

TRNAVSKÁ UNIVERZITA V TRNAVE



FAKULTA ZDRAVOTNÍCTVA A SOCIÁLNEJ PRÁCE
TRNAVSKEJ UNIVERZITY V TRNAVE
Katedra laboratórných vyšetrovacích metód v zdravotníctve



Recenzenti:

doc. RNDr. Martina Horváthová, PhD.

doc. Ing. Stanislava Blažíčková, PhD.

Mária Dubovská

NÁVODY NA CVIČENIA
Z PREDMETU
ANALYTICKÁ CHÉMIA

Vysokoškolské učebné texty



TRNAVA 2018

© Fakulta zdravotníctva a sociálnej práce
Trnavskej univerzity v Trnave, 2018
Katedra laboratórných vyšetrovacích metód v zdravotníctve

ISBN 978-80-568-0043-0

OBSAH

1. Základné zariadenie a vybavenie biochemického laboratória	7
1.1 Všeobecné zásady na zariadenie laboratória	7
1.2 Zariadenie laboratória na biochemický výskum	8
1.3 Vnútorne vybavenie laboratória	9
1.4 Zdroje energie a médií	10
1.5 Zaobchádzanie s oceľovými fľašami plynu	11
1.6 Meranie a udržanie teploty	12
1.7 Materiály v biochemickom laboratóriu	13
1.8 Chemikálie	15
2. Všeobecné zásady bezpečnej práce v laboratóriu	16
3. Pipetovanie sklenenými pipetami	19
4. Pipetovanie poloautomatickými pipetami	21
5. Váženie	24
6. Príprava presných, tlmivých a izotonických roztokov	29
6.1 Všeobecná charakteristika roztokov	29
6.2 Vyjadrovanie zloženia roztokov	30
6.3 Príprava roztokov	31
6.4 Iónová sila roztokov	33
6.4.1 Elektrická vodivosť roztokov	33

7. Vzorové výpočtové príklady na prípravu roztokov	35
8. Praktická príprava odmerných roztokov	39
Príloha	41

1. ZÁKLADNÉ ZARIADENIE A VYBAVENIE BIOCHEMICKÉHO LABORATÓRIA

1.1 Všeobecné zásady na zariadenie laboratória

- Pracovné stoly* – dosky z nehorľavého materiálu
Digestor – odsávač na prácu s prchavými látkami
Vetranie – prirodzené
Núdzový východ – voľný

Hlavné uzávery (vody, plynu, elektriny)

- prístupné, dobre viditeľné

Chladničky, mrazničky

- uchovávanie vzoriek a reagensí pri ↓ T

Chladiace boxy

- tepelne izolované miestnosti
- pracovné postupy pri ↓ T (dialýza)
- pracovný stôl
- prívod a odpad vody
- prívod elektrického prúdu

Temperované boxy

- udržujú stálu teplotu
- vybavenie ako chladiace boxy

1.2 Zariadenie laboratória na biochemický výskum

Kultivačné boxy

- pretrepávačky, fermentačné zariadenia
- police, manipulačný stôl
- prívod elektriny, ventilácia

Očkovacie boxy

- zariadenia na sterilizáciu vzduchu
- pracovný stôl
- prívod elektrického prúdu
- vetranie so sterilizačným filtrom

Zverinec

- klietky, manipulačný stôl, váhy
- prívod elektriny, plynu, ventilácia

Prípravovňa

- krmivo pre zvieratá

Pitevňa

- chirurgický materiál
- osvetlenie, ventilácia, voda, elektrina, plyn
- likvidácia materiálu

Osvetlenie

- prirodzené + umelé

Vykurovacie zariadenia

Podlahy

- nehorľavé, umývateľné, protišmykové
- Denná miestnosť + sociálne zariadenie pre personál

1.3 Vnútorné vybavenie laboratória

- skúmavky:
 - a) materiál:* – sklenené (dezinfikujú a sterilizujú sa)
 - plastové (jedno použitie)
 - b) objem:* – mikroskúmavky (ml)
 - ml (5, 7, 10, 20)
- odmerné valce (ml ® l)
- podložné a krycie sklíčka (mikroskop)
- stojany na skúmavky
- pipety (ml – nastaviteľné)
- špice (ml)
- dávkovače (ml)
- hustomer
- diagnostické papieriky (DIAPHAN, ALBUPHAN)
- mikroskop – svetelný
- centrifúga (sedimentácia)
- špeciálne prístroje (plameňový fotometer – Na, K; chloridmeter, ESAT – gluk)
- reagensy: – alkalyzujúce (NaOH)
 - okysľujúce (HCl)
- PC – LIRS (vnútorný laboratórny informačný systém)
- dezinfekčné roztoky
- spotrebný materiál (mul, gáza, buničitá vata)
- skrinky na ukladanie materiálu

