Ústav lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF
a LABMED, a.s.
Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach

Lekárska chémia
Návody a protokoly na praktické cvičenia

2012

ISBN 978-80-7097-973-0

Autori:
RNDr. Marek Stupák, PhD.
RNDr. Jana Mašlanková, PhD.
Mgr. Peter Urban, PhD.
RNDr. Miroslava Bilecová-Rabajdová
prof. Ing. Juraj Guzy, CS.
prof. Ing. Mária Mareková, CSc.

Známe príslovie hovorí: „Je lepšie raz vidieť, ako stokrát počuť.“ S týmto vedomím je koncipovaná elektronická verzia učebných textov, keďže sme presvedčení, že praktická laboratórna skúsenosť je nenahraditeľná a má stále svoj význam vo vysokoškolskom štúdiu. V predložených učebných textoch nájdete súbor experimentov, ktoré vhodnou formou dopĺňajú a pomáhajú lepšie pochopiť teoretické vedomosti získané tak samoštúdiom, ako aj z prednášok. Zároveň táto e-verzia umožňuje študentom po vytlačení a následnom vyplnení jednotlivých tabuliek, pozorovaní a záverov, predložiť ich ako laboratórny protokol, ktorý potvrdzuje, že uvedené úlohy zvládli.

Prajeme vám mnoho študijných úspechov na laboratórnych cvičeniach z lekárskej chémie.

Autori

Obsah

1. Základy laboratórnej techniky
2. Kyseliny a zásady
3. Kinetika a rovnováhy
4. Odmerná analýza
5. Optické metódy
6. Stomatologické materiály
7. Metódy delenia látok
8. Vlastnosti organických zlúčenín I.
9. Vlastnosti organických zlúčenín II.
10. Sacharidy
11. Lipidy
12. Aminokyseliny
13. Proteíny

Základy laboratórnej techniky

Obsah

Vybavenie pracovného stola, základné laboratórne sklo a porcelán..... 2
Práca s kahanom..... 4
Meranie objemov..... 5
Príprava a prekryštalizovanie jodidu olovnatého..... 9
Kontrolné otázky..... 10

Zásady bezpečnosti práce v chemickom laboratóriu

1. Každý študent je povinný oboznámiť sa so zásadami bezpečnosti práce v laboratóriu, podpísať o tom prehlásenie a tieto zásady dodržiavať.
2. V laboratóriu je prísne zakázané jesť, fajčiť, piť vodu z vodovodu alebo iné nápoje, žuvať žuvačku a vykonávať činnosti nesúvisiace s náplňou laboratórnej práce.
3. Študent pred vstupom do laboratória alebo počas prítomnosti v laboratóriu nesmie používať lieky alebo iné látky oslabujúce jeho pozornosť.
4. Je zakázané do chemického laboratória nosiť prstene, šperky a iné drahé ozdobné predmety, ktoré môžu študenta obmedzovať v práci, alebo sa môžu v laboratóriu poškodiť.
5. Študent je povinný oboznámiť sa s vybavením laboratórneho stola a na pracovnej ploche môže mať len predmety a pomôcky, ktoré bezprostredne potrebuje na experimentálnu prácu. Je zakázané svojvoľne robiť experimenty, ktoré nie sú v náplni praktického cvičenia.
6. Pri skúmavkových reakciách (kvalitatívne reakcie) je nutné pracovať s čo najmenším množstvom reagencií. Prebytočne naliate reagencie sa nikdy nesmú vlievať späť do reagenčných fliaš. Po použití reagencie fľašu ihneď zatvoriť pôvodnou zátkou a vrátiť na určené miesto. Nepoškodzovať nálepky na reagenčných fľašiach.
7. Pri pipetovaní roztokov sklenenou pipetou musí byť pipeta dokonale umytá pre každú jednotlivú reagenciu. Pri pipetovaní kvapalinu nikdy nenasávať ústami. Použiť špeciálne nasávacie balóniky, alebo pumpičky. Pri používaní automatických pipiet (dávkovačov) sa má pred pipetovaním nového roztoku vymeniť špička. Pevné substancie naberať pomocou lyžičky.
8. Práce s ľahko prchajúcimi, alebo zapáchajúcimi látkami sa robia v digestóriu so zapnutým odťahom. Po práci s týmito látkami je potrebné dbať na dokonalé umytie laboratórneho skla, pracovnej plochy a rúk.
9. Pri riedení koncentrovaných kyselín lejeme vždy kyselinu do vody a nie opačne.
10. Pri zahrievaní v skúmavkách dbáme, aby ich vonkajšia strana bola suchá, ináč prasknú. Obsah skúmavky (naplniť najviac do 1/4 objemu) treba zahrievať pri hladine a obsah pretrepávať, aby sa zahrieval rovnomerne. Otvor skúmavky treba odvrátiť od seba a aj od blízko stojacich osôb. Pri práci používať držiak na skúmavky a ochranné okuliare.
11. Počas nalievania a pipetovania činidiel do skúmaviek, alebo iných nádob, nikdy sa nenakláňame nad otvor, skúmavku nedržíme blízko tváre alebo šiat.
12. Pri práci s horľavinami (napr. org. rozpúšťadlá) - v laboratóriu nesmie horieť otvorený plameň. Na ich zahrievanie používame vodné kúpele ohrievané elektricky. Ak by v laboratóriu vznikol požiar, lokalizujeme oheň tak, že ho prikryjeme na to určenou azbestovou prikrývkou (visí na stene v laboratóriu). Pri väčšom požiari použijeme hasiaci prístroj.
13. Pri manipulácii s biologickým materiálom (krv, krvné sérum, moč, sliny, tkanivové homogenáty) je potrebné postupovať tak, ako keby išlo o infekčný materiál. Použité pipety (pipetovacie špičky) sa po vypláchnutí vodou odkladajú na určené miesto na dezinfekciu.
14. Zvyšky chemikálií, ktoré by mohli vážne znečistiť životné prostredie (soli ťažkých kovov a pod.), sa nesmú vylievať do výlevky. Uskladňujú sa do zvlášť na to určených nádob.
15. Pri postriekaní šiat, rúk alebo tváre kyselinami, zásadami ale aj inými reagenciami, ihneď postriekané miesto poumývať dostatočným množstvom vody. Potom pod vedením učiteľa použiť dostupné neutralizačné roztoky. Učiteľ zaisťuje, ak je nutné, i ďalšiu potrebnú pomoc.
16. Každú i najdrobnejšiu nehodu je študent povinný hlásiť učiteľovi.

17. Študenta, ktorý nedodržiava bezpečnostné predpisy, má vyučujúci právo vykázať z praktického cvičenia.
18. Po skončení cvičenia uvedie študent svoj pracovný stôl do poriadku, skontroluje najmä uzavretie plynu a vody. Odchádza iba na pokyn učiteľa.
19. Z laboratória je prísne zakázané odnášať akýkoľvek materiál (chemikálie, laboratórne pomôcky a pod.)
20. Škody, ktoré študenti spôsobili nedodržaním bezpečnostných a pracovných predpisov je povinný uhradiť.
21. Pri neopatrnej manipulácii s laboratórnym sklom (krehký materiál) môže dôjsť k jeho rozbitiu a k rezným poraneniam osôb. So sklenenými predmetmi nikdy nenarábajte silovo.

Niektoré medzinárodné symboly označujúce charakter rizika pri práci s chemickými látkami

výbušnina

oxidovadlo

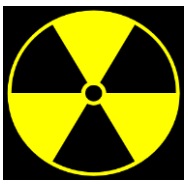
horľavina

jed

škodlivina

korozívna látka

environmentálne škodlivá látka



rádioaktívna látka

Vybavenie pracovného stola, základné laboratórne sklo a porcelán

Laboratórne stoly majú spravidla dve pracovné miesta. Pracovná plocha stolov je pokrytá ohňovzdorným a chemikáliám odolným materiálom. Každý stôl má zástrčky na elektrický prúd, prívod plynu a kompletnú vodoinštaláciu s výlevkou.

K stálemu vybaveniu pracovného miesta patrí plynový kahan s uzávermi plynu. Ďalej sa tu nachádza striekačková fľaša s destilovanou vodou, kovový stojan, stojan so skúmavkami, železná trojnožka a stojan na uloženie pipiet. V zásuvkách pracovného stola sa nachádza drobný kovový materiál, ako držiaky, svorky, železné kruhy, kovové sieťky a pod. Priestor nad pracovným stolom je vybavený poličkami, na ktoré sa ukladajú reagenčné fľaše.

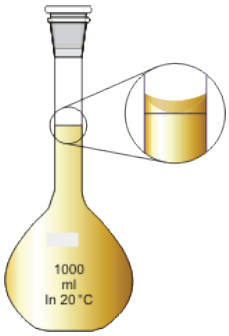
K najpoužívanejšiemu laboratórnemu sklu patria skúmavky. Tenkostenné skúmavky sa používajú na analytické reakcie. Možno ich zahrievať aj priamo na plameni. Hrubostenné skúmavky sa používajú hlavne na centrifugovanie. Na väčšie chemické operácie používame kadičky. Na rozdiel od skúmaviek, kadičky nezahrievame priamo v plameni, ale cez kovovú sieťku.

Najbežnejšie laboratórne sklo, porcelán a kovové laboratórne pomôcky

V chemickom laboratóriu sa používajú rôzne druhy baniek. Varné banky sú guľovitého tvaru s guľatým alebo plochým dnom. Banky s plochým dnom sa používajú aj na titráciu. Erlenmeyerove banky sú kužeľovitého tvaru. Majú ploché dno. Medzi laboratórne sklo patria lieviky a hodinové sklíčka. Lieviky používame na filtráciu a pri nalievaní kvapalín.

Samozrejmou výbavou chemického laboratória sú rôzne typy fliaš. Reagenčné fľaše úzkohrdlé so zátkou sa používajú na uchovávanie kvapalných reagencií. Prchavé látky, napr. koncentrované kyseliny, sú uchovávané vo fľašiach so zabrúsenou zátkou a zabrúseným skleneným klobúčikom. Tuhé (práškové) chemikálie sa uchovávajú v širokohrdlých fľašiach - prachovniciach. Obidva druhy fliaš sú zo svetlého alebo tmavého skla a používajú sa podľa citlivosti chemikálií na svetlo.

Obr. Správne odčítanie menisku pri príprave roztoku v odmernej banke Zdroj: http://glossary.periodni.com/dictionary.php?en=meniscus



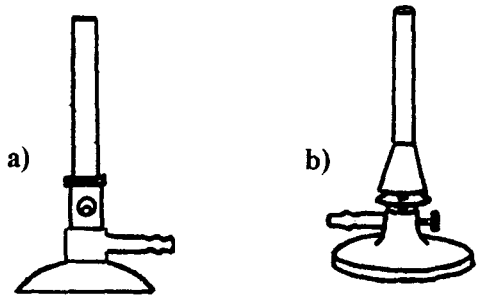
Na odmeriavanie objemov používame rôzne odmerné nádoby (viď text nižšie). Na prípravu roztokov sú odporúčané odmerné banky. Sú to sklenené banky, ktoré majú zúžené a pretiahnuté hrdlo. Na hrdle je značka, ktorá určuje pokiaľ sa banka plní kvapalinou, aby sa dosiahol objem vyznačený na banke.

Medzi nádoby z porcelánu patria odparovacie misky. Ďalej sem radíme roztieračky (trecie misky), ktoré môžu slúžiť napr. na roztieranie tkaniva pri príprave tkanivových homogenátov.

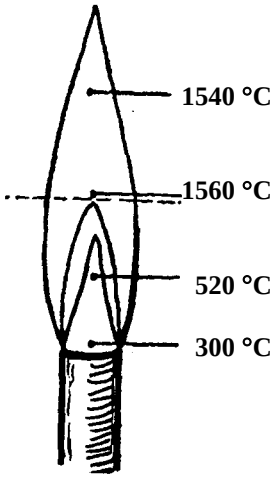
Úloha: Práca s kahanom

Množstvo chemických reakcií prebieha lepšie a s vyšším výťažkom pri teplote vyššej ako je teplota laboratória. Na zvýšenie teploty sa najčastejšie používajú plynové kahany. Plyn horí v zmesi so vzduchom. Množstvo privádzaného vzduchu určuje, či získame plameň svietivý, málo výhrevný (bez pridávania vzduchu); alebo nesvietivý, silne výhrevný (s prívodom vzduchu).

Dva základné typy plynových kahanov líšiace sa spôsobom regulácie prívodu vzduchu



Bunsenov kahan **Tecluho kahan**



Teploty plameňa plynového kahana

Pracovné potreby
Kahan, zápalky

Pracovný postup

Zapálenie kahana:

1. Prívod vzduchu na kahane pred zapálením plynu musí byť uzavretý. Urobíme tak prstencovou objímkou (Bunsenov kahan) alebo kruhovou podložkou (Tecluho kahan).
2. Otočením plynového kohútika na pracovnom stole otvoríme prívod plynu do kahana a zapálime zápalkou (nie zapaľovačom!). Získame plameň svietivý.
3. Doregulujeme prívod vzduchu tak, aby sme získali plameň nesvietivý (namodralý), ktorý budeme najčastejšie používať. Ak sa privádza príliš veľa vzduchu do plynu môže sa stať, že plameň "zoskočí" do vnútra kahana. Výhrevná zmes potom horí už od ústia trysky v horáku. Kahan sa rozpáli a vzniká nebezpečie popálenín. V takomto prípade ihneď zatvoríme prívod plynu (kohútikom na pracovnom stole).

Vypnutie kahana:

Najprv zatvoríme prívod vzduchu do kahana otočením objímky alebo prstenca na telese kahana. Potom uzavrieme prívod plynu do kahana otočením uzáveru na laboratórnom stole.

Záver:
Poznačte si do protokolu vlastné poznatky a dbajte o správny postup.

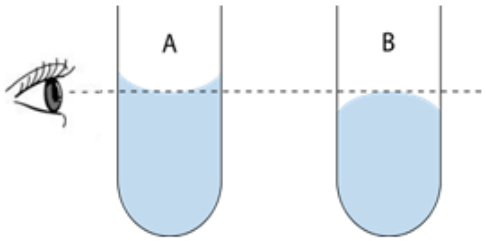
Úloha: Meranie objemov

K odmeriavaniu objemov sa v laboratóriách používajú rôzne druhy odmerných nádob, najčastejšie odmerné valce, odmerné banky, pipety a byrety.

Odmerné valce sú nádoby nižšej presnosti, objem kvapaliny je možné odmerať s chybou okolo 1%. Z tohto dôvodu sa používajú na odmeriavanie objemov pomocných činidiel. K presnejšiemu odmeriavaniu objemov, napr. pri príprave roztokov sa používajú odmerné banky. Chyba je pri nich okolo 0,05%. Presnejšie ako odmerné valce sú aj pipety a byrety, ktoré sa používajú k odoberaniu určitého objemu zo zásobnej nádoby, resp. k meraniu pridaného objemu. Odmerné valce a odmerné banky sú kalibrované na doliatie (označenie IN), čo znamená, že objem uvedený na skle sa získa doliatím kvapaliny po určitú značku. Pipety a byrety sú kalibrované na vyliatie (označenie EX), uvedený objem sa získa vypustením potrebného množstva kvapaliny. Menšie objemy kvapalín odmeriavame sklenenými pipetami alebo automatickými pipetami. Pri pipetovaní sklenenou pipetou na horný (tupý) koniec pipety nasadíme pumpičku (príp. balónik) a hrot pipety ponoríme pod hladinu kvapaliny, ktorú chceme odpipetovať. Jednou rukou pridržiavame pipetu a druhou manipulujeme s pumpičkou (balónikom), aby sa kvapalina nasávala do pipety. Hrot pipety otrieme papierovou vatou. Potom hrot pipety priložíme na stenu nádoby, do ktorej odmeriavame objem a kvapalinu necháme voľne vytiecť (pumpičku oddelíme od pipety). Počkáme ešte asi 15 sekúnd, aby stiekla kvapalina aj zo stien pipety. Pri vypúšťaní celého objemu pipety sa hrot pipety otrie o stenu nádoby. Malý zvyšok kvapaliny v hrote pipety sa nevyfukuje (toto množstvo nie je pri kalibrácii započítané do objemu pipety).

Prekrytie menisku so značkou na pipete sa odčítava vo výške oka. Väčšina vodných roztokov vytvára konkávny meniskus, odčítavame tzv. dolný meniskus, niektoré roztoky, napr. ortuť, majú meniskus konvexný. Správne odčítanie menisku je na obrázku.

Obr. Odčítanie konkávneho (A) a konvexného (B) menisku
Zdroj: http://en.wikipedia.org/wiki/Meniscus



Pri pipetovaní automatickou pipetou požadovaný objem odmeriavame pomocou manipulačného piestu, ktorý možno stlačiť do dvoch polôh. Najprv na predĺženú, kónickú časť pipety nasunieme suchú špičku. Pri napĺňaní pipety manipulačný piest stlačíme palcom(!) do prvej polohy. Potom špičku ponoríme do roztoku a pomaly uvoľňujeme tlak, až sa piest dostane do východiskovej polohy (schéma str. 14). Je nutné kontrolovať obsah špičky - vzduchová bublina, spontánne vytekanie, upchatie a pod.

Pri vyprázdňovaní špičky zatlačíme piest postupne až do druhej polohy (na doraz). Tento postup je nutné niekoľkokrát pomaly zopakovať, aby sa obsah špičky dokonale vyprázdnil (na rozdiel od sklenených pipiet).

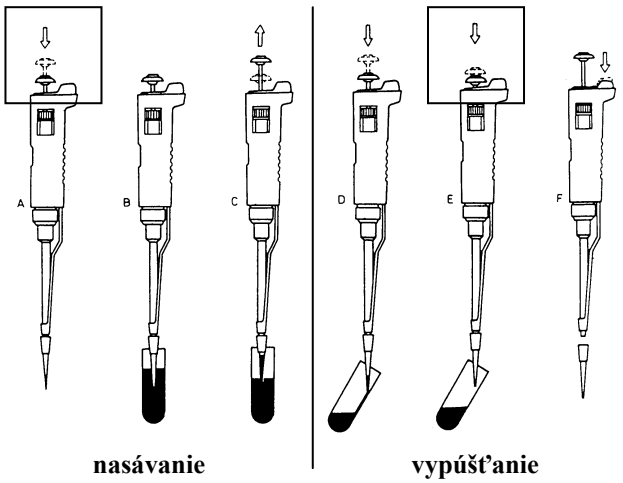
Pracovné potreby
Pipeta delená 5 ml, pipeta delená 10 ml, odmerný valec 10 ml a 25 ml, skúmavky, kadička, destilovaná voda, automatická pipeta.

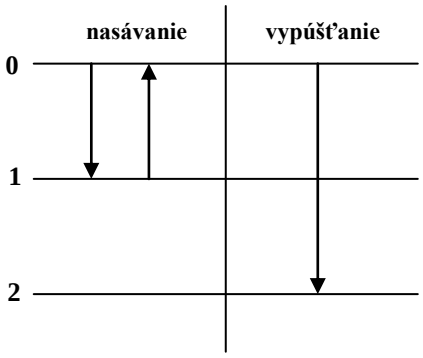
Pracovný postup
1. Pipetujte do skúmaviek 1, 2, 3, 4, 5 a 10 ml vody. Zapamätajte si výšku hladiny odmeraného objemu.
2. Pipetujte do skúmaviek 1,5; 2,5; 3,5 a 4,5 ml vody. Vyberte najvhodnejší typ pipiet.
3. Nalejte do skúmaviek rôzne množstvá vody a odhadnite objem. Skontrolujte objem preliatím vody do odmerného valca. Zistite objem celej skúmavky v ml.
4. Zistite počet kvapiek v 1 ml vody tak, že po kvapkách vypustite 1 ml. Vypočítajte objem jednej kvapky. Zapíšte do zošita zistené hodnoty.

Pozorovanie:

Odhadnutý objem	Skutočný objem	Chyba merania

Záver:
Vyhodnoťte svoju zručnosť v jednotlivých úkonoch. Precvičujte priebežne pri ďalších úlohách.



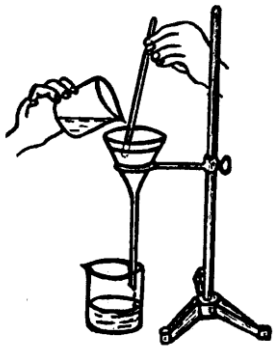


Postup pri nasávaní a vypúšťaní kvapaliny ručným dávkovačom (autom. pipetou)

Niektoré základné laboratórne práce

Zahrievanie patrí medzi základné operácie v laboratóriu, pretože väčšina reakcií prebieha dostatočnou rýchlosťou iba pri zvýšenej teplote. Zahrievať môžeme priamo v plameni plynového kahana (skúmavky). Keď to vyžaduje charakter reakcie, zahrievame vo vodnom kúpeli. Jednoduchý vodný kúpel si pripravíme zahrievaním kadičky s vodou, do ktorej vložíme skúmavky s reagujúcimi látkami. Do kadičky vkladáme aj sklenené guľôčky na zamedzenie utajeného varu.

Filtrácia slúži najčastejšie na oddeľovanie tuhej látky od kvapalnej pomocou filtračného zariadenia. Jednoduchá filtrácia sa robí na filtračnom lieviku. Do lievika sa vkladá filtračný papier tak, aby siahal asi 2 mm pod jeho okraj. Stopka lievika sa má dotýkať steny nádoby, do ktorej sa filtruje. Filtrovaná zmes sa vlieva do lievika po tyčinke a celkový objem zmesi má byť približne 0,5 cm pod okrajom filtra. Tekutina, ktorá prešla filtračným papierom sa nazýva filtrát. Na filtri ostáva tuhá látka.



Dekantácia je spôsob oddelenia tuhej látky od kvapalnej voľným usadením tuhých častíc.

Centrifugovanie na rozdiel od filtrácie, umožňuje rýchlejšie oddeliť látky rôznych merných hmotností pomocou odstredivej sily. Protiľahlé centrifugačné skúmavky pri centrifugovaní musia byť vyvážené. Centrifugovaním sa rozvrstvia jednotlivé fázy. Tekutá fáza, ktorá je na povrchu sa nazýva supernatant. Tuhá fáza na spodu skúmavky je sediment.

Kryštalizácia je jednou z metód čistenia organických a anorganických látok. Kryštály sa vylučujú z nasýteného roztoku, pričom znečisťujúce prímesi zostávajú v matečnom lúhu.

Destilácia sa používa na čistenie kvapalín alebo k oddeľovaniu zmesí kvapalných látok s odlišnými teplotami varu.

Sublimáciou nazývame prechod látky z tuhého skupenstva priamo do plynného. Po zahriatí unikajú z tuhej zmesi pary oddeľovanej zložky, ktoré sa po ochladení premieňajú späť na tuhú látku.

Na rovnakom princípe sa zakladá **mrazová sublimácia (lyofilizácia)**. Je to metóda šetrného sušenia vodných roztokov neprchavých látok (napr. bielkovín) za nízkej teploty a vysokého vákua. Zmes látok sa najprv ochladí hlboko pod 0 °C. Postupným a pomalým zahrievaním vo vákuu zo vzniknutého ľadu unikajú molekuly vody a v sušine zostane látka v natívnom stave.

Extrakcia sa používa na oddeľovanie tuhej alebo kvapalnej látky zo zmesí na základe jej odlišnej rozpustnosti v rôznych rozpúšťadlách.

Váženie slúži na určenie hmotnosti látok. Podľa toho, aké množstvo látky a s akou presnosťou potrebujeme odvážiť, používame rôzne druhy váh (váhy torzné, technické, analytické). V našich laboratóriách budeme najčastejšie používať technické váhy.

Váhy majú zabezpečovacie zariadenie (aretáciu), ktorým sa šetria brity váhadla a misiek. Pri pridávaní závažia alebo váženej látky, váhy musia byť zaaretované.

Počas váženia na starých typoch váh kladieme na pravú misku váh závažia a na ľavú váženú látku. Chemikálie vážime v navažovačke, prípadne v kadičke. Nikdy nie priamo na miske. Navažovačku vyvážime buď závažím alebo sklenenými guličkami. Navažovačka je vyvážená, keď sa jazýček váhadla kryje s nulou na stupnici, alebo má rovnaký výkyv na obidve strany. Až potom pristúpime k vlastnému váženiu látky. Závažia pridávame na váhy pinzetou. Po skončení váženia, závažia vrátime naspäť do súpravy závažia a prípadné nečistoty na miskách odstránime štetcom.

Modernejšie elektronické váhy nepoužívajú závažia, ale na displeji priamo udávajú hmotnosť váženej látky.

Úloha: Príprava a prekryštalizovanie jodidu olovnatého

Kryštalizácia je vylučovanie pôvodne tuhej rozpustenej látky z roztokov vo forme kryštálov (kryštály sú chemicky rovnorodé častice - telesá s pravidelným tvarom).

Kryštalizácia je jednou z metód získavania čistých látok. Látka získaná kryštalizáciou je vždy čistejšia ako východzia látka, pretože nečistoty zostanú vo zvyšnej kvapaline, tzv. kryštalizačnom lúhu. Kryštalizácia nastáva najčastejšie ochladením nasýteného roztoku.

Pracovné potreby

Laboratórne váha, navažovačka, sklenená tyčinka, kadička 150 ml (2 ks), valec 100 ml a 25 ml, kahan, trojnožka, sieťka, lievik, filtračný papier skladaný, kovový kruh, Erlenmeyerove banky (2 ks)

Roztok $Pb(NO_3)_2$ (c = 0,03 mol/l), KI tuhá substancia

Pracovný postup

Príprava PbI_2

Príprava PbI_2 prebieha podľa reakcie:

$$Pb(NO_3)_2 + 2\ KI \rightarrow PbI_2 + 2\ KNO_3$$

1. Do kadičky nalejte 20 ml roztoku $Pb(NO_3)_2$ (c = 0,03 mol/l). Potom si sami pripravte 20 ml roztoku KI v takej koncentrácii, aby reakcia prebehla bezo zvyšku. Vypočítajte koľko g KI potrebujeme na prípravu tohto roztoku (M_r KI = 166).
2. Odvážené množstvo KI rozpustite v malej kadičke približne v 10 ml vody za miešania tyčinkou. Vzniknutý roztok preneste do valca a doplňte vodou po značku 20 ml (príprava roztoku vo valci je málo presná, a preto aj roztok KI je len o približnej koncentrácii).
3. Roztok KI z odmerného valca prelejte do kadičky s roztokom $Pb(NO_3)_2$. Vznikne žltá zrazenina jodidu olovnatého. Heterogénnu zmes prefiltrujte. Na filtri zostane zrazenina PbI_2, ktorá sa použije na prekryštalizovanie.

Prekryštalizovanie PbI_2

1. Vzniknutý PbI_2 sa prekryštalizuje na základe jeho lepšej rozpustnosti za tepla. Do kadičky odmerajte 70 ml vody, do ktorej preneste zrazeninu PbI_2 (aj s filtrom). Tyčinkou vymývajte PbI_2 do vody a nakoniec filtračný papier odstráňte.
2. Zmes zahrievajte na sieťke za občasného miešania tyčinkou, až sa zrazenina temer úplne rozpustí.
3. Horúci roztok prefiltrujte cez skladaný filtračný papier do Erlenmeyerovej banky (odstránia sa prípadné nečistoty). Filtrát rozdeľte na dve časti.
4. Jednu časť nechajte voľne vychladnúť na pracovnom stole a druhú časť rýchlo ochlaďte v studenej vode. V oboch prípadoch sa vytvoria kryštály PbI_2. Porovnajte ich a vysvetlite prípadné rozdiely.

Pozorovanie:

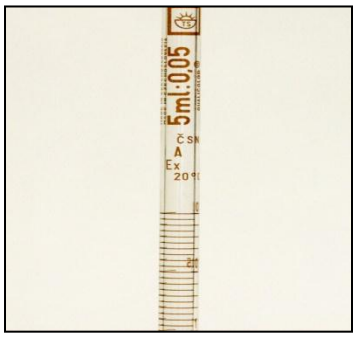
Záver:

Zhodnoťte priebeh experimentu, porovnajte veľkosť kryštálov PbI_2 vzniknutých za rôznych podmienok a vysvetlite pozorovaný jav.

Kontrolné otázky:

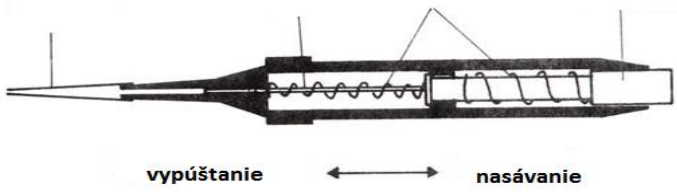
1. Určte základný rozdiel medzi Bunsenovým a Tecluho kahanom.

2. Určte v obr. A a B maximálny objem pipiet a hodnotu objemu jedného dielika.

A, 

B,

3. Popíšte jednotlivé súčasti pipety.



4. Aké je percentuálne zastúpenie vody v kostiach?

5. Akým laboratórnym postupom riedime koncentrované kyseliny.

6. Pomenujte po latinsky: H_2O_2, HClO, KNO_2, Hg_2Cl_2

7. Vysvetlite význam označenia „IN“ a „EX“ na pipetách.

8. Vysvetlite pojmy kryštalizácia a dekantácia.

9. Napíšte vzorce zlúčenín: stibium oxydulatum, acidum arsenicum anhydricum, manganum peroxydatum, acidum nitrosum anhydricum, acidum hypophosphorosum.

10. Čo rozumiete pod pojmom lyofilizácia?

Kyseliny a zásady

Obsah

Určenie pH acidobázickými indikátormi..... 6
Určenie pH pomocou prírodných indikátorov – antokyanidínov..... 7
pH telových a prírodných tekutín..... 8
Meranie pH pomocou pH-metra..... 9
Príprava acetátových tlmivých roztokov..... 11
Vplyv kyselín a zásad na pH tlmivej sústavy..... 12
Kontrolné otázky..... 13

Reakcie medzi kyselinami a zásadami patria medzi najrozšírenejšie chemické reakcie v anorganickej chémii. Základným postulátom všeobecnej teórie kyselín a zásad, ako ho zaviedol Brönsted, je definícia kyseliny ako látky schopnej za daných podmienok odštepovať (odovzdávať) protón a zásady ako látky protón viazať. Kyselina je donorom protónu a zásada je akceptorom protónu. Každá kyselina K je spriahnutá so zodpovedajúcou zásadou Z, s ktorou tvorí tzv. konjugovanú dvojicu. V roztoku preto musia byť vždy prítomní obidvaja partneri súčasne, napr.

$$HCl + NH_3 \rightarrow Cl^- + NH_4^+$$

V Brönstedovom ponímaní môžu byť kyselinami a zásadami aj niektoré ióny (katiónové, resp. aniónové kyseliny a zásady). Kyseliny a zásady sa zvyknú označiť spoločným názvom protolyty a reakcie medzi nimi za protolytické.

Samostatnú reakciu predstavuje autoprotolýza, reakcia, pri ktorej dve molekuly tej istej látky vo funkcii Brönstedovej kyseliny a zásady si navzájom vymieňajú protón. Ako príklady možno uviesť:

$$H_2O + H_2O \leftrightarrow H_3O^+ + OH^-$$

$$NH_3 + NH_3 \leftrightarrow NH_4^+ + NH_2^-$$

$$H_2SO_4 + H_2SO_4 \leftrightarrow H_3SO_4^+ + HSO_4^-$$

Ionizačná konštanta autoprotolytickej reakcie má potom, napr. v prípade autoprotolýzy vody, tvar:

$$K_c = \frac{[H_3O^+][OH^-]}{[H_2O]^2}$$

Ionizácia rozpúšťadla je malá, preto možno koncentráciu neionizovaných molekúl považovať za konštantnú. Je preto možné zaviesť novú konštantu, iónový súčin, resp. autoprotolytickú konštantu rozpúšťadla K_{aut}, ktorá pre vodu má tvar:

$$K_{aut}\ (K_V) = K_c.[H_2O]_2 = [H_3O^+][OH^-]$$

Tabuľka: Autoprotolytické konštanty rozpúšťadiel pri 18 až 25°C

Rozpúšťadlo	K_{aut}	Rozpúšťadlo	K_{aut}
Etanol	$7{,}9.10^{-20}$	Kyselina sírová	$2{,}5.10^{-4}$
Kyselina mravčia	$6{,}3.10^{-7}$	Peroxid vodíka	1.10^{-13}
Kyselina octová	$3{,}2.10^{-15}$	Voda	1.10^{-14}

Meranie a výpočet hodnôt pH

Aktivita vodíkových iónov v roztoku sa vyjadruje vodíkovým exponentom pH. Pojem vodíkového exponentu zaviedol Sörensen v snahe zjednodušiť údaje o koncentrácii vodíkových iónov. Určovanie (meranie) hodnoty pH patrí k základným úlohám v chemických laboratóriách. Pri meraní hodnôt pH sa používa niekoľko metód. K jednoduchým patria kolorimetrické metódy, ktoré využívajú rôzne acidobázické indikátory. Ako acidobázické indikátory sa používajú niektoré organické zlúčeniny, ktoré sú citlivé na zmenu koncentrácie vodíkových iónov a menia svoje zafarbenie v závislosti od hodnoty pH prostredia, v ktorom sú rozpustené. Sú to slabé kyseliny, prípadne zásady, u ktorých ionizovaná forma indikátora má iné zafarbenie ako jeho neutrálna molekula. Môžu sa používať na hrubé stanovenie hodnôt pH. Výber vhodného indikátora závisí od jeho funkčnej oblasti alebo farebného prechodu. Funkčná oblasť indikátora je definovaná ako interval medzi dvomi hodnotami pH, v ktorých možno pozorovať farebnú zmenu indikátora voľným okom. Stred farebného prechodu vždy zodpovedá pH rovnému pK_A indikátora. Potom platí

$$\text{funkčná oblasť} = pK_{Aind} \pm 1$$

kde pK_{Aind} je disociačná konštanta indikátora.

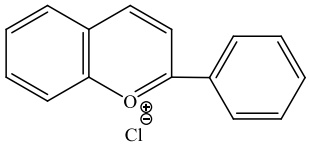
Tab.: Príklady acidobázických indikátorov

Názov indikátora	**Farba indikátora v prostredí**		**Indikačná oblasť**
	kyslom	**zásaditom**	
tymolová modrá	červená	žltá	1,2 – 2,8
metylová žltá	červená	žltá	2,0 – 4,0
metylová oranžová	oranžová	žltá	3,3 – 4,6
metylová červená	červená	žltá	4,4 – 6,2
bromtymolová modrá	žltá	modrá	6,0 – 7,6
fenolftaleín	bezfarebný	fialový	8,3 – 10,0
tymolftaleín	bezfarebný	modrý	9,3 – 10,5

Veľmi jednoduché je stanovenie pH pomocou indikátorového papierika. Univerzálny indikátorový papierik so svojou 18- člennou porovnávacou farebnou stupnicou dovoľuje odmerať pH v rozmedzí 0 – 12 s možnosťou odhadu ± 0,5 pH.

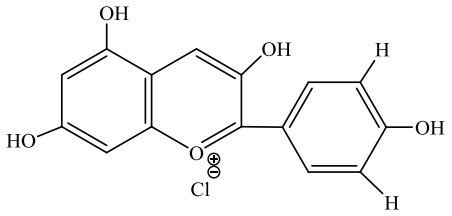
V prírode existuje niekoľko prirodzene sa vyskytujúcich látok, ktorých farba závisí od pH prostredia. Sú to tzv. antokyaníny, červené a modré farbivá, prítomné v niektorých kvetoch (napr. ruža, muškát, slez) alebo v zelenine (napr. červená kapusta). Po chemickej stránke sú to heteroglykozidy, ktoré sa varom s minerálnou kyselinou hydrolyzujú na cukornú zložku (obyčajne monosacharid alebo disacharid) a na príslušný aglykón – antokyanidín.

Antokyanidíny sú rozličné hydroxyderiváty 2-fenylbenzopyrýliumchloridu.

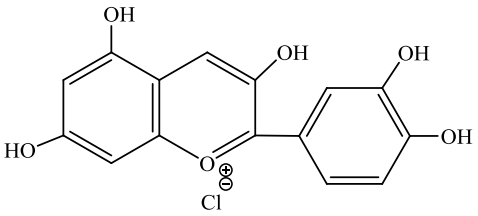


2-fenylbenzopyrýliumchlorid

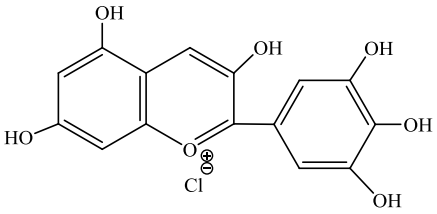
Pri výskume antokyanínov rôznych kvetov a plodov sa dospelo k záveru, že výrazná pestrofarebnosť kvetov závisí v podstate len od troch antokyanidínov: pelargonidínu, kyanidínu a delfinidínu:



pelargonidín



kyanidín



delfinidín

Tieto antokyanidíny, ako aj ich metylétery dávajú s kyselinami a zásadami za rôznych podmienok rôzne zafarbenia. Tak napr. modrá farba nevädze je zapríčinená alkalickou soľou kyanidínu, kým oxóniová soľ kyanidínu zapríčiňuje červené zafarbenie ruže. Pelargonidínchlorid je farbivo červeného muškátu.

Najpresnejším meraním pH je stanovenie pomocou pH- metra. Ide o potenciometrické stanovenie. Potenciometria patrí medzi elektroanalytické metódy, pri ktorej sa sleduje závislosť potenciálu mernej elektródy voči elektróde referenčnej v závislosti od zloženia elektrolytu. Potenciometricky môžeme určovať napr. pH alebo disociačné konštanty. Poznáme priame a nepriame potenciometrické stanovenia. Pri priamych sa priamo z nameraného rovnovážneho potenciálu posudzuje aktivita niektorej súčasti elektrolytu. Priamym je napr. meranie pH. Pri nepriamych stanoveniach sa zo zmien meraného potenciálu posudzujú zmeny aktivity niektorej zložky roztoku.

Pri potenciometrických meraniach pH roztoku sa používajú potenciometre, t.j. pH-metre. pH-meter je galvanický článok, ktorý pozostáva z 2 elektród navzájom prepojených cez elektronické zariadenie, schopné merať rozdiel potenciálov medzi nimi. Elektróda, ktorej potenciál sa so zmenou koncentrácie iónov nemení, sa nazýva štandardná (referenčná). Elektróda, ktorej potenciál závisí na zložení skúmaného roztoku (v našom prípade na koncentrácii H^+), sa nazýva merná (indikačná).

Pre elektromotorické napätie článku (EMN) platí vzťah

$$EMN = E_1 - E_2$$

E_1 = potenciál indikačnej elektródy
E_2 = potenciál referenčnej elektródy

Pre elektródový potenciál E elektródového deja pri iných podmienkach ako sú štandardné počas rovnováhy, platí Nernstova-Petersova rovnica

$$E=E^0+2{,}303\frac{RT}{nF}\,.\,\log\frac{[ox]}{[red]}$$

kde E = elektródový potenciál
E° = štandardný potenciál
n = počet elektrónov prenesených počas elektródového deja
T = absolútna teplota
R = univerzálna plynová konštanta
F = Faradayova konštanta

Pre kovové elektródy s elektródovým procesom $M \rightarrow M^{n+} + ne^-$ redukovaná forma je kov, preto [red] = 1. Podobne pre elektródový potenciál vodíkovej elektródy platí

$$E_{H2}=2{,}303\frac{RT}{F}.\log[H_3O^+]=-2{,}303\,.\,\frac{RT}{F}\,.\,pH=-59{,}2\,.\,pH$$

pretože logaritmus $[H_3O^+]$ = - pH; výraz $2{,}303\frac{RT}{F}$ má pri teplote 25 °C hodnotu 59,2 mV, takže ak stúpne pH roztoku o jednotku, poklesne elektródový potenciál vodíkovej elektródy o 59,2 mV.

Meranie pH má nezastupiteľné miesto aj v klinickej biochémii. Hodnota pH telesných tekutín podáva informáciu o stave organizmu. Väčšina životných procesov totiž môže prebiehať iba v relatívne úzkom rozmedzí hodnôt pH a už nepatrná zmena tejto hodnoty podstatne ovplyvňuje rýchlosť biologického pochodu, príp. ho až úplne zastaví. Hodnota pH prostredia väčšiny biologických pochodov sa pohybuje v rozmedzí 6 - 9. Tabuľka uvádza hodnoty pH niektorých telových a prírodných tekutín.

Tabuľka: Hodnoty pH niektorých telových a prírodných tekutín

Tekutina	pH	Tekutina	pH
Žalúdková šťava	1,5 - 2,0	Citrónová šťava	2,2 - 2,4
Moč	4,8 - 7,5	Kyslá kapusta	3,4 - 3,7
Sliny	5,8 - 7,1	Ocot	2,6 - 2,7
Sperma	6,9 - 7,4	Čerstvé mlieko	6,3 - 6,6
Krv	7,34 - 7,43	Voda z vodovodu	5,5 - 6,0
Žlč	6,2 - 8,5	Čistá destilovaná voda	7,0
Pot	3,8 - 6,8	Pivo	4,2 - 4,6

pH jednotlivých roztokov je možné vypočítať použitím odvodených vzťahov pre výpočet. Použitie príslušného vzťahu závisí od chemického charakteru určovaného roztoku. Iné vzťahy existujú pre výpočet pH silných kyselín a zásad, iné napr. pre kyseliny slabé. V nasledujúcom texte uvedieme vzťahy pre výpočet pH jednotlivých typov roztokov.

Výpočet pH roztokov silných kyselín a silných zásad

Za silné kyseliny sa považujú také kyseliny, ktoré sú vo svojich zriedených roztokoch takmer úplne disociované. Na výpočet pH je možné použiť ich látkovú koncentráciu, z ktorej sa dá odvodiť koncentrácia vodíkových iónov. Do úvahy je však vždy potrebné vziať aj sýtnosť kyseliny, ktorá určuje koncentráciu vodíkových iónov. Napr. HCl disociuje $HCl \rightarrow H^+ + Cl^-$, $c(H^+) = c(HCl)$, avšak H_2SO_4 disociuje $H_2SO_4 \rightarrow 2H^+ + SO_4^{2-}$, preto $c(H^+) = 2.c(H_2SO_4)$.

pH roztoku silnej kyseliny počítame podľa vzťahu

$$pH = - \log c(H^+)$$

Za silné zásady sa všeobecne považujú hydroxidy alkalických kovov a kovov alkalických zemín pre ich takmer úplnú disociáciu na kovový katión a hydroxidový anión. Opäť však musíme vziať do úvahy aj sýtnosť hydroxidu, ktorá určuje koncentráciu hydroxidových aniónov. Napr. NaOH disociuje $NaOH \rightarrow Na^+ + OH^-$, $c(OH^-) = c(NaOH)$, avšak $Ba(OH)_2 \rightarrow Ba^{2+} + 2OH^-$, $c(OH^-) = 2.c(Ba(OH_2))$.

pH roztoku silnej zásady počítame podľa vzťahu

$$pH = 14 – pOH$$

$$pOH = - \log c(OH^-)$$

Výpočet pH roztokov slabých kyselín a slabých zásad

Slabé kyseliny sú vo vodných roztokoch disociované len čiastočne. Stupeň disociácie závisí od hodnoty disociačnej konštanty.

pH roztokov slabých kyselín počítame podľa vzťahu

$$pH= \frac{1}{2}.(pK_A- \log c_A)$$

kde c_A je celková koncentrácia prítomnej kyseliny. Je potrebné si však uvedomiť, že $pK_A = - \log K_A$.

Analogicky sa pH slabých zásad počíta podľa vzťahu

$$pH= 14 - \frac{1}{2}.(pK_B – \log c_B)$$

Úloha: Určenie pH acidobázickými indikátormi

Indikátory používame buď vo forme roztokov, alebo ako papieriky napustené indikátorom. V niektorých prípadoch používame len jediný indikátor, inokedy zmes niekoľkých indikátorov.

Indikátorové papieriky (Phan) sú prúžky filtračného papiera nasiaknuté vhodným indikátorom alebo zmesou indikátorov. Porovnaním sfarbenia políčka indikátora s priloženou farebnou stupnicou je možné určiť približnú hodnotu pH vzorky.

Pracovné potreby
Skúmavky, destilovaná voda, pipety, lakmusový papier
Roztoky CH_3COOH, HCl, NH_4OH a NaOH (všetky 0,1 mol/l), roztoky indikátorov: metylová oranžová, metylová červená, fenolftaleín, neutrálna červená

Pracovný postup

1. Pripravte 4 banky s obsahom 20 ml destilovanej vody a očíslujte ich (tab.).

Banka č.	**Voda**	**HCl**	**CH_3COOH**	**NaOH**	**NH_4OH**
1	20	2	-	-	-
2	20	-	2	-	-
3	20	-	-	2	-
4	20	-	-	-	2

2. Do banky č. 1 pridajte 2 ml roztoku HCl, č. 2 – CH_3COOH, č. 3 –NaOH, č. 4 – NH_4OH a premiešajte.
3. Roztok z každej banky rozdeľte do štyroch skúmaviek (a, b, c, d) a do každej pridajte po jednej kvapke zodpovedajúceho indikátora (tab.).
4. Všetky vzorky (4 x 4 = 16) zoraďte tak, aby roztoky s tými istými indikátormi boli vedľa seba. Vysvetlite farebné zmeny jednotlivých indikátorov.

Pozorovanie:

Banka č.	**Indikátor**			
	metylová oranžová (a)	**metylová červená (b)**	**neutrálna červená (c)**	**fenolftaleín (d)**
1				
2				
3				
4				
Farebný prechod indikátora (pH)	**3,3 – 4,6**	**4,4 – 6,2**	**6,8 – 8,0**	**8,3 – 10,0**

Záver:
Aké je približné pH sledovaných roztokov kyselín a zásad (použite tabuľku).

Úloha: Určenie pH pomocou prírodných indikátorov – antokyanidínov

V kyslom prostredí v prítomnosti minerálnych alebo organických kyselín sa antokyanidíny nachádzajú v podobe solí a majú farbu červenú. Pridaním roztoku s pH > 7 sa uvoľní najprv voľný antokyanidín, ktorý je fialový a po zneutralizovaní všetkých -OH skupín v štruktúre, vznikajú alkalické soli antokyanidínov, ktoré sú modré. Táto vlastnosť sa môže využiť pri rozlíšení pH.

Pracovné potreby
Skúmavky, destilovaná voda, pipety, list červenej kapusty, kadička (50 ml)
Roztoky CH_3COOH a $NaHCO_3$ (c = 0,1 mol/l)

Pracovný postup

1. Kúsky listu červenej kapusty (asi 10 g) v kadičke zalejte 10 ml horúcej vody (približne 80 °C).
2. Za občasného premiešania nechajte aspoň 5 minút vyluhovať. Výluh antokyanínov prelejte do čistej kadičky.
3. Pripravte si dve skúmavky a označte ich.
4. Do skúmavky č. 1 odmerajte 2,5 ml roztoku CH_3COOH a do skúmavky č. 2 odmerajte 2,5 ml roztoku $NaHCO_3$.
5. Potom pridajte do oboch skúmaviek 0,5 ml výluhu antokyanínov. Opíšte zmenu farby roztoku.

Pozorovanie:

Skúmavka č.	Farba
1	
2	

Záver:

Úloha: Stanovenie pH telových a prírodných tekutín

Stanovenie pH telových tekutín je jedným z dôležitých ukazovateľov metabolických procesov v organizme. Napr. fyziologické hodnoty pH moču sú v rozmedzí 5 - 6. Iba po rastlinnej diéte (vegetariáni) je moč slabo zásaditý. Nakoľko je zásaditá reakcia moču výnimočná, upozorňuje nás na patologický stav.

Orientačné zisťovanie ich pH je technicky veľmi jednoduché. V bežnej praxi sa robí pomocou univerzálnych indikátorových papierikov (napr. Phan), ktoré sa ponoria do skúmanej tekutiny a po ich vybratí sa na priloženej stupnici odčíta približná hodnota pH.

Pracovné potreby
Skúmavky, destilovaná voda, pipety, sklenená tyčinka, lakmusový papier
Vzorky mlieka, piva, destilovanej vody, vody z vodovodu, citrónovej šťavy, moču

Pracovný postup
1. Do pripravených skúmaviek dáme po 1 ml skúmanej vzorky.
2. Na laboratórny stôl si pripravíme kúsky lakmusového papiera.
3. Pomocou sklenenej tyčinky nanesieme vzorky roztokov na lakmusový papier.
4. Na stupnici odčítame hodnotu pH.

Pozorovanie:

Vzorka	pH
mlieko	
pivo	
destilovaná voda	
voda z vodovodu	
citrónová šťava	
moč	

Záver:

Úloha: Meranie pH pomocou pH-metra

pH-meter predstavuje elektronické zariadenie určené na meranie pH. Meranie je založené na potenciometrii, metóde merajúcej závislosť potenciálu mernej elektródy oproti štandardnej. V praxi sa pri meraní pH používa obyčajne ako štandardná elektróda kalomelová a ako merná sklenená.

Bežné sú kombinované sklenené elektródy, u ktorých sklenená a referenčná elektróda predstavujú jediné teleso. Takáto elektróda je tvorená sklenenou bankou s veľmi tenkou stenou (0,005 mm) zo špeciálneho tzv. Corningového skla – 72 % SiO_2, 6 % CaO, 22 % Na_2O, niekedy je oxid sodný nahradený oxidom lítnym. Vo vnútri elektródy je roztok, najčastejšie zriedená kyselina chlorovodíková, v ktorom je ponorená kalomelová, príp. argentochloridová elektróda. pH-metre sa pred meraním kalibrujú aspoň dvoma štandardnými tlmivými roztokmi so známymi hodnotami pH.

Pracovné potreby
pH-meter, kadičky, univerzálne a Phan indikátorové papieriky, pipety, filtračný papier
HCl (c = 0,1 mol/l), NaOH (c = 0,1 mol/l), CH_3COOH (c = 0,1 mol/l), NH_4OH (c = 0,5 mol/l), $(NH_4)_2SO_4$ (c = 0,25 mol/l), CH_3COONa (c = 0,2 mol/l), Na_2CO_3(c = 0,l mol/l), $NaHCO_3$ (c = 0,1 mol/l)

Pracovný postup
1. Pomocou pH-metra stanovíme pH roztokov uvedených kyselín, zásad a solí a zistené hodnoty zaznamenáme do tabuľky.
2. Uvedieme aj orientačné hodnoty (Phan) a hodnoty vypočítané.

Pozorovanie:

Roztoky	**pH zistené**		
	univ. papierikom	**pH-metrom**	**výpočtom**
0,1 mol/l HCl			
0,1 mol/l NaOH			
0,1 mol/l CH_3COOH (pK 4,73)			
0,5 mol/l NH_4OH (pK 4,74)			
0,25 mol/l $(NH_4)_2SO_4$			
0,2 mol/l CH_3COONa			
0,1 mol/l Na_2CO_3			
0,1 mol/l $NaHCO_3$			

Záver:
Porovnajte presnosť stanovených hodnôt pomocou pH-metra, indikátorových papierikov a výpočtom.

Tlmivé sústavy

V praxi sú často potrebné roztoky so stálou hodnotou pH, ktorá sa len nepatrne mení prídavkom malého množstva silnej kyseliny alebo zásady. Tieto tzv. tlmivé roztoky alebo pufre predstavujú zmesi slabých kyselín a ich konjugovaných báz, alebo slabých zásad a ich konjugovaných kyselín. Typickým príkladom je acetátový tlmivý roztok, ktorý je tvorený kyselinou octovou CH_3COOH a octanom sodným CH_3COONa. Ak k tomuto tlmivému roztoku pridávame silnú kyselinu, acetátové ióny vznikajúce disociáciou octanu sodného viažu pridávané hydroxóniové ióny H_3O^+ a prechádzajú pritom na nedisociované molekuly kyseliny octovej:

$$CH_3COO^- + H_3O^+ \leftrightarrow CH_3COOH + H_2O$$

Pri pridávaní silnej zásady naopak disociuje kyselina octová:

$$CH_3COOH + OH^- \leftrightarrow CH_3COO^- + H_2O$$

pričom v obidvoch prípadoch vzniká voda, ktorá nemení pH. Tento stav trvá dovtedy, pokiaľ sa týmito reakciami nespotrebuje väčšina acetátových iónov alebo nedisociovaných molekúl kyseliny.

Vzťah, z ktorého môžeme vypočítať aktuálnu kyslosť (c (H_3O^+) alebo pH) roztoku tlmivej sústavy, sa nazýva Hendersonova-Hasselbalchova rovnica tlmivej sústavy:

Pre tlmivú sústavu zloženú zo slabej kyseliny a jej konjugovanej bázy platí

$$c(H_3O^+) = K_A \cdot \frac{c(HA)}{c(A^-)}$$

a po zlogaritmovaní a úprave tohto výrazu

$$pH = pK_A + \log\frac{c(A^-)}{c(HA)}$$

kde K_A je disociačná konštanta kyseliny, pK_A jej disociačný exponent (-log K_A), $c(A^-)$ látková koncentrácia konjugovanej bázy, c(HA) - látková koncentrácia kyseliny.

Henderson-Hasselbalchova rovnica sa dá vyjadriť aj pomocou stupňa disociácie použitého slabého elektrolytu, čo sa dá zapísať v tvare

$$pH = pK_A + \log\frac{\alpha}{1-\alpha}$$

kde α predstavuje stupeň disociácie elektrolytu.

Hodnota pH prostredia podstatne ovplyvňuje priebeh chemických reakcií podmieňujúcich životné pochody. Pre medicínu má veľký význam tzv. acidobázická rovnováha vnútorného prostredia. Organizmus regulačnou funkciou pľúc, obličiek a tlmivých systémov v extracelulárnych tekutinách udržuje pH vo veľmi úzkom rozmedzí, aj keď pri kľudových podmienkach sa denne vytvorí v organizme dospelého človeka vedľa určitého množstva organických kyselín aj približne 400 l oxidu uhličitého.

Z tlmivých sústav krvi je najdôležitejšia hydrogénuhličitanová (nesprávne bikarbonátová, H_2CO_3/ HCO_3^-), ale tiež fosforečnanová ($H_2PO_4^-$/HPO_4^{2-}) a bielkovinová tlmivá sústava.

Úloha: Príprava acetátových tlmivých roztokov

Jedným z najpoužívanejších tlmivých roztokov je acetátový tlmivý roztok. Skladá sa z roztoku kyseliny octovej a z roztoku jej sodnej soli. Pripravuje sa zmiešaním jednotlivých roztokov v určitom pomere, ktorý je tabelovaný.

Hodnotu pH tlmivej sústavy je možné vypočítať z Hendersonovej-Hasselbalchovej rovnice, z ktorej vyplýva, že pH závisí od koncentrácie, resp. pomeru koncentrácie roztoku kyseliny a jej soli.

Pracovné potreby
Skúmavky, pipety, indikátorový papierik, sklenená tyčinka, pH-meter
Roztok CH_3COOH (c = 0,1 mol/l) a roztok CH_3COONa (c = 0,1 mol/l)

Pracovný postup

1. Do piatich skúmaviek pipetujte objemy roztokov CH_3COOH a CH_3COONa podľa údajov v tabuľke.
2. Z Henderson-Hasselbalchovej rovnice vypočítajte teoretické hodnoty pH v jednotlivých skúmavkách a zapíšte do tabuľky. Následne odmerajte indikátorovým papierikom alebo pH-metrom hodnoty pH v jednotlivých skúmavkách.
3. Porovnajte teoreticky vypočítané hodnoty so stanovenými hodnotami pH. Disociačná konštanta CH_3COOH je $1{,}86.10^{-5}$ a pK_a = 4,73.

Pozorovanie:

Skúmavka č.	**Tlmivá sústava**		**Vypočítané pH**	**Stanovené pH**
	CH_3COOH [ml]	**CH_3COONa [ml]**		
1	1	9		
2	3	7		
3	5	5		
4	7	3		
5	9	1		

Záver:

Úloha: Vplyv kyselín a zásad na pH tlmivej sústavy Tlmivá kapacita

Počet mólov silnej kyseliny alebo silnej zásady, ktoré je treba pridať do jedného litra tlmivého roztoku tak, aby sa zmenilo pH o 1, je jeho tlmivá kapacita. Čím je tlmivá sústava koncentrovanejšia, tým je tlmivá kapacita väčšia. Najväčšiu kapacitu má tlmivá sústava pri pomere $\frac{c(A-)}{c(HA)}=1$, to znamená pri pH = pK_A.

Pracovné potreby
Skúmavky, dest. voda, pipety
Acetátová tlmivá sústava (c = 0,1 mol/l, pH = 4,7), 1 % roztok metylovej červenej (farebný prechod v oblasti pH 4,4 - 6,2), 1 % roztok metylovej oranžovej (farebný prechod v oblasti pH = 3,3 – 4,6), roztok HCl (c = 1 mol/l) a NaOH (c = 1 mol/l).

Pracovný postup
1. Do štyroch skúmaviek pipetujte podľa údajov v tabuľke.
2. Následne pridávajte do skúmavky č. 1 a 3 po kvapkách zriedenú HCl a zaznamenajte objem, pri ktorom dochádza k zmene zafarbenia indikátora.
3. To isté zopakujte so zriedeným roztokom NaOH v skúmavkách č. 2 a 4.

Pozorovanie:

Skúmavka č.	Dest. voda [ml]	Tlmivá sústava		metylová oranžová [kvapky]	metylová červená [kvapky]
		CH_3COOH [ml]	CH_3COONa [ml]		
1	5	-	-	2	-
2	5	-	-	-	2
3	-	2,5	2,5	2	-
4	-	2,5	2,5	-	2

Záver:
Aké závery vyplývajú z pozorovaných javov? Zapíšte do protokolov.

Kontrolné otázky:

1. Na základe iónového súčinu vody definujte stupnicu pH.

2. Akými vzťahmi sa počíta pH jednotlivých typov roztokov? Pokúste sa odvodiť vzťahy pre výpočet pH roztokov silných kyselín, slabých kyselín, silných zásad, slabých zásad a jednotlivých typov solí.

3. Čo je potenciometria? Čo je to galvanický článok?

4. Vymenujte a napíšte zloženie tlmivých sústav krvi.

5. Ako je definovaná tlmivá kapacita?

6. Ako sa zmení potenciál vodíkovej elektródy, ak sa pH zmení o jednotku?

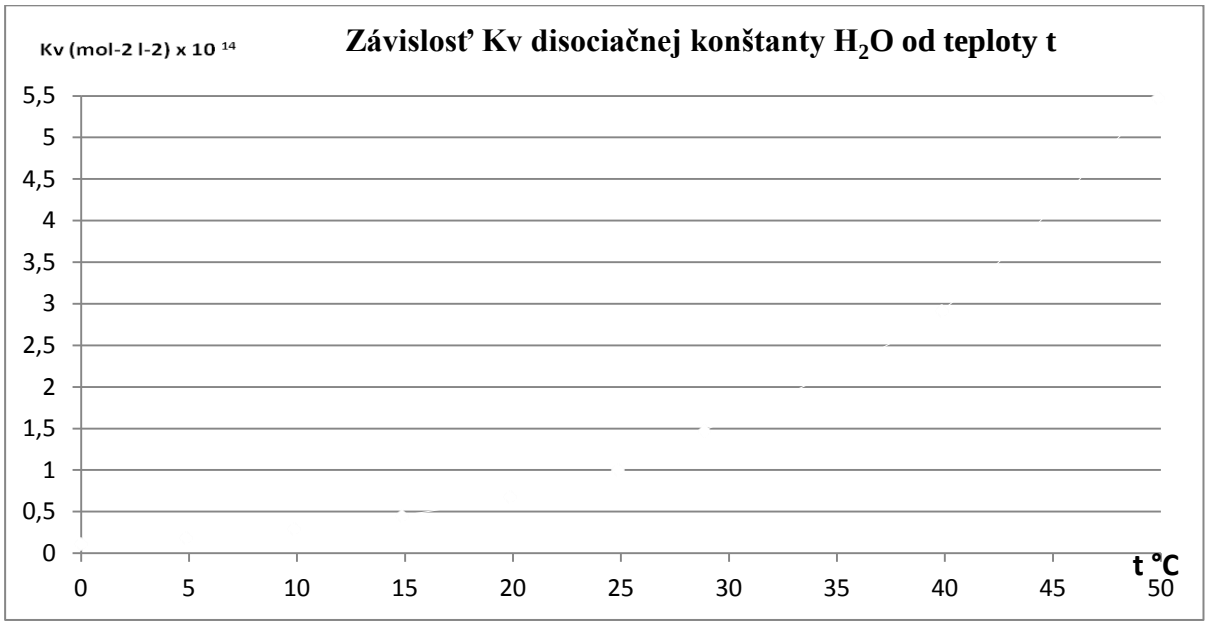
7. Definujte elektromotorické napätie článku.

8. Rovnicou vyjadrite tlmivý účinok acetátového tlmivého roztoku po pridaní malého množstva koncentrovanej HNO_3.

9. Definujte rozdiel medzi referenčnou a mernou elektródou.

10. Použitím údajov z tabuľky vyznačte bod závislosti disociačnej konštanty vody pri danej teplote. Vysvetlite vzťah Kv = $[H_3O^+]\,[OH^-] = 1\,.10^{-14}$ pri 25 °C a vypočítajte koncentráciu $[H_3O^+]$.

Teplota °C	0	5	10	15	20	25	30	40	50	100
K_v ($mol^{-2}\,l^{-2}$) . 10^{14}	0,114	0,186	0,293	0,452	0,681	1,008	1,471	2,916	5,476	51,3



Kinetika a rovnováhy chemických reakcií

Obsah

Závislosť reakčnej rýchlosti od koncentrácie reagujúcich látok..... 2
Posun chemickej rovnováhy..... 4
Kontrolné otázky..... 6

Chemická kinetika sa zaoberá rýchlosťou prebiehajúcich chemických reakcií a podmienkami, ktoré ju ovplyvňujú. Teória reakčných rýchlostí predpokladá, že rýchlosť chemickej reakcie je úmerná koncentráciám reagujúcich látok. Mierou časového priebehu reakcie je reakčná rýchlosť, ktorá sa vyjadruje buď úbytkom koncentrácie niektorého z reaktantov alebo prírastkom koncentrácie produktov reakcie za časovú jednotku. Jej jednotkou je $mol.m^{-3}.s^{-1}$ alebo $mol.dm^{-3}.s^{-1}$. Rýchlosť chemickej reakcie môže ovplyvniť niekoľko faktorov, ako napr. koncentrácia reagujúcich látok, teplota, prítomnosť katalyzátorov, skupenský stav reagujúcich látok, ultrafialové svetlo ... atď.

Podľa počtu molekúl, ktoré vstupujú do chemickej reakcie sa reakcie rozdeľujú na monomolekulové, ktoré charakterizuje len rozklad jednotlivých molekúl, bimolekulové, predstavujúce interakcie dvoch molekúl, trimolekulové sú tie, kedy súčasne reagujú tri molekuly. Vyššia molekulovosť je nepravdepodobná a nevyskytuje sa. Naproti tomu poriadok reakcie, ako iný parameter na sledovanie rýchlosti prebiehajúcej reakcie, sa určuje na základe merania koncentračnej závislosti okamžitej reakčnej rýchlosti. Najčastejšie je vyjadrený ako súčet stechiometrických koeficientov reaktantov v sledovanej reakcii. Poznáme reakcie prvého, druhého, tretieho atď. poriadku. Existujú aj reakcie nultého poriadku, pri ktorých rýchlosť nezávisí od koncentrácie reagujúcich látok.

Rýchlosť chemických reakcií možno ovplyvniť prítomnosťou určitých látok, ktoré nevystupujú v stechiometrii reakcie a po reakcii ostávajú chemicky nezmenené. Takéto látky sa nazývajú katalyzátory a ich účinok na rýchlosť reakcie sa označuje ako katalýza. Katalyzátory môžu byť pozitívne, ktoré zvyšujú rýchlosť reakcií alebo negatívne, ktoré reakcie spomaľujú. Tieto zvyknú byť označené ako inhibítory. Katalyzátor nemá vplyv na zloženie sústavy v rovnovážnom stave. Katalyzátor môže byť súčasťou homogénnej sústavy – homogénna katalýza alebo môže vytvárať samostatnú fázu – heterogénna katalýza.

Poznanie priebehu chemických reakcií sa v praxi využíva najmä pri stanovení aktivity enzýmov *in vitro*. Na stanovenie sa najčastejšie používajú vysoké koncentrácie substrátov, takže enzým je úplne nasýtený substrátom. Počiatočná rýchlosť je prakticky zhodná s maximálnou rýchlosťou a reakcia sa riadi kinetikou nultého poriadku. Až pri väčšom poklese koncentrácie substrátu, keď koncentrácia substrátu klesne hlboko pod hranicu nasýtenia enzýmu, prechádza reakcia do kinetiky prvého alebo vyššieho poriadku.

Úloha: Závislosť reakčnej rýchlosti od koncentrácie reagujúcich látok

Závislosť reakčnej rýchlosti od látkovej koncentrácie reagujúcich látok vyjadruje Guldberg-Waageov zákon účinku hmotnosti

$$v = k \,.\, [A]^a.[B]^b$$

kde v je reakčná rýchlosť, k - rýchlostná konštanta, [A] a [B] sú látkové koncentrácie látok A a B.

Rýchlostná konštanta k je silne závislá od teploty. S rastom teploty vždy rastie. Najčastejšie sa teplotná závislosť rýchlostnej konštanty vyjadruje Arrheniovou rovnicou

$$k = A.\exp(-\frac{E}{RT})$$

kde A predstavuje tzv. frekvenčný faktor, E aktivačnú energiu reakcie, R je univerzálna plynová konštanta a T je teplota vyjadrená v kelvinoch.

Pri reakcii kyseliny sírovej s tiosíranom sodným sa nerozpustná síra vylučuje v podobe zákalu. Reakcia (1) prebieha okamžite. Rýchlosť reakcie (2) závisí pri stálej teplote od koncentrácie $H_2S_2O_3$. Vyjadrí sa časom, ktorý prebehne od počiatku zmiešania reagujúcich látok do objavenia sa koloidnej síry v podobe zákalu v celom objeme reakčnej zmesi.

$$H_2SO_4 + Na_2S_2O_3 \longrightarrow H_2S_2O_3 + Na_2SO_4 \qquad (1)$$

$$H_2S_2O_3 \longrightarrow H_2O + SO_2 + S \qquad (2)$$

Pracovné potreby

Skúmavky, pipety, odmerný valec, destilovaná voda, milimetrový papier, pravítko, ceruzka, stopky
Roztok kyseliny sírovej (0,5 mol/l), roztok tiosíranu sodného (0,04 mol/l)

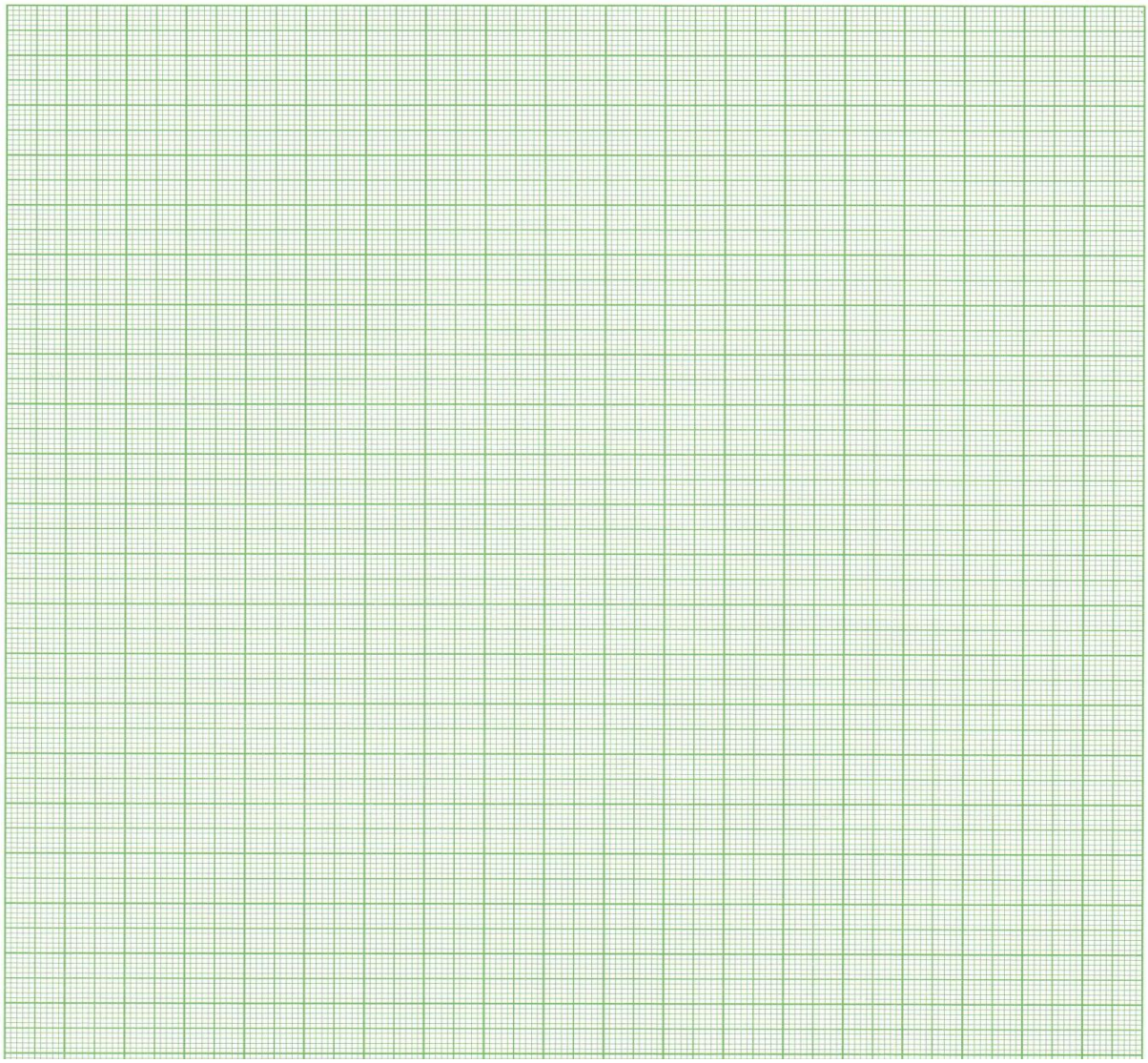
Pracovný postup

1. Do štyroch očíslovaných skúmaviek pridajte roztoky tiosíranu sodného a dest. vody podľa uvedenej tabuľky (prvá sada).
2. Do ďalších štyroch skúmaviek (druhá sada) pridajte po 4 ml zried. kyseliny sírovej.
3. Do všetkých skúmaviek prvej sady postupne nalejte odmerané množstvo (4 ml) kyseliny sírovej z druhej sady skúmaviek.
4. Rýchlo premiešajte a odčítajte čas v sekundách od okamihu zmiešania tiosíranu sodného s kyselinou sírovou do vzniku zákalu. Rýchlosť reakcie vyjadrite ako veličinu nepriamo úmernú zistenému času (v = 1/t).

Pozorovanie:

Skúmavka č.	**Objem roztokov v *ml***		**Vypočítaná koncentrácia $Na_2S_2O_3$ [mol/l]**	**Objem H_2SO_4 [ml]**	**Čas [min]**	**Reakčná rýchlosť v=1/t**
	$Na_2S_2O_3$	H_2O				
1	4	0		4		
2	3	1		4		
3	2	2		4		
4	1	3		4		

Graf:



Záver:

Závislosť medzi zmenou vypočítanej koncentrácie roztoku $Na_2S_2O_3$ z tabuľky a reakčnou rýchlosťou znázornite graficky na milimetrovom papieri (na os *x* sa nanesie koncentrácia, na os *y* – reakčná rýchlosť).

Úloha: Posun chemickej rovnováhy

Všeobecnou charakteristikou všetkých chemických sústav je snaha dostať sa do stavu s najnižšou energiou. Chemická reakcia pritom nemusí prebehnúť kvantitatívne, ale len do energeticky najchudobnejšieho stavu, ktorý sa nazýva rovnovážny stav a reakcie, ktorými vzniká sú vratné reakcie.

Uvažujme reakciu

$$aA + bB \leftrightarrow cC + dD$$

v ktorej rýchlosťou v_1 vznikajú z látok A a B produkty C a D a súčasne, že v opačnom smere vznikajú z látok C a D rýchlosťou v_2 látky A a B. Stechiometrické koeficienty predstavujú písmená *a, b, c* a *d.* Na základe Guldberg-Waagovho zákona pre rýchlosť v_1 platí $v_1 = k_1[A]^a[B]^b$ a pre v_2 môžeme písať $v_2=k_2[C]^c[D]^d$, kde k_1 a k_2 sú rýchlostné konštanty, [A],[B],[C],[D] sú molárne koncentrácie látok A, B, C a D.

V okamihu, keď reakcia dospeje do rovnovážneho stavu, sú obidve rýchlosti rovnaké

$$v_1 = v_2$$

preto zároveň platí

$$k_1[A]^a[B]^b = k_2[C]^c[D]^d$$

keďže rýchlostné konštanty sú závislé iba od teploty, je ich pomer pre danú reakciu pri konštantnej teplote konštantný

$$\frac{k_1}{k_2}=\frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b}=K$$

Tento vzťah je výrazom pre rovnovážnu konštantu.

V prírode, a teda aj v živých organizmoch, sa vyskytujú zložité rovnovážne stavy. Je to preto, lebo v živých objektoch reakcie neprebiehajú izolovane, ale súvisia s predchádzajúcimi, nasledujúcimi alebo opačne prebiehajúcimi reakciami.

Organizmy uskutočňujú série chemických reakcií, ktoré sú podstatou metabolizmu a vylučujú metabolity tým, že prijímajú energiu a látky z prostredia. V otvorenej sústave tak nastáva namiesto termodynamickej rovnováhy rovnovážny stav, ktorý charakterizuje stála rýchlosť chemických zmien. Ide o určitý ustálený (stacionárny) stav, počas ktorého sústava neustále prijíma látky a vylučuje reakčné produkty.

Rovnovážny stav nejakého chemického deja sa zachováva, ak zostávajú nezmenené vonkajšie podmienky (koncentrácia, teplota a pod.). Len čo sa zmenia vonkajšie podmienky, rovnováha sústavy sa poruší a začnú v nej prebiehať zmeny, ktoré vedú k ustáleniu novej rovnováhy a k zrušeniu účinku zásahu (Le Chatelierov-Braunov princíp pohyblivej rovnováhy).

Pri vratnej reakcii

$$KSCN + FeCl_3 \leftrightarrow [FeSCN]Cl_2 + KCl$$

spôsobuje $[FeSCN]^{2+}$ purpurové zafarbenie roztoku.

Zmena jednej z koncentrácií látok rovnovážnej sústavy poruší rovnováhu, v dôsledku čoho sa mení koncentrácia komplexu $[FeSCN]^{2+}$. Pozná sa to podľa zmeny intenzity zafarbenia roztoku.

Pracovné potreby
Kadička, destilovaná voda, skúmavky, pipety, lyžičky.
Roztoky $FeCl_3$ (0,1 mol/l) a KSCN (0,1 mol/l), pevný KCl

Pracovný postup

1. Do kadičky nalejte asi 50 ml dest. vody a prikvapkajte asi 0,5 ml roztoku $FeCl_3$ a 0,5 ml roztoku KCNS (prebehne reakcia).
2. Roztok v kadičke potom rozdeľte do štyroch skúmaviek.
3. Do prvej skúmavky pridajte dve kvapky $FeCl_3$, do druhej dve kvapky KCNS a do tretej pridajte lyžičkou trochu tuhého KCl. Štvrtá skúmavka slúži ako kontrola.
4. Obsah skúmaviek dobre premiešajte a porovnajte zafarbenie prvých troch skúmaviek s kontrolou.

Pozorovanie:

Skúmavky	Zafarbenie
1 (2 kvapky $FeCl_3$)	
2 (2 kvapky KCNS)	
3 (tuhé KCl)	
4 (kontrola)	

Záver:

Vysvetlite príčiny zmeny intenzity pôvodného zafarbenia roztokov na základe princípu pohyblivej rovnováhy.

Kontrolné otázky:

1. Vysvetlite pojem molekularita a poriadok reakcie.

2. Graficky znázornite závislosť rýchlosti reakcie od koncentrácie pre reakciu 1. poriadku.

3. Graficky znázornite závislosť rýchlosti reakcie od času pre reakciu 2. poriadku.

4. Prečo v prírode nepozorujeme tetramolekulové reakcie?

5. Čo vyjadruje Arrheniova závislosť?

6. Napíšte rovnicu vyjadrujúcu vzťah zmeny entropie S a voľnej energie G termodynamického systému.

7. Vymenujte minimálne tri metódy, ktoré sa používajú k štúdiu dejov a rovnováh chemických reakcií.

8. Vysvetlite rozdiely medzi homogénnou a heterogénnou katalytickou reakciou.

9. Vysvetlite posun chemickej rovnováhy v závislosti od zmien podmienok reakcií. Uvažujte najmä teplotu a tlak.

10. Graficky znázornite priebeh energetických zmien katalyzovanej a nekatalyzovanej reakcie.

Odmerná analýza

Obsah

Príprava a štandardizácia odmerného roztoku NaOH..... 3
Stanovenie amoniaku v odpadovej vode..... 5
Zostrojenie titračných kriviek kyselín..... 6
Stanovenie jódu v Lugolovom roztoku alebo v jódovej tinktúre..... 10
Komplexometrické stanovenie vápnika..... 12
Argentometrické stanovenie chloridov v pitnej (vodovodnej) vode…….. 14
Kontrolné otázky..... 15

Odmerná analýza (volumetrická analýza alebo titrácia) patrí medzi kvantitatívne metódy chemickej analýzy. Látkové množstvo stanovovanej zložky v roztoku zisťujeme zo spotrebovaného objemu činidla o presne známej koncentrácii (odmerného roztoku). Pri odmerných stanoveniach sa v procese zvanom titrácia pridáva z byrety odmerný roztok B k stanovovanej látke A dovtedy, kým reakcia neprebehne kvantitatívne, v stechiometrickom pomere stanovovanej látky a odmerného roztoku. Priebeh titrácie zjednodušene popisuje rovnica

$$aA + bB \rightarrow pP + qQ$$

Ukončenie reakcie charakterizuje najčastejšie farebná zmena chemického indikátora, tzv. bod ekvivalencie. Zo spotreby použitého odmerného roztoku je možné následne vypočítať množstvo látky A vo vzorke. Podmienkou je, že máme predstavu o kvalitatívnom zložení analyzovanej vzorky, že s odmerným roztokom kvantitatívne reaguje vo vzorke len jedna z prítomných zložiek.

Roztoky, ktoré sa používajú na titráciu v odmernej analýze nazývame odmerné roztoky. Koncentrácia odmerných roztokov sa v odmernej analýze vyjadruje výhradne látkovou koncentráciou (mol/l). Ak je k dispozícii čistá látka s presne definovaným chemickým zložením, možno po jej odvážení pripraviť roztok s presnou koncentráciou. Vo väčšine prípadov však nie je možné ani po presnom odvážení pripraviť odmerný roztok s presnou, ale len s približnou koncentráciou. Odchýlky od presnej koncentrácie sa určujú štandardizáciou pomocou roztokov o známej koncentrácii, alebo pomocou tzv. štandardných (základných) látok, ktorých roztoky majú pri presnom vážení presnú látkovú koncentráciu. Medzi základné látky patrí najmä kyselina šťaveľová, Na_2CO_3, $KBrO_3$ a iné.

Podľa povahy reakcie, ktorá prebieha medzi stanovovanou látkou a odmerným činidlom, odmernú analýzu rozdeľujeme na tieto základné typy:

1. neutralizačná (protolytická, acidobázická) - spojená s výmenou protónov (H^+);
2. oxidačno-redukčná - spojená s výmenou elektrónov;
3. zrážacia - založená na vzniku ťažko rozpustných alebo nedisociovaných látok;
4. komplexometrická – vznik málo rozpustných komplexných zlúčenín.

Rýchle chemické reakcie umožňujú priamu titráciu stanovovanej látky. Reakcie, ktoré prebiehajú pomalšie, sú analyzované tzv. spätnou titráciou, kedy sa k stanovovanej látke pridáva nadbytok jednej látky a jej nezreagované množstvo sa titruje inou látkou.

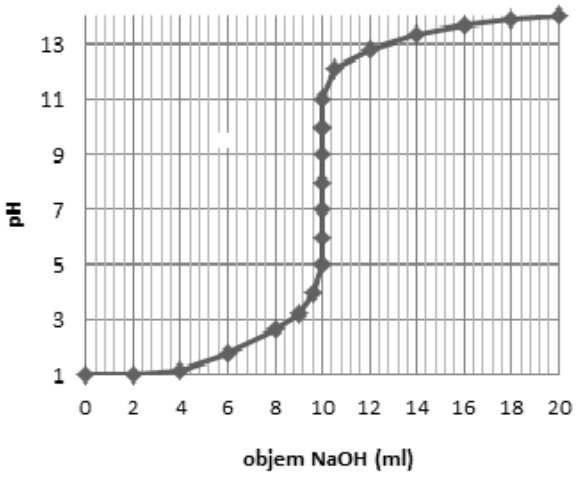
Tab.: Metódy odmernej analýzy

Metódy odmernej analýzy	Podskupiny	Titračné činidlo (odmerný roztok)	Indikátor
Neutralizačné	alkalimetria acidimetria	NaOH, KOH HCl, H_2SO_4	fenolftaleín metyloranž metylčerveň brómfenolová modrá
Oxidačné-redukčné	manganometria jodometria	$KMnO_4$ I_2 resp. $Na_2S_2O_3$	 škrobový maz
Zrážacie	argentometria merkurimetria	$AgNO_3$ $Hg(NO_3)_2$	chróman draselný nitroprusid sodný murexid
Komplexometrické		EDTA (etyléndiamíno-tetraoctová kyselina)	eriochrómová čerň - T

Neutralizačná odmerná analýza

Neutralizačná odmerná analýza je založená na neutralizačných reakciách medzi kyselinami a zásadami. Rozlišujeme acidimetriu – metódu na stanovenie zásad a alkalimetriu, ktorá slúži na stanovenie kyselín. V acidimetrii používame ako titračné činidlá vodné roztoky kyseliny chlorovodíkovej, sírovej, dusičnej. Kyselina sírová sa uprednostňuje pri titráciách za vyšších teplôt, nakoľko HCl je prchavejšia. V alkalimetrii sa ako odmerné roztoky používajú roztoky hydroxidu sodného, draselného, bárnatého. Roztoky hydroxidov je potrebné štandardizovať. Indikátormi v neutralizačnej odmernej analýze sú slabé organické kyseliny a zásady citlivé na zmenu koncentrácie vodíkových iónov, ktorú signalizuje zmena sfarbenia.

Obr. Titračná krivka titrácie silnej kyseliny silnou zásadou



Závislosť pH roztoku kyseliny (zásady) od množstva pridanej zásady (kyseliny) vyjadrujú titračné krivky. Pri titrácii silnej kyseliny (zásady) silnou zásadou (kyselinou) je zmena pH spočiatku veľmi pomalá, prudko sa mení až v okolí bodu ekvivalencie, ktorý predstavuje inflexný bod titračnej krivky. Ďalším pridávaním titračného činidla sa pH mení už len veľmi pomaly. Bod ekvivalencie je v tomto prípade pri pH = 7.

