovaných dvojných vazeb. Při přidání bromové vody do rajčatové šťávy se velmi reaktivní brom aduje na dvojně vazby lykopenu. Adice probíhá na koncích nebo někde mezi konci řetězce, přičemž každá adice znamená zkrácení konjugovaného systému (zmenšení počtu vazeb v konjugaci). Tím se mění také vlnová délka pohlcovaného záření. Adsorpce světla se tak posouvá do jiných částí spekter, čímž je vyvolána barevná změna roztoku (od červené k oranžové a žluté). Pronikání bromu do rajčatové šťávy tak vyvolává duhový efekt, který je ještě více podpořen mícháním, které tento proces odbarvování ještě urychluje.

Zajímavý je také vznik modré barvy – v roztoku se tvoří komplex lykopenu s bromem, který naopak absorbuje záření o delších vlnových délkách. Proto také pořadí barev neodpovídá jejich pořadí v duze.

6 DŮKAZ PŘÍTOMNOSTI ANTHOKYANŮ V LENTILKÁCH

Úvod: Výrobci lentilek na obalu tvrdí, že jsou lentilky obarveny přírodními barvivy anthokyany. Tento jednoduchý experiment dokazuje přítomnost anthokyanů v lentilkách pomocí charakteristické reakce změny barvy na změnu pH prostředí.

Pomůcky: kádinky, odměrný válec, skleněná tyčinka, laboratorní lžička

Chemikálie a suroviny: jedlá soda, kyselina citrónová, voda, lentilky (obarveny přírodními látkami)

Provedení: Bylo vybráno 10 lentilek jedné barvy (červené, růžové, fialové či oranžové), které byly vloženy do kádinky s asi 75 cm³ vody. Lentilky byly ve vodě odbarvovány asi 30 sekund (dokud úplně nezbělaly). Barevný roztok byl rovnoměrně rozdělen do tří zkumavek. Do první zkumavky byla přidána asi jedna laboratorní lžička jedlé sody, do třetí byla přidána asi jedna laboratorní lžička kyseliny citrónové. Rostok ve druhé zkumavce nám sloužil jako kontrola. Byly pozorovány barevné změny.

Komentář: Extrakt z lentilek měl v kontrolní zkumavce světle červenou, světle oranžovou či světle fialovou barvu (podle výběru barvy lentilek). V kyselém prostředí se barva změnila na světle růžovou, v prostředí bazickém na modrou až zelenou (opět podle výběru barvy lentilek). Experiment dokázal, že lentilky jsou barveny přírodními barvivy anthokyany, tudíž jsou pro lidský organismus (do jisté míry) neškodné.

III ZÁVĚR

Bakalářská práce obsahuje přehledný didaktický text, který je věnován rostlinným barvivům ze skupiny chlorofylů, karotenoidů a anthokyanů. Pojednává nejen o jejich chemických vlastnostech, jako je struktura a reakční schopnosti, ale také o praktickém využití barviv člověkem. Pro lepší pochopení tématu rostlinných barviv vysvětluje také, jak vůbec barva vzniká a proč mají pigmenty právě takovou barvu.

S rostlinnými barvivy lze provést také mnoho experimentů, které mohou být využity i v laboratorních cvičeních chemie. Několik z nich bylo vybráno a prakticky vyzkoušeno v laboratoři a na Dětské univerzitě v rámci projektu MjUNI. Bakalářská práce tak obsahuje vlastní pracovní postup a komentář k jednotlivým pokusům, které jsou doplněny věcnými fotografiemi, grafy a spektry. Pro studenty byly vytvořeny také pracovní listy, které mohou při laboratorních cvičeních studenti využít.

Jeden z pracovních listů jsem také prakticky využila v rámci Dětské univerzity, kde jsem s dětmi prováděla experiment s lentilkami. Dětem se pokus líbil a velmi je zaujal. Mě osobně tato zkušenost jenom utvrdila v mé volbě učitelského studia chemie.

