



Laboratorní pomůcky a zařízení

Základní laboratorní technika

- Patří k základnímu vybavení laboratoře
- Její použití je jednoduché, ale vyžaduje dodržování stanovených pracovních postupů
- Při provádění automatizovaných metod je její použití minimální
- Nezbytné je při provádění speciálních analýz

Laboratorní odměrné sklo

- slouží k odměřování objemů kapalin
- má vysokou odolnost vůči kyselinám a zásadám
- ✂ podle způsobu dělení (*graduace*) lze rozdělit sklo: **dělené odměrné sklo, nedělené odměrné sklo**

Dělené odměrné sklo- Kádinky



o slouží jako reakční nádoby, nádoby ke **krátkodobému uchování chemických látek** apod. Údaj s objemovou stupnicí je velmi nepřesný a postačuje pouze pro nejhrubší orientaci. **Pro odměření objemu kapaliny kádinku téměř nikdy nepoužíváme.**

o Většinou jsou skleněné (často Pyrex) nebo plastové. Kádinky určené pro práci s agresivními žíravinami mohou být vyrobeny z Teflonu nebo jiných materiálů odolných vůči korozi.

Dělené odměrné sklo – odměrné válce, dělené pipety



Nedělené sklo: odměrné baňky, nedělené pipety

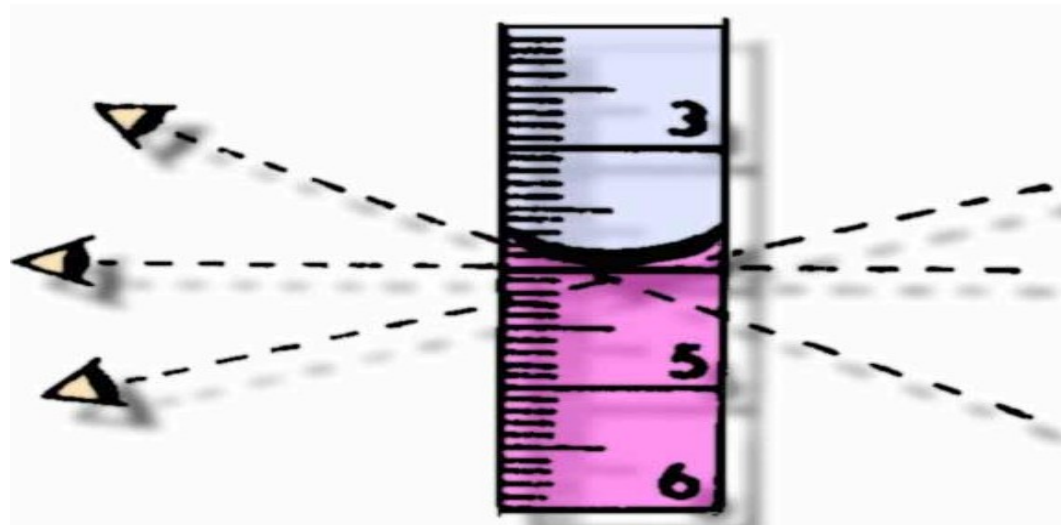




Odměrné sklo nelze vystavovat vyšším teplotám než 80°C až 100°C . Baňky se vlivem tepla roztahují a návrat do původního objemu je velmi pomalý, někdy zůstanou deformované navždy. Odměrné sklo se proto nesmí sušit ve vyhřívaných sušárnách. Ohřívat kapalinu v odměrné baňce na kahanu nebo na elektrickém ohříváči je také zcela nepřípustné.

Správné určení objemu

- Odměrné nádoby jsou kalibrovány na odečítání tzv. spodního okraje menisku.
- **meniskem** je nazýváno obloukovité prohnutí kapaliny, které vzniká na rozhraní kapaliny, stěny nádoby a vzduchu vlivem mezipovrchového napětí.
- Při odečítání se musí oko pozorovatele nacházet na úrovni spodního okraje menisku



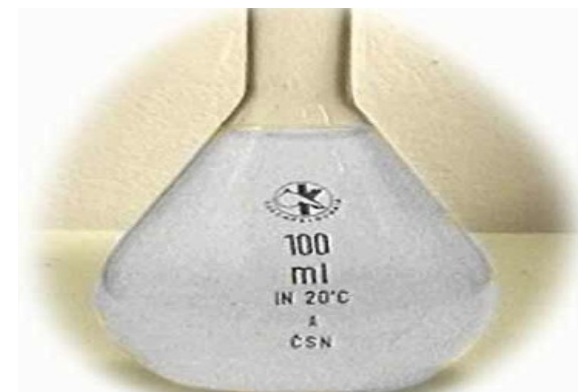
Písmenné značky na laboratorním skle

udávají podmínky, za kterých lze s odměrnou nádobou pracovat s přesností, na kterou je vyrobena.

Teplotní údaj- vymezuje teplotu, kterou by měla mít odměřovaná kapalina. Je to nejčastěji 20 °C. Pro běžné operace se připouštějí odchylky kolem 5 °C.

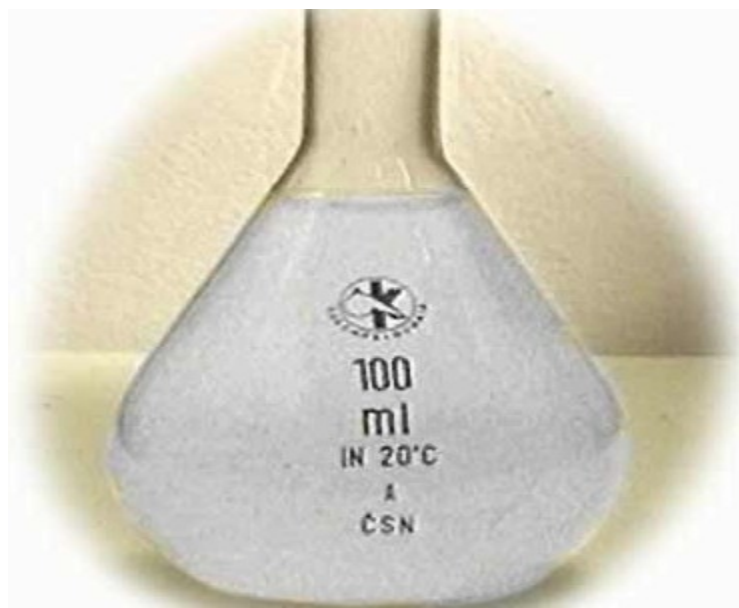
Objem odměrné nádoby - obvykle se udává v cm³ (= ml)

Nádoby na dolití a na vylití



Značky na laboratorním skle

Zkratka	Celé slovo	Jazyk (výrobce)
D	dolít	český
E	einguss	německý
In	include	anglický



Zkratka	Celé slovo	Jazyk (výrobce)
V	vylít	český
A	ausguss	německý
Ex	exclude	anglický

Postup práce s odměrnou baňkou

Do baňky nejprve vpravíme ředěnou látku, v závislosti na její formě:

- **ve formě roztoku** (pipetou). Pro přesnou práci se vyžaduje, aby roztok byl napipetován přímo pod rysku na hrdle odměrné baňky (kapičky ulpělé nad ryskou zkreslují celkový objem roztoku odměřené baňkou).

