

**Univerzita Karlova  
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie se zaměřením na vzdělávání – Biologie se zaměřením na vzdělávání



**Tomáš Böckl**

Návrh experimentů vhodných pro výuku chemie na SŠ  
Proposal of chemical experiments suitable for secondary school education

Typ závěrečné práce:

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Simona Petrželová, Ph.D.

Praha, 2021



Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne:

Podpis:

Tímto odstavcem bych chtěl poděkovat své vedoucí závěrečné práce RNDr. Simoně Petrželové, Ph.D. za odbornou pomoc při experimentech a za pevné nervy při psaní bakalářské práce. Dále bych chtěl poděkovat za technickou podporu při práci s HPLC chromatografem doc. RNDr. Václavu Martínkovi, Ph.D., Velké poděkování taky patří mým rodičům a přátelům, kteří mě po celou dobu studia podporovali.

**Abstrakt:**

Nejoblíbenější částí předmětu chemie na SŠ byla, je a vždy bude práce v laboratoři, kde žáci provádí nejrůznější experimenty. Pomocí chemických pokusů s běžně dostupnými materiály, které žáci znají z běžného života, jako jsou tablety Spiruliny a Chlorelly, je očekáván u žáků vzrůst zájmu o předmět chemie. V této bakalářské práci jsou navrženy experimenty, které pracují se Spirulinou a Chlorellou, které se prodávají jako doplňky stravy a jsou v dnešní době považovány za superpotravinu díky vysokému obsahu proteinu.

Hlavním tématem bakalářské práce jsou však pigmenty, které Spirulina a Chlorella obsahují a které jsou jedním z témat v Organické chemii zmiňované v základním dokumentu RVP G (resp. téma Barviva). Nejprve byly provedeny experimenty s těmito pigmenty, a to jejich extrakce různými rozpouštědly a chromatografie. Následně pak pomocí HPLC a UV-Vis spektroskopie bylo popsáno, které pigmenty jsou extrahovány kterým rozpouštědlem. Na základě těchto výsledků pak byly vytvořeny materiály vhodné do výuky chemie na SŠ, a to především na téma separačních metod a polarit látek. Byly navrženy 2 laboratorní práce vhodné pro výukovou metodu IBSE, dále pak pracovní list na téma polarit látek a powerpointová prezentace pro učitele.

**Klíčová slova:**

Experiment, barviva, polarita, separace, HPLC, Spirulina, Chlorella, IBSE

**Abstract:**

The most enjoyable part of Chemistry as a subject in High school was, is, and always will be working in a laboratory, where all experiments are performed by the pupils. Chemical experiments with an easily accessible raw material such as pills of Spirulina and Chlorella are expected to increase the interest of students. For this Bachelor's work, experiments were designed and the task was performed utilizing commercial sources of Spirulina and Chlorella, which are sold as food supplements and considered to be superfoods nowadays due to their high protein content. In this Bachelor's work attention is paid to the pigments that Spirulina and Chlorella contain.

The main topic of this work are pigments, which are mentioned in the context of Organic Chemistry lessons in the RVP G documents. First, experiments with these pigments were performed, namely their extraction with various solvents and chromatography. Subsequently, it was determined by HPLC and UV-Vis spectroscopy which pigments are extracted with which solvent. Based on these results, materials suitable for teaching chemistry at secondary schools were created, especially on the topic of separation methods and polarity of substances. Two laboratory works suitable for the IBSE teaching method were proposed, as well as a worksheet.

**Keywords:**

Experiments, pigments, polarity, separation, HPLC, Spirulina, Chlorella, IBSE.

### Seznam použitých zkratk:

CGF	Růstový factor Chlorelly (Chlorella Growth Factor)
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
HPLC	Vysokoučinná kapalinová chromatografie (High-Performance Liquid Chromatography)
IBSE	Badatelsky orientovaná výuka (Inquiry-Based Science Education)
KUDCh	Katedra učitelství a didaktiky chemie
PřF	Přírodovědecká fakulta UK
R <sub>f</sub>	Retenční faktor
RNA	Ribonukleová kyselina
RVP G	Rámcový vzdělávací program pro gymnázia
SŠ	Střední škola
TLC	Chromatografie na tenké vrstvě (Thin Layer Chromatography)
$\lambda$	Vlnová délka
V <sub>R</sub>	Retenční objem
UK	Univerzita Karlova
UV-Vis	Ultrafialovo-viditelná spektroskopie

## Obsah

1	Úvod.....	9
1.1	Cíle bakalářské práce.....	10
2	Teoretická část .....	11
2.1	Spirulina .....	11
2.2	Chlorella .....	12
2.3	Rostlinné pigmenty.....	14
2.3.1	Obecný úvod.....	14
2.3.2	Chlorofyly .....	14
2.3.3	Fykocyanin .....	15
2.3.4	Karotenoidy .....	15
2.3.5	Xanthofyly.....	16
2.4	Experimentální techniky.....	17
2.4.1	Filtrace.....	17
2.4.2	Spektrofotometrie.....	18
2.4.3	Chromatografie.....	19
3	Praktická část .....	23
3.1	Experimentální část .....	23
3.1.1	Extrakce barviv různými rozpouštědly.....	23
3.1.2	Chromatografické rozdělení pigmentů z extraktů Spiruliny a Chlorelly ....	26
3.1.3	Separace pigmentů Spiruliny a Chlorelly pomocí HPLC chromatografu ...	28
3.2	Materiály pro výuku chemie na SŠ .....	45
3.2.1	Metodické pokyny pro badatelsky orientovanou výuku – IBSE.....	45
3.2.2	Laboratorní práce 1: Extrakce fykocyaninu z tablet Spiruliny.....	46
3.2.3	Laboratorní práce 2: Spirulina x Chlorella – extrakce fykocyaninu z tablety Spiruliny.....	48
3.2.4	Pracovní list: Barviva a polarita látek .....	51

3.2.5	Powerpointová prezentace Barviva .....	53
4	Diskuse.....	55
4.1	Diskuse k teoretické části .....	55
4.2	Diskuse k experimentální části.....	55
4.3	Diskuse k vytvořeným materiálům pro výuku .....	57
5	Závěr .....	58
6	Použité zdroje.....	59
7	Zdroje Obrázků .....	61
	Příloha č. 1: Extrakce barviv Spiruliny a Chlorelly různými rozpouštědly.....	62
	Příloha č. 2: TLC extraktů z tablet Spiruliny a Chlorelly v různých mobilních fázích .....	64
	Příloha č. 3: Spektra jednotlivých extraktů Spiruliny a Chlorelly .....	67
	Příloha č. 4: Standardní absorpční maxima barviv v methanolu .....	68
	Příloha č. 5: Zadání laboratorní práce č. 1 – Extrakce fykocyaninu z tablety Spiruliny .....	69
	Příloha č. 6: Zadání laboratorní práce č. 2 – Extrakce fykocyaninu z tablety Spiruliny a Chlorelly .....	71
	Příloha č. 7 Pracovní list – Barviva a polarita látek .....	73
	Příloha č. 8: Powerpointová prezentace Barviva .....	78

# 1 Úvod

Nedílnou součástí výuky chemie, především na středních školách, jsou chemické experimenty, bez kterých by byla chemie jen o představivosti. Chemické experimenty činí chemii pro žáky mnohem atraktivnější a dělají tak chemii na rozdíl od jiných předmětů jedinečnou. Experimenty mohou žáky motivovat k samostudiu a vzbudit v nich zájem o studium chemie na vysokých školách.

Když navíc v experimentech využijeme látky, které mohou žáci znát z běžného života, tak je pro ně experiment mnohem zajímavější. V této práci se věnuji především dvěma organismům, Spirulině a Chlorelle, což je sinice a řasa. Obsahují ohromné množství důležitých látek, vyznačují se vysokým obsahem proteinů, ale pro chemii, resp. chemické experimenty jsou zajímavé a využitelné díky barvivům, která obsahují. Při experimentech, které jsem navrhl, dochází k zajímavým až překvapivým barevným změnám, což může upoutat pozornost žáků a vyvolat v nich zájem o danou problematiku.

Samostatné téma barviva je zařazeno na středních školách do vzdělávacího obsahu organické chemie dle RVP G, a proto by učitelé mohli vytvořené experimenty využít do vyučovacích laboratorních hodin a dané téma i hodinu tak ozvláštnit.

Velkou motivací k výběru tématu bakalářské práce byla osobní pozitivní zkušenosti s experimenty na SŠ.

## 1.1 Cíle bakalářské práce

Cíle bakalářské práce jsou:

- literární rešerše o Spirulině a Chlorelle, pigmentech a separačních metodách využitě při experimentech
- Navržení vhodných experimentů pro výuku chemie na SŠ
- Experimentální ověření daných experimentů
- Vytvoření výukových materiálů pro SŠ včetně autorského řešení

## 2 Teoretická část

V teoretické části mé bakalářské práce budu hovořit především o dvou důležitých organismech, které používám v experimentální části bakalářské práce. Tyto organismy, řasa *Chlorella (Vulgaris)* a sinice *Spirulina (Arthrospira)*, jsou bohaté na důležité látky, především se vyznačují vysokým obsahem bílkovin, díky čemuž se řadí mezi tzv. superpotravinu. Ve své práci jsem se však zaměřil na přírodní pigmenty, která *Spirulina* a *Chlorella* obsahují.

### 2.1 Spirulina

*Spirulina (Arthrospira platensis)* je planktonická zelená sinice (Obr. 1), která tvoří vlákna složená z cylindrických buněk do trichomů, z nichž se tvoří biomasa. Vlákna *Spiruliny* se stáčí v levotočivou šroubovici (Obr. 2). Vyskytuje se především v tropických a subtropických sladkých vodách, které mají vysoké pH (až 11) a vyšší teplotu, obsahuje velké množství uhličitánů a hydrogenuhličitánů, které dodávají *Spirulině* bazické vnitřní prostředí (Vonshak et al., 2002)

*Arthrospira* je její latinské označení a patří do rodu *Oscillatoriales*. Tento název odkazuje k jejímu zatočení (Obr. 2). Existuje několik druhů *Arthrospira* jako například – *Arthrospira platensis* a *Arthrospira maxima*. Zatímco *platensis* se vyskytuje spíše v Africe, Asii a jižní Americe, *maxima* si hová v oblastech střední Ameriky (Botanic n.d.).



Obr. 1 – *Arthrospira platensis*



Obr. 2 – Vlákna *Spiruliny*

*Spirulina* obsahuje velké množství důležitých aktivních látek jako jsou vitamíny B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub> a B<sub>12</sub>, dále vitamín C, D, A, E. Našli bychom i stopové prvky (železo a

mangan) a minerály, buněčné soli, rostlinné živiny a enzymy, vysoké množství chlorofylu, fykocyaninu a dalších prospěšných pigmentů, o které se budeme zajímat. Nejdůležitější je obsah bílkovin (51-71 %) a díky tomu patří mezi potraviny s nejvyšším zastoupením bílkovin na trhu (Wikipedia, 2021).

Její největším účinkem v organismu je stimulace imunitního systému pomocí antioxidantů, které zvětšují počet bílých krvinek, zvýšení mozkové činnosti a snížení projevů alergické reakce (Botanic n.d.).

Spirulina se prodává jako doplněk stravy např. ve formě tablet, které jsou využity při pokusech popsaných v této bakalářské práci (Obr. 3, Obr. 4).



Obr. 3 – Balení Spiruliny v tabletách



Obr. 4 – Spirulina v tabletách

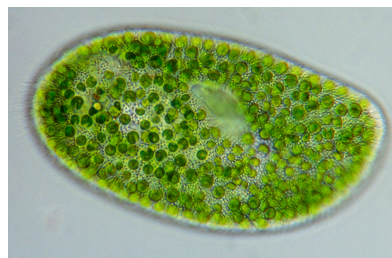
## 2.2 Chlorella

Chlorella je jednobuněčná řasa, vyskytující se ve sladké vodě (Obr. 5). Název Chlorella je odvozen od řeckého slova "*chloros*" = zelený a latinské přípony "*ella*" = malá.

Její buněčná stěna (Obr. 6) je tvořena z celulózy, kterou lidský organismus nedokáže narušit, proto se musí tato řasa rozemlít (proces dezintegrace), na rozdíl od Spiruliny, která má buněčnou stěnu z polysacharidů, které lidské tělo bez problémů stráví (ForActiv, 2016).



*Obr. 5 – Biomasa Chlorelly*



*Obr. 6 – Chlorella*

Chlorella obsahuje nejvíce chlorofylu ze všech dosud známých rostlin. Chlorofyl je látka, která se téměř shoduje s lidským krevním barvivem hemoglobinem (liší se obsahem centrálního kationtu kovu), a která je zodpovědná za sytě zelenou barvu. Je také bohatá na železo, esenciální aminokyseliny, růstový faktor CGF (Chlorella Growth Factor), tento faktor pomáhá při rychlejší opravě nervových tkání našeho organismu a napomáhá vzniku nových buněk. Dále obsahuje vysoký podíl beta karotenu, kyseliny DNA/RNA a více než 20 vitaminů a minerálů. Za zmínku stojí např. vápník, draslík či hořčík (Energy n.d.).

Chlorella se používá na problémy se zažívacím traktem a jeho mikroflórou. Velmi účinně detoxikuje tělo od toxinů, včetně těžkých kovů a zvyšuje přirozenou imunitu (Krmivahulin n.d.).

Chlorella se prodává jako doplněk stravy např. ve formě tablet, které jsou využity při pokusech popsaných v této bakalářské práci (Obr. 7, Obr. 8).



*Obr. 7 – Balení Chlorelly v tabletách*



*Obr. 8 - Chlorella v tabletách*

## 2.3 Rostlinné pigmenty

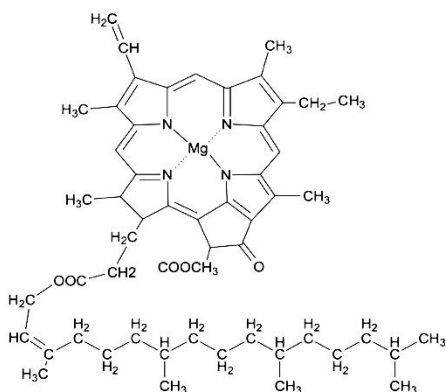
### 2.3.1 Obecný úvod

Rostlinné pigmenty, jsou organické látky a pro rostlinu mají nezbytný význam. Lipochromy, pigmenty rozpustné v tucích, jsou ukrytá v plastidech a řadíme mezi ně chlorofyly, xantofyly a karoteny. Hydrochromy, pigmenty rozpustná ve vodě, jsou ukrytá ve vakuolách a sem patří antokyany. Chlorofyly (zelené pigmenty) jsou důležité pro biochemický děj zvaný fotosyntéza, xantofyly a karoteny tvoří žlutou, oranžovou až červenou barvu plodů, květů a listů. Antokyany způsobují modré, fialové, červené až černé zbarvení, které je citlivé na změnu pH ve vakuolách (Kincl et al., 2008).

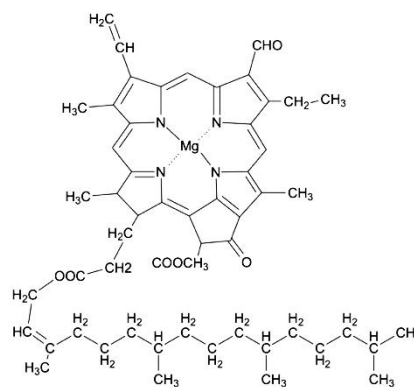
Na SŠ se používá místo termínu pigment barvivo, a proto se v části bakalářské práce, kde se věnuji tvorbě pracovních listů pro SŠ, přikláním k tomuto označení.

### 2.3.2 Chlorofyly

Je to pigment zelené barvy, který zajišťuje fotosyntézu. Vyskytuje se v prokaryotních (sinice) a eukaryotních (řasy a vyšší rostliny) organismech. Rozeznáváme chlorofyl a, b a c, přitom za přeměnu světelného záření na chemickou energii vděčíme pouze chlorofylu a. Chlorofyl b a c pouze sbírá fotony a odvádí je k chlorofylu a (Obr. 9). Molekula je tvořena porfyrinovým základem, který je složen ze čtyř pyrrolových kruhů s centrálním hořečnatým kationtem. Tato struktura je velice podobná struktuře hemoglobinu. Chlorofyl b (Obr. 10) se od chlorofylu a liší náhradou methylové skupiny za formylovou skupinu. Absorbují záření v modrofialové a červené části spektra a odráží v zelené oblasti spektra, proto se pigment jeví zeleně (Garrett et al., 2013).



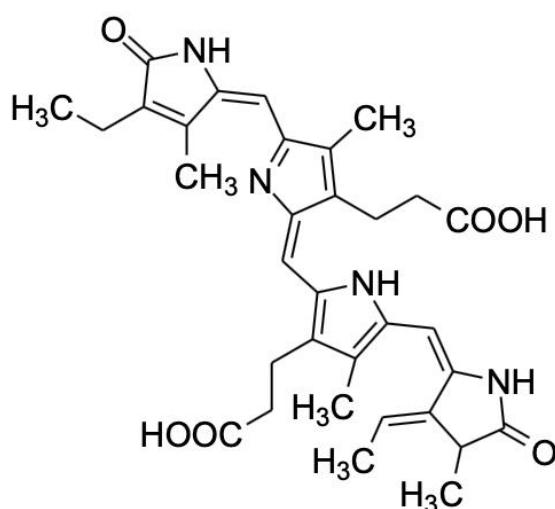
Obr. 9 – Chlorofyl a



Obr. 10. – Chlorofyl b

### 2.3.3 Fykocyanin

Je to modrý přírodní pigment, který patří spolu s fykoerythrinem a allofykocyaninem mezi fykobiliny, což jsou pigmenty, která tvoří anténové struktury na povrchu thylakoidů a přenášejí světelnou energii ke chlorofylu a. Fykocyanin tvoří lineární tetrapyrrolovou strukturu (Obr. 11). Tento pigment najdeme u skrytěk, ruduch a hlavně sinic (Wikipedia 2016).



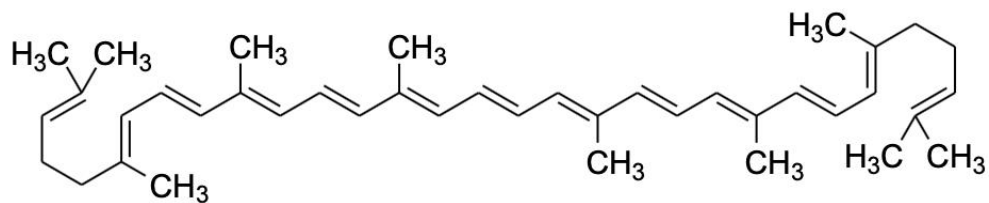
Obr. 11 – Fykocyanin

### 2.3.4 Karotenoidy

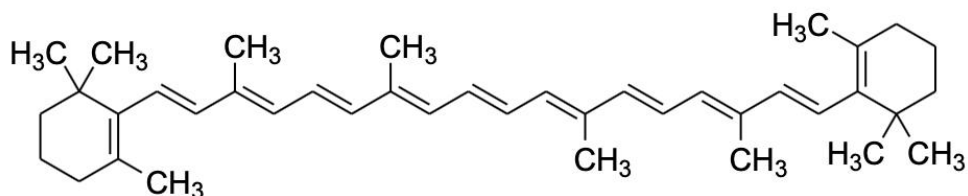
Mezi další fotosyntetické pigmenty řadíme karotenoidy, což jsou lipofilní organické látky, složené z osmi izoprenových jednotek, kterým říkáme tetraterpeny. Karotenoidy dělíme na karoteny a xanthofyly.

#### 2.3.4.1 Karoteny

Karoteny jsou pigmenty, která chrání buňku před jejím poškozením vlivem nadměrného slunečního záření. Patří mezi lipochromy, což znamená, že se rozpouštějí v tucích, Najdeme je v buněčné membráně. Jedná se o polynenasycené uhlovodíky, které dodávají červený zbarvení. Cyklizací acyklického karotenu lykopenu (Obr. 12), dostaneme cyklický  $\beta$ -karoten (Obr. 13), což je prekurzor vitamínu A. V lidském těle  $\beta$  karoten funguje jako antioxidant (Voet a Voetová, 1995).



Obr. 12 – Lycopene

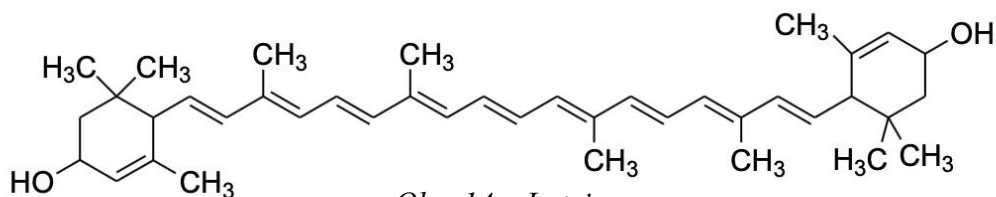


Obr. 13 –  $\beta$ -karoten

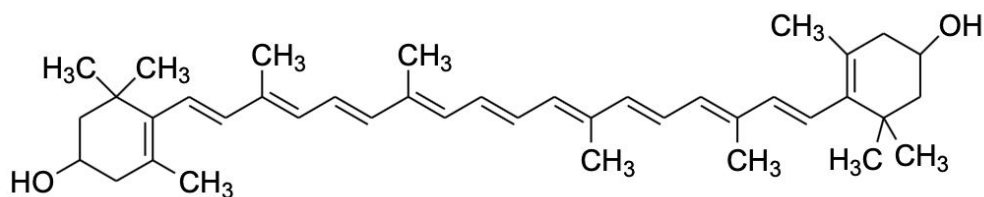
### 2.3.5 Xanthofyly

Mezi další karotenoidy patří xanthofyly, což je skupina lipofilních organických látek, které obsahují hydroxylovou či karbonylovou funkční skupinu. Jsou to deriváty karotenů, díky kterým mají organismy žlutý zbarvení. V organismu se vyskytují v chromoplastech, což jsou orgány, ve kterých neprobíhá fotosyntéza, také chrání fotosyntetický aparát před poškozením na membráně thylakoidů (Velíšek a Hajšlová, 2009).