Závěrem je nutné dodat, že téma rostlinných barviv bývá pro učitele i žáky obtížné a často špatně uchopitelné. Věřím, že bakalářská práce přibližuje téma rostlinných barviv učitelům a žákům a může být reálně využita při frontální, ale i experimentální výuce chemie.

IV ZDROJE

1 LITERATURA

- [1] AKEMI, O., NOBUHIRO, S., YOSHIKAZU, T., Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *The Plant Journal*. 2008 vol. 54, p. 733–749
- [2] AZEVEDO, R. A., CARVALHO R. F., TAKAKI, M. Plant pigments: the many faces of light perception. *Acta Physiol Plant*. 2011, vol. 33, p. 241–248
- [3] BARTLEY, G. E., SCOLNIK, P. A. Plant Carotenoids: Pigments for Photoprotection, Visual Attraction, and Human Health. *The Plant Cell*. 1995, vol. 7, p. 1027–1038
- [4] BOO, H. et al. Extraction and characterization of some natural plant pigments. *Industrial Crops and Products*. 2012, vol. 40, p. 129–135
- [5] BEREZIN, B. D., BEREZIN, M. B., ZVEZDINA, S. V. Natural Dyes Based on Chlorophyll and Protoporphyrin Derivatives. *Russian Journal of Coordination Chemistry*. 2010, vol. 36, no. 9, p. 711–714
- [6] CARLSON, E. E., GARBER, K. C. A., ODENDAAL, A. Y. Plant Pigment Identification: A Classroom and Outreach Activity. *Journal of chemical education*. 2013, vol. 90, p. 755–759
- [7] CRISTEA, D., VILAREM, G. Improving light fastness of natural dyes on cotton yarn. *Dyes and Pigments*. 2006, vol. 70, p. 238–245
- [8] FERNÁNDEZ-GRACÍA, E., et al. Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. *Food Research International*. 2012, vol. 46, p. 438–450
- [9] GERASIMOV, A. V. Method for determining color characteristics of plant pigments. *Chemistry of Natural Compounds*. 2000, vol. 36, no. 6, p. 579–583
- [10] GLOVER, B. J., WHITNEY, H. M. Structural colour and iridescence in plants: the poorly studied relations of pigment colour. *Annals of Botany*. 2010, vol. 105, p. 505–511
- [11] GONZÁLES-PARMÁS, A.M. et al. Flavanol–anthocyanin condensed pigments in plant extracts. *Food Chemistry*. 2006, vol. 94, p. 428–436

- [12] GÜRSES, A. et al. *Dyes and pigments*. 8. edition. Berlin: Springer, 2016. 83. p., ISBN 978-3-319-3389-3
- [13] HRNČIŘÍKOVÁ, I., KLESCHT, V., MANDELOVÁ, L. *Éčka v potravinách*. 1. vydání. Brno: Computer Press, a. s., 2006, 108 s. ISBN 80-251-1292-6
- [14] KANANYKHINA, E. N., PILIPENKO, I. V. Characteristics of the pigments from anthokyan-containing food plants, raw material for production of bioflavonoid dyes. *Chemistry of Natural Compounds*. 2000, vol. 36, no. 2, p. 148–151
- [15] MACBEATH, M. E., RICHARDSON, A. L. Tomato Juice Rainbow – A Colorful and Instructive Demonstration. *Journal of chemical education*. 1986, vol. 63. no. 90, p. 1092–1094
- [16] MAITLAND, D. P., MAITLAND P. D. Chromatography: Are we getting it right? *Journal of Biological Education*. 2002, vol. 37:1, p. 6–8
- [17] MCINDOE, J. S., STODDARD, R. L. The color-changing spots drink: An ingestible demonstration. *Journal of chemical education*. 2013, vol. 90, p. 1032–1034
- [18] MERZLYAK, M. N., et al. Application of Reflectance Spectroscopy for Analysis of Higher Plant Pigments. *Russian Journal of Plant Physiolog.*. 2003, vol. 50, no. 5., p. 704–710
- [19] MOURI, CH. Characterization of flavonols in plants used for textile dyeing and the significance of flavonol conjugates. *Dyes and Pigments*. 2014, vol. 100, p. 135–141
- [20] OREN-SHAMIR, M. Does anthocyanin degradation play a significant role in determining pigment concentration in plants? *Plant Science*. 2009, vol. 177, p. 310–316
- [21] SAKUTA, M. Diversity in plant red pigments: anthocyanins and betacyanins. *Plant Biotechnol Rep*. 2014, vol. 8, p. 37–48
- [22] SANTOS-BUELGA, C. Anthocyanins. Plant Pigments and Beyond. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014, vol. 62, p. 6879–6884
- [23] SRIVASTAVA, A. et al. Regulation of antenna structure and electron transport in Photosystem II of *Pisum sativum* under elevated temperature probed by the fast polyphasic chlorophyll a fluorescence transient: OKJIP. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1997, vol. 1320, p. 95-106

