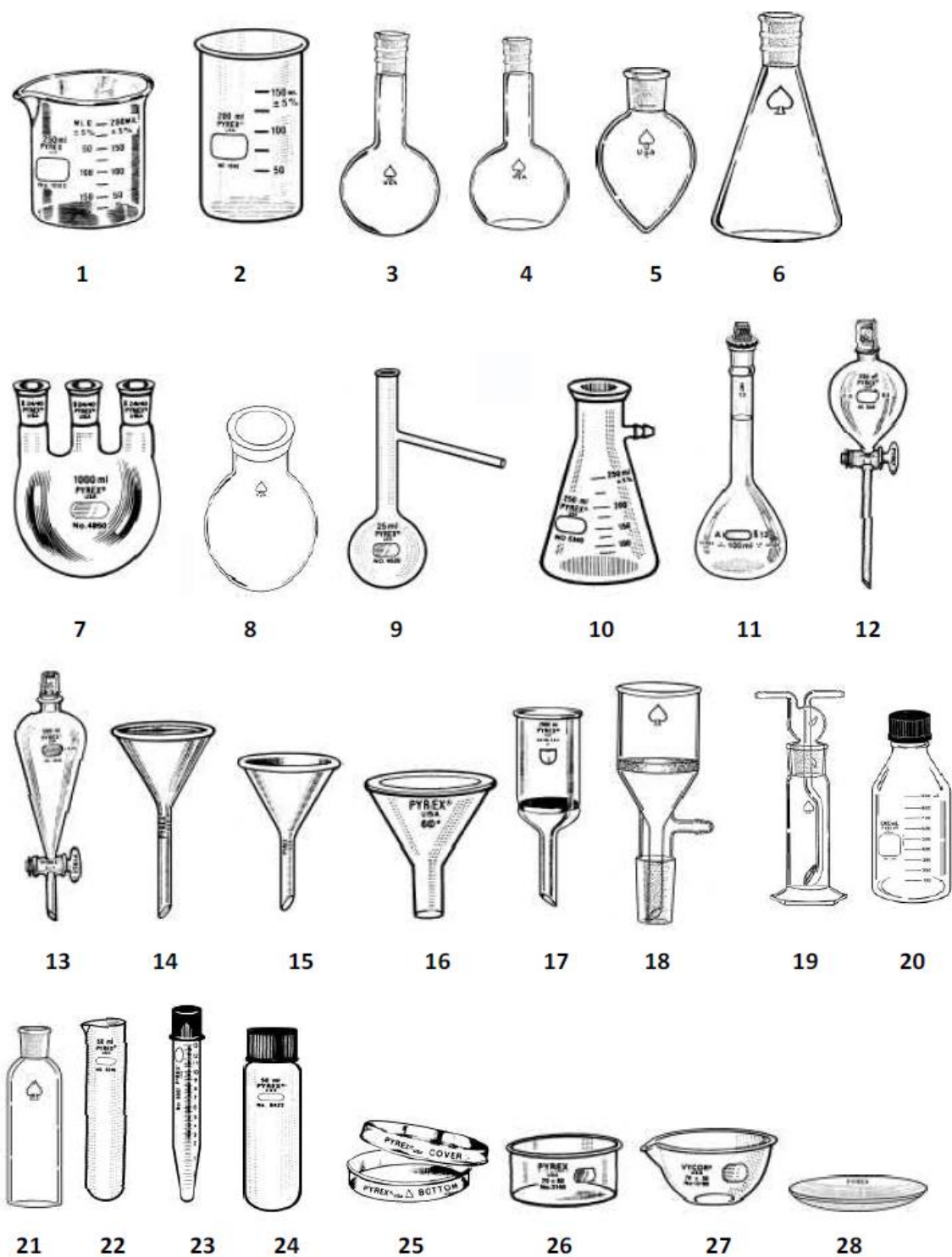


# ZÁKLADNÍ ÚKONY V BIOCHEMICKÉ LABORATOŘI

## CHEMICKÉ NÁDOBÍ

Mezi základní vybavení každé chemické laboratoře patří baňky a kádinky (Obr. 1). **Kádinky** mají rovné dno a na horním okraji mohou mít zobáček. Mohou být i kalibrovány, ale tato kalibrace slouží pouze k orientačním účelům, rozhodně podle ní nelze odměřovat přesné objemy. **Baňky** mají tvar členitější, rozdělený na vlastní baňku a hrdlo (Obr. 1). Dno mohou mít jak rovné, tak kulaté, ty se pak používají hlavně pro práci za sníženého tlaku. Baňky a kádinky jsou převážně tenkostěnné, jednou z výjimek je silnostěnná baňka odsávací. Slouží k filtraci za sníženého tlaku a je určena pouze k tomuto účelu, v žádném případě v ní nelze provádět jakékoliv chemické reakce, plnit horkými kapalinami nebo zahřívat. Baňka konického tvaru se nazývá **Erlenmeyerova** (Obr. 1). Baňku s postranním tubusem nazýváme **frakční** (Obr. 1).

Slovem **nálevka** označujeme v laboratoři větší počet pomůcek. Obyčejné nálevky slouží k přelévání kapalin a jednoduchým filtracím (Obr. 1). Pro urychlení filtrace se používají nálevky s žebrovaným vnitřním povrchem nebo dlouhým a úzkým stonkem. Tzv. **dělicí nálevky** (Obr. 1) se používají k řadě procesů, jako je extrakce, sušení, přikapávání atd. Velmi často používaná je **Büchnerova nálevka** vyrobená z porcelánu, která má dírkované dno, na které se při filtraci vkládá kolečko filtračního papíru. Podobně vypadají i **skleněné frity** (Obr. 1), které mají místo dírkovaného dna sintrované sklo propouštějící rozpouštědla. Zábrusové láhve na čištění plynů se nazývají **promývačky**. **Zásobní láhve** na chemikálie se dělí podle typu hrdla na reagenční láhve se šroubovacím víkem, sloužící především k uchování kapalin, a širokohrdlé se zábrusovou zátkou, tzv. **prachovnice**, ve kterých přechováváme pevné látky. K přechovávání malých množství pevných látek používáme **lékovky**. Protáhlá neuzavíratelná skleněná nádobka se nazývá **zkumavka** (Obr. 1), slouží k provádění chemických reakcí v malých objemech. V poslední době jsou velmi populární plastové zkumavky se šroubovacím uzávěrem. Nádoby podobného tvaru, většinou také šroubovací, používáme k centrifugaci a nazýváme je **kyvety** (Obr. 1). Bývají zhotovovány většinou z tvrzených plastů. **Hodinová skla** slouží k přikrývání nádob, k sušení, vážení a přenášení vzorků pevných látek (Obr. 1). Analogicky můžeme využívat i dvoudílné **Petriho misky** (Obr. 1), jež se používají hlavně pro kultivace mikroorganismů. **Odpařovací misky** bývají většinou vyrobeny z porcelánu (Obr. 1). Nejsou vhodné k přímému zahřívání v plamenu stejně jako misky krystalizační. Pro odpařování roztoku používáme vždy vodní lázeň. K drcení a roztírání pevných vzorků slouží **třecí misky s tloučkem** (Obr. 1). Jediným porcelánovým nádobím, které snáší přímý oheň, jsou **žihací kelímky** (Obr. 1).