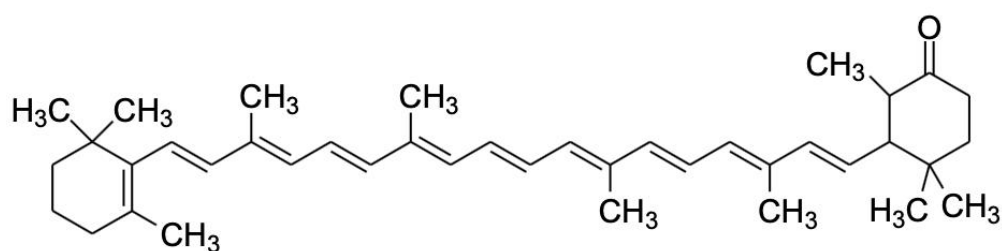
Lutein (Obr. 14) vzniká izomerací zeaxanthinu (Obr. 15), Liší se od sebe pouze ve vnitřní struktuře, jinak sumární vzorec mají identický. Oxidací  $\beta$ -karotenu můžeme vytvořit další pigmenty echinenon (Obr. 16) či cryptoxanthin (Obr. 17) (Šetlík et al., 2004).



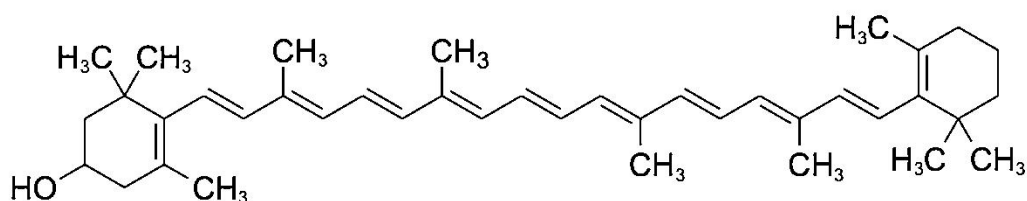
Obr. 14 – Lutein



Obr. 15 - Zeaxanthin



Obr. 16 – Echininenon



Obr. 17 – Cryptoxanthin

## 2.4 Experimentální techniky

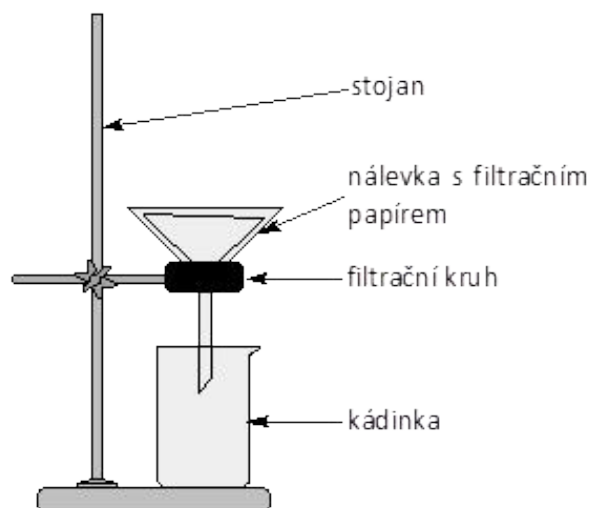
V této kapitole si popíšeme laboratorní metody, které jsou používány v experimentální části bakalářské práce. Jedná se především o filtraci, spektrofotometrii a chromatografii (tenkovrstvá chromatografii (TLC) a vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)).

### 2.4.1 Filtrace

Jedná se o separační metodu, kdy se oddělují dvě fáze od sebe. Nejčastěji se odděluje kapalná fáze od fáze pevné. Jako filtrační materiál nám bude sloužit filtrační papír, u kterého může velikostí póru ovlivnit rychlost filtračního procesu. Dalšími faktory ovlivňující děj mohou být teplota, viskozita filtrovaného roztoku či druh filtrované látky.

Hnací silou pro jednoduchou filtraci, kde se nepoužívá odsávání (filtrace za sníženého tlaku), je hydrostatický tlak roztoku nad filtrem.

Aparatura (Obr, 18) pro tento úkon se skládá z nálevky, filtru, jímadla (kádinky), filtračního kruhu, svorky a stojanu (Příhoda et al, 2012).



Obr. 18 – Filtrační aparatura

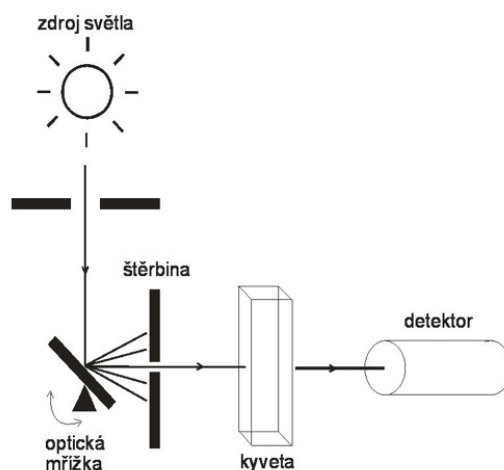
#### 2.4.2 Spektrofotometrie

Látky pohlcují elektromagnetické záření ve viditelné, ultrafialové a infračervené části spektra. Jaké má absorpční spektrum daná látka, závisí na struktuře sloučeniny a jaké množství světla nepropustí, závisí na koncentraci látky. Tato metoda měření patří mezi nejpoužívanější v biochemii.

Pro měření absorbance (kolik světla bylo pohlceno měřeným vzorkem) a transmitance (množství světla určité vlnové délky, které prošlo vzorkem) se používají spektrofotometry. Tento přístroj měří buď při jedné nebo několika přesně definovaných vlnových délkách.

Uspořádání dílčích jednotek (Obr. 19.) ve spektrofotometru je následovné:

***zdroj světla --> monochromátor --> vzorek --> detektor***



Obr. 19 – Schéma spektrofotometru

Jako zdroj světla se využívá žárovka nebo výbojka. Pro měření ve viditelné a infračervené oblasti se používá žárovka nebo halogenová žárovka. Jako zdroj ultrafialového záření se používá vodíková nebo deuteriová výbojka.

Monochromátorem je optická mřížka, pomocí které můžeme nakláněním libovolně měnit vlnovou délku

Vzorek se nachází ve standardní kyvetě umístěné v přesně definovaném místě. Rozlišujeme kyvetu z optického skla, která se hodí pro měření ve viditelném spektru a kyvetu z křemenného skla, která měří i v UV oblasti.

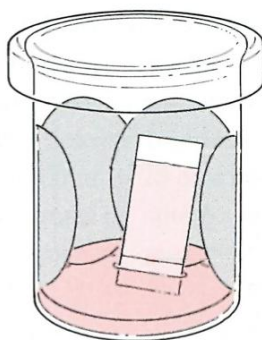
Světlo, které prošlo přes vzorek, dopadá na detektor, což může být fotodioda nebo jiný fotoelektrický prvek (Vacík, 2017).

### 2.4.3 Chromatografie

Chromatografické separační metody se používají na čištění látek od nečistot, na oddělení dvou či více látek z roztoku nebo na separaci roztoku na dílčí čisté složky. Chromatografické metody můžeme použít na práci s malým množstvím látky, na kterou nelze použít destilaci či krystalizaci. Výhoda chromatografie je, že dělení látek probíhá za laboratorní teploty, takže můžeme dělit i látky, které mají vysokou teplotu varu nebo jsou termicky nestabilní (Příhoda et al, 2012).

### 2.4.3.1 Tenkovrství chromatografie (TLC)

Tenkovrstvá chromatografie (Obr. 20) se používá pro určení složení směsi, ověření identity a čistoty látky. TLC je založena na dělení směsi roztoku mezi pohyblivou (mobilní) a nepohyblivou (stacionární) fází, které se nemísí. Jednotlivé složky roztoku putují mezi stacionární a mobilní fází různou rychlostí pomocí rozdílné afinity složek. Tuto metodu lze provést na destičce o výšce 8 cm a šířce odpovídající počtu nanesených vzorků. TLC metoda je velice užívanou metodou, nejen kvůli nízké ceně, ale i kvůli jednoduchosti, dostupnosti a rychlosti dělení.



Obr. 20 – TLC chromatografie

Stacionární fáze TLC jsou chromatografické tenké desky, které jsou složeny z podložní desky (sklo, hliník nebo plast), na kterou je nanesená tenká vrstva sorbentu (oxid křemičitý, oxid hlinitý nebo celulóza) a pojiva (sádra nebo škrob),

Mobilní fáze jsou většinou organická rozpouštědla nebo jejich směsi, které pro optimální dělení musíme zjistit experimentálně. Urychlení pomalu unášené látky dosáhneme přidáním polárního rozpouštědla a naopak.

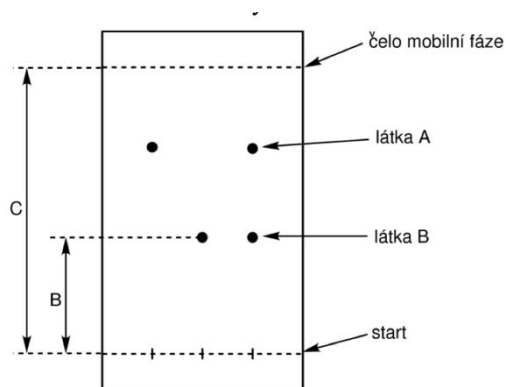
Schopnost adsorpce organických látek roste v tomto pořadí:

*nasycené uhlovodíky a jejich halogenderiváty < nenasycené uhlovodíky a jejich halogen deriváty < aromatické uhlovodíky a jejich halogenderiváty < uhlovodíky s více atomy halogenů < ethery < estery < aldehydy a ketony < alkoholy a fenoly < kyseliny a aminy*

Barevné skvrny můžeme detekovat přímo po provedení TLC, ale bezbarvé látky je třeba nejprve vizualizovat. K vizualizaci můžeme použít páry jodu, naimpregnování destičky (vanilin, manganistan draselný či chlorid železitý) nebo vystavení TLC destičky ultrafialovému záření o vhodné vlnové délce, k vybuzení fluorescence mnoha látek.

Označíme pozice skvrn (Obr. 21) tužkou a pro jednotlivé látky vypočítáme hodnotu retenčního faktoru  $R_f$  (poměr vzdálenosti středu skvrny od startu a vzdálenosti čela mobilní fáze od startu). Hodnota  $R_f$  se musí pohybovat v intervalu  $<0,1>$ .

Hodnoty  $R_f$  jsou závislé na teplotě, mobilní a stacionární fázi a povaze látky. Pro identifikaci látek pomocí  $R_f$  je třeba mít k dispozici standardy látek, které mohou být v analyzovaném vzorku (Příhoda et al, 2012).



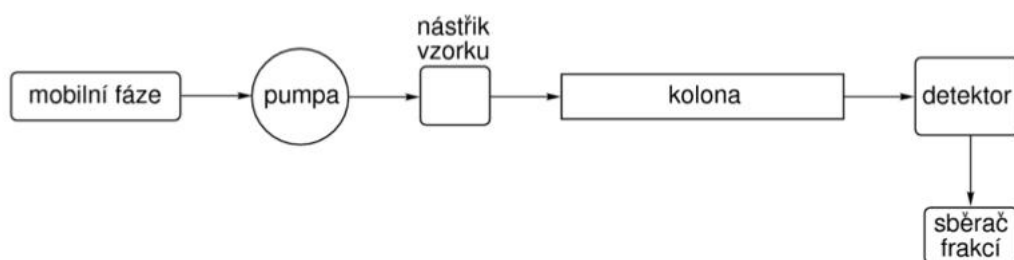
Obr. 21 – Vyhodnocení TLC destičky

### 2.4.3.2 Kapalinová chromatografie

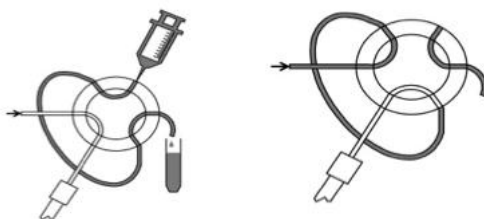
Kapalinovou chromatografii rozdělujeme z hlediska mobilní a stacionární fáze na chromatografii s normální či reverzní fází. Chromatografie s normální fází pracuje s rozpouštědly lipofilní povahy jako mobilní fází (hexan, heptan) a sorbenty s hydrofilním povrchem (silikagel, alumina) jako stacionární fází. Chromatografie s reverzní fází funguje na kombinaci hydrofilní (často obsahuje vodu a methanol nebo ethanol) mobilní fází a nepolární lipofilní stacionární fází (nepolární – oktadecyl silikagel, oktyl silikagel). Principem separace látek je migrace systémem (Obr. 22) různou rychlostí ve směru toku mobilní fáze od stacionární fáze.

U vysoce účinné kapalinové chromatografie HPLC měřenou látku vstříkneme do proudu mobilní fáze pomocí šesticestného kohoutu (Obr. 23) s dávkovací smyčkou. Nejdříve smyčku naplníme a poté otočíme kohoutem, tím přepneme proud mobilní fáze do smyčky se vzorkem.

Detekce látek vycházející z kolony může probíhat buď na základě optických nebo elektrochemických metod (Příhoda et al, 2012).



*Obr. 22 – Schéma kapalinového chromatografu*



*Obr. 23 – Šesticestný kohout*

## 3 Praktická část

V této části bakalářské práce je provedeno několik experimentů s tabletami Spiruliny a Chlorelly, které se zabývají extrakcí pigmentů z této sinice a řasy, jejich dělení a identifikaci. Tyto výsledky pak slouží jako základ pro návrh pracovních listů či návrhy experimentů vhodných do výuky chemie na SŠ.

### 3.1 Experimentální část

V experimentální části bakalářské práce jsou popsány postupy tří experimentů, které byly provedeny v laboratoři KUDCh PřF UK. K provedení pokusů bylo využito základního chemického vybavení laboratoře (laboratorní sklo, keramické nádobí, držáky, pinzety a jiné) a pokročilejších přístrojů, které nejsou tak běžné (UV-Vis spektrofotometr Helios Gamma – výrobce: Thermo Spectronic a kapalinový chromatograf HPLC – výrobce: ECOM spol. s r. o.).

#### 3.1.1 Extrakce barviv různými rozpouštědly

##### Postup práce

V této kapitole je popsán postup experimentu, kde byly pozorovány barvy extraktů ze Spiruliny či Chlorelly vzniklé extrakcí různými rozpouštědly.

##### Pomůcky:

Kádinky, stojany, svorky, filtrační kroužky, filtrační papír, nálevky, třecí misky s tloučkem, tablety Spiruliny, tablety Chlorelly

##### Chemikálie:

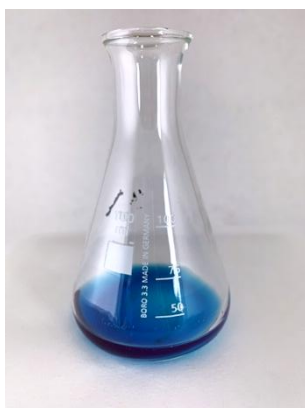
Destilovaná voda, benzín, aceton, ethanol, ohřátá voda

##### Postup:

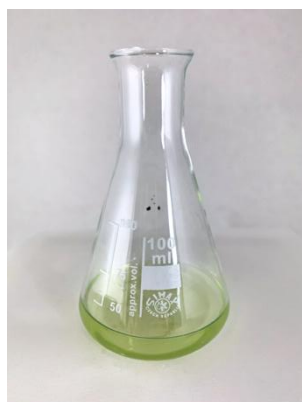
Tři tablety Spiruliny byly rozmělněny v třecí misce. Jemný prášek, který vznikl procesem dezintegrace, byl vysypán do kádinky, ke kterému bylo přidáno 100 ml rozpouštědla – voda, horká voda, ethanol, benzín a aceton. Vzniklo celkem 5 suspenzí, které byly přefiltrovány přes filtrační papír. Byly pozorovány a zaznamenány barvy vzniklých extraktů. Stejný postup byl proveden s tabletami Chlorelly.

**Pozorování:**

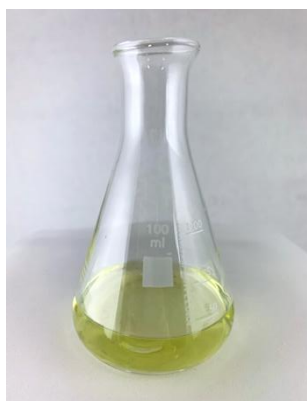
Jednotlivé extrakty Spiruliny a Chlorelly se liší svou barvou, resp. odstínem barvy (Obr. 24–29, viz tab. č. 1 a 2). Kompletní přehled barev suspenzí a extraktů v příloze č. 1.



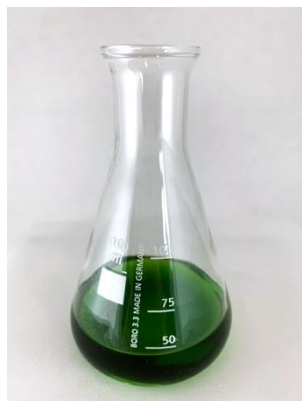
*Obr. 24 – Vodný extrakt z tablet  
Spiruliny*



*Obr. 25 – Vodný extrakt z tablet  
Chlorelly*



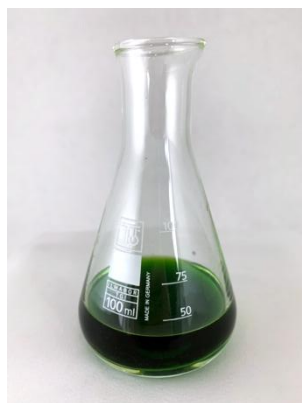
*Obr. 26 – Benzínový extrakt z tablet  
Spiruliny*



*Obr. 27 – Benzínový extrakt z tablet  
Chlorelly*



*Obr. 28 – Ethanolvý extrakt z tablet  
Spiruliny*



*Obr. 29 – Ethanolvý extrakt z tablet  
Chlorelly*

Tabulka č. 1 – Přehled barev suspenzí prášku Spiruliny a přefiltrovaných extraktů v různých rozpouštědlech

Rozpouštědlo	Destilovaná voda	Ohřátá voda	Benzín	Aceton	Ethanol
Barva suspenze	Tmavě zelená	Tmavě zelená	Tmavě zelená	Tmavě zelená	Tmavě zelená
Barva extraktů	Modrá	Světle zelená	Žlutá	Sytě zelená	Tmavě zelená

Tabulka č. 2 – Přehled barev suspenzí prášku Chlorelly a jejich přefiltrovaných extraktů v různých rozpouštědlech

Rozpouštědlo	Destilovaná voda	Ohřátá voda	Benzín	Aceton	Ethanol
Barva suspenze	Tmavě zelená	Tmavě zelená	Tmavě zelená	Tmavě zelená	Tmavě zelená
Barva extraktů	Slabě zelená	Slabě zelená	Sytě zelená	Sytě zelená	Tmavě zelená

**Poznátky:** Barvy suspenzí v obou případech jsou temně zelené a není v nich příliš patrný žádný velký rozdíl. Po filtraci jsou již získané extrakty barevně mnohem zajímavější, a to především u Spiruliny. V případě Chlorelly mají oba vodné extrakty slabě zelenou barvu díky přítomnému chlorofylu a. Vodný extrakt Chlorelly nemá modrou barvu, protože modrý pigment neobsahuje. Ostatní extrakty jsou tmavě zelené, protože v nich převažuje směs chlorofylů. Vodný extrakt ze Spiruliny má modrou barvu díky převažujícímu obsahu fykocyaninu. Do horké vody se již extrahují i chlorofyly a extrakt má výslednou zelenou barvu. Benzínový extrakt má světle žlutou barvu, což indikuje přítomnost karotenoidů. Ethanolový a acetonový extrakt mají zelenou barvu díky chlorofylu.

**Závěr:** Dle poznatků lze říct, že se v různých rozpouštědlech rozpouští různé pigmenty, která dávají výslednou barvu extraktům. Polární látky se extrahují polárními rozpouštědly a naopak. Spirulina a Chlorella obsahují některé stejné pigmenty, ale výrazně se liší v obsahu fykocyaninu, který je obsažen pouze ve Spirulině.

### 3.1.2 Chromatografické rozdělení pigmentů z extraktů Spiruliny a Chlorelly

#### **Postup práce**

V této kapitole je popsán postup experimentu, který navazuje na předchozí experiment *Extrakce barviv různými rozpouštědly*.