- [24] ŠULCOVÁ, R., BÖHMOVÁ, H. *Netradiční experimenty z organické a praktické chemie*. Vydání 1. Praha: Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, 2007, 110 s. ISBN 978-80-86561-81-3
- [25] ŠULCOVÁ, R., PISKOVÁ, D. *Přírodovědné projekty pro gymnázia a střední školy*. Vydání 1. Praha: Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, 2008, 146 s. ISBN 9788086561660
- [26] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3*. 2. vydání. Tábor: OSSIS, 2002, 368 s. ISBN 80-86659-02-X

2 ELEKTRONICKÉ ZDROJE

- [1] Příspěvatelé Wikipedie, *Spektroskopie* [online], Wikipedie: Otevřená encyklopedie, c2017, Datum poslední revize 7. 02. 2017, 14:17 UTC, [citováno 19. 04. 2017]
<<https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Spektroskopie&oldid=14653217>>
- [2] Wikipedia contributors, *Chlorophyll* [online], Wikipedia, The Free Encyclopedia, 28 April 2017, 21:59 UTC,
<<https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Chlorophyll&oldid=777729148>>
[accessed 9 May 2017]
- [3] <http://citaty.net> – *Citáty o vědě* [online], Jablonec nad Nisou [citováno 21. 04. 2017], <<http://citaty.net/citaty-o-vede/>>
- [4] <http://fyzika.jreichl.com> – *Barva světla a barva tělesa* [online], Praha [citováno 22. 02. 2017], < <http://fyzika.jreichl.com/main.article/view/544-barva-svetla-a-barva-telesa>>
- [5] <http://fyzika.jreichl.com> – *Barevný trojúhelník* [online], Praha [citováno 23. 04. 2017], <<http://fyzika.jreichl.com/main.article/view/548-barevny-trojuhelnik>>
- [6] <http://www.wikiskripta.eu> – *Vitamin A* [online], 2010, [citováno 21. 04. 2017], <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Vitamin_A>
- [7] <http://expoz.cz> – *Studium rostlinných barviv* [online], Polička, 2012 [citováno 23. 04. 2017], <<http://expoz.cz/sites/default/files/media/texty/51/expoz-ch-19.pdf>>

3 ZDROJE OBRÁZKŮ

Obr. č. 1: <http://fyzika.jreichl.com/main.article/view/548-barevny-trojuhelnik> [citováno 07. 05. 2017]

Obr. č. 12: <http://fitastyl.sk/clanky/zdravie/karotenoidy> [citováno 07. 05. 2017]

Obr. č. 13: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=5723408>, author: Leonardo Ré-Jorge [citováno 07. 05. 2017]