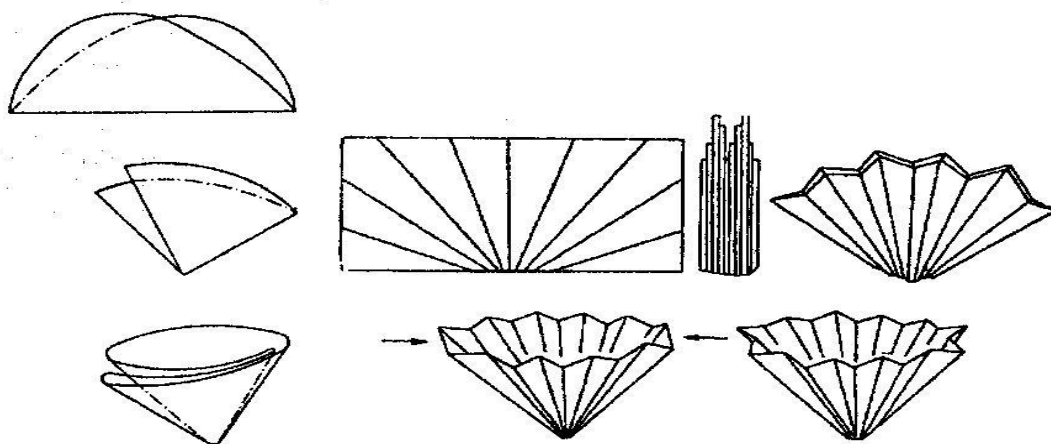
**Obrázek 1 - Laboratorní nádobí.** 1 - kádinka s výlevkou; 2 - kádinka bez výlevky; 3 - destilační baňka se zábrusem a kulatým dnem; 4 - destilační baňka se zábrusem a plochým dnem; 5 - hruškovitá baňka; 6 - Erlenmeyerova baňka se zábrusem; 7 - baňka trojhrdlá; 8 - titrační baňka; 9 - frakční baňka; 10 - baňka odsávací; 11 - odměrná baňka; 12 - dělicí nálevka kulovitá; 13 - dělicí nálevka hruškovitá; 14 - nálevka s dlouhým stonkem; 15 - nálevka s krátkým stonkem; 16 - násypka; 17 - Büchnerova nálevka; 18 - skleněná fritra pro vakuovou filtraci; 19 - promývačka; 20 - láhev se šroubovacím uzávěrem; 21 - úzkohrdlá zábrusová láhev; 22 - zkumavka; 23 - zkumavka se šroubovacím uzávěrem; 24 - centrifugační kyveta; 25 - Petriho miska; 26 - krystalizační miska; 27 - odpařovací miska; 28 - hodinové sklo.

## FILTRACE

Filtrace je oddělování fází pomocí propustného materiálu, který dovoluje průchod pouze jedné z obou fází. Obvykle se pod pojmem filtrace rozumí oddělování pevné fáze od kapaliny nebo plynu. Filtrace je v laboratoři velice běžnou operací. Nejčastější je filtrace kapalin, prováděná buď za účelem zbavení kapaliny mechanických nečistot, nebo k izolaci pevné složky, např. při krystalizaci.

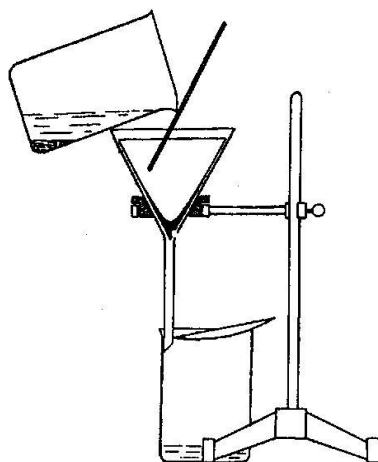
Filtrační materiál je určován chemickým charakterem filtrovaného roztoku. Může to být neklížený, tzv. filtrační papír nebo i pórovitá skleněná nebo porcelánová frit, vrstva azbestu nebo skelné vaty apod. Rychlost filtrace závisí na ploše a vlastnostech filtračního prostředí, na počtu a velikosti pórů, na tlaku a teplotě při filtraci, na povaze sraženiny i na viskozitě filtrované kapaliny.

Základní pomůckou při filtraci je filtrační nálevka, do níž se vkládá vhodně složený papírový filtr. Filtrační papír je vyráběn s různou velikostí pórů. Filtr se zhotovuje ze čtverce filtračního papíru složeného pravoúhle na čtvrtiny a sestřiženého do tvaru kruhové výseče (Obr. 2). Rozevřením takto upraveného papíru vzniká kuželový filtr, který je z jedné poloviny trojnásobný a z druhé jednoduchý. Tento tzv. **hladký filtr** (Obr. 2) filtruje pouze špičkou a poměrně pomalu. Rychleji pracuje **filtr skládaný**, nazývaný též **francouzský** (Obr. 2). Připraví se z kruhové výseče, která je vějířovitě překládána směrem od středu k obvodu. Při skládání francouzského filtru je nutno dbát, aby při několikerém překládání nedošlo k poškození filtru ve špičce. Je proto nezbytné, aby jednotlivé záhyby neprocházely jedním bodem. Před vložením do nálevky se doporučuje složený filtr rozevřít a obrátit tak, aby původně vnější stěna filtru tvořila vnitřní stěnu. Tím je možné předejít znečištění filtrátu vlákny papíru uvolněnými během skládání a nečistotami z rukou. Skládaný filtr se opírá o stěny nálevky jen hranami, a proto filtruje téměř celou svou plochou na rozdíl od hladkého filtru, který filtruje jen špičkou. **Filtrace francouzským filtrem je podstatně rychlejší než filtrace hladkým filtrem téhož průměru.**



Obrázek 2 - Skládání hladkého a francouzského filtru.