#### **Pomůcky:**

kádinky, kapiláry, TLC destičky (silikagel Kieselgel 60), obyčejná tužka, Petriho miska, horkovzdušná pistole

**Chemikálie:** destilovaná voda, benzin, izopropanol, ethanol

**Postup:** Tři tablety Spiruliny byly rozmělněny v třecí misce. Jemný prášek, který vznikl procesem dezintegrace, byl vysypán do kádinky, ke kterému bylo přidáno 100 ml rozpouštědla – voda, horká voda, ethanol, benzin a aceton. Vzniklo celkem 5 suspenzí, které byly přefiltrovány přes filtrační papír. Stejný byl postup s Chlorellou. Byla vystřižnuta silufolová TLC destička o rozměrech 3,5 x 7 cm. Dolní okraje byly sestřižnuty pro zajištění rovné dráhy děleného extraktu. Startovní čára byla nakreslena 1 cm od dolního okraje, kam byly nanесeny sledované vzorky pomocí kapiláry dostatečně daleko od sebe. Pro urychlení nanášení vzorků byla použita horkovzdušná pistole k vysoušení vzorků. Vyhotovená destička s nanесenými koncentrovanými vzorky byla vložena do kádinky, kde byla nalita mobilní fáze benzin-izopropanol-voda v poměru 100:10:0,25, ethanol, benzin a benzin-ethanol v poměru 3:1 do výšky hladiny 0,5 cm. Kádinka byla přikryta Petriho miskou. Chromatografie byla ukončena, když čelo rozpouštědla bylo cca 1 cm od horního okraje TLC destičky. Stejný postup byl použit pro chromatografii na filtračním papíře.

#### **Pozorování:**

Jednotlivé pigmenty ze Spiruliny a Chlorelly se unášely v různých mobilní fázích různou rychlostí. Kompletní přehled výsledků TLC separací je uveden v příloze č. 2.

Extrakty z tablet Spiruliny v benzínu, destilované vodě a ethanolu v mobilní fázi benzin-izopropanol-voda v poměru 100:10:0,25 (Obr. 30, Obr. 31).



*Obr. 30 – TLC extraktů Spiruliny na filtračním papíře*



*Obr. 31 – TLC extraktů Spiruliny na destičce*

Extrakty z tablet Chlorelly v benzínu, destilované vodě a ethanolu v mobilní fázi benzin-izopropanol-voda v poměru 100:10:0,25 (Obr. 32 a Obr. 33).



*Obr. 32 - TLC extraktů Chlorelly na filtračním papíře*



*Obr. 33 – TLC extraktů Chlorelly na destičce*

Na Obr. č. 30 a 31 se polární modrý pigment s nepolární mobilní fází neposunulo, zůstalo na startu, zatímco zelený a žlutý pigment došel až k čelu mobilní fáze. Stejný trend pozorujeme u Chlorelly ve stejné mobilní fázi. Na Obr. 32 a 33 je v polovině čela žlutý pigment, což by odpovídalo luteinu. Vodný extrakt Chlorelly obsahuje jen malou koncentraci chlorofylu a, který není na TLC destičce téměř vidět. Ve vodném extraktu také chybí výrazné modrý pigment fykocyanin.

**Poznátky:** Na použitých TLC silufolových destičkách a při zvolených mobilních fázích jsou pigmenty děleny na základě rozdílné polaritý látek. Mobilní fázi jsou nejrychleji unášeny pigmenty nejméně polární a nejmenší  $R_f$  má nejpolarnější pigment.

**Závěr:** Pomocí správného složení mobilní fáze, můžeme docílit separace jednotlivých pigmentů, a tak dokázat jejich přítomnost v extraktu nebo jejich přítomnost vyvrátit.

### 3.1.3 Separace pigmentů Spiruliny a Chlorelly pomocí HPLC chromatografu

#### **Postup práce**

V této kapitole je popsán postup experimentu, který navazuje na předchozí experiment *Extrakce barviv různými rozpouštědly* s cílem zjistit, jaké pigmenty jsou obsaženy v jednotlivých extraktech.

**Pomůcky:** analytické váhy, třecí miska s tloučkem, kádinky, eppendorf zkumavky, buničina, automatická pipeta se špičkami, Hamilton stříkačka, vysokotlaký chromatogram, UV-Vis spektrofotometr a křemenné kyvety

**Chemikálie:** methanol, vzorky extraktů Spiruliny a Chlorelly (vodný, ethanolový, benzínový a acetonový extrakt)

**Postup:** Byly připraveny vzorky k měření pomocí přesného navážení, rozmělnění, extrakcí do rozpouštědla a následnou filtrací (viz tabulka č. 3).

Tabulka č. 3 – Složení jednotlivých vzorků

Vzorek	Hmotnost [g]	Objem rozpouštědla [ml]
1. Spirulina v acetonu	1,02312	10
2. Spirulina v benzínu	1,01647	10
3. Spirulina ve vodě	1,01686	10
4. Spirulina v ethanolu	1,00932	10
5. Chlorella v acetonu	1,04522	10
6. Chlorella v benzínu	1,04361	10
7. Chlorella ve vodě	1,04340	10
8. Chlorella v ethanolu	1,04191	10

Přístroj HPLC byl nejdříve promyt mobilní fází (methanolem) a následně byly nastaveny důležité parametry (průtoková rychlost 1 ml/min, tlak 1 atmosféra, teplota 25 °C). Poté byl vstříknut vzorek pomocí mikrostříkačky do dávkovací smyčky (páka v poloze LOAD). Přebytek vzorku, který vytekl ze smyčky byl zachycen buničinou. Následně byla otočena páka do polohy INJECT, čímž byl vzorek uvolněn do kolony. S přiloženým návodem u HPLC přístroje byl nastavena metoda v softwaru ECOMAC pro sběr dat. Pomocí příkazu NEW METHOD byly nastaveny parametry měření. Během pohybu vzorku kolonou a následnou detekcí, byly jednotlivé frakce, které měly vysokou koncentraci, z vypouštěné kolony sbírány do eppendorfek.

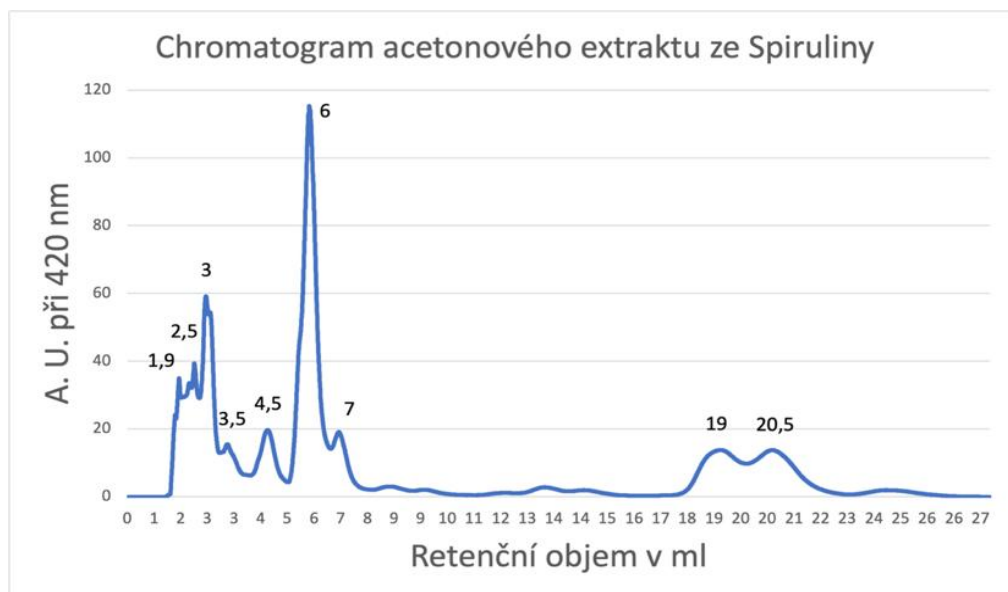
Po získání veškerých frakcí jednotlivých vzorků byly frakce pomocí UV-Vis spektrofotometru Helios Gama proměřeny v rozmezí vlnových délek 250 nm až 700 nm. Vzorek byl pomocí automatické pipety převeden do křemenné kyvety a doplněn methanolem na nutný objem, resp. více koncentrované vzorky bylo nutné methanolem naředit. Takto byly získány absorpční spektra jednotlivých daných extraktů.

**Pozorování:** Získaná data jednotlivých vzorků z tablet Spiruliny a Chlorelly jsou uvedena v následujících podkapitolách. Ke každému extraktu tablet Spiruliny a Chlorelly bylo vyhotoveno absorpční spektrum viz. Příloha č. 3. Podle tabulky v příloze č. 4, která obsahuje standardní absorpční maxima sledovaných pigmentů v methanolu, byly následně identifikovány pigmenty v jednotlivých vzorcích.

### 3.1.3.1 Vzorek č. 1 (Acetonový extrakt z tablet Spiruliny)

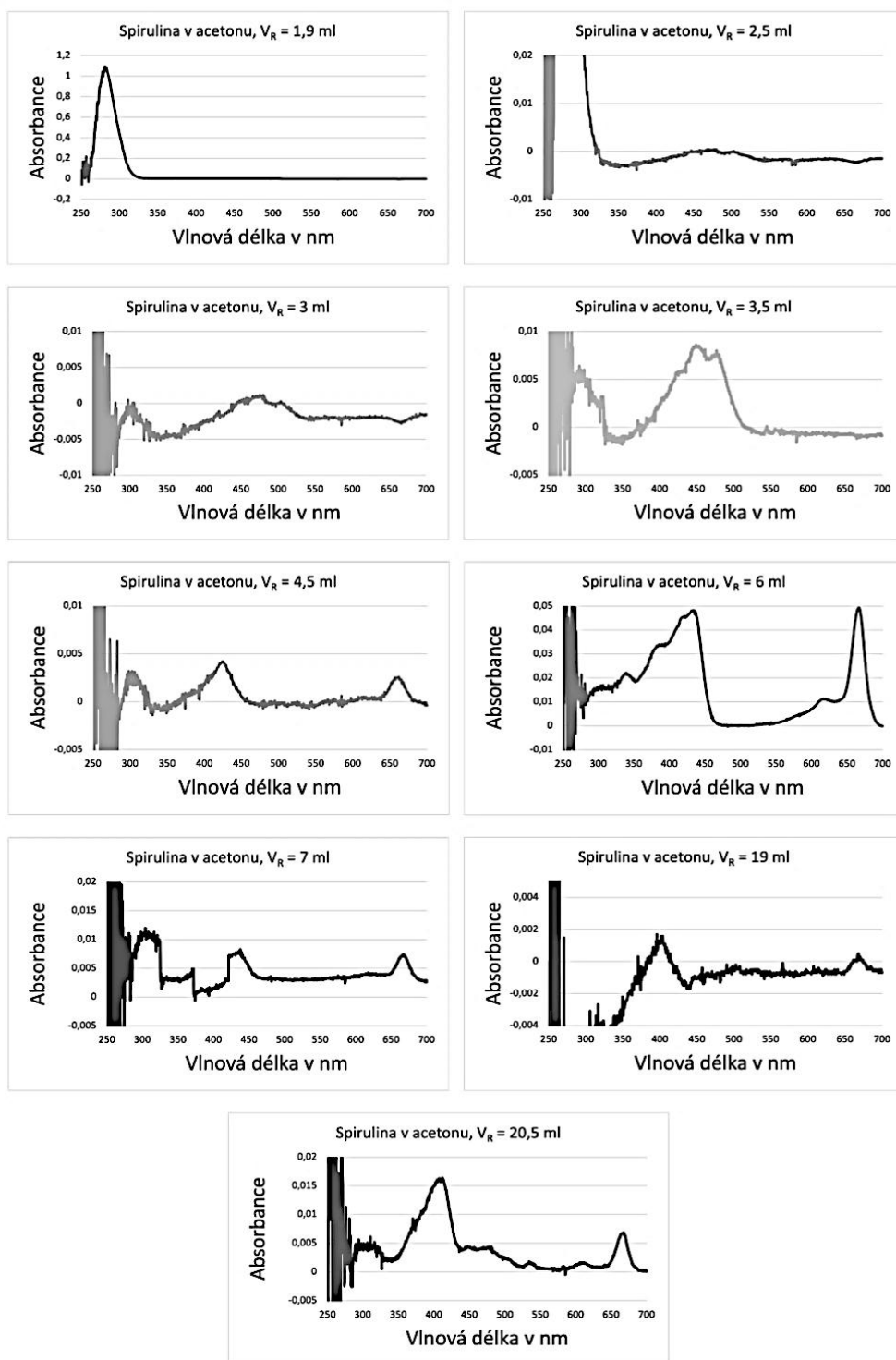
V Grafu č. 1 je znázorněna chromatografická křivka acetonového extraktu z tablet Spiruliny. Jako mobilní fáze byl použit methanol. Tabulka č. 4 shrnuje absorpční maxima vybraných frakcí, pomocí kterých jsem látky identifikoval. Spektra frakcí jsou znázorněna na Obr. 34.

Graf č. 1 – Chromatogram acetonového extraktu z tablet Spiruliny (čísla nad píky udávají retenční objem v ml)



Tabulka č. 4 – Acetonový extrakt z tablet Spiruliny

$V_R$ (ml)	Maxima absorbance při vlnové délce $\lambda$ (nm)						Pigment
1,9		292					Směs polárních látek
2,5	280				470		nelze určit
3		320		450	475		lutein
3,5		310	429	450	480		zeaxanthin
4,5	300		425			665	chlorofyl b
6		390	420	435	616	666	chlorofyl
7	306	390	425	438	610	669	chlorofyl a
19			405	450		669	nelze určit
20,5			410	540	610	669	feofyтин a

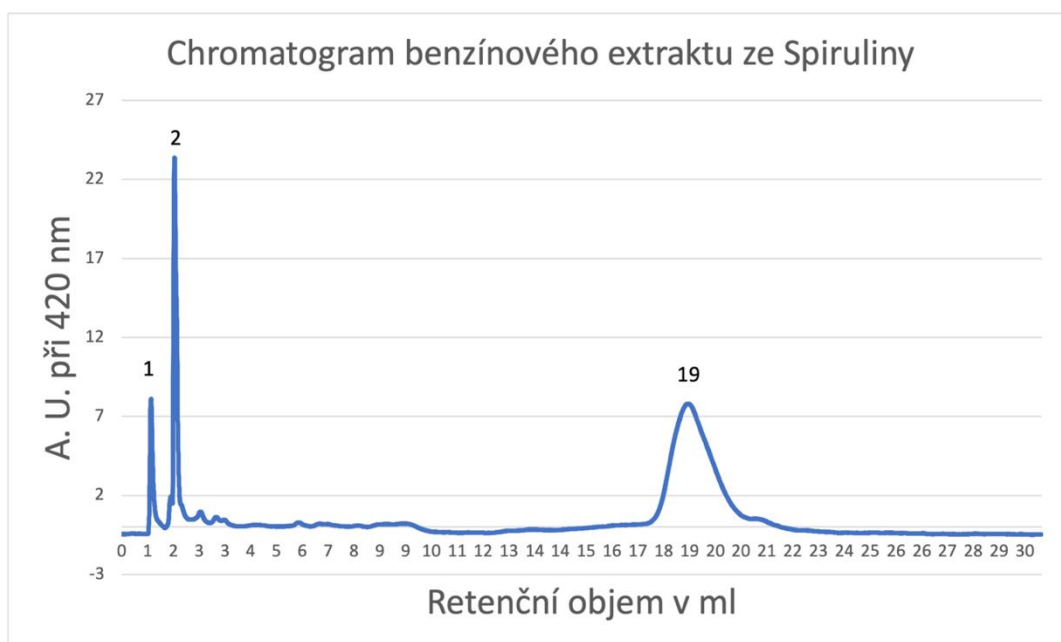


Obr. 34 – Závislost absorbance frakcí Spiruliny v acetonu na vlnové délce

### 3.1.3.2 Vzorek č. 2 (Benzínový extrakt z tablet Spiruliny)

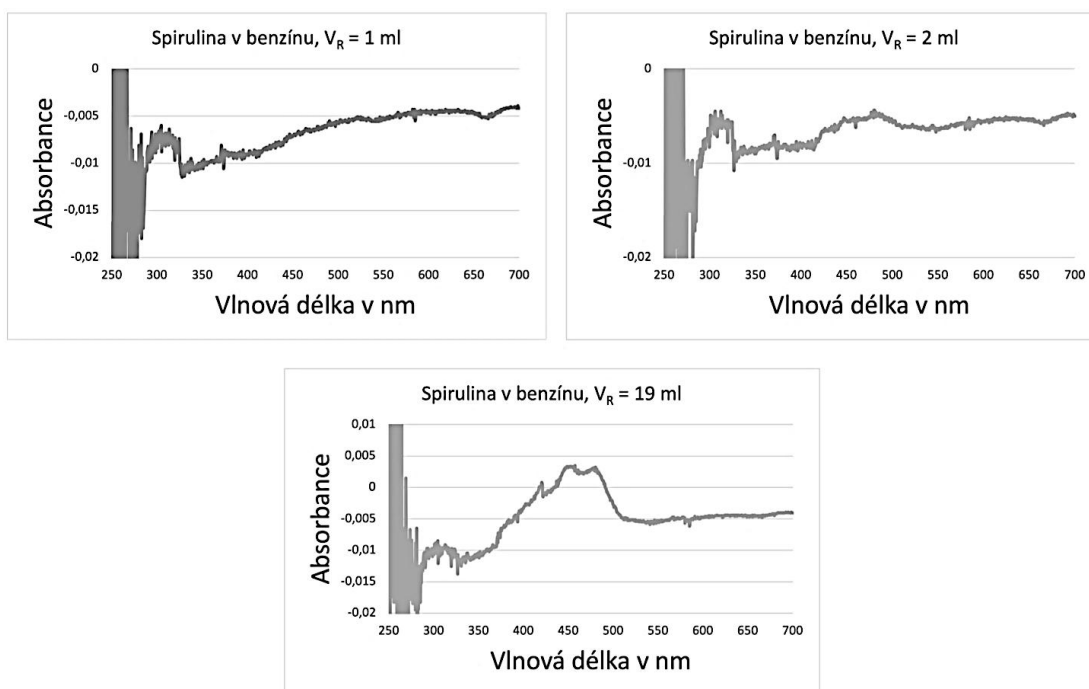
V grafu č. 2 je znázorněna chromatografická křivka benzínového extraktu z tablet Spiruliny. Jako mobilní fáze byl použit methanol. Tabulka č. 5 shrnuje absorpční maxima vybraných frakcí, pomocí kterých jsem látky identifikoval. Spektra frakcí jsou znázorněna na Obr. 35.

Graf č. 2 – Chromatogram benzínového extraktu z tablet Spiruliny (čísla nad píky udávají retenční objem v ml)



Tabulka č. 5 - Benzínový extrakt z tablet Spiruliny

$V_R$ (ml)	Maxima absorpance při vlnové délce $\lambda$ (nm)				Pigment
1	308				nelze určit
2	308		470		nelze určit
19	308	420	452	482	$\beta$ -karoten

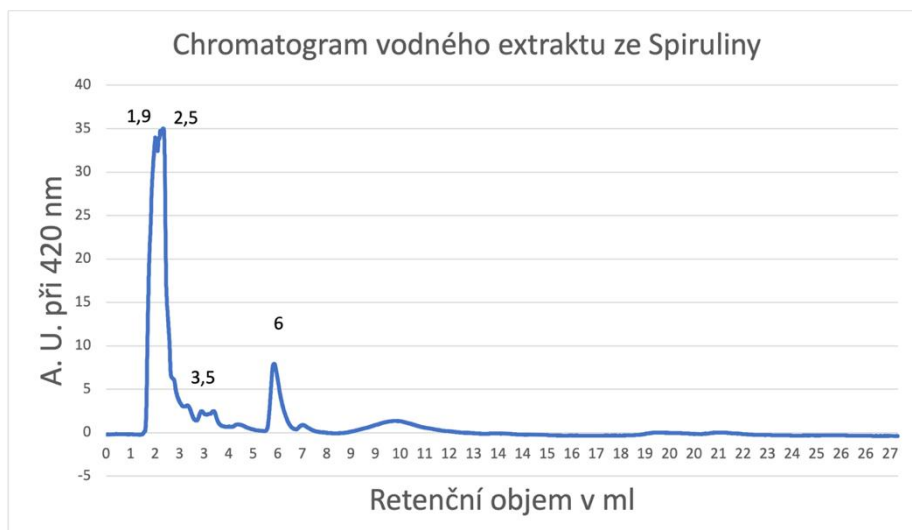


Obr. 35 – Závislost absorbance frakcí Spiruliny v benzínu na vlnové délce

### 3.1.3.3 Vzorek č. 3 (Vodný extrakt z tablet Spiruliny)

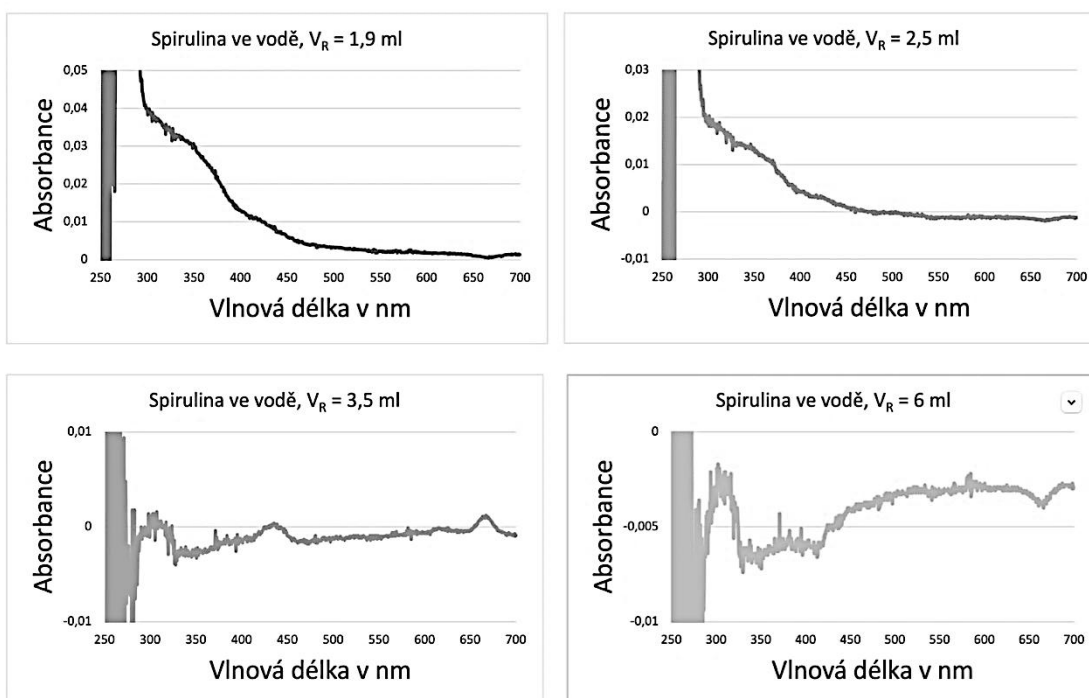
V grafu č.3 je znázorněna chromatografická křivka vodného extraktu z tablet Spiruliny. Jako mobilní fáze byl použit methanol. Tabulka č. 6 shrnuje absorpční maxima vybraných frakcí, pomocí kterých jsem látky identifikoval. Spektra frakcí jsou znázorněna na Obr. 36.