Obr. č. 14: <http://www.priroda.cz/clanky.php?detail=2777>, autor: Burliai [citováno 07. 05. 2017]

Obr. č. 16: <http://www.ulekare.cz/clanek/zazracne-anthokyany-zdravi-ukryte-v-zarivych-barvach-21161> [citováno 07. 05. 2017]

Obr. č. 17: <http://botany.cz/cs/myosotis-sylvatica/>, autor: Jindřich Houska [citováno 07. 05. 2017]

Obr. č. 26: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=135192>, autor: Fir0002/Flagstaffotos [citováno 07. 05. 2017]

Obr. č. 27: <http://botany.cz/cs/sambucus-nigra/>, autor: Jindřich Houska [citováno 07. 05. 2017]

Obr. č. 51 a obr. č. 53:

http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:_WWaFMsywg8J:www.biofyzi.ka.upol.cz/userfiles/file/TLC.docx+&cd=1&hl=cs&ct=clnk&gl=cz [citováno 16. 05. 2017]

Obr. č. 57:

<https://employees.csbsju.edu/cschaller/Reactivity/photosynth/PSphotosystemII.htm>, author: Chris P. Schaller, Ph.D. [citováno 16. 05. 2017]

V SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Pracovní listy pro studenty

Příloha 1: Pracovní listy pro studenty

*„Věda má každému jednotlivci tolik jisker rozkřísnouti, kolik síla zraku jeho snéstí může.“
Jan Evangelista Purkyně*

VÝROBA BAREVNÉ LIMONÁDY

Zadání: Extrahujte rostlinná barviva z červené řepy a borůvek a pomocí kyseliny citrónové a jedlé sody vyrobte vlastní šumivý nápoj.

Pomůcky: kádinky, skleněné tyčinky, nůž, odměrný válec, laboratorní váhy

Chemikálie a suroviny: jedlá soda, kyselina citrónová, destilovaná voda, červené zelí, borůvky

Poznámka: Pokus je možno provést i doma (místo kádinek lze použít sklenice). Vlastní nápoj je zdravotně nezávadný, doma jej můžete tedy i ochutnat.

Postup:

Limonáda z červeného zelí:

- Asi pět listů červeného zelí nakrájejte a zalijte horkou vodou.
- První kádinku naplňte asi 10 cm³ extraktu a doplňte ji do jedné třetiny vodou.
- Přidejte trošku jedlé sody; asi tolik, aby roztok získal světle modrou barvu. Zaznamenejte si barvu roztoku.
- Druhou kádinku naplňte do poloviny vodou, přidejte navíc asi 0,5 g kyseliny citrónové a opět zaznamenejte barvu vzniklého roztoku.
- Roztoky z obou kádinek smíchejte a barvu výsledného roztoku zapište do tabulky.

Limonáda z borůvek:

- Několik borůvek nakrájejte a zalijte opět horkou vodu.
- První kádinku naplňte 10 cm³ extraktu a doplňte ji do jedné třetiny vodou. Zaznamenejte si barvu roztoku.
- Druhou kádinku naplňte do poloviny vodou, přidejte asi jednu malou lžičku cukru a jednu lžičku jedlé sody a opět si poznamenejte barvu roztoku.
- Roztoky z obou kádinek smíchejte a barvu výsledného roztoku zapište do tabulky.

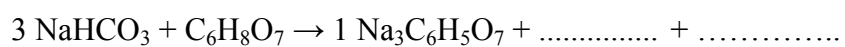
Výsledky:

	barva roztoku extrakt + voda + jedlá soda	barva roztoku voda + kyselina citrónová + jedlá soda	barva výsledného roztoku
extrakt z červeného zelí			

	barva roztoku extrakt + voda	barva roztoku voda + cukr + jedlá soda	barva výsledného roztoku
extrakt z borůvek			

Doplňující otázky a úkoly:

1. Která rostlinná barviva byla extrahována a co o nich víš?
2. V jakých dalších surovinách se mohou tyto pigmenty nacházet?
3. Co způsobovalo změnu barvy roztoku?
4. Dopln a vyčíslí rovnici reakce. Co způsobovalo „šumění“ nápoje?



