

Jméno:	
Obor:	Datum provedení:

## TEORETICKÝ ÚVOD

Jednou ze základních operací v biochemické laboratoři je vážení. Ve většině případů právě přesnost a správnost navažovaného množství látky má vliv na výsledek celého experimentu. Váhy jsou citlivá zařízení, a proto s nimi musíme pracovat správně a udržovat je v čistotě. Z tohoto důvodu většinou váhy umísťujeme na speciální váhový stolek mající kamennou vážící desku. Na základě váživosti a citlivosti můžeme laboratorní váhy rozdělit do dvou základních typů – předvážky a analytické váhy.

**Předvážky** jsou zpravidla váhy s váživostí do 200-400 g s přesností na 0.01g. Tyto váhy jsou primárně určeny k navažování výchozích látek pro přípravu roztoků nebo v některých případech k vážení meziproduktů a preparátů.

**Analytické váhy** jsou váhy s váživostí do 200 g a s přesností na 0.0001g. Tyto váhy používáme pro velmi přesná navažování látek nebo pro navažování velmi malých množství látek (<0.1g).



Ukázka předvážek (A) a analytických vah (B)

V současné době se již v laboratoři převážně setkáváme s elektronickými vahami, jejichž hlavní výhodou oproti klasickým mechanickým je snadná obsluha a nenáročná údržba. Elektronické váhy jsou vybaveny buď externí nebo interní kalibrací a kromě standardních funkcí zahrnujících táru, vážení v hmotnostních procentech nebo postupné dovažování obsahují i funkce jako počítání kusů, volitelné váhové jednotky anebo statistické výpočty. Základními vlastnostmi vah jsou:

## INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Úloha č.2  
Vážení

- **Váživost** – udává maximální dovolené zatížení vah
- **Přesnost** – udává nejmenší váhový rozdíl, který může být vahami přesně a správně stanoven
- **Citlivost** – udává poměr výchytky ukazatele vah k přivažku, který výchytku způsobil

Pro vážení látek na vahách musíme používat pomůcky určené k navažování - hodinové sklo – pouze na vážení na předvážkách, skleněná nebo porcelánové lodička a váženka. Váženou látku nabíráme laboratorní lžičkou (předvážky) nebo špachtlí na práškové materiály (analytické váhy).

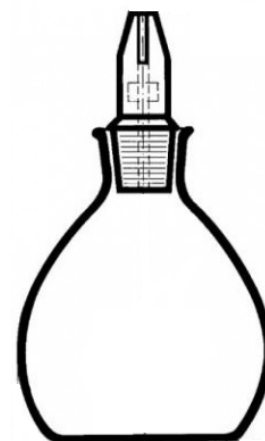
Při vážení můžeme použít dva základní způsoby, **přímé vážení** nebo tzv. **diferenční vážení**. Přímý způsob vážení je vhodný pro látky na vzduchu stabilní a používá se vždy při přípravě roztoků o přesné koncentraci. Při diferenčním vážení se látka naváží přesně na čtyři desetinná místa, ale její množství se může pohybovat v určitém rozmezí.

Hustota  $\rho$  homogenní látky je definována jako podíl její hmotnosti  $m$  a jejího objemu  $V$ :

$$\rho = \frac{m}{V} \text{ (kg.m}^{-3}\text{)} \quad (1)$$

Hustota látek závisí na teplotě a tlaku, avšak u látek kapalných se uvažuje pouze vliv teploty, protože vliv tlaku je vzhledem k malé stlačitelnosti těchto látek zanedbatelný. Pokud chceme stanovit hustotu látky podle vzorce (1), musíme stanovit její přesnou hmotnost a objem. Hmotnost látky stanovujeme vždy vážáním a objem u kapalných látek můžeme určit přímým měřením jejích objemů v kalibrovaných nádobách. Přímé měření objemu bývá však často málo přesné a proto se častěji pro zjištění objemu používá nepřímých metod stanovujících objem kapaliny vážáním látky o známé hustotě. Stejnost objemů se u kapalin realizuje pomocí pyknometru.

Princip pyknometru je založen na tom, že při úplném naplnění a uzavření zátkou s kapilárou pojme vždy stejný, snadno



Pyknometr podle  
Gay-Lussaca

## INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Úloha č.2  
Vážení

reprodukovatelný objem kapaliny. Přesná reprodukovatelnost objemu kapaliny v pyknometru je dána jednak velmi úzkou kapilárou v zátce pyknometru a jednak tím, že se pyknometr plní nadbytečným množstvím kapaliny, přičemž kapalina přebývající nad požadovaný výsledný objem z pyknometru po uzavření vyteče.