Nálevka s filtrem se vkládá do filtračního kruhu připevněného na železném stojanu. Pod ní je umístěna kádinka pro zachycování filtrátu. Stonek nálevky se při filtraci dotýká špičkou svého šikmo seříznutého stonku stěny kádinky přibližně ve dvou třetinách výšky (Obr. 3). Filtrát pak klidně stéká po stěnách nádoby a nevystříkuje. Při filtraci naléváme roztok na filtr po skleněné tyčince, která se ve vhodném úhlu přiblíží stěně filtru. Proud kapaliny je vždy třeba směřovat proti místu, kde je papírová vrstva trojitá. Sníží se tím nebezpečí protržení filtru. Filtr se plní vždy několik milimetrů pod okraj (Obr. 3). Při filtraci sraženiny je vhodné ji nechat usadit u dna kádinky a na filtr nejprve nalévat čirý matečný roztok, který rychle protéká ještě nezaneseným filtrem. Teprve nakonec se ve zbytku kapaliny rozvíří sraženina a vše se nalije na filtr.



Obrázek 3 - Filtrace za normálního tlaku.

## VÁHY A VÁŽENÍ

Ke stanovení váhového množství látky užíváme v chemické laboratoři váhy. Princip vážení je znám po staletí: jde o srovnávací metodu, kdy se srovnává neznámá hmotnost nějakého předmětu (navažovací lodička, mikrozkuhavka se vzorkem) se známou hmotností standardu (závaží). Mechanické zařízení řešilo toto srovnání pomocí docílení rovnováhy na páce a mělo tvar známých miskových vah, které vešly v obecné povědomí i jako symbol používaný pro zobrazování spravedlnosti. Až donedávna byly i nejpřesnější analytické váhy postaveny na stejném principu a vážení obsahovalo postupné přidávání závaží různé (i velmi malé) velikosti. Takový postup byl samozřejmě zejména pro začátečníky velmi zdlouhavý a možností chyb četné.

V současné době patří všechny formy dvoumiskových vah historii a v laboratoři se setkáváme výhradně s vahami jednomiskovými, které používají promítací stupnice na stínítko a jsou zapojeny do elektrické sítě. Existují dva rozdílné typy vah lišící se **váživostí**, tzn. maximální hmotností, kterou můžeme vážit, a **přesností**, se kterou na nich můžeme hmotnost stanovit:

1. **Váhy technické** mají podle provedení váživost od 100 g do několika kilogramů. Přesnost nebývá větší než  $5 \cdot 10^{-2}$  g.
2. **Váhy analytické** (Obr. 4A) mají váživost obvykle 100 g a přesnost v řádu  $10^{-4}$  g.

K orientačnímu zjištění hmotnosti předmětů, které budeme dále vážit přesněji, a k zjišťování výtěžků čistících operací používáme tzv. **předvážky** (Obr. 4B). Slouží k vážení předmětů do 200 g s přesností  $\pm 0,1$  g. V dnešní době se už používají převážně elektronické typy s digitálním displejem. Jejich forem je řada a procházejí stále vývojem od jednodušších s mechanicko-elektrickým snímačem hmotnosti přes snímače, kdy je měřen elektrický signál potřebný k vrácení misky po zatížení do nulové polohy pomocí servomotoru, až k snímačům tenzometrickým.

**Pro veškeré vážení platí základní pravidlo: chemikálie (kapalné ani pevné) nesmí přijít do přímého styku s miskami vah! Veškerá manipulace s chemikáliemi (přidávání a ubírání) se musí provádět zásadně mimo váhy. Případné nečistoty na vahách je třeba okamžitě odstranit štětečkem!!!**



Obrázek 4 - Analytické váhy (A), předvážky (B).

### ÚKOL č. 1: Určete průměrnou hmotnost a chybu měření váženého předmětu

Na analytických vahách určete hmotnost deseti stejných předmětů (mikrozkumavka a kyveta), určete aritmetickou průměrnou hmotnost jednoho předmětu a chybu měření.

#### POMŮCKY:

Kyvety (10 ks), mikrozkumavky (10 ks), analytické váhy

#### POSTUP:

1. Analytické váhy zapněte tlačítkem ON:OFF.
2. Otevřete boční dvířka vah, položte vážený předmět (mikrozkumavku nebo kyvetu) na váhy, boční dvířka zavřete.
3. Hodnotu si запиšte (s přesností na všechna desetinná místa!).
4. Postup opakujte pro všechny vážené předměty.

#### VYHODNOCENÍ:

Při měření se můžete dopustit nahodilých a systematických chyb. Zatímco systematické chyby mohou být zapříčiněny například nevhodným postupem při měření, špatnou kalibrací apod. a nelze je odstranit opakovaným měřením za stále stejných podmínek, chyby nahodilé můžete výpočtem konečné hodnoty z dostatečně velkého počtu měření z větší části eliminovat. Opakovaným měřením se vliv nahodilých chyb zmenší.

Do tabulky zapíšete všechny Vámi naměřené hodnoty a měřenou veličinu (hmotnost) označíte A. Při počtu n měření naměříte postupně hodnoty  $A_1$  až  $A_n$ . Průměr nalezených hodnot  $\hat{A}$  vypočítáte dle následujícího vzorce:

$$\hat{A} = \frac{\sum_{i=1}^n A_i}{n}$$

Čím je n větší, tím více se hodnota  $\hat{A}$  blíží správné hodnotě A.

Odchylku každého měření od této střední hodnoty označíte  $x_i$  a spočítáte ji dosazením hodnot do vzorce  $x_i = A_i - \hat{A}$ .

Střední chybu výsledku (aritmetického průměru) vypočítáte dosazením hodnot do následujícího vzorce:

$$\delta = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2}{n-1}}$$

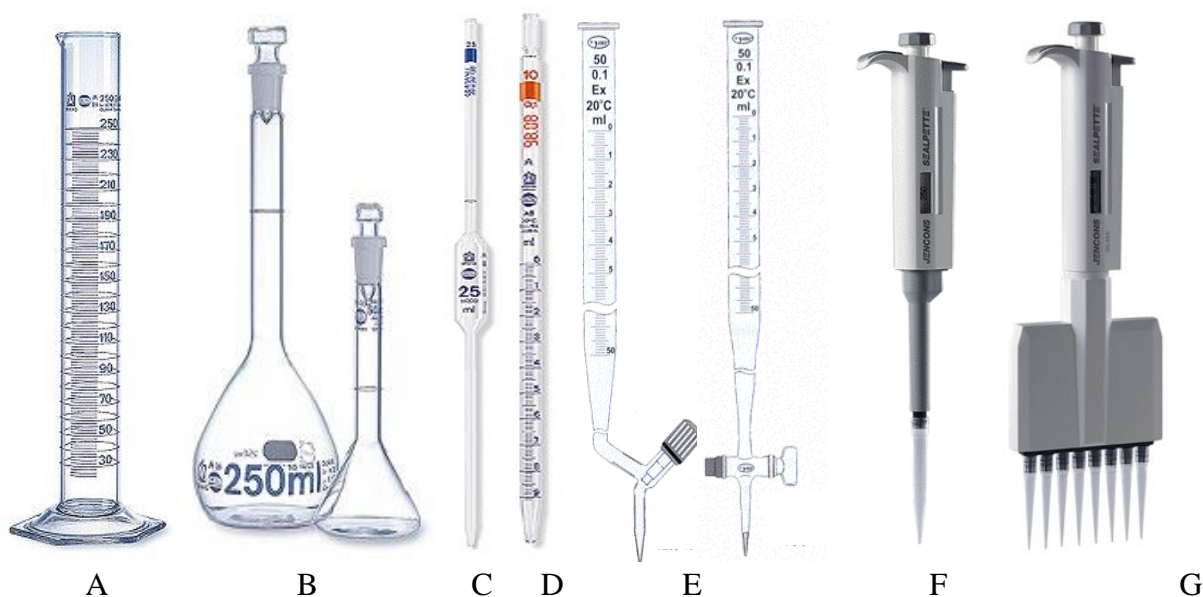
Výsledek zapíšete ve tvaru  $A = \hat{A} \pm \delta$ .

## MĚŘENÍ OBJEMŮ KAPALIN

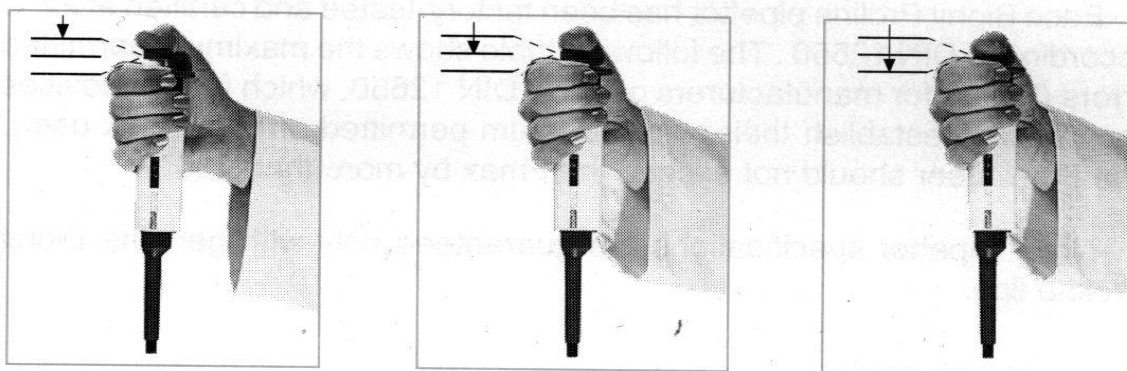
K odměřování objemů kapalin slouží odměrné válce, pipety, byrety a odměrné baňky (Obr. 5). Odměrné válce (Obr. 5A) se používají jen k přibližnému odměřování kapalin. Na přesnější měření objemů se používají pipety (buď pouze pro určitý objem, Obr. 5C, nebo dělené, Obr. 5D) a byrety, u nichž je možno kohoutkem nebo pomocí tlačky regulovat vytékání kapaliny (Obr. 5E). Všechny tyto nádoby jsou kalibrovány na „vylítí“, to znamená, že z nich vyteče přesně vyznačený objem. Při plnění pipet je třeba vždy dbát na to, aby ústí pipety bylo stále ponořeno pod hladinou kapaliny. Při jeho vynoření nad hladinu dochází k nasátí vzduchu do pipety. Při odečítání je nutno mít oko ve stejné úrovni se značkou. Odečítáme vždy spodní okraj menisku.

**Jedovaté kapaliny a koncentrované kyseliny a zásady do pipety nikdy nenasáváme ústy - vždy používáme speciální násadky či gumové balónky!!!** Jelikož je pipeta kalibrována na vylítí, nikdy se nevyfukuje, ale její obsah se nechá pouze vytéct a její špička se otře o dno nebo o stěnu nádoby, do které kapalinu odměřujeme.

V současné době se v biochemické či molekulárně biologické laboratoři se skleněnými pipetami téměř nesetkáváme, plně je nahradily pipety automatické (Obr. 5F, G) umožňující přesnější a pohodlnější odměření daného objemu. Jsou vhodné i pro pipetování mikrolitrových objemů. Automatické pipety jsou vyráběny pro různé rozsahy objemů (1-5 ml, 200-1000  $\mu$ l, 20-200  $\mu$ l, 2-20  $\mu$ l, 0,5-10  $\mu$ l a 0,1-2,5  $\mu$ l). Objem se nastavuje otočením šroubu na stupnici. Nasávání a vypouštění kapaliny přes nasazenou špičku je ovládáno pístem, který má tři polohy – klidovou, pro nasávání a pro vypouštění (Obr. 6).



**Obrázek 5 - Pomůcky k měření objemů.** A - kalibrováný odměrný válec; B - odměrné baňky; C - pipeta; D - pipeta dělená; E - byrety; F - automatická pipeta; G - automatická pipeta multikanálová.



klidová poloha

poloha pro nasávání

poloha pro vypouštění

**Obrázek 6 - Polohy automatické pipety při nasávání a vypouštění kapaliny.**

Byrety sloužící k regulovanému odběru kapalin při titracích (Obr. 5E) jsou skleněné trubice opatřené dělicími značkami. Před výtokem je umístěn kohoutek nebo pružná tlačka s hadičkou. Některé byrety mají pro lepší odečítání objemu zadní stěnu z bílého skla s modrým pruhem ve středu.

Odměrné baňky (Obr. 5B), stejně jako pyknometry (nádobky pro stanovování hustoty), jsou kalibrovány na dolítí – to znamená, že při jejich naplnění obsahují právě požadovaný objem. Hrdlo odměrných baněk je poměrně úzké, po celém obvodu opatřené ryskou. I zde je třeba plnit tak, aby se spodní okraj menisku dotýkal rysky a při plnění mít oko v úrovni rysky. Podobně jako odměrné válce i odměrné baňky se vyrábějí v objemech od 5 ml do 2 l. Odměrné baňky se používají k přípravě roztoků o přesné koncentraci. Vlastní směšování složek roztoku provádíme při ne zcela zaplněné baňce a teprve po úplné homogenizaci a vyrovnání teplot (teplota, na kterou je baňka kalibrována, je uváděna na plášti baňky - většinou 20 °C) opatrně doplňujeme rozpouštědlem po rysku.

