



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



NOVÉ TRENDY V CHEMICKÉM VZDĚLÁVÁNÍ

ŠKOLNÍ VERSUS PROFESIONÁLNÍ TECHNIKA

JIŘÍ KALINA

MARTIN MUCHA

KATEŘINA TRČKOVÁ

OSTRAVA, 2020

ODBORNÉ, KARIÉROVÉ A POLYTECHNICKÉ VZDĚLÁVÁNÍ V MSK

REGISTRAČNÍ ČÍSLO PROJEKTU OKAP: CZ.02.3.68/0.0/0.0/16_034/0008507



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání





Obsah

Úvod.....	4
1 Čidla Vernier	5
1.1 pH sensor.....	5
1.2 Konduktometr.....	6
1.3 Gas Senzory.....	6
1.3.1 CO ₂ Gas Senzor.....	6
1.3.2 O ₂ Gas Senzor	6
1.4 Čítač kapek.....	7
1.5 Go!Temp	7
1.6 Voltmetr do 30 V.....	7
1.7 Iontově selektivní elektrody	7
1.8 UVA a UVB senzor.....	8
1.9 Luxmetr – čidlo intenzity světla.....	8
1.10 Kolorimetr	9
1.11 Nefelometr.....	9
1.12 Spektrofotometr – SpectroVis Plus	10
2 Sada Visocolor	11
2.1 pH vzorku vody.....	11
2.2 Tvrdost vody	11
2.3 Stanovení Fe ²⁺	13
2.4 Stanovení rozpuštěného kyslíku ve vodách	14
2.5 Stanovení NO ₃ ⁻	14
3 Analýza vody.....	16
3.1 Tvrdost vody chelatometricky.....	16
3.2 Orientační rozlišení tvrdosti vody	19
3.3 Stanovení vápenatých a hořečnatých iontů	20
3.4 Zákal vody.....	21
3.5 Měření pH vody	22
3.6 Zjišťování vybraných iontů	23
3.7 Jednoduché stanovení kvality vody.....	24
4 Fotosyntéza	26
4.1 Asimilace a disimilace	26
4.2 Fotosyntetické pigmenty	26
4.3 Rozdělení listových barviv pomocí tenkovrstvé chromatografie.....	28
5 Otevřené bádání	31
5.1 Zachraň skladníka	31
5.2 Rychlost chemické reakce	31
5.3 Opalovací krém a ochrana proti UV záření.....	32



5.4	Galvanický článek	33
6	Metoda AAS.....	34
6.1	Základy metody AAS.....	34
6.2	Stanovení Ca^{2+} a Mg^{2+} metodou AAS	35
7	Metoda UV-VIS	39
7.1	Základy metody UV-VIS	39
7.2	Stanovení fotosyntetických barviv	40
7.3	Měření opalovacích krémů.....	45
7.4	Stanovení dusičnanů spektrometrií v UV oblasti	46
7.5	Turbidimetrické stanovení zákalu	47
8	Srovnání naměřených výsledků školní versus profesionální technika.....	49
8.1	Srovnání výsledků z kapitoly 3.3, 3.7 a 6.2	49
8.2	Srovnání výsledků z kapitoly 3.1 a 6.2	49
8.3	Srovnání výsledků z kapitoly 3.6, 6.2 a 7.3	50
8.4	Srovnání výsledků z kapitoly 4.2 a 7.2	51
8.5	Srovnání výsledků z kapitoly 5.3 a 7.3	51
9	Motivační úlohy	52
9.1	Doplňovačka.....	52
9.2	Osmisměrka.....	52
9.3	Rozhodněte o pravdivosti tvrzení.....	54
10	Citační zdroje.....	55



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



Úvod

Pracovní listy jsou určeny učitelům ZŠ a SŠ, účastníkům pěti kurzů aktivity Nové trendy v chemickém vzdělávání.

Účastníci kurzu:

- Ověří kvantitativně výsledky jednoduchých pokusů.
- Srovnají přesnost měření jednoduchých mobilních zařízení Vernier a Visocolor s profesionální technikou AAS a UV/VIS.
- Prakticky aplikují laboratorní dovednosti získané v 1. a 2. kurzu.



1 Čidla Vernier

1.1 pH sensor.

Je čidlo, které se používá k měření míry kyselosti a zásaditosti roztoků. Obsahuje elektrodu z Ag/AgCl a vytváří výstupní napětí, které se mění s kyselostí prostředí, pro $\text{pH} = 7$ je toto napětí 1,75 V, jeho přírůstek o 0,25 V odpovídá úbytku pH o 1. Před měřením vyšroubujeme čidlo z lahvičky s přechovávacím roztokem (1).

Lze použít i bezdrátově připojitelné čidlo GDX-PH k zařízení s Bluetooth 4. Reakční doba je 2 s, maximální dosah signálu je cca 10 m bez překážek, doba nabíjení je 2 hodiny, výdrž cca 150 hodin (téměř celý týden nepřetržitého provozu). Kalibraci je možné uložit přímo do senzoru (2).

a. Měření pH vody

- Čidlo opatrně ponoříme asi 2 cm do vody.
- Po ukončení měření čidlo opláchneme destilovanou vodou, poté vložíme do přechovávací lahvičky a nakonec vše zašroubováním upevníme.

b. Měření pH půdy

- Odebereme vzorek půdy do plastové láhve, přidáme vodu a zhotovíme půdní výluh.
- Přefiltrujeme.
- Ve filtrátu změříme pH stejným postupem jako u vody pH.

Kalibrace se nemusí provádět před každým měřením. Kalibrujeme dvoubodově pomocí pufrů. V menu „Experiment“ vyberte položku kalibrovat. Zvolte připojený pH senzor. Objeví se informační okno, ve kterém klikněte na „Kalibrovat teď“. Vložte senzor do prvního pufru a počkejte, až se hodnota napětí ustálí. Poté запиšte hodnotu pH daného pufru a klikněte na „Uchovat“. Elektrodu vyndejte z pufru, pečlivě opláchněte a opakujte postup pro druhý pufr. Přejděte do záložky „Uložení kalibrace“ a klikněte na „Nastavit kalibraci senzoru“. Tím dojde k zápisu nové kalibrace přímo do paměti senzoru. Klepněte na „Hotovo“ a potvrďte kliknutím na „Zápis“, že opravdu chcete novou kalibraci do senzoru uložit. Tím je kalibrace dokončena a uložena v senzoru (3).



1.2 Konduktometr

Je určen k měření elektrické vodivosti vodných roztoků a je vybaven automatickou teplotní kompenzací při teplotách v rozsahu 5 až 35 °C. Měří schopnost přenosu iontů mezi dvěma elektrodami (elektrickou vodivost), vyšší koncentrace iontů v roztoku znamená vyšší elektrickou vodivost (4).

a. Měření vodivosti

- Po každém měření je nutné konec konduktometru opláchnout destilovanou vodou a důkladně vysušit papírovým ručníkem.
- Během měření do roztoků ponoříme jen konec konduktometru (samotná rukojeť není vodotěsná).
- Jakmile vložíme konduktometr do testovaného roztoku, jemně s ním mícháme a po celou dobu měření dbáme na to, aby byl konec senzoru plně ponořen v tekutině. Samotné měření by mělo trvat 5 až 10 sekund (ne déle). Pokud měříme tekutiny o teplotě pod 15 °C nebo nad 30 °C musíme vyčkat déle.

1.3 Gas Senzory

Jsou určeny pro měření koncentrace plynů.

1.3.1 CO₂ Gas Senzor

Senzor pro měření koncentrace CO₂. Čas potřebný k 95% přiblížení ke konečné hodnotě: cca 120 sekund (na začátku měření je třeba asi 90 sekund na zahřátí elektrody). Relativní vlhkost, při které přístroj může pracovat: 5 % až 95 % (5).

1.3.2 O₂ Gas Senzor

Senzor pro měření koncentrace O₂. Čas potřebný k 90% přiblížení ke konečné hodnotě: cca 12 sekund (měření probíhá na principu difúze, proto se naměřená hodnota asymptoticky blíží k hodnotě skutečné). Relativní vlhkost, při které přístroj může pracovat: 0 % až 95 %. Čidlo využívá elektrochemický článek tvořený olověnou anodou a zlatou katodou, které jsou ponořeny do elektrolytu.

DŮLEŽITÉ: čidlo je nutné uchovávat ve správné poloze (je vyznačeno na krabičce šipkou). Molekuly kyslíku se při průchodu tímto uspořádáním na katodě redukují a tato elektrochemická



reakce je zdrojem proudu, který je úměrný koncentraci kyslíkových molekul mezi elektrodami (6).

Elektrody a elektrolyt v senzoru se časem opotřebovávají, proto je vhodné čas od času dokalibrovat. Pro školní účely by měla stačit jednoduchá dvoubodová kalibrace. Klikneme na kalibrovat. Nulu vytvoříme tak, že špendlíkem stisknete fyzické tlačítko, které je schované v dírci s nápisem CAL pod logem Vernier přímo na senzoru. Držte tlačítko stisknuté, počkejte, až se ustálí hodnota napětí (typicky blízko nuly, třeba 0,1 V apod.) a pak napište hodnotu nula a klikněte na uchovat. Poté tlačítko uvolněte. Poté dejte senzor na chvíli někam na vzduch (ne do vydýchané třídy, nejlépe na zahradu nebo alespoň z okna, i když to není ideální) a až se hodnota napětí ustálí, vyplňte 20,9. Tím je kalibrace dokončena

1.4 Čítač kapek

Jeho princip fungování je analogický s principem vnitřní optické závory. Čítač obsahuje zdroj infračerveného paprsku (890 nm) a infračervený detektor. Je-li paprsek padající kapkou na okamžik přerušen, vyšle čítač impuls, který je rozhraním vyhodnocen jako průchod jedné kapky. Využívá se při titracích nebo k odměřování malých objemů odkapávající látky (7).

1.5 Go!Temp

Jedná se o čidlo pro měření teploty, teplotní čidlo s rozsahem -20 až 110 °C připojené rovnou k počítači přes USB port. Součástí produktu je i software Logger Lite (8).

1.6 Voltmetr do 30 V

Jedná se o jednoduchý voltmetr s rozsahem ± 30 V. Lze ho použít v nízkonapětových stejnosměrných i střídavých obvodech. Lze použít s rozhraním. Umožňuje měření s přesností do 15 mV (9).

1.7 Iontově selektivní elektrody

Sonda měří napětí mezi referenční elektrodou na bázi Ag/AgCl a snímací elektrodou, která obsahuje membránu z PVC. Tato membrána (v podstatě porézní plastový disk) je propustná pro selektivní ionty: dusičnanové nebo chloridové anionty, draselné, amonné nebo vápenaté kationty, nikoliv však pro vodu. Jak se mění počet selektivních iontů procházejících membránou ke snímací elektrodě, mění se také měřené napětí. Na základě toho vypočítává



připojené rozhraní koncentraci iontů v roztoku. Membrány iontově selektivních elektrod mají omezenou životnost. Hlavici s membránou lze vyměnit (10).

Čidla je nutné dvoubodově kalibrovat. Vysoký kalibrační bod – sondu je potřeba namočit do roztoku vysoké kalibrace alespoň 30 minut, zadat na dataloggeru hodnotu 1000, po cca 1 minutě, až se hodnota ustálí, potvrdit. Sondu vytáhnout z roztoku a pomocí stříčky důkladně opláchnout destilovanou vodou a osušit utěrkou. Nízký kalibrační bod – sondu vložte do standardního roztoku nízké kalibrace, na dataloggeru zadejte hodnotu 10 a po 1 minutě potvrďte. Sondu vytáhněte z roztoku, opláchněte destilovanou vodou a pak otřete papírovou utěrkou. Vlastní měření probíhá tak, že z připravené sondy odšroubujete lahvičku s roztokem pro uchování. Opláchněte sondu destilovanou vodou a jemně osušte papírovou utěrkou. Po měření opláchněte sondu destilovanou vodou, opatrně osušte papírovou utěrkou a vložte ji do lahvičky s houbičkou, která je určena pro dlouhodobé skladování sondy.

1.8 UVA a UVB senzor

Senzory obsahují silikonovou fotodiodu citlivou na UV záření, která vytváří proud, úměrný intenzitě dopadajícího záření.

Senzor dlouhovlnného ultrafialového záření (označovaného jako UVA) pracuje v rozsahu vlnových délek 320 – 390 nm, je nejcitlivější na vlnové délky v okolí 340 nm. Je méně škodlivé než záření UVB, není pro živé organismy zhoubné (11).

Senzor středněvlnného ultrafialového záření (označovaného jako UVB) pracuje v rozsahu vlnových délek cca 290 – 320 nm, je nejcitlivější na vlnové délky v okolí 315 nm. Při velkých intenzitách je zhoubné pro živé organismy – je totiž schopno rozkládat nebo narušovat bílkoviny či jiné životně důležité organické sloučeniny, poškozuje kůži a oči (12).

1.9 Luxmetr – čidlo intenzity světla

Čidlo reaguje na intenzitu světla obdobně jako lidské oko. Senzor využívá křemíkovou fotodiodu, která vytváří napětí úměrné intenzitě dopadajícího světla. Při měření lze využít tři měřicí rozsahy umožňující zkoumat osvětlení v širokém rozmezí světelných podmínek. Intenzita osvětlení se udává v luxech (lx). Pro měření při slabém osvětlení se využívá rozsahu 0–600 lx, pro měření v běžně osvětlených místnostech se využívá rozsahu 0–6000 lx, pro měření venku a za slunečního svitu se využívá rozsahu 0–150000 lx (13).



1.10 Kolorimetr

Je zařízení, které slouží v tzv. kolorimetrii k měření absorpance popř. transmitance na několika zcela konkrétních vlnových délkách. Kolorimetry se používají zejména k určování koncentrace s využitím tzv. Beerova-Lambertova zákona, podle kterého je koncentrace roztoku přímo úměrná absorbanci. Vlnové délky: 430 nm, 470 nm, 565 nm, 635 nm (14).

1.11 Nefelometr

Je zařízení, které slouží ke zkoumání zákalu vody. Obsahuje-li voda nerozpuštěné pevné částice, je procházející světlo pohlcováno a zároveň rozptýlováno, přičemž stupeň zákalu je ovlivňován jak velikostí a tvarem pevných částic, tak jejich poměrným zastoupením. Míra zákalu se obvykle udává v jednotkách NTU (Nephelometric Turbidity Units). Kyveta se zkoumanou kapalinou je prosvícena infračerveným paprskem, který se na částicích v kapalině rozptyluje do všech směrů. Pod úhlem 92° ke směru paprsku je umístěna citlivá fotodioda – detektor intenzity rozptýleného záření. Z množství rozptýleného světla je určena míra zákalu (15).

Typická míra zakalení:

- Deionizovaná voda 0,02 NTU
- Pitná voda 0,02 NTU až 0,5 NTU
- Povrchová voda 0,05 NTU až 10 NTU
- Odpadní/znečištěná voda 70 NTU až 2000 NTU

Kalibrace zákaloměru se provádí dvoubodově. 1. kalibrační bod získáme pomocí kyvety s obsahem standardu 100 NTU, kterou opatrně čtyřikrát překlápíme, aby došlo k promíchání částic. S kyvetou se nesmí třepat, protože vznikají bublinky, které ovlivňují měření. Kyvetu je nutno před vložením do zákaloměru otřít tak, aby značka na kyvetě směřovala ke značce na senzoru. Při manipulaci držíme kyvetu za víčko, zavřeme kryt a na dataloggeru zadáme hodnotu 100, pak kyvetu vyndáme. 2. kalibrační bod získáme pomocí kyvety naplněné destilovanou vodou stejným způsobem, zadáním hodnoty 0 na dataloggeru. Před měřením vždy vyplachujeme kyvetu roztokem, u kterého určujeme zákal (16).



1.12 Spektrofotometr – SpectroVis Plus

Přenosný spektrofotometr a fluorimetr slouží k měření absorbance, transmitance, fluorescence a emisního spektra (17). Používá se:

- k proměření absorpčního spektra různých roztoků (závislost absorpce na vlnové délce),
- ke studiu Beerova zákona (závislost absorpce na koncentraci zkoumaného roztoku)
- k proměření emisních spekter různých světelných zdrojů (LED, žárovky, výbojky, plamenové zkoušky)

Spektrometr může pracovat v několika režimech. Výchozí režim je měření tzv. absorbance. Tato veličina udává, jak mnoho světla bylo pohlceno měřeným vzorkem. Čím větší je hodnota absorbance na dané vlnové délce, tím více je světlo příslušné vlnové délky pohlcováno látkou, která je v kyvetě. Při měření absorbance vložíme kyvetu do šachty spektrometru. Vpravo od otvoru je označen zdroj bílého světla (bílé kolečko s paprsky). Světlo prosvítí kyvetu, přičemž jednotlivé vlnové délky jsou různou měrou pohlceny. Fotony pokračují do detektoru označeného bílým trojúhelníčkem. Detektor změří množství světla jednotlivých vlnových délek. Nejprve provedeme kalibrační měření s prázdnou kyvetou. Poté už lze měřit absorbanci pro jednotlivé vzorky.

Příprava spektrometru

1. Připojte k PC přes USB spektrometr.
2. V menu vyberte *Experiment > Kalibrovat > Spectrometer*.
3. Počkejte 90 sekund, než se světelný zdroj spektrometru nažhaví.
4. Vložte prázdnou kyvetu – dejte pozor na správné držení a umístění kyvety (vroubkované konce slouží k držení, dva protilehlé hladké k prosvěcování při měření absorbance).
5. Dokončete kalibraci.

Měření absorbance

1. Vložte do spektrometru kyvetu s lihem, pak postupně s extrakty rostlinných barviv, spusťte měření, několik sekund počkejte, než se hodnoty stabilizují, pak měření zastavte. Uchovejte měření pomocí menu *Experiment > Uchovat poslední měření*.
2. Opakujte krok 1 pro všechny koncentrace extraktů (18).



2 Sada Visocolor

Tyto soupravy jsou určeny pro orientační kolorimetrickou nebo odměrnou analýzu při zkoumání kvality vody. Díky kombinovaným reagentům se měření provádí zpravidla jen s jedním roztokem, což činí práci se soupravami jednoduchou a bezpečnou.

2.1 pH vzorku vody

pH – udává míru kyselosti a zásaditosti roztoků, je-li $\text{pH} < 7$ roztok je kyselý, je-li $\text{pH} > 7$ roztok je zásaditý.

Stanovení pH:

- Injekční stříkačkou odebereme do 2 zkumavek po 5 ml vody.
- Zkumavky dáme do komparátoru a přiložíme na barevnou stupnici (je součástí sady VISOCOLOR ECO pH).
- Do zkumavky B přidáme 4 kapky roztoku pH-1, zazátkujeme a promícháme.
- Zkumavky odzátkujeme, komparátorem posouváme po barevné kartě, dokud nedojde k vyrovnání barevných polí.
- Výsledek odečteme z číselné stupnice nad komparátorem.

2.2 Tvrdost vody

Tvrdost vody je vlastnost, která vyjadřuje obsah rozpuštěných nerostů (nejčastěji CaO a MgO) ve vodě. Tvrdost vody může být trvalá a přechodná. Trvalá tvrdost je způsobená rozpuštěnými chloridy, sulfidy, dusičnany a křemičitany. Přechodná tvrdost vody je způsobená hydrogenuhličitanem vápenatým nebo hořečnatým. Po jeho vysrážení vzniká uhličitán vápenatý, což je vodní kámen. Přechodnou tvrdost vody lze, na rozdíl od tvrdosti trvalé, odstranit varem. V českých zemích se tvrdost vody měřila v tzv. německých stupních, kde jeden stupeň odpovídá 10 mg CaO/litr nebo 7,2 mg MgO/litr. Podle současných norem se vyjadřuje jako suma vápníku a hořčíku v mmol/l. Tato norma však byla zavedena poměrně nedávno. 1 mmol/l odpovídá 5,61 německého stupně.

Stanovení celkové tvrdosti vody:

- Injekční stříkačkou odebereme 5 ml vody do zkumavky.
- Do zkumavky přikápneme 2 kapky GH-1 a promícháme:



- zbarví-li se roztok do zelena, voda není tvrdá a pokus končí.
- zbarví-li se roztok do červena, voda je tvrdá a pokračuji v pokusu.
- Je-li roztok zbarven dočervena, přikapáváme postupně po 1 kapce GH-2 a promícháváme až do zezelenání roztoku.
- Podle počtu přidávaných kapek GH-2 určíme celkovou tvrdost vody podle Tabulky 1.

Tabulka 1: Určení celkové a přechodné tvrdosti vody

°d (°dH) Německo = přidání kapky	°e (°Clark) [mmol/l] Anglie celková tvrdost vody	°F Francie	Ca ²⁺ + Mg ²⁺ [mmol/l]
1	1,3	1,8	0,18
2	2,5	3,6	0,36
3	3,8	5,4	0,54
4	5,0	7,1	0,71
5	6,3	8,9	0,89
6	7,5	10,7	1,07
7	8,8	12,5	1,25
8	10,0	14,3	1,43
9	11,3	16,1	1,61
10	12,5	17,8	1,78

Tabulka 2: Meze tvrdosti vody

Pitná voda	Ca ²⁺ + Mg ²⁺ [mmol/l]	°dH	°F
velmi tvrdá	>3,76	>21,01	>37,51
tvrdá	2,51-3,75	14,01-21	25,01-37,5
středně tvrdá	1,26-2,5	7,01-14	12,51-25
měkká	0,7-1,25	3,9-7	7-12,5
velmi měkká	<0,5	<2,8	<5

Stanovení přechodné tvrdosti vody:

- Injekční stříkačkou odebereme 5 ml vody do zkumavky.
- Do zkumavky přikapáme 2 kapky GH-1 a promícháme:
 - zbarví-li se roztok do červena, voda není tvrdá a pokus končí.
 - zbarví-li se roztok do modra, voda je tvrdá a pokračuji v pokusu.



- Je-li roztok zbarven do modra, přikapáváme postupně po 1 kapce GH-2 a promícháváme až do zčervenání roztoku.
- Podle počtu přidáných kapek GH-2 určíme přechodnou tvrdost vody podle tabulky.

2.3 Stanovení Fe^{2+}

Ve vodách se železo vyskytuje v oxidačním stupni II nebo III, přičemž forma výskytu rozpuštěného a nerozpuštěného železa závisí na hodnotě pH, oxidačně-redukčním potenciálu a složení vody. Oxidační stupeň II se vyskytuje v redukčním prostředí podzemních vod a v povrchových vodách u dna nádrží a jezer. Ve vodách obsahujících rozpuštěný kyslík je železo nejčastěji v oxidačním stupni III. Mezi hlavní rozpuštěné formy železa ve vodách patří (v závislosti na hodnotě pH): Fe^{3+} , $\text{Fe}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Fe}(\text{OH})_2^+$, $\text{Fe}(\text{OH})_3(\text{aq})$, $\text{Fe}(\text{OH})_4^-$.

Stanovení Fe^{2+} :

- Injekční stříkačkou odebereme do 2 zkumavek po 5 ml vody.
- Zkumavky dáme do komparátoru a přiložíme na barevnou stupnici (je součástí sady VISOCOLOR ECO Eisen 2).
- Do zkumavky B přidáme 4 kapky roztoku Fe-1, zazátkujeme a promícháme, pak přidáme 1 lžičku látky Fe-2, zazátkujeme a protřepeme, dokud se prášek nerozpustí.
- Po 7 minutách zkumavky odzátkujeme, komparátorem posouváme po barevné kartě, dokud nedojde k vyrovnání barevných polí. Střední hodnoty lze odhadnout.
- Výsledek odečteme z číselné stupnice nad komparátorem.
- Po použití důkladně vypláchněte zkumavky a uzavřete je.

Tabulka 3: Převodní tabulka pro výpočet koncentrace Fe^{2+} kationtů

mg/L Fe	mmol/m ³
0,04	0,7
0,07	1,3
0,10	1,8
0,15	2,7
0,20	3,6
0,30	5,4
0,50	9,0
1,0	18



2.4 Stanovení rozpuštěného kyslíku ve vodách

Jedná se o modifikovanou Winklerovu metodu. V alkalickém prostředí oxiduje rozpuštěný kyslík manganaté kationty na vyšší hydroxidy manganu. Okyselení vede k uvolňování manganitých kationtů, které reagují se speciálním činidlem, které tvoří tmavě červené barvivo.

Stanovení rozpuštěného kyslíku:

- Injekční stříkačkou odebereme do 2 zkumavek po 1 ml vody.
- Zkumavky dáme do komparátoru a přiložíme na barevnou stupnici (je součástí sady VISOCOLOR ECO Oxygen).
- Do zkumavky B přidáme 5 kapek roztoku O₂-1 a 5 kapek roztoku O₂-2, zazátkujeme a promícháme, zbavíme se vzduchových bublin.
- Po 1 minutě přidáme 12 kapek O₂-3, zazátkujeme a důkladně protřepeme.
- Nalijeme 1 ml výsledného reakčního roztoku do zkumavky B a vložíme do komparátoru. Komparátorem posouváme po barevné kartě, dokud nedojde k vyrovnání barevných polí. Střední hodnoty lze odhadnout.
- Výsledek odečteme z číselné stupnice nad komparátorem.
- Po použití důkladně vypláchněte zkumavky a uzavřete je.

2.5 Stanovení NO₃⁻

Dusičnany nejsou samy o sobě toxické, zčásti jsou však mikroflórou ústní dutiny, při některých infekcích i střevní mikroflórou, redukovány na toxické dusitany. Tato skutečnost může být významná při požití většího množství dusičnanů. Přijatelný denní příjem je 4–5 mg NO₃⁻/kg tělesné hmotnosti, přitom podíl příjmu NO₃⁻ pitnou představuje průměrně třetinu. Nejvyšší mezní hodnota NO₃⁻ v pitné vodě je 50 mg/l. Voda pro kojence může obsahovat jen do 15 mg NO₃⁻/l.

Stanovení dusičnanových iontů:

- Injekční stříkačkou nadávkuje do obou kyvet po 5 ml vzorku vody. Vložíme jednu z kyvet na pozici A komparátoru. Dále pracujeme jen s druhou kyvetou.
- Přidáme 5 kapek Nitrát-1, kyvetu uzavřeme a promícháme.



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



- Přidáme 1 malou zarovnanou lžičku Nitrat-2, kyvetu zase hned uzavřeme víčkem a 1 minutu silně třepeme.
- Počkáme 5 minut, pak kyvetu otevřeme a postavíme na pozici B komparátoru.
- Komparátor posuneme tak, aby při pohledu shora byly odstíny stejné. Na škále odečteme výsledek, mezihodnoty odhadněte.
- Po použití obsah kyvet není nebezpečný, lze jej vylít do výlevky. Kyvety umyjeme vodou, necháme z nich vykapat všechnu vodu, pak je uzavřeme.



3 Analýza vody

3.1 Tvrdost vody chelatometricky

Pomůcky: LabQuest 2, čidlo vodivosti Vernier CON-BTA, čítač kapek Vernier VDC-BTD, stojan, držák, křížová svorka, titrační baňka, lžička, pipeta, odměrný válec, stříčka s destilovanou vodou, byreta.

Chemikálie: odměrný roztok Chelatonu 3 o $c = 0,05 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (18,61 g do 1 dm^3), amoniakální tlumivý roztok (54 g NH_4Cl a 350 cm^3 koncentrovaného roztoku amoniaku se doplní destilovanou vodou na objem 1 dm^3), indikátor murexid (1 díl indikátoru:100 dílům chloridu sodného), indikátor eriochromová čern T (1 díl indikátoru:100 dílům chloridu sodného), roztok hydroxidu draselného o $c = 5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Materiál: minerální voda Magnesia.

Postup:

A. Stanovení $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$

1. Zapněte datalogger LabQuest 2.
2. Připojte čidlo vodivosti Vernier CON-BTA a čítač kapek Vernier VDC-BTD k dataloggeru – dojde k automatické detekci senzoru a přednastavení obvyklých parametrů měření.
3. Upevněte do stojanu byretu nad čítač kapek, zavřete její kohout a nalijte do ní 10 cm^3 roztoku Chelatonu 3. Do titrační baňky napipetujte přesně 3 cm^3 roztoku síranu hořečnatého, zřed'te 30 cm^3 demineralizované vody, přidejte na špičku lžičky indikátoru eriochromová čern T a 20 cm^3 amoniakálního tlumivého roztoku. Baňku umístěte pod stojan s byretou a pomalu přidávejte (za stálého míchání skleněnou tyčinkou nebo magnetickou míchačkou) z byrety roztok Chelatonu 3 do přechodu barvy indikátoru z vínové do modré. Následně doplňte byretu Chelatonem 3 na 0 cm^3 . Do titrační baňky s roztokem chelatonátu hořečnatého napipetujte 50 cm^3 vzorku a baňku umístěte zpět pod stojan s byretou. Zasuňte čidlo vodivosti Vernier CON-BTA do kruhového otvoru v těle čítače. Vnořte do kapaliny čidlo vodivosti Vernier CON-BTA a začněte míchat.
4. Upravte výšku čítače tak, aby byl konec čidla vodivosti ponořen do roztoku.
5. Měření spusťte tlačítkem s trojúhelníčkem v dolním levém okraji displeje a roztok míchejte skleněnou tyčinkou nebo magnetickou míchačkou.



6. Určete spotřebu odměrného roztoku v bodu ekvivalence: vínově červený roztok se změnění na modré zbarvení. Výsledek vyjádřete v milimolech (Ca^{2+} a Mg^{2+} obsažených v 1 dm^3 vody podle vztahu:

$$c_{\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}} = (V_{\text{Ch3}} \cdot c_{\text{Ch3}} / V_{\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}}) \cdot 1000 [\text{mmol} \cdot \text{dm}^{-3}]$$

V_{Ch3} – spotřeba odměrného Chelatonu 3 [cm^3]

c_{Ch3} – látková koncentrace Chelatonu 3 [$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$]

7. Sledujte, jak se do grafu zakresluje závislost vodivosti na objemu odkapaného vodného roztoku. Po odkapání veškeré látky ukončete měření tlačítkem se čtverečkem – zastavit v dolním levém okraji displeje (11).

Tabulka:

Titrace	1.	2.	3.	Průměrná spotřeba Chelatonu [ml]
Stanovení $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$				

Výpočet:

B. Stanovení iontů Ca^{2+}

1. Zapněte datalogger LabQuest 2.
2. Připojte čidlo vodivosti Vernier CON-BTA a čítač kapek Vernier VDC-BTD k dataloggeru – dojde k automatické detekci senzoru a přednastavení obvyklých parametrů měření.
3. Upevněte do stojanu byretu nad čítač kapek, zavřete její kohout a nalijte do ní 10 cm^3 roztoku Chelatonu 3. Pod stojan s byretou umístěte titrační baňku, odpipetujte do ní



50 cm³ vzorku minerální vody, 50 cm³ demineralizované vody, 3 cm³ roztoku hydroxidu draselného a na špičku lžičky indikátoru murexid. Zasuňte čidlo vodivosti Vernier CON-BTA do kruhového otvoru v těle čítače. Vnořte do kapaliny čidlo vodivosti Vernier CON-BTA a začněte míchat.

4. Upravte výšku čítače tak, aby byl konec čidla vodivosti ponořen do roztoku.
5. Měření spusťte tlačítkem s trojúhelníčkem v dolním levém okraji displeje a roztok míchejte skleněnou tyčinkou nebo magnetickou míchačkou.
6. Určete spotřebu odměrného roztoku v bodu ekvivalence: vínově červený roztok se změni na modré zbarvení. Výsledek vyjádřete v milimolech Ca²⁺ obsažených v 1 dm³ vody podle vztahu:

$$c_{\text{Ca}^{2+}} = (V_{\text{Ch3}} \cdot c_{\text{Ch3}} / V_{\text{Ca}^{2+}}) \cdot 1000 \text{ [mmol.dm}^{-3}\text{]}$$

V_{Ch3} – spotřeba odměrného Chelatonu 3 [cm³]

c_{Ch3} – látková koncentrace Chelatonu 3 [mol.dm⁻³]

$$d_{\text{Ca}^{2+}} = c_{\text{Ca}^{2+}} \cdot M_{\text{Ca}^{2+}} \text{ [mg.dm}^{-3}\text{]}$$

Tabulka:

Titrace	1.	2.	3.	Průměrná spotřeba Chelatonu [ml]
Stanovení Ca ²⁺				

Výpočet:



C. Stanovení iontů Mg^{2+}

Výpočet látkového množství hořčíku odečtením látkového množství Ca^{2+} od

látkového množství $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$

$$n_{\text{Mg}^{2+}} = n_{(\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+})} - n_{\text{Ca}^{2+}} \text{ (mmol)}$$

Výsledek vyjádřete v mg Mg^{2+} v 1 dm³ vzorku.

Výpočet:

3.2 Orientační rozlišení tvrdosti vody

Pomůcky: 4 odměrné zkumavky, stojan, 4 zátky.

Chemikálie: demineralizovaná voda, voda z vodovodu, voda z vodovodu přefiltrovaná přes uhlíkový filtr, převařená voda, minerální voda Magnesia, roztok mýdla v ethanolu (připravíme filtrační suspenzi 25 g nastrohaného mýdla rozpuštěného ve 300 cm³ ethanolu).

Poznámka: suspenzi mýdla je lepší připravit den dopředu, nechat sedimentovat, slít na druhý den a zbytek mýdla nechat na přípravu další suspenze.

Postup:

1. Do zkumavek nalijeme 10 cm³ vzorku vody a přidáme 10 kapek roztoku mýdla v ethanolu.
2. Zkumavky pevně zazátkujeme a najednou intenzivně protřepáváme po dobu asi 2 minut.



3. Podle výšky vytvořené pěny určíme tvrdost vody:

- Zpění-li celý obsah zkumavky → voda je měkká. (Čím vyšší hladina pěny, tím je voda měkčí).
- Objeví-li se náznak pěny → voda je středně tvrdá.
- Nevytvoří-li se pěna → voda je tvrdá.
- Vyvločkuje-li se vysrážené mýdlo → voda je velmi tvrdá.

Tabulka:

Vzorek vody	Stav po protřepání s mýdlovým roztokem	Meze tvrdosti
Magnesia		
Demineralizovaná voda		
Pitná voda		
Voda zfiltrovaná přes filtr Brita		

3.3 Stanovení vápenatých a hořečnatých iontů

Voda se v přírodě nikdy nevyskytuje čistá, obsahuje větší či menší množství rozpuštěných minerálních látek, které se do vody dostávají při průchodu horninami. Podle množství rozpuštěných Ca^{2+} a Mg^{2+} solí můžeme určit tzv. tvrdost vody.

Tvrdost vody se udává jako množství vápníku a hořčíku obsaženého ve vodě v mmol/l. Často se také tvrdost vody uvádí ve starších jednotkách německé stupně °N nebo °dN, °dH(1mmol/l; 5,6 °N) nebo francouzské stupně °F (1 mmol/l = 10 °F).

Podle množství rozpuštěných Ca^{2+} a Mg^{2+} solí rozlišujeme vodu:

Velmi měkká	0 – 0,7 mmol/l
Měkká	0,7 – 1,3 mmol/l
Středně tvrdá	1,3 – 2,1 mmol/l
Dostí tvrdá	2,1 – 3,2 mmol/l
Tvrdá	3,2 – 5,3 mmol/l
Velmi tvrdá	> 5,3 mmol/l



Pomůcky: LabQuest 2, sonda vápenatých iontů Vernier CA-BTA, stříčka s destilovanou vodou, sada Visicolor (celková tvrdost vody a přechodná tvrdost vody).

Materiál: demineralizovaná voda, voda z vodovodu, voda z vodovodu přefiltrovaná přes uhlíkový filtr, minerální voda Magnesia.

Tabulka:

Vzorek vody	Celková tvrdost $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ [mmol/l]	Přechodná tvrdost $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ [mmol/l]	Meze tvrdosti
Magnesia			
Demineralizovaná voda			
Pitná voda			
Voda zfiltrovaná přes filtr Brita			

3.4 Zákal vody

Zákal vody může být přírodní – způsobený jílovými materiály, oxidy železa, manganu, fytoplanktonem atd., nebo umělý, který je způsobený činností člověka. Podzemní vody bývají zakalené zřídka, povrchové vody bývají často zakalené splachem půdy, živými organismy nebo zvířenými usazeninami (16). Míra zákalu se udává v jednotkách NTU (*Nephelometric Turbidity Units*).

Pomůcky: bílá čtecí podložka s 3 mm černým písmem, milimetrové měřítko, odměrný válec, LabQuest 2, zákaloměr TRB-BTA, kádinky, filtrační aparatura

Materiál: destilovaná voda, voda z vodovodu, voda z vodovodu přefiltrovaná přes uhlíkový filtr, převařená voda, minerální voda Magnesia, vzorek vody z rybníku, vzorky cca 250 ml pro 1 měření.