## PRAKTICKÁ ČÁST

### **A. Stanovení hustoty kapalné látky**

#### Postup práce:

1. Zvážíme prázdný suchý pyknometr (hmotnost  $m_1$ ).
2. Pyknometr naplníme až po okraj destilovanou vodou a zazátkujeme, přičemž přebytečná kapalina vystříkne otvorem v zátce. Pyknometr velice pečlivě osušíme tamponem a zvážíme (hmotnost  $m_2$ ).
3. Z pyknometru vylijeme destilovanou vodu a propláchneme pyknometr kapalinou o neznámé hustotě ( $\rho_k$ ).
4. Pyknometr naplníme až po okraj kapalinou o neznámé hustotě a zazátkujeme, přičemž přebytečná kapalina vystříkne otvorem v zátce. Pyknometr velice pečlivě osušíme tamponem tak, abychom neodsáli roztok z kapiláry, a zvážíme (hmotnost  $m_3$ ).
5. Hustotu měřené kapaliny získáme pomocí vztahu (2), kdy teploty měřené a srovnávací kapaliny se nesmějí lišit více než o 2 °C. Hustota destilované vody při 20°C je 998,205 kg.m<sup>-3</sup>( $\rho_v$ ).

$$\rho = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \rho_v \quad (2)$$

Výsledky:

$m_1$ (g)	$m_2$ (g)	$m_3$ (g)	$\rho_k$ (kg.m <sup>-3</sup> )	Kapalina <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Na základě známých hustot uveďte, o kterou kapalinu se jedná

**A. Kalibrace Pipet**

Pokud se běžná laboratorní pipeta používá správně, měla by dávkovat kapaliny s dobrou přesností a správností. V rámci tohoto experimentu zjistíme přesnost a správnost pipet pro objemy 10-100 ul a 100-1000 ul. Všechny zmíněné parametry pipety budeme stanovovat pomocí analytických vah, kdy budeme stanovovat přesnou hmotnost dávkované kapaliny. Na základě známé hustoty destilované vody (998,205 kg.m<sup>-3</sup>) následně určíme dávkované objemy. Kalibrace pipety se provádí při třech různých dávkovaných objemech:

- Nejmenším možným dávkovaném objemu (10 ul respektive 100 ul)
- Nejvyšším možným dávkovaném objemu (100 ul respektive 1000 ul)
- Středním dávkovaném objemu (50 ul respektive 500 ul)

Každé měření provádíme 5x, kdy z naměřených hodnot následně vypočteme chybu pipety a směrodatnou odchylku v jednotlivých dávkovaných objemech.

Postup práce:

1. Vezměte čistou a suchou váženku a položte ji na misku analytických vah.
2. Váhy vytárujte.
3. Na váženku napipetujte stanovované množství destilované vody a zvažte ho s přesností na desetiny miligramu ( $\pm 0.0001$ ).

## INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Úloha č.2  
Vážení

4. Váhy vytárujte a na váženku znovu napipetujte stejné množství destilované vody jako v bodě 3. a zvažte ho s přesností na desetiny miligramu ( $\pm 0.0001$ ).
5. Opakujte bod 4, dokud nedostanete tři hodnoty.
6. Poté váženku omyjte, vysušte a pokračujte od bodu 1 s dalším stanovovaným množstvím destilované vody.

Výpočty:

Objem můžete vypočítat ze známé hustoty vody ( $998,205 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ ). Abyste dostali zcela přesné hodnoty, musíme ještě provést korekci naměřené váhy na vztlak vzduchu působící na kapalinu během vážení. V případě destilované vody činí tento koeficient 1.06 mg na každý navážený gram.

1. Vypočítejte průměry z pěti naměřených hodnot ( $V_i$ ) a proveďte korekci na vztlak vzduchu.
2. Pomocí vztahu (1) vypočítejte průměrné objemy ( $\bar{V}$ ).
3. Okomentujte správnost pipety na základě zjištěných hodnot.
4. Následně pro určení přesnosti pipety vypočítejte směrodatnou odchylku dle vztahu (3).

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (V_i - \bar{V})^2}{N-1}} \quad (3)$$

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Úloha č.2  
Vážení

Výsledky:

Objem (ul)	$m_{\text{vody}}/\text{mg}$	$V_i \text{ vody (ul)}$	$\bar{V} \text{ (ul)}$	$V_i - \bar{V} \text{ (ul)}$	$(V_i - \bar{V})^2$	s
<b>Pipeta 10-100 ul</b>						
<b>10</b>						
<b>50</b>						
<b>100</b>						

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Úloha č.2  
Vážení

Objem (ul)	$m_{\text{vody}}/\text{mg}$	$V_i \text{ vody (ul)}$	$\bar{V} \text{ (ul)}$	$V_i - \bar{V} \text{ (ul)}$	$(V_i - \bar{V})^2$	s
<b>Pipeta 100-1000 ul</b>						
<b>100</b>						
<b>500</b>						
<b>1000</b>						

Okomentujte správnost a přesnost pipet: