

Barevnost látek kolem nás a její změny v průběhu chemické reakce

Cíle

Seznámení žáků s problematikou barevnosti látek na příkladu reakce přírodního barviva lykopenu.

Zadání úlohy

V souvislosti s barevností prostudujte průběh adiční reakce na konjugovaný systém dvojných vazeb.

Pomůcky

spektrofotometr PASCO Amadeus s příslušenstvím (SE-7183), skleněná kyveta (!) do spektrofotometru, počítač se SW Quantum, popř. datalogger PASCO SPARK či Xplorer GLX (s instalovaným klíčem pro použití s PASCO Amadeus), odměrný válec 250 ml, zkumavky (4×) a stojánek na zkumavky, kádinka 100 ml, kádinka 400 ml (na odpad), pipeta 1 ml a mikropipeta 200 μ l, laboratorní lžička, skleněná tyčinka, stříčka s destilovanou vodou, chemikálie (benzín, bromová voda 1,5%), biologický materiál – rajčatový protlak bez konzervantů, popisovač (líhový fix), pracovní návod, pracovní list

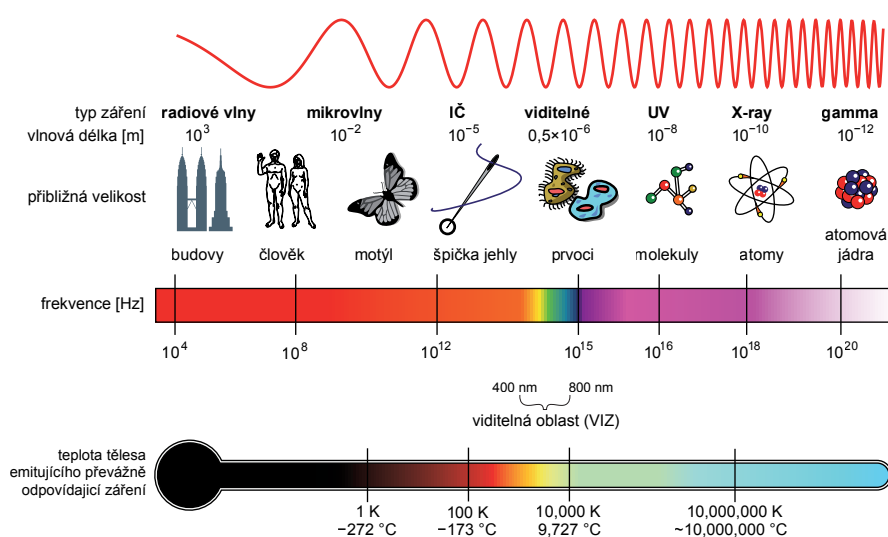
Teoretický úvod

Proč jsou látky kolem nás barevné? Jak vznikají barvy? Co je to vlastně barva? Jak to, že je možné z určitých barev namíchat barvu jinou? Jak je možné, že z nebarevného světla vznikne barevná duha? Dají se barvy nějak objektivně popsat a uspořádat do určitého systému?

Problematika barev a barevnosti látek kolem nás byla v historii „výzvou“ nejen pro celou řadu vědců, ale také filozofů, lékařů a umělců. V souvislosti s barevností látek se můžeme setkat se jmény takových

velikánů, jako byli **Isaac Newton, Thomas Young, Johann Wolfgang Goethe, Hermann Helmholtz** a celá řada dalších.

Podívejme se nejdříve na světlo. Světlo je **elektromagnetické záření**, které jsme schopni vnímat naším zrakovým orgánem zhruba v rozmezí vlnových délek od 400 nm do 800 nm. Hovoříme pak o tzv. **viditelném světle** (viz obr. 1). Pokud rozložíme „bílé světlo“ (což můžeme udělat s využitím hranolu,



Obr. 1: Spektrum elektromagnetického záření s vyznačením viditelné oblasti

mřížky anebo třeba pouhým pozorováním duhy), uvidíme najednou hned několik barev — jsou to tzv. **spektrální barvy**. Barva je zde dána určitou vlnovou délkou, která odpovídá **energii záření** (viz vztah 1 pro výpočet energie):

$$E = \frac{h \cdot c}{\lambda} \quad (1)$$

h – Planckova konstanta

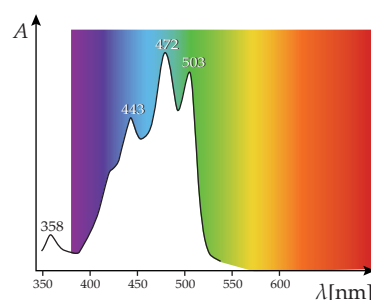
c – rychlost světla

λ – vlnová délka

Čím je ale způsobeno, že jsou kolem nás **barevné věci**? Víme, že látky jsou složeny z **atomů** a **molekul**. V atomech jsou **valenční elektrony**, které je možné předáním určité energie „posunout“ na vyšší energetickou hladinu (tzv. **excitovat**). Když dopadne záření na určitou látku, mohou její elektrony pohltit právě takovou část tohoto záření, která odpovídá excitaci jejich elektronů na vyšší energetickou hladinu. Pokud jsou fotony pohlcené látkou z viditelné části světelného spektra, bude se nám látka jevit jako barevná. Chybějící pohlcená barva se projeví tak, že uvidíme její tzv. **doplňkovou barvu** (viz tab. 1 a obr. 2).

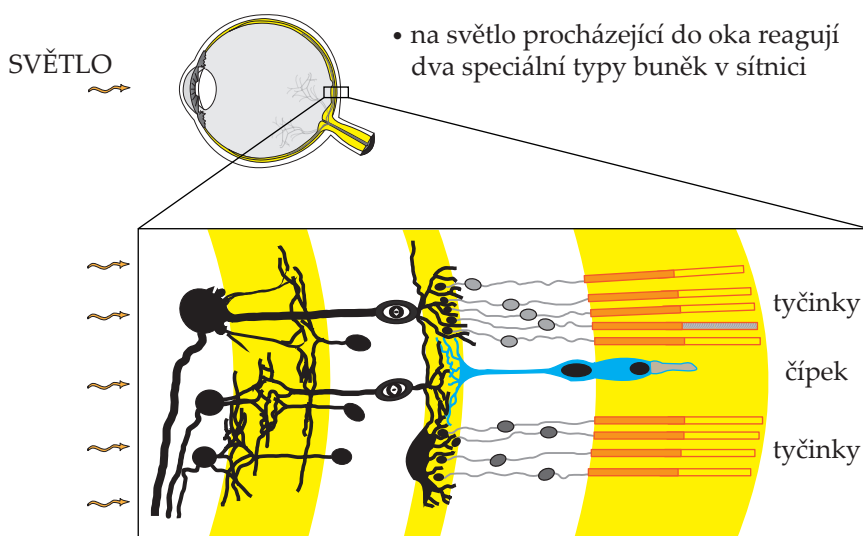
Absorbovaná vlnová délka [nm]	Barva absorbovaného světla	Barva látky
400–435	fialová	žlutozelená
435–480	modrá	žlutá
480–490	zelenomodrá	oranžová
490–500	modrozelená	červená
500–560	zelená	purpurová
560–580	žlutozelená	fialová
580–595	žlutá	modrá
595–605	oranžová	zelenomodrá
605–670	červená	modrozelená

Tab. 1: Barevnost látek – přehled vlnových délek pohlceného světla a odpovídajících doplňkových barev



Obr. 2: Absorpční spektrum lykopenu. Látka pohlcuje světlo o vlnových délkách přibližně 400–530 nm. Prázdné místo naznačuje absorbované záření. Červené zbarvení lykopenu je dáno složením zbylých (neabsorbovaných) vlnových délek.

Naším smyslovým orgánem, kterým vnímáme barvy, je oko. **Oko** obsahuje v sítnici dva základní typy buněk coby světelné receptory (**fotoceptory**). Jsou to tzv. **tyčinky** a **čípky**, které můžeme považovat za přeměněné neurony.

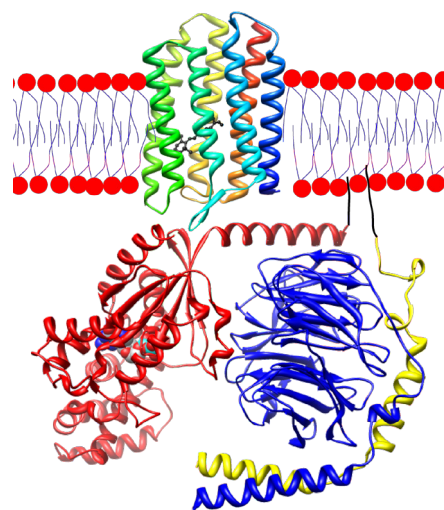


Obr. 3: Schéma sítnice lidského oka

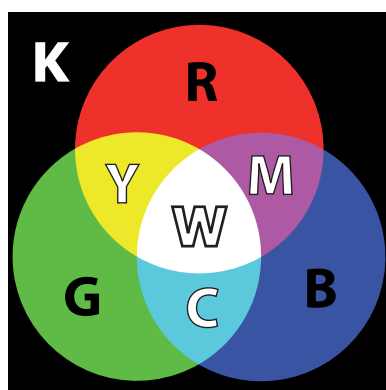
Tyčinky umožňují především vnímání kontrastů (**černo-bílé vidění**). V lidské sítnici je přibližně 120 miliónů těchto buněk. Za **barevné vidění** zodpovídají **čípky**, které jsou tři základních typů, a to S (citlivé především k modré části spektra), M (citlivé především k zelené části spektra) a L (citlivé především k červené části spektra). V lidské sítnici je čípků mnohem méně než tyčinek (asi 6 miliónů). Principem vzniku nervového

vzruchu je, zjednodušeně řečeno, vznik receptorového potenciálu po dopadu fotonu na speciální protein (**rhodopsin**, obr. 4) ve fotoreceptorech.

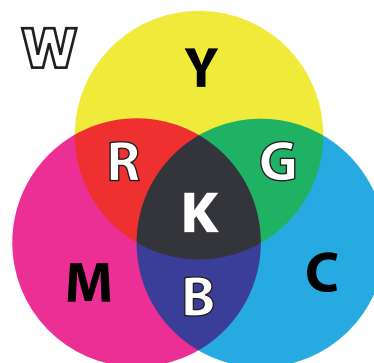
V souvislosti s barvami hovoříme o tzv. **primárních** a **sekundárních barvách**. Jde o základní barvy, jejichž kombinací získáme barvy jiné. Primární barvy vychází z výše popsaných zákonitostí vnímání barev lidským okem – jsou to: červená (R = red), zelená (G = green) a modrá (B = blue). Sekundární barvy získáme z barev primárních jejich smícháním. Výsledkem je azurová (C = cyan), purpurová (M = magenta) a žlutá (Y = yellow). Pokud pracujeme přímo se svítícím světelným zdrojem (např. monitor), používáme nejčastěji **barvový model** vycházející z primárních barev – **model RGB** (aditivní model, složením všech barev vznikne bílá). V případě, že dochází k absorpci světla (např. barvy vytištěné na papíru) využíváme nejčastěji **barvový model CMY** (subtraktivní model, složením všech barev vznikne černá). Protože je namíchání skutečně černé barvy problematické, tiskne se černá zvlášť. Sekundární barvy jsou pak doplněny čtvrtou barvou, černou (K = black, **barvový model** pak označujeme jako **CMYK**).



Obr. 4: Membránový protein rhodopsin (prochází nahoře skrz membránu) asociovaný s G proteinem (dole).



ADITIVNÍ MODEL
(míchání barev na monitoru, TV, ...)
Primární barvy:
R (červená), G (zelená), B (modrá).
Bílá (W) vzniká smísením všech barev.



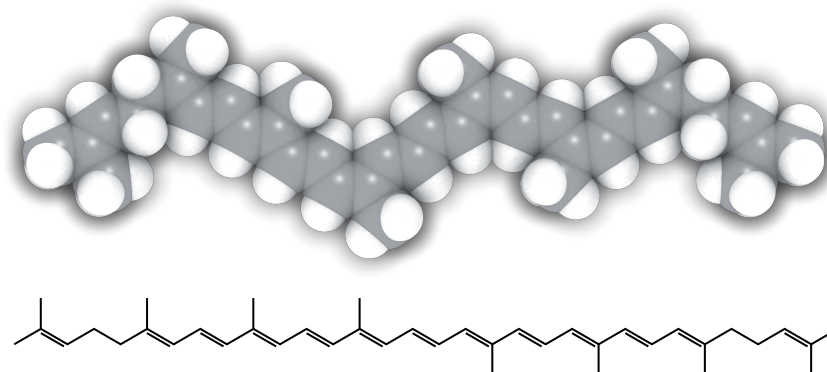
SUBTRAKTIVNÍ MODEL
(míchání barev na papíře, tisk, ...)
Primární barvy:
C (azurová), M (purpurová), Y (žlutá).
Smísením všech barev vzniká černá (K).

Obr. 5: Primární a sekundární barvy, barvové modely

Vraťme se ale zpět k elektronům. Barevnost látek je způsobena nejčastěji následujícími skutečnostmi:

- Látka obsahuje **π -elektronový systém**, který umožňuje absorpci fotonů z viditelné oblasti (např. látky mající konjugované dvojně vazby, azo skupinu $-N=N-$, aromatické a heterocyklické struktury a řada dalších).
- Atom má **valenční elektrony v orbitalech d a/nebo f** (přechodné a vnitřně přechodné kovy). Takové atomy jsou často součástí koordinačně kovalentních komplexů, které jsou typické svým zbarvením ($CuSO_4 \cdot 5 H_2O$, $[Fe(SCN)_2]^+$). Nebo ve vysokém oxidačním čísle vystupují jako součást iontů (MnO_4^- , CrO_4^{2-}).

My se dále zaměříme na první z uvedených případů. Jako jeden z reaktantů použijeme **přírodní barvivo lykopen**. Jedná se o organickou látku, která patří mezi **karotenoidy** a její barevnost souvisí právě s přítomností konjugovaného systému dvojných vazeb. Strukturně se jedná o tetra-terpen složený z osmi isoprenových jednotek. Strukturní vzorec je na obrázku č. 6.



Obr. 6: Přírodní barvivo lykopen – model molekuly a strukturální vzorec

Lykopen je světle červená látka, kterou známe nejčastěji ze zeleniny a ovoce (rajčata, vodní meloun, papaya a další). U rostlin je lykopen velmi důležitou látkou, která souvisí např. s metabolismem fotosyntetických pigmentů. Pro svoji barevnost, a také pro výrazné **antioxidační účinky**, se využívá v potravinářství pod kódem **E160d**.

V našem experimentu se pokusíme postupně jednotlivé dvojnásobné vazby lykopenu „rozbít“, a přitom budeme sledovat, co se bude dít s barevností této látky. K tomu využijeme spektrofotometr PASCO Amadeus, který nám umožňuje sledovat absorpční spektrum v rozsahu vlnových délek zhruba od 350 nm do 850 nm.

Bezpečnost práce

Pracujte pečlivě a v souladu s pracovním návodem. Jedna z chemikálií v tomto praktickém cvičení je vysoce hořlavá, druhá pak vysoce toxická. Dbejte zvýšené opatrnosti a s chemikáliemi zacházejte vždy v souladu s instrukcemi na obalu. Nikdy nepipetujte ústy. V laboratoři používejte ochranné brýle, plášť a případně další pomůcky v souladu se správnou laboratorní praxí.

benzín (F, Xn, N, R 11-38-50/53-65-67, S 9-16-29-33-60-61-62)

brom (T+, C, N, R 26-35-50, S 7/9-26-45-61)

Postup práce



Obr. 7: Připravené pracovní místo pro provedení obou částí experimentu

- 1) Sledování změn pomocí spektrofotometru PASCO Amadeus
 - a) Nejdříve si připravte spektrofotometr PASCO Amadeus (viz „Nastavení HW a SW“ a „Příprava měření“).

- b) Do 100 ml kádinky dejte 2 velké lžičky pastovitého rajčatového protlaku.
- c) Přidejte 25 ml benzínu a alespoň 3 minuty intenzivně míchejte skleněnou tyčinkou.
- d) Slijte benzínovou frakci do 25 ml kádinky.
- e) Do skleněné (!) kyvety odpipetujte 1,5 ml vašeho extraktu a vložte ji do měřicí cely spektrofotometru. Zobrazené spektrum by mělo vypadat obdobně jako na obrázku č. 8 (hodnota maximální absorbance by se měla pohybovat pod hodnotou 2, pokud je absorbance vyšší, je vhodné extrakt naředit do připravených zkumavek a otestovat vhodné ředění).
- f) Zobrazené absorpční spektrum v grafu zaznamenejte v SW Quantum stisknutím tlačítka s ikonou *Fotoaparát*. Vhodné je také spektrum uložit do souboru pro pozdější použití. To udělejte pomocí tlačítka s ikonou *Disketa*.
- g) Nyní napipetujte do kyvety 1 ml optimálně naředěného extraktu a vložte kyvetu do měřicí cely. Měli byste vidět stejné spektrum jako v předchozím případě. Nyní přímo do kyvety napipetujte 200 μ l bromové vody.
- h) Paralelně provádějte experiment ve zkumavce tak, aby žáci viděli případné barevné změny (je třeba použít větších objemů a přidat bromovou vodu současně s přidáním bromové vody do kyvety).
- i) Sledujte, zda dochází k nějaké změně ve zobrazeném spektru a postupné změny zaznamenávejte vždy stiskem tlačítka s ikonou *Fotoaparát*.
- j) Jakmile se spektrum již nemění, přelijte obsah kyvety do prázdné zkumavky a posuďte barevnost pouhým okem.
- k) Experiment opakujte s tím, že do kyvety přidáte 2 \times 200 μ l bromové vody.
- l) Průběh experimentů s menším a větším množstvím bromové vody porovnejte.

2) Sledování změn okem v odměrném válci

- a) Ve 250 ml vody rozmíchejte 2 velké lžičky pastovitého rajčatového protlaku.
- b) Přelijte rozmíchaný obsah do 250 ml odměrného válce.
- c) Na dno válce vhodte magnetické míchadlo, válec postavte na magnetickou míchačku a spusťte míchání pomalejší rychlostí.
- d) Opatrně napipetujte přímo do válce 0,5 ml bromu.
- e) Sledujte barevné změny.
- f) Zvyšte otáčky na magnetické míchače (několikrát až k maximu) a pokaždé opět sledujte barevné změny.
- g) Vypněte míchačku a pomocí skleněné tyčinky vertikálně promíchejte obsah válce.
- h) Svá pozorování zaznamenejte a vyhodnoťte.

Nastavení HW a SW

- 1) Ke svému počítači (netbooku) připojte USB kabel (konektor A) dodávaný se spektrofotometrem Amadeus. Druhou stranu kabelu připojte ke spektrofotometru (konektor B).
- 2) Dále propojte světlovodičem analyzátor se zdrojem s měřicí celou. Dbejte na to, abyste propojovací místa neznečistili.
- 3) Pomocí přiloženého adaptéru připojíme zdroj el. napětí k měřicí cele se světelným zdrojem. Pokud je vše v pořádku, je šachtou měřicí cely vidět rozsvícené světlo.

Příprava měření

- 1) Na počítači spusťte program Quantum.
- 2) Klikněte na tlačítko s písmenem *A*, budete měřit absorpční spektrum.
- 3) Automaticky se spustí průvodce nastavením měření.
- 4) V dialogu *Integration time* klikněte na tlačítko *Set Automatically*.

- 5) Hodnotu *Pixel Smoothing* nastavte na 3. Hodnotu *Average Scans* na 30.
- 6) Klikněte na tlačítko *Next*.
- 7) Pro základní nastavení spektrofotometru potřebujete nyní „zhasnout“. To uděláte vložením černého hranolku, který je součástí příslušenství, do měřicí cely.
- 8) V následujícím dialogu klikněte na tlačítko se symbolem *zhasnuté žárovky*. Tím jste si uložili tzv. „temné spektrum“.
- 9) Klikněte na tlačítko *Next*.
- 10) Nyní černý hranolek z měřicí cely vyjměte a klikněte na tlačítko se symbolem *rozsvícené žárovky*. Tím jste si uložili referenční spektrum vašeho světelného zdroje.
- 11) Klikněte na tlačítko *Finish*.
- 12) Nyní můžete začít proměřovat absorpční spektrum vašeho extraktu.

Vlastní měření a záznam dat

V SW Quantum je pouze několik nástrojů, které jsou umístěny v horní tlačítkové liště.

- 1) Z přítomných tlačítek budete potřebovat především tlačítko s ikonou *Fotoaparát*, kterým můžete kdykoli „zmrazit“ právě zobrazené spektrum. Měření však probíhá dále, a tak je možné tímto způsobem získat v jednom grafu několik různých absorpčních spekter.
- 2) Pokud chcete upravit měřítko zobrazeného grafu, použijte tlačítko s ikonou *Lupa* (v dialogu ručně zadáte minimum a maximum na osách x a y). Můžete také vyzkoušet automatické přizpůsobení měřítka grafu tlačítkem s ikonou *šipek*.
- 3) Vhodné je aktuálně zachycené spektrum uložit do souboru pro pozdější použití. To udělejte pomocí tlačítka s ikonou *Disketa*.

Analýza naměřených dat

Porovnáme absorpční maxima lykopenu na začátku a za určitý čas po přidání bromové vody. Všimáme si nejen změny „tvaru“ absorpčního spektra, ale také hodnot absorbance. Případné změny v absorpčním spektru dáme do vztahu s barevností získaného extraktu.

Informační zdroje

- <http://en.wikipedia.org/wiki/Color>
- http://en.wikipedia.org/wiki/Color_vision
- http://en.wikipedia.org/wiki/Rod_cell
- http://en.wikipedia.org/wiki/Cone_cell
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Rhodopsin>
- http://en.wikipedia.org/wiki/Theory_of_Colours
- <http://cs.wikipedia.org/wiki/RGB>
- <http://cs.wikipedia.org/wiki/CMYK>
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Lycopene>
- <http://cs.wikipedia.org/wiki/Spektrofotometrie>
- Lichtenthaler H.K.: *Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes*. Methods in Enzymology, 148, 350-382 (1987)
- Rodriguez-Amaya, Della B.: *A guide to carotenoid*. Washington, D.C.: ILSI Press, 2001. ISBN 15-788-1072-8
- http://en.wikipedia.org/wiki/Photosynthetic_Pigments