Postup:

1. Ve vzorku pozorujeme průhlednost ve vysoké úzké litrové kádince, pod kterou položíme bílý papír s černým písmem. Do kádinky postupně naléváme promíchaný vzorek až do té doby, kdy se písmena stanou nečitelnými. Změřená výška sloupce vody je měřítkem pozorování znečištění oproti destilované vodě.



2. Pozorujeme zákal vody, který je způsoben obsahem nerozpuštěných solí nebo koloidně nerozpuštěných látek organického i anorganického původu a je příčinou i barevnosti.
3. Experimentálně můžeme stanovit zákal pomocí zákaloměru RBT-NTU poté, co zákaloměr nakalibrujeme.
4. Láhev se vzorkem vody několikrát opatrně překlápíme, aby došlo k promíchání částic.
5. Kyvetu propláchneme vzorkem vody a naplníme vzorkem vody po rysku. Zašroubujeme víčko, kyvetu otřeme, vložíme do zákaloměru šipkami k sobě, zavřeme kryt.
6. Změříme hodnotu zákalu.

3.5 Měření pH vody

Pomůcky: zkumavky, kapátko, univerzální pH papírek, LabQuest 2, pH senzor Vernier PH-BTA, sada Visicolor.

Materiál: demineralizovaná voda, voda z vodovodu, voda z vodovodu přefiltrovaná přes uhlíkový filtr, převařená voda, minerální voda Magnesia, vzorek vody z rybníka.

Postup:

1. Z odběrové lahve odlijeme asi 3 cm³ vzorku vody do zkumavky.
2. Určíme pH vody srovnáním zbarvení papírku s barevnou stupnicí.
3. Porovnáme naměřenou hodnotu pH vzorku vody s údaji v tabulce a zapíšeme do závěru.
4. Přesnost měření pomocí univerzálního papírku srovnáme s výsledky měření pomocí sady Visicolor a pH senzoru Vernier.



Tabulka:

pH	Charakteristika vzorku	pH	Charakteristika vzorku
do 4,0	extrémně kyselý	7,5 – 8,7	slabě zásaditý
4,1 - 4,5	silně kyselý	8,8 – 9,4	zásaditý
4,6 – 5,2	kyselý	9,5 – 9,9	silně zásaditý
5,3 – 6,5	slabě kyselý	nad 10	extrémně zásaditý
6,6 -7,4	skoro neutrální		

Tabulka:

Vzorek vody	Vernier PH-BTA	Visocolor	pH-papírek
Magnesia			
Demineralizovaná voda			
Pitná voda			
Voda zfiltrovaná přes filtr Brita			

3.6 Zjišťování vybraných iontů

Pomůcky: zkumavky, stojan, zátky, odměrný válec, LabQuest 2, sonda vápenatých kationtů Vernier CA-BTA, sonda chloridových aniontů Vernier Cl-BTA, sonda dusičnanových aniontů NO₃-BTA, stříčka s destilovanou vodou, sada Visocolor (Fe³⁺, Cl⁻, NO₃⁻).

Chemikálie: 10% kyselina chlorovodíková, 10% kyselina dusičná, 10% chlorid železitý, 2% dusičnan stříbrný, 4% hexakynoželezitan draselný

Materiál: vzorek rezavé pitné vody.



Postup:

1. Kvalitativní důkaz:
 - a. Chloridových aniontů – do zkumavky odměříme 5 cm³ vzorku vody a vyučující vám do ní přidá asi 1 cm³ kyseliny dusičné a 5 až 10 kapek dusičnanu stříbrného.
 - b. Železitých kationtů – do zkumavky nalijeme asi 10 cm³ vzorku vody, přidáme 1 cm³ kyseliny chlorovodíkové a 1 cm³ červené krevní soli.
2. Kvantitativní stanovení vybraných kationtů a aniontů provedeme pomocí čidel Vernier a sady Visocolor.

Tabulka:

Vzorek vody	Kvalitativní důkaz		Kvantitativní stanovení				
	Cl ⁻	Fe ³⁺	Visocolor		Vernier		
			Cl ⁻	Fe ³⁺	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	Fe ³⁺
Rezavá pitná voda							

3.7 Jednoduché stanovení kvality vody

Pomůcky: zkumavky, Aqua-Quick-Test-eSHa

Materiál: demineralizovaná voda, voda z vodovodu, voda z vodovodu přefiltrovaná přes uhlíkový filtr, převařená voda, minerální voda Magnesia, vzorek vody z rybníka.

Postup:

1. Z odběrové lahve odlijeme asi 10 cm³ vzorku vody do zkumavky.
2. Ponoříme proužek na jednu sekundu do vody, aby všechny zkušební čtverečky byly smočené.
3. Jemně setřeseeme zbytek vody z testovacího proužku jedním rychlým trhnutím.
4. Počkáme 60 sekund, aby se voda zcela vsákla do proužku.
5. Porovnáme zbarvení testovacího proužku s barevnou stupnicí na krabičce.
6. Zapišeme si zjištěné hodnoty.



Tabulka:

Vzorek vody	Celková tvrdost vody GH [°dH]	Uhličitánová tvrdost vody KH [°dH]	Dusitany [mg/l]	Dusičnany [mg/l]	Chlór [mg/l]	pH
Magnesia						
Demineralizovaná voda						
Pitná voda						
Voda zfiltrovaná přes filtr Brita						



4 Fotosyntéza

4.1 Asimilace a disimilace

Pomůcky: LabQuest 2, O₂ Gas Senzor Vernier O₂-BTA, plastová nádobka dodávaná společně s čidlem, černá látka.

Materiál: čerstvě utržené (nezvadlé) zelené listy rostlin.

Postup:

1. Připojte čidlo O₂ Gas Senzor Vernier O₂-BTA k LabQuest 2.
2. Vyberte v menu *Experiment* → *Sběr Dat*. Natavte dobu měření na 1200 sekund a potvrďte tlačítkem *Hotovo*.
3. Plastovou nádobku naplňte zelenými listy rostlin.
4. Umístěte nádobku tak, aby na ni dopadaly sluneční paprsky (nejlépe za okno).
5. Spust'te měření. Koncentrace kyslíku by se měla začít pozvolna zvyšovat.
6. Po deseti minutách měření zakryjte nádobku tmavou látkou tak, aby skrz ni naopak žádné světlo k listům nepronikalo. Znovu deset minut vyčkejte.

4.2 Fotosyntetické pigmenty

Téměř všechny živé organismy na Zemi (s výjimkou např. chemolithotrofních bakterií) využívají ve svých metabolických procesech chemickou energii, která byla původně přeměněna z energie světelného záření fotoautotrofními organismy, např. sinicemi, řasami nebo zelenými rostlinami, v procesu fotosyntézy. Z hlediska života na Zemi jsou tedy fotosyntetické pigmenty a mezi nimi zvláště chlorofyly jednou z klíčových molekul.

Fotosyntetické pigmenty se u zelených řas a rostlin vyskytují v tylakoidních membránách chloroplastů ve formě pigment-proteinových komplexů – fotosystémů. Rozlišují se dvě skupiny barviv: zelené chlorofyly a žluto-oranžovo-červené karotenoidy (19). Jejich obsah a složení je důležitým ukazatelem stavu fotosyntetického aparátu, závisí na druhu rostliny, stáří asimilačních orgánů, minerální výživě a také podmínkách růstu (rozdíl mezi stinnými a slunnými listy).

Pro experiment byly použity rostliny ječmene jarního (*Hordeum vulgare* L.cv.*Bonus*), a to divoký typ (*wild type*; WT). Tyto rostliny byly vysázeny do agroperlitu a pravidelně zalévány destilovanou vodou nebo hořčnatým či vápenatým hnojivem. Po 14 dnech byl proveden sběr



a 200 mg čerstvé hmoty bylo převedeno do zkumavky s technickým lihem/biolihem o objemu 10 ml. Po 24 hodinách bylo provedeno měření.

Pomůcky: LabQuest 2, Kolorimetr COL-BTA, SpectroVis Plus (Go Direct SpectroVis) kyvety (kyveta spektrofotometrická, plastová; 4,5 ml, UV, PMMA – polymethylmetakrylát, dodavatel např. Merci s.r.o. ČR, <http://www.mercishop.cz/zbozi/z1331850303102-kyveta-spektrofotometricka-plastova-45-ml-uv-pmma/> (otevřeno 16. 1. 2019), odměrné zkumavky

Chemikálie: technický líh/ biolih

Materiál: ječmen jarní (*Hordeum vulgare* L.cv.Bonus)

Postup:

1. Připravte si 10 kyvet, které budete používat i dále (kap. 7), a označte je následovně: B – blank (pro biolih), K – kontrola (biolihový extrakt z ječmene zalévaného destilovanou vodou), 1 – vzorek (biolihový extrakt z ječmene zalévaného 1% roztokem Ca^{2+}), 2 – vzorek (biolihový extrakt z ječmene zalévaného 0,75% roztokem Ca^{2+}), 3 – vzorek (biolihový extrakt z ječmene zalévaného 0,5% roztokem Ca^{2+}), 4 – vzorek (biolihový extrakt z ječmene zalévaného 0,25% roztokem Ca^{2+}), 5 – vzorek (biolihový extrakt z ječmene zalévaného 1% roztokem Mg^{2+}), 6 – vzorek (biolihový extrakt z ječmene zalévaného 0,75% roztokem Mg^{2+}), 7 – vzorek (biolihový extrakt z ječmene zalévaného 0,5% roztokem Mg^{2+}), 8 – vzorek (biolihový extrakt z ječmene zalévaného 0,25% roztokem Mg^{2+}).
2. Zjistěte navážky rostlinného materiálu a objemy biolihových extraktů, zaznamenejte.
3. Seznamte se s obsluhou přístroje SpectroVis Plus, Kolorimetr COL-BTA a příslušným softwarem.
4. Při vlastním měření postupujte u měření pomocí SpectroVis Plus následovně: a/ blank – s prázdným kyvetovým prostorem změřte absorpční spektrum – nulová linie (baseline), b/ do kyvetového prostoru vložte prázdnou kyvetu B – změřte absorpční spektrum kyvety, c/ kyvetu B naplňte biolihem (**0,5 cm pod horní okraj, plnění platí pro všechny kyvety !**) – změřte absorpční spektrum biolihu (Toto abs. spektrum bude pro další měření jako blank !), d/ proveďte proceduru „blank“, e/ do kyvetového prostoru postupně vkládejte kyvety označené K a 1 – 8, měřte absorpční spektra, která uložte.



5. Absorpční spektra porovnejte a zhodnoťte vliv vápenatých a hořečnatých iontů na extrahovatelnost fotosyntetických pigmentů.

Z absorpčních spekter odečtete absorbance při vlnových délkách: 430 nm, 470 nm, 565 nm, 635 nm (resp. 645 nm a 665 nm), zaznamenejte do tabulky, porovnejte s měřením pomocí COL-BTA. Pro srovnání využijte libovolný extrakt o konkrétní koncentraci roztoku zálivky.

6. Podobné měření budete provádět v kap. 7. Výsledky měření pomocí čidel Vernier s měřením na UV-VIS porovnáte v kap. 8.

Tabulka:

VZOREK EXTRAKTU BARVIV Z JEČMENE, KTERÝ BYL ZALÉVANÝ.....		
Vlnová délka	SpectroVis Plus	COL-BTA
$\lambda = 430 \text{ nm}$		
$\lambda = 470 \text{ nm}$		
$\lambda = 565 \text{ nm}$		
$\lambda = 635 \text{ nm}$		

4.3 Rozdělení listových barviv pomocí tenkovrstvé chromatografie

Pomůcky: třecí miska, nálevka, kádinka, filtrační papír, Silufol, široké zkumavky, zátky.

