

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra učitelství a didaktiky chemie

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie a matematika se zaměřením na vzdělávání



**EXPERIMENTÁLNÍ VÝUKA ORGANICKÉ CHEMIE SE ZAMĚŘENÍM NA
VZDĚLÁVÁNÍ**

EXPERIMENTAL TEACHING OF ORGANIC CHEMISTRY ORIENTED ON
EDUCATION

Bakalářská práce

Markéta Karlínová

Vedoucí závěrečné práce: RNDr. Simona Hybelbauerová, Ph.D.

Praha, 2015

Prohlášení:

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

V Praze, 3. června 2015

Podpis:

Abstrakt:

Experiment je pro žáky beze sporu nejoblíbenější částí hodin chemie. Pokud je experiment prováděn s materiálem běžně známým, jako jsou například potraviny, pak zájem studentů ještě vzroste. Tato bakalářská práce představuje experimenty s lentilkami dvou výrobců, a to *Nestlé* a *Mars, Inc.* Zájem je soustředěn na barviva, což je téma organické chemie přímo zmiňované v základním kurikulárním dokumentu RVP G. Experimenty poukazují na citlivost barviv z lentilek a přírodních extraktů na změny pH prostředí. Pomocí barviv je vysvětlena závislost retenčního faktoru látek na podmínkách, za kterých je tenkovrstvá chromatografie prováděna. Součástí práce je i měření absorbance světla barvivy. Práce ukazuje také novou možnost jak badatelsky pojmout výuku tématu barviv.

Téma bakalářské práce také poukazuje na fakt, jak je důležité sledovat složení jednotlivých výrobků. Může se stát, že výrobci změní složení svých produktů a popsané experimenty, pak nemusejí vycházet. Což byl i případ experimentů s lentilkami výrobce *Nestlé*, který změnil barviva používaná k barvení této čokoládové cukrovinky. Ač původní barviva byla také přírodního původu (např. směs karotenů, antokyany), pro širokou veřejnost je zřejmější rostlinný původ z údaje na obalu o použitých koncentrátech (např. mrkve, světlíce barvířské, ředkve, apod.).

Klíčová slova:

Experimenty s lentilkami, barviva, rostlinné extrakty, projektová výuka, IBSE

Abstract:

Experiments are indisputably the most popular part of chemistry lessons for students. When an experiment is performed with the material commonly known like foodstuff then interest of students increases. Presented bachelor thesis shows experiments with chocolate lentils of two producers, Nestle and Mars, Inc. Interest is focused on colorants – a topic of organic chemistry which is directly mentioned in basic curricular documents RVP G. The experiments demonstrate influence of pH environment on sensitivity of artificial colorings and natural food dyes contained in chocolate lentils. By using these food colorings retention factor and its dependence on TLC (thin layer chromatography) conditions is explained. Absorbance spectra of colorants are included. The thesis presents new possibilities of scientific approach about lecture of colorants.

The aim of presented bachelor thesis is focused on importance of monitoring the composition in food products. Producers might change the composition of their products and that's why described experiments can't be followed easily. Certain problem was in case of Nestle producer who has changed food colorings in these chocolate candies. Although original food colorings had been natural food dyes (mix of carotenoids, anthocyanins), for the majority of people is more understandable when plant extract is used (e.g. extract of carrots, safflowers, radishes).

Key words:

Experiments with lentils, colorants, plant extracts, project teaching, IBSE

Na tomto místě bych velmi ráda poděkovala své vedoucí závěrečné práce RNDr. Simoně Hybelbauerové, Ph.D. za odbornou pomoc při experimentech a při psaní bakalářské práce. Dále patří poděkování po technické stránce Mgr. Ludřku Míkovi a RNDr. Petrovi Šmejkalovi, Ph.D. Velké poděkování patří mé rodině, která mě po celou dobu studia podporuje a nepřestala ani při psaní mé závěrečné práce.

OBSAH

1.	ÚVOD.....	- 9 -
2.	CÍLE PRÁCE	- 10 -
3.	TEORETICKÁ ČÁST	- 11 -
3.1.	Barviva.....	- 11 -
3.1.1.	<i>Přírodní barviva</i>	- 11 -
3.1.1.1.	Tetrapyrroly.....	- 13 -
3.1.1.2.	Flavonoidy	- 15 -
3.1.1.3.	Chinoidní barviva.....	- 22 -
3.1.1.4.	Karotenoidy	- 24 -
3.1.2.	<i>Syntetická barviva</i>	- 28 -
3.1.2.1.	Brilantní modř	- 28 -
3.1.2.2.	Oxid titaničitý	- 29 -
3.2.	Chromatografické metody	- 30 -
3.2.1.	<i>Chromatografie</i>	- 30 -
3.2.1.1.	Tenkvrstvá chromatografie	- 31 -
3.3.	Didaktické přístupy.....	- 32 -
3.3.1.	<i>Projektová výuka</i>	- 33 -
3.3.2.	<i>IBSE = Badatelsky orientovaná výuka</i>	- 33 -
4.	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	- 35 -
4.1.	Barevná škála lentilek v závislosti na pH.....	- 36 -
4.2.	Barevné změny přírodních extraktů v závislosti na pH.....	- 41 -
4.3.	Chromatografické rozdělení barviv ze zelené lentilky M&M's	- 46 -
5.	PRACOVNÍ LISTY	- 49 -
5.1.	Pracovní list pro studenty	- 49 -
5.2.	Řešení pracovního listu pro pedagogy	- 51 -
5.3.	Metodika pro učitele.....	- 54 -
5.4.	Pracovní list pro studenty 1	- 55 -
5.5.	Pracovní list pro studenty 2	- 56 -
5.6.	Řešení pracovních listů pro pedagogy	- 58 -
5.7.	Metodika pro učitele.....	- 60 -
5.8.	Metodické pokyny pro badatelsky orientovanou výuku.....	- 60 -
6.	DISKUSE	- 62 -

6.1.	Diskuse k teoretické části.....	- 62 -
6.2.	Diskuse k experimentální části.....	- 62 -
6.3.	Diskuse k pracovním listům.....	- 65 -
7.	ZÁVĚR.....	- 67 -
8.	LITERATURA.....	- 68 -
9.	ZDROJE OBRÁZKŮ.....	- 71 -
10.	PŘÍLOHY.....	- 74 -

Přehled použitých zkratk

KUDCh	Katedra učitelství a didaktiky chemie
PřF UK	Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy
JU	Jihočeská univerzita
VŠCHT	Vysoká škola chemicko-technologická
SŠ	střední škola
RVP G	Rámcový vzdělávací program pro gymnázia
IBSE	badatelsky orientovaná výuka
TLC	tenkovrstvá chromatografie
R_f	retenční faktor
UV/VIS spektrum	ultrafialové/viditelné spektrum

1. ÚVOD

Chemický experiment vždy byl, je a bude nedílnou součástí výuky chemie nejen na středních školách. Bez jeho zařazení do procesu chemického vzdělávání by chemie ztratila své kouzlo a jedinečnost mezi ostatními předměty. Chemický experiment činí výuku chemie pro žáky atraktivnější a motivuje je k dalšímu studiu tohoto oboru. Proces objevování vlastností látek, chování látek za různých podmínek a vzájemných reakcí pomocí experimentů, tedy bádání, je dnes velkým trendem v přístupech k výuce chemie jak na středních, tak i na základních školách.

Pokud do bádání zapojíme látky, které žáci mohou znát z běžného života, pak je pro ně experiment mnohem zajímavější. Velkou skupinou látek, se kterou se všichni každodenně setkáváme, a tedy i žáci, a které ovlivňují naše chování a rozhodovací proces, jsou sensoricky aktivní látky. V této práci je věnována pozornost barvivům. Barviva jsou tématem organické chemie, která jsou přímo zmiňována i v RVP G ⁽¹⁾ a tudíž by mu měli učitelé věnovat ve svých hodinách chemie pozornost.

K tématu barviv učitelé často na SŠ zařazují do experimentální části výuky právě pokusy s lentilkami. Dříve popsané experimenty jako je chromatografie barviv lentilek ⁽²⁾, chování barviv v závislosti na pH prostředí ⁽²⁾ však nefungují resp. vychází jinak se dvěma typy lentilek výrobce *Nestlé*, které jsou v současné době k dispozici. Tato nová zjištění byla jednou z motivací k tématu práce.

Další velkou motivací k výběru tématu této bakalářské práce je vlastní nadšení pro experimenty a využití experimentů ve vyučovací hodině.

2. CÍLE PRÁCE

Na základě zvoleného tématu bakalářské práce byly stanoveny následující cíle práce:

- Sepsání studijního textu o barvivech
- Návrh nových či inovovaných experimentů na téma barviv
- Experimentální ověření navržených experimentů
- Vytvoření pracovních listů na laboratorní práce
- Návrh zařazení experimentů do výuky chemie na SŠ

3. TEORETICKÁ ČÁST

V teoretické části bakalářské práce jsou zmíněna pouze barviva, která souvisí s experimentální částí práce. Popsaná přírodní barviva jsou vybrána na základě údajů výrobce *Nestlé* na obalech lentilek *Orion - bez umělých barviv*⁽³⁾ a *Orion – barveno přírodou*⁽⁴⁾. Ten na obalech uvádí, jaké přírodní materiály jsou použity k barvení těchto čokoládových cukrovinek. Záměr je tedy soustředěn na barviva, která se v daných přírodních materiálech vyskytují, na jejich struktury a vlastnosti.

Ze syntetických barviv jsou uvedena pouze dvě barviva. Jedná se o brilantní modř a oxid titaničitý, který se pro potravinářské účely vyrábí synteticky. Jsou uvedeny struktury a vlastnosti barviv. Obě tyto syntetické barvy jsou využívány k barvení lentilek *M&M's* od výrobce *Mars, Inc.*⁽⁵⁾ Ostatní barviva lentilek *M&M's* jsou přírodního původu s označením E100, E120, E160e.^(5,6)

3.1. Barviva

Jako barvivo je označována chemická látka většinou organického původu, jejíž přítomnost v buňkách způsobí změnu zbarvení. Změna zbarvení je založena na různé absorpci části viditelného spektra elektromagnetického záření v rozsahu 380-780 nm.⁽⁷⁾ Za různou absorpci spektra může tzv. chromofor. Chromofor je látka s větším počtem konjugovaných dvojných vazeb.⁽⁸⁾ Pro barviva je velmi důležité, aby měla dostatečně vysoký absorpční koeficient, byla stálá vůči všem možným chemickým a fyzikálním jevům a nebyla toxická.⁽⁷⁾

Barviva jsou významnou skupinou sensoricky aktivních látek potravin. Každé potravinářské barvivo je označeno pomocí evidenčního symbolu, tzv. E – kódu⁽⁶⁾, který poté můžeme najít na obalu potravinářského výrobku.⁽⁹⁾ Dělíme je na dvě základní skupiny: přírodní barviva a syntetická barviva.⁽⁷⁾

3.1.1. Přírodní barviva

Přírodní barviva jsou barviva získána z přírody. Buď je původ z živočišné nebo rostlinné říše. Mezi přírodní barviva se celkem často řadí též barevné produkty, které získáváme z přírodních surovin různými technologickými procesy, například karamel či, sladový extrakt. Běžně se k přírodním barvivům řadí též měďnaté komplexy chlorofylů a chlorofylinů, které běžně v přírodě nenajdeme. Dále ještě anorganické

pigmenty, mezi kterými jsou například uhličitan vápenatý, oxid železitý či oxid titaničitý.⁽¹⁰⁾

Jak už bylo zmíněno v předchozích větách, přírodní barviva jsou živočišného nebo rostlinného původu. Mezi barviva původem z živočišné říše patří například barvivo z inkoustového vaku sépie obecné (obr. 1), dále například karmínová košenila z vnější krusty oplozených samic červce nopálového (obr. 2) a poté ještě tyrský purpur vyráběný z ulity ostranky (obr. 3).⁽⁷⁾



Obr. 1 - Sépie obecná



Obr. 2 - Červec nopálový



Obr. 3 - Ulita ostranky

Barviva rostlinného původu jsou získávána z různých orgánů rostlin, například květů, listů, plodů, semen, kořenů, oddenků a dřeva. Barviva jsou v buňkách umístěna různě, nejčastěji ale v plastidech nebo ve vakuolách. V plastidech se objevují barviva, která jsou rozpustná v tucích. Ve vakuolách se objevují barviva, která jsou rozpustná naopak ve vodě. Mezi barviva rostlinného původu řadíme například veřejnosti známou henu, která je odebírána z mladých oddenků lawsonie (henovník bílý) (obr. 4), dále barvivo indigo, které je získáváno z indigovníku (obr. 5) a také ještě barvivo ze světlice barvířské (obr. 6).⁽⁸⁾



Obr. 4 - Henovník(lawsonie)



Obr. 5 - Indigovník



Obr. 6 - Světlice barvířská

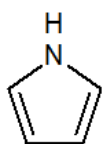
Přírodní barviva můžeme dále klasifikovat podle struktury na čtyři hlavní základní skupiny:

- a) Dusíkaté heterocyklické sloučeniny, kam zařazujeme pigmenty odvozené od pyrrolu, indolu, isochinolinu, pyrimidinu a příbuzného flavinu. Některé z nich řadíme též mezi alkaloidy. K nejvýznamnějším pigmentům této skupiny se řadí hemová a chlorofylová barviva, dále melaniny a betakyany.

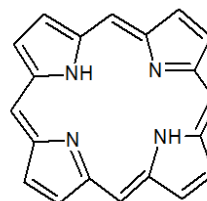
- b) Kyslíkaté heterocyklické sloučeniny, kam zařazujeme množství fenolových sloučenin, tzv. flavonoidy. Nejdůležitějším barvivem flavonoidů jsou anthokyany.
- c) Další fenoly a od nich odvozené chinony zahrnují nejrozličnější barviva. Mezi ně patří například i tzv. kurkuminoidy.
- d) Terpenoidy, kam řadíme zejména tetra-terpenové a některé další od tetra-terpenů odvozené pigmenty zvané karotenoidy. ⁽¹⁰⁾

3.1.1.1. Tetrapyrroly

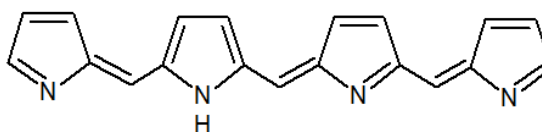
Tetrapyrrolová barviva jsou velice významnou skupinou pigmentů o různých barvách. Struktura tetrapyrrolu je tvořena čtyřmi pyrrolovými jádry spojenými methinovými můstky. Chemický vzorec heterocyklu pyrrolu je vyobrazen na obr. 7.



Obr. 7- Struktura pyrrolu



Obr. 8 - Struktura porfyriu



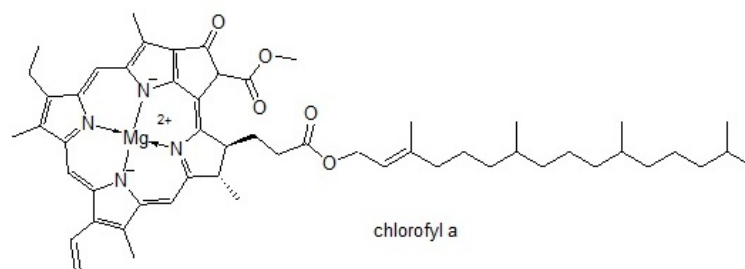
Obr. 9 - Struktura billinu

Spojení čtyř pyrrolových jader může mít dva různé systémy. Buď se jedná o cyklický systém, poté tetrapyrroly nazýváme porfyryny (viz. obr. 8) a cyklus, který vznikl spojením pyrrolových jader, se nazývá porfyrynový cyklus, nebo se jedná o lineární systém, poté tetrapyrroly nazýváme billiny (viz. obr. 9). Porfyryny jsou chromofory dvou základních skupin metaloproteinů. Tyto dvě základní skupiny jsou hemová barviva, neboli barviva živočišných tkání, a poté chlorofylová barviva (chlorofyly), neboli barviva rostlinných pletiv, řas a mikroorganismů. ⁽¹⁰⁾

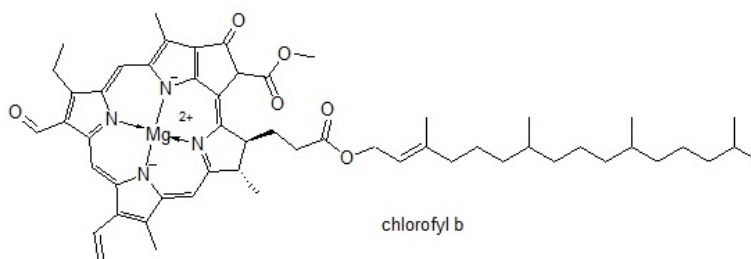
3.1.1.1.1. Chlorofyly

Chlorofylová barviva jsou skupinou zelených barviv, které se nacházejí v pletivech zajišťující fotosyntézu. Nachází se prakticky u všech vyšších rostlin, mechů a řas. Základní strukturní jednotkou většiny chlorofylů je cyklický tetrapyrrol 17,18-dihydroporfyryl. Největší význam mají chlorofyl *a* (obr. 10) a chlorofyl

b (obr. 11), a jejich rozkladné produkty feofytiny (feofytin *a* a *b*). Feofytiny jsou odvozeny od chlorofylů náhradou hořčíku vodíky.⁽¹⁰⁾

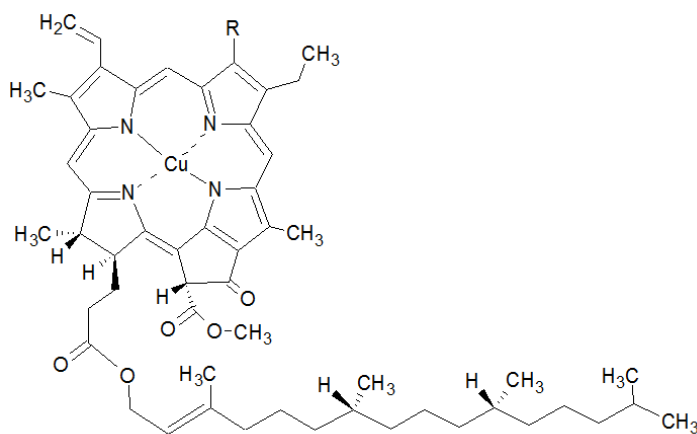


Obr. 10 - Struktura chlorofylu a



Obr. 11 - Struktura chlorofylu b

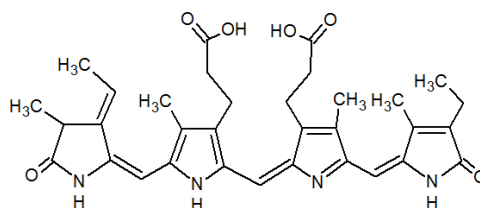
Chlorofyly jsou jediná přírodní zelená barviva, která se v přírodě objevují v neomezeném množství. Jejich hlavní využití je jako potravinářské barvivo. Chlorofyly jsou ale nestabilními látkami, což zabraňuje většímu používání. Náhradou za samotný chlorofyl *a* či *b* je lipofilní směs zelených barviv. Této směsi se obchodně říká chlorofyly nebo měďnaté komplexy chlorofylů. Směs nazývaná měďnaté komplexy chlorofylů obsahuje nejvíce feofytin *a* a *b*. Objevují se zde i chlorofyly, ale u nich dochází k výměně hořčíku za měďnatý iont (obr. 12). Komplexy mají zelenou barvu a jsou proti chlorofylům méně citlivé na světlo. Měďnaté komplexy chlorofylů jsou používány jako potravinářské barvivo, mají evidenční symbol E141.^(6,10)



Obr. 12 - Měďnaté komplexy chlorofylů a ($R=CH_3$), b ($R=CH=O$)

3.1.1.1.2. Fykokyanin

Fykokyaniny jsou jednou ze tří hlavních skupin fykobillinů. Fykokyanin je modré ve vodě rozpustné barvivo, které se vyskytuje u skrytěk, ruduch a sinic. Je tedy hlavní složkou sinice spiruliny, která se pěstuje v Japonsku na výrobu vitamínových tablet. Chromofor modrých fykokyaninů se nazývá fykokyanobillin. Jeho struktura je vidět na následujícím obr. 13. ⁽¹⁰⁾

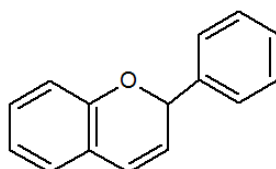


Obr. 13 – Fykokyanobillin

Fykokyanin ze spiruliny se opět začal používat jako potravinářské barvivo na barvení výrobků „Smarties“ od výrobce Nestlé. ⁽²³⁾

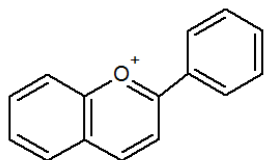
3.1.1.2. Flavonoidy

Flavonoidy jsou rozsáhlou skupinou rostlinných fenolů. V přírodě se jich vyskytuje nepřehledné množství. Základní strukturou flavonoidů je flavan, kyslíkatá heterocyklická sloučenina. Struktura flavanu je na obr. 14. ⁽¹⁰⁾

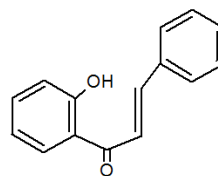


Obr. 14- Strukturní vzorec flavanu

Existuje velké množství různých derivátů flavonoidů, které se liší pouze stupněm substituce a oxidace. Nejběžnějšími substituenty jsou hydroxyskupiny a methoxyskupiny. Podle stupně oxidace a jeho substituce můžeme rozeznávat základní struktury flavonoidů takto: flavanony; flavanonoly; flavony; flavonoly a anthokyanidiny (obr. 15). V několika případech existuje šestičlenný heterocyklický kruh v otevřené formě nebo je nahrazen pětičlenným heterocyklickým kruhem. Tyto případy jsou chalkony (obr. 16) a dihydrochalkony a poté ještě auron. ⁽¹⁰⁾



Obr. 15 - Struktura anthokyanidinů



Obr. 16 - Struktura chalkonů

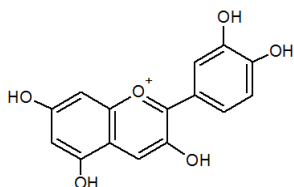
Jen některé flavonoidy jsou důležitými přírodními rostlinnými barvivy. Ostatní jsou významné například kvůli svojí chuti nebo mají významné biologické účinky. V dřívějších dobách se barevné flavonoidy dělily na pouhé dvě velké skupiny: anthokyany a anthoxanthiny. Rozdělovaly se podle barev, kde anthokyany mají velkou škálu barev od červené až po modrou a anthoxanthiny mají charakteristickou barvu žlutou. ⁽¹⁰⁾

3.1.1.2.1. Anthokyany

Anthokyany jsou nejvíce početnou skupinou rostlinných barviv. Anthokyany jsou všude kolem nás v přírodě. Mnoho druhů ovoce, zeleniny a květin vděčí za svojí barvu právě antokyanům. Jejich barevná škála jde od oranžové, přes červenou, fialovou až ke konečné modré barvě. Tato barviva jsou hydrofilními látkami.

