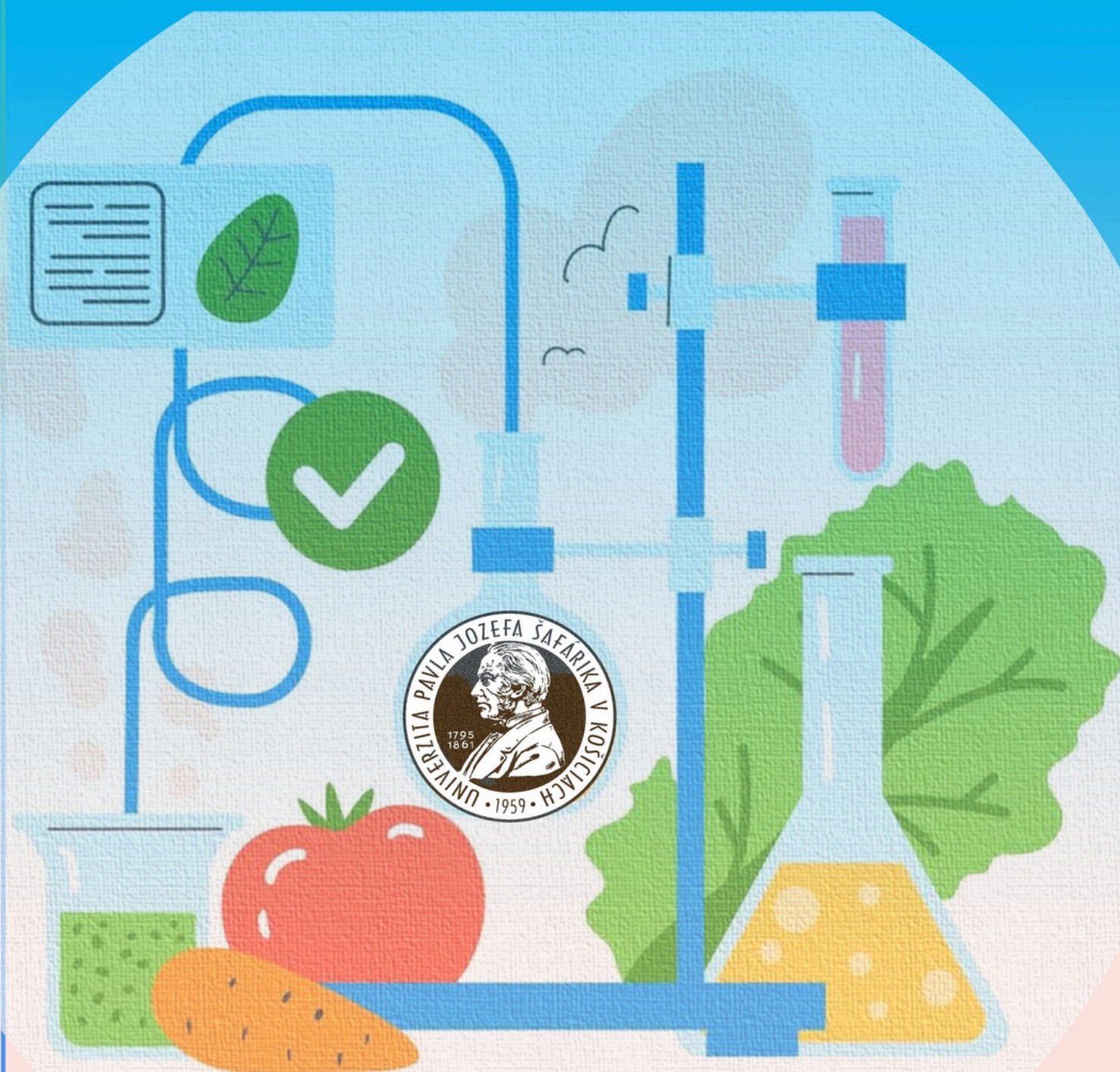


UNIVERZITA PAVLA JOZEFA ŠAFÁRIKA V KOŠICIACH

# Základné metodiky v chemickom laboratóriu

MATIKOVÁ MALÁROVÁ M., ŠPAKOVÁ RASCHMANOVÁ J., ZARUBA S., SHEPA J., GUCKÝ A., KUDLIČKOVÁ Z.



PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA  
KOŠICE 2026

Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach

Prírodovedecká fakulta



## ***ZÁKLADNÉ METODIKY V CHEMICKOM LABORATÓRIU***

*Učebnica pre vysoké školy*

Matiková Maňarová M., Špaková Raschmanová J., Zaruba S., Shepa J.,

Gucký A., Kudličková Z.

Košice 2026

# **ZÁKLADNÉ METODIKY V CHEMICKOM LABORATÓRIU**

*Učebnica pre vysoké školy*

## **Kolektív autorov:**

RNDr. Miroslava Matiková Maľarová, PhD. (kap. 1-3, 4.1, 4.2, 4.4., 5-6), RNDr. Jana Špaková Raschmanová, PhD. (kap. 4.3, 13-14), RNDr. Serhii Zaruba, PhD. (kap.7-8), RNDr. Jana Shepa, PhD. (9-10), RNDr. Adrián Gucký, PhD. (kap. 11-12), RNDr. Zuzana Kudličková, PhD. (kap.4.5, 13-14)

*Prírodovedecká fakulta, UPJŠ v Košiciach*

## **Recenzenti:**

RNDr. Anna Uhrinová, PhD.

*Katedra chémie, biochémie a biofyziky, UVLF Košice*

Ing. Erika Múdra, PhD.

*Ústav materiálového výskumu SAV v.v.i. Košice*



Publikácia je vydaná Univerzitou Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach na základe licencie Creative Commons (CC) CC BY-NC-ND Creative Commons Attribution-NonCommercial-No-derivates 4.0 Licencia umožňuje dielo voľne zdieľať len s uvedením autora, bez komerčného použitia a bez akýchkoľvek úprav alebo odvodených diel.

Za odbornú a jazykovú stránku publikácie zodpovedajú autori.

Dielo bolo vytvorené na Univerzite Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach, Prírodovedeckej fakulte.

Umiestnenie: [www.unibook.upjs.sk](http://www.unibook.upjs.sk)

Dostupné od: 25.09.2026

ISBN 978-80-574-0551-1 (e-publikácia)

## Obsah

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| Úvod .....                                                  | 6  |
| 1. Príchod a príprava pred laboratórnym cvičením .....      | 7  |
| 1.1 Pred vstupom do laboratória .....                       | 7  |
| 1.2 Organizácia cvičenia .....                              | 7  |
| 1.3 Protokoly .....                                         | 8  |
| 2. Bezpečnosť práce v chemickom laboratóriu .....           | 10 |
| 2.1 Bezpečnostné predpisy .....                             | 11 |
| 2.1.1 Práca so žieravinami .....                            | 13 |
| 2.1.2 Práca so sklom .....                                  | 13 |
| 2.1.3 Práca s nebezpečnými látkami .....                    | 14 |
| 2.2 Poskytovanie prvej pomoci v chemickom laboratóriu ..... | 19 |
| 3. Základné vybavenie laboratória .....                     | 23 |
| 3.1 Laboratórne sklo, porcelán a ostatné pomôcky .....      | 23 |
| 3.1.1 Laboratórne sklo .....                                | 23 |
| 3.1.2 Práca so sklom a čistenie skla .....                  | 24 |
| 3.1.3 Druhy sklenených laboratórných nádob .....            | 25 |
| 3.1.4 Kovové pomôcky .....                                  | 29 |
| 3.1.5 Váhy .....                                            | 31 |
| 4. Základné práce v chemickom laboratóriu .....             | 33 |
| 4.1 Práca s kahanom .....                                   | 33 |
| 4.2 Práca s váhami .....                                    | 33 |
| 4.3 Čistiace a deliace metódy .....                         | 34 |
| 4.3.1 Filtrácia .....                                       | 34 |
| 4.3.2 Destilácia .....                                      | 40 |
| 4.3.3 Extrakcia .....                                       | 42 |
| 4.3.4 Tenkovrstvová chromatografia .....                    | 48 |
| 4.4 Práca s odmerným sklom .....                            | 53 |
| 4.5 NMR-spektroskopia .....                                 | 55 |
| 5. Práca s roztokmi a stanovenie hustoty .....              | 58 |
| (1. laboratórna úloha) .....                                | 58 |

|                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.1 Teoretický úvod .....                                                  | 58 |
| 5.2 Zadanie úloh .....                                                     | 61 |
| 5.3 Postup práce .....                                                     | 61 |
| 6. Príprava oxidov, zrážanie, filtrácia a dekantácia .....                 | 66 |
| (2. laboratórna úloha) .....                                               | 66 |
| 6.1 Teoretický úvod .....                                                  | 66 |
| 6.2 Zadanie úloh .....                                                     | 69 |
| 6.3 Postup práce .....                                                     | 69 |
| 7. Odmerná analýza. Acidobázické titrácie .....                            | 72 |
| (3. laboratórna úloha) .....                                               | 72 |
| 7.1 Teoretický úvod .....                                                  | 72 |
| 7.2 Zadanie úloh .....                                                     | 74 |
| 7.3 Postup práce .....                                                     | 75 |
| 8. Oxidačno-redukčné titrácie .....                                        | 78 |
| (4. laboratórna úloha) .....                                               | 78 |
| 8.1 Teoretický úvod .....                                                  | 78 |
| 8.2 Zadanie úloh .....                                                     | 78 |
| 8.3 Postup práce .....                                                     | 78 |
| 9. Meranie viskozity roztokov .....                                        | 80 |
| (5. laboratórna úloha) .....                                               | 80 |
| 9.1 Teoretický úvod .....                                                  | 80 |
| 9.2 Zadanie úloh .....                                                     | 84 |
| 9.3 Postup práce .....                                                     | 84 |
| 10. Rozbor vody .....                                                      | 86 |
| (6. laboratórna úloha) .....                                               | 86 |
| 10.1 Teoretický úvod .....                                                 | 86 |
| 10.2 Zadanie úloh .....                                                    | 89 |
| 10.3 Postup práce .....                                                    | 89 |
| 11. Presnosť a správnosť pipetovania, stanovenie pH a tlmivé roztoky ..... | 92 |
| (7. laboratórna úloha) .....                                               | 92 |
| 11.1 Teoretický úvod .....                                                 | 92 |
| 11.2 Zadanie úloh .....                                                    | 95 |

|                                                                                    |     |
|------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 12. Absorpčná spektrofotometria, centrifugácia buniek a stanovenie ich počtu ..... | 98  |
| (8. laboratórna úloha) .....                                                       | 98  |
| 12.1 Teoretický úvod .....                                                         | 98  |
| 12.2 Zadanie úloh .....                                                            | 101 |
| 12.3 Postup práce.....                                                             | 101 |
| 13. Izolácia látok z prírodných zdrojov .....                                      | 104 |
| (9. laboratórna úloha) .....                                                       | 104 |
| 13.1 Teoretický úvod .....                                                         | 104 |
| 13.2 Zadanie úloh .....                                                            | 105 |
| 13.3 Postup práce .....                                                            | 105 |
| 14. Príprava farbív v organickej chémii.....                                       | 109 |
| (10. laboratórna úloha) .....                                                      | 109 |
| 14.1 Teoretický úvod .....                                                         | 109 |
| 14.2 Zadanie úloh .....                                                            | 110 |
| 14.3 Postup práce .....                                                            | 110 |
| Zoznam použitej literatúry .....                                                   | 115 |
| Prílohy .....                                                                      | 116 |

# Úvod

Táto učebnica je určená pre študentov nového študijného programu **Chemický laborant špecialista**, ktorý vznikol na základe požiadaviek chemických podnikov pre vyškolenie prakticky orientovaných zručných pracovníkov pre laboratórne a priemyselné uplatnenie.

V rámci predmetu **Základné metodiky v chemickom laboratóriu** by sa študenti mali oboznámiť so základnými metódami a postupmi využívanými naprieč všetkými odvetviami chémie (anorganická, analytická, organická, fyzikálna ako aj biochémia). V rámci jednotlivých úloh sa stretnú nielen s prípravou látok a základnými laboratórnymi postupmi, ale aj s niektorými metódami charakterizácie ako napr. chromatografia, viskozimetria či NMR spektroskopia.

Pripravené úlohy sú koncipované tak, aby v časovom rozsahu 6 vyučovacích hodín poskytl študentovi komplexnú predstavu o danej metóde, v prepojení na konkrétnu úlohu, ako aj dostatočnú teoretickú podporu (kapitola 1–4), ktorá vhodne dopĺňa laboratórne cvičenia uvedené v 5. –14. kapitole.

Výsledkom práce študentov počas cvičenia budú nielen produkty, výsledky analýz či meraní, ale aj dobré praktické zručnosti, ktoré budú využívať v ďalších laboratórnych cvičeniach zameraných na anorganickú, organickú, analytickú a fyzikálnu chémiu ako aj biochémiu v nasledujúcich semestroch štúdia.

Veríme, že táto učebnica poskytne vhodnú podporu pre úspešné absolvovanie predmetu a študentom držíme palce pri zvládaní jednotlivých úloh.

Kolektív autorov

# 1. Príchod a príprava pred laboratórnym cvičením

## 1.1 Pred vstupom do laboratória

Pred vstupom do laboratória si všetky nepotrebné veci (vrchný odev, topánky a väčšie tašky) odložíme do šatníkových skriniek, ktoré sa na tento účel používajú a majú označenie príslušnej katedry, kde sa výuka koná. Kľúč od skriniek si požičiame z laboratória, ktorý po použití vrátime na pôvodné miesto, nakoľko je používaný aj ďalšími poslucháčmi počas laboratórneho cvičenia. Zároveň je potrebné skrinky po skončení práce v laboratóriu vyprázdniť a opäť kľúče vrátiť späť.

Pred vstupom do laboratória si oblečieme pracovný plášť a prezujeme sa. Do laboratória si berieme so sebou len pracovné pomôcky (písacie potreby, zošit na poznámky, chemické tabuľky, kalkulačku, zápalky, suchú bavlnenú handričku).

V laboratóriu pracujeme sústredene a rozvážne, nakoľko je väčšina úrazov a nesprávnych výsledkov spôsobená nepozornosťou počas práce. Na cvičenie sa vopred teoreticky pripravíme na úlohu, ktorú budeme robiť, aby sme od začiatku účelne využívali pracovný čas. Ak študent nie je na cvičenie teoreticky pripravený, z bezpečnostných dôvodov nebude môcť realizovať prácu na cvičení.

Počas práce v laboratóriu pracujeme samostatne (ak zo zadania úlohy nevyplýva práca vo dvojici), prácu si organizujeme tak, aby sme si v priebehu cvičenia zapísali všetky údaje potrebné na výpočet konečného výsledku. Prebiehajúci experiment (napr. destilácia, zahrievanie reakčnej zmesi) nesmie zostávať bez dozoru. V priebehu práce postupujeme podľa predpísaného návodu. Pred každým krokom, ktorý sa chystáme realizovať, sa zamyslíme nad tým, či sme dodržali všetky bezpečnostné predpisy, aby nedošlo k úrazu alebo škodám na majetku.

## 1.2 Organizácia cvičenia

Na úvodnom cvičení vyučujúci oboznámi študentov s organizáciou cvičení a požiadavkami na klasifikovaný zápočet, bezpečnosťou pri práci v chemickom laboratóriu, prácou s jedmi, jedovatými látkami a poskytovaním prvej pomoci v prípade úrazu. Rovnako oboznámi študentov s obsahom pracovného stola ako aj so základnými operáciami v chemickom laboratóriu ako je používanie digestora, sušiarne, pipetovanie, váženie, príprava filtra a filtrácia, používanie plynového kahana a ďalšími činnosťami...

Potrebný materiál je na začiatku každého cvičenia pripravený v pracovnom stole alebo je umiestnený v digestore alebo na inom mieste, s ktorým budú študenti oboznámení na začiatku cvičenia. Odobratú látku zo zásobnej fľaše, s ktorou sme už pracovali, zásadne nevraciamy naspäť do originálnej nádoby. Z fľaštičiek so vzorkami alebo chemikáliami teda odoberáme len

najnutnejšie množstvo, aby nedochádzalo ku zbytočnému plytvaniu. Keď je v návode uvedená voda, v **anorganickom laboratóriu** sa má na mysli vždy **destilovaná voda**. Tá je v laboratóriu dostupná v zásobných fľašiach opatrených kohútikom v spodnej časti nádoby alebo v zásobných fľašiach v digestore. Z týchto zásobných fliaš odoberáme vodu výhradne do plastových stričiek (striekačiek) alebo iných na to pripravených nádob, nie priamo do laboratórnych nádob, ktoré používame na samotnú prácu.

Po skončení práce študent oznámi výsledok vedúcemu cvičenia. Pri čistiacich metódach sú výsledkom práce produkt priložený k nahliadnutiu a percentuálna výťažnosť. Pri meraní vlastností látky študent oznámi číslo vzorky a ním získaný výsledok a vyučujúci porovná s tabelovaným výsledkom. Ak vyučujúci oznámený výsledok schváli a zapíše (nie vždy sa tak stane na prvýkrát, preto sa snažíme pracovať tak, aby sme mali časovú rezervu), študent získané produkty umiestni do zásobných fliaš, ktoré sú na to určené, poupratuje pracovný stôl a odovzdá pracovný stôl laborantovi. Až potom študent opustí laboratórium. Do pracovného času je potrebné zarátat aj čas, ktorý je nevyhnutný na upratanie stolov, pretože cvičenie nie je možné predlžovať z organizačných ani bezpečnostných dôvodov.

Jednou z podmienok pre udelenie zápočtu je úspešné absolvovanie všetkých úloh (t.j. so schváleným výsledkom) predpísaných pre daný študijný program. Pokiaľ sa študent v riadnom termíne nemôže zo závažných (napr. zdravotných) dôvodov zúčastniť na cvičení, musí úlohu nahradiť v náhradnom termíne. Takúto náhradu je potrebné dohodnúť s vyučujúcim, u ktorého si študent má záujem nahrádzať cvičenie. Takéto riešenie však študent používa iba v závažných prípadoch v zmysle študijného poriadku. V prípade nahrádzania cvičenia si študent pripraví vhodný papier (napr. formátu A5), na ktorom uvedie svoje meno, číslo úlohy, dátum a výsledok. Vyučujúci, ktorý viedol cvičenie, počas ktorého študent realizoval náhradu, tento doklad potvrdí svojim podpisom.

### 1.3 Protokoly

Práca v laboratóriu môže byť považovaná za experimentálnu len vtedy, keď je o nej vedený podrobný písomný záznam, tzv. protokol. Jedným z účelov týchto cvičení je získanie základných návykov pre písanie protokolov. Preto sa na protokoly kladie značný dôraz a ich odovzdanie a prijatie vedúcim cvičenia je jednou z nevyhnutných podmienok udelenia zápočtu. Laboratórne práce sú väčšinou rozvrhnuté tak, že nie je možné počas vymedzeného času vypracovať aj kvalitný protokol. Z tohto dôvodu si v priebehu cvičenia robíme podrobné pracovné poznámky, z ktorých neskôr vypracujeme protokol. Tieto poznámky si píšeme zásadne do zošita, nikdy nie na voľné papiere, pretože ich môžeme stratiť spolu so zaznamenanými údajmi. Do pracovných poznámok zaznamenávame všetky číselné údaje a výsledky meraní ako aj všetky pozorovania (i zdanlivé drobnosti), ktoré môžu byť neskôr dôležité pri vyhodnocovaní údajov.

Protokol píše a odovzdáva každý študent (aj v rámci dvojice) samostatne. Úprava protokolu je ponechaná na tvorivosti a možnosti každého študenta. Protokoly je možné odovzdať na voľných

listoch písané rukou alebo spracované textovým editorom. Je však neprípustné, aby študenti protokoly kopírovali a len v nich modifikovali namerané údaje. Takéto konanie hraničí s plagiátorstvom! Počas cvičení budú realizované kontroly protokolov a budú porovnávané aj medzi rôznymi skupinami v týždni.

### *Každý protokol musí obsahovať*

- ✓ Meno a priezvisko autora, dátum
- ✓ Názov práce (Téma práce)
- ✓ Zadanie úlohy
- ✓ Teoretický úvod, t.j. princíp úlohy, reakčné schémy, podmienky prípravy, definície použitých pojmov, vzorce používané na výpočet výsledkov, prípadne ich odvodenie ako aj výpočet hodnôt potrebných k samotnej práci. Do protokolu neopisujeme skriptá. Snažíme sa o vlastnú formuláciu viet, pretože sa tým nad úlohami hlbšie zamyslíme a lepšie pochopíme podstatu práce.
- ✓ Nákres aparatury (ak sa počas cvičenia používa)
- ✓ Výpočty (ak sú potrebné pred vykonaním úlohy)
- ✓ Postup práce
- ✓ Namerané hodnoty, t.j. čísla vzoriek, návažky a všetky sledované či namerané veličiny. Ak v úlohe sledujeme vzájomnú závislosť dvoch veličín, vynášame ju do grafu podľa pravidiel zostrojovania grafov (nekreslíme rukou).
- ✓ Výpočet výsledných hodnôt a prípadné výsledky čiastkových výpočtov.
- ✓ Konečný výsledok - spravidla priemer z viacerých meraní (minimálne 3) - zaokrúhlený na vhodný počet desatinných miest.
- ✓ Záver, v ktorom študent zhodnotí získané výsledky, uvedie výt'aznosť a diskutuje výskyt odľahlého výsledku a pod.

## 2. Bezpečnosť práce v chemickom laboratóriu

Chemické laboratórium je priestor určený pre všetky druhy chemickej práce. Je vhodne zariadené nábytkom, vybavené prístrojmi, nádobami, pomôckami a ostatným chemickým, prípadne pomocným materiálom. Práca v chemickom laboratóriu je často spojená s nebezpečenstvom pre zdravie pracovníkov. Medzi objektívne príčiny patria vlastnosti chemikálií, zvýšená možnosť úrazu pri experimentálnej práci a nedostatky samotného laboratória. Chemikálie sú jedovaté, horľavé, výbušné a/alebo majú leptavé účinky. Pri práci v laboratóriu môže dôjsť k mechanickému poraneniu so sklom, popáleniu pri práci za vysokej teploty, prípadne k úrazu elektrickým prúdom. Medzi subjektívne príčiny patria nedostatky pracovníka, predovšetkým neznalosť charakteru uskutočňovaných operácií, vlastností látok alebo nesprávna organizácia laboratórnej práce. Základnými zdrojmi nebezpečenstva v chemickom laboratóriu sú:

- ✓ CHEMIKÁLIE
- ✓ ELEKTRICKÝ PRÚD
- ✓ PLYN
- ✓ VODA
- ✓ TLAKOVÉ NÁDOBY

Nebezpečenstvo laboratórnej práce možno dodržiavaním zásad bezpečnosti pri práci znížiť na minimum, ak pracujeme opatrne a dodržiavame všetky bezpečnostné opatrenia. Každý pracovník musí ovládať bezpečnostné a hygienické predpisy a pri nehode pohotovo, rýchlo a správne čeliť nebezpečnej situácii. Bezpečnostné predpisy pre prácu v chemických laboratóriách sú právna norma, každý pracovník si musí uvedomiť, že porušovaním bezpečnostných predpisov ohrozuje nielen svoje zdravie a bezpečnosť, ale aj svojich spolupracovníkov. Pri práci laboratórnych cvičení je prítomných veľa študentov, preto je dôležitá disciplína, ohľaduplnosť, zodpovedný prístup ku práci, udržiavanie poriadku a čistoty. V laboratóriu sa môžu robiť len práce, s ktorými je každý študent vopred dôkladne teoreticky oboznámený a sú dovolené plánom cvičenia alebo podľa pokynov učiteľa.

V chemických laboratóriách musí byť zabezpečené dokonalé vetranie. Každé laboratórium musí mať dva východy pre zaistenie bezpečného úniku v prípade havárie. Pri práci so zápachajúcimi, dráždivými, jedovatými plynmi alebo horľavými prípadne výbušnými látkami používame digestore. Pri vstupe do laboratória musia byť na voľne prístupnom mieste umiestnené vypínače elektriny a digestorov, uzávery plynu a vody. V laboratóriu musia byť fungujúce a voľne prístupné hasiace prístroje, hydranty a sprchy (ak si to typ pracoviska vyžaduje). Tieto pomôcky proti požiaru treba pravidelne kontrolovať a udržiavať v poriadku.

V laboratóriu udržiava študent čistotu a poriadok a to nielen na laboratórnom stole, ale aj v jeho okolí. Na pracovnej ploche stola nesmú byť veci, ktoré tam nepatria (tašky, batohy). Pracovníci v laboratóriách sú povinní pri práci používať osobné ochranné pomôcky (**bavlnený plášť, okuliare, rukavice, pri niektorých prácach ochranné štíty**). V laboratóriu musí byť aj lekárnička, vybavená potrebnými pomôckami a návodom na poskytnutie prvej pomoci. Pred začiatkom a po skončení práce treba skontrolovať na laboratórnych stoloch čistotu a funkčnosť

jednotlivých zariadení. Závady treba čo najskôr odstrániť, prípadne hlásiť vedúcemu cvičenia. Po skončení práce a pri odchode z laboratória je potrebné skontrolovať, či sú vypnuté všetky elektrické spotrebiče, plyn a voda. V laboratóriu je zakázané jesť, piť a uchovávať potraviny, ako aj na tieto účely používať laboratórne nádoby. V laboratóriu je zakázané fajčiť a na miestach s rizikom vzniku požiaru je zakázané manipulovať s otvoreným ohňom.

Črepy ako aj iné odpady s ostrými hranami sa musia okamžite odstrániť z laboratórnych stolov ako aj zo zeme a musia byť uložené do špeciálne označenej nádoby na odpad. Ak sa rozbije ortuťový teplomer, je to potrebné okamžite nahlásiť vyučujúcemu, aby sa zlikvidovala toxická ortuť. Žiadny tuhý odpad nepatrí do výlevky. Nádoby na zber odpadu, ako aj produktov sú vždy označené a pripravené na vhodnom mieste

*Je zakázané nechávať bez priameho dozoru zapnuté elektrické a plynové variče ako aj aparatúru, v ktorej prebieha chemická reakcia.*

## 2.1 Bezpečnostné predpisy

Bezpečnostné predpisy pre prácu v chemických laboratóriách boli vypracované odborníkmi nie preto, aby obmedzovali, ale preto, aby chránili experimentátora i pracovníkov v jeho okolí. Sú vypracované na základe Chemického zákona a prevádzkového poriadku daného laboratória. V nasledujúcom texte sa obmedzíme na predpisy, ktoré sa týkajú praktického cvičenia zo Základných metód v chemickom laboratóriu.

- 1. V laboratóriách musí byť dodržiavaná čistota a poriadok. Únikové cesty a manipulačné priestory musia byť udržiavané trvalo prístupné.*
- 2. V laboratóriu je zakázané jesť, piť a fajčiť. Laboratórne nádoby sa nesmú používať na jedenie, pitie a uchovávanie potravín. Potraviny ani nápoje nesmú byť uschovávané v chladničkách určených na laboratórne použitie.*
- 3. Pracovníci musia pri práci používať ochranné pomôcky.*
- 4. Chemikálie musia byť uložené v uzavretých nádobách z vhodného materiálu a označené presným názvom.*
- 5. Do odpadového potrubia je zakázané vylievat' rozpúšťadlá, ktoré sa nemiešajú s vodou, jedy, látky výbušné, koncentrované kyseliny a hydroxidy ako aj látky a ich roztoky, ktoré v styku s vodou uvoľňujú jedovaté alebo dráždivé plyny.*

6. *Do odpadového potrubia sa smú vylievať látky v obmedzenom množstve, jednorazovo najviac 0,5 litra po dostatočnom zriedení (aspoň 1:10) s vodou, pričom kyseliny a hydroxidy zriedené najmenej v pomere 1:30.*
7. *Črepiny a iné odpadky s ostrými hranami musia byť odkladané do špeciálnej nádoby na odpad.*
8. *Pri práci s vákuom alebo pretlakom v skle sa musia používať len vhodné nepoškodené nádoby a podtlakové časti aparatury je potrebné zakryť štítom.*
9. *Pri práci so zdraviu škodlivými látkami je potrebné dbať na to, aby nedošlo ku styku chemikálie s pokožkou, sliznicou, dýchacími orgánmi a zažívacími ústrojmi. Delenie nebezpečných látok a ich označovanie je uvedené v nasledujúcom texte.*
10. *Všetky manipulácie s látkami dymiacimi, dráždivými, zapáchajúcimi, jedovatými ako aj pri spaľovaní a žíhaní látok je povolené vykonávať v digestore s dostatočným odsávaním.*
11. *Pri všetkých manipulačných prácach s látkami v otvorených nádobách sa musí udržiavať ústie nádob odvrátené od osôb.*
12. *Pri destilácii horľaviny s nízkou teplotou varu sa musí kontrolovať prívod vody do chladiča a odstrániť z okolia všetky iné horľaviny do bezpečnej vzdialenosti.*
13. *Pri rozliatí horľaviny je nutné okamžite zhasnúť kahan, vypnúť elektrický prúd mimo laboratória a postarať sa o dôkladné vetranie. Kvapalina sa vsiakne do vhodného porézneho materiálu, ktorý sa musí odstrániť na bezpečné miesto. Nepochopiteľne rozpúšťadlá rozliate na PVC sa nesmú rozštiepať.*
14. *Zapálené horáky kahanov nie je dovolené nechať horieť bez dozoru.*
15. *Pri zistení chyby na inštalácii alebo plynovom spotrebiči je nutné príslušný úsek alebo spotrebič uzavrieť a zaistiť opravu.*
16. *Oceľové fľaše so stlačeným plynom musia byť zaistené proti pádu úchytami, retiazkami alebo prichytením v stojane. Vzdialenosť oceľovej fľaše od horiaceho plameňa musí byť najmenej 3 m.*
17. *Plyny sa môžu vypúšťať z fľaše len cez redukčný ventil určený pre daný plyn.*
18. *Osoby bez elektrotechnickej kvalifikácie môžu:*
  - a) *samostatne obsluhovať jednoduché elektrické zariadenia usporiadané tak, že pri ich obsluhu nemôžu prísť do styku s časťami pod napätím.*
  - b) *pracovať v blízkosti častí pod napätím len pri dodržiavaní bezpečnej vzdialenosti.*

## *19. Opravovať, udržiavať a rozširovať elektrické inštalácie a elektrické spotrebiče je študentom zakázané.*

Pri práci dbáme na to, aby sme mali presne označené všetky používané chemikálie, ale aj roztoky, aby nemohlo dôjsť k ich zámene. Ak prenášame plné fľaše (hlavne väčšie), držíme ich jednou rukou za hrdlo a druhou rukou ich pridržujeme za spodnú časť.

### *2.1.1 Práca so žieravinami*

Pri prelievaní používame lieviky a kvapalinu vždy lejeme po tyčinke. Dbáme vždy na to, aby sme nepoškodili štítok s názvom žieraviny (nádobu držíme štítkom smerom k dlani) a nezanechali malé množstvá obsahu na vonkajšom povrchu nádoby. Zvyšky koncentrovaných kyselín a hydroxidov vylievame do vody v prúde tečúcej vody veľmi pomaly a nakoniec ešte výlevku dôkladne vypláchneme vodou. Odmeriavanie malých množstiev žieravín robíme buď v odmernom valci alebo pomocou špeciálnych nádob. Nikdy ich nenasávame priamo do pipety ústami. Pri práci s kyselinami a hydroxidmi, hlavne pri ich prelievaní alebo riedení, si chránime oči a tvár štítom alebo okuliarmi a ruky gumovými rukavicami. Po skončení práce rukavice dôkladne umyjeme vodou a mydlom a osušíme ich. Rozliate kyseliny najprv neutralizujeme pevným uhličitanom sodným alebo pieskom ako sorpčným materiálom, ktoré vhodíme do červeného koša na to určeného a potom zbytok utrieme handrou.

### *2.1.2 Práca so sklom*

Pri práci so sklom, ako je napr. zostavovanie sklenených aparátúr, postupujeme vždy veľmi opatrne. V súčasnosti sú časti prakticky všetkých sklenených aparátúr vzájomne spojené zábrusmi. Práca s nimi si vyžaduje dodržiavanie určitých pravidiel. Pri zostavovaní aparatúry musí byť zábrus dokonale čistý a natretý tenkou vrstvou vhodného mazadla (Ramsayov tuk, silikónový krém). Miernym pootočením natretých a spojených častí dosiahneme utesnenie, ktoré sa prejaví spriehľadnením zábrusu. Ak nie je možné zábrus po práci rozobrať, zavoláme vedúceho cvičenia alebo laboranta, ktorí zábrus spravidla uvoľnia poklepaním alebo miernym zahriatím. Tieto činnosti si však vyžadujú určitú prax, a preto sa o to nepokúšame sami. Do kontaktu so sklom môžeme tiež prichádzať pri príprave kapilár napr. na meranie teploty topenia. Počas takejto práce si chránime ruky handrou a zvyšky skla, ktoré sa uvoľnia počas oddeľovania kapiláry od trubice odstránime metličkou a lopatkou, ktoré sú na to určené. Podobným spôsobom odstránime do označených nádob úlomky skla, ktoré môžu vzniknúť pri náhodnom rozbití sklenenej nádoby. Plastový ochranný štít chrániaci tvár je nutné používať pri práci napr. s vákuom, s podtlakom alebo pretlakom. Jeho používanie je povinné aj v prípade, že nosíte okuliare. V niektorých jednoduchých prípadoch môžu byť použité aj ochranné okuliare.

### 2.1.3 Práca s nebezpečnými látkami

Nebezpečné látky môžeme rozdeliť podľa toho, aké nepriaznivé účinky majú na ľudský organizmus a životné prostredie. Niektoré chemické látky môžu mať nepriaznivé účinky na zdravie človeka a životné prostredie.

**Chemická látka** podľa nariadenia Európskeho parlamentu a Rady (ES) č. 1272/2008 o klasifikácii, označovaní a balení chemických látok a zmesí (**CLP**) je chemický prvok alebo zlúčenina chemických prvkov v prírodnom stave alebo získané akýmkoľvek výrobným postupom, vrátane akýchkoľvek prídavkov potrebných na udržanie jej stability a nečistôt vzniknutých počas výrobného procesu, s výnimkou rozpúšťadiel, ktoré môžu byť oddelené bez ovplyvnenia stability chemickej látky alebo zmeny jej zloženia.

**Chemickou zmesou** sa rozumie zmes alebo roztok skladajúci sa z dvoch alebo viacerých chemických látok. Nebezpečné chemické látky a nebezpečné chemické zmesi pre život a zdravie ľudí a pre životné prostredie sa musia klasifikovať podľa požiadaviek uvedených v tomto nariadení. V tomto nariadení sa ustanovujú kritériá klasifikácie v triedach nebezpečnosti, ich rozlišovanie a ďalšie ustanovenia o tom, ako splniť tieto kritériá. Nebezpečné chemické látky a nebezpečné chemické zmesi sa klasifikujú v jednej alebo vo viacerých kategóriách nebezpečnosti podľa **koncentračných limitov**, **M-koeficientov** alebo **medzných hodnôt**.

- Koncentračný limit - je prahová hodnota akejkoľvek klasifikovanej nečistoty, prísady alebo jednotlivkej zložky v látke alebo v zmesi, ktorá môže byť podnetom ku klasifikácii látky alebo zmesi
- M-koeficient - je násobiaci koeficient. Násobí sa ním koncentrácia látky, ktorá je klasifikovaná ako nebezpečná pre vodné prostredie v kategórii akútnej nebezpečnosti 1 alebo v kategórii chronickej nebezpečnosti 1
- Medzná hodnota - je prahová hodnota akejkoľvek klasifikovanej nečistoty, prísady alebo jednotlivkej zložky v látke alebo v zmesi, nad ktorou sa táto prísada, nečistota alebo zložka už zohľadňuje pri rozhodovaní, či sa látka alebo zmes klasifikuje v niektorej kategórii nebezpečnosti

#### **Manipuláciu s chemickými látkami a zmesami upravujú nasledujúce zákony**

- 67/2010 Zákon o podmienkach uvedenia chemických látok a chemických zmesí na trh chemický zákon
- 355/2007 Z. z. Zákon o ochrane, podpore a rozvoji verejného zdravia (ďalej len 355/2007)
- NV SR 355/2006 o ochrane zamestnancov pred rizikami súvisiacimi s expozíciou chemickým faktorom pri práci
- NV SR 121/2024 o ochrane zdravia zamestnancov pred rizikami súvisiacimi s expozíciou karcinogénnym faktorom, mutagénnym faktorom alebo reprodukčne toxickým faktorom pri práci

**Od 1. júna 2015 sa látky a zmesi klasifikujú, označujú a balia už len podľa CLP.**

Databáza klasifikácie a označovania registrovaných chemických látok

<http://echa.europa.eu/sk/information-on-chemicals/cl-inventory-database>

### Postup klasifikácie látok podľa CLP

Identifikácia nebezpečných vlastností látok a ich závažnosti na základe:

- špecifických fyzikálno-chemických
- toxikologických
- ekotoxikologických údajov

Porovnanie údajov s kritériami uvedenými v prílohe č. I CLP

- látka sa klasifikuje do tried nebezpečnosti, pričom každá vlastnosť sa posudzuje osobitne, uvádza sa len určená trieda nebezpečnosti (Tabuľka č. 1).

***Z posúdenia môže vyplývať aj to, že látka nie je klasifikovaná ako nebezpečná.***

**Tabuľka 1** Triedy a kategórie nebezpečnosti

| <i>Fyzikálna nebezpečnosť (fyzikálno-chemické vlastnosti)</i> |                                                                                  |
|---------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
|                                                               | <i>Trieda rozlíšenie</i>                                                         |
| <i>Výbušniny</i>                                              | <i>7 podtried: nestabilné výbušniny a podtr. 1.1 až 1.6</i>                      |
| <i>Horľavé plyny</i>                                          | <i>kategória 1 a 2</i>                                                           |
| <i>Horľavé aerosóly</i>                                       | <i>kategória 1 a 2</i>                                                           |
| <i>Oxidujúce plyny</i>                                        | <i>kategória 1</i>                                                               |
| <i>Plyny pod tlakom</i>                                       | <i>4 skupiny: stlačený, skvapalnený, schladený skvapalnený a rozpustený plyn</i> |
| <i>Horľavé kvapaliny</i>                                      | <i>kategória 1, 2 a 3</i>                                                        |
| <i>Horľavé tuhé látky</i>                                     | <i>kategória 1 a 2</i>                                                           |
| <i>Samovoľne reagujúce látky a zmesi</i>                      | <i>5 typov: A, B, C&amp;D, E&amp;F a G</i>                                       |
| <i>Samozápalné kvapaliny</i>                                  | <i>kategória 1</i>                                                               |
| <i>Samozápalné tuhé látky</i>                                 | <i>kategória 1</i>                                                               |
| <i>Samovoľne sa zahrievajúce látky a zmesi</i>                | <i>kategória 1 a 2</i>                                                           |

|                                                                         |                                            |
|-------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| <i>Látky a zmesi, ktoré pri kontakte s vodou uvoľňujú horľavé plyny</i> | <i>kategória 1, 2 a 3</i>                  |
| <i>Oxidujúce kvapaliny</i>                                              | <i>kategória 1, 2 a 3</i>                  |
| <i>Oxidujúce tuhé látky</i>                                             | <i>kategória 1, 2 a 3</i>                  |
| <i>Organické peroxidy</i>                                               | <i>5 typov: A, B, C&amp;D, E&amp;F a G</i> |
| <i>Korozívne pre kovy</i>                                               | <i>kategória 1</i>                         |

|                                                                     |                              |
|---------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| <i>Nebezpečnosť pre životné prostredie (environmentálne účinky)</i> |                              |
|                                                                     | <i>Trieda rozlíšenie</i>     |
| <i>Nebezpečnosť pre vodné prostredie</i>                            |                              |
| <i>akútna</i>                                                       | <i>kategória 1</i>           |
| <i>chronická</i>                                                    | <i>kategória 1, 2, 3 a 4</i> |
| <i>Nebezpečnosť pre ozónovú vrstvu</i>                              | <i>kategória 1</i>           |

#### *Trieda nebezpečnosti pre zdravie*

#### *Kategória rizika*

|                                                                             |                                             |                   |
|-----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------|
| <i>Akútna toxicita orálna</i>                                               | <i>1 ( VTL)    2 ( VTL)    3 ( TL)    4</i> |                   |
| <i>Akútna toxicita dermálna</i>                                             | <i>1 ( VTL)    2 ( VTL)    3 ( TL)    4</i> |                   |
| <i>Akútna toxicita inhalačná</i>                                            | <i>1 ( VTL)    2 ( VTL)    3 ( TL)    4</i> |                   |
| <i>Žieravina/podráždenie kože</i>                                           | <i>1A/B/C    2</i>                          |                   |
| <i>Poškodenie/podráždenie očí</i>                                           | <i>1            2</i>                       |                   |
| <i>Respiračná senzibilizácia</i>                                            | <i>1</i>                                    |                   |
| <i>Kožná senzibilizácia</i>                                                 | <i>1</i>                                    |                   |
| <i>Mutagenita</i>                                                           | <i>1 A/B       2</i>                        |                   |
| <i>Karcinogenita</i>                                                        | <i>1 A/B       2</i>                        |                   |
| <i>Reprodukčná toxicita</i>                                                 | <i>1 A/B       2</i>                        | <i>La<br/>kt.</i> |
| <i>Aspiračná toxicita</i>                                                   | <i>1</i>                                    |                   |
| <i>Špecifická toxicita pre cieľový orgán pri<br/>jednorazovej expozícii</i> | <i>1 (TL)      2</i>                        | <i>3</i>          |

*Špecifická toxicita pre cieľový orgán po 1 2  
viacnásobnej expozícii*

*Endokrinná disrupcia pre zdravie ľudí 1 2*

*Poznámka: VTL - veľmi toxická látka; TL - toxická látka*

## **Karta bezpečnostných údajov (KBÚ)**

**KBÚ** poskytuje prenos potrebných bezpečnostných informácií o klasifikovaných látkach a zmesiach vrátane informácií o chemickej bezpečnosti pre užívateľa. Je vypracovaná pre každú nebezpečnú chemickú látku alebo nebezpečnú chemickú zmes, ktoré sú uvádzané na trh. KBÚ je povinný vypracovať výrobca, dovozca, distribútor chemických látok.