1.4 Zdroje energie a médií

elektrický prúd

- striedavý 220 a 380 V
- jednosmerný 24 V
- pravidelná kontrola el. zariadení
- obsluha – osoby:
 - telesne a duševne zdravé
 - príslušné vedomosti
 - prax

plyn

- zemný
- svietiplyn
- technický
- stlačený vzduch
- ! NIE vykurovanie priamym plameňom!
- PRVÁ POMOC pri unikaní plynu – vypnúť prívod plynu
- osobitný rozvod plynu
- oceľové fľaše plynu

1.5 Zaobchádzanie s ocel'ovými fl'ášami plynu

- pri doprave chrániť fl'áše pred pádom
- pri páde označiť a vyradiť fl'áše
- ventily s ochrannými klobúčikmi
- nepoužívať po záručnej lehote!
- zabezpečené retiazkami alebo v stojane
- nie do blízkosti tepelných zdrojov (max. 3 m od horiaceho plameňa)
- označenie miestnosti
- v laboratóriu max. 2 fl'áše rovnakého druhu
- v budove max. 15 fliaš rovnakého druhu
- neskladovať na voľne prístupných miestach (schodište, chodby)
- po použití fl'áše ventil tesne zatvoriť
- plyn sa môže z fl'áše vypúšťať len cez redukčný ventil
- v prípade požiaru – odstrániť z pracoviska

1.6 Meranie a udržanie teploty

Teplomery:

- ortuťové – od (-39 °C) bod topenia Hg do ($+350\text{ °C}$) bod varu Hg (357 °C)
- alkoholové – od (-30 do -70 °C)
- toluénové – od (-70 do -100 °C)
- pentánové – od (-100 do -190 °C) – zafarbujú sa na červeno alebo modro
- termočlánky – vysoké T
 - princíp vzniku el. prúdu pri zahriatí dvoch rozličných kovov

Udržiavanie teploty:

- regulátory el. prúdu (obmedzujú príkon energie do tepelného zdroja)

1.7 Materiály v biochemickom laboratóriu

Sklo:

A) Vlastnosti skla:

- bórokremičité – neuvolňujú sa do kvapaliny jeho zložky (hlavne alkálie)
- kremenné – tepelná odolnosť
- *nové sklo* – vyvariť – čím sa stabilizuje jeho povrch (na vzduchu vlhne ® zvetrávanie skla): 3 x 6 hodín v destilovanej vode
- 5 tried chemickej odolnosti skla (odolnosť voči vode, kyselinám, alkáliám), napr.: I. – styk s horúcimi kvapalinami (sterilizovať)

B) Umývanie skla:

1. mechanická očista (opláchnutie vodou)
 2. dezinfekcia /sterilizácia
 3. sušenie
 4. uskladnenie (skrinky, !prach!)
- *umývacie roztoky:*
 - etanol
 - mydlový roztok alkalické roztoky
 - hydrogenuhličitan sodný (pripečené sklo)
 - kyselina sírová
 - 5 % HCl (mastnota)
 - manganistan draselný oxidačné roztoky
 - kyselina chrómsírová
 - organické rozpúšťadlá (éter, etanol, benzén, acetón) – na odmasťenie

C) Sterilizácia skla:

- na prácu v sterilných podmienkach
- balí sa do hliníkovej fólie jednotlivo
- sterilizácia 205 h pri T 160 °C v sušiarňi
- skúmavky, valce, fľaše, mikroskopické sklo

Porcelán:

- laboratórny porcelán – vysoký obsah íloviny
- vysoká tepelná stálosť
- mechanická a chemická odolnosť
- vysoký bod topenia: – glazované 1 100 °C
- neglazované 1 350 °C
- misky, nádoby

Náhrada skla – plasty:

- surovina:
 - polyetylén
 - polypropylén
 - polyvinylchlorid
 - teflón (tetrafluóretylén)
- jednorazové použitie
- skúmavky, špice, stojany ...

1.8 Chemikálie

- dodržiavať expiračný čas!

Uskladňovanie:

- chladnička, bez prístupu svetla
- nádoby z vhodného materiálu označené trvanlivým nápisom:
 - látky rozložiteľné svetlom – nepriehľadné tmavé sklo
 - látky reagujúce so sklom – plasty, kov
 - kvapaliny – chrániť pred ohrevom, slnkom
 - ortuť – > 3 kg len v ocelových fľašiach
- *oddelené* – kyseliny, hydroxidy, oxidovadlá, horľaviny, jedy

Manipulácia:

- so zdraviu škodlivými látkami – ! pokožka, sliznice, dýchacie, tráviace cesty!
- s dymiacimi, dráždivými, páchnucimi, jedovatými plynmi a parami,
- spaľovanie, žíhanie látok – len v digestore!
- naberanie tuhých látok s laboratórnymi lyžicami

Odstraňovanie:

- do odpadového potrubia:
 - ⊕ rozpúšťadlá, kyseliny, hydroxidy – riedenie vodou 1:30
 - ⊘ jedy, výbušné látky, koncentrované kyseliny a hydroxidy, látky uvoľňujúce dráždivé plyny a jedy

