

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**

**PEDAGOGICKÁ FAKULTA**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

Barvení textilií rostlinnými barvivy

Katedra chemie a didaktiky chemie

Vypracovala: Kristýna Rychlovská

Vedoucí práce: Mgr. Ing. Štěpánka Hrdličková Kučková,  
Ph.D.

2014

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Barvení textilií rostlinnými barvivy vypracovala pod vedením vedoucího bakalářské práce samostatně za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále prohlašuji, že tato bakalářská práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím se zveřejněním diplomové práce podle zákona č. 111/1998 Sb., zákon o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, ve znění pozdějších předpisů.

Datum

podpis

Ráda bych poděkovala vedoucí bakalářské práce, paní Ing. Mgr. Štěpánce Hrdličkové Kučkové, Ph.D. za její odborné vedení, čas, ochotu a lidský přístup. Děkuji všem, kteří mi jakkoli pomohli při získávání potřebných materiálů. Děkuji také svým rodičům za trpělivost a umožnění studia.

## **ABSTRAKT:**

Teoretická část práce krátce pojednává o barevném vnímání člověka a historii barvení přírodními barvivy. Věnuje se barvířským rostlinám, jejich využití a obsahovým látkám. Dále se zabývá klasifikací přírodních barviv, jejich strukturou, využitím a organismy, ve kterých byla barviva nalezena. Důraz je kladen na barviva společensky významná a na barviva následně analyzovaná v Experimentální části. Popsán je také princip použité analytické metody – hmotnostní spektrometrie. V Experimentální části byly z vybraných rostlin různými postupy připraveny barvicí lázně. Pomocí barvicích lázní byla obarvena přírodní plátna nemořená i předem namořená. Následně byla barviva z pláten zpětně extrahována a extrakt byl podroben zkoumání pomocí metody LDI-TOF MS (Laser Desorption/Ionisation – Time Of Flight Mass Spectrometry).

Cílem práce bylo pomocí této metody stanovit známá obsahová barviva u bezu černého (*Sambucus nigra*), brusnice borůvky (*Vaccinium myrtillus*), cibule kuchyňské (*Allium cepa*), meruzalky rybízu (*Ribes rubrum*), ořešáku královského (*Juglans regia*) a třezalky tečkované (*Hypericum perforatum*).

V kapitole Přílohy jsou vyobrazena plátna seřazená dle barvení jednotlivými rostlinami a dle jednotlivých postupů.

## **KLÍČOVÁ SLOVA:**

barvířské rostliny, rostlinná barviva, hmotnostní spektrometrie

**ABSTRACT:**

Theoretical part of this bachelor thesis deals briefly with colour perception and history of dyeing with natural dyes. Also it devotes to dyer's plants, their use and colouring agents. Then the thesis deals with classification of natural dyes, their structure, use and organisms that contain these dyes. The accent is put on social important dyes and mainly on dyes that were analysed in the Experimental part. In the theoretical part of this thesis the principle of the used mass spectrometric method is explained. In the Experimental part the dyeing of small clothes by the selected plants is described. The the textiles were analysed by LDI MS (Laser Desorption/Ionisation – Time Of Flight Mass Spectrometry).

The goal of this thesis was by using of the method of mass spectrometry determine the known dyestuffs in black elder (*Sambucus nigra*), blueberry (*Vaccinium myrtillus*), onion (*Allium cepa*), red currant (*Ribes rubrum*), walnut (*Juglans regia*) and St John's wort (*Hypericum perforatum*).

In the supplement part the photographed dyed textiles are presented.

**KEY WORDS:**

dyer's plants, vegetal dyes, mass spectrometry

# OBSAH

1. ÚVOD.....	9
2. TEORETICKÁ ČÁST .....	10
2.1 Barvy a vidění .....	10
2.2 Barvení textilií v historii .....	12
2.3 Barviřské rostliny a vybrané rostliny užívané k barvení .....	13
2.4 Mořidla.....	23
2.5 Klasifikace přírodních barviv.....	23
2.5.1 Klasifikace barviv podle jejich původu.....	24
2.5.2 Klasifikace přírodních barviv dle chemické struktury .....	25
2.6 Analytické metody používané k identifikaci barviv .....	41
2.6.1 Historie hmotnostní spektrometrie .....	42
2.6.2 Princip hmotnostní spektrometrie .....	44
2.6.3 Laserová desorpční hmotnostní spektrometrie a TOF analyzátor .....	45
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	48
3.1 Použitý materiál a pomůcky.....	48
3.2 Rostliny a jejich části použité k barvení .....	49
3.3 Výběr receptur.....	49
3.4 Pláténka.....	50
3.5 Moření.....	51
3.6 Příprava barvení .....	51
3.7 Postupy barvení.....	52
3.7.1 Bez černý ( <i>Sambucus nigra</i> ) .....	52
3.7.1.1 Sběr a příprava rostlinného materiálu.....	52
3.7.1.2 Vlastní barvení.....	52

3.7.2 Brusnice borůvka ( <i>Vaccinium myrtillus</i> ).....	53
3.7.2.1 Sběr a příprava rostlinného materiálu.....	53
3.7.2.2 Vlastní barvení.....	53
3.7.3 Cibule kuchyňská ( <i>Allium cepa</i> ) .....	54
3.7.3.1 Sběr a příprava rostlinného materiálu.....	54
3.7.3.2 Vlastní barvení.....	54
3.7.4 Meruzalka rybíz ( <i>Ribes rubrum</i> ) .....	55
3.7.4.1 Sběr a příprava rostlinného materiálu.....	55
3.7.4.2 Vlastní barvení.....	55
3.7.5 Ořešák královský ( <i>Juglans regia</i> ) .....	55
3.7.5.1 Sběr a příprava rostlinného materiálu.....	55
3.7.5.2 Vlastní barvení.....	56
3.7.6 Třezalka tečkovaná ( <i>Hypericum perforatum</i> ) .....	56
3.7.6.1 Sběr a příprava rostlinného materiálu.....	56
3.7.6.2 Vlastní barvení.....	56
3.7.7 Přehled všech barvení.....	57
3.8 Příprava materiálu k analýze.....	59
4. VÝSLEDKY A DISKUZE.....	61
4.1 Bez černý.....	61
4.2. Brusnice borůvka .....	62
4.3 Cibule kuchyňská .....	64
4.4 Meruzalka rybíz .....	67
4.5 Ořešák královský.....	69
4.6 Třezalka tečkovaná.....	70
5. ZÁVĚR.....	73
6. LITERATURA .....	74
7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK .....	80

8. PŘÍLOHY .....	82
------------------	----



## 1. ÚVOD

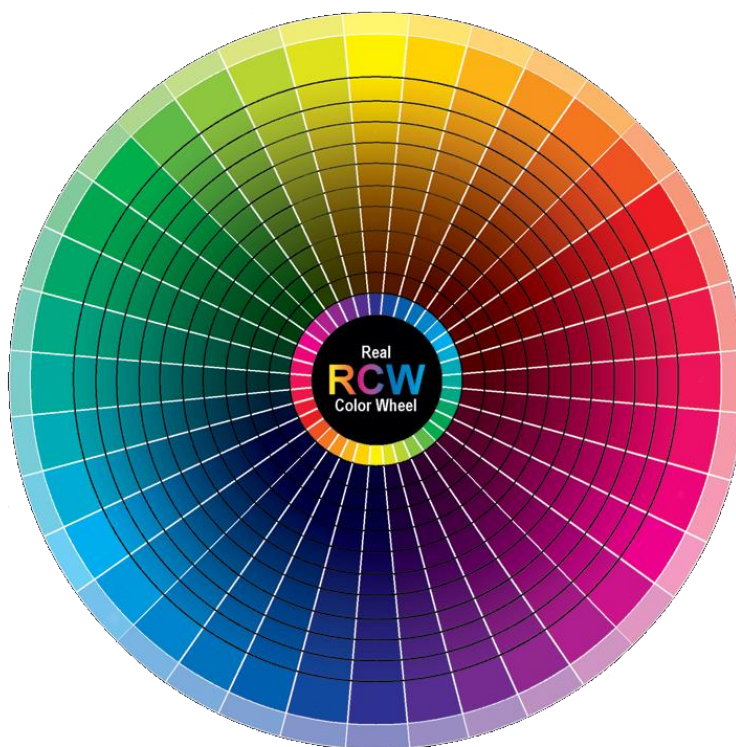
Lidstvo bylo barvami fascinováno od pradávna. Barvami různého organického i anorganického původu si lidé zdobili těla malováním, tetováním nebo barvením vlasů, ale barvili jimi také i oděvy (kůže, tkaniny). Pomocí barviv lidé zobrazovali konkrétní věci a později i abstraktní pojmy, tvarovali předměty z různých materiálů a malovali na ně a zobrazovali je i ve svých obydlích. U přírodních národů barvy pomáhaly plnit funkci rituální. Ve společnostech sloužily jako identifikační faktor k odlišení jednotlivých skupin a společenského postavení. Barvy ovlivňují pocity člověka, z toho důvodu je nutné také jejich estetické prožívání, byť nevědomé, počítat mezi důležité faktory ovlivňující naše životy.

V současné době vládne světu textilních barviv barviva syntetická, přesto zde mají přírodní barviva stále své místo. Nejen na našem území je textilní výroba a barvení tkanin barvířskými rostlinami nedílnou součástí historie a tradice mnoha řemesel a každodenního života lidí. Výroba barviv z barvířských rostlin se děje z obnovitelných zdrojů a odpadem jsou snadno degradovatelné části rostlin. Také látky používané pro usnadnění barvení a ovlivnění barevného odstínu mohou být látky běžně se vyskytující v okolním prostředí (např. kamenec, skalice, ocet atd.). Po dosloužení obarveného textilu je také důležitá degradabilita barviv a velkou výhodou přírodních barviv je, že nejsou v přírodě cizorodým prvkem, nýbrž její přirozenou součástí. Ačkoli mají řadu jiných nevýhod, jako je nižší stálost, odolnost a vyšší cena, barvení přírodními barvivy je oproti syntetickým barvivům šetrnější k životnímu prostředí, a proto si zaslouhuje naši pozornost.

## 2. TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Barvy a vidění

Viditelná část elektromagnetického záření se pro člověka nalézá přibližně v oblasti mezi 400–760 nm, tedy jen v malé části veškerého záření. Záření o vlnové délce kratší než 400 nm je nazýváno jako ultrafialové (UV), a naopak záření přesahující vlnovou délku 760 nm jako infračervené (IR). Světlo dopadající na předměty je jimi v určitých vlnových délkách selektivně absorbováno a vyvolává jako vjem doplňkovou neboli komplementární barvu (obr. 1). Je-li např. předmětem pohlcována modrá část spektra, jeho barva se jeví jako žlutá apod. (tab. I). Předmět pohlcující celé spektrum viditelného záření je vnímán jako černý, zatímco předmět odrážející veškeré viditelné spektrum se jeví jako bílý.



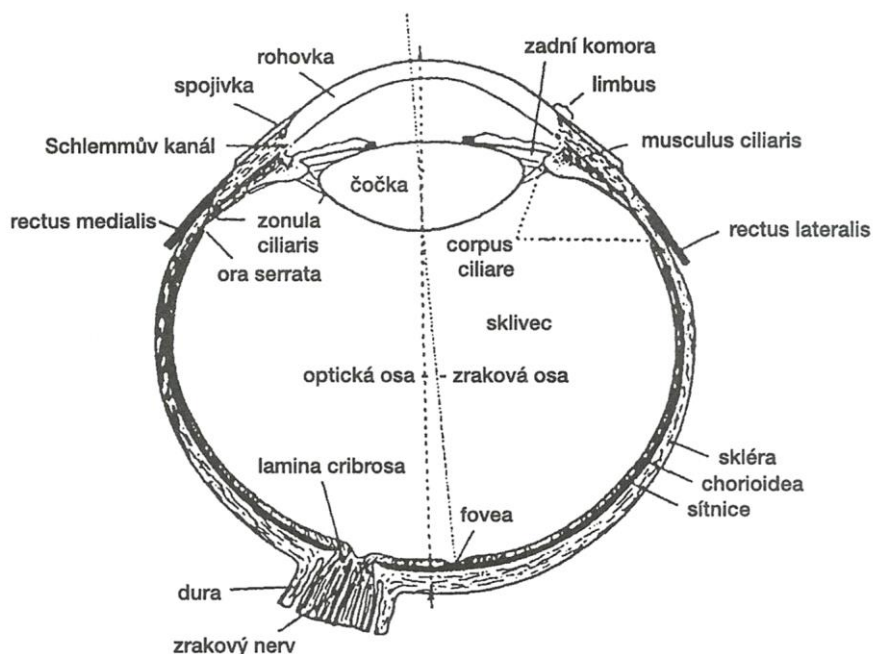
**Obrázek 1.** Barvy a doplňkové barvy na barevném kolečku, v jehož středu a na protější straně je umístěna k dané barvě barva doplňková [1].

**Tabulka I:** Spektrální a doplňkové barvy v závislosti na vlnové délce záření. [2]

Vlnová délka (nm)	Spektrální barva	Doplňková barva
400–435	fialová	žlutozelená
435–480	modrá	žlutá
480–490	modrozelená	oranžová
490–500	zelenomodrá	červená
500–560	zelená	purpurová
560–580	zelenožlutá	fialová
580–595	žlutá	modrá
595–605	oranžová	modrozelená
605–730	červená	zelenomodrá
730–760	purpurová	zelená

Vjem z vnějšího prostředí do oka prostupuje rohovkou (*cornea*), zornicí (*pupilla*) a čočkou (*lens*), dále sklivcem (*corpus vitreum*) a dopadá na sítnici (*retina*) (obr. 2), kde prochází několika vrstvami až na receptní buňky. Člověk má dva typy receptních buněk – tyčinky a čípky. Tyčinky registrují změny v intenzitě světla a obsahují pigment **rhodopsin**, membránový glykoprotein o délce 348 aminokyselin. Čípky obsahují pigment **iodopsin** a dokáží vnímat různé vlnové délky, což umožňuje barevné vidění. Chromoforová skupina (skupina způsobující zbarvení) je u obou pigmentů stejná, aldehyd vitamínu A<sub>1</sub>; bílkovinná složka molekuly – opsin, má však u obou typů buněk odlišnou strukturu. Dopad světla na pigmenty vyvolá konformační změny. Popsána je u rhodopsinu, kdy se 11-*cis*-retinal po dopadu světla mění na *alltrans*-retinal. Sloučenina odštěpením od opsinu vstupuje do pigmentového epitelu a ztrácí barvu. Aby mohl být registrován další vjem, musí docházet k regeneraci, sloučenina se mění zpět na původní konformaci *cis* a přijímá opsin. [3, 4]

Na sítnici přechází vjem ve zrakový nerv (*nervus opticus*) a pokračuje po zrakové dráze až do šedé kůry týlního laloku (*lobus occipitalis*) koncového mozku (*telencephalon*), kde se informace integrují a vytváří se odpověď.



**Obrázek 2.** Schéma oka. [4]

## 2.2 Barvení textilií v historii

Nejstarší doklady o barvených tkaninách se datují do doby asi 2500 let před naším letopočtem. V hrobkách starověkých Egypťanů byly nalezeny tkaniny obarvené světlíci barvířskou (*Carthamus tinctorius*). Zmínky o barvířství jsou známy i z antického Řecka (od 1200 př. n. l.), kde se jako barvířské rostliny používaly například šafrán (*Crocus sativus*), mořena barvířská (*Rubia tinctorum*), boryt barvířský (*Isatis tinctoria*) nebo dubová kůra (rod *Quercus*). Z této doby existuje také první doklad o použití mořidla, a to vinného kamene ( $KC_4H_5O_6$ ). V antickém Římě se používaly stejné rostliny jako v Řecku, navíc jsou zaznamenána i barvení slupkami ořechů (rod *Juglans*) a barvení kořeny lotosu (rod *Nelumbo*). [5] V Římě také vznikl první barvířský cech [6].

V českých zemích se ve středověku pěstoval boryt barvířský a šafrán již od 13. století. Využívala se také škumpa (rod *Rhus*) a borůvková šťáva (*Vaccinium myrtillus*). O pěstování mořeny barvířské jsou doklady od 17. století. [5, 7]

Proces barvení látek byl velmi složitý a vyžadoval řadu profesí. Tkalci utkali plátna, která měla svou přirozenou nažloutlou barvu. Běliči vybělovali plátna mnohonásobným namáčením v kádích a loužením, aby je barvíři mohli nabarvit na požadovanou barvu. Po barvení se plátna škrobila a mandlíři je dále mandlovali mezi dvěma válci, látky tak získaly hladkost a lesk. Všechna tato řemesla měla v Čechách bohatou tradici počínající často ve 14. století. Řemeslníci se později sdružovali do cechů, významný byl cech černobarvířů, kteří barvili na černo a hnědo, krasobarvíři upravovali plátna na žlutou, červenou a zelenou barvu, modrotiskaři vyráběli modrá plátna. Největší rozvoj zaznamenala barvířská řemesla na našem území zejména v 17. století. [8]

Nejprve byly barvené látky výsadou pouze vyšších vrstev společnosti, vladařů, bohatých občanů a církevních hodnostářů. Později se barvené látky rozšířily i mezi prostý lid.

### 2.3 Barvířské rostliny a vybrané rostliny užívané k barvení

Rostlin, které byly užívány jako zdroje barviv, byla v historii celá řada a mnohé jsou užívány dodnes. V následující kapitole jsou vybrány významné barvířské rostliny\* a rostliny užívané v praktické části k barvení pláten a následně izolaci a analýze barviv. Z rostlin se dá získat celá paleta barev, jak ukazuje tabulka II.

**Bez černý** (*Sambucus nigra*) – čeleď pižmovkovité (*Adoxaceae*)

Galové a Germáni používali bobule bezu (obr. 3) k barvení vlny do světle fialových tónů [9]. Ve středověku se listy bezu používaly k barvení kůží nažluto [10]. Bobule barví modrošedě, barva však není stálá. Bezů lidé využívají dodnes, ne však jako barvířskou rostlinu, ale



**Obrázek 3.** Bez černý.

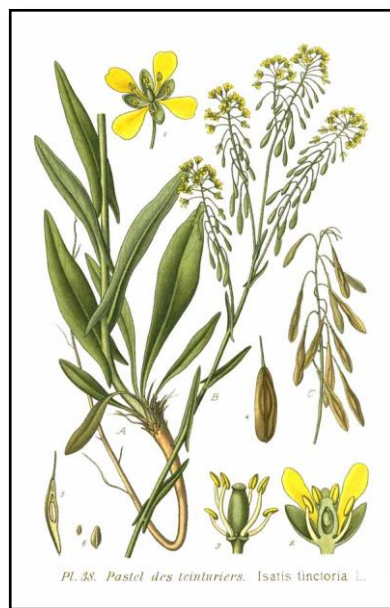
\* Obrázky byly získány ze serveru commons.wikimedia.org [11] jako obrázky se svobodnou licencí nebo public domain (volná díla)

vyhledané pod latinským názvem rostliny. Obr. 13 – Rdesno barvířské pochází z www.lustauffarben.de [12].

spíše jako potravinu (bezová šťáva, víno, džem). Hlavními barvivy jsou kvercetin, rutin, isokvercetin a tanin. [9, 10, 14] Listy bezu černého byly použity k barvení pro účely této práce (viz kap. 3 a 4).

### **Boryt barvířský** (*Isatis tinctoria*) – čeleď brukvovité (*Brassicaceae*)

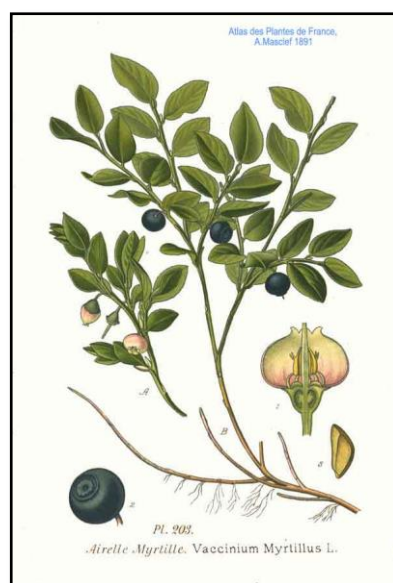
Tuto rostlinu (obr. 4) používaly již germánské kmeny k barvení textilií a v Galii se používala i ke zdobení těla. Tento zvyk udržovali i Keltové [9]. Ve středověku byl boryt jednou z nejdůležitějších barvířských rostlin, barvily se jím textilie a používal se i k tónování stříbra. [15] Hlavní pěstitelskou oblastí bylo Durynsko, kde se začal boryt pěstovat již ve 13. století. [9] Listy borytu se sbíraly v červnu, následně pak byly proprány, usušeny a rozemlety. Poté byly ponechány kvašení pomocí moči a barvíři je zpracovávali až po dvou letech. Obarvené textilie byly žluté až zelené, po oxidaci na vzduchu získaly modrou barvu. S kamencem lze ale získat také růžovou barvu. [10] Na začátku 17. století však bylo do Evropy dovezeno indigo z indigovníku pravého, které je stálejší, a tak kdysi ceněná rostlina na řadě míst zplaněla a např. v Americe je dnes považována za invazivní plevel a je likvidována [16]. Své uplatnění dnes boryt nalézá v medicíně, listy mají antibakteriální, antivirové a adstringentní (svíravé) účinky. Barvicí látky v borytu jsou indikan, isatan A, isatan B, kvercetin a kempferol [10].