- **pevnou látku - nejprve rozpustíme látku v menším objemu kapaliny, teprve pak baňku doplníme po rysku.**

Když je pevná látka zcela rozpuštěná, velmi opatrně doplníme rozpouštědlo tak, aby se dolní okraj menisku dotýkal rysky. Poslední kapky rozpouštědla přidáváme jednotlivě, buď pipetou, nebo ze stříčky. Nesmíme přelít.



Pozor:

Odměrné válce slouží výhradně k odměřování objemů kapalin.

Ředění, rozpouštění a mísení látek se v nich zásadně neprovádí. Svoji konstrukcí k tomu nejsou určeny.

Válec by měl být zaplněn mezi 60 % a 90 % svého objemu. Při plnění je třeba dbát na to, aby odměřovaná chemikálie nestékala po vnějších stěnách válce. U velkých odměrných válců toto nebezpečí nehrozí, u menších je vhodné k plnění použít nálevku.

Nádob kalibrovaných na vylití

- správný objem kapaliny lze získat až po jejím vylití z nádoby.
- Vzhledem k tomu, že na stěnách nádob vždy ulpí zbytky kapaliny, stanovuje se u nich takzvaná **výtoková doba**. Ta udává, jak dlouho z nádoby vytéká kapalina započítaná do odměřovaného objemu. Kapalina, která po uplynutí výtokové doby zůstala na stěnách, je nadbytečná a při kalibraci se počítá s tím, že v nádobě zůstane.

Výtoková doba – skleněné pipety

Aby vytekla i kapalina pomalu stékající po vnitřních stěnách, je třeba vyčkat ještě cca 7 sekund i když se pipeta jeví již prázdná.

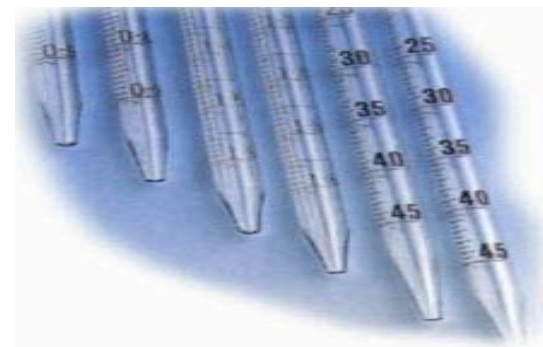
U některých pipet bývá výtoková doba poznačena na stěně pipety.

Nedělené pipety:

Objem	Výtoková doba
1 - 10 ml	15 - 20s
10 - 15 ml	22 - 30s
51 - 100 ml	32 - 40s

Dělené pipety:

Objem	Výtoková doba
1 - 5 ml	25 - 35s
5 - 10 ml	25 - 35s
10 - 20 ml	35 - 40s



Pipetování

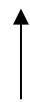
○ **Pozor:** při pipetování agresivních látek ústy, hrozí nejen nebezpečí požití jedů, ale nebezpečné výpary některých látek mohou natrvalo poškodit chrup. Při pipetování škodlivých látek je proto nutné používat **speciální balónky, pipetovací nástavce**





**Zmáčknutím balónku
vytvoříme nasávací
podtlak**

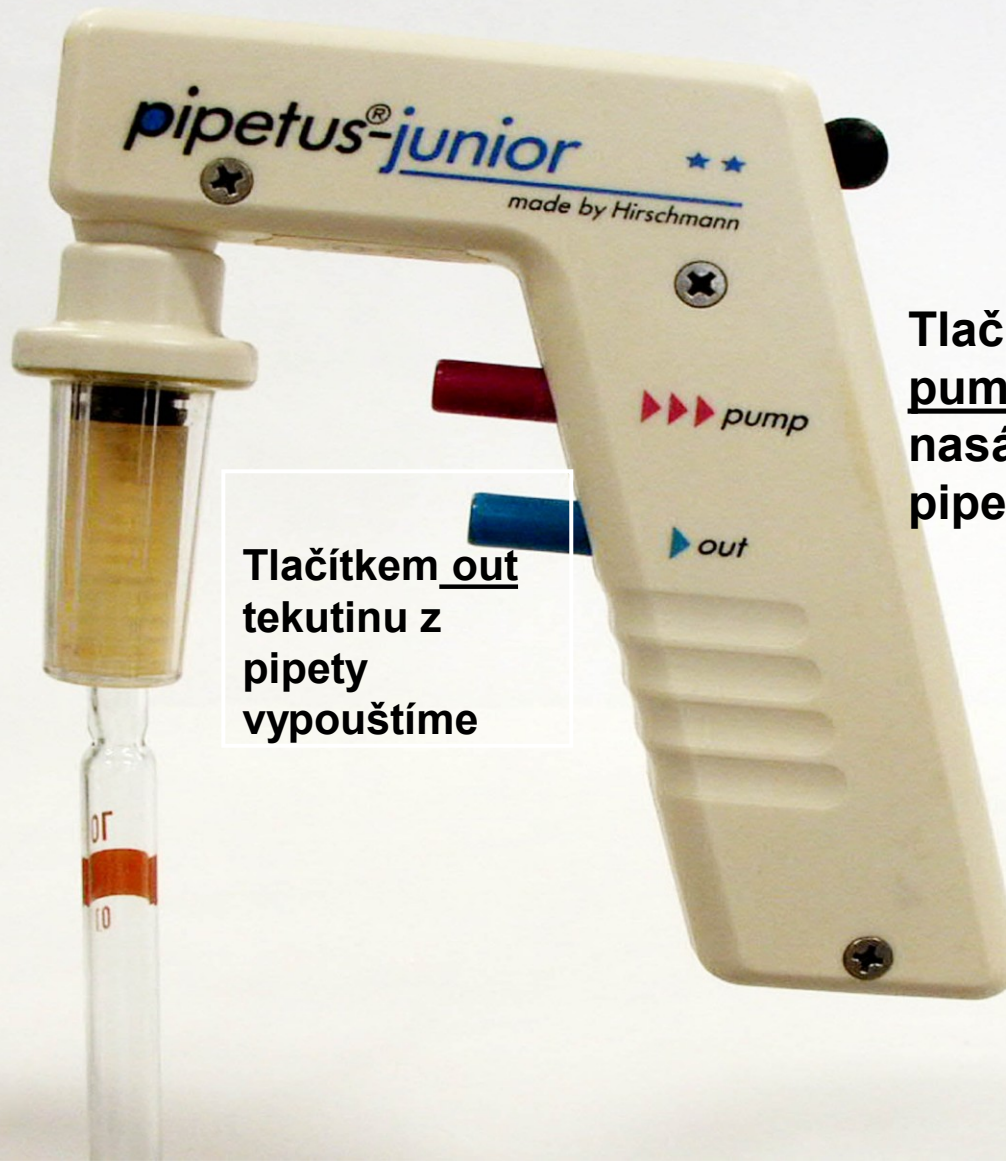
**Zmáčknutím ventilku
pipetu napouštíme**



**Zmáčknutím ventilku
pipetu vypouštíme**



Bezpečnostní nádstavec



Tlačítkem out
tekutinu z
pipety
vypouštíme

Tlačítkem
pump tekutinu
nasáváme do
pipety

Pipety automatické

- Automatické pístové - nasátí a dávkování objemu zajišťuje pohyb teflonového pístu,
- slouží pro přesné pipetování objemu v rozsahu **0,1 µl po 5 000 µl**, k pipetování se používají jednorázové vyměnitelné špičky
 - ✂ s nastavitelným objemem (20-200 µl, 100 - 1000 µl....)
 - ✂ s fixním objemem
 - ✂ Osmikanálové pipety