Graf č. 3 – Chromatogram benzínového extraktu z tablet Spiruliny (čísla nad píky udávají retenční objem v ml)



Tabulka č. 6 - Vodný extrakt z tablet Spiruliny

$V_R$ (ml)	Maxima absorbance při vlnové délce $\lambda$ (nm)			Pigment
1,9	258	350	590	<i>směs polárních látek a fykocyaninu</i>
2,5	258	360	549	<i>nelze určit</i>
3,5	445	605	667	chlorofyl a
6		306		nelze určit

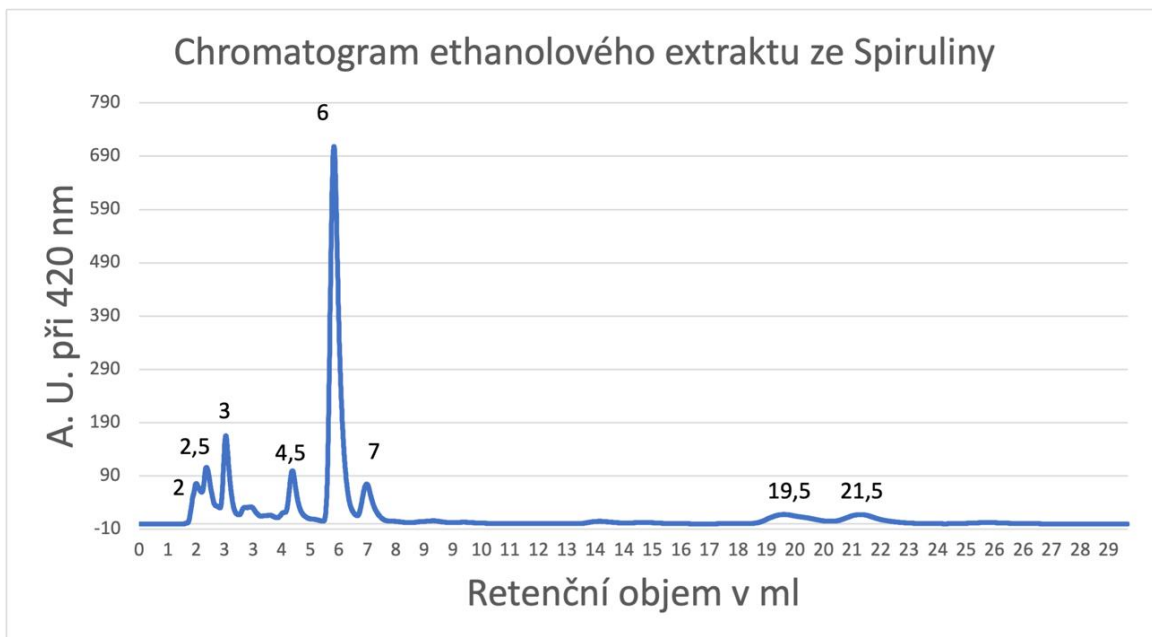


Obr. 36 – Závislost absorbance frakcí Spiruliny ve vodě na vlnové délce

#### 3.1.3.4 Vzorek č. 4 (Ethanolový extrakt z tablet Spiruliny)

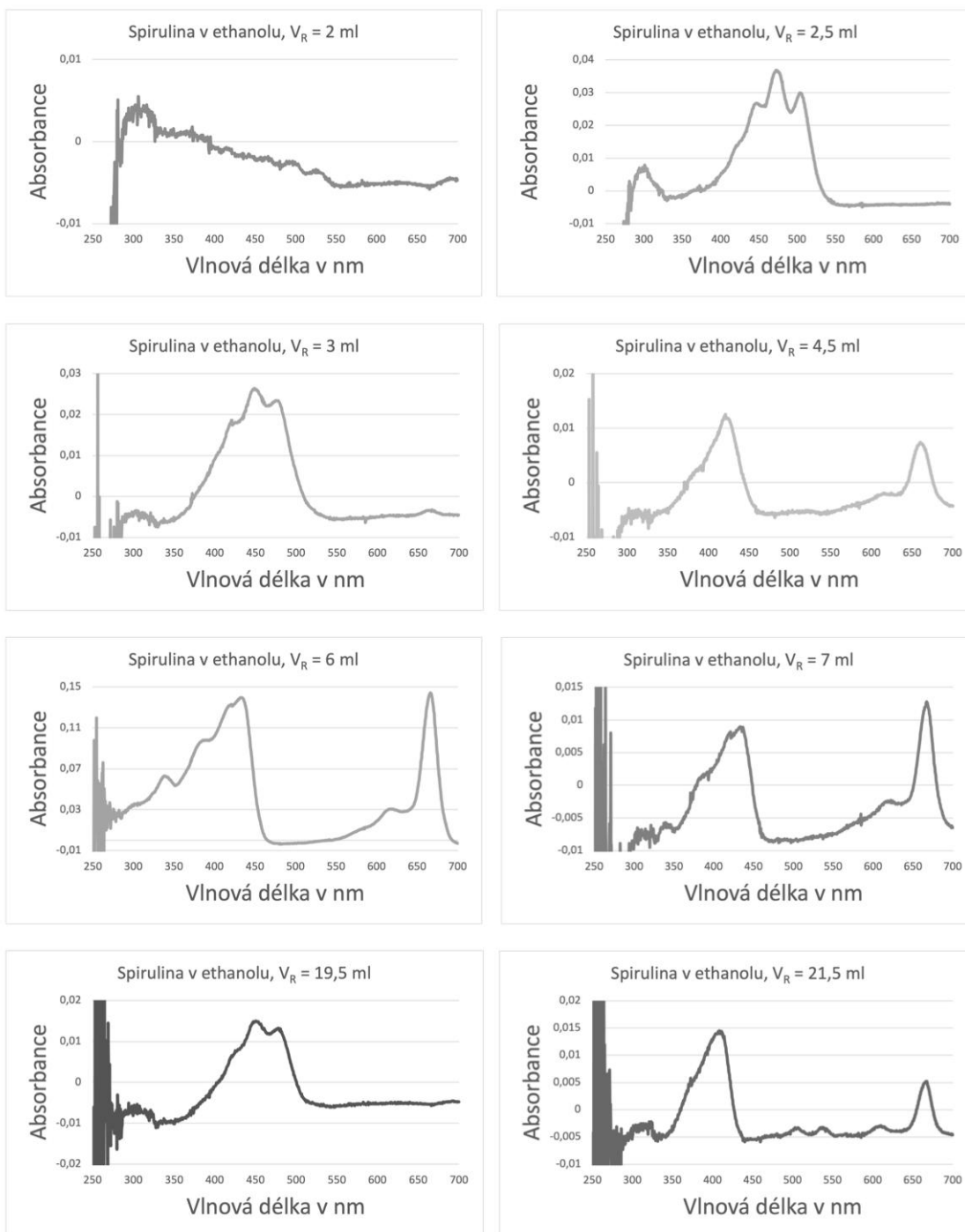
V grafu č. 4 je znázorněna chromatografická křivka ethanolového extraktu z tablet Spiruliny. Jako mobilní fáze byl použit methanol. Tabulka č. 7 shrnuje absorpční maxima vybraných frakcí, pomocí kterých jsem látky identifikoval. Spektra frakcí jsou znázorněna na Obr. 37.

Graf č. 4 – Chromatogram benzínového extraktu z tablet Spiruliny (čísla nad píky udávají retenční objem v ml)



Tabulka č. 7 - Ethanolový extrakt z tablet Spiruliny

$V_R$ (ml)	Maxima absorbance při vlnové délce $\lambda$ (nm)					Pigment	
2		423	451	481		směs polárních látek	
2,5	305	420	450	475	508	lutein	
3	280	425	450	483		zeaxanthin	
4,5		423			660	chlorofyl b	
6	340	386	436		619	668	chlorofyl
7		390	436		620	669	chlorofyl a
19,5		425	450	480			$\beta$ -karoten
21,5		413	507	540	605	669	feofytin a

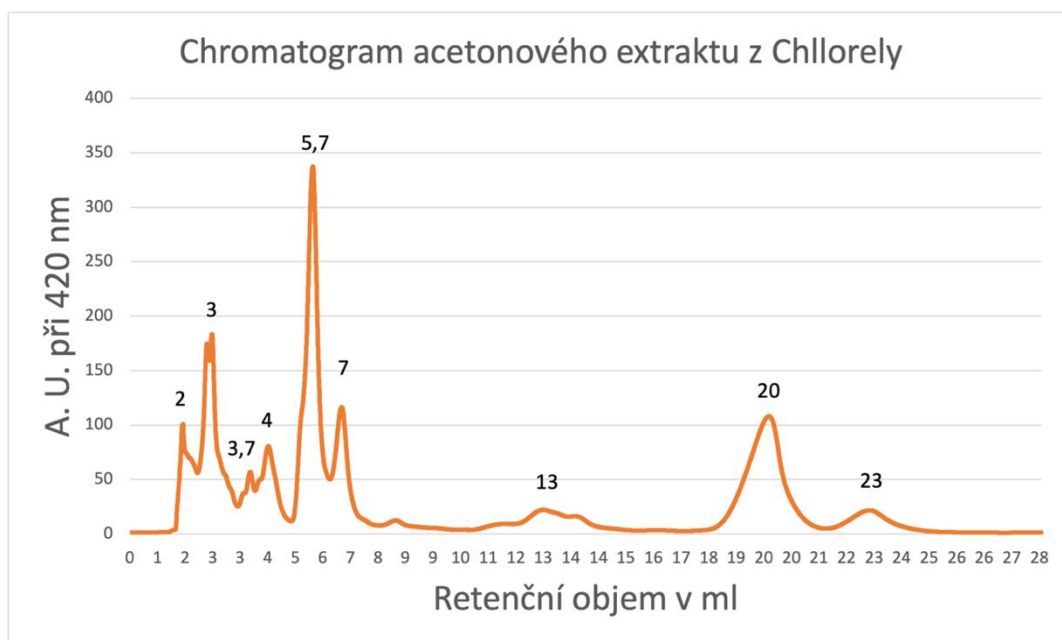


Obr. 37 – Závislost absorbance frakcí Spiruliny v ethanolu na vlnové délce

### 3.1.3.5 Vzorek č. 5 (Acetonový extrakt z tablet Chlorelly)

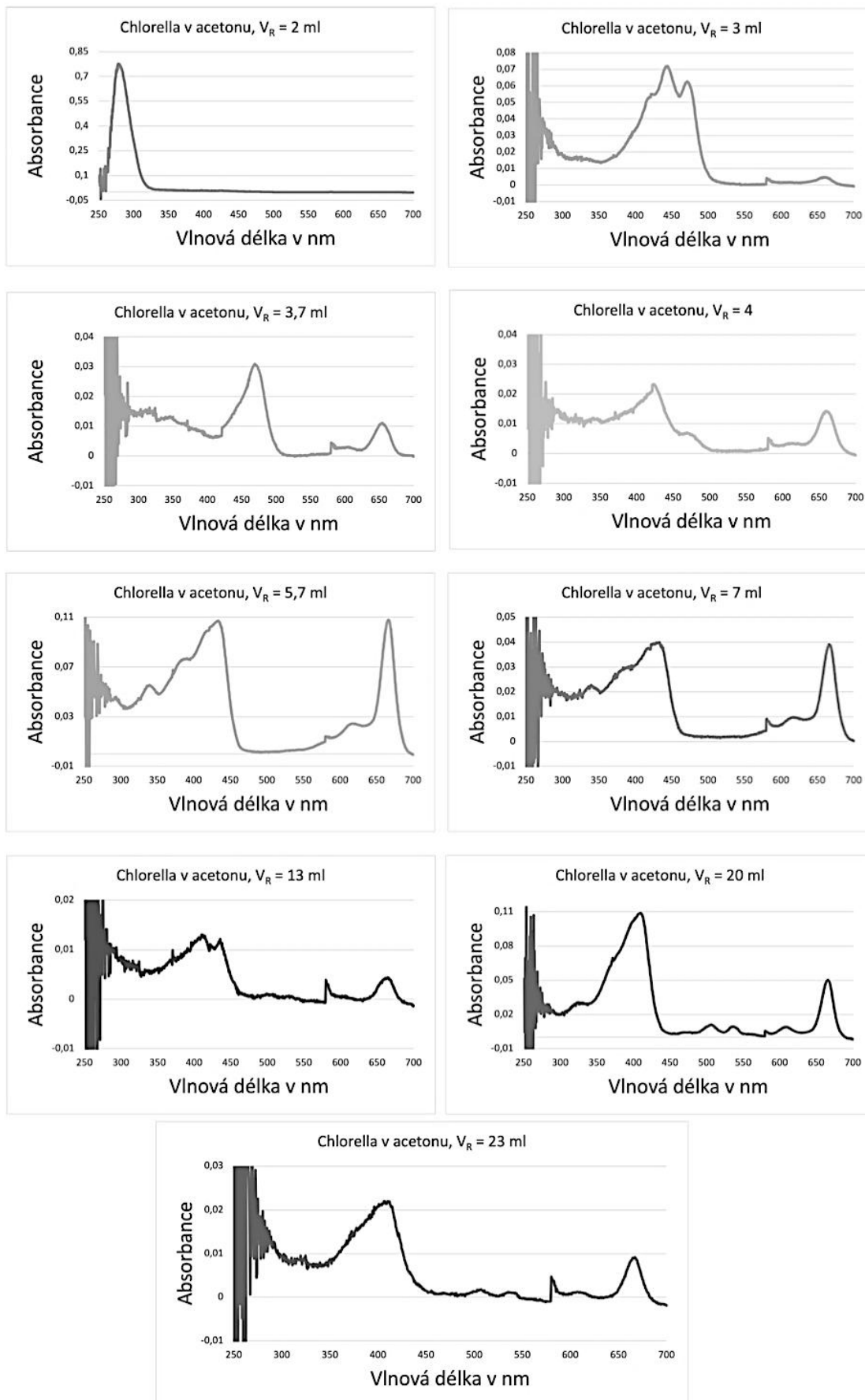
V grafu č. 5 je znázorněna chromatografická křivka acetonového extraktu z tablet Chlorelly. Jako mobilní fáze byl použit methanol. Tabulka č. 8 shrnuje absorpční maxima vybraných frakcí, pomocí kterých jsem látky identifikoval. Spektra frakcí jsou znázorněna na Obr. 38.

Graf č. 5 – Chromatogram acetonového extraktu z tablet Chlorelly (čísla nad píky udávají retenční objem v ml)



Tabulka č. 8 - Acetonový extrakt z tablet Chlorelly

$V_R$ (ml)	Maxima absorpance při vlnové délce $\lambda$ (nm)						Pigment
2	282						směs polárních látek
3	325	418	445	474			lutein
3,7				472		655	chlorofyl
4		424		475		657	chlorofyl b
5,7	339	395	436		617	668	chlorofyl
7	341	390	435		617	665	chlorofyl a
13		411	445			660	nelze určit
20	326	412	509	538	608	668	feofytin a
23		410	512	538	608	668	nelze určit

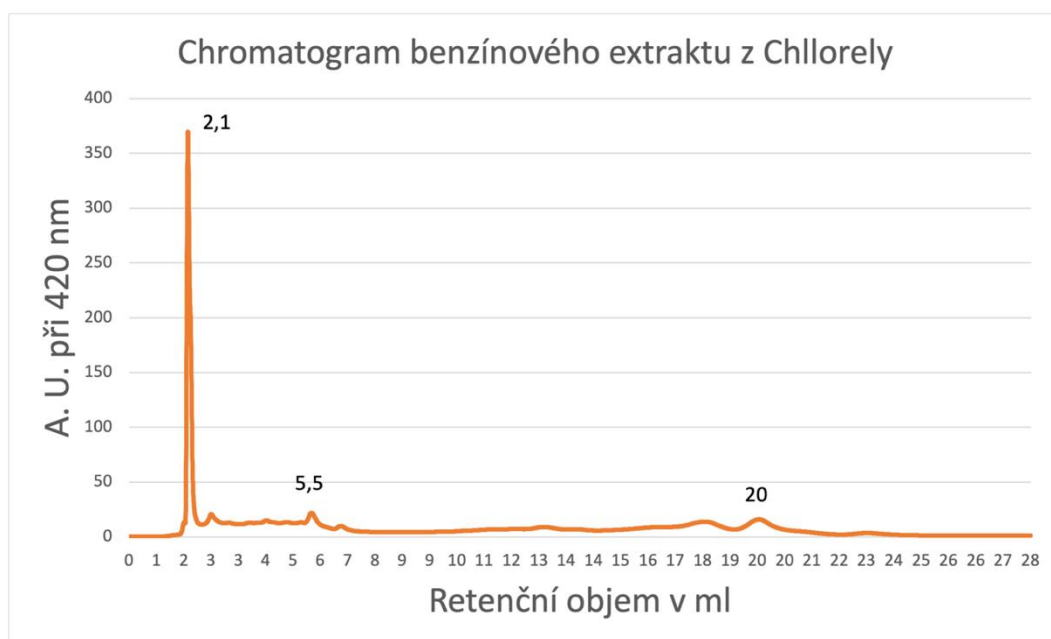


Obr. 38 – Závislost absorbance frakcí Chlorelly v acetonu na vlnové délce

### 3.1.3.6 Vzorek č. 6 (Benzínový extrakt z tablet Chlorelly)

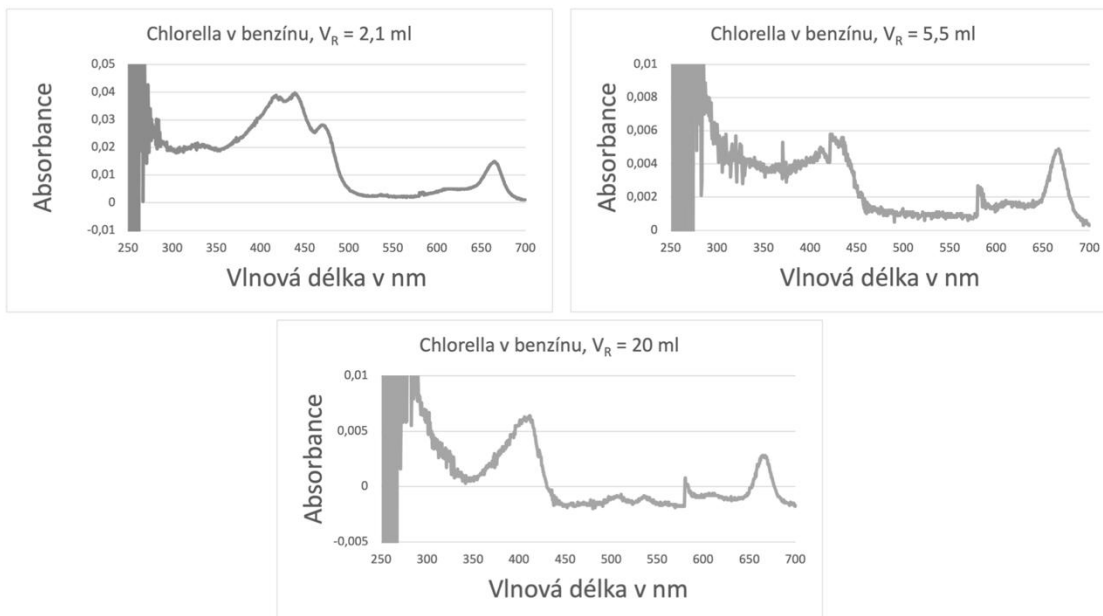
V grafu č. 6 je znázorněna chromatografická křivka benzínového extraktu z tablet Chlorelly. Jako mobilní fáze byl použit methanol. Tabulka č. 9 shrnuje absorpční maxima vybraných frakcí, pomocí kterých jsem látky identifikoval. Spektra frakcí jsou znázorněna na Obr. 39.