**Obrázek 5.** Boryt barvířský.

### **Brusnice borůvka** (*Vaccinium myrtillus*) – čeleď vřesovcovité (*Ericaceae*)

Barvicích schopností borůvek (obr. 5) se využívalo již ve starověku, kdy se na modrošedo barvily šaty galských otroků. [6, 9] Ve středověku se používaly k barvení provazů. Šťávou z plodů byly textilie barveny na různé



**Obrázek 4.** Brusnice borůvka.

odstíny modré, z právě rozvinutých listů se získávala žlutá barva. [10] Obsahové látky borůvek mají antiangiogenetické účinky, tj. zabraňují růstu nových cév, čímž mohou zpomalovat růst nádorů. Prokázány byly také významné antioxidační účinky. [17, 18] Mezi barviva obsažená v borůvkách patří kyanidin, delfinidin a jeho glykosidové formy delfinidin-3-glukosid, 3,5-diglukosid, 3-rhamnoglukosid, petunidin, oenin, cyklamin, malvin, malvidin a kvercetin. [10] Pro účely této práce byly k barvení použity plody brusnice borůvky (viz kap. 3 a 4).

**Cibule kuchyňská** (*Allium cepa*) – čeleď amarylkovité (*Amaryllidaceae*)

Cibule (obr. 6) je známým a dodnes užívaným zdrojem barviv, dodržuje se například zvyk barvení velikonočních vajíček pomocí cibulových slupek. Výhodou tohoto barvení je, že i v malém množství rostlinného materiálu se dosahuje velmi intenzivní barvy. Cibule má řadu příznivých vlastností na lidské zdraví, má antibakteriální, antihelmintické účinky (ničí hlísty), snižuje glykémii, pomáhá proti kašli a je možné ji užívat jako prevenci proti nejrůznějším dalším nemocem. Cibule má rovněž pozitivní vliv na kardiovaskulární systém. Dříve se její šťáva natírala na kůži a sloužila tak jako odpuzovač hmyzu. [10] Obsahové látky v cibuli jsou kvercetin a jeho mono-, di- a triglykosidy (např. 3,4'-O-β-D-diglukosid, 7,4'-O-β-D-diglukosid, 3,7,4'-O-β-D-triglukosid), kempferol a jeho glykosidy, rutin, isorhamnetin přítomný ve žlutých odrůdách. V červených odrůdách je doložen peonidin a pelargonidin. Jednotlivé odrůdy projevují významný rozdíl v obsahu látek. [19] Slupky cibule kuchyňské byly použity k barvení pro účely této práce (viz kap. 3 a 4).



**Obrázek 6.** Cibule kuchyňská.



**Obrázek 7.** Henna pravá.

### **Henna pravá** (*Lawsonia inermis*) – čeleď kyprejovité (*Lythraceae*)

Použití henny (obr. 7) bylo rozšířené již ve starém Egyptě, kde si lidé zdobili ornamente kůži, nehty i rty a barvili si hennou vlasy (resp. paruky). [10] Doložené je její použití také v Persii, pro kterou henna tvořila významný obchodní artikl. [9] Ačkoli je tato rostlina pěstována jako okrasná ve většině zemí Orientu, hlavním pěstitelem je dnes Indie, kde je henna spojena s hennovými rituály, při kterých se svatebčané obřadně vyzdobí ornamente. Díky příjemné vůni se šťáva z květů používá jako vonná přísada do kosmetických výrobků. V medicíně je rostlina uznávána pro své antibakteriální, antiparazitické, hepatoprotektivní a antioxidační účinky [20]. Rozeznáváme více druhů rodu *Lawsonia*, každý z druhů poskytuje odlišné barvy. K barvení se používají usušené a nadrcené listy. Obsahují v různých poměrech naftochinonové barvivo lawson a karotenoid luteolin. [10]

### **Indigovník pravý = modřil srpatý** (*Indigofera tinctoria*) – čeleď Bobovité (*Fabaceae*)

Indigovník (obr. 8) byl znám již starým Egyptanům a Indům před naším letopočtem. V Evropě se uplatnil po roce 1600, kdy jej začali dovážet holanďtí a později i angličtí mořeplavci z Indie. Původ indiga byl tajen, dovážená surovina byla dlouho považována za nerost. Cenným indigem se barvily textilie, tónovaly drahé kovy, používalo se do malířských barev. V době před kvetením jsou z této tropické rostliny sbírány listy, které se nechají vyluhovat ve vodě. Žluté ve vodě rozpustné barvivo indikan se převede do roztoku a oxidací se mění na tmavě modré ve vodě nerozpustné indigo, které se z roztoku vylučuje v podobě kalu. Ten se po dalších úpravách nechává uschnout. [10, 21] Kromě těchto dvou barviv obsahuje další indogová barviva, indirubin, isatin atd. [9]

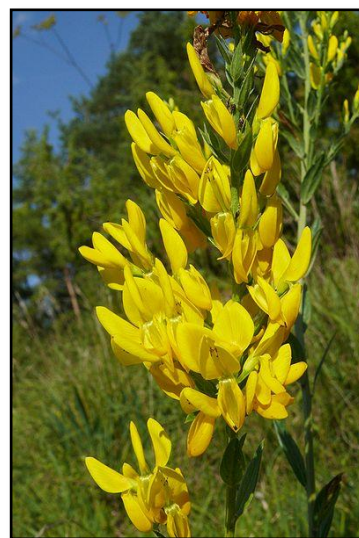


**Obrázek 8.** Indigovník pravý.



### **Kručinka barvířská** (*Genista tinctoria*) – čeleď bobovité (*Fabaceae*)

Kručinka (obr. 9) byla používána k barvení nažluto již germánskými kmeny. [9] K barvení se používají květy, listy a slabé větvičky. Bez mořidel barví žlutě, za použití zelené skalice tmavě hnědě a s modrou skalicí poskytuje zelenou barvu. Nasekané kousky rostliny byly několik hodin namáčeny a poté se roztokem barvilo. Ze stonku je možné získat vlákna na výrobu hrubých tkanin a provazů. Na lidské tělo působí diuretický a podporuje trávení, použití v lidové medicíně bylo ale limitováno obsahem alkaloidu cytisinu, který je pro člověka toxický, protože obsazuje nikotinové acetylcholinové receptory. [10, 22] Barvivem jsou luteolin a apigenin v glykosidové formě, isorhamnetin, kvercetin, genistin a genistein. [9]



**Obrázek 9.** Kručinka barvířská.

### **Meruzalka rybíz** (*Ribes rubrum*) – čeleď meruzalkovité (*Grossulariaceae*)

Červený rybíz (obr. 10) nebyl v minulosti využíván jako zdroj barviv k barvení textilií, přestože barviva obsahuje. Barva je však málo sytá a nestálá. Rybíz obsahuje  $\beta$ -karoten, celou řadu antokyanových barviv ve formě kyanidin-3-glykosidů (sacharidovou částí může být glukosid, rutinoid, sambubiosid, glukosylrutinosid, soforosid, xylosylrutinosid), [23] myricetin, myricetin-3-glukosid, kempferol-3-glukosid. [14]



**Obrázek 10.** Meruzalka rybíz.

Plody meruzalky rybízu byly použity k barvení pro účely této práce (viz kap. 3 a 4).

### **Mořena barvířská (*Rubia tinctorum*) – čeleď mořenovité (*Rubiaceae*)**

Mořena (obr. 11) je jednou z nejstarších známých barvířských rostlin. Její použití bylo rozšířeno již ve starověkém Egyptě, Řecku i Římě. Významnými producenty se později stalo Německo a Turecko. K barvení byly používány kořeny, které byly brzy zjara nebo na podzim sklíženy, promyty, rozsekány a sušeny. Mořena je v barevných odstínech variabilní, s různými mořidly poskytuje celou škálu barev od červené, po fialovou, hnědou a černou. V minulosti byla využívána také k výrobě mořenových (alizarinových) laků používaných v uměleckých oborech. [15] Známych



**Obrázek 11.** Mořena barvířská.

barviv je v mořeně celá řada, převážně se jedná o antrachinonová barviva, např. alizarin, purpurin, pseudopurpurin, rubiadin, rubianin, lucidin, chinizarin, munjistin a christofin. [10]

### **Ořešák královský (*Juglans regia*) – čeleď ořešákovité (*Juglandaceae*)**

Ořešák královský (obr. 12) byl používán již v Persii a v 1. století př. n. l. byl dovezen do Itálie a i zde byl využíván na barvení látek a vlasů nahnědo. [9] Ořešák je rostlinou protkanou barvivy; nejvíce barviv obsahují slupky, barví však i listy a skořápky ořechů. [9, 13] Se zvyšující se teplotou barvicí lázně se zintenzivňuje i barevný odstín barvené tkaniny. [10] Barvicích schopností slupek z ořechů se využívá i v kosmetice do samoopalovacích přípravků a hnědých barev na vlasy. Ořešák obsahuje barviva juglon, hydrojuglon, kvercetin, kvercetin-3-arabinosid, kempferol, kyanidin, hyperin a kyselinu ellagovou. [9, 10] Listy ořešáku královského byly použity k barvení pro účely této práce (viz kap. 3 a 4).



**Obrázek 12.** Ořešák královský.

**Rdesno barvířské** (*Polygonum tinctorium*) – čeleď rdesnovité (*Polygonaceae*)

V době kvetení jsou nasekané ještě čerstvé listy máčeny několik hodin v teplé vodě. Barvivem je stejně jako u borytu a indigovníku indikan (indigo), obsahem barviva překoná boryt 5x, ale indigovníku se nevyrovná. Barvením lze docílit různých odstínů modré a zelené. V Japonsku se rdesno (obr. 13) používalo na barvení oděvů pracovníků rýžovišť, neboť lidé věřili, že je pak obarvené šaty ochrání před pijavicemi a jedovatými hady. [10] Pěstovalo se také v Číně. Kromě indikanu lze ve rdesnu nalézt i indirubin, další indigové barvivo. [9]



**Obrázek 13.** Rdesno barvířské.

**Rezeda barvířská = rýt barvířský** (*Reseda luteola*) – čeleď rýtovité (*Resedaceae*)

Rezedu (obr. 14) odpradávná používají přírodní kmeny v Africe [10]. Doloženo je její použití ve starověkých středomořských civilizacích. Ve středověku byla tato teplomilná rostlina v Evropě pěstována zejména ve Francii, Itálii a Německu. K barvení se používá sušená nat' a semena, která jsou na barviva nejbohatší. S použitím různých mořidel lze dosáhnout mnoha odstínů žluté. Rezeda je užívána také jako diuretikum. Rostlina obsahuje barviva luteolin, kempferol, apigenin a isorhamnetin. [10]



**Obrázek 14.** Rezeda barvířská.

**Rmen barvířský** (*Anthemis tinctoria*) – čeleď hvězdicovité (*Astaceae*)

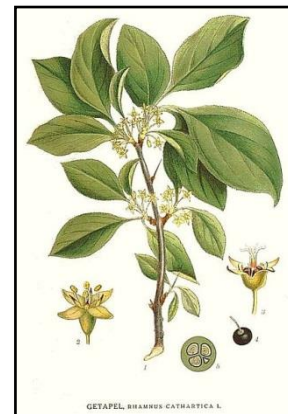
K barvení se ze rmenu (obr. 15) používají listy a zejména květy, které s různými mořidly dávají odstíny žluté, bronzové a hnědé. Dříve se rmen používal jako antihelmintikum. Některé kultivary se pěstují jako okrasné rostliny. Známých barviv obsažených ve rmenu je celá řada, například isorhamnetin a kvercetin a glykosidy odvozené od apigeninu, quercetagetinu, luteolinu nebo palutetinu. [10]



**Obrázek 15.** Rmen barvířský.

**Řešetlák počistvý** (*Rhamnus cathartica*) – čeleď řešetlákovité (*Rhamnaceae*)

Nejstarší doklady o barvení řešetlákem (obr. 16) pochází ze středověku. [10] K barvení nažluto se používají nezralé plody, zralé plody barví zeleně. Šťávou z plodů se přibarvovalo zlato. [15] Kůrou lze dosáhnout červené barvy. Barvivy izolovanými z řešetláku jsou emodin, kvercetin, rhamnetin, kempferol a další. [9] Kromě řešetláku počistvého barví i mnohé další rostliny tohoto rodu (*Rhamnus*).



**Obrázek 16.** Řešetlák počistvý.

**Světlice barvířská** (*Carthamus tinctorius*) – čeleď hvězdnicovité (*Asteraceae*)

Světlice (obr. 17) je prastará barvířská rostlina, jejíž použití k barvení je doloženo již 2 000 let př. n. l. ve starověkém Egyptě. [9] Pěstovala se také v Indii, Afghánistánu a Etiopii, z těchto oblastí se rozšířila do antického Řecka a dále do Evropy. [24] Pro barvení tkanin se sbírají květy, které se suší. Bez mořidel rostlina obarvuje látky na růžovo, s kamencem na žluto. Používala se také k barvení kosmetických přípravků a do uměleckých barev. Dnes se pěstuje jako olejnína (semena jsou využívána k lisování saflorového oleje s obsahem až 80 % nutričně žádané kyseliny linolové) nebo jako mezíplodina na zelenou píci. [24] Červené barvivo obsažené ve světlici se nazývá karthamin neboli saflorkarmin. Rostlina ale obsahuje také saflorovou žluť, jejíž struktura ovšem není dodnes známa.



**Obrázek 17.** Světlice barvířská.

**Šafrán setý** (*Crocus sativus*) – čeleď kosatcovité (*Iridaceae*)

Šafrán (obr. 18) používali již lidé v Akkadské říši, tedy více jak před 2 000 let před naším letopočtem, k barvení cihel.



**Obrázek 18.** Šafrán setý.

[10] Buddhističtí mniši jej používali k barvení rouch již 1 500 let př. n. l. Doložené použití je i ve starověkém Řecku a Římě, v Mínojské říši na Krétě, v Indii i Číně. [9] V průběhu dějin si šafrán mohli dovolit jen bohatí lidé, protože byl a je velmi drahý – k výrobě jednoho gramu používaného šafránu musí být spotřebováno až 200 rostlin [10], ručně se trhají pouze blizny, které se suší nad horkým popelem. Používá se také jako koření, voní a podporuje trávení. V šafránu nalezneme karotenoidy krocín, krocetin, karoteny, xantofyl, lykopen a zeaxanthin [9, 10].

### **Třezalka tečkovaná (*Hypericum perforatum*) – čeleď třezalkovité (*Hypericaceae*)**

Lidé odpradáвна uctívali třezalku (obr. 19) jako magickou rostlinu, sloužila jako ochrana proti blesku, kroupám a čarodějnictví. Takzvaný Janův olej připravený z třezalkových květů měl všestranné použití a používá se v lidovém léčitelství dodnes. Působí hojivě na podrážděnou pokožku, pohmožděniny, používá se při masážích a je možné jej i pálit jako vonný olej. Čaj z třezalky tečkované působí jako antidepresivum, diuretikum a také podporuje trávení.



Na listech je možné vidět drobné tečky – nahromadění **Obrázek 19.** Třezalka tečkovaná. barviva hypericinu. Při nadměrném příjmu barviva však dochází k fotosenzibilitě, která se vysvětluje ukládáním hypericinu v podkožních tkáních. Absorpcí většího množství záření dochází k přehřívání tkáně a podkožním zánětům, které mohou být až letální [25, 26]. Kromě hypericinu obsahuje třezalka také jeho obdoby: pseudohypericin, isohypericin, protohypericin, protopseudohypericin a hyperforin. Dále obsahuje kempferol, kvercetin, luteolin, isokvercitrin, kvercitrin, rutin, emodiantrol, hyperin atd. [9, 14, 26] Listy a květy třezalky tečkované byly použity k barvení pro účely této práce (viz kap. 3 a 4).

**Tabulka II:** Vybrané barvířské rostliny a barvy, které lze z jejich pletiv získat. [5, 6, 9, 10, 13]

<b>Český název rostliny</b>	<b>Latinský název rostliny</b>	<b>Barevné odstíny</b>
Bez černý	<i>Sambucus nigra</i>	modrá, zelená, žlutá
Boryt barvířský	<i>Isatis tinctoria</i>	modrá, růžová
Brusnice borůvka	<i>Vaccinium myrtillus</i>	modrá, růžová
Cibule kuchyňská	<i>Allium cepa</i>	žlutá, oranžová, hnědá
Henna pravá	<i>Lawsonia inermis</i>	žlutá, oranžová, hnědá
Indigovník pravý	<i>Indigofera tinctoria</i>	modrá
Kručinka barvířská	<i>Genista tinctoria</i>	žlutá, zelená, hnědá
Meruzalka rybíz	<i>Ribes rubrum</i>	růžová
Mořena barvířská	<i>Rubia tinctorum</i>	fialová, růžová, nachová, červená
Ořešák královský	<i>Juglans regia</i>	žlutá, hnědá
Rdesno barvířské	<i>Polygonum tinctorium</i>	modrá, zelená
Rezeda barvířská	<i>Reseda luteola</i>	žlutá, zelená, hnědá
Rmen barvířský	<i>Anthemis tinctoria</i>	žlutá, hnědá
Řešetlák počistvý	<i>Rhamnus cathartica</i>	žlutá, zelená, červená
Světlice barvířská	<i>Carthamus tinctorius</i>	žlutá, růžová
Šafrán setý	<i>Crocus sativus</i>	žlutá, oranžová
Třezalka tečkovaná	<i>Hypericum perforatum</i>	zelená, žlutá, oranžová, hnědá

Dříve se ale barvilo i mnoha jinými rostlinami, např. omanem pravým (*Inula helenium*), kurkumou dlouhou (*Curcuma longa*), oreláníkem barvířským (*Bixa orellana*), skalačkou barvířskou (*Rocella tinctoria*), řešetlákem počistvým (*Rhamnus cathartica*), kontryhelem obecným (*Alchemilla vulgaris*), mařinkou vonnou (*Gallium odoratum*), měsíčkem zahradním (*Callendula officinalis*), heřmánkem pravým (*Matricaria chamomilla*) a dalšími. [6, 9, 10, 13, 14]

## 2.4 Mořidla

Mořidla ustalují barvivo na plátně a ovlivňují konečné zbarvení látky [6, 10, 13]. Jako mořidla byly a jsou používány různé látky, jejichž příklady jsou uvedeny v tabulce III.

**Tabulka III:** Mořidla používaná na textil [5, 10, 13]

Triviální název	Chemický název	Vzorec
Kamenec	Síran draselno-hlinitý	$KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$
Cínová sůl	Chlorid cínatý	$SnCl_2$
Modrá skalice	Síran měďnatý	$CuSO_4 \cdot 5 H_2O$
Zelená skalice	Síran železnatý	$FeO_4 \cdot 7 H_2O$
Vinný kámen	Hydrogenvinan draselný	$KC_4H_5O_6$
Soda	Hydrogenuhličitan sodný	$NaHCO_3$
Ocet	Roztok kyseliny octové	$CH_3COOH$
Čpavková voda	Roztok amoniaku	$NH_3$
Thiosíran	Thiosíran sodný	$Na_2S_2O_3$
Dvojchroman	Dichroman draselný	$K_2Cr_2O_7$
Potaš	Uhličitan draselný	$KCO_3$
Sůl	Chlorid sodný	$NaCl$

## 2.5 Klasifikace přírodních barviv

První komplexní třídění barviv se datuje do roku 1882, kdy John William Slater vydal knihu *The manual colour and dyewares*. Existuje celá řada způsobů, jak barviva rozdělit do skupin, například podle jejich barvy, způsobu přípravy nebo užití, doby vzniku atd., dnes se nejčastěji užívá klasifikace podle původu nebo chemické struktury.

## 2.5.1 Klasifikace barviv podle jejich původu

Před objevem syntetických barviv byli lidé odkázáni na přírodní materiály, zdroje organické lze jednoduše rozdělit na rostlinné a živočišné. V místech, kde se žádaného zdroje nedostávalo, bylo nutné dovážet barvivo nebo již hotové obarvené výrobky. Živočišná a rostlinná barviva se tak stala ceněným obchodním artiklem. Často byl jejich původ dokonce tajen.

- **ROSTLINNÁ BARVIVA**

O rostlinných barvivech je podrobněji pojednáno v kapitole 2.5.2.

- **ŽIVOČIŠNÁ BARVIVA**

Lidé v historii využívali k barvení i živočišných zdrojů, ačkoli ne v takové míře jako zdrojů rostlinných. Dále jsou uvedeny nejznámější příklady živočišných barviv.

**Červec nopálový** neboli nopálovec karmínový (*Dactylopius coccus*) je hmyz z řádu mšicosavých (*Sternorrhyncha*), jehož samice žijí přisedle na kaktusovité rostlině nopálu (*Opuntia*). Domovinou obou organismů jsou tropy Ameriky. Rostlina se pěstovala kvůli chutným plodům, většího významu však nabyla díky červci, který často pokrývá celé plochy rostliny. Samice červce nabodávají dužnaté stonky rostliny a sají šťávu, kterou ve svém těle metabolizují na karmínové barvivo košenilu. Způsobem zpracování lze získat různě barevné suroviny – sušením na slunci vznikne šedá košenila, usmrcením v páře pak košenila černá – obě však barví červeně. Dnes se košenila používá jako potravinářské barvivo, přísada do kosmetických výrobků a v textilním průmyslu pod názvy karmín nebo kyselina karmínová a označením E120 [27]. O jeho vlivu na lidské zdraví se stále diskutuje.

Také v Evropě se vyskytují některé druhy červců, například **červec polský** (*Porphyrophora polonica*), jehož barviva pravděpodobně využívali již Slované a prokazatelně bylo používáno již ve středověku [28]. Barvivo z mediteránního **červce kermesového** (*Coccus ilicis*) bylo populární na barvení turbanů v Turecku.

Červci obsahují deriváty antrachinonu, kyselinu karmínovou a kermesovou.



**Ostranka jaderská** (*Murex brandaris*) je mořský plž z čeledi ostrankovitých (*Muricidae*). Obsahuje barvivo antický purpur (6,6'-dibromindigo). K přípravě 1 g barviva bylo třeba několik tisíc měkkýšů, proto byly textilie obarvené antickým purpurem velmi drahé a byly výsadou panovníků a církevních hodnostářů a symbolem moci.

Inkoustové barvivo získané z hlavonožců, zejména ze **sépie obecné** (*Sepia officinalis*) z čeledi sépiovitých (*Sepiidae*), je červenohnědé barvy. Hlavonožci jej používají jako obranu, kdy jej v případě nebezpečí vypouští z inkoustového váčku. Základem barviva je melanin.