Chemikálie: aceton, uhličitán hořečnatý, benzin : isopropanol : voda (100:10:0,25)

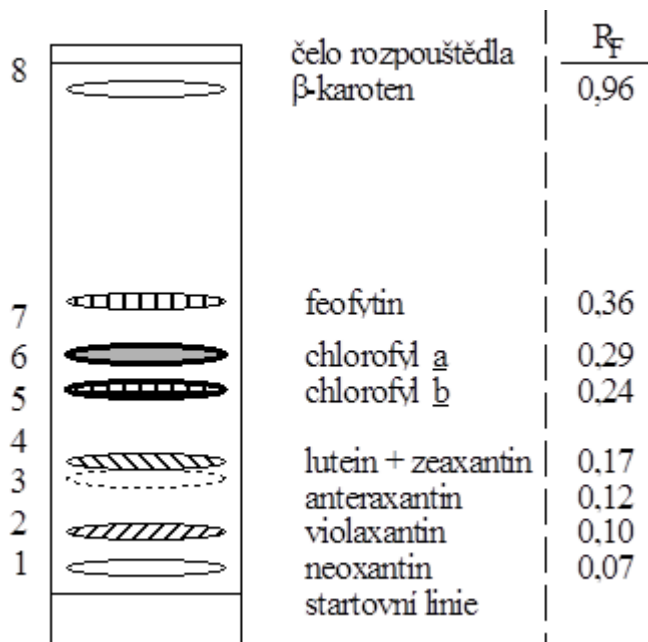
Materiál: čerstvé listy ječmene jarního (*Hordeum vulgare L.cv.Bonus*)

Postup:

1. Přibližně 0,4 g čerstvých listů ječmene rozstříhaných na malé kousky homogenizujeme v třecí misce se špetkou uhličitánu hořečnatého a s cca 1-2 ml acetonu (20).
2. Po vytvoření husté suspenze roztok zfiltrujeme do kádinky. Roztok musí být tmavě zbarven.
3. Chromatografii provádíme na pruhu Silufolu o šířce 3-4 cm. Asi 2 cm od okraje pruhu naznačíme tužkou start. Na tuto čáru naneseeme roztok listových barviv v podobě dvou



- paralelních skvrn o tloušťce < 5 mm. Roztok nanášíme opakovaně (3x-5x), aby byla látka dostatečně koncentrovaná (21).
4. Folii umístíme do široké zkumavky tak, aby byla asi půl centimetru ponořena do směsi rozpouštědel.
 5. Zkumavky zazátkujeme (zátky nesmí být upevněny příliš pevně, pouze jemně přiložena) a směs rozpouštědel necháme vzlínat do 4/5 výšky folie.
 6. Vyjmeme chromatogram, označíme čelo chromatogramu a jednotlivé skvrny.
 7. Vypočítáme retardační faktory jednotlivých rostlinných barviv.
 8. Na zbylé části chromatogramu obkreslíme jednotlivé barevné zóny tužkou a silikagel pomocí kopistky seškrábeme do malé zkumavky s 1 ml biolihu.
 9. Po odstředění suspenze vyškrábaného silikagelu s jednotlivými pigmenty v biolihu (5 minut při 7 000g změříte absorpční spektrum eluovaných pigmentů ve viditelné oblasti (350 - 750 nm) na dvoupaprskovém spektrofotometru. Určíte vlnové délky maxim a minim a identifikujte jednotlivé pigmenty.



Obrázek 1: Lokalizace listových barviv po rozdělení TLC na vrstvě silikagelu Silufol UV 254 v soustavě benzin/isopropanol/voda (100 : 10 : 0,25)

R_F poměr vzdáleností středu skvrny od startu a vzdálenosti čela rozpouštědla od startu.



Tabulka 4: Vlnové délky absorpčních maxim sledovaných pigmentů v 80% acetonu

Barvivo	$\lambda_{\max}$ [nm]
Chlorofyl a	436; 663
Chlorofyl b	460; 646
Feofytin a	667
Violaxantin	436
Lutein	460; 490
Neoxantin	436
β -karoten	460; 490



5 Otevřené bádání

5.1 Zachraň skladníka

V nedalekém skladu nápojů došlo k děsivé katastrofě. Do všech barelů s nápoji se dostalo aktivní uhlí a odbarvilo je. Když to ráno skladník zjistil, zježily se mu hrůzou vlasy na hlavě! „Jak teď poznám, co je co? Oni mě určitě vyhodí!“ bědoval. Naštěstí jej zaslechl mladý hrdinný chemik, který měl u sebe graf s pH všech nápojů ve skladu. Pomůžeš nešťastnému skladníkovi a hrdinnému chemikovi rozlišit nápoje?

Pomůcky: LabQuest 2, pH senzor Vernier PH-BTA, sada Visocolor, směsný indikátor, univerzální indikátor, stříčka s destilovanou vodou.

Materiál: neznámé odbarvené vzorky 1–5 (pivo, coca-cola, víno, voda se šumivou tabletou, voda korunní).

5.2 Rychlost chemické reakce

V běžném životě se setkáváme s chemickými ději, které probíhají různou rychlostí (koroze, kvašení, neutralizace). Zkuste navrhnout, co nejvíce pokusů a dokázat, které faktory ovlivňují rychlost chemické reakce.

Pomůcky: LabQuest 2, O₂ Gas Senzor Vernier O₂-BTA, CO₂ Gas Senzor Vernier CO₂-BTA, teploměr Vernier Go! Temp, pH senzor Vernier PH-BTA, stříčka s destilovanou vodou.

Chemikálie: peroxid vodíku, kyselina octová (8% roztok), jedlá soda, soda.

Materiál: kvasnice, mrkev, jablko, citron, křída.



5.3 Opalovací krém a ochrana proti UV záření

Na povrch Země přichází ze Slunce nejen viditelné světlo a infračervené záření, ale také záření ultrafialové (UV). UV záření má negativní účinky, jako jsou spálení kůže, vrásky a riziko vzniku kožních nádorů, ale i pozitivní účinky. Za pomoci ultrafialových paprsků UVB kůže vytváří vitamin D3, důležitý pro naše kosti, ale k tomu je potřeba jen malá dávka – 15 minut na slunci denně.

UVA záření poškozuje kůži v hloubce. Vysoká koncentrace UVA záření přispívá ke vzniku kožních karcinomů, což se považuje za jednu z příčin jejich nárůstu.

UVB záření opálí kůži a je příčinou jejího spálení. Pokud je dávka UVB záření příliš velká, dojde ke spálení kůže, což se projeví jejím zarudnutím. Poté záleží na opravných schopnostech buněk, zda poškození zvládnou. Z dlouhodobého hlediska to může vést ke změnám genetického materiálu, k chronickému poškození, k přednádorovým stavům i k vlastním kožním zhoubným nádorům (22).

Pomůcky: LabQuest 2, čidlo ultrafialového záření UVB-BTA, čidlo ultrafialového záření UVA-BTA, zdroj UV záření, podložní sklo (sklo 5x5 cm), opalovací krémy s různými ochrannými faktory, stojan, svorka, držák.

Postup:

1. Připojte čidlo ultrafialového záření UVB-BTA k LabQuest 2 a zafixujte čidlo tak, aby na jeho měřicí hlavu dopadaly sluneční paprsky (aby mířilo na Slunce nebo na UV lampu).
2. Na sklo namažte tenkou vrstvu opalovacího krému.
3. Přiložte před měřicí hlavu čidla sklo – nejdříve čisté neošetřené krémem, pak sklo namazané krémem.
4. Stejně měření proveďte s čidlem ultrafialového záření UVA-BTA.



Tabulka:

Zdroj UV lampa	Intenzita UVA záření [W/m²]	Intenzita UVB záření [W/m²]
Stínění sklem		
Stínění sklem s opalovacím krémem..... OF=		
Stínění sklem s opalovacím krémem..... OF=		
Stínění sklem s opalovacím krémem..... OF=		
Stínění sklem s opalovacím krémem..... OF=		

5.4 Galvanický článek

Pomůcky: LabQuest 2, jednoduchý voltmetr Vernier 30V-BTA, vodiče s krokosvorkami, filtrační papír, krabičky od mléčné rýže nebo od jogurtu Danone Fantazie.

Chemikálie: síran měďnatý, síran železnatý, dusičnan draselný

Materiál: železné hřebíky, pozinkované hřebíky, měděné hřebíky, citron, jablko, okurka.

Úkol: Sestavte galvanický článek, který vyrobí nejvyšší napětí.



6 Metoda AAS

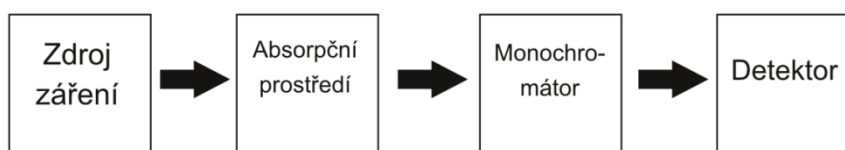
6.1 Základy metody AAS

Metoda atomové absorpční spektrometrie (AAS) se řadí mezi spektrální instrumentální analytické metody. Je založena na absorpci vhodného elektromagnetického záření volnými atomy analytu. Tuto metodu lze využít ke stanovení koncentrace cca 60 různých prvků v různých vzorcích. Velmi často se využívá pro stanovení koncentrací iontů kovů v přírodních vzorcích (vody, půdy) ale také ve vzorcích antropogenního původu (odpady, kaly). Vzorek musí být vždy v kapalném stavu, pevné vzorky je proto potřeba před analýzou metodou AAS převést do roztoku (udělat výluh nebo vzorek kompletně rozložit).

Základní součásti spektrometru jsou uvedeny v blokovém schématu na Obr. 2. Vzhledem k tomu, že se u AAS jedná o absorpční spektrometrii, kde dochází k absorpci elektromagnetického záření, musí být součástí přístroje zdroj tohoto záření. V případě AAS je tímto zdrojem katodová výbojka, kde katoda je vyrobena z prvku, který má být stanovován. Takováto výbojka vyzařuje přesně to záření, které je daný prvek ve vzorku schopen absorbovat, přičemž každý prvek je schopen absorbovat více vlnových délek. Existují jednoprvkové výbojky (vyrobené jen z jednoho prvku), ale také tzv. multilampy – výbojky vyrobené ze slitin, s nimiž lze analyzovat více prvků. Záření ze zdroje se vede optikou do absorpčního prostředí. U AAS musí být vzorek ve stavu volných atomů, je tedy nutné nejdříve odstranit rozpouštědlo (nejčastěji voda), rozbít vazby ve sloučeninách a vytvořit tak mrak atomů. Tomuto procesu se říká atomizace a probíhá v atomizátorech. Atomizátor může být plamenový nebo elektrotermický. Plamenový atomizátor představuje chemický plamen, nejčastěji tvořený hořící směsí acetylénu a vzduchu. Tento typ plamene lze využít pro atomizaci většiny prvků, pro atomizaci velmi odolných prvků (wolfram apod.) však jeho teplota nedostačuje, proto se musí místo vzduchu použít jako okysličovadlo oxid dusný. Vzorek je do atomizátoru kontinuálně nasáván kapilárou, v atomizátoru je zmlžován a zaváděn do plamene. Elektrotermická atomizace je založena na dávkování malého množství vzorku do grafitové kyvety, která je průchodem elektrického proudu zahřáta na vysokou teplotu. Elektrotermická atomizace je vhodná také pro stanovení těkavých prvků (např. rtuť), které na plamenu analyzovat nelze. Přístroje s elektrotermickou atomizací jsou také mnohem citlivější (lze stanovit mnohem nižší koncentrace prvků) v porovnání s přístroji s plamenovou atomizací. Atomy ve volném stavu



jsou schopné absorbovat část záření z katodové výbojky, čímž dojde k zeslabení intenzity tohoto záření. Toto záření je pak dále vedeno na monochromátor, což je optický rozkladný prvek, kterým lze vybrat vlnovou délku, na níž se bude provádět stanovení. Záření po průchodu monochromátorem dopadá na detektor, který mění intenzitu záření na elektrický signál, který je dále zpracováván v počítači. Míra zeslabení (absorpce) záření vzorkem se nazývá absorbance a je přímo úměrná koncentraci daného prvku ve vzorku (25).



Obrázek 2: Blokové schéma spektrometru

6.2 Stanovení Ca^{2+} a Mg^{2+} metodou AAS

Přírodní vody vždy obsahují určité množství rozpuštěných látek, přičemž kationty vápenaté a hořečnaté patří k nejčastěji se vyskytujícím (patří mezi tzv. makroprvky). Obsah rozpuštěných vápenatých a hořečnatých iontů představuje ukazatel tzv. tvrdosti vody. Obsah těchto prvků ovlivňuje vlastnosti vody a také její použitelnost pro průmyslové účely. Obsahy uvedených prvků lze stanovit různými metodami (titračně, elektroanalyticky) a především metodou AAS. Metodou AAS však lze stanovit jen celkový obsah daného iontu, nelze rozlišit jednotlivé oxidační stupně, proto budete stanovovat celkové obsahy vápenatých a hořečnatých iontů v roztoku. Koncentrace makroprvků ve vodách jsou relativně vysoké, vhodnější pro stanovení tedy je technika s plamenovou atomizací, kterou budete používat. Stanovení se nejčastěji provádí metodou kalibrační křivky, kdy se připraví sada roztoků o známých koncentracích, naměří se jejich absorbance a změřenými body se matematicky proloží vhodná křivka (často přímka). Pomocí této křivky lze následně z naměřené absorbance vzorku vypočítat jeho koncentraci (26).