Graf č. 6 – Chromatogram benzínového extraktu z tablet Chlorelly (čísla nad píky udávají retenční objem v ml)



Tabulka č. 9 - Benzínový extrakt z tablet Chlorelly

$V_R$ (ml)	Maxima absorbance při vlnové délce $\lambda$ (nm)				Pigment	
2,1	418	442		473	667	lutein
5,5	415	430		605	667	chlorofyl a
20	413	505	524	605	667	feofylin a

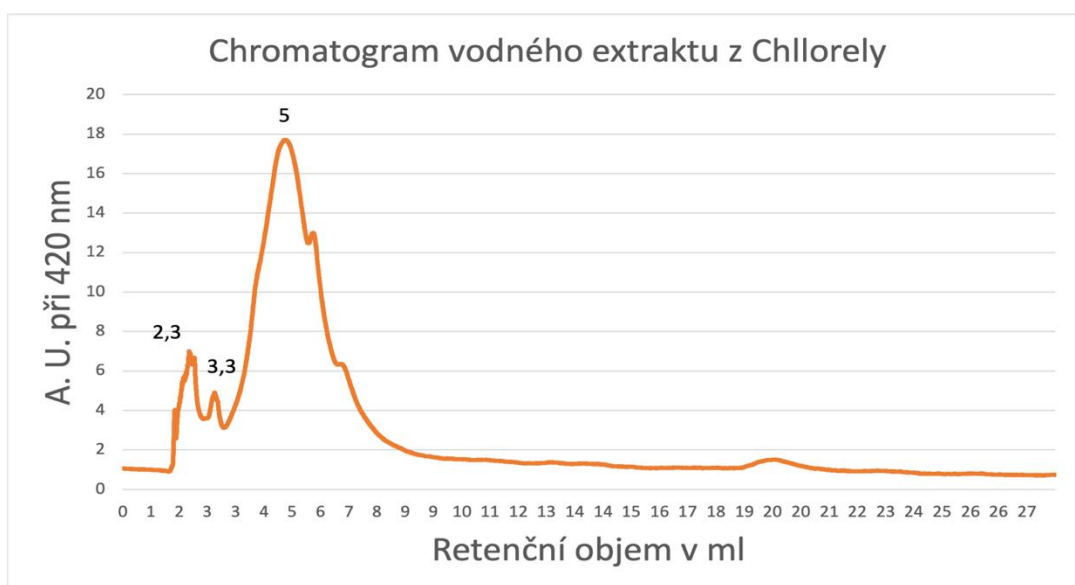


Obrázek č. 39 – Závislost absorbance frakcí Chlorelly v benzínu na vlnové délce

### 3.1.3.7 Vzorek č. 7 (Vodný extrakt z tablet Chlorelly)

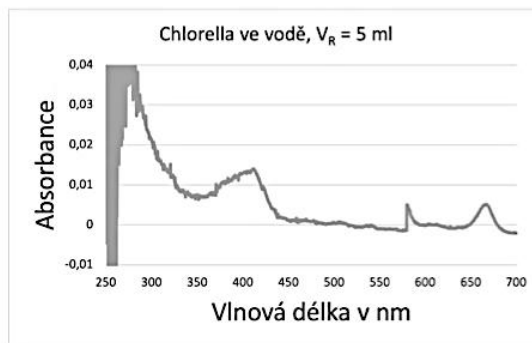
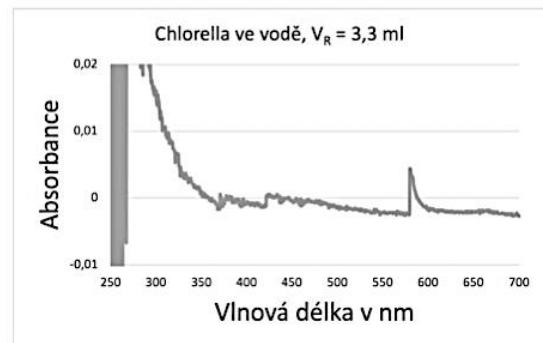
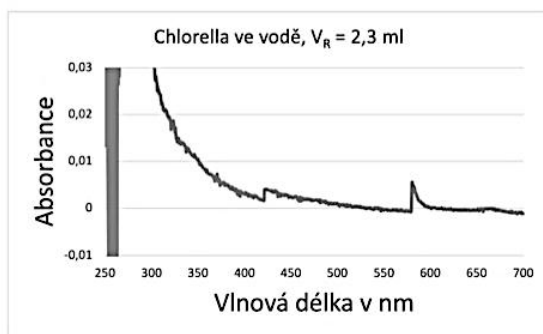
V grafu č. 7 je znázorněna chromatografická křivka vodného extraktu z tablet Chlorelly. Jako mobilní fáze byl použit methanol. Tabulka č. 10 shrnuje absorpční maxima vybraných frakcí, pomocí kterých jsem látky identifikoval. Spektra frakcí jsou znázorněna na Obr. 40.

Graf č. 7 – Chromatogram vodného extraktu z tablet Chlorelly (čísla nad píky udávají retenční objem v ml)



Tabulka č. 10 - Vodný extrakt z tablet Chlorelly

$V_R$ (ml)	Maxima absorbance při vlnové délce $\lambda$ (nm)			Pigment	
2,3		270		nelze určit	
3,3	252			nelze určit	
5		427	610	665	chlorofyl a

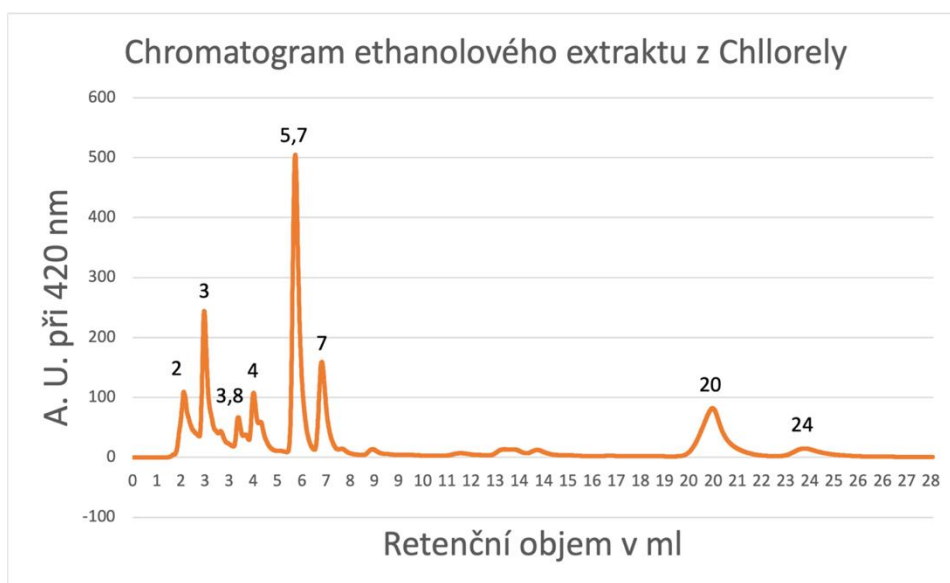


Obr. 40 – Závislost absorbance frakcí Chlorelly ve vodě na vlnové délce

### 3.1.3.8 Vzorek č. 8 (Ethanolový extrakt z tablet Chlorelly)

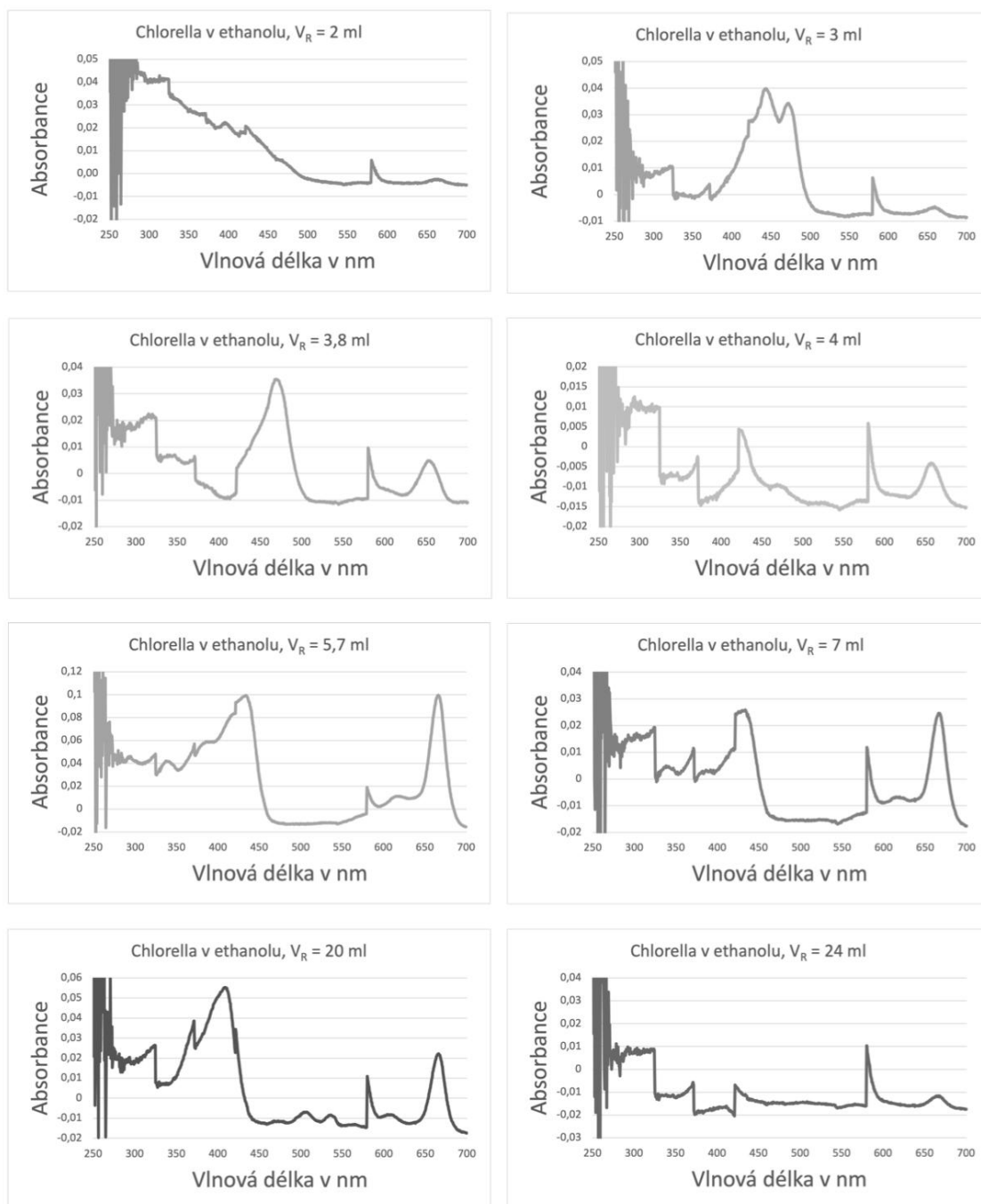
V grafu č. 8 je znázorněna chromatografická křivka vodného extraktu z tablet Chlorelly. Jako mobilní fáze byl použit methanol. Tabulka č. 11 shrnuje absorpční maxima vybraných frakcí, pomocí kterých jsem látky identifikoval. Spektra frakcí jsou znázorněna na Obr. 41.

Graf č. 8 – Chromatogram ethanolového extraktu z tablet Chlorelly (čísla nad píky udávají retenční objem v ml)



Tabulka č. 11 - Ethanolový extrakt z tablet Chlorelly

$V_R$ (ml)	Maxima absorpance při vlnové délce $\lambda$ (nm)						Pigment
2	270						směs polárních látek
3		325	420	440	474		lutein
3,8				473		652	chlorofyl
4			422	470		650	chlorofyl b
5,7	340	390	435		618	668	chlorofyl
7		386	430		620	668	chlorofyl a
20		408	502	523	610	668	feofytin a
24		339	420	443		668	nelze určit



Obr. 41 – Závislost absorbance frakcí Chlorelly v ethanolu na vlnové délce

### 3.1.3.9 Vyhodnocení a závěr vzorků Spiruliny a Chlorelly

Tabulka č. 12 obsahuje přehled pigmentů obsažených v jednotlivých extraktech Spiruliny a Chlorelly a jejich okomentované finální zbarvení plynoucí ze všech realizovaných experimentů.

Tabulka č. 12 – Přehled pigmentů v extraktech Spiruliny a Chlorelly

	Rozpouštědlo	Voda	Ethanol	Aceton	Benzín
Spirulina	Pigmenty	fykocyanin, chlorofyl a	lutein, zeaxanthin, chlorofyl, chlorofyl b, chlorofyl a, $\beta$ -karoten, feofytin a	lutein, zeaxanthin, chlorofyl, chlorofyl b, chlorofyl a, feofytin a, $\beta$ -karoten	$\beta$ -karoten
	Výsledná barva extraktu	Vodný extrakt obsahuje chlorofyl a, který má světle šedozelenou barvu, ale fykocyaninu obsahuje mnohem více, a proto je výsledná barva <b>modrá</b> .	Ethanolový extrakt obsahuje velké množství chlorofylů, který způsobují výslednou barvu <b>tmavě zelenou</b> .	Acetonový extrakt obsahuje menší množství chlorofylů než ethanolový extrakt, a proto je jeho výsledná barva <b>světle zelená</b> .	Benzínový extrakt je <b>světle žlutý</b> .
Chlorella	Pigmenty	chlorofyl a	lutein, chlorofyl, chlorofyl b, chlorofyl a, feofytin a	lutein, chlorofyl, chlorofyl b, chlorofyl a, feofytin a	lutein, chlorofyl a, feofytin a
	Výsledná barva extraktu	Vodný extrakt obsahuje především chlorofyl a, který způsobuje finální barvu - <b>světle zelená</b> .	Ethanolový extrakt obsahuje obrovské množství chlorofylu, který dodává extraktu barvu <b>tmavě zelenou</b> .	Acetonový extrakt obsahuje obrovské množství chlorofylu, který dodává extraktu <b>tmavě zelenou barvu</b> .	Benzínový extrakt, který neobsahuje velké množství karotenoidů, má finální barvu <b>tmavě zelenou</b> .

U některých extraktů, bychom mohli očekávat dle obsahu pigmentů jiné výsledné zbarvení, ale důležitá je také koncentrace jednotlivých pigmentů. Např. benzínový extrakt Chlorelly (Graf č. 6) měl pík odpovídající luteinu vysoký, ale v porovnání doby zachytávání frakce, tedy objemem, jeho obsah byl malý na rozdíl od chlorofylu a feofytinu a. Retenční objem jednoho pigmentu by měl odpovídat retenčnímu objemu stejného pigmentu ve všech frakcích, ale tato skutečnost mohla být ovlivněna změnou teploty nebo tlaku v koloně. Důležité pigmenty byly identifikovány, někdy i přes nízkou koncentraci jednotlivých frakcí.

## 3.2 Materiály pro výuku chemie na SŠ

Tato kapitola obsahuje vytvořené 2 návrhy laboratorních prací, 1 pracovní list pro žáky na téma barviv a jejich vlastností a také powerpointovou prezentaci pro učitele. Barviva jsou jedním z témat výuky chemie na SŠ v Organické chemii zmiňované v základním dokumentu RVP G, a proto se v pracovních listech nepoužívá označení pigmenty ale barviva. Dalšími tématy jsou jejich rozpustnost, polarita a separace jednotlivých barviv. Zadání laboratorních prací a pracovní list spolu s autorským řešením jsou přiloženy v přílohách č. 5, 6 a 7. Powerpointová prezentace pro učitele je pak v příloze č. 8. Metodické pokyny pro pedagogy, postup práce, doplňující otázky k úlohám a malá ukázka z vytvořených výukových materiálů jsou uvedeny v následujících podkapitolách.

Zařazení do výuky chemie – ročník, téma, výukové cíle a očekávané výstupy k jednotlivým výukovým materiálům byly navrženy dle ŠVP Gymnázia Botičská (<http://www.gybot.cz/data/h/Z/X/08-Chemie.pdf>) a RVP G (<http://www.nuv.cz/file/159>).

### 3.2.1 Metodické pokyny pro badatelsky orientovanou výuku – IBSE

Jedná se o moderní pojetí výuky, kde hlavním aktérem je žák, který pracuje samostatně a pedagog pouze přihlíží, popřípadě žáka nabádá a směřuje k vyslovování hypotéz, jejich ověřování a hledání řešení stanoveného problému.

První a druhý experiment můžeme využít k této metodě výuky. Před začátkem práce v laboratoři dostanou žáci studijní materiály, vytvořené pedagogem z teoretické části této bakalářské práce, ze kterých si sami vyberou pouze důležité informace. Tyto informace budou následně uplatňovat v laboratoři. Pedagog rozdá žákům tablety Spiruliny a některým tablety Chlorelly, pokud se jedná o pracovní list 2. Žáci sami musí navrhnout postup práce, jak dostat z tablet barvivo. Při úspěšném provedení filtrace a zjištění všech pigmentů třída, která měla pouze Spirulinu dojde k jednotnému výsledku. Pokud pracujeme s pracovním listem 2, dostaneme ve třídě dvě skupiny s rozdílnými výsledky. Žáci poté mohou debatovat, proč má někdo modré barvivo a dle toho určit, zda se jedná o Spirulinu či Chlorellu. Pedagog by po debatě, kterou koriguje, měl potvrdit správnou hypotézu a obsah obou extraktů.

### 3.2.2 Laboratorní práce 1: Extrakce fykocyaninu z tablet Spiruliny

<b>Extrakce fykocyaninu z tablet Spiruliny</b>	
<b>Třída/ročník:</b>	1. ročník (dle ŠVP Gymnázia Botičská)
<b>Téma:</b>	Rozdělení směsí, oddělování složek směsí
<b>Téma hodiny:</b>	Extrakce – laboratorní práce
<b>Výuková metoda</b>	IBSE
<b>Časová náročnost</b>	45 minut
<b>Výukový cíl/e a očekávaný/é výstup/y</b>	<p>Žák</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Na základě experimentu vysvětlí princip extrakce</li> <li>• Chápe a aplikuje separační metodu filtrace včetně sestavení filtrační aparatury</li> <li>• Definuje a kategorizuje vlastnosti a typy směsí</li> </ul>
<b>Typ učebny</b>	laboratoř
<b>Mezipředmětové vztahy, průřezová témata a klíčové kompetence</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Biologie – sinice</li> <li>• <b>Kompetence k učení</b> – učitel vede žáky k samostatnému a kritickému myšlení, ke hledání a formulování otázek</li> <li>• <b>Kompetence k řešení problémů</b> – Učitel vede v laboratorních cvičeních žáky k formulování hypotéz, jejich následnému praktickému ověření, k základním principům vědecké práce <ul style="list-style-type: none"> <li>- Učitel umožňuje studentům na základě návodů samostatně provádět experimenty</li> </ul> </li> <li>• <b>Kompetence komunikativní</b> – učitel umožňuje žákům zdokonalovat verbální vyjadřování</li> <li>• <b>Kompetence sociální a personální</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Učitel využívá skupinové práce žáků při laboratorních úlohách, a tím rozvíjí jejich schopnosti spolupráce a rozdělování činností v pracovním týmu a vede je k odpovědnosti za splnění společného úkolu.</li> </ul> </li> </ul>

	- Učitel vyžaduje od žáků dodržování zásad BOZP při práci s chemikáliemi, a tím formuje jejich zodpovědný vztah k vlastnímu zdraví.
<b>Potřebné znalosti, vědomosti a pojmy vztahující se k tématu</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Filtrace, práce s laboratorním nádobím a sklem, dodržování BOZP, faktory ovlivňující rozpouštění látek – teplota, velikost povrchu, míchání, sestavení filtrační aparatury</li> </ul>
<b>Pojmy nově vytvářené</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Extrakce</li> </ul>
<b>Materiálně didaktické prostředky</b>	Pomůcky: tablety Spiruliny, laboratorní stojany, filtrační kruhy, nálevky, filtrační papír, skleněné tyčinky, kádinky, třecí misky s tloučkem

### **Metodické pokyny:**

Na začátku laboratorní práce učitel rozdělí žáky do 3-4 členných skupin, popřípadě do dvojic. Každé skupině rozdá tabletu Spiruliny a jeden pracovní list, který nutí žáky ke spolupráci a posiluje tak komunikaci mezi nimi. V úvodu hodiny pedagog motivuje žáky hlavičkou pracovního listu (obr. č. 42). S tím, že mají separovat modré barvivo, které je v přírodě velice vzácné a které se používá v potravinářství, např. k barvení modrých lentilek firmy Nestlé. Samotný postup si volí žáci sami ve skupinkách na základě vlastních zkušeností z běžného života s vlastnostmi modrého pigmentu z modré lentilky (rozpuštění ve vodném prostředí). Žáci vytváří hypotézy, navrhnou příslušný postup extrakce barviva a diskutují své návrhy řešení úkolu s pedagogem. Po odsouhlasení učitelem žáci postup realizují a sami vyhodnocují závěry. Poté následuje společné shrnutí postupu a vyřešení úlohy a učitel dává žákům zpětnou vazbu k jejich práci.