Anthokyany jsou glykosidy různých aglykonů, které nazýváme anthokyanidiny. Všechny anthokyanidiny jsou odvozeny od základní struktury flavyliového kationtu. (obr. 15) V přírodě existuje celkem 17 různých anthokyanidinů. Rozlišují se pouze substitucí v různých polohách. Substituentem je hydroxylová skupina. ⁽¹⁰⁾

V potravinách nalezneme pouhých 6 anthokyanidinů. Mezi nejčastěji používané řadíme kyanidin (obr. 17), který má fialovou barvu. Název vznikl z latinského názvu chrpy (obr. 18). Dále se používá pelargonidin, který je odvozen z latinského názvu pelargonii (obr. 19). Poté ještě peonidin, odvozený od pivoňek (obr. 20), delfinidin (obr. 21), který nalezneme například v ibišku, petunidin, odvozený od petunie, a naposledy malvidin (obr. 22), odvozený od slézu. ⁽¹⁰⁾



Obr. 17 - Struktura kyanidinu



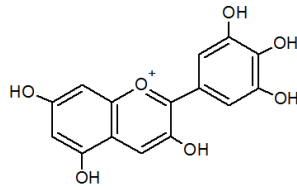
Obr. 18 - Chrupa polní



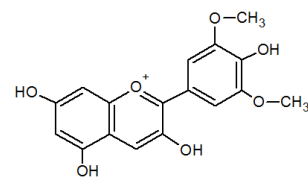
Obr. 19 – Pelargonie



Obr. 20 - Pivoňka



Obr. 21 - Struktura delfinidinu



Obr. 22 - Struktura malvidinu

V některém ovoci a zelenině jsou obsaženy antokyany odvozené od jediného anthokyanidinu. Mezi takové patří například anthokyany v jablkách, v červených odrůdách zelí, v červených ředkvičkách a v bezinkách. Jsou to tedy glykosidy kyanidinu. Můžeme ale nalézt takové ovoce či zeleninu, jejichž barvu způsobuje několik různých anthokyanidinů. Například anthokyany černého rybízu jsou deriváty kyanidinu a delfinidinu, anthokyany jahod jsou deriváty pelargonidinu a kyanidinu a anthokyany černé mrkve jsou kyanidin a malvidin .⁽¹⁰⁾

Anthokyany se vyskytují ve velkém množství druhů rostlin. V rostlinách se nacházejí v buněčných vakuolách a jsou stabilizovány interakcemi typu iont - iont s organickými kyselinami. Hlavními zdroji využívanými jako potraviny jsou plody rostlin čeledi révovitých, růžovitých a lilkovitých a mnoho dalších.

Mezi hlavní skupinu patří právě hrozny vinné révy, třešně, švestky, maliny, jahody, ostružiny (obr. 23), jablka, hrušky, černý a červený rybíz, odrůdy angreštu, borůvky, brusinky (obr. 24), červené zelí, lilek (obr. 25), ředkvičky (obr. 26), různé odrůdy brambor s červenou slupkou a černá mrkev.⁽¹⁰⁾



Obr. 23 - Ostružiny



Obr. 24 - Brusinky



Obr. 25 - Lilek

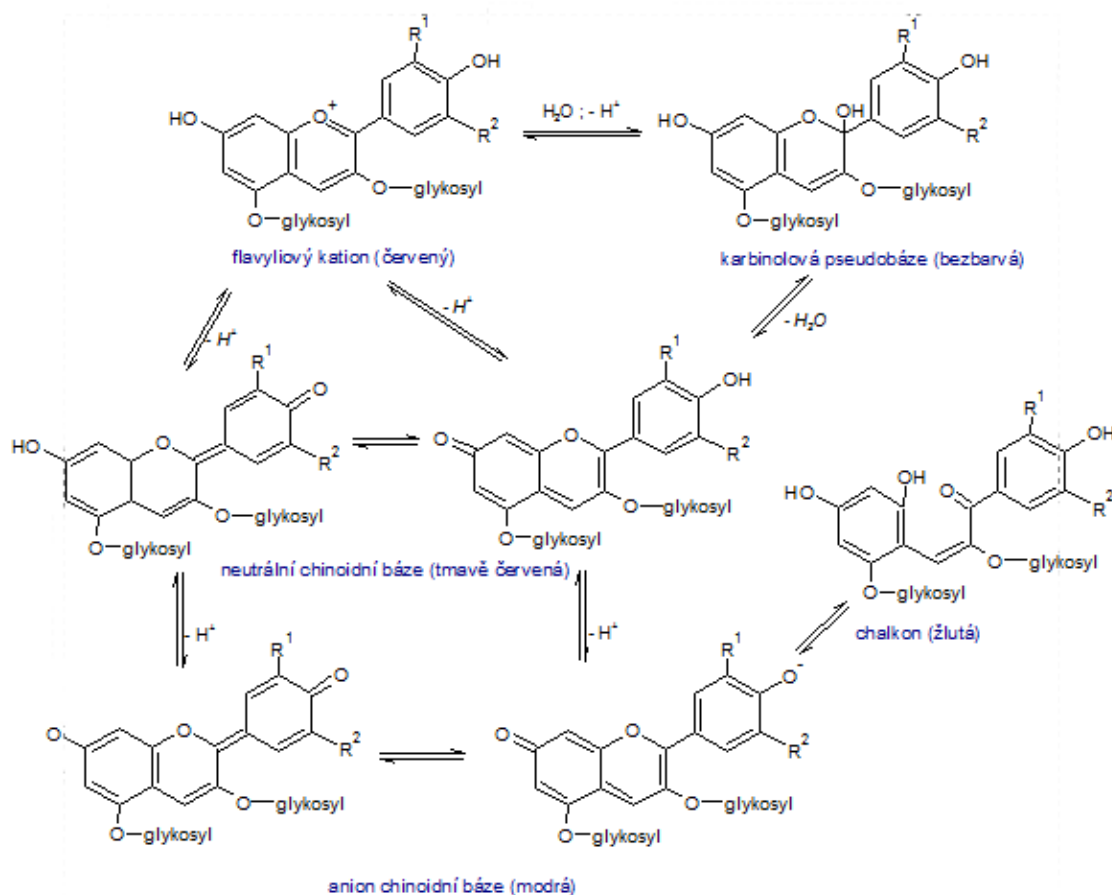


Obr. 26 - Ředkvičky

Nejdůležitější vlastností anthokyanů je jejich barva a stabilita. Stabilita je ale velmi dobře narušitelná. Hlavními faktory ovlivňujícími barvu a stabilitu anthokyanů jsou přítomnost enzymů, pH prostředí, teplota a působení záření. Pro naše účely si povíme něco více o vlivu pH prostředí na stabilitu anthokyanů.⁽¹⁰⁾

3.1.1.2.1.1. Vliv pH prostředí

Barva anthokyanů je silně závislá na pH prostředí. Jedná se o reverzibilní reakce. ⁽¹¹⁾ V závislosti na pH existuje rovnováha mezi pěti různými strukturami aglykonů. Mezi pět různých struktur řadíme červený flavyliový kationt; bezbarvou karbinolovou pseudobázi; purpurově červenou neutrální chinoidní bázi; modrou chinoidní bázi a žlutě zbarvený chalkon (obr. 27). ⁽¹⁰⁾



Obr. 27 – Vliv pH prostředí na antokyany

V prostředí o pH 1,0 a nižším existují antokyany pouze jako červeně zbarvené flavyliové soli. Při zvyšování pH červená barva slábne a přibližně v rozmezí pH 4,0 až 4,5 dojde k úplnému odbarvení. Odbarvení vzniká díky přeměně barevné flavyliové soli v bezbarvou karbinolovou bázi. Opětovným zvyšováním hodnoty pH dochází ke vzniku purpurově červeného zbarvení, které je vyvoláno vznikem neutrální chinoidní báze. Když ještě zvedneme hodnotu pH na 7 až 8 dojde k tvorbě modře zbarveného aniontu chinoidní báze. Při opakovaném zvýšení pH prostředí dojde ke slábnutí intenzity modrého zbarvení a postupně se začíná vytvářet žlutě zbarvený chalkon. Jak bylo řečeno již dříve, jedná se o reverzibilní reakce. Tedy pokud roztok

barviva znovu okyselíme na původní hodnotu pH 1,0, pak se tyto látky přemění zpět na červené flavyliové sole. ⁽¹¹⁾

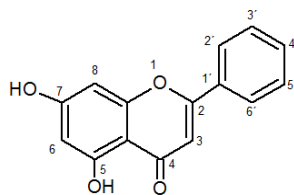
Ve zpracovávaném ovoci a zelenině se však anthokyany vyskytují jako neutrální chinoidní báze. Naopak v potravinářských výrobcích se mohou nacházet v prostředí o různém pH. Aby nedošlo ke změně barvy, je nutná stabilizace. Stabilizace je prováděna různě, ale většinou se jedná o interakce s jinými složkami potravin. ⁽¹⁰⁾

3.1.1.2.2. Další flavonoidy

Další flavonoidy jsou většinou světle žlutá až tmavě žlutá barviva. Mezi tyto flavonoidy řadíme flavanony, flavanonoly, flavony, flavonoly, chalkony a aurony. Kromě několika výjimek se však tyto flavonoidní látky jako potravinářská barviva nepoužívají. Většina flavonoidů se v potravinách účastní reakcí enzymového hnědnutí. Schopnost vázat těžké kovy spolu se schopností terminovat radikálové oxidační reakce propůjčují flavonoidům vlastnosti antioxidantů. ⁽¹⁰⁾

3.1.1.2.2.1. Flavanony

Bezbarvé až světle žluté flavanony jsou v potravinách rozšířeny poměrně málo. Jako barviva nemají pro nás téměř žádný význam. Ve vysokých dávkách se vyskytují pouze v citrusovém ovoci. Hlavní složku zde tvoří glykosidy odvozené od 5,7-dihydroxyflavanonů (obr. 28). Jejich isomery se liší substituenty na uhlíkovém kruhu. ⁽¹⁰⁾



Obr. 28 - Struktura 5,7-dihydroxyflavanon

Nejvýznamějšími aglykony flavanonů jsou hesperetin (5,7,3'-trihydroxy-4'-methoxyflavanon) a naringenin (5,7,4'-trihydroxyflavanon). Hesperitin je hlavní součástí glykosidů pomerančů a citrónů (obr. 29). V grapefruitech (obr. 30) je hlavní složkou glykosidů naringenin. ⁽¹⁰⁾ Flavonoidní glykosid s aglykonem hesperitinem nacházející se v citróněch a pomerančích se nazývá hesperidin (obr. 31). Tento hesperidin také obsahuje velmi známá rostlina – máta peprná (obr. 32). ⁽¹²⁾



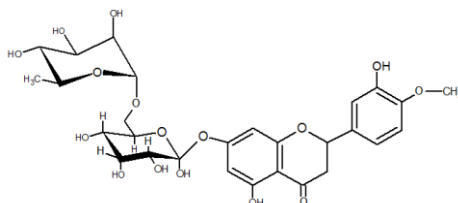
Obr. 29 - Citrusovník



Obr. 30 - Grapefruit



Obr. 32 - Máta peprná



Obr. 31 - Struktura hesperidinu

3.1.1.2.2. Chalkony

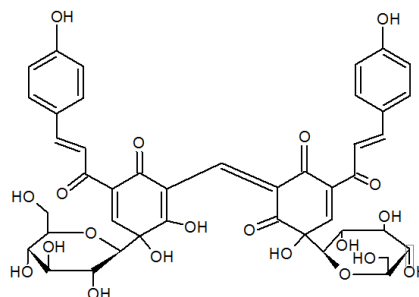
Chalkony, dihydrochalkony a aurony nejsou v potravinářsky významných rostlinných materiálech příliš zastoupeny. Velký význam mají ale jako barviva květů mnoha rostlin. V chalkonech je vždy přítomna hydroxyskupina na C-2, která pochází z pyranového kruhu flavanonů, ze kterých chalkony vznikají v alkalickém prostředí. Naopak v kyselém prostředí dochází ke konverzi chalkonů na flavanony. Nejznámějším příkladem je karthamin (obr. 33).⁽¹⁰⁾

3.1.1.2.2.1. Karthamin

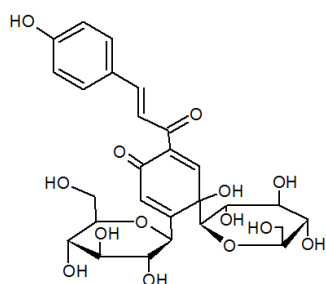
Karthamin je přírodní červené ve vodě rozpustné barvivo. Barvivo je získávané z květů světlice barvířské (obr. 6).⁽¹⁰⁾ Světlice barvířská je prastará kulturní olejnatá rostlina pocházející z východní Indie. V historii byla tato rostlina používána v barvířství. Květy, tedy i barvivo, obsahuje tři barevné sloučeniny: červený karthamin, safflorovou žlut' A (obr. 34) a safflorovou žlut' B (obr. 35).⁽⁷⁾



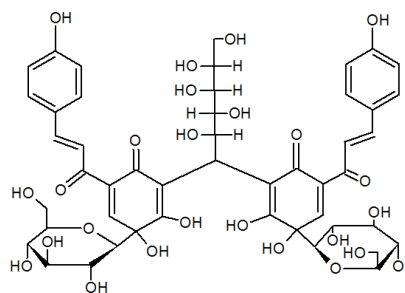
Obr. 6 - Světlice barvířská



Obr. 33 – Struktura vzorec karthaminu

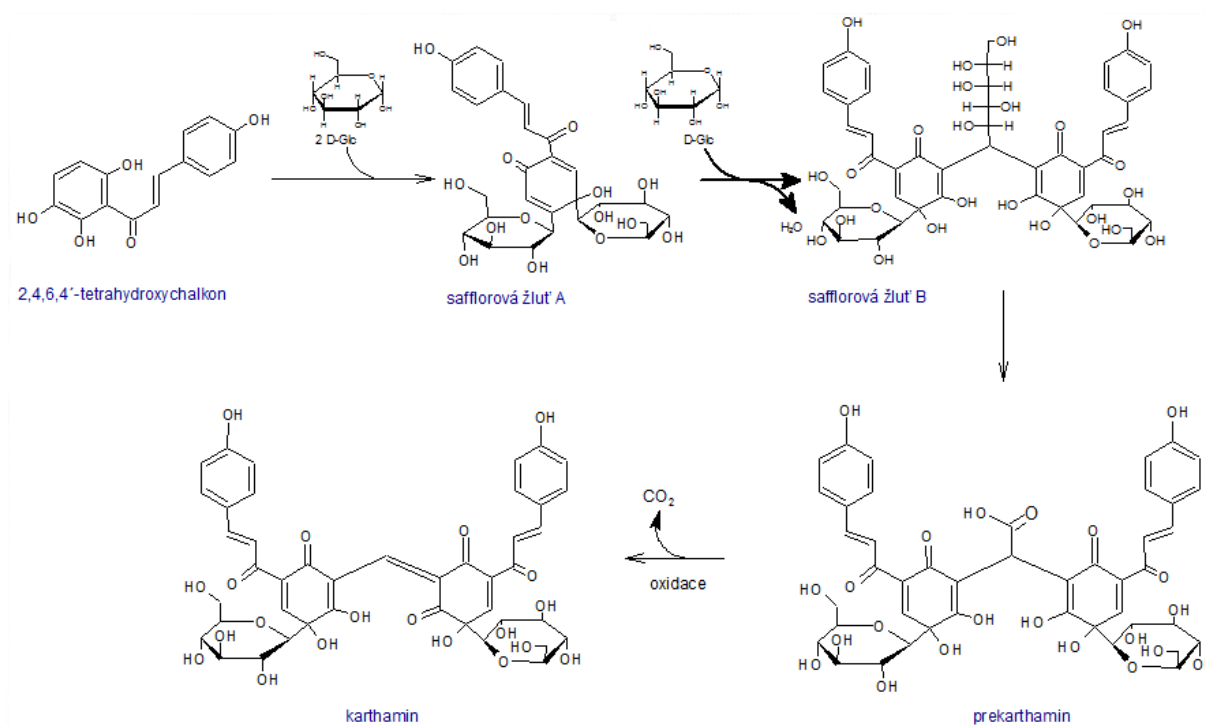


Obr. 34 - Strukturní vzorec safflorové žluti A



Obr. 35 - Strukturní vzorec safflorové žluti B

Prekurzorem karthaminu v květech je 2,4,6,4'-tetrahydroxychalkon. Ten je glykosylován nejprve na safflorovou žluť A. Poté je opět glykosylován a dehydratován. Tím nám vznikne safflorová žluť B. Pokud ta se podrobí oxidaci, vznikne tzv. prekarthamin. Ten další oxidací přechází na již zmiňovaný karthamin. Tyto děje jsou znázorněny na obrázku 36.



Obr. 36 - Přeměna na karthamin

Karthamin je jediným barvivem balkonového typu doporučeným v některých zemích pro barvení potravin a dalších různých věcí. ⁽¹⁰⁾ Například se používá na barvení rýže, cukrovinek a pečiva, dále také na výrobu léčidel a malířských barev. ⁽⁷⁾

3.1.1.3. Chinoidní barviva

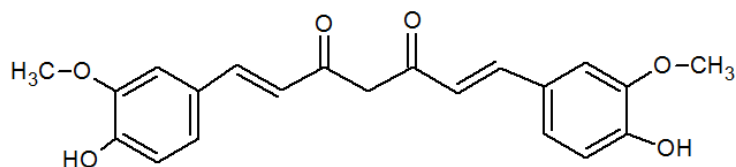
V rostlinných materiálech se nachází velké množství barevných fenolů a také od fenolů odvozených chinonů a polymerů. Řada z těchto barviv se objevuje i v potravinách. Řadíme mezi ně tedy fenoly a chinony. Zástupcem fenolů jsou kurkuminoidy. Zástupců chinonů je spousta a dozvíme se o nich v následujících kapitolách. ⁽¹⁰⁾

3.1.1.3.1. Kurkuminoidy

Kurkuminoidy jsou skupinou fenolových sloučenin, ke kterým se řadí barviva kurkumy. Kurkuma neboli kurkumin je žlutý extrakt z oddenků tropické rostliny kurkumovníku dlouhého (obr. 37). Jde o rostlinu příbuznou žlutému zázvoru z čeledi zázvorovitých. ⁽¹⁰⁾ Rostlina se pěstuje převážně v Indii, dále pak v Číně a Pákistánu a používá ji celý svět ve spoustě koření. My ho můžeme znát jako žluté barvivo z koření kari. ⁽⁷⁾ Kurkuma obsahuje mimo kurkuminu ještě další sloučeniny, ale převládajícím barvivem je právě kurkumin (obr. 38). ⁽¹⁰⁾



Obr. 37- Oddenek kurkumovníku dlouhého



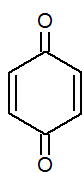
Obr. 38 - Struktura kurkuminu

Lipofilní žlutooranžový kurkumin není rozpustný ve vodě. Nejrozšířenější použití kurkuminu je jako barvivo, kde často nahrazuje vzácný šafrán. ⁽⁷⁾ V potravinách se jako přídatná látka označuje evidenčním kódem E100. Barviva kurkumy jsou při obvyklých teplotách zpracování potravin prakticky stabilní. Nestabilní začínají být na světle, za přístupu vzdušného kyslíku a v alkalickém prostředí. Zde se mění barva z citronově žluté v pH= 3 na oranžovou při pH= 10. ⁽¹⁰⁾

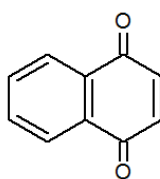
Kurkuma se používá především k barvení mléčných a pekařských výrobků. Olejoprskyřice obsahující vonné a chuťové látky kurkumy se používají jako koření. ⁽¹⁰⁾ Kurkuma se používá i v medicíně jako protizánětlivý prostředek a nově i pro potlačení projevů Alzheimerovy choroby. ⁽⁷⁾

3.1.1.3.2. Chinony

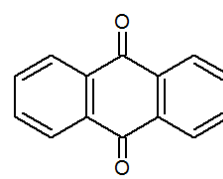
Chinony představují velkou skupinu barviv s různými barvami od žlutých až po téměř černé. Jedná se o barviva s proměnlivou strukturou. Jsou odvozeny od jednoduchých chinonů, jejich dimerů a trimerů. Vzájemně se liší počtem hydroxylových skupin a dalšími substituenty. V přírodě se vyskytují chinoidní barviva, která jsou nejčastěji odvozena od benzo-1,4-chinonu; nafto-1,4-chinonu a anthra-9,10-chinonu. Jejich základní struktury naleznete na následujících obrázcích (obr. 39 – 41).



Obr. 39 - Struktura benzo-1,4-chinonu



Obr. 40 = Struktura nafto-1,4-chinonu



Obr. 41 - Struktura anthra-9,10-chinonu

Chinoidní barviva se vyskytují v různých částech vyšších rostlin, řasách, lišejnících a i v mikroorganismech. Ve velkém množství se některá barviva vyskytují také v různých druzích hmyzu. V minulosti se některá barviva používala k barvení textilu a kůží. Řada rostlin byla pěstována jen kvůli barvivu, které rostlina obsahovala. V pozdější době je nahradila syntetická barviva. V dnešní době se některé pigmenty používají jako potravinářské barvivo, ale taky pro kosmetické a farmaceutické účely. Nejrozšířenější skupinou přírodních chinonů jsou antrachinony, proto se jimi budeme více zabývat. ⁽¹⁰⁾

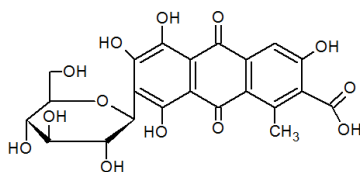
3.1.1.3.2.1. Košenila

Košenila je nejvýznamnější potravinářské barvivo ze skupiny antrachinonových barviv. Od jiných barviv se odlišuje hlavně svým původem. Je totiž živočišného původu. ⁽¹⁰⁾ Košenila je červené přírodní barvivo, které se získává z oplodněných samiček červce nopálového (obr. 2). Samičky jsou paraziti na opuncích v Mexiku a střední Americe. ⁽⁷⁾ Jako barvivo se používají rozemletá suchá těla hmyzu.

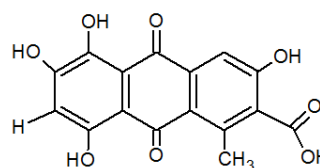


Obr. 2 - Červec nopálový

Hlavní barevnou složkou košenily je karminová kyselina (obr. 42), která se vyskytuje jako glukosid s aglykonem antrachinonového derivátu, tzv. kermesové kyseliny (obr. 43). Struktury obou kyseliny jsou na následujících obrázcích.⁽¹⁰⁾



Obr. 42 - Struktura karminové kyseliny



Obr. 43 - Struktura kermesové kyseliny

Karminová kyselina je stálá a ve vodě rozpustná. Barevný odstín roztoku závisí na jeho pH. Roztok o pH = 3 je oranžový, při pH = 5,5 červený a naopak při pH = 7 je purpurový. Intenzita barvy je celkem nízká, ale i přesto se karminová kyselina používá ve formě laků.⁽¹⁰⁾

Hlinitý či hořečnatý lak karminové kyseliny na hydroxidu hlinitém, který obsahuje tak 50 % karminové kyseliny, se nazývá karminem. Tento karmin se používá jako intenzivnější červené barvivo pro barvení potravin. Protože se používá v potravinářském průmyslu má přiřazený evidenční kód a to E 120.^(6,10)

Podobným barvivem je tzv. alkermesová šťáva. Jednoduše se jí říká nepravá košenila. Jedná se o červený prášek vyráběný ze zaschlých samiček červce žijícího na některých typech dubů v Evropě. Dříve byla hojně používána jako náhrada za drahé barvivo karmin.⁽⁷⁾

3.1.1.4. Karotenoidy

Karotenoidy jsou velmi rozšířenými žlutými a oranžovými barvivy. Převážně se jedná o lipofilní barviva. Karotenoidy jsou barviva původem především z rostlin, hub, řas a mikroorganismů. V rostlinách se karotenoidy vyskytují s chlorofyly v chloroplastech.⁽¹⁰⁾

Většina karotenoidních látek se řadí mezi tetraterpeny, tedy mezi terpenoidy formálně obsahující osm izoprenových jednotek. Barevnost karotenoidů způsobují

řetězce konjugovaných dvojných vazeb, který se vyskytuje v několika základních strukturách a jejich kombinacích. Karotenoidy se dělí na dvě hlavní skupiny a to na karoteny, které jsou složeny pouze z uhlovodíků, a xantofyly, což jsou kyslíkaté sloučeniny odvozené od karotenů. Mezi kyslíkaté sloučeniny patří alkoholy, aldehydy, ketony aj. ⁽¹⁰⁾

Karotenoidy se vyskytují v mnoha typech ovoce a zeleniny (obr. 44; obr. 45; obr. 46). Vyskytují se ve všech fotosyntetizujících rostlinných pletivech, kde jsou přítomny jako fotochemicky aktivní látky v chloroplastech. Často je doprovázejí další barviva. Například u broskví a meruněk jsou to anthokyany. ⁽¹⁰⁾



Obr. 44 - Kukuřice



Obr. 45 - Paprika červená

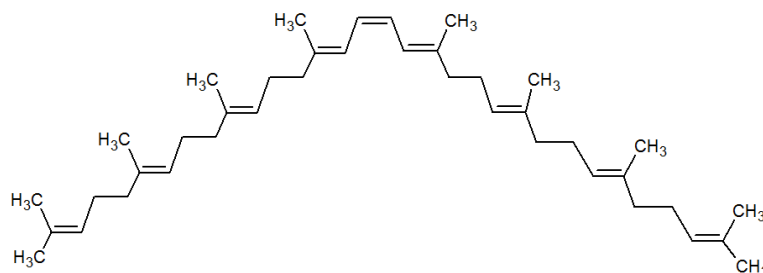


Obr. 46 - Meruňky

Karotenoidní barviva se jako čerstvé nebo sušené části rostlin či extrakty používají k barvení potravin od nepaměti. Karotenoidy, synteticky vyrobené, našly použití jako lipofilní i hydrofilní potravinářská barviva a také jako antioxidanty poměrně nedávno. Karotenoidy se používají k barvení mnoha potravin, např. margarínů, sýrů, jogurtů, zmrzlin, ovocných džusů, cukrářských výrobků aj. ⁽¹⁰⁾

3.1.1.4.1. Karoteny

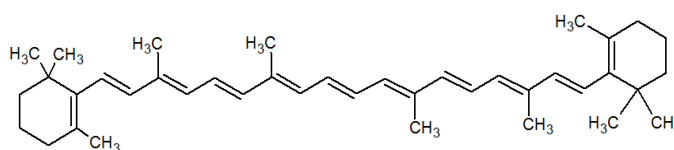
Karoteny jsou významné přírodní oranžová barviva. ⁽⁷⁾ Strukturně se jedná o acyklické a alicyklické uhlovodíky. ⁽¹³⁾ Nejjednodušším karotenem je acyklický polynenasycený uhlovodík fytoen. Struktura nejjednoduššího karotenu fytoenu je na Obr. 47. ⁽¹⁰⁾



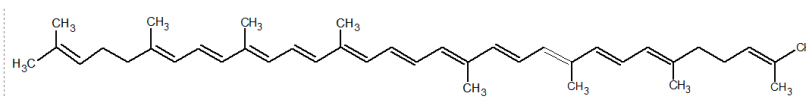
Obr. 47 - Struktura fytoenu

Acyklické karoteny se nacházejí v potravinářských materiálech jen v malém množství. Doprovázejí zde alicyklické karoteny a xantofyly, které jsou hlavními karotenoidy. Alicyklické karoteny vznikají enzymově katalyzovanou cyklizací na jednom nebo obou koncích acyklických ψ -karotenu. Cyklizací se tvoří β -jononové struktury v β -karotenech nebo α -jononové struktury v ϵ -karotenech. β -jononové cykly má například velmi známý β -karoten, α -jononové cykly má i ϵ -karoten. Karoteny s β -jononovými cykly jsou prekurzory retinolu. Můžeme je tedy zařadit mezi provitaminy A. ⁽¹⁰⁾

Mezi nejvíce rozšířenými karoteny jsou β -karoten (obr. 48) a lykopen (obr. 49). Lykopen se nachází v červených rajčatech (obr. 50) a v šípku (obr. 51). Dále se lykopen nachází v rajčatovém protlaku, kečupu a přidává se do omáček. β -karoten nalezneme například v mrkvi (obr. 52), meruňkách a v mangu. ⁽¹³⁾ Karoteny jsou důležitou složkou naší stravy. Důvodem je, že karoteny jsou provitaminy A, jak už bylo zmiňováno v předchozím odstavci. Protože jsou důležitou složkou naší stravy, používají se velmi často jako potravinářská barviva. Směs karotenu je označováno evidenčním symbolem E160a. ^(6,7)



Obr. 48 – Struktura β -karotenu



Obr. 49 - Struktura lykopenu



Obr. 50 - Rajče



Obr. 51 - Šípek



Obr. 52 - Mrkev

3.1.1.4.2. Xanthofyly

Xanthofyly jsou hlavními karotenoidy rostlin. Vznikají jako produkty biochemické oxidace karotenů. Xanthofyly, které jsou odvozeny od acyklických karotenů, se v potravinách skoro nevyskytují. Mnohem častější jsou monohydroxysubstituované deriváty alicyklických karotenů. Tyto deriváty se nazývají kryptoxanthiny. ⁽¹⁰⁾

Nejrozšířenějším xanthofylem je lutein, který nalezneme prakticky ve všem kolem nás. Mezi xanthofyly patří také zeaxanthin. Ten nalezneme v kukuřici nebo v tulipánech. Rubixanthin, další příklad xanthofylu, nalezneme zase v šípku. Rhodoxanthin nám zase na podzim mění barvu listů (obr. 53). Kapsanthin známe z červené barvy paprik. Flavoxanthin dává barvu žlutým chryzantémám (obr. 54). Žlutou barvu šafránu (obr. 55) uděluje krocein. ⁽⁸⁾



Obr. 53 - Zabarvení listů na podzim



Obr. 54 - Žlutá chryzantéma



Obr. 55 - Šafrán

Za krásnou barvu uvařených krabů a humrů (obr. 56) může zase astacin. ⁽⁷⁾ Nejznámější živočišným příkladem je kantaxanthin, který způsobuje růžové zbarvení plameňáků (obr. 57). ⁽⁸⁾

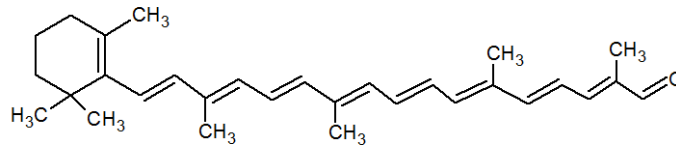


Obr. 56 - Humr



Obr. 57 - Plameňák

Malou, ale velmi významnou skupinou xantofylů jsou sloučeniny, které mají v molekule méně než 40 atomů uhlíku. Tyto sloučeniny vznikají štěpením molekuly karotenoidů. Nazýváme je degradovanými karotenoidy nebo též apokarotenoidy. Do této skupiny řadíme i β -apo-8'-karotenal (obr. 58). ⁽¹⁰⁾



Obr. 58 - Struktura apokarotenalu

β -apo-8'-karotenal je přírodní nebo syntetické oranžové barvivo. ⁽¹⁴⁾ Synteticky se vyrábí z plodů citrusů, ze zeleniny a trávy. Barvivo je nerozpustný prášek, který je bezpečnou přísadou jídel, protože se v těle přeměňuje na vitamín A. ⁽¹⁵⁾ Nejčastěji se používá k barvení potravin, například smetanových sýrů, tavených sýrů a salátových omáček. ⁽¹⁴⁾ Protože se používá jako potravinářské barvivo, tak má také svůj evidenční symbol, kterým je E160e ⁽⁶⁾.

3.1.2. Syntetická barviva

Syntetická barviva jsou barevné sloučeniny, které vznikají průmyslovou výrobou. ⁽¹⁸⁾ Barviva se dříve syntetizovala z velkého množství sloučenin, které byly založené na produktech zpracování dehtu. Nyní se již získávají jen z vysoce přečištěných ropných produktů. Každé syntetické barvivo musí obsahovat minimálně 85 % čistého barviva. Ve zbytku jsou nečistoty, anorganické soli kovů a organické látky. ⁽¹⁹⁾

Některá syntetická barviva mají negativní účinky na lidské zdraví. Mezi negativní účinky řadíme karcinogenitu, inhibici některých enzymů, negativní působení na žaludeční sekreci a způsobování alergií. ⁽¹⁸⁾

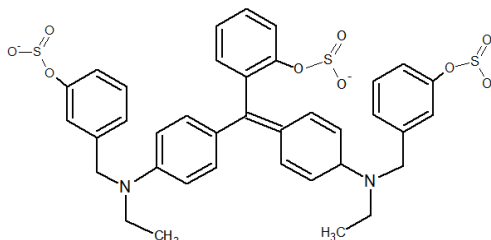
Nejdůležitějšími skupinami syntetických barviv z chemického hlediska jsou azobarviva, deriváty trifenylmethanu, nitrobarviva, chinolinová a indigoidní barviva. ⁽¹⁸⁾ Mezi skupinu azobarviv patří tartrazin (E102), žluť SY (E110), azorubin (E122) a allura červeň (E129) ⁽⁶⁾. Nejznámějším zástupcem derivátů trifenylmethanu je brilantní modř (E133, obr. 59) ⁽⁶⁾. Zástupcem chinolinových barviv je chinolinová žluť (E104) ⁽⁶⁾.

Pro naše účely postačí říci něco víc o brilantní modři, kterou budeme přiřazovat v experimentální části dané lentičky a o oxidu titaničitým, který se pro potravinářství vyrábí synteticky, ale nalezneme ho i v přírodě.

3.1.2.1. Brilantní modř

Brilantní modř je syntetické barvivo odvozené od trifenylmethanu (obr. 59). ⁽⁹⁾ V potravinářství se velmi často používá v kombinaci ještě s několika umělými barvivy.

Používá se tedy jako potravinářské barvivo a to musí mít svůj evidenční symbol. Brilantní modř má evidenční kód E133⁽⁶⁾. Barvivo se přidává do žvýkaček, cukrářských výrobků a limonád.⁽²⁰⁾ Brilantní modř je nevhodná pro alergiky a děti. Častá konzumace výrobků (obr. 60; obr. 61) s obsahem brilantní modři může vést k hyperaktivitě dětí.⁽⁹⁾



Obr. 59 - Struktura brilantní modři



Obr. 60 - Kiwi šťáva, výrobce Hello



Obr. 61 - ZON Laguna

3.1.2.2. Oxid titaničitý

Oxid titaničitý je anorganická sloučenina, která se využívá jako potravinářské barvivo. Má několik názvů - titanová běloba či bílý pigment. Při použití jako potravinářské barvivo má označení evidenčním symbolem E171.^(6,16) Jedná se o bílé ve vodě nerozpustné barvivo, které je získáváno především z přírodních zdrojů. Hlavním přírodním zdrojem je ilmenit (obr. 62), neboli titaničitan železnatý. Pro potravinářství se ale vyrábí synteticky. Oxid titaničitý nalezneme ve spoustě žvýkaček, cukrovinek, nebo také v rozpustném nápoji Tang (obr. 63).⁽¹⁷⁾



Obr. 62 - Ilmenit



Obr. 63 - Rozpustný nápoj Tang

3.2. Chromatografické metody

Chromatografické metody jsou metody, které se v laboratoři nejčastěji využívají na čišťení látek od příměsí, na oddělení dvou nebo více látek ze směsi nebo na rozdělení směsi na jednotlivé čisté složky. Jejich velkou výhodou je především možnost čistit a oddělovat malá množství látek oproti jiným metodám dělení jako je například krystalizace či destilace. Další velmi cennou výhodou je, že chromatografické dělení probíhá za laboratorní teploty, což využíváme například u látek s vysokou teplotou varu nebo termicky nestabilních látek. ⁽²¹⁾

3.2.1. Chromatografie

Chromatografie je metoda selektivního dělení složek směsi. Metoda je založená na odlišných vlastnostech jednotlivých složek směsi vzhledem ke dvěma nemísitelným fázím. Mezi odlišné vlastnosti řadíme rozpustnost, absorpci, velikost částic, chemickou afinitu a další.

Jak už bylo řečeno, jsou v chromatografii používány dvě nemísitelné fáze. Jedna fáze je nepohyblivá, tzv. stacionární. ⁽²²⁾ Jako stacionární fáze se používají různé absorbenty (například silikagel (obr. 64), oxid hlinitý - alumina (obr. 65), aktivní uhlí (obr. 66)), dále pak iontoměničce nebo kapaliny zakotvené na vhodném pórovitém nosiči. ⁽²¹⁾ Druhá fáze je pohyblivá, tzn. mobilní fáze. Mobilní fáze může být rozpouštědlo, směs rozpouštědel nebo nosný plyn. Mobilní fáze se pohybuje podél stacionární fáze a způsobuje oddělení složek směsi. ⁽²²⁾



Obr. 64 - Silikagel



Obr. 65 - Alumina



Obr. 66 - Aktivní uhlí

Chromatografie se dělí podle více kategorií. Nejčastější dělení je podle dělicího principu. Dle tohoto dělení rozeznáváme chromatografii:

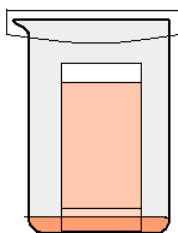
- a) Rozdělovací – složky směsi jsou děleny na základě rozdílných rozdělovacích koeficientů při rozdělování mezi kapalnou stacionární a kapalnou mobilní fází
- b) Adsorpční – složky směsi jsou děleny na základě rozdílné adsorpce na povrch stacionární fáze

- c) Gelově permeační – složky směsi jsou děleny podle rozdílných velikostí molekul při průchodu porézní stacionární fází
- d) Afinitní – složky směsi jsou děleny podle rozdílných schopností výměny iontů mezi ionexem a kapalinou (je-li pevnou fází anex, vyměňují se anionty, je-li pevnou fází katex, vyměňují se kationty)

Existuje několik druhů chromatografie. Mezi druhy řadíme tenkovrstvou chromatografii, sloupcovou chromatografii, plynovou chromatografii a kapalinovou chromatografii. ⁽²¹⁾

3.2.1.1. Tenkovrstvá chromatografie

Tenkovrstvá chromatografie (TLC, obr. 67) je separační chromatografická metoda, která se v chemické laboratoři velmi často užívá. Její hlavní výhodou je nízká cena, jednoduchost provedení a velká rychlost a účinnost dělení. Můžeme ji využít na ověření identity a čistoty látek a určení složení směsi. ⁽²¹⁾



Obr. 67 - TLC chromatografie

Stacionární fáze TLC jsou tenké TLC chromatografické desky. TLC chromatografická deska je složena z podložní desky, na kterou je nanesená tenká vrstva sorbentu a pojiva. Podložní desky se vyrábějí ze skla, hliníku nebo plastu. Jako sorbent se používá oxid křemičitý, oxid hlinitý nebo celulóza a jako pojivo je používána sádra nebo škrob. ⁽²¹⁾

Mobilní fáze v TLC jsou organická rozpouštědla nebo jejich směsi. Složení mobilní fáze je u každého experimentu jiné, proto je nutno ho před daným experimentem zjistit. Ideální složení mobilní fáze je takové, kdy dochází k optimálnímu dělení směsi. Obecné pravidlo pro složení mobilní fáze pro silikagel nebo aluminy říká, že pohyb pomalu unášených látek se urychlí přidáním polárnějšího rozpouštědla do mobilní fáze a naopak. Adsopční schopnost organických látek na povrch silikagelu roste takto:

nasyčené uhlovodíky < *nenasyčené uhlovodíky* < *aromatické uhlovodíky*
 < *uhlovodíky s více atomy halogenů* < *ethery* < *estery*
 < *aldehydy a ketony* < *alkoholy a fenoly* < *kyseliny a aminy*

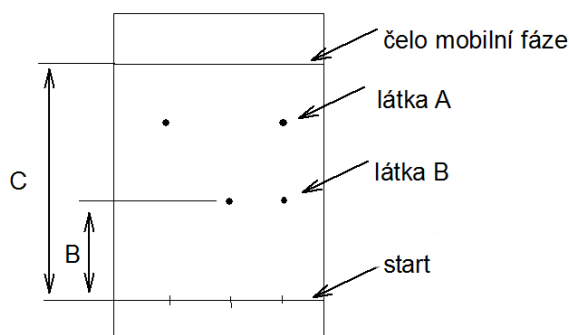
Po provedení TLC lze na chromatogramu detekovat barevné skvrny přímo, ale bezbarvé látky je potřeba nejprve vizualizovat. Jedním z možných způsobů je vystavit destičku parám jodu nebo naimpregnovat destičku vhodným zvýrazňovačem. Nejpoužívanější činidla pro vizualizaci látek jsou vanilin, manganistan draselný, ninhydrin a chlorid železitý. Dalším způsobem vizualizace je vystavení TLC destičky ultrafialovému záření vhodné vlnové délky, např. $\lambda = 366 \text{ nm}$. Tímto vybudíme fluorescenci mnoha látek a látky lze poté detekovat jako jasné skvrny. ⁽²¹⁾

Při vizualizaci označíme pozice skvrn tužkou a pro jednotlivé skvrny vypočítáme hodnotu retenčního faktoru R_f . Retenční faktor je poměr vzdálenosti středu skvrny

od startu a vzdálenosti čela mobilní fáze od startu. Pro látku B na obr. 68 je tedy retenční faktor vyjádřen takto:

$$R_f = \frac{B}{C}$$

Hodnota retenčního faktoru se musí tedy pohybovat v intervalu $\langle 0,1 \rangle$. ⁽²¹⁾



Obr. 68 - Vyhodnocení TLC destičky

Hodnoty retenčního faktoru jsou závislé na povaze látky, na mobilní a stacionární fázi, způsobu vyvíjení a teplotě. Je tedy obtížné použít R_f k identifikaci látek. Toho lze využít pouze tehdy, když máme k dispozici standardy látek, které mohou být přítomny v analyzovaném vzorku. ⁽²¹⁾

3.3. Didaktické přístupy

Téma barviva je zařazeno jako jedno z témat vzdělávacího obsahu organické chemie v základním kurikulárním dokumentu RVP G. Vzdělávacími oblastmi, do kterých je možné zařadit téma barviv, jsou člověk a příroda, pod které je chemie

zařazena, a člověk a zdraví (výchova ke zdraví). Jedním z výstupů ze vzdělávací obsahu organické chemie je, že žák využívá znalosti základů kvalitativní a kvantitativní analýzy k pochopení jejich praktického významu v organické chemii. ⁽¹⁾

Didaktických přístupů a metod je několik, ale práce je zaměřena k novějším typům. Mezi ně patří metoda projektového vyučování a IBSE, neboli badatelsky orientovaná výuka.