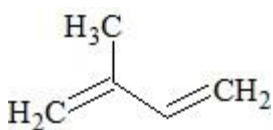
## 2.5.2 Klasifikace přírodních barviv dle chemické struktury

Látek klasifikovaných jako barviva je nesmírné množství a se zdokonalujícími se metodami identifikace a prohlubováním vědeckého poznání se objevují stále nová. Existuje také mnoho přístupů, jak tato barviva kategorizovat. Tato práce nemá za cíl podat podrobný výčet, spíše přiblížení významných barviv různých skupin. Jsou zde uvedena také barviva, která sice nedosahují velkého významu, ale byla použita v experimentální a analytické části (kap. 3 a 4).

### • KAROTENOIDY

Karotenoidy jsou jedněmi z nejdůležitějších a nejrozšířenějších barviv v přírodě. Vyskytují se jak v prokaryotických organismech, kvasinkách, houbách, tak i všech skupinách rostlin a zvířat. Rozpětí jejich barev je široké, od žluté, oranžové, červené až po fialovou. Dodnes bylo izolováno více jak 750 karotenoidů [29].

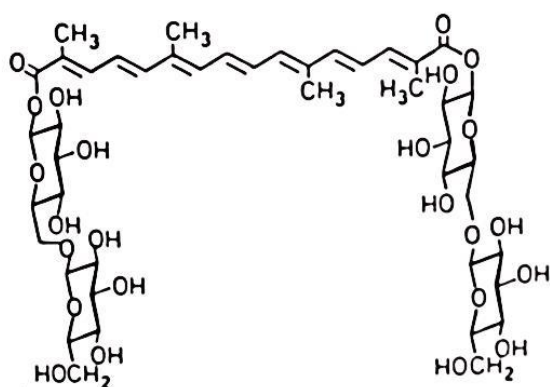
Chemicky se jedná o polyisoprenoidy (základní jednotka isopren, viz Obrázek 20). Isopren (2-methyl-buta-1,3-dien) obsahující dvojné, často konjugované vazby. Základní struktura karotenoidů je lineární a obsahuje 40 uhlíků, často se ale vyskytují řetězce, které mají na svém konci navázané dvě nebo tři cyklické struktury. [29]



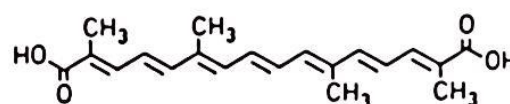
**Obrázek 20.** Isopren (2-methyl-buta-1,3-dien).

Člověk není schopen karotenoidy sám syntetizovat, je proto odkázán na jejich příjem v potravě. V současné době se hovoří o významu karotenoidů ve výživě a zdá se, že jejich nedostatečný příjem v potravě je jedním z faktorů zvyšující riziko vzniku rakoviny [30]. Karotenoidy se totiž mohou uplatnit právě v inhibici růstu rakovinných buněk [31].

**Krocetin, krocin** – karotenoidy izolované z šafránu (r. *Crocus*). Krocin (obr. 21) působí vasodilatačně (roztahuje cévy) a krocetin snižuje hladinu cholesterolu v krvi (obr. 22). Pro své účinky jsou výtažky z šafránu nebo samotné izolované látky krocetin a krocin užívány v medicíně. [32]

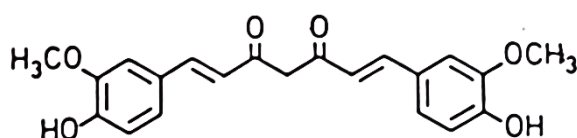


**Obrázek 21.** Struktura krocinu.

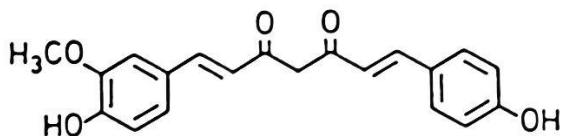


**Obrázek 22.** Struktura krocetinu. [9]

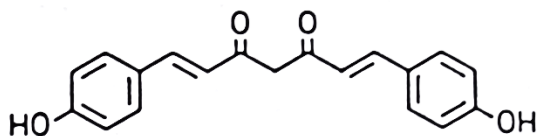
**Kurkumin** – oranžovožlutý krystalický prášek nerozpustný ve vodě. Získává se z rostliny kurkumy dlouhé (*Curcuma longa*), obsažen i v jiných rostlinách rodu kurkuma. Kurkumin je možné nalézt ve třech formách, kurkuminu (obr. 23), demethoxykurkuminu (obr. 24) a bisdemethoxykurkuminu (obr. 25).



**Obrázek 23.** Struktura kurkuminu.

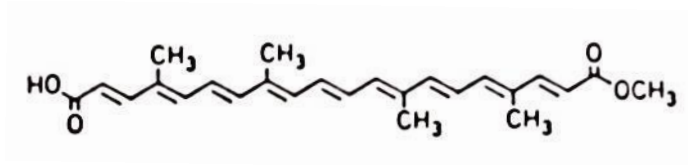


**Obrázek 24.** Struktura demethoxykurkuminu.



**Obrázek 25.** Struktura bisdemethoxykurkuminu. [9]

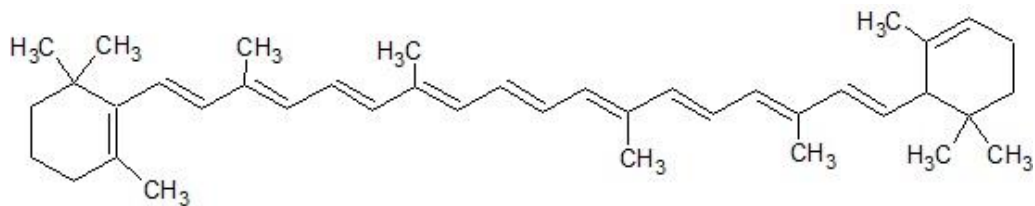
**Bixin, norbixin** jsou hojně užívány jako potravinářská barviva pod názvem annato a pod kódem E160b [27]. Bixin (obr. 26) je rozpustný v tucích, proto se používá k přibarvování margarínů a olejů. Norbixin je rozpustný ve vodě, je proto využíván k barvení zmrzlin a sladkostí. Obě lýtka se získávají ze semen stromu orelániku barviřského (*Bixa orellana*) původně rostoucího v tropických částech Ameriky. Dnes se pěstuje i v jiných částech světa právě kvůli obsahu barviv.



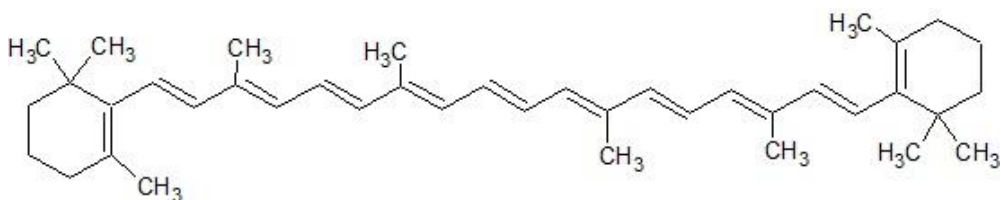
**Obrázek 26.** Struktura bixinu. [9]

### $\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ -, $\zeta$ - karoteny

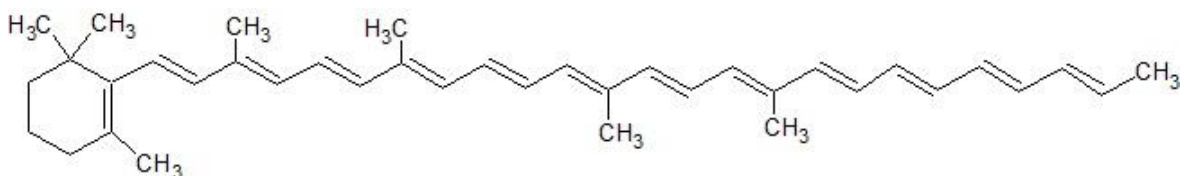
Karoteny patří do skupiny karotenoidů a jejich řetězec je tvořen pouze z uhlíku a vodíku. Tyto látky jsou pro člověka důležité, protože je člověk dokáže metabolizovat na vitamin A, jinými slovy člověk přijímá vitamin A ve formě prekurzorů – karotenů.  $\beta$ -karoteny se přeměňují nejrychleji, ostatní karoteny pomaleji, jiné karotenoidy se na vitamin A nepřeměňují. [29] Karoteny jsou oranžové barvy a lze je nalézt v mrkvi (*Daucus carota sativus*), tykvi (*Cucurbita pepo*), mangu (*Mangifera indica*), brokolici (*Brassica oleracea*), meruňkách (*Prunus armeniaca*) nebo čajovníku (*Thea sp.*) [12]. Struktura různých typů karotenů je vyobrazena na obr. 27, 28 a 29.



**Obrázek 27.** Struktura  $\alpha$ -karotenu.

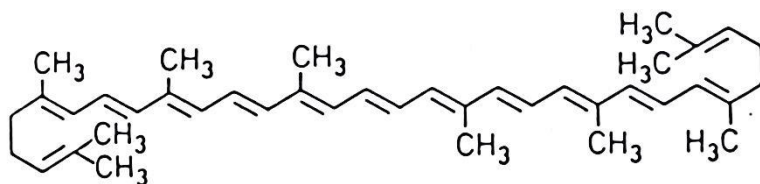


**Obrázek 28.** Struktura  $\beta$ -karotenu.



**Obrázek 29.** Struktura  $\gamma$ -karotenu. [29]

**Lykopen** (obr. 30) je jeden z nejběžnějších karotenů. Jeho absorpční maximum je 472 nm, proto jej vnímáme jako červený. V rostlinách se syntetizuje z phytoenu. [33] Řetězec lykopenu obsahuje 11 dvojných vazeb, které mohou být v konfiguraci *trans* i *cis*. Může reagovat s kyslíkem a radikálovými kationty, takže v těle působí antioxidačně. Chrání proti vzniku rakoviny a je dokázáno, že s ostatními fytonutrienty dokáže spolupracovat na inhibici růstu rakovinných buněk [29]. Chrání také proti onemocnění krevního oběhu [33]. Je obsažen například v rajčatech (*Lycopersion esculentum*), vodním melounu (*Citrullus lanatus*), grepech (*Citrus paradisi*) nebo papáje (*Carica papaya*). Lépe je člověkem vstřebáván z tepelně zpracované potravy; vstřebatelnější jsou izomery *cis*, zřejmě z důvodu větší rozpustnosti pomocí žlučových kyselin ve střevě a následnému snadnějšímu převodu do chylomikronů [33].

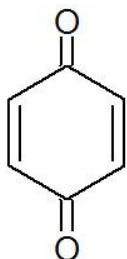


**Obrázek 30.** Struktura lykopenu. [9]

**Xantofyly** – tato skupina barviv se řadí do kategorie karotenoidů. Jejich řetězec není jen uhlovodíkový, ale obsahuje také kyslík. Xantofyly mají funkci přídatných fotosyntetických barviv. Často mají žlutou barvu, mohou však dosahovat různých barev až po červenofialovou.

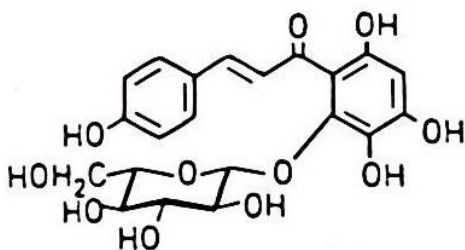
- **BENZOCHINONOVÁ BARVIVA**

Bezochinonová barviva obsažená v mnoha rostlinách, ale využívají je také houby. Jejich základní strukturální jednotkou je benzochinon (obr. 31).



**Obrázek 31.** Struktura 1,4-benzochinonu.

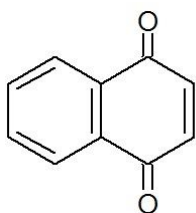
**Karthamin** = **saflokarmin** (obr. 32) je typickým představitelem skupiny benzochinonových barviv. Toto významné červené barvivo obsahuje např. světlice barvířská (*Carthamus tinctorius*). Jeho struktura byla objasněna v roce 1979.



**Obrázek 32.** Struktura karthaminu. [9]

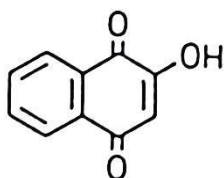
- **NAFTOCHINONOVÁ BARVIVA**

Tato barviva jsou odvozena od naftochinonu. Vyskytují se v rostlinných organelách vakuolách, kde jsou rozpuštěna ve formě glykosidů. Naftochinonové sloučeniny jsou cytotoxické, proto vykazují antiparazitární, antibakteriální a antivirové účinky. Tato barviva jsou velmi stálá. Struktura nejčastěji se vyskytujícího se naftochinonu, 1,4-naftochinonu (obr. 33).



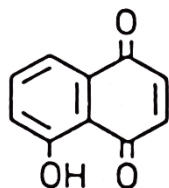
**Obrázek 33.** Struktura 1,4-naftochinonu.

**Lawson** (obr. 34) – toto barvivo se nachází v tropické rostlině henně pravé (*Lawsonia inermis*), kde je přítomno ve formě glykosidu hennosidu. Historie jeho použití je velmi dlouhá a v mnoha kulturách dodnes hraje důležitou úlohu zejména při barvení vlasů.



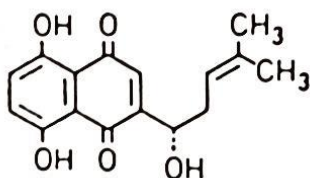
**Obrázek 34.** Struktura lawsonu. [9]

**Juglon** (obr. 35) – barvivo charakteristické pro čeleď *Juglandaceae*. V rostlině je přítomný jako 5-hydroxynaftohydrochinon-4- $\beta$ -glykosid, který přes hydrojuglon přechází na juglon. [9].



**Obrázek 35.** Struktura juglonu. [9]

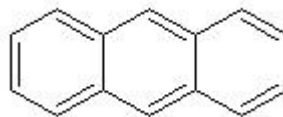
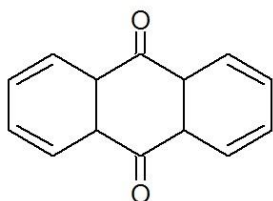
**Alkannin** (obr. 36) je červené barvivo, které se získává ze sušených kořenů alkany barvířské (*Alkanna tinctoria*) a které se používá k barvení potravin a kosmetiky. V rostlinách se vyskytuje také jeho enantiomer shikonin. Nalézt jej lze i v arnebie (*Arnebia nobilis*) či ruměnici hadincové (*Onosma echioides*). [9, 34].



**Obrázek 36.** Struktura alkanninu. [9]

- **ANTRACHINONOVÁ BARVIVA**

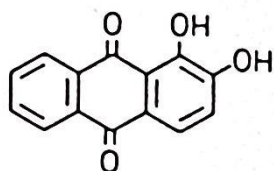
Základem antrachinonových barviv je struktura antrachinonu (obr. 37), což je derivátu antracenu (obr. 38).



**Obrázek 37.** Struktura antrachinonu.

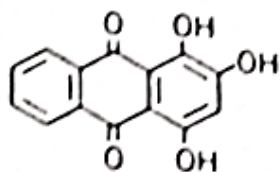
**Obrázek 38.** Struktura antracenu.

**Alizarin** (obr. 39) je významné barvivo, které je obsaženo v kořenech a oddenku mořeny barvířské (*Rubia tinctorum*) a dalších mořenovitých rostlin, např. bračky rolní (*Sherardia arvensis*), svízele povázky (*Galium mollugo*), svízele syřišťového (*Galium verum*), mařinky barvířské (*Asperula tinctoria*) atd. [9] Podle použitého mořidla (tj. kovového iontu) je možné docílit barvy fialové (ionty cínu), tmavě fialové (ionty železa), růžové (ionty hliníku) nebo nachové (ionty vápníku). [6] Dnes se získává synteticky z antracenu.

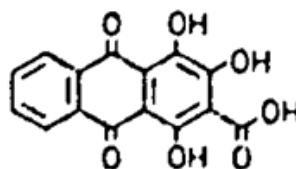


**Obrázek 39.** Struktura alizarinu. [9]

**Purpurin** (obr. 40) – červené barvivo obsažené v kořenech mořeny barvířské a dalších rostlin rodu mořena (*Rubia sp.*), v četných rostlinách rodu svízel (*Galium sp.*) nebo v mařince barvířské (*Asperula tinctoria*). Ve starších rostlinách a při sušení se mění na hnědočervený pseudopurpurin (viz obr. 41). [9]

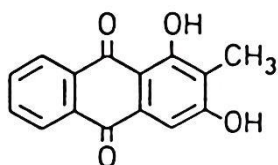


**Obrázek 40.** Struktura purpurinu.



**Obrázek 41.** Struktura pseudopurpurinu. [9]

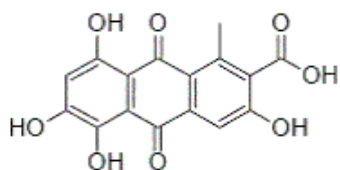
**Rubiadin** (obr. 42) je žlutá látka nalezená v mnoha mořenovitých rostlinách (*Rubiaceae*), např. v kořenech mořeny barvířské (*Rubia tinctorum*), ve svízelech (*Galium sp.*), noni citrusolisté (*Morinda citrifolia*), atd.



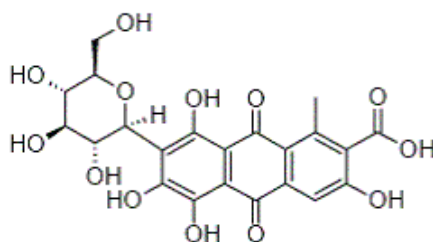
**Obrázek 42.** Struktura rubiadinu. [9]

**Karmínová kyselina, kyselina kermesová** (obr. 43) – obě látky jsou prokázány v hmyzu červci nopálovém (*Dactylopius coccus*), červci polském (*Porphyrophora polonica*), perlovci Hamelově (*Porphyrophora hameli*). Kyselina kermesová je navíc obsažena v červci kermesovém (*Coccus ilicis*) a červci lakovém (*Kerria lacca*). [9]





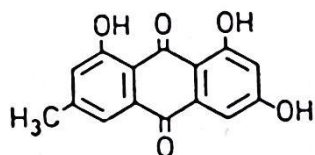
kyselina kermesová



kyselina karmínová

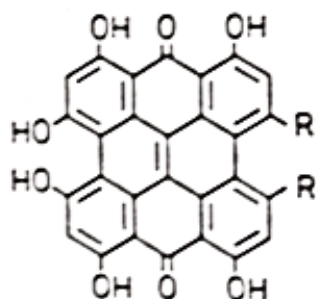
**Obrázek 43.** Struktura kyseliny kermesové a kyseliny karmínové. [28]

**Emodin** (obr. 44) – oranžové barvivo obsažené v početných rostlinách rodu reveň (*Rheum sp.*), šťovík (*Rumex sp.*), rdesno (*Polygonum sp.*), řešetlák (*Rhamnus sp.*), kasie (*Cassia sp.*), lišejníku rodu *Anaptychia*, v některých houbách a hmyzu. Často se vyskytuje ve formě glykosidu.



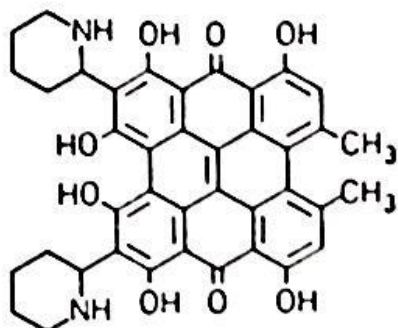
**Obrázek 44.** Struktura emodinu. [9]

**Hypericin** (obr. 45) – červené barvivo, které se nachází v rostlinách rodu třezalka (*Hypericum sp.*) a mnoha dalších.



**Obrázek 45.** Struktura hypericinu, R = CH<sub>3</sub>. [9]

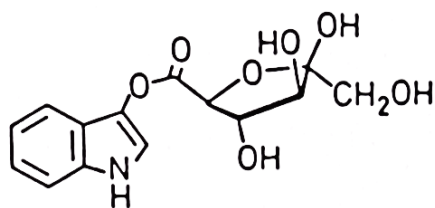
**Fagopyrin** (obr. 46) – červené barvivo, které při rozpouštění v koncentrované kyselině sírové ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) získává zelenou barvu. Tato látka nalezená v pohance (*Fagopyrum esculentum*) způsobuje citlivost na světlo.



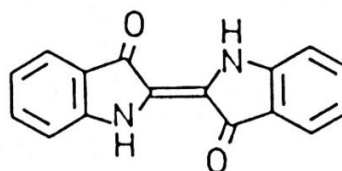
**Obrázek 46.** Struktura fagopyrinu. [9]

- **INDIGOVÁ BARVIVA**

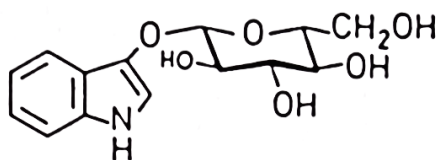
**Indigo** (obr. 48) je tmavě modré, velmi stálé barvivo. V rostlinách se vyskytuje ve formě prekurzoru indikanu (obr. 49), takto byl identifikován v rostlinách rodu indigovník (*Indigofera sp.*), rdesnu barvířském (*Polygonum tinctorium*), hořcotvarých rostlinách *Wrightia tinctoria*, *Marsdenia tinctoria*, bobovité rostlině *Lonchocarpus cyanescens* atd. Ve formě prekurzoru isatanu B (obr. 47) bylo indigo nalezeno v borytu barvířském (*Isatis tinctoria*). Kvašením se z indikanu a isatanu získává indoxyl (žlutě zbarvená látka), který na vzduchu oxiduje na modré indigo. Od konce 19. století se indigo syntetizuje uměle a používá se např. na barvení džínových kalhot. Indigo se dnes vyrábí také pomocí geneticky modifikované bakterie *Escherichia coli* a rodu *Pseudomonas*. [35]



**Obrázek 47.** Struktura isatanu B.

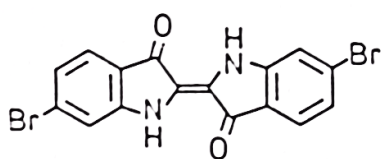


**Obrázek 48.** Struktura indiga.



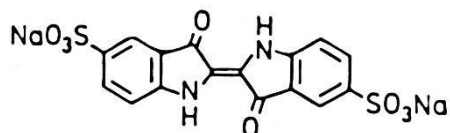
**Obrázek 49.** Struktura indikanu. [9]

**6,6'-dibromindigo** (obr. 50) – fialové barvivo nalézající se v ostrance jaderské (*Murex brandaris*) a ostrance purpurové (*Murex trunculus*). Po vystavení slunci zmodrá a vzniká tzv. biblická modř. Dnes se vyrábí uměle.