### **Co lze očekávat a jak žáky případně směřovat:**

Mnozí žáci dají celou tabletu do kádinky a zalijí ji vodou, někteří žáci zalijí tabletu horkou vodou, na základě znalostí o faktorech rozpustnosti látek, bohužel se ale nic zásadního nestane. Nakonec některé studenty napadne tabletu rozmělnit v třecí misce a teprve poté ji dát do kádinky s vodou, kdy se získá tmavě zelená suspenze. K faktu, že se jedná o suspenzi, je případně dotazy žáky navést. Na základě předchozí teoretické hodiny o separačních metodách resp. znalostech ze ZŠ dojdou žáci k použití metody filtrace a dostanou výsledný modrý filtrát.

### Doplňující otázky:

Jak sestavíme filtrační aparaturu?

Co víte o vlastnostech barviva na lentilce?

Proč se suspenze a filtrát liší barvou?

Proč se fykocyanin rozpouští ve vodě resp. extrahuje do vody?

Fykocyanin je modré barvivo, které se vyskytuje u skrytěnek, ruduch a sinic. Je hlavní složkou sinice Spiruliny, která se pěstuje v Japonsku na výrobu vitamínových tablet. Fykocyanin ze Spiruliny se opět začal používat jako potravinářské barvivo na barvení výrobků „Smarties“ od výrobce Nestlé.

**Úkol:** Získejte modré barvivo z tablety Spiruliny. Navrhněte postup experimentu a zapište celý protokol.

*Obr. 42 – Zadání úkolu v pracovním listu č. 1*

### 3.2.3 Laboratorní práce 2: Spirulina x Chlorella – extrakce fykocyaninu z tablety Spiruliny

<b>Spirulina x Chlorella extrakce fykocyaninu z tablety Spiruliny</b>	
<b>Třída/ročník:</b>	1. ročník (dle ŠVP Gymnázia Botičská)
<b>Téma:</b>	Rozdělení směsí, oddělování složek směsí
<b>Téma hodiny:</b>	Extrakce – laboratorní práce
<b>Výuková metoda</b>	IBSE
<b>Časová náročnost</b>	45 minut
<b>Výukový cíl/e a očekávaný/é výstup/y</b>	Žák <ul style="list-style-type: none"><li>• Na základě experimentu vysvětlí princip extrakce</li><li>• Chápe a aplikuje separační metodu filtrace včetně sestavení filtrační aparatury</li><li>• Definiuje a kategorizuje vlastnosti a typy směsí</li></ul>
<b>Typ učebny</b>	laboratoř

<p><b>Mezipředmětové vztahy, průřezová témata a klíčové kompetence</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Biologie – sinice, řasy</li> <li>• <b>Kompetence k učení</b> – učitel vede žáky k samostatnému a kritickému myšlení, ke hledání a formulování otázek</li> <li>• <b>Kompetence k řešení problémů</b> – Učitel vede v laboratorních cvičeních žáky k formulování hypotéz, jejich následnému praktickému ověření, k základním principům vědecké práce <ul style="list-style-type: none"> <li>- Učitel umožňuje studentům na základě návodů samostatně provádět experimenty</li> </ul> </li> <li>• <b>Kompetence komunikativní</b> – učitel umožňuje žákům zdokonalovat verbální vyjadřování</li> <li>• <b>Kompetence sociální a personální</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Učitel využívá skupinové práce žáků při laboratorních úlohách, a tím rozvíjí jejich schopnosti spolupráce a rozdělování činností v pracovním týmu a vede je k odpovědnosti za splnění společného úkolu.</li> <li>- Učitel vyžaduje od žáků dodržování zásad BOZP při práci s chemikáliemi, a tím formuje jejich zodpovědný vztah k vlastnímu zdraví.</li> </ul> </li> </ul>
<p><b>Potřebné znalosti, vědomosti a pojmy vztahující se k tématu</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Filtrace, práce s laboratorním nádobím a sklem, dodržování BOZP, faktory ovlivňující rozpouštění látek – teplota, velikost povrchu, míchání, sestavení filtrační aparatury</li> </ul>
<p><b>Pojmy nově vytvářené</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extrakce</li> </ul>
<p><b>Materiálně didaktické prostředky</b></p>	<p>Pomůcky: tablety Spiruliny a Chlorelly, laboratorní stojany, filtrační kruhy, nálevky, filtrační papír, skleněné tyčinky, kádinky, třecí misky s tloučkem</p>

### Metodické pokyny:

Na začátku laboratorní práce učitel rozdělí žáky do 3-4 členných skupin, popřípadě do dvojic. Každé skupině rozdá jeden pracovní list, který nutí žáky ke spolupráci a posiluje tak komunikaci mezi nimi. Polovině skupin pedagog rozdá několik tablet Spiruliny a druhé polovině rozdá několik tablet Chlorelly (žáci neví, zda dostali řasu Chlorellu nebo sinici Spirulinu). V úvodu hodiny pedagog motivuje žáky hlavičkou pracovního listu (obr. č. 43). S tím, že mají separovat modré barvivo, které je v přírodě velice vzácné a které se používá v potravinářství, např. k barvení modrých lentilek firmy Nestlé. Samotný postup si volí žáci sami ve skupinkách na základě vlastních zkušeností s vlastnostmi modrého barviva (rozpuštěnost ve vodném prostředí). Studenti vytváří hypotézy, navrhnou příslušný postup extrakce barviva a diskutují ho s pedagogem. Po odsouhlasení postup

realizují a sami vyhodnocují závěry. Některým skupinám se nepodaří extrahovat modré barvivo. Zde je zapotřebí, na závěr práce v laboratoři, vést diskusi s celou třídou o výsledcích a dobrat se k závěru, že ve třídě neměli všichni stejnou tabletu, která by obsahovala fykocyanin. Modré barvivo se do vody extrahuje. Světle zelenou barvu ve vodném extraktu Chlorelly způsobuje chlorofyl a, který je obsažen v malém množství i ve Spirulině.

### **Co lze očekávat a jak žáky případně směřovat:**

Mnozí žáci dají celou tabletu do kádinky a zalijí ji vodou, někteří žáci zalijí tabletu horkou vodou, na základě znalostí o faktorech rozpustnosti látek, bohužel se ale nic zásadního nestane. Nakonec některé studenty napadne tabletu rozmělnit v třecí misce a teprve poté ji dát do kádinky s vodou, kdy se získá tmavě zelená suspenze. K faktu, že se jedná o suspenzi, je případně dotazy navést. Na základě předchozí teoretické hodiny o separačních metodách resp. znalostech ze ZŠ dojdou žáci k použití metody filtrace a dostanou výsledný modrý filtrát. Dále je třeba diskutovat přítomnost chlorofylu a v obou extraktech a přítomnost fykocyaninu pouze ve filtrátu z Chlorelly.

### **Doplňující otázky:**

Jak sestavíme filtrační aparaturu?

Proč se suspenze a filtrát liší barvou?

Jaký je rozdíl barev obou filtrátů a proč? Co myslíte, že obsahují za barviva?



*Obr. 43 – Ukázka grafické motivace k pracovnímu listu č. 2*

### 3.2.4 Pracovní list: Barviva a polarita látek

<b>Barviva a polarita látek</b>	
<b>Třída/ročník:</b>	3. ročník (dle ŠVP Gymnázia Botičská)
<b>Téma:</b>	Barviva a jejich polarita, rozdělování složek směsí
<b>Téma hodiny:</b>	Separáční metody – extrakce, barviva, polarita látek
<b>Výuková metoda</b>	Demonstrační pokus, skupinová práce s pracovním listem
<b>Časová náročnost</b>	45 minut
<b>Výukový cíl/e a očekávaný/é výstup/y</b>	<p>Žák</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Na základě experimentu vysvětlí princip extrakce</li> <li>• aplikuje znalosti o chemických vazbách (polarita vazeb)</li> <li>• Umí rozdělit látky na základě struktury dle polarity</li> </ul>
<b>Typ učebny</b>	laboratoř resp. běžná učebna (ideálně s digestoří)
<b>Mezipředmětové vztahy, průřezová témata a klíčové kompetence</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Biologie – sinice</li> <li>• <b>Kompetence k učení</b> – Učitel umožní žákům praktické pozorování, popis a interpretaci viděného na základně teoretických poznatků</li> <li>• <b>Kompetence k řešení problémů</b> – Učitel vede žáky k formulování hypotéz z demonstračního pokusu, analyzuje chybná řešení a rozvíjí metodiku správného postupu</li> <li>• <b>Kompetence komunikativní</b> – učitel umožňuje žákům zdokonalovat verbální vyjadřování</li> <li>• <b>Kompetence sociální a personální</b> – Učitel využívá skupinové práce žáků, a tím rozvíjí jejich schopnosti spolupráce a rozdělování činností v pracovním týmu a vede je k odpovědnosti za splnění společného úkolu.</li> </ul>
<b>Potřebné znalosti, vědomosti a pojmy vztahující se k tématu</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• filtrace, extrakce, faktory ovlivňující rozpouštění látek – polarita chemických vazeb</li> </ul>
<b>Pojmy nově vytvářené</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• barviva a jejich vlastnosti</li> </ul>

<b>Materiálně didaktické prostředky</b>	Pomůcky: tablety Spiruliny, laboratorní stojany, filtrační kruhy, nálevky, filtrační papír, skleněné tyčinky, kádinky, třecí misky s tloučkem, Chemikálie: voda, ethanol, benzín pracovní listy pro žáky
---	--

### **Metodické pokyny:**

Učitel si připraví tři filtrační aparatury, tablety Spiruliny, třecí misku a tři Erlenmayerovy baňky bez popisu s vodou, ethanolem a třetí s benzínem. Na začátku hodiny učitel rozdá všem žákům pracovní listy, s kterými pracují po celou dobu vyučovací hodiny. Učitel nechá žáky pracovat samostatně nebo ve skupinkách, popřípadě s celou třídou kontroluje a konzultuje správné odpovědi. Učitel „hlídá“ čas na řešení úloh a případně odpovídá dotazy žáků a směřuje je návodnými otázkami ke správným řešením úloh. Když třída dojde k 8. úkolu pracovního listu, učitel udělá demonstrační experiment. Extrakci barviv ze Spiruliny 3 různými rozpouštědly. Učitel dá do suchého filtračního papíru v nálevce rozmělněnou tabletu Spiruliny, zalije rozpouštědlem a nechá filtrovat. Získá se benzínový žlutý extrakt, modrý vodný extrakt a zelený ethanolový extrakt. Žáci dokončí pracovní list, kde v závěru navrhnou, v jakém rozpouštědle se nachází, které barvivo. V závěru hodiny pedagog shrne a zopakuje i pomocí přiložené prezentace (příloha č. 8) řešení jednotlivých úloh.

### **Co lze očekávat a jak žáky případně směřovat:**

Může se stát, že si někteří žáci nebudou vědět rady s některými úlohami. Tady se nabízí řešit tyto úlohy společně jako třída.

### **Doplňující otázky**

Jakou roli hraje elektronegativita v chemických vazbách?

Může být látka nepolární a zároveň mít polární vazby v molekule?

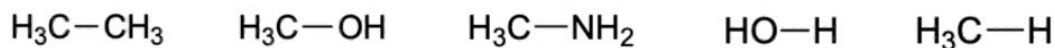
Jak funguje metoda filtrace a extrakce a jakou má/může mít spojitost s polaritou látek a rozpouštědla?

Jaké pigmenty obsahují vzniklé filtráty?

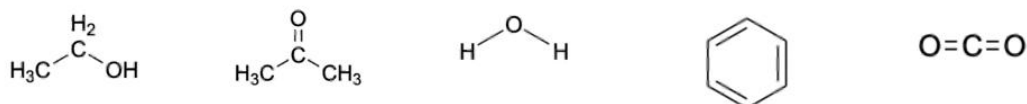
Kde tyto pigmenty můžeme najít?

### Ukázka několika úloh z pracovního listu

1. Seřad'te vazby podle vzrůstající polarity.



2. Seřad'te molekuly podle vzrůstající polarity



Obr. 44 – Ukázka úkolů v pracovním listě – zadání 1. a 2. úkolu

6. Navrhněte kritéria třídění barviv z úlohy č. 1.

7. Najděte rozdíly ve vzorcích číslo:

(2) a (5):

(1), (3) a (6):

Obr. 45 – Ukázka úkolů v pracovním listě – zadání 6. a 7. úkolu

9. Zkus navrhnout, která barviva učitel získal pomocí filtrace v různých rozpouštědlech (vybarvěte – nebo slovně zapište – Erlenmeyerovy baňky dle odpovídajících barev extraktů a vypište, které barvivo a rozpouštědlo obsahují).

Obr. 46 – Ukázka úkolů v pracovním listě – zadání 9. úkolu

### 3.2.5 Powerpointová prezentace Barviva

Byla vytvořena powerpointová prezentace (příloha č. 8) o 11 snímcích, jako pomocný materiál pro učitele při kontrole správnosti řešení úkolů z pracovního listu.

**Metodické pokyny:**

Učitel si na začátku nebo v průběhu hodiny připraví prezentaci, aby mohl s žáky rozebrat správná řešení úkolů z pracovního listu (příloha č. 7). 2. a 3. snímek prezentace obsahuje přehled jednotlivých barviv, které Spirulina obsahuje – názvy a struktury. Na snímku č. 4 jsou pak uvedeny 4 základní typy chormoforů – názvy a struktury. Na snímku č. 5 a 6 je zmíněno dělení barviv ze Spirulinu, které jsou na snímcích č. 2 a 3, dle chemické struktury. Na snímku č. 9 je rozřazení příslušných barviv ze Spiruliny dle vzrůstající polarity, na snímku č.10 je pak totéž včetně připomenutí struktur, aby učitel mohl se žáky rozebrat seřazení barviv dle polarity na základě přítomnosti funkčních skupin ve vzorcích barviv. Na posledním snímku je tabulka s výslednými barvami všech extraktů a jejich obsahem, také jsou přiloženy fotografie, jak by měly výsledné extrakce vypadat.

## 4 Diskuse

V této části bakalářské práce jsou sepsány komentáře ke zjištěným faktům, zkušenostem a problémům, které se vyskytly v průběhu práce.

### 4.1 Diskuse k teoretické části

Teoretická část je souhrn faktů o Spirulině a Chlorelle, pigmentech a laboratorních technik, kterých je v praktické části využito. Pedagog tyto informace může využít ke tvorbě studijních textů pro žáky, než se vrhnou na samotné experimenty. Není důležité, aby žáci znali vše, co je uvedeno, ale aby měli všeobecný přehled o tom, co je Spirulina a Chlorella a jejich důležitosti v dnešním moderním světě jako bohatý zdroj bílkovin.

Také by měli vědět, jaké druhy pigmentů existují, jaká je jejich přibližná struktura (dvojnásobné vazby a funkční skupiny) a jak se dané separační metody provádí v laboratoři.

### 4.2 Diskuse k experimentální části

Jak už je všeobecně známo, experiment je vědecká metoda, která ověřuje hypotézu, ale která ne vždy musí dopadnout podle našich představ. To byl případ mé bakalářské práce, kde bylo dosaženo spousty úspěchů ale i neúspěchů. Některé experimenty byly zkušeny několikrát, ale bylo dosaženo vždy stejného výsledku.

U prvního experimentu (Extrakce barviv různými rozpouštědly) nám velice zajímavě vychází Spirulina, kde vidíme různé barevné změny a pro výuku ve škole je tak ideálním vzorkem. Pozor při pořizování tablet Spiruliny a Chlorelly, je nutno sledovat etiketu obalu. Pokud pořídíte směs Spiruliny a Chlorelly v jednom balení, jak se stalo v mém případě, filtrace a očekávané výsledky by nevycházely dle očekávání. Chlorella není ideální barevnou ukázkou, ale dá se využít při výuce k vyvolání korigované diskuse ohledně výsledků mezi žáky, pokud žákům rozdáme mix Spiruliny a Chlorelly při laboratorní práci, jejich výsledky se budou lišit. Doporučuji pro filtraci použít pouze 1 tabletu, protože obsahuje velké množství pigmentů a barva filtrátu je dost intenzivní. Je třeba počítat s tím, že úplná filtrace trvá delší dobu a jemné částice suspenze ucpávají filtrační papír, nicméně to nastává až po cca 1/3 filtrované suspenze. Tedy výsledek je i tak rychle patrný.

Tento experiment, ke kterému jsem navrhnul zadání laboratorní práce 1 a 2, lze provádět i doma, čehož se dá využít při distanční výuce. Velice se mi líbí, protože jsou časově nenáročné, jsou cenově dostupné, a hlavně pro oči velice zajímavé.

Druhý experiment (Separace barviv pomocí TLC chromatografie) neprobíhal příliš ideálně. Po filtraci suspenzí se vzorky nanasly na TLC destičku a vyvíjely se pomocí různých mobilních fází. Ač se vzorky nanášely opakovaně na TLC destičku (pro zvýšení koncentrace vzorku), některé pigmenty, jako třeba lutein, se dal pozorovat pouze na vlhké TLC destičce. Po vysušení destičky náš pozorovaný pigment téměř zmizel. Při používání horkovzdušné pistole je dobré mířit pistolí z větší vzdálenosti, protože při velkém zahřívání vodného extraktu Spiruliny, dochází k denuraci modrého pigmentu a vzorek až zčerná. V tomto experimentu jsem zkoušel provádět chromatografii na filtračním papíře a TLC destičce. Osobně doporučuji TLC destičku, protože filtrační papír nemá velkou brzdou sílu jako TLC destička a všechny pigmenty putovaly spolu s mobilní fází až k čelu.

Poslední experiment (Separace pigmentů Spiruliny a Chlorelly pomocí HPLC chromatografu) byl nejkomplicovanější. Při samotné výrobě extraktů se nenaskytla téměř žádná komplikace. Hlavní problém se vyskytl až při zachytávání jednotlivých frakcí, které vytékaly z kolony. Některé frakce vytékaly v malém množství (2-3 kapky), které byly zachytávány do eppendorfky, tudíž po převedení do křemenné kyvety, musely být doplněny methanolem, abych mohl použít spektrofotometr, ale díky doplnění byly zase příliš zředěné. Výsledná spektra potom zobrazují výslednou absorbanci vzorků a jejich malé výkyvy a ač jsem proměřoval některé naředěné frakce několikrát, vždy se na křivce vyskytla stejná chyba. K vytvoření ideálních křivek by bylo zapotřebí vytvořit koncentrovanější frakce, což znamená provést separaci pomocí HPLC několikrát a stejné frakce spojit dohromady, které by se následně proměřily ve spektrofotometru. Bohužel, náprava tohoto zjištění, už nebyla v mých časových možnostech.

Na vytvořených chromatogramech můžeme vidět, že při zachytávání jednotlivých frakcí, jsem nezachytával pouze čisté složky, což ovlivnilo a celkem zkomplikovalo samotnou identifikaci barviv. Pro lepší separaci bych příště volil menší průtokovou rychlost kolonou.

Celkově mohu všechny tři experimenty hodnotit jako úspěšné i přes všechny komplikace, které se vyskytly v průběhu jejich ověřování. Výsledky se ukázaly jako

vhodné pro návrhy materiálů do výuky chemie na SŠ. Na základě výsledků daných experimentů jsem vytvořil pracovní listy pro žáky a jejich řešení pro pedagogy.

### **4.3 Diskuse k vytvořeným materiálům pro výuku**

Jedním z hlavních cílů bakalářské práce je návrh nových experimentů, vhodných do experimentální výuky chemie středních škol. K těmto navrženým pokusům bylo vytvořeno zadání dvou laboratorních prací a jejich autorské řešení pro pedagogy, které mohou být využity různými didaktickými metodami. V dnešní době se především nejvíce mluví o IBSE, tedy o badatelsky orientované výuce, kterou jsem využil pro návrh laboratorních prací 1 a 2.

IBSE má za cíl jediné, aby žák na postup práce a její závěr přišel sám, ideálně bez pomoci pedagoga. Učitel pouze poskytne žákům potřebný studijní materiál, aby žák byl schopen předem postup experimentu sám navrhnout. Na základě studijních textů a výsledků z experimentu, žák sám stanoví závěr práce. Následně po experimentální části hodiny je prostor pro diskusi mezi žáky, kterou moderuje a koriguje sám učitel. Žáci sdílí výsledky a závěry mezi sebou. Konečný a výsledný závěr potvrdí učitel.

Navržené laboratorní práce jsou pro svou jednoduchost vhodné i pro využití ve výuce chemie nižších ročníků gymnázií a základních škol.

Výsledky experimentu Extrakce barviv různými rozpouštědly vedly k myšlence vytvořit pracovní list na téma polaritě látek. Žáci si zopakují základní informace o polaritě chemické vazby a polaritě látek a poté tyto znalosti aplikují na konkrétních barvivech.

Powerpointová prezentace na téma barviva, má sloužit jako pomocný materiál pro učitele k vysvětlení dané problematiky. Nalezneme v ní struktury barviv, jejich zařazení do skupiny chromoforů, vzestupné seřazení dle polaritě a výsledky experimentu.

## 5 Závěr

Předem stanovené cíle bakalářské práce byly splněny.

- Byla sepsána literární rešerše o Spirulině, Chlorelle, barvivech a separačních metodách.
- Byly provedeny 3 typy experimentů – extrakce barviv, separace barviv pomocí TLC a HPLC a identifikace barviv dle UV-Vis spekter
- Byly vytvořeny celkem 4 výukové materiály: 2 návrhy laboratorních prací, 1 pracovní list a příslušná autorská řešení a také powerpointová prezentace pro učitele
- Bylo navrženo zařazení těchto výukových materiálů do výuky chemie na SŠ.

Pevně věřím a doufám, že tato bakalářská práce je přínosem k výuce chemie na SŠ a pedagogové nebudou otálet a sáhnou po těchto experimentech a ve své výuce využijí i vytvořený více teoretický pracovní list. Experimenty jsou velice zajímavé, levné, časově nenáročné a názorné. Žáky mohou vědomostně obohatit a motivovat ke studiu chemie.

## 6 Použité zdroje

1. VONSHAK, A. (ed.). (2002): *Spirulina platensis (arthospira): Physiology, cell-biology and biotechnology*, Taylor and Francis. ISBN 0-203-48396-0
2. Rojek, L. (n.d.): *Arthrospira plantensis*. Dostupné z: <https://botanic.cz/herbar/arthrospira-plantensis> (cit. 4. 7. 2021)
3. Wikipedia. (n.d.). *Wikipedia: otevřená encyklopedie*. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/Spirulina\\_\(dietary\\_supplement\)#cite\\_note-ReferenceA-12](https://en.wikipedia.org/wiki/Spirulina_(dietary_supplement)#cite_note-ReferenceA-12) (cit. 4. 7. 2021)
4. ForActiv. (2016, 21. říjen) *Chlorella vs spirulina*. Dostupné z: <https://www.foractiv-brno.cz/1176/chlorella-vs-spirulina/> (cit. 4. 7. 2021)
5. Energy. (n.d.). *Chlorella nebo Spirulina? Hlavní rozdíly v účincích*. Dostupné z: [https://www.energy.cz/cz/menu\\_x8231x.asp](https://www.energy.cz/cz/menu_x8231x.asp) (cit. 4. 7. 2021)
6. Krmivahulin. (n.d.). *Chlorella – sladkovodní řasa – pro psy*. Dostupné z: <https://www.krmivahulin.cz/p/chlorella-sladkovodni-rasa-pro-psy#2312> (cit. 4. 7. 2021)
7. KINCL, L., KINCL, M., JAKRLOVÁ, J. (2008): *Biologie rostlin*. (4. vydání). Praha: Nakladatelství učebnic Fortuna. ISBN: 80-7168-947-5
8. GARRETT, R. a CHARLES M. GRISHAM. (2013): *Biochemistry*. (5th ed.). Belmont, CA: Brooks/Cole, Cengage Learning. ISBN 978-1-133-10851-1
9. Wikipedia. (2016, 1. červenec): *Wikipedia: otevřená encyklopedie*. Dostupné z: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Fykocyanin> (cit. 4. 7. 2021)
10. VOET D., VOETOVÁ J.: *Biochemie* (1. české vydání). Praha: Victoria Publishing, 1995. ISBN 80-85605-44-9
11. VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J. (2009) *Chemie potravin II*. (3.vydání). Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-17-6
12. ŠETLÍK I., SEIDLOVÁ F., ŠANTRŮČEK, J. (5. 3. 2004): *Fyziologie rostlin*. Dostupné z <http://web.natur.cuni.cz/biochem/kucera/rostliny/is/fyzros.html> (cit. 4. 7. 2021)
13. PŘÍHODA, J., ČERNÍK, M., JANKŮ, S., LITERÁK, J. (2012): *Laboratorní technika*. (1.vyd.) Brno: Masarykova univerzita. ISBN 978-80-210-5820-0
14. VACÍK, J. (2017): *Obecná chemie* (2. vydání), Praha: Knihovna chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy. ISBN 978-80-7444-050-2

15. Školní vzdělávací program pro Gymnázium, Praha 2, Botičská 1. (2021):  
*Gymnázium, Praha 2, Botičská 1.* Dostupné z: <http://www.gybot.cz/data/h/Z/X/08-Chemie.pdf> (cit. 1.8. 2021)
16. Rámcový vzdělávací program pro gymnázia. Praha: Výzkumný ústav pedagogický, 2007. ISBN 978-80-87000-11-3. Dostupné z: <http://www.nuv.cz/file/159> (cit. 1.8. 2021)

## 7 Zdroje Obrázků

Obr. 1 - <https://botanic.cz/spirulina-prasek-z-rasy> (cit. 4. 7. 2021)

Obr. 2 - <https://botanic.cz/herbar/arthrospira-plantensis> (cit. 4. 7. 2021)

Obr. 5 - <http://www.afrikanheritage.com/chlorella/> (cit. 4. 7. 2021)

Obr. 6 - <https://veganobchod.cz/produkt/chlorella-750-tablet-150g/> (cit. 4. 7. 2021)

Obr. 17 - [http://chemie.gjn.cz/okruhy/3\\_2\\_1\\_Oddelovani\\_heterogennich\\_smesi.html](http://chemie.gjn.cz/okruhy/3_2_1_Oddelovani_heterogennich_smesi.html)  
(cit. 4. 6. 2021)

Obr. 18 - <https://cs.wikipedia.org/wiki/Spektrofotometrie#/media/Soubor:Spektrofotometr.jpg> (cit. 5. 6. 2021)

Obr. 19 - [https://is.muni.cz/el/1431/podzim2012/C5380/um/Laboratorni\\_tehnika-ucebni\\_text.pdf](https://is.muni.cz/el/1431/podzim2012/C5380/um/Laboratorni_tehnika-ucebni_text.pdf) (cit. 5. 6. 2021)

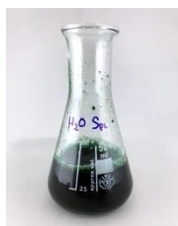
Obr. 20 - [https://is.muni.cz/el/1431/podzim2012/C5380/um/Laboratorni\\_tehnika-ucebni\\_text.pdf](https://is.muni.cz/el/1431/podzim2012/C5380/um/Laboratorni_tehnika-ucebni_text.pdf) (cit. 5. 6. 2021)

Obr. 21 - [https://is.muni.cz/el/1431/podzim2012/C5380/um/Laboratorni\\_tehnika-ucebni\\_text.pdf](https://is.muni.cz/el/1431/podzim2012/C5380/um/Laboratorni_tehnika-ucebni_text.pdf) (cit. 5. 6. 2021)

Obr. 22 - [https://is.muni.cz/el/1431/podzim2012/C5380/um/Laboratorni\\_tehnika-ucebni\\_text.pdf](https://is.muni.cz/el/1431/podzim2012/C5380/um/Laboratorni_tehnika-ucebni_text.pdf) (cit. 5. 6. 2021)

Pokud nejsou obrázky citovány, jedná se o vlastní tvorbu.

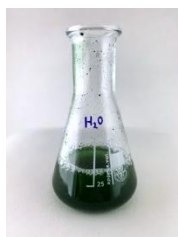
## Příloha č. 1: Extrakce barviv Spiruliny a Chlorelly různými rozpouštědly



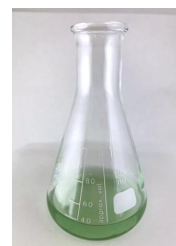
Obr. 47 – Rozmělněné tablety Spiruliny  
v destilované vodě



Obr. 48 – Vodný extrakt z tablet  
Spiruliny



Obr. 49 – Rozmělněné tablety Spiruliny  
v ohřáté vodě



Obr. 50 – Extrakt z tablet Spiruliny  
v ohřáté vodě



Obr. 51 – Rozmělněné tablety Spiruliny  
v benzínu



Obr. 52 – Benzinový extrakt z tablet  
Spiruliny



Obr. 53 – Rozmělněné tablety Spiruliny  
v acetonu



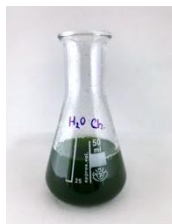
Obr. 54 – Acetonový extrakt z tablet  
Spiruliny



Obr. 55 Rozmělněné tablety Spiruliny  
v ethanolu



Obr. 56 – Ethanolový extrakt z tablet  
Spiruliny



*Obr. 57 – Rozmělněné tablety Chlorelly  
v destilované vodě*



*Obr. 58 – Vodný Extrakt z tablet  
Chlorelly*



*Obr. 59 – Rozmělněné tablety Chlorelly  
v ohřáté vodě*



*Obr. 60 – Extrakt z tablet Chlorelly  
v ohřáté vodě*



*Obr. 61 – Rozmělněné tablety Chlorelly  
v benzínu*



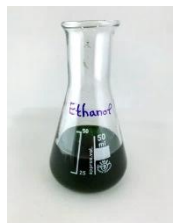
*Obr. 62 – Benzinový extrakt z tablet  
Chlorelly*



*Obr. 63 – Rozmělněné tablety Chlorelly  
v acetonu*



*Obr. 64 – Acetonový extrakt z tablet  
Chlorelly*



*Obr. 65 – Rozmělněné tablety Chlorelly  
v ethanolu*



*Obr. 66 – Ethanolový extrakt z tablet  
Chlorelly*

## Příloha č. 2: TLC extraktů z tablet Spiruliny a Chlorelly v různých mobilních fázích

Extrakty z tablet Spiruliny v benzínu, destilované vodě a ethanolu v mobilní fázi benzin-izopropanol-voda v poměru 100:10:0,25 (Obr. 67, Obr. 68).



*Obr. 67 – TLC extraktů Spiruliny na filtračním papíře*



*Obr. 68 – TLC extraktů Spiruliny na destičce*

Extrakty z tablet Chlorelly v benzínu, destilované vodě a ethanolu v mobilní fázi benzin-izopropanol-voda v poměru 100:10:0,25 (Obr. 69 a Obr. 70).



*Obr. 69 – TLC extraktů Chlorelly na filtračním papíře*



*Obr. 70 – TLC extraktů Chlorelly na destičce*

Extrakty z tablet Spiruliny (vlevo) a Chlorelly (vpravo) v ethanolu v mobilní fázi ethanol (Obr. 71 a Obr. 72).



*Obr. 71 – TLC extraktů Spiruliny a Chlorelly na filtračním papíře*



*Obr. 72 – TLC extraktů Spiruliny a Chlorelly na destičce*

Extrakty z tablelet Spiruliny (vlevo) a Chlorelly (vpravo) v ethanolu v mobilní fázi benzín (Obr. 73 a Obr. 74).



*Obr. 73 – TLC extraktů Spiruliny a Chlorelly na filtračním papíře*



*Obr. 74 – TLC extraktů Spiruliny a Chlorelly na destičce*

Extrakt z tablet Spiruliny (vlevo) a Chlorelly (vpravo) v ethanolu v mobilní fázi benzín-ethanol v poměru 3:1 (Obr. 75 a Obr. 76)

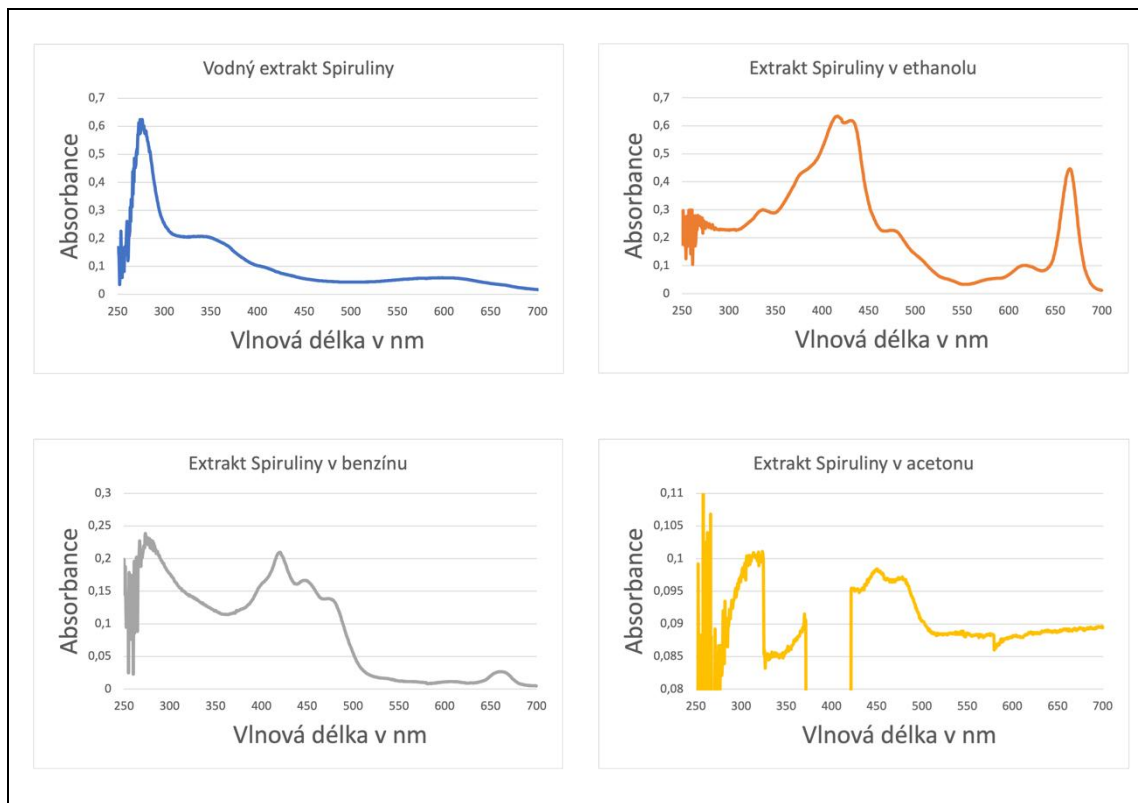


*Obr. 75 – TLC extrakty Spiruliny a Chlorelly na filtračním papíře*

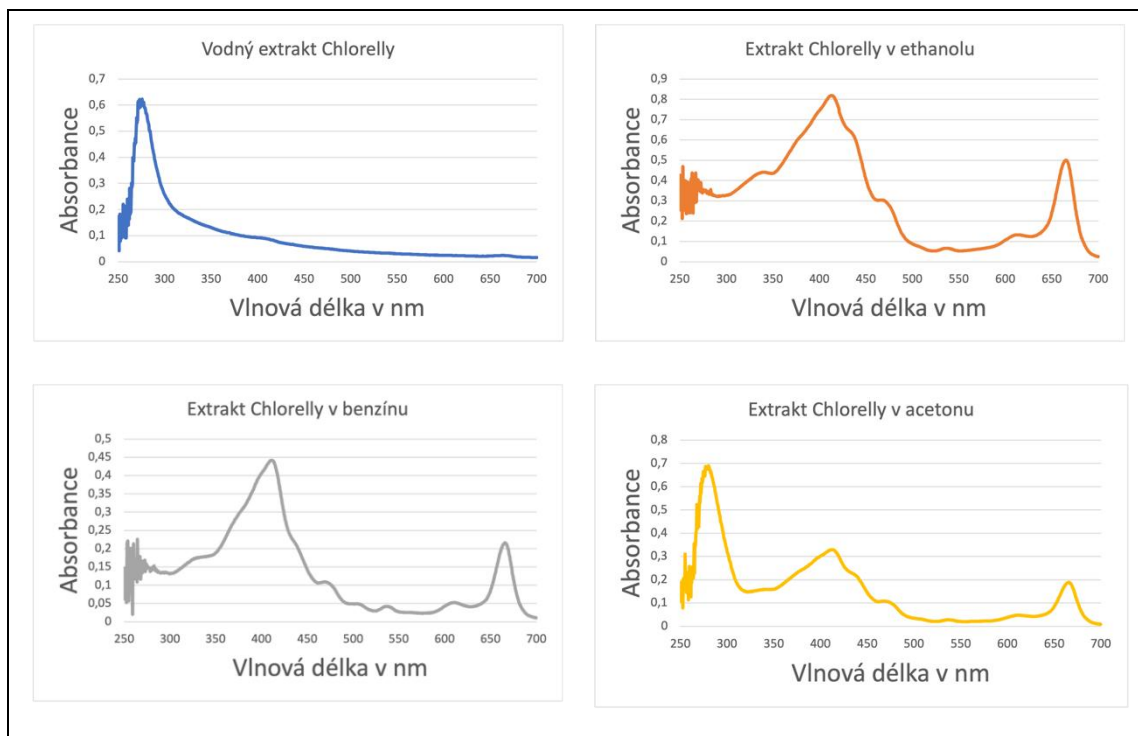


*Obr. 76 – TLC extrakty Spiruliny a Chlorelly na destičce*

### Příloha č. 3: Spektra jednotlivých extraktů Spiruliny a Chlorelly



Obr. 77 – Absorpční spektra jednotlivých extraktů z tablet Spiruliny



Obr. 78 – Absorpční spektra jednotlivých extraktů z tablet Chlorelly

**Příloha č. 4: Standardní absorpční maxima barviv v methanolu**

<i><math>\beta</math> – karoten</i>		341	429	449	475	
zeaxanthin	275	341	429	448	473	
<i><math>\alpha</math> – karoten</i>		335	422	442	471	
lutein		330	422	443	470	
cryptoxanthin	272			447	473	
echinenon			460			
chlorofyl a			417	431	618	666
chlorofyl b				460		640
feofytin a		408	504	534	608	666
fykocyanin			500			

## Příloha č. 5: Zadání laboratorní práce č. 1 – Extrakce fykocyaninu z tablety Spiruliny



Fykocyanin je modré barvivo, které se vyskytuje u skrytěnek, ruduch a sinic. Je hlavní složkou sinice Spiruliny, která se pěstuje v Japonsku na výrobu vitamínových tablet. Fykocyanin ze Spiruliny se opět začal používat jako potravinářské barvivo na barvení výrobků „Smarties“ od výrobce Nestlé.

**Úkol:** Získejte modré barvivo z tablety Spiruliny. Navrhněte postup experimentu a запиšte celý protokol.

### ***Použité metody:***

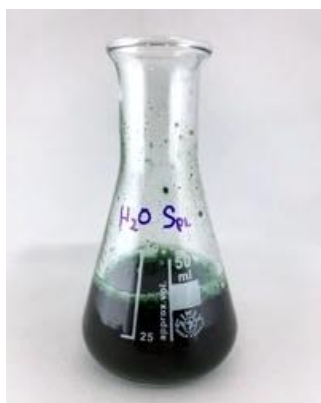
***Extrakce*** je dělicí metoda sloužící k oddělování složek ze směsi vhodným rozpouštědlem. Od nerozpuštěných složek se rozpuštěná složka oddělí filtrací. Je založena na rozdílné rozpustnosti jednotlivých složek ze směsi.

## Autorské řešení Laboratorní práce č. 1: Extrakce fykocyaninu z tablety Spiruliny



Fykocyanin je modré barvivo, které se vyskytuje u skrytěnek, ruduch a sinic. Je hlavní složkou sinice Spiruliny, která se pěstuje v Japonsku na výrobu vitamínových tablet. Fykocyanin ze Spiruliny se opět začal používat jako potravinářské barvivo na barvení výrobků „Smarties“ od výrobce Nestlé.

**Úkol:** Získejte modré barvivo z tablety Spiruliny. Navrhněte postup experimentu a запиšte celý protokol.



*Rozmělněné tablety Spiruliny  
v destilované vodě*



*Vodný extrakt z tablet Spiruliny  
(fykocyanin)*

**Použité metody:** *extrakce, filtrace*

**Extrakce** je dělicí metoda sloužící k oddělování složek ze směsi vhodným rozpouštědlem. Od nerozpuštěných složek se rozpuštěná složka oddělí filtrací. Je založena na rozdílné rozpustnosti jednotlivých složek ze směsi.

## Příloha č. 6: Zadání laboratorní práce č. 2 – Extrakce fykocyaninu z tablety Spiruliny a Chlorelly



Spirulina (sinice) a Chlorella (řasa) jsou velice důležité organismy, které se v dnešním moderním světě používají jako superpotravin. Obsahují mnoho důležitých látek, jako jsou vitamíny, bílkoviny, stopové prvky a pigmenty.

Jednou z hlavních složek Spiruliny je modré barvivo – fykocyanin. Toto barvivo se také vyskytuje u skrytěnek a ruduch. Fykocyanin ze Spiruliny se opět začal používat jako potravinářské barvivo na barvení výrobků „Smarties“ od výrobce Nestlé. Chlorella obsahuje nejvíce chlorofylu ze všech dosud známých rostlin. Je bohatá na železo, vitamíny a minerály.

**Úkol:** Získejte modré barvivo z tablety. Navrhněte postup experimentu a запиšte celý protokol.

### ***Použité metody:***

***Extrakce*** je dělicí metoda sloužící k oddělování složek ze směsi vhodným rozpouštědlem. Od nerozpuštěných složek se rozpuštěná složka oddělí filtrací. Je založena na rozdílné rozpustnosti jednotlivých složek ze směsi.