3.3.1. Projektová výuka

Projektovou výuku lze použít jako didaktický přístup pedagoga k možnému vyučování jakéhokoliv předmětu na jakémkoli stupni školního systému. Projektové vyučování je vyučovací proces založený na řešení komplexních teoretických a praktických problémů na základě aktivní činnosti žáků. Může se jednat jak o aktivní činnost jednotlivců, tak i skupin. Žáci pracují společně na zadaném problému nebo skupině problémů. ⁽²⁴⁾

Při řešení úkolů žáci používají dostupné materiály, vědomosti a dovednosti. Učí se pracovat s informacemi z literatury, časopisů popřípadě internetu. Po vytvoření hypotézy si jí musí prověřit ve škole nebo v běžném životě. Nakonec dochází k prezentování vyvozených závěrů. Prezentace může mít několik forem. Může se jednat o časopis, odborný článek, nástěnku, výstavu či školní prezentaci. V závěru celé prezentace by neměla chybět diskuse, při které se žáci snaží obhajovat své výsledky a postupy při praktické části. ⁽²⁴⁾

Učitel se v tomto typu výuky stává spíše manažerem než vedoucím. Jeho úkolem je zajistit dostatečnou motivaci pro žáky, proč by daný problém měli začít řešit. Dále se stává koordinátorem celé výuky a měl by být schopen nabídnout žákům odborné i technické zázemí při realizaci řešení projektu. Nakonec při závěrečném hodnocení musí být objektivní při vyhodnocování práce celého týmu. ⁽²⁴⁾

3.3.2. IBSE = Badatelsky orientovaná výuka

Zkratka IBSE je z anglického originálu, který zní „Inquiry Based Science Education“. Do českého jazyka se nejčastěji překládá jako „badatelsky orientovaná výuka“. ⁽²⁵⁾ Badatelsky orientovaná výuka představuje komplexní výukový postup, ve kterém je nejdůležitější právě samostatné zkoumání žáků. Největší uplatnění nachází právě v přírodních vědách. ⁽²⁶⁾

Tento přístup vede žáky k formulování hypotéz, většímu zájmu o danou problematiku a navrhování řešení problému. Žáci by se měli naučit získávat potřebné informace, naučit se vysvětlovat poznatky, ke kterým dospěli a diskutovat závěry. Právě zaměření tohoto přístupu na samostatnou práci žáků dochází k jejich aktivnímu prohlubování znalostí a dovedností. Tento způsob výuky je velmi podobný tomu, jakým vědci provádějí své výzkumy. Způsob výuky lze znázornit různými podobami, ale nejčastější je tzv. 5Z cyklus, neboli pětietapový učební cyklus. ⁽²⁶⁾

První fází pro učitele je zapojení studenta do daného problému. Dokázat ho dostatečně motivovat k danému tématu. Druhou fází je zkoumání, při kterém dochází k počátečnímu bádání žáka. Žáci si nejprve nalézají samostatně informace o daném problému, zkoušejí přijít na prvotní hypotézy, jak daný problém vyřešit. Po vytvoření hypotézy dochází k samotné experimentální části. Další fází, tj. třetí, je zpracování experimentální části. Žáci se tedy snaží vyhodnotit získaná data. Každý žák si vytváří vlastní postup řešení, tj. musí také své vyhodnocené výsledky obhájit a prodiskutovat se svými spolužáky. Předposlední fází je zobecnění. V této fázi žáci utváří obecné principy na základě získaných poznatků za spolupráce učitele. V poslední fázi cyklu dochází k celkovému zhodnocení a shrnutí významných aspektů práce. ⁽²⁶⁾

4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

V této části práce jsou popsány přesné postupy experimentů, které byly provedeny v laboratoři KUDCh PřF UK. K provedení jednotlivých experimentů byly používány pomůcky, které patří ke klasickému vybavení chemické laboratoře (běžné laboratorní sklo, keramické nádobí a další) a navíc méně častou součástí školní chemické laboratoře (např. spektrofotometr, pomůcky pro TLC chromatografii).

Při experimentu s přírodními látkami bylo nutné využití spektrofotometru OCEAN Optics USB-2000 se zdrojem DT-MINI-2-GS.

Vodné roztoky byly proměřovány v oblasti vlnových délek od 250 nm do 820 nm za laboratorní teploty. Tenkovrstvá chromatografie byla prováděna s fólií silica gel 60 F₂₅₄ (MERC).

Použité chemikálie jsou destilovaná voda, 10% roztok hydroxidu sodného, 10% kyselina sírová a denaturový ethanol.

Mezi zkoumané vzorky potravin patří lentilky *Orion* – *bez umělých barviv*, lentilky *Orion* – *barveno přírodou*, oboje od výrobce *Nestlé*, dále lentilky *M&M's* od výrobce *Mars, Inc.* a ovocný čaj *Brusinky* (Zlatý šálek) obsahující ibišek.

Použité vzorky přírodních materiálů jsou sušené květy světlice barvířské (*Carthamus tinctoriu*, zakoupeno na středověkém tržišti ⁽²⁷⁾), žlutá vrchní vrstva slupky citrónu (plod *Citrus limon*), červená slupka ředkviček (*Raphanatus sativus*) a černá mrkev (*Daucus carota*).

Posledním použitým vzorkem byl doplněk stravy, který nelze zařadit ani do potravin, ani do přírodních materiálů, jsou tablety *Spiruliny* (zakoupeno v DM drogerii).

4.1. Barevná škála lentilek v závislosti na pH

Postup experimentu

V této kapitole je popsán postup experimentu, kde byly sledovány barevné změny vodných extraktů ze tří druhů lentilek obsahující různá barviva v závislosti na pH prostředí.

Pomůcky:

Kádinky, skleněné tyčinky, zkumavky, stojan na zkumavky, kapátka, vzorky lentilek (výrobce *Nestlé: Orion – bez umělých barviv* (obr. 69, 72); *Orion - barveno přírodou* (obr. 70, 73); *M&M's* výrobce *Mars Inc.* (obr. 71, 74))



Obr. 69 – obal lentilek *Orion* – bez umělých barviv



Obr. 70 – obal lentilek *Orion* – barveno přírodou



Obr. 71 – obal lentilek *M&M's* výrobce *Mars Inc.*



Obr. 72 – Lentilky *Orion* – bez umělých barviv



Obr. 73 – Lentilky *Orion* – barveno přírodou



Obr. 74 – Lentilky *M&M's* výrobce *Mars inc.*

Chemikálie:

Destilovaná voda, 10% roztok hydroxidu sodného, 10% kyselina sírová

Postup:

Od každé barvy lentilek výrobce *Nestlé Orion - bez umělých barviv* (obr. 72) bylo vybráno 15 ks. Barvy jednotlivých lentilek byly extrahovány 15 ml destilované vody za laboratorní teploty po dobu cca 1 minuty (pozn. extrahovat tak, aby na lentilce zůstala pouhým okem pozorovatelná bílá cukerná poleva). Následně byl vodný extrakt rozdělen do tří zkumavek. Jedna sada zkumavek byla ponechána jako srovnávací vzorek. Do druhé sady zkumavek bylo k vodným extraktům přidáno 10 kapek 10% roztoku hydroxidu sodného. Obsah zkumavek byl zamíchán a bylo pozorováno, zda dochází k barevné změně. Do poslední sady zkumavek bylo k vodným extraktům

přidáno 10 kapek 10% kyseliny sírové. Obsah zkumavek byl zamíchán. Poté bylo pozorováno, zda dochází k barevné změně vůči srovnávacímu vzorku. Postup byl zopakován i s lentilkami od výrobců *Nestlé Orion - barveno přírodou* (obr. 73) a *Mars, Inc.* (obr. 74), kde je pro lepší rozlišení barevných přechodů nutná rychlejší vodná extrakce barviv (příloha str. P4, obr. 88).

Pozorování:

Barevné změny v závislosti na pH prostředí pro barviva lentilek *Orion – bez umělých barviv* ve vodných extraktech (příloha str. P1, obr. 85) jsou znázorněny přehledně v tabulce 1.

Tab. č. 1 - Barevné změny barviv lentilek *Orion - bez umělých barviv* v závislosti na pH prostředí

Barva lentilek	Barva extraktu v kyselém prostředí	Barva vodného extraktu	Barva extraktu v zásaditém prostředí
Červená	Červená	Červená	Tmavohnědá
Modrá	Růžová	Modrá	Světle žlutá
Zelená	Zelená	Zelená	Tmavší zelená
Oranžová	Oranžová	Oranžová	Oranžová
Růžová	Růžová	Růžová	Fialová
Fialová	Červenorůžová	Fialová	Tmavočervená
Žlutá	Žlutá	Žlutá	Žlutá

Barevné změny v závislosti na pH prostředí pro barviva lentilek *Orion – barveno přírodou* ve vodných extraktech (příloha str. P2, obr. 86) jsou znázorněny přehledně v tabulce 2.

U fialové lentilky výrobce *Nestlé Orion – barveno přírodou* (obr. 86) byla pozorována změna barvy z fialové na modrou již ve vodném extraktu po čase přibližně 10 minut, kdy zkumavka za laboratorní teploty stála ve stojanu na zkumavky.

Tab. č. 2 - Barevné změny barviv lentilek *Orion* - barveno přírodou v závislosti na pH prostředí

Barva lentilek	Barva extraktu v kyselém prostředí	Barva vodného extraktu	Barva extraktu v zásaditém prostředí
Červená	Světle červená	Tmavě červená	Tmavě zelená
Modrá	Tyrkysově modrá	Modrá	Bezbarvá, nádech žluté
Zelená	Světle zelená	Tmavě zelená	Žlutá
Oranžová	Výrazná oranžová (oranžovorůžová)	Světle oranžová	Žlutá
Růžová	Výrazná růžová	Růžovofialová	Žlutá
Fialová	Fialovorůžová	Tmavě fialová (po 10 min modrá)	Žlutá
Žlutá	Žlutá	Žlutá	Výrazná žlutá (po čase oranžová)

Barevné změny v závislosti na pH prostředí pro barviva lentilek *M&M's* výrobce *Mars, Inc.* ve vodných extraktech (příloha str. P3,P4, obr. 87 a 88) jsou znázorněny přehledně v tabulce 3.

Tab. č. 3 - Barevné změny barviv lentilek *M&M's* v závislosti na pH prostředí

Barva lentilek	Barva extraktu v kyselém prostředí	Barva extraktu	Barva extraktu v zásaditém prostředí
Červená	Červená	Červená	Výrazná oranžová
Modrá	Tmavě zelenomodrá	Modrá	Modrá
Zelená	Světle zelená	Světle zelená	Tmavě zelená
Oranžová	Oranžová	Oranžová	Oranžová
Hnědá	Hnědá	Hnědá	Hnědá
Žlutá	Žlutá	Žlutá	Oranžová

Poznatky:

K barvení lentilek se používají extrakty obsahující anthokyany, které mění svou barvu v závislosti na pH prostředí (viz. kap. 3.1.1.2.1.1., str. 18). K barvení lentilek se používá též extrakt obsahující košenilu, která také mění svou barvu v závislosti na pH prostředí (viz. kap. 3.1.1.3.2.1., str. 23).

Jak už bylo zmiňováno v postupu, u lentilek *M&M's* od výrobce *Mars, Inc.* je pro lepší rozlišení barevných přechodů nutné vyvarovat se pomalejší extrakce. Při pomalejší vodné extrakci se do roztoku barviv vyplavuje zároveň i cukerná složka z polevy s titanovou bělobou a vzniká suspenze (příloha str. P3, obr. 87). Nejlepší je tedy využít rychlejší extrakce, kde mluvíme o extrakci trvající přibližně 30 sekund. (příloha str. P4, obr. 88).

Podle poznatků z teoretické části o barvivech, jak přírodních, tak syntetických a také v kombinaci s UV/VIS spektry vodných extraktů, můžeme určit, jaké barvivo resp. jaký přírodní koncentrát výrobci používají k obarvení jednotlivých lentilek.

Barviva u vzorku lentilek od výrobce *Nestlé Orion - bez umělých barviv* podle složení, které výrobce uvádí na obalu, jsou anthokyany (E163), směs karotenů (E160a), kurkumin (E100), košenila (E120), β -karoten a měďnaté komplexy chlorofylů a chlorofylinů (E141). ⁽³⁾ Pravděpodobná barviva, která výrobce používá k barvení lentilek pro získání 7 barev, jsou znázorněna přehledně v tabulce 4.

Tab. č. 4 - Barviva v lentilkách *Orion – bez umělých barviv*

Barva lentilky	Barvivo	Evidenční kód
Červená	Košenila	E120
Modrá	Neidentifikovaný anthokyan	E163
Zelená	Měďnaté komplexy chlorofylů a chlorofylinů	E141
Oranžová	Směs karotenů a β -karotenu	E160a
Růžová	Směs košenily a neidentifikovaný anthokyan	E120 + E163
Fialová	Směs košenily a neidentifikovaný anthokyan	E120 + E163
Žlutá	Kurkumin	E100

Barviva u vzorku lentilek od výrobce *Nestlé Orion - barveno přírodou* podle složení, které výrobce uvádí na obalu, jsou koncentrát světlíce barvířské, mrkve,

citrónu, ředkve a koncentrátu ze spiruliny. ⁽⁴⁾ Díky spolupráci s firmou *Nestlé* byla získána informace, že kromě těchto koncentrátů z rostlin je používán k barvení ještě koncentrát ibišku. Dále byl od výrobce upřesněn druh ředkve a to na *Raphanus sativus*. Informaci o použití černé mrkve byla získána z pořadu A DOST. ⁽²⁸⁾ Pravděpodobné přírodní koncentráty, které výrobce používá k barvení lentilek pro získání 7 barev, jsou uvedeny přehledně v tabulce 5.

Tab. č. 5 - Přírodní koncentráty v lentilkách *Orion* – barveno přírodou

Barva lentilky	Barvivo
Červená	Směs ibišku, ředkve a světlice barvířské
Modrá	Spirulina
Zelená	Směs spiruliny, citrónu a světlice barvířské
Oranžová	Směs ředkve a citrónu
Růžová	Ředkev
Fialová	Směs ředkve, spiruliny, černé mrkve
Žlutá	Směs citrónu a světlice barvířské

Barviva u vzorku lentilek *M&M's* od výrobce *Mars, Inc.* podle složení, které výrobce uvádí na obalu, jsou kurkumin (E100), košenila (E120), brilantní modř (E133), apokarotenal (E160e) a oxid titaničitý (E171). ⁽⁵⁾ Pravděpodobná barviva, která výrobce používá k barvení lentilek pro získání 6 barev, jsou znázorněny přehledně v tabulce 6.

Tab. č. 6 - Barviva v lentilkách *M&M's* od výrobce *Mars, Inc.*

Barva lentilky	Barvivo	Evidenční kód
Červená	Směs kurkuminu a košenily	E100 + E120
Modrá	Brilantní modř	E133
Zelená	Směs brilantní modři a kurkuminu	E133 + E100
Oranžová	Apokarotenal	E160e
Hnědá	Směs košenily, brilantní modři a kurkuminu	E120 + E133 + E100
Žlutá	Kurkumin	E100

Závěr:

Z barevných přechodů v závislosti na pH prostředí a znalostí z teorie o barvivech lze učinit závěr, jakými barvivy resp. jakými přírodními koncentráty výrobce barví lentilky. U některých barviv bylo nutné provést spektrofotometrii a za pomoci UV/VIS spekter vodných extraktů barviv lentilek, přírodních materiálů a spiruliny bylo teprve možné určit směs barviv použitých k nabarvení lentilek. Závěry z experimentu jsou shrnuty v tabulkách 4, 5 a 6.

4.2. Barevné změny přírodních extraktů v závislosti na pH

Postup experimentu

V této kapitole je popsán postup experimentu, kde byly sledovány barevné změny vodných extraktů z rostlin a ze spiruliny a také namíchaných směsí extraktů. Dále byla naměřena UV/VIS spektra vodných extraktů obsahující barviva z lentilek *Orion* – *barveno přírodou* a přírodních extraktů z rostlin a spiruliny.

Pomůcky:

Kádinky, skleněné tyčinky, zkumavky, stojan na zkumavky, kapátka, vzorky přírodních látek (1 sáček ovocného čaje s ibiškem (obr. 75), slupky ze 3 ředkviček (obr. 76), 5 sušených květů světlice barvířské (obr. 77), tableta spiruliny (obr. 78), vrchní žlutá část slupky 1 citronu (obr. 79), vrchní fialová část černé mrkve (obr. 80))



Obr. 75 - Ovocný čaj s ibiškem



Obr. 76 - Ředkev



Obr. 77 - Světlice barvířská - sušená



Obr. 78 - Tabletky spiruliny



Obr. 79 - Citrón



Obr. 80 - Černá mrkev

Chemikálie:

Destilovaná voda, 10% roztok hydroxidu sodného, 10% kyselina sírová

Postup:

Z rostlinných materiálů byla použita k experimentu pouze ta část, která obsahuje barviva – červená slupka ze tří červených ředkviček, vrchní žlutá část citronové kůry z jednoho citrónu a 1 cm plátek z černé (purpurové) mrkve. Každá přírodní látka byla rozdrčena v třecí misce s tloučkem společně se lžičkou písku. Barviva byla extrahována z přírodního materiálu 30 ml destilované vody za laboratorní teploty po dobu cca 5 minut. Následně byla směs přefiltrována přes filtrační papír do kádinky. Z vodného extraktu bylo odebráno po 5 ml do tří zkumavek. Jedna sada zkumavek byla ponechána jako srovnávací vzorek. Do druhé sady zkumavek bylo k vodným extraktům přidáno 10 kapek 10% roztoku hydroxidu sodného. Obsah zkumavek byl zamíchán a bylo pozorováno, zda dochází k barevné změně (příloha str. P5, obr. 89). Do poslední sady zkumavek bylo k vodným extraktům přidáno 10 kapek 10% kyseliny sírové. Obsah zkumavek byl zamíchán. Poté bylo pozorováno, zda dochází k barevné změně vůči srovnávacímu vzorku (příloha str. P5, obr. 89). Protože některé lentilky *Orion – barveno přírodou* nejsou barveny pouze jedním rostlinným extraktem, ale směsmi, byly připravovány směsi různých rostlinných extraktů a vyzkoušeny změny jejich barev v závislosti na pH prostředí a byly porovnávány s chováním a barevnými změnami vodných extraktů lentilek *Orion – barveno přírodou*. Směsi byly míchány i na základě UV/VIS spekter, které byly naměřeny pro všechny rostlinné extrakty, extrakt ze spiruliny a pro jednotlivé vodné extrakty z lentilek *Orion – barveno přírodou*.

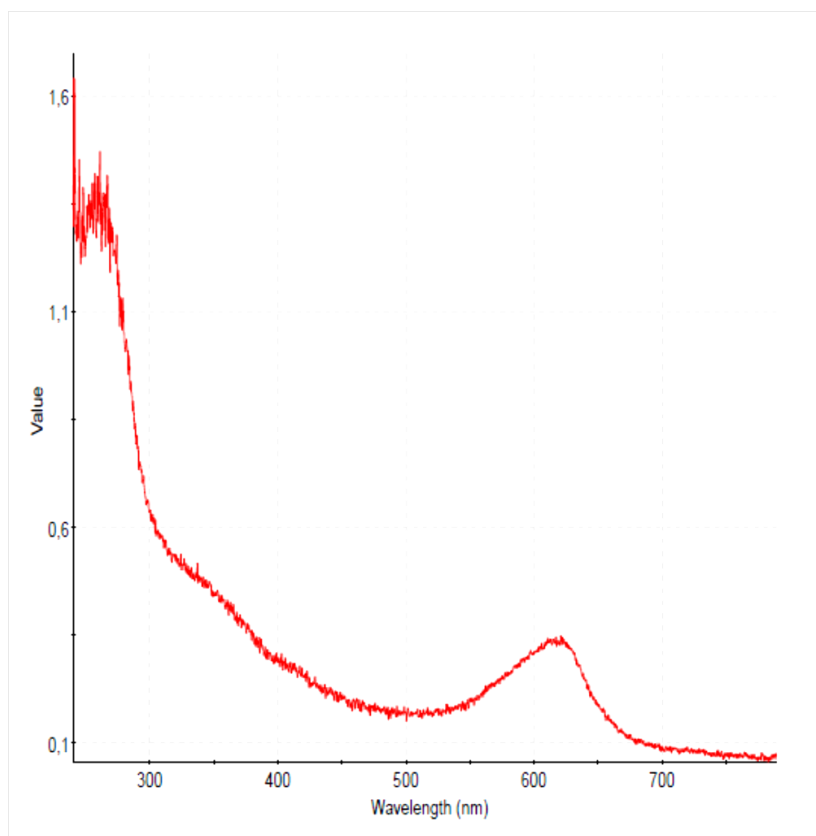
Pozorování:

Barevné změny v závislosti na pH pro vodné extrakty z přírodních materiálů jsou znázorněny přehledně v tabulce 7.

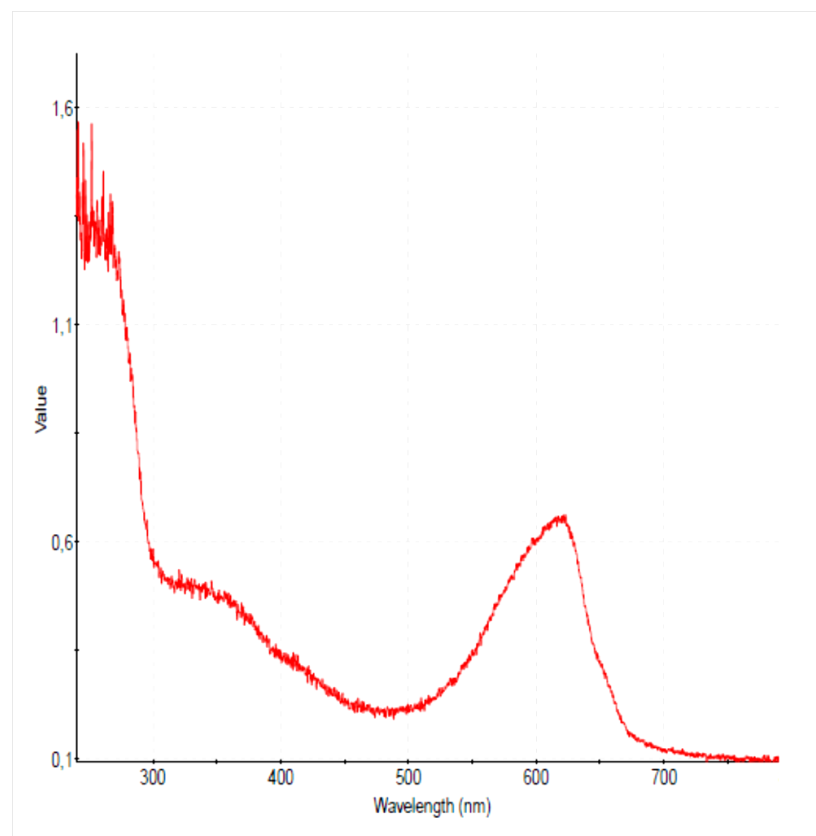
Tab. č. 7 - Barevné změny přírodních extraktů

Přírodní extrakt	Barva extraktu v kyselém prostředí	Barva extraktu	Barva extraktu v zásaditém prostředí
Ředkve	Oranžová	Světle růžovofialová	Žlutá
Ibišku	Červená	Červená	Tmavě zelená
Citrónu	Světle žlutá	Žlutá	Výrazná žlutá
Spiruliny	Světle modrá	Tmavě modrá	Bezbarvá, nádech žluté
Světlice barvířská	Žlutá	Žlutá	Tmavě červená
Černá mrkev	Červená	Fialově hnědá	Zelenožlutá

UV/VIS spektra pro všechny přírodní extrakty a pro jednotlivé lentilky jsou obsaženy v přílohách str. P6 – P12 (obr. 91 – 102), zde je pro příklad uvedeno UV/VIS spektrum pro modrou lentilku *Orion – barveno přírodou* a pro extrakt ze spiruliny. Ze spektra (obr. 81) je vidět, že extrakt ze spiruliny absorbuje světlo kolem vlnové délky 600 nm. Porovnáním spektra modré lentilky (obr. 82) se spektrem extraktu (obr. 81) je vidět, že barvivo v modré lentilce absorbuje světlo při vlnové délce kolem 600 nm jako extrakt ze spiruliny.



Obr. 81 - UV/VIS spektrum extraktu ze spiruliny



Obr. 82 - UV/VIS spektrum modré lentilky

Můžeme tedy říci, že modrá lentilka *Orion – barveno přírodou* je barvena extraktem ze spiruliny (navíc tato informace je potvrzena i výrobcem). Tímto způsobem, tj. porovnáváním spekter, byly zjištěny dané směsi používané k barvení lentilek *Orion – barveno přírodou* (v kombinaci s barevnými změnami vodných extraktů v závislosti na pH, příloha str. P2, obr. 86) jsou uvedeny v tabulce 8.

Barevné změny v závislosti na pH pro směsi extraktů z přírodních materiálů (příloha str. P6, obr. 90) jsou znázorněny v tabulce 8.

Tab. č. 8 - Barevné změny směsí přírodních extraktů

Směs přírodních extraktů	Barva směsi v kyselém prostředí	Barva směsi v neutrálním prostředí	Barva směsi v zásaditém prostředí
Směs ředkve, citrónu, světlice barvířské	Červená	Oranžová	Žlutozelená
Směs spiruliny, citrónu, světlice barvířské	Světle zelená	Tmavě zelená	Žlutá
Směs ředkve, spiruliny, černé mrkve	Červená	Světle fialová	Žlutá

Poznatky:

Porovnáním barevných změn získaných extraktů z přírodních materiálů, spiruliny a z lentilek *Orion – barveno přírodou* z předchozího pokusu můžeme určit, jakými rostlinnými koncentráty jsou barveny lentilky *Orion – barveno přírodou*. U některých, nejčastěji směsí, je ale potřeba využít UV/VIS spektra, aby došlo k pravděpodobnému určení použitých směsí koncentrátů. UV/VIS spektra vodných extraktů rostlin a lentilek *Orion – barveno přírodou* jsou uvedeny v přílohách str. P7 – P12 (obr. 92 – 102).

Závěr:

Tab. č. 9 - Použití přírodních materiálů pro barvení lentilek *Orion* – *barveno přírodou*

Barva lentilky	Barvivo z přírodních materiálů
Červená	Směs ibišku, ředkve a světlice barvířské
Modrá	Spirulina
Zelená	Směs spiruliny, citrónu a světlice barvířské
Oranžová	Směs ředkve, citrónu a světlice barvířské
Růžová	Ředkev
Fialová	Směs ředkve, spiruliny, černé mrkve
Žlutá	Citrón

4.3. Chromatografické rozdělení barviv ze zelené lentilky M&M's

Postup experimentu

V této kapitole je popsán postup experimentu, který navazuje na dříve popsany (převzato ⁽²⁾) experiment s červenou lentilkou *Orion* – *bez umělých barviv*. S novou lentilkou již tento experiment bohužel nefunguje, a proto bylo nutné najít nové řešení.

Pomůcky:

Kádinka, skleněné tyčinky, TLC destičky, vyvíjecí komora s víčkem, kapiláry, 5 ks zelených lentilek *M&M's* od výrobce *Mars, Inc.*

Chemikálie:

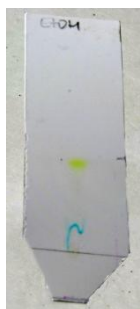
Denaturovaný ethanol, destilovaná voda

Postup:

Na experiment bylo použito 5 ks zelených lentilek *M&M's* od výrobce *Mars, Inc.*. Barvivo z lentilek bylo extrahováno 2 ml destilované vody za laboratorní teploty po dobu cca 30 sekund (Pozn. extrahovat tak, aby na lentilce zůstala pouhým okem pozorovatelná bílá cukerná poleva). Poté byly připraveny dvě TLC destičky tak, aby se vešly do vyvíjecí komory s víčkem. Následně byly připraveny mobilní fáze do obou vyvíjecích lahvíček s víčky. Do první bylo nalito cca 5 ml denaturovaného ethanolu. Do druhé bylo nalito cca 6 ml směsi denaturovaného ethanolu s destilovanou vodou v poměru 1 : 5 (*EtOH*: *H₂O*). Následně byly nanášeny vzorky vodného extraktu ze zelené lentilky *M&M's* kapilárou na TLC destičky. Při nanášení vzorků bylo dbáno na dokonalé vysušení nanášené kapky. Až po dokonalém zaschnutí byla nanášena další

kapka extraktu a opět vysušena. Opakujeme celkem cca 10krát. Poté byly TLC destičky přemístěny do vyvíjecích komor. Když při chromatografii dojde k úplnému oddělení složek barev (obr. 83 a 84), můžeme chromatografii ukončit a označit si čelo mobilní fáze. Po uschnutí destiček byly spočítány retenční faktory jednotlivých složek.

Pozorování:



Obr. 83 - TLC destička pro mobilní fázi-
denaturovaný ethanol



Obr. 84 - TLC destička pro mobilní fázi- směs
denaturovaného ethanolu a destilované
vody v poměru 1:5

Při použití obou mobilních fází se nanesený zelený vodný extrakt rozdělil na dvě složky, žlutou a modrou.

Na obr. 83 je vidět, že žlutá složka zelené lentičky se vymývá jako první při použití mobilní fáze denaturovaný ethanol.

Na obr. 84 je naopak vidět, že modrá složka zelené lentičky se vymývá jako první při použití směsi denaturovaného ethanolu a destilované vody v poměru 1:5 jako mobilní fáze.

Poznatky:

Při tenkovrstvé chromatografii se zelená barva lentilek dělí na dvě složky, modrou a žlutou. Volbou mobilní fáze ovlivníme, která složka se vymývá jako první. Pokud použijeme méně polární rozpouštědlo (než je voda) - ethanol, pak víme, že žlutá složka zelené lentičky se vyplaví jako první. Po nějaké době se vymývá ze startu i modrá složka zelené lentičky. Při použití mobilní fáze s destilovanou vodou dochází k vymývání složek v opačném pořadí.

Z obou obrázků je tedy patrné, že nejen při tenkovrstvé chromatografii vždy záleží na použité mobilní fázi. Čím polárnější mobilní fáze, tím také bude doba vyvíjení delší. Retenční faktory pro obě složky zelené lentičky v rozdílných mobilních fázích se nachází v následující tabulce č. 10.

Tabulka č. 10 - Retenční faktory TLC chromatografie

Mobilní fáze	Denaturovaný ethanol		Směs (denat. EtOH : H ₂ O= 1:5)	
	Výpočet	Výsledek	Výpočet	Výsledek
Modrá složka	$R_f = \frac{0,6}{2,1}$	$R_f = 0,29$	$R_f = \frac{1,7}{2,1}$	$R_f = 0,81$
Žlutá složka	$R_f = \frac{1,9}{2,1}$	$R_f = 0,90$	$R_f = \frac{0,1}{2,1}$	$R_f = 0,05$

Závěr:

Zelená barva lentilek *M&M's* od výrobce *Mars, Inc.* se skládá z modré a žluté složky. Modré barvivo, které výrobci používají, je brilantní modř. V případě brilantní modři se jedná o sole dobře rozpustné ve vodě. Žluté barvivo, které výrobci používají, je kurkumin. V případě kurkumínu lze soudit o horší rozpustnosti ve vodě. Retenční faktor látek při chromatografii vždy záleží na volbě stacionární a mobilní fáze.

5. PRACOVNÍ LISTY

Tato kapitola obsahuje připravené pracovní listy pro studenty na téma barviv a jejich závislosti na pH prostředí a též na chromatografické rozdělení barviv zelené lentilky. Vedle pracovních listů je uvedeno i řešení pro pedagogy. Tyto pracovní listy jsou vhodné k použití na klasickou laboratorní práci. Při řešení je však nutná spolupráce jednotlivých skupin žáků.

Pro řešení úloh je nutné, aby učitel žákům poskytl v předcházející vyučovací hodině studijní text, který by si žáci přečetli. A při vlastní vyučovací hodině (resp. hodinách) na téma Barviva se v něm orientovali a vyhledávali informace, které je navedenou k řešení úloh. Studijním textem je v této práci teoretická část (kapitola 3.) na téma barviv uvedená na str. 11.

5.1. Pracovní list pro studenty

Barviva a jejich závislost na pH prostředí

Zadání:

Po prostudování studijního textu o barvivech rozhodněte, jaká barviva jsou použita k obarvení lentilek.

Chemikálie:

- Destilovaná voda
- 10% roztok hydroxidu sodného
- 10% kyseliny sírové
- Vodné extrakty z vrchní žluté části slupky 1 citrónu, 5 ks sušených květů světlice barvířské, z vrchní fialové části slupky černé mrkve, spiruliny, slupek 3ks ředkviček, 1 sáčku ovocného čaje s ibiškem

Pomůcky:

- 2 kádinky
- Zkumavky
- kapátka
- stojan na zkumavky
- skleněné tyčinky
- 2 barvy lentilek po 15 ks lentilek (celkem 30ks lentilek) výrobce *Nestlé Orion* – barveno přírodou nebo *M&M's* výrobce *Mars, Inc.*

Postup:

Barvu z 15 ks lentilek extrahujte 15 ml destilované vody za laboratorní teploty po dobu cca 1 minuty. Poté vodný extrakt rozdělte do 3 zkumavek. Jednu sadu zkumavek si ponechte jako srovnávací vzorek. Do druhé sady zkumavek přidejte 10 kapek 10% kyseliny sírové a důkladně zkumavky promíchejte. Do poslední sady zkumavek přidejte k vodnému extraktu 10 kapek 10% roztoku hydroxidu sodného. Obsah zkumavek opět důkladně promíchejte. Pozorujte, zda dochází k barevným změnám oproti srovnávacím vzorkům. K dispozici máte připravené extrakty z přírodních materiálů, popř. si je připravte sami. Použijte je k experimentování, abyste mohli vytvořit závěry.

Pozorování:

Do následující tabulky si запиšte nebo jinak vyznačte barvy, které jste vypožorovali z experimentu. Do posledního sloupce tabulky запиšte, o jaké barvivo se podle teorie a vašich experimentálních výsledků jedná ve vašich zadaných barvách lentilek. Další lentilky a barevné změny jejich vodných roztoků v závislosti na pH prostředí si doplňte po diskuzi se spolužáky.

<i>Lentilka</i>	<i>Kyselé prostředí</i>	<i>Vodný extrakt</i>	<i>Zásadité prostředí</i>	<i>Barvivo</i>

Úkoly:

1. U barviv, které jste určili u lentilek, vyhledejte do jaké skupiny barviv patří.
2. Zakresli základní strukturu daných barviv a kde se vyskytují?

<i>Název barviva</i>	<i>Nakreslená struktura barviva</i>	<i>Skupina barviva</i>

5.2. Řešení pracovního listu pro pedagogy

Barviva a jejich závislost na pH prostředí (Řešení)

Chemikálie:

Destilovaná voda, 10% roztok hydroxidu sodného, 10% kyselina sírová, vodné extrakty z vrchní žluté části slupky 1 citronu, 5 ks sušených květů světlíce barviřské, z vrchní fialové části slupky černé mrkve, spiruliny, slupek 3ks ředkviček, 1 sáček ovocného čaje s ibiškem.

Pomůcky:

2 kádinky, zkumavky, stojan na zkumavky, skleněné tyčinky, 15 ks lentilek od jedné barvy (celkem 30 ks) výrobce *Nestlé Orion – barveno přírodou* nebo *M&M's* výrobce *Mars, Inc.*

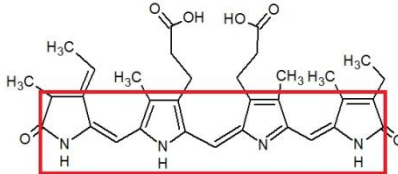
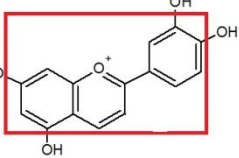
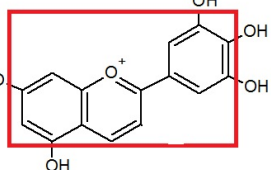
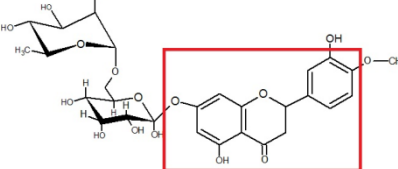
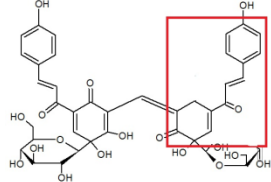
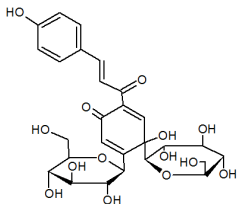
Postup:

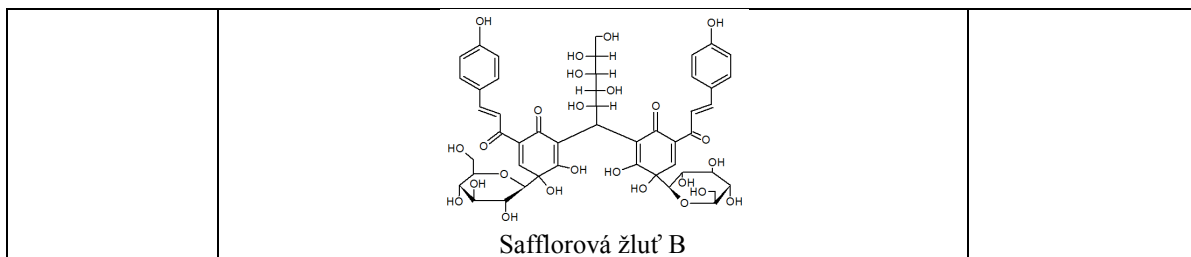
Od obou barev lentilek vyberte 15 kusů. Barvu z 15 lentilek extrahujte 15 ml destilované vody za laboratorní teploty po dobu cca 1 minuty (***pozn. extrahujte tak, aby na lentilce zůstala pouhým okem pozorovatelná bílá cukerná vrstva***). Poté vodný extrakt rozdělte do 3 zkumavek. Jednu sadu zkumavek si ponechte jako srovnávací vzorek. Do druhé sady zkumavek přidejte 10 kapek 10% kyseliny sírové a důkladně zkumavky promíchejte. Do poslední sady zkumavek přidejte k vodnému extraktu 10 kapek 10% roztoku hydroxidu sodného. Obsah zkumavek opět důkladně

promíchejte. Nakonec již pozorujte, zda dochází k barevným změnám oproti srovnávacímu vzorku.

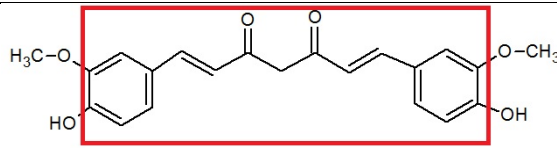
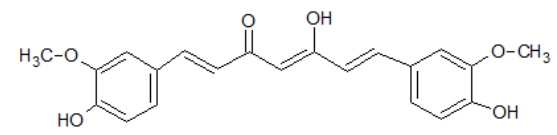
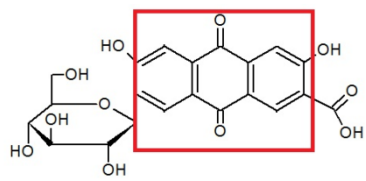
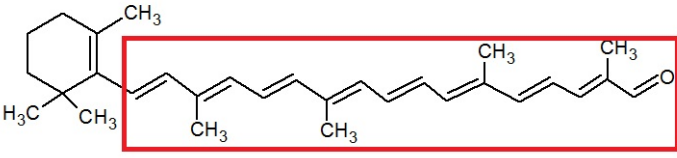
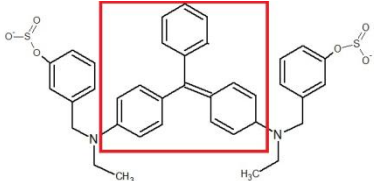
Pozorování:

Správné řešení pro lentilky Orion – barveno přírodou:

Název barviva	Nakreslená struktura barviva, popř. chromofor barviva	Skupina barviva
Fykokyanin		Tetrapyrroly
Kyanidin		Anthokyany
Delfinidin		Anthokyany
Hesperidin		Flavanony
Karthamin	 <p style="text-align: center;">Karthamin</p>  <p style="text-align: center;">Safflorová žlutá A</p>	Chalkony



Správné řešení pro lentilky M&M's :

Název barviva	Nakreslená struktura barviva, popř. chromofor barviva	Skupina barviv
Kurkumin	 <p>Keto forma</p>  <p>Enol forma</p>	Kurkuminoidy (chinoidní barviva)
Košenila		Anthrachinony (chinoidní barviva)
Apo-karotenal		Karotenoidy
Brilantní modř		Syntetické barvivo

Řešení:

<i>Orion- barveno přírodou</i>		<i>M&M's, výrobce Mars, Inc.</i>	
Barva lentilky	Barvivo	Barva lentilky	Barvivo
Červená	Směs ibišku, ředkve a světlíce barvířské	Červená	Směs košenily a kurkuminu
Modrá	Spirulina	Modrá	Brilantní modř
Zelená	Směs spiruliny, světlíce barvířské a citrónu	Zelená	Směs brilantní modři a kurkuminu
Oranžová	Směs ředkve, citrónu a světlíce barvířské	Oranžová	Apokarotenal
Růžová	Ředkev	Hnědá	Směs karmínu, kurkuminu, brilantní modři
Fialová	Směs ředkve, spiruliny, černé mrkve	Žlutá	Kurkumin
Žlutá	Citrón		

5.3. Metodika pro učitele

Téma barviv je jedním z přímo zmiňovaných obsahů učiva organické chemie v RVP G. ⁽¹⁾ Učitelé by ho měli zařazovat do své výuky. Jak pojmout výuku barviv jinak než klasickou frontální metodou výkladu je použití navržených experimentů ve výuce. Předpokladem je, že studenti mají znalosti systematické části organické chemie a znají pojmy keto/enol tautomerie a základní organické názvosloví.

V klasické laboratorní práci musí učitel nejprve uvést motivačně téma barviv a použití lentilek. Minimálně týden před laboratorní prací dá učitel žákům k pročtení studijní text o barvivech. Při tom rozdělí studenty do 2-4 členných skupinek. Před laboratorním cvičením učitel rozdá žákům pracovní list, který průběžně během laboratorní práce žáci vyplňují. Každá skupinka dostane k experimentu 2 barvy lentilek, dle zvážení učitele, ale tak, aby byly zastoupeny všechny barvy lentilek *Orion – barveno přírodou* a *M&M's výrobce Mars, Inc.* Každá skupinka dostane jeden přírodní materiál, ze kterého žáci připraví vodný extrakt ve větším množství a podělí se o něj s ostatními skupinkami. Učitel nechá žáky experimentovat a dbá na dodržování bezpečnosti práce. Vede také žáky ke spolupráci skupin- podělení se o výsledky

s ostatními skupinami. Navede žáky ke změření UV/VIS spekter. Pokud učitel nemá k dispozici spektrofotometr, dá žákům již naměřená spektra. Učitel společně se žáky projde závěr experimentu. Upozorní žáky na barevné části molekul – chromofory.

Pro projektovou výuku :

POZOR ! Je důležité, aby všech 15 ks lentilek bylo od stejného výrobce se stejným složením. Mohou dostat jak jednu barvu lentilek od výrobce *Mars, Inc.* a jednu barvu lentilek od výrobce *Nestlé*. V obchodech se mohou ještě zřídka kdy objevovat starší lentilky (*Orion - bez umělých barviv*, až do října 2015) ⁽²⁸⁾ s jiným složením, než jsou ty nové (*Orion - barveno přírodou*). Také je možné upravit počet lentilek, poté se musí ale upravit i množství destilované vody, kterou extrahujete. Důležité je, aby byla patrná barva vodného extraktu a také byly patrné barevné změny v závislosti na pH prostředí. Téma barviva, může být tématem pro projektovou výuku či mohou být vhodným námětem pro badatelsky orientovanou výuku. Učitel navede žáky na lentilky a jejich různorodé zbarvení. Žáci po přečtení studijního textu ve skupinkách řeší, jak odhalit výrobcem použitá barviva v jednotlivých lentilkách.

5.4. Pracovní list pro studenty 1

Barviva a TLC chromatografie

Zadání:

Pomocí TLC chromatografie urči, z jakých barviv je namíchána směs pro barvení zelené lentilky *M&M's*.