2. VŠEOBECNÉ ZÁSADY BEZPEČNEJ PRÁCE V LABORATÓRIU

- len osoby odborne spôsobilé
- čistota, poriadok
- únikové cesty vždy voľné
- lekárnička, hasiace prístroje
- pracovníci musia poznať rozmiestnenie a spôsob použitia hasiacich prístrojov, spôsob privolania prvej pomoci, poplachový plán, zásady prvej pomoci
- v laboratóriu sa nesmie jesť
- laboratórne nádoby sa nesmú používať na uskladnenie jedla alebo potravín
- potraviny sa nesmú ukladať v chladničke
- pracovníci musia používať OOPP (rukavice)
- v laboratóriu by nikdy nemal pracovať len jeden pracovník sám
- po ukončení práce pracovníci musia skontrolovať všetky prí-vody vody, energie, plynu

Farebné označenie ocel'ových fliaš na plyny:

plyn	farba na hrdle fl'aše
acetylén	biela
amoniak	fialová
dusík	zelená
hélium, vzácne plyny	hnedá
horľavé plyny	oranžová
chlór, fosgén	žltá
kyslík	modrá
oxid siričitý	tmavosivá
oxid uhličitý	čierna
vodík	červená
vzduch	hliníková

Prehľad škodlivých chemikálií a prvá pomoc pri práci s nimi:

Látka	Prvá pomoc
Acetón	čerstvý vzduch, O ₂
Aldehydy	vzduch, surové vajce, výplach žalúdka
alkalické kovy	spláchnuť silným alkoholom
alkoholy	výplach žalúdka, čierna káva, O ₂ , lekár
amíny (anilín)	vzduch, výplach žalúdka, živočíšne uhlie, silná káva, prehľadadlo, O ₂ , vitamín C
amoniak	vzduch, vdychovať pary kyseliny octovej, oči vymyť roztokom hydrogenuhličitanu sodného
arzén	výplach žalúdka oxidom horečnatým, lekár
bárium	výplach žalúdka síranom sodným alebo horečnatým, lekár
benzén	kyslík, telo umyť vodou s mydlom, živočíšne uhlie
dusičnany, –tany	výplach žalúdka, živočíšne uhlie, lekár

fosfor	piť 1 % H_2O_2 , kyslík, umelé dýchanie
chlór	O_2 , lekár
kyseliny	mlieko, bielky, lekár, výplach roztokom hydrogenuhličitanu sodného
lúhy	výplach úst studenou vodou, zriedený ocot, mlieko
olovo	vracanie, mlieko, lekár
ortuť	mlieko, bielok, lekár
uhl'ovodíky	vzduch, $\text{O}_2 + \text{CO}_2$

3. PIPETOVANIE SKLENENÝMI PIPETAMI

Jednou zo základných manuálnych operácií v biochemickom laboratóriu je pipetovanie roztokov. Veľmi dôležité je dodržanie presnosti pri pipetovaní, ktoré docielime správnym postupom pipetovania.

Zásady pipetovania sklenenými pipetami:

1. PIPETA MUSÍ BYŤ: ČISTÁ, SUCHÁ, PRIECHODNÁ.
2. ROZTOK PIPETUJEME ÚSTAMI, OKREM KYSELÍN, ZÁSAD, HORĽAVÍN, JEDOV A INÝCH ZDRAVIU ŠKODLIVÝCH LÁTKOV.
3. ZDRAVIU ŠKODLIVÉ LÁTKY PIPETUJEME BALÓNIKOM, PIPETOVAČÍM NADSTAVCOM ALEBO DO VRCHOLU PIPE- TY VLOŽÍME MÄKKÚ VATU.
4. KVAPALINY Z PIPETY VYPÚŠŤAME VO VÝŠKE OČÍ TAK, ŽE PIPETU OPRIEME O STENU LABORATÓRNEHO SKLA (BANKY) A SPÚŠŤAME ROZTOK PO STENÁCH LABORA- TÓRNEHO SKLA.
5. NIKDY PIPETU NEVYFUKUJEME – KVÔLI PRESNOSTI (PO VYPUSTENÍ ROZTOKU Z PIPETY, V HROTE PIPETY OSTÁVA MALÉ MNOŽSTVO ROZTOKU, KTORÉ SA VŠAK NERÁTA DO OBJEMU PIPETOVANÉHO ROZTOKU).
6. PIPETOVANIE ČÍRYCH ROZTOKOV: DOLNÁ ČASŤ MENISKU HLADINY ROZTOKU JE NA ÚROVNI RYSKY DIE-

LIKA URČUJÚCEHO OBJEM PIPETOVANÉHO ROZTOKU V PIPETE.

7. PIPETOVANIE FAREBNÝCH ROZTOKOV: HORNÁ ČASŤ MENISKU HLADINY ROZTOKU JE NA ÚROVNI RYSKY DIELIKA URČUJÚCEHO OBJEM PIPETOVANÉHO ROZTOKU V PIPETE.
8. HLADINU NAPIPETOVANÉHO ROZTOKU V PIPETE KONTROLUJEME VO VÝŠKE OČÍ A NAJLEPŠIE NA BIELOM POZADÍ.
9. AK PRI NAPIPETOVANÍ ROZTOKU DO PIPETY ROZTOK Z NEJ SAMOVOĽNE VYTEKÁ ALEBO KVAPKÁ, SVEDČÍ TO O NEPRESNOSTI PIPETY A TAKÚTO PIPETU VYMEŇÍME.