Pomůcky: atomový absorpční spektrometr Varian AA240FS, odměrné baňky, pipety

Chemikálie: kalibrační roztoky obsahující Ca a Mg ředící voda (demineralizovaná voda s malým množstvím HNO_3), vzorky vod

Postup:

1. Seznamte se s přístrojem a ovládáním softwaru.



2. Ředěním standardů si připravte si kalibrační roztoky.
3. Proved'te zapálení plamene a nechejte hořák 3 – 5 minut prohřát.
4. Nastavte si názvy jednotlivých vzorků.
5. Spus'te v softwaru analytickou sekvenci a řiďte se pokyny na obrazovce. Nejprve proměříte kalibrační roztoky a pak postupně vzorky. Na výzvu softwaru vložte kapiláru do daného roztoku, klepnete na „Read“ a ponechejte kapiláru ve vzorku, dokud se nezobrazí na obrazovce výzva k jeho výměně. Následně vytáhněte kapiláru z roztoku a na chvíli ji vložte do ředící vody. Poté ji vložte do dalšího vzorku a opět klepnete na „Read“.
6. Po analýze posledního vzorku umístěte kapiláru do ředící vody a nechejte ji cca. 2 minuty prosávat, aby se celý systém pročistil.
7. Zapište si naměřené výsledky do tabulky a proved'te potřebné výpočty pro doplnění tabulky.



Vzorek		Obsah (mg/L)	Obsah (mmol/L)	Tvrdość vody (mmol/L)	Tvrdość vody (°dH)
1	Ca				
	Mg				
2	Ca				
	Mg				
3	Ca				
	Mg				
4	Ca				
	Mg				
5	Ca				
	Mg				



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



Slovní označení
Velmi měkká Měkká Středně tvrdá Tvrdá Velmi tvrdá
Velmi měkká Měkká Středně tvrdá Tvrdá Velmi tvrdá
Velmi měkká Měkká Středně tvrdá Tvrdá Velmi tvrdá
Velmi měkká Měkká Středně tvrdá Tvrdá Velmi tvrdá



7 Metoda UV-VIS

7.1 Základy metody UV-VIS

Podstatou ultrafialové a viditelné (UV-VIS) spektrometrie je absorpce ultrafialového a viditelného záření (nejčastěji v rozmezí vlnových délek 200 – 800 nm, u lepších přístrojů 190 – 1100 nm) zředěnými roztoky molekul (23). Při průchodu optického záření absorbujícím prostředím dochází ke snižování jeho intenzity. Velikost útlumu monochromatické vlny o frekvenci ν (o vlnové délce λ) se nejčastěji charakterizuje prostřednictvím **absorbance** $A(\lambda)$ dle Lambert-Beerova zákona. Množství absorbované radiace je úměrné množství absorbujících molekul a tloušťce (délce) dráhy absorbujícího prostředí (x). **Lambertova-Beerova zákona:**

$$A(\lambda) = \varepsilon(\lambda) C x .$$

Nebo (pro úplnost):

$$- \log I_{\nu}(\lambda)/I_0(\lambda) = A(\lambda) = \varepsilon(\lambda) C x$$

Ve skutečnosti měříme poměr intenzit elektromagnetického záření ($I_{\nu}(\lambda)/I_0(\lambda)$) tedy propustnost (transmitanci $T(\lambda)$) a absorbanci $A(\lambda)$ dopočítáváme.

Poznámka: Lambert-Beerův zákon byl pojmenován po dvou vědcích, kteří se jmenovali Johann Heinrich Lambert (1728-1777) a August Beer (1825-1863). Tento zákon vyjadřuje korelaci mezi absorbancí (A), délkou dráhy absorbujícího prostředí (x , v centimetrech) a koncentrací absorbující látky (C , v mol l^{-1}). Konstantou úměrnosti je molární absorpční koeficient ($\varepsilon(\lambda)$, v $\text{l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Absorbance i molární absorpční koeficient jsou funkcí vlnové délky, a tudíž i frekvence (ν) resp. vlnové délky λ .

Vztah mezi absorbancí (Absorbance, A , rel. j.) a propustností (Transmittance, T , %):

$A = -\log T$. Např. $T = 10\%$ pak $A = 1$ (ze 100 fotonů projde – je detekováno 10), $T = 1\%$, pak $A = 2$, $T = 0,01\%$, 4 pak $A = 4$ (z 10000 fotonů projde – je detekován 1!) (25).

Zařízení pro měření absorpčních spekter (závislost absorbance A na vlnové délce λ) se nazývají fotometry (pro úzký interval vlnových délek) (26-29) nebo spektrofotometry (pro výše zmíněné rozmezí vlnových délek). Spektrofotometry bývají vybaveny halogenovou žárovkou a deuteriovou výbojkou (zdroj elektromagnetického záření v UV-VIS) a fotonásobičem, fotodiodou nebo u posledních nedávných novinek detektorem s diodovým polem (PDA). Výhodou naposled zmíněných je možnost zaznamenat absorpční spektra v celém rozsahu vlnových délek „najednou“ (doba trvání záznamu celého spektra 1 sekunda), odpadá nevýhoda



mechanických součástí pohybující monochromátorem a přibývá možnost měření s otevřeným (!) kyvetovým prostorem. Takovým přístrojem je např. UV-VIS Spektrofotometr Cary 8454 (Agilent Technologies, HPST, s. r. o., ČR) (Obr. XXX) s příslušným softwarem ChemStation B.05.02 (Agilent Technologies, HPST, s. r. o., ČR).



Obrázek 3: Spektrofotometr Cary 8454 UV/Vis (Agilent Technologies) s otevřeným vzorkovým prostorem [UV/VIS spektrofotometry: Agilent Cary 8454. HPST [online]. [cit. 2019-01-15]. Dostupné z: <http://hpst.cz/analyticka-chemie/uvvis-spektrofotometry/agilent-cary-8454>].

UV-VIS spektrofotometrie se využívá hlavně pro kvantitativní stanovení známé látky o známé hodnotě molárního absorpčního koeficientu $\epsilon(\lambda)$ nebo metodou kalibrační křivky. Kvalitativní stanovení je obtížné, ne-li nemožné a tato metoda musí být doplněna jinými, např. infračervená spektrometrie, nukleární magnetická rezonance, hmotnostní spektrometrie.

7.2 Stanovení fotosyntetických barviv

Příkladem kvantitativního stanovení fotosyntetických pigmentů (chlorofylů a karotenoidů) může být publikace Lichtenthaler (30).

Pro stanovení koncentrace ($\mu\text{g/ml}$ extraktu) v etanolu (95%, v/v) Lichtenthaler uvádí:

$$\text{Chlorofyl a (Chla)} = 13,36 \cdot A_{664,2} - 5,19 \cdot A_{648,6}$$

$$\text{Chlorofyl b (Chlb)} = 27,43 \cdot A_{648,6} - 8,12 \cdot A_{664,2}$$

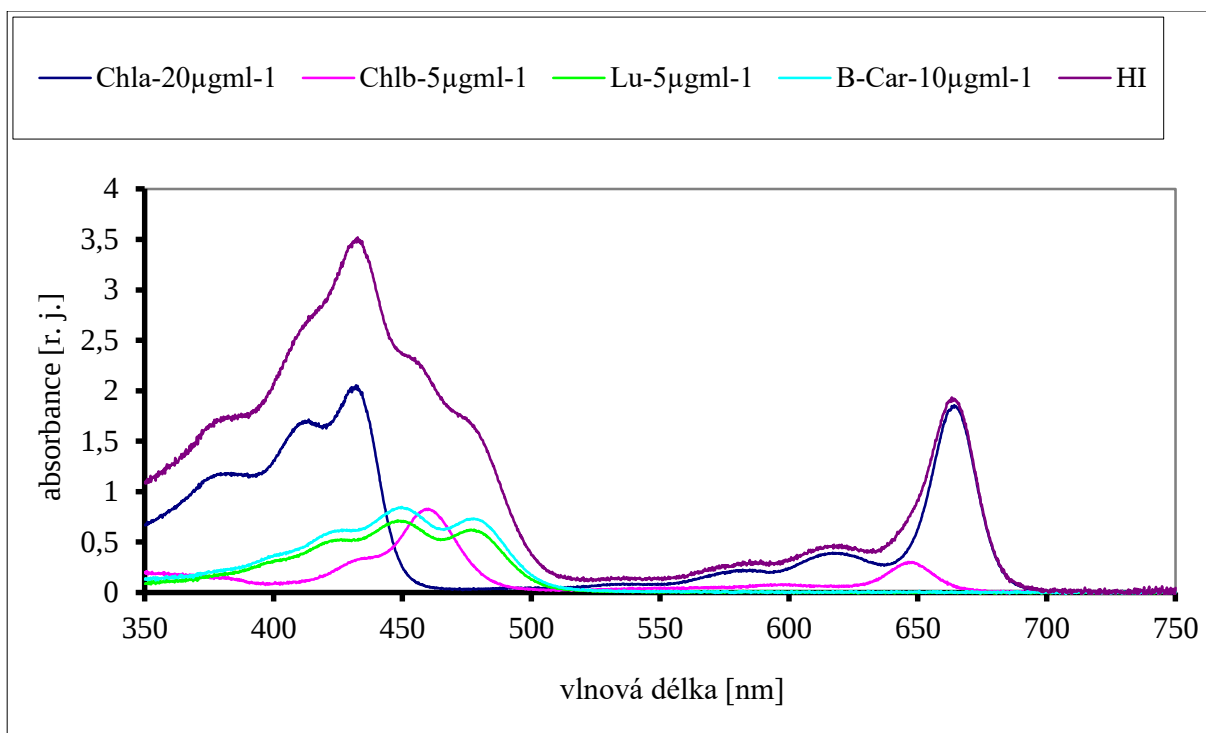
$$\text{Chlorofyl a + chlorofyl b (Chla+b)} = 5,24 \cdot A_{664,2} + 22,24 \cdot A_{648,6}$$

$$\text{Karotenoidy (Carx+c)} = (1000 \cdot A_{470} - 2,13 \cdot \text{Chla} - 97,64 \cdot \text{Chlb}) / 209$$



Pro zpřesnění výsledků měříme absorbanci při vlnové délce 750 nm, která je způsobena rozptylem a od jednotlivých absorbancí ji odečítáme. Koncentraci ($\mu\text{g/ml}$ extraktu) vynásobíme celkovým objemem připraveného extraktu a podělíme plochou listu [Area, cm^2], čerstvou hmotností (f. w., mg), resp. hmotností sušiny (d. w., mg). Pro výpočet koncentrací můžeme s výhodou využít připravený soubor Pigmenty-95-EtOH-dle Lichtenthaler 1987.xls.

Fotosyntetické pigmenty – absorpční spektra.



Obrázek 4: Vytváření přibližného modelu obsahů pigmentů pro studium rostlin pěstovaných na vysoké ozáření (HI) sečtením absorpčních spekter chlorofylu a (Chla), chlorofylu b (Chlb), luteinu (Lu) a β -karotenu (B-Car).

Pomůcky: Extrakty v kyvetách (připravené a označené dle kapitoly 4.2), UV-VIS Spektrofotometr Cary 8454 (Agilent Technologies, HPST, s. r. o., ČR) (Obr. XXX) a příslušným softwarem ChemStation B.05.02 (Agilent Technologies, HPST, s. r. o., ČR).

Postup:

1. Seznamte se s obsluhou přístroje UV-VIS Spektrofotometr Cary 8454 (Agilent Technologies, HPST, s. r. o., ČR) (Obr. XXX) a příslušným softwarem ChemStation B.05.02 (Agilent Technologies, HPST, s. r. o., ČR).



2. Zjištěné navážky rostlinného materiálu a objemy biolihových extraktů, které jste si zaznamenali využijete i v této úloze (resp. i v úloze viz. kap. 4.2).
3. Připravených si 10 kyvet proměřte, jak je uvedeno v kap. 4.2). Pro zopakování označení: B – blank (pro biolih), K – kontrola (biolihový extrakt z ječmene zalévaného destilovanou vodou), 1 – vzorek (biolihový extrakt z ječmene zalévaného 1% roztokem Ca^{2+}), 2 – vzorek (biolihový extrakt z ječmene zalévaného 0,75% roztokem Ca^{2+}), 3 – vzorek (biolihový extrakt z ječmene zalévaného 0,5% roztokem Ca^{2+}), 4 – vzorek (biolihový extrakt z ječmene zalévaného 0,25% roztokem Ca^{2+}), 5 – vzorek (biolihový extrakt z ječmene zalévaného 1% roztokem Mg^{2+}), 6 – vzorek (biolihový extrakt z ječmene zalévaného 0,75% roztokem Mg^{2+}), 7 – vzorek (biolihový extrakt z ječmene zalévaného 0,5% roztokem Mg^{2+}), 8 – vzorek (biolihový extrakt z ječmene zalévaného 0,25% roztokem Mg^{2+}).
4. Při vlastním měření postupujte následovně: a/ blank – s prázdným kyvetovým prostorem změřte absorpční spektrum – nulová linie (baseline), b/ do kyvetového prostoru vložte prázdnou kyvetu B – změřte absorpční spektrum kyvety, c/ kyvetu B naplňte biolihem (**0,5 cm pod horní okraj, plnění platí pro všechny kyvety !**) – změřte absorpční spektrum biolihu (**Toto absorpční spektrum bude pro další měření jako blank !**), d/ proveďte proceduru „blank“, e/ do kyvetového prostoru postupně vkládejte kyvety označené K a 1 – 8, měřte absorpční spektra, která uložte a exportujte ve formátu vhodném pro další zpracování, např. Excel. Pro další zpracování můžete využít i připravený Excel-ovský soubor UV-VIS-spektra-sablona-2019.xls.
5. Absorpční spektra porovnejte a zhodnoťte vliv vápenatých a hořčnatých iontů na extrahovatelnost fotosyntetických pigmentů.
6. Z absorpčních spekter odečtěte absorbance při vlnových délkách: 430 nm, 470 nm, 565 nm, 635 nm (resp. 645 nm a 665 nm) a zaznamenejte do tabulky (podobné měření budete provádět i dle kap. 7 a výsledky porovnáte.
7. Dle výše uvedených rovnic (Lichtenthaler 1987) vypočtěte koncentraci Chla, Chlb, a karotenoidů (v $\mu\text{g/ml}$), vynásobte příslušnými objemy extraktů a podělte hmotností segmentů listů, které byly použity pro extrakce. Výsledky uveďte v mg/g čerstvé hmotnosti. Vypočtěte i poměry Chla/Chlb a $(\text{Chla} + \text{Chlb})/\text{Car}_{x+c}$. Pro výpočet



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



koncentrací můžeme s výhodou využít připravený soubor Pigmenty-95-EtOH-dle Lichtenthaler 1987.xls

8. Zhodnoďte vliv vápenatých a hořečnatých iontů na koncentraci fotosyntetických pigmentů.
9. Zde získané výsledky porovnejte s výsledky získanými dle kapitoly 4.2.

Výpočet:



Dle kapitoly 4.3 TLC – extrakty z TLC, absorpční spektra v EtOH.

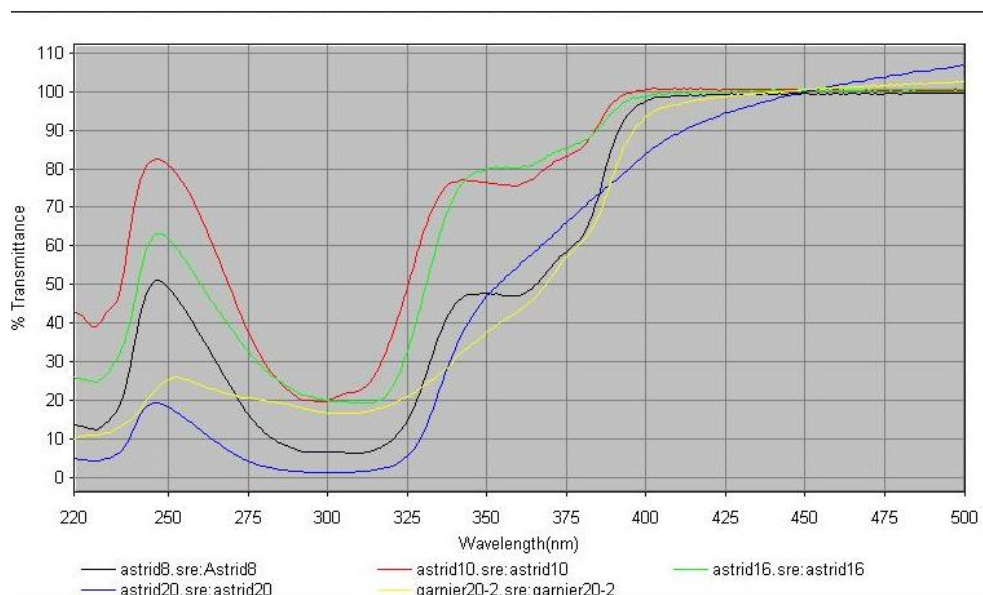
Pomůcky: Extrakty v kyvetách (přípravené a označené dle kapitoly 4.3), UV-VIS Spektrofotometr Cary 8454 (Agilent Technologies, HPST, s. r. o., ČR) (Obr. XXX) a příslušným softwarem ChemStation B.05.02 (Agilent Technologies, HPST, s. r. o., ČR), maloobjemové kyvety (např. UV – Cuvette micro, Brand, Německo).

Postup:

1. Seznamte se s obsluhou přístroje UV-VIS Spektrofotometr Cary 8454 (Agilent Technologies, HPST, s. r. o., ČR) (Obr. XXX) a příslušným softwarem ChemStation B.05.02 (Agilent Technologies, HPST, s. r. o., ČR)
2. Při vlastním měření postupujte následovně: a/ blank – s prázdným kyvetovým prostorem změřte absorpční spektrum – nulová linie (baseline), b/ do kyvetového prostoru vložte prázdnou kyvetu – změřte absorpční spektrum kyvety, c/ kyvetu naplňte biolihem (**0,5 cm pod horní okraj, plnění platí pro všechny kyvety !**) – změřte absorpční spektrum biolihi (**Toto absorpční spektrum bude pro další měření jako blank !**), d/ proveďte proceduru „blank“, d/ do kyvetového prostoru postupně vkládejte vámi označené kyvety (např. Chla, Chlb ...), měřte absorpční spektra, která uložte a exportujte ve formátu vhodném pro další zpracování, např. Excel. Pro další zpracování můžete využít i připravený Excel-ovský soubor UV-VIS-spektra-sablona-2019.xls.
3. Absorpční spektra porovnejte.



7.3 Měření opalovacích krémů



Obrázek 5: Transmittanční spektra (spektra propustnosti) různých opalovacích krémů a různých ochranných faktorů. S laskavým svolením převzato od: Zelená, S., Babicová, M. (20. 3. 2007), 3. ročník, obor Biofyzika.

Dle kapitoly 5.3 – Opalovací krém a ochrana proti UV záření

Pomůcky: UV-VIS Spektrofotometr Cary 8454 (Agilent Technologies, HPST, s. r. o., ČR) (Obr. XXX) a příslušným softwarem ChemStation B.05.02 (Agilent Technologies, HPST, s. r. o., ČR), podložní sklíčka pro mikroskopii (v našem případě 50 x 50 mm), opalovací krémy různých značek a ochranných faktorů.

Postup:

1. Seznamte se s obsluhou přístroje UV-VIS Spektrofotometr Cary 8454 (Agilent Technologies, HPST, s. r. o., ČR) (Obr. XXX) a příslušným softwarem ChemStation B.05.02 (Agilent Technologies, HPST, s. r. o., ČR). Přístroj nastavte pro měření propustnosti (T).
2. Hodinové sklo označte příslušným názvem opalovacího krému včetně ochranného faktoru. Příslušný krém naneste v tenké (pokud možno homogenní) vrstvě na jednu označenou stranu hodinového skla.
3. Při vlastním měření postupujte následovně: a/ blank – s prázdným kyvetovým prostorem změřte T spektrum – nulová linie (baseline), b/ do kyvetového prostoru vložte (přilepte nemazlavou plastelínou) na vstupní okénko k detektoru UV-VIS Spektrofotometru Cary 8454 - změřte T spektrum krycího skla (zaznamenejte) (**Toto**



absorpční spektrum bude pro další měření jako blank !), c/ proved'te proceduru „blank“, d/ do kyvetového prostoru postupně vkládejte krycí skla s opalovacími krémy a zaznamenávejte spektra propustnosti, která uložte a exportujte ve formátu vhodném pro další zpracování, např. Excel. Pro další zpracování můžete využít i připravený Excel-ovský soubor UV-VIS-spektra-sablona-2019.xls.

4. Za předpokladu, že UVB je v rozsahu vlnových délek 280 – 320 nm a UVA je v rozsahu vlnových délek 320 – 360 nm, a ze znalosti Lambert-Beerova zákona (délka absorbujičho prostředí) zhodnoťte vhodnost použití opalovacích krémů.

Poznámka: Podobně můžeme postupovat při měření propustnosti ochranných (slunečních) brýlí.

Tabulka:

Zdroj UV Spektrofotometr Cary 8454	Intenzita UVA záření [W/m²]	Intenzita UVB záření [W/m²]
Stínění sklem		
Stínění sklem s opalovacím krémem..... OF=		
Stínění sklem s opalovacím krémem..... OF=		
Stínění sklem s opalovacím krémem..... OF=		
Stínění sklem s opalovacím krémem..... OF=		

7.4 Stanovení dusičnanů spektrometrií v UV oblasti

Pro stanovení koncentrace dusičnanů v pitných, minerálních, povrchových a odpadních vodách existuje celá řada metod. Jedna z nejjednodušších metod je založena na přímém měření absorpce elektromagnetického záření v UV oblasti, přesněji při 220 nm. V této oblasti však kromě dusičnanů absorbují také organické látky přítomné ve vodě, proto je tato metoda vhodná pouze pro relativně čisté vody – pitné, minerální nebo málo znečištěné povrchové. Stanovení



se provádí metodou kalibrační přímky, stejně jako v případě metody AAS pro stanovení koncentrací iontů kovů, přičemž nejvyšší stanovitelná koncentrace je $20 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ (24).

Pomůcky: UV-VIS spektrometr Varian Cary 50, křemenná kyveta, odměrné baňky, pipety.

Chemikálie: dusičnan draselný, demineralizovaná voda

Postup:

1. Navažte přesně 40,8 mg vysušeného KNO_3 , převed'te jej do odměrné baňky o objemu 250 cm^3 , rozpust'te jej a doplňte po rysku. Tento roztok má koncentraci $100 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$.
2. Ředěním do odměrných baněk o objemu 50 cm^3 připravte ze zásobního roztoku kalibrační roztoky o koncentracích 4, 12 a $20 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ dusičnanových aniontů.
3. Do křemenné kyvety nalejte demineralizovanou vodu a vložte ji do přístroje. Přístroj vynulujte kliknutím na tlačítko „Zero“.
4. Spust'te měření tlačítkem „Start“ a řiďte se pokyny na obrazovce. Na výzvu vyměňte roztok v kyvetě a klepněte na OK.
5. Po naměření kalibračních roztoků naměřte vzorky.
6. Zapište si zjištěné koncentrace do tabulky pro porovnání s ostatními metodami.

Tabulka:

Vzorek	$\text{dNO}_3^- [\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}]$
Pitná voda	
Filtrovaná pitná voda	
Rezavá pitná voda	
Magnesia	
<i>Donesený vzorek</i>	

7.5 Turbidimetrické stanovení zákalu

Zákal je ve vodách způsobován především nerozpuštěnými jemně dispergovanými částicemi. Zákal lze hodnotit různými metodami, přičemž nejpoužívanější je nefelometrická a



turbidimetrická metoda. Pro provedení nefelometrického stanovení je nutné mít k dispozici speciální přístroj oproti tomu turbidimetrické stanovení je možné provést na téměř jakémkoli VIS spektrometru. Doporučená vlnová délka pro stanovení je 860 nm. Ne každý spektrometr má však možnost měřit až do této oblasti (blízká infračervená oblast), v takovém případě lze stanovení provést při alternativní vlnové délce 550 nm. Turbidimetrické stanovení zákalu se provádí, stejně jako předchozí stanovení, metodou kalibrační přímky a nejvyšší stanovitelná koncentrace je 40 ZF (formazinových jednotek) (24).