Chemikálie:

- destilovaná voda
- denaturovaný ethanol

Pomůcky:

- kádinka
- skleněné tyčinky
- TLC destička
- vyvíjecí komora s víčkem
- kapiláry
- 5 ks zelených lentilek *M&M's*

Postup:

Vzorek 5 ks zelených lentilek dejte do kádinky a extrahujte 5 ml destilované vody za laboratorní teploty po dobu cca 1 minuty. Připravte TLC destičku tak, aby se vešla do vyvíjecí komory s víčkem. Připravte si mobilní fázi. Mobilní fází je 6 ml denaturovaného ethanolu. Mobilní fázi nalijte do vyvíjecí komory a uzavřete ji víčkem. Následně si připravte ostříhnutou TLC destičku a naneste na její start váš vzorek vodného extraktu zelené lentilky. Vždy po jednom nanesení počkejte pár sekund, aby došlo k zaschnutí kapky, a můžete nanášet další kapku. Opakujte alespoň 5krát. Poté TLC destičku přeneste do vyvíjecí komory a uzavřete ji víčkem. Pozorujte průběh chromatografie, a když je čelo rozpouštědla dostatečně vysoko, vyndejte TLC destičku. Obyčejnou tužkou si označte čelo rozpouštědla. Určete retenční faktory jednotlivých složek. Po diskuzi se spolužáky si poznamenejte retenční faktory složek při použití druhé mobilní fáze.

Pozorování:

Do následující tabulky si запиšte, jaké složky má zelená barva lentilky. Dále u nich určete retenční faktory v obou mobilních fázích. Nakonec pod tabulku načrtněte, jak vypadala vaše TLC destička, a jak jste měřili hodnoty pro retenční faktory.

Mobilní fáze				
Složky ↓	Výpočet	Výsledek	Výpočet	Výsledek

Úkoly:

1. Z jakého materiálu jsou vyrobeny TLC destičky?
2. Nakresli strukturní vzorce barviv, které se používají k barvení zelené lentilky.
3. Jak ovlivní složení mobilní fáze průběh experimentu?

5.5. Pracovní list pro studenty 2**Barviva a TLC chromatografie****Zadání:**

Pomocí TLC chromatografie urči, z jakých barviv je namíchána směs pro barvení zelené lentilky *M&M's*.

Chemikálie:

- destilovaná voda
- denaturovaný ethanol

Pomůcky:

- kádinka
- skleněné tyčinky
- TLC destička
- vyvíjecí komora s víčkem
- kapiláry
- 5 ks zelených lentilek *M&M's*

Postup:

Vzorek 5 ks zelených lentilek dejte do kádinky a extrahujte 5 ml destilované vody za laboratorní teploty po dobu cca. 1 minuty. Připravte TLC destičku tak, aby se vešla do vyvíjecí komory s víčkem. Připravte si mobilní fázi. Mobilní fázi je 6 ml směsi denaturovaného ethanolu s destilovanou vodou v poměru 1:5. Mobilní fázi nalijte do vyvíjecí komory a uzavřete ji víčkem. Následně si připravte ostříhnutou TLC destičku a naneste na její start váš vzorek vodného extraktu zelené lentilky. Vždy po jednom nanesení počkejte pár sekund, aby došlo k zaschnutí kapky, a můžete nanášet další kapku. Opakujte alespoň 5krát. Poté TLC destičku přeneste do vyvíjecí komory a uzavřete ji víčkem. Pozorujte průběh chromatografie, a když je čelo rozpouštědla dostatečně vysoko, vyndejte TLC destičku. Obyčejnou tužkou si označte čelo rozpouštědla. Určete retenční faktory jednotlivých složek. Po diskuzi se spolužáky si poznamenejte retenční faktory složek při použití druhé mobilní fáze.

Pozorování:

Do následující tabulky si запиšte, jaké složky má zelená barva lentilky. Dále u nich určete retenční faktory v obou mobilních fázích. Nakonec pod tabulku načrtněte, jak vypadala vaše TLC destička, a jak jste měřili hodnoty pro retenční faktory.

Mobilní fáze				
Složky ↓	Výpočet	Výsledek	Výpočet	Výsledek

Úkoly:

1. Z jakého materiálu jsou vyrobeny TLC destičky?
2. Nakresli strukturní vzorce barviv, které se používají k barvení zelené lentilky.
3. Jak ovlivní složení mobilní fáze průběh experimentu?

5.6. Řešení pracovních listů pro pedagogy

Barviva a TLC chromatografie (1,2)

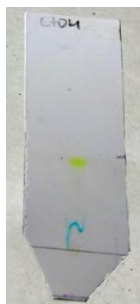
Chemikálie:

Destilovaná voda, denaturovaný ethanol

Pomůcky:

Kádinka, skleněné tyčinky, TLC destička, vyvíjecí komora s víčkem, kapiláry, 5ks zelených lentilek *M&M's*

Řešení:



Obr. 83 - TLC destička pro mobilní fázi - denaturovaný ethanol



Obr. 84 - TLC destička pro mobilní fázi - směs denaturovaného ethanolu a destilované vody v poměru 1:5

Při použití obou mobilních fází se nanesený zelený vodný extrakt rozdělil na dvě složky, žlutou a modrou.

Na obr. 83 je vidět, že žlutá složka zelené lentilky se vymývá jako první při použití mobilní fáze denaturovaný ethanol.

Na obr. 84 je naopak vidět, že modrá složka zelené lentilky se vymývá jako první při použití směsi denaturovaného ethanolu a destilované vody v poměru 1:5 jako mobilní fázi

Tedy pokud použijeme polární rozpouštědlo, pak víme, že žlutá složka zelené lentilky se vyplaví jako první. Po nějaké době se ustálí i modrá složka zelené lentilky.

Zde je vidět, že je důležité používat správné mobilní fáze při TLC chromatografii. Denaturovaný ethanol je polární rozpouštědlo, ale destilovaná voda je více polárnější rozpouštědlo. Při větším zastoupení destilované vody v mobilní fázi

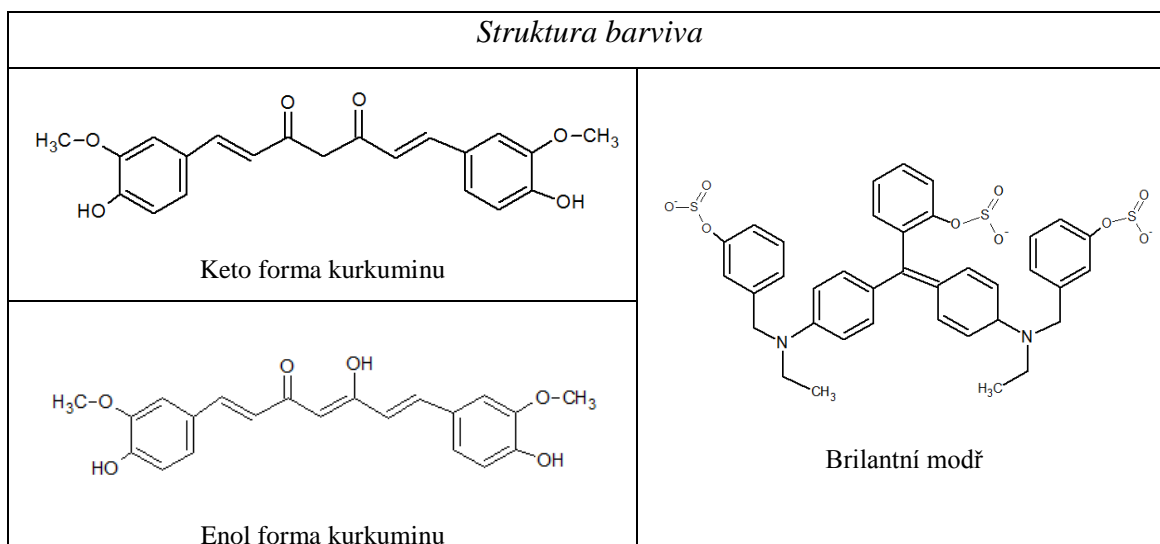
dochází k odlišnému vymývání složek. Tedy druhotně dochází k vymývání žluté složky lentilky.

Z obou obrázků je tedy patrné, že nejen při tenkovrstvé chromatografii vždy záleží na použití mobilní fáze. Čím více polární mobilní fáze, tím také bude doba vyvíjení delší. Retenční faktory pro obě složky zelené lentilky v rozdílných mobilních fázích se nachází v následující tabulce 10.

Mobilní fáze	Denaturovaný ethanol		Směs (denat. EtOH : H ₂ O= 1:5)	
	Výpočet	Výsledek	Výpočet	Výsledek
Modrá složka	$R_f = \frac{0,6}{2,1}$	$R_f = 0,29$	$R_f = \frac{1,7}{2,1}$	$R_f = 0,81$
Žlutá složka	$R_f = \frac{1,9}{2,1}$	$R_f = 0,90$	$R_f = \frac{0,1}{2,1}$	$R_f = 0,05$

Závěr:

Zelená barva lentilek *M&M's* od výrobce *Mars, Inc.* se skládá z modré a žluté složky. Žluté barvivo, které výrobci používají, je kurkumín. V případě kurkumínu lze soudit o horší rozpustnosti ve vodě. Modré barvivo, které výrobci používají, je brilantní modř. V případě brilantní modři se jedná o sole dobře rozpustné ve vodě. Retenční faktor látek při chromatografii vždy záleží na volbě stacionární a mobilní fáze.



5.7. Metodika pro učitele

Pracovní list na téma barviv je použitelný ve výuce organické chemie z důvodu toho, že toto téma je zařazeno i v RVP G, podle kterých by každý učitel měl vyučovat. Tento experiment lze zařadit i při výuce dělicích metod. Tento experiment lze využít jako ukázkou faktu, že při TLC chromatografii velmi záleží na složení mobilní fáze.

Je velmi důležité, aby si pedagog dával pozor na složení barviv. V tomto složení barviv, které obsahují *M&M's* lentilky experiment funguje.

Všechny typy barviv, které se objevují v barevné krustě zelené lentilky *M&M's*, jsou ve stručnosti popsána v teoretické části bakalářské práce. V podkapitole 5.4 a 5.5. (str. 90 - 93) jsou vytvořené dva pracovní listy pro žáky. Každý je odlišný svým složením mobilní fáze.

Experiment a též vypracované pracovní listy umožňují využít skupinové práce ve třídě. Žáky rozdělíme do několika skupin, které mají za úkol zpracovat jeden z vybraných pracovních listů. Po laboratorní práci je prostor pro diskusi žáků koordinovanou učitelem.

5.8. Metodické pokyny pro badatelsky orientovanou výuku

Nejdůležitější částí badatelsky orientované výuky je samostatná práce žáků. Učitel je jen průvodce.

První experiment (barviva a jejich závislost na pH prostředí) se skvěle nabízí k využití tohoto přístupu. Žáci dostanou dopředu k dispozici studijní text o barvivech. Ze studijního textu by si měli vybrat jen informace, které si myslí, že jsou důležité pro samotnou laboratorní činnost. S těmito informacemi jdou do laboratoře a mají vymyšlený svůj postup práce. Pedagog poskytne vzorky lentilek a rostlinný materiál. Žáci si musí poradit s postupem práce, jak z daných vzorků dostat extrakty barviv. Pro konečné určení barviv v jednotlivých barevných vrstvách lentilek je nutné využít UV/VIS spekter. Pokud škola má vlastní spektrofotometr, studenti mají další práci si naměřit vlastní UV/VIS spektra. Když škola nevlastní spektrofotometr, pedagog poskytne UV/VIS spektra, aby žáci byli schopni určit barviva na lentilkách.

Druhý experiment (chromatografické rozdělení zelené lentilky *M&M's*) je již náročnější na využití tohoto přístupu. Jedná se jak o náročnost hledání správné mobilní fáze, tak o časovou náročnost. Jediným možným způsobem, jak tento

experiment využít, je dát žákům složení mobilní fáze, ale nechat je samostatně přijít na to, jestli existuje nějaká závislost na mobilní fázi pro TLC chromatografii.

6. DISKUSE

V této části práce se nachází okomentovaná fakta, zjištění, zkušenosti a problémy, které v průběhu práce nastaly.

6.1. Diskuse k teoretické části

Teoretická část je shrnutí teorie o barvivech z odborné literatury a článků. Součástí teoretické části jsou i barviva, která jsou obsažena ve starších lentilkách *Orion – bez umělých barviv* z důvodu toho, aby pedagog mohl při výuce, popř. laboratorní práci, využít všechny struktury chromoforu, který látkám dává onu barvu. Pedagog může teoretickou část využít jako studijní text pro žáky. Cílem nemá být to, aby se žáci naučili vše, co studijní text obsahuje, ale aby je jeho přečtení navedlo. Žáci by si měli ze studijního textu odnést pouze, jaké různé typy barev podle chemické struktury mohou existovat.

Dále je zde stručně popsána tenkovrstvá chromatografie, také jsou zde zmíněny didaktické přístupy a postavení tématu v základním kurikulárním dokumentu.

6.2. Diskuse k experimentální části

Každá experimentální činnost je spojena jak s úspěchy tak i neúspěchy. Tato situace se bohužel nevyhnula ani experimentální části této bakalářské práce. Z počátku bylo spousta nápadů na další experimenty, které byly zkoušeny, některé i vícekrát, ale bez úspěchu a tak nápady zůstaly jen nápady.

Nakonec se experimentální část, a tedy i celá bakalářská práce, soustředila na barviva používaná k barvení lentilek. Téma barviva je přímo zmiňováno v RVP G a tudíž je na školách vyučováno. Spojení tohoto tématu s experimentální výukou také naplňuje cíle zmiňované v RVP G. Jedním z očekávaných výstupů žáka v organické chemii je, že žák využívá znalosti základů kvalitativní a kvantitativní analýzy k pochopení jejich praktického významu v organické chemii.

Při výuce předmětu Přírodní látky v experimentech v zimním semestru školního roku 2014/2015 na KUDCh PřF UK v Praze bylo zjištěno, že nevychází experiment s červenou lentilkou výrobce *Nestlé Orion – barveno přírodou* „TLC chromatografie barviv z červené lentilky“ popsaný v diplomové práci Michaly Polívkové. ⁽²⁾ Tento problém byl prvním impulzem, proč začít pracovat s barvivy lentilek a přijít na důvod, proč pokus nefunguje.

Postupem času bylo zjištěno, že firma *Nestlé*, změnila složení barviv používaných k barvení této čokoládové cukrovinky a název změnila z *Orion – bez umělých barviv* na *Orion – barveno přírodou*. Nové lentilky jsou na trhu od října 2014. ⁽²⁸⁾ Protože lentilky mají trvanlivost cca rok, vyskytla se jedinečná situace, kdy jsou na trhu oba druhy lentilek, a to porovnat experimentálně oba druhy lentilek, resp. jejich barviva. Na těchto barvivech se ovšem nepodařilo provést experiment ukazující závislost retenčního faktoru látek na použité mobilní fázi ⁽²⁾, proto byly k experimentům ještě použity lentilky *M&M's* výrobce *Mars, Inc.* Jako vhodná směs pro zmiňovaný experiment se ukázala směs barviv používaných k obarvení zelené lentilky.

Barevné změny vodných extraktů barviv lentilek v závislosti na pH prostředí nebyla laboratorně těžká práce, naopak v teoretické rovině to byl trochu oříšek. K dispozici byly, jak je zmiňováno dříve, tři různá složení barviv lentilek.

Se staršími lentilkami *Orion – bez umělých barviv* reakce proběhly a na základě složení z obalu lentilek byly stanoveny i pravděpodobná používaná barviva či jejich směsi k získání jednotlivých barev lentilek. Jediným drobným problémem je, že na základě barevných změn ani z uvedeného složení výrobku není možné identifikovat konkrétní druh anthokyanu.

S novými lentilkami *Orion – barveno přírodou* reakce proběhly a u nich začaly být problémy s určením složek jednotlivých barev lentilek. Na obalu lentilek nebyly přímo napsány barviva, která výrobce používá, ale rostlinné koncentráty a koncentrát ze spiruliny. ⁽⁴⁾ Na obalu jsou uvedeny tyto rostlinné koncentráty – světlice barvířská, ředkev, citrón, mrkev a koncentrát spiruliny. Nejprve musela být nalezena barviva, která se v těchto rostlinných materiálech a spirulině nacházejí. Informace o těchto barvivech a jejich vlastnostech včetně chování v závislosti na pH je popsána v teoretické části práce. Tímto způsobem bylo zjištěno barvivo používané pouze pro žlutou lentilku.

Bohužel pro zbývající barvy nezbývalo nic jiného, než sehnat rostlinné materiály a spirulinu a na vodných extraktech provést další pokus s barevnými změnami v závislosti na pH prostředí. Z experimentálních výsledků začaly být pochybnosti o uvedeném složení na obale výrobku. Například u červené lentilky, která v zásaditém prostředí přecházela do zelené barvy, podle teorie nemohlo být červené barvivo karthamin ani žádné jiné.

Nakonec byl napsán e-mail do firmy *Nestlé* s žádostí o upřesnění, jakými koncentráty barví červenou a modrou lentilku a zda by mohli upřesnit druh používané

ředkve. Za několik dní přišla vstřícná odpověď s tím, že červená lentilka je barvena směsí ředkve, světlice barvířské a ibišku. Byla upřesněná ředkev na *Raphanus sativus*. Podezření, že složení na obalu není přesné, se potvrdilo. Důležitým aspektem byl právě koncentrát z ibišku, který vysvětlil zabarvení vodného extraktu z červené lentilky v zásaditém prostředí na zelený roztok. Z pozorování barevných změn bylo odhaleno, a potvrdilo i informaci od výrobce, že modrá lentilka je barvena modrým barvivem získávaným ze spiruliny (vodný extrakt). Růžová lentilka je barvena koncentrátem z ředkve. Nakonec bylo usouzeno, že ostatní barvy na lentilky mohou být směsí ze zmíněných rostlinných koncentrátů.

K odhalení, o jaké směsi se jedná, bylo nutné použít spektrofotometrii. Byla naměřena UV/VIS spektra jednotlivých nových lentilek, vodných extraktů z rostlinných materiálů a tablety spiruliny. Porovnáním získaných spekter bylo odhaleno pravděpodobné složení použitých směsí, směsi byly namíchány a také byla změřena jejich UV/VIS spektra. Podařilo se odhalit pravděpodobné složení, jaké koncentráty a jaké směsi koncentrátů jsou používány výrobcem k obarvení lentilek sedmi různými výslednými barvami.

S lentilkami *M&M's* na základě složení z obalu lentilek a výsledků experimentů s různým pH prostředím nebyl problém stanovit pravděpodobná barviva v jednotlivých barvách lentilek. V tomto i předcházejícím případě je používáno slovo pravděpodobné či pravděpodobně a to z důvodu, že výsledná tvrzení nejsou potvrzena výrobcem, ale na druhou stranu je všechny experimentální výsledky potvrzují.

Při přípravě rostlinných extraktů se až na jednu výjimku nevyskytl žádný problém. Jediná komplikace je s extrakcí modrého barviva ze spiruliny. Tableta byla rozmělněna v třecí misce s tloučkem a barvivo bylo extrahováno vodou za laboratorní teploty. Nicméně byla nutná filtrace, která kvůli velmi drobným částicám byla problematická. Nejrychlejší způsob je přes skládaný filtr, ale i přesto je rychlost filtrace velmi pomalá. Tady bych doporučila si extrakt začít připravovat den předem a filtrovat přes noc. Obecně platí, že extrakty se nedají uchovat delší dobu z důvodu, že po několika dnech z důvodu přítomnosti cukrů a dalších látek snadno plesniví.

Jak je zmíněno již na začátku této kapitoly, prvním impulsem k těmto experimentům byl nezdařený experiment s TLC chromatografickým rozdělením barev pro červenou lentilku. Postupným bádáním byl získán i zde výsledek. Místo červené lentilky lze použít zelenou lentilku *M&M's*. Výsledky TLC chromatografie velmi záleží na složení mobilní fáze. Další překážkou v bádání bylo tedy nalézt tu správnou dvojici

mobilních fází pro rozdělení zelené lentilky. Při této práci byla nutná velká trpělivost a pevná vůle. Po několika nezdařilých pokusech o vytvoření správné dvojice mobilní fáze byla nalezena první mobilní fáze ethanol a jako druhá směs destilované vody a ethanolu v poměru 1:5.

Jak je vidět z postupů experimentů jedná se o vesměs materiálově i časově nenáročné experimenty. Jediným problémem může být absence spektrofotometru na školách a nemožnost změřit UV/VIS spektra. Toto mohou učitelé vyřešit tak, že použijí ve výuce spektra neměřená v rámci této bakalářské práce. Popřípadě by studenti neodhalili kompletní složení směsí, což by cílům výuky tématu barviv také nevadilo. Myslím, že by nebyla odhalena především přítomnost koncentráту světlice barvířské. Všechny pomůcky jsou levné a snadno sehnatelné. Černá, resp. purpurová mrkev, se dá koupit např. v Kunratické stodole (K Libuši 1197, Praha 4 – Kunratice) a pokud nebude k dispozici rostlina světlice barvířská, tak se dá objednat ze středověkého tržiště na webových stránkách.⁽²⁷⁾

6.3. Diskuse k pracovním listům

Hlavním tématem bakalářské práce je experimentální výuka v organické chemii se zaměřením na vzdělávání. Proto mimo návrhů postupů nových experimentů bylo smyslem vytvořit pro pedagogy zpracované pracovní listy na laboratorní cvičení.

Všechny pracovní listy pro experimenty, lze využít při normální laboratorní práci. Další možností, která se naskytá, je využití experimentů různými didaktickými přístupy. V dnešní době se nejvíce hovoří o projektové výuce a badatelsky orientované výuce.

V obou případech se jedná o stejný cíl, aby si žáci na postup a závěry experimentů přišli sami. Pedagog studentům nejprve poskytne studijní text o barvivech. Na další hodině pedagog předloží studentům úkol, aby přišli na barviva, která se používají k barvení daných lentilek. Díky znalostem z teorie o barvivech a složení barviv používaných výrobcem k barvení a jejich vlastnímu logickému myšlení se pokusí úkol vyřešit. Během celého experimentu je pedagog veden jako průvodce, popř. pomocná osoba. Student se pokusí přijít na vlastní postup experimentu, který následovně provede a udělá závěry experimentu. Po samostatné práci žáka přichází na řadu práce skupinová, kdy žáci si sdělují své závěry o barvivech a zapisují si je do připravených tabulek. Na závěr opět přichází řada na pedagoga, který díky

předchozímu experimentu, který si studenti vyzkoušeli sami, se vrátí ke strukturám jednotlivých barviv a upozorní na důležité struktury chromoforů.