## **ÚKOL č. 2: Práce s automatickou pipetou**

Seznamte se se sadou automatických pipet a vyzkoušejte si princip, na kterém fungují.

### **POMŮCKY:**

Automatické pipety s rozsahem 1-5 ml, 200-1000  $\mu$ l, 20-200  $\mu$ l, pipetovací špičky, předvážky s dostatečnou citlivostí, 3 kádinky 25 ml

### **POSTUP:**

1. Připravte tři suché 25 ml kádinky.
2. Váhy zapněte tlačítkem ON:OFF.
3. Prázdnou kádinku č. 1 položte na váhy.
4. Zapište si hmotnost kádinky (všechna desetinná místa!).
5. Kádinku odstraňte z vah a pipetujte do ní pipetou s rozsahem 1-5 ml desetkrát 1 ml destilované vody.
6. Kádinku s vodou zvažte, hmotnost kádinky s vodou si zapište (všechna desetinná místa!).
7. Stejně postupujte s kádinkou č. 2, do které pipetujte desetkrát 200  $\mu$ l a zároveň desetkrát 400  $\mu$ l destilované vody pipetou s rozsahem 100-1000  $\mu$ l.
8. Stejně postupujte s kádinkou č. 3, do které pipetujte desetkrát 100  $\mu$ l a zároveň desetkrát 20  $\mu$ l destilované vody pipetou s rozsahem 20-200  $\mu$ l.



## **VYHODNOCENÍ:**

Uvědomte si, jakou hustotu má destilovaná voda, a vypočítejte, jaké hmotnosti by měly mít kádinky s vodou. Pokud jste nedosáhli požadované hmotnosti, zopakujte pipetování znovu po konzultaci s vedoucím cvičení.

Získané hodnoty запиšte do tabulky, vypočítejte teoretickou hmotnost všech vámi pipetovaných objemů, stanovte procentuální odchylku měření.

## **PŘÍPRAVA A ŘEDĚNÍ ROZTOKŮ**

### **1. Složení roztoků a jejich směšování**

Roztoky jsou směsi dvou a více čistých látek. Vyznačují se tím, že v celém objemu mají stejné vlastnosti – jsou homogenní. Jednotlivé látky, z nichž se roztok skládá, se nazývají složky. Roztoky pak definujeme jako homogenní soustavy složené ze dvou nebo více složek. Například rozpuštěním chloridu sodného ve vodě vznikne roztok – soustava obsahující dvě složky – NaCl a H<sub>2</sub>O. Složku, která v roztoku převládá, označujeme jako rozpouštědlo, ostatní složky jsou rozpuštěné látky. V některých případech je obtížné určit, zda složka je rozpouštědlo nebo rozpuštěná látka (např. soustava ethanol – voda). V roztocích tuhých nebo plynných látek v kapalině se za rozpouštědlo obvykle považuje kapalina. Roztoky nemusí být vždy kapalné, ale jako roztok můžeme považovat i směs dvou plynů nebo směsné krystaly (tuhé roztoky). V následujících úvahách se budeme věnovat vodným roztokům o dvou složkách, které vznikají rozpuštěním tuhých látek nebo kapalin ve vodě. Složení roztoku je možné vyjádřit hmotnostním zlomkem nebo %, objemovým zlomkem nebo %, smíšenými % a molární nebo molální koncentrací. Pro lepší pochopení teorie uvádíme v příloze (na konci dokumentu) několik vzorových příkladů.

#### **Hmotnostní zlomek a %**

Hmotnostní zlomek složky, který se značí  $w$ , je bezrozměrná veličina, která udává hmotnost rozpuštěné látky v hmotnostní jednotce roztoku. V praxi se používají hmotnostní procenta. Hmotnostní zlomek látky v soustavě dvou složek (rozpuštěná látka a rozpouštědlo) vypočítáme podle vzorce  $w = \frac{m_{\text{látky}}}{m_{\text{O}}} = \frac{m_{\text{látky}}}{m_{\text{látky}} + m_{\text{rozpouštědla}}}$ , kde  $m_{\text{O}}$  je hmotnost celého roztoku. Hmotnostní zlomek látky v soustavě více složek vypočítáme dosazením do vzorce  $w = \frac{m_A}{m_{\text{O}}} = \frac{m_A}{\sum_i m_i} = \frac{m_A}{m_A + m_B + \dots + m_I}$ , kde  $m_A, m_B, \dots, m_I$  jsou hmotnosti jednotlivých složek roztoku, tedy všech rozpuštěných látek a rozpouštědla. Hmotnostní procenta vypočítáme jako  $\frac{m_{\text{látky}}}{m_{\text{O}}} \times 100 = w \times 100$ . Hmotnost jednotlivých složek dosazujeme vždy ve stejných jednotkách (mg, g, kg, ...).

#### **Objemový zlomek a %**

Hmotnostní zlomek složky, který se značí  $\varphi$ , je bezrozměrná veličina, která udává objem rozpuštěné látky v objemové jednotce roztoku. Složení roztoku se obvykle vyjadřuje objemovými procenty. Objemový zlomek látky v soustavě dvou složek vypočítáme podle vzorce  $\varphi = \frac{V_A}{V_{\text{O}}}$ , kde  $V_A$  je objem látky A a  $V_{\text{O}}$  je objem celého roztoku. Objemová procenta vypočítáme jako  $\frac{V_A}{V_{\text{O}}} \times 100 = \varphi \times 100$ . Objem jednotlivých složek dosazujeme vždy ve stejných jednotkách ( $\mu\text{l}$ , ml, l, ...).



## Smíšená procenta (w/v)

V laboratoři se složení roztoků často vyjadřuje pomocí tzv. smíšených procent, která udávají hmotnost rozpuštěné látky (w z anglického weight) v celém objemu roztoku (v z anglického volume). Smíšená procenta vypočítáme jako  $\frac{m_{\text{látky}}}{V_0} \times 100$ . Hmotnost nejčastěji dosazujeme v gramech a objem v mililitrech.

## Molární koncentrace

Molární koncentrace (látková koncentrace, molarita) udává počet molů určité látky v objemové jednotce roztoku. Značí se c, jednotkou je mol.dm<sup>-3</sup> (mol.l<sup>-1</sup>, M). Molární koncentraci látky vypočítáme podle vzorce  $c = \frac{n}{V_0}$ , kde n je látkové množství roztoku (jednotka mol) a V<sub>0</sub> je celkový objem roztoku (jednotka dm<sup>3</sup> = l). Látkové množství vypočítáme podle vzorce  $n = \frac{m}{M_r}$ , kde m je hmotnost dané látky v gramech a M<sub>r</sub> je relativní atomová/molekulová hmotnost dané látky. Dosazením vzorečku pro výpočet látkového množství do vzorce pro výpočet molární koncentrace získáme  $c = \frac{m}{M_r \times V_0}$ .