Úloha: Príprava a štandardizácia odmerného roztoku NaOH

V alkalimetrii sa ako odmerný roztok používa roztok NaOH. Hydroxid sodný sa ale vyznačuje hygroskopickými vlastnosťami, čo môže ovplyvniť prípravu roztoku o presnej koncentrácii. K nepresnostiam môže dôjsť aj pri vážení, ovplyvniť ju môžu prítomné nečistoty a pod. Z tohto dôvodu robíme tzv. štandardizáciu (zistenie skutočnej koncentrácie) odmerného roztoku NaOH. Pripraveným roztokom NaOH titrujeme štandardný roztok 0,25 mol/l kys. šťavelovej o presnej koncentrácii (kys. šťavelová je stabilná, základná látka). Ako indikátor použijeme fenolftaleín.

Pracovné potreby
Sklenená (porcelánová) lodička, lyžička, kadička, sklenená tyčinka, odmerná banka, lievik, byreta, 5 ml pipeta, destilovaná voda, titračné banky, lievik
Štandardný roztok $(COOH)_2$ (c = 0,125 mol/l), odmerný roztok NaOH (c = 0,25 mol/l) s približnou koncentráciou, fenolftaleín

Pracovný postup

1. V navažovačke odvážime 1 g NaOH, ktorý kvantitatívne spláchneme destilovanou vodou do kadičky.
2. Roztok NaOH kvantitatívne prenesieme do 100 ml odmernej banky a doplníme destilovanou vodou po značku. Získame roztok NaOH o približnej koncentrácii 0,25 mol/l (spomínaná nepresnosť pri vážení, hygroskopické vlastnosti NaOH).
3. Byretu s gumičkou naplníme odmerným roztokom NaOH.
4. Do titračnej banky pipetujeme 10 ml roztoku kyseliny šťavelovej a pridáme 2-3 kvapky indikátora (fenolftaleín).
5. Titrujeme za stáleho miešania na bielom pozadí, kým sa obsah v titračnej banke nezafarbí na ružovo. Titráciu opakujeme celkovo 3 krát.
6. Spotrebu titračného činidla odčítame a zapíšeme. Zo spotrieb urobíme aritmetický priemer a vypočítame skutočnú koncentráciu.

Pozorovanie:

Titračná banka	Spotreba NaOH (ml)	Aritmetický priemer spotrieb (ml)
1		
2		
3		

Výpočet:
Vychádzame z rovnice:

$$\underset{\text{2 moly}}{2\ NaOH} + \underset{\text{1 mol}}{(COOH)_2} \rightarrow (COONa)_2 + 2\ H_2O$$

Ak na 10 ml štandardného roztoku $(COOH)_2$ (c = 0,125 mol/l) bola priemerná spotreba odmerného roztoku NaOH (c = 0,25 mol/l) napr. 5,2 ml, postupujeme pri výpočte nasledovne:

$$V_{(COOH)2} : V_{NaOH} = 1 : 2$$

Titračný prepočítavací faktor $f_t = n_{(COOH)2} = \frac{1}{2}$

Na základe toho môžeme písať

$$V_{(COOH)2} \cdot c_{(COOH)2} = \frac{V_{NaOH} \cdot c_{NaOH}}{2}$$

odkiaľ $c_{NaOH} = 2 \cdot \frac{V_{(COOH)2}}{V_{NaOH}} \cdot c_{(COOH)2}$

Výpočet:
Výpočet s vlastnou spotrebou titračného činidla

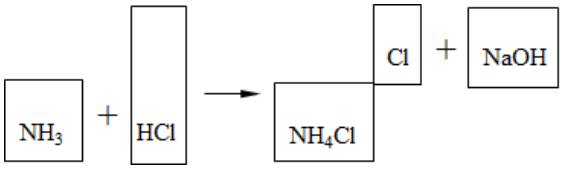
Záver:

Úloha: Stanovenie amoniaku v odpadovej vode

Amoniak je prchavá látka a pri titrácii dochádza k značným stratám. Preto pri stanovení amoniaku používame spätnú titráciu. Podstata spätnej titrácie spočíva v pridaní prebytku roztoku HCl, ktorý zreaguje s amoniakom podľa rovnice:

$$NH_3 + HCl \rightarrow NH_4Cl$$

Nezreagované množstvo HCl následne titrujeme odmerným roztokom NaOH.



Pracovné potreby
Byrety, titračné banky, pipety
Roztok HCl (c = 0,1 mol/l), odmerný roztok NaOH (c = 0,1 mol/l), metyloranž

Pracovný postup

1. Do titračnej banky pipetujte 5 ml roztoku amoniaku (o neznámej koncentrácii).
2. Pridajte prebytok roztoku HCl (10 ml) a 2-3 kvapky indikátora (metyloranž).
3. Roztok zamiešajte a titrujte odmerným roztokom NaOH do vzniku žltej farby metyloranže.
4. Titráciu opakujte 3-krát a z aritmetického priemeru spotrieb vypočítajte neznámu koncentráciu amoniaku vo vzorke podľa vzťahu:

Pozorovanie:

Titračná banka	Spotreba NaOH (ml)	Aritmetický priemer spotrieb (ml)
1		
2		
3		

Výpočet:

$$c_{NH3}=c_{HCl} \cdot \frac{V_{HCl}-V_{NaOH}}{V_{NH3}} \quad [mol/l]$$

Záver:

Úloha: Zostrojenie titračnej krivky

Titračná neutralizačná krivka vyjadruje závislosť pH titrovaného roztoku kyseliny (zásady) od množstva pridanej zásady (kyseliny). Všeobecný tvar titračných kriviek silných kyselín (alebo zásad) sa podstatne líši od kriviek slabých kyselín (alebo zásad). Odchylky titračných kriviek jednotlivých silných kyselín alebo zásadd sú závislé v podstate len na koncentrácii a sytosti kyseliny alebo zásady. Pri slabých kyselinách alebo zásadách sú tvary kriviek okrem toho veľmi závislé na hodnote ich ionizačných konštánt.

Pracovné potreby
Roztok kys. chlorovodíkovej (0,1 mol/l), odmerný roztok NaOH (0,1 mol/l), roztok kyseliny octovej (0,1 mol/l), fenoftaleín
Titračné banky, kadičky, 2 dávkovače (10 ml), byreta na odmerný roztok, pH-meter.

Pracovný postup
Titrácia kyseliny chlorovodíkovej:

1. Do titračnej banky odpipetujeme 10 ml roztoku kyseliny chlorovodíkovej a zmeriame pH-metrom počiatočnú hodnotu pH.
2. Z byrety pridávame postupne po 1 ml (9x) a potom po 0,5 ml odmerného roztoku hydroxidu sodného. Po každom prídavku dobre premiešame a odčítame hodnotu pH, ktorú zapíšeme do tabuľky (pre prehľadnosť je tabuľka pre titráciu kyseliny chlorovodíkovej rozdelená na dve časti)
3. Titrujeme až do alkalických hodnôt.

Titrácia octovej kyseliny:
Postup pre titráciu octovej kyseliny je úplne rovnaký ako postup pre titráciu kyseliny chlorovodíkovej. Výsledky zapisujeme do tabuľky, ktorá je rovnako ako v predošlom prípade, rozdelená na dve časti.

Výsledky:
Kyselina chlorovodíková:

NaOH (ml)									
pH									

Kyselina chlorovodíková:

NaOH (ml)									
pH									

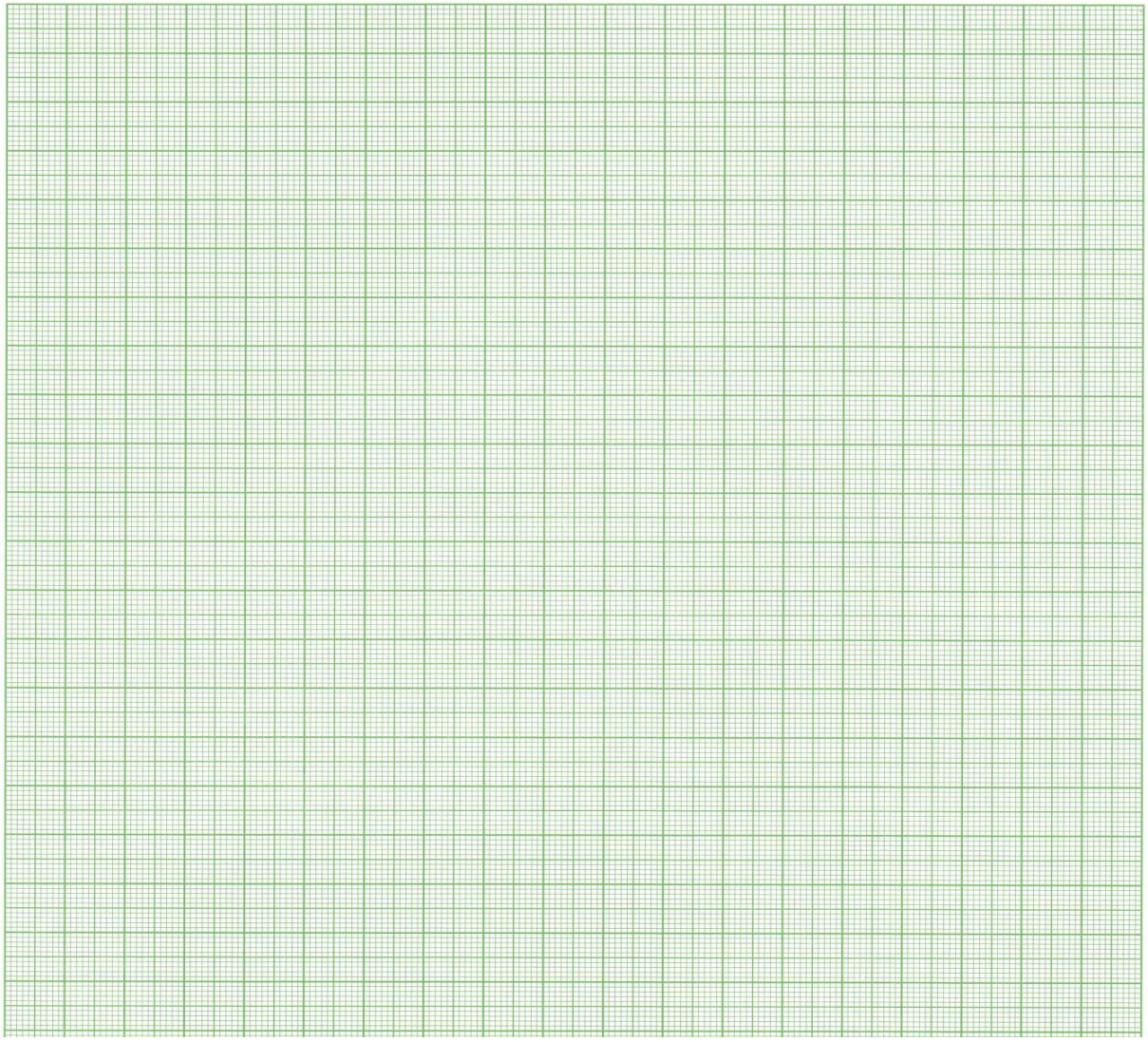
Kyselina octová:

NaOH (ml)									
pH									

Kyselina octová:

NaOH (ml)									
pH									

Graf:



Záver:
Na základe údajov v tabuľkách zostrojte titračné krivky silnej a slabej kyseliny.
Určte inflexné body kriviek – hodnotu pH odpovedajúcu inflexnému bodu

Oxidačno-redukčná odmerná analýza

Oxidačno-redukčné titrácie: Pri týchto titráciách sa titrovaná látka buď oxiduje alebo redukuje. Pri redoxnej odmernej analýze prebieha oxidačno-redukčná reakcia medzi skúmanou látkou a odmerným roztokom. Všeobecne ju môžeme vyjadriť v tvare:

$$Red_1 + Ox_2 \longrightarrow Ox_1 + Red_2$$

Red_1 - skúmaná zložka pred titráciou
Ox_2 - oxidujúci odmerný roztok
Ox_1 - skúmaná látka po titrácii
Red_2 - redukovaný odmerný roztok po titrácii

Ako indikátory sa v oxidačno-redukčnej odmernej analýze používajú látky, ktorých oxidovaná a redukovaná forma je rôzne sfarbená. Oxidačno-redukčné titrácie sa delia na oxidimetriu, kedy sa meria spotreba odmerného roztoku s oxidačnými vlastnosťami (napr. manganometria a jodometria) a reduktometriu, pri ktorej sa meria spotreba odmerného roztoku s redukčnými vlastnosťami (napr. titanometria).

Z metód oxidačno-redukčnej odmernej analýzy sa v lekárstve používa najmä manganometria a jodometria.

Manganometria je objemovo-analytická titračná metóda, založená na silných oxidačných schopnostiach $KMnO_4$, ktorý kvantitatívne oxiduje mnohé látky, najmä v kyslom prostredí a sám sa redukuje.

Pri oxidácii látok manganistanom draselným v kyslom prostredí prebieha reakcia:

$$MnO_4^- + 8\,H^+ + 5e^- \longrightarrow Mn^{2+} + 4\,H_2O$$

$$\text{resp. } Mn^{VII} + 5e^- \longrightarrow Mn^{II}$$

Katión Mn^{2+} je bezfarebný a ión MnO_4^- je fialový, ktorý sa pri redukcii odfarbí. Táto jeho vlastnosť sa využíva na zistenie ukončenia reakcie. Akonáhle stanovované redukovadlo zreaguje úplne, t.j. redukcia sa skončí, nasledujúca prebytočná kvapka pridaného roztoku $KMnO_4$ sa už viac nebude odfarbovať a sfarbí skúmaný roztok do ružova, preto v manganometrii indikátor nie je potrebný. Manganometricky je možné stanoviť napr. soli železa, peroxid vodíka alebo posúdiť znečistenie vôd organickými látkami.

Jodometria zahrňuje veľký počet metód stanovenia látok, ktoré redukujú jód na anión jodidový (a pritom sa jódom oxidujú) alebo oxidujú anión jodidový na jód (samé sa redukujú). Jodometrické stanovenia sú založené na reakcii:

$$I_2 + 2\,e^- \leftrightarrow 2\,I^-$$

ktorá je dokonale vratná. V jodometrii rozlišujeme dve skupiny titračných metód: i) priamu titráciu, v ktorej sa stanovované látky titrujú priamo roztokom jódu a ii) nepriamu titráciu, kedy sa k roztoku

stanovovanej látky pridá nadbytok KI a uvoľnený jód sa stanoví nepriamou, tzv. spätnou titráciou pomocou odmerného roztoku tiosíranu sodného podľa reakcie:

$$I_2 + 2\ Na_2S_2O_3 \rightarrow 2\ NaI + Na_2S_4O_6$$

Táto reakcia by mala prebiehať v kyslom prostredí alebo neutrálnom prostredí, aby sa zabránilo samovoľnej oxidácii jódu na jódnan. V spomínaných prostrediach pri danej reakcii jód oxiduje tiosíran sodný na tetrationan sodný a sám sa redukuje na jodid.

Pri tejto spätnej titrácii je spotrebované množstvo tiosíranu sodného ekvivalentné látkovému množstvu vylúčeného jódu.

$$n\ (I_2) : n\ (Na_2S_2O_3) = 1 : 2$$

alebo

$$n\ (I) : n\ (Na_2S_2O_3) = 1 : 1$$

$$c(I)\ .\ V(I) = c(Na_2S_2O_3)\ .\ V(Na_2S_2O_3)$$

Odmerné roztoky jódu a tiosíranu sodného sa štandardizujú použitím resublimovaného jódu, oxidu arzenitého, bromičnanu draselného a iných.

Ako indikátor v jodometrii sa používa škrobový maz, ktorý voľný jód sfarbuje za studena na modro-fialový roztok, a tak indikuje moment vzniku voľného jódu alebo moment vymiznutia voľného jódu (vymiznutím modrého sfarbenia).

Jodometricky môžeme stanoviť chlór, bróm, jodičnany, peroxid vodíka, hexakyanoželezitany, dichrómany, etanol v krvi a pod. Okrem týchto uvedených metód, oxidačno-redukčné jodometrické stanovenie sa používa pri adičných reakciách jódu s nenasýtenými organickými zlúčeninami (stanovenie jódového čísla v tukoch) a pri substitučných reakciách.

Úloha: Stanovenie jódu v Lugolovom roztoku alebo v jódovej tinktúre

Jód je vo vode málo rozpustný, rozpúšťa sa v jodide draselnom. Z I_2 a I^- vzniká anión trijodidový I_3^- - Lugolov roztok a v liehu jódová tinktúra. V obidvoch roztokoch sa jód stanoví titračne tiosíranom sodným.

$$I_2 + I^- \rightarrow I_3^-$$

$$I_2 + 2S_2O_3^{2-} \rightarrow 2I^- + S_4O_6^{2-}$$

Pracovné potreby
Byrety, titračné banky, nedelené pipety 10 ml, odmerný valec 100 ml
Odmerný roztok tiosíranu sodného (c = 0,01 mol/l), indikátor-škrobový maz

Pracovný postup

1. Do titračnej banky pipetujte 10 ml Lugolovho roztoku (o neznámej koncentrácii).
2. Pridajte 25 ml destilovanej vody a titrujte odmerným roztokom tiosíranu sodného do žltého sfarbenia.
3. Následne pridajte 5 kvapiek škrobového mazu a ďalej titrujte do odfarbenia.
4. Zaznamenajte celkovú spotrebu roztoku $Na_2S_2O_3$.
5. Titráciu opakujte 3 krát a z aritmetického priemeru spotrieb vypočítajte neznámu koncentráciu jódu podľa nasledovného vzťahu:

$$c(I) = \frac{c(Na_2S_2O_3).V(Na_2S_2O_3)}{V(I)}$$

Pozorovanie:

Titračná banka	Spotreba $Na_2S_2O_3$(ml)	Aritmetický priemer spotrieb (ml)
1		
2		
3		

Výpočet:

Záver:
Porovnajte presnosť vášho stanovenia a identifikujte prípadné chyby.

Komplexometrické titrácie

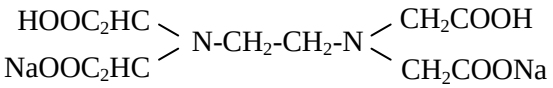
Komplexometrické titrácie sú založené na schopnosti tzv. chelatónov (komplexónov) tvoriť rozpustné, málo disociované komplexy s katiónmi kovov. Chelatóny predstavujú niektoré polyaminokarboxylové kyseliny. Tzv. chelatón 1 je kyselina nitrilotrioctová $N(CH_2COOH)_3$, chelatón 2 kyselina etyléndiamíntetraoctová (EDTA) a chelatón 3 jej disodná soľ, ktorá sa z jednotlivých chelatónov používa najčastejšie vďaka svojej najlepšej rozpustnosti. Jeden mol chelatónu vždy reaguje s jedným molom kovu bez ohľadu na mocenstvo kovu. Komplexometrické titrácie sa uskutočňujú v tlmivom roztoku, pretože pH prostredia ovplyvňuje stabilitu komplexov. Ako indikátory sa používajú napr. murexid, pyrokatechínová violeť a iné. Predstavujú organické zlúčeniny, ktoré tvoria s katiónmi kovu farebné komplexy. V chelatometrii sa používajú 3 techniky titrácie:

1. Najčastejšie sa používa titrácia priama, pri ktorej sa titruje analyzovaná vzorka, ku ktorej bol pridaný tlmivý roztok a indikátor, priamo odmerným roztokom chelatónu.
2. V niektorých prípadoch je vhodnejšie použiť titráciu nepriamu (spätnú) hlavne v prípade prípadoch, kedy analyzovaná vzorka nie je dobre rozpustná vo vode, ale rozpúšťa sa v odmernom roztoku, alebo keď tvorba komplexu je pomalá, prípadne keď sa tvorí veľmi pevná väzba medzi kovom a indikátorom. Potom sa k analyzovanej vzorke, s upraveným pH, pridá nadbytok odmerného roztoku chelatónu 3. Prebytok tohto roztoku sa potom zisťuje titráciou odmerným roztokom síranu horečnatého (popr. zinočnatého).
3. Pri vzorkách, pre ktoré nie sú vhodné indikátory, je možné použiť titráciu vytesňovaciu. Tá je založená na princípe, že sa k roztoku vzorky pridáva nadbytok chelatonátu horečnatého. Pri reakcii s analyzovaným kovovým katiónom dôjde k vytesneniu určitého množstva horčíka, ktoré zodpovedá obsahu analyzovaného kovového katiónu vo vzorke. Množstvo vytesneného horčíka sa zisťuje titráciou odmerným roztokom chelatónu 3. Pretože pri titrácii reaguje s odmerným roztokom horčík, použije sa na indikáciu bodu ekvivalencie indikátor vhodný pre stanovenie obsahu horčíka.

Využitie tejto metódy je veľmi rozsiahle. Je možné ju využiť napríklad na stanovenie tvrdosti vody, alebo na stanovenie obsahu kovových katiónov vo farmaceutických prípravkoch (katióny vápnika, horčíka a iné). Príkladom môžu byť očné kvapky (Zn^{2+}), krémy (Al^{3+}), alebo masti (Zn^{2+}).

Úloha: Komplexometrické stanovenie vápnika

Komplexometrické stanovenie vápnika je založené na priamej titrácii iónov Ca^{2+} odmerným roztokom chelatónu 2 alebo roztokom chelatónu 3 ($Na_2H_2Y_2$)



za prítomnosti indikátora murexidu. Murexid je amónna soľ kyseliny purpurovej (kyseliny 5,5´nitrilodibarbiturovej). Indikátor tvorí s iónmi Ca^{2+} taktiež komplexnú zlúčeninu (červenej farby). Ak tento komplex titrujeme roztokom chelatónu 3, vzniká silnejší komplex. Ten vyviaže vápnik a v bode ekvivalencie indikátor nadobudne charakteristické zafarbenie typické pre voľný indikátor, a to modrofialové. Stálosť vzniknutého komplexu iónov Ca^{2+} s chelatónom je optimálna v silne alkalickom prostredí:

$$H_2Y^{2-} + Ca^{2+} \longrightarrow [CaY^{2-}] + 2\,H^+$$

$$n\,(H_2Y^{2-}) : n\,(Ca^{2+}) = 1 : 1$$

Pracovné potreby
Byrety delené, titračné banky, nedelené pipety (10 ml), odmerný valec (100 ml), delená pipeta (5 ml)
Odmerný roztok chelatónu 3 (c = 0,1 mol/l), roztok NaOH (c = 5,0 mol/l), zmes murexidu a NaCl v pomere 1 : 100 (tuhý).

Pracovný postup

1. Do titračnej banky napipetujte 10 ml roztoku Ca^{2+} o neznámej koncentrácii.
2. Pridajte asi 50 ml destilovanej vody, 1 ml roztoku NaOH a niekoľko zrniek murexidu.
3. Vzniknutý červený komplex murexidu s Ca^{2+} potom titrujte odmerným roztokom chelatónu 3 do vzniku modrofialového zafarbenia.
4. Titráciu opakujte 3-krát a z aritmetického priemeru spotrieb vypočítajte neznámu koncentráciu Ca^{2+} podľa nasledovnej úvahy:

$$c_x = c_{chel} \cdot \frac{V_{chel}}{V_x}\ [mol/l]$$

Pozorovanie:

Titračná banka	Spotreba chelatónu (ml)	Aritmetický priemer spotrieb (ml)
1		
2		
3		

Výpočet:

Záver:

Zrážacie titrácie

Základom zrážacích titrácií sú zrážacie reakcie so známou stechiometriou, avšak len niektoré z nich sú vhodné na použitie v odmernej analýze, nakoľko vylučovanie tuhého produktu je pri nich limitujúcim faktorom. Medzi najpoužívanejšie zrážacie titrácie patrí argentometria a merkurimetria.

Argentometria je založená na vzniku málo rozpustných strieborných solí pri titrácii roztoku vzorky odmerným činidlom dusičnanu strieborného:

$$Ag^+ + X^- \rightarrow AgX$$

kde X predstavuje chloridové, bromidové, príp. rodanidové ióny. Ako odmerné roztoky sa používajú roztoky dusičnanu strieborného, tiokyanatanu amónneho alebo chloridu sodného. Štandardizujú sa použitím NaCl, KCl a iných. Indikátorom je spravidla chlórnan sodný. Argentometria sa využíva pri stanovení niektorých halogenidov a tiokyanatanov odmerným roztokom dusičnanu strieborného. $AgNO_3$ je na svetle nestály, preto je potrebné tento odmerný roztok uchovávať v tmavej fľaši. Pomocou argentometrie je možné stanoviť napr. striebro alebo niektoré halogenidy.

Podľa experimentálneho postupu rozlišujeme **priamu argentometrickú titráciu** (Mohrova metóda), založenú na priamej titrácii stanovovaného iónu (Cl^-) odmerným roztokom $AgNO_3$ za použitia chrómanu draselného ako vizuálneho zrážacieho indikátora.

Druhou metódou je **spätná titrácia** podľa Volharda, ktorou dochádza k vyzrážaniu stanovovaného aniónu nadbytočným odmerným roztokom $AgNO_3$ a určeniu jeho nespotrebovaného množstva odmerným roztokom NH_4SCN alebo KSCN. Ako vizuálny indikátor sa používa železitá soľ, ktorá sfarbuje titrovaný roztok po dosiahnutí ekvivalencie na červeno vytvorením tiokyanatanoželezitým komplexom $[Fe(SCN)]^{2+}$.

V merkurimetrii sa ako odmerný roztok používa dusičnan ortuťnatý a ako indikátor napr. nitroprusid sodný ($Na_2[Fe(CN)_5NO]$), tzv. Votočkova metóda. Odmerné roztoky sa štandardizujú rovnako ako v argentometrii použitím NaCl. Pomocou merkurimetrie sa stanovujú napr. chloridy v moči a v sére.

Priebeh zrážacích titrácií môžeme sledovať experimentálne potenciometrickou metódou za použitia indikačného systému strieborná-nasýtená kalomelová alebo argentochloridová elektróda alebo teoreticky výpočtom jednotlivých bodov titračnej krivky.

Úloha: Argentometrické stanovenie chloridov v pitnej (vodovodnej) vode

Vodovodná voda obsahuje ióny Cl^-, najmä ako dôsledok dezinfekcie vody zlúčeninami chlóru. Ióny Cl^- možno kvantitatívne stanoviť pomocou titrácie odmerným roztokom $AgNO_3$.

V reakcii

$$Ag^+ + Cl^- \rightarrow AgCl$$

vzniká málo rozpustný AgCl (K_S=1,8.10^{-10}). Nadbytok $AgNO_3$ možno indikovať pomocou malého prídavku K_2CrO_4, ktorý poskytuje reakciu

$$2AgNO_3 + K_2CrO_4 \rightarrow Ag_2CrO_4 + 2KNO_3$$

Vzniknutý Ag_2CrO_4 je hnedočervenej farby.

Pracovné potreby

250 ml titračné banky, univerzálne indikátorové papieriky, roztok $AgNO_3$ (c=0,01 mol/l), indikátor K_2CrO_4 (c=0,25 mol/l), pevný $NaHCO_3$

Pracovný postup

1. Do 250 ml titračnej banky odmerajte valcom 100 ml H_2O z vodovodu a pH-papierikom určte hodnotu pH.
2. Ak je pH<6,0, upravte jeho hodnotu pomocou pevného $NaHCO_3$ na pH=7 – 9.
3. Pridajte 1 ml roztoku K_2CrO_4 a titrujte odmerným roztokom $AgNO_3$ do vzniku hnedočervenej zrazeniny.
4. Titráciu opakujte ešte 2 krát a z priemeru spotrieb vypočítajte látkovú koncentráciu Cl^- zo vzťahu:

$$c_{Cl^-} = c_{AgNO3} \cdot \frac{V_{AgNO3}}{V_{H2O}}$$

Obsah chloridov v pitnej vode obyčajne nepresahuje 0,85 mmol/l. Zvýšený obsah chloridov môže byť dôsledkom chlórovania vody za účelom dezinfekcie, zloženia pôdnych vrstiev alebo exkrétov živočíchov.

Pozorovanie:

Titračná banka	Spotreba $AgNO_3$ (ml)	Aritmetický priemer spotrieb (ml)
1		
2		
3		

Výpočet:

Záver:

Kontrolné otázky:

1. Vysvetlite, prečo je nutné štandardizovať odmerný roztok NaOH v alkalimetrii.

2. Vypíšte pH farebného prechodu indikátorov: fenolftaleín, metylčerveň a brómfenolová modrá.

3. Prečo sa v manganometrii nepoužíva žiaden indikátor?

4. Aký je rozdiel medzi priamou a nepriamou jodometriou?

5. Prečo sa v jodometrii reakcie neprevádzajú v zásaditom prostredí?

6. Akým spôsobom ovplyvní pH komplexometrické titrácie?

7. Zamyslite sa, ako môže vylučovanie tuhého produktu ovplyvniť zrážacie titrácie.

8. Nakreslite približný tvar titračnej neutralizačnej krivky titrácie kyseliny octovej roztokom NaOH a navrhnite vhodný indikátor.

9. Vysvetlite pojmy: bod ekvivalencie, priama titrácia, nepriama titrácia, spätná titrácia.

10. Vymenujte najmenej 2 príklady indikátorov používaných v kyslej, neutrálnej a zásaditej oblasti.

Zrážacie a komplexotvorné reakcie

Obsah

Príprava a rozpustnosť halogenidov..... 19
Vznik komplexného tetraamminmeďnatého iónu..... 20

Pri reakciách opačne nabitých iónov vo vodnom roztoku sa často vylučuje produkt vo forme málo rozpustnej zlúčeniny. Reakcie tohto typu označujeme ako **zrážacie reakcie.**

$$B^+ + A^- \rightarrow BA$$

Produktom reakcie je soľ, ktorá je vo vode málo rozpustná a tvorí zrazeninu, tuhú fázu.

Málo rozpustnú látku, resp. jej rozpustnosť, charakterizuje **súčin rozpustnosti K_S**.

$$K_s = [B^+][A^-]$$

Pre reakciu $Ag^+ + Cl^- \rightarrow AgCl$ je $K_s = 1{,}78.10^{-10}\ mol^2.l^{-2}$

Súčin rozpustnosti má pri rovnakej teplote konštantnú hodnotu, ktorá zlúčeninu významne charakterizuje.

K_s umožňuje: a) vypočítať rozpustnosť daného elektrolytu;

b) kvalitatívny dôkaz iónov;

c) kvantitatívne stanovenie látok (vážková analýza a odmerná analýza).

Tvorbu komplexov kovov môžeme opísať všeobecnou rovnicou

$$mM + nL \rightarrow M_mL_n,$$

kde M znamená kov (z anglického metal), ktorý je akceptorom elektrónov, a L znamená ligand s minimálne jedným donorom elektrónov, ako sú elektronegatívne prvky N, O, S. Takáto reakcia sa nazýva komplexotvorná, pričom vznikajúce koordinačné zlúčeniny označujeme ako komplexy. Ak ligand má dva alebo viac donorov schopných vytvárať koordinačné väzby k tomu istému kovovému iónu, potom vznikajú veľmi stabilné komplexy - cheláty. V živých systémoch medzi takéto ligandy patria aminokyseliny, oxokyseliny, peptidy, bielkoviny, nukleové kyseliny, polysacharidy,...

Stálosť (silu) komplexu možno vyjadriť pomocou celkovej termodynamickej rovnovážnej konštanty stability β_F

$$\beta_F = \frac{[M_mL_n]}{[M]^m[L]^n}$$

kde [ ] označujú molárnu koncentráciu látky.

Pre najjednoduchší prípad (m = n = 1) čiastková (konsekutívna) konštanta stability K_{F1} je totožná s celkovou konštantou stability β_{F1},

$$\beta_{F1} = \frac{[ML]}{[M][L]} = K_{F1}$$

Platí: čím vyššia je konštanta stability komplexu, tým je komplex stabilnejší.

Napríklad, po pridaní amoniaku do roztoku meďnatej soli vzniknú amminkomplexy meďnaté - pôvodne jasnobelasý roztok Cu^{2+} sa sfarbí na tmavomodro, pretože prebehla komplexotvorná reakcia

$$Cu^{2+} + 4\ NH_3 \leftrightarrow [Cu(NH_3)_4]^{2+}$$

Táto vlastnosť komplexov - zmena zafarbenia, sa využíva v analytickej chémii a biochémii. Komplexotvorné reakcie sa môžu používať aj na tzv. maskovanie iónov kovu, na detoxifikáciu (napr. pri otravách ťažkými kovmi), na selektívnu extrakciu, na rozpúšťanie zrazenín (napr. močových kameňov typu šťavelanu vápenatého).

V poslednej aplikácii možno vypočítať:

1. ak poznáme produkt - koľko látky A sa rozpustí po pridaní látky B (viď príklad);
2. ak poznáme produkt rozpustnosti K_s látky A, ktorú chceme rozpustiť a konštantu stability β_F vznikajúceho rozpustného komplexu.

Príklad:

Vypočítajte rozpustnosť chloridu strieborného v roztoku amoniaku c = 1 mol/l.

Riešenie:

Celková reakcia sa skladá z dvoch rovnovážnych reakcií

$$AgCl(s) \rightarrow Ag^+(aq) + Cl^-(aq) \qquad K_s = 1{,}8.10^{-10}$$

$$Ag^+(aq) + 2NH_3(aq) \rightarrow [Ag(NH_3)_2]^+(aq)$$

$$K_F = \frac{[Ag(NH_3)_2^+]}{[Ag+][NH_3]^2} = 1{,}5.10^7$$

$$AgCl(s) + 2NH_3(aq) \rightarrow Ag(NH_3)_2^+\ (aq) + Cl^-(aq)$$

Celková rovnovážna konštanta je súčinom konštánt jednotlivých reakcií

$$K = K_S.K_F = \frac{[Ag(NH_3)_2^+][Cl^-]}{[NH_3]^2} = 1{,}8.10^{-10}.1{,}5.10^7 = 2{,}7.10^{-3}$$

Nech <u>s</u> je rozpustnosť AgCl v mol/l. Zosumarizujme zmeny v koncentráciách následkom tvorby komplexného iónu:

$$AgCl(s) + 2NH_3(aq) \rightarrow Ag(NH_3)_2^+(aq) + Cl^-(aq)$$

Pôvodná koncentrácia	1 mol/l	0 mol/l	0 mol/l
Zmena	- 2s	+ s	+ s
Rovnováha	1 - 2s	s	s

$$K = \frac{s.s}{(1-2s)^s} = 2{,}7.10^{-3}$$

Po odmocnení rovnice dostaneme s/(1 - s) = 0,052

s = 0,049 mol/l

V amoniaku (c = 1 mol/l) sa rozpustí 0,049 mol/l AgCl.

Podobne vypočítajte rozpustnosť AgBr a AgI v 1 mol/l NH_3.

Úloha: Príprava a rozpustnosť halogenidov

Pracovné potreby
Skúmavky, delené pipety 1 a 2 ml, stojan na skúmavky
Roztoky: NaCl (c = 0,1 mol/l), $AgNO_3$ (c = 0,1 mol/l), KBr (c = 0,2 mol/l), $Pb(NO_3)_2$ (c = 0,03 mol/l), KI (c = 0,06 mol/l), konc. NH_4OH, $CuSO_4$ (c = 0,04 mol/l), NaOH (c = 0,1 mol/l)

Pracovný postup

1. Pripravte si a označte šesť sklenených skúmaviek
2. Do jednotlivých skúmaviek pridajte po 2 ml roztokov príslušných reaktantov:

$$NaCl + AgNO_3 \rightarrow AgCl + NaNO_3 \qquad K_s = 1{,}8.10^{-10}$$

$$2\ NaCl + Pb(NO_3)_2 \rightarrow PbCl_2 + 2\ NaNO_3 \qquad K_s = 2{,}1.10^{-5}$$

$$KBr + AgNO_3 \rightarrow AgBr + KNO_3 \qquad K_s = 5.10^{-13}$$

$$2\ KBr + Pb(NO_3)_2 \rightarrow PbBr_2 + 2\ KNO_3 \qquad K_s = 3{,}9.10^{-5}$$

$$KI + AgNO_3 \rightarrow AgI + KNO_3 \qquad K_s = 1{,}5.10^{-16}$$

$$2\ KI + Pb(NO_3)_2 \rightarrow PbI_2 + 2\ KNO_3 \qquad K_s = 9{,}8.10^{-9}$$

3. Do protokolov zapíšte farbu vzniknutých zrazenín a porovnajte rozpustnosť vzniknutých solí na základe ich súčinu rozpustnosti a vizuálneho pozorovania.
4. K zrazeninám halogenidov striebra (AgCl, AgBr a AgI) v skúmavkách pridajte nadbytok roztoku amoniaku.

$$2\ NH_3 + AgCl \leftrightarrow [Ag(NH_3)_2]^+ + Cl^-$$

$$2\ NH_3 + AgBr \leftrightarrow [Ag(NH_3)_2]^+ + Br^-$$

$$2\ NH_3 + AgI \leftrightarrow [Ag(NH_3)_2]^+ + I^-$$

5. Sledujte vizuálne rozpustnosť produktov.

Pozorovanie:

Skúmavka	Reakcia	Súčin rozpustnosti	Farba zrazeniny
1	$NaCl + AgNO_3$	$1{,}8.10^{-10}$	
2	$NaCl + Pb(NO_3)_2$	$2{,}1.10^{-5}$	
3	$KBr + AgNO_3$	5.10^{-13}	
4	$KBr + Pb(NO_3)_2$	$3{,}9.10^{-5}$	
5	$KI + AgNO_3$	$1{,}5.10^{-16}$	
6	$KI + Pb(NO_3)_2$	$9{,}8.10^{-9}$	

Záver:

Úloha: Vznik komplexného tetraamminmeďnatého iónu

Komplexný tetraamminmeďnatý ión vzniká reakciami:

$$CuSO_4 + 2\ NaOH \leftrightarrow \underline{Cu(OH)_2} + Na_2SO_4 \qquad K_s = 5{,}6.10^{-20}$$

$$Cu(OH)_2 + 4\ NH_3 \rightarrow [Cu(NH_3)_4]^{2+} + 2\ OH^-$$

Pracovné potreby
Skúmavky, delené pipety 1 a 2 ml, stojan na skúmavky
Roztoky: konc. NH_4OH, $CuSO_4$ (c = 0,04 mol/l), NaOH (c = 0,1 mol/l)

Pracovný postup

1. Do skúmavky nalejte 1-2 ml $CuSO_4$
2. Prikvapkajte 2-3 kvapky roztoku NaOH. Vzniká zrazenina hydroxidu meďnatého.
3. Potom do skúmavky pridajte po kvapkách konc. NH_4OH. Zrazenina sa rozpustí a v dôsledku vzniku komplexného katiónu sa zmení zafarbenie.
4. Pozorujte farebnú zmenu

Pozorovanie:

Záver:

Optické metódy

Obsah

Spektrofotometrické stanovenie medi amoniakom..... 4
Stanovenie dusičnanov v pitnej vode..... 5
Spektrofotometrické stanovenie koncentrácie Fe^{3+} v zliatinách..... 6
Fluorescenčná detekcia aminokyselín v slinách..... 9
Kontrolné otázky..... 10

Spektrofotometria

V súčasnosti sa takmer v každom laboratóriu označenom slovíčkom „bio“ stretávame s prístrojmi na meranie spektrálnych veličín vo viditeľnej a ultrafialovej oblasti (UV-VIS oblasti). Je tomu tak preto, že - azda len s výnimkou sacharidov - majú všetky biologicky zaujímavé látky charakteristické absorpčné pásy v tejto oblasti a koncentráciu týchto látok je pomerne ľahké stanoviť na základe ich spektrálnych vlastností. Kvantitatívne stanovenie látok v biologickom materiáli sa tak veľmi často uskutočňuje optickými metódami využívajúcimi javy spojené so vznikom elektromagnetického žiarenia a jeho interakciou s analyzovanou sústavou. Tieto metódy sú rozdelené na niekoľko skupín, pre nás najzaujímavejšiu predstavuje absorpčná molekulová spektrometria (spektrofotometria), ktorá sleduje závislosť absorbancie látky od jej koncentrácie pri zvolenej vlnovej dĺžke a hrúbke absorbujúceho prostredia.

Základom spektrofotometrie je Lambertov-Beerov zákon.

Ak prechádza monochromatické svetlo cez opticky homogénnu vrstvu, jeho intenzita sa zmenší, lebo časť svetla sa absorbuje. Pritom platí:

$$T=\frac{I}{I_0}$$

kde T predstavuje transmitanciu (priepustnosť), I intenzitu svetla po prechode látkou a I_O východiskovú intenzitu svetla. Transmitancia nadobúda hodnoty od 0 po 1, spravidla sa udáva v percentách.

Pri prechode svetla viacerými opticky homogénnymi vrstvami jeho transmitancia klesá exponenciálne a pri logaritmickom vyjadrení je úmerná hrúbke vrstvy a koncentrácii látky (Lambertov-Beerov zákon):

$$\log\frac{I_0}{I}=\varepsilon.d.c=A$$

kde A vyjadruje absorbanciu, ε molárny absorpčný koeficient, d hrúbku vrstvy a c koncentráciu.

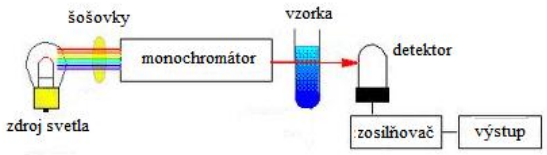
Z uvedeného vzťahu potom vyplýva, že

$$c=\frac{A}{\varepsilon.d}$$

Absorbancia má hodnoty od 0 po nekonečno. Lambertov-Beerov zákon platí pre monochromatické svetlo a lineárnu závislosť vykazuje pre zriedené roztoky, ktorých maximálna absorbancia sa pohybuje do hodnoty 2.