**Obrázek 50.** Struktura 6,6'-dibromindiga. [9]

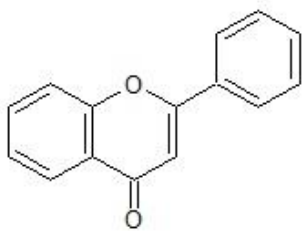
**Indigokarmín** (obr. 51) – tmavě modré barvivo je syntetizováno z indiga a kyseliny sírové. V 19. století se jím barvily koberce, přečištěný se dnes užívá na barvení potravin, kosmetiky a farmaceutických výrobků.



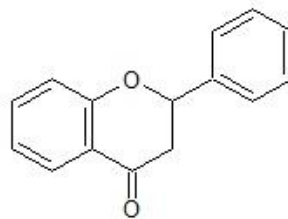
**Obrázek 51.** Struktura indigokarmínu.

- **FLAVONOIDY**

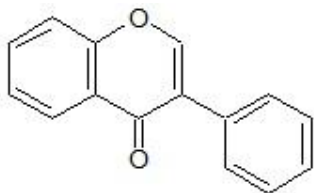
Flavonoidy jsou jedna z nejrozšířenějších skupin rostlinných barviv. Rozlišuje se několik základních struktur, a to flavon (obr. 52), flavonon (obr. 53), isoflavon (obr. 54), flavonol (obr. 55), auron (obr. 56) a chalkon (obr. 57), z jejichž struktur vychází konkrétní barviva. V rostlinách se flavonoidy často vyskytují ve formě glykosidů.



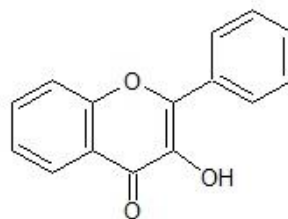
**Obrázek 52.** Struktura flavonu.



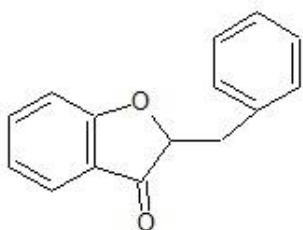
**Obrázek 53.** Struktura flavononu.



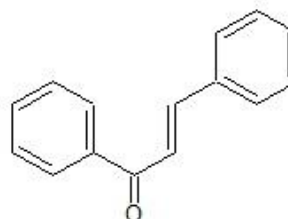
**Obrázek 54.** Struktura isoflavonu.



**Obrázek 55.** Struktura flavonolu.

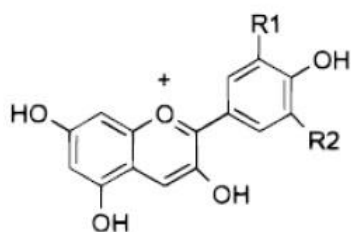


**Obrázek 56.** Struktura auronu.



**Obrázek 57.** Struktura chalkonu.

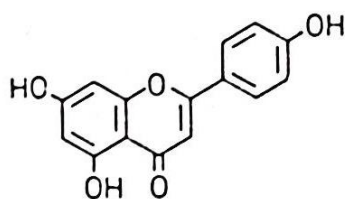
**Anthokyany** – skupina barviv patřící do kategorie flavonoidů. Hojně se nachází ve vakuolách v různých rostlinných pletivech, zejména v plodech a květech. V závislosti na pH mohou barviva nabývat od červené, přes fialovou až po modrou barvu. V rostlinách se vyskytují anthokyany jako glykosidy anthokyanidinů (obr. 58), které byly nalezeny v různých plodech, např. v brusinkách, borůvkách (*Vaccinium sp.*), třešních (*Prunus avium*), malinách (*Rubus idaeus*), hroznovém vínu (*Vitis vinifera*) nebo rybízu (*Ribes sp.*). tato barviva jsou často využívány v potravinářství. [27]



Anthokyanidin	R1	R2
pelargonidin	H	H
kyanidin	OH	H
delfinidin	OH	OH
peonidin	OCH <sub>3</sub>	H
petunidin	OCH <sub>3</sub>	OH
malvidin	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>

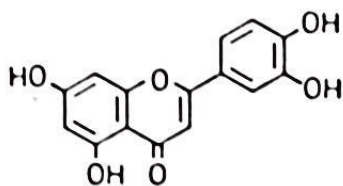
**Obrázek 58.** Struktura anthokyanidinů. [36]

**Apigenin** (obr. 59) je žluté barvivo obsažené v kručince barvířské (*Genista tinctoria*), rezedě barvířské (*Reseda luteola*), rmenu římském (*Anthemis nobilis*), heřmánku pravém (*Matricaria chamomilla*), petrželi zahradním (*Petroelinum crispum*), miříku celeru (*Apium graveolens*), a to buď volně, nebo ve formě glukosidů.



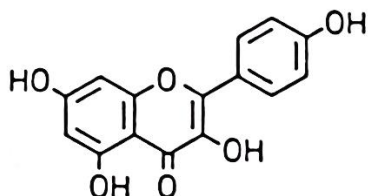
**Obrázek 59.** Struktura apigeninu. [9]

**Luteolin** (obr. 60) – žluté barvivo často se vyskytující v různých glykosidových formách. Jako luteolin-3',7-diglukosid se vyskytuje v rezedě barvířské (*Reseda luteola*), třezalce tečkované (*Hypericum perforatum*), nati a květech kručinky barvířské (*Genista tinctoria*), v heřmánku pravém (*Matricaria chamomilla*), rmenu římském (*Anthemis nobilis*), řebříčku obecném (*Achillea millefolium*) nebo vratiči obecném (*Tanaceum vulgare*).



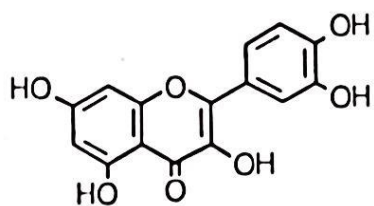
**Obrázek 60.** Struktura luteolinu. [9]

**Kempferol** (obr. 61) je velmi rozšířené žluté barvivo, které se často vyskytuje v glykosidové formě. Mezi rostliny obsahující kempferol patří boryt barvířský (*Isatis tinctoria*), cibule kuchyňská (*Allium cepa*), ořešák královský (*Juglans regia*), rezeda barvířská (*Reseda luteola*), srpice barvířská (*Serratula tinctoria*), třezalka tečkovaná (*Hypericum perforatum*), řešetlák počistvý (*Rhamnus cathartica*), zlatobýl kanadský (*Solidago canadensis*) a mnohé další. [9, 10]

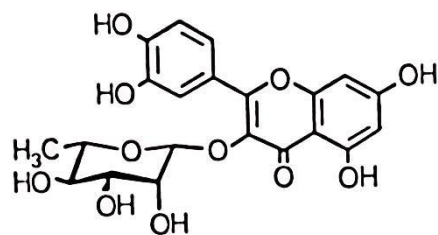


**Obrázek 61.** Struktura kempferolu. [9]

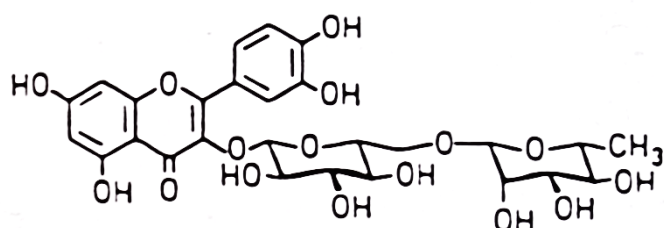
**Kvercetin** (obr. 62) – barvivo je lipofilní povahy, proto může procházet přes membránu enterocytů prostou difuzí. Díky tomu by měl být biologicky dostupnější než jeho glukosidy, které vyžadují hydrolýzu nebo aktivní transport. Zároveň se však kvercetin hůře rozpouští v trávicím traktu. Klíčovým faktorem pro to, zda se do organismu vstřebává více samotného kvercetinu nebo jeho glukosidů, je strava, se kterou byl přijat. [37] Tento flavonoid a jeho glykosidy byly prokázány v cibuli (*Allium cepa*), čaji (*Thea sp.*), víně (*Vitis vinifera*), jablkách (*Malus domestica*), fazolích (*Phaseolus sp.*), třezalce tečkované (*Hypericum perforatum*), bezu černém (*Sambucus nigra*), borytu barvířském (*Isatis tinctoria*), kručince barvířské (*Genista tinctoria*), ořešáku královském (*Juglans regia*), rmenu barvířském (*Anthemis tinctoria*), řešetláku počistvém (*Rhamnus cathartica*) a dalších rostlinách. [9, 10] Na obrázku 63 je zobrazena struktura kvercitrinu (kvercetin-3-rhamnosidu), na obrázku 64 je struktura rutinu (kvercetin-3-rutinosidu).



Obrázek 62. Struktura kvercetinu.

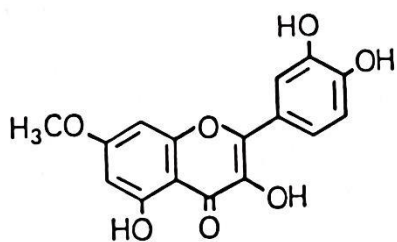


Obrázek 63. Struktura kvercitrinu.

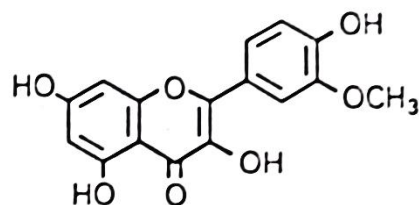


Obrázek 64. Struktura rutinu. [9]

**Rhamnetin** (obr. 65) – žluté barvivo, které lze nalézt v rostlinách ve formě glykosidů. Glykosid xanthorhamnin se nachází v rostlinách rodu řešetlák (*Rhamnus sp.*), glykosid isorhamnetin (obr. 66) se vyskytuje v rezedě barvířské (*Reseda luteola*), kručince barvířské (*Genista tinctoria*), rmenu barvířském (*Anthemis tinctoria*), řešetláku počistvém (*Rhamnus cathartica*), topolu černém (*Populus nigra*), květech jetelu lučního (*Trifolium pratense*), vratiči obecném (*Tanaceum vulgare*) a dalších rostlinách. [9]



Obrázek 65. Rhamnetin.

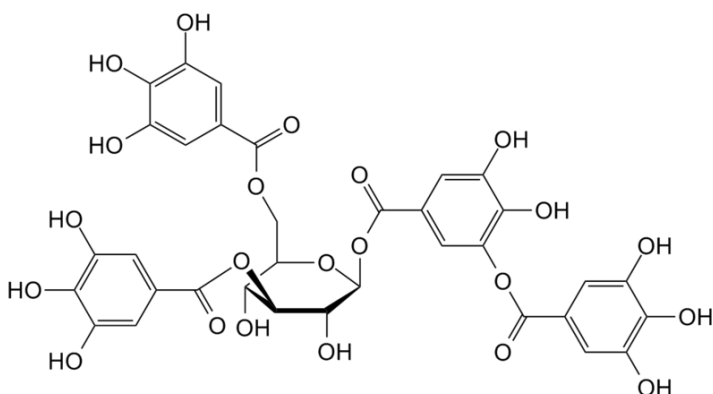


Obrázek 66. Struktura isorhamnetinu.

- **TANINY (TRÍSLOVINY)**

Polyfenolické sloučeniny obsahující hydroxylové a karboxylové skupiny. Často se vyskytují navázané na další molekuly. Lze rozlišit hydrolyzovatelné taniny – estery kyseliny gallové a sacharidů. Kondenzované taniny jsou polymery se základní jednotkou flavonu.

**Tanin** – hořká adstringenční látka s antimykotickými a antibakteriálními účinky. Sráží proteiny a četné další sloučeniny, např. aminokyseliny a alkaloidy. Sloučeniny taninu se v rostlinách vyskytují často jako ochrana před herbivory, kteří si ale na ni vytvářejí různé metabolické adaptace. [38, 39]. Obsažen je v mnoha plodech, např. v brusinkách, borůvkách (r. *Vaccinium*), jahodách (r. *Fragaria*), vanilce (r. *Vanilla*), skořici (r. *Cinnamomum*) atd. Rozpad a modifikace taninu má význam při zrání plodů. Tanin je komerčně dostupný ve formě kyseliny taninové (obr. 67), která bývá používána jako aroma do nápojů nebo jako stabilizátor barev či jako mořidlo při barvení celulózy. Její adstringenční účinky se využívají v medicíně.



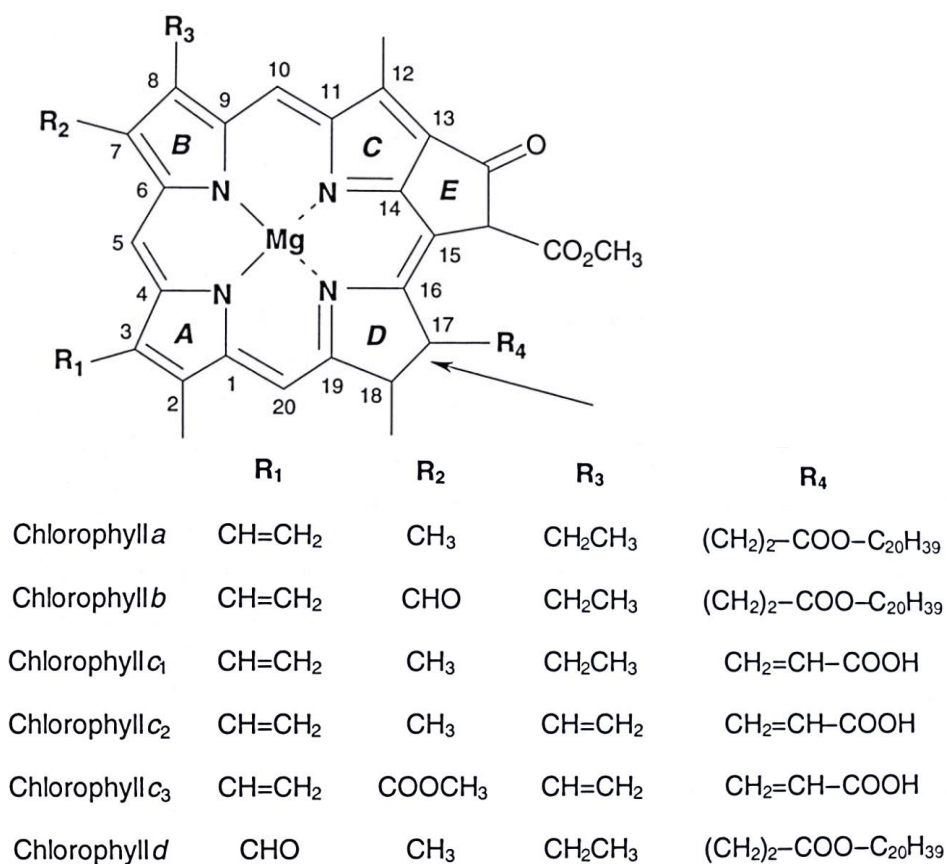
**Obrázek 67.** Struktura kyseliny taninové. [40]

- **PORFYRINOVÁ BARVIVA**

**Chlorofyly** jsou nejrozšířenějším zeleným rostlinným barvivem [29]. Vyskytují se v tylakoidech v plastidech všech zelených rostlin a některých dalších organismech, které jsou schopny autotrofie. Úkolem chlorofylu je absorpce energie fotonů v červené a modré části spektra při světelné fázi fotosyntézy. Díky nakumulované energii poskytuje ve světelné fázi fotosyntézy energii pro produkci NADPH a ATP a následně tak v temnotní fázi umožňuje přeměnu  $\text{CO}_2$  na monosacharid  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  (glukózu). Molekula chlorofylu je



odvozena od porfyriu. Existuje několik typů chlorofylu (obr. 68), které se liší postranními řetězci na porfyriinovém základu [41].



**Obrázek 68.** Struktura jednotlivých typů chlorofylu. Šipka označuje místo, ve kterém mají chlorofyly C dvojnou vazbu. [29]

## 2.6 Analytické metody používané k identifikaci barviv

Analytických metod, které je možné použít k analýze barviv, je celá řada. Používají se metody chromatografické – papírová chromatografie (Paper Chromatography – PC), chromatografie na tenké vrstvě (Thin Layer Chromatography – TLC), plynová chromatografie (Gas Chromatography – GC), vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High-Performance Liquid Chromatography – HPLC), dále spektrální metody – absorpční spektrometrie ve viditelné oblasti (VIS Spectroscopy), infračervená spektroskopie – (InfraRed Spectrometry – IR Spectroscopy), nukleární magnetická rezonance (Nuclear magnetic resonance – NMR), ionizace nárazem urychlených atomů (Fast Atom Bombardment – FAB). [9] Metody jsou založeny na různých principech, zároveň barviva

jsou látky rozličné chemické povahy, což je nutné zohlednit při přípravě vzorku a analýze, aby nedošlo k poškození struktury látky a analýza byla průkazná [9, 47]. Neexistuje však jediná metoda, která by byla vhodná k analýze všech typů barviv. V této práci byla použita metoda LDI–TOF MS (Laser Desorption/Ionisation Time Of Flight Mass Spectrometry), oddíl 2.6.3.

Výstupem analýzy hmotnostní spektrometrie je hmotnostní spektrum, ve kterém lze potvrdit přítomnost hledané látky na základě nalezení píku o její hmotnosti nebo porovnáním spektra známé (referenční) látky s výsledkem měření [48]. Spektra již známých látek jsou uchovávána ve specializovaných spektrálních knihovnách [49].

### 2.6.1 Historie hmotnostní spektrometrie

Počátky vývoje jedné z nejdůležitějších metod kvalitativní analýzy, hmotnostní spektrometrie (Mass Spectrometry, MS) sahají až do roku 1897. V tomto roce při dokazování částicového původu katodového záření objevil anglický fyzik Joseph John Thompson elektron a stanovil poměr náboje a hmotnosti elektronu  $e/m$  (dnes se používá poměr hmotnosti a náboje analyzované molekuly  $m/z$ ) [50]. Za své objevy dostal J. J. Thompson v roce 1906 Nobelovu cenu [51]. V roce 1912 díky svému přístroji, předchůdci dnešního hmotnostního spektrometru, objevil izotop  $^{22}_{10}\text{Ne}$ . V roce 1922 byla udělena Nobelova cena jeho žáku Francisu Williamu Ashtonovi za jeho přínos v oblasti hmotnostní spektrometrie a objev dalších izotopů [46]. Do období druhé světové války se hmotnostní spektrometry využívaly především k určování vlastností atomů. Velkou osobností byl americký fyzik Alfred Nier, který se podílel na vývoji mnoha způsobů využití této metody. Pomohl například vyvinout metodu k určování izotopu uhlíku  $^{13}\text{C}$ , která se používá k datování biologických nálezů. Díky A. Nierovi bylo možné rozlišit také izotopy olova  $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ , jejichž poměr byl využit při datování stáří Země. Izotopy uranu  $^{235}\text{U}$  a  $^{238}\text{U}$  se během druhé světové války ocitly v hledáčku vojenských zájmů, a právě A. Nier a další vědci je pomohli separovat pomocí hmotnostní spektrometrie v rámci tzv. projektu Manhattan [52]. Po válce vědci začali pomocí hmotnostní spektrometrie zkoumat strukturu přírodních látek, jedněmi z nejvýznamnějších badatelů na poli tehdejší hmotnostní spektrometrie byli Američané Klaus Biemann, který studoval alkaloidy a fragmentaci peptidů, a Carl Djerassi, jenž analyzoval steroidy a terpenoidy a později také alkaloidy

[50]. V roce 1958 byly spojeny dvě metody, plynová chromatografie (separační jednotka) a hmotnostní spektrometrie (detekční část) a stala se nejužívanější hmotnostně spektrometrickou sestavou. Díky způsobu digitálního zpracování signálu, Fourierově transformaci (FT), kterou do oblasti hmotnostní spektrometrie zavedli v 60. letech Allan Marshall a Melvin Comisarow, se podařilo vyhodnocování spekter výrazným způsobem zrychlit [50]. Metody v této době však umožňovaly analyzovat pouze těkavé látky a výsledky byly zatím zatíženy vysokou chybou (10–100 %) [53]. Ještě na začátku 70. let bylo možné pomocí metod hmotnostní spektrometrie EI (Electron Ionisation) a CI (Chemical Ionisation) analyzovat pouze vzorky v plynné fázi, metody tak byly dosud vázány na látky těkavé nebo vystavitelné derivatizaci (reakce, která je užívána ke změně vlastností analytu tak, aby byl například těkavější, většinou se chemicky modifikují specifické skupiny analytu) [54]. Možnost analýzy velkých termolabilních netěkavých biomolekul, jakými jsou například proteiny, nukleové kyseliny, byla značně omezená. Na konci 70. let došlo ke spojení kapalinové chromatografie (LC) a hmotnostní spektrometrie. To znamenalo velký pokrok, protože hmotnostní analýza už se nemusela omezovat jen na těkavé vzorky – nové metody byly založeny na emisích iontů z kapalného nebo pevného povrchu. Tyto metody však stále ještě čelily problémům s citlivostí detekce jednomocných iontů a fragmentací biomakromolekul. Roku 1988 se objevují dvě důležité techniky – ESI (Electrospray Ionisation) a MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation), jejichž způsob převodu částice analytu do plynné fáze je šetrný i k termolabilním biomakromolekulám a umožňuje tak jejich analýzu. Za objev ESI byl v roce 2002 John Fenn oceněn Nobelovou cenou [46]. Spolu s J. Fennem ocenění získal také Koichi Tanaka, který použil šetrný laser a vyvinul metodu, která je v mnohém podobná MALDI, ovšem Tanaka použil k nesení analytu jako matrici suspenzi nanočástic kovu v glycerolu [55]. Vyvinutí a popsání metody MALDI, která za matrice používá jiné látky (viz níže), je dílem německých vědců Franze Hillenkampa a Michaela Karase [56].