## Molální koncentrace

Molální koncentrace (molalita) udává počet molů určité látky v hmotnostní jednotce rozpouštědla. Značí se c<sub>m</sub>, jednotkou je mol.kg<sup>-1</sup>. Molální koncentraci látky vypočítáme podle vzorce  $c_m = \frac{n}{m_{\text{rozpuštědla}}}$ , kde n je látkové množství roztoku (jednotka mol) a m<sub>rozpuštědla</sub> je hmotnost rozpouštědla (jednotka kg). Dosazením vzorečku pro výpočet látkového množství do vzorce pro výpočet molální koncentrace získáme  $c_m = \frac{m}{M_r \times m_{\text{rozpuštědla}}}$ .

## Přepočet molární koncentrace na hmotnostní %

Molární koncentrace lze na hmotnostní procenta přepočítat dosazením do vzorce  $w = \frac{c \times M_r}{\rho \times 1000}$ , kde c je molární koncentrace (jednotka mol.dm<sup>-3</sup>), M<sub>r</sub> je relativní molekulová hmotnost, ρ je hustota (jednotka g.cm<sup>-3</sup> nebo kg.dm<sup>-3</sup>). Tím získáme hmotnostní zlomek a po vynásobení stem hmotnostní procenta.

## Přepočet hmotnostních % na molární koncentraci

Hmotnostní procenta lze na molární koncentraci přepočítat dosazením do vzorce  $c = \frac{w \times \rho \times 1000}{M_r}$ , kde w je hmotnostní zlomek (hmotnostní procenta vydělená stem), M<sub>r</sub> je relativní molekulová hmotnost, ρ je hustota (jednotka g.cm<sup>-3</sup> nebo kg.dm<sup>-3</sup>).

## Ředění roztoků – směšovací rovnice

Směšovací rovnici nebo křížové pravidlo používáme u mísení roztoků, mezi jejichž složkami nedochází k žádné chemické reakci. Při směšování roztoků platí zákon zachování hmotnosti a látkového množství (rozpuštěné látky i roztoků). Směšovací rovnice pro libovolný počet směšovaných roztoků má tvar  $m_1 \times w_1 + m_2 \times w_2 + \dots + m_n \times w_n = (m_1 + m_2 + \dots + m_n) \times w$ . Hmotnosti směšovaných roztoků jsou označeny m<sub>1</sub>, m<sub>2</sub>, ..., m<sub>n</sub>; w<sub>1</sub>, w<sub>2</sub>, ..., w<sub>n</sub> jsou hmotnostní zlomky nebo hmotnostní % rozpuštěné látky ve směšovaných roztocích; w je hmotnostní zlomek nebo hmotnostní % výsledného roztoku. Koncentrace čistého rozpouštědla je 0 % (w = 0), koncentrace přidávané čisté látky je 100 % (w = 1). Při mísení roztoků, jejichž hustota se blíží jedné, můžeme použít směšovací rovnici ve tvaru  $V_1 \times c_1 + V_2 \times c_2 + \dots + V_n \times c_n = (V_1 + V_2 + \dots + V_n) \times c$ . Při mísení roztoků s odlišnými hustotami dochází k objemovým změnám a neplatí, že celkový objem

je roven součtu dílčích objemů! V tomto případě je nutné počítat s hustotou roztoků a použít směšovací rovnici s hmotností a hmotnostními %.

### Ředění roztoků – křížové pravidlo

Pro výpočet poměru jednotlivých složek při směšování roztoků můžeme použít křížové pravidlo (stejně jako u směšovací rovnice je potřeba zohlednit objemové změny):

$$\begin{array}{ccc} w_1 & & w - w_2 \\ & \diagdown & / \\ & w & \\ & / & \diagdown \\ w_2 & & w_1 - w \end{array} \qquad \begin{array}{ccc} c_1 & & c - c_2 \\ & \diagdown & / \\ & c & \\ & / & \diagdown \\ c_2 & & c_1 - c \end{array}$$

## 2. Příprava roztoků

Základním pravidlem pro jakoukoli přípravu roztoků, vzorků pro analýzu nebo pro účely preparace nebo čištění sloučenin je, že se rozpouštěná látka přidává do vody a nikdy naopak. Při přípravě odměrných roztoků přenášíme kvantitativně navážku nebo odměřené množství kapaliny do vody, která zaujímá asi 1/3 – 1/2 objemu baňky. Kvantitativní přenesení znamená, že navážku krystalické látky sklepneme do malé nálevky zasunuté do hrdla odměrné baňky, spláchneme větším množstvím destilované vody ze stříčky, vodou ze stříčky dále do nálevky vydatně opláchneme navažovací lodičku a nakonec nálevku vypláchneme vodou ze stříčky po celém vnitřním povrchu. Rozpouštění můžeme urychlovat pouze mícháním krouživým pohybem celé odměrné baňky, nikdy ne tyčinkou nebo míchadlem. Teprve po úplném rozpuštění navážky a vyrovnání teploty baňky s okolím můžeme baňku doplnit po rysku destilovanou vodou (poslední kapky přidáváme pipetou). Pokud je látka, jejíž roztok připravujeme, kapalná, funkci navažovací lodičky může převzít malý odměrný válec, který se pak rovněž do odměrné baňky vyplachuje. Pokud kapalnou složku do vody v odměrné baňce pipetujeme, jsme problémů s kvantitativním přenesením vzorku ušetřeni. Po doplnění odměrné baňky po rysku nezapomeneme obsah důkladně promíchat. Naplněnou baňku uzavřeme čistou, suchou, v současné době nejčastěji polyethylenovou zátkou a několikrát obrátíme dnem vzhůru a zpět. Zátku přitom stále v hrdle baňky přidržujeme palcem.

### ÚKOL č. 3: Příprava 20% (w/v) zásobního roztoku skalice modré.

#### POMŮCKY:

Váhy, váženka, špachtle na vážení, kádinka pro rozpouštění síranu, míchadlo, odměrný válec, elektromagnetická míchačka s vyhříváním, nálevka, odměrná baňka (25 ml), zásobní láhev

#### CHEMIKÁLIE:

Skalice modrá (pentahydrát síranu měďnatého, Mr 249,69)

#### POSTUP:

1. Vypočítejte hmotnost skalice modré potřebnou na přípravu 25 ml 20% (w/v) roztoku.
2. Do odměrného válce nalijte přibližně 20 ml destilované vody.
3. Na vahách navažte vypočítané množství skalice modré a navážku kvantitativně převed'te vodou z válečku do kádinky.
4. Do kádinky s roztokem vložte míchadlo a na elektromagnetické míchačce míchejte roztok až do jeho úplné homogenizace. Roztok se lépe rozpouští při teplotě 50 °C.

- Poté roztok z kádinky přelijte přes nálevku do 25 ml odměrné baňky a objem doplňte po rysku destilovanou vodou ze stříčky.
- Připravený 20% roztok skalice modré přelijte do zásobní lahve a použijte v úkolu č. 5.

#### **ÚKOL č. 4: Ředění zásobního roztoku manganistanu draselného.**

##### **POMŮCKY:**

Skleněná pipeta s balónkem, skleněné zkumavky

##### **CHEMIKÁLIE:**

80% roztok manganistanu draselného

##### **POSTUP:**

- Vypočítejte objem 80% manganistanu draselného a destilované vody, které musíte smíchat, abyste dostali 10 ml 60%, 40%, 30%, 20% a 10% roztoku. Hodnoty запиšte do tabulky.

<b>Finální koncentrace KMnO<sub>4</sub></b>	<b>60%</b>	<b>40%</b>	<b>30%</b>	<b>20%</b>	<b>10%</b>
<b>80% KMnO<sub>4</sub> (ml)</b>					
<b>Destilovaná voda (ml)</b>					

- Do pěti skleněných zkumavek pipetujte vámi vypočítaná množství 80% manganistanu draselného a vody (po konzultaci výsledků s vedoucím cvičení). K pipetování použijte skleněnou pipetu s balónkem.

#### **ÚKOL č. 5: Ředění zásobního roztoku skalice modré**

##### **POMŮCKY:**

Automatická pipeta, pipetovací špičky, skleněné zkumavky

##### **CHEMIKÁLIE:**

20% roztok skalice modré (pentahydrát síranu měďnatého) připravený v úkolu č. 3

##### **POSTUP:**

- Vypočítejte množství roztoku barviva a destilované vody, které musíte smíchat v poměru 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 a 9:1 tak, aby celkový objem roztoku byl 5 ml. Hodnoty запиšte do tabulky.

<b>Ředění</b>	<b>1:9</b>	<b>2:8</b>	<b>3:7</b>	<b>4:6</b>	<b>5:5</b>	<b>6:4</b>	<b>7:3</b>	<b>8:2</b>	<b>9:1</b>
<b>Roztok barviva (ml)</b>									
<b>Destilovaná voda (ml)</b>									

2. Do devíti skleněných zkumavek pipetujte vámi vypočítaná množství 20% roztoku modré skalice a destilované vody (po konzultaci výsledků s vedoucím cvičení). K pipetování použijte automatickou pipetu.

## Vzorové příklady přípravy a ředění roztoků

**1. Vyjádřete hmotnostním zlomkem a hmotnostními procenty složení roztoku, který byl připraven rozpuštěním 15 g hydroxidu sodného ve 100 g vody.**

Výpočet: Dosadíme do vzorce pro výpočet hmotnostního zlomku  $w = \frac{m_{\text{látky}}}{m_{\text{O}}} = \frac{m_{\text{NaOH}}}{m_{\text{NaOH}} + m_{\text{vody}}} = \frac{15}{15 + 100} = 0,13$ . Hmotnostní % =  $w \times 100 = 0,13 \times 100 = 13$  %.

Odpověď: Hmotnostní zlomek NaOH v roztoku je 0,13, koncentrace roztoku je 13 % (hmotnostních).

**2. V jakém objemu vody rozpustíte 15 g hydroxidu sodného, abyste získali roztok o koncentraci 15 % (hmotnostních)?**

Výpočet: Dosadíme do vzorce pro výpočet hmotnostního zlomku  $w = \frac{m_{\text{látky}}}{m_{\text{O}}} = \frac{m_{\text{NaOH}}}{m_{\text{NaOH}} + m_{\text{vody}}}$ .

Hmotnostní zlomek  $w = 0,15$ , hmotnost NaOH = 15 g. Dosazením těchto hodnot získáme  $m_{\text{vody}} = 85$  g.

Odpověď: Objem vody, ve které navážku NaOH rozpustíme, je 85 cm<sup>3</sup> (hustota vody  $\rho = 1$  g.cm<sup>-3</sup>).

**3. Jak připravíte 100 ml 20% (w/v) roztoku chloridu sodného?**

Výpočet: Dosadíme do vzorce  $20 = \frac{m_{\text{NaCl}}}{V_{\text{O}}} \times 100$ ;  $V_{\text{O}}$  je 100 ml.  $20 = \frac{m_{\text{NaCl}}}{100} \times 100 \rightarrow m_{\text{NaCl}} = 20$  g.

Odpověď: Navážku 20 g NaCl rozpustíme v menším objemu vody a po úplném rozpuštění doplníme na objem 100 ml v odměrné baňce.

**4. Vyjádřete objemovým zlomkem a objemovými procenty složení roztoku, který byl připraven zředěním 3 cm<sup>3</sup> absolutní kyseliny mravenčí na celkový objem 89 cm<sup>3</sup>.**

Výpočet: Dosadíme do vzorce  $\varphi = \frac{V_{\text{A}}}{V_{\text{O}}} = \frac{3}{89} = 0,0337$ . Objemová % =  $\varphi \times 100 = 0,0337 \times 100 = 3,37$  %.

Odpověď: Objemový zlomek kyseliny mravenčí v roztoku je 0,0337, koncentrace roztoku je 3,37 % (objemových).

**5. Jaký je objem 0,2 M roztoku, ve kterém je 9,8 g hydroxidu sodného?**

Výpočet: Objem vyjádříme ze vzorce  $c = \frac{n}{V_{\text{O}}} = \frac{m}{M_{\text{r}} \times V_{\text{O}}} \rightarrow V_{\text{O}} = \frac{m}{M_{\text{r}} \times c}$ . Dosazením vypočteme  $V_{\text{O}} = \frac{9,8}{40 \times 0,2} = 1,225$  dm<sup>3</sup>.

Odpověď: Objem roztoku je 1,225 dm<sup>3</sup>.

**6. Jak připravíte 500 ml roztoku dusičnanu stříbrného o koncentraci 0,625 mol.dm<sup>-3</sup>?**

Výpočet: Navážku vyjádříme ze vzorce  $c = \frac{m}{M_{\text{r}} \times V_{\text{O}}} \rightarrow m = c \times M_{\text{r}} \times V$ . Dosazením vypočteme  $m = 0,625 \times 169,873 \times 0,5 = 53,08$  g.