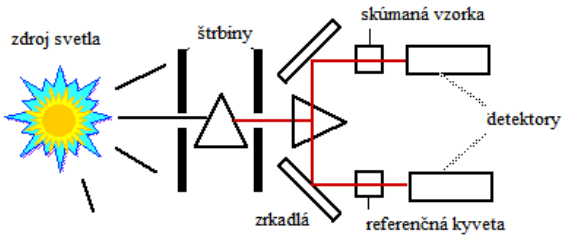
Absorbanciu je možné merať prístrojmi zvanými spektrofotometre. Ako je zrejmé z definície, pri jej meraní potrebujeme vedieť (odmerať) intenzitu dvoch lúčov svetla: tzv. referenčného (I_0, východisková intenzita svetla neoslabená absorpciou) a tzv. merného (I, intenzita svetla po prechode kyvety so vzorkou). Spektrofotometre sa delia na niekoľko základných typov:

1. Jednolúčové, ktoré majú jedinú optickú dráhu. V prístroji sa najprv odmeria referenčná vzorka a po nej meraná vzorka.



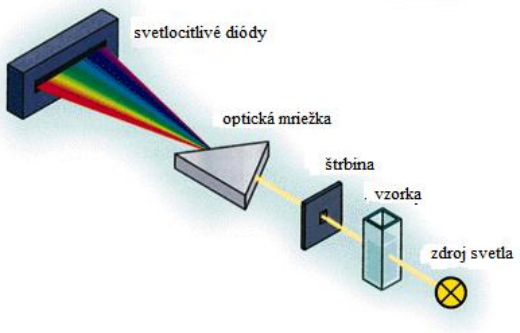
upravené podľa http://elchem.kaist.ac.kr/vt/chem-ed/spec/uv-vis/uv-vis.htm

2. Dvojlúčové spektrofotometre, ktoré majú dve optické oddelené dráhy, jednu pre referenciu a druhú pre skúmanú vzorku. V každom okamihu tak môžu registrovať intenzitu I_0 ako aj I a vypočítať absorbanciu.



upravené podľa http://www.boomer.org/c/p3/c03/c0303.html

3. Diod-array-detectors (DAD) spektrofotometre, v ktorých skúmanou vzorkou na rozdiel od predchádzajúcich prístrojov prechádza polychromatické svetlo a sada svetlocitlivých diód následne analyzuje množstvo svetla jednotlivých vlnových dĺžok, ktoré prešlo vzorkou a referenčným roztokom. Tieto prístroje sa vyznačujú fantastickou rýchlosťou merania.



Upravené podľa http://web.nmsu.edu/~kburke/Instrumentation/HP8452.html

Na základe uvedeného je možné po zmeraní absorbancie určiť koncentráciu roztoku niekoľkými spôsobmi:

1. Odčítaním z kalibračného grafu

Na zostrojenie kalibračného grafu sa pripraví sada štandardných roztokov so stúpajúcou známou koncentráciou. Spektrofotometricky sa stanoví ich absorbancia a zostrojí sa graf, kde na os **x** sa nanesú koncentrácie, a na os **y** zodpovedajúce absorbancie. Spojením jednotlivých bodov vzniká priamka - kalibračný graf, z ktorého sa odčíta koncentrácia neznámeho roztoku na základe nameranej absorbancie.

2. Výpočtom na základe absorbancie roztoku o známej koncentrácii - tzv. štandardného roztoku zo vzťahu:

$$A_a : A_s = c_a : c_s$$

$$c_a = \frac{A_a}{A_s} . c_s$$

A_a = absorbancia analyzovaného roztoku
A_s = absorbancia štandardného roztoku
c_s = koncentrácia štandardného roztoku
c_a = koncentrácia analyzovaného roztoku

3. Na základe mólového absorbčného koeficienta ε:

Podľa vzťahu: $c = \frac{A}{\varepsilon . d}$

ε - molárny absorpčný koeficient, resp. molárna absorbtivita; jej hodnota je závislá od vlnovej dĺžky a je charakteristická pre danú látku.
d - je hrúbka meracej kyvety (spravidla 1 cm)

Úloha: Spektrofotometrické stanovenie medi amoniakom
Zostrojenie kalibračného grafu

Katión Cu^{2+} pri reakcii s NH_4OH poskytuje azúrovo-modrý komplexný ión $Cu(NH_3)_4^{2+}$. Intenzita jeho zafarbenia je úmerná koncentrácii medi v roztoku.

Pracovné potreby
Skúmavky, sklenené pipety, spektrofotometer
Roztok $CuSO_4$ (c = 0,028 mol/l), roztok NH_4OH (c = 1,7 mol/l), destilovaná voda

Pracovný postup

1. Do skúmaviek označených 1-6 pipetujte jednotlivé roztoky a vodu podľa tabuľky:

Skúmavka č.	Štand. roztok [ml]	Roztok Cu^{2+} (ml) o neznámej konc.	NH_4OH [ml]	H_2O [ml]	Konc. štand. roztok v mmol/l $CuSO_4$
1	0,2	-	0,4	1,4	2,8
2	0,3	-	0,4	1,3	4,2
3	0,4	-	0,4	1,2	5,6
4	0,5	-	0,4	1,1	7,0
5	0,6	-	0,4	1,0	8,4
6	-	0,4	0,4	1,2	?

2. Odmerajte absorbanciu všetkých vzoriek na spektrofotometri oproti vode pri λ = 590 nm.
3. Z nameraných hodnôt absorbancií štandardných roztokov $CuSO_4$ a príslušných koncentrácií (skúmavky 1-5) zostrojte kalibračný graf.
4. Z grafu odčítajte koncentráciu neznámeho roztoku (skúmavka č. 6) na základe jeho absorbancie.

Pozorovanie:

Záver:
Vyhodnoťte zostrojený kalibračný graf. Určte presnosť stanovenia koncentrácie Cu^{2+} vo vašej neznámej vzorke. Analyzujte možné chyby počas prípravy a merania vzoriek.

Úloha: Stanovenie dusičnanov v pitnej vode

Sledovanie koncentrácie dusičnanov v pitnej vode je veľmi dôležité. Dusičnany po vniknutí do organizmu sa bakteriálnou flórou zažívacieho traktu redukujú na dusitany, ktoré zapríčiňujú vznik methemoglobínu. Methemoglobín sa líši od hemoglobínu oxidačným číslom železa (oxidácia Fe^{2+} na Fe^{3+} v hemoglobíne) a tým neschopnosťou preniesť kyslík, čo negatívne ovplyvňuje proces respirácie. Nebezpečný je aj vznik karcinogénnych nitrozamínov po reakcii so sekundárnymi amínmi v tráviacom systéme.

Stanovenie dusičnanov je založené na reakcii iónov NO_3^- s kyselinou salicylovou v silne kyslom prostredí. Kyselina salicylová sa nitruje a po alkalizácii poskytuje žltý nitrosalicylát, ktorý sa stanoví spektrofotometricky pri 410 nm.

Pracovné potreby
Skúmavky, porcelánová miska, pipety, lievik, tyčinka, odmerný valec, odmerná banka (25 ml)
Roztok salicylátu sodného (c = 60 mmol/l), konc. H_2SO_4, konc. NaOH (c = 4,5 mol/l)

Pracovný postup

1. Do jednej porcelánovej misky pipetujte 5 ml pitnej vody a do druhej 5 ml destilovanej vody
2. Do oboch pridajte po jednej kvapke konc. NaOH.
3. K obidvom roztokom pridajte po 0,5 ml roztoku salicylátu.
4. Misky opatrne zahrievajte na kovovej sieťke, kým nevznikne suchý odparok.
5. Po vychladnutí k odparku v oboch miskách pridajte 1 ml konc. H_2SO_4 (pozor ŽIERAVINA!).
6. Po 5 min pridajte 10 ml destilovanej vody a následne 2,5 ml konc. NaOH (pozor ŽIERAVINA!).
7. Obsah v miskách dobre premiešajte, kvantitatívne prelejte do odmernej banky a doplňte destilovanou vodou do 25 ml.
8. Takto pripravenú vzorku s pitnou vodou analyzujte spektrofotometricky pri 410 nm oproti vzorke s destilovanou vodou (porovnávacia vzorka).
9. Výslednú hodnotu látkovej koncentrácie NO_3^- odčítajte z kalibračného grafu na základe zistenej absorbancie.

Pozorovanie:

Záver:

Horná hranica obsahu NO_3^- iónov v pitnej vode podľa štátnej normy je 50 mg/l. Pre kojencov sa odporúča hodnota pod 15 mg/l. Bežný obsah dusičnanov v zelenine sa pohybuje od 200 - 3000 mg/kg. Najmenej dusičnanov obsahuje plodová zelenina, najviac červená repa, skleníkové redkvičky a šaláty.

Úloha: Spektrofotometrické stanovenie koncentrácie Fe^{3+} v zliatinách

Zliatiny železa sa rozpúšťajú v zmesi zriedenej HNO_3 a HCl za varu. V týchto podmienkach sa celkové rozpustené železo vyskytuje vo forme Fe^{3+}. V silne kyslom prostredí (pH 1-1,5) vzniká reakciou železitých iónov s tiokyanátom komplexná zlúčenina s maximom absorpcie pri 475 – 480 nm. Stálosť tohto komplexu sa zvyšuje prídavkom zriedenej HNO_3. Prítomnosť organických rozpúšťadiel potláča disociáciu komplexu a zvyšuje citlivosť stanovenia.

Pracovné potreby:
Skúmavky, pipety
Roztoky: roztok 0,5 mmol/l $FeCl_3$, roztok 2 mol/l KCNS, 1 mol/l HNO_3, roztok zliatiny s neznámou koncentráciou Fe^{3+}

Pracovný postup:

1. Pripravte si 10 označených skúmaviek a napipetujte do nich roztoky podľa tabuľky:

Skúmavka č.	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
$FeCl_3$ (ml)	0	0,2	0,5	0,8	1	1,2	1,5	1,8	2	-
KCNS (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
HNO_3 (ml)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
H_2O (ml)	2	1,8	1,5	1,2	1	0,8	0,5	0,2	0	1
Roztok zliatiny	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Koncentrácia Fe^{3+} (mmol/l)										
A_{480}										

2. Výpočtom určte koncentráciu Fe^{3+} v skúmavkách 1-9.
3. Odmerajte absorbanciu skúmaviek 2-10 oproti porovnávacej skúmavke č. 1 pri vlnovej dĺžke 480 nm a výsledky zapíšte do tabuľky.
4. Z absorbancií skúmaviek 2-9 zostrojte kalibračný graf závislosti absorbancie od koncentrácie železa a odčítajte z tohto grafu koncentráciu roztoku zliatiny v skúmavke č. 10.

Pozorovanie:

Graf:

Záver:

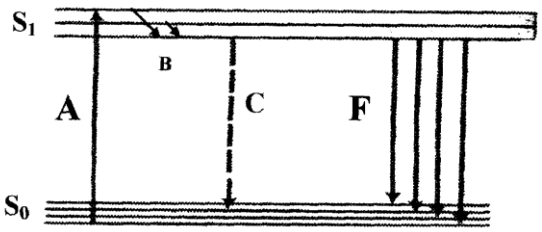
Fluorescenčná analýza

Fluorescenčná analýza patrí medzi optické metódy založené na interakcii elektromagnetického žiarenia s látkou, pri ktorej nedochádza k chemickej zmene látky.

Vyžiarenie fotónu je vždy spojené s prechodom hmotnej častice z vyššej energetickej hladiny, z excitovaného (vzbudeného) stavu do nižšej hladiny, základného stavu. V prípade, že má vyžiarený fotón vlnovú dĺžku spadajúcu do ultrafialovej alebo viditeľnej oblasti, nazýva sa daný jav luminiscenciou. Prechod do excitovaného stavu môže nastať z rozličných fyzikálnych a chemických príčin.

Fluorimetria je metóda zaoberajúca sa štúdiom žiarenia emitovaného molekulami, ktoré prešli do vzbudeného stavu absorpciou excitačného žiarenia vhodnej vlnovej dĺžky. Emitované žiarenie sa nazýva fluorescencia (svetielkovanie). Vznik fluorescencie sa skladá z niekoľkých čiastkových krokov (viď obrázok):

A – molekula v základnom stave prijme fotón excitačného žiarenia a prejde do excitovaného stavu, zvyčajne na jednu z jeho vyšších energetických hladín. B – molekula veľmi rýchlo prejde do základného vibračného stavu v rámci danej excitovanej hladiny. C – excitovaná molekula sa zbavuje nadbytočnej energie prechodom do základného stavu spojeným s vyžiarením fluorescencie F. Tento návrat do základného stavu je spojený aj s určitými energetickými stratami, preto vlnová dĺžka emitovaného svetla je väčšia.



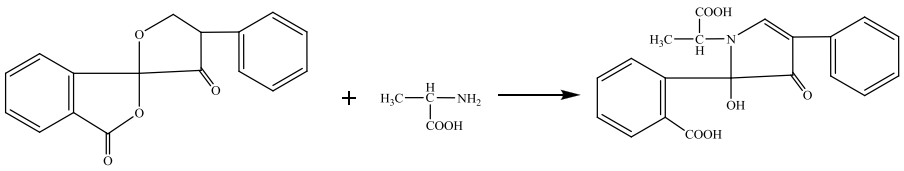
Schematické znázornenie procesu fluorescencie
A - proces absorpcie svetla, (B - bezradiačný rozptyl vibračnej energie, C - bezradiačný prechod do základného stavu. Tieto procesy prebiehajú paralelne s fluorescenčným procesom), F - fluorescenčné žiarenie, S_0 - základný singletový stav, S_1 - vzbudený singletový stav

Prirodzenou požiadavkou pre vznik fluorescencie je taká molekulová štruktúra látky, ktorá je schopná absorbovať žiarenie. Všetky molekuly absorbujú fotóny, avšak fluoreskujú len niektoré. Fluorescenciu možno očakávať v molekulách, ktoré majú rozsiahly systém konjugovaných dvojitých väzieb. Fluoreskujú preto veľmi často aromatické a heteroaromatické zlúčeniny. Takéto zlúčeniny majú prirodzenú fluorescenciu.

Fluorescenčnou technikou sa dajú analyzovať aj zlúčeniny, ktorých molekulová štruktúra nespĺňa vyššie uvedené požiadavky. Z nefluoreskujúcej zlúčeniny môže derivatizačnou reakciou s vhodným činidlom vzniknúť fluorescenčný derivát. Tieto činidlá sa označujú ako fluorescenčné značky. Najpoužívanejšie fluorescenčné značky v analýze aminokyselín sú fluoreskamín, o-ftalaldehyd, danzylchlorid, fluoresceín a iné.

Úloha: Fluorescenčná detekcia aminokyselín v slinách

Fluoreskamín (Fluram-R-fluorescamine) reaguje s primárnymi aminokyselinami za vzniku intenzívne fluoreskujúceho produktu.



fluoreskamín **fluorescenčný produkt**

Pracovné potreby
Skúmavky, pipeta, UV-lampa, sliny
Dest. voda, roztok fluoreskamínu (10 mg/100 ml bezvodého acetónu), fosforečnanový tlmivý roztok s pH 7 - 8.

Pracovný postup

a) Dôkaz aminokyselín

1. Do skúmavky napipetujte 1 ml slín a zrieďte ich 3 ml tlmivého roztoku s pH 7,2.
2. Do druhej skúmavky pridajte 0,5 ml roztoku fluoreskamínu.
3. Skúmavky pozrite pod UV lampou. V obidvoch skúmavkách sú nefluoreskujúce látky.
4. K vzorke (zriedeným slinám) rýchle pridajte roztok fluoreskamínu z druhej skúmavky a okamžite intenzívne pretrepte.
5. Pod UV lampou pozorujte intenzívnu žltú fluorescenciu produktu.

b) Stanovenie aminokyselín

Intenzita fluorescencie vzniknutého produktu (podľa predchádzajúceho postupu) sa meria fluorescenčným spektrofotometrom (ex. = 390 nm, em. = 480 nm) a je priamo úmerná množstvu aminokyselín vo vzorke.

Koncentrácia aminokyselín sa odčíta z kalibračného grafu závislosti intenzity fluorescencie od koncentrácie aminokyseliny, napr. alanínu.

Pozorovanie:

Záver:

Kontrolné otázky:

1. Odvoďte Lambertov-Beerov zákon, pomenujte jednotlivé členy a určte ich fyzikálne jednotky.

2. Uveďte tri spôsoby určenia koncentrácie neznámej látky použitím spektrofotometrie.

3. Čo znamená pojem excitačná vlnová dĺžka a čo emisná vlnová dĺžka?

4. Ako je možné prirodzene nefluoreskujúce látky zmeniť na fluoreskujúce?

5. Aké typy spektrofotometrov poznáte? Aké sú ich výhody, resp. nevýhody?

6. Pri akých vlnových dĺžkach stanovujeme koncentráciu RNA pomocou spektrofotometra?

7. Ktoré vlnové dĺžky patria do oblasti UV, VIS, IČ?

8. Schématicky znázornite a pomenujte jednotlivé časti spektrofotometra.

9. Pomenujte 5 konkrétnych biologických analytov, ktoré sa stanovujú spektrofotometricky v klinickej praxi.

10. Viete uviesť výhody fluorescencie?

Stomatologické materiály

Obsah

Dôkaz prvkov v silikátovom cemente..... 3
Dôkaz prvkov v amalgáme..... 6
Dôkaz prvkov vo Woodovom kove..... 7
Polymerizácia metylmetakrylátu..... 10
Kondenzácia kyseliny ftalovej a glycerolu..... 11
Vznik fenolformaldehydovej plastickej hmoty..... 12
Kontrolné otázky..... 13

Medzi stomatologické materiály sa zaraďuje široké spektrum materiálov výplňových, k zhotovovaniu koruniek, mostíkov, čiastočných alebo úplných náhrad chrupu, až po materiály pomocné používané v zubnej ordinácii alebo laboratóriu. Takmer vždy, azda len s výnimkou rôznych pomocných materiálov, sú tieto dentálne materiály určené na viac menej trvalé použitie v ústnej dutine, sú preto na ne kladené prísne požiadavky. Musia to byť materiály bez toxických účinkov na organizmus, musia mať čo najlepšie adhezívne vlastnosti pre dokonalú schopnosť väzby s tvrdými zubnými tkanivami, musia mať vyhovujúce mechanické vlastnosti ako odolnosť v tlaku, ťahu, šmyku, a v neposlednom rade aj vhodné estetické vlastnosti.

Stomatologické cementy

Stomatologické cementy sú známe už dávno. Používajú sa ako tepelne a elektricky izolačný a podkladový materiál. Okrem toho majú funkciu tmelu alebo konzervačného prostriedku. Zložením, spôsobom spracovania a mechanickými vlastnosťami sa významne odlišujú od cementov technických. Podľa zloženia najviac rozšírené sú silikátové, zinkoxidfosfátové a modifikované zinkoxidové cementy. Vyrábajú sa v dvojzložkovej podobe ako prášok a tekutina, ktoré sa zmiešajú bezprostredne pred použitím. Silikátové cementy obsahujú oproti zinkoxidfosfátovým menej fosforu. Modifikované zinkoxidové cementy obsahujú aj strieborné soli, oxidy medi alebo iné zlúčeniny, ktoré im dodávajú antiseptické vlastnosti. Presné zloženie nie je známe (výrobné tajomstvo firmy).

Prášková zložka silikátových cementov sa vyrába tavením SiO_2 a Al_2O_3 (môže obsahovať aj iné oxidy a rôzne prísady) a následným mletím na jemný prášok. Cementy tuhnú zmiešaním tekutiny H_3PO_4 s práškovým cementom za vzniku kyseliny kremičitej a fosforečnanov kovov. Takto pripravený cement je možné podrobiť kvalitatívnej analýze.

Prášok zinkoxidfosfátového cementu pozostáva z oxidu zinočnatého a horečnatého vo váhovom pomere približne 9:1. Okrem týchto oxidov sa v ňom nachádza menšie množstvo oxidu kremičitého a stopy ďalších oxidov a modifikátorov. Tekutinu predstavuje rovnako ako v predošlom prípade kyselina fosforečná, príp. fosforečnan hlinitý a zinočnatý. Do praxe sa zavádzajú aj zinkoxidfosfátové cementy, ktoré namiesto kyseliny fosforečnej používajú vodu. V tom prípade však prášok okrem ZnO obsahuje dihydrogenfosforečnan zinočnatý a fosforečnan zinočnatý.

$$ZnO + 2H_3PO_4 + H_2O \rightarrow Zn(H_2PO_4)_2.2H_2O$$

$$2ZnO + Zn(H_2PO_4)_2.H_2O \rightarrow Zn_3(PO_4)_2.4H_2O$$

Príkladom modifikovaného zinkoxidového cementu je zinkoxideugenolový a polykarboxylátový cement. Aktívnou zložkou zinkoxideugenolového cementu je eugenol ako súčasť klinčekového oleja. Zmiešaním samotného ZnO s eugenolom sa získa zmes, ktorá tuhne veľmi dlho, až 24 hodín, preto sa do zmesi pridávajú rôzne pozmeňujúce látky ako napr. kalafúna alebo hydrogenfosforečnan vápenatý, ktoré urýchľujú tuhnutie, ale zároveň aj zlepšujú spracovateľnosť zmesi.

Polykarboxylátový cement sa vyznačuje trvalou adhéziou k tvrdým zubným tkanivám. Základnou zložkou prášku je ZnO, ktorý sa mieša s vodným roztokom polykyseliny. Najčastejšie sa používajú kopolyméry kyseliny polyakrylovej s itakonovou a maleínovou kyselinou alebo samotné polymérne maleínové kyseliny. V prášku býva primiešaný oxid hlinitý pre zlepšenie miešania alebo fluorid cínatý s predpokladaným antikariéznym účinkom.

V poslednej dobe sa v dentálnej praxi používa skloionomerný cement, ktorý sa vyznačuje adhéziou k štruktúram zuba a tak vytlačil z praxe silikátové cementy, ktoré sa nevyznačujú žiadnymi adhezívnymi vlastnosťami. Skloionomérne cementy predstavuje kombinácia skleneného prášku s ionomérom, polymérnou karboxykyselinou. Ako kyseliny sa používajú hlavne polyakrylová kyselina a jej kopolyméry s itakonovou a maleínovou kyselinou. Do tekutiny sa pridáva aj malé množstvo kyseliny vínnej pre zlepšenie spracovateľnosti a stability. Materiály odvodené od týchto cementov majú mnoho vlastností podobných ako prirodzené tvrdé zubné tkanivo, hoci ich pevnosť je nižšia ako pevnosť zuboviny alebo skloviny. No vďaka svojim špeciálnym vlastnostiam rozširujú spektrum materiálov používaných v konzervačnom zubnom lekárstve.

Úloha: Dôkaz prvkov v silikátovom cemente

Špecifické reakcie, ktorými by sa mohli dokazovať katióny a anióny priamo v zmesi nie sú plne spoľahlivé. Preto sa určovaná látka pred konečným dôkazom oddeľuje zo zmesi od ostatných iónov zrážacími reakciami a potom sa dokazuje selektívnymi reakciami.

Pracovné potreby
Skúmavky, roztieracie sklo, oceľová lopatka, kadičky, lievik, filter
Konc. HCl, roztok $(NH_4)_2MoO_4$ (c = 0,1 mol/l), roztok NH_4OH (c = 0,1 mol/l), alizarínsulfónan sodný (c = 0,03 mol/l), roztok $(NH_4)_2CO_3$ (c = 0,1 mol/l)

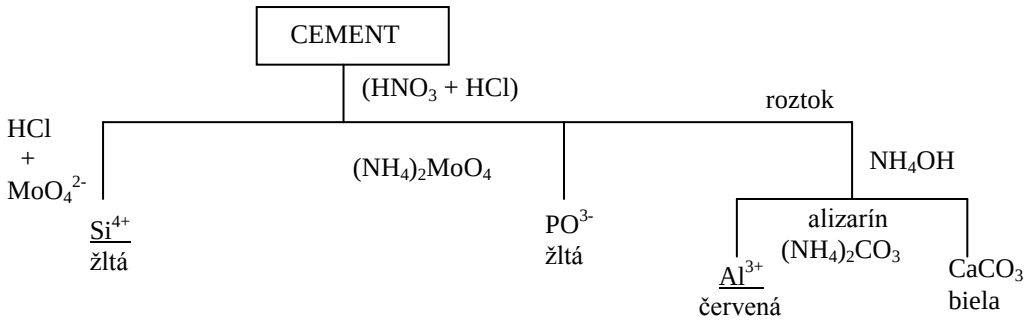
Pracovný postup
Príprava cementu:

1. Na roztieracie sklo pridajte tri malé odmerky cementového prášku, prikvapkajte 2-3 kvapky tekutiny. Zmes rozotrite na skle lopatkou z nerezovej ocele.
2. Cement nechajte zatvrdnúť. Pri 37 °C cement tuhne za 3 min, pri laboratórnej teplote tuhne pomalšie. Po stuhnutí sa ľahko oddelí od roztieracieho skla. Takto pripravený cement použite na analýzu.

Chemická analýza cementu:

1. Pripravený cement preneste do kadičky a pridajte asi 8 ml HNO_3 a 2 ml HCl.
2. Zmes mierne zahrievajte v digestóriu na sieťke za stáleho miešania. Cement sa postupne rozpúšťa a vzniká zákal zmesi rôzne hydratovaných kremičitých kyselín. Zrazeninu odfiltrujte. Filtrát nevylievajte.
3. Filtračný papier rozložte na hodinové sklo. Zrazeninu na filtri pokvapkajte konc. HCl a niekoľkými kvapkami molybdénanu amónneho. Vzniká žlté zafarbenie kyseliny silikomolybdénovej, ktoré dokazuje prítomnosť Si^{4+}.
4. Filtrát rozdeľte do 2 skúmaviek. V jednej časti filtrátu sa dokážu fosfáty molybdénanom amónnym. Zahriatím do varu vznikne žltý produkt.
5. Druhú časť filtrátu neutralizujte roztokom NH_4OH na pH 5-6 a opäť rozdeľte do dvoch skúmaviek.
6. V jednej skúmavke uskutočnite reakciu so špecifickým činidlom - alizarínsulfónanom sodným. Červené zafarbenie koloidného roztoku hydroxidu hlinitého dokazuje prítomnosť Al^{3+}.
7. V druhej skúmavke dokážte Ca^{2+} roztokom $(NH_4)_2CO_3$ za vzniku bieleho $CaCO_3$.

Schéma delenia:



Pozorovanie:

Záver:
Do protokolu zapíšte postup a výsledok kvalitatívnych analýz.

Kovové stomatologické materiály

Kovy majú v stomatologickej praxi širokú škálu použitia. Používajú sa buď vo forme čistých kovov alebo zliatin. Vlastnosti zliatin sa podstatne líšia od vlastností čistých zložiek, čo je celkom pochopiteľné vzhľadom na tvorenie rôznych zlúčenín. Predovšetkým elektrická vodivosť zliatin býva všeobecne nižšia ako vodivosť ich zložiek. Rovnako magnetické vlastnosti sú iné ako pri kovoch, ktoré zliatiny tvoria. Bod topenia zliatin je veľmi často znížený, nie zriedka pod bod najnižšie sa topiacej zložky. Napr. tzv. Woodov kov s charakteristickým zložením (50,1 % Bi, 24,9 % Pb, 14,2 % Sn, 10,8 % Cd) sa topí pri približne 65 °C, to znamená, že už v horúcej vode, zatiaľ čo bod topenia jeho najľahšie taviteľnej zložky - Sn - je 231,8 °C. Naproti tomu tvrdosť zliatin je zvyčajne vyššia než tvrdosť príslušných zložiek.

Zliatiny rozdeľujeme na:

- zliatiny s vysokým obsahom ušľachtilých kovov (high-noble alloys);
- zliatiny ušľachtilých kovov (noble alloys);
- zliatiny všeobecných kovov (base metal alloys).

Kovy a ich zliatiny sa používajú ako výplnkové hmoty alebo materiály na zhotovovanie stomatologických náhrad, aj ako rozličné pomocné materiály.

Samostatnú skupinu zliatin predstavujú amalgámy, zliatiny rôznych kovov s ortuťou.

Amalgámy

Amalgámy sú zliatiny jedného, alebo viacerých kovov s ortuťou. Základom amalgámu používaného v stomatologickej praxi je, pochopiteľne s výnimkou ortute, striebro (približne 70 %). Určuje tvrdosť a pevnosť amalgámu. Ďalej je to cín, meď (okolo 4,5 %), ktoré znižujú objemové zmeny a zinok (okolo 1 %). Zinok však po reakcii s vodou uvoľňuje vodík, čo spôsobuje výraznú objemovú expanziu výsledného amalgámu.

Pri výrobe amalgámovej zliatiny sa odvážené zložky spolu tavia. Tavenina sa následne odlieva do vhodných ingotov, ktoré sa zahrievaním na 400°C homogenizujú počas 1 – 2 týždňov. Potom sa ingoty zosústružia na jemné piliny, ktoré sa melú v guľových mlynoch, preosievajú sa a zohrievajú niekoľko hodín pri 100°C pre odstránenie vnútorného pnutia. V zubnom lekárstve sa pod pojmom amalgám rozumie konzervačný materiál, ktorý sa pripravuje zmiešaním práškovej zliatiny zloženej predovšetkým zo striebra a cínu s ortuťou. Takto vzniknutá hmota sa ihneď natlačí do pripravenej kavity, kde pozvoľna tuhne.

Úloha: Dôkaz prvkov v amalgáme Safargam

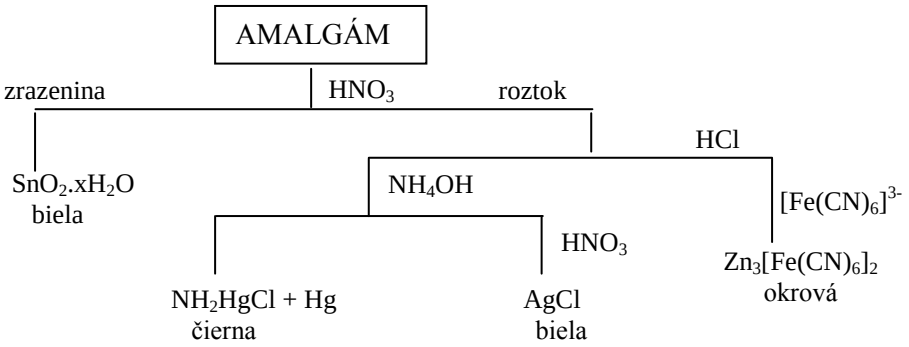
Pracovné potreby
Skúmavky, roztieracie sklo, oceľová lopatka, kadičky, lievik, filtračný papier, sklenená tyčinka
Konc. HCl, roztok $(NH_4)_2MoO_4$ (c = 0,1 mol/l), roztok NH_4OH (c = 0,1 mol/l), alizarínsulfónan sodný (c = 0,03 mol/l), roztok $(NH_4)_2CO_3$ (c = 0,1 mol/l), $K_3[Fe(CN)_6]$ (c = 0,1 mol/l)

Pracovný postup

Príprava amalgámu:
1. Do porcelánovej misky nasypte na špičku lyžičky amalgámového prášku.
2. Pridajte 1 kvapku ortuti a sklenenou tyčinkou intenzívne zmes miešajte, kým nevznikne kompaktný amalgám.

Chemická analýza amalgámu:
1. Pripravený amalgám preneste do malej kadičky a pridajte 10 ml HNO_3.
2. Zmes zahrievajte v digestóriu za občasného miešania. Šedý amalgám postupne mizne za vzniku bielej zrazeniny kyseliny cíničitej, ktorú po skončení zahrievania odfiltrujte. To dokazuje prítomnosť Sn^{4+}.
3. K filtrátu pridajte 2 ml HCl, vzniká zrazenina chloridu strieborného a ortuťného. Zrazeniny odfiltrujte a filtrát odložte.
4. Zrazeninu na filtri prelejte amoniakom a nový filtrát zachyťte do ďalšej skúmavky. Na filtri zostáva čierna zrazenina, ktorá sa skladá z amidochloridu ortuťnatého a elementárnej ortuti.
5. Okyslením filtrátu v skúmavke HNO_3 sa vylúči z diamínzlúčeniny biely AgCl.
6. K filtrátu z bodu 3 pridajte hexakyanoželezitan draselný, čím vzniká oranžovohnedá zrazenina $Zn_3[Fe(CN)_6]_2$, dokazujúca prítomnosť Zn^{2+}.

Schéma delenia:



Pozorovanie:

Záver:

Úloha: Dôkaz prvkov vo Woodovom kove

Woodov kov je ľahko taviteľná zliatina, ktorá pozostáva z bizmutu, olova, cínu a kadmia najčastejšie v hmotnostnom pomere 4:2:1:1 v poradí Bi:Pb:Sn:Cd. Môže obsahovať aj malé množstvo zinku a antimónu. V stomatologickej praxi sa využíva v dôsledku nízkeho bodu tavenia (medzi 60 - 70 °C, v závislosti od zloženia) na spájanie kovových a keramických materiálov, pri príprave stomatologických náhrad v protetickej praxi. V poslednom období sa však upúšťa od jeho používania v dôsledku obsahu toxických kovov kadmia a olova. Alternatívou je tzv. Fieldov kov, ktorý obsahuje bizmut, indium a cín.

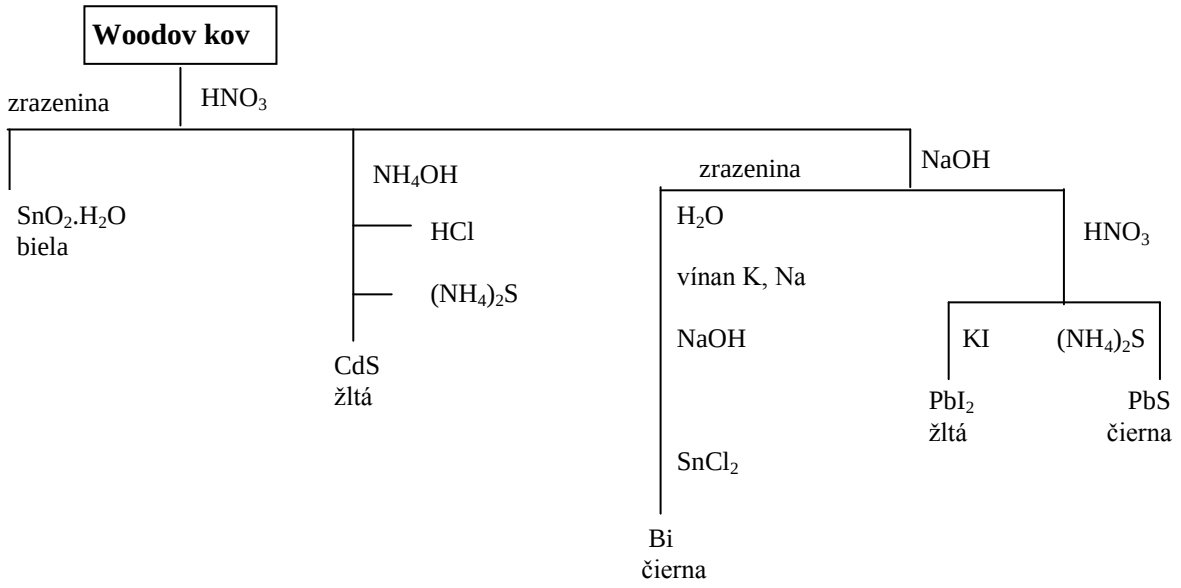
Pracovné potreby

Kadička (50 ml), filtračný lievik, filtračný papier, sklenená tyčinka, skúmavky, pH papieriky
Roztok HNO_3 (500 g HNO_3/l, resp. 7,9 mol/l), NH_4OH (c = 3 mol/l), HCl (c = 0,5 mol/l), $(NH_4)_2S$, NaOH (c = 2 mol/l), KI (c = 0,5 mol/l), roztok vínanu draselnosodného s KOH (125 g KOH + 173 g vínan draselnosodný v 500 ml H_2O), $SnCl_2$ (c = 0,05 mol/l = 10 g/l)

Pracovný postup

1. Niekoľko zrniek Woodovho kovu preneste do kadičky, pridajte 3 ml HNO_3 a pomaly zahrievajte 10 - 15 min, kým sa všetko nerozpustí. Pôvodná sivá farba sa zmení na bielu. Vzniknutú zmes prefiltrujte.
2. Na papieri ostane biela zrazenina H_2SnO_3, do filtrátu pretečie $Pb(NO_3)_2$, $Bi(NO_3)_3$, $Cd(NO_3)_2$.
3. Filtrát rozdeľte na dve časti. K jednej časti pridajte 3-4-násobok objemu NH_4OH, silne zatrepte a vzniknutú zrazeninu prefiltrujte. Filtrát zneutralizujte zriedenou HCl, pridajte malé množstvo $(NH_4)_2S$. Vzniká žltý roztok až zrazenina CdS. Tým je dokázaná prítomnosť Cd^{2+}.
4. K druhej časti pôvodného filtrátu pridajte 3-4-násobok objemu NaOH (do silne alkalickej reakcie), vzniknutú zrazeninu intenzívne zatrepte a zahrejte do varu a filtrujte. Zrazeninu na filtri nevyhadzujte.
5. K filtrátu pridajte HNO_3 do neutrálnej reakcie a rozdeľte na dve časti.
6. Do prvej časti pridajte pár kvapiek roztoku KI, vzniká žltá zrazenina PbI_2.
7. Do druhej časti filtrátu pridajte malé množstvo $(NH_4)_2S$. Vzniká čierna zrazenina PbS.
8. Zrazeninu, ktorá ostala na filtri (bod 4) dobre premyte vodou, pokvapkajte roztokom vínanu draselnosodného a NaOH. K filtrátu pridajte roztok $SnCl_2$ a zahrejte. Čierna zrazenina dokazuje prítomnosť kovového bizmutu.

Schéma delenia:



Pozorovanie:

Záver:

Syntetické makromolekulové hmoty

Makromolekulové zlúčeniny sa skladujú z monomérov, ktoré sú vzájomne pospájané kovalentnými väzbami. Počet monomérov vyjadruje polymerizačný stupeň. Makromolekulové látky delíme na prírodné, ako je kaučuk, celulóza, chitín, bielkoviny a nukleové kyseliny a na syntetické, získané chemickým spracovaním z uhlia alebo ropy, ako napr. polyetylén, teflón, nylón, polystyrén, bakelit a pod. Z hľadiska štruktúry ich delíme na lineárne, rozvetvené, sieťované a priestorovo sieťované. Môžu byť zložené z rovnakých monomérov, tzv. homopolyméry alebo z 2-3 rozdielnych monomérov, ktoré vytvárajú kopolyméry. Podľa správania pri zvýšenej teplote rozlišujeme termoplasty, ktoré sa po zahrievaní stávajú plastické a môžeme ich tvarovať a na termosety, ktoré sa zohrievaním chemicky menia a strácajú plastickosť.

Syntetické makromolekulové látky vznikajú reakciami reťazovými (tzv. chain-growth polymerization) a stupňovitými (tzv. step-growth polymerization).

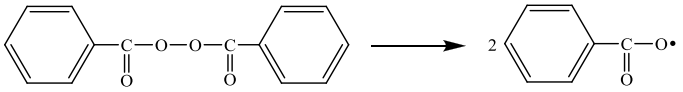
Pri reťazových reakciách ako monomér najčastejšie vystupuje etén (etylén) a jeho deriváty. Takto vznikajú polyetylén (PE), polystyrén (PS), polymetylmetakrylát (PMMK), alebo teflón (TF).

PE, PS a PMMK sú termoplastické a dobre odolné voči vode a kyselinám, ale málo odolné voči organickým rozpúšťadlám, zatiaľ čo teflón je veľmi stabilný, a preto sa používa napr. aj ako náhrada ciev v chirurgii.

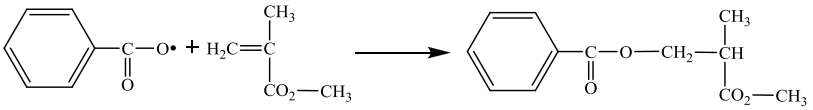
Stupňovité reakcie prebiehajú medzi dvoma bifunkčnými derivátmi za odštiepenia vody. Opakovaním tejto reakcie vznikajú makromolekuly ako polyamidy, polyestery a pod.

Úloha: Polymerizácia metylmetakrylátu

Polymetylmetakrylát (PMMK) predstavuje základný dentálny polymér. Má výborné mechanické a estetické vlastnosti, je ľahko tvarovateľný a cenovo dostupný. Vzniká tzv. chain-growth polymerizáciou radikálového typu. Iniciátorom polymerizačnej reakcie je benzoylperoxid. Z benzoylperoxidu vzniká radikál teplom, chemicky alebo pôsobením UV žiarenia. V prípade súpravy Duracryl je benzoylperoxid aktivovaný chemicky dimetyl-*p*-toluidínom. Vzniknutý radikál potom reaguje s monomérom metylmetakrylátom za vzniku radikálu s naviazaným metylmetakrylátom, ktorý po reakcii s ďalšími jednotkami monomérov vytvára polymér.



Vznik radikálu z benzoylperoxidu



Reakcia radikálu s monomérom metylmetakrylátom

Pracovné potreby
Skúmavky, kadička, kovová nádobka, oceľová lopatka
Dvojzložková súprava Duracryl

Pracovný postup

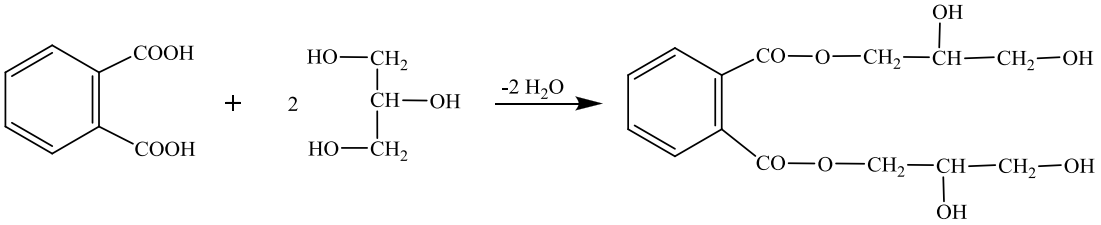
1. V skúmavke zmiešajte asi 0,5 g Duracrylu s pár kvapkami iniciátora.
2. Zmes zahrievajte na vodnom kúpeli niekoľko minút do varu.
3. Obsah vlejte do kovovej nádobky, kde sa polymerizácia dokončí. Vznikne priehľadná hmota - organické sklo.