Nastavitelná pipeta



Pipety s fixním objemem

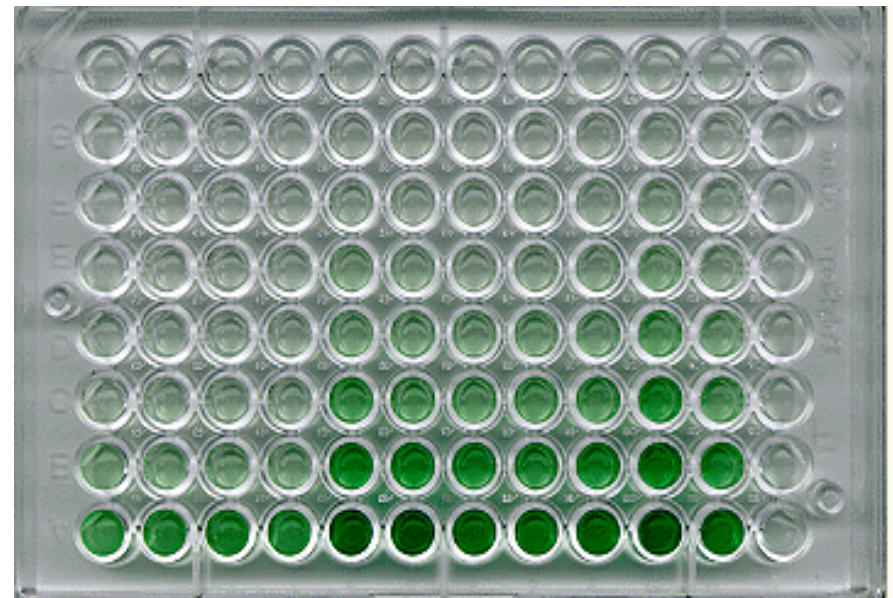


ruhy pipet

Osmikanálová pipeta



Mikrotitrační destička



Pipety automatické

- jsou určeny k pipetování malého objemu roztoků
- kalibrace na vylití - ve špičce může zůstat minimální objem kapaliny. Nesnažte se jej za každou cenu z pipety dostat, hovoří se o tzv. mrtvém objemu.
- Na spodním konci mají odnímatelnou špičku a
- na horním konci dvoupolohový ovladač (určený k nasávání a vypouštění roztoků).



Pipety automatické

Samotná pipeta by se NIKDY neměla dostat do přímého kontaktu s pracovním roztokem.

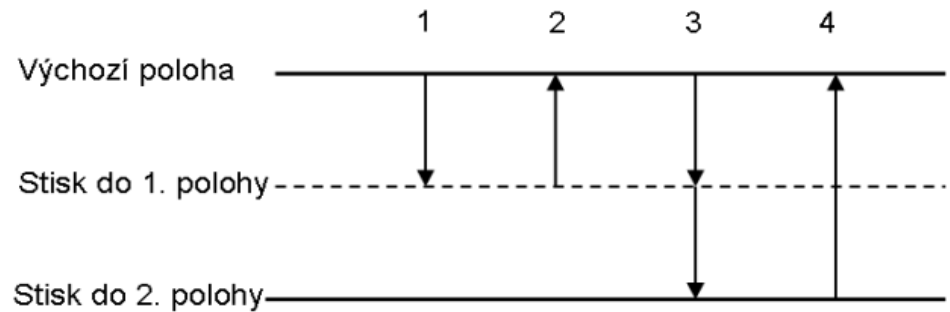
NIKDY nenasávejte tekutinu do pipety bez odpovídající špičky

Kapalina NESMÍ vtéci do pipety

NIKDY neotáčejte pipetu špičkou vzhůru

NIKDY nepokládejte na stůl pipetu se špičkou, ve které je kapalina nebo její zbytek

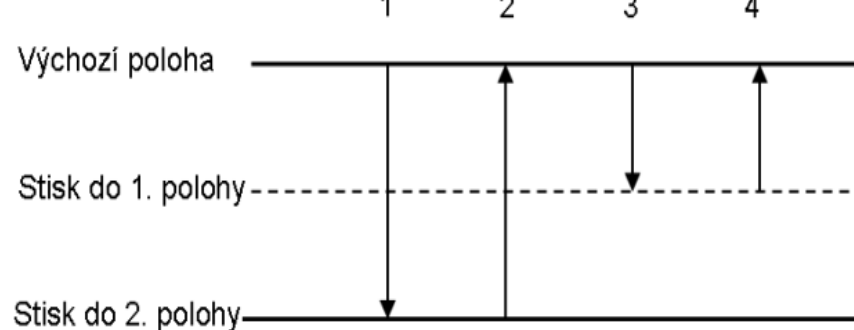
Postup –přímé pipetování



1. Ovladač stlačíme do polohy „1“ (špička je ve vzduchu), ponoříme několik milimetrů pod hladinu roztoku a pomalu pustíme. Při nasávání špičku stále udržujeme pod hladinou. Po úplném uvolnění vytahujeme špičku po stěně nádoby (zbavíme se mikrokapek na vnější straně špičky).
2. Špičku umístíme na stěnu nádoby kam chceme pipetovanou látku přidat, několik milimetrů nad hladinou
3. Vypustíme roztok stlačením ovladače do polohy „1“, počkáme asi 1 s a pak stlačíme až do polohy „2“. Za stálého držení ovladače vyjmeme špičku.



Postup –reverzní pipetování



1. Stiskněte tlačítko až do 2. polohy
2. Ponořte špičku dávkovače asi 2–3 mm pod hladinu roztoku. Pomalu povolujte píst za současného nasátí vzorku do špičky.
3. Pomalu vytáhněte špičku z kapaliny a odstraňte kapky ulpělé na vnější stěně špičky dotekem špičky o okraj nádoby.
4. Při vytlačování daného objemu kapaliny držte špičku v mírném úhlu proti stěně nádoby těsně nad roztokem, který v ní již je, a pomalu plynule stiskněte palcem tlačítko ovladače do 1. polohy.
5. Držte tlačítko ovladače zmáčkuté v této poloze a vytáhněte špičku z nádoby ven. Špičku se zbývajícím objemem roztoku vyhodďte