V současné době jsou možnosti hmotnostní spektrometrie velmi široké, je možné se značnou přesností analyzovat molekuly různých skupenství, původu i velikosti. Díky tomu je rozsáhlé i využití této metody. Je využívána například pro účely analýzy látek v uměleckých dílech [57] pro určování jejich pravosti, v archeologických výzkumech [58], k analýze složek v životním prostředí, kontrole potravin, výzkumu genomů [59], antidopingové kontroly sportovců [60, 61] a v mnohých dalších oblastech.

## 2.6.2 Princip hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je fyzikálně-chemická metoda užívaná k určování hmotnosti atomů, molekul a jejich částí po převedení na kladné nebo záporné ionty [62]. Díky tomu je možné zjišťovat strukturu analyzovaných vzorků organických, ale i anorganických látek. Výstupem analýzy je hmotnostní spektrum, ve kterém se zobrazují jednotlivé ionty přítomné ve vzorku.

V hmotnostním spektrometru je vzorek podroben převedení na plynnou fázi (tj. *vypaření*) do vakuovaného prostoru, zároveň dochází k *ionizaci* (převedení do ionizovaného stavu) pomocí **iontového zdroje**. Ionizační energie pro organické látky je v intervalu 7 až 16 eV [62], vyšší energetické dávky vedou k fragmentaci analytu. Jako jemné ionizační techniky jsou označovány metody, které dodají molekulám vzorku dávku energie takovou, aby ionizovaly, nikoli však tak vysokou, aby fragmentovaly. Naproti tomu tzv. tvrdé ionizační techniky poskytují tak velké množství energie, že analyzované molekuly pod jejím nápoem fragmentují. Pro určení molekulové hmotnosti je vhodné použití měkkých ionizačních technik.

V současnosti jsou užívány zejména dva způsoby převodu molekul do plynného a nabitého stavu: ESI (Electrospray Ionisation), kde dochází k vypaření a ionizaci částic pomocí vysokého elektrického potenciálu a LDI (Laser Desorption/Ionisation), kde ionizaci molekul obstarává energie dodaná laserem.

Dalším důležitým prvkem je **hmotnostní analyzátor**, kterým ionty vytvořené ionizátorem putují a v němž se na základě svých vlastností rozdělují. K analýze počtu fragmentů vzniklých iontů a jejich hmotnosti se využívá elektrického a magnetického pole, které ovlivňují chování částic a díky nimž dochází k disperzi nebo filtraci iontů. Hmotnostní analyzátor může být například *magnetický sektorový*, kdy ionty procházejí silným elektrickým a magnetickým polem kolmým na směr vstupu iontů. Magnetické pole více zakřivuje dráhu lehčím a rychlejším vícemocně nabitým částicím, než těžším a pomalejším méně nabitým iontům. Velkou přesností vyniká modernější varianta magnetického sektorového analyzátoru – cyklotron, kde ionty putují po stacionární kruhové dráze. Další možností je *kvadrupólový analyzátor* využívající separace iontových částic v elektrickém poli díky jednosměrnému a střídavému napětí vytvářenými čtyřmi nabitými tyčemi. *Iontová past* je tvořena prstencovou elektrodou se střídavým napětím, vstupní a výstupní elektrodou se stejnosměrným napětím, kde se vytvoří se potenciálová

jána, v níž jsou ionty po určitou dobu zdržovány a postupně putují do detektoru. Jako první jsou vypuzeny ionty s nejnižším poměrem  $m/z$ . V *průletovém analyzátoru* TOF (Time Of Flight) se měří doba, za kterou ionty, které na počátku získaly stejnou kinetickou energii, proletí analyzátozem.

**Detektor** má za úkol určit parametry charakterizující dráhu iontu. Dle použité metody je to buď doba letu iontu, zakřivení dráhy letu v magnetickém poli, charakteristiky pohybu iontů v poli [63].

Následuje převod signálu z detektoru do **počítače**, zpracování a vyobrazení výsledků.

### 2.6.3 Laserová desorpční hmotnostní spektrometrie a TOF analyzátor

Lasery se k úpravě iontů v hmotnostní spektrometrii začaly používat v 60. letech 20. století [56], trvalo však několik desetiletí, než byly vyvinuty metody, které by je plně využily. Současnou laserovou desorpční hmotnostní spektrometrii charakterizují dva přístupy: **MALDI** a **LDI**. MALDI využívá k šetrné ionizaci matrici, zatímco při laserové desorpci laser přímo ionizuje a desorbuje ionty z povrchu analyzovaného vzorku. Výhodou LDMS je minimální požadavek na množství vzorku (v řádu mikrogramů), snadná příprava vzorku, rychlost měření, relativní šetrnost laseru vůči větším molekulám a dostatečná přesnost.

**Matrice** používaná v technice MALDI plní řadu úkolů. Jednak odděluje jednotlivé molekuly analytu od sebe při krystalizaci matrice a vzorku, kdy nadbytek matrice zajistí rovnoměrné rozložení vzorku [64]. Dále částečně absorbuje energii laseru, který tak nepůsobí na identifikovanou látku přímo, ale přenáší se z matrice na analyt a také pomáhá při samotném vypaření a analytu. Optimální poměr molární hmotnosti matrice a analytu je v rozmezí 1:100 až 1:50 000 [56], proto musí mít matrice relativně malou molekulovou hmotnost. Jako matrice se používají různé sloučeniny, nejčastěji kyselina 3,5-dimethoxy-4-hydroxyskořicová (kyselina sinapová), kyselina  $\alpha$ -kyano-4-hydroxyskořicová, kyselina 2,5-dihydroxybenzoová (DHB) a kyselina pyridin-2-karboxylová (kyselina pikolinová) [65]. Ukazuje se, že některé matrice mohou být vhodnější pro určitý okruh sloučenin, např. 2-amino-4-methyl-5-nitropyridin je nejvhodnější pro malé proteiny do velikosti asi 12 kDa, 2-amino-5-nitropyridin pro oligonukleotidy o velikosti asi do 20 kDa [64], [47], přičemž 1 Da je roven 1/12 hmotnosti atomu uhlíku  $^{12}\text{C}$ . Je ale nutné zajistit, aby

vzorek s matricí nereagoval. I z toho důvodu jsou zkoušeny stále nové materiály jako matrice. Většinou se jedná o sloučeniny kyselé povahy, které v sobě mají zabudovanou skupinu karboxylové kyseliny a aromatické struktury. Je pravděpodobné, že kdyby matrice neměla dostatečně nízkou molekulovou hmotnost oproti identifikovanému barvivu, rušila by výsledky analýzy, proto v této práci použita nebyla.

Vzorek odebraný z analyzované látky je v roztoku destilované vody nebo acetonitrilu s ethanolem vložen na kovovou destičku do příslušného prostoru (terče nebo spotu). Poté se smísí s matricí, je-li přítomna. Dále je vzorek v řádu jednotek až desítek nanosekund vystaven pulzu laseru. Ionizace laserem může být pozitivní nebo negativní – na základě ní poté vznikají buď kationty nebo anionty. Díky interakci laseru a matrice se vzorek převede do plynné fáze, ionizuje a putuje hmotnostním analyzátozem TOF. Zde jsou částice urychleny silným elektrickým polem (25-30 kV [66]) a je měřena doba průletu různých částic. Důležité je, že všechny ionty dostávají stejnou výchozí kinetickou energii. Tuto energii lze vyjádřit jako:  $zU$ , kde  $z$  = náboj vzniklého iontu a  $U$  = elektrické napětí. V analyzátozu spektrometru se všechna dodaná energie přemění na kinetickou energii pohybujícího se iontu

$$zU = \frac{1}{2}mv^2$$

kde  $m$  je molekulová hmotnost iontu a  $v$  je rychlost. Protože rychlost je rovna  $s/t$ , kde za  $s$  považujeme vzdálenost, kterou iont urazil, a  $t$  čas, za který tuto vzdálenost překonal, můžeme výraz rozšířit na:

$$zU = \frac{1}{2}m(s/t)^2$$

a dále na:

$$m/z = 2Ut^2/s^2$$

Vzdálenost  $s$  je pro konkrétní analyzátoz pevně daná, napětí  $U$  může být udržováno konstantní elektronicky, takže poměr hmotnosti a náboje částice  $m/z$  závisí na čase. Záleží pak na citlivosti přístroje, obecně se dá říci, že lze detekovat ionty, které se časem doletu liší o jednu nanosekundu [67].

Z údajů, které analyzátor a detektor získají, je možné vypočítat poměr  $m/z$ , kde  $m$  = relativní molekulová hmotnost vzniklé částice,  $z$  = náboj vzniklého iontu. Tento poměr se promítne již do grafického vyobrazení.

Relativní molekulová hmotnost je měřena v Daltonech.

Hmotnostní spektrum představuje graf, kde vodorovná osa  $x$  zobrazuje hodnotu  $m/z$ , osa  $y$  zobrazuje četnost částice. Přítomnost látky se v grafu objeví jako tzv. pík. Četnost, tj. výška píku, je ovšem ovlivněna schopností sloučeniny poskytovat v interakci s laserem ionty [48].

Výsledné ionty jedné látky se však obvykle nezobrazují pouze v jednom píku, protože v molekule mohou být zastoupeny různé izotopy. Izotopy jsou atomy stejného prvku, které se liší obsahem neutronů. Protože relativní molekulová hmotnost neutronu je 1, píky se zobrazují posunuté právě o 1, přičemž takových píků vedle sebe bývá kvůli isotopovému rozdělení hned několik.

Dle typu ionizace laserem, vlastností ionizované látky, příp. interakce s matricí nebo jinými přítomnými látkami, mohou vznikat ionty:

- a) molekulové  $[M]^+$  a  $[M]^-$
- b) pseudomolekulové a aduktové  $[M+H]^+$ ,  $[M+H]^-$ ,  $[M+CH_4]^+$  atd.
- c) fragmentové  $[M-CH_3]^-$  [48].

Vzhledem k tomu, že atomová hmotnost vodíku je 1, ve spektru je molekula s připojeným nebo odtrženým atomem vodíku snadno rozpoznatelná. Většina iontů získává náboj  $\pm 1$  [63]. Ovšem adice dalších iontů, jako jsou například běžné sodné  $Na^+$  a draselné  $K^+$  ionty, znesnadňuje interpretaci identifikovaných molekul. Je nutné si uvědomit, že píky, které jsou v hmotnostních spektrech zobrazeny, znázorňují poměr  $m/z$ , ne samotnou relativní molekulovou hmotnost. Je-li náboj  $z$  roven jedné, pak se číselný údaj na ose  $x$  rovná molekulové hmotnosti. Ze spektra (u LDI techniky) ale nelze vždy zjistit, zda se jedná o ionty jedno- nebo vícemocné.

### 3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Použitý materiál a pomůcky

*Chemikálie:*

acetonitril (ACN),  $CH_3CN$ , původ: Lachema Brno

methanol (MeOH),  $CH_3OH$ , původ: Penta

kyselina trifluoroctová (TFA),  $CF_3COOH$ , původ: Sigma

kyselina fluorovodíková  $HF$ , původ: Aldrich

8% roztok kyseliny octové (ocet)  $CH_3COOH$ , původ: řetězec Tesco

síran draselno-hlinitý (kamenec)  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$ , původ: Lachema n.p. Brno

síran měďnatý (modrá skalice)  $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$ , původ: Lachema n.p. Brno

síran železnatý (zelená skalice)  $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ , původ: Lachema n.p. Brno

uhličitan sodný (soda)  $Na_2CO_3$ , původ: LACH-NER

*Pomůcky:*

indikátorové papírky (Universální indikátorové papírky pro pH 0-12, LACH-NER)

kuchyňská odměrka (skleněná, objem 500 ml)

kuchyňská sítko (plastová)

nerozové a smaltované hrnce o objemech 2 a 5 l

špička s reverzní fází C18 (Zip Tip) Millipore Corporation (USA)

plátěnka, 4 typy – 100% bavlna, směs bavlny a lnu, 100% len, výrobce neznámý (viz kap. 3.4.)

*Přístroje:*

analytické váhy



IKA Minishaker MS2

kuchyňské váhy (výrobce Professor, rozsah do 5 000 g, měření v gramech)

sonikátor Branson Ultrasonic 2510

hmotnostní analyzátor MALDI-TOF Autoflex speed (výrobce Bruker)

### **3.2 Rostliny a jejich části použité k barvení**

Bez černý (*Sambucus nigra*) – listy

Brusnice borůvka (*Vaccinium myrtillus*) – plody

Cibule kuchyňská (*Allium cepa*) – listy

Meruzalka rybíz (*Ribes rubrum*) – plody

Ořešák královský (*Juglans regia*) – listy, dužnaté oplodí

Třezalka tečkovaná (*Hypericum perforatum*) – kvetoucí nat', květy

### **3.3 Výběr receptur**

Rostlin, které obsahují barviva a lidé jimi barvili a s některými dodnes i barví různé materiály, je velmi mnoho. Postihnout všechny je prakticky nemožné, proto byly pro praktickou část bakalářské práce vybrány jen některé. V první řadě bylo rozhodnuto zaměřit se na rostliny, které jsou snadno dostupné, díky tomu že rostou v našich podmínkách, ať už jsou na našem území původní nebo zdomácnělé. Praktická část byla zpracovávána v červenci a srpnu, proto byly vybrány takové rostliny, které poskytují barvicí části v tomto období. Tento krok zajišťoval možné opakování barvení i v případě předchozího nezdaru. Při výběru rostlin hrály podstatnou roli známé obsahové látky a chemická struktura barviv. V neposlední řadě bylo žádoucí znát alespoň přibližný recept, ačkoli se jednotlivé postupy lišily a v některých případech se konkrétní postup dohledat nezdařilo.

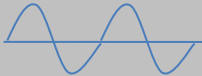



Základ postupů moření textilií a přípravy barvicí lázně byl převzat z knihy Barvení pomocí rostlin [13]. Množství doporučeného rostlinného barvicího materiálu se ale v jednotlivých zdrojích velmi liší (mnohde se jedná dokonce o násobky), navíc často není uvedeno, zda jde o váhu rostliny čerstvé nebo sušené. V případě rybízu nebo borůvek se nepodařilo nalézt konkrétní postup, pouze, že plody barví, a proto byl vytvořen recept na základě podobných předpisů. Z těchto důvodů jsou některé recepty převzaty zcela, jiné sloužily spíše jako inspirace a byly podle potřeby upraveny. Konkrétní navážky, objemy a jednotlivé kroky jsou proto uvedeny u jednotlivých postupů.

Recepty na stejnou rostlinu a samotný rostlinný materiál jsou značně variabilní, povaha věci a tedy i samotné barvení nevyžaduje striktní přesnost, bylo zacházeno s jednotkami gramů, desítek mililitrů a minutami.

### 3.4 Pláténka

Pláténka byla připravena ze čtyř druhů látek, 100% bavlny, směsi bavlny a lnu a 100% lnu (tab. IV). Látky byly nastříhány na obdélníky přibližně 10x13 cm a obroubeny. Každý typ látky má jiné roubení, aby byla pláténka rozpoznatelná. Složení pláten je známo, výrobce nikoli.

**Tabulka IV:** Složení plátének a jejich označení.

Označení	Složení látky	Obroubení	Nákres
1	100% bavlna	rovná čára + vlnka	
2	50% bavlna, 50% len	plné vlnky	
3	35% bavlna, 65% len	hranatá linka	
4	100% len	špičatá vlnovka	

V tomto pořadí jsou plátna nafocena i v kapitole Přílohy.

### 3.5 Moření

**Kamenec**  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$  byl užit k moření většiny pláten, a to v kombinaci se sodou  $Na_2CO_3$  pro snadnější moření [13]. Do 10 litrů vody byla vložena plátina. Poté bylo přidáno asi 25 g sody a po promíchání ještě asi 100 g kamence. Lázeň byla přivedena k varu, poté odstavena a ponechána chladnout. Plátina se mořila 24 hodin.

**Modrá skalice**  $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$  byla užitá k moření jedné sady pláten. Do 2 litrů vody byly přidány 2 g pevného síranu měďnatého (roztok se zakalil) a asi 8 ml octa (kuchyňský ocet Tesco) pro snížení pH a snadnější moření [13] (roztok byl opět čirý). Vše bylo zamícháno, byla přidána plátěnka a mořicí lázeň byla přivedena k varu na 30 minut. Poté byla plátina vyjmuta, vymáčána pod tekoucí vodou a usušena.

**Zelená skalice**  $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$  posloužila k moření dvou sad pláten. Po rozpuštění 5 g síranu železnatého ve 3 litrech vody byla vložena plátina a roztok byl přiveden k varu asi na 30 minut. Plátina v roztoku zelenala, při vyjímání došlo pravděpodobně k chybě – byla použita jiná než nerezová lžička, v roztoku se vytvořila červenohnědá sraženina (pravděpodobně sloučenina železa) a plátina se zbarvila dohněda.

Část pláten zůstala nenamořená. Konkrétní typ moření je vždy uveden u postupu barvení.

### 3.6 Příprava barvení

Rostliny, zejména větší a tvrdší části, bylo třeba rozmělnit, aby se obsahové látky lépe uvolnily do vodní lázně [6, 13]. Také se zmenší objem, díky čemuž se pak s materiálem

snadněji zachází (objemné části, které setrvávají na hladině barvicí lázně, se nasekáním zmenší a snadněji se potopí do vody).

K přecezení barvicí lázně od vyluhovaného rostlinného materiálu byla použita kuchyňská síta z plastu, jedno větší s hrubší sítčkou, které zajistilo oddělení všeho většího materiálu, a menší, které zbavilo roztok menších rostlinných částic. V případě usazení se na pláténku by tyto zbytky mohly zanechat nežádoucí skvrny.

Při barvení byla použita voda z obecního vodovodu ve Víchově nad Jizerou.

### **3.7 Postupy barvení**

#### **3.7.1 Bez černý (*Sambucus nigra*)**

##### **3.7.1.1 Sběr a příprava rostlinného materiálu**

Listy bezu jsou dostupné po značnou část vegetačního období, jejich získání je snadné i díky hojnému planému výskytu rostliny. Byly sebrány letorosty (listy a letošní ještě ne zcela zdřevnatělé větvičky), které byly oprány a rozmělněny v kuchyňském mixéru.

##### **3.7.1.2 Vlastní barvení**

Barvení bylo provedeno celkem ve třech sadách, dohromady tedy vzniklo 12 plátének. Celkem 100 g nasekaných bezových letorostů bylo 2 hodiny macerováno ve 3 litrech vody. Poté byl roztok přiveden k varu a 30 min se vařil. Po vychladnutí byl obsah hrnce přecezen přes velké i malé síto a barvicí lázeň již bez rostlinného materiálu byla rozdělena rovnoměrně do třech menších hrnců. Do každého z hrnců bylo nutné dolít přibližně 500 ml vody, aby byl roztoku dostatek a pláténka se pohodlně ponořovala.

1) Pláténka namořená v kamenci  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$  byla vpravena do barvicí lázně. Dále byla lázeň zahřáta a var byl udržován po dobu 30 minut. Nakonec byla pláténka propláchnuta po dobu několika vteřin pod tekoucí vodou.

2) Druhé barvení bylo provedeno s textiliemi předem namořenými v zelené skalici  $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ , které byly ponořeny do lázně a ve vroucí lázni udržována 30 minut. Po

odstavení byla pláténka vyjmuta a ponořena na pár sekund do roztoku zelené skalice a následně propláchnuta vodou.

3) Třetí sada plátének byla namořena v modré skalici  $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$ . Po vložení do barvicí lázně byla tato přivedena k varu a tak udržována 30 minut. Následovalo pár vteřin máčení plátének v roztoku kamence.

### **3.7.2 Brusnice borůvka (*Vaccinium myrtillus*)**

#### **3.7.2.1 Sběr a příprava rostlinného materiálu**

Plody borůvky byly sbírány v srpnu, kdy v místních podmínkách dozrávají. Přestože intenzivně barví i kompotované, v práci byly použity čerstvé. Plody bylo nutno rozmělnit, aby se z nich dobře získala šťáva. Borůvky sice barví na fialovo, barvu lze je ale snadno změnit okyselením, například použitím citrónové šťávy. Změny barvy bylo využito i při barvení.

#### **3.7.2.2 Vlastní barvení**

1) K přípravě barvicího roztoku bylo použito 50 g plodů, které byly rozmačkány a vnořeny do vody o objemu 1 l. Směs byla přivedena k varu. Po vychladnutí bylo nutné roztok přecezením očistit od zbytků rostlinného materiálu. Pláténka namořená v kamenci  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$  byla do roztoku vložena na 10 minut, po které byl roztok udržován neustále horký (přibližně 80 °C), nikoli však vroucí. Po vytažení plátének z barvicí lázně byla jejich barva tmavě fialová. Při propírání pod vodou se jejich barva začala měnit na tmavou modrou. Vyschnutím vody barva značně zesvětlala na světlou modrou.

2) Při druhém barvení byl využit roztok č. 1. Pláténka namořená v kamenci  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$  byla do horké lázně ponořena opět na 10 minut a po vytažení a proprání byla namořena do šťávy vymačkané z citrónu. Místa vystavená působení citrónové šťávy rychle změnila barvu na fialovou a po chvíli zcela zružověla.

### 3.7.3 Cibule kuchyňská (*Allium cepa*)

#### 3.7.3.1 Sběr a příprava rostlinného materiálu

K barvení byly využity cibulové slupky, které je snadné získat otrháním suchých vrstev ze zkráceného zdužnatělého stonku. Suché slupky bylo třeba promýt.

#### 3.7.3.2 Vlastní barvení

Barvení cibulí bylo nejrozsáhlejší co do počtu sad plátének, celkem jich vzniklo 7; barvicích lázní bylo připraveno méně, protože bylo využíváno některých roztoků k více barvením. Vzhledem ke známým intenzivním barvicím účinkům nebyly slupky ponechány se macerovat, ale rovnou po přidání rostlinného materiálu do vody byly roztoky uváděny k varu. Všechny pokusy byly prováděny v objemu barvicí lázně 1,5 litru. Na závěr všech barvení byla textilie promyta pod tekoucí vodou.

1) Barvicí lázeň č. 1 byla připravena z 15 g cibulových slupek. Lázeň byla přivedena k varu, poté byla přidána nenamořená pláténka a ve vodě byla ponechána 15 minut, po nichž byla vyňata.

2) K tomuto barvení byla využita barvicí lázeň č. 1. Nenamořená pláténka byla ponořena do roztoku a ponechána máčet přibližně 11 hodin.

3) Třetí sadu plátének tvořila kamencem namořená  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$  textilie, která byla ponořena do barvicí lázně vyrobené pomocí 15 g slupek cibule. Zde setrvala po dobu 15 minut.

4) Roztok byl připraven z 15 g rostlinného zdroje. Do přefiltrované lázně byla vložena pláténka předmořená v kamenci  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$ , do lázně byl hned poté přidáván ocet, dokud se pH nesnížilo zhruba na 4 (kontrola byla provedena pomocí pH papírků). Pláténka setrvala 15 minut v lázni.

5) Následné páté barvení využilo roztoku předchozího barvení s  $pH \cong 4$ , kam byla vložena pláténka (mořidlo kamenec  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$ ) na 15 minut.

6) I šesté barvení využívá roztoku č. 4 a 5 a do nálevu o  $pH \cong 4$  byla vpravena sada textilií (upravené kamencem  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$ ) na 3 minuty.

7) Poslední, v pořadí sedmá sada plátének, byla předem namořena v síranu železnatém  $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$  (viz kap. 3.5). Do barvení tak vstupovala již částečně barevná. Navážka cibulových slupek byla 15 g jako u ostatních pokusů. Slupky byly vařeny několik minut a zcezeny. Pláténka byla v roztoku ponechána 15 minut.

### **3.7.4 Meruzalka rybíz (*Ribes rubrum*)**

#### **3.7.4.1 Sběr a příprava rostlinného materiálu**

Plody rybízu je nutné do barvicí lázně rozmačkat. Při přecezování uvařených plodů přes síto je patrné, že se z plodů uvolnily látky připomínající želatinu.

#### **3.7.4.2 Vlastní barvení**

1) Do 1,5 l vody bylo rozmačkáno 100 g zralého červeného rybízu. Směs pak byla vařena po dobu 45 minut. Po vychladnutí byla lázeň zcezena přes větší a menší síto a byla vložena nenamořená pláténka. Lázeň byla opět půl hodiny vařena a po vyjmutí byly textilie po dobu několika vteřin proplachovány vodou.

2) Barvení probíhalo zcela stejným způsobem – 1,5 l vody, 100 g plodů a 45 minut varu. Sada vložených plátének byla ovšem namořena kamencem  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$ .

### **3.7.5 Ořešák královský (*Juglans regia*)**

#### **3.7.5.1 Sběr a příprava rostlinného materiálu**

Listy ořešáku jsou snadněji dostupné než plody, nejlepší je však sbírat je v červenci až srpnu [13]. Stačí je oprat a rozmělnit.

U plodů není třeba čekat, než dozrají a zhnědnou, barví totiž i zelená dužnatá slupka. Zajímavá byla pozorovatelná změna barviv při okrajování slupek. Na povrchu jsou slupky zelené, když se rozkrojí, uvnitř mají bílou barvu. Po malé chvilce na vzduchu ale žloutnou a postupně během desítek vteřin hnědnou.

### 3.7.5.2 Vlastní barvení

1) První lázeň byla připravena z 1,5 litru vody a 30 g nasušených a nasekaných ořešákových listů. Po půl hodině macerace byla voda přivedena k varu a vařena 30 minut. Po odstranění listů pomocí sít byla vložena pláténka namořená v kamenci  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$ . Var byl udržován opět 30 minut. Poté byla pláténka vyjmuta a propláchnuta pod vodou.

2) Stejný postup i se stejnými množstvími a dobami macerace a varu byl volen i u barvení č. 2. Rozdíl byl ve vložených plátnech – při tomto postupu byla použita nenamořená sada.

3) Do 1,5 vody byly vloženy nadrobno nakrájené dužnaté slupky o hmotnosti 50 g. Po přivedení k varu se začal roztok zbarvovat, barva se ustálila na hnědozelené. Po 10 minutách varu byla lázeň ponechána vychladnout a následně byla zcezena. Pláténka namořená v kamenci  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$  byla do lázně vložena na 30 minut a poté proprána.

## 3.7.6 Třezalka tečkovaná (*Hypericum perforatum*)

### 3.7.6.1 Sběr a příprava rostlinného materiálu

Sbírány byly samotné květy a kvetoucí nat'. Sběr nati je snadný, sběr květů je pracnější, ovšem třezalka mívá na jednom stonku květů mnoho.

### 3.7.6.2 Vlastní barvení

1) 30 g nasekané nasušené kvetoucí třezalkové natě bylo macerováno ve vodě přibližně po dobu dvou hodin. Poté byl 1 litr roztoku s rostlinným materiálem přiveden k varu a vařen 30 minut. Následovalo přecezení a do očištěné barvicí lázně byla přidána jedna sada plátének namořených v kamenci  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$ , která v roztoku setrvala dalších 30 minut. Po vytažení byla obarvená látka pár vteřin promývána pod vodou.

2) Do 2 litrů vody bylo namočeno a půl hodiny macerováno přibližně 250 květů třezalky. Poté byla lázeň dovedena k varu a 15 minut vařena, po vychladnutí byla slita přes větší a menší síto a roztok byl připraven k barvení. Pláténka předem upravená v kamenci



$KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$ , byla vpravena do roztoku a ponořena na dobu 15 minut, poté byla proprána.

3) Do roztoku připraveného z předchozího barvení byla vložena nenamořená pláténka. Máčela se 1,5 hodiny v teplé lázni, roztok byl přiveden k varu.

4) Byla připravena opět lázeň z 250 květů třezalky, 2 litrů vody a po půl hodině macerace rostlinného materiálu byla směs 15 minut vařena, načež byly rostlinné zbytky odstraněny zcezením. Pláténka namořená v kamenci  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$  byla namočena do barvicí lázně a ponechána jejím účinkům po dobu 12 hodin.

5) Vodní lázeň připravena v předchozím bodě byla přivedena k varu a hned odstavena. Poté byla vložena sada textilií namořených v kamenci  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$ , k vyjmutí došlo za hodinu.

6) Lázeň z předchozího barvení byla ponechána odstát 48 hodin a vložená pláténka (namořená kamencem  $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$ ) byla máčena opět po dobu 48 hodin.

### 3.7.7 Přehled všech barvení

Byla provedena čtená barvení, pro přehlednost a rychlejší vyhledávání byla všechna provedená barvení uspořádána do tabulky V.

**Tabulka V:** Přehled všech barvení, postupů a výsledných barev.

Rostlina	Číslo barvení	Část rostliny	Mořidlo	Další úprava, doba barvení	Výsledná barva
bez černý	1	letorosty	kamenec	30 min	jasně žlutá
(Sambucus nigra)	2	letorosty	zelená skalice	30 min	světle hnědá
	3	letorosty	modrá skalice	30 min	světle zelenohnědá
brusnice borůvka	1	plody	kamenec	10 min	světle modrá

<i>(Vaccinium myrtillus)</i>	2	plody	kamenec	citronová šťáva, 10 min	růžová
cibule kuchyňská <i>(Allium cepa)</i>	1	slupky	žádné	15 min	světle rezavohnědá
	2	slupky	žádné	11 hod	rezavohnědá
	3	slupky	kamenec	15 min	jasná rezavá
	4	slupky	kamenec	pH4, 15 min	rezavá se žlutou
	5	slupky	kamenec	pH4, 15 min	rezavožlutá
	6	slupky	kamenec	pH4, 3 min	žlutorezavá
	7	slupky	zelená skalice	15 min	khaki
ořešák královský <i>(Juglans regia)</i>	1	listy	kamenec	30 min	žlutohnědá
	2	listy	žádné	30 min	krémově hnědá
	3	zelené slupky	kamenec	30 min	středně hnědá
meruzalka rybíz <i>(Ribes rubrum)</i>	1	plody	žádné	45 min	velmi světle červené
	2	plody	kamenec	45 min	světle červená
třezalka tečkovaná <i>(Hypericum perforatum)</i>	1	kvetoucí nať	kamenec	30 min	krémová, světle hnědá
	2	květy	kamenec	15 min	zelená
	3	květy	žádné	1,5 hod, var	šedá
	4	květy	kamenec	12 hod	hnědožlutá
	5	květy	kamenec	var, 1 hod	žlutohnědá
	6	květy	kamenec	48 hod	červenohnědá

### 3.8 Příprava materiálu k analýze

Postup byl převzat dle článku Dr. Jany Sanyové [68].

K extrakci a ověření přítomnosti barviv byla vybrána lněná pláténka od každé použité rostliny, v případě barvení z více částí jedné rostliny byly tyto vybrány zvlášť. Z rubové strany pláténka byl odebrán vzorek v podobě vlákna, které bylo nastříháno na malé kousky. Vzorky byly váženy na analytických vahách. Seznam plátének použitých k výrobě vzorku a hmotností vzorků je uveden v tabulce VI.

**Tabulka VI:** Pořadí vybraných barvení a hmotnost odebraných vzorků.

Rostlina	Pořadí barvení	Hmotnost vzorku (mg)
Bez černý	1	1,5
Brusnice borůvka	1	1,5
Cibule kuchyňská	3	1,8
Meruzalka rybíz	2	1,6
Ořešák černý	1	1,7
Třezalka tečkovaná	1	1,8

Vzorky byly vloženy do plastové mikrozkušavky o objemu 1,5 ml. Do každé z mikrozkušavek bylo napipetováno 60  $\mu$ l směsi ACN/MeOH (1:1, V/V). Poté byly vzorky po dobu 5 minut podrobeny sonikaci. Následně bylo přidáno vždy 60  $\mu$ l roztoku 4M HF tak, aby byly vzorky ponořeny. Každá mikrozkušavka se vzorky byla dále vytřepávána na přístroji IKA Minishaker MS2 při rychlosti 2500 otáček za minutu. K extrakci fluoridů byly použity dva postupy – níže označeny jako A a B.

*Postup A:* Fluoridy byly v tomto postupu eliminovány pomocí špičky s reverzní fází C18. Nejprve byla špička 10x promyta vždy 10  $\mu$ l roztoku MeOH /ACN (1:1, V/V).

Nadále byla promyta ještě 10x 10  $\mu$ l destilované vody. Pomocí 10  $\mu$ l elučního roztoku ACN/MeOH (1:1, V/V) okyseleného 0.01% TFA byl roztok převeden do mikrozkušavky, kde byl vždy 10x nasát a vypuštěn. Špičku lze použít opakovaně, je nutné ji propláchnout, v tomto případě byla vždy 10x propláchnuta 10  $\mu$ l elučního roztoku (ACN/MeOH + 0.01% TFA).

*Postup B:* Eliminace fluoridů byla svěřena vypařování. Zbytek protřepaného roztoku se vzorkem byl přepipetován do mikrozkušavky a ponechán otevřený pro vypařování.

Třetím postupem přípravy vzorků k analýze bylo prosté vložení malého odstřížku nabarveného vlákna do kapky destilované vody.

Všechny připravené vzorky byly nanесeny na destičku (MTP 384 target plate polished steel TF) a po zaschnutí byly podrobeny analýze v hmotnostním analyzátoru. Měření bylo provedeno v pozitivním i negativním módu při různých intenzitách laseru. Interval analyzovaných látek byl nastaven od 50 do 1000 Da, spektra uvedená v práci byla kvůli přehlednosti ořezána na menší rozsahy  $m/z$ . Výsledná hmotnostní spektra byla zpracovávána v programu mMass, verzi 5.5.0.

Hledány byly hodnoty  $m/z$  odpovídající molekulové hmotnosti jednomocných iontů, sodné a draselné adukty a dimery.

## 4. VÝSLEDKY A DISKUZE

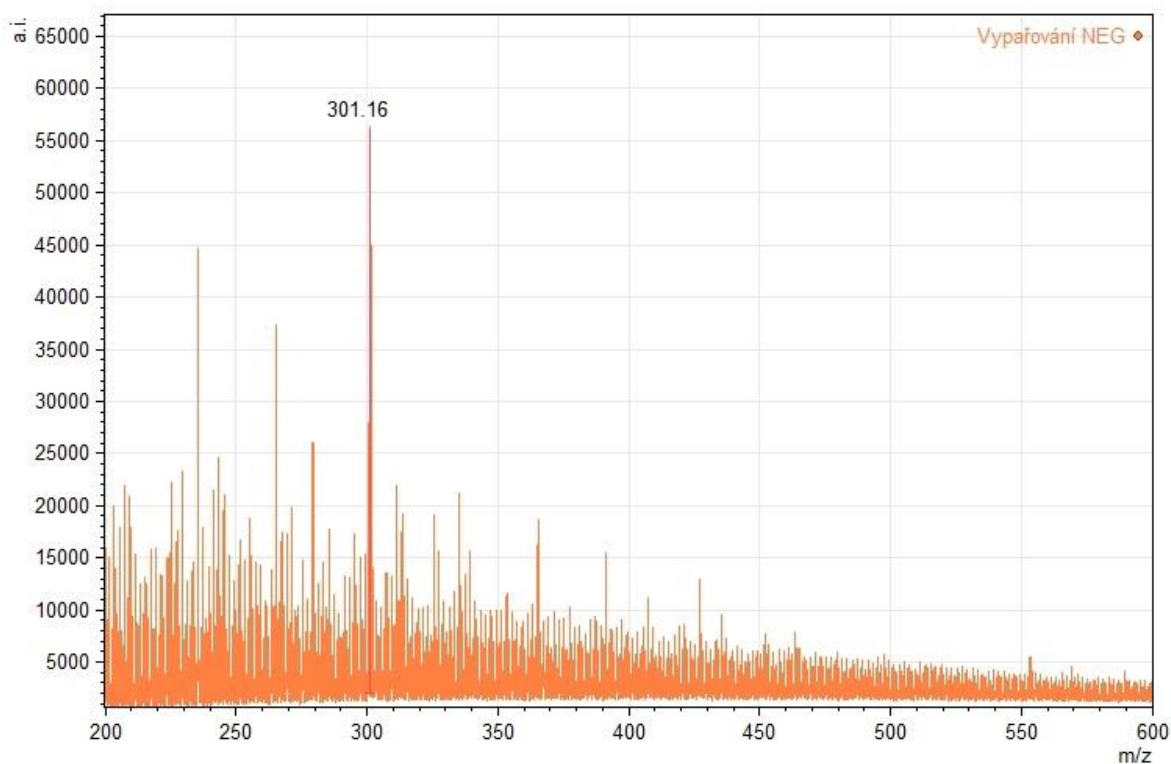
### 4.1 Bez černý

První barvení se podařilo podle očekávání a pláténko získalo jasně žlutou barvu. Při druhém barvení se stala chyba již při moření, a proto se výsledná barva od očekávané lišila. Při třetím barvení textilie, předem namořené v modré skalici, se nepodařilo očekávaný odstín zcela dosáhnout; nevznikla hráškově zelená, přesto ale byl základ barvy zelený. Barvení tak ověřilo tvrzení, že mořidlo má značný vliv na výslednou barvu. Barevné výsledky jsou zapsány v tabulce VII a vyobrazeny v příloze 1, 2 a 3.

**Tabulka VII:** Porovnání očekávaných a výsledných barev u bezu černého.

Číslo barvení	Mořidlo	Očekávaná barva	Výsledná barva
1	kamenec draselno-hlinitý ( $KAl(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O$ )	jasně žlutá	jasně žlutá
2	zelená skalice ( $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ )	žlutozelená	světle hnědá
3	modrá skalice ( $FeSO_4 \cdot 7 H_2O$ )	hráškově zelená	světle zelenohnědá

Vzorek přípravný z textilie barvené bezem černým byl podroben analýze metodou LDI-TOF. V negativním módu měření byl ve spektru (obr. 69) identifikován v poloze 301,2 Da (tj.  $m/z$ ) kvercetin (jeho  $M_r$  je 302,2). Toto spektrum bylo získáno postupem, kdy byly z roztoku odstraněny fluoridy jejich postupným vypařením (kap. 3.8). Žádná jiná barviva se ze stejného vzorku ani za použití jiných postupů přípravy vzorku nepodařilo identifikovat.



**Obrázek 69.** Spektrum získané v negativním (NEG) módu analýzou vzorku připraveného z bezu černého (*Sambucus nigra*) postupem číslo 1 (kap. 3.7.1).

## 4.2 Brusnice borůvka

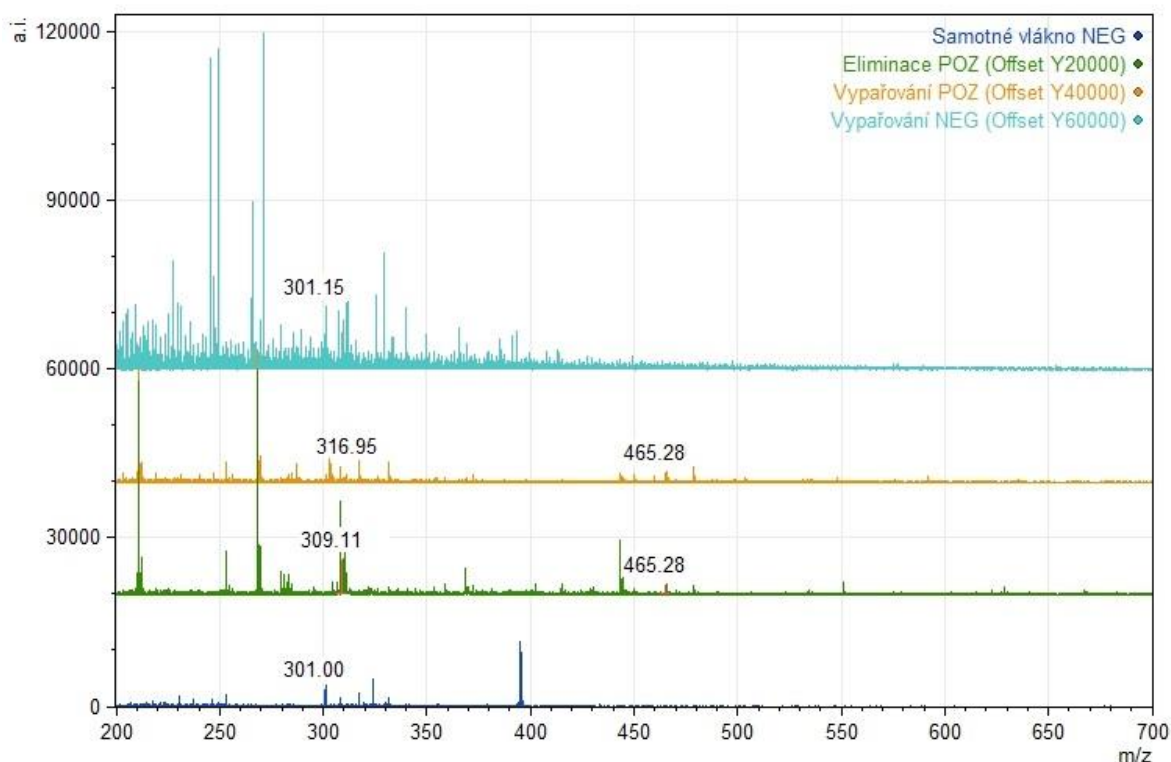
Těsně po vyjmutí textilie z barvicí lázně měla pláténka tmavě fialovou barvu, která však po chvíli zmodrala. Ke zjištění, zda se jedná o změnu barvy způsobenou promýváním nebo pobytem na vzduchu, byla obarvena další pláténka, která již ovšem nebyla hned promyta. I její barva se ale začala během desítek vteřin měnit na tmavě modrou a po promytí pak zůstala stejně modrá. Po vyschnutí se tmavě modrá pláténka změnila na světle modrá.

Porovnáním barevného výsledku č. 1 a 2 je jasně patrné, že kyselina citronová má na antokyanová barviva vliv, z modré je přeměňuje na růžová. Barevné výsledky jsou zapsány v tab. VIII, vyobrazeny v příloze 4 a 5.

**Tabulka VIII:** Výsledky barvení brusnicí borůvkou.

Číslo barvení	Mořidlo	Další úprava	Výsledná barva
1	kamenec	ne	světle modrá
2	kamenec	citronová šťáva	růžová

V negativním módu měření vzorku z brusnice borůvky metodou LDI-TOF byl ve spektru (obr. 70), získaném z prostého vložení vlákna na destičku v kapce destilované vody (a jejím zaschnutí spolu s vláknem), nalezen kvercetinový pík o hmotnosti 301,0 Da ( $M_r = 302,2$ ). Kvercetin byl v bodě 301,2 Da identifikován také v negativním spektru při postupu vypařování fluoridů (kap. 3.8). V pozitivním módu byl v postupu, kdy byly fluoridy z roztoku odstraněny vypařováním, nalezen petunidin s hmotností 317,0 ( $M_r = 317,3$ ), dále je možné usuzovat na delfinidin-3-glukosid s hmotností 465,3 ( $M_r = 465,4$ ). V pozitivním módu, při postupu eliminace fluoridů za pomoci špičky plněné reverzní fází, byl identifikován taktéž delfinidin-3-glukosid o hmotnosti 465,3 ( $M_r = 465,4$ ). V bodě (píku) 309,1  $m/z$  je možné konstatovat podezření na adukt sodného kationtu na kyanidin ( $M_r = 309,2$ ).



**Obrázek 70.** Srovnání výsledných spekter získaných v negativním (NEG)/pozitivním (POZ) módu analýzou vzorku připraveného z brusnice borůvky (*Vaccinium myrtillus*), postupu číslo 1 (kap. 3.7.2).

### 4.3 Cibule kuchyňská

Na barvení č. 1 a 2, která se lišila pouze dobou exponování plátna barvivu, bylo prokázáno, že doba, po kterou jsou pláténka ponořena v barvicí lázni, může rozhodovat o intenzitě zbarvení textilie, ale také o odstínu barvy, pláténka č. 1 byla slabě rezavá spíše s krémovým podtónem, podtón plátének č. 2 byl spíše světle červený.

Porovnat je možno i odstíny barvení 1 a 3, kdy byly roztoky připraveny stejným způsobem, ovšem nenamořená pláténka byla značně světlejší a neměla rezavý podtón jako sytě rezavá namořená plátna č. 3. Potvrzení o rozhodujícím vlivu mořidla na barvu výsledku přináší i porovnání barev postupů č. 1, 3 s č. 7 (přílohy 6, 8 a 12), opět byl celý postup shodný a lišila se jen úprava látky před samotným barvením.



Při barvení č. 5 bylo možné pozorovat barevnou změnu, kdy v prvních chvílích po ponoření měla pláténka sytě žlutou barvu, která postupem času rezavěla. Konečná barva plátének byla spíše do oranžova než do žluta.

Barvení č. 5 a č. 6 opět ukázala, že nejen odstín, ale i barva závisí i na době exponování barviva. Výslednou barvu ovlivňuje i množství rostlinného materiálu použitého k přípravě barvicí lázně, v tomto případě čím více slupek cibule, tím více se textilie barví do rezava (na úkor žluté) [13], i z toho důvodu byla barvení okyselená octem rezavější oproti očekávání.

Srovnáním barvení č. 3 a 5 bylo dokázáno, že i při stejné době vystavení barviva a stejném mořidle může barevný výstup ovlivňovat i pH připravené lázně.

Barvení plátének namořených zelenou skalicí (č. 7) dopadla poměrně podle očekávání, ačkoli se v moření stala chyba.

Barevné výsledky jsou shrnuty v tab. IX, vyobrazeny v přílohách 6–12.

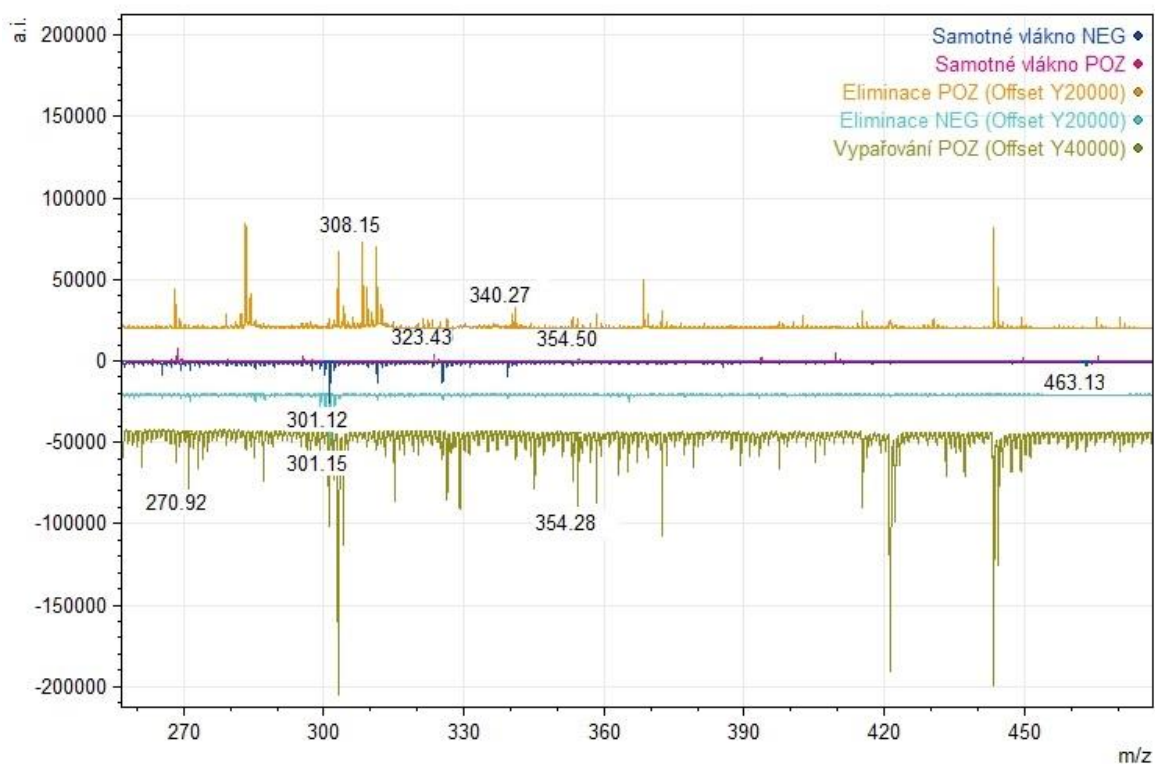
**Tabulka IX:** Porovnání očekávaných a výsledných barev při barvení cibulí.

Číslo barvení	Mořidlo	Doba máčení v barvicí lázni	Změna pH	Očekávaná barva	Výsledná barva
1	žádné	15 minut	ne	rezavohnědá	světle rezavohnědá
2	žádné	11 hodin	ne	-	rezavohnědá
3	kamenec	15 minut	ne	rezavá	jasná rezavá
4	kamenec	15 minut	pH $\cong$ 4	-	rezavá se žlutým podtónem
5	kamenec	15 minut	pH $\cong$ 4	-	rezavožlutá
6	kamenec	3 minuty	pH $\cong$ 4	žlutá	žlutorezavá
7	zelená skalice	15 minut	ne	tmavě zelená	khaki

Při LDI-TOF analýze vlákna odebraného z pláténka obarveného cibulí kuchyňskou (obr. 71) byl v negativním módu nalezen v bodě 301,1 Da kvercetin ( $M_r = 302,2$ ) a v bodě 463,1 Da glukosid kvercetinu ( $M_r = 464,38$ ). V pozitivním módu tohoto postupu byly identifikovány podezřelé hmotnosti 323,4, což by mohl být adukt sodného iontu  $\text{Na}^+$  na peonidin ( $M_r = 323,3$ ), a 354,5, kde je možné nalézt isorhamnetin s navázaným draselným iontem ( $M_r = 354,4$ ).

Ve vzorcích, kdy byla použita eliminace fluoridů za pomoci špičky s reverzní fází, byl v negativním módu stanoven v bodě 285,2 Da kempferol ( $M_r = 286,23$ ), v hodnotě 300,1 Da peonidin ( $M_r = 301,3$ ) a v bodě 301,2 Da kvercetin ( $M_r = 302,2$ ). V pozitivním módu bylo u tohoto postupu vysloveno podezření na výskyt na kempferol s navázaným sodným iontem v bodě 308,2 Da ( $M_r = 309,2$ ) a draselný adukt kvercetinu v bodě 340,3 Da ( $M_r = 340,3$ ).

Při analýze vzorku připraveného pomocí metody postupného vypařování fluoridů byl průkazný pouze pozitivní mód ozařování, kdy byl v bodě 270,9 identifikován pelargonidin ( $M_r = 271, 2$ ) a v bodě 354,3 byl zaznamenán draselný adukt isorhamnetinu ( $M_r = 354,4$ ).



**Obrázek 71.** Srovnání výsledných spekter získaných v negativním (NEG)/pozitivním (POZ) módu analýzou vzorku připraveného z cibule kuchyňské (*Allium cepa*), postupu č. 3 (kap. 3.7.2).

#### 4.4 Meruzalka rybíz

Po vyschnutí plátének byl velký rozdíl mezi barvou nenamořené sady a namořené sady textilií (tab. X), namořená pláténka měla viditelně intenzivnější zabarvení. Během následujících několika týdnů ale obě sady značně vybledly, přičemž se barevný rozdíl mezi nimi zmenšil (přílohy 13 a 14).

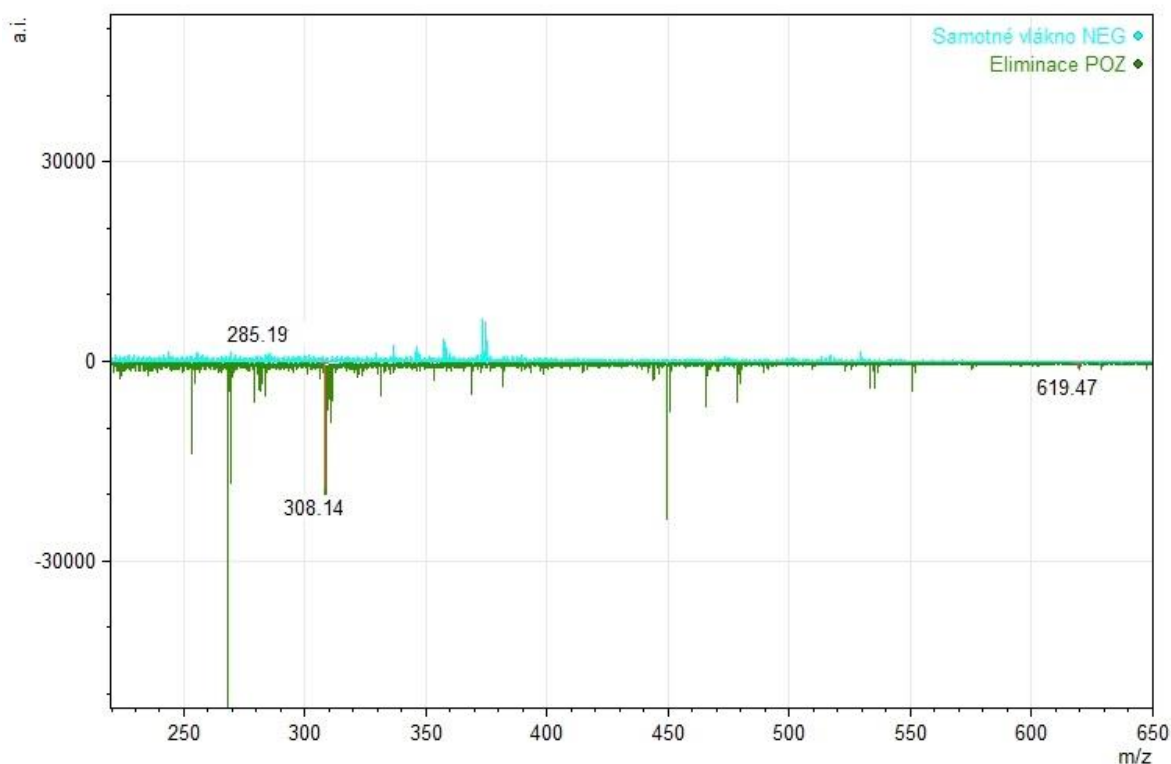
**Tabulka X:** Výsledky barvení meruzalkou rybízem.

Číslo barvení	Mořidlo	Výsledný odstín
1	žádné	velmi světle červená

Při postupu eliminace fluoridů pomocí reverzní špičky byl v pozitivním módu LDI-TOF nalezen v bodě 308,1 adukt sodného iontu na kempferolu ( $M_r = 308,2$ ) a v bodě 619,5 mohl být přítomen adukt draselného iontu na kyanidin-3-sambubiosidu ( $M_r = 619,6$ ).

V negativním módu měření vlákna odebraného z pláténka barveného rybízem byl identifikován kempferol o hmotnosti 285,2 ( $M_r = 286,2$ ). Spektra jsou vyobrazena na obr. 72.

Ostatní měření nebyla v žádném z obou módů měření pomocí LDI-TOF průkazná.



**Obrázek 72.** Srovnání výsledných spekter získaných v negativním (NEG)/pozitivním (POZ) módu analýzou vzorku připravených z meruzalky rybízu (*Ribes rubrum*).

## 4.5 Ořešák královský

Barvení plátének namořených v kamenci se podařilo podle očekávání – vznikla žlutohnědá barva. Srovnáním barvení č. 1 a č. 2 bylo znovu potvrzeno, že úprava vlákna mořením má vliv na výslednou barvu. Barvení č. 3 dokázalo, že použitím jiné části rostliny lze dosáhnout jiné barvy plátna. Barevné výsledky jsou zapsány v tabulce XI a obrazová dokumentace je obsažena v přílohách 15–17.

**Tabulka XI:** Porovnání očekávaných a výsledných barev při barvení ořešákem královským.

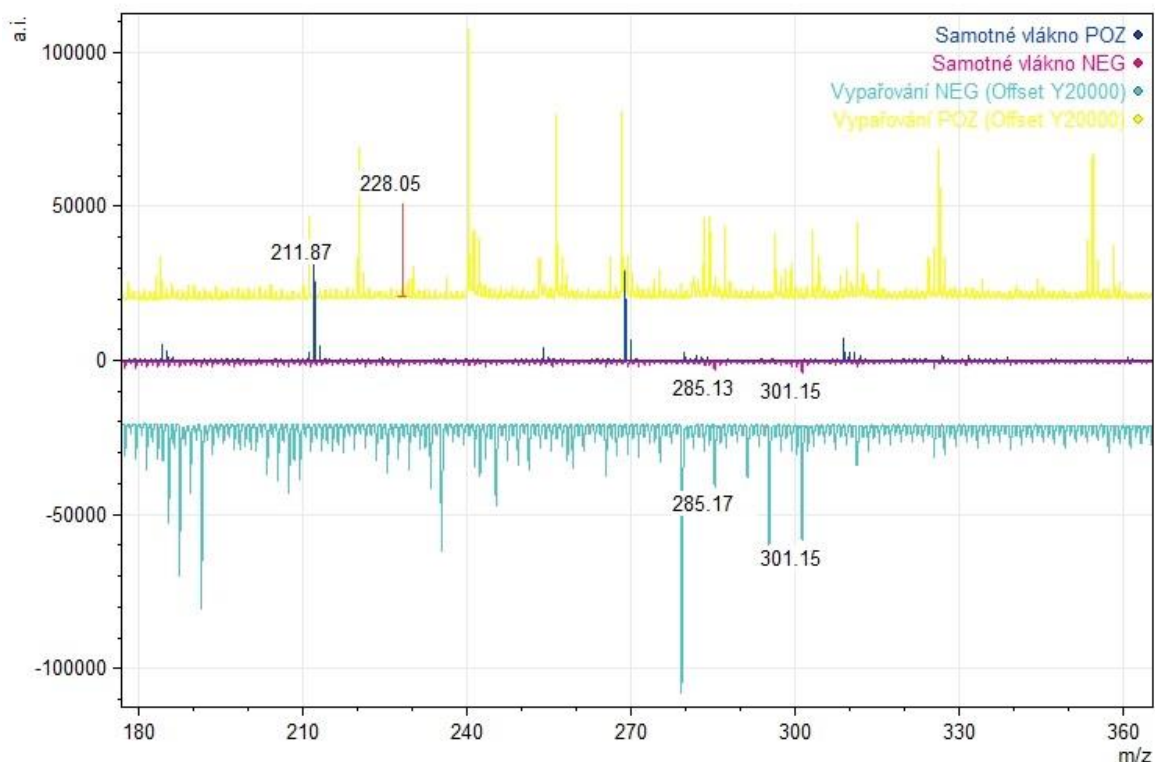
Číslo barvení	Část rostliny	Mořidlo	Očekávaná barva	Výsledná barva
1	listy	kamenec	zlatohnědá	žlutohnědá
2	listy	žádné	odstíny hnědé	krémově hnědá
3	zelené slupky	kamenec	odstíny hnědé	středně hnědá

Na obr. 73 jsou vyobrazena výsledná hmotnostní spektra analyzovaných látek různými postupy barvení listy ořešáku královského. Při analýze samotných vláken vložených na destičku byl v pozitivním módu nalezen bod 211,9 Da, kde se může nacházet adukt sodného iontu na hydrojuglon ( $M_r = 212,1$ ) nebo adukt draselného iontu na juglon ( $M_r = 212,2$ ). Tyto látky mají blízké hodnoty  $m/z$ , a proto je nelze spolehlivě rozlišit.

V negativním módu této metody byl detekován iont kempferolu na pozici 285,1 Da ( $M_r = 286,2$ ) a v bodě 301,15 Da se může nacházet kvercetin ( $M_r = 302,2$ ) nebo kyselina ellagová ( $M_r = 302,2$ ), jejichž molekulové hmotnosti (a tím i  $m/z$  u jednomocných iontů) jsou velmi podobné a nedají se snadno rozlišit.

Při analýze metody postupného vypařování fluoridů byl v negativním módu opět nalezen bod 301,2 Da, kde se může nalézat kvercetin nebo kyselina ellagová. V bodě 285,2 Da byl identifikován kempferol ( $M_r = 286,2$ ). V pozitivním spektru analýzy této metody byl nalezen pík v bodě 228,1 Da, kde je možné usuzovat na adukt draselného iontu na hydrojuglonu ( $M_r = 228,3$ ).

Měření metody eliminace fluoridů pomocí špiček s reverzní fází byla v případě tohoto vzorku neprůkazná.



**Obrázek 73.** Srovnání výsledných spekter získaných v negativním (NEG)/pozitivním (POZ) módu analýzou vzorku připravených z ořešáku královského (*Juglans regia*) při barvení č. 1 (kap 3.7.5).

#### 4.6 Třezalka tečkovaná

K barvení metodou „vše v jednom“ (nepřipravují se ke každému barvení nové lázně, viz Bidlová [13]) bylo použito více květů, než doporučuje předpis, a to z následujících důvodů: květy se nacházely v různé fázi kvetení, tj. byla započítána i poupata a částečně odkvetlé kvítky. Navíc recept počítá s barvením vlákna, avšak k barvení byla použita již setkaná plátna.

Sada plátének č. 1 vykazuje patrný barevný rozdíl mezi jednotlivými textiliemi (tab. XII). Výrazná změna barvy nastala během sušení, kdy plátna značně zesvětlala.

Při barvení plátének č. 3 nastalo odchýlení od doporučeného postupu, kdy byla lázeň nechtěně přivedena k varu. Nejspíše z toho důvodu místo červenohnědé vyšla barva šedá až krémově hnědá.

Podnětem k barvení číslo 6 byla zkušenost přípravy tzv. Janova oleje, kdy se třezalkové květy nakládají do oleje a nechávají odstát několik týdnů, až olej postupně zčervená. Skutečně i vodný roztok s přibývajícím časem červenal a výsledná pláténka č. 6 mají nejčervenější odstín. Bohužel, pláténka jevila tendence vyplavávat na povrch a kvůli dlouhé době máčení se nepodařilo uhlídat trvalý ponor celého povrchu plátének – v místech, která nebyla ponořena, jsou světlejší (mají žlutý podtón). Barva celou dobu ponořených částí je světle červenohnědá.

Barevné výsledky jsou zapsány v tab. XII a jsou vyobrazeny v přílohách 18–23.

**Tabulka XII:** Porovnání očekávaných a výsledných barev při barvení třezalkou tečkovanou.

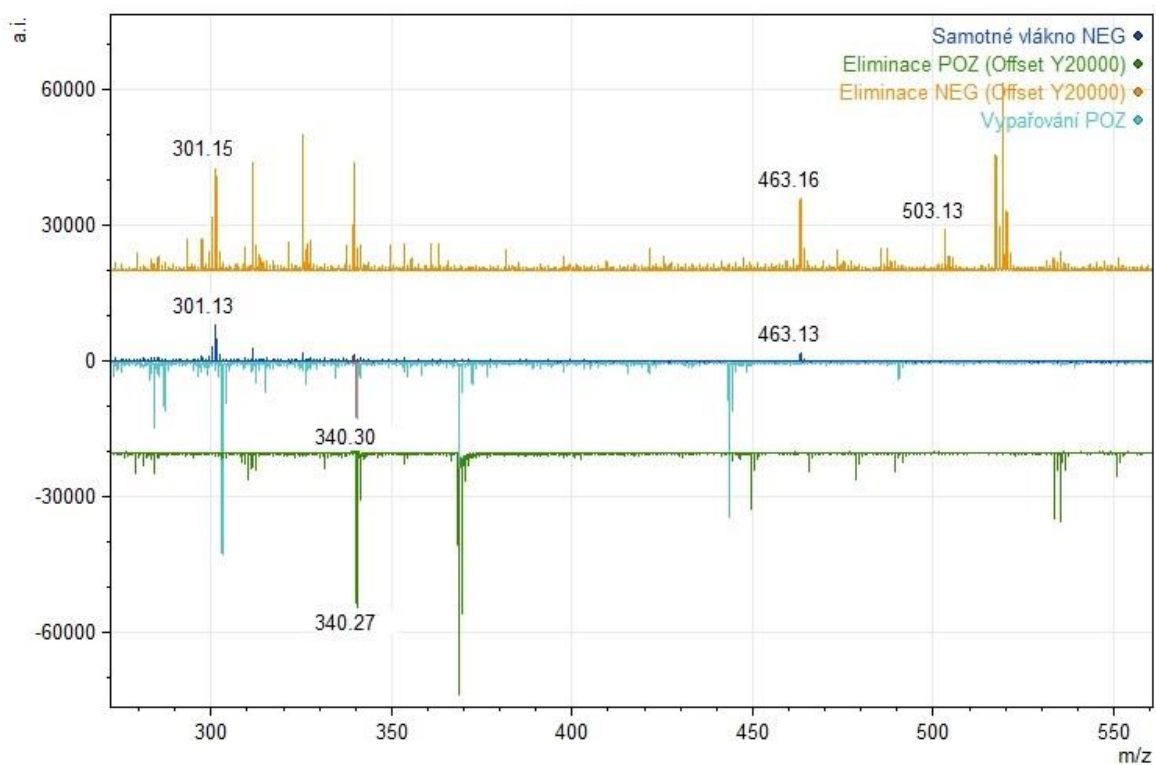
Číslo barvení	Mořidlo	Očekávaná barva	Výsledná barva
1	kamenec	jasně žlutá	krémová, světle hnědá
2	kamenec	zelená	zelená
3	žádné	červenohnědá	šedá
4	kamenec	červenohnědá	hnědožlutá
5	kamenec	světle žlutá	žlutohnědá
6	kamenec	načervenalá	červenohnědá

V negativním módu měření metodou LDI-TOF byl při analýze vlákna z pláténka barveného třezalkou tečkovanou (obr. 74) v bodě 301,1 Da zjištěn kvercetin ( $M_r = 302,2$ ) a dále hodnota 463,1 Da, která může ukazovat na hyperin ( $M_r = 464,4$ ) nebo isokvercetin ( $M_r = 464,4$ ).