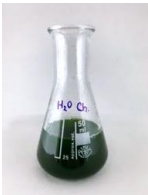

## Autorské řešení laboratorní práce č. 2: Extrakce fykocyaninu z tablety Spiruliny a Chlorelly



Spirulina (sinice) a Chlorella (řasa) jsou velice důležité organismy, které se v dnešním moderním světě používají jako superpotravin. Obsahují mnoho důležitých látek, jako jsou vitamíny, bílkoviny, stopové prvky a barviva.

Jednou z hlavních složek Spiruliny je modré barvivo – fykocyanin. Toto barvivo se také vyskytuje u skrytěnek a ruduch. Fykocyanin ze Spiruliny se opět začal používat jako potravinářské barvivo na barvení výrobků „Smarties“ od výrobce Nestlé. Chlorella obsahuje nejvíce chlorofylu ze všech dosud známých rostlin. Je bohatá na železo, vitamíny a minerály.

**Úkol:** Získejte modré barvivo z tablety. Navrhněte postup experimentu a запиšte celý protokol.

 <p><i>Rozmělněné tablety Spiruliny v destilované vodě</i></p>	 <p><i>Vodný extrakt z tablet Spiruliny</i></p>
 <p><i>Rozmělněné tablety Chlorelly v destilované vodě</i></p>	 <p><i>Vodný Extrakt z tablet Chlorelly)</i></p>

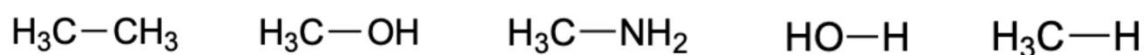
Vodný extrakt Spiruliny je modrý, protože obsahuje fykocyanin. Vodný extrakt Chlorelly je žlutý, protože obsahuje chlorofyl a.

**Použité metody:** *extrakce, filtrace*

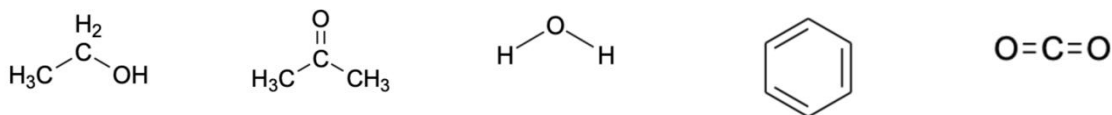
**Extrakce** je dělicí metoda sloužící k oddělování složek ze směsi vhodným rozpouštědlem. Od nerozpuštěných složek se rozpuštěná složka oddělí filtrací. Je založena na rozdílné rozpustnosti jednotlivých složek ze směsi.



1. Seřad'te vazby podle **vzrůstající** polarity.



2. Seřad'te molekuly podle **vzrůstající** polarity



3. Zakroužkujte polární vazby ve vzorcích barviv v úloze č. 1.

4. Seřad'te barviva dle rozboru struktury od nejméně polární po nejpolárnější.

Lutein    Chlorofyl a     $\beta$ -karoten    Fykocyanin    Chlorofyl b    Echinenon

5. Seřad'te daná rozpouštědla dle **vzrůstající** polarity.

Benzín    Voda    Aceton    Ethanol

6. Navrhněte kritéria třídění barviv z úlohy č. 1.

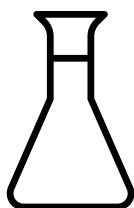
7. Najděte rozdíly ve vzorcích číslo:

(2) a (5):

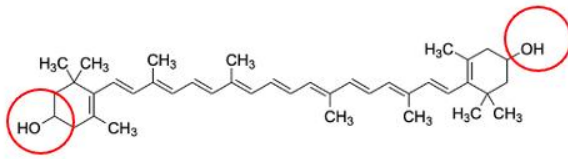
(1), (3) a (6):

8. Pozorně sledujte demonstrační experiment, který učitel provede.

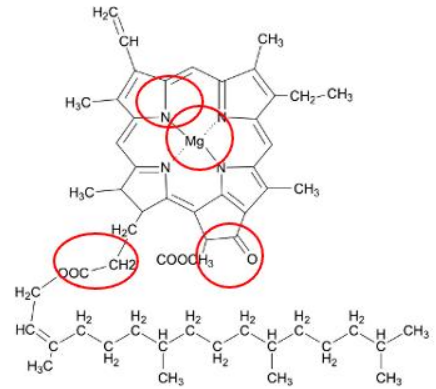
9. Zkus navrhnout, která barviva učitel získal pomocí filtrace v různých rozpouštědlech (vybarvěte – nebo slovně zapište – Erlenmeyerovy baňky dle odpovídajících barev extraktů a vypište, které barvivo a rozpouštědlo obsahují).



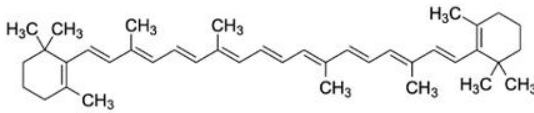
## Autorské řešení pracovního listu: Barviva a polarita látek



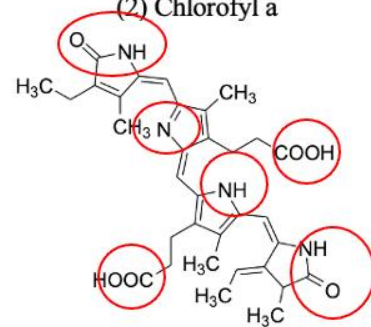
(1) Lutein



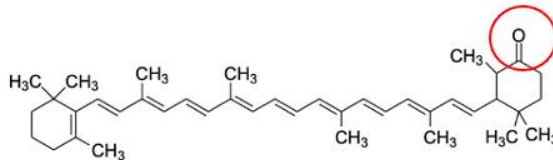
(2) Chlorofyl a



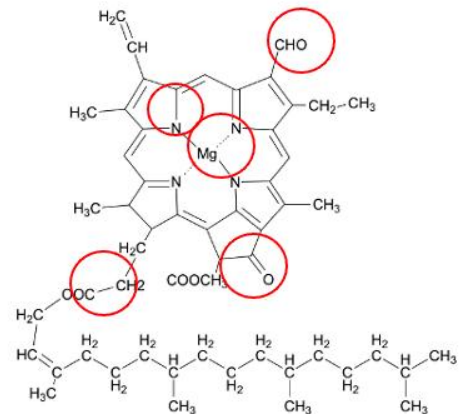
(3)  $\beta$ -karoten



(4) Fykocyanin

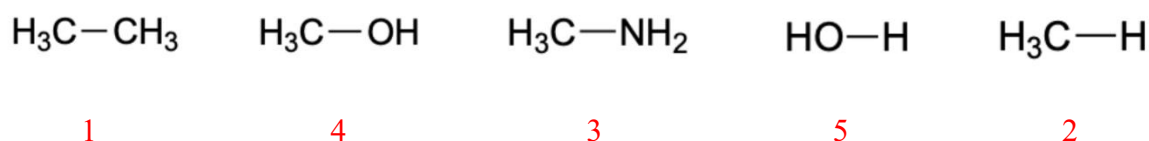


(5) Echinenon

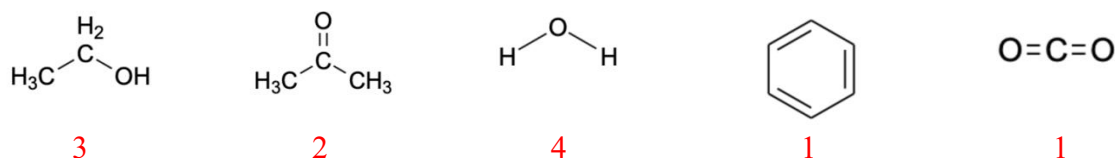


(6) Chlorofyl b

1. Seřad'te vazby podle **vzrůstající** polarity.

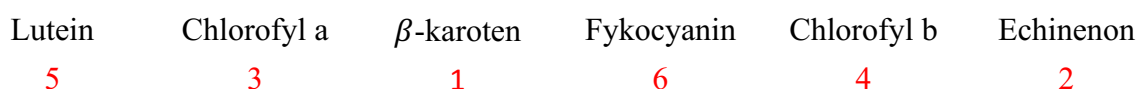


2. Seřad'te molekuly podle **vzrůstající** polarity



3. Zakroužkujte polární vazby ve vzorcích barviv v úloze č. 1.

4. Seřad'te barviva dle rozboru struktury od nejméně polární po nejpolárnější.



5. Seřad'te daná rozpouštědla dle **vzrůstající** polarity.



6. Navrhněte kritéria třídění barviv z úlohy č. 1.

Několik kritérií třídění barviv (může jich být daleko více):

- struktura – polyeny, pyrolové cykly
- funkční skupiny
- přítomnost dusíku či hořčíku v molekule
- heterocykly
- kyslíkaté deriváty
- a mnohé další...

7. Najděte rozdíly ve vzorcích:

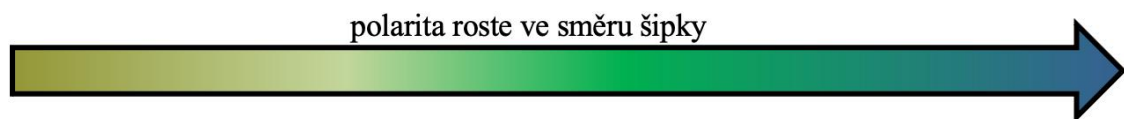
(2) a (6): Chlorofyl b obsahuje ve své molekule aldehydovou skupinu, zatímco chlorofyl a místo této funkční skupiny obsahuje pouze methyl.

(1), (3) a (5): Tyto pigmenty se liší substituenty na cyklických koncích molekul. Lutein obsahuje dvě alkoholové skupiny,  $\beta$ -karoten neobsahuje žádný navázaný kyslík a echinon obsahuje pouze jeden kyslík navázaný dvojnou vazbou, tedy karbonylovou skupinu.

8. Pozorně sledujte demonstrační experiment, který učitel provede. Tímto experimentem vzniknou 3 extrakty žluté, zelené a modré barvy viz. metodické pokyny.

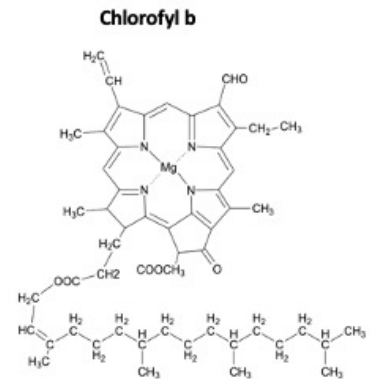
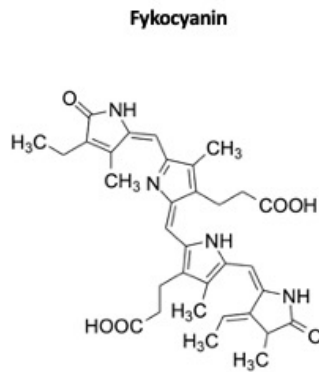
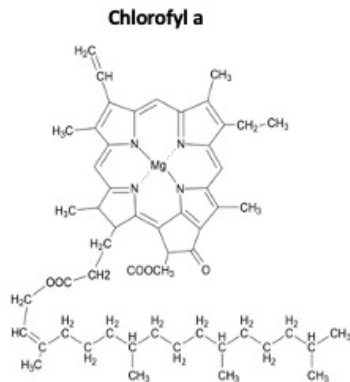
9. Zkus navrhnout, která barviva učitel získal pomocí filtrace v různých rozpouštědlech (vybarvěte – nebo slovně запиšte – erlenmeyerovy baňky dle odpovídajících barev extraktů a vypište, které barvivo a rozpouštědlo obsahují).

Všechny suspenze tablet Spiruliny v destilované vodě, ethanolu a benzínu jsou tmavě zelené. Barevně jsou zajímavé filtráty, které se liší barevně. Žáci dle znalostí o polaritě a z předchozích kapitol vyvodí, že nepolární rozpouštědlo – benzín, bude obsahovat nepolární barvivo -  $\beta$ -karoten a že nejpolarnější rozpouštědlo – voda, bude obsahovat nejpolarnější barvivo fykocyanin a chlorofyl a, který se ale na celkové barvě extraktu nepodílí. Největší obsah barviv má ethanolový extrakt, který obsahuje lutein, zeaxanthin, chlorofyl, chlorofyl b, chlorofyl a, feofytin a.





# Vzorce barviv



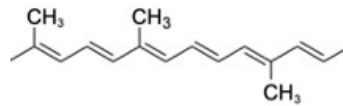
## Chromofory

- skupiny atomů zodpovědné za barvu molekuly

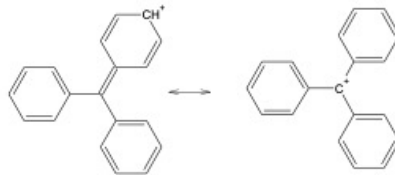
Azosloučeniny



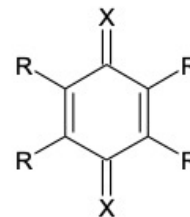
Polyeny



Trifenylmethylový kationt



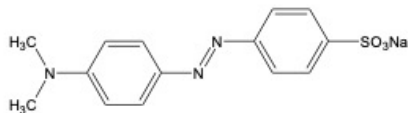
Chinoidní struktura



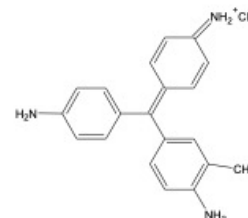
## Rozdělení dle chemické struktury



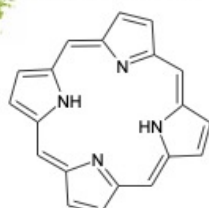
azobarviva – methylovanž



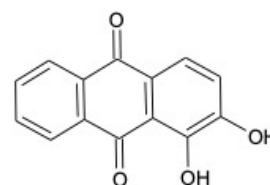
arylmethanová barviva – fuchsin



pyrrolová barviva



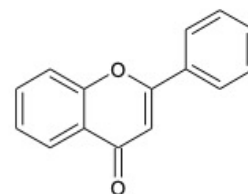
antrachinonová barviva – alizarin



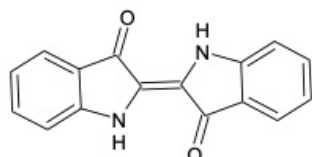
## Rozdělení dle chemické struktury



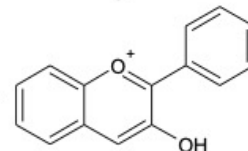
pyranová barviva: flavonoidy



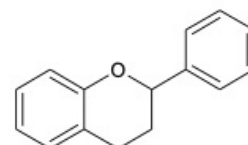
indolová barviva – indigo



anthokyaniny

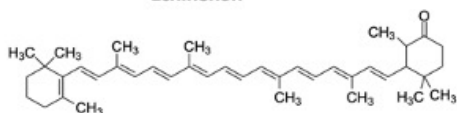


flavony

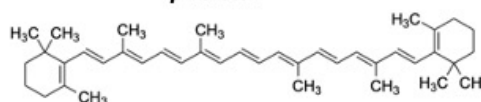


## Vzorce barviv obsažené ve Spirulině a Chlorelle (polyeny)

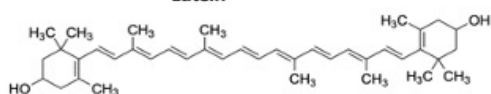
**Echinenon**



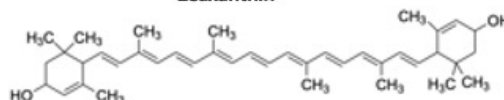
**$\beta$ -karoten**



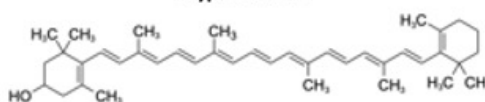
**Lutein**



**Zeaxanthin**

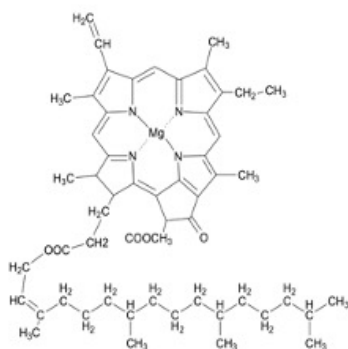


**Cryptoxanthin**

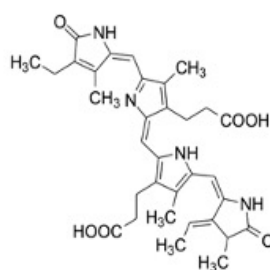


## Vzorce barviv obsažené ve Spirulině a Chlorelle (pyrrolová barviva)

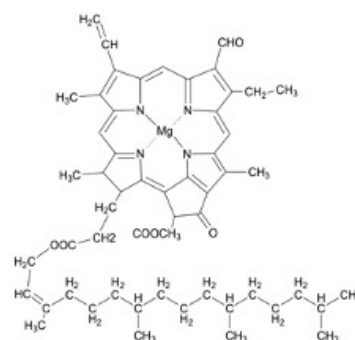
**Chlorofyl a**

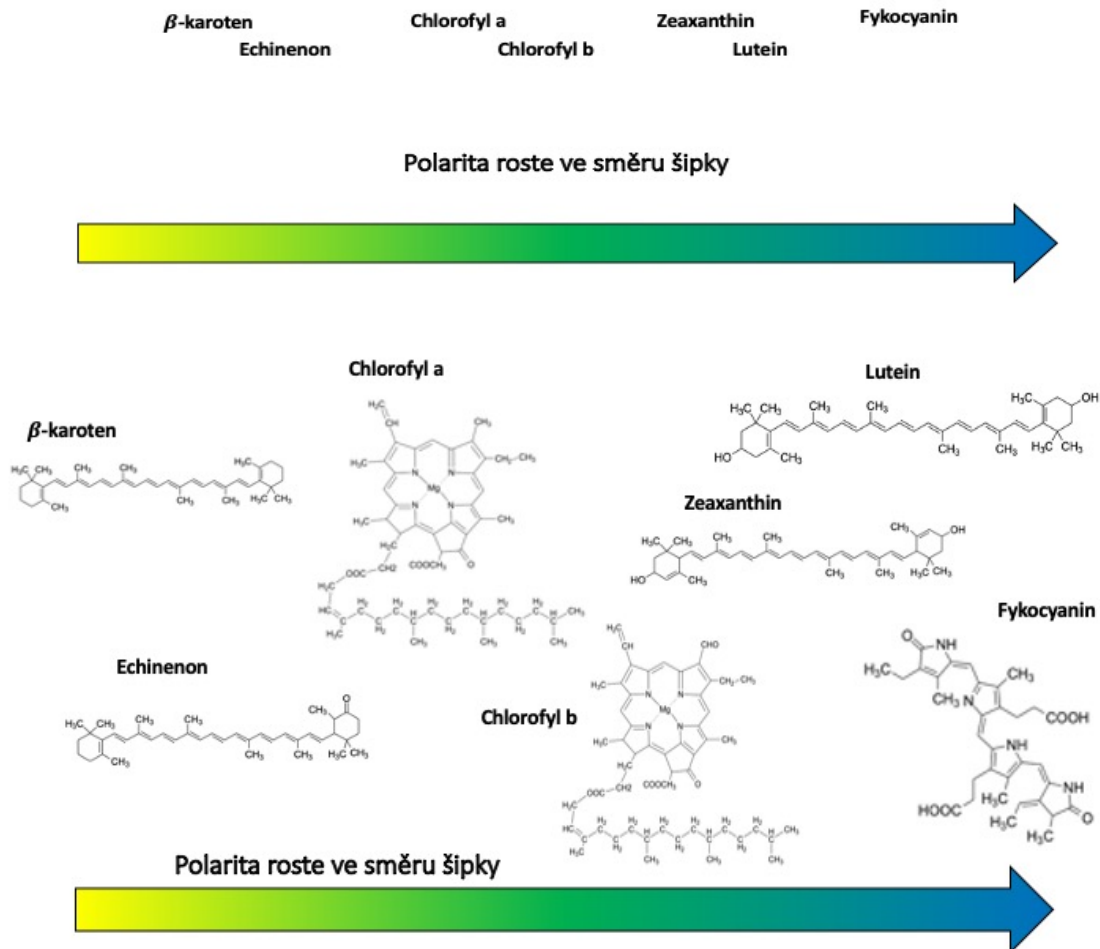


**Fykocyanin**



**Chlorofyl b**





## Barviva obsažená v extraktech Spiruliny a Chlorelly

	Rozpouštědlo	Voda	Ethanol	Benzín
Spirulina	Pigmenty	fykocyanin, chlorofyl a	lutein, zeaxanthin, chlorofyl, chlorofyl b, chlorofyl a, $\beta$ -karoten, feofytin a	$\beta$ -karoten
	Výsledná barva extraktu	Vodný extrakt obsahuje chlorofyl a méně fykocyaninu obsahuje mnohem více, a proto je výsledná barva <b>modrá</b> .	Ethanolový extrakt obsahuje velké množství chlorofylů, který způsobují výslednou barvu <b>tmavě zelenou</b> .	Benzínový extrakt je <b>světle žlutý</b> .



Vodný extrakt z tablet Spiruliny



Ethanolový extrakt z tablet Spiruliny



Benzínový extrakt z tablet Spiruliny