Požiadavky na zostavenie KBÚ sú uvedené v **Prílohe č. I Nariadenia komisie (ES) 453/2010**. Karta bezpečnostných údajov musí obsahovať všetkých 16 oddielov:

### *1. Identifikácia látky/ prípravku spoločnosti/ podniku:*

Identifikátor produktu,

Relevantné identifikované použitia látky alebo zmesi a použitia, od ktorých sa odrádza,

Údaje o dodávateľovi látky alebo zmesi (názov, adresa, tel.) - výrobca, dovozca, výhradný zástupca, DU, distribútor,

Na jednoduchšiu identifikáciu látky slúži **CAS number**

CAS číslo je registračné číslo látky používané v Chemických Abstraktoch (Chemical Abstracts) vydávaných Americkou chemickou spoločnosťou, ktoré napomáha pri identifikácii položky

Núdzové telefónne číslo

### *2. Identifikácia nebezpečenstiev*

Chemické látky: výstražný piktogram, výstražné slovo, H a P vety podľa CLP

### *3. Zloženie/informácie o zložkách*

Uvádza sa zoznam nebezpečných chemických zložiek s percentuálnym zastúpením a ich klasifikácia, príslušné označenia, prípadne koncentračné limity

### *4. Opatrenia pri prvej pomoci*

### *5. Protipožiarne opatrenia*

### *6. Opatrenia pri náhodnom uvoľnení*

### *7. Manipulácia a skladovanie*

8. *Kontrola expozície* /osobná ochrana/ expozičný scenár/ limitné hodnoty vystavenia zamestnancov/ odporúčané OOPP
9. *Fyzikálne a chemické vlastnosti*
10. *Stabilita a reaktivita*
11. *Toxikologické informácie* klasifikácia v jednotlivých kategóriách nebezpečnosti, hodnoty LD50, LC50
12. *Ekologické informácie*
13. *Opatrenia pri zneškodňovaní*
14. *Informácie o doprave*
15. *Regulačné informácie*
16. *Ďalšie informácie*

### Čo si všímať pri manipulácii s chemickou látkou

Pri prvom kontakte s chemickou látkou si pozorne prezrieme obal fľaše, každá chemická látka alebo zmes musí byť riadne označená.

**Na obale sa uvádza :**

názov látky/zmesi,  
 názov dodávateľa,  
 množstvo,  
 identifikátory výrobku (ES alebo CAS),  
 výstražné piktogramy,  
 výstražné slová,  
 výstražné upozornenia,  
 bezpečnostné upozornenia



**Výstražne piktogramy GHS**, ktoré musia doprevádzať každú chemickú látku alebo zmes sú pre nás prvým identifikátorom nebezpečenstva a informujú aj o potrebe použitia ochranných pomôcok pre manipuláciu s nimi:

| Fyzické nebezpečenstvo                                                                                                         | Zdravotné riziká                                                                                                                | Nebezpečenstvo pre životné prostredie                                                                                                        |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  <b>GHS</b><br>Výbušné látky                  |  <b>GHS 05</b><br>Korozívne látky a žieraviny  |  <b>GHS 09</b><br>Látky nebezpečné pre životné prostredie |
|  <b>GHS 02</b><br>Horľavé látky               |  <b>GHS 06</b><br>Toxické látky                |                                                                                                                                              |
|  <b>GHS 03</b><br>Oxidujúce látky             |  <b>GHS 07</b><br>Dráždivé látky               |                                                                                                                                              |
|  <b>GHS 04</b><br>Plyny pod tlakom            |  <b>GHS 08</b><br>Látky nebezpečné pre zdravie |                                                                                                                                              |
|  <b>GHS 05</b><br>Korozívne látky a žieraviny |                                                                                                                                 |                                                                                                                                              |

### Výstražné upozornenia H a bezpečnostné upozornenia P vety

**Výstražné upozornenia** alebo **H-vety (Hazard)** sú štandardné upozornenia o nebezpečnosti chemických látok a ich zmesí. Sú súčasťou globálneho harmonizovaného systému klasifikácie a označovania chemikálií a nahrádzajú staršie R-vety s rovnakým účelom a podobným obsahom.

**Bezpečnostné upozornenia** alebo **P-vety (Protection)** sú štandardizované pokyny na bezpečné zaobchádzanie s chemickými látkami a ich zmesami. Sú súčasťou globálneho harmonizovaného systému klasifikácie a označovania chemikálií a nahrádzajú staršie S-vety s rovnakým účelom a podobným obsahom.

Zoznam H a P viet je súčasťou každého laboratória v blízkosti uloženia chemikálii, voľne k nahliadnutiu v prípade potreby.

H a P vety sú identifikované štvorciferným kódom, ktorý pomáha presne definovať typ a závažnosť nebezpečenstva, napríklad výbušnosť, horľavosť, toxicita atď.

Prvá číslica za písmenom "H" označuje typ nebezpečenstva (napr. 2 pre fyzikálne nebezpečenstvo, 3 pre nebezpečenstvo pre zdravie, 4 pre nebezpečenstvo pre životné prostredie). Príklady H viet sú uvedené nižšie:

|             |                                              |             |                                                              |
|-------------|----------------------------------------------|-------------|--------------------------------------------------------------|
| <b>H200</b> | Nestabilná výbušnina.                        | <b>H302</b> | Zdraviu škodlivý pri požití.                                 |
| <b>H201</b> | Výbušnina; nebezpečenstvo masívneho výbuchu. | <b>H304</b> | Pri požití a vniknutí do dýchacích ciest môže spôsobiť smrť. |

## 2.2 Poskytovanie prvej pomoci v chemickom laboratóriu

Je prirodzenou povinnosťou každého občana, aby podľa svojich možností poskytol prvú pomoc bez rozdielu každému, koho postihol úraz alebo náhle ochorenie, a súčasne neohrozuje seba alebo iného. Poskytnutie prvej pomoci je nielen prirodzenou (morálnou) povinnosťou každého občana, ale aj povinnosťou, ktorá vyplýva z Trestného zákona č. 300/2005 Z.z. § 177. Prvá pomoc sa musí poskytovať pri všetkých úrazoch, otravách a náhlych ochoreniach.

Základným pravidlom pri poskytovaní prvej pomoci je robiť všetko, čo stav postihnutého vyžaduje a čoho je záchranca schopný, ale len v rozsahu, ktorý bezpečne ovláda. Pri poskytovaní prvej pomoci treba zachovať tento postup:

1. zistiť čo sa stalo (odstrániť alebo prerušiť pôsobenie vyvolávajúce príčiny a umožniť poskytnutie prvej pomoci),
2. zorientovať sa v rozsahu poškodenia a zdravotnom stave postihnutého (posúdenie stavu bezprostredného ohrozenia života s nebezpečenstvom z omeškania a postihnutia bez bezprostredného ohrozenia života),
3. vykonať opatrenia zachraňujúce život, poskytnúť ďalšiu prvú pomoc podľa stavu postihnutého a účinnými opatreniami zabrániť vzniku alebo rozvoju komplikácií,
4. zorganizovať ďalšiu pomoc (zabezpečiť šetrný a rýchly odvoz postihnutého do zdravotníckeho zariadenia, zabezpečiť sprevádzanie postihnutého),
5. odovzdať postihnutého do sústavy rýchlej zdravotníckej pomoci.

### *Prvá pomoc pri poraneniach*

Rana je porušenie kože, sliznice alebo vnútorných orgánov. Charakteristickým znakom je krvácanie, bolesť, strata alebo poškodenie tkaniva. Podľa rozsahu poškodenia možno rany rozdeliť na:

- ✓ povrchové - je poranená len koža,
- ✓ hlboké - poškodenie postihuje aj podkožie, svaly a kosti,
- ✓ prenikajúce - poškodené sú aj vnútorné dutiny.

### *Úraz elektrickým prúdom a elektrickým výbojom*

1. Vypnutie prívodu elektrického prúdu a šetrné vyslobodenie postihnutého. Ak to nie je možné, neodkladné zabezpečenie technickej prvej pomoci.
2. Zabezpečenie základných životných funkcií, umelé dýchanie, pri zastavení obehu nepriama masáž srdca a umelé dýchanie.
3. Čo najmenšie krytie popálenín.
4. Znehybnenie zlomenín.
5. Neodkladné zabezpečenie rýchlej zdravotníckej pomoci.

### *Popáleniny*

1. Popáleniny horúcimi predmetmi ochladíme studenou vodou, pľuzgiere neprepichujeme a popáleninu nasucho sterilne obviažeme. Nenanášame masti alebo zásypy.
2. V prípade zasiahnutia postihnutého rozsiahlym požiarom vynesieme postihnutého z priestoru pôsobenia vysokej teploty a dymu a zahasíme horiaci odev.
3. Pri hlbokých popáleninách s vyvinutými a rozsiahlymi pľuzgiermi až do odumretia tkaniva osušíme suchým aseptickým obvázom s hrubšou odsávacou vrstvou.
4. Zabezpečíme zvýšenú polohu, prípadne znehybnenie ošetrovaných miest bez prikrytia prikrývkou.
5. Zabezpečíme pohodlnú polohu poležiačky a šetrné prenášanie.
6. Chránime pred nepriaznivými vonkajšími vplyvmi, stratou tepla, pred vznikom triašky a prehriatím.
7. Zabezpečíme psychickú podporu, upokojenie a pokojné prostredie.
8. Neodkladne zabezpečíme rýchlu zdravotnícku pomoc pri príznakoch šoku, hlbokých popáleninách, povrchových a rozsiahlych popáleninách.

### *Nadýchanie sa horúcich pár a dymu*

1. Pri vedomí poloha posediačky s pohodlným opretím chrbta a hlavy.
2. Pri bezvedomí stabilizovaná poloha so zvýšením hornej polovice tela.
3. Dostatočný prívod chladného čerstvého vzduchu.
4. Úplný telesný pokoj.
5. Psychické upokojenie.
6. Nepretržitá kontrola dostatočnosti voľného dýchania.
7. Včasný umelý dýchanie pri zhoršení priechodnosti dýchacích ciest a pri poruchách dýchania.
8. Neodkladné zabezpečenie rýchlej zdravotníckej pomoci.

### *Nadýchanie sa dráždivých a dusivých pár*

1. Vynesenie postihnutého zo zamoreného priestoru.
2. Zabezpečenie úplného telesného pokoja.
3. Psychické upokojenie.
4. Uloženie do pohodlnej polohy posediačky alebo v polosede s opretím chrbta a hlavy.
5. Pri dýchavičnosti a poruchách dýchania umelý dýchanie z pľúc do pľúc.
6. Neodkladné zabezpečenie rýchlej zdravotníckej pomoci.

## *Poleptanie*

### **Zasiahnutie kože žieravinou**

1. Poleptané miesto omyjeme okamžite silným prúdom vody z vodovodu a toto omývanie vykonávame niekoľko minút (s výnimkou kyseliny sírovej).
2. Pokiaľ k zasiahnutiu došlo cez odev, je nutné odev okamžite a rýchlo vyzliecť. Čas je tu rozhodujúci a pri zameškaní môže v dôsledku celkom banálnej nehody dôjsť k vážnemu poškodeniu zdravia! **Visiacu kožu alebo pevne prilepený odev nikdy nestrhávame.**
3. Na poleptané miesto nevtierame masti, krémy ani olej.
4. Postihnutej osobe opatrne stiahneme prstene, hodinky, opasky alebo tesný odev z blízkosti zasiahnutého miesta skôr, ako začne opúchať.
5. Po dôkladnom omytí je možné urobiť neutralizáciu roztokmi vopred pripravenými alebo tými, ktoré sú na tento účel v lekárnike.

### **Poleptanie očí**

1. Oko najskôr vypláchneme čo prúdom vody z vodovodu aspoň 15-20 minút, alebo použijeme očnú sprchu
2. Prekryjeme sterilnou gázou.
3. Pred vyhľadáním lekárskej pomoci môžeme po vypláchnutí oko ošetriť roztokom na výplach oka z lekárnice.

### **Poleptanie tráviaceho traktu**

1. Ústa vypláchneme dôkladne vodou alebo neutralizačným roztokom ako v prípade kontaminácie kože.
2. **Nevyvolávame zvracanie!**
3. O ďalšom postupe musí rozhodnúť vedúci cvičenia podľa konkrétneho prípadu.

## *Prvá pomoc pri požití chemickej látky*

Ak je osoba pri vedomí, snažíme sa zistiť, čo požila (čo najviac informácií o požitej látke) a zároveň ju upokojujeme. Zabezpečíme odborné lekárske vyšetrenie.

1. Pri požití vypláchnuť ústa, a riadiť sa pokynmi lekárskej služby.
2. Nevyvolávame zvracanie, ak je človek v bezvedomí alebo požil látku pred viac ako hodinou. Tiež pri požití žieravín vid' vyššie.
3. U postihnutého sledujeme stav vedomia a základných životných funkcií, vyhladáme lekársku pomoc.

## *Porezanie*

1. Drobné povrchové poranenia ošetríme dezinfekčným prostriedkom (betadine, ajatín) a obviažeme.
2. Väčšie rany zásadne nevymývame ani vodou ani dezinfekčným roztokom, len priložíme sterilný obväz.
3. V prípade väčších poranení je študent v sprievode odoslaný na lekárske ošetrenie.

4. Ak došlo k poraneniu tepny alebo žily, poskytneme prvú pomoc zastavením alebo zmiernením krvácania tlakom na ranu a ihneď privoláme lekársku pomoc.

**O každom** i zdanlivo bezvýznamnom úraze informujeme vedúceho cvičenia. Vedúci jednak vie na základe skúseností posúdiť úraz a v prípade potreby realizovať prvé ošetrenie a tiež rozhodnúť, či je potrebné vyhľadať lekárske ošetrenie. Zároveň musí vybaviť zákonmi predpísanú evidenciu prípadu!!!

## 3. Základné vybavenie laboratória

### 3.1 Laboratórne sklo, porcelán a ostatné pomôcky

Sklo je homogénny amorfný, tuhý materiál. Vyrába sa z viskóznejskloviny roztavenej v sklárskej peci. Materiál sa rýchlo ochladzuje a preto nemá dostatok času na sfomovanie regulárnej kryštálovej štruktúry. Pre lepšie pochopenie procesu tvorby skla si možno predstaviť konzumný cukor, ktorý keď roztopíte a rýchlo ochladíte vyliatím na studený povrch, dostanete karamel – amorfnú beztvárú látku. Čisté sklo je transparentný (priehľadný), relatívne pevný materiál, odolný proti opotrebovaniu a v podstate je inertným a biologicky neaktívnym materiálom.

Sklo obsahuje predovšetkým oxid kremičitý, ktorý je prítomný v kremeň alebo v kremičitom piesku (tiež nazývaný sklársky piesok), z ktorého sa vyrába. Kryštálický kremeň má teplotu topenia okolo 2000 °C, preto sa pri výrobe rôznych sklenených výrobkov pridávajú alkalické látky, ktoré túto teplotu výrazne znižujú. Sôda ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) a potaš ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ) znižujú teplotu mäknutia na asi 1000 °C. Pretože alkálie znižujú odolnosť skla voči vode, čo je obvykle nežiadúce, pridáva sa tiež oxid vápenatý, ktorý túto odolnosť zvyšuje. Na výrobu chemických nádob sa využíva aj borosilikátové sklo, ktoré obsahuje aj oxid boritý.

#### 3.1.1 Laboratórne sklo

Pod pojmom laboratórne sklo rozumieme sklenený materiál, s ktorým sa stretávame v chemickom laboratóriu (s výnimkou tabuľového skla). Výhodné chemické, fyzikálne a optické vlastnosti skla boli dôvodom toho, že sa sklo stalo základným materiálom pre prevažnú väčšinu chemických nádob a prístrojov. Pri bežnej práci na cvičeniach sa stretávame s týmito druhmi skla:

- ✓ **mäkké sklo**, ktoré má malú tepelnú odolnosť a vyžaduje opatrné predhrievanie a po spracovaní opäť opatrné, pozvoľné ochladzovanie. V laboratóriu sa z neho pripravujú

trubice, kapiláry, tyčinky a pod. *Bod mäknutia leží medzi 450 - 550 °C*; ku spracovaniu postačí výkonný laboratórny kahan.

- ✓ **tvrdé sklo** sa používa na výrobu takmer všetkého laboratórneho skla (varného i odmerného), na výrobu laboratórnych prístrojov a pod. Vyniká vysokou chemickou odolnosťou voči horúcej vode, kyselinám a hydroxidom. *Bod mäknutia je približne 600 °C*, na spracovanie je potrebný sklársky kahan.
- ✓ **kremenné sklo** sa vyznačuje vysokou tepelnou aj chemickou odolnosťou. Je však veľmi krehké a v chemickom laboratóriu sa používa na zhotovenie špeciálnych nádob a zariadení, napr. kyviek pre spektroskopiu.

**Porcelánové predmety** sú vyrobené z tzv. „tvrdého“ porcelánu, ktoré svojimi fyzikálnymi a chemickými vlastnosťami často prekonávajú i špeciálne chemické sklá. Tieto predmety možno zahrievať aj nad 1000 °C. Na rozdiel od chemického skla znáša porcelán po predchádzajúcom vyhriatí aj vyžihanie priamym plameňom. Inak platia pre tento materiál rovnaké zásady ako pre sklo - tenkostenné predmety znášajú zahrievanie, hrubostenné nie. Odolnosť proti mechanickému namáhaniu je pri porceláne väčšia ako pri skle.

Z iných materiálov sa v laboratóriu používajú chemicky odolné kovy, **hlavne platina**, na zhotovovanie kelímkov a misiek. Ušľachtilá **ocel'** na výrobu klieští, špachtlí a pinziet. Ako zvláštny chemický materiál sa používa **teflón** na zhotovovanie rôznych miešadiel a misiek a hadičiek pre prácu, pri ktorej nie je možné použiť bežné gumové alebo polyetylénové materiály.

V prípade niektorých prác s fluórom alebo pri biochemických pracovných postupoch využívame aj **plastové pomôcky** ako Pasteurove pipety, endorfky či plastové skúmavky.

### 3.1.2 Práca so sklom a čistenie skla

**Pri zahrievaní sklenených nádob sa riadime týmito pokynmi:**

- ✓ **Tenkostenné varné sklo** (kadičky, banky a pod.) zahrievame na keramickej sietke. Nádoby nezahrievame nikdy prázdne a nikdy ich nekladíme na vopred rozžeravenú sieťku. Na zohrievanie baniek a destilačných aparátov sa dnes používajú prakticky výhradne elektrické výhrevné (tzv. topné) hniezda. Naproti tomu tenkostenné skúmavky možno opatrne zahrievať priamo plameňom. Musíme však pritom dbať na to, aby ústie skúmavky bolo odvrátené od iných osôb.
- ✓ **Hrubostenné nádoby** (odmerné valce, zásobné fľaše, prachovnice, trecie misky a pod.) a tiež niektoré tenkostenné predmety (pyknometre, kohútiky a pod.) nie je možné zohrievať nad 50 °C ani v sušiarňi. Sušíme ich tak, že po opláchnutí liehom ich necháme odkvapkať a vysušíť pri laboratórnej teplote. Toto sušenie môžeme v niektorých prípadoch urýchliť presávaním prúdu vzduchu vodnou vývevou.
- ✓ Pri umývaní skla dávame pozor, aby sme nepoškodili jeho povrch. Ryhy spôsobené napr. čiastočkami piesku môžu byť zdrojom trhlín pri neskoršom zahrievaní. **Teda nikdy nezohrievame varné sklo, ktoré má praskliny alebo je inak poškodené.**

**Pri čistení skla i porcelánu** dbáme na to aby nečistoty príliš nezaschli alebo nedošlo k poleptaniu materiálu a preto sklo umývame (pokiaľ je to možné hneď po použití). Pri umývaní dodržiavame niekoľko pravidiel:

1. Sklo najprv umyjeme použitím saponátového prostriedku kefkou alebo hubkou a dôkladne opláchneme vodou.
2. V laboratóriu však nezabudneme na posledný krok, ktorým je vypláchnutie nádob destilovanou vodou.
3. Podľa povahy skla, z ktorého sú nádoby vyrobené, ich potom necháme vysušiť v sušiarňe (tenkostenné sklo) alebo len vypláchneme malým množstvom liehu alebo acetónu a necháme odkvapkať (hrubostenné sklo).
4. Pokiaľ na stenách nádob zaschli nečistoty nerozpustné vo vode, zvolíme použitie mechanických pomôcok (laborátorne kefkы s dlhými rúčkami), špeciálne vytvarované tak, aby dosiahli na dno chemických nádob. Dobré je použiť aj tekutý prášok, ktorý je abrazívnejší. Výhodný je tiež spôsob, pri ktorom do nádoby vložíme útržky filtračného papiera spolu s jemným pieskom alebo sklenenými guľčkami a pretrepávame. Prostriedky, ktoré zvolíme, nesmú v žiadnom prípade nádobu poškrabať!!!
5. Pokiaľ ani mechanické čistenie nevedie k cieľu, používame **čistenie chemické**, ktoré spočíva vo voľbe kvapalnej chemikálie, ktorá čistený materiál nepoškodzuje a v ktorej je nečistota rozpustná alebo s ňou reaguje. Najjednoduchším prípadom sú v laboratóriu dostupné kyseliny, iné prostriedky sú dodávané komerčne. Pri takejto činnosti nesmieme zabudnúť na dodržiavanie bezpečnostných predpisov pre prácu s kyselinami a hydroxidmi (rukavice, ochranné okuliare). Pri cvičení každý takýto postup robíme v spolupráci s laborantom.

### **3.1.3 Druhy sklenených laboratórnych nádob**

Podľa účelu na ktorý sa chemické nádoby používajú ich delíme do niekoľkých skupín:

**Kadičky a banky** sú najbežnejšie tenkostenné nádoby používané v laboratóriu. Kadičky (Obr. 1) majú rovné dno a na hornom okraji výlevku, môžu byť delené alebo nedelené. Banky majú členitejší tvar, často rozdelený na vlastnú banku a hrdlo. Dno môžu mať tak rovné (banky titračné, Erlenmeyerova banka) ako aj guľaté (nádoby na destiláciu, alebo pre prácu za zníženého tlaku (Obr. 2)). Názvy rôznych typov bánk sú najčastejšie odvodené od účelu, na ktorý sa banky používajú, s niektorými sa zoznámime pri ďalších úlohách. Hrubostenná tzv. odsávací banka (Obr. 2) slúži na filtráciu za zníženého tlaku. Používa sa len na tento účel, v žiadnom prípade v nej nie je možné realizovať nejaké chemické reakcie, plniť ich horúcimi kvapalinami alebo dokonca zahrievať.

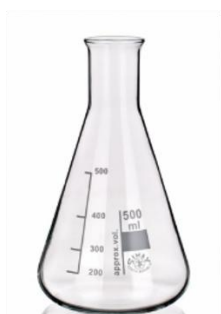


Kadička s výlevkou



Kadička podľa Phillipsa

Obrázok 1 Chemické sklo – kadičky.



Erlenmeyerova banka



Titračná banka



Varná banka s plochým dnom



Varná banka s guľatým dnom



Odsávací banka



Frakčná banka

Obrázok 2 Chemické sklo – banky.

**Krycie (tzv. hodinové) sklo** slúži na prikryvanie nádob, na sušenie, váženie a prenášanie vzoriek tuhých látok. Na analogické účely sa používajú aj dvojdielne **Petriho misky** (Obr. 3). Odparovacie misky sú vyrobené z porcelánu alebo skla. Nie sú vhodné na priame zahrievanie v plameni a používajú sa na odparovanie roztokov umiestnením na vodný kúpeľ. Trecie misky s roztieradlom (Obr. 3) bývajú porcelánové alebo sklenené, pre špeciálne účely aj achátové. Vnútrotná stena misky a povrch roztieradla sú zdrsnené. Trecie misky slúžia výhradne na drvenie a rozotieranie tuhých vzoriek.

Jedinými porcelánovými nádobami, ktoré znášajú priamy ohrev v plameni, sú porcelánové tégliky (kelímky) zobrazené na obrázku 3.



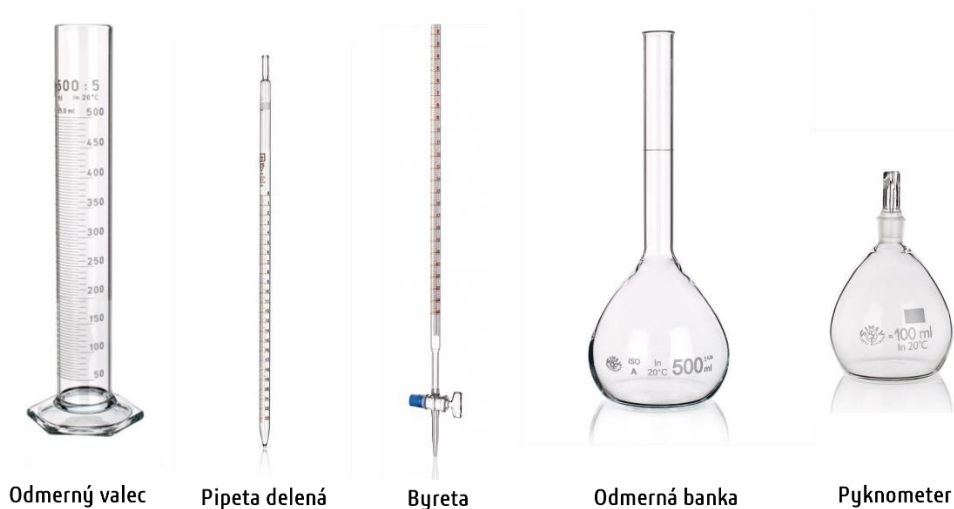
Obrázok 3 Chemické sklo – misky a kelímky.

**Lieviky** - základný tvar lievika je zobrazený na Obr. 4. Vo všeobecnosti sa lieviky používajú na prelievanie kvapalín a na jednoduchú filtráciu (filtračný lievik). Na urýchlenie filtrácie sa používajú hrubostenné lieviky s rebrovaným vnútorným povrchom kužeľa alebo veľmi úzkou stopkou (analytický lievik). **Deliacie lieviky** (podľa tvaru delené na hruškovité a guľovité) sa používajú na oddeľovanie vrstiev kvapalín, na sušenie kvapalín a na regulované prikvapkávanie reagensí (napr. kyselín). Zvláštnym prípadom je veľmi často používaný tzv. **Büchnerov lievik** (Obr. 4). Je vyrobený z porcelánu a má dierkované dno, na ktoré sa ukladá kruh filtračného papiera. S technikou práce s ním sa oboznámime pri ďalších cvičeniach. V súčasnej dobe ich funkciu často preberajú tzv. **frity**, t.j. sklenené lieviky podobného tvaru, ktoré majú dno zo sintrovaného skla, ktoré samo tvorí filtračný materiál (Obr. 4).



Obrázok 4 Chemické sklo – lieviky a frity.

Na odmeriavanie objemu kvapalín sa používajú sklenené nádoby určené na tento účel. K týmto nádobám patria hrubostenné odmerné valce (Obr. 5) na približné odmeriavanie objemu a tenkostenné nádoby, ako sú pipety, byrety a odmerné banky na presné meranie objemu (Obr. 5). Bližšie informácie o práci s týmito nádobami sú v kapitole 4. Príbuzné tejto skupine nádob sú tiež pyknometre (Obr. 5), nádoby slúžiace na meranie hustoty kvapalín.



Obrázok 5 Chemické sklo – odmerné.

**Exsikátor** je hrubostenná dvojdielna nádoba so zabruseným vekom, ktorá sa používa na vysušovanie preparátov alebo na uschovávanie hygroskopických látok. Zosilnenie účinku sušenia je možné dosiahnuť znížením tlaku v exsikátore. Takto upravený exsikátor označujeme ako vákuový exsikátor (Obr. 6). Spodný priestor exsikátora obsahuje náplň a býva oddelený od hornej časti perforovanou porcelánovou vložkou. Ako náplň do exsikátora sa používajú látky, ktoré udržiavajú v prostredí nízky tlak vodnej pary - napr. chlorid vápenatý, tuhý hydroxid sodný alebo draselný, silikagél a oxid fosforečný. Na cvičení sú exsikátory už pripravené na použitie. Sami do nich vkladáme len vzorky a s náplňou nemanipulujeme. Na čistenie plynov slúžia **premývačky** (Obr. 6), s ktorými sa taktiež oboznámime neskôr počas cvičení.



Obrázok 6 Špeciálne sklenené nádoby.

Na uskladňovanie chemikálií sa používajú rôzne fľaše. Podľa šírky hrdla sa zásobné fľaše delia na *reagenčné fľaše*, ktoré majú úzke hrdlo a v ktorých uchovávame kvapaliny, a tzv. *prachovnice* (širokohrdlé), v ktorých uchovávame tuhé látky (Obr. 7). Fľaša s tubusom pri dne tzv. fľaša podľa Woulffa (Obr. 7) sa používa ako zásobná fľaša na vodu a etanol. Na uchovávanie menšieho množstva látok alebo produktov sa používajú *vialky* rôznych veľkostí.



Obrázok 7 Chemické sklo – na uskladňovanie chemikálií.

### 3.1.4 Kovové pomôcky

Pri zostavovaní aparátúr pracujeme so *stojanom*, pričom na zvislé tyče stojanov pripevňujeme kruhy alebo držiaky pomocou svoriek (Obr. 8). Na *kovové kruhy* spravidla umiestňujeme *keramické sieťky* (Obr. 8), na ktoré kladieme kadičky alebo banky v prípade ich zohrievania kahanom. Kruhy nesmieme nikdy zameniť za filtračné kruhy, ktoré sú obložené drevenou vložkou a slúžia na držanie lievika pri filtrácii alebo oddeľovacieho lievika pri rozvrstvovaní alebo delení kvapalín. Kruh na stojane môže byť nahradený *trojnožkou* (Obr. 8). Na upevnenie sklenených častí malého priemeru slúžia *lapáky* (Obr. 8), na väčšie priemery používame *chladičové lapáky* (Obr. 8). Lapáky sa nesmú nikdy dotýkať sklenených častí aparatúry priamo kovom. Bývajú preto obložené korkom alebo potiahnuté gumovou hadicou. Pri zostavovaní akejkoľvek aparatúry musíme dbať na to, aby v aparatúre nenastalo pnutie, ktoré by nevyhnutne, najneskôr pri zahriatí, viedlo k prasknutiu niektorej zo sklenených súčastí.



Obrázok 8 Kovové pomôcky.

V laboratóriu sa stretávame s niekoľkými druhmi plynových kahanov. Starším typom je *Bunsenov kahan*, novšie sú *Tecluho a Mékerov kahan* (Obr. 9). Tieto kahaný sa líšia rozmermi a najmä spôsobom prívodu vzduchu a jeho miešania s plynom. Na Bunsenovom kahane sa prívod vzduchu regulujeme priamo otáčaním pohyblivého prstenca, ktorý odkrýva alebo zakrýva otvory v telese kahana. Podobným spôsobom (prstencom väčšieho priemeru a s viacerými otvormi) je riešený prívod vzduchu v Meckerovom kahane. Prívod plynu sa v oboch týchto typoch reguluje priamo kohútikom plynového vedenia. Na Tecluho kahane reguluje prívod vzduchu kotúč umiestnený na spodnej časti kahana. Otáčaním tohto kotúča sa zväčšuje alebo zmenšuje štrbina, ktorou je nasávaný vzduch. Prívod plynu možno u tohto typu kahana upraviť regulačnou skrutkou.



Obrázok 9 Rôzne druhy kahanov.

Na zahrievanie hlavne destilačných baniek s guľatým dnom, pri ktorom je potrebné zaručiť rozvod dodávaného tepla po čo najväčšom povrchu, sa v minulosti používali hlavne pieskové a olejové kúpele. Na cvičeniach budeme používať aj ich moderných nástupcov výhrevné tzv. *topné hniezda* (Obr. 10). Tie sa využívajú aj vtedy, ak pracujeme s roztokmi ktoré sú horľavé

a použitie otvoreného plameňa by bolo nebezpečné. *Topné hniezdo* je elektrický varič, na ktorom je elektricky vyhrievaná špeciálna tkanina vytvarovaná do tvaru spodnej časti destilačnej banky, takže dochádza k rovnomernému ohrevu jej obsahu. Na takomto hniezde možno okrem regulácie príkonu pomocou regulátora potenciometra tlačidlami regulovať aj zohrievanie spodnej alebo hornej časti banky pomocou tlačidiel na to určených. Pri práci s topnými hniezdami je potrebné dodržiavať postup uvedený pri každej úlohe. Je dôležité, aby vyhrievaná tkanina neprišla do styku s kvapalinou. Pokiaľ by sa pri nejakej nehode do hniezda kvapalina vyliala alebo vystriekla, ihneď prístroj vypneme a upovedomíme laboranta.



Topné hniezda

Obrázok 10 Topné hniezda s rôznym tvarom a spôsobom regulácie.

### 3.1.5 Váhy

Nevyhnutným vybavením každého chemického laboratória sú váhy, ktoré slúžia na meranie hmotnosti a tým umožňujú kvantitatívne sledovanie priebehu a výsledku experimentálnych prác v chemickom laboratóriu. Podľa povahy práce a požiadaviek na presnosť váženia sa v chemických laboratóriách používajú rôzne druhy mechanických a elektronických váh.

Váhy sú veľmi citlivé prístroje. Musia byť umiestnené v samostatných miestnostiach (váhovne), alebo na špeciálnych stoloch alebo konzolách so zaistením proti otrasom. Musia byť tiež chránené pred agresívnymi účinkami chemikálií, prašnosťou, priamym dopadom slnečného svetla a tepla.

*Elektronické váhy* (Obr. 11) alebo staršie *rýchlováhy* sú jednomiskové technické váhy, ktoré sa používajú na rýchle, orientačné váženie s presnosťou váženia na 10 prípadne 1 mg a s odčítaním hmotnosti priamo na svetelnej stupnici alebo na displeji. *Analytické váhy* (Obr. 11) sa v podstate skladajú z tých istých súčastí ako technické váhy, avšak na rozdiel od rýchlováh sú citlivejšie a vážia s vyššou presnosťou váženia (obvykle 0,1 mg). Uložené sú vždy v zasklenej skrinke a ideálne je, ak sú položené na váhovom stolíku, ktorý tlmí otrasy pre presnejšie váženie. V prípade mechanických analytických váh sa závažia pridávajú vo forme krúžkov na priečne rameno vahadla a optické zariadenie umožňuje odčítať hmotnosť priamo na svetelnej stupnici. V prípade digitálnych váh, odčítame hmotnosť priamo z displeja.



Elektronické váhy s rôznou presnosťou váženia

Analytické váhy

Obrázok 11 Rôzne typy váh.

## 4. Základné práce v chemickom laboratóriu

### 4.1 Práca s kahanom

Pri zapáľovaní kahana je potrebné dbať na to, aby bol prívod vzduchu uzatvorený. To sa reguluje krúžkom v spodnej časti kahana (dierky musia byť uzatvorené). Inak totiž môže plameň začať horieť nie hore pri ústí kahana, ale vo vnútri kahana pri ústí trysky plynu. Tento jav, ktorému sa hovorí „kahan horí vo vnútri“, poznáme podľa zvláštneho syčivého zvuku a zeleno zafarbeného plameňa. Pokiaľ k tomu dôjde, je potrebné okamžite kahan zhasnúť a zapáliť ho znovu až po vychladnutí. Ak by sme nedopatrením nechali plameň horieť „vo vnútri“ dlho, celý kahan sa rozohreje. V krajnom prípade sa môže vznietiť i prírodná hadica a hrozí nebezpečie výbuchu.

Potom otočíme ventilom na prívod plynu (stlačíme dole a pootočíme) a priložíme k ústiu kahana zápalku alebo zapáľovač. Pozorujeme svietivý plameň. Otvorením dierok na kahane (regulujeme prívod vzduchu) sa plameň zmení na nesvietivý s vyššou teplotou.

Opatrnosť je potrebné zachovať aj pri regulácii plameňa. Ak by sme nastavili slabý prívod plynu a celkom otvorili prívod vzduchu, môže „skočiť dovnútra“ aj plameň správne zapáleného kahana.

Pri vypínaní kahana prívod vzduchu znova zavrieme a až potom vypneme prívod plynu. Vizuálne si overíme, či kahan naozaj zhasol. Pri nesprávnom vypnutí môže kahan ešte chvíľku horieť a môžeme sa popáliť.

### 4.2 Práca s váhami

#### Zásady váženia na technických a analytických váhach:

1. Vážený predmet ukladáme vždy na stred misky.
2. Látku nikdy nekladíme priamo na miskú váh. Vážime: tuhé látky (neprchavé, nevlhnuce, nie mokré, nie horúce) v otvorených odvažovačkách, na lodičkách, na hodinovom skle a pod., prchavé a hygroskopické látky v uzatvorených odvažovačkách, silne korozívne látky v zatavených ampulkách.
3. V školských laboratóriách sa môžeme stretnúť s váhami mechanickými alebo elektronickými. Pri práci s mechanickými váhami sa každá manipulácia robí pri zaaretovaných váhach. **Pred vážením na mechanických aj na elektronických váhach skontrolujeme nulovú polohu váh.** Nulová poloha váh je miesto na stupnici, okolo ktorého sa pohybuje a nakoniec ustáli ukazovadlo vahadla pri nezaťažených mechanických váhach a v prípade elektronických váh sa na displeji ukáže hodnota 0.00; 0.000 alebo 0.0000 v závislosti od toho s akou presnosťou Vami používané váhy vážia.

4. Vždy si tiež na váhach skontrolujeme váživosť váh, teda do akej hmotnosti môžeme váhy použiť, aby sme ich nezničili.
5. Na mechanických váhach pri pridávaní závažia postupujeme vždy od ťažšieho závažia k ľahšiemu pri opatrnom čiastočnom odaretovaní. Pri vážení postupujeme tak, že najprv si na technických váhach odvážime približnú hmotnosť prázdnej nádoby, ktorú sme sa rozhodli na váženie použiť, potom jej presnú hmotnosť dovážime na analytických váhach. Približnú hmotnosť potrebnej látky opäť najprv odvážime na technických váhach a následne presne dovážime na analytických váhach.
6. V prípade použitia elektronických váh najprv odvážime prázdnu nádobu, ktorú sme sa rozhodli na váženie použiť, stlačíme tlačidlo "Tare" a následne navážime potrebnú hmotnosť látky.
7. Počas experimentálnej práce všetky váženia robíme na tých istých váhach, aby sme minimalizovali vnášanie prístrojových chýb do výpočtov.
8. Nečistoty z misiek váh odstraňujeme jemným štetcom.

### 4.3 Čistiace a deliace metódy

Čistiace a deliace metódy sa používajú na delenie fáz zo sústav: tuhá - kvapalná fáza, tuhá - plynná fáza, kvapalná - kvapalná fáza, alebo na izoláciu určitej zložky z fázy. Fáza je súčasť sústavy látok charakterizovaná v celom objeme rovnakými makroskopickými vlastnosťami (index lomu, hustota, koncentrácia, atď.). Keď systém tvorí jedna fáza, je to homogénny systém, v ostatných prípadoch je to systém heterogénny. Jednozložková fáza sa volá fáza čistá, viaczložková fáza je zmesná (roztok). Na izoláciu a čistenie chemických látok slúžia metódy fyzikálne a chemické.

#### 4.3.1 Filtrácia

Filtrácia je jednou zo základných metód delenia heterogénnych zmesí. Je to oddeľovanie dvoch fáz pomocou priepustného materiálu, ktorý dovoľuje prechod len jednej z oboch fáz. Obvykle rozumieme pod pojmom filtrácia oddeľovanie tuhej fázy od kvapalnej alebo plynnej. V prvom prípade hovoríme o filtrácii kvapalín, v druhom o filtrácii plynov. V laboratóriu je najčastejšia filtrácia kvapalín. Kvapalinu zbavujeme filtráciou mechanických nečistôt, alebo izolujeme zo sústavy tuhú zložku, napr. pri kryštalizácii. Princíp takejto filtrácie je v tom, že suspenzia (tuhá fáza rozptýlená v kvapalnej fáze) sa preleje cez pórovitý materiál – **filter**. Tuhé čiastočky sa zachytávajú na filtri, zatiaľ čo kvapalina – **filtrát** – cez filter pretečie. Ako filtračný materiál sa používa filtračný papier, pórovitý porcelán alebo sklo, sklenené vlákna a iné. Rýchlosť filtrácie závisí od veľkosti pórov filtra, od veľkosti zŕn filtrovanej látky, od viskozity kvapaliny, od veľkosti účinnej plochy a od rozdielu tlakov nad a pod filtrovanou kvapalinou.

Najbežnejším filtračným materiálom je filtračný papier, ktorý môže mať rôzne veľkosti pórov. Filtračné papiere sa označujú rôznym spôsobom v závislosti od toho, aká firma produkt ponúka. Firmy rozlišujú filtračné papiere číslom, farebným označením alebo kódom, ktoré v sebe

zahŕňajú plošnú hmotnosť, filtračnú rýchlosť alebo veľkosť zachytávaných častíc. V nižšie uvedenom texte sú uvedené príklady niektorých označení, ktoré sa používajú v súčasnosti:

Typ s označením (Gr. = Grade)

**Gr.1** alebo 1 - záchyt častíc o veľkosti **11  $\mu\text{m}$**  je určený pre rutinné aplikácie, ako je analýza pôd, detekcia plynov popr. znečistenie ovzdušia.

**Gr.2** alebo 2 - záchyt častíc o veľkosti **8  $\mu\text{m}$**  je určený pre sledovanie znečistených látok v atmosfére.