„Nejkrásnější, co můžeme prožívat, je tajemno. To je základní pocit, který stojí u kolébky pravého umění a vědy.“
Albert Einstein

ČERVENÁ ROSTLINNÁ BARVIVA JAKO INDIKÁTORY pH

Zadání: Extrahujte červená rostlinná barviva z dostupných surovin. Na základě reakcí extraktů na změnu pH rozdělte získaná barviva do dvou skupin. Každou skupinu charakterizujte a pokuste se najít společné a odlišné znaky, které mají.

Pomůcky: zkumavky ve stojáнку, kádinky, skleněné tyčinky, odměrný válec, nůž

Chemikálie a suroviny: 5% roztok kyseliny sírové, 5% roztok hydroxidu sodného, destilovaná voda, kečup, paprika, ovocný čaj, červená cibule, červené hroznové víno

Postup:

- Z každé suroviny extrahujte rostlinné červené barvivo podle potřeby (zeleninu nakrájejte a zalijte horkou vodou, čaj vyluhujte, kečup postačí zředit horkou vodou).
- Pro každý extrakt budete potřebovat 3 zkumavky. Pro jednodušší identifikaci si můžete zkumavky popsat lihovým fixem.
- Do první zkumavky nalijte 3 cm³ roztoku NaOH, do druhé 3 cm³ vody a do třetí 3 cm³ roztoku H₂SO₄.
- Poté do každé zkumavky přidejte 3 cm³ příslušného extraktu a pozorujte a zaznamenejte si barevnou změnu.
- Tento postup opakujte se všemi extrakty z příslušných surovin.

Výsledky:

suroviny	barva roztoku v 1. zkumavce	barva roztoku v 2. zkumavce	barva roztoku ve 3. zkumavce

Doplňující otázky a úkoly:

1. Se kterými skupinami červených barviv jsme se v této úloze setkali?
2. Podle jaké skutečnosti jsme mohli barviva rozdělit do dvou skupin?
3. Nadepiš tabulku názvy skupin barviv a přiřď k nim příslušné použité suroviny.

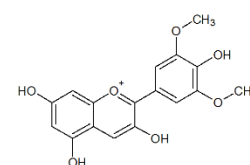
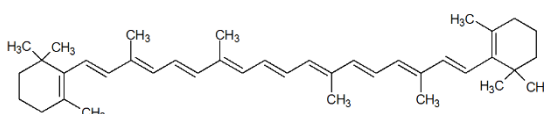
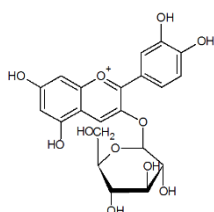
kečup, čaj, paprika, ...

4. Co mají tyto dvě skupiny společného a v čem se naopak liší? Vypiš.

SPOLEČNÉ vlastnosti

ODLIŠNÉ vlastnosti

5. Urči, do které skupiny barviv sloučenina patří a vysvětli.



ZMĚNA BARVY KVĚTŮ PO VYSTAVENÍ PÁRÁM NH₃

Zadání: Dokažte přítomnost antokyanů na základě jejich acidobazického chování.

Pomůcky: kádinky

Chemikálie a suroviny: vodný roztok amoniaku, různé květy

Postup:

- Podle počtu květů si nachystejte odpovídající počet kádinek.
- Každou kádinku naplňte vodným roztokem amoniaku tak, aby pokrývala pouze dno a ve vzniklých párách promáchejte květ.
- Pozorujte barevné změny.

Doplňující otázky a úkoly:

1. Vyberte správná tvrzení.

Anthokyany jsou *červená/zelená* rostlinná barviva, patřící do skupiny *flavonoidů/tetrapyrrolů*. V přírodě jsou *málo/velice* rozsáhlou skupinou rostlinných pigmentů. Díky jejich acidobazickým vlastnostem je můžeme využívat jako indikátory *kyselého/bazického*. Anthokyany se hojně využívají jako *textilní/potravinářská* barviva. Nejintenzivnější barvu mají v prostředí o pH nižším než 3, tudíž jsou vhodnější pro barvení *kyselých/zásaditých* potravin.

2. U každé skupiny napište alespoň 3 druhy rostlin, ve kterých se anthokyany nacházejí.

ovoce:

zelenina:

květiny

„Věda – a to je jejím nejkrásnějším přívlastkem – je základním prvkem spojujícím myšlenky lidí, roztroušených po celém světě.“
Frédéric Joliot-Curie

ROZDĚLENÍ A IDENTIFIKACE ROSTLINNÝCH BARVIV S VYUŽITÍM TCL A SPEKTROFOTOMETRIE

Zadání: Extrahujte z listů břečťanu rostlinná barviva. K separaci a identifikaci extrahovaných barviv využijte TCL a spektrofotometrii.

Pomůcky: kádinky, zkumavky, filtrační kruh, filtrační nálevka, filtrační papír, stojan, odměrný válec, třecí miska s tloučkem, váhy, lžička, stříčka s destilovanou vodou, Pasteurova pipeta, Silufol, nůžky, spektrofotometr s příslušenstvím

Chemikálie a suroviny: destilovaná voda, uhličitán vápenatý, aceton, petrolether (nebo) benzín, izopropylalkohol (propan-2-ol), listy břečťanu, mletá červená paprika

Postup:

Příprava vyvíjecí soustavy:

- Připravte mobilní fázi; smíchejte 50 cm³ benzínu, 5 cm³ propan-2-olu a 200 µl vody nebo použijte předem připravenou směs.
- Do komory nalijte asi takové množství směsi, aby hladina sahala do výšky 1 cm.
- Vyvíjecí soustavu uzavřete a ponechejte stranou.

Extrakce barviv:

- Nastříhejte asi 10 břečťanových listů, které spolu s malým množstvím uhličitanu vápenatého (asi polovina laboratorní lžičky) dejte do třecí misky.
- Obsah misky několik minut lehce roztírejte s asi 5 cm³ acetonu.
- Když vznikne z listů jemná kaše, přidejte asi 15 cm³ acetonu a směs ještě několik minut jemně roztírejte.
- Vzniklý homogenát přefiltrujte přes filtrační papír, čímž získáte zelený extrakt.

Příprava TLC desky:

- Z velké desky Silufolu opatrně odstříhnete pruh, který bude končit asi 1 cm pod okrajem vyvíjecí komory a bude moci být do komory volně vložen.
- Asi 2 cm od spodního okraje tužkou jemně narýsujte start.

Chromatografické dělení:

- Na startovní čáru pomocí kapiláry několikrát opakovaně opatrně naneste extrakt.

- Po nanesení destičku vložte do vyvíjecí komory, komoru uzavřete a celou soustavu pozorujte. Jakmile vzlínající mobilní fáze dorazí asi 1 cm pod horní okraj, destičku vyjměte a narýsujte konec neboli čelo mobilní fáze.
- Na destičce si obkreslete vzniklé barevné skvrny a vypočítejte retenční faktory jednotlivých skvrn. Získaná data zaznamenejte do tabulky.

Měření absorpčních spekter rozdělených barviv:

- Každý sorbent s barevnou skvrnou z destičky opatrně seškrábejte pomocí nožičky.
- Získaný materiál vložte do zkumavky, přidejte asi 5 cm³ acetonu a barvivo extrahujte. Obsah zkumavky přefiltrujte.
- Do spektrofotometrické kyvety napipetujte vždy asi 2 cm³ filtrátu.
- Kyvetu vložte do měřicí cely a změřte absorpční spektrum. Podle absorpčních spekter a absorpčních maxim identifikujte daná barviva. Data zaznamenejte do tabulky.