ÚLOHA:

1. Sklenenou pipetou s objemom 2 ml napipetujte objemy: 0,7 ml; 1,3 ml; 0,5 ml dH₂O
2. Sklenenou pipetou s objemom 5 ml napipetujte objemy: 1,8 ml; 2,4 ml; 4,5 ml dH₂O
3. Sklenenou pipetou s objemom 10 ml napipetujte objemy: 4,4 ml; 5,3 ml; 7,5 ml dH₂O
4. Graficky znázorníte 1 napipetovaný objem v sklenenej pipete v podobe protokolu. Schéma protokolu je v Prílohe 1.

Poznámka:

Všimnite si rozdiel pri pipetovaní sklenenou pipetou, ak sa 0 nachádza v hornej časti pipety a ak sa 0 nachádza v dolnej časti pipety. Vysvetlite rozdiel pri pipetovaní.

4. PIPETOVANIE POLOAUTOMATICKÝMI PIPETAMI

V súčasných biochemických laboratóriách sa na stanovenie presného objemu roztoku používajú prevažne poloautomatické pipety alebo dávkovače (umiestnené priamo v zátku reagenčnej fľaše), určené na rýchle pipetovanie rovnakých objemov. Poloautomatické pipety poznáme:

- a) s **fixne nastaveným objemom** – objem pipetovaného roztoku už nedá manuálne meniť, napr. 20 μl , 200 μl , 500 μl , 1 000 μl
- b) s **nastaviteľným objemom** – pipeta má na svojom tele uvedený rozsah objemov, ktoré sa dajú na nej manuálne nastaviť, napr. pipeta s rozsahom: 20 – 200 μl , 100 – 1 000 μl

Zásady a postup pipetovania poloautomatickými pipetami:

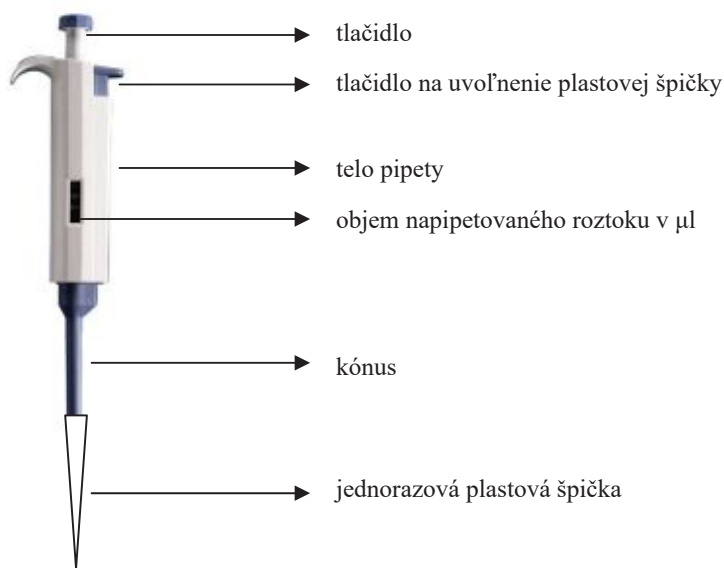
1. POLOAUTOMATICKÝMI PIPETAMI PIPETUJEME OBJEMY V μl (1 ml = 1 000 μl).
2. PIPETA MUSÍ BYŤ PRESNÁ (KALIBROVANÁ).
3. ŠPIČKY MUSIA BYŤ ČISTÉ, SUCHÉ, PRIECHODNÉ.
4. VYBERIEME SI PIPETU SO SPRÁVNÝM OBJEMOM.
5. ŠPIČKU PEVNE NASADÍME NA KÓNUS PIPETY, ABY BOLA DOBRE UTESNENÁ.
6. STLAČÍME PIPETU PO PRVÚ ZARÁŽKU, PONORÍME KÓ-

NUS ŠPIČKY POD HLADINU PIPETOVANÉHO ROZTOKU TAK, ABY SA KÓNUS DOTÝKAL STENY LABORATÓRNEHO SKLA.

7. POMALÝM UVOĽŇOVANÍM TLAČIDLA NAPIPETUJEME (NATIAHNEME) ROZTOK.
8. PIPETU VYTIAHNEME Z PIPETOVANÉHO ROZTOKU A VLOŽÍME DO INÉHO LABORATÓRNEHO SKLA (SKÚMAVKA), ŠPIČKU OPRIEME O JEHO STENU A STLAČENÍM PIPETY PO DRUHÚ ZARÁŽKU VYPÚŠŤAME NAPIPETOVANÝ ROZTOK.
9. AK JE OBJEM PIPETOVANÉHO ROZTOKU V ŠPIČKE < 20 μ l, PRI VYPÚŠŤANÍ ROZTOKU OPRIEME ŠPIČKU O DNO LABORATÓRNEHO SKLA, ABY NAPIPETOVANÉ MNOŽSTVO ROZTOKU BOLO PRESNÉ.
10. PIPETU POVYTIAHNEME NAD HLADINU NAPIPETOVANÉHO ROZTOKU A UVOĽNÍME TLAČIDLO NA PIPETE.
11. JEDNOTLIVÉ ČASTI PIPETY SÚ ZOBRAZENÉ NA OBR. 1
12. JEDNORAZOVÉ PLASTOVÉ ŠPIČKY SÚ ŠPECIFICKÉ PRE PIPETY S DANÝM OBJEMOM. NIE SÚ UNIVERZÁLNE.

ÚLOHA:

1. Pipetou s objemom 200 μl napipetujte do skúmavky 1 ml dH_2O .
2. Na pipete nastavte objem 150 μl a napipetujte dH_2O do 10 skúmaviek.
3. Na pipete nastavte objem 20 μl a napipetujte dH_2O do 10 skúmaviek.



Obrázok č. 1: Časti poloautomatickej pipety.

OTÁZKA:

1. Aký je rozdiel pri pipetovaní medzi bodom 2 a 3?

5. VÁŽENIE

Získanie kvalitných výsledkov vyžaduje zručnosť a skúsenosť laboranta. Toto cvičenie je zamerané na zautomatizovanie si správnych postupov pri vážení, aby sa tak predišlo systematickej chybe, ktorá je častou príčinou skreslených výsledkov, a na kontrolu presnosti pipetovania vážením.

DRUHY VÁH:

1. poloautomatické (predvážky)

- vo všeobecnosti platí, že vážia s presnosťou na 0,5 – 1 g (môžu byť rôzne podľa typu výroby) a ich maximálna nosnosť je 1 000 – 2 000 g;

2. analytické

- citlivosť analytických váh sa udáva s presnosťou 10^{-4} – 10^{-6} g, ale ich maximálna nosnosť je do 200 g;

3. torzné

- Torzné váhy sa používajú pri vážení malých predmetov, a to hlavne tam, kde treba vážiť rýchlo, aby nevznikli straty vyschnutím (napr. krv)
- meriame veľkosť stočenia pružného vlákna a z nej určujeme váhu látky
- citlivosť torzných váh je v mg;

Zásady pri vážení na poloautomatických a analytických váhach:

1. Váha je upevnená na pevnej konzole, aby sa na ňu neprenášali otrasy podlahy a pracovných stolov.
2. Na váhach si všimneme ich maximálnu nosnosť a minimálnu hmotnosť, ktorú vedia odvážiť. Látky, ktoré vážime, nikdy nekladíme priamo na misku, ale vždy na podložku (Petriho miska, kadička a pod.).
3. Nádobu, v ktorej vážime, stále vynulujeme pred vložením látky, ktorú chceme vážiť.
4. Váha musí byť chránená pred slnkom a teplom.
5. Váha má byť v suchu a v miestnosti, kde nie sú leptavé výpary.
6. Každá váha má vyznačenú určitú nosnosť, ktorú pri vážení nesmieme prekročiť, aby sa nenarušila citlivosť a presnosť váh.

Postup pri vážení:

1. Pred vážením sa presvedčíme, či je váha správne umiestnená (skontrolujeme aj stav vodováhy na váhach, či sú váhy vo vodorovnej polohe; ak nie, vyrovnáme ju korekčnými skrútkami umiestnenými na nožičkách váh).
2. Skontrolujeme čistotu misky a celého priestoru váh.
3. Váhy zapneme do zdroja napätia a stlačíme tlačidlo ON/OFF.
4. Váhy pred vážením vynulujeme.

5. Do stredu misky váh vložíme prázdnu kadičku (Petriho mis-ku) a váhy opäť vynulujeme.
6. Do čistej a suchej kadičky nasypeme chemikáliu pomocou laboratórnej lyžičky.
7. Odčítame znázornenú hmotnosť chemikálie.
8. Pridávaním, alebo naopak odoberaním chemikálie pomocou laboratórnej lyžičky sledujeme na displeji aktuálnu hodnotu hmotnosti chemikálie.
9. Hmotnosť odčítavame pri stabilizovaní číselníka na váhach, nie kým sú čísla v pohybe.
10. Po ukončení váženia odložíme z váh všetky vážené predme-ty, váhy vynulujeme a vyčistíme od príp. rozsypanej chemi-kálie a vypneme.