Výchozí poloha

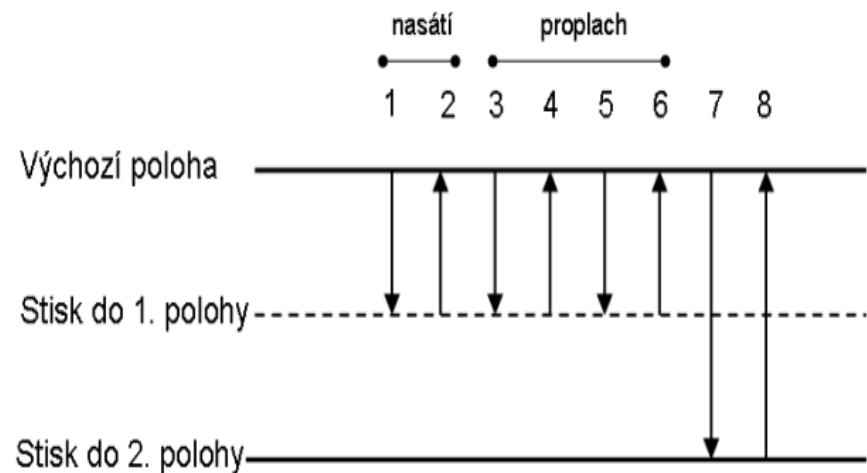


2. poloha



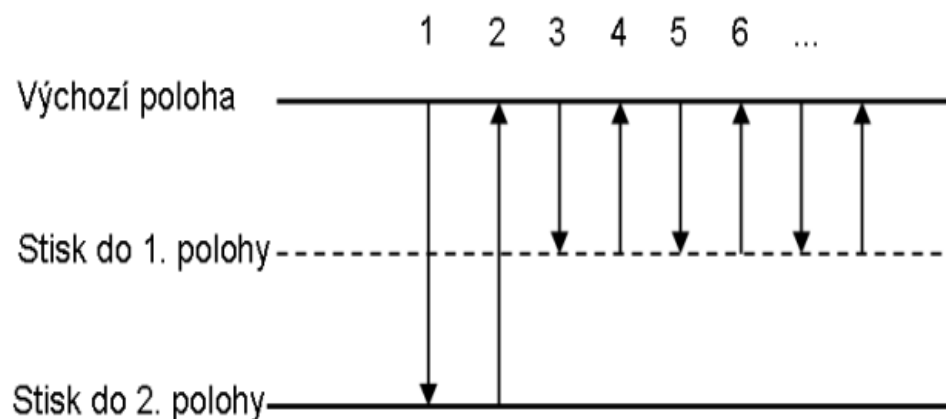
1. poloha

Pipetování heterogenních vzorků



- Stiskněte tlačítko do první polohy a ponořte špičku dávkovače asi 2–3 mm pod hladinu roztoku.
- Pomalu povolujte píst za současného nasávání vzorku do špičky.
- Pomalu vytáhněte špičku z kapaliny a odstraňte kapky roztoku ulpělé na vnější stěně špičky vytažením špičky podél stěny nádoby.
- Ponořte špičku dávkovače do cílového roztoku.
- Stiskněte ovládací tlačítko do první polohy a pak ho pomalu povolte do původní polohy. Tím dojde k nasátí roztoku do špičky. Špičku nevyndávejte z roztoku a opakujte tento krok, dokud vnitřní stěna špičky není čistá.
- Po stěně povytáhněte špičku nad hladinu roztoku a vyprázdněte ji stiskem tlačítka ovladače do druhé polohy.
- Podržte tlačítko ovladače zmáčknuté a vytáhněte špičku z nádoby podél stěny ven a pak povolte tlačítko ovladače.

Opakované pipetování



- Tento způsob pipetování je určen pro opakované pipetování stejného objemu, např. pro přidávání činidla do série zkumavek nebo do jamek v mikrotitrační destičce.
- Jedná se vlastně o opakující se reverzní pipetování. Po nasátí kapaliny do špičky se opakují kroky 2 až 4.

Kalibrace pipet vážkovým způsobem

- Všechny pipety musí být testovány na **přesnost** (sledování náhodné chyby - CV) a **správnost** (sledování systematické chyby - BIAS) v deklarováných časových intervalech.
- Pro každou pipetu musí být uvedeno na záznamu datum testování a výsledky, to jest přesnost definovaná jako variační koeficient (% CV) a správnost (% BIAS).

Kalibrace pipet vážkovým způsobem

Pracovní postup:

1. Zjistit teplotu použité destilované vody
2. Předvážit čistou, suchou kádinku (50ml)
3. Do kádinky napipetovat vždy novou špičkou deklarovaný objem pipety, hodnotu hmotnosti odečíst, zaznamenat
4. Postup dle bodu c) zopakovat 11x (t.j. získáme 12 hodnot)
5. Vypočítat průměrnou hodnotu hmotnosti pipetovaného objemu, směrodatnou odchylku (SD) a variační koeficient (VK)
6. Vypočítat objem vody dávkované danou pipetou podle vzorce:
$$V = \frac{\text{průměrná hmotnost}}{\text{hustota vody při dané teplotě (hustota vody se odečte z tabulky)}}$$

Vypočítat správnost pipetovaného objemu (výpočet BIAS) podle vzorce:

$$\text{Bias (\%)} = \left[\frac{\text{průměrná zjištěná hodnota objemu} - \text{deklarovaná hodnota}}{\text{deklar. hodnota}} \times 100 \right]$$

Kalibrace pipet vážkovým způsobem

Vyhodnocení pro pipetu s objemem 100ul

Vyhovuje: VK < 2%, Bias < 2%

Pokud překročí kterákoliv hodnota uvedený limit není možné pipetu používat.

číslo pipety	
označení pipety	
deklarovaný objem	
teplota H ₂ O	
datum měření	
	1
	2
	3
	4
	5
	6
	7
	8
	9
	10
	11
	12
průměr	
směr.odchylka	
var.koeficient	
hustota H ₂ O	
průměr/hustota H ₂ O=V	
BIAS(%)	

Dávkovače a dispenzory



- Slouží pro opakované dávkování větších objemů činidel

Princip: vyzvednutím pístu nasaje požadovaná kapalina a opakovaným stisknutím se postupně dávkuje nastavený objem

- vhodné při dávkování velkých sérií objemů vzorků
- univerzální na všechny typy šroubení láhví, dodávají se pro objemy od 0,50 - 2,50 ml až po 20,0 - 100 ml

Dávkoavače a dispenzory



Automatické dilutory

- Fy Hamilton představuje světovou špičku, její dávkovače a pipetory se používají ve všech automatických analyzátorech,
- Pro přesné dávkování velmi malých objemů, při provádění stopových analýz, v plynové a kapalinové chromatografii
- Dávkování velmi malých
- objemů od desetin mikrolitr
- velmi nízká spotřeba vzorku



Hamilton



Automatické dilutory



Automatické dilutory

Technické parametry dávkovací pumpy

Přesnost	±1%
správnost	±0.2%
Průtok	0.003 – 6000 µL/s (závisí na zvolené stříkačce)
Rozlišení stříkačky	0.02% (z nominální hodnoty)
Objemy stříkaček	10, 25, 50, 100, 250, 500 µL, 1, 2.5, 5, 10, 25, a 50 ml
Materiál přicházející do kontaktu se vzorkem	sklo, PTFE, CTFE
Komunikační rozhraní	Ethernet, 10/100 BASE-T
Komunikační protokol	.NET 2.0 (API)
Paměť	Metody jsou ukládány na SD kartu
Kalibrace	Tovární testování s metrologickou návazností na NIST
Certifikace	CE, CSA
Napájení	24 VDC, 2.5A
Rozměry	177.8×139.7×266.7 mm
Hmotnost	5.9 kg