Pro projektovou výuku i pro metodu IBSE je užitečné využít lentilky *Orion – barveno přírodou* díky jejich složení. Tyto lentilky jsou barvené přírodními látkami, které může pedagog sehnat a žáci si připraví svoje vodné extrakty, se kterými budou moci posuzovat vodné extrakty lentilek v závislosti na pH prostředí. (Místo citrónu lze použít i sušenou citronovou kůru, ale zde je pak potřeba delší čas extrakce barviva do destilované vody). Pro některé lentilky je těžké určit, čím jsou barveny jen z barevných přechodů. Doporučuji tedy využití i UV/VIS spekter. Pokud škola vlastní svůj spektrofotometr, tak si žáci daná spektra sami naměří. Pokud ale škola nemá vlastní spektrofotometr, tak pedagog žákům daná spektra poskytne z příloh této bakalářské práce (příloha str. P6 – P12, obr. 91 – 102)

7. ZÁVĚR

Předem dané cíle bakalářské práce byly splněny.

- ✓ Byl sepsán studijní text o barvivech a metodách použitých při experimentech.
- ✓ Byly navrženy celkem 3 pokusy, které se všechny týkají lentilek a jejich barviv.
- ✓ Byly experimentálně ověřeny navržené experimenty.
- ✓ Byly vytvořeny pracovní listy na laboratorní práce.
- ✓ Bylo provedeno zařazení experimentů do výuky chemie na SŠ

Věřím, že tato bakalářská práce je přínosem k výuce organické chemie na středních školách. Přiblíží chemické podstaty reakcí pomocí všední věci a to pomocí lentilek. Téma barviv bylo dlouhou dobu nevděčné téma pro vyučování na škole. Při nových zábavných experimentech ve správném podání učitelem, by žáky chemie barviv mohla velmi bavit.

8. LITERATURA

1. www.msmt.cz - RVP G [online]. Praha [cit. 2015-05-31]. Dostupné z URL: <www.msmt.cz/file/10427_1_1/>
2. POLÍVKOVÁ, M. *Chemické experimenty pro SŠ – chromatografie s přírodními látkami*. Praha, 2010. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra učitelství a didaktiky chemie.
3. <http://nestle-catalogue.lion.cz> – *Lentilky Orion – bez umělých barviv* [online]. Praha [cit. 2015-05-31]. Dostupné z URL: < <http://nestle-catalogue.lion.cz/Publiccatalog.aspx?template=basic&lang=cs-cz&cat=5a15b977-297f-4590-b56d-cae2f6296f2b&prodid=197>>
4. <http://www.orioncokolada.cz> – *Lentilky Orion – barveno přírodou* [online]. Praha [cit. 2015-05-31]. Dostupné z URL: < <http://www.orioncokolada.cz/vyrobky/lentilky>>
5. <https://www.rohlik.cz> – *Lentilky M&M's* [online]. Praha [cit. 2015-05-31]. Dostupné z URL: < <https://www.rohlik.cz/719765-m-ms-cokoladove-draze-45g>>
6. <http://www.ceff.info> – *Seznam éček* [online]. Praha [cit. 2015-05-31]. Dostupné z URL: < <http://www.ceff.info/seznam-ecek.html>>
7. ČOPÍKOVÁ, J., UHER, M., LAPČÍK, O., MORAVCOVÁ, J., DRAŠAR, P.: Přírodní barevné látky. In: *Chemické listy*. 2005, roč. 99, s. 802 – 816
8. VALTEROVÁ, I.: *Přírodní barviva* [online prezentace]. Praha: Přírodovědecká fakulta, UK, [cit. 2015-02-20]. Dostupné z URL: < <http://www.uochb.cz/web/structure/951.html?lang=cz>>
9. TREJBALOVÁ, I.: *Přírodní a syntetická potravinářská barviva a pigmenty* [online prezentace]. Praha : Přírodovědecká fakulta, UK, [cit. 2015-02-20]. Dostupné z URL: < <https://web.natur.cuni.cz/~kudch/main/JPD3/navody2007/5prezentacepigmenty.pdf>>
10. VELÍŠEK, J., HAJŠLOVÁ, J.: *Chemie potravin II.*. 3.vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 644s. ISBN 978-80-86659-16-9.
11. DAVÍDEK, J., JANÍČEK, G., POKORNÝ, J.: *Chemie potravin*. 1.vyd. Praha: SNTL, 1983, 632s.

12. *Cs.wikipedia.org – Hesperidin* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001, [cit. 2015-03-10]. Dostupné z URL:
< <http://cs.wikipedia.org/wiki/Hesperidin>>
13. DOLEŽAL, M.: *Senzoricky aktivní látky - Barevné látky* [online prezentace]. Praha: Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT, [cit. 2015-03-15]. Dostupné z URL: < <http://web.vscht.cz/~dolezala/CHPP/11%20Senzoricky%20aktivn%C3%AD%201%20C3%A1tky%20barevn%C3%A9.pdf>>
14. *Pl.wikipedia.org – β -apo-8'-karotenal* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001, [cit. 2015-02-24]. Dostupné z URL:
< <http://pl.wikipedia.org/wiki/%CE%92-Apo-8%E2%80%B2-karotenal>>
15. *Zakaznikum.cz - β -apo-8'-karotenal* [online]. Ústí nad Labem: Imedium s.r.o. , 2012, [cit. 2015-02-24]. Dostupné z URL:
< <http://www.zakaznikum.cz/clanek/beta-apo-8-karotenal-e-160e/75>>
16. *Ecka.pedie.cz – Oxid titaničitý* [online]. [cit. 2015-03-29]. Dostupné z URL:
< [http://eckapedia.cz/wiki/E171_\(Oxid_titani%C4%8Dit%C3%BD\)](http://eckapedia.cz/wiki/E171_(Oxid_titani%C4%8Dit%C3%BD))>
17. VYMĚTALOVÁ, P. „Tmavá barviva nevhodná pro děti“. In: *Vasedeti.cz – Tmavá barviva nevhodná pro děti* [online]. © 2004-2015. [cit. 2015-03-25]. Dostupné z URL: < <http://www.vasedeti.cz/tipy-a-rady/pro-bezpeci-vasich-deti/tmava-barviva-nevhodna-pro-deti/>>
18. PECHOVÁ, E.: *Umělá barviva v potravinách* [online prezentace]. České Budějovice: Zdravotně sociální fakulta, JU, [cit. 2015-03-20]. Dostupné z URL:
< <http://www.toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=283>>
19. VRBOVÁ, T. „Syntetická barviva v potravinách“. In: *ordinace.cz – Syntetická barviva v potravinách* [online]. Copyright Pears Health Cyber, s.r.o., 2015, [cit. 2015-03-20]. Dostupné z URL:
< <http://www.ordinace.cz/clanek/synteticka-barviva-v-potravinach/>>
20. *Zakaznikum.cz – Brilantní modř* [online]. Ústí nad Labem: Imedium s.r.o. , 2012, [cit. 2015-02-24]. Dostupné z URL:
< <http://www.zakaznikum.cz/clanek/brilantni-modr-fcf-e-133/37>>
21. PŘÍHODA, J., ČERNÍK, M., JANKŮ, S., LITERÁK, J.: *Laboratorní technika*. 1.vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2012. ISBN 978-80-210-5820-0
22. VACÍK, J. a kolektiv: *Přehled středoškolské chemie*. 4.vyd. Praha: SPN, 1999. ISBN 80-7235-108-7

23. *Cs.wikipedia.org – Spirulina* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001, [cit. 2015-05-15]. Dostupné z URL: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Spirulina>>
24. ŠULCOVÁ, R., PISKOVÁ, D.: *Přírodovědné projekty pro gymnázia a střední školy*. 1.vyd. Praha: Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, 2008, ISBN 978-80-86561-66-0
25. ČTRNÁCTOVÁ, H., CÍDLOVÁ, H., TRNOVÁ, E., BAYEROVÁ, A., KUBĚNOVÁ, G.: Úroveň vybraných chemických dovedností žáků základních škol a gymnázií. In: *Chemické listy*. 2013, roč. 107, s. 897-905
26. PETRILÁKOVÁ, M., ZÁMEČNÍKOVÁ, V.: Výuka chemie pomocí badatelsky orientovaného vyučování. In: *Výzkum, teorie a praxe v didaktice chemie/ přírodovědné a technologické vzdělávání pro XXI. století*. Hradec Králové: Univerzita Hradec Králové, Přírodovědecká fakulta, 2014.
27. *www.lh-shop.cz – Středověké tržiště* [online].[cit. 2015-05-31]. Dostupné z URL: <http://www.lh-shop.cz/index.php?option=com_virtuemart&page=shop.browse&category_id=404&Itemid=5&lang=cs>
28. *https://www.stream.cz – A DOST* [online]. Praha [cit. 2015-05-31]. Dostupné z URL: <<https://www.stream.cz/adost/10005547-lentilky-nahled>>

9. ZDROJE OBRÁZKŮ

Obr. 1 – <http://www.biolib.cz/cz/image/id11763/> [cit. 2015-04-20]

Obr. 2 - <http://opravdova-skola.webnode.cz/news/tohoto-broucka-ji-nekteri-lide-v-jogurtech-susenkach-i-bonbonech-dobrou-chut-zdroj-od-matvlad-v-mailu/> [cit. 2015-04-09]

Obr. 3 – <http://www.biolib.cz/cz/image/id10195/> [cit. 2015-04-20]

Obr. 4- http://ona.idnes.cz/henna-umeni-orientu-04s-/modni-trendy.aspx?c=A090921_195306_faiyo_ves [cit. 2015-04-20]

Obr. 5 – <http://botany.cz/cs/indigofera-heterantha/> [cit. 2015-04-20]

Obr. 6 -

http://www.botanickafotogalerie.cz/fotogalerie.php?lng=cz&latName=Carthamus%20tinctorius&czName=sv%C4%9Btlice%20barv%C3%AD%C5%99sk%C3%A1&title=Carthamus%20tinctorius%20%7C%20sv%C4%9Btlice%20barv%C3%AD%C5%99sk%C3%A1&showPhoto_variant=photo_description&show_sp_descr=true&spec_syntax=species&sortby=lat [cit. 2015-04-08]

Obr. 10 – převzato POLÍVKOVÁ, M.: Chemické experimenty pro SŠ – chromatografie s přírodními látkami. Praha, 2010. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra učitelství a didaktiky chemie.

Obr. 11 - převzato POLÍVKOVÁ, M.: Chemické experimenty pro SŠ – chromatografie s přírodními látkami. Praha, 2010. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra učitelství a didaktiky chemie.

Obr. 18 -

<http://wiki.rvp.cz/index.php?title=Kabinet/Obrázky/P%C5%99%C3%ADroda/Kv%C4%9Btiny/Chrupa> [cit. 2015-04-08]

Obr. 19 - <http://www.zahradnictvi-lejdar.cz/detail.php?id=37&p=3> [cit. 2015-04-08]

Obr. 20 - <http://www.magazinzahrada.cz/atlas-rostlin/kvetiny/pivonka.html> [cit. 2015-04-08]

Obr. 23 - <http://www.receptyonline.cz/ostruziny--1230.html> [cit. 2015-04-08]

Obr. 24 – <http://www.labuznik.cz/ingredience/brusinky/> [cit. 2015-04-08]

Obr. 25 – <http://www.celysvet.cz/recepty-potraviny-lilek-kalorie-slozeni-nutricni-hodnoty> [cit. 2015-04-08]





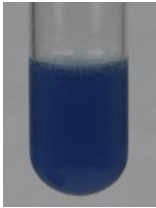
















Obr. 26 - <http://www.zijemenaplno.cz/Clanky/a450-Redkvicky-vyzenou-plisen-z-tela.aspx> [cit. 2015-04-08]

- Obr. 29** - <http://www.umelekvetiny.net/stromy/213-citrusovnik-180-cm-umly-strom.html> [cit. 2015-04-08]
- Obr. 30** - <http://en.wikipedia.org/wiki/Grapefruit> [cit. 2015-04-08]
- Obr. 32** - <http://www.bylinky-medy.cz/www-lecivebyliny-cz/eshop/9-1-Vyrobky-od-firmy-Gresik/66-2-Caje-v-nalevovych-saccich/5/233-Mata-peprna-bylinny-caj-porcovany-20-x-1-5g-Gresik> [cit. 2015-04-08]
- Obr. 37** - <http://leccos.com/index.php/clanky/kurkumovnik> [cit. 2015-04-09]
- Obr. 44** - <http://www.receptyonline.cz/kukurice-cukrova--1162.html> [cit. 2015-04-11]
- Obr. 45** – <http://www.batlicka.cz/batlicka/3-Nase-vitaminy-pro-Vase-zdravi/5-Paprika> [cit. 2015-04-11]
- Obr. 46** - <http://histaminovakasulka.com/2013/07/28/merunka-plna-antioxidantu/> [cit. 2015-04-11]
- Obr. 50** - <http://www.ovocedoskol.szif.cz/web/Default.aspx?id=40&ovoce=all> [cit. 2015-04-11]
- Obr. 51** – <http://magazin.dobracec.cz/nejbohatsi-zdroj-vitaminu-c-sipek-obecny> [cit. 2015-04-11]
- Obr. 52** - http://www.jaknadnu.cz/?attachment_id=48 [cit. 2015-04-11]
- Obr. 53** – <http://21stoleti.cz/2005/05/07/jak-se-priroda-barvi/> [cit. 2015-04-11]
- Obr. 54** – <http://www.zahradnictvifous.cz/zahradnictvi-fous.php?s=chryzantemy> [cit. 2015-04-11]
- Obr. 55** – <http://www.biolib.cz/cz/image/id116413/> [cit. 2015-04-11]
- Obr. 56** – <http://www.srecepty.cz/ingredience/humr> [cit. 2015-04-11]
- Obr. 57** – <http://www.ahaonline.cz/clanek/trapasy/25498/zvireci-gurmani-nejmlsnejsi-jazyk-sveta-meri-30-cm.html> [cit. 2015-04-11]
- Obr. 60** – http://www.lineanivnice.cz/cz/detail/kiwi_sirup_Hello_PET_700ml.aspx [cit. 2015-04-11]
- Obr. 61** - <http://www.zon.cz/index.php?nid=8232&lid=cs&oid=1569409> [cit. 2015-04-11]
- Obr. 62** – <http://cs.wikipedia.org/wiki/Ilmenit> [cit. 2015-04-11]
- Obr. 63** - <http://www.akcniceny.cz/detail/tang-broskev-pomeranc-citron-254639/> [cit. 2015-04-11]
- Obr. 64** - <http://www.silikagel.de/> [cit. 2015-04-20]
- Obr. 65** - <http://aceprecisionceramics.co.uk/alumina-components-uk/> [cit. 2015-04-20]






















Obr. 66 - http://cs.wikipedia.org/wiki/Aktivn%C3%AD_uhl%C3%AD [cit. 2015-04-20]

Obr. 79- <http://www.srecepty.cz/ingredience/citron> [cit. 2015-04-20]
















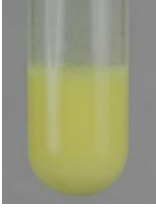


10. PŘÍLOHY

Různé zbarvení po přidání 10% NaOH a 10% H ₂ SO ₄			
Barva lentilek	Kyselé prostředí	Extrakt	Zásadité Prostředí
Červená			
Modrá			
Zelená			
Oranžová			
Růžová			
Fialová			
Žlutá			



















Obr. 85 - Různé zbarvení pro lentilky *Orion* – bez umělých barviv

Různé zbarvení po přidání 10% NaOH a 10% H ₂ SO ₄			
Barva lentilek	Kyselé prostředí	Extrakt	Zásadité Prostředí
Červená			
Modrá			
Zelená			
Oranžová			
Růžová			
Fialová			
Žlutá			



















Obr. 86 - Různé zbarvení pro lentilky Orion- barveno přírodou

Různé zbarvení po přidání 10% NaOH a 10% H ₂ SO ₄			
Barva lentilek	Kyselé prostředí	Extrakt	Zásadité prostředí
Červená			
Modrá			
Zelená			
Oranžová			
Hnědá			
Žlutá			



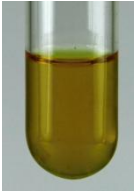






Obr. 87 - Různé zbarvení pro lentilky *M&M's* od výrobce *Mars, Inc.* (pomalá extrakce)

Různé zbarvení po přidání 10% NaOH a 10% H ₂ SO ₄			
Barva lentilek	Kyselé prostředí	Extrakt	Zásadité prostředí
Červená			
Modrá			
Zelená			
Oranžová			
Hnědá			
Žlutá			

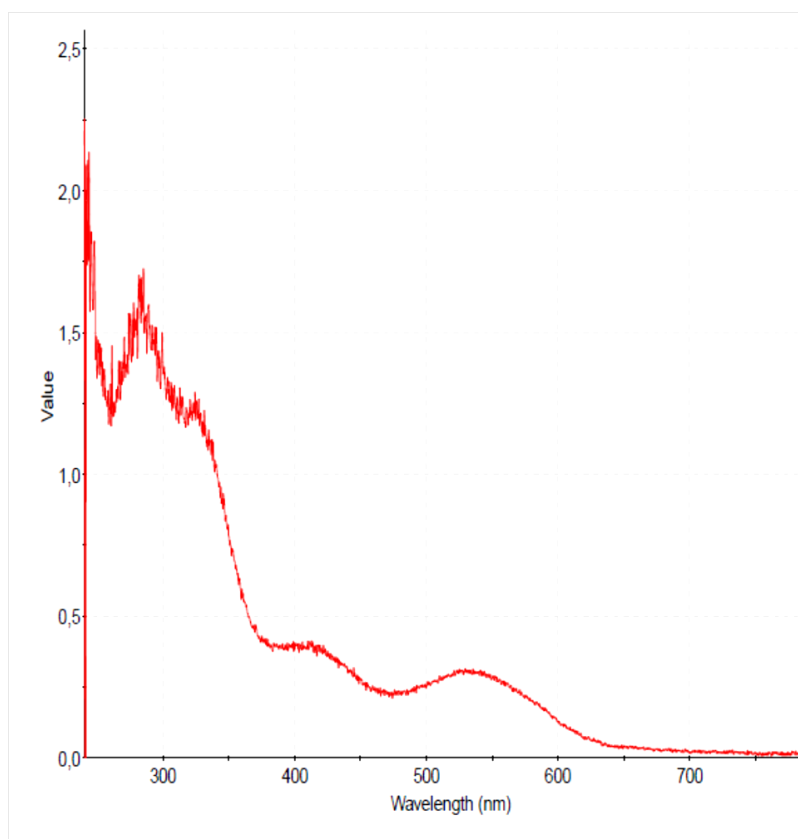
Obr. 88 - Různé zbarvení pro lentilky *M&M's* od výrobce *Mars, Inc.* (rychlá extrakce)

Různé zabarvení přírodních extraktů po přidání 10% H₂SO₄ a 10% NaOH			
Přírodní extrakt	Kyselé prostředí	Vodný extrakt	Zásadité prostředí
Ředkvičky			
Ibišku			
Citrónu			
Spiruliny			
Světlice barvířské			
Černá mrkev			

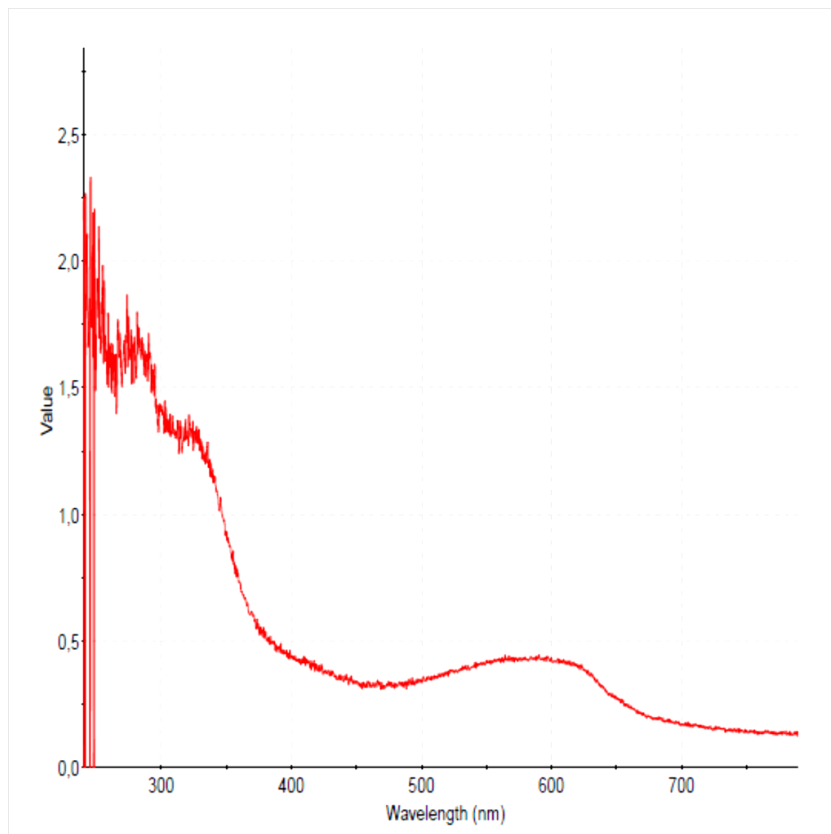
Obr. 89 - Různé zabarvení přírodních extraktů po přidání NaOH a H₂SO₄

Přírodní extrakt	Kyselé prostředí	Neutrální prostředí	Zásadité prostředí
Směs extraktu z ředkvičky, citronu a světlice barvířské			
Směs extraktu ze spiruliny, citronu a světlice barvířské			
Směs ředkve, spiruliny, černé mrkve			

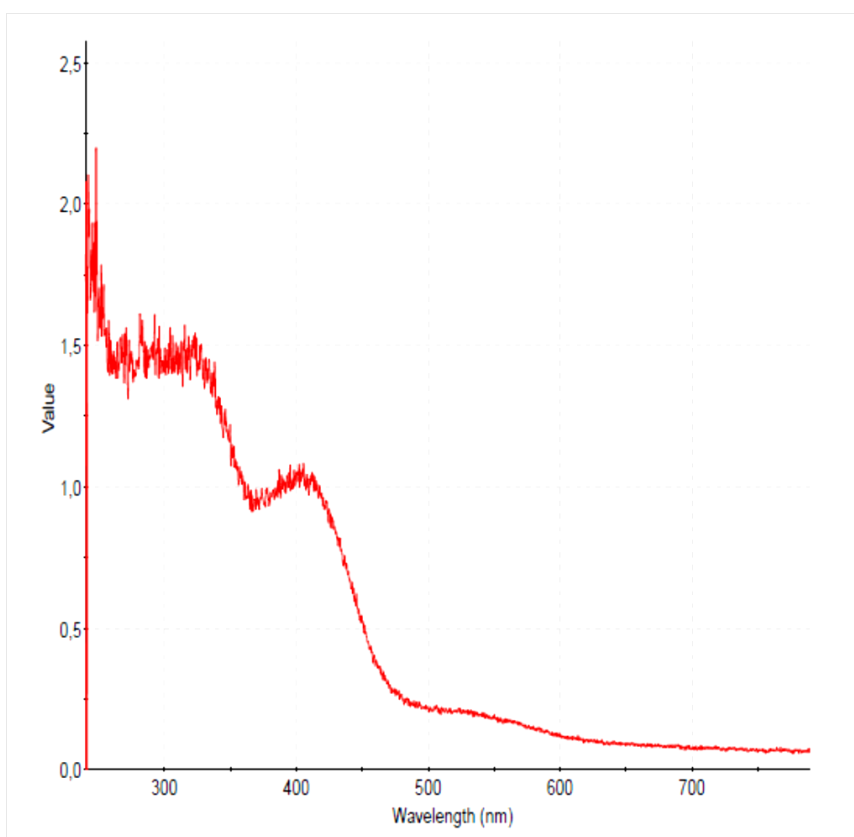
Obr. 90 - Různé zabarvení směsí přírodních extraktů po přidání NaOH a H₂SO₄



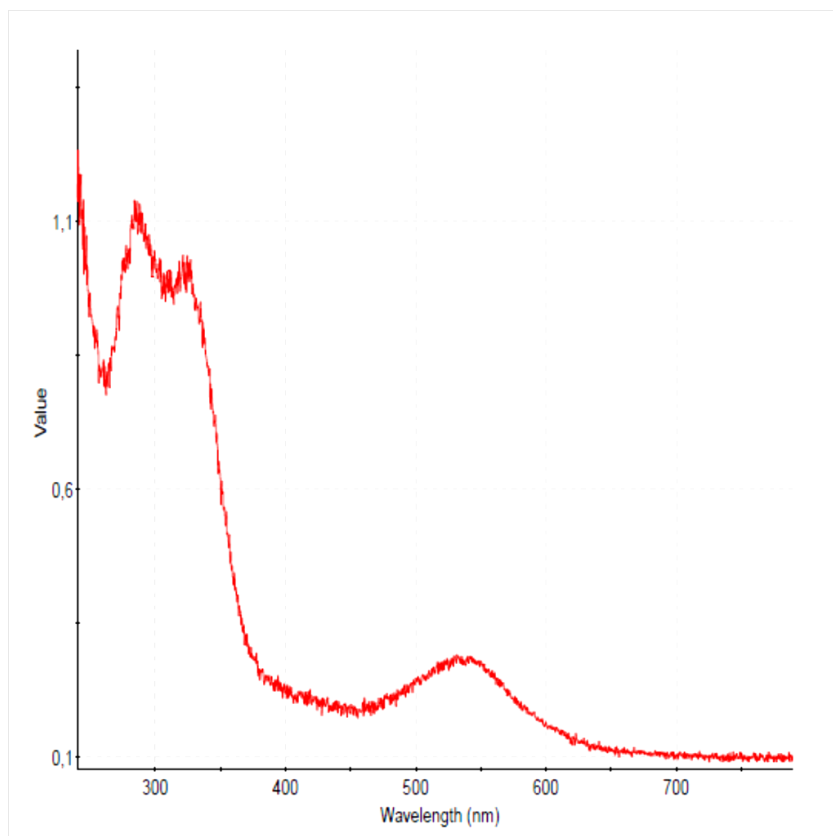
Obr. 91 - Červená lentilka, ředěná, Orion – barveno přírodou



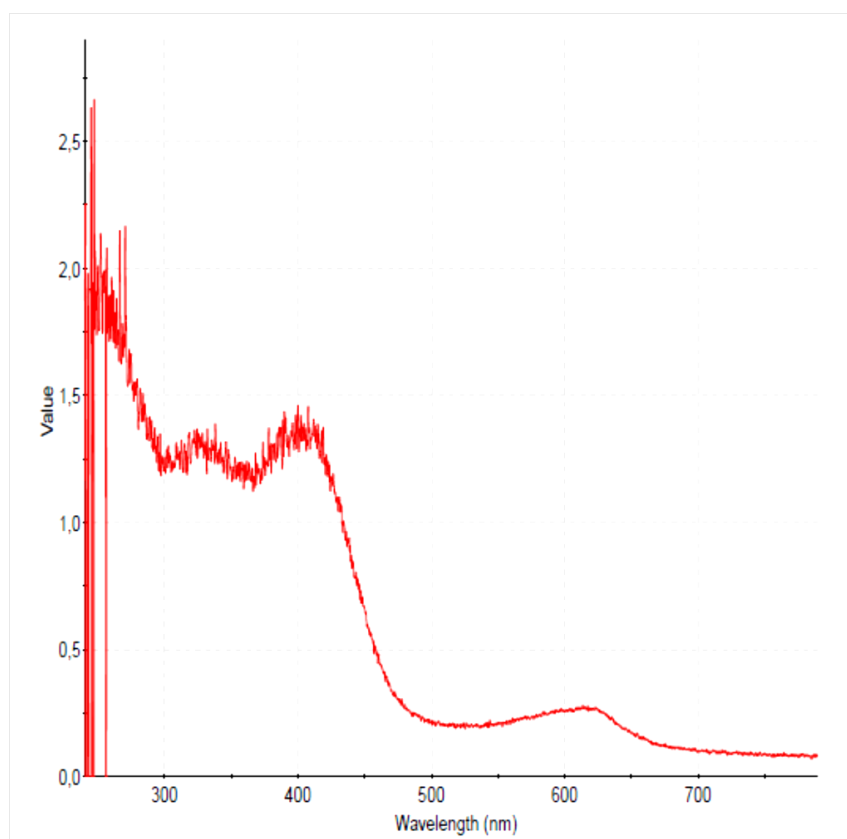
Obr. 92 - Fialová lentilka, ředěná, *Orion* – barveno přírodou



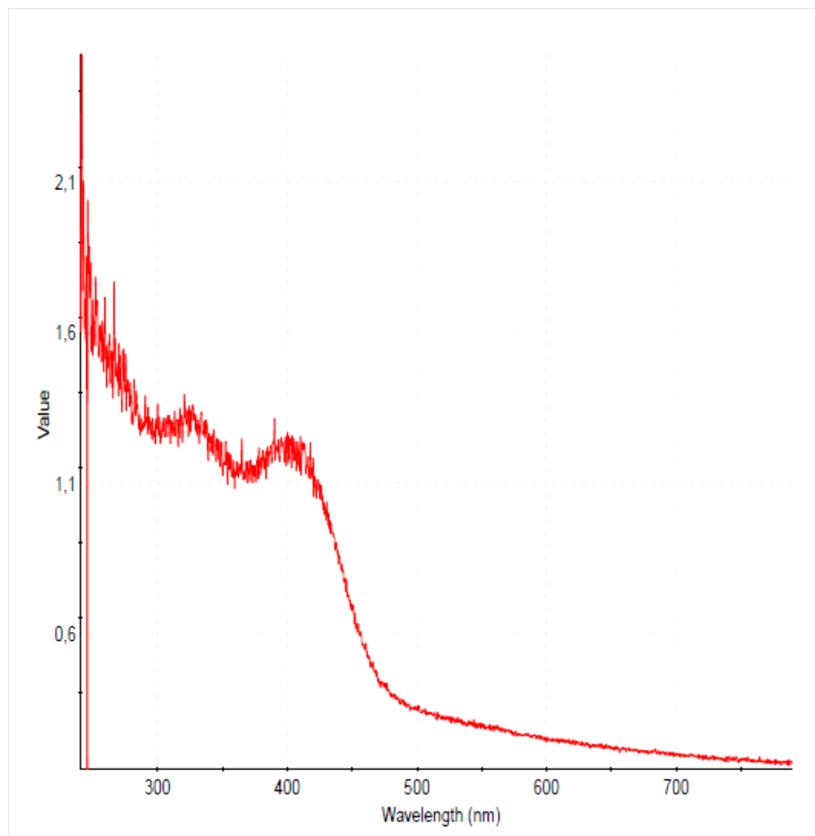
Obr. 93 - Oranžová lentilka, ředěná, *Orion* – barveno přírodou



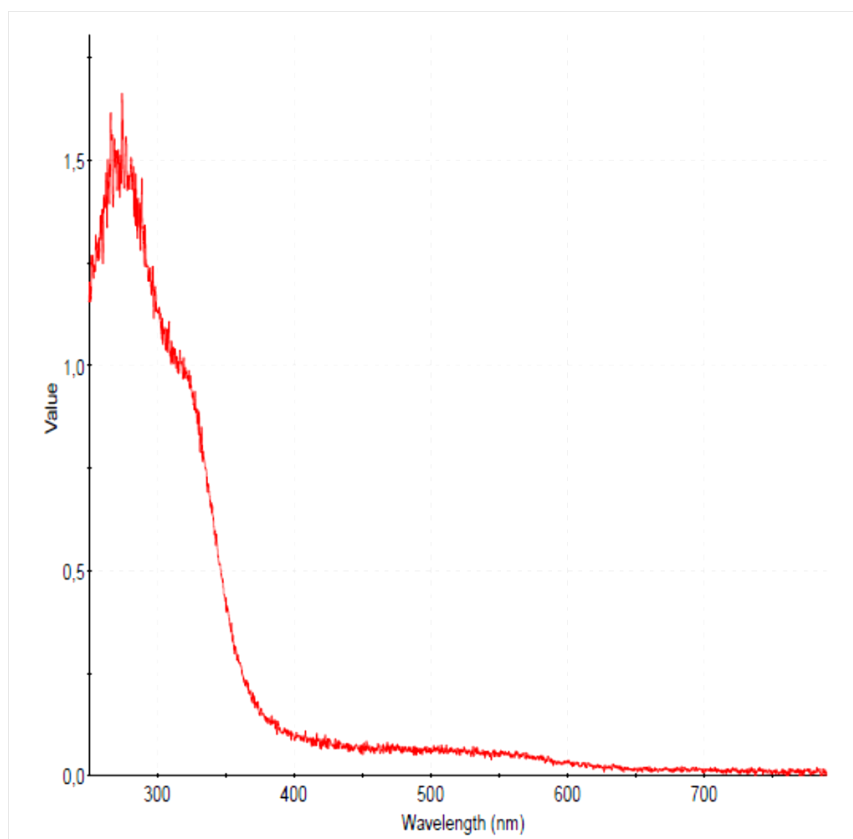
Obr. 94 - Růžová lentilka, ředěná, Orion – barveno přírodou



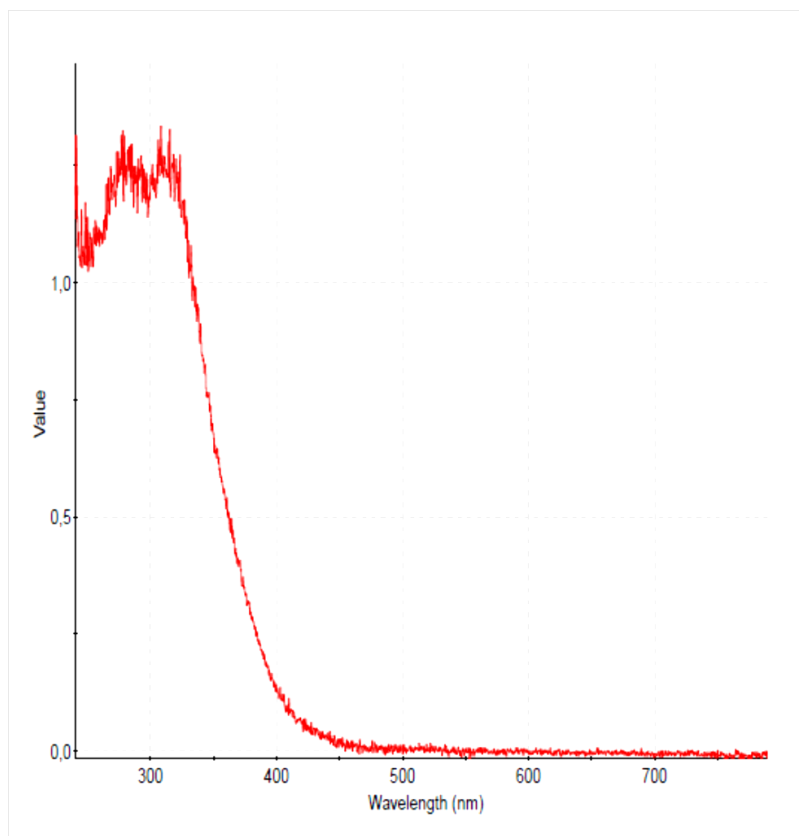
Obr. 95 - Zelená lentilka, ředěná, Orion – barveno přírodou



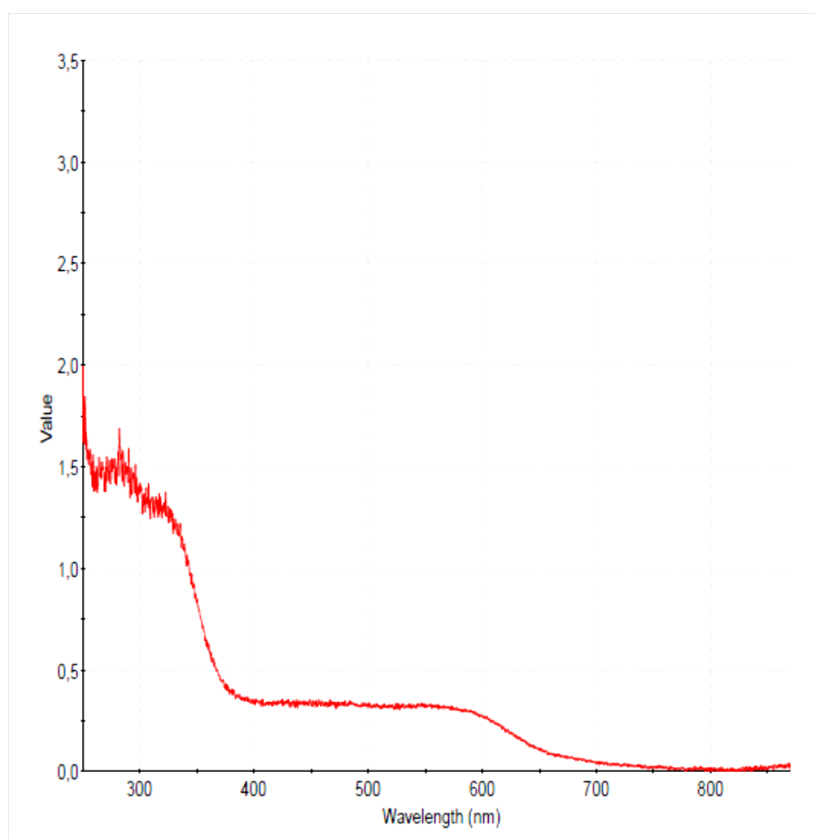
Obr. 96 - Žlutá lentilka, ředěná, *Orion – barveno přírodou*



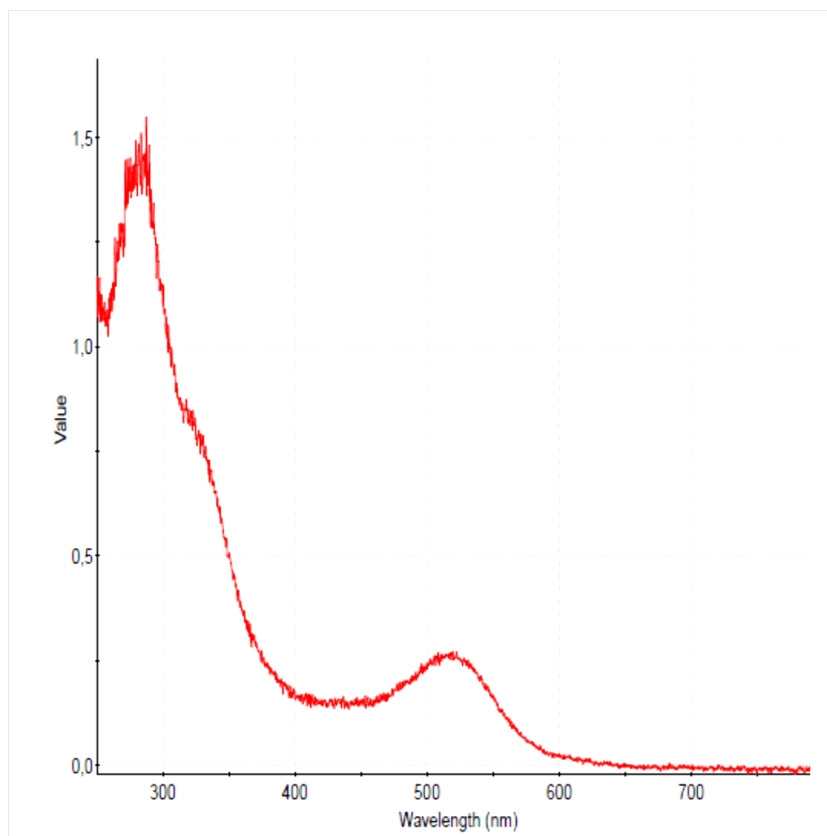
Obr. 97 – Červená ředkvička, ředěná



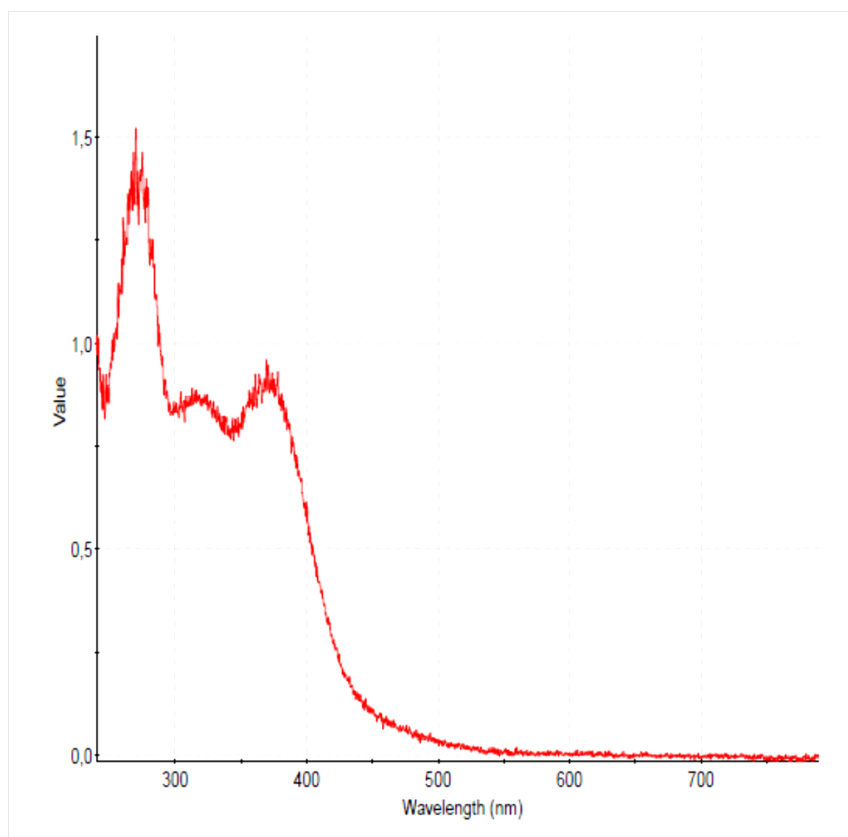
Obr. 98 – Citrón, ředěný



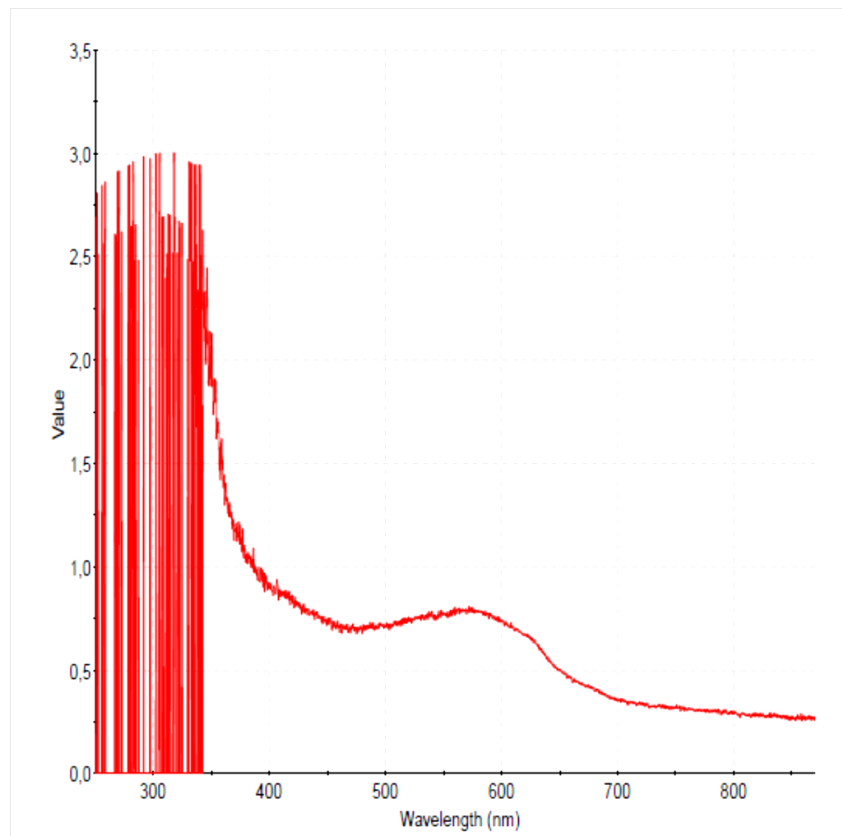
Obr. 99 – Černá mrkev, ředěné



Obr. 100 - Ovocný čaj s ibiškem



Obr. 101 - Světlice barvířská, ředěná



Obr. 102 - Směs ředkve, spiruliny a černé mrkve