Výsledky:

skvrna	retenční faktor	skvrna	retenční faktor
1.		6.	
2.		7.	
3.		8.	
4.		9.	
5.		10.	

skvrna	absorpční maximum	název barviva
1.		
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		
7.		

8.		
9.		
10.		

Doplňující otázky a úkoly:

1. Co je to TLC a na jakém principu funguje?

2. Správně spoj.

A. Patří mezi terpenoidy.

B. Vyskytuje se hojně v rajčatech.

C. Molekuly obsahují většinou 40 uhlíků.

D. Má žlutou až oranžovou barvu.

E. Jsou rozkladnými produkty chlorofylů.

a. lykopen

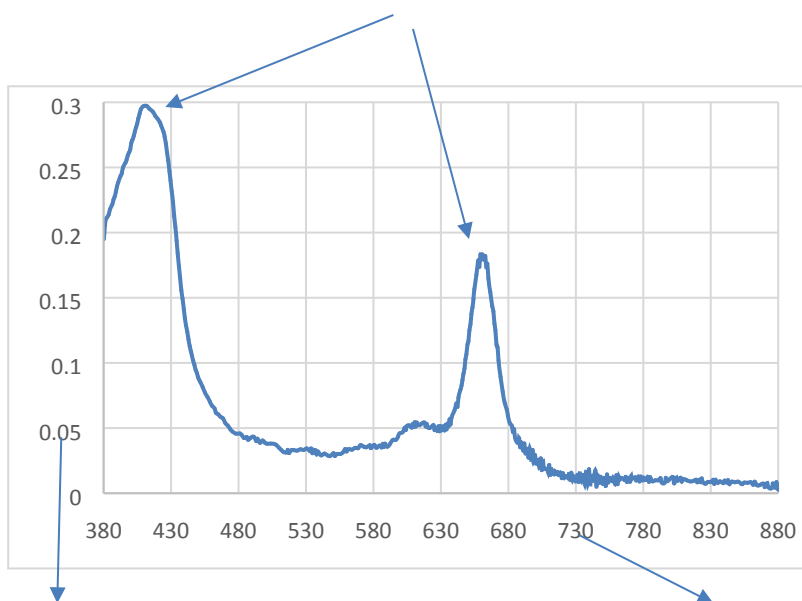
b. feofytiny

c. karotenoidy

d. chlorofyl a

e. β -karoten

3. Dopln popisky k absorpčnímu spektru vyznačené šipkami.





Rostlinná barviva a jejich důkaz

Rostlinná barviva jsou organické látky, které mají velký význam nejen v přírodě, ale také např. v potravinářském průmyslu, kde se využívají k obarvování některých potravin. Skupina rostlinných barviv zvaná anthokyany charakteristicky reaguje na změnu prostředí změnou barvy. Anthokyany proto můžeme využívat jako indikátory pH.

Pracovní postup:

- Vyberte si 10 lentilek jedné barvy (nejlépe červenou, růžovou, fialovou či oranžovou).
- Připravte si kádinku s 75 ml vody a vložte do ní lentilky.
- Lentilky nechte ve vodě odbarvovat asi 30 sekund (dokud úplně nezbělají), poté lentilky vyjměte.
- Barevný roztok rozdělte rovnoměrně do tří zkumavek.
- Do první zkumavky dejte asi jednu laboratorní lžičku jedlé sody, do druhé nic nepřidávejte a do třetí přidejte také jednu laboratorní lžičku kyseliny citrónové.
- Pozorujte barevné změny.

Experimentem jsme si dokázali, že lentilky jsou barveny přírodními barvivy anthokyany, tudíž nám nijak (do jisté míry) neškodí a můžeme je mlsat vesele dál ☐.