Odpověď: Navážku 53,08 g dusičnanu stříbrného rozpustíme v menším objemu vody a po úplném rozpuštění doplníme na objem 500 ml v odměrné baňce.

**7. Jaká je koncentrace roztoku, který vznikl rozpuštěním 32 g HNO<sub>3</sub> a doplněním na celkový objem 250 cm<sup>3</sup>?**

Výpočet: Dosadíme do vzorce  $c = \frac{m}{M_{\text{r}} \times V_{\text{O}}} = \frac{32}{63,01 \times 0,25} = 2,03$  mol.dm<sup>-3</sup>.

Odpověď: Výsledná koncentrace roztoku je 2,03 mol.dm<sup>-3</sup>.

**8. Ve 100 g vody bylo rozpuštěno 14 g chlorečnanu draselného. Určete molalitu vzniklého roztoku.**

Výpočet: Dosadíme do vzorce  $c_m = \frac{m}{M_r \times m_{\text{rozpuštědla}}} = \frac{14}{122,55 \times 0,1} = 1,14 \text{ mol.kg}^{-3}$ .

Odpověď: Molalita roztoku je  $1,14 \text{ mol.kg}^{-3}$ .

**9. Kolik gramů cukru je nutno rozpustit ve  $4,5 \text{ dm}^3$  vody, abychom získali 15 % roztok?**

Výpočet: Hmotnost cukru vyjádříme ze vzorce  $w = \frac{m_{\text{cukru}}}{m_{\text{cukru}} + m_{\text{rozpuštědla}}} \rightarrow m_{\text{cukru}} = \frac{w \times m_{\text{rozpuštědla}}}{(1-w)} = \frac{0,15 \times 4,5}{1-0,15} = 794,12 \text{ g}$ .

Odpověď: Potřebujeme  $794,12 \text{ g}$  cukru.

**10. Koncentrace roztoku kyseliny sírové je  $2 \text{ mol.dm}^{-3}$  a hustota  $1,1206 \text{ g.cm}^{-3}$ . Vyjádřete složení roztoku hmotnostním zlomkem.**

Výpočet: Dosadíme do vzorce  $w = \frac{c \times M_r}{\rho \times 1000} = \frac{2 \times 98,08}{1,1206 \times 1000} = 0,175$ .

Odpověď: Objemový zlomek 2M kyseliny sírové je  $0,175$ .

**11. Určete molární koncentraci roztoku kyseliny chlorovodíkové o hmotnostním složení 20 % HCl a hustotě  $1,1 \text{ g.cm}^{-3}$ .**

Výpočet: Dosadíme do vzorce  $c = \frac{w \times \rho \times 1000}{M_r} = \frac{0,2 \times 1,1 \times 1000}{36,46} = 6,03 \text{ mol.dm}^{-3}$ .

Odpověď: Molární koncentrace 20% HCl je  $6,03 \text{ mol.dm}^{-3}$ .

**12. Máme 54 g 29% roztoku, který zředíme 12 g rozpouštědla. Jaká bude výsledná koncentrace roztoku vyjádřená hmotnostním zlomkem?**

Výpočet: Dosadíme do směšovací rovnice  $m_1 \times w_1 + m_2 \times w_2 = (m_1 + m_2) \times w$   
 $54 \times 0,29 + 12 \times 0 = (54 + 12) \times w$   
 $w = 0,24$

Odpověď: Výsledný hmotnostní zlomek roztoku je  $0,24$  (24 %).

**13. Máme 61 g 13% roztoku, do kterého přidáme 12 g 4% roztoku. Jaká bude výsledná koncentrace roztoku vyjádřená hmotnostními %?**

Výpočet: Dosadíme do směšovací rovnice  $m_1 \times w_1 + m_2 \times w_2 = (m_1 + m_2) \times w$   
 $61 \times 13 + 12 \times 4 = (61 + 12) \times w$   
 $w = 11,52 \%$

Odpověď: Výsledná koncentrace roztoku je  $11,52 \%$ .

**14. Z 50 g 30% roztoku  $\text{H}_2\text{SO}_4$  máme připravit 40% roztok. Kolik  $\text{cm}^3$  čisté kyseliny sírové přidáme?  $\rho(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1,8 \text{ g.cm}^{-3}$**

Výpočet: Dosadíme do směšovací rovnice  $m_1 \times w_1 + m_2 \times w_2 = (m_1 + m_2) \times w$   
 $50 \times 30 + m_2 \times 100 = (50 + m_2) \times 40$   
 $m_2 = 8,33 \text{ g}$

Objem kyseliny sírové vypočítáme dosazením do vzorce  $V = \frac{m}{\rho} = \frac{8,33}{1,8} = 4,63 \text{ cm}^3$ .

Odpověď: Přidáme  $4,63 \text{ cm}^3$  kyseliny sírové.

**15. Pomocí křížového pravidla vypočítejte, v jakém hmotnostním a objemovém poměru musíme smíchat 10% roztok amoniaku ( $\rho = 0,9575 \text{ g.cm}^{-3}$ ) s 26% roztokem amoniaku ( $\rho = 0,9040 \text{ g.cm}^{-3}$ ), aby vznikl 20% roztok.**

Výpočet: Zapišeme křížové pravidlo:

26%	\	20 %	/	10	hmotnostní poměr 26% NH <sub>3</sub> : 10% NH <sub>3</sub> = 10 : 6 = 5 : 3 objemový poměr ( $V = \frac{m}{\rho}$ ) 26% NH <sub>3</sub> : 10% NH <sub>3</sub> = $\frac{5}{0,904} : \frac{3}{0,9575} =$ $= 5,53 : 3,13 = 1,77 : 1$
10%	/	20 %	\	6	

Odpověď: Roztoky 26% NH<sub>3</sub> a 10% NH<sub>3</sub> smícháme v hmotnostním poměru 5:3 a objemovém poměru 1,77:1.

**16. Vypočtěte koncentraci roztoku vzniklého smísením 200 cm<sup>3</sup> roztoku kyseliny chlorovodíkové o koncentraci 0,2 mol.dm<sup>-3</sup> a 300 cm<sup>3</sup> roztoku téže kyseliny o koncentraci 0,1 mol.dm<sup>-3</sup> a po doplnění na objem 500 cm<sup>3</sup> vzniklého roztoku.**

Výpočet: Dosadíme do směšovací rovnice

$$c_1 \times V_1 + c_2 \times V_2 = (V_1 + V_2) \times c$$

$$0,2 \times 200 + 0,1 \times 300 = 500 \times c$$

$$c = 0,14 \text{ mol.dm}^{-3}$$

Odpověď: Molární koncentrace výsledného roztoku bude 0,14 mol.dm<sup>-3</sup>.