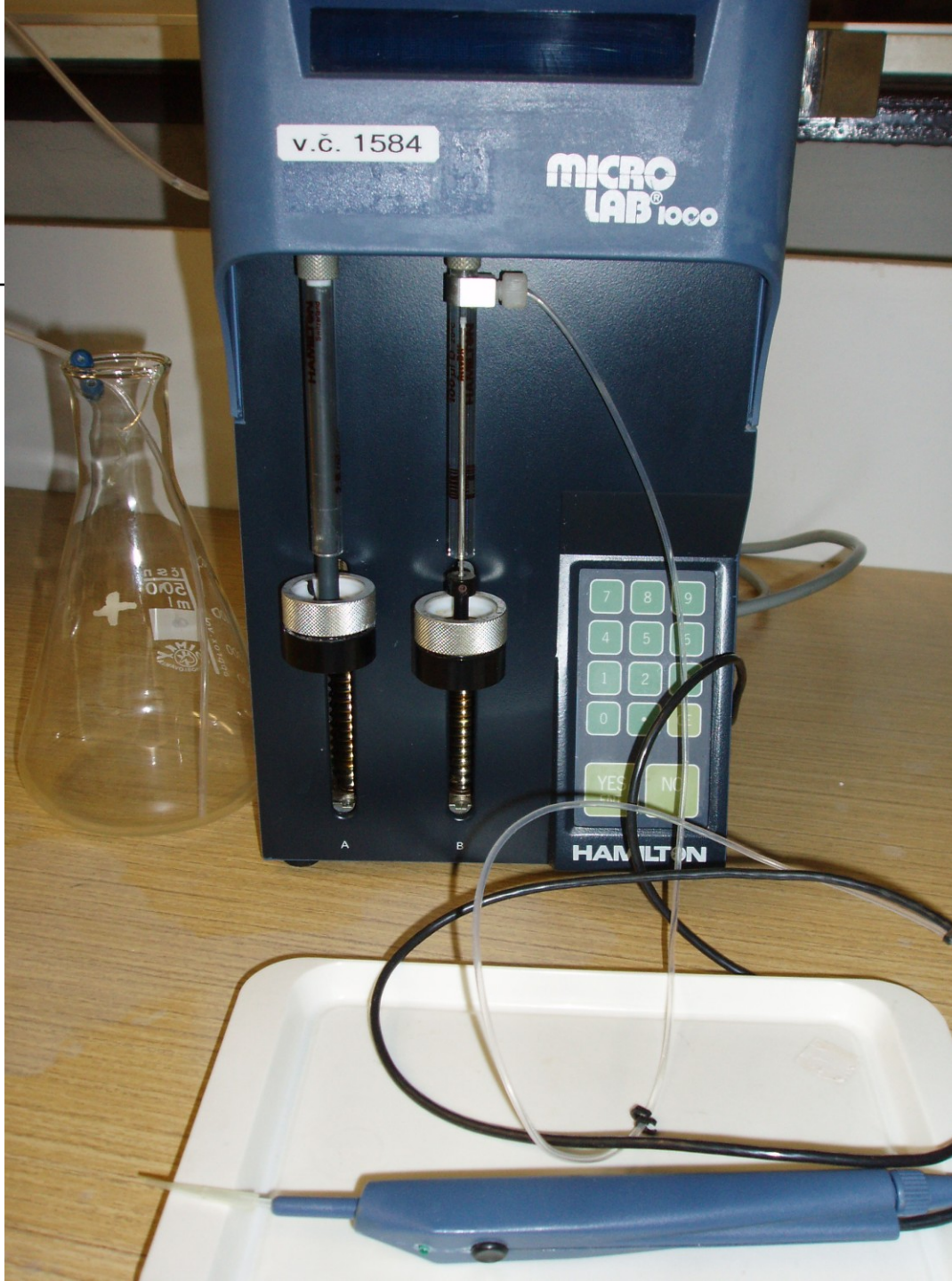
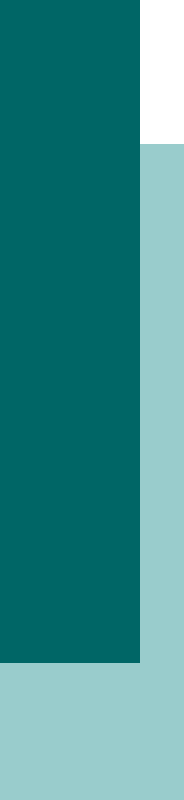
Automatické dilutory

- nabízí možnost ředění v poměru až 1:50 000 v jednom kroku. Tím se značně snižuje doba zpracování vzorků a spotřeba používaných roztoků.
- Diluent promývá hadičky mezi jednotlivými vzorky, čímž se minimalizuje možnost jejich vzájemné kontaminace.

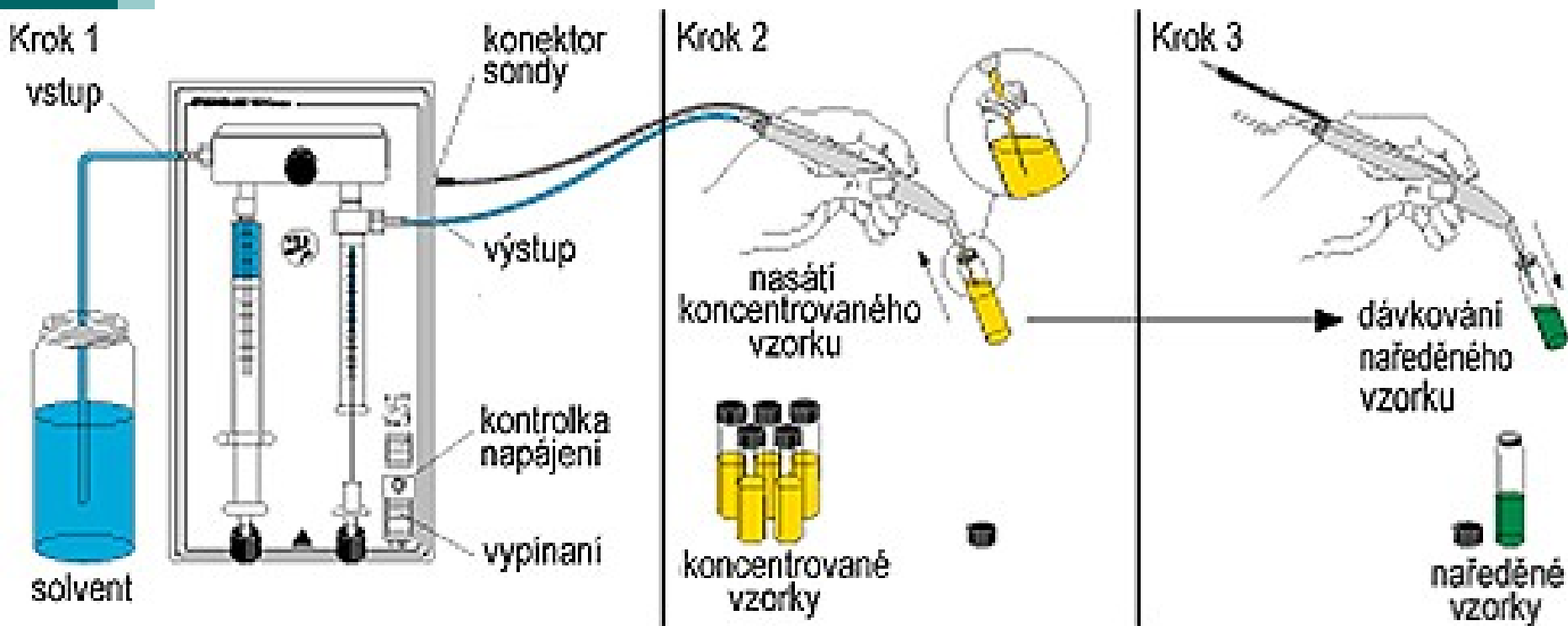
Je ideálním zařízením pro tyto analytické techniky:

- Atomová absorpční spektrometrie (AAS)
- Plazmová spektroskopie (ICP)
- Liquid Scintillation
- Kapalinová chromatografie (HPLC)
- Plynová chromatografie (GC)





Funkce automatického programovatelného dilutoru



Krok 1: Levá stříkačka se naplní naprogramovaným množstvím rozpouštědla (ředidla) ze zásobníku.