**Gr.3** alebo 3 - záchyt častíc o veľkosti **6  $\mu\text{m}$**  je určený pre filtráciu za zníženého tlaku pomocou Büchnerovho lievika.

**Gr. 40** alebo 40 - záchyt častíc o veľkosti **8  $\mu\text{m}$**  je papier so strednou veľkosťou pórov a strednou rýchlosťou filtrácie pre bežné gravimetrické analýzy.

**Gr. 41** alebo 41 - záchyt častíc o veľkosti **20–25  $\mu\text{m}$**  je papier s vysokou filtračnou rýchlosťou pre prácu s gélovými zrazeninami ako sú hydroxidy železa a hliníka.

Typ s označením KA

**KA 1 (červené označenie)** - rýchla filtrácia (**15 s**). Určený na filtráciu hrubých vložkovitých vzoriek.

**KA 2 (žlté označenie)** - rýchla filtrácia (**32 s**). Určený pre analytické práce.

**KA 3 (fialové označenie)** - pomalšia filtrácia (**70 s**). Určený na rýchlu filtráciu jemných vzoriek, rutinné laboratórne práce, hrubšie vzorky.

**KA 4 (modré označenie)** - pomalá filtrácia (**130 s**). Určený na filtráciu jemných vzoriek,  $\text{BaSO}_4$ ,  $\text{Ca(OH)}_2$ ,  $\text{CaF}_2$ .

**KA 5 (zelené označenie)** - záchyt častíc väčších ako **3  $\mu\text{m}$** . Určený na filtráciu jemnozrnných vzoriek, za studena zrážaný  $\text{BaSO}_4$ , pre kyslé a jemne zásadité roztoky.

Na filtráciu možno okrem filtračného papiera použiť aj tzv. fritový lievik (Obr. 4, str. 26). Fritové lieviky a filtračné tégly s fritovou vložkou sú odstupňované podľa veľkosti pórov so symbolmi **S1–S4** na stene téglyka. Najväčšie póry majú výrobky označené **S1**. Pre biologické účely sa vyrábajú frity s veľmi malými pórmi s označením **S5**.

Podľa rozdielu použitého tlaku nad filtrovanou suspenziou a pod filtrom rozlišujeme:

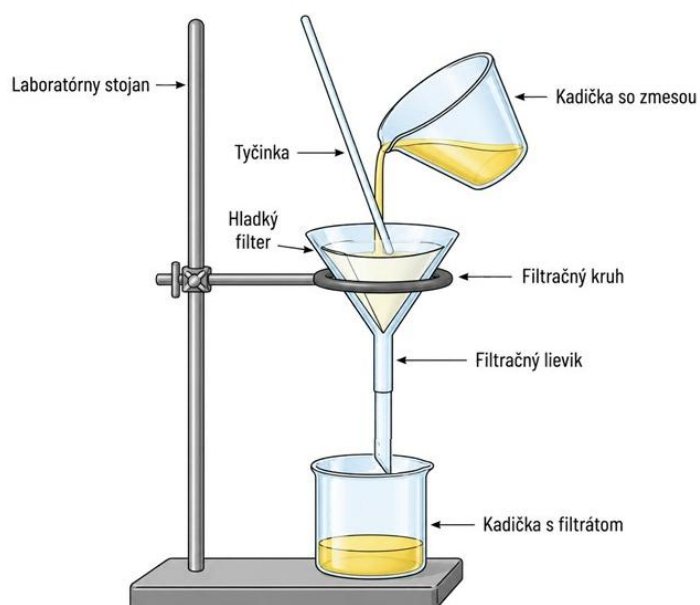
- ✓ filtráciu pri atmosférickom tlaku,
- ✓ filtráciu pri zníženom tlaku (pod filtrom),
- ✓ filtráciu pri zvýšenom tlaku (nad filtrovanou suspenziou - napr. kalolisy v priemysle).

## Filtrácia za atmosférického tlaku

Aparatúra používaná na filtráciu pri atmosférickom (nezmenenom) tlaku je znázornená na Obr. 12. Veľkosť a typ skleneného lievika volíme podľa množstva filtrovanej suspenzie alebo zrazeniny a podľa druhu chemickej práce. Na filtráciu pri atmosférickom tlaku sa používa hladký alebo skladaný filter.

*Hladký filter* sa pripraví tak, že kruh filtračného papiera preložíme na štvrtiny a roztvoríme na kužeľ (Obr. 13). Veľkosť filtračného papiera upravujeme tak, aby siahal 0,5 - 1 cm pod okraj lievika (Obr. 12). Filter vložíme do lievika, ktorý pred filtráciou zvlhčíme destilovanou vodou a pritlačíme, aby prilnul na steny lievika. Pri filtrácii sa má šikmo zrezaný koniec stopky lievika dotýkať steny nádoby (kadičky) (Obr. 12), do ktorej vyteká filtrát. Suspenzie sa lejú na filter pomocou tyčinky, ktorá sa zľahka dotýka trojitej steny filtra. V prvých podieloch sa na filter nalieva najprv číry roztok (maximálne 1 cm pod okraj filtra) a až s poslednými podielmi sa spláchne na filter zrazenina.

*Zrazeninu* na filtri splachujeme a premývame pomocou plastickej striekačky. Tento druh filtrácie volíme vtedy, ak budeme ďalej pracovať s tuhou odfiltrovanou látkou (zrazeninou), ak je potrebné kvantitatívne zistiť jej množstvo.

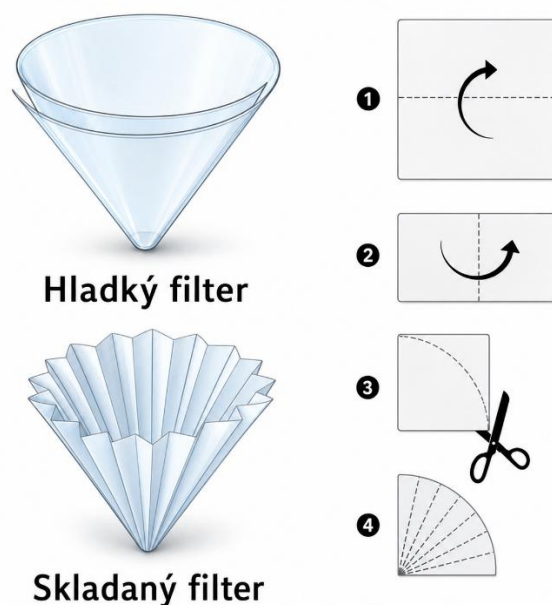


Obrázok 12 Schéma filtračnej aparatúry.

Ak budeme v ďalšej práci potrebovať filtrát, je výhodné použiť *skladaný (francúzsky) filter* (Obr. 13), pri ktorom je účinná filtračná plocha väčšia a filtrácia rýchlejšia. Tento druh filtrácie sa používa aj pri filtrovaní horúcich nasýtených alebo takmer nasýtených roztokov, pretože pri

pomalšom filtrovaní cez hladký filter by mohlo dôjsť ku kryštalizácii produktu už na filtri alebo v stopke lievika.

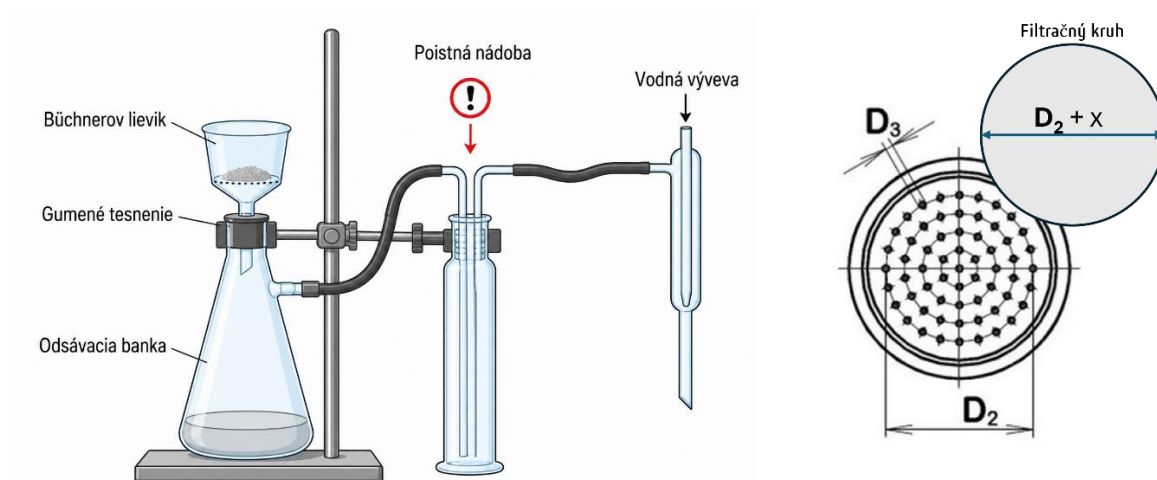
V niektorých prípadoch treba filtrovať nasýtené roztoky za horúca. Aby sa predišlo kryštalizácii na filtri, lievik sa môže vopred zohriať v sušiarňi. Pri filtrácii treba dbať na to, aby bol filtrovaný roztok ustavične horúci. To sa dá dosiahnuť aj pomocou vyhrievaných lievikov, pri ktorých sa lievik s filtrom vkladá do kužeľovitého plášťa z medeného plechu alebo špeciálne stočenej špirály, ktorou prúdi horúca voda, resp. sa voda v plášti zohrieva elektricky.



Obrázok 13 Druhy filtrov a postup ich prípravy.

### Filtrácia pri zníženom tlaku

Rýchlosť filtrácie sa zvýši zväčšením rozdielu tlaku nad a pod filtrom. Aparatúra na filtráciu pri zníženom tlaku je na Obr. 14. Tento spôsob filtrácie je vhodný najmä na izolovanie väčšieho množstva kryštalických látok, pretože gélovité a amorfne látky upchávajú póry filtračného papiera a vzniká málo priepustný **filtračný koláč**. Filtračné zariadenie sa skladá z odsávacej banky pripojenej k vodnej alebo rotačnej olejovej výveve, z Büchnerovho lievika a filtra. Medzi odsávaciu banku a vývevu obyčajne vkladáme poistnú nádobu.



Obrázok 14 Aparatúra na filtráciu za zníženého tlaku.

Pracovný postup pri filtrácii za zníženého tlaku:

1. Najprv na odsávaciu banku nasadíme pomocou tesnenia Büchnerov lievik.
2. Do lievika vložíme okrúhly *filtrovaný papier* tak, aby práve zakryl všetky otvory na jeho dne, a súčasne nebol na stenách lievika (Obr. 14). Filter navlhčíme rozpúšťadlom, ktoré práve používame.
3. Pustíme vodnú vývevu až potom pripojíme odsávaciu banku.
4. Roztok spolu s kryštalickým produktom nalejeme po tyčinke na filter. Ak je to potrebné, látku na filtri premyjeme.
5. Ak zo stopky lievika prestane odkvapkávať roztok, pokračujeme v odsávaní ešte niekoľko minút, aby sa produkt čiastočne vysušil prúdom vzduchu.
6. Potom odpojíme hadicu od odsávacej banky **a až nakoniec zastavíme vodnú vývevu.**
7. Odfiltrovaný produkt z lievika vysypeme na hodinové sklíčko, v prípade jemných zrazenín ho vyberieme aj s filtrovaným papierom.

Namiesto Büchnerovho lievika možno použiť aj fritové lieviky alebo filtračné tégliky. Tie sa používajú na filtráciu roztokov, ktoré by s filtrovaným papierom reagovali (napr.  $\text{KMnO}_4$ , kyslé roztoky) alebo pri presných syntézach.

### Dekantácia, sedimentácia, odstredovanie

Filtráciu často kombinujeme s **dekantáciou** a **odstredovaním**. *Dekantácia* je úplné vymytie rozpustných nečistôt zo zrazeniny pôsobením gravitácie. Je to najjednoduchší spôsob oddeľovania tuhej fázy od kvapalnej. Postupujeme tak, že zrazeninu necháme usadiť - *sedimentovať*, roztok nad zrazeninou opatrne odlejeme a znova dolejeme čisté rozpúšťadlo (vodu). Zrazeninu dôkladne premiešame a necháme usadiť. Tento postup niekoľkokrát opakujeme. Dekantáciu možno použiť pri zrazeninách, ktoré dobre sedimentujú. Pri zvýšených nárokoch na delenie sa môže použiť **odstredovanie (centrifugácia)**, kde usadzovaniu zrazeniny (oddeľovaniu tuhej fázy od kvapalnej) pomáha odstredivá sila. Roztoky v centrifugačných skúmavkách sa vkladajú do centrifúgy tak, aby boli protiľahlé skúmavky presne vyvážené.

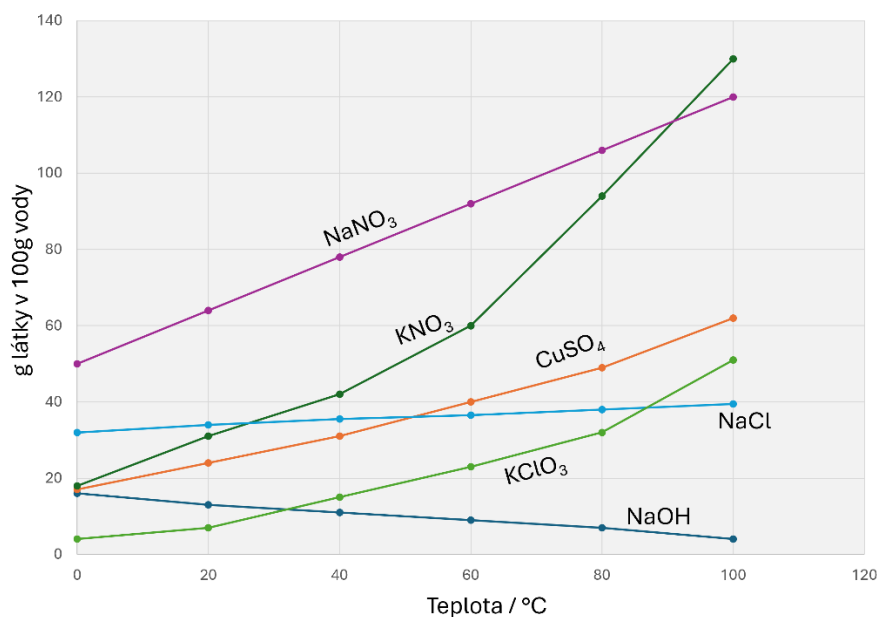
Centrifugačné skúmavky musia mať hruškovité alebo pologuľaté dno, aby pri preťažení nepraskli.

## Kryštalizácia

*Kryštalizácia* je vylučovanie rozpustnej látky z roztoku na základe rozdielnych rozpustností za rôznych teplôt, alebo v dvoch rôznych rozpúšťadlách. Kryštalizáciou získavame tuhú látku z roztoku alebo taveniny v podobe kryštálov. Je jednou z najpoužívanějších metód slúžiacich na čistenie látok. Nečistoty zostávajú v kvapalnej fáze.

Rozpúšťaná látka sa rozpúšťa v rozpúšťadle len do určitej hodnoty pri danej teplote a vytvára nasýtený roztok. Množstvo látky v gramoch rozpustenej v 100 g roztoku alebo v 100 g ( $100\text{ cm}^3$ ) rozpúšťadla za danej teploty nazývame rozpustnosťou. **Rozpustnosť** teda udáva najväčšiu koncentráciu, ktorú môže látka v rozpúšťadle za stanovených podmienok dosiahnuť.

Závislosť rozpustnosti tuhých látok na teplote je rôzna, pri väčšine látok sa so zvyšujúcou teplotou zvyšuje, pri niektorých sa takmer nemení, alebo dokonca sa znižuje (Obr. 15). Rozpustnosť látok je uvádzaná v chemických tabuľkách pri rôznych teplotách a túto závislosť je dobre si všimnúť.



Obrázok 15 Závislosť rozpustnosti na teplote pre rôzne látky.

Roztok, z ktorého chceme kryštalizáciou získať určitú látku, pred vlastnou kryštalizáciou zvyčajne upravujeme. Rozpustné nečistoty, ak je to možné, odstránime chemicky (napr. vyzrážaním). Nerozpustné nečistoty sa odfiltrujú. Z takto upraveného roztoku čiastočným odparením rozpúšťadla pri zvýšenej teplote získame **nasýtený roztok**. Nasýtený roztok je taký, v ktorom sa utvorí rovnovážny stav, t.j. za časovú jednotku sa vylúči rovnaké množstvo látky, ako sa jej v roztoku rozpustí (dynamická rovnováha). Tento roztok spoznáme podľa toho, že na povrchu hladiny sa vytvorí tzv. *kryštalizačná blana* (tenká vrstva), vytvorená z drobných

kryštálov vylučujúcich sa na chladnejšej hladine. Veľkosť kryštálov je daná rýchlosťou a spôsobom ochladzovania, resp. odparovania nasýteného roztoku. Podľa toho rozoznávame:

1. **kryštalizáciu prerušovanú**: horúci nasýtený roztok náhle ochladíme, rýchlosť vytvárania kryštálov je veľká, kryštály budú drobné (Obr. 16),
2. **kryštalizáciu voľnú**: horúci nasýtený roztok necháme pomaly ochladnúť (prípadne z nasýteného roztoku za obvyčajnej teploty necháme voľne odparovať rozpúšťadlo). Získané kryštály sú lepšie vyvinuté a väčšie (Obr. 16).



Prerušovaná kryštalizácia



Voľná kryštalizácia

Obrázok 16 Tvar a veľkosť kryštálov pri rôznych typoch kryštalizácie.

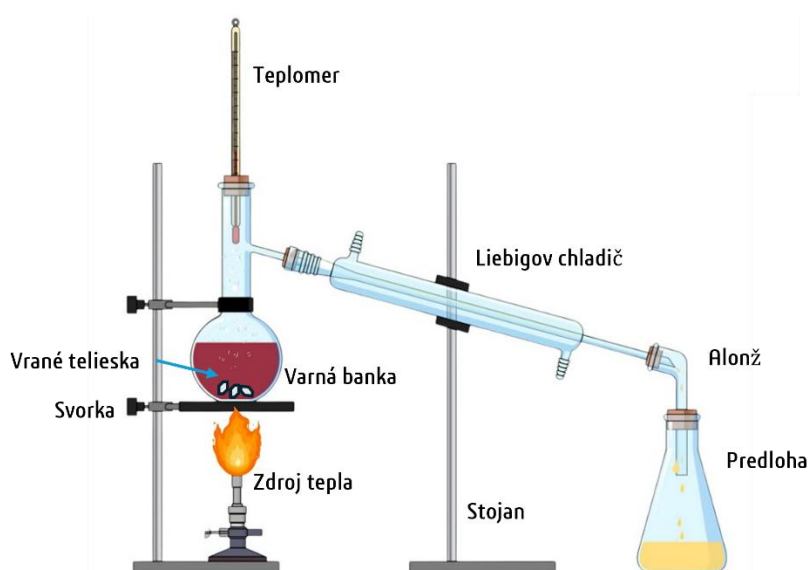
Vylúčené kryštály oddelíme od roztoku (matečného lúhu) odfiltrovaním, premyjeme vhodnou premývacou tekutinou a vysušíme. **Presýtený roztok** z nasýteného môžeme získať nielen zmenou teploty alebo odparovaním rozpúšťadla za konštantnej teploty - **izotermickým odparovaním** (**izotermická kryštalizácia**), ale aj **pridaním iného rozpúšťadla**, napr. pridaním etylalkoholu. V niektorých prípadoch, najmä ak používame dokonale čisté roztoky a hladké nádoby, udržiava sa dlhší čas presýtený nekryštalizujúci roztok. Začiatok kryštalizácie urýchlíme tzv. **očkovaním roztoku**, t.j. pridaním niekoľkých kryštálikov danej látky. Vysokú čistotu látky dosiahneme opakovanou kryštalizáciou - **rekryštalizáciou**.

#### 4.3.2 Destilácia

**Destilácia** je čistiaca metóda, ktorá sa používa na oddeľovanie jednotlivých zložiek z kvapalných zmesí na základe ich rozdielnej teploty varu. Kvapalná zmes sa zahreje do varu a vzniknutá para kondenzuje. Prchavejšie zložky kvapalnej zmesi obohacujú zloženie pary, takže plynná fáza bude mať iné zloženie, ako kvapalná zmes. Jednoduchou jednostupňovou destiláciou nie je možné dokonale oddeliť jednotlivé zložky kvapalnej zmesi. Preto sa namiesto jednoduchšej destilácie používa **frakčná destilácia**. Podľa povahy kvapalnej zmesi sa v laboratóriu volí postup destilácie. Kvapaliny, ktoré sú dostatočne prchavé a so zvyšovaním teploty sa nerozkladajú, čistíme destiláciou pri atmosférickom tlaku (jednoduchou destiláciou).

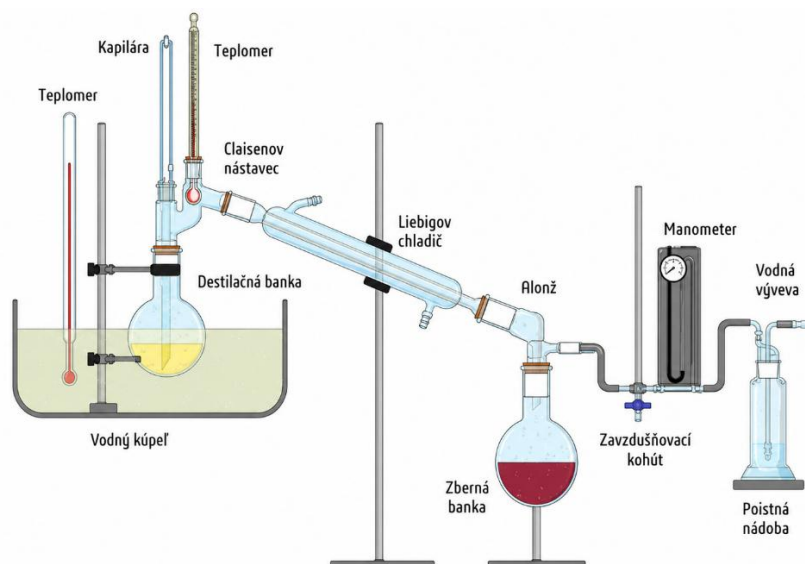
Ak chceme dosiahnuť dôkladné rozdelenie zmesi dvoch kvapalín jedinou destiláciou na jednoduchej aparátúre, musia sa ich teploty varu líšiť aspoň o 50 °C a destilované látky nesmú vytvárať **azeotropné zmesi** (zmesi s konštantnou teplotou varu, ktoré majú rovnaké zloženie pary a kvapaliny).

**Teplota varu** je taká teplota, pri ktorej sa tlak nasýtených pár kvapaliny rovná vonkajšiemu tlaku. Každá destilačná aparátúra má tri základné časti: varnú (destilačnú) banku, chladič a predlohu (Obr. 17). Na kontrolu teploty je vo varnej banke zasunutý teplomer tak, aby spodný koniec teplomera meral teplotu pár pri prechode z varnej banky do chladiča. Voda v chladiči musí prúdiť vždy zdola nahor. V chladiči dochádza ku kondenzácii pár, ktoré stekajú do predlohy.

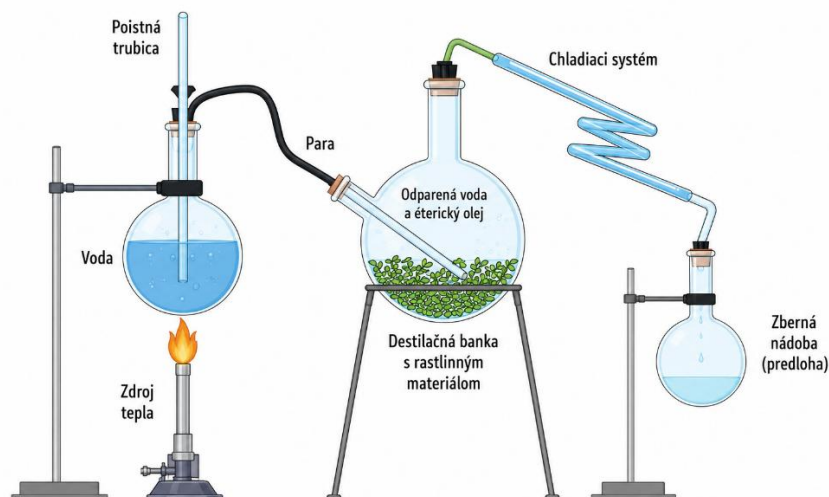


Obrázok 17 Schéma laboratórnej destilačnej aparátúry za atmosférického tlaku.

V dokonale hladkých nádobách pri zahrievaní kvapalín vzniká **utajený var**. Vznikne prehriatím kvapaliny o niekoľko stupňov nad jej teplotu varu, pretože v kvapaline nie je prítomný vzduch, ktorý by pary kvapaliny vynášal pravidelne na povrch. Náhodný popud vyvolá prudký var. Na zabránenie utajeného varu vkladáme do kvapaliny malé pórovité telieska, tzv. **varné telieska** - úlomky porcelánu, sklenené guľičky, ktoré sú obklopené veľkým povrchom a vnášajú dost' vzduchu do kvapaliny. Ak je jedna zo zložiek nestála pri vyššej teplote, používa sa **destilácia pri zníženom tlaku** (Obr. 18). **Destilácia s vodnou parou** (Obr. 19) sa používa na oddelenie látok s podstatne vyššou teplotou varu ako má voda, pretože by mohol nastať nežiadúci rozklad.



Obrázok 18 Schéma destilačnej aparatury pri zníženom tlaku.



Obrázok 19 Schéma destilačnej aparatury vodnou parou.

### 4.3.3 Extrakcia

Pri príprave organických látok v chemickom laboratóriu je po ukončení reakcie nevyhnutné z reakčnej zmesi získaný produkt izolovať. Tento proces sa zvyčajne nazýva **spracovanie reakčnej zmesi** („work-up“) a zahŕňa jednoduchú izoláciu produktu z reakčnej zmesi, odstránenie rozpúšťadla a spotrebovaných reagensí. Nezahŕňa však žiadne čistenie produktu. To sa vykonáva až následne, najčastejšie pomocou stĺpcovej chromatografie. Pri výbere vhodného postupu pre spracovanie reakčnej zmesi by sme mali vždy zohľadňovať vlastnosti predpokladaného vzniknutého produktu, ako sú:

- ✓ *prchavosť* – treba dávať pozor na to, aby sme produkt neodparili spolu s reakčným rozpúšťadlom

- ✓ *polarita* – ak predpokladáme, že náš produkt môže byť dobre rozpustný vo vode, nie je vhodné použiť pre spracovanie extrakciu do vodnej fázy
- ✓ *chemická reaktivita* – voči vode, kyselinám a zásadám a opäť extrakciu do vodnej fázy nemusí byť vhodná
- ✓ *tepelná stabilita* – ak je produkt tepelne nestabilný nemusí byť vhodné použitie destilácia
- ✓ *citlivosť na vzduchu* – ak je produkt citlivý na prítomnosť vzduchu, vyžaduje sa špeciálna manipulácia

Ak je produkt kvapalný, môže byť izolovaný s využitím frakčnej destilácie celej reakčnej zmesi, avšak je potrebná opatrná destilácia, aby sa produkt oddelil od reakčného rozpúšťadla a iných prchavých látok prítomných v surovej reakčnej zmesi. Kvapalný produkt bude zvyčajne potrebné ďalej čistiť redestiláciou. Niekedy sa stane, že očakávaný produkt z reakčnej zmesi vykryštalizuje ako pevná látka. V tomto prípade spracovanie reakčnej zmesi pozostáva z filtrácie za zníženého tlaku, kedy oddelíme kryštalický produkt od rozpúšťadiel. Pokiaľ sa produkt nepoužije ihneď do ďalšej reakcie, spravidla sa ešte prečistí, napríklad rekryštalizáciou z vhodného rozpúšťadla. Vo väčšine prípadov však spracovanie organických chemických reakcií zahŕňa prídanie vody alebo ľadovej vody do reakčnej zmesi. Niekedy sa môže stať, že kryštalický produkt je možné oddeliť už v tomto štádiu pomocou vákuovej filtrácie, avšak omnoho pravdepodobnejšie je, že produkt bude potrebné izolovať z vodnej zmesi extrakciou pomocou vhodného organického rozpúšťadla, ako sú napr. dietyléter, etyl-acetát, dichlórmetán alebo chloroform. Extrakcia kvapalina-kvapalina sa vykonáva v oddeľovacom lieviku a kombináciou viacerých extrakcií, spolu s vhodným premývaním, sa získa roztok produktu v organickom rozpúšťadle. Postup spracovania sa môže v tomto štádiu upraviť prídanim extrakcie vodným roztokom kyseliny alebo zásady, čím sa uľahčí izolácia neutrálnych, kyslých alebo zásaditých produktov. V oboch prípadoch je nevyhnutné extrakčné spracovanie reakčnej zmesi ukončiť vysušením organického roztoku ( $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) a následným odparením rozpúšťadla za zníženého tlaku (rotačná vákuová odparka), čím sa získa surový produkt.

Medzi najstaršie chemické operácie historicky patrí **extrakcia**. **Extrakcia** je laboratórna metóda používaná na izoláciu látky zo zmesi jej prevedením do vhodného rozpúšťadla. V chemickom význame znamená extrakcia „vytiahnutie“ určitej látky z jednej fázy do druhej, zvyčajne z kvapaliny alebo pevnej látky do inej kvapaliny. V organickom laboratóriu ide najčastejšie o extrakciu organickej zlúčeniny z jednej kvapalnej fázy do druhej, pričom tieto dve kvapalné fázy sú zvyčajne vodný roztok a organické rozpúšťadlo. Daný typ extrakcie sa nazýva extrakcia *kvapalina-kvapalina* a nevyhnutnou podmienkou tejto techniky je, že príslušné kvapaliny musia byť navzájom nemiešateľné. S extrakciou sa stretávame aj v každodennom živote, nakoľko ju zahŕňa aj taká jednoduchá činnosť, akou je príprava šálky čaju alebo kávy. Aj v tomto prípade ide totiž o extrakciu rôznych látok z čajových lístkov alebo mletej kávy, ktoré sú zodpovedné za ich chuť, vôňu a farbu, pomocou horúcej vody.

Jednoduchá extrakcia je jednou z najčastejšie používaných metód spracovania reakcií v laboratóriách organickej syntézy, ale možno ju využiť aj na purifikáciu organických zlúčenín.

Fyzikálno-chemický princíp, na ktorom je extrakcia založená, spočíva v tom, že keď sa organická zlúčenina X umiestni do oddeľovacieho lievika spolu s dvoma nemiešateľnými kvapalinami, ako sú voda a dichlórmetán, časť zlúčeniny X sa rozpustí vo vode a časť v dichlórmetáne, predpokladajúc, že X nereaguje ani s jednou z kvapalín. Odborne povedané, zlúčenina sa „rozdelí“ resp. „rozdistribuuje“ medzi dve kvapalné fázy a presné množstvo X v každej fáze závisí od jej relatívnej rozpustnosti v príslušnej fáze. Pomer koncentrácií zlúčeniny X v každej z daných dvoch fáz sa nazýva *distribučný koeficient* alebo *koeficient rozdelenia* a je to konštanta označovaná ako K a je definovaná vzťahom:

$$K = \frac{\text{koncentrácia X v dichlórmetáne}}{\text{koncentrácia X vo vode}}$$

Je dobré mať na pamäti, že vždy je efektívnejšie extrahovať organickú látku X z vodnej fázy dvoma menšími podielmi organického rozpúšťadla ako raz jedným veľkým podielom.

Aj keď je voda takmer vždy jednou z kvapalín v procese extrakcia kvapalina-kvapalina, výber organického rozpúšťadla je pomerne široký. Vynikajúcou voľbou v praxi býva často dichlórmetán, pretože spĺňa všetky hlavné požiadavky na extrakčné rozpúšťadlo, akými sú nemiešateľnosť s vodou, hustota odlišná od hustoty vody (dichlórmetán je ťažší ako voda, má väčšiu hustotu), dobrá rozpustnosť organických zlúčenín, chemická stabilita a prchavosť (dá sa ľahko odstrániť odparením). Ideálne extrakčné rozpúšťadlo by malo byť tiež netoxické a nehorľavé, avšak tieto dve kritériá sa ťažko spĺňajú naraz.

### **Extrakčné rozpúšťadlá sa delia do dvoch skupín:**

1. Extrakčné rozpúšťadlá s hustotou menšou, ako je hustota vody - dietyléter (najčastejšie používané rozpúšťadlo vôbec), etyl-acetát a uhl'ovodíky (petroléter, pentán, toluén)

2. Extrakčné rozpúšťadlá s hustotou väčšou, ako je hustota vody – dichlórmetán, ale jeho nevýhodou je, že má vyššiu tendenciu tvoriť emulzie v porovnaní s nehalogenovanými rozpúšťadlami.

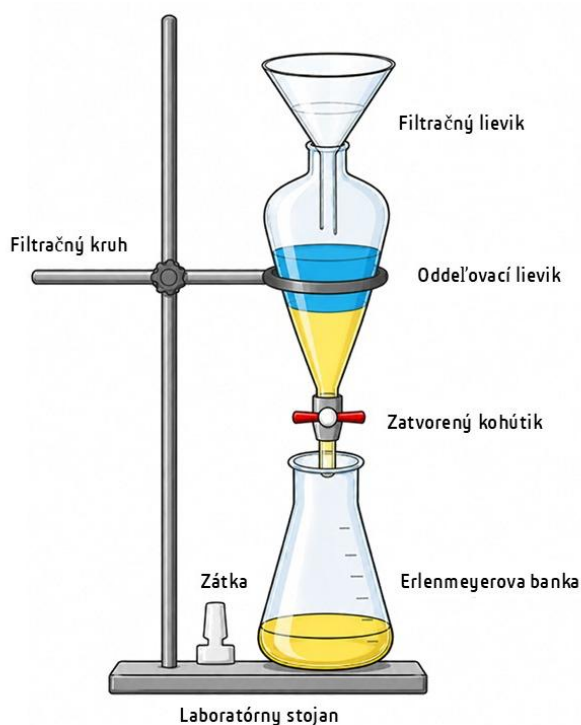
Nezávisle od toho, aký extrakčný protokol sa používa, väčšina extrakcií v organickej chémii sa vykonáva v oddeľovacích lievikoch, ktorých použitie je popísané v nasledujúcom texte, keďže sa s oddeľovacím lievikom možno stretnete po prvýkrát až na týchto laboratórnych cvičeniach.

### ***Ako používať oddeľovací lievík***

Oddeľovací lievík je najčastejšie používaným nástrojom na vykonávanie bežných extrakcií v organickej chémii a zároveň je aj jedným z najčastejšie nesprávne používaných nástrojov v laboratóriu organickej chémie. Správne zaobchádzanie s oddeľovacím lievikom si vyžaduje dôslednosť v každej fáze extrakčného a separačného procesu. S rastúcimi skúsenosťami by sa správna manipulácia mala stať automatickou a každý si časom vyvinie vlastnú techniku. Napriek tomu však existujú určité základné pravidlá, ktoré by sa mali vždy dodržiavať.

### Príprava oddeľovacieho lievika

Oddeľovací lievik je zvyčajne vyrobený z tenkého skla, a preto je potrebné s ním zaobchádzať opatrne. Najdôležitejšou časťou oddeľovacieho lievika je kohútik, ktorý môže byť buď sklenený, alebo teflónový (PTFE). V prípade, že je k dispozícii oddeľovací lievik so skleneným kohútikom, ten je pred použitím lievika vhodné ľahko namazať a použiť len toľko maziva, aby sa kohútikom dalo ľahko otáčať – príliš veľa maziva môže upchať otvor v kohútiku alebo kontaminovať organický roztok. Teflónové kohútiky sú výhodnejšie, pretože majú nízky koeficient trenia a nevyžadujú mazanie. Teflón je však pomerne mäkký a môže sa deformovať pôsobením tepla alebo tlaku. Následne sa oddeľovací lievik umiestni do kovového kruhu pripevneného k stabilnému stojanu. Ideálne by mal byť kovový držiak (kruh) pokrytý plastom, aby sa zabránilo priamemu kontaktu medzi kovom a sklom, čím sa znižuje riziko popraskania alebo rozbitia lievika. Dobré je zvyknúť si umiestniť pod oddeľovací lievik ihneď, ako sa vloží do držiaka, Erlenmeyerovu banku alebo kadičku. Je to mimoriadne dôležité, pretože po naliatí reakčnej zmesi do oddeľovacieho lievika sa môže stať, že kohútik nedostatočne tesní alebo pred naliatím kvapaliny nebol z nepozornosti uzavretý a v tom prípade nádoba zachytí prípadné úniky a zabráni nežiadúcim stratám produktu. Kompletné zostavenie aparatury pre extrakciu je zobrazené na obrázku 20. Neoddeliteľnou súčasťou oddeľovacieho lievika by mala byť vždy aj dobre priliehajúca zátku (sklenená alebo plastová) pre kužeľové sklenené hrdlo lievika. Názory na to, či by sklenená zátku mala byť namazaná alebo nie sa rôznia. Jemne namazaná zátku sa z lievika bude určite ľahšie vyberať, ale hrozí tu riziko kontaminácie produktu mazivom.



Obrázok 20 Aparatúra pre extrakciu – príprava oddeľovacieho lievika na použitie.

### Prenášanie kvapalín do oddeľovacieho lievika

Reakčná zmes, ktorá bude extrahovaná, sa do oddeľovacieho lievika so zatvoreným kohútikom (**vždy skontroluj!**) a bezpečne uchyteným v držiaku, s prázdnu nádobou pod ním, prenáša z reakčnej banky cez filtračný lievik s dlhou stopkou kvantitatívne pomocou extrakčného rozpúšťadla. Dôležité je pri tomto úkone nezabudnúť na to, že je potrebné v oddeľovacom lieviku ponechať dostatok priestoru na premiešavanie sa kvapalín. Vo všeobecnosti platí, že oddeľovací lievik by sa nemal naplňať viac než do dvoch tretín jeho objemu. Ak je objem kvapaliny, ktorú je potrebné podrobiť extrakcii veľký a k dispozícii nie je dostatočne veľký oddeľovací lievik, extrakciu je nevyhnutné vykonávať po menších dávkach.

### Pretrepávanie

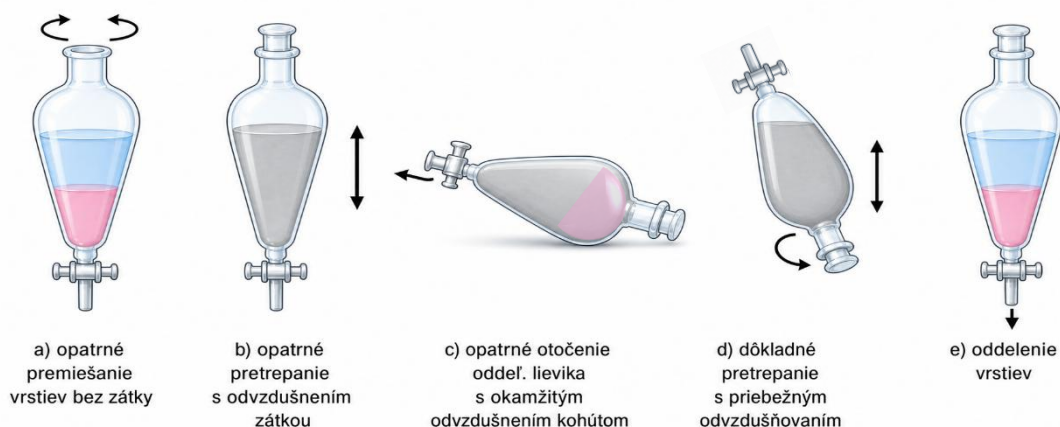
Aby bola extrakcia účinná, vodná a organická fáza sa musia dôkladne premiešať, čo sa dosiahne krúžením a pretrepávaním oddeľovacieho lievika. Po pridaní kvapalín do oddeľovacieho lievika a pred zasunutím zátky je dobré lievikom krúživým pohybom potriať. Lievik sa uchopí v jeho hornej časti, mierne sa nadvihne nad kovový kruh a jemne sa ním pokrúži. Takéto krúženie spôsobí predbežné premiešanie vrstiev. Obzvlášť je tento úkon dôležitý v prípadoch, kedy sa na extrakciu alebo neutralizáciu kyslých zložiek používa vodný roztok uhličitanu alebo hydrogenuhličitanu. Vtedy predbežné premiešanie pomáha znížiť problémy so zvyšovaním tlaku v oddeľovacom lieviku počas samotnej extrakcie v dôsledku uvoľňovania oxidu uhličitého. Po predbežnom premiešaní sa oddeľovací lievik umiestni naspäť do kovového kruhu a uzatvorí sa zátkou.

Na dôkladné premiešanie vrstiev je potrebné intenzívnejšie pretrepávanie, pričom lievik je nevyhnutné pri tomto úkone držať v rukách mimo držiaka. Každý si časom vyvinie vlastnú techniku držania oddeľovacieho lievika, avšak dôležité je dodržiavať tieto zásady:

- Držať lievik oboma rukami.
- Jednou rukou držať telo lievika a neustále mať prst na zátku.
- Druhou rukou držať lievik v oblasti kohútika, aby sa kohútik nepohol a hlavne, aby ho bolo možné rýchlo otvoriť a zatvoriť prstami.