Analýzou postupu eliminace fluoridů pomocí reverzní špičky se taktéž objevil bod 301,2 Da ukazující na možnou přítomnost kvercetinu ( $M_r = 302,2$ ), a rovněž se objevil i pík

v bodě 463,2 Da, kde opět není možné rozhodnout, zda se jedná o hyperin ( $M_r = 464,4$ ) nebo isokvercetin ( $M_r = 464,4$ ).

V pozitivním módu měření byla analýzou vlákna i při postupu postupného vypařování fluoridů nalezena hodota 340,3, která by mohla značit adukt draselného iontu na kvercetin ( $M_r = 340,3$ ).



**Obrázek 74.** Srovnání výsledných spekter získaných v negativním (NEG)/pozitivním (POZ) módu analýzou vzorků připravených z plátének barvených třezalkou tečkovanou (*Hypericum perforatum*), při barvení číslo 1 (kap 3.7.6).



## 5. ZÁVĚR

V této bakalářské práci byly nejdříve shrnuty informace o barvířských rostlinách a jejich obsahových látkách a o klasifikaci rostlinných barviv podle jejich struktury. Pro experimentální část práce byly vybrány rostliny: bez černý (*Sambucus nigra*), brusnice borůvka (*Vaccinium myrtillus*), cibule kuchyňská (*Allium cepa*), meruzalka rybíz (*Ribes rubrum*), ořešák královský (*Juglans regia*) a třezalka tečkovaná (*Hypericum perforatum*), jimiž byla obarvena mořená i nemořená bavlněná a lněná pláténka. Obarvené textilie byly poté podrobeny analýze metodou hmotnostní spektrometrie LDI-TOF.

Pomocí této metody byla nalezena některá obsahová barviva a jejich sodné a draselné adukty. Z barviv byl nejčastěji nalezen kvercetin a kempferol. Konkrétně borůvky černé byl ale dále identifikován petunidin, delfinidin-3-glukosid a adukt sodné kationtu na kyanidin. V cibuli kuchyňské byly zjištěny hodnoty  $m/z$  odpovídající glukosidu kvercetinu, peonidinu, aduktu draselného iontu na isorhamnetin, aduktu sodného iontu na kempferol a pelargonidin. Při analýze plátének barvených meruzalkou rybízem bylo vysloveno podezření na přítomnost sodného aduktu kempferol, a draselného aduktu kyanidin-3-sambubiosidu. U vzorku obarveného ořešákem královským byl nalezen draselný adukt hydrojuglonu a dále hodnota  $m/z$ , kterou lze označit za hydrojuglon s navázaným sodným kationtem nebo za juglon s draselným kationtem. Dále byla v negativním módu měření nalezena hodnota  $m/z$  301,15, která může znamenat přítomnost kvercetinu ( $M_r = 302,2$ ) nebo kyseliny ellagové ( $M_r = 302,2$ ), jejichž molekulové hmotnosti se od sebe příliš neliší. V třezalce tečkované byl nalezen pík ukazující na přítomnost hyperinu nebo isokvercetinu, které opět nelze jednoznačně rozlišit, a dále adukt draselného iontu na kvercetin.

Výhodou metody LDI-TOF MS je rychlost analýzy, relativní nenáročnost na přípravu vzorků a přesnost v oblastech nižších hodnot  $m/z$ . Touto metodou však nelze spolehlivě rozlišit ionty s velmi podobnou hodnotou  $m/z$ . Pro jednoznačnější identifikaci barviv by tak v budoucnu mohla lépe posloužit jiná metoda hmotnostní spektrometrie s předřazeným separačním krokem – například kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí

## 6. LITERATURA

1. JUSKO, D.A. Painting on Location Color Course 08-28-2013 [cit. 2014-03-21]. Dostupné z: <http://www.realcolorwheel.com/rcwplotter.htm>.
2. BORODKIN, V.F. *Chemie organických barviv*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1987. ISBN DT 667.27/.28:54.
3. ROKYTA, R. *Fyziologie pro bakalářská studia v medicíně, přírodovědných a tělovýchovných oborech*. Praha: ISV nakladatelství, 2000. 359 s. ISBN 80-85866-45-5.
4. TROJAN, S. *Lékařská fyziologie*. Praha: GRADA Publishing, 2003. 772 s. ISBN 80-247-0512-5.
5. KONVALINA, P., *Barviva: nepotravinářské využití v průmyslové výrobě*. 2006, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích.
6. TICHÝ, L. a I. TICHÁ. *Barvy z rostlin: Povídaní o přírodních barvivech a jejich využití*. Brno: Rezekvítek, 1998. 62 s.
7. UHŘÍČKOVÁ, A. a Z. MALÍKOVÁ. *Kouzlo zapomenutého*. Brno: Rezekvítek, 2001. 57 s. ISBN 80-902954-2-8.
8. JANOTKA, M. a K. LINHART. *Zapomenutá řemesla: Vyprávění o lidech a věcech*. Praha: Nakladatelství Svoboda, 1984. 192 s.
9. SCHWEPPE, H. *Handbuch der Naturfarbstoffe: Vorkommen, Verwendung, Nachweis*. Landsberg am Lech: Ecomed, 1993. 792 s. ISBN 3-609-65130-X.
10. PRINZ, E. *Färbenpflanzen: Anleitung zum Färben Verwendung in Kultur und Medizin*. Stuttgart: Schweizerbart, 2009. 321 s. ISBN 978-3-510-65258-7.
11. WIKIMEDIA FOUNDATION. Wikimedia Commons. 2004, stránka naposledy změněna: 03-08-2014 [cit. 2014-03-21]. Dostupné z: [http://commons.wikimedia.org/wiki/Main\\_Page](http://commons.wikimedia.org/wiki/Main_Page).
12. FISCHER, D. Lust auf Farben: Färben mit frischen Färberknöterichblättern. 2005, stránka naposledy změněna: [cit. 2014-03-22]. Dostupné z: <http://www.lustauffarben.de/faerben-faerberknoeterich.html>.
13. BIDLOVÁ, V. *Barvení pomocí rostlin*. Praha: GRADA Publishing, 2005. 88 s. ISBN 80-247-1022-6.

14. ČOPÍKOVÁ, J., et al. Přírodní barevné látky. *Chemické listy*. 2005, roč. 99, s. 802-816.
15. LOSOS, L. *Pozlacení a polychromie*. Praha: GRADA Publishing, 2005. 152 s. ISBN 80-247-0913-9.
16. POKORNY, M.L. a J.M. KRUEGER-MANGOLD. Evaluating Montana's Dyer's Woad (*Isatis tinctoria*) Cooperative Eradication Project. *Weed Technology*. 2007, roč. 21, s. 262-269. Dostupné z: [http://www.weedcenter.org/inv\\_plant\\_info/docs/MT-Dyers\\_woad.pdf](http://www.weedcenter.org/inv_plant_info/docs/MT-Dyers_woad.pdf)
17. BAGCHI, D., et al. Anti-angiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of a novel anthocyanin-rich berry extract formula. *Biochemistry*. 2004, roč. 69, č. 1, s. 75-80.
18. FARI, A., et al. Blueberry Anthocyanins and Pyruvic Acid Adducts: Anticancer Properties in Breast Cancer Cell Lines. *Phytotherapy research*. 2010, roč. 24, s. 1862-1869. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ptr.3213/pdf>
19. LACHMAN, J., et al. Total polyphenol and main flavonoid antioxidants in different onion (*Allium cepa* L.) varieties. *Horticultural science*. 2003, roč. 30, č. 4, s. 142-147.
20. CHAUDHARY, G., S. GOYAL, a P. POONIA. Lawsonia inermis Linnaeus: A Phytopharmacological Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. 2010, roč. 2, č. 2, s. 91-98. ISSN 0975-248X. Dostupné z: <http://www.ijpsdr.com/pdf/vol2-issue2/2.pdf>
21. POLÍVKA, F. *Užitkové a paměťhodné rostliny cizích zemí*. Praha: Volvox Globator, 2010. 670 s. ISBN 978-80-7207-765-6.
22. BEYERA, J., O.H. DRUMMERA, a H.H. MAURERB. Analysis of toxic alkaloids in body samples. *Forensic Science International*. 2009, roč. 185, č. 1-3, s. 1-9. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0379073808004751>
23. VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3*. Tábor: Osis, 2002. 343 s. ISBN 80-86659-02-X.
24. STRAŠIL, Z. a J. HOFBAUER. *Technologie pěstování a možnosti využití světlíce barvířské - safloru (*Carthamus tinctorius* L.) : Metodika pro praxi*. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 2007. 18 s. ISBN 978-80-87011-21-8.
25. DURÁAN, N. a P.-S. SONG. Hypericin and his photodynamic action. *Photochemistry and photobiology*. 2008, roč. 43, č. 6, s. 677-680. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1751-1097.1986.tb05646.x/pdf>

26. BARNES, J., L.A. ANDERSON, a J.D. PHILLIPSON. St John's wort (*Hypericum perforatum* L.) : a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2001, roč. 53, s. 583-600. ISSN 0022-3573. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1211/0022357011775910/pdf>
27. EMULGATORY.CZ. Seznam ěček - barviva, konzervanty, emulgátory a další přídatné látky. *Občanské sdružení Zdravá potravina* [online]. Hlinsko, [cit. 2014-6-3]. Dostupné z: <http://www.emulgatory.cz/seznam-ecek/>.
28. TRYŠČUK, P. Barvení III.g - Využití červců - polská košenila. *Petr Tryščuk* [online]. 2006, stránka naposledy změněna: [cit. 2014-12-3]. Dostupné z: <http://slovane.cz/?p=78>.
29. BECHTOLD, T. a R. MUSSAK. *Handbook of Natural Colorants*. Chichester: John Wiley & Sons, 2009. ISBN 978-0-470-511992.
30. ZIEGLER, R.A. A Review of Epidemiologic Evidence that Carotenoids Reduce the Risk of Cancer. *The Journal of Nutrition*. 1989, roč. 119, č. 1, s. 116-122. ISSN 0022-3166/89. Dostupné z: <http://jn.nutrition.org/content/119/1/116.full.pdf+html?sid=656c7aa4-c4d7-423c-a403-4cd708c0d846>
31. PRAKASH, P., R.M. RUSSELL, a N.I. KRINSKY. In vitro inhibition proliferation of estrogen-dependent and estrogen independent human breast cancer cells treated with carotenoids and retinoids. *The Journal of Nutrition*. 2001, roč. 131, č. 5, s. 1574-1580. ISSN 0022-3166/01. Dostupné z: <http://jn.nutrition.org/content/131/5/1574.full.pdf+html>
32. JAHODÁŘ, L. *Léčivé rostliny v současné medicíně: co Mattioli ještě nevěděl*. Praha: Havlíček Brain Team, 2010. ISBN 978-80-87109-22-9.
33. BRAMLEY, P.M. Is lycopene beneficial to human health? *Phytochemistry*. 2000, roč. 54, s. 233-236. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942200001035>
34. ARORA, A., et al. Naphthoquinone colorants from *Arnebia nobilis* Rech.f. *Coloration technology*. 2012, roč. 128, s. 350-355. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1478-4408.2012.00383.x/pdf>
35. BHUSHAN, B., S.K. SAMANTA, a R.K. JAIN. Indigo production by naphthalene-degrading bacteria. *Letters in Applied Microbiology*. 2000, roč. 31, č. 1, s. 5-9.

- Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com.ezproxy.is.cuni.cz/doi/10.1046/j.1472-765x.2000.00754.x/pdf>
36. KOPLÍK, R. Rostlinné fenolové látky a flavonoidy. [cit. 2014-03-28]. Dostupné z: <http://web.vscht.cz/~koplikr/Rostlinn%C3%A9%20fenoly%20a%20flavonoidy.pdf>
  37. WICZKOWSKI, W., et al. Quercetin from Shallots (*Allium cepa* L. var. *aggregatum*) Is More Bioavailable Than Its Glucosides. *The Journal of Nutrition*. 2008, roč. 138, s. 885-888. Dostupné z: <http://jn.nutrition.org/content/138/5/885.full.pdf>
  38. IASON, G. The role of plant secondary metabolites in mammalian herbivory: ecological perspectives. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2005, roč. 64, s. 123-131.
  39. BARBEHENN, R.V. a C.P. CONSTABEL. Tannins in plant-herbivore interactions. *Photochemistry*. 2011, roč. 72, s. 1551-1556. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942211000690?via=ihub>
  40. WIKIPEDIA. Tannic acid. *Wikimedia Foundation* [online]. 2004, stránka naposledy změněna: 03-13-2014 [cit. 2014-03-28]. Dostupné z: [http://en.wikipedia.org/wiki/Tannic\\_acid](http://en.wikipedia.org/wiki/Tannic_acid).
  41. KODÍČEK, M. *Biochemické pojmy: výkladový slovník*. Praha: VŠCHT Praha, 2004. ISBN 80-7080-551-X.
  42. KOGAN, J.M. *Chemie barviv*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1960. 742 s. ISBN DT 688.811/.819.
  43. RZEPA, H. Mauveine: The First Industrial Organic Fine-Chemical. *Department of Chemistry, Imperial College* [online]. 2006 [cit. 2014-6-3]. Dostupné z: <http://www.ch.ic.ac.uk/motm/perkin.html>.
  44. ŠRÁMEK, J. *Barvení textilií: pro 2. a 3. ročník SOU*. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1985. ISBN DT 677.027.4 (075.3).
  45. MORRIS, P.J.T. a A.S. TRAVIS. A History Of The International Dyestuff Industry. *American Dyestuff Reporter*. 1992, roč. 81, č. 11. Dostupné z: <http://colorantshistory.org/HistoryInternationalDyeIndustryRev1/HistoryInternationalDyestuffIndustryOct6.pdf>

46. NOBELPRIZE.ORG. All Nobel Prizes in Chemistry. *Nobel Media AB* [online]. 2013, stránka naposledy změněna: 2014 [cit. 2014-03-01]. Dostupné z: [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/index.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/index.html).
47. WROLSTAD, R.E., et al. *Handbook of Food Analytical Chemistry: Pigments, Colorants, Flavors, Texture, And Bioactive Food Components*. New Jersey: John Wiley & Sons, 2005. 606 s. ISBN 0-471-71817-3.
48. POUSTKA, J. *Hmotnostní spektrometrie - Mass Spectrometry (MS)*. 2007.
49. PROJECT, M. Mass bank: High Quality Mass Spectral Database. 2006, stránka naposledy změněna: [cit. 2014-03-17]. Dostupné z: <http://www.massbank.jp/en/database.html>.
50. GRIFFITHS, J. A Brief History of Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*. 2008, roč. 80, č. 15, s. 5678–5683. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac8013065>
51. NOBELPRIZE.ORG. All Nobel Prizes in Physics. *Nobel Media AB* [online]. 2013, stránka naposledy změněna: 2014 [cit. 2014-28-2]. Dostupné z: [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/physics/laureates](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates).
52. NIER, A. Some reminiscences of mass spectrometry and the Manhattan Project. *Journal of Chemical Education*. 1989, roč. 66, č. 5, s. 385-388. Dostupné z: [pubs.ac.org/doi/pdf/10.1021/ed066p385](http://pubs.ac.org/doi/pdf/10.1021/ed066p385)
53. DE HOFFMANN, E., J. CHARETTE, a V. STROOBANT. *Mass spectrometry: Principles and Applications*. Chichester: Wiley, 2001. ISBN 0-471-48566-7.
54. MALLET, A.I. a S. DOWN. *Dictionary of mass spectrometry*. Hoboken: Wiley, 2009. ISBN 0470027614.
55. TANAKA, K. The Origin of Macromolecule Ionization by Laser Irradiation (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie*. 2003, roč. 42, s. 3861 – 3870. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/anie.200300585/pdf>
56. HILLENKAMP, F., et al. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Mass Spectrometry of Polymers. *Analytical Chemistry*. 1991, roč. 63, č. 24, s. 1193-1200. Dostupné z: [http://lab.rockefeller.edu/chait/pdf/91/91\\_hillenkamp\\_anal-chem..pdf](http://lab.rockefeller.edu/chait/pdf/91/91_hillenkamp_anal-chem..pdf)
57. STÝBLOVÁ, M. *Analýza přírodních organických barviv a pigmentů pomocí hmotnostní spektrometrie*. Praha, 2012. Diplomová práce. Karlova univerzita v Praze.

58. RESANO, M., E. GARCÍA-RUIZ, a F. VANHAECKE. Laser ablation-inductively coupled plasma mass spectrometry in archaeometric research. *Mass spectrometry reviews*. 2010, roč. 29, č. 1, s. 55-78. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mas.20220/pdf>
59. RAGOISSIS, J., et al. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation, Time-of-Flight Mass Spectrometry in Genomics Research. *PLoS GENETICS*. 2006, roč. 2, č. 7, s. 920-929. Dostupné z: <http://www.plosgenetics.org/article/fetchObject.action?uri=info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pgen.0020100&representation=PDF>
60. HEMMERSBACH, P. History of mass spectrometry at the Olympic Games. *Journal of mass spectrometry*. 2008, roč. 43, s. 839–853. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jms.1445/pdf>
61. BOTRÈ, F. New and old challenges of sport drug testing. *Journal of mass spectrometry*. 2008, roč. 43, s. 903-907. Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jms.1455/pdf>
62. MILATA, V., et al. *Aplikovaná molekulová spektroskopie*. Bratislava: Slovenská technická univerzita v Bratislave, 2008. ISBN 978-80-227-2960-4.
63. KÁŠ, J., M. KODÍČEK, a O. VALENTOVÁ. *Laboratorní techniky biochemie*. Vydavatelství VŠCHT Praha, 2005. ISBN 80-7080-586-2.
64. FITZGERALD, M.C., G.R. PARR, a L.M. SMITH. Basic Matrices for the Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation Mass Spectrometry of Proteins and Oligonucleotides. *Analytical Chemistry*. 1993, roč. 65, č. 22, s. 3204–3211. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ac00070a007>
65. WIKIPEDIA. Matrix-assisted laser desorption/ionization. *Wikipedie* [online]. 2005, stránka naposledy změněna: 4-3-2014 [cit. 2014-5-3]. Dostupné z: [http://en.wikipedia.org/wiki/Matrix-assisted\\_laser\\_desorption/ionization#Matrix](http://en.wikipedia.org/wiki/Matrix-assisted_laser_desorption/ionization#Matrix).
66. HAVLIŠ, J. Hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF. *Vesmír*. 1999, roč. 48, s. 448. Dostupné z: <http://www.vesmir.cz/clanek/hmotnostni-spektrometrie-maldi-tof>
67. SMITH, R.M. *Understanding mass spectra: A Basic Approach*. New Jersey: John Wiley & Sons, 2004. ISBN 0-471-42949-X.
68. SANYOVA, J. Mild extraction of dyes by hydrofluoric acid in routine analysis of historical paint micro-samples. *Microchimica Acta*. 2008, roč. 162, s. 361-370.

## 7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ACN	acetonitril
ATP	adenosin trifosfát
CI	Chemical Ionisation – chemická ionizace
DHB	kyselina 2,5-dihydroxybenzoová
EI	Electron Ionisation – elektronová ionizace
ESI	Electrospray Ionisation – ionizace pomocí elektrospreje
FAB	Fast Atom Bombardment – ionizace nárazem urychlených atomů
GC	Gas Chromatography – plynová chromatografie
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography – vysokoúčinná kapalinová chromatografie
IR	Infra Red – infračervené záření, v infračervené části spektra
KCHDCH na PEDF UK	Katedra chemie a didaktiky chemie na Pedagogické fakultě Univerzity Karlovy
LC	Liquid Chromatography – kapalinová chromatografie
LDI–TOF MS	Laser Desorption/Ionisation Time Of Flight Mass Spectrometry – hmotnostní spektrometrie založená na desorpci/ionizaci pomocí laseru, analýza pomocí průletového analyzátoru
MALDI	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation – desorpce/ionizace pomocí laseru za účasti matrice
MeOH	methanol
MS	Mass Spectrometry – hmotnostní spektrometrie
NADPH	redukováná forma nikotinamidnukleotid fosfátu
NMR	Nuclear Magnetic Resonance – nukleární magnetická rezonance
PC	Paper Chromatography – papírová chromatografie
TFA	trifluoroacetic acid – trifluoroctová kyselina
TLC	Thin Layer Chromatography – chromatografie na tenké vrstvě



UV	Ultra Violet – ultrafialové záření, v ultrafialové části spektra
VIS	visible – viditelné spektrum
VŠCHT	Vysoká škola chemicko-technologická