Krok 2: Pomocí pravé stříkačky se nasaje do koncové části ruční sondy naprogramované množství koncentrovaného vzorku.

Krok 3: Do vialky se nadávkuje patřičné množství vzorku i rozpouštědla.

Laboratorní váhy

o Požadavky, kladené na váhy v chemické laboratoři, jsou poměrně vysoké. Vyžaduje se, aby váhy měly dostatečnou **váživost**, byly **co nejpřesnější** a aby vážení bylo rychlé a pohodlné.

o zvýšená váživost vah je na úkor jejich přesnosti

o Vážení se uplatňuje při přípravě standardů pro speciální analýzy

Typy vah (dle přesnosti vážení):

✂ **Předvážky**

✂ **Analytické váhy**

Laboratorní váhy

Vysvětlení základních termínů

- **Váživost vah** je dovolené zatížení vah.
- **Přesnost vah** je nejmenší rozdíl hmotnosti, který můžeme vahami zaručit.
- **Nulová poloha** je poloha vahadla u nezatížených vah.
- **Citlivost vah** je poměr mezi výchylkou ukazatele z nulové polohy v dílcích stupnice a malým závažím, kterým je způsobena.

Laboratorní váhy

- **Předvážky** jsou váhy s **přesností** zpravidla na **0,01 g** a **váživostí 200 g**, používáme je předvážení před vážením na analytických váhách
- **Analytické váhy** jsou nejpřesnější používané váhy, vážící nejčastěji s **přesností na 0,0001 g** a **váživostí do 200 g**. Používáme je při zvláště přesné chemické práci

Pokyny k vážení

- Pro veškeré vážení platí pravidlo, že chemikálie nesmí přijít do přímého styku s miskami vah. K odvažování látek používáme vhodné nádobky. Hmotnost váženého předmětu nesmí přesahovat váživost vah, jinak by mohlo dojít k poškození až zničení vah.
- Před vlastním zvážením předmětu na analytických vahách je výhodné zjistit si předběžně jeho hmotnost pomocí předvážek.
- Dbáme, abychom váhy nepotřísnili váženou látkou. Na misku vah klademe jen předměty zcela čisté a suché. Jejich teplota musí souhlasit s teplotou vah. Veškeré manipulace s chemikáliemi (přidávání nebo ubírání) se musí provádět zásadně mimo váhy. Lehké, práškovité látky navažujeme tak, aby se nemohly rozprášit.

Laboratorní váhy

- Než přistoupíme k vlastnímu vážení, musíme se vždy přesvědčit, zda váhy správně fungují, a to přinejmenším kontrolou nulové polohy.
- Přesnost a spolehlivost výsledků vážení je zajištěna pomocí interní automatické kalibrace, která je spouštěna periodicky ve stanoveném intervalu, a také při změně teploty.
- Externí kalibrace vah je prováděna akreditovanou laboratoří nejméně 1xročně

Analytické váhy

předvážky



Centrifugace

Základní dělicí metoda, která slouží k rozdělení vzorku v závislosti na hustotě

V důsledku odstředění dochází k:

- ✂ Sedimentaci sraženin
- ✂ Sedimentaci buněk
- ✂ Zahuštění bílkovin (moč, likvor)
- ✂ Dělení směsi nemísitelných kapalin

Centrifugace

- Vliv gravitace (sedimentace) je nahrazen použitím centrifugy, ve které se zkumavky pohybují v rotoru po kruhové dráze.
- Působí tak na ně odstředivá síla, která je tím větší, čím vyšší je rychlost a delší dráha po které se zkumavky pohybují.
- Tato síla závisí na poloměru rotoru a na rychlosti se kterou se rotor otáčí.

$$F = mr\omega^2$$

F-centrifugační síla, r – poloměr rotoru, ω^2 – úhlová rychlost ($2\pi f$, f-frekvence otáček)

Centrifugace

○ **Centrifugační síla**

$$\mathbf{F} = m \times r \times \omega^2$$

F-centrifugační síla, m-hmotnost částice, r – poloměr rotoru, ω^2 – úhlová rychlost ($2\pi f$, f-frekvence otáček)

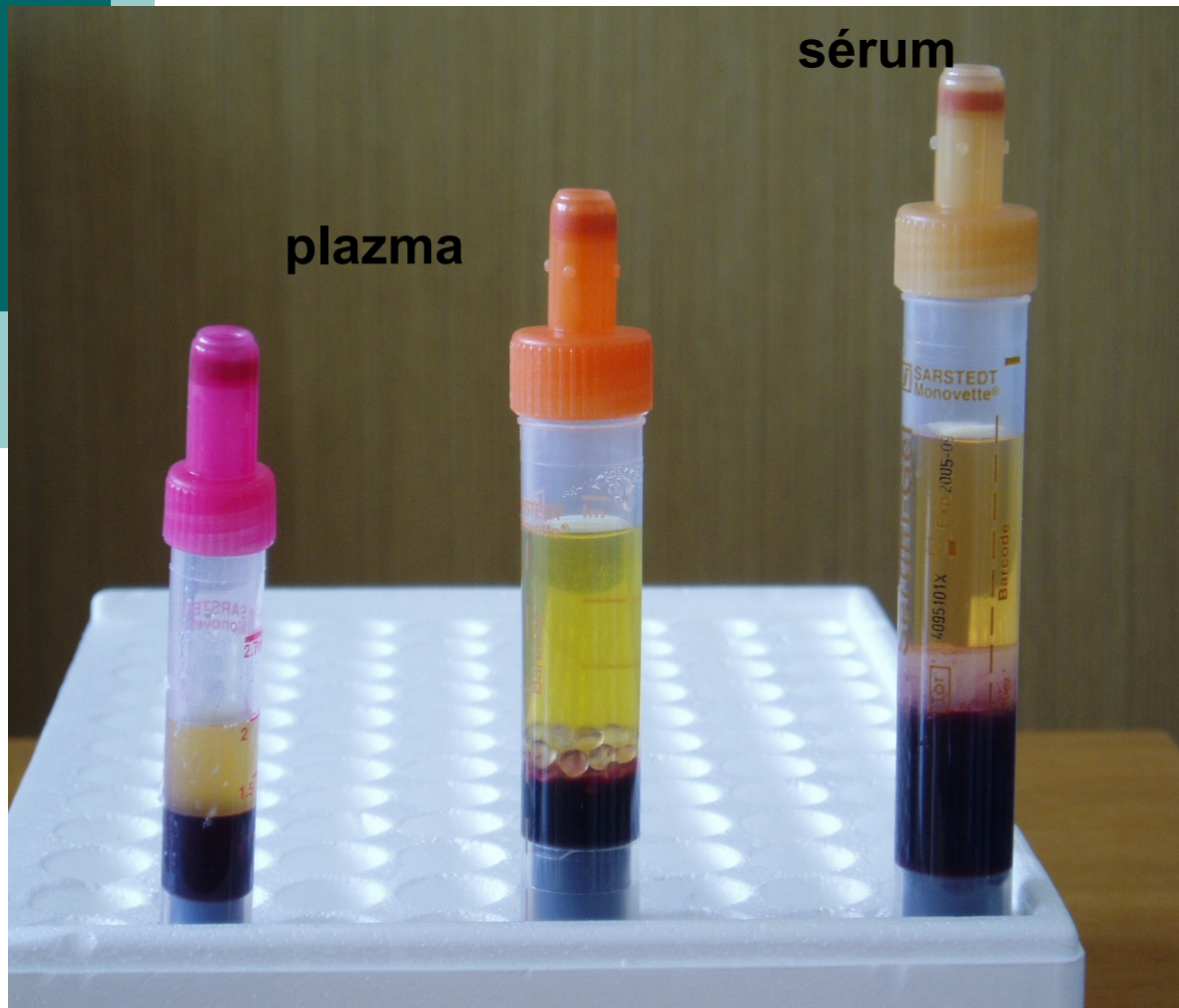
○ **Relativní centrifugační síla-**

vyjadřuje poměr mezi centrifugačním a tíhovým zrychlením (kolikrát se při centrifugaci znásobí tíha částic)

$$\mathbf{R} = r \times \omega^2 / g$$

g- tíhové zrychlení

Centrifugace



**Oddělení krevních
elementů od
plazmy, resp.
krevní sraženiny
od séra**

Centrifugace – zakoncentrování biol. materiálu



**Koncentrační zkumavky
VIVASPIN (Santorius)**

Centrifuga s výkyvným rotorem



- Výkyvný rotor pojme až 32 zkumavek
- Dovoluje až 4400 ot./min, s odstředivou silou $2\ 800 \times g$
- Rozjezd na plné otáčky s plnou zátěží do 26 sekund,
- brždění do 19 sekund

Verze RH: **vyhřívání** a **chlazení** umožňuje přesně stanovit teplotní podmínky v rozpětí -9 až $+42$ °C

Centrifuga s úhlovým rotorem



Specifikace:

- maximální otáčky u úhlového rotoru - 17.500 rpm, 30.130 x g
 - akcelerace do maximálních otáček a brzdění při plném osazení zkumavek do 25 sekund
 - možnost použití adaptérů pro zkumavky 0,5 ml, 0,4 ml a 0,2 ml
 - všechny rotory odolný vůči chemikáliím, autoklávovatelné při 121°C, 20 minut
 - automatický přepočet rpm/RCF stisknutím tlačítka
- k dispozici celkem 8 rotorů,

Ultracentrifuga



- Rozsáhlé příslušenství, umožňující centrifugovat objemy od 0,2 do 30 ml
- Rozsah nastavení teploty: 0 až +40°C
- Automatické rozpoznávání rotorů, imbalanční detektor
- Programování otáček/g, akcelerace, decelerace, času centrifugace, teploty, integrálu
- 9 akceleračních a 9 deceleračních stupňů,

Výkyvné rotory (3 typy):

S55-S

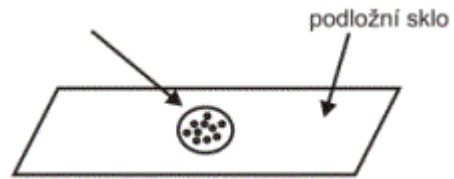
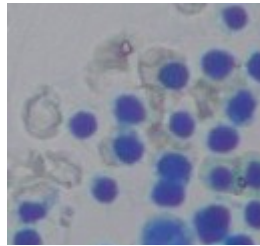
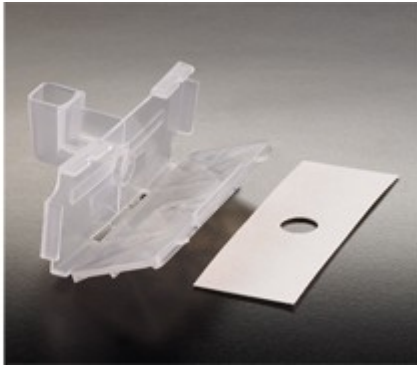
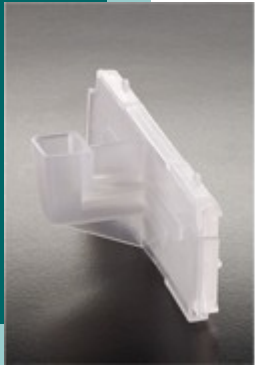
4 x 2,2 ml, 55000 ot./min (258826 x g)

Úhlové rotory (13 typů):

S150-AT

8 x 2 ml, 150000 ot./min (899744 x g)

Cyocentrifugy



Míchačky a třepačky

- Slouží k urychlení rozpouštění substancí při přípravě roztoků
- Pro promíchání obsahu zkumavky
- K důkladnému šetrnému promíchání biologického materiálu (krev, mozkomíšní mok, moč)
- Druhy: třepačka s vibračním pohybem, vibrační třepačka s excentrickým pohybem gumového lůžka (vortex), rotační míchačka s kývavým pohybem...

Míchačka s ohřevem



vortex



Třepačka

Rotační míchačka



Orbitální třepačka na destičky



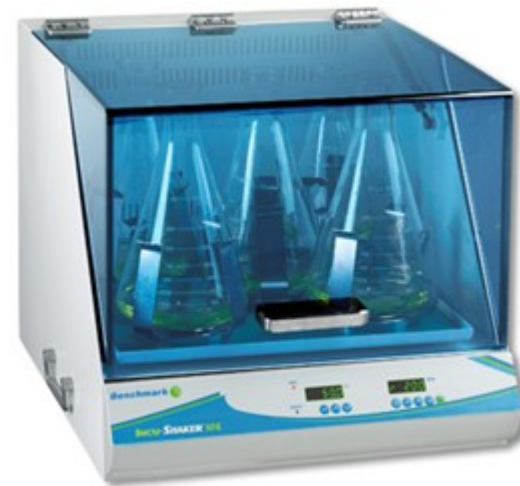
Třepačka na stojánky



Zařízení pro temperování vzorků



Suchá lázeň
teplotní rozsah: +5 °C až 150 °C



Kompaktní inkubátor s třepačkou
rozsah teplot: +5°C až 60°C
rychlost třepání: 30 - 300 rpm

Zařízení pro temperování vzorků



**Vodní lázeň – objem 2, 4, 8, 12 L,
rozsah teplot: +5°C až 100°C
modely 8 a 12 L mají drén na vypouštění vody**

Teploměry

Laboratorní teploměry patří mezi základní pracovní měřidla, která stejně jako pipety podléhají zvláštnímu režimu kalibrace a pravidelných kontrol