Na vykonanie samotnej extrakcie je potrebné oddeľovací lievik z držiaka zdvihnúť, správne si ho uchopiť a otočiť ho hore dnom. Po jeho otočení hore dnom treba ihneď otvoriť kohútik, aby sa uvoľnil prebytočný tlak, keďže väčšina organických rozpúšťadiel je pomerne prchavých a ich pary vytvárajú tlak vo vnútri lievika. Z tohto dôvodu sa extrakcia nikdy nevykonáva s horúcimi roztokmi, pretože zvýšený tlak môže spôsobiť, že rozpúšťadlo vytečie alebo vystrekne von z lievika. Podobne, ako už bolo spomenuté vyššie, uvoľňovanie tlaku vo vnútri lievika je kľúčové pri extrakciách s roztokmi uhličitanu alebo hydrogenuhličitanu, pretože sa môže uvoľňovať oxid uhličitý ( $\text{CO}_2$ ). Pri uvoľňovaní tlaku z oddeľovacieho lievika nikdy nesmie hrdlo lievika smerovať na osobu, ktorá extrakciu realizuje alebo na jej kolegov. Vždy je potrebné nasmerovať ho preč od ľudí, ideálne do digestora. Po prvom uvoľnení tlaku sa kohútik zatvorí a opäť sa krúži lievikom otočeným hore dnom ešte niekoľko sekúnd. Následne sa opäť uvoľní tlak. Ak je zjavné, že vo vnútri oddeľovacieho lievika sa vytvára nadmerný tlak, treba postup krúženia a odvzdušňovania opakovať dovtedy, kým generovanie tlaku vnútri neprestane. Až potom sa oddeľovacím lievikom pretrepe. Názory na to, ako dlho treba lievikom

pretrepávať, aby sa medzi jednotlivými vrstvami vytvorila rovnováha, sa rôznia, ale vo všeobecnosti sa za dostatočné považuje uskutočnenie 20 intenzívnych pretrepaní počas 10–20 sekúnd. Aspoň raz počas pretrepávania treba lievik odvzdušniť. Pozor si však treba dávať na príliš prudké pretrepávanie, ktoré môže podporiť tvorbu emulzií. Na konci procesu pretrepávania treba znovu uvoľniť tlak, uistiť sa, že je kohútik zatvorený, a tak vrátiť oddeľovací lievik naspäť do stojana. Pod lievik sa ihneď umiestni prázdna Erlenmeyerova banka a nechá sa postáť, kým sa jednotlivé vrstvy v lieviku neoddedia [Cranwell et al., 2017; Kvíčala, 2007; Brutovská, 1987].



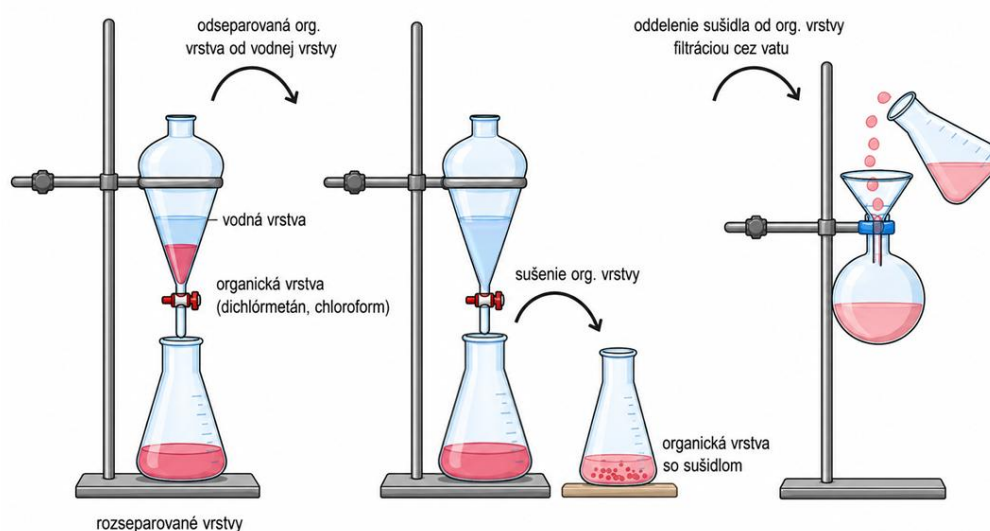
Obrázok 21 Znáznornenie postupu pretrepávania kvapalín v oddeľovacom lieviku.

### Separácia vrstiev

Ak všetko prebehne správne, v oddeľovacom lieviku sa po chvíli organická a vodná vrstva oddedia do dvoch dobre viditeľných vrstiev. Zátka z oddeľovacieho lievika sa vyberie, ak sa na nej nachádzajú zvyšky organického produktu, opláchne sa niekoľkými kvapkami extrakčného rozpúšťadla späť do oddeľovacieho lievika. Ak však bola zátka namazaná, tento krok sa vynechá, aby nedošlo ku kontaminácii produktu mazivom. Pred tým, ako sa začne z oddeľovacieho lievika vypúšťať spodná vrstva, treba jednoznačne vedieť, ktorá vrstva je organická a ktorá vodná. Často je to na prvý pohľad zrejmé podľa objemu jednotlivých vrstiev, alebo sa to dá určiť na základe hustoty extrakčného rozpúšťadla. Ak je hustota extrakčného rozpúšťadla väčšia ako hustota vody (dichlórmetán, chloroform), organická vrstva je spodná vrstva a ak je hustota extrakčného rozpúšťadla nižšia ako hustota vody (dietyléter, etyl-acetát), organická vrstva je vrchná vrstva. Treba si však dávať veľký pozor, pretože prítomnosť rozpustených anorganických alebo organických látok môže výrazne zmeniť hustotu jednotlivých fáz, takže nemusí byť zrejmé, ktorá vrstva je vodná a ktorá organická. V takom prípade sa do oddeľovacieho lievika môže pridať pár kvapiek vody a sledovať, do ktorej vrstvy sa kvapky ponoria. Keď je rozhranie medzi vrstvami zreteľne viditeľné, môže sa spodná vrstva (v tomto prípade to bude organická vrstva) z lievika vypustiť do Erlenmeyerovej banky, ktorá je pod oddeľovacím lievikom podložená. Kohútik sa otvára opatrne tak, aby kvapalina tiekla pomaly, aby sa nevytvoril vír, ktorý by mohol stiahnuť časť hornej vrstvy. Keď je spodná vrstva takmer úplne vypustená, je potrebné kohútik zavrieť, lievikom jemne zakrúžiť, aby sa uvoľnili

kvapky kvapaliny, ktoré ešte zostali na skle lievika. Následné kohútik otvoriť a do Erlenmeyerovej banky vypustiť už celý zvyšok spodnej vrstvy. Po poslednej kvapke spodnej vrstvy, ktorá stečie do banky, treba kohútik ihneď zatvoriť. Horná vrstva, v tomto prípade vodná vrstva, zostane v oddeľovacom lieviku. Vždy je potrebné si pre istotu ponechať aj vodnú vrstvu, až kým organický produkt nebude úspešne izolovaný. Aj skúsení chemici niekedy omylom zlikvidujú nesprávnu vrstvu, alebo vodnú vrstvu, ktorá ešte obsahovala nejaký podiel požadovaného organického produktu.

Keďže v oddeľovacom lieviku bola organická vrstva v kontakte s vodnou vrstvou, stopy vlhkosti sa z organickej vrstvy zachytenej v Erlenmeyerovej banke odstránia pridaním vhodného sušidla. Najčastejšie sa na tento účel používajú bezvodé anorganické zlúčeniny, ako sú síran sodný ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), chlorid vápenatý ( $\text{CaCl}_2$ ) alebo síran horečnatý ( $\text{MgSO}_4$ ). Sušidlo sa odstráni filtráciou a filtrát sa zakoncentruje destiláciou za zníženého tlaku (rotačná vákuová odparka). Surový organický produkt získaný extrakciou sa v laboratóriách následne prečistí stĺpcovou chromatografiou.



Obrázok 22 Separácia organickej vrstvy od vodnej a jej následné spracovanie.

#### 4.3.4 Tenkovrstvová chromatografia

##### Monitorovanie priebehu chemických reakcií

Experimentálne úlohy z organickej chémie obsahujú aj údaj o tom, ako dlho bude daný experiment trvať. Napríklad, bude uvedené, ako dlho je potrebné reakčnú zmes miešať a pri akej teplote. Všetko sú však známe experimenty a odskúšané. V praxi, vo výskumných laboratóriách, kde sa realizujú nové reakcie je situácia odlišná. Častokrát robíte nejaký experiment prvýkrát a vtedy presne neviete, ako dlho bude daná reakcia prebiehať. Preto je nevyhnutné priebeh reakcie sledovať.

V súčasnosti sa na sledovanie priebehu chemických reakcií v laboratóriách organickej chémie takmer univerzálne používa chromatografia. Keďže moderné chromatografické analytické techniky vyžadujú len veľmi malé množstvo látky, vzorky z príslušnej reakčnej zmesi je možné jednoducho odobrať vo vhodných časových intervaloch a následne ich analyzovať pomocou jednej alebo viacerých chromatografických metód. Vzorka odobratá z reakčnej zmesi sa porovnáva s východiskovou látkou a v prípade, že je k dispozícii aj autentická vzorka očakávaného produktu, tak aj s ním.

Medzi najbežnejšie analytické techniky na sledovanie priebehu chemických reakcií patrí tenkovrstvová chromatografia (TLC), vysokotlaková kvapalinová chromatografia (HPLC), plynová chromatografia (GC), menej často sa používajú náročnejšie techniky ako UV spektroskopia, plynová chromatografia s hmotnostným detektorom (GC-MS) a NMR spektroskopia. Voľba vhodnej analytickej techniky zvyčajne závisí od viacerých faktorov, ako sú napríklad molekulová hmotnosť výsledného produktu, jeho prchavosť, schopnosť absorbovať ultrafialové žiarenie alebo reagovať s vhodným detekčným činidlom, stabilita produktu v rozpúšťadlách a podobne, ale aj od vybavenia pracoviska príslušnými prístrojmi. Monitorovanie reakcie by logicky malo byť vykonávané analytickou technikou, ktorá je okamžite dostupná na pracovisku, aby informácia o ukončení reakcie alebo o spustení vedľajších reakcií mohla viesť k včasnému zastaveniu experimentu. Obzvlášť treba byť opatrný pri experimentoch realizovaných pri nízkych teplotách, kedy je potrebné dávať pozor na to, aby nedošlo omylom k doreagovaniu reakčnej zmesi po jej ohriatí na izbovú teplotu v časovom intervale, ktorý ubehne od okamihu odobratia vzorky z reakčnej banky po jej analýzu. Riešením takéhoto problému je uskutočnenie sledovanej reakcie v NMR kvete pri nízkej teplote a sledovanie priebehu reakcie prostredníctvom nízko-teplotnej NMR spektroskopie.

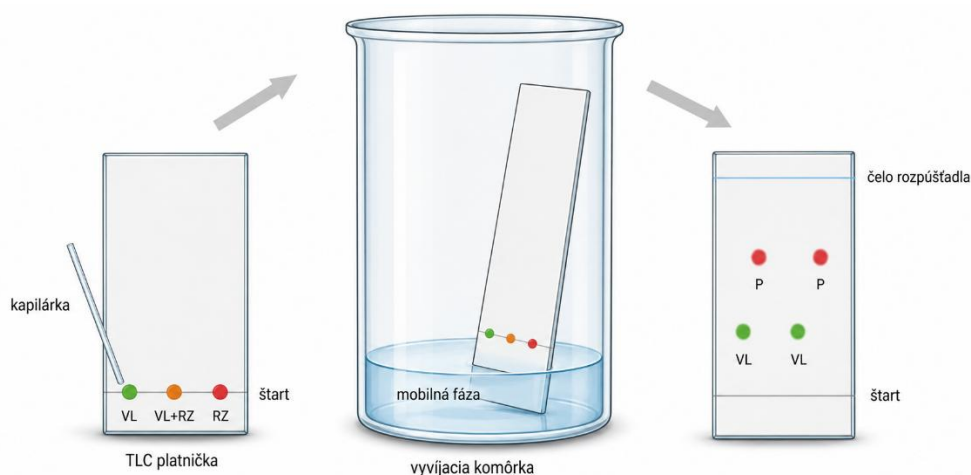
### Tenkovrstvová chromatografia (TLC)

Najčastejšie používanou chromatografickou metódou pre sledovanie priebehu chemickej reakcie v laboratóriách organickej chémie je tenkovrstvová chromatografia (TLC). Tenkovrstvová chromatografia predstavuje veľmi jednoduchú, ale zároveň veľmi účinnú analytickú metódu, ktorá prakticky úplne spĺňa požiadavky kladené na monitorovanie reakcie. Jej podstatou je rozdelenie jednotlivých zložiek reakčnej zmesi na **základe rozdielnej adsorpcie na vhodný adsorbent** nanesený v tenkej vrstve na pevný nosič. Pohyblivou fázou je v tomto prípade organické rozpúšťadlo s vhodnou polaritou. Voľba najvhodnejšieho sorbentu (stacionárnej fázy), detekčného činidla a najmä rozpúšťadla alebo zmesi rozpúšťadiel s cieľom čo najlepšieho rozdelenia jednotlivých zložiek reakčnej zmesi si spravidla vyžaduje značnú dávku trpezlivosti a skúseností. TLC okrem monitorovania priebehu chemickej reakcie na základe kvalitatívneho sledovania úbytku východiskovej látky, ktorá je väčšinou nanášaná na tenkú vrstvu ako štandard, možno s určitým rizikom použiť TLC na potvrdenie, že reakcia poskytuje požadovaný produkt (ak je k dispozícii vzorka požadovaného produktu). Tenkovrstvová chromatografia zároveň zvyčajne poskytuje aj prvý odhad čistoty produktu a množstva vedľajších produktov. Poslednou funkciou TLC je odhad vhodnosti výberu mobilnej

fázy pre separáciu reakčnej zmesi pomocou niektorej z variant stĺpcovej chromatografie. Ako pevný nosič pre adsorbent sa v prípade TLC platničiek používa **hliníková fólia, sklenená alebo plastová doštička**. Na prípravu vlastných TLC doštičiek je najvhodnejším materiálom sklo, ktoré možno po umytí použitej vrstvy opakovane použiť.

Ako stacionárna fáza sa pre tenkovrstvovú chromatografiu pri komerčných doštičkách väčšinou používa **silikagél s veľkosťou častíc 2–20  $\mu\text{m}$  a veľkosťou pórov 60 Å**. Pre látky, ktoré sú veľmi citlivé na kyslé prostredie (silikagél je mierne kyslý), sa ako stacionárna fáza používa **alumina (oxid hlinitý)**, ktorá sa volí aj v prípade analýzy zásaditých látok, ktoré sa na silikagéli niekedy zle separujú. Na separáciu enantiomérov sa zas používa opticky aktívna stacionárna fáza. Stacionárna fáza obsahuje aj malé množstvo (cca 5 %) spojiva (sadra alebo škrob), ktoré udržiava stacionárnu fázu na podložke. Hrúbka komerčných doštičiek (platničiek) je 0,1–0,25 mm. Komerčné platničky (doštičky) sa dodávajú v rôznych rozmeroch, najčastejšie 20 × 20 cm, z ktorých sa narezaním vyrábajú platničky (doštičky) vhodnej veľkosti na analýzu, najčastejšie v rozmeroch 2 × 5 až 5 × 10 cm. Na prípravu vlastných doštičiek sa spravidla používa silikagél so zrnitosťou 5–40  $\mu\text{m}$ , z ktorého sa spolu so spojivom pripraví kaša vhodnej hustoty, a tá sa rovnomerne naleje na sklenené doštičky (vrstva s hrúbkou 0,2–1 mm).

Šírka TLC platničky (doštičky) je daná počtom paralelne vykonávaných analýz na jednej platničke. Spolu s analyzovanou vzorkou by mala byť nanosená aj vzorka východiskovej látky a zmiešaná vzorka východiskovej látky s analyzovanou reakčnou zmesou. V prípade, že je k dispozícii aj štandard očakávaného produktu, nanáša sa aj jeho vzorka a zmiešaná vzorka tohto očakávaného produktu s analyzovanou reakčnou zmesou. Je vhodné si pomocou mäkkej ceruzky predznačiť body zodpovedajúce štartu analýzy, ktoré by mali byť 5–10 mm od spodného okraja platničky. Vzorky sa nanášajú na platničku najlepšie pomocou tenkostenných kapilár, ktoré je možné po prepláchnutí rozpúšťadlom použiť aj viackrát, ale spoľahlivejšie je použiť vždy jednu kapiláru pre jednu analýzu. Ak vzorky reakčnej zmesi a štandardov nie sú dostatočne zriedené, je vhodné ich zriediť vhodným prchavým rozpúšťadlom (najčastejšie dichlórmetánom) na koncentráciu 1–2 %, pretože najčastejšou chybou pri vykonávaní tenkovrstvovej chromatografie je nanesenie príliš veľkého množstva vzorky, čo vedie k vytvoreniu veľkých škvŕn, ich zlej separácii, a tým pádom niekedy aj k nepresnej interpretácii získaného výsledku. Pri nanášaní je potrebné robiť škvŕny čo najmenšie, aby sa dosiahlo čo najostrejšie rozdelenie zložiek. Po nanesení vzorky reakčnej zmesi a príslušných štandardov na TLC platničku sa nechá rozpúšťadlo krátko odpariť. V prípade, že sa použilo rozpúšťadlo alebo činidlo s teplotou varu 100–200 °C, je možné platničku vysušiť pomocou teplovzdušnej pištole. Do vyvíjacej komôrky sa naleje zvolená mobilná fáza so zodpovedajúcou polaritou do výšky 0,3–0,8 cm, v závislosti od vzdialenosti škvŕn nanesených analytov od spodného okraja platničky, následne sa šikmo vloží platnička a komôrka sa prikryje viečkom. Analýza sa ukončí vtedy, keď čelo rozpúšťadla dosiahne vzdialenosť približne 0,5 cm od horného okraja platničky. Po vysušení platničky na vzduchu, prípadne pomocou teplovzdušnej pištole, ak sa použilo vysokovrúce rozpúšťadlo, je platnička pripravená na identifikáciu vzniknutých škvŕn (Obr. 23).



Obrázok 23 Príprava TLC platničky, jej vyvíjanie a detekcia (VL = východisková látka, RZ = reakčná zmes, P = produkt).

V princípe existujú tri spôsoby detekcie škvrn na TLC platničke, pričom prvé dva sú nedeštruktívne a umožňujú v prípade preparatívneho prevedenia TLC izoláciu látky z platničky.

1.) Väčšina TLC platničiek obsahuje stacionárnu fázu s fluorescenčným indikátorom. Rovnako je možné zakúpiť stacionárnu fázu s indikátorom na prípravu vlastných TLC doštičiek. Škvry látok absorbujúcich ultrafialové svetlo (používajú sa dve vlnové dĺžky – 254 nm a 365 nm) sa prejavia **pri detekcii UV lampou** s danou vlnovou dĺžkou ako tmavé škvrny na svetlom podklade indikátora.

2.) Škvry na TLC platničke môžu byť vizualizované **pomocou jódu**. Najrýchlejším a najjednoduchším spôsobom tejto detekcie je pretrepať vyvolanú TLC platničku spolu s niekoľkými kryštálkami jódu a trochou silikagélou vo fľaštičke. **Jód** je obzvlášť vhodný pre zlúčeniny obsahujúce vo svojej štruktúre nenasýtené väzby. Zafarbenie však zvyčajne nie je trvalé a časom pomaly mizne. Jódom nie je možné detegovať platničky, pri ktorých sa ako spojivo použil škrob.

3.) Škvry zlúčenín, ktoré neabsorbujú v UV oblasti spektra, je možné vizualizovať pomocou vhodného **detekčného činidla**, ktoré sa buď na TLC platničku nastrieka, alebo je na platničku aplikované jej rýchlym ponorením do roztoku príslušného detekčného činidla. S výnimkou manganistanu draselného a dinitrofenylhydrazínu je zvyčajne potrebné po aplikácii detekčného činidla platničku vypáliť na teplotu minimálne 150 °C, na čo sa bežne používa platničkový varič alebo v súčasnosti teplovzdušná pištoľ s reguláciou do 700–800 °C. Na vypaľovanie sú najvhodnejšie sklenené doštičky so stacionárnou fázou bez fluorescenčného indikátora. Plastové doštičky sú na tento účel, samozrejme, úplne nevhodné. Pri nedostatočnom vysušení TLC platničky od eluenta (mobilnej fázy), môže platnička pri vypaľovaní na variči popraskať. Toto riziko je výrazne eliminované pri použití teplovzdušnej pištole. Najbežnejšie detekčné činidlá a ich príprava sú zhrnuté v Tabuľke 2.

**Tabuľka 2.** Najpoužívanéjšie činidlá pre vizualizáciu škvŕn na TLC platničkách.

| Detekčné činidlo                                                                                                                                   | Farba škvŕny                                                       | Zlúčeniny vhodné na detekciu      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------|
| 5 % (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> + 0,2 % Ce(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> v 5 % H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | sýtomodré škvŕny, užitočné činidlo, keď všetky ostatné zlyhajú     | všeobecné použitie                |
| 1 % (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> Ce(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> v 10 % H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                                        | škvŕny rôznych farieb                                              | všeobecné použitie                |
| 50 % H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                                                                                                                | čierne škvŕny, užitočné činidlo, keď všetky ostatné zlyhajú        | všeobecné použitie                |
| 1 % vodný roztok FeCl <sub>3</sub>                                                                                                                 | škvŕny rôznych farieb                                              | fenoly, enolizovateľné zlúčeniny  |
| 0,3 % roztok ninhydrínu v <i>n</i> -BuOH, 3 % AcOH                                                                                                 | modré škvŕny                                                       | aminokyseliny a amíny             |
| 0,5 % 2,4-dinitrofenylhydrazín v 2 M HCl                                                                                                           | červené a žlté škvŕny                                              | aldehydy a ketóny                 |
| 0,5 g vanilín, 0,5 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 9 ml etanol                                                                                 | škvŕny rôznej farby                                                | všeobecné použitie                |
| 0,5 % vodný roztok PdCl <sub>2</sub> , pár kvapiek konc. HCl                                                                                       | červené a žlté škvŕny                                              | zlúčeniny obsahujúce síru a selén |
| 3,0 g KMnO <sub>4</sub> , 20 g K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 5 ml 5 % NaOH, 300 ml H <sub>2</sub> O                                             | žlté škvŕny na fialovom podklade                                   | nenasýtené zlúčeniny, alkoholy    |
| jód na silikagéli                                                                                                                                  | červené/hnedé škvŕny na svetložltom podklade, časom strácajú farbu | alkény, alkíny                    |
| 12 g kyselina fosfomolybdénová, 250 ml etanol                                                                                                      | tmavé modrozelené škvŕny                                           | všeobecné činidlo                 |
| 2,7 ml <i>p</i> -anízaldehyd, 100 ml etanol, 1,2ml ľadová kyselina octová, 3,7 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> konc.                             | škvŕny rôznych farieb                                              | všeobecné činidlo                 |

Vzdialenosť, ktorú škvŕna pri analýze pomocou TLC na TLC platničke prejde, závisí pri danej platničke od dvoch faktorov a to od polarity látky a polarity rozpúšťadla. Pri použití rozpúšťadla s danou polaritou sú polárnejšie látky viac zadržiavané polárnymi –OH skupinami silikagélu alebo inej stacionárnej fázy. Na druhej strane, látka s danou polaritou prejde väčšiu vzdialenosť pri použití rozpúšťadla s vyššou polaritou, zároveň však dochádza aj k väčšiemu rozmazaniu škvŕny. Vzdialenosť škvŕny danej látky od štartu a jej tvar môžu byť výrazne ovplyvnené aj rozpustnosťou látky v mobilnej fáze. Vzdialenosť, ktorú látka prejde na danej platničke v danom eluente (mobilná fáza), je teda nepriamo úmerná jej polarite a vyjadruje sa pomocou veličiny **retenčný faktor  $R_f$** , ktorý je vyjadrený rovnicou:

$$R_f = \frac{\text{vzdialenosť stredu škvŕny od štartu}}{\text{vzdialenosť čela rozpúšťadla od štartu}}$$

Určenie najvhodnejšej mobilnej fázy (eluenta, sústavy rozpúšťadiel) pre danú zmes látok je vo väčšine prípadov súbor pokusov a omylov. Preto je vhodné viesť si v laboratóriu laboratórny

denník, kde sa zaznamenajú aj detaily z jednotlivých TLC analýz vrátane samotných TLC platničiek.

Poradie podľa stúpajúcej polarizácie rozpúšťadiel zodpovedá tzv. eluotropnému radu, ktorý je pre bežné prchavé organické rozpúšťadlá nasledovný: petroleter  $\approx$  pentán, hexán < cyklohexán < toluén < dichlórmétan  $\approx$  dietyléter < chloroform < etyl-acetát < acetonitril < izopropanol < etanol < voda < kyselina octová.

Ako mobilnú fázu je, samozrejme, možné použiť aj **zmes rozpúšťadiel**, pričom všeobecne platí, že prídavok polárnejšieho rozpúšťadla do zmesi výraznejšie ovplyvní polaritu mobilnej fázy než prídavok nepolárneho. V niektorých prípadoch sa získané reakčné produkty delia iba v slabo polárnych rozpúšťadlách, kde je rozdiel v ich  $R_f$  hodnotách veľmi malý. V takýchto prípadoch je vhodné aplikovať tzv. viacnásobnú elúciu, t.j. po prvom vyvolaní platničky v mobilnej fáze a jej vysušení, sa platnička opäť vloží do vyvíjacej komôrky a znova sa vyvíja.

Pri analýze kyslých alebo bázických reakčných zmesí (produktov) pomocou TLC sa niekedy nezískajú uspokojivé výsledky kvôli tzv. „chvostovaniu“ pozorovaných škvŕn alebo ich iným deformáciám. V takomto prípade často pomôže pridať niekoľko kvapiek kyseliny octovej do mobilnej fázy pri vyvíjaní kyslých zmesí alebo naopak, pridať niekoľko kvapiek trietylamínu pri vyvíjaní zásaditých zmesí.

V niektorých prípadoch dochádza pôsobením slabo kyslej stacionárnej fázy (silikagélu) k rozkladu produktu. Riešením tohto problému je buď použitie alumíny ako stacionárnej fázy, ktorá však väčšinou neposkytuje také dobré rozdelenie ako silikagél, alebo prídanie malého množstva trietylamínu resp. amoniaku do mobilnej fázy, alebo impregnácia TLC platničky zriedeným vodným roztokom hydrogénuhličitanu sodného a jej následné vysušenie [Cranwell et al., 2017; Kvíčala, 2007; Brutovská, 1987].

## 4.4 Práca s odmerným sklom

Na meranie kvapalín určitej presnosti používame odmerné nádoby (Obr. 5, str. 27):

**Odmerné valce** používame na meranie približných objemov. Vyrábajú sa v rôznych veľkostiach, veľkosť valca vyberáme podľa meraného objemu. Pri zmenách teploty ľahko praskajú, preto ich nepoužívame na merania horúcich roztokov, ani na zmiešavanie roztokov.

**Odmerné banky** používame na prípravu presného objemu roztokov. Majú obyčajne hruškovitý tvar, úzke hrdlo so značkou, ktorá vyznačuje presne daný objem.

**Pipety** používame na odmeriavanie menších objemov kvapalín. Môžu byť rôzneho objemu, nedelené, delené (po 0,1 alebo po 0,01 cm<sup>3</sup>), rovné alebo s valcovitým rozšírením. Presnosť objemu je daná kalibračnou značkou na každej pipete. **Byrety** používame k veľmi presnému odmeriavaniu malých objemov. Byrety sú sklenené, v dolnej časti zúžené trubice zakončené zábrusovým kohútikom, alebo gumovou hadičkou so sklenenou guľičkou.

**Pyknometre** sú presné odmerné nádoby s menším objemom a so zábrusovým uzáverom v ktorom je kapilára, určené na stanovenie hustoty látok.

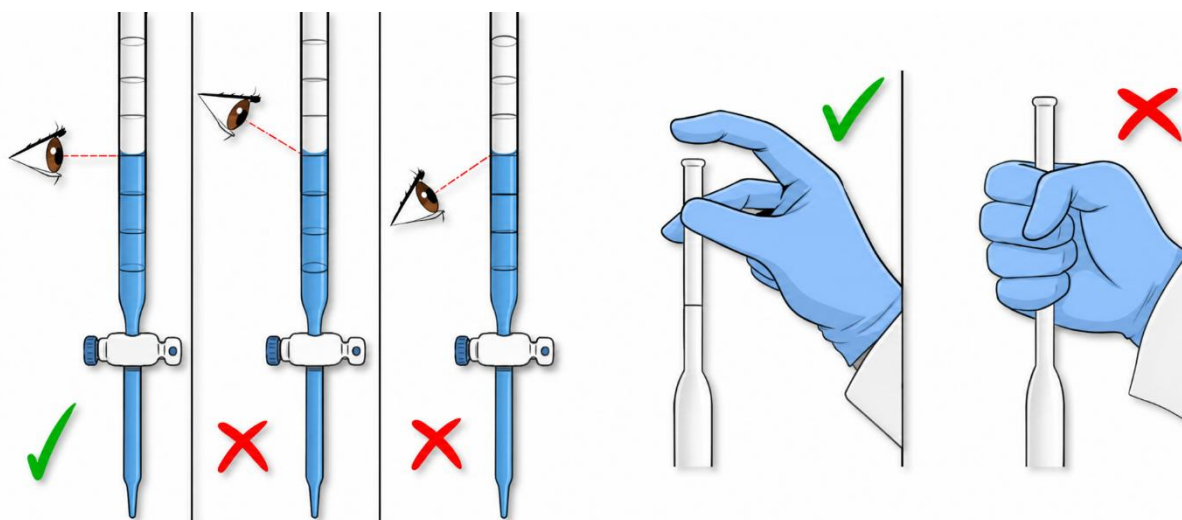
Odmerné nádoby sa pre určitý objem kalibrujú pri určitej teplote, ktorú treba pri presných meraniach objemu dodržať. Kalibrácia sa robí dvojako:

- ✓ na doliatie (doliaty objem), vyznačuje sa písmenom D (alebo In),
- ✓ na vyliatie (vyliaty objem), vyznačený písmenom V (alebo Ex).

Kalibrácia na „doliaty objem“ (D alebo In) znamená, že odmeraný objem je presný len v nádobe. Po vyliatí je objem zmenšený o objem kvapaliny, ktorá zostane na vnútornej stene odmernej nádoby (valce, odmerné banky, a pod.)

Kalibrácia na „vyliaty objem“ (V alebo EX) znamená, že presný objem získame po vyliatí z nádoby (objem nádoby je o toľko väčší, koľko kvapaliny zostane po jej vyliatí na vnútornej stene odmernej nádoby).

Pri odčítavaní objemu musí byť odmerná nádoba **vo zvislej polohe, oko musí byť vo výške hladiny** (kruhovú značku vidíme ako úsečku) (Obr. 24). **Meniskus** je hladina kvapaliny, ktorá je vplyvom adhézných síl zakrivená. Pri vode a vodných roztokoch odčítavame **spodný meniskus**. U tmavých a farebných kvapalín a kvapalín, ktoré nezmáčajú sklo, odčítavame **horný meniskus**.



Obrázok 24 Správne odčítanie objemu v odmernom skle a držanie pipety.

Postup práce pri používaní pipety:

Správna technika práce pri meraní objemu kvapalín je vecou cviku. Nacvičte si správny postup pri pipetovaní:

1. Pri napĺňaní chytíme pipetu pravou rukou za jej hornú časť, špičku ponoríme pod hladinu kvapaliny (pre cvičné účely použijeme vodu) a ústami nasávame vzduch z pipety, kým hladina kvapaliny nevystúpi v pipete asi 2 cm nad kalibračnú značku. Potom

horný koniec rýchlo uchopíme ukazovákom. Vo zvislej polohe a očami oproti značke uvoľňujeme tlak ukazováku a z pipety opatrne po kvapkách vypustíme toľko kvapaliny, aby bol spodný okraj menisku na značke. Prebytočnú kvapku otrieme o vnútornú stenu nádoby, z ktorej bolo pipetované.

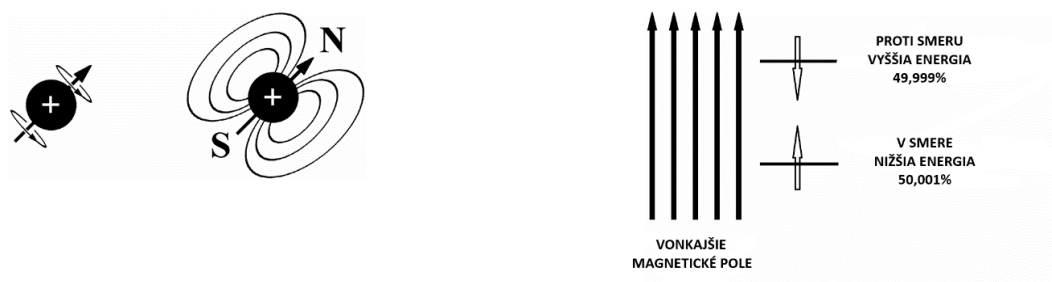
2. Odmeraný objem kvapaliny necháme z pipety voľne vytiecť tak, že výpustný otvor pipety oprieme o vnútornú stenu nádoby, do ktorej kvapalinu odmeriavame. Po vyprázdnení obsahu pridržíme pipetu pri stene nádoby ešte asi 15 sekúnd. Vypúšťanie kvapaliny z pipety nikdy neurýchľujeme vyfukovaním alebo vytriasaním. Ani zvyšok kvapaliny v špičke pipety nevyfukujeme !

### Pozor !

*Žiadne chemické látky, žieraviny a iné agresívne látky nikdy nenasávame do pipety ústami, ale pomocou na to určeného gumového balónika, alebo vývevy!*

## 4.5 NMR-spektroskopia

NMR (nukleárna magnetická rezonancia) je jednou z najdôležitejších metód na určovanie štruktúry organických zlúčenín. V NMR experimentoch sú aktívne jadrá s nepárnym počtom protónov, neutrónov alebo oboch, ktoré majú nenulový jadrový spin a jadrový magnetický moment. V organickej chémii sa najčastejšie merajú jadrá  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$ , menej často aj  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$  a  $^{15}\text{N}$ . Po vložení vzorky do silného magnetického poľa sa jadrá s nenulovým spinom správajú ako malé magnety (Obr. 25). Po pôsobení krátkeho rádiovýkvenčného impulzu absorbujú energiu a pri návrate do pôvodného stavu ju opäť vyžarujú. Tento signál zachytí spektrometer a pomocou Fourierovej transformácie sa spracuje na NMR spektrum. Poloha signálov závisí od chemického prostredia jednotlivých jadier. Aby bolo možné porovnávať spektrá namerané na rôznych prístrojoch, poloha signálov sa vyjadruje ako chemický posun ( $\delta$ ) v jednotkách ppm. Interpretáciou NMR spektra možno určiť alebo potvrdiť štruktúru skúmanej molekuly.



Obrázok 25 Jadro, magnetické pole jadra, jadrový spin vo vonkajšom magnetickom poli.

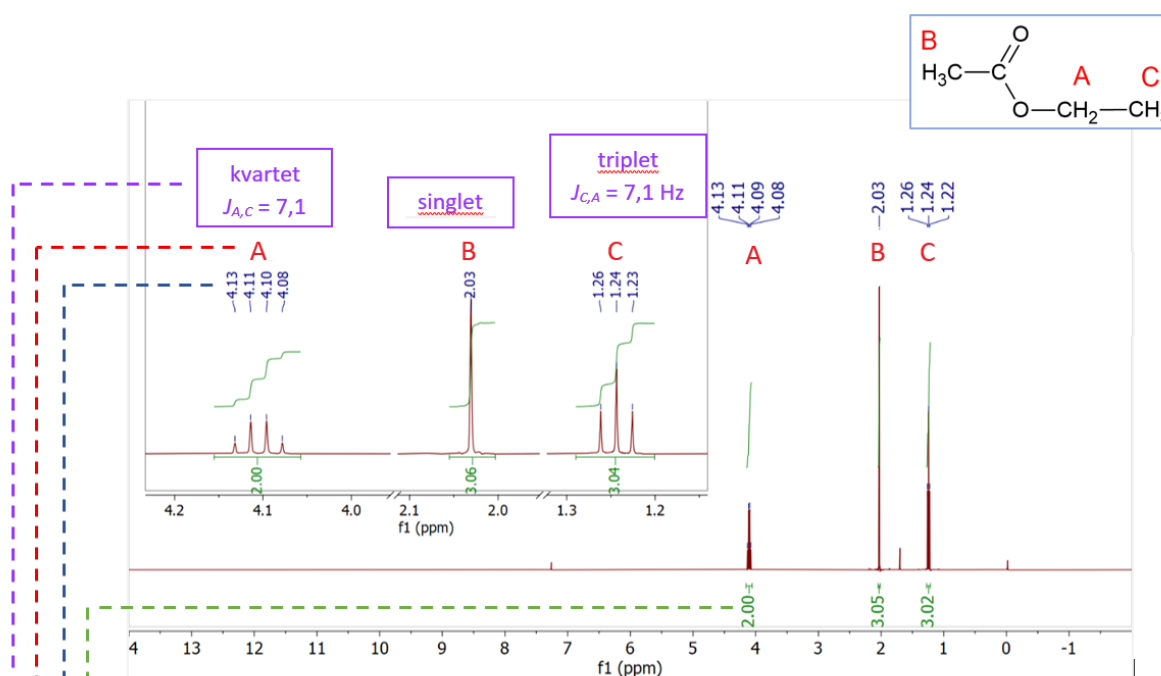
Najčastejšie sa merajú  $^1\text{H}$  NMR a  $^{13}\text{C}$  NMR spektrá. Pri jednoduchších organických zlúčeninách často postačuje na potvrdenie štruktúry už samotné  $^1\text{H}$  NMR spektrum [Jacobsen, 2017].

## Informácie získané z $^1\text{H}$ NMR spektra

Z  $^1\text{H}$  NMR spektra získavame štyri základné informácie:

1. **Chemický posun ( $\delta$ , ppm)** – určuje polohu signálu a poskytuje informácie o chemickom prostredí vodíka, napríklad o blízkosti elektronegatívnych atómov, dvojitých väzieb alebo aromatických systémov.
2. **Integrácia** – plocha pod signálom je úmerná počtu vodíkov, ktoré daný signál vytvára.
3. **Počet signálov** – zodpovedá počtu chemicky nerovnocenných typov vodíkov v molekule.
4. **Štiepenie signálu (multiplicita)** – vzniká spinovo-spinovou interakciou so susednými vodíkmi a umožňuje určiť počet susedných vodíkov. Vo väčšine prípadov sa riadi pravidlom  $n + 1$ , kde  $n$  je počet susedných vodíkov (singlet, dublet, triplet, kvartet atď.).

Na Obrázku 26 sú znázornené všetky štyri informácie na príklade  $^1\text{H}$  NMR spektra etylacetátu.



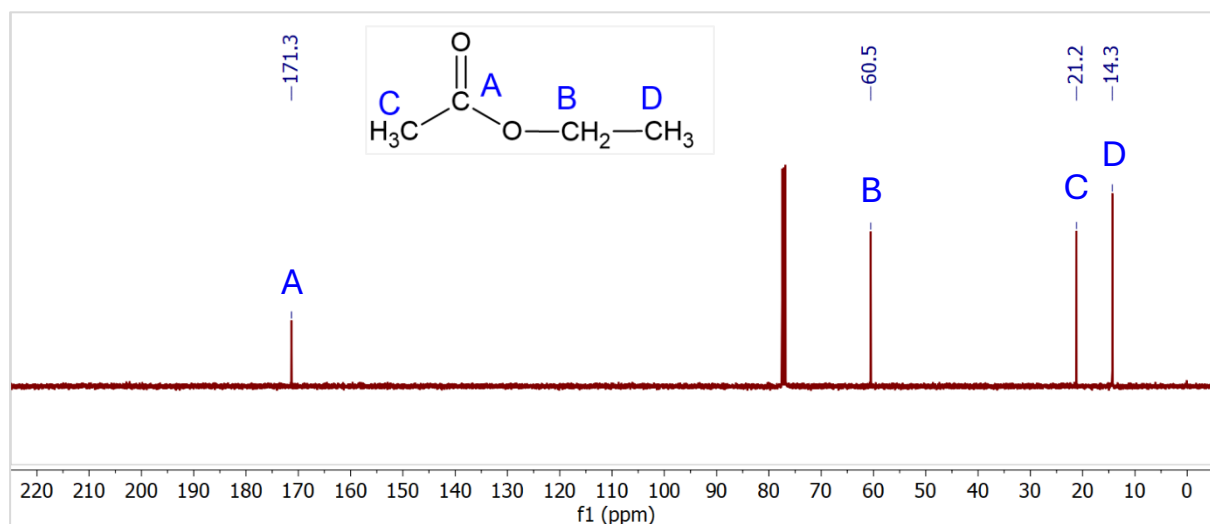
$^1\text{H}$  NMR spektrum (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) etylacetátu

1. **Funkčné skupiny**, ktoré sú prítomné v molekule. Určuje sa to na základe **pozícií (ppm)** signálov v spektre. Najčastejšie je rozsah škály 0–12 ppm.
2. **Počet protónov**, ktoré reprezentuje každý signál. Meria sa to pomocou **integrácie**, ktorá zodpovedá ploche pod jednotlivými **píkmi** signálov.
3. **Počet rôznych typov protónov** v molekule. Určuje sa podľa **počtu NMR signálov**. Len **nie ekvivalentné protóny** dávajú odlišné signály. Chemicky ekvivalentné protóny dávajú jeden NMR signál bez ohľadu na ich počet.
4. **Spin-spinové štiepenie** určuje, koľko protónov je pripojených k susedným uhlíkom. To sa zistí podľa **počtu línií (multiplicita signálu)** v rámci signálu, na základe **pravidla  $n+1$** , kde  $n$  je počet susedných protónov.

Obrázok 26 Informácie získané z  $^1\text{H}$  NMR spektra etyl-acetátu.

### <sup>13</sup>C NMR spektroskopia

Druhým najčastejšie meraným nuklidom je <sup>13</sup>C. V <sup>13</sup>C NMR spektre každý chemicky nerovnocenný atóm uhlíka vytvára jeden signál. Chemické posuny sa pohybujú približne v rozsahu 0–220 ppm a poskytujú informácie o chemickom prostredí jednotlivých uhlíkov. Na Obrázku 27 je uvedené <sup>13</sup>C NMR spektrum etyl-acetátu [Jacobsen, 2017].



Obrázok 27 <sup>13</sup>C NMR spektrum (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) etyl-acetátu.

## 5. Práca s roztokmi a stanovenie hustoty

### (1. laboratórna úloha)

#### 5.1 Teoretický úvod

##### Príprava roztokov

Roztok je rovnorodá zmes dvoch alebo viacerých látok. Skladá sa z *rozpúšťadla* (ak je rozpúšťadlom voda, ide o vodné roztoky; rozpúšťadlom môžu byť aj iné látky, napríklad alkohol, benzín, éter, amoniak, acetón, a pod.) a *rozpúšťanej látky*, ktorá môže byť tuhá, kvapalná a plynná. V závislosti od teploty a tlaku môžu byť roztoky plynne, kvapalné a tuhé.

V konkrétnom rozpúšťadle za daných podmienok (teploty, u plyných látok aj tlaku) sa látka môže rozpúšťať len po určité zloženie, ktoré je dané rozpustnosťou danej látky. Podľa normy STN ISO 31-0 sú koncentrácie definované ako podiel množstva čistej látky a objemu roztoku. Molekulová koncentrácia  $C(B)$  látky B je určená podielom počtu molekúl (entít) látky B a objemu roztoku:  $C(B) = N(B)/V$  s rozmerom  $\text{dm}^{-3}$ . Koncentrácia látkového množstva  $c(B)$  látky B je určená podielom látkového množstva látky B a objemu roztoku:  $c(B) = n(B)/V$  s rozmerom  $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ .

Podľa normy STN ISO 31-0 hmotnostná koncentrácia  $\rho(B)$  látky B je určená podielom hmotnosti látky B a objemu roztoku:  $\rho(B) = m(B)/V$  s rozmerom  $\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Hmotnostný zlomok látky B,  $w(B)$ , je definovaný ako podiel hmotnosti látky B a hmotnosti celého roztoku:  $w(B) = m(B)/m$ , a je to bezrozmerné číslo. Ak ho vynásobíme x 100 dostaneme hmotnostné percentá (100 w[%]). Roztoky s vyjadrením zloženia pomocou koncentrácie látkového množstva  $\{c(B)\}$  sa v bežnej laboratórnej praxi označujú ako „molárne roztoky“ a rozmer tejto koncentrácie ( $\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) sa označuje symbolom „M“.

Podobne roztoky s vyjadrením zloženia pomocou hmotnostného zlomku v tvare (100 w[%]) sa v laboratórnej praxi označujú ako „*percentuálne roztoky*“ alebo „roztoky s „*hmotnostnou koncentráciou*“ a rozmer tejto koncentrácie sa označuje symbolom „%“. Používanie týchto výrazov ako aj symbolov podľa normy nie je správne. Avšak skriptum je určené pre výchovu študentov pre laboratórnu prax, kde sa tieto pojmy a symboly dennodenne používajú. Na základe toho sa v ďalšom texte pre vyjadrenie zloženia roztokov pomocou látkovej koncentrácie bude používať pojem „molárny roztok“ a symbol „M“ pre jej rozmer a pre vyjadrenie zloženia roztokov pomocou hmotnostného zlomku v tvare (100 w[%]) pojem „roztoky s hmotnostnou koncentráciou“.

## Hustota

**Hustota** je dôležitá fyzikálna veličina, ktorá je definovaná ako pomer hmotnosti **m** a objemu **V**:

$$\rho = m/V$$

Jednotkou hustoty je  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$ , môže sa použiť aj  $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ . Hustota všetkých látok závisí od teploty a tlaku. Pri tuhých a kvapalných látkach berieme do úvahy obvykle len vplyv teploty, lebo vplyv tlaku je zanedbateľný. Pri všetkých údajoch hustoty sa preto udáva teplota merania. Na základe stanovenej hustoty kvapalných roztokov môžeme určiť ich koncentráciu (prípadne zriedenie). V tabuľkách sú uvedené rôzne koncentrácie roztokov solí, kyselín, hydroxidov a im zodpovedajúce príslušné hustoty.

Na menej presné, ale rýchle stanovenie hustoty používame hustomery (aerometre), prípadne Mohr-Westphalove váhy. Presne stanovíme hustotu pyknometricky. Meranie hustoty hustomermi (Obr. 28) i Mohr-Westphalovými váhami (Obr. 28) je založené na Archimedovom zákone. Teleso ponorené v rôznych kvapalinách sa ponára rôzne. Objem ponorenej časti je nepriamo úmerný hustote kvapaliny. Ponorí sa tým hlbšie, čím je kvapalina redšia.

**Hustomery** sú uzavreté sklenené nádoby, ktoré sú v dolnej časti zaťažené a v hornej pretiahnutej, zatavenej časti je stupnica. Hustotu odčítame na stupnici (oko musí byť vo výške menisku). Meranú kvapalinu lejeme do dostatočne vysokého valca a opatrne do nej ponoríme hustomer. Pri odčítaní hustomer musí voľne plávať, nesmie sa dotýkať stien.

**Hustota vody pri 3,98 °C je 1,000 g·cm<sup>-3</sup>.** Pre kvapaliny s menšou hustotou ako voda platí, že  $\rho < 1$  a s vyššou hustotou  $\rho > 1$ . Všetky merania hustomerom sa musia robiť pri tej istej teplote. Merania hustoty na **Mohr-Westphalových váhach** je založené na určovaní vztlaku, ktorým pôsobí meraná kvapalina na ponorené teleso. Mohr-Westphalove váhy sú nerovnoramenné pákové váhy. Na konci jedného ramena je zavesené sklenené ponorné teleso. Toto rameno je od telesa k osi váh rozdelené na 10 dielikov označených číslami a opatrených závesnými kolíkmi (na desiatom dieliku je zavesené ponorné teleso). Ak je teleso zavesené a nie je ponorené do kvapaliny, sú váhy v rovnováhe (alebo rovnováhu nastavíme pomocou skrutky ramena). Ponorením telesa do kvapaliny sa rovnováha poruší. Rovnováhu obnovíme vyvážením pomocou závaží, ktoré vešiame na závesné kolíky.

Sada obsahuje závažie 10, 1, 0,1 a 0,01 g. Výsledná hmotnosť závisí od toho, na aký kolík závažie zavesíme, napr.:

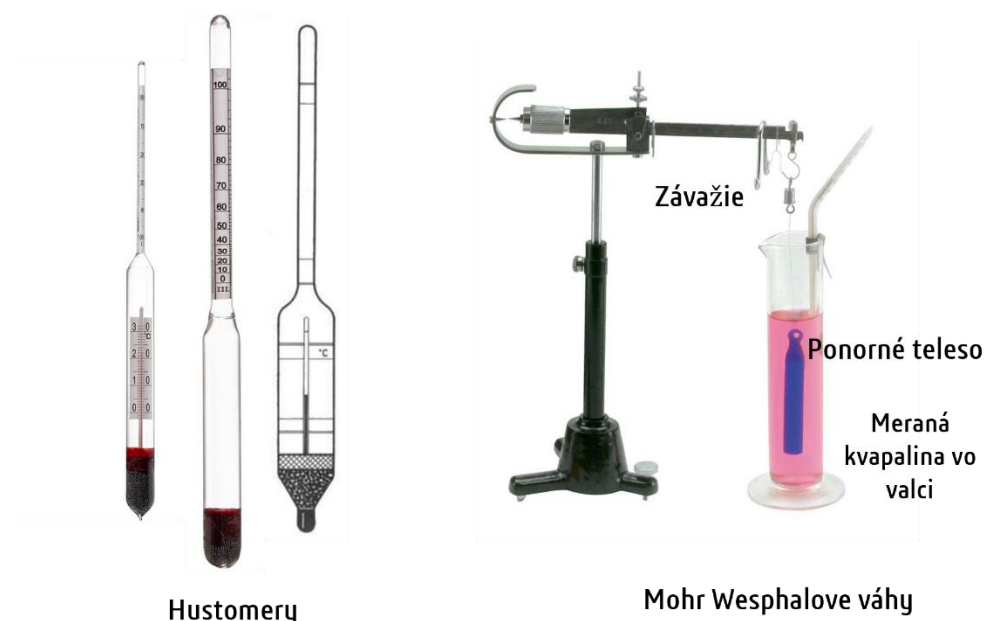
Číslo kolíka      závažie      hmotnosť

|   |        |                |
|---|--------|----------------|
| 7 | 10,0 g | 7,0 g          |
| 3 | 10,0 g | 3,0 g          |
| 8 | 1,0 g  | 0,8 g          |
| 9 | 0,1 g  | 0,09 g         |
| 9 | 0,01 g | <u>0,009 g</u> |
|   |        | 10,899 g       |

Hustotu vypočítame podľa nasledovného vzťahu, v ktorom je zahrnutá korekcia na priľnavosť kvapaliny ku sklu a na hustotu vzduchu:

$$\rho = 0,1 m + 0,1 m.e + 0,0012$$

kde  $m$  = nameraná hmotnosť (v našom prípade 10,899 g),  $e = 0,0002$ .



Obrázok 28 Zariadenia na orientačné meranie hustoty.

**Pyknometrickou metódou** môžeme určiť presne hustotu roztokov. Pyknometer je malá kalibrovaná nádobka s úzkym hrdlom, uzavretým zátkou s kapilárou (Obr. 5), ktorou po zatvorení vytečie nadbytočná kvapalina. Na nádobke je vyznačený presný objem.

### Kryštalizácia

Teoretický úvod ku kryštalizácii nájdete v kapitole 4.3.

**Výtťažok kryštalizácie** – kryštalizačným výtťažkom rozumieme pomer množstva vykryštalizovanej látky k východiskovému množstvu látky. Závisí od povahy kryštalizovanej látky, od prítomnosti nečistôt, zvoleného spôsobu kryštalizácie a od rozdielu rozpustnosti danej látky pri zvolených teplotách. Uvádza sa v percentách po vynásobení  $\times 100$  a označujeme ho písmenom gréckej abecedy  $\eta$ .

## 5.2 Zadanie úloh

1. Pripravte  $100\text{ cm}^3$  roztoku síranu meďnatého pentahydrátu s koncentráciou  $X\text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (bude zadané na úvodnom cvičení).
2. Pripravte  $250\text{ cm}^3$   $X\%$  roztoku kyseliny chlorovodíkovej riedením jej  $36\%$  formy (bude zadané na úvodnom cvičení).
3. Stanovte hustotu pripravenej kyseliny dvoma odlišnými spôsobmi hustomerom a pyknometricky. Meranie opakujte tri krát a overte presnosť merania.
4. Stanovte hustotu neznámej tuhej látky pyknometricky a na základe zistenej hustoty identifikujte danú látku.
5. Z roztoku síranu meďnatého pripravte kryštály modrej skalice pomocou prerušovanej kryštalizácie a vypočítajte výťažnosť.

## 5.3 Postup práce

### Použité chemikálie:

- $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- Kyselina chlorovodíková (36%)
- Destilovaná voda

### Postup práce pri príprave molárnych roztokov

(zloženie je vyjadrené v jednotkách  $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  (M)):

Vypočítané množstvo tuhej látky, ktoré je potrebné rozotrieť v trecej miske, presne odvážeme a rozpustíme v kadičke v malom množstve destilovanej vody. V prípade, ak pripravujeme molárny roztok z koncentrovaného roztoku (napr. kyseliny), odpipetujeme vypočítané množstvo koncentrovaného roztoku zo zásobnej fľaše a taktiež rozpustíme v malom množstve destilovanej vody v kadičke. Roztok v kadičke, ochladený na  $20\text{ }^\circ\text{C}$ , cez lievik po tyčinke **kvantitatívne prenesieme** do vhodnej odmernej banky a doplníme destilovanou vodou presne po značku. Banku zazátkujeme a dôkladne premiešame. Pri príprave roztokov z tuhých látok môžeme postupovať aj tak, že odvážená látka sa kvantitatívne nasype do odmernej banky a rozpustí sa v priliatej destilovanej vode a na presný objem sa doplní ďalším podielom destilovanej vody. V prípade použitia koncentrovaného roztoku sa tento priamo pipetuje do odmernej banky, kde sa riedi vopred pridanou destilovanou vodou a na presný objem sa taktiež doplní ďalším podielom destilovanej vody.

### Postup práce pri príprave roztokov danej hmotnostnej koncentrácie

(zloženie je vyjadrené v percentách (%)):

Vo vypočítanom a presne odmeranom množstve destilovanej vody rozpustíme vypočítané odvážené alebo odmerané odmerným valcom (v prípade riedenia koncentrovaného roztoku) množstvo látky a dobre premiešame. Zloženie roztokov vznikajúcich rozpúšťaním hydrátov solí je vyjadrené takmer výhradne obsahom bezvodej zlúčeniny. Pokiaľ treba vyjadriť ich zloženie vo forme hydrátu, musí to byť výslovne uvedené. [Vargová et al., 2019]

Na výpočet zloženia roztoku vzniknutého riedením alebo zmenou koncentrácie roztoku rozpustením ďalšej látky je výhodné použiť zmiešavaciu rovnicu, ktorá vyplýva zo zákona zachovania hmotnosti:

$$m_1w_1 + m_2w_2 + \dots m_iw_i = (m_1 + m_2 + \dots m_i)w$$

$m_1, m_2, m_i$  sú hmotnosti roztokov

$w_1, w_2, w_i$  sú hmotnostné zlomky roztokov

$w$  je hmotnostný zlomok výsledného roztoku

### Postup práce pri stanovení hustoty kvapaliny pyknometricky

1. Suchý prázdny pyknometer zvážíme. ( $m_1$ )
2. Potom ho naplníme kvapalinou, pripraveným roztokom kyseliny chlorovodíkovej z predchádzajúcej úlohy, uzavrieme zátkou, prebytočnú kvapalinu osušíme filtračným papierom a zvážíme. ( $m_2$ )
3. Rovnako zvážíme pyknometer s destilovanou vodou. ( $m_3$ )

Hustotu vypočítame:

$$\rho = \frac{m}{V} = \frac{m_2 - m_1}{V} = \frac{m_2 - m_1}{m_3 - m_1}$$

kde:

$m_1$  = hmotnosť prázdneho pyknometra

$m_2$  = hmotnosť pyknometra s meranou kvapalinou

$m_3$  = hmotnosť pyknometra s vodou.

Presnejšie vypočítame hustotu podľa:

$$\rho = \frac{m_2 - m_1}{m_3 - m_1} \cdot (\rho_{H_2O} - \rho_V) + \rho_V$$

kde:

$\rho(H_2O)$  hustota vody pri danej teplote

$\rho(V)$  hustota vzduchu. Pre zjednodušenie stačí použiť hustotu vody.

Hustota vody pri 20 °C je 998,2 kg·m<sup>-3</sup> (0,9982 g·cm<sup>-3</sup>), ak potrebujeme inú hodnotu nájdeme ju v tabuľkách v prílohe. Meranie opakujeme tri krát a získané hodnoty zapíšeme do tabuľky:

| $n$ | $m_0$ [g] | $m_1$ [g] | $m_2$ [g] | $\rho_{H_2O}$ [g cm <sup>-3</sup> ] | $\rho_A$ [g cm <sup>-3</sup> ] | $(\Delta\rho)^2$ [g <sup>2</sup> cm <sup>-6</sup> ] |
|-----|-----------|-----------|-----------|-------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 1   |           |           |           |                                     |                                |                                                     |
| 2   |           |           |           |                                     |                                |                                                     |
| 3   |           |           |           |                                     |                                |                                                     |

$$\bar{\rho}_A = \frac{\sum_{i=1}^n \rho_{A,i}}{n} \quad (\Delta\rho)_i^2 = (\rho_{A,i} - \bar{\rho}_A)^2 \quad \delta = \sqrt{\frac{\sum (\Delta\rho)^2}{n(n-1)}}$$

kde:

Smerodajnú odchýlku  $\delta$  vypočítame zo súčtu štvorca jednotlivých odchýlok, kde  $n$  je počet meraní. Smerodajnú odchýlku zaokrúhlime na jednu platnú číslicu a hustotu vyjadríme:

$$\rho_A = (\bar{\rho}_A \pm \delta) \text{ g cm}^{-3}$$

### Postup práce pri meraní hustoty pevných látok pyknometricky

Je to porovnávacia metóda vhodná na meranie hustoty pevných drobných teliesok. Pyknometer použijeme pre meranie objemu teliesok, ktorých hustotu stanovujeme, pričom metóda spočíva v trojitom vážení:

1. Zvážíme telieska látky A ( $m_A$ ). Označíme si ich objem  $V_A$ , potom podľa definície platí:

$$\rho_A = \frac{m_A}{V_A}$$

2. Určíme objem meraných teliesok látky A. Naplníme pyknometer destilovanou vodou a zvážíme jeho hmotnosť ( $m_1$ ). Potom do pyknometra vložíme telieska a po dokonalom osušení pyknometra ho znovu zvážíme ( $m_2$ ).

Hmotnosť vody  $m_{\text{H}_2\text{O}}$ , ktorá vytiekla z pyknometra potom je:

$$m_{\text{H}_2\text{O}} = m_A + m_1 - m_2$$

Ak je  $\rho_{\text{H}_2\text{O}}$  hustota vody tak objem tejto vody a teda aj objem teliesok je:

$$V_{\text{H}_2\text{O}} = \frac{m_{\text{H}_2\text{O}}}{\rho_{\text{H}_2\text{O}}} = \frac{m_A + m_1 - m_2}{\rho_{\text{H}_2\text{O}}} = V_A$$

Po dosadení do prvého vzťahu dostaneme:

$$\rho_A = \frac{m_A}{m_A + m_1 - m_2} \rho_{\text{H}_2\text{O}}$$

Pyknometer najprv prepláchneme, potom naplníme destilovanou vodou asi do polovice hrdla a opatrne zasunieme zátku, ktorej kapilárnym otvorom vytečie prebytočná voda. Kvapôčku vody na zátku pyknometra (nad kapilárnym otvorom) stierame suchým prstom, filtračný papier by vysal vodu aj z časti kapiláry. Pri plnení aj pri iných manipuláciách s pyknometrom ho držíme za hrdlo, aby sme ho zbytočne nezahrievali. [Herchel et al., 2023] Povrch pyknometra osušime dokonale filtračným papierom. Vnútri pyknometra nesmú byť vzduchové bubliny, kapilára musí byť naplnená vodou. Zvážíme niekoľko teliesok látky A ( $m_A$ ) a následne zvážíme aj pyknometer s vodou ( $m_1$ ).

Potom vyberieme zátku z pyknometra, nasypeme doň telieska a zátku opäť opatrne zasunieme. Pyknometer opäť osušime filtračným papierom a zvážíme ( $m_2$ ). Zmeriame teplotu vody v pyknometri a v tabuľkách nájdeme jej hustotu (Príloha 1-vzadu). Vypočítame hustotu teliesok pre každé meranie. Meranie opakujeme 3-krát, vždy pre iný počet teliesok a namerané hodnoty aj vypočítané hustoty napíšeme do tabuľky:

| $i$ | $m_A$ [g] | $m_1$ [g] | $m_2$ [g] | $\rho_{\text{H}_2\text{O}}$ [g cm <sup>-3</sup> ] | $\rho_A$ [g cm <sup>-3</sup> ] | $(\Delta\rho)^2$ [g <sup>2</sup> cm <sup>-6</sup> ] |
|-----|-----------|-----------|-----------|---------------------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 1   |           |           |           |                                                   |                                |                                                     |
| 2   |           |           |           |                                                   |                                |                                                     |
| 3   |           |           |           |                                                   |                                |                                                     |

Pri stanovení smerodajnej odchýlky postupujeme ako v prípade hustoty kvapaliny a výsledok zapíšeme v tvare:

$$\rho_A = (\bar{\rho}_A \pm \delta) \text{ g cm}^{-3}$$

### Postup práce pri kryštalizácii

Roztok modrej skalice, ktorý sme si pripravili v prvej úlohe, prelejeme do kadičky s vhodnou veľkosťou, položíme na keramickú sieťku a začneme zahusťovať (teda zapneme kahan nasadíme si okuliare a tyčinkou roztok premiešavame v kadičke).

Keď sa objem zníži na polovicu, kahan vypneme a necháme chvíľku ochladnúť. Skontrolujeme či nepozorujeme vznik **kryštalizačnej blany** alebo tvorbu mikrokryštálikov na hladine, ak nie pokračujeme v zahusťovaní kým sa tak nestane. Ak blana vzniká, roztok dáme do ľadového kúpeľa a necháme vykryštalizovať. Prebytočnú kvapalinu zlejeme a kryštály vysušíme medzi filtračnými papiermi. Zvážime a vypočítame výťažnosť kryštalizácie. [Vargová et al., 2019]

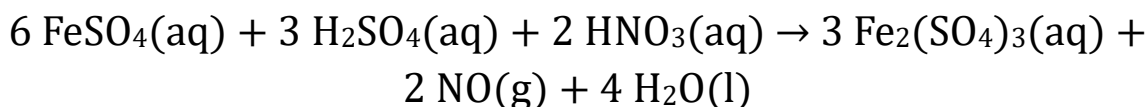
## 6. Príprava oxidov, zrážanie, filtrácia a dekantácia

### (2. laboratórna úloha)

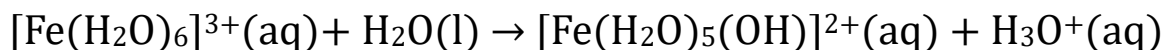
#### 6.1 Teoretický úvod

##### Hydratovaný oxid železitý

Železnaté soli ľahko podliehajú oxidácii. Ak sa na síran železnatý pôsobí kyselinou dusičnou, vzniká síran železitý podľa reakcie:



Železité soli sú stále len v kyslom prostredí, pretože ľahko podliehajú hydrolýze, preto na zabránenie hydrolýzy pridávame do roztoku pár kvapiek kyseliny na jej potlačenie. Hydrolýzu do prvého stupňa môžeme vyjadriť rovnicou:



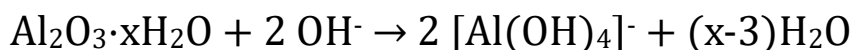
Ak sa na vodné roztoky železitých solí pôsobí zásadami, ktoré viažu katióny  $\text{H}_3\text{O}^+$ , napríklad vodným roztokom amoniaku, stupeň hydrolýzy sa zvýši a z roztokov sa vyzráža hydratovaný oxid železitý podľa rovnice:



Nie je to jednoduchý hydroxid železitý  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ , jeho zloženie je možné vyjadriť ako  $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ , resp. je blízke vzorcu  $\text{FeO}(\text{OH})$ . Oxid železitý ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) je amfotérny oxid železa hnedočervenej farby, v prírode sa vyskytuje ako minerál hematit (romboédrická sústava - najdôležitejšia ruda železa), prípadne maghemit (kocková sústava). Oxid železitý sa používa ako magnetická vrstva v záznamových médiách (magnetické pásky, diskety, v kozmetike ako červený pigment) a v laboratóriu ako surovina (v zmesi s hliníkom) na prípravu čistého železa, prípadne ako prísada do termitu (pyrotechnická zmes, horiaca vysokou teplotou).

##### Hydratovaný oxid hlinitý

Rozdielne správanie železitých a hlinitých iónov v zásaditom prostredí môžeme využiť na ich oddelenie. Z roztoku obsahujúceho železité a hlinité zlúčeniny možno pridaním nadbytku roztoku NaOH takmer kvantitatívne oddeliť železité zlúčeniny vo forme gélového hydratovaného oxidu železitého. Za týchto podmienok sa vyzrážaný hydratovaný oxid hlinitý rozpustí za tvorby hydroxohlinitanov podľa rovnice:



Po odfiltrovaní hydratovaného oxidu železitého možno z filtrátu spätným zrážaním pomocou látky viažucej hydroxidové anióny pripraviť hydratovaný oxid hlinitý, čím sa smer horeuvedenej reakcie obráti. Oddelenie hydratovaného oxidu hlinitého z homogénneho roztoku obsahujúceho železitú a hlinitú zlúčeninu možno popísať nasledovnými reakciami:



Oxid hlinitý je amfotérny oxid hliníka s chemickým vzorcom  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . V prírode sa vyskytuje ako minerál korund, prípadne jeho drahokamové odrody rubín a zafír. Priemyselne sa získava z bauxitu (hornina pozostávajúca zo zmesi minerálov hliníka, železa a ílových minerálov) a je hlavnou surovinou používanou pri výrobe hliníka.

### **Bezvodý oxid hlinitý - sušenie**

Sušenie znamená odstraňovanie určitého množstva vody alebo inej kvapaliny z látky. Voda prípadne iná kvapalina môže byť v látke rôzne viazaná. Na povrchu látok je voda pútaná adsorpčnými alebo kapilárnymi silami. Pri sušení sa však často odstraňuje aj chemicky viazaná voda. Vo všeobecnosti sušenie prebieha vtedy, keď sa v okolí sušenej látky znižuje rôznym spôsobom parciálny tlak vodných pár natoľko, aby bol nižší ako tlak vodných pár sušenej látky. Postup a spôsob sušenia volíme podľa chemického charakteru a skupenského stavu látky.

Z **fyzikálnych spôsobov** sušenia sa v laboratóriu používajú sušenie prúdom vzduchu, sušenie v sušiarňach, sušenie plynov vymrazovaním. Pri **chemických spôsoboch** sušenia sa ako sušidlá používajú látky, ktoré vodu rozkladajú (napr. *sodík, draslík, acetylid vápenatý*) alebo sa voda na ne viaže (napr. *silikagél, molekulové sitá, aktívny oxid hlinitý, chloristan horečnatý, koncentrovaná kyselina sírová, chlorid vápenatý*). Prúdom vzduchu alebo iného plynu sa sušia tuhé látky. Tento spôsob sa používa napr. pri sušení kryštálov priamo na Büchnerovom lieviku. Bezvodé kryštalické látky sušíme v **elektrických sušiarňach** pri teplote okolo 105 °C. Sú to tepelne izolované skrinky s automatickou reguláciou teploty až do hodnoty 250 °C. Doba sušenia je rôzna. Zrazeniny vždy sušíme do konštantnej hmotnosti, to znamená tak dlho, až sa hmotnosť zrazeniny pri opakovanom vážení nemení. Na vysušovanie menších množstiev látok pri vyššej teplote používame **infračervenú lampu** alebo vzdušný kúpeľ. Tuhé látky môžeme sušiť aj v **exsikátoroch** (Obr. 6). Sú to sklenené hrubostenné nádoby so zabrušeným, dobre priliehavým vekom, naplnené hygroskopickou látkou. V ich hornej časti na porcelánovej vložke uschováame sušené látky, v spodnej časti sa nachádza sušiaci materiál. Exsikátor používame aj na ochladenie vyžíhaných, ešte horúcich téglíkov alebo misiek pred ich vážením. Exsikátor vždy prenášame tak, že ho uchopíme obidvomi rukami tak, že palcami pridržujeme veko exsikátora. Vyžíhané téglíky nevkladáme ihneď do exsikátora, ale ich držíme v kliešťoch, kým neprestanú vyžarovať viditeľné tepelné žiarenie (teplota okolo 550 °C). Aj tak je isté riziko, že

pretlak teplého vzduchu v exsikátore nám zhodí veko. Rýchlym pootvorením pretlak ľahko odstránime. Exsikátor otvárame len na dobu nevyhnutne potrebnú na vloženie alebo vybratie daného predmetu. Veko exsikátora nikdy nepoložíme na laboratórny stôl zábrusovou plochou natretou mazivom, lebo by sa nám na nej zachytili častice prachu a veko by už netesnilo. Náplň exsikátora je potrebné občas vymeniť. Množstvo vysušovadla má dosahovať do jednej tretiny výšky zúženej spodnej časti exsikátora.

Kvapaliny sušíme tak, že ich premiešame s hygroskopickou látkou, ktorá s kvapalinou chemicky nereaguje. Na vysušenie organických kvapalín sa často používa *bezvodý chlorid vápenatý*  $\text{CaCl}_2$  a *bezvodý síran sodný*  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Niektoré organické kvapaliny možno úspešne vysušiť destiláciou. Látky, ktoré sa pri mierne zvýšenej teplote ihneď rozkladajú, napríklad viaceré kryštallohydráty, z ktorých uniká voda, sušíme voľne na vzduchu pri laboratórnej teplote. [Vargová et al., 2019]

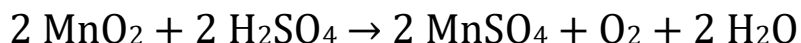
### Oxid manganičitý

$\text{MnO}_2$  je čierny prášok (tetragonálna mriežka), nerozpustný vo vode, pri teplote  $535^\circ\text{C}$  sa rozkladá na  $\text{Mn}_2\text{O}_3$ , nepatrí teda k najstálejším oxidom mangánu. Oxid manganičitý sa vyskytuje aj v hydratovanej forme, často je nestechiometrický. Jedinou stochiometrickou formou je tzv.  $\beta$  –  $\text{MnO}_2$ , ktorý má rutilovú štruktúru. Hoci je stochiometrický, môže jeho zloženie kolísať medzi  $\text{MnO}_{1,93}$  až  $\text{MnO}_{2,0}$ . Pripravuje sa miernym zahrievaním dusičnanu manganatého, zatiaľ čo zrážaním z vodného roztoku, ku ktorému dochádza napr. pri redukcii manganistanu v slabo zásaditom prostredí, vzniká hnedočierny hydrát oxidu manganičitého  $\text{MnO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ . Na bezvodý oxid sa nedá previesť zahrievaním – dochádza k čiastočnému odštepovaniu kyslíka (pozri rozklad pri teplote nad  $535^\circ\text{C}$ ). Príprava oxidu manganičitého je založená na redukcii  $\text{KMnO}_4$  siričitanom sodným podľa nasledovnej reakcie



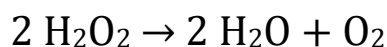
#### **Vlastnosti $\text{MnO}_2$ :**

V prírode sa vyskytuje v podobe minerálu burel. Je hnedo sfarbený, zahriatím prechádza po strate kyslíka na  $\text{Mn}_3\text{O}_4$ . Vo vode, v  $\text{HNO}_3$  a zriedenej  $\text{H}_2\text{SO}_4$  je nerozpustný, v horúcej  $\text{H}_2\text{SO}_4$  uvoľňuje kyslík a dochádza k tvorbe  $\text{MnSO}_4$ .



S  $\text{HCl}$  dochádza k uvoľneniu  $\text{Cl}_2$  a vzniku  $\text{MnCl}_2$  a vody (laboratórny spôsob prípravy chlóru).

Je dôležitým oxidačným činidlom, používa sa na odfarbenie tavenín v sklárstve a ako depolarizátor v suchých článkoch. Používa sa aj ako katalyzátor (napr. rozklad  $\text{H}_2\text{O}_2$ ).



## 6.2 Zadanie úloh

1. *Príprava hydratovaného oxidu hlinitého zo zmesi oxidov.*
2. *Príprava bezvodého oxidu hlinitého žiňaním.*
3. *Príprava 1 g oxidu manganičitého a jeho dôkaz.*

## 6.3 Postup práce

### Použité chemikálie:

- Zásobný roztok  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Al}^{3+}$  iónov,  $w(\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3) = 0,05$ ;  $w(\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3) = 0,005$
- Hydroxid sodný, NaOH
- Síran amónny  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

### Príprava $\text{Al}(\text{OH})_3$ zo zmesi oxidov

Hydratovaný oxid hlinitý izolujeme z vopred pripraveného roztoku, ktorý sa nachádza v digestore. Tento roztok obsahuje síran hlinitý a síran železitý a je mierne okyslený. Z roztoku odoberieme asi 100 g a vo vyššej kadičke zohrejeme takmer do varu.

Potom pripravíme horúci 10 % roztok NaOH obsahujúci ekvimolárne množstvo potrebného NaOH na vyzrážanie hydratovaných oxidov  $\text{Al}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$  ako aj na rozpustenie zrazeniny  $\text{Al}(\text{OH})_3$ , ktorý za stáleho miešania prilievame do horúceho roztoku obsahujúceho hlinitú a železitú soľ. Spočiatku pozorujeme tvorbu objemnej hnedasto sfarbenej zrazeniny, ktorej množstvo sa ďalším pridávaním roztoku NaOH znižuje. Pri hodnotách pH roztoku okolo 12-13 sa prechodne utvorená zrazenina  $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  úplne rozpustí a v roztoku pozorujeme len klkovitú tmavohnedú zrazeninu hydratovaného oxidu železitého. Zmes krátko zohrejeme takmer do varu, premiešame ju a necháme ochladnúť.

Ešte mierne teplý roztok prefiltrujeme cez skladaný filter. Odfiltrovaný hydratovaný oxid železitý ďalej nespracovávame.

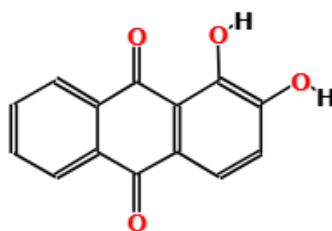
Z číreho filtrátu, obsahujúceho len rozpustné hydroxohlinitany, možno získať hydratovaný oxid hlinitý pomalým pridávaním roztoku síranu amónneho za varu. Odfiltrovaný roztok hydroxohlinitanov zohrejeme v kadičke takmer do varu. Potom za stáleho miešania po malých dávkach prilievame asi 30 % teplý roztok síranu amónneho až do pH roztoku okolo 9. Ak pridávame naraz väčšie množstvo roztoku síranu amónneho, biela zrazenina je veľmi jemná, zle filtrovateľná a pomaly sa suší.

Reakčnú zmes potom ešte krátko povaríme za občasného premiešania, aby sa z nej vypudil amoniak. Vyzrážaný biely produkt za tepla odfiltrujeme na Büchnerovom lieviku, premyjeme

horúcou destilovanou vodou, vysušíme pri 120 °C v elektrickej sušiarňi. Suchá zrazenina sa svojím zložením blíži k zloženiu hydroxidu hlinitého.

#### Dôkaz hliníka:

Prítomnosť hliníka v produkte dokážeme pomocou skúmavkovej reakcie s **alizarínom** ( $C_{14}H_8O_4$ , 1,2-dihydroxy-9,10-anthrachinón, Obr. 29). Alizarín ľahko tvorí komplexy s kovmi (farebné laky), ktoré sa používali ako moridlové farbivá bavlnených tkanín. Vápenato-hlinitý komplex alizarínu je jasnočervený (alizarínová červeň, turecká červeň), používa sa na prípravu veľmi hodnotných umeleckých a polygrafických farieb. So soľami chrómu vytvára alizarín hnedé a so soľami železa fialové laky.



Obrázok 29 Štruktúra molekuly alizarínu.

V skúmavke k malému množstvu zrazeniny  $Al_2O_3 \cdot xH_2O$  pridáme zriedenú HCl (1:1) a niekoľko kvapiek alizarínu. Následne pomaly pridávame roztok koncentrovaného amoniaku na zneutalizovanie. V skúmavke pozorujeme tvorbu červeného prstenca (hlinitý lak).

#### Stanovenie obsahu vody v hydratovanom oxide hlinitom

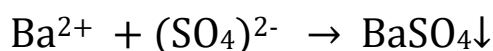
V porcelánovom téglíku presne odvážime 1 g  $Al_2O_3 \cdot xH_2O$ , ak nemáme dostatok z predchádzajúcej úlohy použijeme množstvo, ktoré máme odvážené čo najpresnejšie. Tento vložíme do muflovej pece nastavenej na teplotu 300 °C na dobu 20 minút. Téglik s vysušenou látkou preniesieme do exsíkátora a necháme vychladnúť. Po vychladnutí téglíka s látkou zvážíme a postup opakujeme až do získania konštantnej hmotnosti. Z nameraných hmotností výpočtom stanovíme množstvo vody ( $x$ ) v hydratovanom oxide hlinitom. Vzorec pripraveného oxidu hlinitého z prvej úlohy zapíšeme ako  $Al_2O_3 \cdot xH_2O$  pričom hodnotu  $x$  sme získali z výpočtu po žíhaní.

#### Príprava 1 g oxidu manganičitého redukciou

Z reakcie vypočítame množstvo  $KMnO_4$  potrebné na prípravu 1 g oxidu manganičitého a pripravíme z neho 5 %-ný vodný roztok vo vysokej kadičke. K takto pripravenému roztoku pridáme vypočítané množstvo siričitanu sodného v 10 %-nom nadbytku rozpustené v 100 ml vody. Dôkladne zamiešame a necháme vytvoriť sediment. Po vytvorení sedimentu by sme mali

pozorovať číry roztok nad zrazeninou, v prípade mierne ružovkastého zafarbenia pridáme malý nadbytok siričitanu sodného (vysvetliť dôvod!).

Po usadení tuhej fázy prevádzame *dekantáciu* (kapitola 4.3) do vymytia síranov, čo potvrdíme negatívnou reakciou s vo vode rozpustnou bárnatou soľou ( $\text{BaCl}_2$  a pod.). Prítomnosť síranových iónov v roztoku pozorujeme po kvapnutí roztoku na hodinové sklíčko a pridaní roztoku barnatej soli ako bielu objemnú zrazeninu síranu barnatého vznikajúceho podľa rovnice:



Po ukončení dekantácie produkt separujeme filtráciou pri zníženom tlaku a presušíme v sušiarňi pri cca 105 – 110 °C. Vysušený produkt zvážíme a vypočítame výťažnosť. Prípadný vysoký výťažok je potrebné zdôvodniť.

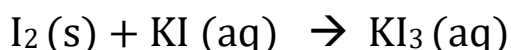
#### Dôkaz mangánu:

Z produktu si odoberieme malé množstvo na dôkaz (s KI a škrobom). Využijeme oxidačné vlastnosti  $\text{MnO}_2$  (viď schéma), jedná sa o nepriami dôkaz mangánu:

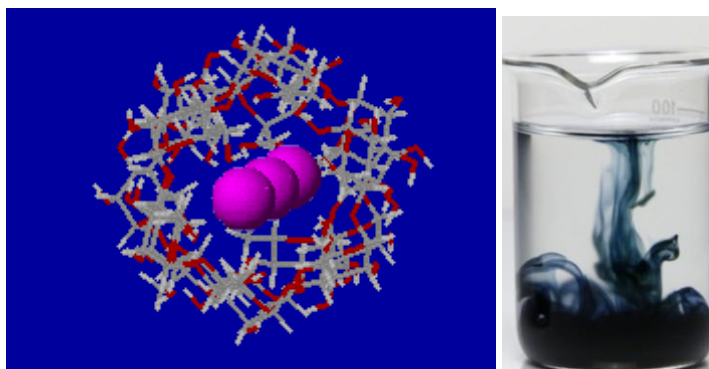


(vznikajúci  $\text{MnCl}_4$  je nestály a rozkladá sa za vzniku molekulového chlóru)

Do skúmavky umiestnime malé množstvo produktu, pridáme KI a kyselinu chlorovodíkovú. Obsah nemiešame a pozorujeme svetlo-oranžový roztok redukcie mangánu. Následne pridáme *škrobový maz* a pozorujeme zmenu sfarbenia v dôsledku vzniku elementárneho jódu podľa nasledovnej reakcie:



(vylúčenie jódu by malo spôsobiť zmenu sfarbenia na **tmavomodré v dôsledku vzniku klatrátového komplexu**).



Obrázok 30 Komplex škrobu s trijodidovým aniónom.

## 7. Odmerná analýza. Acidobázické titrácie

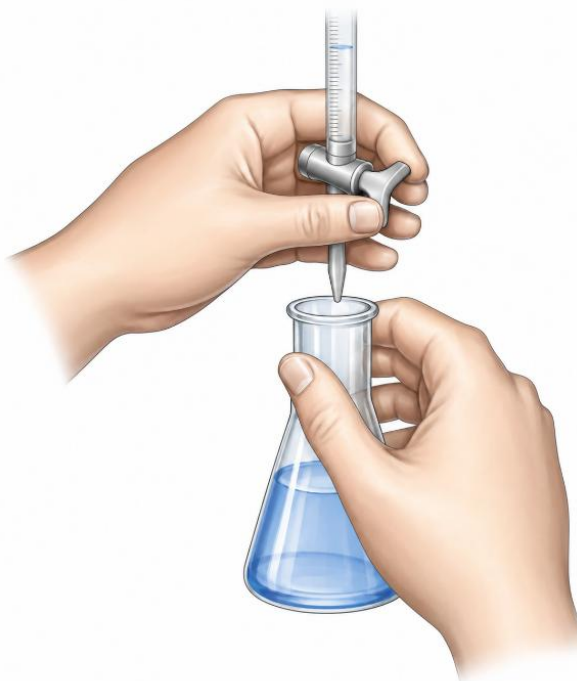
### (3. laboratórna úloha)

#### 7.1 Teoretický úvod

**Odmerná analýza** je založená na presnom stanovení objemu takzvaného odmerného roztoku (**titrantu**), ktorý sa spotrebuje pri reakcii s porovnávacím štandardným roztokom a následne pri reakcii s roztokom analyzovanej látky (**titrandom**). Roztok titrantu musí byť **štandardizovaný**. To znamená, že musí byť stanovená jeho presná koncentrácia.

**Titrácia** je postupné pridávanie odmerného činidla k analyzovanej látke s cieľom presne určiť jeho „ekvivalentný objem“, čo je taký objem titračného činidla, ktorý zodpovedá spotrebe na reakciu so všetkou analyzovanou látkou, prítomnou v reakčnom roztoku.