Pozorovanie:

Záver:

Úloha: Kondenzácia kyseliny ftalovej a glycerolu

Kondenzácia kyseliny ftalovej a glycerolu prebieha podľa nasledujúcej reakcie:



Voľné -OH skupiny glycerolu môžu reagovať s ďalšími molekulami kyseliny ftalovej za vzniku sieťovej štruktúry syntetickej makromolekuly.

Pracovné potreby
Porcelánová nádobka, tyčinka, filtračný papier
kyselina ftalová (substancia), glycerol

Pracovný postup

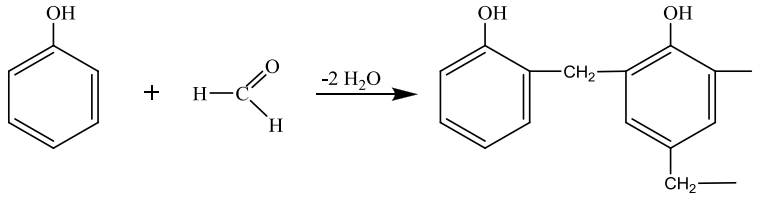
1. K 0,5 g kyseliny ftalovej v nádobke pridajte 1 ml glycerolu.
2. Tyčinkou zamiešajte a opatrne zahrievajte na sieťke, do viditeľného tmavnutia zmesi. Vzniká viskózna kvapalina polyméru.
   Touto reakciou vznikajú zasieťované polyestery, ktoré dokonale priľnú na povrch a zvyšujú odolnosť materiálov.

Pozorovanie:

Záver:

Úloha: Vznik fenolformaldehydovej plastickej hmoty

Fenolformaldehydové plastické hmoty – fenolplasty – patria medzi najdlhšie známe syntetické makromolekulové látky. Sú nerozpustné a používajú sa na výrobu známeho bakelitu, ktorý má široké uplatnenie. Kondenzácia fenolu a formaldehydu prebieha podľa nasledovnej reakcie:



Ďalšími väzbami formaldehydu v *o*-, a *p*- polohách dochádza k vzniku sieťovej štruktúry plastu.

Pracovné potreby
Skúmavky, tyčinky
Roztok fenolu (c = 5 mol/l), roztok formaldehydu (c = 10 mol/l), konc. HCl

Pracovný postup

1. Do skúmavky k 1 ml roztoku fenolu pridajte približne 4 ml roztoku formaldehydu.
2. Opatrne pridajte pár kvapiek konc. HCl.
   Dochádza k búrlivej reakcii vzniku plastickej guličky. Po schladení je možné plastickú látku v skúmavke premyť destilovanou vodou.

Pozorovanie:

Záver:

Kontrolné otázky:

1. Aké typy cementov rozlišujeme v stomatológii? Aká je funkcia cementov?

2. Napíšte rovnicu tuhnutia zinkoxidfosfátového cementu.

3. Ktoré prvky zlepšujú spracovateľnosť cementu a ktoré majú antiseptické vlastnosti?

4. Ako sú klasifikované zliatiny v stomatológii? Uveďte príklady ušľachtilých a všeobecných kovov.

5. Aké typy polymérov rozlišujeme z hľadiska: i) štruktúry, ii) typu monomérov?

6. Akými reakciami vznikajú polymérne zlúčeniny? Aký je medzi nimi rozdiel?

7. Vymenujte minimálne 5 zlúčenín vznikajúcich reťazovými reakciami a 5 zlúčenín vznikajúcich stupňovitými reakciami.

8. Ktorá zlúčenina predstavuje základný dentálny polymér? Akým typom reakcie vzniká?

9. Schematicky znázornite vznik PMMK.

10. Akým spôsobom je možné aktivovať radikál v prípade chain-growth polymerizácie?

Metódy delenia látok

Obsah

Delenie zmesi farbív chromatografiou na tenkej vrstve (TLC)..... 3
Delenie látok gélovou chromatografiou na Sephadexe G-100..... 4
Kontrolné otázky..... 5

Izolácia látok zo zmesí – separácia – predstavuje dôležitú časť pri štúdiu biologických objektov. Pri izolácii látok sa využívajú rozdiely vo fyzikálno – chemických vlastnostiach delených látok, ako napr. veľkosť elektrického náboja, molekulová hmotnosť, prchavosť, polarita, rozpustnosť a i. Základom separačných metód sú medzifázové rovnováhy, t. j. prostredie dvoch vzájomne sa nemiešajúcich fáz. K bežne používaným separačným metódam patrí zrážanie, destilácia, extrakcia (viď kapitola Základné laboratórne techniky), elektroforéza a chromatografia.

Chromatografia patrí k najvýznamnejším metódam používaným na izoláciu rozmanitých anorganických a organických látok. Chromatografické delenie látok je založené na postupnom, viacnásobne sa opakujúcom rovnovážnom rozdelení separovaných látok medzi dve fázy – stacionárnu a mobilnú. Stacionárna, alebo nazývaná aj nepohyblivá, predstavuje tuhú látku alebo kvapalinu umiestnenú na plochej vrstve alebo v kolóne. Mobilná, alebo aj pohyblivá fáza zabezpečuje transport vzorky cez stacionárnu fázu. Nerovnaká afinita delených zložiek k stacionárnej fáze, ovplyvňovaná pretekajúcou mobilnou fázou spôsobuje, že jednotlivé zložky zmesi unáša mobilná fáza rôznou rýchlosťou, čím dochádza k ich rozdeleniu.

Z veľkého počtu typov chromatografických metód v biochémii sa najčastejšie používajú: papierová chromatografia, chromatografia na tenkej vrstve (TLC), gélová (filtračná) chromatografia, ionexová chromatografia, adsorpčná chromatografia, afinitná chromatografia a iné.

Papierová chromatografia používa ako stacionárnu fázu upravenú celulózu alebo papier zo sklenených vlákien. Pôsobením kapilárnych síl dochádza k pretekaniu mobilnej fázy chromatografickým materiálom čo spôsobuje posun delených látok po celulóze. Tejto chromatografii sa podobá chromatografia na tenkej vrstve, pri ktorej sa stacionárna fáza nanáša na sklenenú alebo hliníkovú platňu vo forme suspenzie a vytvára tak tenkú vrstvu. V prípade gélovej, ionexovej alebo adsorpčnej chromatografie predstavuje tuhú fázu syntetický gél, ionex alebo adsorbent. Medzi kvapalinové chromatografie sa radí aj afinitná chromatografia, pri ktorej sa delené látky viažu špecifickými väzbami na ligand imobilizovaný na pevnom nosiči.

Chromatografia je predovšetkým analytická metóda na delenie zmesi látok. Veľmi účinne však pomáha pri ich kvantitatívnom stanovení a identifikácii.

Výber vhodnej deliacej metódy pri izolácii čistej zložky závisí od druhu separovanej látky a od materiálu, z ktorého sa izoluje. V praxi nie je nezvyčajné použitie viacerých chromatografických metód, prípadne kombinácia s inými izolačnými technikami.

Veľmi často používanou metódou delenia látok je elektroforéza. Táto metóda je založená na migrácii iónov v elektrickom poli. Metódu prvýkrát popísal švédsky biochemik Tiselius koncom 30-

tych rokov minulého storočia. Do trubice v tvare U umiestnil roztok bielkovín a opatrne ho prevrstvil tlmivým roztokom neobsahujúcim bielkoviny. Pomocou ponorených elektród vytvoril elektrické pole, ktorého pôsobením sa bielkoviny pohybovali k elektródam s opačnou polaritou. Jednotlivé bielkoviny sa pohybovali v dôsledku rozdielnych nábojov rozdielnymi rýchlosťami a vznikli tak zóny s rozdelenými bielkovinami. Táto pôvodná elektroforéza bola označená ako voľná elektroforéza. V súčasnosti je nahradená elektroforézou na nosiči. Nosič predstavuje pevný podklad, na ktorom je nanesená a v ktorom sa pohybuje skúmaná vzorka. Nosičom môže byť filtračný papier, celulóza alebo gél.

Pri papierovej elektroforéze je vzorka nanesená na filtračný papier alebo na pruh acetátcelulózy, ktoré sú navlhčené tlmivým roztokom. Po nanesení vzorky sa konce pruhov ponoria do oddelených elektródových priestorov. Následne sa všetko preleje vhodným tlmivým roztokom a elektródy sa zapoja na zdroj jednosmerného elektrického prúdu. Pôsobením prúdu putujú ióny vzorky určitou rýchlosťou k opačne nabitým elektródam.

Medzi najpraktickejšie a najvýkonnejšie metódy separácie látok patrí gélová elektroforéza. Delenie látok je založené na gélovej filtrácii a zároveň elektroforetickej pohyblivosti delených látok. Najčastejšie sa používajú dva typy gélov, polyakrylamid a agaróza. Pri polyakrylamidovej gélovej elektroforéze (PAGE) sa gél vytvára polymerizáciou akrylamidu a N,N'-metylén(bis)akrylamidu v prostredí zvoleného tlmivého roztoku. Pre delenie látok s veľkou molekulovou hmotnosťou sa musia použiť gély s veľkými pórmi. V tomto prípade sa preto uprednostňujú gély pripravené buď z čistej agarózy alebo zo zmesi agarózy a polyakrylamidu.

Použitím tzv. SDS-PAGE elektroforézy je možné deliť bielkoviny na základe ich rozdielnej molekulovej hmotnosti. Dodecylsíran sodný (SDS) je detergent, ktorý sa na bielkoviny viaže vždy rovnakým pomerom, zhruba 1,4 g SDS/g bielkoviny, čo je približne pomer jednej molekuly SDS na dva aminokyselinové zbytky. Vysoký negatívny náboj viazaného SDS prekrýva vlastný náboj bielkoviny. Tie potom majú zhodné pomery počtu nábojov na jednotku hmoty a podobný tvar. Následkom toho sa pôsobením elektrického poľa bielkoviny rozdelia na základe svojej molekulovej hmotnosti.

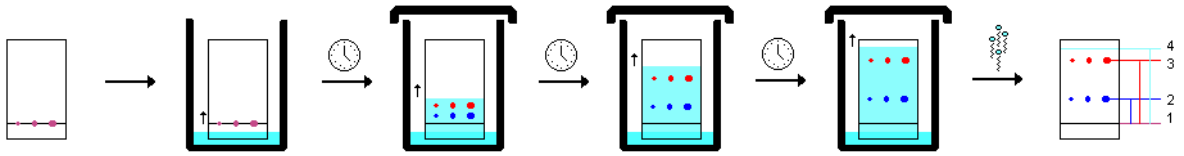
Na rozdiel od gélovej chromatografie, pri gélovej elektroforéze sú veľké molekuly spomaľované oproti malým, pretože gél je umiestnený priamo v elektroforetickom. Veľké molekuly sa potom oproti malým molekulám pohybujú pomalšie, pretože veľmi ťažko prenikajú štruktúrami gélu.

Po elektroforetickom delení je potrebné jednotlivé rozdelené frakcie vzorky detegovať. Na detekciu sa používajú rozličné techniky. Bielkoviny sa najčastejšie farbia ponorením do kyslého roztoku s obsahom alkoholu a farbiva Coomassie-modrá (Coomassie Brilliant Blue). Týmto spôsobom je možné skúmaž mikrogramové množstvá bielkoviny. Pre citlivejšie stanovenie pri menšom množstve bielkoviny sa vzorky farbia striebrom. Na detekciu sa niekedy používa aj fluoreskamín, ktorý nefluoreskuje, avšak po reakcii s primárnymi amínmi sa stáva vysoko fluoreskujúci.

Úloha: Delenie zmesi farbív chromatografiou na tenkej vrstve (TLC)

Tenká vrstva silikagélu (Silufol) má pre rôzne látky rozdielne adsorpčné schopnosti. Pohyblivá fáza (zmes rozpúšťadiel) vzlína po tenkej vrstve a unáša nanesené látky, pričom rýchlosť ich pohybu závisí od veľkosti a tvaru molekúl a od intenzity ich interakcií s pevnou a mobilnou fázou. Každá látka za daných podmienok sa po ukončení chromatografie bude nachádzať na určitom mieste chromatogramu, ktoré charakterizuje hodnota R_F, definovaná ako pomer vzdialenosti stredu škvrny od štartu (a) ku vzdialenosti "čela" rozpúšťadiel od štartu (b).

$$R_F = \frac{a}{b}$$



Obr. Chromatografia na tenkej vrstve: 1 – štart, 2,3 – stredy dvoch rôznych škvŕn, 4 – čelo

Pracovné potreby
Chromatografická nádoba vystlaná filtračným papierom.
Fólie Silufol (7,5 x 15 cm), mikropipeta so špičkami, pohyblivá fáza - zmes CCl_4 + metanol (62 + 38); farbivá: 1) sudan II, 2) metylová červená, 3) brómkrezolová zelená, 4) brómfenolová modrá, 5) zmes uvedených farbív

Pracovný postup

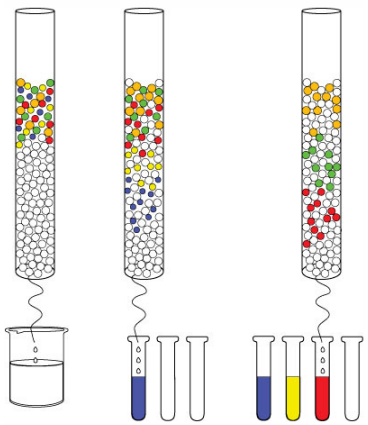
1. Na fóliu (asi 2 cm od dolného okraja) mäkkou ceruzkou jemne označte čiaru "štartu".
2. Na tejto čiare vyznačte miesto pre nanesenie jednotlivých farieb (očíslovať 1 - 5).
3. Mikropipetou naneste asi 8 µl roztoku z každej farby na príslušné miesto.
4. Fóliu vložte do nádoby a nechajte vyvíjať pokiaľ "čelo" rozpúšťadla nedosiahne vzdialenosť asi 1 cm od horného okraja.
5. Fóliu vyberte z nádoby, označte ceruzkou miesto "čela" a vysušte.

Pozorovanie:
Náčrt chromatografického záznamu

Záver:
Vypočítajte hodnoty R_F pre jednotlivé farbivá. Identifikujte zloženie zmesi farieb, podľa hodnôt R_F známych zložiek.

Úloha: Delenie látok gélovou chromatografiou na Sephadexe G-100

Zrnká dextránového gélu (Sephadex) svojou štruktúrou vytvárajú molekulovú sieť. Veľké molekuly túto sieť obchádzajú - pretekajú kolónou rýchle, kým menšie molekuly prenikajú do siete, čo "spomaľuje" ich pohyb - opúšťajú kolónu neskoršie. Látky potom vytekajú z kolóny v poradí klesajúcej molekulovej hmotnosti.



Pracovné potreby

Kolóna: V = 180 ml, Sephadex G-100, stabilizácia čpavkovou vodou
Vodný roztok hemoglobínu (M_r = 65 000), riboflavínu (M_r = 376), $NiSO_4 . 7 H_2O$ (M_r = 280), roztok modrého dextránu (M_r = 1 000 000)

Pracovný postup

1. Zmiešajte v skúmavke 0,1 ml roztoku modrého dextránu, s 0,1 ml roztoku hemoglobínu[(1)] a 0,1 ml riboflavínu (alebo $NiSO_4$).
2. Naneste túto zmes predpísaným spôsobom na kolónu a premývajte stabilizačným roztokom (čpavkovou vodou[(2)]). Rozdelené frakcie zachytávajte do odmerného valca (prípadne použite automatický zberač frakcií).
3. Zistite elučné objemy jednotlivých frakcií a dajte ich do súvislosti s M_r.

Pozorovanie:
Náčrt chromatografickej kolóny a priebehu chromatografie

Záver:
Zapíšte poradie látok opúšťajúcich kolónu a zdôvodnite.

[(1)]Roztok hemoglobínu sa pripraví tak, že heparinizovaná krv sa centrifuguje (8000 ot/min) a k sedimentu erytrocytov sa pridá rovnaký objem destil. vody a zamieša sa. Po 60 min státia sa opäť centrifuguje pri rovnakých podmienkach. Supernatant obsahuje prevažne hemoglobín.

[(2)]Čpavková voda = 1 ml konc. NH_4OH rozpustiť v 1ℓ vody.

Kontrolné otázky:

1. Čo je základom separačných metód?

2. Popíšte proces extrakcie a adsorpcie.

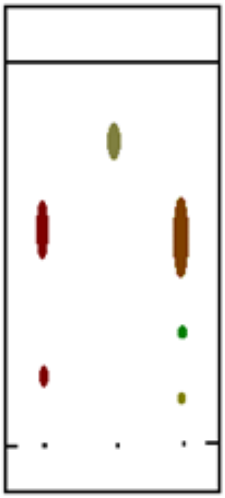
3. Vysvetlite podstatu chromatografického delenia.

4. Uveďte príklady využitia chromatografie v medicíne.

5. Uvažujte zmes troch látok s rozdielnou veľkosťou častíc – malé, stredne veľké, veľké. V akom poradí budú vytekať z kolóny použití pri gélovej chromatografie? Vysvetlite.

6. Vysvetlite rozdiel medzi ionexom a anexom v chromatografii.

7. Pokúste sa vypočítať RF jednotlivých markerov na chromatograme.



8. Vysvetlite, prečo sa pri elektroforetickom delení veľkých molekúl používajú agarózové gély.

9. Prečo sa pri detekcii látok pomocou Coomassi briliant blue používa kyslý roztok s alkoholom?

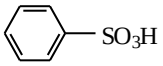
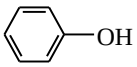
10. Na štruktúre fluoreskamínu vyznačte oblasť (skupinu), ktorá reaguje s primárnymi amínmi.

Vlastnosti organických zlúčenín I.

Obsah

Oxidácia etanolu dichrómanom draselným a manganistanom draselným..... 3
Dôkaz elylalkoholu jodoformovou reakciou..... 4
Oxidácia etanolu s $KMnO_4$ v roztoku rozličným pH..... 5
Farebné reakcie fenolov..... 7
Redukcia Fehlingovho činidla aldehydmi..... 9
Dôkaz acetónu Lestradetovým činidlom..... 10
Reakcia kyseliny šťaveľovej s Ca^{2+}..... 13
Dôkaz kyseliny mliečnej..... 14
Dôkaz a stanovenie kyseliny salicylovej pomocou $FeCl_3$..... 15
Hydrolýza kyseliny acetylsalicylovej..... 16
Príprava esterov karboxylových kyselín..... 17
Kontrolné otázky..... 18

Chemické vlastnosti organických zlúčenín závisia od veľkosti a usporiadania molekuly ako aj od prítomnosti charakteristických funkčných skupín. Na základe funkčných skupín možno organické zlúčeniny rozdeliť do niekoľkých skupín. Medzi najdôležitejšie patria hydroxyderiváty, oxozlúčeniny a karboxylové kyseliny. Ich prehľad je v nasledujúcej tabuľke:

NÁZVOSLOVIE DERIVÁTOV UHĽOVODÍKOV			
názov derivátu	**derivát**	**názov skupiny**	
chlóretán	CH_3CH_2Cl	halogén	- hal
aminometán	CH_3NH_2	aminová	- NH_2
dimetylamín	CH_3NHCH_3	iminová	- NH
2-nitropropán	$CH_3CH(NO_2)CH_3$	nitro	- NO_2
metántiol	CH_3SH	tiolová	- SH
kyselina benzosulfónová		sulfoskupina	- SO_3H
etanol fenol	CH_3CH_2OH 	hydroxylová	- OH
dimetyléter metoxymetán	CH_3OCH_3	éterová	- O -
dimetyltioéter dimetylsulfid	CH_3SCH_3	tioéterová	- S -
etanal acetaldehyd	$CH_3-C(=O)H$	aldehydová	$-C(=O)H$
propanón dimetylketón	CH_3COCH_3	ketonová	$-C(=O)-$
kyselina etánová kyselina octová	$CH_3-C(=O)OH$	karboxylová	$-C(=O)OH$

Hydroxyderiváty obsahujú v molekule jednu, alebo viac hydroxylových (-OH) skupín. Ak je hydroxylová skupina viazaná na alifatickom reťazci, jedná sa o alkoholy, ak je viazaná na aromatickom kruhu, sú to fenoly.

Oxozlúčeniny majú vo svojej molekule karbonylovú C=O funkčnú skupinu, ktorá môže byť aldehydová (ak viaže jeden uhľovodíkový zvyšok a jeden H), alebo ketónová (ak viaže dva uhľovodíkové zvyšky). Ak karbonylová skupina viaže jeden uhľovodíkový zvyšok a jednu -OH skupinu, vzniká karboxylová kyselina.

Uvedené skupiny látok poskytujú na základe ich charakteristických funkčných skupín špecifické reakcie využiteľné v analytickej praxi na ich dôkaz, resp. kvantitatívne stanovenie.

Reakcie alkoholov

Alkoholy sa rozdeľujú podľa počtu hydroxylových skupín na jednosýtne, dvojsýtne, až viacsýtne. Podľa umiestnenia hydroxylovej skupiny v reťazci, delíme alkoholy na primárne (funkčná skupina $-CH_2-OH$), sekundárne (skupina –CH-OH) a terciárne (skupina -C-OH).

Vlastnosti hydroxylovej skupiny vyplývajú z polarity kovalentnej väzby medzi atómami O a H. Biologicky významnou reakciou je oxidácia (dehydrogenácia) alkoholov. Primárne alkoholy pri nej poskytujú aldehydy, ktoré sa môžu oxidovať až na karboxylové kyseliny. Sekundárne alkoholy sa oxidujú na ketóny, terciárne alkoholy sa oxidujú až silnými oxidačnými činidlami a poskytujú zmes rôznych oxidačných produktov, z ktorých jeden býva zvyčajne ketón.

Úloha: Oxidácia etanolu dichrómanom draselným a manganistanom draselným

Dichróman draselný sa v prostredí kyseliny sírovej pôsobením etanolu redukuje na ión chromitý. Pôvodné žlté zafarbenie $K_2Cr_2O_7$ sa mení na zelené, spôsobené zlúčeninami Cr^{3+}.

$$3\ CH_3\text{-}CH_2\text{-}OH + K_2Cr_2O_7 + 8\ HCl \longrightarrow 3\ CH_3\text{-}CHO + 2\ CrCl_3 + 2KCl + 7\ H_2O$$

$$5\ CH_3\text{-}CH_2\text{-}OH + 2\ KMnO_4 + 3\ H_2SO_4 \longrightarrow 2\ MnSO_4 + K_2SO_4 + 5\ CH_3\text{-}CHO + 8\ H_2O$$

Pracovné potreby
Skúmavky
Roztoky: Konc. H_2SO_4, tuhý $K_2Cr_2O_7$, 3 % roztok $KMnO_4$

Pracovný postup

1. K 1-2 ml etanolu pridajte malé množstvo práškového $K_2Cr_2O_7$
2. Následne opatrne za stáleho pretrepávania po kvapkách pridajte konc. H_2SO_4 (OPATRNE - ŽIERAVINA!).
3. Po prebehnutí reakcie cítiť štipľavý zápach acetaldehydu (t.v. 20 °C), tekutina zozelená ($Cr^{VI} \rightarrow Cr^{III}$).
4. Pri oxidácii etanolu s $KMnO_4$ je postup rovnaký ako pri oxidácii etanolu s $K_2Cr_2O_7$, rozdiel je v pridávaní zriedeného roztoku $KMnO_4$.
5. Pozorujte odfarbenie $KMnO_4$ ($Mn^{VII} \rightarrow Mn^{II}$).

Pozorovanie:

Záver:

Úloha: Dôkaz elylalkoholu jodoformovou reakciou

Etanol sa vplyvom koncentrovaného roztoku iódu v Lugolovom roztoku oxiduje na acetaldehyd, ktorý ďalej reaguje s iódom za vzniku trijódacetaldehydu podľa reakcie:

$$CH_3\text{-}CH_2\text{-}OH + I_2 \longrightarrow CH_3\text{-}CHO + 2HI$$

$$CH_3\text{-}CHO + 3I_2 \longrightarrow CI_3\text{-}CHO + 3HI$$

Následne po pridaní NaOH vzniká jodoform s charakteristickým zápachom:

$$CI_3\text{-}CHO + NaOH \longrightarrow CH_3I + HCOONa$$

Pracovné potreby
Skúmavky
Roztok metanolu a etanolu, Lugolov roztok, roztok NaOH c = 1 mol·dm^{-3}

Pracovný postup

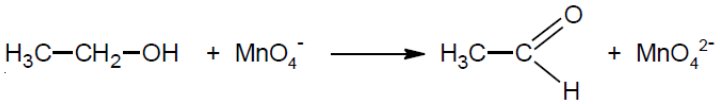
1. Pripravíme si a označíme dve skúmavky.
2. Do prvej skúmavky pridáme 0,5 ml metanolu a do druhej 0,5 ml etanolu .
3. Následne pridáme 2 ml Lugolovho roztoku a premiešame.
4. K roztoku postupne prikvapkávame roztok NaOH pokiaľ sa tmavohnedé sfarbenie roztoku nezmení na slabo žlté.
5. Obsah oboch skúmaviek po premiešaní zahrievame vo vodnom kúpeli asi pri 60 °C.
6. V skúmavke s etanolom sledujeme po vychladnutí vylúčenie žltých kryštálov jodoformu, s charakteristickým zápachom. Skúmavka s metanolom sa vyčíri pretože nevzniká jodoform.

Pozorovanie:

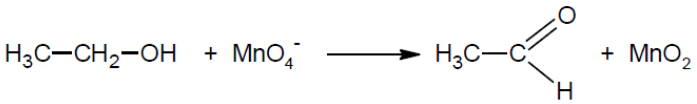
Záver:

Úloha: Oxidácia etanolu s $KMnO_4$ v roztoku rozličným pH

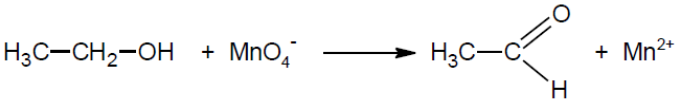
Pri oxidácii alkoholov sa manganistan redukuje do rôznych oxidačných stupňov podľa toho, v akom prostredí reakcia prebieha. V zkúmavke **so zásaditým pH** dôjde po pridaní etanolu k rýchlej zmene sfarbenia do zeleno hneda. Redukciou manganistanu vzniká manganán:



V ostatných skúmavkách prebehne oxidácia etanolu pomalšie. Po opätovnom pridávaní etanolu vznikne po štyroch minútach v skúmavke **s neutrálnym pH** oxid manganičitý, ktorý nemení sfarbenie roztoku.



V kyslom pH sa roztok začne po pridaní etanolu farbiť na oranžovo pretože vznikajú katióny manganaté.



Pracovné potreby
Skúmavky
Roztoky: etanol, roztok $KMnO_4$ s c = 0,01 mol·dm^{-3}, roztok H_2SO_4 s c = 6 mol·dm^{-3}, roztok NaOH s c = 6 mol·dm^{-3}, dest. voda

Pracovný postup:

1. Pripravíme si tri označené skúmavky.
2. Do každej z nich dáme 1 ml $KMnO_4$.
3. Postupne pridáme do prvej skúmavky 1 ml dest. vody, do druhej 1 ml H_2SO_4 a do tretej 1 ml NaOH.
4. Postupne do každej skúmavky pridávame 1 ml etanolu, premiešame a zaznamenáme farebné zmeny.
5. Do prvej skúmavky opätovne pridáme 1 ml etanolu, pretože reakcia prebieha pomalšie.
6. Pozorujeme zmenu zafarbenia jednotlivých skúmaviek.

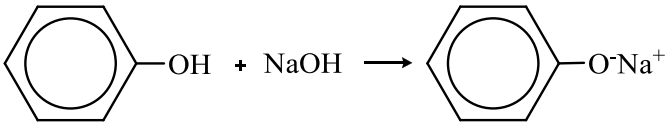
Pozorovanie:

Skúmavka č.	Farebná zmena
1 (dest. voda)	
2 (kyselina sírová)	
3 (hydroxid sódny)	

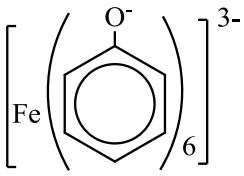
Záver:

Reakcie fenolov

Fenoly majú hydroxylovú skupinu viazanú priamo na aromatické jadro. Podobne ako alkoholy sa delia podľa počtu funkčných skupín na jednosýtne, dvojsýtne a viacsýtne. V názvoch sa používa predpona hydroxy- (hydroxybenzén, 1,2-dihydroxybenzén), ale bežne sa používajú hlavne triviálne názvy (fenol, pyrokatechol, rezorcinol). Alkoholy a fenoly vykazujú vzhľadom na prítomnosť -OH skupiny celý rad podobných reakcií. Líšia sa, čo sa týka kyslosti, reaktivity s oxidačnými činidlami ako aj v schopnosti tvoriť komplexy. To, že sa z hydroxylovej skupiny uvoľňuje vo vodnom prostredí vodíkový ión, je dôsledok vplyvu aromatického jadra. Preto sa fenoly správajú ako slabé kyseliny a s anorganickými hydroxidmi poskytujú fenoláty.



Viacsýtne fenoly majú veľkú afinitu k niektorým kovom (Fe^{3+}), s ktorými vytvárajú výrazne sfarbené soli komplexného charakteru - cheláty. Toho sa obojstranne využíva: ako k dôkazu fenolov, tak aj k dôkazu komplexotvorných kovov. Zafarbenie, resp. stálosť zafarbenia závisí od vzájomnej polohy hydroxylových skupín, resp. –COOH, -COH alebo $-SO_3H$ skupín. Vzniká <u>fenolátový komplex</u> pravdepodobnej štruktúry:



Podmienkou vzniku zafarbenia s Fe^{3+} je nevyhnutná prítomnosť najmenej jedného voľného hydroxylu na aromatickom jadre. Farby komplexov aromatických alkoholov sú v tabuľke:

Látka	**Zafarbenie komplexu s Fe^{3+}**
Fenol	Fialové
Rezorcinol	Fialové
Pyrokatechol	Modro-zelené
Hydrochinón	Modro-zelené (nestále
Naftol	Fialovo-hnedé
Kyselina salicylová	Fialové
Kyselina p-aminosalicylová (PAS)	Červené

Úloha: Farebné reakcie fenolov

Fenoly sa do organizmu dostávajú inhaláciou výparov, vstrebávaním pokožkou, alebo kontaktom so sliznicami. Rýchlo sa absorbuje, pričom sa časť oxiduje na hydrochinón a pyrokatechol, zvyšok sa oxiduje kompletne. Z organizmu sa vylučuje v priebehu 16 h celé množstvo vstrebaného fenolu. 80% sa vylúči obličkami buď nezmenené alebo konjugované s kyselinou glukurónovou a zvyšok sa vylúči dýchaním.

Vysoké koncentrácie fenolov môžu ohroziť schopnosť krvi transportovať kyslík, čo spôsobuje bolesť hlavy, nevoľnosť, modranie končatín a pier. Môže dôjsť až k problémom s dýchaním, kolapsu a následnej smrti. Vysoké opakované expozície môžu spôsobiť poškodenie pečene, obličiek a centrálnej nervovej sústavy. Fenoly majú mutagénne účinky a môžu spôsobovať aj nepravidelný tep (srdcovú arytmiu).

Praktický medicínsky význam týchto reakcií spočíva v tom, že sa môžu uplatniť pri vyšetrení moču pri tzv. fenylketonúrii, resp. pri kontrole liečby kyselinou p-aminosalicylovou (PAS) a pod.

Pracovné potreby
Skúmavky
Roztoky: roztok fenolu (c = 0,05 mol/l), roztok pyrokatecholu (c = 0,05 mol/l), roztok kys. p - aminosalicylovej (c = 0,1 mol/l) a roztok α-naftolu v etanole (c = 0,05 mol/l), roztok $FeCl_3$ (c = 0,1 mol/l)

Pracovný postup

1. Do jednotlivých skúmaviek pridajte 1 ml roztoku fenolu, pyrokatecholu hydrochinónu, α-naftolu a kyseliny p-aminosalicylovej.
2. Následne pridajte niekoľko kvapiek roztoku $FeCl_3$.
3. Pozorujte zafarbenie produktov.

Pozorovanie:

Skúmavka č.	Zafarbenie
1 (fenol)	
2 (pyrokatechol)	
3(hydrochinón)	
4 (α-naftol)	
5 (kyselina p-aminosalicylová)	

Záver:

Reakcie karbonylových zlúčenín - aldehydov a ketónov

Aldehydy a ketóny obsahujú karbonylovou funkčnú skupinu C = O, ktorá je u aldehydov viazaná na konci reťazca, u ketónov je uprostred. Názvy sa odvodzujú od základných uhľovodíkov: u aldehydov pomocou prípony -al (metanal, etanal), ketóny majú koncovku -ón (propanón, butanón). Bežne sa však používajú triviálne názvy (formaldehyd, acetaldehyd, acetón). Reakcie podmienené prítomnosťou karbonylovej skupiny sú pre aldehydy aj ketóny spoločné. Sú to adície a kondenzácie. Avšak na redoxných dejoch sa môžu podieľať len aldehydy. Pomerne ľahko sa totiž oxidujú na karboxylové kyseliny.

Z adičných reakcií má veľký význam adícia vody. Najprv vznikajú pomerne nestále aldehydhydráty alebo ketonhydráty, ktoré možno stabilizovať reakciou s alkoholom, pri ktorej vznikajú poloacetály, alebo acetáty, resp. poloketaly a ketaly. Mimoriadny význam má tvorba vnútorných poloacetály pri sacharidoch.

Z kondenzačných reakcií je významná reakcia s hydrazínom a jeho derivátmi, pri ktorej vznikajú aldehydhydrazóny a ketonhydrazóny:

$$R_1\text{-CHO} + H_2N\text{-NH-}R_2 \rightarrow R_1CH = N\text{-NH-}R_2 + H_2O$$

Najväčší význam však majú reakcie s primárnymi amínmi. Reakcia prebieha ľahko najmä medzi alifatickým amínom a aromatickým aldehydom, alebo medzi aromatickým amínom a alifatickým aldehydom. Podobne prebieha reakcia aj s ketónmi. Kondenzát sa všeobecne označuje ako tzv Schiffova báza.

$$\text{Ar-CHO} + H_2N\text{-R} \rightarrow \text{Ar-CH} = \text{N-R} + H_2O$$

$$\text{R-CHO} + H_2N\text{-Ar} \rightarrow \text{R-CH} = \text{N-Ar} + H_2O$$

Táto reakcia sa uplatňuje v celej rade biochemických dejov, okrem iného je podstatou tzv. transaminácie, ktorá je kľúčovou reakciou pri premene aminokyselín v živých organizmoch.

Medzi aldehydy patrí aj acetaldehyd, ktorý sa v organizme účinkom aldehyddehydrogenázy oxiduje na acetylkoenzým A. Dokázalo sa, že acetaldehyd sa v tele viaže na bielkoviny a ovplyvňuje ich štruktúru a funkciu. Vytvárajú sa tak škodlivé látky v pečeni, svaloch, v srdci, mozgu i tráviacom trakte. Najviac sa ním poškodzujú svaly. Imunitný systém tieto škodliviny vníma ako priamy útok a reaguje zápalovými procesmi. Vzniká reumatická artritída, infarkt alebo Alzheimerova choroba. Acetaldehyd napadá nielen proteíny, ale i DNA. Tak môže prísť k mutáciám a zmenám chromozómov. Preto je acetaldehyd zaradený do kategórie nebezpečných karcinogénnych látok.

Úloha: Redukcia Fehlingovho činidla aldehydmi

Medzi toxické aldehydy patrí formaldehyd, ktorý do tela vstupuje predovšetkým vdychovaním a požitím. V pľúcach a tráviacom ústrojenstve sa ľahko vstrebáva. Podlieha veľmi rýchlemu metabolizmu, takže pri vdýchnutí nižších koncentrácií nie je zaznamenaný nárast jeho hladiny v krvi. Jeho metabolity (kyselina mravčia a oxid uhličitý) vstupujú do makromolekúl jednouhlíkovými metabolickými dráhami, alebo sú vylúčené cez pľúca a obličky. Formaldehyd, ktorý nie je zmetabolizovaný, môže priamo na mieste svojho vstupu do tela reagovať s makromolekulami a spôsobovať zosieťovanie DNA. Preto sú dôkazové reakcie aldehydov dôležité pri detekcii intoxikácie.

Na dôkaz aldehydovej skupiny sa najčastejšie využíva Fehlingovo činidlo. Aldehydová skupina sa oxiduje na karboxylovú a katión Cu^{2+} prítomný v činidle sa pritom redukuje na Cu^{+} (Cu_2O).

$$2\ Cu^{2+} + H\text{-}CHO \longrightarrow 2\ Cu^{+} + H\text{-}COOH$$

Pracovné potreby
Skúmavky
Roztoky: Fehling I. ($CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$/70 g/l), Fehling II. (vínan sodno-draselný . 4 H_2O a NaOH)

Pracovný postup

1. Pripravíme si roztok Fehlingovho činidla zmiešaním 1 ml roztoku Fehling I. s 1 ml roztoku Fehling II.
2. K 1 ml formaldehydu pridajte 2 ml Fehlingovho činidla.
3. Zmes zahrejte do varu. Na dne skúmavky sa objaví tehlovočervený Cu_2O.
4. Pozorujte prítomnosť tehlovočervenej zrazeniny.

Pozorovanie:

Záver:

Úloha: Dôkaz acetónu Lestradetovým činidlom

Acetón v tele človeka vzniká pri poruchách látkovej premeny tukov. Nadmerná tvorba látok ketonického charakteru povahy, ako sú kyselina acetoctová, hydroxymaslová a acetón, nastáva aj pri hladovaní. Najmä u detí vo veku 3 až 7 rokov môže nastať až vracanie sprevádzané prítomnosťou ketónov v moči (ketonúria). Prítomnosť ketónov v krvi vzniká v dôsledku zvýšenej tvorby kyseliny acetoctovej a hydroxymaslovej v pečeni, ktorá sa dostatočne nemetabolizuje v svaloch a obličkách. V pečeni, sa nachádza aktívny systém enzýmov, ktorý katalyzuje tvorbu ketolátok. Tieto enzýmy majú však veľmi nízku aktivitu. Naopak, srdcový sval získava energiu aj oxidáciou kyseliny acetoctovej. Táto kyselina sa vo veľkej miere vylučuje do moču a jej premenou vzniká acetón. Charakteristický acetónový zápach býva typický pri niektorých ochoreniach látkovej premeny, najmä u diabetikov, ale aj v dôsledku tzv. acetonemického vracania. Množstvo acetónu v moči je obvykle nepatrné (do 60 mg/24h) a bežnými reakciami sa nepreukáže.

Pozitívny nález (ketonúrie) je známkou poruchy metabolizmu tukov bez primeranej dodávky sacharidov, ako je tomu pri hladovaní, vyčerpávajúcej telesnej námahe, pri cukrovke (diabetes mellitus) a iných patologických stavoch. Pri preukázanej ketonúrii je vždy nutné pátrať po prvotnej príčine.

Dôkaz acetónu je založený na farebnej reakcii s nitroprusidom sodným ($Na_2[Fe(CN)_5NO]$). Činidlo je v roztoku nestále, preto je reakcia upravená pre pridávanie nitroprusidu v pevnom stave.

Pracovné potreby
Hodinové sklíčko
Roztoky: acetón, Lestradetovo činidlo - prášková zmes (20 g Na_2CO_3, 1 g Na_2 $[CN_5/NO]$, 20 g $(NH_4)_2SO_4$). Substancie premiešajte a rozotrite v trecej miske. Činidlo uchováme v dobre uzavretých prachovniciach.

Pracovný postup

1. Malé množstvo Lestradetovho činidla dajte na hodinové skielko a navlhčite acetónom.
2. Vznikne fialové zafarbenie, ktoré dáva nitroprusid s ketoskupinou. Alkalickú reakciu prostredia zaisťuje síran amónny a Na_2CO_3.
3. Popíšte vznik fialového zafarbenia.

Pozorovanie:

Záver:

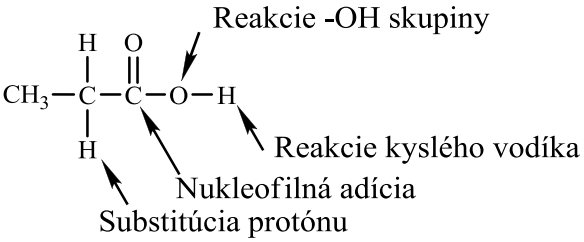
Reakcie karboxylových kyselín

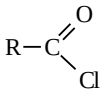
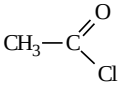
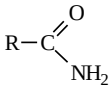
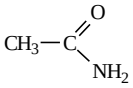
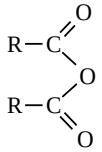
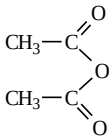
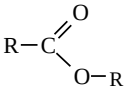
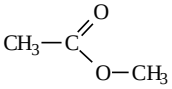
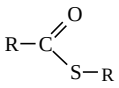
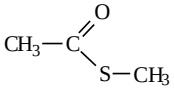
Fyzikálne vlastnosti karboxylových kyselín sú výsledkom vzájomného konkurenčného vplyvu uhľovodíkovej a karboxylovej skupiny. V nižších členoch radu karboxylových kyselín prevládajú vlastnosti karboxylovej skupiny, vyššie sa fyzikálnymi vlastnosťami približujú viac uhľovodíkom.

Charakteristické chemické vlastnosti karboxylových kyselín sú výsledkom reaktivity karboxylovej skupiny, ktorá sa formálne skladá z dvoch známych skupín karbonylovej a hydroxylovej.

Základnou vlastnosťou karboxylových kyselín je schopnosť oddisociovať H^+ a tvoriť soli. Ďalej karboxylová funkčná skupina tvorí funkčné deriváty, ako sú: anhydridy, estery, amidy.

Iné, substitučné deriváty karboxylových kyselín majú popri všeobecných vlastnostiach aj vlastnosti určené substituentom. Napr. hydroxykyseliny reagujú aj ako alkoholy, resp. fenoly. Reaktivitu karbaxylových kyselín môžeme znázorniť takto:

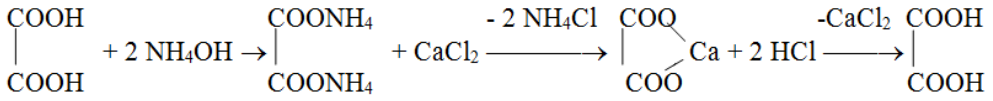


DERIVÁTY KYSELÍN			
typ derivátu	**všeobecný vzorec**	**príklad**	
Funkčný derivát			
halogenid			acetylchlorid
amid			acetamid
anhydrid			acetanhydrid
ester			metylester kyseliny octovej
tioester			metyltioester kyseliny octovej
nitril	$R-CN$	$CH_3-C\equiv N$	acetonitril nitril kyseliny octovej

Substitučný derivát	$R-\underset{\underset{X}{\vert}}{CH}-COOH$		
halogénkyselina	$R-\underset{\underset{Cl}{\vert}}{CH}-COOH$	$CH_3-\underset{\underset{Cl}{\vert}}{CH}-COOH$	2–chlórpropánová kyselina
aminokyselina	$R-\underset{\underset{NH_2}{\vert}}{CH}-COOH$	$CH_3-\underset{\underset{NH_2}{\vert}}{CH}-COOH$	2–aminopropánová kyselina
iminokyselina	$R-\underset{\underset{NH}{\Vert}}{C}-COOH$	$CH_3-\underset{\underset{NH}{\Vert}}{C}-COOH$	2–iminopropánová kyselina
hydroxykyselina	$R-\underset{\underset{OH}{\vert}}{CH}-COOH$	$CH_3-\underset{\underset{OH}{\vert}}{CH}-COOH$	2-hydroxypropánová kyselina
oxokyselina	$R-\underset{\underset{O}{\Vert}}{C}-COOH$	$CH_3-\underset{\underset{O}{\Vert}}{C}-COOH$	2–oxopropánová kyselina

Úloha: Reakcia kyseliny šťaveľovej s Ca^{2+}

Kyselina šťaveľová je dvojsýtna kyselina, poskytuje soli normálne a kyslé. Zo solí kyseliny šťaveľovej je významný šťaveľan vápenatý (tvoriaci močové kamene), ktorý je nerozpustný vo vode, ale je rozpustný v minerálnych kyselinách.



Pracovné potreby
Skúmavky, pipety, pH-papieriky, sklenená tyčinka
Roztoky: kyselina šťaveľová, konc. amoniak, kys. chlorovodíková (10 %), chlorid vápenatý (20 g/l)

Pracovný postup

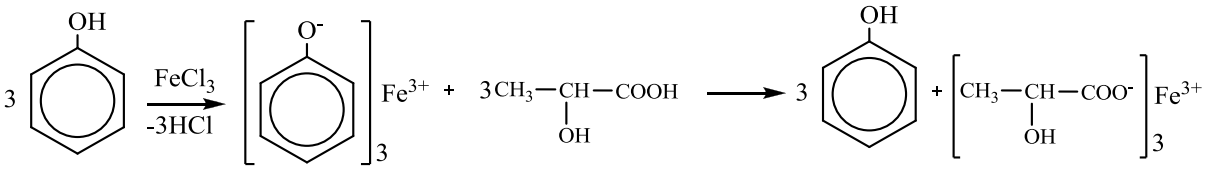
1. Malé množstvo kyseliny šťaveľovej rozpustite vo vode.
2. Roztok zneutralizujte kvapkami amoniaku a pridajte asi 2 ml $CaCl_2$.
3. Pozorujte vznik bielej zrazeniny šťaveľanu vápenatého, ktorá sa rozpustí po prídavku zriedenej HCl. Pozri rovnicu!

Pozorovanie:

Záver:

Úloha: Dôkaz kyseliny mliečnej

Kyselina mliečna (2-hydroxypropánová) je dôležitý metabolit, ktorý vzniká v tele pri anaeróbnej glykolýze. Kvantitatívne sa stanovuje napr. v krvi športovcov po záťaži, dokazuje sa v žalúdočnej šťave pri podozrení na karcinóm (pri achlorhydrii). Kyselina mliečna dáva s iónmi Fe^{3+} žlto sfarbenú komplexnú soľ. Činidlo (roztok $FeCl_3$) je však samo sfarbené žlto, preto sa vykonáva dôkaz v úprave podľa Uffelmanna: najprv sa s iónmi Fe^{3+} vytvorí tmavo sfarbená komplexná soľ s fenolom. Po pridaní kyseliny mliečnej prejde železitý katión do laktátového komplexu a v roztoku sa prejaví farebná zmena. Pôvodná tmavo - modrofialová farba sa zmení na žltú. Uffelmanovo činidlo sa pripravuje tesne pred použitím (1 ml fenolu + 2-3 kvapky roztoku $FeCl_3$).



Reakcia nie je špecifická, pretože takto reagujú aj iné hydroxykyseliny.

Pracovné potreby
Skúmavky, pipety
Roztoky: koncentrovaná kyselina mliečna, Uffelmannovo činidlo (0,5 % roztok fenolu, 2 % roztok chloridu železitého).

Pracovný postup

1. K 1-2 ml Uffelmannovho činidla pridajte po kvapkách roztok kyseliny mliečnej a zatrepte.
2. Ametystovo-fialové zafarbenie sa mení na žlté alebo zelenožlté, spôsobené vzniklým mliečnanom železitým.
3. Pozorujte farebnú zmenu pozitívnej reakcie.

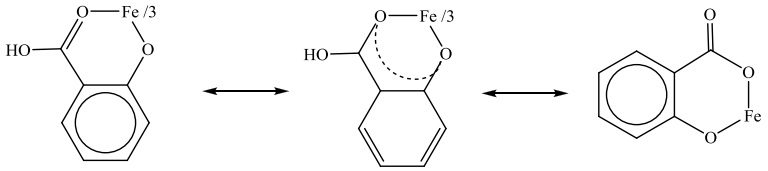
Pozorovanie:

Záver:

Úloha: Dôkaz a stanovenie kyseliny salicylovej pomocou $FeCl_3$

Kyselina salicylová (2-hydroxybenzoová) je biela kryštalická látka, slabo rozpustná v horúcej vode. Pri zahrievaní sublimuje a rozpadá sa na fenol a CO_2. S kyselinami reaguje ako fenol, s alkoholmi a fenolmi ako kyselina.

S chloridom železitým reaguje za vzniku salicylo - železitého komplexu v pomere 3:1 s výraznou červenofialovou farbou. Reakcia je veľmi citlivá a prebieha stechiometricky.



Reakcia sa v klinickej praxi používa na stanovenie hladiny kyseliny salicylovej v krvi reumatikov liečených salicylátmi, alebo pri dôkaze salicylátov v moči.

Pracovné potreby
Skúmavky, spektrofotometer, pipety
Roztoky: kyselina salicylová (kryštalická), roztok chloridu železitého (c = 6 mmol/l v 0,01 mol/l HCl), štandardný roztok kyseliny salicylovej (c = 0,5 mmol/l), neznáme vzorky

Pracovný postup

Dôkaz kys. Salicylovej:

1. Do skúmavky pridajte niekoľko zrniek kyseliny salicylovej.
2. Pridajte 5 kvapiek destilovanej vody a 1-2 kvapky roztoku chloridu železitého.
3. Pozorujte vznik fialového zafarbenia, ktoré spôsobuje komplexný fenolát železitý. Reakcia dokazuje prítomnosť fenolovej hydroxyskupiny.

Stanovenie kyseliny salicylovej:

1. Do skúmavky pipetujte 2 ml roztoku neznámej vzorky, obsahujúcej kyselinu salicylovú.
2. Pridajte 0,4 ml roztoku $FeCl_3$.
3. Absorbanciu fialového zafarbenia roztoku zmerajte pri vlnovej dĺžke 520 nm v sklenených kyvetách hrúbky 1 cm oproti destilovanej vode.
4. Analogicky spracujte štandardný roztok kyseliny salicylovej c = 0,5 mmol/l.
5. Koncentráciu neznámeho roztoku vypočítajte podľa vzťahu:

$$c_a = \frac{A_a}{A_s} \cdot c_s$$

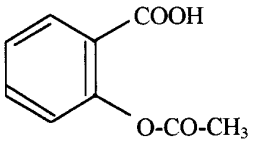
c_s - konc. štandardného roztoku
c_a - konc. analyz. Roztoku
A_a - absorbancia analyz. Vzorky
A_s - absorbancia štandardného roztoku

Pozorovanie a výpočet:

Záver:

Úloha: Hydrolýza kyseliny acetylsalicylovej

Kyselina acetylsalicylová je biela kryštalická látka, málo rozpustná vo vode. Ľahko hydrolyzuje na kyselinu salicylovú a octovú. Má široké uplatnenie v medicíne (Acylpyrín, Aspirín) ako antipyretikum. Podstata funkcie kyseliny acetylsalicylovej spočíva v ireverzibilnej inhibícii enzýmu cyklooxygenázy (COX), ktorý je v organizme zodpovedný za syntézu prostaglandínov a tromboxanov. Nezvratnosť inhibície je spôsobená prenosom acetylovej skupiny z molekuly kyseliny acetylsalicylovej na koenzým; iné antiflogistiká tento druh enzýmov inhibujú reverzibilne.



kyselina acetylsalicylová

Pracovné potreby

Prášková kys. acetylsalicylová, dest. voda, 2 % roztok $FeCl_3$

Pracovný postup

1. Niekoľko kryštálikov kyseliny acetylsalicylovej rozpusťte v 2-3 ml vody.
2. Roztok otestujte na prítomnosť kyseliny salicylovej pridaním zriedeného roztoku $FeCl_3$. Keď kyselina acetylsalicylová nebola hydrolyzovaná, reakcia na kyselinu salicylovú bude negatívna.
3. Následne roztok kyseliny acetylsalicylovej povarte (prebehne hydrolýza).
4. Po ochladení sa vylúčia kryštáliky kyseliny salicylovej.
5. Odfiltrujte ich, rozpusťte v horúcej vode a dokážte reakciou s $FeCl_3$. Vo filtráte zostane kyselina octová.
6. Pozorujte pozitívnu reakciu na kyselinu salicylovú

Pozorovanie:

Záver:

Úloha: Príprava esterov karboxylových kyselín

Estery nižších karboxylových kyselín sú kvapalné, ojedinele tuhé a väčšinou prchavé látky s príjemnou (najčastejšie ovocnou) vôňou. Spravidla rozpustné vo vode. Teplota varu esterov je nižšia ako karboxylových kyselín. Na rozdiel od nich nedokážu estery tvoriť vodíkové mostíky, ktoré by zvyšovali teplotu varu. Rad esterov má charakteristickú vôňu.

Ester	vôňa po
Etylester kyseliny octovej	ovocí
Butylester kyseliny octovej	ananáse
Etylester kyseliny mravčej	rume
Etylester kyseliny benzovej	mäte

Pracovné potreby
Skúmavky, lyžička, pipety, kadička 600 ml, teplomer
Roztoky: kys. octová ľadová, kys. salicylová, kys. benzoová, etanol, metanol, amylalkohol, H_2SO_4

Pracovný postup

1. Pripravte si vodný kúpeľ zo 100 ml vody z vodovodu ohriatej v 400 ml kadičke na 85 °C.
2. Počas ohrievania vody si označte 4 skúmavky s korkovými zátkami č. 1-4.
3. Pridajte do jednotlivých skúmaviek podľa tabuľky:

Skúmavka č.	Kyselina	Množstvo	Alkohol	ml	H_2SO_4
1	kys. octová ľadová	0,4 ml	etanol	0,5	10 kvapiek
2	kys. salicylová	1/4 lyžičky	metanol	0,5	4 kvapky
3	kys. octová ľadová	0,4 ml	amylalkohol	0,5	5 kvapiek
4	kys. benzoová	1/4 lyžičky	etanol	0,5	10 kvapiek

4. Premiešajte obsah skúmaviek a uzavrite zátkami.
5. Skúmavky ponorte do ohriatej vody (85 °C).
6. Po 10 minútach skúmavky otvorte a identifikujte jednotlivé vône v skúmavkách. Mali by ste cítiť vôňu banánovú, rumovú, vôňu laku na nechty a vôňu mäty.
7. Zapíšte do protokolu jednotlivé reakcie a vône produktov.

Pozorovanie:

Záver:

Kontrolné otázky:

1. Napíšte vzorce dvoch medicínsky a toxikologicky významných halogénderivátov, hydroxiderivátov uhľovodíkov a definujte ich využitie.

2. Vymenujte a napíšte vzorce štyroch oxidačných produktov glykolu

3. Napíšte rovnicu dehydrogenácie tioetanolu a pomenujte produkt.

4. Napíšte reakciu vzniku glyceroltrinitrátu a jeho využitie v praxi.

5. Napíšte vzorce štyroch nenasýtených mastných kyselín a pomenujte ich.

6. Napíšte vzorec aromatickej karboxylovej kyseliny, ktorej sodná soľ sa používa ako konzervant v potravinárstve a napíšte reakciu jej detoxifikácie v organizme.

7. Napíšte vzorec EDTA, chemický názov a význam tejto zlúčeniny.

8. Definujte čo je Seigertová soľ.

9. Napíšte reakciu výroby kyseliny jablčnej.

10. Definujte fosgén a napíšte vzorcom jeho reakciu s vodou.

Vlastnosti organických zlúčenín II.

Obsah

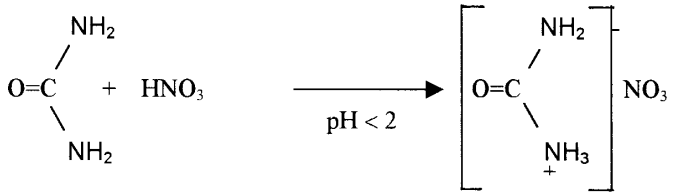
Vznik solí močoviny..... 1
Vznik biuretu - chelátu s Cu^{2+}..... 2
Rozpustnosť kyseliny močovej a jej solí vo vode..... 7
Redukčné vlastnosti kyseliny močovej..... 8
Dôkaz kyseliny močovej (murexidová reakcia)..... 9
Kvalitatívny dôkaz chinínu..... 10
Stanovenie chinínu v nealkoholickom nápoji..... 11
Kontrolné otázky..... 12

Vlastnosti močoviny

Medzi najdôležitejšie diamidy kyseliny uhličitej patrí močovina (urea, karbamid). Väčšina zdravých ľudí má koncentráciu močoviny v sére relatívne stálu v rozmedzí 2,8 - 8,3 $mmol.l^{-1}$, ktorá je závislá na príjme bielkovín z potravy. Močovina zahrievaním s lúhmi sa rozkladá na NH_3 a CO_2, podobne hydrolyzuje účinkom ureázy.

Úloha: Vznik solí močoviny

Močovina je veľmi dobre rozpustná vo vode. V silne kyslom prostredí sa chová ako veľmi slabá zásada a vznikajú soli močoviny (dusičnan močoviny).



Pracovné potreby
Hodinové skielko, tyčinky
Roztoky: močovina (kryštalická), konc. HNO_3

Pracovný postup

1. Na hodinové skielko nasypte malé množstvo močoviny a pridajte niekoľko kvapiek vody, aby vznikol nasýtený roztok.
2. Pridajte kvapku konc. HNO_3. Následne sa vylúčia kryštáliky dusičnanu močoviny.
3. Pozorujte rozpustnosť tejto soli po prídavkoch vody.

Pozorovanie:

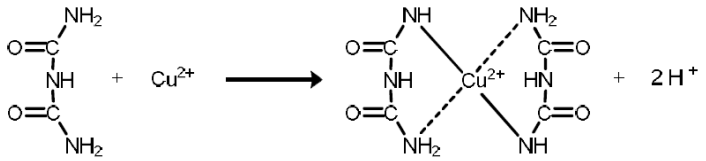
Záver:

Úloha: Vznik biuretu - chelátu s Cu^{2+}

Tavením močoviny sa uvoľňuje amoniak a vzniká biuret:

$$2\ NH_2\text{-}CO\text{-}NH_2 \longrightarrow NH_2\text{-}CO\text{-}NH\text{-}CO\text{-}NH_2 + NH_3$$

V alkalickom prostredí s roztokom $CuSO_4$ biuret tvorí <u>fialovo</u> zafarbený chelátový komplex.



Pracovné potreby
Skúmavky, filtračný papier, lieviky
Roztoky: močovina (kryšt.), roztok NaOH (c = 5 mol/l), roztok $CuSO_4$ (c = 0,5 mol/l)

Pracovný postup

1. Nasypte niekoľko zrniek močoviny do skúmavky.
2. Skúmavku opatrne zahrievajte na plameni. Dochádza k rozpusteniu a taveniu močoviny, uvoľňuje sa amoniak a tavenina tuhne.
3. Skúmavku nechajte vychladnúť a pridajte asi 1 ml vody, zamiešajte a pridajte 1 ml roztoku NaOH.
4. Po zamiešaní obsah prefiltrujte.
5. Do filtrátu pridajte niekoľko kvapiek roztoku $CuSO_4$ a pozorujte vznik ružovo-fialového chelátového komplexu.

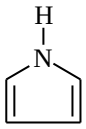
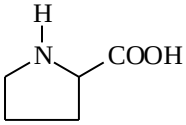
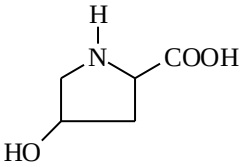
Pozorovanie:

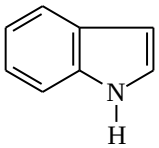
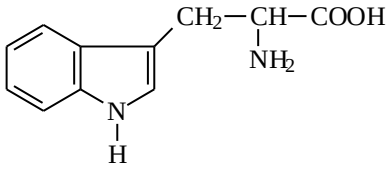
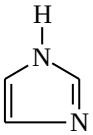
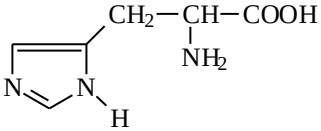
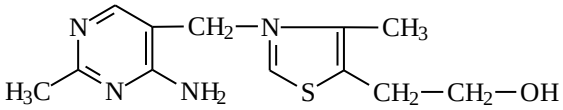
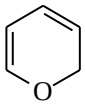
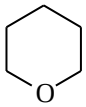
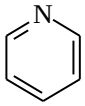
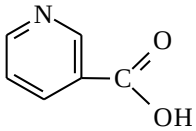
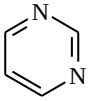
Záver:

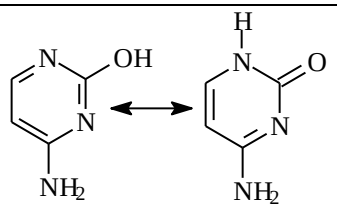
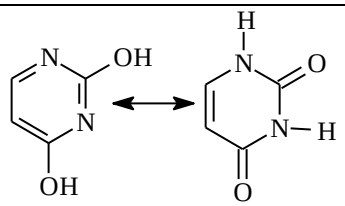
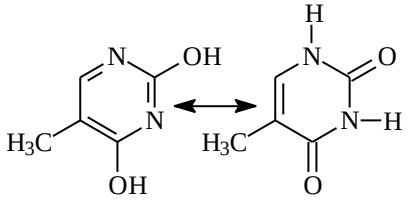
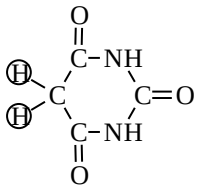
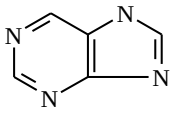
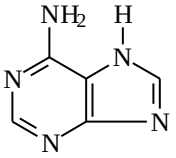
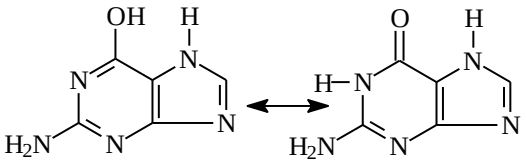
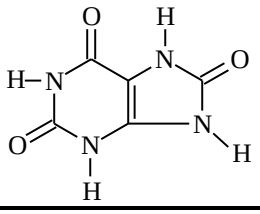
Vlastnosti heterocyklických zlúčenín

Heterocyklické zlúčeniny obsahujú v cyklickom usporiadaní okrem atómov uhlíka aj iný druh atómu (heteroatóm). Najčastejšie sú to atómy O, N, S - heterocykly kyslíkaté, dusíkaté, sírne. Mnohé heterocyklické zlúčeniny majú podobný charakter ako aromatické zlúčeniny, dávajú tiež podobné reakcie, pri substitučných reakciách sa aromatický charakter zachová, pri reakciách adičných sa stráca a vznikajú zlúčeniny s jednoduchými väzbami alebo s izolovanými násobnými väzbami.

Patria sem zlúčeniny, ktoré sú pre život organizmov nevyhnutné (nukleové kyseliny, vitamíny) - sú to látky telu vlastné. Mnohé heterocyklické zlúčeniny, či prírodného pôvodu alebo syntetické, sa vyskytujú ako zložky poživatín, alebo sú to lieky. Jedným z typov derivátov heterocyklických zlúčenín sú niektoré farbivá – napr. chlorofyl, hemoglobín, myoglobín, bilirubín a vitamín B12. Medzi deriváty heterocyklických zlúčenín patria aj dusikaté bázy, ktoré sa podieľajú na stavbe nukleových kyselín so štruktúrou odvodenou od purínu alebo pyrimidínu. V nasledujúcej tabuľke sú uvedení najznámejší zástupcovia heterocyklických zlúčenín:

Heterocyklická zlúčenina	**Vzorec**	**Funkcia, použitie, výskyt**
Furán		príprava tetrahydrofuránu
Tetrahydrofurán		rozpúšťadlo; tetrahydrofuranový kruh – základ molekuly niektorých cukrov - furanózy
Tiofén		v čiernouhoľnom dechte, kvapalina
Tiofán		odvodzuje sa od neho štruktúra vitamínu H (biotínu) – nevyhnutný pre správnu funkciu kože
Pyrol		chlorofyl, hemoglobín, urobilín, bilirubín, kobalamín (vitamín B_{12}), alkaloidy
Prolín		aminokyselina
4-hydroxyprolín		aminokyselina

Indol		v pomarančových a jazmínových kvetoch – čistý (vonia) v čiernouhoľnom dechte – technický (odporne páchne)
Tryptofán		aminokyselina
Imidazol		
Histidin		aminokyselina
Tiazol		
Vitamín B_1 (tiamín)		správna činnosť nervového systému
Penicilín		antibiotikum
α-pyrán (2H-pyrán)		
Tetrahydropyrán		základ štruktúr monosacharidov – pentózy
Pyridín		nepríjemne páchnuca kvapalina – použitie: rozpúšťadlo, katalyzátor pri acyláciách
Kyselina nikotínová		spolu so svojim amidom je súčasťou niektorých koenzýmov
Pyrimidín		

Cytozín		sú súčasťou nukleových kyselín
Uracil		
Tyamín		
Kyselina barbiturová		H možno nahradiť R = barbituráty (liečivá so sedatívnymi účinkami (Hysteps, Amobarbital,...)
Purín		
Adenín		sú súčasťou nukleových kyselín
Guanín		
Kyselina močová		usadzuje sa v kĺboch – dna, vylučuje sa vo forme kryštálov v obličkách – obličkové kamene

Niektoré majú nežiadúce účinky - nazývajú sa látky cudzorodé – **xenobiotiká**. Ich absorpcia sa najčastejšie deje tráviacim traktom, dýchacími cestami alebo kožou. Metabolizovanie xenobiotík sa uskutočňuje v mikrozómových enzýmových systémoch hepatocytov tromi hlavnými detoxikačnými procesmi: oxidáciou, redukciou a konjugáciou. Následné vylúčenie prebieha po glomerulárnej filtrácii

v obličkách močom. Žlčou vylúčené metabolity prechádzajú do čreva alebo sa môžu dostať do enterohepatálneho obehu. Prchavé látky sa zväčša vylučujú vydychovaním.

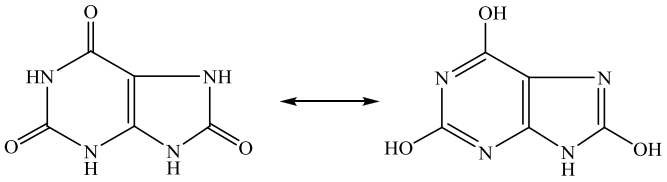
Medzi heterocyklické zlúčeniny patria aj alkaloidy, ktoré sú prírodné látky zásaditej povahy s heterocyklicky viazanými atómmi dusíka, väčšinou rastlinného pôvodu. Jedná sa o látky kryštalické, vo vode málo rozpustné, s kyselinami tvoriace soli, ktoré majú výrazný fyziologický účinok a vo väčších dávkach pôsobia ako prudké jedy; napr. morfín, kodeín, efedrín, nikotín, kokaín.

Predstaviteľom dusíkatých heterocyklov so značným metabolickým a diagnostickým významom je kyselina močová (2,6,8-trioxopurín). Je konečným produktom odbúravania purínových báz u človeka a primátov a vylučuje sa stolicou a močom.

Nemožnosť ďalšieho odbúravania kyseliny močovej u človeka a primátov má aj negatívnu stránku. Veľmi malá rozpustnosť tejto kyseliny, ako aj jej soli, vo vodnom prostredí spôsobuje pri vzostupe ich koncentrácie vznik zrazenín a kryštálikov (močové kamene). Zvýšená hladina kyseliny močovej môže viesť tiež k vzniku dny (arthritis urica - ukladanie kyseliny močovej v kĺboch). Táto látka má však aj priaznivé, a to antioxidačné účinky podobné antioxidačným účinkom iných látok (napr. vitamínu C, ktorý primáty nedokážu syntetizovať).

Úloha: Rozpustnosť kyseliny močovej a jej solí vo vode

Kyselina močová vykazuje laktám-laktímovú izomériu (tautomériu). Jej slabo kyslý charakter je podmienený tým, že z troch atómov vodíka jej enolovej formy sa môžu kovom nahradiť maximálne dva. Kyselina močová a väčšina jej solí je vo vode málo rozpustná, čo má celý rad fyziologických a patofyziologických dôsledkov.



(laktám) kys. močová (laktím)
oxo - enol -

Pracovné potreby
Skúmavky, pipety, hodinové skielka
Roztoky: kyselina močová, destilovaná voda, roztok NaOH (c = 2,5 mol/l), nasýtený roztok NH_4Cl, roztok HCl (c = 2,5 mol/l)

Pracovný postup

1. Do skúmavky dajte malé množstvo kryštálkov kyseliny močovej.
2. Do skúmavky pridávajte po kvapkách destilovanú vodu (po každom pridaní kvapky skúmavkou zatrepte). Ani po pridaní 10 kvapiek sa kyselina nerozpúšťa.
3. Pridajte jednu kvapku zriedeného roztoku NaOH a zakalený roztok sa vyčíri, pretože vzniká jej rozpustnejšia sodná soľ (hydrogénurát disodný).
4. K roztoku rozpusteného hydrogénurátu disodného pridajte jednu kvapku nasýteného roztoku NH_4Cl. Hneď sa vylúči zrazenina hydrogénurátu amonného, ktorý je menej rozpustný.
5. Na hodinové skielko kvapnite jednu kvapku zakaleného roztoku hydrogénurátu amonného.
6. K nemu pridajte jednu kvapku zriednej HCl. Zrazenina hydrogénurátu sa rozpustí len čiastočne, pretože vykryštalizuje kyselina močová.

Pozorovanie:

Záver:

Úloha: Redukčné vlastnosti kyseliny močovej

Kyselina močová má aj slabé redukčné (antioxidačné) vlastnosti (prítomnosť hydroxylových skupín) - redukuje Fehlingove činidlo. Antioxidanty sú látky, ktoré bránia oxidačnému procesu alebo ho spomaľujú. Endogénne antioxidanty sú obvykle enzýmy, koenzýmy a zlúčeniny s obsahom síry, ako je napríklad glutatión. Superoxiddismutázy neutralizujú škodlivú formu kyslíku – superoxid na peroxid vodíka. Aj peroxid vodíka môže poškodzovať bunkové zložky, ale nie je tak ničivý, ako superoxid. Ďalší endogénny antioxidant nazývaný kataláza obsahuje minerálne železo. Rozkladá peroxid vodíka na vodu. Aj glutatión-peroxidáza obsahujúca selén môže premieňať peroxid vodíka na vodu. Exogénne alebo potravinové antioxidanty zahrňujú vitamíny, najmä C a E, bioflavonoidy, karotenoidy a niekoľko zlúčenín obsahujúcich síru.

Pracovné potreby
Skúmavky
Kyselina močová, roztok NaOH (c = 2,5 mol/l), Fehling I, Fehling II.

Pracovný postup

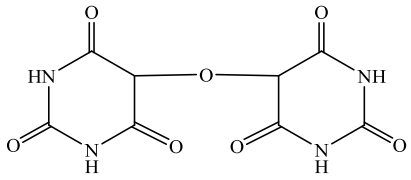
1. Malé množstvo kryštalickej kyseliny močovej rozpustite v zriedenom roztoku hydroxidu sodného.
2. Potom do skúmavky pridajte asi 2 ml Fehlingovho činidla (Fehling I. a Fehling II. v pomere l : l – obsahujú ióny Cu^{2+}).
3. Obsah skúmavky povarte vo vodnom kúpeli.
4. Pozorujte a popíšte vznik tehlovočervenej zrazeniny redukovaného Cu_2O. Kyselina močová má redukčné vlastnosti, čo treba zohľadniť pri dôkaze glukózy v moči podľa Trommera (možné skreslenie výsledkov). Redukčné (antioxidačné) vlastnosti ju zaraďujú do skupiny látok dôležitých pre znižovanie rizík oxidačného stresu buniek.

Pozorovanie:

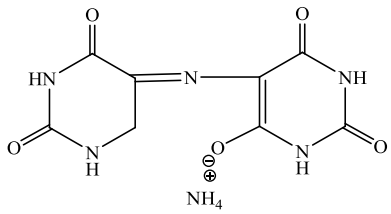
Záver:

Úloha: Dôkaz kyseliny močovej (murexidová reakcia)

Murexidová reakcia je veľmi citlivá reakcia, ktorá sa používa na dôkaz kyseliny močovej v močových kameňoch. Zahrievaním kyseliny močovej s HNO_3 vzniká aloxantín, ktorý dáva s amoniakom amónnu soľ kyseliny purpurovej, t.j. murexid (purpurovo-červený purpurán amónny).



aloxantín



murexid

Pracovné potreby
Porcelánové misky, vodný kúpeľ, pipety
Roztoky: koncentrovaná HNO_3, kyselina močová alebo rozdrvený močový kameň, koncentrovaný čpavok, roztok NaOH (c = 2 mol/l).

Pracovný postup

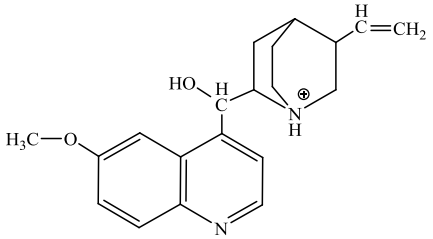
1. Nepatrné množstvo kyseliny močovej (asi 10 mg) dajte na porcelánovú misku.
2. Pridajte 1-2 kvapky koncentrovanej HNO_3 (POZOR ŽIERAVINA!).
3. Roztok opatrne premiešajte (nakláňaním porcelánovej misky) a odparte do sucha (na vodnom kúpeli alebo nad malým plameňom - do 100 °C). Odparok má mať cibuľové zafarbenie (žltohnedé).
4. K okraju odparku pridajte kvapku amoniaku - vzniká purpurový murexid.
5. K inej časti okraja odparku pridajte kvapku hydroxidu sodného
6. Pozorujte vznik modrofialového sfarbenia, ktoré je spôsobené sodnou soľou kyseliny purpurovej.

Pozorovanie:

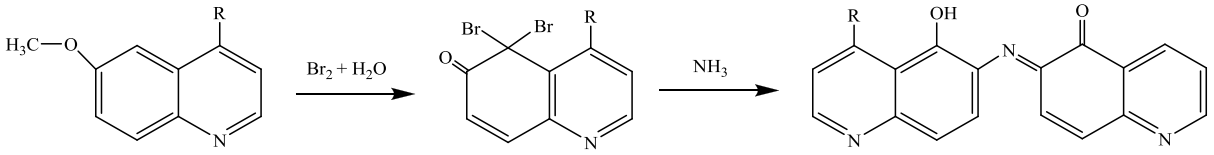
Záver:

Úloha: Kvalitatívny dôkaz chinínu

Medzi najznámejšie deriváty chinolínu patrí alkaloid chinín. Vyznačuje sa hlavne ako antimalarikum, ale má aj antipyretické vlastnosti. Ako stála substancia sa používa dihydrát chloridu chinínu. Má nasledovnú štruktúru:



Chinín sa dokazuje hlavne s brómovou vodou za prítomnosti NH_3. Vzniká zeleno zafarbený taleiochín. Podstatou reakcie je oxidácia a halogenácia chinolínu a následná kondenzácia dvoch molekúl s NH_3. Priebeh reakcií je nasledovný:



taleiochín

Pracovné potreby
Skúmavky
Roztoky: brómová voda, konc. NH_4OH

Pracovný postup

1. Do skúmavky preneste približne 2 ml vzorky s obsahom chinínu.
2. Pridajte za miešania niekoľko kvapiek brómovej vody a následne niekoľko kvapiek konc. NH_4OH.
3. Pozorujte vznik zeleného zafarbenia roztoku, ktoré je dôkazom prítomnosti chinínu vo vzorke.

Pozorovanie:

Záver:

Úloha: Stanovenie chinínu v nealkoholickom nápoji

Chinín (M_r = 270) absorbuje svetlo pri vlnovej dĺžke 347,5 nm v závislosti od koncentrácie. Na základe toho v bezfarebných roztokoch je chinín možné stanoviť priamo a pokiaľ sa chinín nachádza vo farebných roztokoch, pred jeho stanovením je nutné roztok podrobiť extrakcii.

Pracovné potreby
Skúmavky, kadička, spektrofotometer CH 100
Roztoky: H_3PO_4 (c = 2,5 mol/l), HCl (c = 1 mol/l), štandardný roztok chinínu (c = 1,3 μmol/l)

Pracovný postup

1. Do jednej skúmavky napipetujte 2 ml skúmanej vzorky a do druhej 2 ml štandardného roztoku o koncentrácii 1,3 μmol/l.
2. Skúmavky vložte do vriaceho vodného kúpeľa a sledujte, kým neunikajú bubliny CO_2.
3. Do oboch pridajte 0,4 ml roztoku HCl a 0,4 ml roztoku H_3PO_4 (POZOR ŽIERAVINA!) a zamiešajte.
4. Obsah skúmaviek analyzujte na spektrofotometri pri vlnovej dĺžke 340 nm oproti porovnávacej vzorke, ktorú pripravte zmiešaním 0,4 ml HCl, 0,4 ml H_3PO_4 a 2 ml H_2O.

Z nameraných hodnôt vypočítajte koncentráciu chinínu v nealkoholickom nápoji podľa vzťahu:

$$c_a = 1{,}3 \cdot \frac{A_a}{A_s}$$

Výsledok je v jednotkách μmol/l.

Pozorovanie:

Záver:

Kontrolné otázky:

1. Napíšte reakciu vzniku kyseliny barbiturovej a dva príklady jej derivátov používaných v medicíne.

2. Napíšte vzorce a názvy aspoň dvoch derivátov purínu zo a názvy aspoň dvoch medicínsky významných derivátov tiazolu.

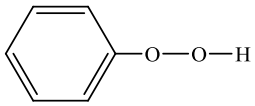
3. Vymenujte štyri biochemicky významné amidy karboxylových kyselín.

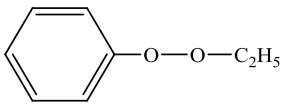
4. Napíšte reakciu vzniku biuretu z dvoch molekúl močoviny.

5. Definujte laktám, laktid, laktón.

6. Napíšte rovnicu dekarboxylácie histidínu a vzniknutý produkt.

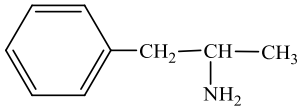
7. Pomenujte jednotlivé zlúčeniny:

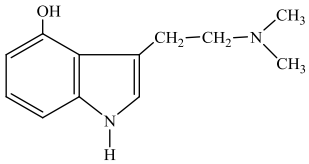




8. Napíšte zloženie Felingovho roztoku

9. Pomenujte jednotlivé vzorce chemicky a triviálne, rovnako ich skúste definovať.





10. Napíšte vzorce xantínu a hypoxantínu.

Sacharidy

Obsah

Reakcie na dôkaz monosacharidov..... 2
Redukčné reakcie..... 6
Hydrolýza sacharidov..... 10
Farebná reakcia s iódom..... 11
Analýza neznámej vzorky sacharidu..... 12
Kontrolné otázky..... 14

Sacharidy (cukry) sú spolu s proteínmi a lipidmi základnou súčasťou živej hmoty. Ich význam spočíva predovšetkým v tom, že slúžia živočíšnej bunke ako zdroj chemickej energie, potrebnej k priebehu najzákladnejších fyziologických funkcií.

Chemicky sú cukry polyhydroxyaldehydy alebo polyhydroxyketóny. Podľa toho sa rozdeľujú na aldózy a ketózy. Delíme ich na monosacharidy, ktoré sa pri hydrolýze nedajú štiepiť na menšie jednotky, oligosacharidy (pozostávajú z 2-10 monosacharidových jednotiek); polysacharidy (skladajú sa z viac ako 10 až niekoľko tisíc monosacharidových jednotiek).

Monosacharidy môžu obsahovať 3-7 uhlíkových atómov a podľa toho ich nazývame triózy (C3), tetrózy (C4) .....až heptózy (C7). Ďalej sa rozdeľujú na **D** a **L formy**, ktoré sú odvodené od najjednoduchšieho cukru (glyceraldehydu). Sacharidy, ktoré zaraďujeme do D formy, majú na predposlednom uhlíku –OH skupinu vpravo, sacharidy L formy majú –OH skupinu vľavo.

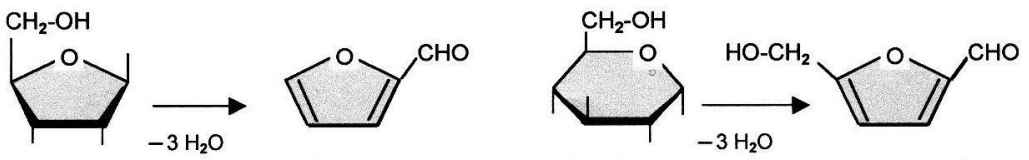
V podobe aldóz (ketóz) sa monosacharidy nachádzajú iba v bezvodnom prostredí. Pri styku s vodou dochádza k adičnej reakcii, kedy vznikajú príslušné aldehydhadráty (ketonhydráty) a z nich poloacetály (poloketály).Tým sa zmení pôvodná otvorená štruktúra na cyklickú.

Polysacharidy delíme na homopolysacharidy (škrob, glykogén, celulóza, inulín) a heteropolysacharidy, ktoré sa nachádzajú v živých organizmoch. Ich spoločnou vlastnosťou je, že hydrolýzou glykozidových väzieb sa uvoľňujú jednoduché sacharidy alebo ich deriváty, ktoré majú redukčné vlastnosti. Glykozidová väzba je labilná v kyslom prostredí, v alkalickom prostredí je voči hydrolýze odolná.

Úloha: Reakcie na dôkaz monosacharidov – farebné reakcie

Na kvalitatívne skúšky prítomnosti sacharidov slúžia farebné reakcie. Hodia sa najmä na dôkaz v bezfarebných tekutinách.

Farebné reakcie sacharidov sa zakladajú väčšinou na tom, že sacharidy sa v silne kyslom prostredí dehydratujú a vytvárajú furaly alebo hydroxymetylfuraly.



D-ribóza **furfural** **D-glukóza** **hydroxymetylfurfural**

Vzniknutý fural (alebo hydroxymetylfural) sa ďalej kondenzuje s dvoma molekulami niektorých derivátov fenolu za opätovného vylúčenia vody a vzniku farbiva trifenylmetánového radu.

Z derivátov fenolu sa na vyvolanie farebných reakcií používajú: α-naftol (pri Molischovej reakcii), rezorcinol (Selivanova reakcia na ketózy), floroglucinol (na pentózy podľa Tollensa) a pod.

Schiffova reakcia

Pentózy sa dehydratujú minerálnymi kyselinami na fural, ktorý možno po zahriatí dokázať pomocou anilínu. Vzniká intenzívne červené sfarbenie furanilínu.

Pracovné potreby
Skúmavky, pipety 2 ml, kadička,
Kyselina chlorovodíková konc., roztok octanu anilínu (93,1 g anilínu sa zmieša s 60 g kyseliny octovej na 1 liter roztoku)

Pracovný postup

1. Napipetujte 1 ml roztoku s obsahom pentózy
2. Zahrievajte s rovnakým objemom koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej až do varu.
3. Pri ústí skúmavky pridržte prúžok filtračného papiera namočeného do roztoku octanu anilínu, na papieriku sa objaví červené zafarbenie, ktoré dokazuje prítomnosť pentóz.

Pozorovanie

Záver:

Selivanova reakcia

Reakcia je založená na vzniku červeného zafarbenia, ktoré dáva 5-dihydrometylfurfural s rezorcinolom a kyselinou chlorovodíkovou. Ak sa reakcia robí v alkoholickom prostredí, rozkladajú sa ketózy omnoho rýchlejšie ako aldózy, takže reakcia sa stáva špecifickou pre ketózy.

Táto reakcia je vhodná na dôkaz fruktózy v moči a používa sa tiež pri testoch funkčnosti obličiek.

Pracovné potreby
Skúmavky, pipety 2 ml; Fruktóza, glukóza (2 % roztok), Selivanova reagencia (0,1 g rezorcinol v zmesi 10 ml vody + 15 ml HCl)

Pracovný postup:

1. Napipetujte 1 ml roztoku fruktózy
2. Pridajte 1 ml Selivanovho činidla
3. Zahrievajte do varu. Vzniká červené zafarbenie.
4. Zopakujte s roztokom glukózy a vysvetlite rozdiel.

Pozorovanie

Záver:

Tollensova reakcia

Po povarení s kyselinami dávajú pentózy s floroglucinolom červené zafarbenie. Podstata reakcie je v tom, že pentózy odštiepujú vodu a vytvárajú furfural.

Pracovné potreby
Skúmavky, pipety 2 ml, kadička
Ribóza glukóza(1 g/1 ℓ H_2O), 0,2 % roztok floroglucinolu (príprava: k 1 ml 37 % HCl pridať na koniec lyžičky floroglucinol, povariť a pridať malé množstvo ribózy)

Pracovný postup:

1. Do skúmavky dajte 1-2 ml roztoku floroglucinolu
2. Zahrievajte do varu.
3. Rýchle pridajte 5-6 kvapiek roztoku pentózy.
4. Vznikne ružové zafarbenie, ktoré prechádza v červené. Reakciu uskutočnite aj s roztokom glukózy. Vysvetlite rozdiel.

Pozorovanie

Záver:

Nitrochrómova reakcia

Ide o reakciu skupiny >CH-OH s kyselinou dusičnou a chrómanom draselným, pričom vzniká modré sfarbenie, ktoré dokazuje prítomnosť glukózy a sacharózy.

Pracovné potreby:
skúmavky, pipeta 1ml, pipeta 5 ml
Kyselina dusičná konc., chróman draselný (3 % roztok), roztok ľubovoľného cukru

Pracovný postup

1. Napipetujte 1 ml roztoku sacharidu
2. Pridajte 4 ml kyseliny dusičnej
3. Pridajte 3 kvapky chrómanu draselného.
4. V priebehu 1 min sa roztok zafarbí do modra.

Pozorovanie

Záver:

Úloha: Redukčné reakcie

Všetky monosacharidy a sacharidy, ktoré obsahujú vo svojej molekule voľný hemiacetálový hydroxyl (patria do skupiny aldóz), majú schopnosť sa v alkalickom prostredí oxidovať na kyseliny a zároveň **redukovať** zlúčeniny kovov (meď, striebro, bizmut, železo a pod.). Táto ich vlastnosť sa využíva pri ich odlíšení od ketóz.

Uvedené skúšky sa využívajú pri biochemickom vyšetrení moča (najčastejšie Fehlingová reakcia).

Trommerova reakcia

Redukovanou látkou pri Trommerovej reakcii je $CuSO_4$. Redukcia prebieha v alkalickom prostredí za varu podľa rovníc:

$$CuSO_4 + 2\ NaOH \rightarrow Cu\ (OH)_2 + Na_2SO_4$$

$$2\ Cu(OH)_2 + \text{red.sacharid} \rightarrow Cu_2O + 2\ H_2O + \text{oxid.sacharid}$$

Pracovné potreby
Skúmavky, 2 ml pipety, kadička
$CuSO_4$ (c = 0,1 mol/l), NaOH (c = 2,5 mol/l)

Pracovný postup

1. Napipetujte 1 ml roztoku glukózy

2. Pridajte rovnaký objem roztoku NaOH

3. Po kvapkách pridávajte roztok $CuSO_4$,za stáleho miešania až do vzniku trvalého zákalu.

4. Opatrne zahrievajte až do varu.

V prípade pozitívnej reakcie sa vyzráža červený Cu_2O.

Pozorovanie

Záver:

Fehlingova reakcia

Princíp reakcie je podobný ako pri Trommerovej reakcii, t.j. prebieha redukcia $Cu(OH)_2$ na Cu_2O. Hydroxid meďnatý tvorí pomerne stály rozpustný komplex, ktorý sa stabilizuje v roztoku pomocou vínanu draselnosodného (Seignettova soľ).

Pracovné potreby
Skúmavky, pipety 2 ml, kadička
Fehling I., Fehling II. (vínan draselnosodný + NaOH)

Pracovný postup

1. Napipetujte 1 ml roztoku glukózy
2. Pridajte 1 ml Fehlingovho činidla (Fehling I. + Fehling II. = 0,5 ml + 0,5 ml)
3. Zahrievajte. Vylúči sa žltý, oranžový až červený Cu_2O.

Pozorovanie

Záver:

Nylanderova skúška

Sacharidy redukujú Bi^{3+} tak, že povarením a ochladením vzniká čierny kovový bizmut.

Pracovné potreby
Skúmavky, pipety 2 ml
Glukóza 2 % roztok, Nylanderova reagencia

Pracovný postup

1. Napippetujte 1 ml roztoku glukózy
2. Pridajte 0,5 ml Nylanderovho činidla
3. Povarte a ochlaďte. Ak je reakcia pozitívna, roztok sa zafarbí na čierno.

Pozorovanie

Záver:

Redukčné vlastnosti disacharidov

Zo skupiny oligosacharidov sú najdôležitejšie disacharidy. Skladajú sa z 2 molekúl monosacharidov, ktoré sú viazané glykozidovou väzbou. Táto väzba vzniká spojením 2 poloacetálových funkčných skupín. Disacharidy s voľným poloacetálovým hydroxylom (maltóza, laktóza) majú redukčné vlastnosti. Disacharid sacharóza nemá voľný poloacetálový hydroxyl, preto nevykazuje redukčné vlastnosti.

Pracovné potreby
Skúmavky, pipety 10 ml
Sacharóza (2 % roztok), maltóza (2 % roztok), laktóza, Fehling I. a Fehling II.

Pracovný postup

1. Do troch skúmaviek nalejte po 1 ml roztokov disacharidov.
2. Vo všetkých troch skúmavkách urobte Fehlingovu skúšku na redukčné vlastnosti.

Sacharid	Fehlingová skúška
Sacharóza	
Glukóza	
Ribóza	
Fruktóza	

Pozorovanie

Záver:

Úloha: Hydrolýza sacharidov

Glykozidová väzba v molekule oligo- a polysacharidov sa hydrolyticky štiepi pôsobením silných kyselín za vzniku monosacharidov. Možno sa o tom presvedčiť tým, že po hydrolýze ich roztoky získavajú výrazné redukčné vlastnosti.

Hydrolýza sacharózy

Pracovné potreby
Pipety, vodný kúpeľ
Sacharóza 2 %, HCl (c = 0,1 mol/l), NaOH (c = 0,1 mol/l), Fehling I., Fehling II.

Pracovný postup

1. Do skúmavky napipetujte 2 ml roztoku sacharózy
2. Pridajte 3-4 kvapky zriedenej HCl.
3. Skúmavku vložte do vriaceho vodného kúpeľa na 10-15 minút.
4. Kyslý hydrolyzát po ochladení zalkalizujte roztokom hydroxidu sodného do neutrálnej reakcie
5. Uskutočnite Fehlingovu skúšku s roztokom sacharózy pred a po hydrolýze.

Pozorovanie

Záver:
Vysvetlite a zdôvodnite výsledky oboch skúšok.

Úloha: Farebná reakcia s jódom

Polysacharidy sa môžu vzájomne líšiť rozpustnosťou a stupňom usporiadania štruktúry makromolekúl, ktorá sa niekedy prejavuje farebnou reakciou s jódom.

Reakcia s jódom

Pracovné potreby
Skúmavky, Roztok jódu (0,3 % v 5 % jodide draselnom)

Pracovný postup

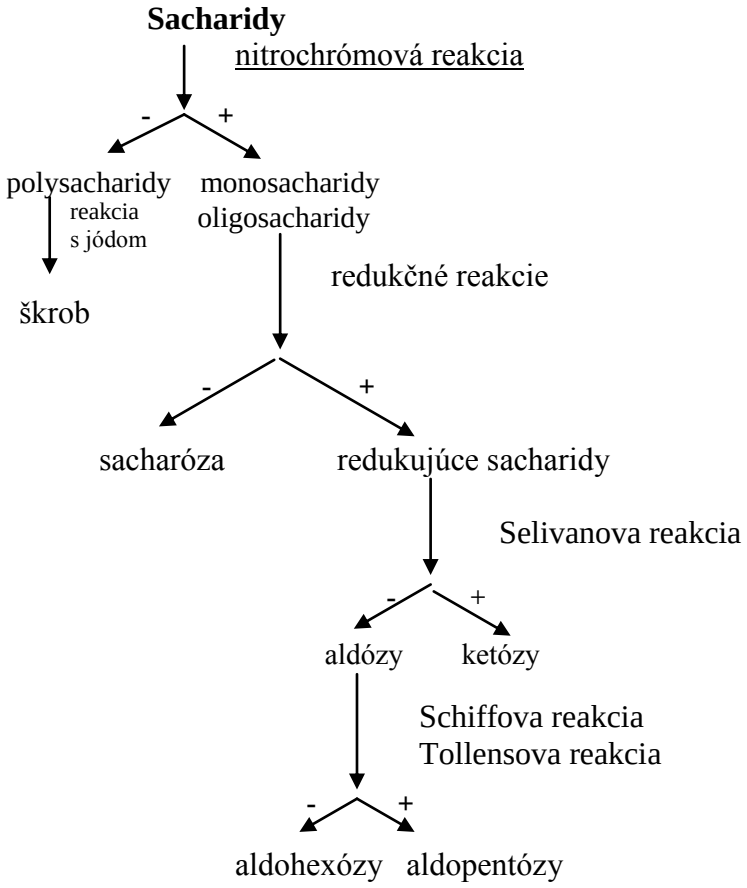
1. Napipetujte 1 ml škrobu
2. Pridajte niekoľko kvapiek roztoku jódu.
3. Vznikne modré sfarbenie, ktoré dokazuje prítomnosť škrobu vo vzorke.

Pozorovanie

Záver:

Analýza neznámej vzorky sacharidu

Pomocou uvedených reakcií možno orientačne určiť neznámy sacharid podľa nasledovnej schémy:



Pracovné potreby:
Skúmavky, Pipety, vodný kúpeľ
Roztok jódu , HCl (c = 0,1 mol/l), NaOH (c = 0,1 mol/l), Fehling I., Fehling II, $CuSO_4$ (c = 0,1 mol/l), Kyselina dusičná konc., chróman draselný (3 % roztok), roztok floroglucinolu, Selivanova reagencia

Pracovný postup

1. K 1 ml neznámej vzorky pridajte približne 3 ml kyseliny dusičnej a tri kvapky chrómanu draselného.
2. V prípade sfarbenia roztoku **do modra**, pokračujte v analýze redukčnými reakciami. V prípade **negatívnej** reakcie dokážte vo vzorke škrob.
3. Do novej skúmavky k 1 ml neznámej vzorky pridajte približne 0,5 ml Fehlingovho roztoku.
4. Zmes zahrejte a pozorujte zmenu farby až na oranžovočervenú zrazeninu, čo je dôkazom prítomnosti **redukujúcich** sacharidov.
5. V prípade negatívnej reakcie ide o **sacharózu.** V tom prípade podrobte neznámy roztok hydrolýze a redukčnými reakciami dokážte vo vzorke glukózu.
6. Do ďalšej skúmavky pridajte 1 ml neznámej vzorky a urobte Selivanovú reakciu. V prípade pozitívnej reakcie ide **o ketózy** (fruktózu).

7. Do ďalšej skúmavky pridajte 1 ml neznámej vzorky a urobte Tóllensovú reakciu. Pozitívny výsledok bude svedčiť o prítomnosti **pentóz.**

Pozorovanie

Záver:
Vyhodnoťte dosiahnuté výsledky reakcií a určte, ktorý sacharid bol prítomný vo vašej vzorke.

Kontrolné otázky:

1. Napíšte Fisherové vzorce hexóz - glukózy, manózy, galaktózy a fruktózy

2. Napíšte Fisherové vzorce pentóz – xylózy, arabinózy, ribózy a deoxyribózy

3. Napíšte vzorcami hydrolytické štiepenie maltózy, laktózy a sacharózy

4. Napíšte vzorce amylózy a celulózy a zvýraznite v nich glykozidovú väzbu. Napíšte o aký typ väzby v jednotlivých polysacharidoch ide.

5. Reakciou vyjadrite, čo sa stane ak dôjde k zahrievaniu sacharózy so zriedenou kyselinou chlorovodíkovou.

6. V ktorom z disacharidov je glykozidová väzba medzi 2 glukózami?

7. Napíšte základný rozdiel medzi štruktúrou škrobu a celulózy

8. Napíšte koncové produkty kyslej a alkalickej hydrolýzy škrobu

9. Uveďte príklady homopolysacharidov a ich biologickú úlohu v organizme

10. Uveďte príklady heteropolysacharidov a ich biologickú úlohu v organizme.

Lipidy

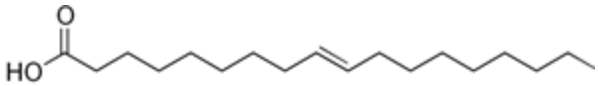
Obsah

Hydrolýza neutrálnych lipidov katalyzovaná lipázou..... 3
Rozpustnosť a emulgácia lipidov..... 5
Dôkaz cholesterolu- Salkovského reakcia..... 6
Izolácia lecitínu z vaječného žĺtka..... 7
Stanovenie jódového čísla tukov..... 8
Zmydelňovanie tukov - príprava mydla..... 10
Vlastnosti pripraveného mydla..... 11
Kontrolné otázky..... 13

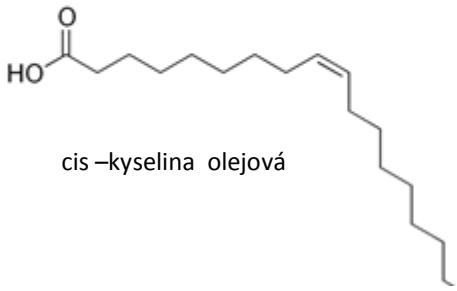
Lipidy sú dôležitým zdrojom energie, podieľajú sa na výstavbe membrán (fosfolipidy, glykolipidy a cholesterol). Predstavujú látky s excelentnými izolačnými vlastnosťami a niektoré z nich slúžia ako hormóny a signálne molekuly. Lipidy majú hydrofóbnu povahu, preto sú dobre rozpustné v metanole, acetóne, chlóroforme, benzéne a v iných organických rozpúšťadlách. Rozdeľujeme ich do 2 skupín, **na hydrolyzovateľné** (podliehajú hydrolytickému štiepenie – estery, fosfolipidy, glykolipidy) a **nehydrolyzovateľné** (mastné kyseliny, karotenoidy, steroly, steroidy atď)

Charakteristickým znakom lipidov je prítomnosť mastných kyselín vo forme dlhých reťazcov. Tieto mastné kyseliny svojím hydrofóbnym charakterom ovplyvňujú zlú rozpustnosť lipidov vo vode. Prítomnosť polárnych látok, ako napr. kyseliny fosforečnej, bielkovín alebo sacharidov vo väzbe na molekuly lipidov, zvyšuje ich rozpustnosť vo vodnom prostredí.

Mastné kyseliny môžu byť nasýtené alebo nenasýtené. Nasýtené sú tuhé a nenasýtené olejovité látky. Nenasýtené mastné kyseliny obsahujú jednu dvojitú väzbu alebo viac izolovaných dvojitých väzieb, oddelených väčšinou intervalom 3 atómov uhlíka. Nenasýtené tuky v potrave sa nachádzajú prevažne vo forme cis, malý podiel je však aj vo forme trans.

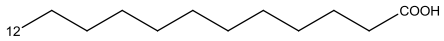
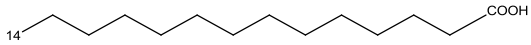
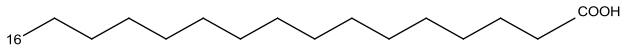
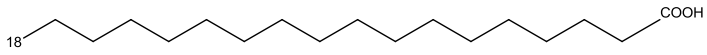
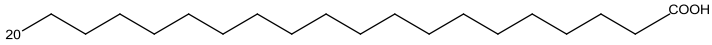
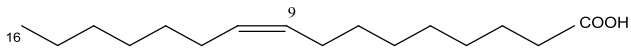
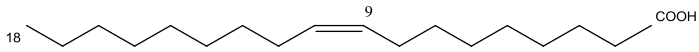
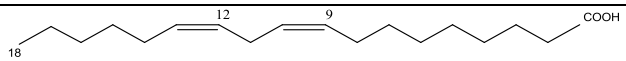
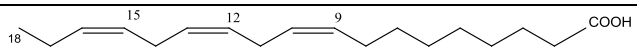
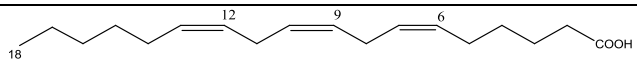
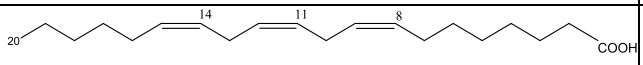
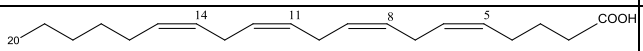
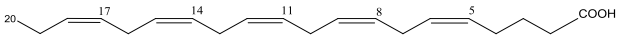
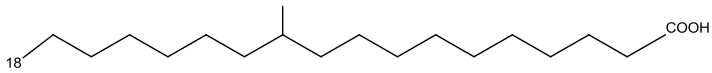


trans –kyselina olejová



cis –kyselina olejová

Obr. Cis a trans izoméria mastných kyselín

Nasýtené mastné kyseliny			
$C_{11}H_{23}COOH$	kyselina laurová		C_{12}
$C_{13}H_{27}COOH$	kyselina myristová		C_{14}
$C_{15}H_{31}COOH$	kyselina palmitová		C_{16}
$C_{17}H_{35}COOH$	kyselina stearová		C_{18}
$C_{19}H_{39}COOH$	kyselina arachidová		C_{20}
Nenasýtené mastné kyseliny			
$C_{15}H_{29}COOH$	kyselina palmitoolejová		$C_{16}(9)$
$C_{17}H_{33}COOH$	kyselina olejová		$C_{18}(9)$
Polynenasýtené a rozvetvené mastné kyseliny			
$C_{17}H_{31}COOH$	kyselina linolová		C_{18} (9, 12)
$C_{17}H_{29}COOH$	kyselina alfa linolénová		C_{18} (9, 12,15)
$C_{17}H_{29}COOH$	kyselina gama linolénová		$C_{18}(6, 9, 12)$
$C_{19}H_{33}COOH$	kyselina 8,11,14 - eikozatriénová		$C_{20}(8,11,14)$
$C_{19}H_{31}COOH$	kyselina arachidónová		$C_{20}(5,8,11,14)$
$C_{19}H_{29}COOH$	kyselina 5, 8, 11, 14 - eikozapentaénová		$C_{20}(5,8,11,14,17)$
Rozvetvené mastné kyseliny			
$C_{18}H_{33}COOH$	kyselina tuberkulostearová (v membráne bacilu tuberkulózy)		

Úloha: Hydrolýza neutrálnych lipidov katalyzovaná lipázou

Predpokladom využitia lipidov ako jednej z hlavných živín je ich absorpcia v tenkom čreve. Závisí to hlavne na dostatočnej emulgácii lipidov v trávenine a na funkcii pankreatickej lipázy.

Pankreatická lipáza (*triacyloylglycerollipáza*) katalyzuje za vhodných podmienok hydrolytické odštiepenie koncových (alfa) mastných kyselín z molekuly triacylglycerolu, takže výsledkom hydrolytického procesu sú hlavne 2-monoacylglyceroly a voľné mastné kyseliny, ktoré možno kvantitatívne stanoviť titráciou odmerným roztokom NaOH. Množstvo mastných kyselín za časovú jednotku je indexom katalytickej aktivity lipázy za daných podmienok.

Pracovné potreby

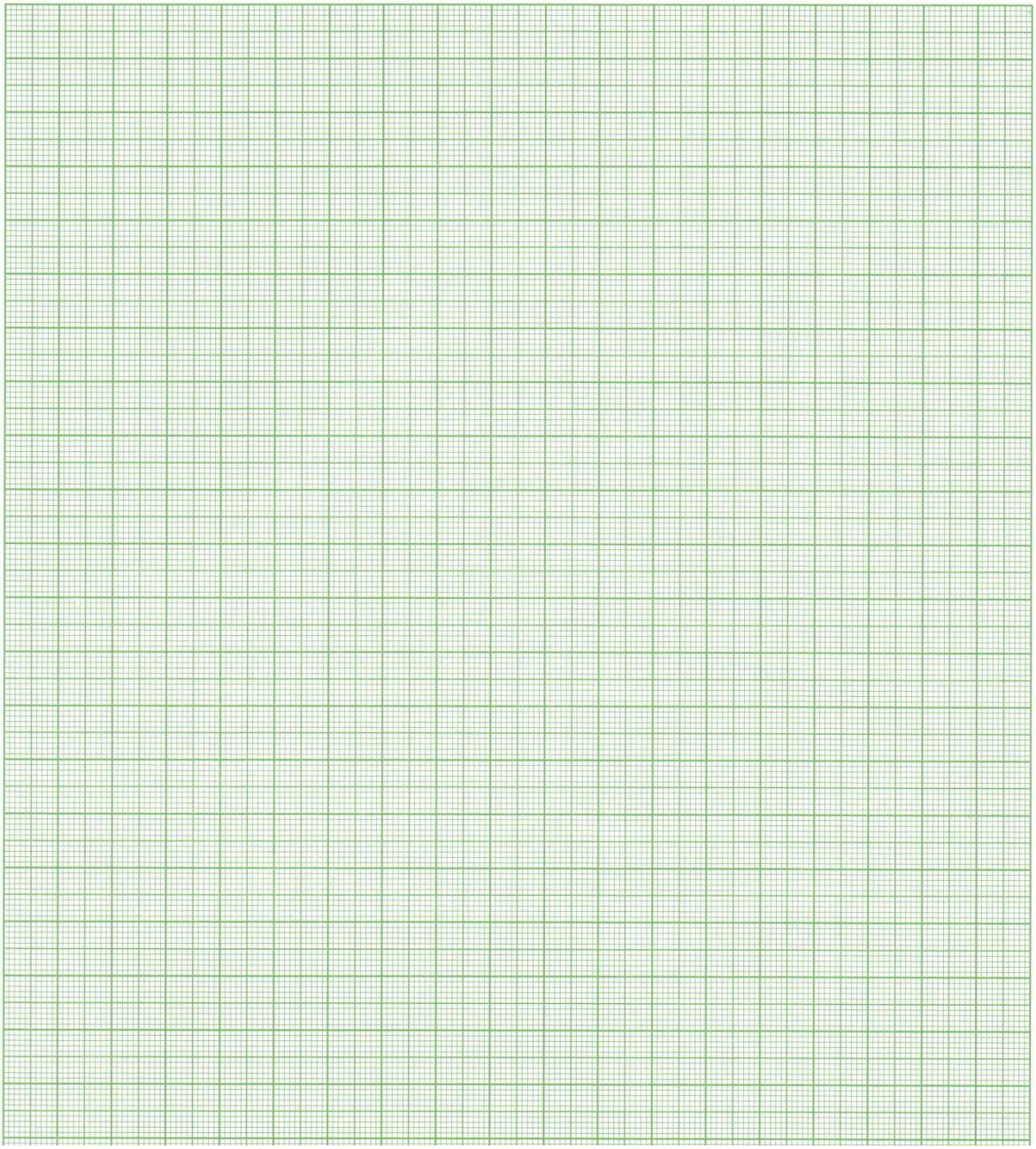
Erlenmayerove banky 100 ml, titračné banky, byrety, pipety, vodný kúpeľ (37 °C)
Prevarené plnotučné kravské mlieko, extrakt s obsahom pankreatickej lipázy, alebo Pancreolan (4 draže Pancreolanu sa v trecej miske zalejú teplou vodou a zmes sa mieša, až kým sa nerozpustí obal toboliek, použitá voda sa dekantuje. Keď je už viditeľné hnedé jadro toboliek, tieto sa rozpustia v 80 ml zmesi, pozostávajúcej z glycerolu a vody v pomere 1:1. Zmes sa sfiltruje a používa k úlohám). Odmerný roztok NaOH (c = 0,01 mol/l), roztok fenolftaleínu v konc. etanole (cca 2 g/l)

Pracovný postup

1. Do Erlenmayerovej banky pridajte 25 ml substrátu (plnotučné mlieko) a 3 ml extraktu s obsahom enzýmu *lipázy*
2. Zmes pomaly premiešajte.
3. Zo zmesi ihneď odoberte 5 ml do titračnej banky a zostatok umiestnite do vodného kúpeľa (37 °C inkubácia) a poznačte čas.
4. Do titračnej banky pridajte 1-2 kvapky fenolftaleínu.
5. Zmes premiešajte a titrujte odmerným roztokom NaOH až do prvého ružového zafarbenia a poznačte spotrebu NaOH.
6. Z inkubovanej zmesi potom každých 10 minút odoberte objem 5 ml a titrujte analogickým spôsobom.
7. Množstvo uvoľnených mastných kyselín v tzv. nultom bode a v jednotlivých intervaloch, vyjadrené príslušnou spotrebou odmerného roztoku NaOH, vyneste do grafu na zvislú os, kým na vodorovnú os vyneste čas trvania inkubácie v minútach.

Pozorovanie:

Čas inkubácie (min)	Spotreba NaOH (ml)
0	
10	
20	
30	
40	

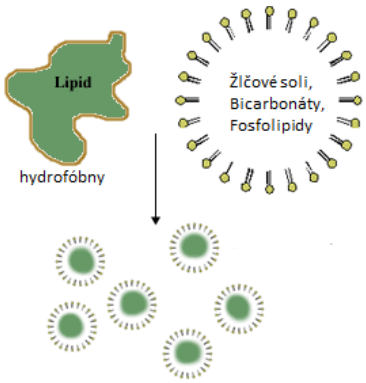


Záver:

Stanovenie aktivity (katalytickej koncentrácie) lipázy – je dôležité pri diferenciálnej diagnóze akutných pankreatitíd a má tiež význam prognostický. Zdôvodnite priebeh grafického záznamu.

Úloha : Rozpustnosť a emulgácia lipidov

Lipidy a lipoidy majú hydrofóbny charakter, a preto sú vo vode prakticky nerozpustné. Pri styku lipidov s vodou sa môžu vytvárať disperzné systémy - emulzie, ktoré sú nestabilné a po určitej dobe dôjde k ich oddeleniu. Malú stabilitu emulzií možno zvýšiť pridaním emulgátorov ako sú bielkoviny, hydroxidy, zásadito reagujúce soli alkalických kovov, mydlá a pod. Uvedené látky stabilizujú častice emulzie v dôsledku svojej schopnosti znižovať povrchové napätie v mieste styku dispergovaných častíc (typickým príkladom je mlieko). V organizme cicavcov túto úlohu plnia žlčové kyseliny, ktoré sú ako žlč secernované do dvanástorníka, kde emulzifikujú tuky a pripravujú ich na štiepenie enzýmami vo vodnom prostredí tráviaceho traktu.



Pracovné potreby
Skúmavky, pipety
Chloroform, etanol, tekutý tuk (potravinársky olej), vodný roztok KOH (1 %), vodný roztok Na_2CO_3, (10 g/l) vodný roztok detergentu (alebo mydlového prášku) (1 %), vodný roztok vajcového bielka (alebo albumínu)

Pracovný postup

1. Do dvoch suchých skúmaviek dajte po 5 kvapiek analyzovaného oleja a skúmavky označte číslami.
2. Do prvej skúmavky dajte 2 ml chloroformu a do druhej 2 ml etanolu.
3. Obsah skúmaviek opatrne pretrepte a po 5 minútach pozorujte, v ktorom rozpúšťadle sa daný tuk (olej) rozpúšťa lepšie.
4. Do ďalších troch suchých označených skúmaviek dajte 5 kvapiek analyzovaného oleja a po 3 ml vody a premiešajte.
5. Do prvej skúmavky dajte 5 kvapiek roztoku bielkoviny, do druhej 5 kvapiek roztoku KOH a do tretej 5 kvapiek tekutého detergentu.
6. Všetky skúmavky dajte na 3-5 minút do vriaceho vodného kúpeľa a potom ich po vychladnutí dobre pretrepte.
7. Pozorujte, v ktorej skúmavke sa vytvorila najhomogénnejšia a najstabilnejšia emulzia. (Vo vodnom roztoku k úplnej rozpustnosti nedochádza).

Pozorovanie:

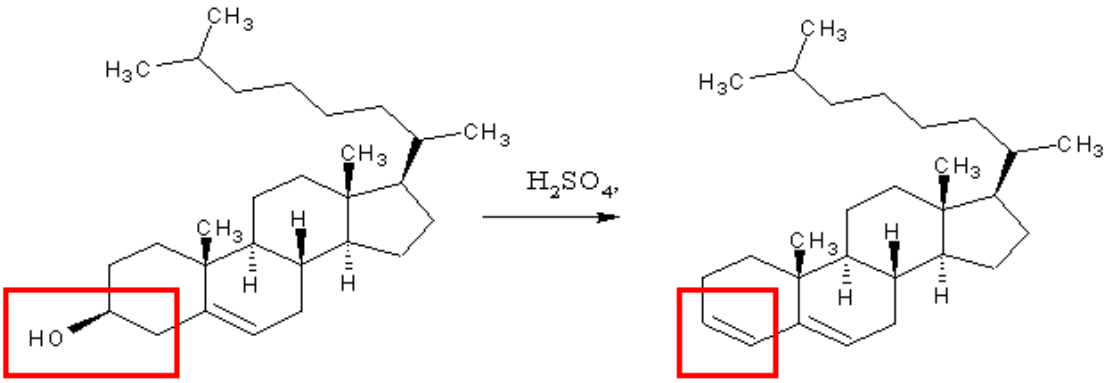
Záver:

Úloha: Dôkaz cholesterolu – Salkovského reakcia

Cholesterol patrí medzi najdôležitejšie steroly. Je súčasťou biologických membrán. Prevažná časť molekuly má výrazne nepolárny charakter. Rozpustnosť je vysoká iba v slabo polárnych rozpúšťadlách, v etanole sa rozpúšťa až po zahriati.

V krvi sa transportuje v podobe lipoproteínov. Poruchy metabolizmu a transportu cholesterolu podporujú vznik srdcovocievnych ochorení.

V bezvodom prostredí v prítomnosti koncentrovanej H_2SO_4 nastáva dehydrogenácia cholesterolu a pravdepodobne aj mnohé molekulové prešmyky, pričom vznikajú charakteristicky sfarbené, labilné červené, zelené až modré produkty.



Pracovné potreby
Hodinové sklíčka, 0,5 – 1 ml pipety
Chloroformový roztok cholesterolu, konc. H_2SO_4

Pracovný postup

1. Na suché hodinové sklíčko dajte kvapku chloroformového extraktu cholesterolu
2. Pridajte 1 kvapku konc. H_2SO_4.
3. Na dotykovej ploche vznikne ihneď žltočervené a potom červené zafarbenie.

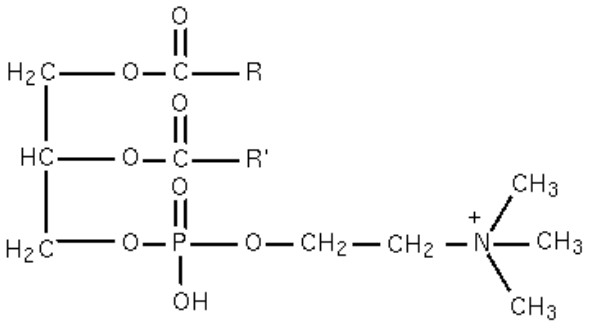
Pozorovanie:

Záver:

Úloha: Izolácia lecitínu z vaječného žĺtka

Hlavnou zložkou biologických membrán sú fosfolipidy. Ich hlavným znakom je fosfátový zvyšok, ktorý je esterifikovaný s hydroxylovou skupinou na C3 uhlíku glycerolu (Obr.) Medzi najvýznamnejšie fosfolipidy patrí lecitín. V molekule obsahuje bázickú zložku -cholín. Fosfolipidy je možné izolovať napr. z vaječného žĺtka (zásoba pre budúcu tvorbu biomembrán) extrakciou, resp. vytrepávaním organickými rozpúšťadlami (alkohol, éter a pod.).

Lecitín sa vyzráža z alkoholového extraktu za vzniku bielej zrazeniny kademnatej soli lecitínu.



Pracovné potreby
Skúmavky, filtračný papier, lievik, kadička
vaječný žĺtok, etanol (konc.), roztok $CdCl_2$ (c = 0,1 mol/l), roztok $(NH_4)_2$, MoO_4 (c = 0,01 mol/l)

Pracovný postup

1. Malé množstvo vaječného žĺtka (1/3 lyžičky) intenzívne rozmiešajte v kadičke lyžičkou.
2. Pridajte 5 ml etylalkoholu a opäť dobre premiešajte.
3. Po 20 minútach státia suspenziu prefiltrujte cez suchý filtračný papier (sediment premyte s niekoľkými ml alkoholu).
4. Filtrát rozdeľte na dve časti.
5. V jednej dokážte prítomnosť kyseliny fosforečnej (molybdénan amónny)
6. V druhej po pridaní 0,5 ml roztoku $CdCl_2$ vznikne **biela zrazenina** soli lecitínu s kadmiom.

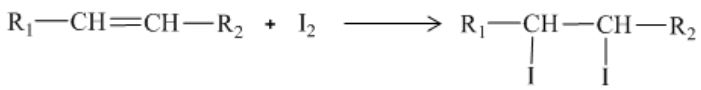
Pozorovanie:

Záver:

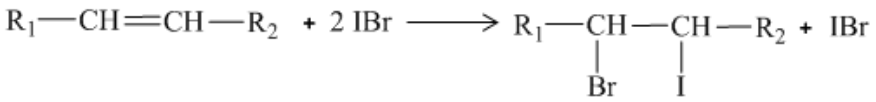
Úloha: Stanovenie jódového čísla tukov

Jódové číslo tukov a olejov udáva, koľko g jódu sa môže viazať na 100 g tuku. Z množstva viazaného jódu sa usudzuje počet dvojitých väzieb v tuku alebo oleji. Každý tuk má charakteristické jódové číslo, napr. kravské maslo 26-38, hovädzí loj 35-47, bravčová masť 47-60, husacia masť 65-70, olivový olej 78-90, atď.

Stanovenie jódového čísla (podľa Hanuša) je založené na adícii jódu na dvojité väzby nenasýtených mastných kyselín podľa schémy:



Je samozrejmé, že stanovením jódového čísla nemôžeme zistiť priamo nenasýtenú mastnú kyselinu, ale iba odhadnúť (ak nepoznáme molekulovú hmotnosť) počet dvojitých väzieb v skúmanom tuku. Pri samotnom stanovení sa namiesto jódu používa nadbytok bromidu jodného, pretože bróm rýchlejšie reaguje s dvojitými väzbami:



Nespotrebované množstvo bromidu jodného sa nechá reagovať s jodidom draselným:

$$IBr + KI \rightarrow KBr + I_2$$

Uvoľnené množstvo jódu sa titruje tiosíranom sodným za použitia škrobu ako indikátora:

$$I_2 + 2\ Na_2S_2O_3 \rightarrow 2\ NaI + Na_2S_2O_6$$

Adované množstvo brómu sa vyjadrí ekvivalentným látkovým množstvom jódu.

Pracovné potreby
250 ml banky so zabrúsenou zátkou, pipety 5 ml a 10 ml, byreta, striekačková fľaša s dest. vodou
Škrobový maz, chloroform alebo chlorid uhličitý, roztoky: bromid jodný (c = 0,1 mol/l), $Na_2S_2O_3$ (c = 0,1 mol/l), roztok KI (10 %)

Pracovný postup

1. Do 250 ml banky so zabrúsenou zátkou odvážte presne asi 0,5 g tuku (rastlinného oleja).
2. Pridajte 5 ml chloroformu alebo chloridu uhličitého, v ktorom sa tuk rozpustí.
3. Po rozpustení tuku pridajte do banky z byrety presne 15 ml bromidu jodného (0,1 mol/l).

4. Banku ihneď uzavrite zátkou (uniká bróm!), premiešajte a nechajte 15-30 min reagovať.
5. Zátku vyberte a opláchnite s 5-10 ml 10 %-ného roztoku KI do banky.
6. Zrieďte destilovanou vodou asi na 50 ml,
7. Premiešajte a okamžite titrujte s 0,1 mol/l $Na_2S_2O_3$ na škrobový maz až do odfarbenia roztoku.
8. Paralelne titrujte porovnávaciu vzorku s používanými roztokmi (bez tuku). Táto titrácia udáva celkové množstvo pridaného brómu.

Výpočet:

Rozdiel spotreby (a) pri titrácii porovnávacej vzorky (zodpovedá celkovému množstvu brómu v roztoku bromidu jodného) mínus spotreba (b) pri titrácii analyzovanej vzorky tuku (zodpovedá celkovému množstvu brómu mínus množstvo brómu viazaného na dvojité väzby), je mierou počtu prítomných dvojitých väzieb v analyzovanom tuku. Výsledok sa prepočíta podľa definície jódového čísla na 100 g tuku, pričom 1 ml odmerného roztoku tiosíranu sodného o koncentrácii 0,1 mol/l zodpovedá 0,01269 g jódu (A_r (I) = 126,9).

$$\text{jódové číslo} = 100 \,.\, c_{Na2S2O3} \,.\, (V_1 - V_2) \,.\, 0{,}1269 \,/\, m_v$$

Pozorovanie:

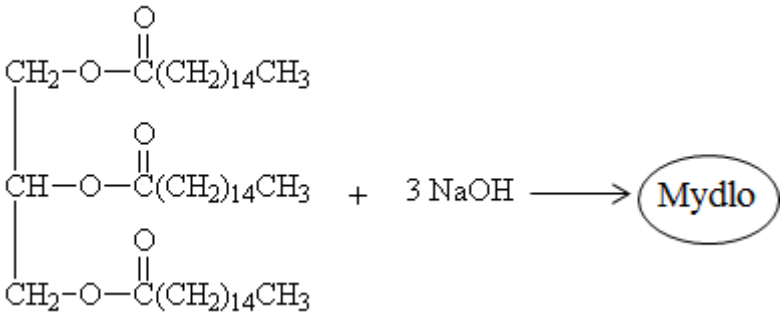
Vzorka	Jódové číslo	Počet dvojitých väzieb
Bravčová masť	45-70	0
Olivový olej	78-90	
Slnečnicový olej	110-143	
Podzemnicový olej	80-106	
Sójový olej	120-143	
Kyselina olejová	89,9	1
Kyselina linolová	181,0	2
Kyselina linolénová	273,5	3
Neznáma vzorka		

Záver:

Z vypočítaného jódového čísla tuku (oleja) skúste odhadnúť počet dvojitých väzieb skúmaného tuku (oleja).

Úloha: Zmydelňovanie tukov - príprava mydla

Mydlá sa pripravujú hydrolýzou triacylglycerolov v prítomnosti silnej bázy, ako napr. hydroxid sódny (NaOH) alebo hydroxid draselný (KOH) za vzniku glycerolu a príslušných solí mastných kyselín, mydiel. Reakcia, prípravy mydla sa nazýva saponifikácia.



Pracovné potreby
Odparovacia miska, pipety, sklenená tyčinka
Rastlinný olej, etanol, roztok NaOH (50 %)

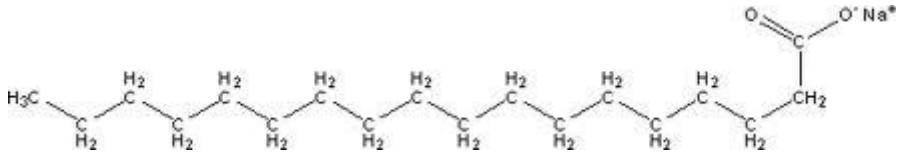
Pracovný postup
1. V odparovacej miske zmiešajte 2 ml rastlinného oleja a 3 ml etanolu (rozpúšťadlo).
2. Pridajte 20 kvapiek 50 % roztoku NaOH (opatrne!).
3. Misku mierne ohrievajte na sieťke za stáleho miešania, dokiaľ neobdržíte pastovitú hmotu. **Nepripáľte!**
4. Misku nechajte vychladnúť.

Pozorovanie:
Zapíšte svoje pozorovania a reakciu zmydelnenia

Záver:

Úloha: Vlastnosti pripraveného mydla

Mydlo je z chemického hľadiska soľ (alebo zmes solí) mastných kyselín. Mydlá sú amfipatické látky, t.j v molekule obsahujú hydrofóbnu časť aj hydrofilnú časť. Draselné soli sú mazľavé mydlá, kým sódne soli sú tuhé.



Pracovné potreby
Banka (150 ml), kadička (100 ml), sklenená tyčinka, lyžička
Tuhý NaCl, HCl (c = 6 mol/l), roztok $CaCl_2$ (c = 0,2 mol/l), pH-papieriky, syntetický detergent (Jar, Pur a pod.)

Pracovný postup
1. Pripravené mydlo preložte do kadičky obsahujúcej 50 ml destilovanej vody.
2. Miešajte a zahrievajte zmes počas 5 minút až do rozpustenia.
3. Roztok mydla potom nechajte vychladnúť a použite ho pri ďalších experimentoch.

Vysoľovanie mydla

Mydlo vypadne z roztoku po pridaní NaCl. Vedľajšie reakčné produkty zmydelnenia sú rozpustnejšie v roztoku soli a zostanú vo vodnej fáze, kým mydlo z roztoku vypadne.

1. Odlejte 10 ml mydlového rotoku do 50 ml kadičky a pridávajte pevný NaCl po častiach pri súčasnom pomalom miešaní, dokiaľ sa ešte rozpúšťa (malé množstvo NaCl môže zostať na dne kadičky). Zapíšte svoje pozorovania.
2. Odoberte mydlo plávajúce na hladine roztoku pomocou lyžičky a jemne opláchnite v kadičke s vodou. Preneste ho do skúmavky s destilovanou vodou a miešajte, aby sa tvorili mydliny. Zapíšte priebeh procesu a zmerajte pH.

Tvorba mastných kyselín

1. Do skúmavky preneste 5 ml roztoku mydla a pridávajte pomaly 4 kvapky HCl (c = 6 mol/l), dokiaľ sa nevytvorí zrazenina.
2. Zlejte vodnú vrstvu a zrazeninu preneste na filtračný papier. Vysvetlite proces.

Tvorba mydlovej zrazeniny (žmolkov)

K 5 ml mydlového roztoku v skúmavke pridajte 10 kvapiek roztoku $CaCl_2$. Popíšte a vysvetlite pozorovanie.

pH roztoku mydla: Zmerajte hodnotu pH mydlového roztoku pomocou pH-papierika. Zapíšte a vysvetlite.

Urobte analogické experimenty ako v predošlom, len namiesto mydlového roztoku použite roztok bežného laboratórneho detergentu (Jar, Pur ...). Vysvetlite výrazné rozdiely vo výsledkoch na základe chemickej štruktúry syntetických detergentov.

Pozorovanie:

Záver:

Kontrolné otázky:

1. Napíšte reakciu glycerolu a 3 molekúl kyseliny laurovej

2. Aká je biologická funkcia nasledujúcich skupín lipidov?
   A. Triacylglyceroly
   B. Žlčové kyseliny
   C. Eikozanoidy
   D.Sfingoglykolipidy

3. Vysvetlite rozdiel medzi mastnými kyselinami: SFA, MUFA, PUFA?

4. Napíšte produkty a enzým potrebný na hydrolýzu:
   a, triacylglycerolov
   b, cholesterol

5. Napíšte reakciu prípravy mydla. Vysvetlite čo je po chemickej stránke mydlo?

6. Uveďte fyzikálne vlastnosti, ktoré odlišujú tuky od olejov

7. Vymenujte esenciálne mastné kyseliny a uveďte hlavný zdroj týchto kyselín

8. Uveďte príklady nasýtených a nenasýtených mastných kyselín. Sú triacylglyceroly pochádzajúce z rastlín (resp. živočíchov) nasýtené alebo nenasýtené?

9. Čo sú to micely? Vysvetlite princíp vzniku micel.

10. Prítomnosť dvojitej väzby výrazne ovplyvňuje rozpustnosť lipidov. Ako a prečo?

Aminokyseliny

Obsah

Stanovenie celkového obsahu aminokyselín..... 4
Reakcia aminokyselín s ninhydrínom..... 5
Dôkaz jednotlivých aminokyselín..... 7
Dôkaz peptidovej väzby – biuretová reakcia..... 11
Kontrolné otázky..... 12

Zdrojom aminokyselín pre organizmus sú bielkoviny. V organizme sa bielkoviny neustále odburávajú a znovu syntetizujú. Aminokyseliny sú preto základnými stavebnými zložkami, ale aj produktami degradácie bielkovín a peptidov.

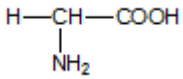
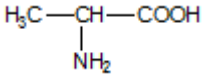
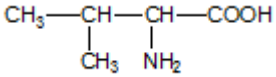
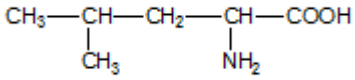
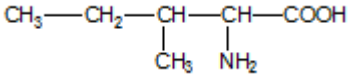
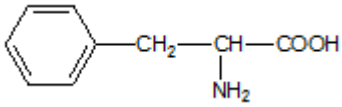
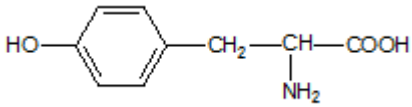
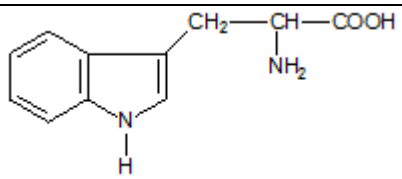
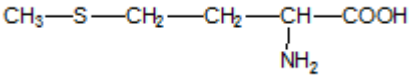
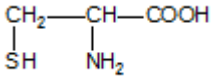
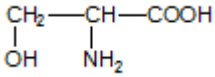
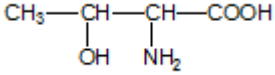
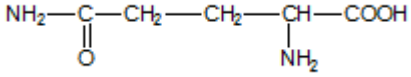
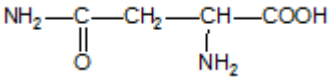
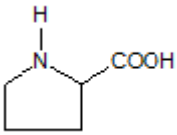
Obrazom ich dynamiky v organizme je ich obsah v krvnej plazme a v moči. Koncentrácia v krvi sa pohybuje v rozmedzí 2,4 - 4 mmol/l. Močom sa za 24 hodín vylučuje asi 1,0 g voľných aminokyselín. Toto množstvo zodpovedá 140 mg dusíka.

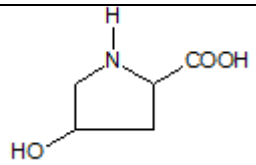
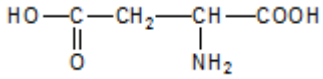
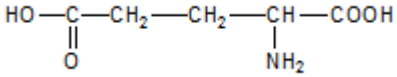
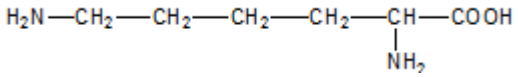
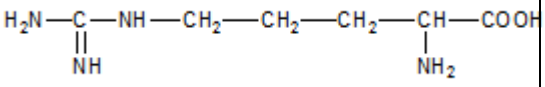
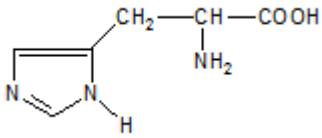
Zvýšený výskyt voľných aminokyselín v krvi (hyperaminoacidémia) a ich zvýšené vylučovanie močom (hyperaminoacidúria) pozorujeme pri niektorých vrodených (genetických) poruchách metabolizmu aminokyselín (alkaptonúria, cystínúria, tyrozinóza a pod.) ako aj pri získaných ochoreniach (ťažké lézie pečeňového parenchýmu, ochorenia obličiek a pod.).

Aminokyseliny sú z chemického hľadiska alifatické, aromatické alebo heterocyklické karboxylové kyseliny, ktoré majú na C-2 (α-) uhlíku naviazanú aminoskupinu. Tieto polárne, opačne nabité funkčné skupiny podmieňujú amfolytický charakter aminokyselín. Jednotlivé aminokyseliny sa odlišujú chemickou štruktúrou bočného reťazca R.

Reakcie aminokyselín môžeme rozdeliť do 2 skupín:

1. Reakcie funkčných skupín - založené na prítomnosti aminoskupiny alebo karboxylovej skupiny. Tieto reakcie sú spoločné pre všetky aminokyseliny a využívajú sa na **stanovenie celkového obsahu aminokyselín** (13.1.)
2. Reakcie charakteristických skupín bočného reťazca - špecifické reakcie, ktoré sa využívajú na **dôkaz jednotlivých aminokyselín** (13.2.)

Aminokyselina	Vzorec	Skratka	Skratka
	NEUTRÁLNE		
Glycín		Gly	G
Alanín		Ala	A
Valín		Val	V
Leucín		Leu	L
Izoleucin		Ile	I
Fenylalanín		Phe	F
Tyrozín		Tyr	Y
Tryptofán		Trp	W
Metionín		Met	M
Cysteín		Cys	C
Serín		Ser	S
Treonín		Thr	T
Glutamín		Gln	Q
Asparagín		Asn	N
Prolín		Pro	P

Aminokyselina	Vzorec	Skratka	Skratka
4-hydroxyprolín		OH-Pro	
	KYSLÉ		
Kyselina asparágová		Asp	D
Kyselina glutámová		Glu	E
	ZÁSADITÉ		
Lyzín		Lys	K
Arginín		Arg	R
Histidín		His	H

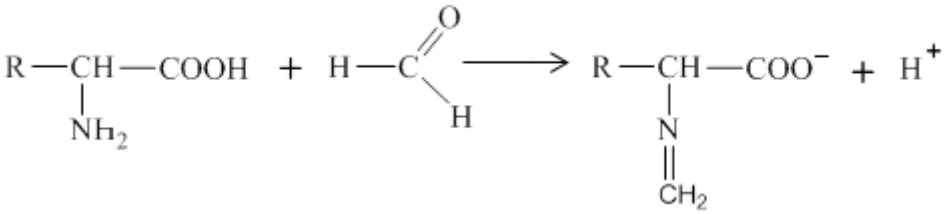
Úloha: Stanovenie celkového obsahu aminokyselín

Prítomnosť karboxylovej skupiny sa využíva na stanovenie aminokyselín alkalimetrickou titráciou.

Primárna α-aminoskupina reaguje s ninhydrínom za vzniku modrého sfarbenia. Reakcia je vhodná tak na dôkaz prítomnosti aminokyselín, ako aj na stanovenie celkového obsahu aminokyselín fotometricky.. S niektorými činidlami (o-ftalaldehyd, fluoreskamín) reaguje α-aminoskupina za vzniku intenzívneho fluorescenčného produktu.

Stanovenie aminokyselín formolovou titráciou podľa Sörensena

Aminokyseliny sa stanovia alkalimetrickou titráciou. Amfotérny charakter aminokyselín neumožňuje priamu titráciu, preto sa musí najprv chemicky zablokovať aminoskupina. Na tento účel sa používa formaldehyd, ktorý reaguje s $-NH_2$ skupinou aminokyseliny za vzniku Schiffovej bázy. Tým ostane voľná len karboxylová skupina, zvýši sa kyslosť produktu, čo umožní titračné stanovenie hydroxidom sodným.



Pracovné potreby
Pipety, byreta, titračné banky
Formaldehyd, roztok NaOH (c = 0,1 mol/l), fenolftaleín (indikátor), destilovaná voda

Pracovný postup

1. Do titračnej banky napipetujte 5 ml vzorky obsahujúcej aminokyseliny
2. Pridajte 2-3 kvapky fenolftaleínu.
3. Pridajte 10 ml H_2O a 5 ml formaldehydu, premiešajte.
4. Do inej titračnej banky napipetujte 15 ml H_2O, 2-3 kvapky fenolftaleínu a 5 ml formaldehydu, premiešajte (porovnávacia vzorka).
5. Po 10 minútach obsah oboch baniek titrujte odmerným roztokom NaOH (c = 0,1 mol/l) až do trvalého ružového zafarbenia.

Pozorovanie:

Titračná banka	Spotreba NaOH (ml)
1	
2 (porovnávacia)	

Výpočet:
Dusík aminokyseliny (N) v mg/l sa vypočíta podľa vzťahu:

$$N = 1{,}4\ (a - b)\ .\ 100$$

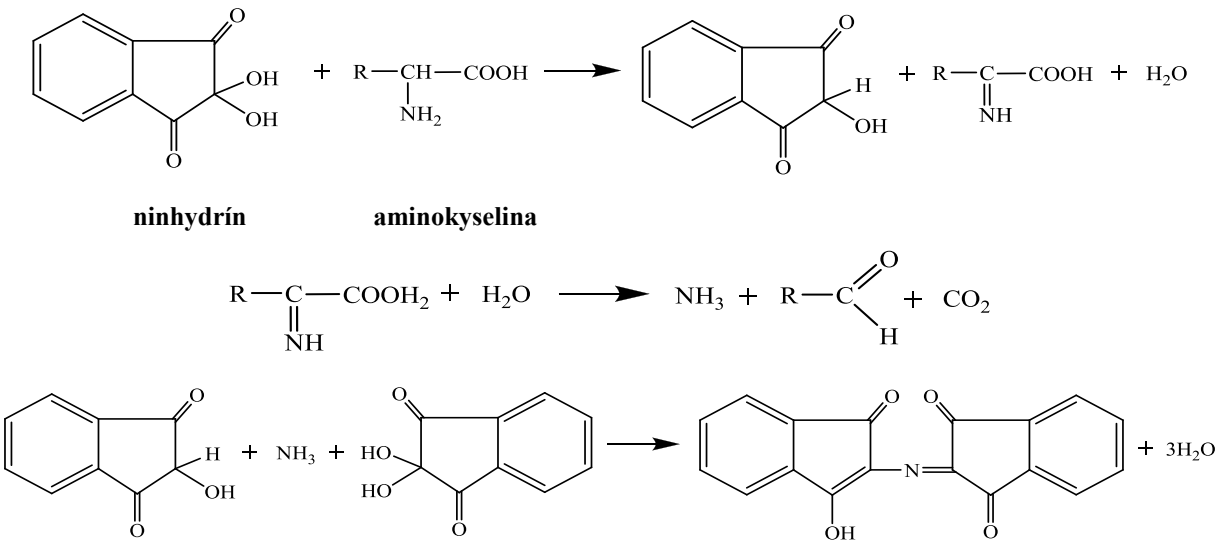
a je spotreba NaOH (c = 0,1 mol/l) v ml na vzorku
b je spotreba NaOH (c = 0,1 mol/l) v ml na porovnávaciu vzorku

Záver:

Úloha: Reakcia aminokyselín s ninhydrínom

Ninhydrínová reakcia je najrozšírenejšou reakciou v analytike aminokyselín. Využíva sa na dôkaz, stanovenie a detekciu aminokyselín, napr. po chromatografickom delení.

Ninhydrín za zvýšenej teploty rýchlo oxidačne deaminuje aminokyselinu, uvoľňuje sa CO_2, vzniká aldehyd a amoniak. Redukovaný ninhydrín viaže oxidáciou uvoľnený amoniak a reakciou s ďalšou molekulou ninhydrínu vzniká modro sfarbený produkt.



Pracovné potreby
Skúmavky, pipety, filtračný papier, vodný kúpeľ, fotometer, lievik
Fosforečnanový tlmivý roztok pH 7,2, 1 % roztok komplexónu III, roztok ninhydrínu, 96 % etanol, vzorka (napr. sliny)

Pracovný postup

a) Dôkaz aminokyselín

1. Do jednej skúmavky pipetujte 0,3 ml vzorky
2. Do druhej 0,3 ml destilovanej vody (porovnávací pokus).
3. Do obidvoch skúmaviek pridajte 1 ml tlmivého roztoku pH = 7,2 a 0,3 ml ninhydrínového činidla.
4. Skúmavky zohrievajte presne 7 minút na vriacom vodnom kúpeli, potom ihneď ochlaďte studenou vodou. Obsah skúmaviek bude zafarbený na modrofialovo až modro (prolín a hydroxyprolín dáva žlté zafarbenie).

b) Stanovenie aminokyselín

Farebný produkt, ktorý je výsledkom ninhydrínovej dôkazovej reakcie, je vhodný aj na spektrofotometrické stanovenie.

1. Do každej skúmavky [z úlohy a)] pridajte 0,1 ml komplexónu III
2. Premiešajte a pridajte 2 ml 96 % etanolu. Ak je roztok zakalený, prefiltrujte alebo ho scentrifugujte.
3. Zmerajte absorbanciu vzorky oproti porovnávaciemu pokusu pri vlnovej dĺžke 570 nm.
4. Obsah aminokyselín odčítajte z kalibračného grafu (kalibračný graf sa robí na alanín

[0- 20 μg/ml]).

Pozorovanie:

Titračná banka	Absorbancia/570 nm	Obsah aminokyselín
1		
2 (porovnávacia)	-	-

c) Detekcia aminokyselín po chromatografickom delení

Ninhydrínová reakcia sa používa aj na detekciu aminokyselín po chromatografickom delení na papieri, tenkej vrstve, ale aj pri analýze aminokyselinového zloženia automatickými analyzátormi.

Pozorovanie:

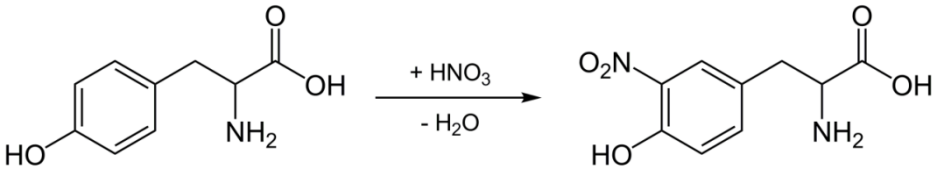
Záver:

Úloha: Dôkaz jednotlivých aminokyselín

Na dôkaz jednotlivých aminokyselín sa využíva chemická štruktúra charakteristických skupín bočného reťazca (aromatické jadro, síra a pod.), ktoré dávajú špecifické reakcie.

Xantoproteínová reakcia

Nitráciou aromatických aminokyselin vznikajú žlto zafarbené nitroderiváty.



Pracovné potreby
Skúmavka, držiak na skúmavky, plynový kahan, pipeta
Konc. HNO_3, 0,1 % roztok aminokyseliny (tyrozínu), roztok vaječného bielka, 1 % roztok želatíny, bielkovinový hydrolyzát, roztok alanínu

Pracovný postup
1. K 1 ml vzorky v skúmavke pridajte 0,5 ml konc. HNO_3.
2. Skúmavku opatrne zahrejte. Roztok sa zafarbí na žlto (došlo k nitrácii aromatických aminokyselín).

Ako vzorku použite postupne roztok tyrozínu, roztok vaječného bielka, želatíny a alanínu.
Vysvetlite rozdiely.

Pozorovanie:

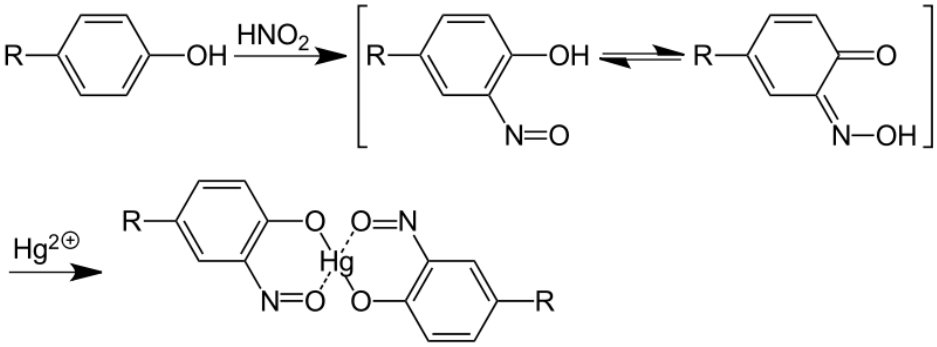
Vzorka	Sfarbenie
Tyrozín	
Vaječný bielok	
Želatina	
Alanín	

Záver:

Ak sa na reakciu použije bielkovina, vznikne najprv zrazenina, ktorá sa zahrievaním rozpúšťa. Touto reakciou je možné dokázať prítomnosť tyrozínu, fenylalanínu, tryptofánu (názov reakcie: gr. xanthós = žltý).

Millonova reakcia

Tyrozín pôsobením HNO_3 a zlúčenín ortuti tvorí červenú ortuťnatú soľ.



Pracovné potreby
Skúmavka, držiak na skúmavky, plynový kahan
Millonova reagencia (100 g zmesi $HgNO_3$ a $Hg(NO_3)_2$, 145 ml konc. HNO_3, 290 ml H_2O)

Pracovný postup

1. Do skúmavky nalejte 1 ml vzorky obsahujúcej tyrozín
2. Pridajte 2-3 kvapky Millonovej reagencie. (Ak sa použije bielkovina, vznikne najprv biela zrazenina.)
3. Skúmavku opatrne zahrejte. Biela farba sa zmení na tehlovočervenú.

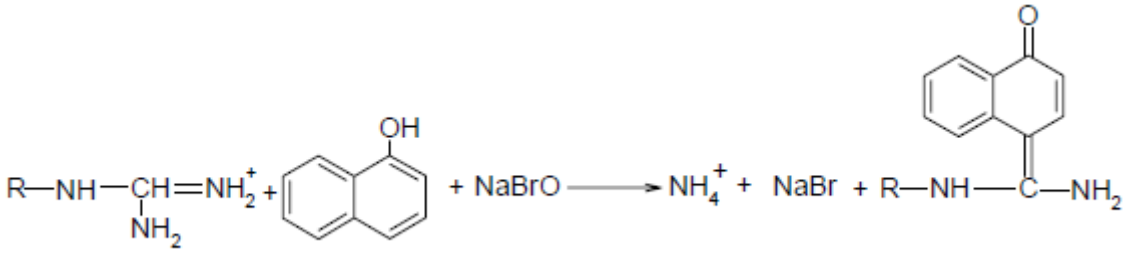
Pozorovanie:

Záver:

Reakcia je charakteristická pre fenoly a ich deriváty. Pri nadbytku Millonovho činidla prebieha xantoproteínová reakcia (vzniká žltý produkt).

Sakaguchiho reakcia

Arginín reaguje v zásaditom prostredí s brómnanom a α-naftolom za vzniku červeného oxidačného kondenzačného produktu.



Pracovné potreby
Skúmavky, pipeta
Roztok arginínu 0,1 %, brómnan sodný (300 g NaOH rozpustíme v 1 ℓ H_2O a pridáme 16 ml brómu. Vznikne bledožltý roztok.), 0,02 % roztok α-naftolu v etanole.

Pracovný postup
1. Do skúmavky nalejte 1 ml vzorky.
2. Pridajte 0,5 ml alkoholového roztoku α-naftolu a 7 kvapiek roztoku NaBrO.
3. Malinovočervené sfarbenie je dôkazom arginínu.

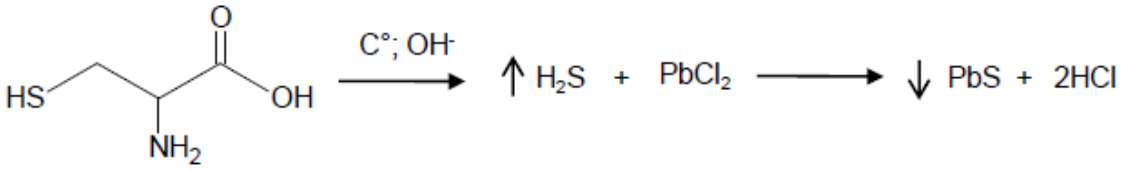
Pozorovanie:

Záver:
Reakcia je charakteristická pre guanidínové deriváty.

Reakcia na dôkaz aminokyselín obsahujúcich síru

Väčšina bielkovín obsahuje vo svojej molekule sírne aminokyseliny - cystín a cysteín. Cysteín obsahuje atóm síry vo forme tiolovej skupiny, ktorá sa nachádza na poslednom uhlíku. Preto má cysteín nukleofilné vlastnosti a je najvhodnejšou aminokyselinou pre väzbu kovových iónov. Táto vlastnosť bola v minulosti využívaná pri podávaní cysteínu ako lieku pri otrave ťažkými kovmi.

Aminokyseliny cystín a cysteín pôsobením hydroxidu ľahko odštiepujú síru vo forme sulfánu, ktorý s olovnatou soľou vytvára čiernu zrazeninu sulfidu olovnatého.



Pracovné potreby
Skúmavky
0,5 % roztok octanu olovnatého, 20 % roztok hydroxidu sodného, nezriedený vaječný bielok

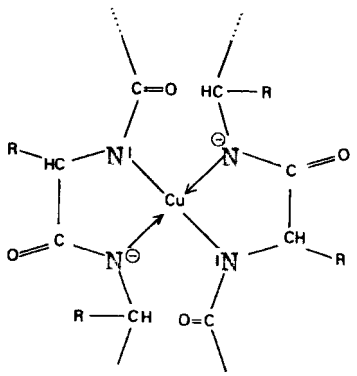
Pracovný postup
1. Do skúmavky napipetujte 1 ml roztoku octanu olovnatého
2. Pridávajte roztok hydroxidu sodného dovtedy, kým sa vzniknutá zrazenina hydroxidu olovnatého nerozpustí.
3. Pridajte niekoľko kvapiek bielkoviny
4. Zmes opatrne zahrievajte. Roztok postupne tmavne.

Pozorovanie:

Záver:

Dôkaz peptidovej väzby - biuretová reakcia

Zlúčeniny, ktoré vo svojej molekule obsahujú peptidovú väzbu -CO-NH-, vytvárajú v alkalickom prostredí s katiónom Cu^{2+} fialovo sfarbený chelát.



Pracovné potreby
Skúmavka, pipeta
20 % roztok NaOH, 1 % roztok $CuSO_4 . 5 H_2O$, roztok bielkovín

Pracovný postup

1. Napipetujte 1 ml roztoku bielkoviny (peptidu)
2. Pridajte 1 ml roztoku NaOH
3. Po kvapkách pridajte roztok $CuSO_4 . 5 H_2O$.
4. Vznikne fialovo sfarbený chelát.

Pozorovanie:

Záver:
Pozitívna biuretová reakcia je dôkazom prítomnosti peptidovej väzby v zlúčenine.

Kontrolné otázky:

1. Napíšte štruktúru serínu
   a) v kyslom prostredí pri pH nižšom ako je izoelektrický bod
   b) v zásaditom prostredí pri pH vyššom ako je izoelektrický bod

2. Napíšte štruktúru leucínu
   a, v kyslom prostredí pri pH nižšom ako je izoelektrický bod
   b, v zásaditom prostredí pri pH vyššom ako je izoelektrický bod

AMK nepolárne	**pI**	**AMK polárne**	**pI**	**AMK s nábojom**	**pI**
Alanín	6,03	Glycín	5,97	Lyzín	9,74
Valín	5,97	Asparagín	5,41	Histidín	7,58
Leucín	5,98	Glutamín	5,65	Arginín	10,76
Izoleucín	6,02	Tyrozín	5,65	Kys.asparágová	2,87
Fenylalanín	5,98	Cysteín	5,02	Kys. glutámová	3,22
Tryptofán	5,88	Serín	5,68		
Metionín	5,75	Treonín	6,53		
Prolín	6,10				

3. Napíšte a pomenujte produkt vytvorený aminokyselinami:
   a, glycín a alaníne
   b, alanín a glycín
   c, Alanin, glycín a valín

4. Napíšte 3 biologicky významné polypeptidy a ich funkciu

5. Vypočítajte pH roztoku glycínu, v ktorom α-NH^{3+} skupina je disociovaná na 1/3 ak pK_A pre α-NH3 skupinu je 9,6

6. Vypočítajte pH roztoku glutámovej kyseliny, v ktorom je jej γ-COOH skupina na 2/3 disociovaná. pKA pre γ-COOH je 2,2

7. Aspartám je..... a skladá sa z 2 aminokyselín.....a..... Vysvetlite čo sa stane ak aspartám vo väčšom množstve požijú ľudia s fenylketonúriou.

8. Prečo je cysteín (na rozdiel od ostatných aminokyselín) zriedkavo využívaný ako pufer?

9. Uveďte aminokyselinové zloženie glutatiónu. Aká je jeho funkcia v organizme?

10. Napíšte vzťah pre výpočet pI

Proteíny (bielkoviny)

Obsah

Reverzibilné zrážanie proteínov..... 2
Ireverzibilné zrážanie proteínov..... 3
Hydrolytické štiepenie proteínov..... 5
Stanovenie koncentrácie bielkovín biuretovou metódou..... 6
Kontrolne otázky..... 8

Proteíny patria medzi základné stavebné a funkčné zložky živých systémov. Kým proteíny so stavebnou úlohou sú vo vode nerozpustné, bielkoviny funkčné sú vo vodných roztokoch väčšinou rozpustné.

Rozpustné bielkoviny, ako makromolekulové látky, vytvárajú koloidné roztoky. Koloidná disperzia bielkovín sa v roztoku stabilizuje vzájomným odpudzovaním súhlasne nabitých častíc a najmä hydratačným obalom. Ak sa hydratačný obal poruší napr. vysokou iónovou silou prostredia, zníži sa rozpustnosť proteínov (vysoľovanie). Rovnako pridaním nižšieho alkoholu alebo acetónu dochádza k odstráneniu hydratačného obalu a následnému zhlukovaniu makromolekúl a ich vylúčeniu z roztoku vo forme zrazeniny. Dej je vratný najmä pri nižších teplotách. Zriedením vodou, alebo odstránením solí dialýzou sa vyzrážané proteíny znova rozpustia.

Aj hodnota pH prostredia silne ovplyvňuje rozpustnosť proteínov. Najmenšiu rozpustnosť majú proteíny v izoelektrickom bode.

Proteín	**pI**	**Proteín**	**pI**
Pepsín	<1,0	Kolagén	6,6
Ovalbumín	4,6	Myoglobín	7,0
Albumín	4,0	Hemoglobín	7,1
Tropomyozín	5,1	Ribonukleáza	7,8
Inzulín	5,4	Cytochróm c	10,6
Fibrinogén	5,8	Histón	10,8
γ-globulín	6,6	Lyzozým	11,0

Úloha: Reverzibilné zrážanie proteínov

Ak proteíny strácajú elektrický náboj a hydratačný obal – agregujú a vylúčia sa z roztoku vo forme precipitátu (zrazeniny). Tento vratný dej sa využíva na izoláciu bielkovín zo zmesí. Vhodnou kombináciou koncentrácie solí a organických rozpúšťadiel sa dá dosiahnúť selektívnosť zrážania jednotlivých proteínových zložiek zmesi (Cohnova metóda frakcionácie proteínov krvnej plazmy etanolom).

Na reverzibilné zrážanie sa používajú soli alkalických kovov a alkalických zemín (NaCl, Na_2SO_4, $MgSO_4$), ale najčastejšie síran amónny $(NH_4)_2SO_4$. Globulíny precipitujú už pri polovičnom nasýtení roztoku, iné napr. albumín až pri úplnom nasýtení roztoku síranom amónnym.

Pracovné potreby
Skúmavky, pipety
Roztok vaječného bielka (1 – 2 vaječné bielka sa premiešajú s 1 ℓ fyziologického roztoku), tuhý NaCl, tuhý síran amónny, etanol, acetón

Pracovný postup

Vysoľovanie proteínov pomocou NaCl alebo $(NH_4)_2SO_4$.

1. Napipetujte 1 ml roztoku proteínov
2. Postupne pridávajte tuhý, jemne rozotretý NaCl až do úplného nasýtenia roztoku. Bielkoviny sa vyzrážajú.
3. Analogicky vyzrážajte bielkoviny prídavkom tuhého $(NH_4)_2SO_4$.

Zrážanie proteínov etanolom a acetónom.

1. Napipetujte 1 ml roztoku proteínov
2. K roztoku proteínov pridajte malé množstvo tuhého NaCl a skúmavku premiešajte.
3. Pridajte po častiach a za premiešavania niekoľkonásobný objem etanolu.
4. Vzniká zákal a po chvíli i vločky vyzrážaných proteínov.
5. Zrazenina sa rozpustí, ak sa k nej pridá voda.
6. Analogicky vyzrážajte bielkoviny acetónom.

(Organické rozpúšťadlá môžu u niektorých proteínov vyvolať aj čiastočnú denaturáciu).

Pozorovanie:

Záver:

Úloha: Ireverzibilné (denaturačné) zrážanie proteínov

Soli ťažkých kovov (Pb^{2+}, Hg^{2+}, Cu^{2+}, Ag^{+}) zrážajú proteíny mechanizmom priamej väzby ťažkého kovu najmä na voľné – SH skupiny molekuly proteínov. Môže nastať aj tvorba komplexných , ale najmä tým, že s nimi vytvárajú nerozpustné soli. Zrážanie sa tu spája s ireverzibilnou denaturáciou proteínov.

Organické kyseliny zrážajú podobným mechanizmom. V lekárskej praxi sa napr. zrážanie kyselinou sulfosalicylovou používa na dôkaz proteínov v moči a kyselina trichlóroctová sa využíva na deproteináciu (odstránenie bielkovín) biologického materiálu, napr. krvného séra.

Vyššia teplota – fyzikálny vplyv, ktorý vedie k rozrušeniu vodíkových mostíkov proteínovej molekuly a následnému rozvinutiu polypeptidového reťazca, čo znižuje rozpustnosť proteínu. Takto sa zrážajú takmer všetky bielkoviny. Niektoré z nich sú termolabilné a zrážajú sa už pri teplotách 45 – 50 °C. Iné sa zrážajú po krátkodobom alebo dlhšom povarení. Niektoré bielkoviny nájdené v mikroorganizmoch izolovaných z termálnych prameňov znesú teploty aj 90 °C. Varom sa bielkoviny denaturujú a stávajú sa nerozpustnými (najmä pri izoelektrickom bode v okolí pH 5, ku ktorému sa priblížime okyslením roztoku bielkoviny). V silne kyslých a silne zásaditých roztokoch sú molekuly bielkovín viac disociované, a preto stabilnejšie a varom sa nezrážajú.

Pracovné potreby

Skúmavky, sklenené pipety, automatické pipety

Roztok octanu olovnatého (5 g/l), roztok síranu meďnatého (5g/l), koncentrovaná HNO_3), roztok kyseliny trichlóroctovej (30 g/l), roztok kyseliny sulfosalicylovej 200g/l, roztok kyseliny octovej (10 g/l), roztok hydroxidu sodného (100 g/l), roztok vaječného bielka (z predchádzajúcej úlohy)

Pracovný postup

Zrážanie proteínov soľami ťažkých kovov

1. Do dvoch skúmaviek dajte po 1 ml roztoku bielkoviny.
2. Do jednej z nich pridávajte po kvapkách roztok $(CH_3COO)_2Pb$
3. Do druhej pridávajte roztok $CuSO_4$. Vznikajú zrazeniny bielkovín.

Ak pridáte roztoky týchto solí v nadbytku, zrazeniny sa rozpustia (prečo?).

Zrážanie proteínov minerálnymi kyselinami

1. Do skúmavky napipetujte 1 ml koncentrovanej HNO_3.
2. Opatrne pipetou pridávajte asi 1ml roztoku bielkoviny.
3. Na rozhraní oboch roztokov vzniká biely prstenec zrazeniny bielkovín.

Zrážanie proteínov organickými kyselinami

1. Do dvoch skúmaviek pipetujte 1 ml roztoku bielkoviny.
2. Do prvej pridajte niekoľko kvapiek kyseliny sulfosalicylovej
3. Do druhej skúmavky pridajte niekoľko kvapiek kyseliny trichlóroctovej.

4. Pozorujte vznik bielej zrazeniny bielkovín.

Zrážanie proteínov varom

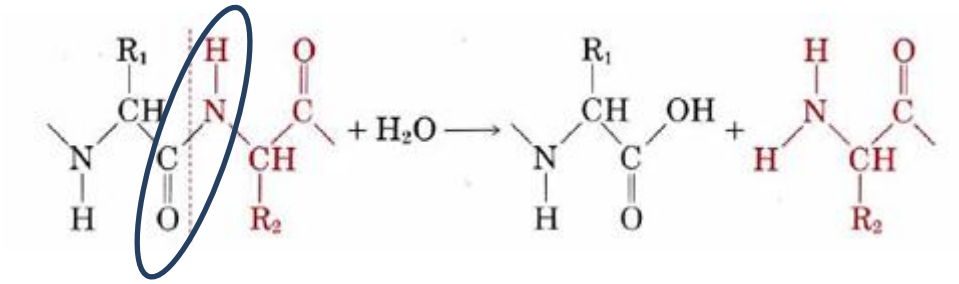
1. Do troch skúmaviek pipetujte po 2 ml roztoku bielkoviny.
2. Zahrievajte prvú skúmavku. Bielkoviny sa vyzrážajú.
3. Do druhej skúmavky dajte kvapku kyseliny octovej a zahrievajte. Bielkoviny sa opäť vyzrážajú.
4. Do tretej skúmavky pridajte 0,5 ml roztoku hydroxidu sodného a zahrievajte. Bielkoviny sa nezrážajú ani po zahriatí.

Pozorovanie:

Záver: Zdôvodnite uvedené pozorovania.

Úloha: Hydrolytické štiepenie proteínov

Peptidová väzba v molekule proteínov je pomerne stála. Podlieha však hydrolýze v silne kyslom prostredí (HCl, 6 mol/l + zvýšená teplota), alebo v prítomnosti hydrolytických enzýmov: napr. pepsínu, pri pH 1-2 (pH žalúdočnej šťavy).



Pracovné potreby
Roztok pepsínu (2 %), konc. HCl, HCl (0,1 mol/l), HCl (0,2 mol/l), varené vaječné bielko, destilovaná voda

Pracovný postup

Pripravte a označte si štyri skúmavky. Pipetujte jednotlivé substancie podľa tabuľky:

Skúmavky	1	2	3	4
Destilovaná H_2O (ml)	**5**	**3**	**-**	**1**
HCl (0,1 mol/l)	**1**	**-**	**-**	**-**
HCl (0,2 mol/l)	**-**	**-**	**1**	**-**
HCl (konc.)	**-**	**3**	**-**	**-**
Pepsín (2 %) (ml)	**-**	**-**	**5**	**5**

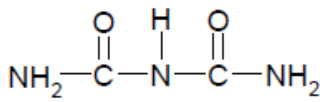
Do každej skúmavky pridajte rovnaký kúsok vareného vaječného bielka (proteíny) a všetky skúmavky nechajte inkubovať po dobu 60 minút v termostate pri 37 °C. Po tomto čase zaznamenajte vizuálne zmeny, ktoré nastali v jednotlivých skúmavkách. Vysvetlite príčiny nájdených zmien.

Pozorovanie:

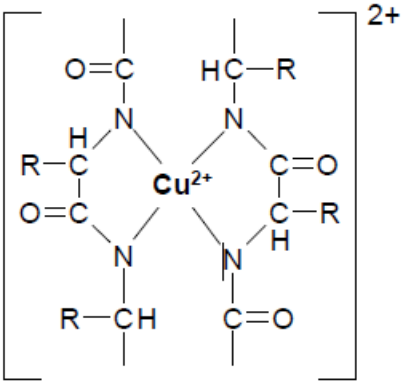
Záver:

Úloha: Stanovenie koncentrácie bielkovín biuretovou metódou

Biuretovú reakciu dávajú peptidy a bielkoviny v dôsledku prítomnosti peptidových väzieb (CO-NH-). Je pomenovaná podľa zlúčeniny biuret, ktorá dáva rovnaké fialové sfarbenie ako bielkoviny a paptidy. Reakcia je založená na tvorbe tetraamóniovej soli s komplexne viazanou meďou.



biuret



Pracovné potreby
Biuretové činidlo, Albumín (konc.1g/100cm^3), destilovaná voda

Pracovný postup

Pripravte a označte si sedem skúmavok. Pipetujte jednotlivé substancie podľa tabuľky:

Skúmavky	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
Albumín (ml)	0	0,2	0,6	1	1,5	2	-
Vzorka (ml)	-	-	-	-	-	-	1
Dest. voda (ml)	2	1,8	1,4	1	0,5	0	1
Biuret. činidlo (ml)	4	4	4	4	4	4	4
Premiešať, nechať 30 min. reagovať Určiť absorbanciu pri 520 nm							
Množstvo bielkoviny v skúmavke (mg)	0	2	6	10	15	20	
Absorbancia pri 520 nm							

Pozorovanie:

Pomocou kalibračných roztokov (skúmavky 0-5) zostrojíme kalibračný graf (závislosť absorbancie štandardného roztoku ľudského albumínu pri 52 nm od množstva) a z neho určíme množstvo albumínu v mg na 1 ml vzorky.

Záver:

Kontrolné otázky:

1. Doplňte v tabuľke príklady proteínov s rôznou funkciou

Funkcia	Príklad
Katalytická	
Ochranná	
Regulačná	
Pohyb	
Transport	

2. Vymenujte metódy precipitácie proteínov

3. Pomenujte typ väzby, ktorá je zodpovedná za sekundárnu štruktúru proteínov

4. Vymenujte metaloproteíny a uveďte kov, ktorý obsahujú vo svojej molekule

5. Uveďte 1 príklad fibrilárnej a 1 príklad globulárnej bielkoviny. Uveďte rozdiely

6. Zaraďte do ktorej skupiny biomakromolekúl patrí hadí jed.

7. Popíšte procesy: koagulácia, precipitácia a flokulácia.

8. Vymenujte proteíny, ktoré sa nachádzajú vo vaječnom bielku

9. Vymenujte proteíny, ktoré sa nachádzajú v mlieku

10. Vysvetlite, ako ovplyvňuje zmena primárnej štruktúry kvartérnu štruktúru proteínu a uveďte príklad.

Použitá literatúra:

Kušnír, J. a kol.: Laboratórne cvičenia z lekárskej chémie, Univerzita P.J. Šafárika, Košice 2005
Guzy, J. a kol.: Základy lekárskej chémie, Univerzita P.J. Šafárika, Košice 2004
Mareková, M. a kol.: Základy bioorganickej chémie, Vydavateľstvo Michala Vaška, Prešov 2007
Valentová, K. a kol.: Praktikum lékařské chemie pro obor zubní lékařství, Univerzita Palackého, Olomouc 2006
Kodíček, M., Karpenko, V.: Biofysikální chemie, Academia, Praha 2002
Kubíček, V.: Praktická cvičení z fyzikální chemie, Univerzita Karlova, Praha 1999
Gondová, T. a kol.: Praktikum z analytickej chémie, Univerzita P.J. Šafárika, Košice 1999
Kohout, J., Melník, M.: Anorganická chémia 1, Slovenská technická univerzita, Bratislava 1997
Macháček, V., Panchartek, J., Večeřa, M.: Organická chemie, 1.část., Univerzita Pardubice 2004
Hrnčiar, P.: Organická chémia, Univerzita Komenského, Bratislava 1997
Kováč, J. a kol.: Organická chémia I a II, Alfa, Bratislava 1992
Boyer, R.: Biochemistry Laboratory, Pearson Education, New Jersey 2012
McCarthy, J. a White, T.: Understanding Chemistry, EDCO, Dublin 2011
Ďuračková, Z. a kol.: Lekárska chémia a biochémia, Univerzita Komenského, Bratislava 2006
Henrickson, Ch. a kol.: A laboratory for general, organic and biochemistry, WCBrown Publishers, Dubuque 1997
Nemečková, A. a kol.: Lekárska chémie a biochémie, Avicenum Osveta, Praha 1991
Yadav, A. a kol.: Comprehensive practical and viva in chemistry, Jaypee Publishers, New Delhi 2004
Chary, T.M. a kol.: Practical Biochemistry for medical and dental Students, Jaypee Publishers, New Delhi 2004
Mohanty, B. a kol.: Fundamentals of Practical clinical biochemistry, B.I.Publications, New Delhi 2006
Malhotra VK. a kol.: Practical biochemistry for students, Jaypee Publishers, New Delhi 2003
Stoker, H. S.: Organic and Biological chemistry, Brooks/Cole, Cengage learning, Belmont 2012
Manz, A. a kol.: Bioanalytical chemistry, Imperial College Press, London, 2004