ÚLOHA:

1. Pomocou váženia skontrolujte presnosť vášho pipetovania. (postup a výsledky praktického cvičenia zapíšeme vo forme protokolu – pozri Príloha 1)
Chemikálie: dH_2O , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
Pomôcky: sklenená pipeta, analytické váhy, 2 kadičky, stojan na skúmavky, 10 skúmaviek

Postup:

1. Pripravíme si roztok v kadičke zmiešaním 0,20 g síranu meď- natého so 100 ml destilovanej vody.

2. Do stojana na skúmavky si pripravíme 10 prázdnych, suchých a čistých skúmaviek. Sklenenou pipetou napipetujeme 3,5 ml roztoku z kadičky do každej skúmavky v stojane.
3. Zistíme hmotnosť roztoku v každej skúmavke na analytických váhach.
 - a) Analytické váhy si najprv vynulujeme na prázdnu kadičku.
 - b) Do čistej a suchej kadičky prelejeme roztok z prvej skúmavky a zaznačíme si zobrazenú hmotnosť na váhach.
 - c) Obsah kadičky vylejeme späť do skúmavky, kadičku usušíme gázou a vlejeme do nej roztok z druhej skúmavky, ktorého hmotnosť si znovu zaznačíme. Tento postup opakujeme so všetkými 10 skúmavkami.
4. Výpočtom smerodajnej odchýlky (S) a variačného koeficientu (V_k) zistíme presnosť nášho pipetovania:
 - a) Vypočítame priemernú hmotnosť (\bar{x}) všetkých 10 vzoriek podľa vzorca:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

Legenda:

\bar{x} – aritmetický priemer

x_i – hmotnosť roztoku z jednej skúmavky

n – počet všetkých hmotností

- b) Od každej hmotnosti odčítame priemer (vznikne nám 10 výsledkov):

$$x_i - \bar{x}$$

- c) Každú výslednú hodnotu z bodu b) umocníme (výsledkom tohto kroku bude 10 mocnín):

$$(x_i - \bar{x})^2$$

- d) Všetky umocnené hodnoty z bodu c) spolu sčítame:

$$\sum (x_i - \bar{x})^2$$

- e) Vypočítame smerodajnú odchýlku:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

- f) Vypočítame variačný koeficient:

$$Vk = \frac{S}{\bar{x}} * 100 [\%]$$

Pozn.: Správna presnosť pipetovania je, ak hodnota Vk je do 5 %, pri veľkom množstve vzoriek do 10 %.

6. PRÍPRAVA PRESNÝCH, TLMIVÝCH A IZOTONICKÝCH ROZTOKOV

6.1 Všeobecná charakteristika roztokov

Roztok – kvapalná sústava, v ktorej je rozpúšťadlom kvapalina a v nej je rozpustená tuhá, kvapalná alebo plynná látka

Rozpustnosť – schopnosť látok rozpúšťať sa v určitom rozpúšťadle (závisí od rozpúšťadla, rozpustnej látky, teploty a tlaku)

Nasýtený roztok – maximálne množstvo rozpustenej látky

Rýchlosť rozpúšťania – závisí od veľkosti povrchu rozpustných látok, ktoré sú v kontakte s rozpúšťadlom

- urýchli sa premiešavaním zmesi
- rozmiešaná tuhá látka sa rozpustí rýchlejšie

Rozpúšťanie – častice rozpúšťanej látky sa rozptyľujú medzi molekuly rozpúšťadla

Rozpúšťadlá

- *polárne* – voda, amoniak, kyselina octová
- *nepolárne* – alkány, benzén, toluén, éter, chloroform
 - polárne zlúčeniny sa rozpúšťajú v polárnych rozpúšťadlách
 - nepolárne sa rozpúšťajú v nepolárnych rozpúšťadlách

Rozpúšťadlá:

1. **amfiprotné** – sú schopné autoprotolýzy (voda)
2. **aprotogénne** – nie sú schopné autoprotolýzy (pyridín)
3. **inertné** – neovplyvňujú protolytické rovnováhu (benzén)

6.2 Vyjadrovanie zloženia roztokov

1. Molarita – [mol/l]

– jednotka látkového množstva n podľa SI – [mol]

$$C_B = \frac{n_B}{V}$$

Legenda:

C_B – koncentrácia rozpustnej látky

n_B – hmotnosť látkového množstva rozpustnej látky

V – objem roztoku

B – rozpustná látka

2. Molalita – [mol/kg]

$$m_B = \frac{n_B}{m_r}$$

m_r – hmotnosť rozpúšťadla

3. Molová hmotnosť – [g/mol]

$$M_B = \frac{m_B}{n_b}$$

4. **promile (‰)** – počet hmotnostných jednotiek látky v 1 000 hmotnostných jednotkách roztoku (1 ‰ = 0,1 %)

5. **ppm (part per milion)** – počet hmotnostných jednotiek látky v 1 000 000 hmotnostných jednotkách prostredia, napr.: vyhodnotenie stupňa znečistenia ovzdušia (1 ppm = 10⁻⁴ %)

6.3 Príprava roztokov

- z **tuhých látok** – naváženie vypočítaného množstva látky a jej rozpustenie v rozpúšťadle
- z **kvapalných látok** – hmotnosť látky sa prepočíta na objem (V)

$$V = \frac{m}{\varsigma}$$

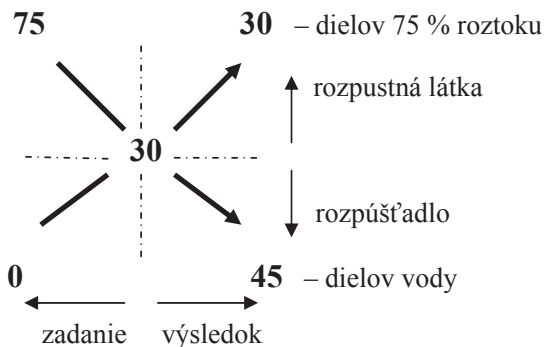
ς – hustota látky [$\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$]

Uchovávanie – pripravený roztok sa uchováva v najčastejšie v tmavej reagenčnej fľaši označenej zložením

Križové pravidlo – je jednoduchý spôsob na orientačný výpočet prípravy roztokov pomerným spôsobom. Používa sa:

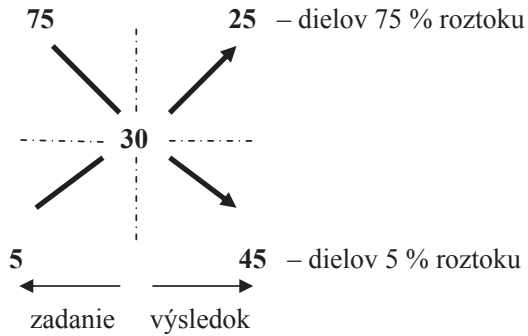
a) pri riedení roztokov

Príklad: Pripravte 30 % roztok riedením 75 % roztoku.



b) pri miešaní roztokov:

Príklad: Vypočítajte pomer miešania 75 % roztoku a 5 % roztoku tak, aby vznikol 30 % roztok.



6.4 Iónová sila roztokov

Iónová sila roztokov sú vzájomné elektrostatické interakcie prítomných katiónov a aniónov v elektrolyte.

6.4.1 Elektrická vodivosť roztokov

Vodivosť roztokov (**konduktivita**) je zapríčinená prítomnosťou elektricky nabitých častíc – katiónov (+) a aniónov (-). Roztoky, ktoré vedú elektrický prúd nazývame **elektrolyty**. Pri vedení el. prúdu dochádza k zmenám vodiča = elektrolytu. Jeho vodivosť sa mení s koncentráciou (**pri riedení sa \uparrow vodivosť**). Elektrická vodivosť roztokov závisí od koncentrácie iónov, ich mocenstva a hybnosti.

Meranie vodivosti roztokov:

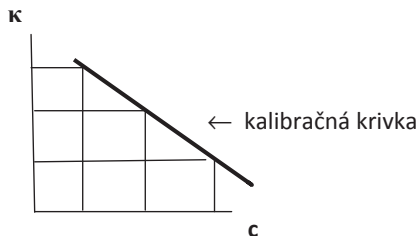
- **Konduktometria**

- elektroanalytická metóda, ktorá umožňuje meraním vodivosti (κ – k) stanovovať koncentráciu (c) rozpúšťaných látok

Meranie vodivosti vykonávame:

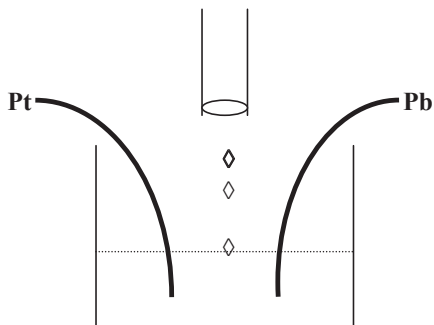
a) priamo

- stanoví sa koncentrácia vzorky na základe priameho merania vodivosti v nádobke



b) titráciou

- meranie zmien el. vodivosti, ku ktorým dochádza v roztoku elektrolytu po pridaní titračného činidla
- závislosť vodivosti od pridaného objemu titračného skúmavky



7. VZOROVÉ VÝPOČTOVÉ PRÍKLADY NA PRÍPRAVU ROZTOKOV

Zadanie č. 1:

Pripravte 250 ml roztoku NaOH s koncentráciou 1,5 mol/l.

Zápis:

V 250 ml = 0,25l

c 1,5 mol/l

m ?

M (NaOH) = 39,99 g/mol

Vzorec:

$$m = c \cdot V \cdot M$$

Výpočet:

$$m = c \cdot V \cdot M$$

$$m = 1,5 \cdot 0,25 \cdot 39,99$$

$$m = 14,99 = 15 \text{ g}$$

Záver:

Na prípravu 250 ml roztoku s koncentráciou 1,5 mol/l použijeme 15g NaOH.

Zadanie č. 2:

Vypočítajte, aká je koncentrácia NaCl vo vode, ak v 100 ml dH₂O je rozpustených 17 g NaCl.

Zápis:

V 100 ml = 0,1 l

m 17 g

c ?

M (NaCl) = 58,44 g/mol

Vzorec:

$$c = n/V; \quad n = m/M$$

Výpočet:

$$c = n/V \quad n = m/M$$

$$c = n/0,1 \quad n = 17/58,44 = 0,3$$

$$c = 0,3/0,1$$

$$c = \underline{3 \text{ mol/l}}$$

Záver:

Ak v 100 ml dH₂O je rozpustených 17 g NaCl, koncentrácia NaCl je 3 mol/l.

Zadanie č. 3:

Prípravte 250 g 38 % roztoku NaOH (solid).

Zápis:

$$w_A \dots\dots\dots 0,38$$

$$m_r \dots\dots\dots 250 \text{ g}$$

$$m_A \dots\dots\dots ?$$

Vzorec:

$$w_A = m_A / m_r$$

Výpočet:

$$w_A = m_A / m_r$$

$$0,38 = m_A / 250$$

$$m_A = 0,38 \cdot 250$$

$$\underline{m_A = 95 \text{ g}}$$

Záver:

Na prípravu 250 g 38 % roztoku použijeme 95 g NaOH.

Zadanie č. 4:

Máme roztok NaOH s koncentráciou 5 mol/l. Pripravte roztok NaOH s koncentráciou 2 mol/l s objemom 500 ml riedením dH₂O.

Zápis:

c_1 5 mol/l
 c_2 0 (dH₂O)
 c_3 2 mol/l
 V_3 500 ml = 0,5l
 V_1 ?
 V_2 ?

Vzorec:

$$c_1 V_1 + c_2 V_2 = c_3 V_3; \quad c_2 = 0$$

$$V_1 + V_2 = V_3$$

Výpočet:

$c_1 V_1 + c_2 V_2 = c_3 V_3$	$V_1 + V_2 = V_3$
$5 \cdot V_1 + 0 \cdot V_2 = 2 \cdot 0,5$	$V_2 = V_3 - V_1$
$V_1 = 1/5$	$V_2 = 0,5 - 0,2$
<u>$V_1 = 0,2 \text{ l} = 200 \text{ ml}$</u>	<u>$V_2 = 0,3 \text{ l} = 300 \text{ ml}$</u>

Záver:

Na prípravu 500 ml roztoku NaOH s koncentráciou 2 mol/l použijeme 200 ml 5 mol/l roztoku NaOH a 300 ml dH₂O.

8. PRAKTICKÁ PRÍPRAVA ODMERNÝCH ROZTOKOV

Odmerný roztok je roztok s presnou koncentráciou. To predpokladá dodržanie presného postupu pri jeho príprave, a to od správneho výpočtu cez váženie až po samotnú praktickú prípravu roztoku.

Roztoky môžeme pripraviť:

- a) z **tuhých látok** – presne naváženú tuhú chemickú látku rozpustíme v malom množstve vody
- b) z **kvapalných látok** – pipetou alebo odmerným valcom nadváhujeme vypočítané množstvo tekutej chemickej látky a zriedime ju s destilovanou vodou alebo fyziologickým roztokom

Postup:

1. Zo zadania, s použitím chemických rovníc, vypočítame množstvo chemickej látky, ktoré je potrebné na prípravu roztoku.
2. Na analytických váhach odvážeme vypočítanú hmotnosť chemickej látky.
3. Presne naváženú látku rozpustíme v malom množstve destilovanej vody pomocou sklenenej tyčinky, magnetickej miešačky alebo kahana.

4. Pripravíme si odmernú banku s objemom roztoku, ktorý máme pripraviť.
5. Do odmernej banky vložíme sklenený lievik a po tyčinke, ktorej hrot je šikmo opretý o stenu lievika, prelievame rozmiešaný roztok.
6. Destilovanou vodou opláchneme tyčinku aj lievik nad odmernou bankou, aby sa všetky časti prelievaného roztoku dostali do odmernej banky.
7. Sklenený lievik aj tyčinku vyberieme z hrdla odmernej banky a odložíme.
8. Sklenenou pipetou doplníme potrebné množstvo destilovanej vody po rysku odmernej banky, pričom dbáme na dodržanie hladiny číreho alebo farebného roztoku s ryskou odmernej banky.
9. Odmernú banku uzatvoríme gumenou zátkou a roztok v nej premiešame kývavým pohybom ruky, aby sa vyrovnala koncentrácia roztoku v celej odmernej banke.

ÚLOHA:

1. Pripravte 250 ml roztoku KOH s koncentráciou 1,5 mol/l. Pracovný postup zapíšte vo forme protokolu (formulár protokolu v Prílohe 1).

PRÍLOHY

PRÍLOHA 1: Schéma protokolu z cvičenia.



3 cm

Dátum

PROTOKOL č.

Názov:

Úloha:

Chemikálie:

Pomôcky:

Postup:

Výpočty:

Nákres:

Záver:

RNDr. Mgr. Mária Dubovská, PhD.

**NÁVODY NA CVIČENIA
Z PREDMETU
ANALYTICKÁ CHÉMIA**

Zodpovedný redaktor Jozef Molitor
Grafická úprava a zalomenie Jana Janíková

Pre Fakultu zdravotníctva a sociálnej práce Trnavskej univerzity v Trnave
pripravilo v elektronickej verzii
vydavateľstvo TYPUS UNIVERSITATIS TYRNAVENSIS,
spoločné pracovisko Trnavskej univerzity
a VEDY, vydavateľstva Slovenskej akadémie vied, ako 220. publikáciu.

ISBN 978-80-568-0043-0