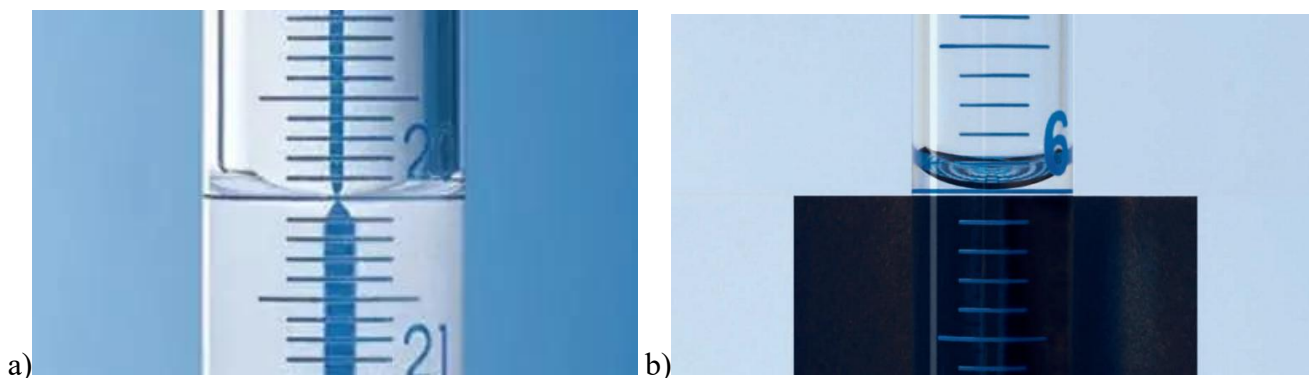
Okamih, keď množstvo pridaného titrantu je chemicky ekvivalentným množstvom pri titrácii, sa nazýva **bod ekvivalencie**. Bod ekvivalencie sa zisťuje na základe zmeny farby, alebo iných vlastností indikátora – špeciálnej pomocnej látky pridávanej do titrovaného roztoku. V oblasti bodu ekvivalencie indikátor zmení svoju farbu, vytvorí zrazeninu alebo spôsobí iný pozorovateľný efekt. Bod ekvivalencie je možné určiť aj inštrumentálne. Podľa **typu reakcie** medzi titrantom a titrandom sa metódy odmernej analýzy rozdeľujú na: **acidobázické (neutralizačné), oxidačno-redukčné, zrážacie a komplexotvorné**.



Obrázok 31 Správna technika titrácie.

Dominantná je pravá ruka

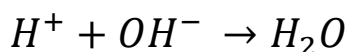
[Christian et al., 2013].



Obrázok 32 a) Vzhľad menisku ( $V = 21,00$  ml) na Shelbachovej páske v byrete, b) Čítanie menisku ( $V = 6,00$  ml) pomocou kúska tmavého papiera.

### Acidobázické titrácie. Acidimetria a alkalimetria

K acidobázickým titráciám patria všetky odmerné stanovenia, základom ktorých je reakcia vedúca k neutralizácii reakčného roztoku:



Rovnováha uvedenej reakcie je posunutá vpravo v dôsledku vzniku málo disociovannej  $H_2O$ . Pomocou tejto metódy sa stanovujú kyseliny, zásady, niektoré soli, dusík, síra v organických zlúčeninách atď. Ak je titrantom odmerný roztok silnej kyseliny, hovoríme o **acidimetrii**, a ak je titrantom silná zásada, tak o **alkalimetrii**. Najčastejšie používané titračné činidlá v oblasti acidobázických titrácií sú:  $HCl$ ,  $H_2SO_4$ ,  $NaOH$ ,  $KOH$ .

Pomocou acidobázickej titrácie (alkalimetrie) možno stanoviť množstvo kyselín v niektorých potravinách, napríklad obsah organických kyselín vo víne, ktorý vyjadruje celkovú kyslosť vína. **Celková kyslosť vína** je súčet jeho titrovateľných kyselín pri titracii na pH 7 pomocou štandardného roztoku  $NaOH$ . Oxid uhličitý nie je súčasťou celkovej kyslosti. V prípade rozboru šumivých vín  $CO_2$  musí byť odstránený z roztoku prevarením [OIV, 2024]. Celková kyslosť vín (prepočítaná na kyselinu vínnu) sa pohybuje v rozmedzí:

**4–9 g.l<sup>-1</sup> – biele vína,**

**4–6 g.l<sup>-1</sup> – červené vína.**

### Oxidačno-redukčné titrácie

Oxidačno-redukčné titrácie sú založené na oxidačno-redukčných reakciách. Zvyčajne sa nazývajú podľa použitého titrantu, napríklad jodometria, manganatometria, bromatometria, dichromatometria. Tu sa ako štandardné roztoky používajú príslušne  $I_2$ ,  $KMnO_4$ ,  $KBrO_3$ ,  $K_2Cr_2O_7$  atď.

**Jodometria.** Základom jodometrických metód je reakcia iódu s svojim elektródovým potenciálom:

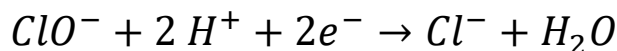
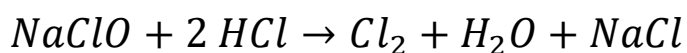


Jód je oxidačne činidlo strednej sily. Preto sa tento systém používa na stanovenie oxidačných činidiel, napríklad, chlóru v chlórane sodnom (rovnováha sa posúva doľava) aj na stanovenie redukčných činidiel (rovnováha sa posúva doprava).

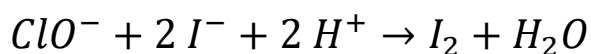
Ako indikátor v jodometrii sa používa čerstvo pripravený roztok škrobu (0,2–1 %). Pri reakcii škrobu s jódom vzniká komplexná zlúčenina s modrou farbou. Škrob sa má pridávať do titrovaného roztoku až vtedy, keď je už väčšina jódu zreagovala s tiosíranom sodným, inak škrob vytvorí s prebytkom jódu natoľko silnú zlúčeninu, že dôjde k nadmernej spotrebe tiosíranu sodného.

Pomocou jodometrie možno stanoviť koncentráciu chlóru v chlórane sodnom. Chlórnan sodný ( $\text{NaClO}$ ), 5,25 % (55 g/l) roztok dostupného chlóru (ako  $\text{Cl}_2$ ) vo vode, známy ako „tekuté bielidlo“ alebo jednoducho „bielidlo“. Historicky sa nazýval „Javelova voda“ (francúzsky: eau de Javel). Používa sa v mnohých domácnostiach na bielenie bielizne, dezinfekciu tvrdých povrchov v kuchyniach a kúpeľniach, úpravu pitnej a bazénovej vody. Na Slovensku je známy pod obchodným názvom „Savo“.

Výrobok je alkalický roztok s pH vyšším ako 11 pri teplote 20 °C. Reaguje s kyselinami a kyslými soľami za vzniku chlóru ( $\text{Cl}_2$ ). S redukčnými činidlami dochádza k búrlivým reakciám. Je silným oxidačným činidlom:



Chlórnan sodný reaguje s jodidom draselným (KI) v kyslom prostredí (v prítomnosti kyseliny octovej) za vzniku molekulárneho jódu. Jód sa titruje odmerným roztokom tiosíranu sodného v prítomnosti roztoku škrobu ako indikátora [Skoog et al., 2013; Labuda et al., 2014].



*Poznámka: Takto možno stanoviť všetky oxidačné činidlá, ktoré reagujú v slabo kyslom prostredí, t. j. chlórnan/chlór, jodičnany, čiastočne chlóraminý,  $\text{Fe}^{\text{III}}$  atď. Bromičnan a chlorečnan nereagujú v týchto podmienkach.*

## 7.2 Zadanie úloh

1. *Štandardizácia odmerného roztoku NaOH.*

2. *Stanovenie kyselín v potravinách: stanovenie celkovej kyslosti vína*

## 7.3 Postup práce

### Stanovenie celkovej kyslosti vína

#### Použité chemikálie

- 0,1–0,2 % roztok fenolftaleínu v etanole
- 0,4 % roztok brómtymolovej modrej (brómtymolová modrá (4 g) sa rozpustí v 200 ml neutrálneho 96 % etanolu, následne sa pridá 200 ml vody bez CO<sub>2</sub> a 1 mol·l<sup>-1</sup> NaOH do modro-zelenej farby (pH 7) cca 7,5 ml, roztok sa zriedi na 1000 ml)
- 0,1–0,2 % roztok metyloranže
- tlmivý roztok s pH 7,0 (107,3 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 500 ml 1 mol·l<sup>-1</sup> NaOH, voda do 1000 ml);
- 50 % roztok NaOH (po príprave roztoku nechať odstať minimálne 5–7 dní na vyzrážanie Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)
- hydrogenftalát draselný (HOCC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>COOK, KHP), vysušený 2 hod pri 105–120 °C (na štandardizáciu NaOH - (metóda č. 1)
- 0,1000 mol·l<sup>-1</sup> štandardný roztok HCl (na štandardizáciu NaOH - metóda č. 2).

### Príprava 0,1 mol·l<sup>-1</sup> roztoku NaOH, neobsahujúceho uhličitany.

Na jeho prípravu sa využíva skutočnosť, že Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> prítomný v suchom NaOH je prakticky nerozpustný v 50 % roztoku (čo zodpovedá cca 19 mol·l<sup>-1</sup>) NaOH. Keď takýto roztok stojí niekoľko dní (až týždeň), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sa usadzuje na dne nádoby a nad sedimentom sa vytvorí čistá priehľadná kvapalina. Na prípravu roztoku NaOH, ktorý neobsahuje uhličitany, je potrebné tento roztok opatrne dekantovať alebo centrifugovať. Pri rozpúšťaní NaOH dochádza k silnému zahrievaniu, preto sa 50 % roztok NaOH pripravuje v kadičke z borosilikátového skla, alebo porcelánovej nádobe. Potom sa roztok ochladí a uchováva v polyetylénovej nádobe. 50 % roztok NaOH, ktorý neobsahuje uhličitany, použijeme na prácu v priebehu cvičenia.

250 ml odmerná banka, vybavená gumovou zátkou, sa naplní do polovice vodou, ktorá neobsahuje CO<sub>2</sub>, pridá sa 1,5 ml číreho 50 % roztoku NaOH, uzavrie sa zátkou a premiešava sa otáčavými pohybmi. Je potrebné čo najviac zabrániť kontaktu roztoku s atmosférickým vzduchom. Potom sa pridá voda bez CO<sub>2</sub> až po značku, odmerná banka sa uzavrie zátkou a dôkladne sa premieša.

Roztok hydroxidu sodného pripravený opísaným spôsobom má koncentráciu približne 0,1 mol·l<sup>-1</sup>. Tento je potrebné štandardizovať použitím **primárneho štandardu** – napríklad hydrogenftalátu draselného (KHP).

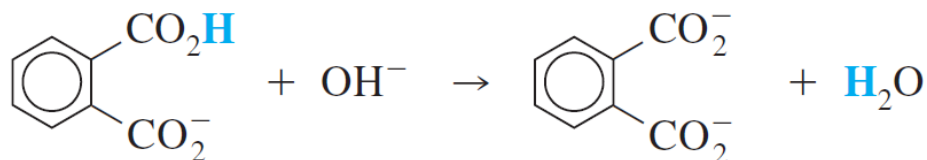
### Štandardizácia odmerného 0,1 mol·l<sup>-1</sup> roztoku NaOH pomocou hydrogenftalátu draselného (metóda č. 1).

Do troch čistých 250 ml titračných baniek si navážime hydrogenftalát draselný (vysušený do konštantnej hmotnosti). Návažky KHP môžu byť v intervale hmotností 0,25–0,4 g. Každú navážku kvantitatívne prenesieme do pripravených titračných baniek a rozpustíme v cca 50 ml destilovanej vody neobsahujúcej CO<sub>2</sub>. Byretu najprv 3-krát opláchneme

malým množstvom NaOH a potom NaOH doplníme presne po nulovú rysku pripravenej byrety. Ak roztok do byrety nedoplníme po nulovú rysku, počiatočný objem v byrete si je potrebné dôsledne zapísať s presnosťou na 0,05 ml.

Do každej banky pridáme 2–3 kvapky fenolftaleínu a roztok titrujeme do vzniku slabo ružového zafarbenia. Zafarbenie musí byť stabilné aspoň 30 s. V blízkosti bodu ekvivalencie musíme titrovať pomaly a presne si zapíšeme hodnotu spotrebovaného objemu NaOH.

Výpočet koncentrácie NaOH (v  $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) na základe spotrebovaného objemu NaOH pri štandardizácii vyplynie zo stechiometrie nižšie uvedenej rovnice:



### Štandardizácia odmerného 0,1 $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztoku NaOH pomocou kyseliny chlorovodíkovej (HCl) (metóda č. 2).

Byretu si najprv 3-krát opláchneme malým množstvom NaOH a potom doplníme NaOH presne po nulovú rysku. Ak roztok do byrety nedoplníme po nulovú rysku, počiatočný objem v byrete si je potrebné dôsledne zapísať s presnosťou na 0,05 ml. Pre štandardizáciu metódou č. 2 potrebujeme do troch titračných baniek odpipetovať po 10 ml HCl.

Postup: pipetu opláchneme štandardným roztokom HCl a odpipetujeme 10,00 ml roztoku HCl do troch 250 ml titračných baniek. Potom pridáme do každej banky cca 20–30 ml destilovanej vody a 2 kvapky metyloranže. Roztok titrujeme z červeného cez oranžové do čisto žltého zafarbenia metyloranže, ktorá bola pridaná do pracovného roztoku.

Titrácia musí mať pri štandardizácii dostatočnú presnosť a preto výsledky troch po sebe nasledujúcich titrácií sa nesmú od seba líšiť viac ako 0,10 ml. Na výpočet presnej koncentrácie NaOH použijeme jeho priemernú spotrebu pri štandardizácii.

### Predbežný pokus: stanovenie koncového bodu podľa sfarbenia (titrácia so „svedkom“).

Do titračnej banky použitím odmerného valca prelejeme 25 ml destilovanej vody neobsahujúcej  $\text{CO}_2$  (prevarená destilovaná voda), pridáme 1 ml roztoku brómtymolovej modrej a 10 ml vína (nedelenu 10 ml pipetou). Roztok približne titrujeme pomocou štandardného NaOH do zmeny farby na modrozelenú. Potom si do banky s roztokom pridáme 5 ml tlmivého roztoku s pH 7,0. Farba vzniknutého roztoku (porovnávací roztok alebo „svedok“) bude slúžiť na stanovenie bodu ekvivalencie pri nasledujúcej presnej titrácii.

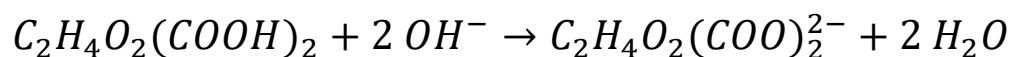
### Presné stanovenie.

Do titračnej banky použitím odmerného valca prelejeme 30 ml destilovanej vody, neobsahujúcej  $\text{CO}_2$ . Potom pridáme 1 ml roztoku brómtymolovej modrej a 10 ml vína

(nedelenou 10 ml pipetou). Roztok titrujeme pomocou štandardného NaOH do zmeny farby na tu istú farbu aká bola zistená predchádzajúcim pokusom (farba „svedka“). Titráciu opakujeme aspoň trikrát.

### Výpočet

V pôvodnej vzorke vína vypočítame obsah kyselín (v prepočte na kyselinu vinnú,  $M=150 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) v  $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  a v % podľa reakcie:



Na výpočty použijeme priemernú spotrebu odmerného činidla. Predpokladáme, že hustota vína je  $1,0 \text{ g}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

## 8. Oxidačno-redukčné titrácie

### (4. laboratórna úloha)

#### 8.1 Teoretický úvod

Teória je rovnaká ako v prípade úlohy 7.1.

#### 8.2 Zadanie úloh

1. *Štandardizácia  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  s  $\text{KIO}_3$*
2. *Stanovenie dostupného chlóru v chlórnanе sodnom.*

#### 8.3 Postup práce

Použité chemikálie:

- KI, kryštalický
- kyselina octová, koncentrovaná
- 0,5 % roztok škrobu (škrobový indikátor)
- $0,01667 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  KIO
- $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
- $1,0 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$  HCl

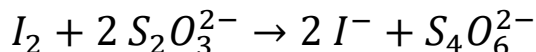
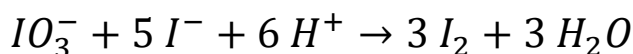
#### Príprava 250 ml $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Vypočítané a odvážené množstvo  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  rozpustíme v malom množstve destilovanej vody neobsahujúcej  $\text{CO}_2$  (prevarená a ochladená do izbovej teploty) v kadičke. Obsah kadičky kvantitatívne prelejeme do odmernej banky o objeme 250 ml a doplníme po rysku destilovanou vodou.

*Poznámka: roztok je stabilnejší, ak sa sklenené nádoby umyjú chrómovou zmesou ( $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) a dôkladne opláchnu vodou.*

#### Štandardizácia $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ s $\text{KIO}_3$

Pri reakcii jodidu a jodičnanu v kyslom prostredí prebieha reakcia vzniku molekulárneho jódu a roztok sa zafarbí do hneda (trijodid ( $I_3^-$ ) v prípade nadbytku jodidu), ktorý následne reaguje s  $Na_2S_2O_3$  za vzniku bezfarebných jodidov. Prebiehajú nasledujúce reakcie:



Vypočítané a presne odvážené množstvo jodičnanu draselného, s presnosťou na 0,1 mg, (na prípravu 100 ml  $0,01667 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) rozpustíme v malom objeme destilovanej vody v kadičke, kvantitatívne prelejeme do 100 ml odmernej banky, doplníme na objem po rysku destilovanou vodou a premiešame. Presne 10 ml roztoku  $KIO_3$  odpipetujeme do troch 250 ml Erlenmeyerových baniek a odmerným valcom prilejeme cca 50 ml destilovanej vody. Od tohto momentu pracujeme s každou vzorkou samostatne, aby sa minimalizovala chyba spôsobená oxidáciou jodidov pôsobením kyslíka zo vzduchu.

Pridáme 1,0 g KI a premiešame. Po rozpustení KI (roztok získa žltlooranžovú farbu) pomocou valca pridáme 10 ml  $1,0 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  kyseliny chlorovodíkovej (roztok získa hnedú farbu) a ihneď titrujeme štandardným roztokom  $Na_2S_2O_3$ . (V kyslom prostredí sa prebytok jodidu rýchlo oxiduje vzduchom na  $I_3^-$ , preto je potrebné titráciu vykonávať rýchlo.) Keď sa roztok stane svetložltým, pridáme 2 ml roztoku škrobového indikátora a titráciu dokončíme až do zmiznutia modrej farby. Štandardizujeme najmenej raz za mesiac. Na výpočet koncentrácie  $Na_2S_2O_3$  použijeme priemernú spotrebu odmerného činidla.

### Stanovenie $Cl_2$ v $NaOCl$

Odmeraných 10 ml vzorky prenesieme do odváženej navažovačky (je veľmi dôležité, aby horná časť navažovačky, najmä brúsená časť, zostala suchá). Zatvoríme vrchnákom a odvážime s presnosťou do 1 mg. Obsah navažovačky nalejeme do odmernej banky o objeme 250 ml, ktorá obsahuje približne 100 ml vody, pomocou lievika. Navažovačka a lievik prepláchneme prúdom vody zo stričky a preplachovaciu vodu zachytíme do odmernej banky. Obsah banky doplníme po rysku a dôkladne premiešame. Do troch 250 ml Erlenmeyerových baniek odpipetujeme po 20 ml roztoku vzorky, objem v bankách zriedime vodou približne na 50 ml.

Od tohto momentu pracujeme s každou vzorkou samostatne. Pridáme 1,0 g suchého KI a premiešame, kým sa úplne nerozpustí. Potom pridáme 5 ml koncentrovanej kyseliny octovej (nutné použiť digestor!) a analyzovaný roztok titrujeme štandardným roztokom  $Na_2S_2O_3$  do slabozltej farby. Potom pridáme 2 ml škrobového mazu a titrácia sa dokončí: titrujeme do vymiznutia modročiernej farby. Spotrebu odmerného činidla  $Na_2S_2O_3$  si dôsledne zapíšeme. Titráciu opakujeme minimálne trikrát.

### Výpočet

Na výpočet koncentrácie  $Cl_2$  (v  $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  a v %) použijeme priemernú spotrebu odmerného činidla minimálne troch opakovaných stanovení.

## 9. Meranie viskozity roztokov

### (5. laboratórna úloha)

#### 9.1 Teoretický úvod

Transportné vlastnosti látok sú také, ktoré opisujú schopnosť prenosu látky, energie alebo nejakej inej vlastnosti z jedného miesta na druhé. Medzi tieto transportné vlastnosti zaradzujeme napríklad:

- ✓ difúziu: prenos látky v smere koncentračného gradientu
- ✓ vedenie tepla: prenos látky v smere teplotného gradientu
- ✓ vedenie elektriny: prenos elektrického náboja v smere gradientu napätia
- ✓ viskozita: prenos hybnosti v smere gradientu

Medzi bežné metódy štúdia molekulového pohybu v kvapalinách patrí viskozimetria. Aby sa molekula pohybovala v kvapaline, musí nadobudnúť aspoň energiu potrebnú na únik od susedných molekúl. Inými slovami je viskozita schopnosť tekutej látky klásť odpor vzájomnému premiestňovaniu častíc. Ideálna kvapalina má nulovú viskozitu. Kvapaliny s nenulovou viskozitou vykazujú vnútorné trenie, teda vlastnosti reálnych kvapalín. Vnútorné trenie závisí na teplote, tlaku a na chemickom zložení kvapaliny. Pravdepodobnosť toho, že energia molekuly je väčšia alebo sa rovná aktivačnej energii  $E_a$ , je úmerná  $e^{-E_a/RT}$ , takže pohyblivosť molekúl v kvapaline by sa mala správať týmto typom teplotnej závislosti. Dynamická viskozita (viskozitný koeficient alebo koeficient vnútorného trenia)  $\eta$  je nepriamo úmerná pohyblivosti častíc a možno očakávať:

$$\eta = C \cdot e^{E_a/kT}$$

Z rovnice možno zistiť, že dynamická viskozita by mala prudko klesať so stúpajúcou teplotou. Pri zvýšení teploty, v dôsledku rastu počtu častíc schopných prekonať energetickú bariéru točenia a zmenšenie rozmeru častíc vplývajúcich na viskozitu, v dôsledku disociácie alebo iných zmien, viskozita klesá. Vyjadruje silu potrebnú k tomu, aby sa vrstva pohybovala o jednotkovej ploche vo vnútri kvapaliny voči rovnobežnej vrstve vzdialenej 1 m. V prípade, že na látku pôsobia zotrvačné, trecie a gravitačné sily, je vhodné látku charakterizovať kinetickou viskozitou, ktorú vyjadruje vzťah:

$$v = \frac{\eta}{\rho'}$$

Kde  $\eta$  je dynamická viskozita a  $\rho'$  je hustota kvapaliny.

Na meranie viskozity sa používa viacero typov viskozimetrov, medzi ktoré patrí napríklad Höpplerov viskozimeter, Ostwaldov viskozimeter alebo rotačný viskozimeter.

*Höpplerov viskozimeter* je guľôčkový viskozimeter (Obr. 33), pričom sa meria pádová doba v sklenenom temperovanom valci, ktorý je odklonený od vertikálneho smeru (napríklad o  $10^\circ$ ). Je ním možné meranie dynamickej viskozity priehľadných kvapalín. Počas toku kvapaliny kapilárou vzniká medzi jednotlivými vrstvami trenie. Sila, ktorou sa prekonáva odpor vnútorného trenia na stykovej ploche dvoch posúvajúcich sa vrstiev, je priamo úmerná rozdielu rýchlostí  $dv$ , veľkosti stykovej plochy  $A$  a nepriamo úmerná vzdialenosti vrstiev  $dx$  a nazýva sa dotyčnicové napätie  $\tau$ :

$$F = \tau = \eta A \frac{dv}{dx}.$$

Jednotkou dynamickej viskozity je pascal sekunda [Pa·s]. Meranie viskozity je založené na Stokesovej rovnici, ktorá popisuje pohyb guľôčky v skúšanom kvapalnom médiu:

$$F = 6 \pi \eta r v$$

kde  $F$  je sila pôsobiaca v smere rýchlosti na guľôčku s polomerom  $r$  [cm] padajúcu v kvapaline s dynamickou viskozitou  $\eta$  [Pa·s] s rýchlosťou  $v$  [cm·s<sup>-1</sup>]. Pri týchto viskozimetroch môžu byť pracovné podmienky napríklad od  $-60^\circ\text{C}$  do  $150^\circ\text{C}$  v rozsahu viskozít od 0,6 do 7,1 mPa·s. Teplota sa meria klasickým skleneným teplomerom a v závislosti od kvapaliny je možné zvoliť rôzne kalibrované guľičky. Viskozimeter môže byť využitý napríklad v chemickom priemysle, pri výrobe oleja, v medicíne, potravinárstve alebo v kozmetike.



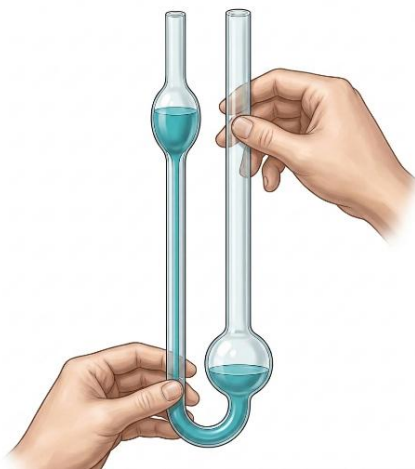
Obrázok 33 Höpplerov viskozimeter.

*Ostwaldov viskozimeter* je príkladom kapilárneho viskozimetra (Obr. 34). Použitie kapilárnych viskozimetrov je jednoduché, vyžaduje si malé množstvo vzorky a regulácia teploty je nenáročná. Prietok tekutiny kapilárou je meraný tak, že sa zaznamenáva čas, za ktorý sa dostane kvapalina určitého objemu z jedného vyznačeného bodu do druhého. Kvapalina môže prechádzať kapilárou aj za pôsobenia gravitačnej alebo inej externej sily. Kapilárny viskozimeter pozostáva z rezervoára kvapaliny, kapiláry známeho rozmeru, zariadenia pre

meranie a riadenie aplikovaného tlaku, pre meranie prietoku a termostatom pre udržiavanie požadovanej teploty. V prípade, ak máme k dispozícii porovnávaciu kvapalinu so známym  $\eta_0$ , nemusíme zisťovať geometrické rozmery viskozimetra, stačí porovnať prietokové časy  $t$  a  $t_0$ , za ktoré pretečie rovnaký objem meranej resp. porovnávacej kvapaliny tou istou kapilárou, pretože platí:

$$\eta = \frac{t \rho}{t_0 \rho_0} \eta_0.$$

Rozsah teplôt sa líši v závislosti od výrobcu, napríklad od 15 °C do 100 °C a je schopný pracovať v rozsahu viskozít od 0,3 do 40 000 mPa·s. V závislosti od testovanej kvapaliny je možné meniť priemer kapiláry a upravovať tak dobu prietoku kvapaliny.



Obrázok 34 Ostwaldov viskozimeter.

*Rotačný viskozimeter* pracuje na princípe merania rýchlosti otáčania pevného telieska určitého tvaru vo viskóznom médiu počas pôsobenia známej sily alebo točivého momentu na rotáciu pevného telesa pri presnej uhlovej rýchlosti (Obr. 35). Teleso je ponorené do kvapaliny, pričom rotuje konštantnou rýchlosťou. Pri ponorení telesa do kvapaliny vzniká na hriadeli elektromotora brzdiaci moment, to vyvolá zvýšenie intenzity prúdu cez vinutie kotvy elektromotora. Zmena intenzity prúdu, ktorá je priamo úmerná viskozite, sa meria pomocou odporového mostíka. Rozsah merateľných viskozít taktiež závisí od výrobcu, napríklad 10–13 MPa·s a teplotné rozmedzie je v tomto prípade limitované skôr vlastnosťami kvapaliny (napríklad pri vodných roztokoch v rozmedzí približne od 0 °C do 100 °C v závislosti od roztoku) a možnosťami ohrevu v laboratóriu, kde sa používa.



Obrázok 35 Rotačný viskozimeter.

Medzi zaujímavé látky, ktorých viskozita je bežne v priemysle sledovaná patria aj prostriedky na umývanie riadu, ktorých hlavnou zložkou môže byť laurylsulfát sodný.

Laurylsulfát sodný ( $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4^-\text{Na}^+$ ), známy aj ako SLS, patrí do skupiny aniónových povrchovo aktívnych látok. V roztoku sa molekuly SLS orientujú na fázovom rozhraní voda-vzduch, prípadne voda-olej, vďaka svojej amfifilnej povahe – majú hydrofóbnu uhlíkovú časť a hydrofilnú sulfátovú časť. Pri prekročení kritickej micelárnej koncentrácie (CMC) sa molekuly samosporadúvajú do agregátov známych ako micely, aby minimalizovali kontakt hydrofóbných častí s polárnym prostredím.

V čistom vodnom roztoku pri koncentráciách nad CMC vytvára SLS sférické micely. V tejto konfigurácii sú hydrofóbne chvosty orientované dovnútra micely, zatiaľ čo hydrofilné sulfátové hlavy tvoria vonkajší povrch, ktorý je v kontakte s vodou. Negatívne náboje na povrchu micel ( $\text{SO}_4^-$ ) spôsobujú silné elektrostatické odpudzovanie, ktoré limituje ich veľkosť a bráni im v zoskupovaní. Tieto sférické micely sa pohybujú v roztoku pomerne voľne, čo má za následok nízku viskozitu, typickú pre roztoky povrchovo aktívnych látok.

Pridanie silného elektrolytu, ako je chlorid sodný ( $\text{NaCl}$ ), zásadne mení dynamiku roztoku.  $\text{NaCl}$  disociuje na ióny  $\text{Na}^+$  a  $\text{Cl}^-$ . Kationy  $\text{Na}^+$  migrujú k záporne nabitému povrchu micel. Tieto ióny efektívne tienia elektrostatické odpudzovanie medzi sulfátovými skupinami na povrchu micel. Redukcia elektrostatických repulzií umožňuje molekulám SLS tesnejšie usporiadanie. Následkom tohto javu dochádza k morfolologickej transformácii micel. Sférické micely sa postupne menia na väčšie, elongované (pretiahnuté), valcové (červovité) micely.

Kľúčový vplyv na viskozitu roztoku má práve formovanie týchto pretiahnutých micel. Dlhé, flexibilné reťazce valcových micel sa v roztoku vzájomne preplietajú a zamotávajú. Vytvárajú dynamickú, avšak celistvú, viskoelastickú sieťovú štruktúru, ktorá sa rozprestiera po celom objeme roztoku. Pre plynulý tok roztoku je potrebné túto štruktúru narušiť, čo si vyžaduje

značné množstvo energie. Táto prepletená sieť bráni voľnému pohybu molekúl a micelových agregátov, čo sa makroskopicky prejavuje ako prudké zvýšenie viskozity alebo hustnutie. Tieto poznatky sa využívajú pri výrobe saponátov používaných bežne v domácnosti.

## 9.2 Zadanie úloh

1. Stanovenie viskozity roztoku laurylsulfátu sodného s rôznymi koncentráciami.
2. Stanovenie viskozity roztoku laurylsulfátu sodného s rôznymi prídavkami NaCl.

## 9.3 Postup práce

Použité chemikálie a pomôcky:

- rotačný viskozimeter
- sada rotačných diskov
- analytické váhy
- teplomer, kadičky, pipety
- destilovaná voda,
- roztok laurylsulfátu sodného
- chlorid sodný

1. Pre meranie zmeny viskozity od zloženia si pripravíme roztoky skúmanej kvapaliny podľa údajov uvedených v tabuľke:

| Vzorka | Objem [ml]       |                    |
|--------|------------------|--------------------|
|        | Destilovaná voda | Laurylsulfát sodný |
| 1.     | 0                | 200                |
| 2.     | 20               | 180                |
| 3.     | 40               | 160                |
| 4.     | 60               | 140                |
| 5.     | 100              | 100                |
| 6.     | 120              | 80                 |
| 7.     | 140              | 60                 |
| 8.     | 160              | 40                 |
| 9.     | 180              | 20                 |

2. V prvom rade zmeráme viskozitu zásobného roztoku, teda roztoku bez dodatočného prídavku vody (vzorka č. 1). Pre správne meranie viskozity zvolíme vhodné vreteno rotačného viskozimetra.
3. Meranie prebieha, kým nedôjde k ustáleniu hodnoty dynamickej viskozity na displeji viskozimetra.
4. Toto meranie opakujeme rovnako pre všetky pripravené roztoky.
5. Namerané hodnoty viskozity zaznamenáme a zhotovíme z nich závislosť dynamickej viskozity od zloženia roztoku. Z grafu odčítame inflexný bod, t.j. bod v ktorom dochádza k náhlejšiemu zmene viskozity.
6. K roztoku č. 6 budeme následne pridávať približne 9-krát 500 mg NaCl do bodu, kedy dosiahneme rovnakú viskozitu ako v prípade zásobného roztoku.
7. Po pridaní 500 mg NaCl roztok poriadne premiešame (homogenizujeme), aby ste dostali číri roztok s rovnakým zložením v celom objeme. Meranie viskozity pokračuje rovnako ako v predošlých prípadoch.
8. Z nameraných údajov zostrojíme graf závislosti dynamickej viskozity od množstva NaCl a určíme množstvo NaCl, pri ktorom už dochádza k tvorbe siete prepletených micel.

## 10. Rozbor vody

### (6. laboratórna úloha)

#### 10.1 Teoretický úvod

Rozbor vody je kľúčový proces, ktorým sa hodnotí kvalita vody a jej vhodnosť na rôzne účely, ako je pitie, priemyselné využitie alebo poľnohospodárstvo. Celý proces sa dá rozdeliť na tri hlavné časti: odber vzorky, laboratórna analýza a interpretácia výsledkov.

#### *Odber vzorky vody*

Správny odber vzorky je základným predpokladom pre získanie spoľahlivých a reprezentatívnych výsledkov. Nesprávny odber môže viesť k chybám, ktoré skreslia celý rozbor.

- ✓ **Sterilita:** Na odber sa používajú špeciálne sterilné nádoby. Nádoby musia byť čisté a určené výlučne na tento účel, aby nedošlo ku kontaminácii.
- ✓ **Objem:** Objem vzorky závisí od typu analýzy. Na základný fyzikálno-chemický rozbor postačuje menší objem, zatiaľ čo mikrobiologický rozbor vyžaduje špecifické podmienky.
- ✓ **Podmienky:** Vzorka by sa mala odobrať z vodovodného kohútika po tom, čo voda niekoľko minút odtekala. Pri odbere zo studne je dôležité zvoliť vhodné miesto, ktoré reprezentuje kvalitu vody.
- ✓ **Konzervácia:** Vzorky na mikrobiologický rozbor sa musia analyzovať čo najskôr, ideálne do niekoľkých hodín od odberu. Na analýzu chemických parametrov sa niekedy vzorky konzervujú pridaním stabilizačných činidiel alebo chladením.

#### **Laboratórna analýza**

Laboratórna analýza vody je komplexný proces, ktorý zahŕňa fyzikálne, chemické a mikrobiologické testy.

#### Fyzikálne parametre

Merajú sa parametre ako **teplota**, **vodivosť** (ukazuje množstvo rozpustených solí), **zákal** (prítomnosť nerozpustených látok) a **farba**.

**Vodivosť roztokov**, nazývaná aj **konduktivita**, je fyzikálna vlastnosť, ktorá vyjadruje schopnosť roztoku viesť elektrický prúd. Meria sa v jednotkách **siemens na meter** ( $\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$ ) alebo častejšie v **mikrosiemens na centimeter** ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ). Elektrický prúd vo vodnom roztoku prenášajú **voľne pohyblivé ióny**. Látky, ktoré sa vo vode disociujú na ióny a tým umožňujú

vedenie prúdu, sa nazývajú **elektrolyty**. Naopak, látky, ktoré sa nerozkladajú na ióny a nevytvárajú vodivé roztoky (napríklad cukor alebo etanol), sa nazývajú **neelektrolyty**.

### Silné a slabé elektrolyty

Elektrolyty sa delia na dve hlavné kategórie na základe stupňa disociácie vo vodnom roztoku:

**Silné elektrolyty**: Sú látky, ktoré sa vo vodnom roztoku **úplne alebo takmer úplne** disociujú na ióny. Vďaka vysokej koncentrácii voľne pohyblivých iónov majú roztoky silných elektrolytov **vysokú vodivosť**. Medzi silné elektrolyty patria:

- ✓ **Silné kyseliny**: Napríklad kyselina sírová ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), kyselina chlorovodíková ( $\text{HCl}$ ) a kyselina dusičná ( $\text{HNO}_3$ ).
- ✓ **Silné zásady**: Napríklad hydroxid sodný ( $\text{NaOH}$ ) a hydroxid draselný ( $\text{KOH}$ ).
- ✓ **Väčšina solí**: Napríklad chlorid sodný ( $\text{NaCl}$ ) alebo síran meďnatý ( $\text{CuSO}_4$ ).

**Slabé elektrolyty**: Sú látky, ktoré sa vo vodnom roztoku **iba čiastočne** disociujú na ióny. Väčšina molekúl zostáva v nedisociovannej forme. Roztoky slabých elektrolytov preto majú **nízkú vodivosť** v porovnaní s roztokmi silných elektrolytov pri rovnakej koncentrácii. Príkladom sú:

- ✓ **Slabé kyseliny**: Napríklad kyselina octová ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) a kyselina uhličitá ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ).
- ✓ **Slabé zásady**: Napríklad amoniak ( $\text{NH}_3$ ).

**Disociácia** je proces, pri ktorom sa molekula elektrolytu rozpadá na ióny v roztoku. Stupeň disociácie ( $\alpha$ ) je pomer počtu disociovaných molekúl k celkovému počtu rozpustených molekúl.

- Pre silné elektrolyty je stupeň disociácie blízky 1 ( $\alpha \approx 1$ ).
- Pre slabé elektrolyty je stupeň disociácie podstatne menší ako 1 ( $\alpha < 1$ ).

Vodivosť roztoku je priamo úmerná koncentrácii a pohyblivosti iónov v ňom. Meranie vodivosti sa preto využíva na stanovenie koncentrácie rozpustených látok, najmä solí, v roztokoch. Je to dôležitý parameter pri monitorovaní kvality vody, chemickej syntéze alebo v medicíne.

### Chemické parametre

**pH**: Hodnota pH udáva, či je voda kyslá, neutrálna alebo zásaditá. Normálna pitná voda má pH okolo 6,5 až 8,5.

**pH** je logaritmická škála, ktorá vyjadruje mieru kyslosti alebo zásaditosti vodného roztoku. Je definované ako záporný dekadický logaritmus aktivity vodíkových iónov ( $\text{H}^+$ ) alebo presnejšie, oxóniových iónov ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ). V zriedených roztokoch sa aktivita približne rovná koncentrácii, a preto platí vzorec:

$$\text{pH} = -\log_{10}[\text{H}_3\text{O}^+]$$

Škála pH má zvyčajne rozsah od 0 do 14:

- ✓ **pH < 7:** Kyslé roztoky (obsahujú viac  $\text{H}_3\text{O}^+$  iónov ako  $\text{OH}^-$  iónov). Čím je pH nižšie, tým je roztok kyslejší.
- ✓ **pH = 7:** Neutrálne roztoky (koncentrácia  $\text{H}_3\text{O}^+$  iónov je rovnaká ako koncentrácia  $\text{OH}^-$  iónov). Príkladom je čistá voda pri teplote 25 °C.
- ✓ **pH > 7:** Zásadité (alkalické) roztoky (obsahujú viac  $\text{OH}^-$  iónov ako  $\text{H}_3\text{O}^+$  iónov). Čím je pH vyššie, tým je roztok zásaditejší.

Hodnota pH je kľúčovým parametrom v chémii, biológii, ekológii a mnohých priemyselných odvetviach, napríklad pri úprave pitnej vody alebo v poľnohospodárstve.

**Tvrdosť vody:** Je spôsobená prítomnosťou vápnika a horčíka. Vyjadruje sa v nemeckých stupňoch (°dH) alebo v  $\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ .

- ✓ **Dusičnany a dusitany:** Ich zvýšená koncentrácia môže poukazovať na znečistenie poľnohospodárskou činnosťou alebo kanalizáciou.
- ✓ **Železo a mangán:** Tieto kovy spôsobujú zafarbenie, zákal a nepríjemnú chuť vody.
- ✓ **Ťažké kovy:** Prítomnosť ťažkých kovov ako **olovo**, **kadmium** alebo **ortuť** je pre ľudské zdravie veľmi nebezpečné. Na ich detekciu sa používajú sofistikované prístroje, ako je atómová absorpčná spektrometria (AAS) alebo plazmová emisná spektrometria (ICP-OES).

### Mikrobiologické parametre

Mikrobiologické testy zisťujú prítomnosť **baktérií** a **mikroorganizmov**, ktoré môžu byť patogénne. Kľúčové sú testy na prítomnosť **koliformných baktérií**, ktoré slúžia ako indikátory fekálneho znečistenia. Ďalšie testy sa zameriavajú na **Escherichia coli (E. coli)** a **enterokoky**.

### *Interpretácia výsledkov a záver*

Po dokončení laboratórnych testov sa výsledky porovnávajú s platnými normami a legislatívou (napríklad vyhláška Ministerstva zdravotníctva SR č. 526/2007 Z. z.). Správa z rozboru musí obsahovať nielen namerané hodnoty, ale aj ich posúdenie. Ak sa zistí prekročenie limitných hodnôt, laboratórium navrhne riešenia, ako je úprava vody, napríklad filtrácia, dezinfekcia alebo iné metódy.

Tento proces zabezpečuje, že voda spĺňa všetky hygienické a zdravotné štandardy a je bezpečná na zamýšľané použitie.

## 10.2 Zadanie úloh

- 1. Meranie pH vzoriek vôd odobratých z rôznych zdrojov.*
- 2. Meranie vodivosti vzoriek vôd odobratých z rôznych zdrojov.*
- 3. Stanovenie fosforečnanov, amoniaku, dusitanov a hliníka.*

## 10.3 Postup práce

Použité chemikálie a pomôcky:

- pH meter
- konduktometer
- spektrofotometer
- analytické váhy
- kadičky, pipety
- destilovaná voda
- vzorky vôd

### Meranie pH:

1. Elektrodu pH metra pred použitím opláchneme destilovanou vodou.
2. 50 ml vzorky nalejeme do kadičky a ponoríme elektródu tak, aby sme sa ňou nedotýkali dna kadičky a po ustálení odčítame hodnotu pH.
3. Medzi každou vzorkou a aj po meraní elektródu dôkladne opláchneme.

### Meranie vodivosti:

1. Pred meraním elektródu konduktometra dôkladne opláchneme a z vonka jemne osušíme filtračným papierom.
2. 50 ml vzorky nalejeme do kadičky a ponoríme elektródu, po ustálení odčítame hodnotu vodivosti.
3. Medzi každou vzorkou a aj po meraní elektródu dôkladne opláchneme.

### Stanovenie fosforečnanov:

Stanovenie fosforečnanov v pitnej vode slúži primárne ako indikátor možného znečistenia a ako preventívne opatrenie proti ekologickým problémom, najmä eutrofizácii. Aj keď fosforečnany samy osebe nie sú toxické, ich zvýšená koncentrácia je varovným signálom.

1. Po zapnutí prístroja zadáme číslo metódy 320.
2. Naplníme vialku prístroja 10 ml vzorky a zasunieme do prístroja.

3. Stlačíme tlačidlo „ZERO“ a počkáme, kým prebehne meranie.
4. Odstránime vialku z prístroja a pridáme jednu tabletu PHOSPHATE No.1 LR a poriadne ju rozdrvíme a necháme ju dôkladne rozpustiť.
5. Následne do vialky pridáme tabletu PHOSPHATE No.2 LR a taktiež ju poriadne rozdrvíme a necháme dôkladne rozpustiť.
6. Potom vložíme uzavretú vialku do prístroja a stlačíme tlačidlo „TEST“. Počkáme kým prebehne reakčná perióda 10 minút.
7. Po reakcii prebehne meranie automaticky. Výsledok bude uvedený v jednotkách  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ .

### Stanovenie amoniaku:

Stanovenie amoniaku je kľúčový hygienický test, ktorý slúži ako dôležitý indikátor znečistenia. Jeho zistenie vo vyšších koncentráciách je varovným signálom, že vodný zdroj je potrebné dôkladne preskúmať na prítomnosť nebezpečnejších kontaminantov, predovšetkým baktérií a dusitanov, a prijať opatrenia na zabezpečenie jej čistoty a bezpečnosti.

1. Po zapnutí prístroja zadáme číslo metódy 60.
2. Naplníme vialku prístroja 10 ml vzorky a zasunieme do prístroja.
3. Stlačíme tlačidlo „ZERO“ a počkáme, kým prebehne meranie.
4. Odstránime vialku z prístroja a pridáme jednu tabletu AMMONIA No.1 a poriadne ju rozdrvíme a necháme ju dôkladne rozpustiť.
5. Následne do vialky pridáme tabletu AMMONIA No.2 a taktiež ju rozdrvíme a necháme ju dôkladne rozpustiť.
6. Potom vložíme uzavretú vialku do prístroja a stlačíme tlačidlo „TEST“. Počkáme kým prebehne reakčná perióda 10 minút.
7. Po reakcii prebehne meranie automaticky. Výsledok bude uvedený v jednotkách  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ .

### Stanovenie dusitanov:

Stanovenie dusitanov v pitnej vode je nevyhnutné na ochranu zdravia, obzvlášť pre najzraniteľnejšiu populáciu – dojčatá. Ak je ich koncentrácia čo i len mierne zvýšená, je to indikátor hygienického rizika, a preto je takúto vodu nevhodné piť bez prevarenia alebo inej úpravy.

1. Po zapnutí prístroja zadáme číslo metódy 270.
2. Naplníme vialku prístroja 10 ml vzorky a zasunieme do prístroja.
3. Stlačíme tlačidlo „ZERO“ a počkáme, kým prebehne meranie.
4. Odstránime vialku z prístroja a pridáme jednu tabletu NITRITE LR a poriadne ju rozdrvíme a necháme ju dôkladne rozpustiť.
5. Potom vložíme uzavretú vialku do prístroja a stlačíme tlačidlo „TEST“. Počkáme kým prebehne reakčná perióda 10 minút.

6. Po reakcii prebehne meranie automaticky. Výsledok bude uvedený v jednotkách  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ .

#### Stanovenie hliníka:

Stanovenie hliníka v pitnej vode je dôležitým nástrojom pre kontrolu a optimalizáciu procesu jej čistenia. Jeho zistenie vo vyšších koncentráciách poukazuje na technologický problém, ktorý môže mať vplyv na kvalitu vody a dlhodobo aj na technický stav vodovodnej siete. Preto sa prísne sleduje, aby sa zabezpečila nielen zdravotná, ale aj estetická nezávadnosť vody.

1. Po zapnutí prístroja zadáme číslo metódy 40.
2. Naplníme vialku prístroja 10 ml vzorky a zasunieme do prístroja.
3. Stlačíme tlačílo „ZERO“ a počkáme, kým prebehne meranie.
4. Odstránime vialku z prístroja a pridáme jednu tabletu ALUMINIUM No.1 a poriadne ju rozdrvíme a necháme ju dôkladne rozpustiť.
5. Následne do vialky pridáme tabletu ALUMINIUM No.2 a taktiež ju poriadne rozdrvíme a necháme dôkladne rozpustiť.
6. Potom vložíme uzavretú vialku do prístroja a stlačíme tlačidlo „TEST“. Počkáme kým prebehne reakčná perióda 5 minút.
7. Po reakcii prebehne meranie automaticky. Výsledok bude uvedený v jednotkách  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ .

Výsledky všetkých úloh spracujeme do prehľadnej tabuľky a zhodnotíme slovným komentárom.

# 11. Presnosť a správnosť pipetovania, stanovenie pH a tlmivé roztoky

## (7. laboratórna úloha)

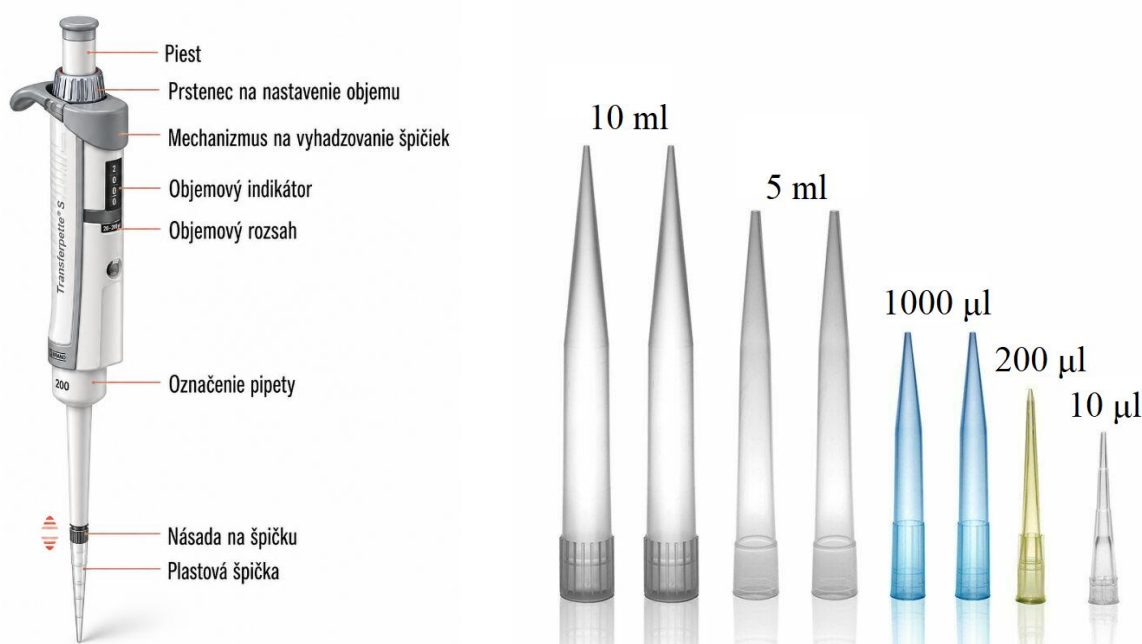
### 11.1 Teoretický úvod

V chemických a biochemických laboratóriách je jedným z najčastejších zdrojov chýb nesprávne pipetovanie, preto je dôležité ovládať správnu techniku práce s laboratórnymi pipetami. Na odmeriavanie malých objemov kvapalín, s ktorými sa v biochemickej praxi najčastejšie pracuje, sa používajú sklenené a automatické pipety. Sklenené pipety umožňujú presné odmeranie definovaného objemu kvapaliny, avšak ich používanie je časovo náročnejšie a vo väčšej miere závisí od zručnosti pracovníka. Automatické pipety umožňujú rýchle a opakovateľné dávkovanie aj veľmi malých objemov kvapalín. Ich správne používanie je nevyhnutné najmä v biochémií, molekulovej biológii a analytickej chémii, kde aj malé odchýlky v objeme môžu ovplyvniť výsledky experimentu. Presnosť pipetovania možno jednoducho overiť gravimetrickou metódou, pri ktorej sa odmeraný objem vody stanoví na základe jej hmotnosti a známej hustoty ( $\rho \approx 1 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ ).

Podobne ako sklenené pipety, aj automatické pipety (Obr. 36) existujú v rôznych objemoch, resp. objemových rozsahoch, ktoré sú nastaviteľné najčastejšie pomocou prstenca na hornom konci pipety. Nastavený objem je zobrazený na objemovom indikátore („displeji“) pipety spravidla v mikrolitroch ( $\mu\text{l}$ ). Objemový rozsah moderných automatických pipiet býva zobrazený v blízkosti objemového indikátora. Automatickú pipetu nikdy nepoužívame na pipetovanie objemov mimo jej objemového rozsahu, pretože takéto objemy už v skutočnosti nezodpovedajú hodnotám na objemovom indikátore pipety. Okrem rozsahu bývajú automatické pipety často označované aj maximálnym pipetovateľným objemom, teda pipeta s rozsahom 10–100  $\mu\text{l}$  býva označovaná ako P100 (prípadne priamo na pipete len číslom 100), pipeta s rozsahom 100–1000  $\mu\text{l}$  ako P1000 (1000) a podobne. Staršie automatické pipety nedisponujú nastaviteľným objemovým rozsahom ani objemovým indikátorom. Namiesto toho sú prednastavené na pipetovanie jedného fixného objemu, podľa ktorého sú aj označené, napr. F50 (50  $\mu\text{l}$ ), F100 (100  $\mu\text{l}$ ) a podobne.

Nevyhnutným prvkom pre používanie automatických pipiet sú jednorazové plastové špičky, ktoré taktiež existujú vo viacerých veľkostiach (Obr. 36). **Je dôležité poznamenať, že kvapalinu nasávame vždy iba do plastových špičiek a nikdy nie priamo do automatickej pipety!** Jednu špičku je možné použiť aj viackrát, avšak len v prípade, že pomocou nej pipetujeme stále tú istú kvapalinu a nedošlo k jej kontaminácii inými nežiaducimi chemikáliami. **Automatickú pipetu s nasadenou špičkou držíme počas práce vždy vo zvislej polohe a nikdy ju neklopíme tak, aby mohlo dôjsť k natečeniu kvapaliny v špičke priamo do pipety!** Pre správne pipetovanie pomocou automatickej pipety je nutné najskôr pevne nasadiť špičku, aby nedochádzalo počas nasávania kvapaliny k úniku vzduchu cez

prípadnú medzeru medzi špičkou a pipetou, čo vedie k nasatiu menšieho objemu kvapaliny, než aký je nastavený na pipete. V horšom prípade môže nesprávne nasadenie špičky viesť aj k jej odpadnutiu z pipety počas pipetovania.



Obrázok 36 Základné časti automatickej pipety a schéma rôznych veľkostí plastových špičiek.

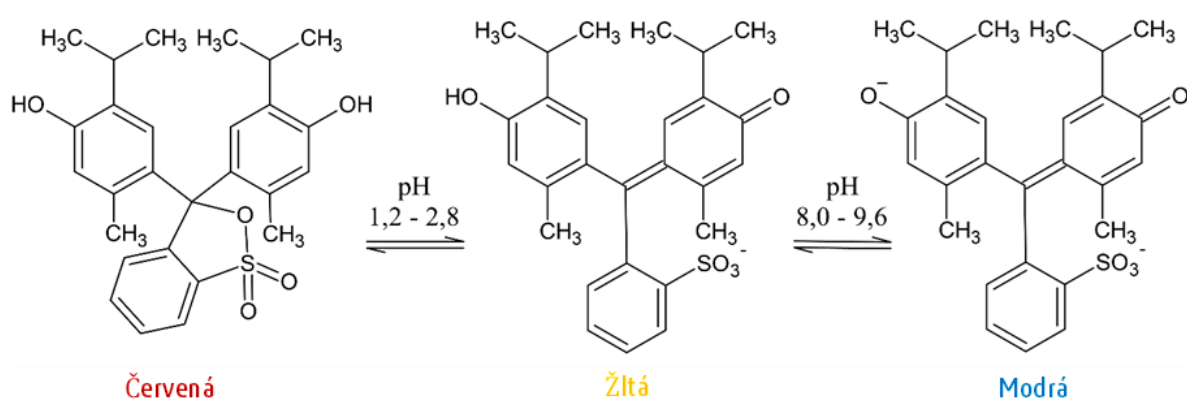
Po nastavení želaného objemu a správnom nasadení špičky stlačíme piest automatickej pipety, až kým neucítíme jemný odpor (tzv. prvá poloha). S takto stlačeným piestom ponoríme špičku do kvapaliny, ktorú chceme naberať a piest pomaly uvoľníme naspäť do základnej polohy, čo zabezpečí nasatie nastaveného objemu kvapaliny do špičky. Špičku následne oprieme o stenu nádoby, do ktorej chceme kvapalinu pridať a úplným stlačením piestu (až do tzv. druhej polohy) vypustíme celý objem zo špičky. Špičku následne pomocou mechanizmu na vyhadzovanie špičiek (na starších pipetách môže chýbať) vyhodíme do príslušnej nádoby na odpad alebo opätovne použijeme na pipetovanie ďalšieho objemu tej istej kvapaliny. Ak pridávame veľmi malý objem kvapaliny (napr. jednotky až desiatky µl) do väčšieho objemu inej kvapaliny, je lepšie pred vypustením objemu ponoriť špičku priamo do „prijímacej“ kvapaliny. Piest je nutné podržať v druhej polohe až do momentu, kým sa špička nenachádza mimo kvapaliny, inak by došlo k spätnému nasatiu kvapaliny do špičky. V tomto prípade už s použitou špičkou ďalej nepracujeme [Harris et al., 2026].

Jednou zo základných charakteristík vodných roztokov je ich kyslosť alebo zásaditosť, ktorá sa vyjadruje hodnotou pH. Na meranie pH možno použiť elektronické pH metre alebo rôzne acidobázické indikátory. Kým pH meter poskytuje presné numerické hodnoty, indikátory umožňujú rýchle a jednoduché orientačné stanovenie pH na základe pozorovania farebných zmien. Acidobázické indikátory sú slabé organické kyseliny alebo zásady, ktorých protonovaná a deprotonovaná forma majú rozdielne sfarbenie. V roztoku medzi nimi prebieha rovnováha:



kde HIn predstavuje protonovanú formu indikátora a  $\text{In}^-$  predstavuje deprotonovanú formu indikátora. Obe formy majú odlišnú štruktúru molekuly, a teda aj odlišné absorpčné vlastnosti vo viditeľnej oblasti spektra. Z tohto dôvodu sa ich farba líši. Ak sa do roztoku pridá kyselina a zvýši sa koncentrácia  $\text{H}^+$  iónov, rovnováha sa posunie smerom doľava a prevláda protonovaná forma indikátora. Naopak, v zásaditom prostredí sa rovnováha posúva doprava a prevláda deprotonovaná forma. Pozorovaná farba roztoku preto závisí od pH prostredia.

V tejto úlohe bude ako acidobázický indikátor použitá tymolová modrá, ktorá je zaujímavá tým, že obsahuje dve prechodové oblasti (Obr. 37). Pri hodnotách pH približne medzi 3 a 8 má tymolová modrá žlté sfarbenie. V silne kyslom prostredí je červená a v zásaditom prostredí modrá. Je preto vhodná na jednoduché rozlíšenie kyslých, neutrálnych a zásaditých roztokov.



Obrázok 37 Štruktúra jednotlivých foriem tymolovej modrej pri rôznych pH.

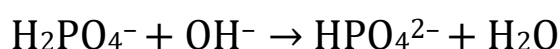
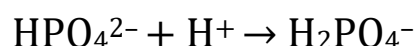
Na orientačné stanovenie pH sa často používajú aj univerzálne indikátorové papieriky. Ich povrch je impregnovaný zmesou viacerých acidobázických indikátorov s rôznymi prechodovými oblasťami, vďaka čomu možno pokryť široký rozsah pH hodnôt. Po kontakte papierika s analyzovaným roztokom dôjde k zmene jeho sfarbenia. Nameraná farba sa následne porovnáva s farebnou stupnicou dodávanou výrobcom, čím možno odhadnúť pH vzorky. Výhodou indikátorových papierikov je ich jednoduchosť, nízka cena a rýchlosť použitia. Nevýhodou je subjektívne hodnotenie farieb a nižšia presnosť, preto sa používajú najmä na orientačné merania [Skoog et al., 2013].

Mnohé chemické a biologické procesy prebiehajú správne iba v úzkom rozmedzí pH. Z tohto dôvodu sa často používajú tlmivé roztoky, ktoré odolávajú zmenám pH po pridaní malého množstva kyseliny alebo zásady. Tlmivý roztok je zmes slabej kyseliny a jej konjugovanej zásady alebo slabej zásady a jej konjugovanej kyseliny. Princíp ich účinku spočíva v tom, že pridané vodíkové alebo hydroxidové ióny sú zachytávané zložkami tlmivého roztoku, čím sa výsledná zmena pH výrazne obmedzí. Jedným z najčastejšie používaných tlmivých roztokov v

biochémií je fosfátový tlmivý roztok. Jeho účinok je založený na rovnováhe medzi dihydrogénfosforečnanovým aniónom (slabá kyselina) a hydrogénfosforečnanovým aniónom (konjugovaná slabá zásada):



Pomer koncentrácií oboch zložiek určuje výsledné pH tlmivého roztoku. Pri pridaní kyseliny reaguje hydrogénfosforečnanový ión s dodanými  $\text{H}^+$  iónmi za vzniku dihydrogénfosforečnanu. Pri pridaní zásady reaguje dihydrogénfosforečnanový ión s  $\text{OH}^-$  iónmi za vzniku hydrogénfosforečnanu a vody. Vďaka týmto reakciám sa pH fosfátového tlmivého roztoku mení podstatne menej ako pH čistej vody.



Aktivita enzýmov, rozpustnosť proteínov aj stabilita nukleových kyselín sú výrazne ovplyvňované hodnotou pH. Tlmivé roztoky preto patria medzi základné reagenty používané v biochémií, molekulovej biológii a klinickej diagnostike, kde je potrebné zabezpečiť stabilné pH prostredia [Nelson et al., 2021].

## 11.2 Zadanie úloh

1. Porovnanie presnosti sklenenej a automatickej pipety.
2. Stanovenie pH roztokov pomocou pH indikátora a indikátorových papierikov.
3. Príprava 0,1 M fosfátového tlmivého roztoku a overenie jeho tlmivej kapacity.

## 11.3 Postup práce

### Použité chemikálie:

- Destilovaná voda
- Tymolová modrá
- 0,1 M roztok HCl
- 0,1 M roztok NaOH
- 0,1 M tlmivý roztok Tris-HCl
- Dihydrogénfosforečnan sodný,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  dihydrát
- Hydrogénfosforečnan disodný,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  dodekahydrát

### Porovnanie presnosti sklenenej a automatickej pipety

1. Do väčšej kadičky si odlejeme približne 100 ml destilovanej vody.
2. Tri suché a čisté kadičky si označíme, odvážime a zistené hmotnosti si zapíšeme.
3. Pomocou 1 ml sklenenej pipety napipetujeme 10-krát po 1 ml destilovanej vody do každej kadičky.
4. Každú kadičku s vodou opäť odvážime a hmotnosti si zapíšeme.
5. Body 2-4 zopakujeme s automatickou 1 ml pipetou a novou sadou troch kadičiek.
6. Podľa hustoty vody a zistených hmotností vypočítame napipetované objemy destilovanej vody v jednotlivých kadičkách a pre každú pipetu vypočítame priemer z troch zistených hodnôt.

### Stanovenie pH roztokov pomocou pH indikátora a indikátorových papierikov

1. Pripravíme si tri čisté a suché skúmavky, ktoré si vhodne označíme.
2. Do prvej skúmavky pridáme pomocou automatickej pipety 2 ml 0,1 M HCl, do druhej 2 ml 0,1 M NaOH a do poslednej 2 ml 0,1 M Tris-HCl.
3. Do každej skúmavky pridáme pár kvapiek tymolovej modrej a obsah skúmaviek premiešame na trepačke.
4. Pozorujeme a zaznamenáme farebné zmeny v roztokoch.
5. Do novej sady troch čistých, suchých a označených skúmaviek si opäť odpipetujeme po 2 ml z 0,1 M roztokov HCl, NaOH a Tris-HCl.
6. Na hodinové sklíčko si nachystáme indikátorové papieriky.
7. Pomocou sklenenej tyčinky kvapneme postupne malé množstvo z každého roztoku v skúmavkách na indikátorový papierik. Tyčinku si medzi ponoreniami do jednotlivých roztokov vždy opláchneme destilovanou vodou, aby sme predišli vzájomnej kontaminácii roztokov.
8. Pozorujeme farebné zmeny indikátorových papierikov a porovnaním so stupnicou na obale odhadneme pH jednotlivých roztokov.

### Príprava 0,1 M fosfátového tlmivého roztoku a overenie jeho tlmivej kapacity

1. Navážime si postupne 1,09 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  a 0,31 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ .
2. Obe navážky preniesieme do 100 ml kadičky obsahujúcej približne 30 ml destilovanej vody.

3. Pomocou sklenenej tyčinky roztok miešame až do úplného rozpustenia solí.
4. Roztok v kadičke prelejeme do 50 ml odmernej banky a pomocou malého objemu destilovanej vody dvakrát opláchneme steny aj dno kadičky; tieto objemy následne tiež pridáme do 50 ml odmernej banky a doplníme destilovanou vodou po rysku.
5. Odmernú banku zazátkujeme a výsledný roztok dobre premiešame.
6. Z pripraveného tlmivého roztoku si odlejeme približne 15 ml do vyššej 25 ml kadičky a za asistencie vyučujúceho zmeriame pH pomocou pH metra.
7. Na overenie tlmivej kapacity si pripravíme štyri čisté, suché a označené skúmavky, pričom do dvoch z nich pridáme po 5 ml destilovanej vody a do zvyšných dvoch po 5 ml pripraveného tlmivého roztoku.
8. Do prvej skúmavky s vodou pridáme 1 ml 0,1 M roztoku HCl a do druhej 1 ml 0,1 M NaOH. Rovnakým spôsobom pridáme 1 ml 0,1 M HCl a 1 ml 0,1 M NaOH aj do dvojice skúmaviek s tlmivým roztokom.
9. Roztoky v jednotlivých skúmavkách premiešame a pomocou indikátorových papierikov stanovíme ich pH.
10. Porovnáme zmeny pH, ktoré nastali vo vode a v tlmivom roztoku.

## 12. Absorpčná spektrofotometria, centrifugácia buniek a stanovenie ich počtu

### (8. laboratórna úloha)

#### 12.1 Teoretický úvod

Mnohé biochemické analýzy sú založené na meraní koncentrácie látok v roztoku. Jednou z najčastejšie používaných metód je absorpčná spektrofotometria, pri ktorej sa pomocou spektrofotometra sleduje absorpcia svetla prechádzajúceho vzorkou v kyvete. Ak svetlo prechádza roztokom obsahujúcim molekuly schopné absorbovať elektromagnetické žiarenie, časť dopadajúceho svetla je pohltená a intenzita vystupujúceho svetla sa zníži. Mieru absorpcie vyjadruje absorbancia ( $A$ ), ktorá je definovaná vzťahom:

$$A = \log \frac{I_0}{I}$$

kde  $I_0$  predstavuje intenzitu dopadajúceho svetla a  $I$  intenzitu svetla prechádzajúceho vzorkou.

Pri vhodne zvolenej vlnovej dĺžke je absorbancia priamo úmerná koncentrácii analyzovanej látky. Tento vzťah opisuje Lambert-Beerov zákon:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

kde  $\varepsilon$  je molárny absorpčný koeficient,  $c$  je koncentrácia analytu a  $l$  je optická dráha kyvety.

Priame využitie Lambert-Beerovho zákona v laboratórnej praxi býva často komplikované, pretože hodnota molárneho absorpčného koeficientu nemusí byť známa alebo sa môže meniť v závislosti od podmienok merania. Z tohto dôvodu sa koncentrácia analytu často stanovuje pomocou kalibračnej krivky.

Kalibračná krivka predstavuje grafickú závislosť meranej veličiny (najčastejšie absorbancie) od známej koncentrácie analytu. Na jej zostrojenie sa najskôr pripraví séria štandardných (kalibračných) roztokov s presne známymi koncentráciami. Následne sa pre každý štandardný roztok zmeria absorbancia pri vlnovej dĺžke zodpovedajúcej absorpčnému maximu analytu. Získané hodnoty sa vynesú do grafu, pričom na os  $x$  sa spravidla nanáša koncentrácia analytu a na os  $y$  absorbancia.

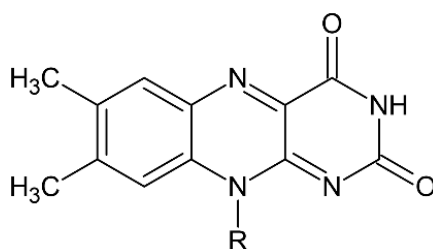
Ak je splnený Lambert-Beerov zákon, závislosť medzi koncentráciou a absorbanciou má lineárny charakter a kalibračnú krivku možno matematicky opísať rovnicou priamky:

$$y = a \cdot x + b$$

Pri ideálnom meraní je hodnota  $b$  blízka nule. Po zostrojení kalibračnej krivky možno zmerať absorbanciu vzorky s neznámou koncentráciou. Z nameranej hodnoty absorbancie sa následne pomocou rovnice kalibračnej krivky vypočíta koncentrácia analytu v neznámej vzorke.

Pred samotným meraním sa spektrofotometer nastavuje pomocou tzv. slepého pokusu (tiež známeho ako pozadie, referencia alebo z angl. blank). Blank obsahuje všetky zložky roztoku okrem stanovovaného analytu a slúži na elimináciu absorbancie rozpúšťadla alebo iných zložiek vzorky. Pri správnom nastavení má slepý pokus absorbanciu rovnú nule a namerané hodnoty následne zodpovedajú iba absorbancii stanovovaného analytu [Harris et al., 2026].

V tejto úlohe bude ako analyt použitý flavínadenínindinukleotid (FAD), ktorý patrí medzi významné biologické kofaktory enzýmov katalyzujúcich oxidačno-redukčné reakcie. FAD obsahuje flavínový chromofór (Obr. 38), ktorý absorbuje svetlo vo viditeľnej oblasti spektra, vďaka čomu je možné jeho koncentráciu stanoviť spektrofotometricky [Nelson et al., 2021].



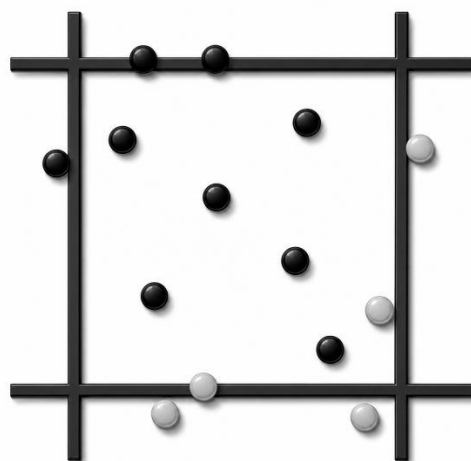
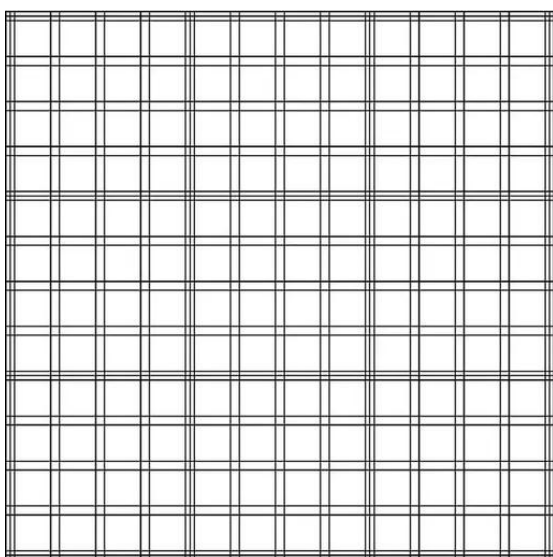
Obrázok 38 Štruktúra flavínového chromofóru FAD zodpovedného za absorpciu svetla.

Pri meraní bunkových suspenzií sa namiesto absorbancie často používa pojem optická hustota (angl. optical density, OD). Na rozdiel od rozpustených molekúl, ktoré svetlo absorbujú, bunky a iné častice svetlo vo veľkej miere rozptyľujú. Spektrofotometer tento rozptyl registruje ako zníženie intenzity prechádzajúceho svetla. Optická hustota preto predstavuje nepriamu mieru koncentrácie buniek v suspenzii. Pri mikroorganizmoch sa najčastejšie používa meranie pri vlnovej dĺžke 600 nm ( $OD_{600}$ ), pretože pri tejto vlnovej dĺžke väčšina buniek absorbuje len minimálne množstvo svetla a nameraná hodnota závisí predovšetkým od rozptylu spôsobeného bunkami.

Na oddelenie buniek od kvapalného média sa v laboratóriách bežne využíva centrifugácia. Pri centrifugácii pôsobí na častice odstredivá sila, ktorá spôsobuje ich sedimentáciu smerom ku dnu centrifugačnej skúmavky. Rýchlosť sedimentácie závisí od veľkosti, tvaru a hustoty častíc, ako aj od rýchlosti otáčania centrifúgy, ktorá sa udáva v otáčkach za minútu (rpm, z angl. rotations per minute). Po centrifugácii vzniká na dne skúmavky usadenina nazývaná pelet, zatiaľ čo kvapalná fáza nad peletom sa označuje ako supernatant. Centrifugácia patrí medzi

najčastejšie používané metódy separácie buniek a biomolekúl v biochémií a molekulovej biológii.

Na stanovenie približného počtu buniek v suspenzii možno využiť Bürkerovu počítaciu komôrku. Ide o špeciálne mikroskopické sklíčko obsahujúce dve vyryté počítacie mriežky (Obr. 39) s presne definovanými rozmermi. Objem priestoru nad počítacími útvarmi je taktiež presne známy, čo umožňuje prepočet počtu buniek pozorovaných pod mikroskopom na počet buniek v analyzovanej suspenzii. Počítacie siete Bürkerovej komôrky sa skladajú z 9 veľkých štvorcov s obsahom  $1 \text{ mm}^2$ , ktoré sú ďalej rozdelené na 16 menších štvorcov s obsahom  $0,04 \text{ mm}^2$ , obdĺžniky s obsahom  $0,01 \text{ mm}^2$  a najmenšie štvorčeky s obsahom  $0,0025 \text{ mm}^2$ . Po prikrytí počítacej siete krycím sklíčkom je výška priestoru nad počítacími útvarmi  $0,1 \text{ mm}$ . V rámci tejto úlohy budú na počítanie buniek využité menšie štvorce s obsahom  $0,04 \text{ mm}^2$ , teda o objeme  $0,004 \text{ mm}^3$  ( $0,004 \text{ }\mu\text{l}$ ). Na zabránenie duplicitného započítania buniek dotýkajúcich sa stien susedných štvorcov je nutné dodržiavať pravidlo „L“, a teda okrem buniek vo vnútri štvorca započítať bunky dotýkajúce sa iba dvoch vopred zvolených priľahlých stien štvorca (v tvare písmena L, Obr. 39).



Sivá - nepočíta sa

Čierna - počíta sa

Obrázok 39 Schéma počítacej siete Bürkerovej komôrky (vľavo) a pravidla správneho počítania buniek (vpravo).

Pri počítaní buniek pomocou Bürkerovej komôrky sa spočítajú bunky vo vopred zvolenom počte štvorcov mriežky a následne sa vypočíta počet buniek v  $1 \text{ }\mu\text{l}$  suspenzie podľa vzorca:

$$C = \frac{N \cdot F_Z \cdot 250}{X}$$

kde  $C$  predstavuje počet buniek v 1  $\mu\text{l}$  suspenzie,  $N$  je celkový počet spočítaných buniek,  $F_z$  je faktor zriedenia vzorky a  $X$  je počet štvorcov, v ktorých sa bunky počítali. Koeficient 250 predstavuje prepočet objemu jedného štvorca (0,004  $\mu\text{l}$ ) na objem 1  $\mu\text{l}$ .

Okrem celkového počtu buniek je v praxi často potrebné určiť aj ich životaschopnosť (viabilitu). Na tento účel sa využívajú vitálne farbenia založené na rozdielnej schopnosti živých a mŕtvych buniek reagovať s určitými farbivami. V tejto úlohe bude na test viability použitá metylénová modrá. Živé bunky kvasiniek disponujú aktívnym metabolizmom a pomocou svojich enzýmových systémov dokážu redukovať metylénovú modrú na jej bezfarebnú formu. Naopak, mŕtve bunky túto schopnosť stratili a zostávajú modro zafarbené. Na základe počtu živých a mŕtvych buniek možno vypočítať percentuálnu viabilitu populácie:

$$\text{Viabilita (\%)} = \frac{\text{počet živých buniek}}{\text{celkový počet buniek}} \times 100$$

Stanovenie počtu a viability buniek patrí medzi základné postupy využívané v mikrobiológii, biochémií, molekulovej biológii aj biotechnológiách. Poskytuje informácie o raste buniek, kvalite bunkových kultúr a vhodnosti buniek pre ďalšie experimentálne postupy [Hofmann et al., 2018].

## 12.2 Zadanie úloh

1. Zostrojenie kalibračnej krivky a stanovenie koncentrácie neznámej vzorky FAD.
2. Príprava bunkovej suspenzie a separácia buniek pomocou centrifugácie.
3. Počítanie buniek v Bürkerovej komôrke a stanovenie ich viability.

## 12.3 Postup práce

Použité chemikálie:

- Destilovaná voda
- 0,1 mM roztok FAD
- Vzorka FAD s neznámou koncentráciou
- 0,01 % (w/v) roztok metylénovej modrej

### Zostrojenie kalibračnej krivky a stanovenie koncentrácie neznámej vzorky FAD

1. Pripravíme si sadu siedmich čistých a suchých skúmaviek, ktoré si označíme číslami 0 – 6.

2. Do jednotlivých skúmaviek napipetujeme príslušné objemy 0,1 mM FAD a destilovanej vody podľa nasledujúcej tabuľky:

| Č. skúmavky           | 0 | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    |
|-----------------------|---|------|------|------|------|------|------|
| Destilovaná voda (ml) | 5 | 4,5  | 4    | 3    | 2    | 1    | 0    |
| 0,1 mM FAD (ml)       | 0 | 0,5  | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    |
| Koncentrácia FAD (mM) | 0 | 0,01 | 0,02 | 0,04 | 0,06 | 0,08 | 0,10 |

3. Postupne z každého pripraveného kalibračného roztoku v skúmavkách 0–6 odlejeme 2–3 ml do plastovej kyvety a pomocou spektrofotometra zmeriame a zapíšeme absorbanciu pri vlnovej dĺžke 450 nm, pričom skúmavku 0 použijeme ako slepý pokus (blank).

4. Napokon rovnakým spôsobom zmeriame a zapíšeme absorbanciu našej neznámej vzorky FAD.

5. Z nameraných hodnôt zostrojíme v softvéri MS Excel kalibračnú krivku a pomocou nej vypočítame koncentráciu našej neznámej vzorky.

### Príprava bunkovej suspenzie a separácia buniek pomocou centrifugácie

1. Navážime si 0,05 g droždia a navážku rozmiešame v kadičke s 50 ml destilovanej vody.
2. Z pripravenej suspenzie odlejeme 2-3 ml do plastovej kyvety a zmeriame optickú hustotu pri vlnovej dĺžke 600 nm ( $OD_{600}$ ).
3. Pripravenú suspenziu prelejeme do centrifugačnej skúmavky a vložíme do centrifúgy.
4. Po vyvážení centrifugačných skúmaviek centrifugujeme 5 minút pri 3000 rpm.
5. Skúmavku vyberieme a pomocou automatickej pipety opatrne odpipetujeme 3 ml supernatantu do plastovej kyvety a opäť zmeriame  $OD_{600}$ .
6. Pelet kvasiniek opätovne resuspendujeme v supernatante pomocou sklenenej tyčinky, dobre premiešame a zmeriame  $OD_{600}$ .
7. Porovnáme namerané hodnoty  $OD_{600}$  pre kvasinkovú suspenziu na začiatku, po centrifugácii a po resuspendovaní peletu.

### Počítanie buniek v Bürkerovej komôrke a stanovenie ich viability

1. Kvasinkovú suspenziu z predchádzajúcej úlohy premiešame a odoberieme z nej 2 ml do skúmavky.

2. K 2 ml suspenzie pridáme 8 ml destilovanej vody a premiešame.
3. Zo zriedenej suspenzie odoberieme pomocou automatickej pipety 50  $\mu$ l a nadávkujeme dostatočný objem pod krycie sklíčko Bürkerovej komôrky.
4. Bürkerovu komôrku vložíme do mikroskopu a pri zväčšení  $10 \times 10$  alebo  $10 \times 40$  spočítame bunky kvasiniek v 10 štvorcoch počítacej siete.
5. Z 0,01 % roztoku metylénovej modrej si odoberieme 50  $\mu$ l do ľubovoľnej jamky v 96-jamkovej platničke.
6. Zo zriedenej bunkovej suspenzie si opäť odoberieme 50  $\mu$ l a tento objem pipetou resuspendujeme v 50  $\mu$ l metylénovej modrej, ktorú sme si odobrali do 96-jamkovej platničky.
7. Zafarbenú bunkovú suspenziu nadávkujeme do druhej počítacej siete Bürkerovej komôrky.
8. Bürkerovu komôrku opäť vložíme do mikroskopu a spočítame živé a mŕtve bunky kvasiniek v 10 štvorcoch počítacej siete.
9. Vypočítame počet buniek v 1 ml riedenej suspenzie, 1 ml pôvodnej suspenzie a 1 g použitého droždia. Na záver stanovíme viabilitu kvasiniek v percentách.

## 13. Izolácia látok z prírodných zdrojov

### (9. laboratórna úloha)

#### 13.1 Teoretický úvod

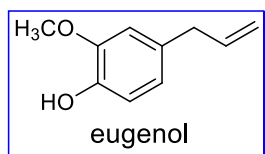
##### Izolácia eugenolu a lykopénu

Rastliny obsahujú prchavé vonné látky, ktoré sú vo vode len málo rozpustné a označujú sa ako esenciálne oleje. Tieto oleje často obsahujú vo svojich molekulách rôzne funkčné skupiny ( $-\text{OH}$ ,  $-\text{CHO}$ ,  $-\text{CO}-$ ,  $-\text{COOR}$ ), sú prchavejšie ako lipidy a možno ich získavať destiláciou s vodnou parou. Počas destilácie kondenzujú spolu s vodnou parou v chladiči a zachytávajú sa v predlohe. Od vodnej vrstvy sa následne oddeľujú extrakciou organickým rozpúšťadlom, napríklad dietyléterom, chloroformom alebo dichlórmetánom.

Mnohé prírodné látky však nie sú vhodné na izoláciu pomocou bežných laboratórnych extrakčných techník. Dôvodom môže byť ich prítomnosť v prírodných materiáloch iba v stopových množstvách, toxicita, nestabilita alebo zložitá štruktúra.

Na tomto laboratórnom cvičení si ukážeme, ako možno z prírodných materiálov, bežne používaných v domácnostiach, izolovať ich charakteristickú vonnú zložku (eugenol) alebo farbiacu zložku (lykopén).

**Eugenol** je derivát fenolu (Obr. 40). Ide o bezfarebnú až svetložltú olejovitú látku, ktorá sa získava destiláciou s vodnou parou a následnou extrakciou, najčastejšie z klinčekov, muškátového orecha, škorice a bobkového listu. Názov tejto organickej zlúčeniny je odvodený od latinského názvu rastliny, z ktorej sa získavajú klinčky - *Eugenia aromaticum* (klinčekovec voňavý), resp. *Eugenia caryophyllata*. Eugenol je zodpovedný za charakteristickú vôňu klinčekov a je hlavnou zložkou klinčekového esenciálneho oleja, v ktorom tvorí približne 72–90 %. Využíva sa v potravinárstve pri výrobe ochucovadiel, v parfumérii, v medicíne ako antiseptikum a anestetikum, v zubnom lekárstve ako zložka zubných výplní a v prírode plní úlohu atraktantu pre hmyz.



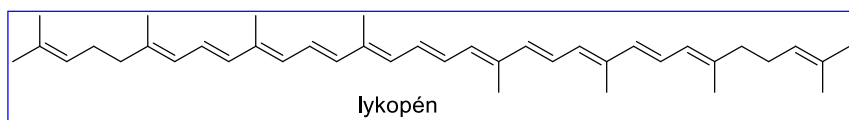
Obrázok 40 Štruktúrny vzorec eugenolu a klinčky, v ktorých sa nachádza.

Zlúčeniny zodpovedné za jasne oranžovú a červenú farbu mrkvy a paradajok sú známe ako karotenoidy. Ide prevažne o zlúčeniny so štyridsiatimi atómami uhlíka ( $\text{C}_{40}$ ), ktoré sa bežne vyskytujú v prírode.

**Lykopén** je jasne červený lipofilný karotenoid zodpovedný za červenú farbu rôznych druhov ovocia a zeleniny (Obr. 41). Patrí medzi hlavné karotenoidy prítomné v ľudskej plazme a prirodzene sa vyskytuje vo väčšom množstve než beta-karotén a niektoré ďalšie karotenoidy prijímané potravou. Jeho vysoko nenasýtená štruktúra obsahuje jedenásť konjugovaných dvojítých väzieb, vďaka čomu absorbuje svetlo vo viditeľnej oblasti elektromagnetického spektra.

**Lykopén** sa vyznačuje výraznou antioxidačnou schopnosťou, ktorá sa skúma v súvislosti s prevenciou chronických ochorení. Výsledky viacerých štúdií poukazujú na možné priaznivé pôsobenie lykopénu pri ochoreniach prostaty, pľúc, prsníka a žalúdka. Za tieto potenciálne účinky je zodpovedná najmä jeho antioxidačná kapacita, ktorá môže znižovať poškodenie DNA spôsobené reaktívnymi formami kyslíka, a tým obmedzovať vznik génových mutácií. Lykopén je preto atraktívnym predmetom výskumu zameraného na antioxidačné, protizápalové, antiproliferatívne a apoptózu podporujúce mechanizmy.

**Lykopén** možno ľahko extrahovať z paradajok, no z 1 kg plodov sa získa iba približne 0,02 g lykopénu. Na extrakciu je preto praktickejšie použiť koncentrovaný paradajkový pretlak. Izoláciu je potrebné začať na začiatku laboratorného cvičenia a získaný produkt spracovať bez zbytočného odkladu, pretože lykopén je málo stabilný [Cranwell et al., 2017].



Obrázok 41 Štruktúrny vzorec lykopénu.

## 13.2 Zadanie úloh

1. *Izolácia eugenolu z klinčekov.*
2. *Izolácia lykopénu z paradajkového pretlaku.*

## 13.3 Postup práce

### Izolácia eugenolu z klinčekov

#### Použité chemikálie a pomôcky:

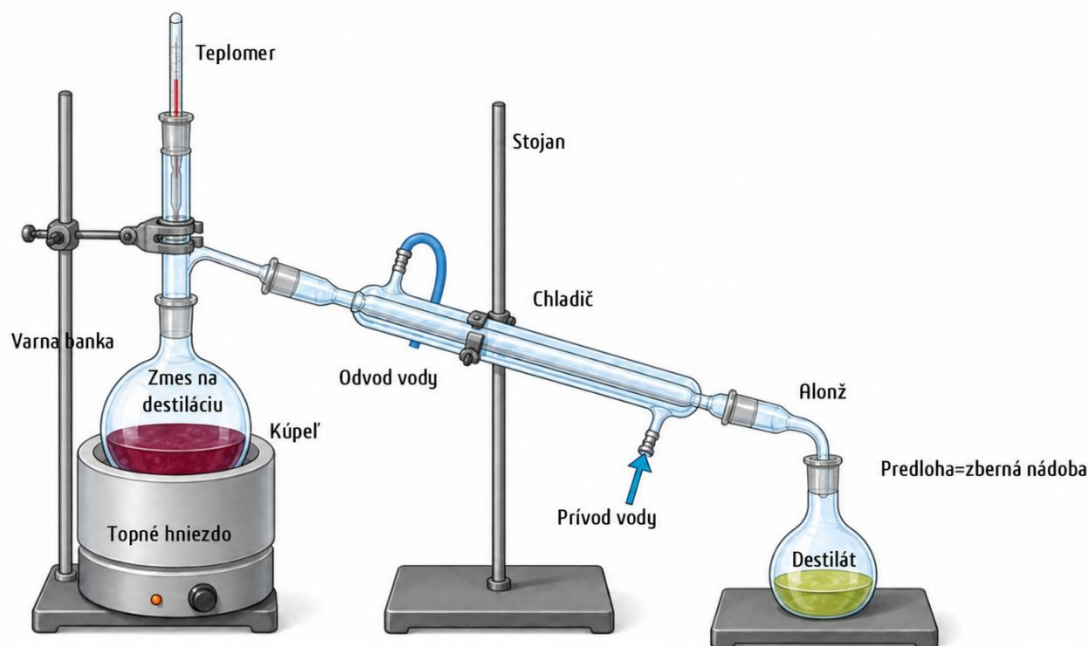
- sušené klinčeky, približne 30 g
- dichlórmetán, 4 × 30 ml

- 3 M vodný roztok hydroxidu sodného (NaOH), 100 ml
- koncentrovaná kyselina chlorovodíková (HCl), podľa potreby
- brómová voda (roztok brómu vo vode,  $c = 0,1\text{--}1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ )
- bezvodý síran sodný ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )
- jód
- dietyléter
- petroléter (teplota varu  $40\text{--}60^\circ\text{C}$ )
- 500 ml banka s okrúhlym dnom, 250 ml banka s okrúhlym dnom, zostupný Liebigov chladič, teplomer so zábrusom, zátky, varné kamienky, predloha (Erlenmeyerova banka alebo kadička), oddeľovací lievnik, Erlenmeyerova banka, filtračný lievnik, tretia miska, tliek, vata, rotačná vákuová odparka, varič a olejový kúpeľ pH papieriky

Štruktúru klinčekov narušíme drvením v trecej miske tliekom a kvantitatívne ich presypeme do 500 ml banky s okrúhlym dnom opatrenej varnými kamienkami. K obsahu banky prilejeme 300 ml vody, zostavíme aparáturu na destiláciu za atmosférického tlaku (pozri Obr. 42) a zmes začneme zahrievať. Obsah banky privedieme do varu a do predlohy zachytávame skondenzovanú vodnú paru spolu s esenciálnym olejom (približne 200 ml destilátu). Keď destilát prestane obsahovať olejové kvapôčky, destiláciu ukončíme.

Obsah predlohy (vodu a esenciálny olej) prelejeme do oddeľovacieho lievika a vodnú vrstvu extrahujeme dichlórmétanom ( $2 \times 30 \text{ ml}$ ). Spojené dichlórmétánové extrakty premyjeme vodou (100 ml) a následne 3 M vodným roztokom NaOH ( $2 \times 50 \text{ ml}$ ). Oddelené alkalické vodné vrstvy opatrne okysľujeme po kvapkách koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou až na pH približne 9, ktoré kontrolujeme pomocou pH papierika. Vzniknutú mliečne zakalenú zmes extrahujeme ďalším podielom dichlórmétanu ( $2 \times 30 \text{ ml}$ ).

Spojené dichlórmétánové extrakty vysušíme státím nad bezvodým síranom sodným. Sušidlo ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) odfiltrujeme cez filtračný lievnik s vatou do vopred odváženej 250 ml banky s okrúhlym dnom a filtrát zahustíme na rotačnej vákuovej odparke. V banke zostane esenciálny olej s charakteristickou vôňou klinčekov. Banku po odparení rozpúšťadla odvážime a zaznamenáme hmotnosť izolovaného produktu a výťažok.



Obrázok 42 Aparatúra pre izoláciu vonných látok destiláciou.

### Stanovenie čistoty izolovaného eugenolu

Čistotu izolovaného eugenolu overíme pomocou tenkovrstvovej chromatografie (TLC) s použitím sústavy dietyléter/petroléter (2:1, v/v) ako mobilnej fázy a jódu ako detekčného činidla. Určíme hodnotu  $R_F$  (retenčný faktor) eugenolu.

### Potvrdenie prítomnosti násobných väzieb v štruktúre eugenolu

Prítomnosť násobných väzieb v štruktúre získaného eugenolu overíme jednoduchým testom – k niekoľkým kvapkám izolovaného produktu pridáme niekoľko kvapiek brómovej vody a pozorujeme, či dôjde k jej odfarbeniu [Cranwell et al., 2017].

*Produkt odložíme na ďalšie cvičenie na jeho charakterizáciu pomocou NMR spektroskopie!*

### Izolácia lykopénu z paradajkového pretlaku

Použité chemikálie a pomôcky:

- paradajkový pretlak, približne 10 g
- metanol, 25 ml
- dichlórmetán, 50 ml
- nasýtený vodný roztok chloridu sodného (NaCl),  $3 \times 150$  ml
- bezvodý síran sodný ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )
- petroléter (teplota varu 40–60 °C)
- toluén
- brómová voda (roztok brómu vo vode,  $c = 0,1\text{--}1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ )

- 250 ml banka s okrúhlym dnom, spätný chladič, magnetické miešadlo, vodný kúpeľ, odsávačka, Büchnerov lievik, oddeľovací lievik, Erlenmeyerova banka, filtračný lievik, vata, rotačná vákuová odparka, varič a olejový kúpeľ

10 g paradajkového pretlaku prenesieme do 250 ml banky s okrúhlym dnom. Pridáme 25 ml metanolu a 50 ml dichlórmétanu a vzniknutú zmes refluxujeme pod spätným chladičom 5 minút. Následne zmes prefiltrujeme cez Büchnerov lievik za zníženého tlaku. Filtrát prelejeme do oddeľovacieho lievika a premyjeme ho nasýteným vodným roztokom NaCl (3 × 150 ml).

Organickú vrstvu vysušíme státím nad bezvodým síranom sodným. Sušidlo ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) odfiltrujeme cez filtračný lievik s vatou do vopred odváženej 250 ml banky s okrúhlym dnom a filtrát zahustíme na rotačnej vákuovej odparke.

#### Stanovenie čistoty izolovaného lykopénu

Čistotu izolovaného lykopénu overíme pomocou tenkovrstvovej chromatografie (TLC) s použitím sústavy petroléter/toluén (5:1, v/v) ako mobilnej fázy. Škvryny detegujeme vizuálne. Určíme hodnoty  $R_F$  lykopénu a prítomných nečistôt.

#### Potvrdenie prítomnosti násobných väzieb v štruktúre lykopénu

Prítomnosť násobných väzieb v štruktúre získaného lykopénu overíme jednoduchým testom – k malému množstvu izolovaného produktu (lykopénu) pridáme niekoľko kvapiek brómovej vody a pozorujeme, či dôjde k jej odfarbeniu [Cranwell et al., 2017, Kvíčala 2007, Brutovská 1987].

## 14. Príprava farbív v organickej chémii

### (10. laboratórna úloha)

#### 14.1 Teoretický úvod

##### *Príprava indiga*

Farbivá, teda farebné organické zlúčeniny používané na farbenie textílií, ľudia poznajú už tisíce rokov. Týrsky purpur, vzácné farbivo získavané z morských mäkkýšov rodu *Murex*, najmä druhu *Murex brandaris*, sa používal už v starovekom Ríme na farbenie purpurových tóg cisárov. Predstavoval symbol moci a bohatstva, pretože jeho výroba bola veľmi nákladná. Alizarín, získavaný extrakciou z koreňov mareny farbiarskej (*Rubia tinctorum*), sa dlho používal ako červené farbivo. V 18. a 19. storočí sa ním farbili napríklad červené kabáty príslušníkov britskej armády.

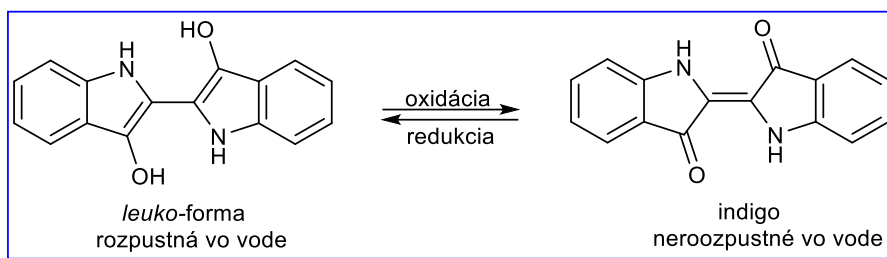
Medzi najstaršie známe farbivá patrí **indigo**. Za sfarbenie týrskeho purpuru je zodpovedný 6,6'-dibromderivát indiga. Indigo sa v minulosti používalo aj na farbenie modrých kabátov americkej armády počas americkej revolúcie. V súčasnosti sa vyrába vo veľkých množstvách a využíva sa najmä pri výrobe modrého denimu.

Hoci staroveké farbivá pochádzali výlučne z prírodných zdrojov, väčšina moderných farbív sa pripravuje synteticky. Aby bolo farbivo prakticky použiteľné, musí byť dostatočne stále, teda musí zostať viazané v textílii aj po praní. Najľahšie sa farbía tkaniny z bavlny, vlny a hodvábu, pretože obsahujú polárne funkčné skupiny, ktoré môžu interagovať s molekulami farbiva. Podľa spôsobu aplikácie na textílie rozlišujeme kypové, moridlové a priame farbivá.

**Indigo** je kypové farbivo. Pôvodne sa získavalo fermentáciou farbiarky obyčajnej (*Isatis tinctoria*) a rastlín rodu *Indigofera*. Tieto rastliny obsahujú **beta-glukozid**, ktorý hydrolytickým štiepením poskytuje glukózu a indoxyl, bezfarebný prekurzor indigového farbiva. Štruktúru indiga určil Adolf von Baeyer v roku 1883.

Pri kypovom farbení sa farbivo najskôr naniesie na textíliu v rozpustnej forme a následnou chemickou reakciou sa premení na nerozpustnú formu. Indigo sa aplikuje ako rozpustná redukovaná leukoforma. Po vystavení vzduchu sa oxiduje späť na nerozpustnú modrú formu farbiva.

Dnes sa indigo vyrába synteticky. Na jeho redukciu na rozpustnú *leuko*-formu (Obr. 43) sa používa ditioničitan sodný  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ . [Cranwell et al., 2017].



Obrázok 43 Oxidačno-redukčný prechod medzi *leuko*-formou a indigom.

Na tomto cvičení budeme realizovať jednak jednokrokovú prípravu indiga, vychádzajúc z 2-nitrobenzaldehydu, a jednak aj samotný kypový farbiaci proces, ktorý bude spočívať v tom, že syntetické indigo zredukujeme ditioničitanom sodným ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) a následne do vzniknutého roztoku *leuko*-indiga namočíme kúsok bavlny, ktorá sa nechá vysušiť na vzduchu.

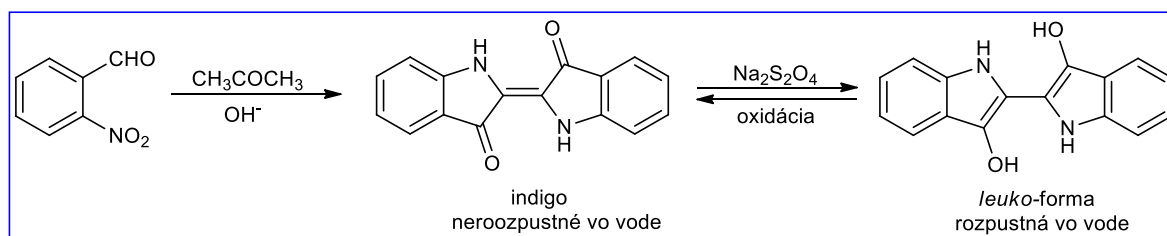
## 14.2 Zadanie úloh

1. Príprava indiga z 2-nitrobenzaldehydu a farbenie bavlny.
2. Identifikácia eugenolu pomocou NMR spektroskopie.

## 14.3 Postup práce

### Príprava indiga a farbenie bavlny

Na tomto laboratórnom cvičení uskutočníme jednokrokovú prípravu indiga z 2-nitrobenzaldehydu (Obr. 44) a následne kypové farbenie bavlny. Synteticky pripravené indigo redukujeme ditioničitanom sodným ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ) na rozpustnú *leuko*-formu, do ktorej ponoríme kúsok bavlnenej látky. Po vybratí a vysušení na vzduchu sa *leuko*-forma oxiduje na modré indigo [Cranwell et al., 2017].



Obrázok 44 Príprava indiga z 2-nitrobenzaldehydu.

### Použité chemikálie a pomôcky:

- 2-nitrobenzaldehyd, 1,0 g (6,6 mmol)
- acetón, 20 ml
- etanol, 20 ml a niekoľko kvapiek na prípravu pasty
- 2 M vodný roztok hydroxidu sodného (NaOH), 5 ml + 3 ml
- ditioničitan sodný ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ), 0,3 g
- destilovaná voda, podľa potreby
- bavlnená látka
- 2 × 100 ml kadička, odmerné valce, magnetické miešadlo a miešadielko, sklenená tyčinka, odsávačka, Büchnerov lievik, teplomer, sušiareň a kúsok bavlnenej látky

V 100 ml kadičke s magnetickým miešadielkom rozpustíme 1,0 g 2-nitrobenzaldehydu v 20 ml acetónu a získaný roztok zriedime 35 ml vody. Za intenzívneho miešania pomaly pridávame 5 ml 2 M vodného roztoku hydroxidu sodného. Sfarbenie roztoku sa postupne zmení zo sýtožltého na tmavofialové a približne po 20 sekundách sa začne vylučovať zrazenina indiga. V miešaní pokračujeme ďalších 5 minút.

Reakčnú zmes prefiltrujeme cez Büchnerov lievik za zníženého tlaku. Získané indigo dôkladne premyjeme vodou (približne 100 ml) a následne 20 ml etanolu. Produkt predsušíme na Büchnerovom lieviku za zníženého tlaku 5–10 minút, a potom ho sušíme 30–40 minút v sušiarňi pri teplote 100–120 °C. Vysušený produkt odvážime a vypočítame výťažok [Cranwell et al., 2017].

### Farbenie bavlny

Do 100 ml kadičky navážime 100–200 mg indiga. Pridáme niekoľko kvapiek etanolu a zmes rozotierame sklenenou tyčinkou, až kým nevznikne pasta. K paste pridáme 1 ml vody a následne 3 ml 2 M vodného roztoku hydroxidu sodného.

V druhej kadičke pripravíme roztok ditioničitanu sodného rozpustením 0,3 g  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$  v 20 ml vody a prilejeme ho k zmesi indiga v prvej kadičke. Reakčnú zmes zahrejeme na 50 °C. Keď sa zmení na číry žltý roztok, pridáme 40 ml vody a vložíme do nej kúsok bavlnenej látky. Za občasného premiešania necháme látku ponorenú 30 minút. Potom ju vyberieme a necháme vysušiť na vzduchu [Cranwell et al., 2017].

### Identifikácia eugenolu pomocou NMR spektroskopie

NMR spektrá sa merajú na špecializovaných pracoviskách vybavených NMR spektrometrami (na Slovensku pozri [Pracoviská » Národné centrum NMR](#)), ako je Laboratórium NMR na Ústave chemických vied Prírodovedeckej fakulty UPJŠ. NMR prístroje sa označujú podľa rezonančnej frekvencie jadier  $^1\text{H}$ . Napríklad 400 MHz NMR spektrometer (Obrázok 45) využíva supravodivý magnet s magnetickou indukciou približne 9,4 T, zatiaľ čo 600 MHz spektrometer využíva magnet s magnetickou indukciou 14,1 T. Stručný opis metódy je uvedený v kapitole 4.5.



Obrázok 45 NMR spektrometer (400 MHz) JEOL JNM-ECZL400G a NMR kvjeta.

### *Bezpečnostné upozornenia pri práci v NMR laboratóriu*

Práca v NMR laboratóriu si vyžaduje dodržiavanie prísnych bezpečnostných pravidiel vzhľadom na prítomnosť silného statického magnetického poľa a kryogénnych kvapalín. Magnet supravodivého NMR spektrometra vytvára nepretržite silné magnetické pole. Do blízkosti magnetu je zakázané prinášať feromagnetické predmety (napr. kľúče, mobilné telefóny, hodinky alebo náradie), pretože môžu byť prudko vtiahnuté do magnetu a spôsobiť zranenie alebo poškodenie prístroja. *Osoby s kardiostimulátorom, implantovaným defibrilátorom alebo inými implantátmi citlivými na magnetické pole nesmú vstupovať do priestoru magnetu.* Nedodržanie týchto bezpečnostných pravidiel môže viesť k vážnemu ohrozeniu zdravia osôb aj k poškodeniu NMR spektrometra.

### *Príprava vzorky na meranie*

#### **1. Výber vhodného deuterovaného rozpúšťadla**

Zvolíme deuterované rozpúšťadlo, ktoré analyzovanú zlúčeninu dostatočne rozpúšťa a ktorého reziduálne signály sa neprekrývajú s očakávanými signálmi vzorky. Vo všeobecnosti platí, že látky sa lepšie rozpúšťajú v rozpúšťadlách s podobnou polaritou. Najčastejšie používané deuterované rozpúšťadlá sú  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\text{CD}_3\text{OD}$ , acetón- $d_6$ ,  $\text{D}_2\text{O}$  alebo benzén- $d_6$ .

#### **2. Rozpustenie vzorky**

Množstvo vzorky potrebné na NMR meranie závisí od typu meraného jadra, citlivosti spektrometra, molekulovej hmotnosti a rozpustnosti analyzovanej látky. Do malej suchej skúmavky alebo fľaštičky odvážime približne 1–3 mg látky na meranie  $^1\text{H}$  NMR spektra alebo 5–10 mg látky na meranie  $^{13}\text{C}$  NMR spektra. Pridáme 0,6 ml zvoleného deuterovaného rozpúšťadla a zmes dôkladne premiešame, až kým nevznikne homogénny roztok. NMR spektroskopia je nedeštruktívna metóda, preto možno vzorku po meraní a odparení rozpúšťadla získať späť.

### **3. Filtrácia vzorky**

Ak roztok obsahuje nerozpustné nečistoty, napríklad soli alebo mechanické častice, prefiltrujeme ho cez malý kúsok vaty alebo vhodný mikrofilter.

### **4. Prenesenie vzorky do NMR kyvety**

Celý pripravený roztok opatrne prenesieme Pasteurovou pipetou do čistej a suchej NMR kyvety s priemerom 5 mm. Výška stĺpca kvapaliny má byť približne 4,5–5 cm. Výrazne nižšia alebo vyššia hladina môže zhoršiť homogenitu magnetického poľa a kvalitu spektra.

### **5. Uzavretie a označenie vzorky**

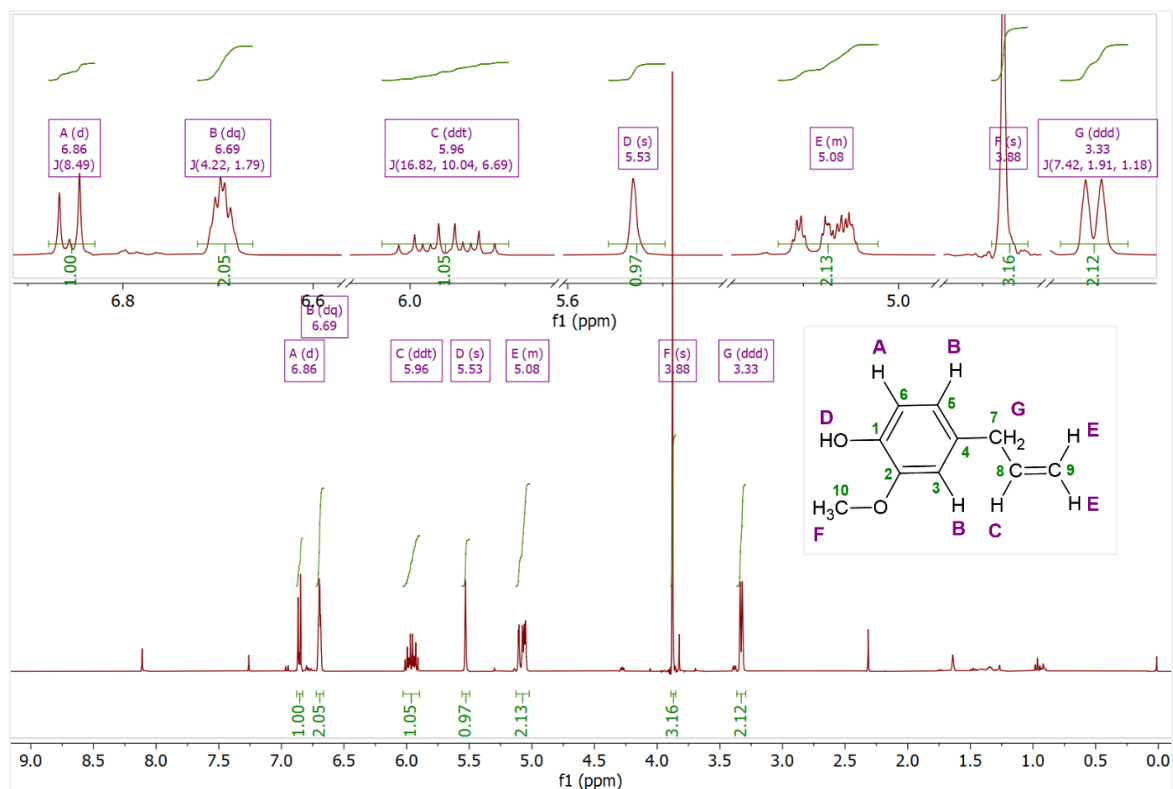
NMR kyvetu uzavrieme vhodným viečkom a viditeľne ju označíme názvom látky, resp. kódom vzorky a uvedieme použité deuterované rozpúšťadlo.

### **6. Kontrola vzorky pred meraním**

Pred vložením do prístroja vizuálne skontrolujeme, či vzorka neobsahuje bubliny, zákal ani sediment. Roztok má byť číry a bez nerozpustených častíc, ktoré môžu zhoršiť kvalitu spektra a skresliť jeho interpretáciu.

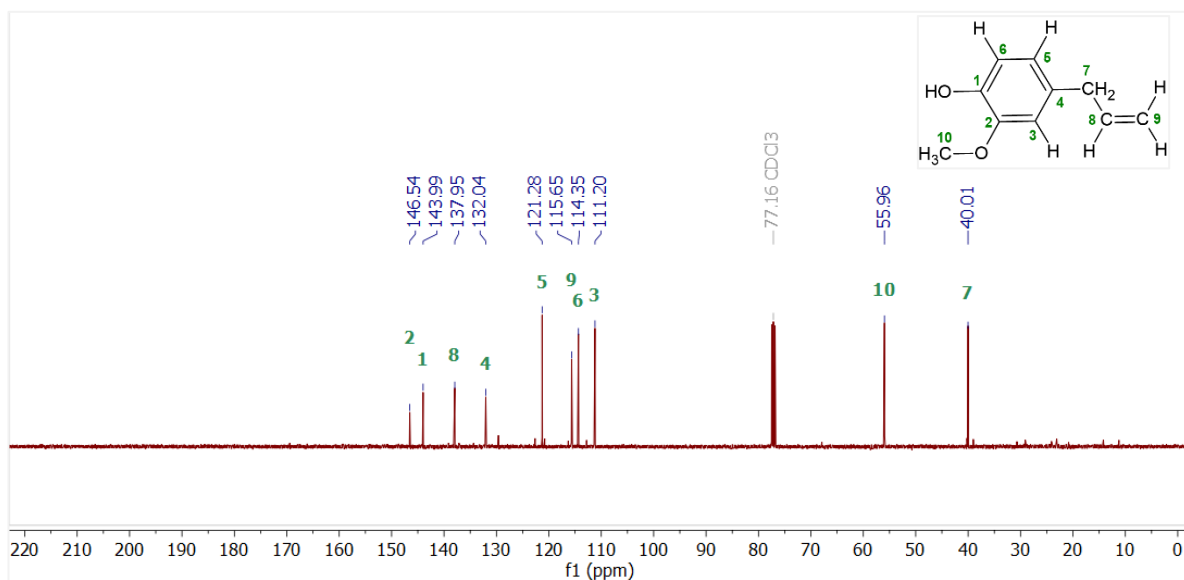
Na obrázkoch 46 a 47 sú uvedené  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektrá eugenolu izolovaného z klinčekov destiláciou s vodnou parou. Keďže sa touto technikou môžu z klinčekov izolovať aj ďalšie prírodné látky, výsledný produkt môže obsahovať menšie množstvo sprievodných zlúčenín. V oboch spektrách sú označené iba signály prislúchajúce eugenolu. Pod obrázkami je uvedený štandardný zápis NMR spektier používaný pri charakterizácii organických zlúčenín.

NMR spektrá izolovaného eugenolu boli zaznamenané na spektrometri Varian Mercury Plus 400 FT NMR pracujúcom pri frekvencii 400,13 MHz pre  $^1\text{H}$  a 100,61 MHz pre  $^{13}\text{C}$  pri teplote 25°C. Chemické posuny ( $\delta$ ) sú uvádzané v jednotkách ppm vzhľadom na vnútorný štandard, tetrametylsilán (TMS) pre  $^1\text{H}$  NMR spektrum (Obr. 46) resp. zvyškový signál deuterovaného rozpúšťadla  $\text{CDCl}_3$  (Obr. 47). Spin-spinové interakčné konštanty ( $J$ ) sa uvádzajú v hertzoch (Hz).



Obrázok 46 <sup>1</sup>H NMR spektrum (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) eugenolu.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  6.86 (“d“,  $J$  = 8.5 Hz, 1H, H-6), 6.72 – 6.66 (m, 2H, H-3,5), 5.96 (ddt,  $J$  = 16.8, 10.0, 6.7 Hz, 1H, H-8), 5.56 – 5.50 (s, 1H, OH), 5.13 – 5.02 (m, 2H, H-9), 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.33 (ddd,  $J$  = 7.4, 1.9, 1.2 Hz, 2H, H-7).



Obrázok 47 <sup>13</sup>C NMR spektrum (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) eugenolu.

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  146.5 (C-2), 144.0 (C-1), 137.9 (C-8), 132.0 (C-4), 121.3 (C-5), 115.7 (C-9), 114.4 (C-6), 111.2 (C-3), 56.0 (C-10), 40.0 (C-7).

## Zoznam použitej literatúry

1. BRUTOVSKÁ, A. *Cvičenie z metód organickej chémie*. Košice: Edičné stredisko Rektorátu Univerzity P. J. Šafárika v Košiciach, 1987. 334 s.
2. CRANWELL, P. B.; HARWOOD, L. M; MOODY, Ch. J. *Experimental Organic Chemistry*. 3rd ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2017. 688 s. ISBN 978-1-119-95238-1.
3. HARRIS, D. C.; LUCY, C. A. *Quantitative Chemical Analysis*. 11th ed. New York: W. H. Freeman, 2026. 1056 s. ISBN 978-1319589974.
4. HERCHEL, R; KLANICOVÁ, A.; ŠINDELÁŘ, Z.; TRÁVNÍČEK, Z. *Laboratorní technika*. 2. vyd. Olomouc: Vydavatelství Univerzity Palackého, 2023. 102 s. ISBN 978-80-244-6311-7.
5. HOFMANN, A.; CLOKIE, S. *Wilson and Walker's Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*. 8th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2018. 956 s. ISBN 978-1-107-16227-3.
6. CHRISTIAN, G. D.; DASGUPTA, P. K.; SCHUG, K. A. *Analytical chemistry*. 7th ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2013. 826 s. ISBN 978-0-470-88757-8.
7. JACOBSEN, N. E. *NMR Data Interpretation Explained: Understanding 1D and 2D NMR Spectra of Organic Compounds and Natural Products*. Hoboken: John Wiley & Sons, 2017. 656 s. ISBN: 978-1-119-17688-6.
8. KVÍČALA, J. *Laboratorní technika organická chemie*. Praha: VŠCHT, Praha, 2007. 182 s. ISBN 978-80-7080-322-6.
9. LABUDA, J.; ŠPÁNIK, I.; TARAPČÍK, P.; HROUZKOVÁ, S.; VRÁBEL, V.; BENICKÁ, E.; HROBOŇOVÁ, K.; SÁDECKÁ, J.; BEINROHR, E., LIPTAJ, T. *Analytická chémia*. 1. vyd. Bratislava: Slovenská technická univerzita v Bratislave, 2014. 671 s. ISBN 978-80-227-4242-9.
10. NELSON, D. L.; COX, M. M. *Lehninger's Principles of Biochemistry*. 8th ed. New York: W. H. Freeman, 2021. ISBN 978-1-319-22800-2.
11. CHEMISTRY STEPS. *NMR Spectroscopy - An Easy Introduction*. Dostupné na: <https://www.chemistrysteps.com/nmr-spectroscopy-an-easy-introduction/> [cit. 05.08.2026].
12. SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 9th ed. Belmont: Brooks/Cole, 2013. ISBN 978-0-495-55828-6.
13. VARGOVÁ, Z.; ALMÁŠI, M.; KUCHAR, J.; DINAJOVÁ, M. *Základné laboratórne cvičenia z anorganickej chémie*. 1. vyd. Košice: Univerzita P. J. Šafárika v Košiciach, 2019. 153 s. ISBN 978-80-8152-794-4.
14. INTERNATIONAL ORGANISATION OF WINE AND WINE. *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis*. Dijon: OIV, 2024. Dostupné na: [https://www.oiv.int/standards/compendium-of-international-methods-of-wine-and-must-analysis?utm\\_source=chatgpt.com](https://www.oiv.int/standards/compendium-of-international-methods-of-wine-and-must-analysis?utm_source=chatgpt.com) [cit. 05.08.2026].
15. EN 901:2024. *Chemicals used for treatment of water intended for human consumption - Sodium hypochlorite*. Brussels: European Committee for Standardization, 2024.

## Prílohy

**Hustota a molárna koncentrácia vodných roztokov minerálnych kyselín**  
(Uvádzané pri 20 °C)

**Tabuľka P1. Kyselina chlorovodíková (HCl)**

| Hmotnostný zlomok (%) | Hustota (g·cm <sup>-3</sup> ) | Koncentrácia (mol·dm <sup>-3</sup> ) |
|-----------------------|-------------------------------|--------------------------------------|
| 1                     | 1,0031                        | 0,275                                |
| 3                     | 1,0130                        | 0,833                                |
| 5                     | 1,0228                        | 1,403                                |
| 7                     | 1,0327                        | 1,983                                |
| 9                     | 1,0426                        | 2,574                                |
| 10                    | 1,0476                        | 2,873                                |
| 12                    | 1,0576                        | 3,481                                |
| 14                    | 1,0676                        | 4,099                                |
| 16                    | 1,0777                        | 4,729                                |
| 18                    | 1,0878                        | 5,370                                |
| 20                    | 1,0980                        | 6,023                                |
| 22                    | 1,1083                        | 6,687                                |
| 24                    | 1,1185                        | 7,362                                |
| 26                    | 1,1288                        | 8,049                                |
| 28                    | 1,1391                        | 8,748                                |
| 30                    | 1,1492                        | 9,456                                |
| 32                    | 1,1594                        | 10,175                               |
| 34                    | 1,1693                        | 10,904                               |
| 36                    | 1,1791                        | 11,642                               |

**Tabuľka P2. Kyselina dusičná (HNO<sub>3</sub>)**

| Hmotnostný zlomok (%) | Hustota (g·cm <sup>-3</sup> ) | Koncentrácia (mol·dm <sup>-3</sup> ) |
|-----------------------|-------------------------------|--------------------------------------|
| 3                     | 1,0146                        | 0,483                                |
| 6                     | 1,0314                        | 0,982                                |
| 9                     | 1,0485                        | 1,498                                |
| 12                    | 1,0660                        | 2,030                                |
| 14                    | 1,0780                        | 2,395                                |
| 18                    | 1,1025                        | 3,149                                |
| 22                    | 1,1277                        | 3,937                                |
| 24                    | 1,1406                        | 4,344                                |
| 28                    | 1,1668                        | 5,185                                |
| 30                    | 1,1801                        | 5,618                                |
| 34                    | 1,2068                        | 6,512                                |
| 36                    | 1,2202                        | 6,971                                |

|    |        |       |
|----|--------|-------|
| 40 | 1,2466 | 7,913 |
| 42 | 1,2591 | 8,390 |
| 46 | 1,2847 | 9,380 |
| 48 | 1,2975 | 9,880 |
| 50 | 1,3100 | 10,39 |
| 54 | 1,3336 | 11,43 |
| 56 | 1,3449 | 11,95 |
| 60 | 1,3667 | 13,01 |
| 64 | 1,3866 | 14,08 |

**Tabuľka P3. Kyselina sírová (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)**

| Hmotnostný zlomok (%) | Hustota (g·cm <sup>-3</sup> ) | Koncentrácia (mol·dm <sup>-3</sup> ) |
|-----------------------|-------------------------------|--------------------------------------|
| 3                     | 1,0183                        | 0,311                                |
| 5                     | 1,0318                        | 0,526                                |
| 10                    | 1,0661                        | 1,087                                |
| 14                    | 1,0947                        | 1,563                                |
| 20                    | 1,1398                        | 2,324                                |
| 24                    | 1,1714                        | 2,866                                |
| 30                    | 1,2191                        | 3,729                                |
| 34                    | 1,2518                        | 4,339                                |
| 40                    | 1,3028                        | 5,313                                |
| 44                    | 1,3386                        | 6,005                                |
| 50                    | 1,3952                        | 7,113                                |
| 54                    | 1,4351                        | 7,901                                |
| 60                    | 1,4987                        | 9,168                                |
| 70                    | 1,6105                        | 11,494                               |
| 80                    | 1,7272                        | 14,088                               |
| 90                    | 1,8144                        | 16,649                               |
| 94                    | 1,8312                        | 17,550                               |
| 96                    | 1,8355                        | 17,966                               |
| 98                    | 1,8361                        | 18,346                               |

**Tabuľka P4. Hustota vody v závislosti od teploty**

| Teplota (°C) | Hustota (g·cm <sup>-3</sup> ) |
|--------------|-------------------------------|
| 0            | 0,999868                      |
| 5            | 0,999992                      |
| 10           | 0,999727                      |
| 15           | 0,999126                      |
| 18           | 0,998622                      |
| 19           | 0,998432                      |
| 20           | 0,998230                      |
| 21           | 0,998019                      |
| 22           | 0,997797                      |
| 23           | 0,997565                      |
| 24           | 0,997323                      |
| 25           | 0,997071                      |
| 26           | 0,996810                      |
| 27           | 0,996539                      |
| 28           | 0,996259                      |
| 29           | 0,995971                      |
| 30           | 0,995673                      |
| 50           | 0,988070                      |
| 70           | 0,977810                      |
| 100          | 0,955380                      |

### Tabuľka P5. Rozpustnosť základných anorganických solí vo vode

Hodnoty rozpustnosti sú udané v gramoch soli na 100 g vody (g/100 g H<sub>2</sub>O) pri nasýtenom roztoku. Pomlčka (—) znamená, že hodnota pri danej teplote nie je v dostupných zdrojoch uvedená (napr. NaHCO<sub>3</sub> sa pri vyšších teplotách rozkladá). Solubility Table for Water at Temperature, [Sigma-Aldrich Merck](#), [Herchel et al., 2023].

| Názov soli                | Vzorec                                          | 20 °C | 50 °C | 100 °C |
|---------------------------|-------------------------------------------------|-------|-------|--------|
| Bromid draselný           | KBr                                             | 65,3  | 85,5  | 104    |
| Chlorid amónny            | NH <sub>4</sub> Cl                              | 37,5  | 50,3  | 76,3   |
| Chlorid bárnatý           | BaCl <sub>2</sub>                               | 35,8  | 46,2  | 59,4   |
| Chlorid draselný          | KCl                                             | 34,2  | 42,8  | 56,3   |
| Chlorid sodný             | NaCl                                            | 35,9  | 36,7  | 39,2   |
| Chlorid vápenatý          | CaCl <sub>2</sub>                               | 74,5  | 137   | 159    |
| Dichróman draselný        | K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>   | 12,3  | 45,6  | 102    |
| Dusičnan amónny           | NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>                 | 192   | 421   | 871    |
| Dusičnan draselný         | KNO <sub>3</sub>                                | 31,6  | 106   | 245    |
| Dusičnan olovnatý         | Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>               | 54,3  | 91,6  | 133    |
| Dusičnan sodný            | NaNO <sub>3</sub>                               | 87,6  | 122   | 180    |
| Dusičnan strieborný       | AgNO <sub>3</sub>                               | 216   | 440   | 733    |
| Hydrogenuhličitan sodný   | NaHCO <sub>3</sub>                              | 9,6   | 16,0  | —      |
| Hydroxid draselný         | KOH                                             | 113,7 | 141,5 | 182,5  |
| Hydroxid sodný            | NaOH                                            | 85,2  | 170,3 | 376,2  |
| Jodid draselný            | KI                                              | 144   | 176   | 206    |
| Síran amónny              | (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 75    | 85    | 103    |
| Síran draselný            | K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                  | 11,1  | 18,2  | 24,1   |
| Síran horečnatý           | MgSO <sub>4</sub>                               | 33,7  | 54,6  | 50,4   |
| Síran meďnatý (bezvodý)   | CuSO <sub>4</sub>                               | 20    | 35    | 73     |
| Síran meďnatý pentahydrát | CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O            | 32    | 80    | 114    |
| Síran sodný               | Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>                 | 19,5  | 45,3  | 42,5   |
| Síran vápenatý            | CaSO <sub>4</sub>                               | 0,255 | 0,244 | 0,205  |
| Síran zinočnatý           | ZnSO <sub>4</sub>                               | 53,8  | 75,4  | 60,5   |
| Síran železnatý (II)      | FeSO <sub>4</sub>                               | 48,0  | 101   | —      |
| Uhličitan sodný           | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>                 | 21,5  | 46,0  | —      |

# **ZÁKLADNÉ METODIKY V CHEMICKOM LABORATÓRIU**

*Učebnica pre vysoké školy*

**Autori:** RNDr. Miroslava Matiková Maľarová, PhD.  
RNDr. Jana Špaková Raschmanová, PhD.  
RNDr. Serhii Zaruba, PhD.  
RNDr. Jana Shepa, PhD.  
RNDr. Adrián Gucký, PhD.  
RNDr. Zuzana Kudličková, PhD.

**Vydavateľ:** Univerzita Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach  
vo Vydavateľstve ŠafárikPress

**Rok vydania:** 2026  
**Počet strán:** 120  
**Rozsah:** 8,1 AH  
**Vydanie:** prvé



ISBN 978-80-574-0551-1 (e-publikácia)