Pomůcky: UV-VIS spektrometr Varian Cary 50, křemenná kyveta, odměrné baňky

Chemikálie: kalibrační roztoky formazinu (pozor jedovatá látka), demineralizovaná voda
vzorek vody

Postup:

1. Načtete si metodu pro stanovení zákalu do softwaru přístroje.
2. Do kyvety nalejte demineralizovanou vodu, umístěte ji do přístroje a stisknutím tlačítka „Zero“ nastavte instrumentální nulu.
3. Následně spusťte měření klepnutím na tlačítko „Start“ a řiďte se pokyny na obrazovce. Před nalitím měřeného roztoku do kyvety je vždy nutné důkladně jej promíchat.
4. Po změření všech kalibračních roztoků naměřte vzorek.
5. Zapište si získanou hodnotu do tabulky pro srovnání s nefelometrickou metodou.

Tabulka:

Vzorek	Zákal [ZF _t]
<i>Donesený vzorek</i>	



8 Srovnání naměřených výsledků školní versus profesionální technika

8.1 Srovnání výsledků z kapitoly 3.3, 3.7 a 6.2

Vzorek vody	Celková tvrdost Visocolor $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ [mmol/l]	Celková tvrdost Aqua- Quick-Test- eSHa $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ [mmol/l]	Celková tvrdost Chelatometrie $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ [mmol/l]	Celková tvrdost AAS $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ [mmol/l]
Magnesia				
Demineralizovaná voda			x	
Pitná voda			x	
Voda zfiltrovaná přes filtr Brita			x	

8.2 Srovnání výsledků z kapitoly 3.1 a 6.2

	Chelatometrie			AAS		
Vzorek vody	Celková tvrdost $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ [mg/l]	Ca^{2+} [mg/l]	Mg^{2+} [mg/l]	Celková tvrdost $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ [mg/l]	Ca^{2+} [mg/l]	Mg^{2+} [mg/l]
Magnesia						



Vzorek vody	Kvalitativní důkaz		Kvantitativní stanovení				
	Cl ⁻	Fe ³⁺	Visicolor		Vernier		
			Cl ⁻	Fe ³⁺	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	Fe ³⁺
Rezavá pitná voda							
Vzorek	NO ₃ ⁻ metodou UV spektrometrie [mg.dm ⁻³]			Fe metodou AAS [mg.dm ⁻³]			
Rezavá pitná voda							

8.3 Srovnání výsledků z kapitoly 3.6, 6.2 a 7.3



VZOREK EXTRAKTU BARVIV Z JEČMENE, KTERÝ BYL ZALÉVANÝ.....			
Vlnová délka	SpectroVis Plus	COL-BTA	UV-VIS
$\lambda = 430 \text{ nm}$			
$\lambda = 470 \text{ nm}$			
$\lambda = 565 \text{ nm}$			
$\lambda = 635 \text{ nm}$			

8.4 Srovnání výsledků z kapitoly 4.2 a 7.2

8.5 Srovnání výsledků z kapitoly 5.3 a 7.3

Zdroj UV lampa	Intenzita UVA záření [W/m²]		Intenzita UVB záření [W/m²]	
	UVA-BTA	UV-VIS	UVB-BTA	UV-VIS
Přístroj				
Stínění sklem				
Stínění sklem s opalovacím krémem..... OF=				
Stínění sklem s opalovacím krémem..... OF=				
Stínění sklem s opalovacím krémem..... OF=				
Stínění sklem s opalovacím krémem..... OF=				

9 Motivační úlohy

9.1 Doplnovačka

Optická metoda založená na porovnávání intenzity zabarveného roztoku o neznámé koncentraci s roztokem téže látky o známé koncentraci se nazývá 356528147284 (doplňte tajenku z doplňovačky, písmena seřad'te podle kódu).

[illegible]

Legenda:

1. Způsob odstranění přechodné tvrdosti vody.
2. Směs minerálů, které se vylučují ve formě pevného povlaku na stěnách varné konvice nebo pračky.
3. Název pro druh vody zbavené iontů.
4. Název dělicí metody založené na oddělení složek o rozdílné hustotě.
5. Zařízení na změkčení vody, která se dodávají např. s aktivním uhlím.

9.2 Osmisměrka

Tajenkou osmisměrky je název pro metodu založenou na interakci elektromagnetického záření se vzorkem. (doplňte tajenku přečtením zbývajících písmen z vyřešené osmisměrky po řádcích) využívá jako analytickou vlastnost absorpci záření volnými atomy sledovaného elementu. Úbytek primárního záření je mírou koncentrace volných atomů prvku, který záření absorboval. Rozdíly energií mezi jednotlivými elektronovými stavy atomu jsou charakteristické pro každý prvek.



E	I	F	A	R	G	O	T	A	M	O	R	CH
C	A	I	S	E	D	I	M	E	N	T	T	E
A	T	L	O	T	CH	L	O	R	A	C	E	L
Z	T	T	M	A	O	V	Á	K	K	Ě	M	A
I	V	R	Á	R	N	I	E	T	U	L	O	T
L	R	A	V	D	A	B	X	S	O	R	T	O
A	D	C	P	A	N	E	T	O	R	A	K	M
R	Á	E	Č	Č	L	N	R	B	Í	C	U	E
T	S	P	E	N	K	Á	A	Á	T	I	D	T
U	R	O	M	Í	E	T	K	Z	R	D	N	R
E	I	O	Z	O	N	A	C	E	E	U	O	I
N	E	F	E	L	O	M	E	T	R	M	K	E

Legenda:

1. Název pro chemickou reakci kyseliny s hydroxidem.
2. Název pro fyzikálně-chemickou separační metodu, jejichž podstatou je rozdělení směsi vzorku mezi stacionární a mobilní fázi.
3. Je zařízení, které slouží ke zkoumání zákalu vody.
4. Dezinfekce vody pomocí žlutozeleného plynu.
5. Jedna z metod odměrné titrační analýzy, využívá se k analýze kovů s oxidačním číslem II, III a IV.
6. Označení pro vodu, která obsahuje malé množství rozpuštěných Ca^{2+} a Mg^{2+} solí.
7. Název pro dělicí metodu, která se používá k oddělování pevné látky od kapaliny nebo od plynu.
8. Dezinfekce vody pomocí tříatomové molekuly kyslíku.
9. Název pro žlutooranžové xantofylové barvivo, které řadíme mezi karotenoidy.
10. Označení pro vodu, která obsahuje velké množství rozpuštěných Ca^{2+} a Mg^{2+} solí.
11. Název pro faktor, který zjišťujeme u chromatografie. Hodnotu této bezrozměrné veličiny vypočítáme jako podíl vzdálenosti středu skvrny od startu a vzdálenosti čela od startu.
12. Název pro typ nekarbonátové tvrdosti vody, způsobené např. sírany, chloridy, dusičnany Ca^{2+} a Mg^{2+} .



13. Název pro pomocné žlutočervené fotosyntetické barvivo, které je provitaminem vitamínu A.
14. Způsob dělení kapalné nebo tuhé směsi vyluhováním.
15. Latinský název pro kyselinu.
16. Název pro zařízení, které slouží k měření elektrické vodivosti.
17. Název pro usazeninu složenou z pevných částic.
18. Látky, které mohou přijímat proton.

9.3 Rozhodněte o pravdivosti tvrzení

80-054 4921367417952 (nahrad'te číselný kód doplněním písmen, které odpovídají pravdivosti tvrzení v daném řádku tabulky) je klasická metoda analytické chemie, která je široce využitelná v nejrůznějších oblastech chemie přes potravinářství, farmacii, ale i v oblasti katalýzy či ochrany životního prostředí. Je obzvláště vhodná pro stanovení koncentrací organických i anorganických barviv a makromolekul, používá se i ve forenzní chemii.

Proveďte opravu chyb v tvrzeních.

Tvrzení	ANO	NE	Oprava chyby
0. Inhibitor je látka, která zpomaluje chemickou reakci.	V	D	
1. Krev zpomaluje rozklad peroxidu vodíku.	A	K	
2. Rychlost chemické reakce udává úbytek koncentrace reaktantů za jednotku času.	E	M	
3. Čím je výchozí látka méně rozptýlená, tím probíhá reakce rychleji.	Ě	T	
4. Rychlost chemické reakce je přímo úměrná koncentraci reaktantů.	S	B	
5. Zvýšení teploty urychluje chemickou reakci.	I	Á	
6. Kusový zinek reaguje s kyselinou chlorovodíkovou rychleji než práškový.	H	R	
7. Rychlost chemické reakce je závislá na tom, které látky spolu reagují.	O	Z	
8. Změna tlaku ovlivňuje rychlost chemické reakce pouze u kapalin.	J	U	
9. Desetinásobným zvýšením tlaku desetkrát snížíme objem, a tím vlastně desetkrát zvýšíme koncentraci.	P	Y	



10 Citační zdroje

Citovaná a doporučená literatura:

1. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/ph-bta/>.
2. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/GW-PH/>
3. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/katalog/manualy/cz/kalibrace-PH-BTA.pdf>
4. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/con-bta/>.
5. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/co2-bta/>.
6. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/o2-bta/>.
7. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/vdc-btd/>.
8. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/GO-TEMP>.
9. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/30v-bta/>
10. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/nh4-bta/>
11. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/uva-bta/>
12. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/uvb-bta/>
13. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/ls-bta/>
14. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/COL-BTA>



15. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/trb-bta/>
16. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/experimenty/slapanice/voda-2.pdf>
17. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/produkty/podrobne-informace/kod/SVIS-PL>
18. Vernier CZ – Vybavení pro výuku přírodovědných oborů. [online]. [cit. 2018-11-14].
Dostupné z: <http://www.vernier.cz/experimenty/time/spektrometr-olivovy-olej.pdf>
19. Anonymus [online]. [cit. 2018-11-14]. Dostupné z:
<http://www.sci.muni.cz/~fyzrost/chlorofyly.htm>
20. Anonymus [online]. [cit. 2018-11-14]. Dostupné z: https://chemicke-pokusy-pro-gymnazia.webnode.cz/_files/200000043-9e4bba040a/M_1_3_Extrakce.pdf
21. Marečková, L. Přírodní barviva a jejich dělení chromatografií na tenké vrstvě.
Seminární práce, 2008. Dostupné z:
<http://www.marecek.cz/storage/lida/Seminarky/Prirodni%20barviva%20CHEMIE%20LM%202007.pdf>
22. Dermanet.cz. [cit. 2018-11-14]. Dostupné z: http://www.dermanet.cz/cs/kozni-choroby/melanomy/ultrafialove-zareni_s536x7248.html
23. Klouda, P. Moderní analytické metody. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.
24. Horáková, M. Analytika vody. Vyd. 2., opr. a rozš. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2003, 335 s. ISBN 80-708-0520-X.
25. Kalina, J. a Špunda V. Optická spektroskopie I. Ostravská univerzita v Ostravě, Ostrava 2004. ISBN: 80-7368-000-9.
26. Eliášová I., Literák, J.: Jednoduché demonstrace instrumentálních metod. Chem. Listy 111, 449-454, 2017.
27. Asheim, J., Kvittingen, E. V., Kvittingen, L., Verley, R.: A simple, Small-Scale Lego Colorimeter with a Light-Emitting Diode (LED) Used as Detector. Journal of Chemical Education, 91, 1037-1039, 2014.



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



28. Kalina, J., Hrvolová, B., Krohová, J., Šmondrk, M. a Penhaker, M. Experiment pro výuku - fotometrie. *CHEM LISTY*. 2014, roč. 108, č. 2, s. 172-175. ISSN 0009-2770.
29. Agilent Cary 8454. *HPST* [online]. [cit. 2019-01-15]. Dostupné z:
<http://hpst.cz/analyticka-chemie/uvvis-spektrofotometry/agilent-cary-8454/>.
30. Lichtenthaler, H. K.: Chlorophylls and Carotenoids: Pigment of Photosynthetic Biomembranes. *Methoda in Enzymology*, vol. 148. Academic Press, Inc. 1987.



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání