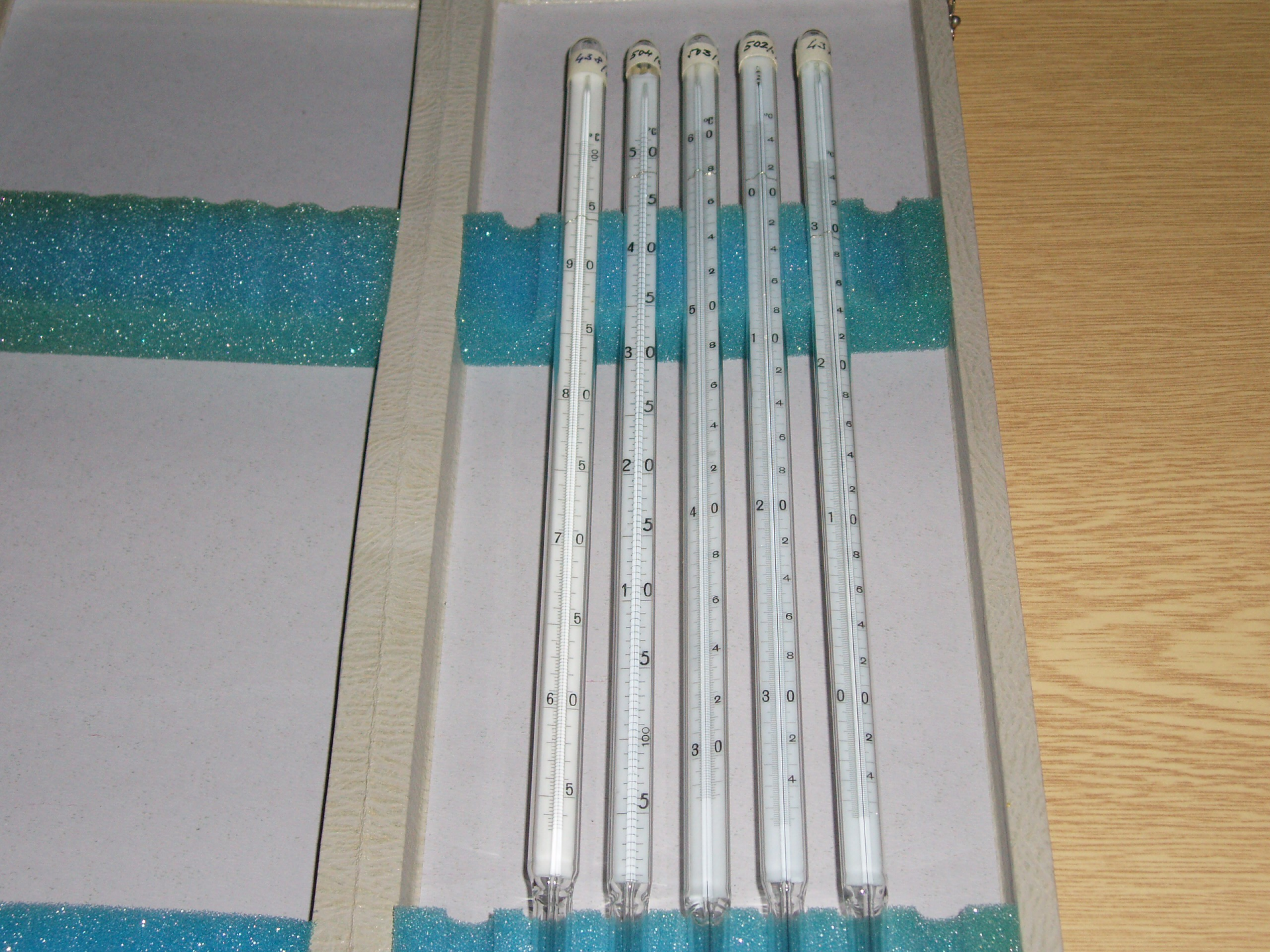
❖ **Rtuťové teploměry**

Princip: objemová změna rtuti v závislosti na teplotě

❖ **Elektrické snímače teploty**

Princip: využívají vlastnosti kovů a polovodičů, u kterých se elektrický odpor mění s teplotou.

Používají se zejména měděné, niklové a platinové vodiče, které vykazují největší přesnost a stabilitu.



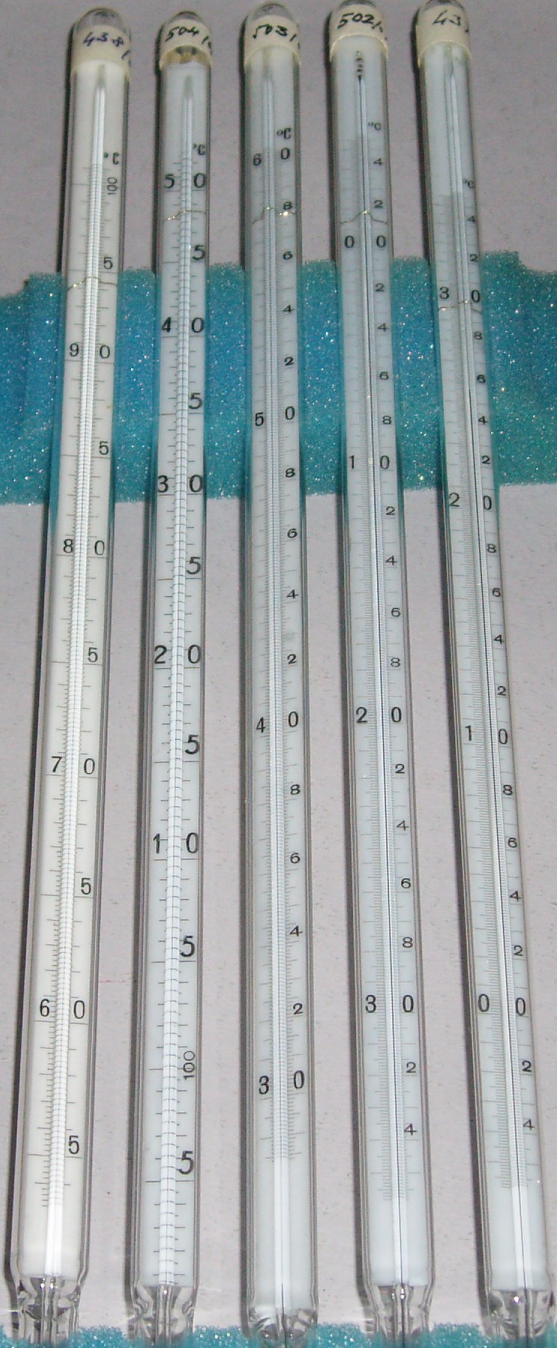
43.8

50.4

17.3

50.2

4.3



Teploměry

Elektrická teplotní čidla – jejich výhodou je možnost převedení signálu do digitální podoby a další elektronické zpracování, což umožňuje soustavné monitorování teploty pomocí počítačového programu

☞ důležité je dodržování doporučeného teplotního režimu při skladování BM nebo reagenčních souprav

☞ Běžné je používání elektronických monitorovacích systémů, kde na centrálním monitoru jsou zobrazeny aktuální informace hodnot z teplotních čidel a systém signalizuje akusticky a graficky překročení povolených teplot

R1 chemik, použ.(L) 1	R2 chem. zásob (L) 2	R3 statim (L) 3	R4 4	
3,9 °C	4,6 °C	3,9 °C	6,7 °C	
3,4 °C	3,6 °C	4,2 °C	6,1 °C	
Lab. Modulář 10	IM1 sety (L) 21	IM22 sety RIA (L) 22	IM3 séra (L) 23	IM 24
25,3 °C	5,2 °C	4,2 °C	4,4 °C	
	4,7 °C	4,3 °C	3,9 °C	
IM13 26	Lab. AxSYM aRIA (P) 31	P1 Elisa (L) 41	P2 BM (L) 42	P3 43
-21,9 °C	26,1 °C	5,9 °C	6,1 °C	
		7,3 °C	6,0 °C	
S1 skřep				

displej
digit. teploměru

větrák pro
nucenou
cirkulaci vzduchu





Děkuji za pozornost
