

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Přírodovědecká fakulta

**Příprava workshopu pro žáky středních škol na téma  
stanovení vápníku a hořčíku ve vodě**

Diplomová práce

**Bc. Nela Pazderková**

Školitelka: Ing. Pavla Fojtíková, Ph.D.

Konzultant: Ing. David Kahoun, Ph.D.

České Budějovice 2023

Pazderková, N., 2023: Příprava workshopu pro žáky středních škol na téma stanovení vápníku a hořčíku ve vodě. [Preparation of a workshop for highschool students on the determination of calcium and magnesium in water. Mgr. Thesis, in Czech.] – 74 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

### **Anotace**

This thesis deals with the determination of calcium and magnesium in water by atomic absorption spectrometry and chelatometric titration. Both methods were implemented, optimized and validated in the laboratory for the workshop and the Researchers' Night. Under the guidance of university students, highschool students participated in the workshop. With the help of prepared materials (workflows and worksheets), they tried to determine the calcium and magnesium concentration in drinking water samples using both methods. Furthermore, additional tasks were prepared and tested to explain the function of buffer solutions, the possibilities of proof of ions in solutions and the "new" nomenclature of inorganic chemistry according to IUPAC. A wide range of people participated in the Researchers' Night. They had an opportunity to determine the total hardness in various mineral waters or tap water by chelatometric titration. They used a prepared table to determine the concentration of calcium and magnesium in a selected water sample. They were also able to test the proof reactions of both cations and were able to observe the dissolution of soap in soft and hard water.

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracovala pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích 13. 4. 2023

Bc. Nela Pazderková



**Klíčová slova**

Tvrdost vody, hořčík, vápník, atomová absorpční spektrometrie, chelatometrická titrace, workshop, Noc vědců.

**Key words**

Water hardness, magnesium, calcium, atomic absorption spectrometry, chelatometric titration, workshop, Researchers' Night.

### **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala školitelce mé diplomové práce Ing. Pavle Fojtíkové, Ph.D. a konzultantovi diplomové práce Ing. Davidu Kahounovi, Ph.D. za odborné vedení, poskytnuté rady, trpělivost, ochotu kdykoliv pomoci, motivaci v průběhu celé práce a zkušenosti, které jsem díky této práci získala.

Dále bych ráda poděkovala zúčastněným žákům z Gymnázia Trhové Sviny, žákovi, který na Přírodovědecké fakultě vykonával praxi, Hydrobiologickému ústavu AVČR za zprostředkování srovnávacího měření a paní laborantce Evě Švejdové za přípravu laboratoře a zapůjčené materiály.

Ráda bych také poděkovala své rodině, přátelům a blízkým za velkou podporu a pomoc.

## CÍLE PRÁCE

1. Zavedení metody pro stanovení vápníku a hořčíku ve vodě pomocí atomové absorpční spektrometrie
2. Zavedení metody pro stanovení vápníku a hořčíku ve vodě titračně
3. Zpracování tématu formou „workshopu“ pro studenty středních škol:
  - a. Příprava jednotlivých laboratorních úloh tematicky souvisejících se stanovením vápníku a hořčíku ve vodě
  - b. Příprava materiálů k jednotlivým úlohám, jejich publikace na www stránkách
  - c. Realizace workshopu s konkrétními studenty
  - d. Zpětná vazba od účastníků programu a její reflexe

## OBSAH

1	ÚVOD.....	1
2	TEORETICKÁ ČÁST .....	2
2.1	Tvrdá voda.....	2
2.1.1	Vápenaté a hořečnaté ionty ve vodě.....	2
2.1.2	Negativní důsledky měkké a tvrdé vody .....	3
2.1.3	Fyziologický vliv koncentrace Ca a Mg na lidský organismus.....	4
2.2	Vápník .....	5
2.2.1	Historie .....	5
2.2.2	Fyzikální a chemické vlastnosti.....	5
2.2.3	Výskyt.....	5
2.2.4	Příčiny nedostatku vápníku v lidském těle.....	6
2.3	Hořčík .....	6
2.3.1	Historie .....	6
2.3.2	Fyzikální a chemické vlastnosti.....	6
2.3.3	Výskyt.....	7
2.3.4	Příčiny nedostatku hořčíku v lidském těle.....	7
2.4	Kvantitativní analýza.....	7
2.4.1	Historie stanovení tvrdosti vody.....	7
2.4.2	Atomová absorpční spektrometrie.....	9
2.4.3	Postupy chelatometrického stanovení tvrdosti vody .....	9
2.4.4	Rušivé vlivy ovlivňující chelatometrické stanovení.....	11
3	MATERIÁL A METODY .....	12
3.1	Atomová absorpční spektrometrie.....	12
3.1.1	Použité chemikálie.....	12
3.1.2	Instrumentální vybavení, spotřební materiál a software.....	12
3.1.3	Příprava roztoků standardů a reálných vzorků .....	12
3.1.3.1	Příprava zásobních roztoků.....	12

3.1.3.2	Příprava pracovních roztoků.....	13
3.1.3.3	Příprava směsného pracovního roztoku.....	13
3.1.3.4	Příprava kalibračních roztoků.....	13
3.1.3.5	Příprava slepého vzorku .....	14
3.1.3.6	Příprava reálných vzorků.....	14
3.2	Chelatometrická titrace.....	15
3.2.1	Použité chemikálie.....	15
3.2.2	Instrumentální vybavení a spotřební materiál .....	16
3.2.3	Příprava roztoků a indikátorové směsi .....	16
3.2.3.1	Chlorid vápenatý.....	16
3.2.3.2	Chelaton 3.....	17
3.2.3.3	Pufrační roztok.....	17
3.2.3.4	Hydroxid draselný .....	17
3.2.3.5	Indikátorová směs.....	17
3.2.4	Postupy stanovení.....	17
3.2.4.1	Standardizace Chelatonu 3 .....	17
3.2.4.2	Celková tvrdost vody.....	18
3.2.4.3	Obsah vápníku ve vodě.....	18
3.2.4.4	Obsah hořčíku ve vodě .....	18
3.2.4.5	Slepé stanovení .....	18
3.2.4.6	Analyzované vzorky .....	18
4	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	19
4.1	Atomová absorpční spektrometrie.....	19
4.1.1	Poloha výbojky s dutou katodou .....	20
4.1.2	Vertikální a horizontální poloha hořáku.....	20
4.1.3	Validace analytické metody .....	21
4.1.3.1	Linearita.....	21
4.1.3.2	Přesnost a správnost.....	21

4.1.3.3	Rozsah.....	22
4.1.3.4	Mez detekce a mez stanovitelnosti .....	22
4.1.3.5	Výsledné podmínky metody .....	23
4.2	Chelatometrická titrace.....	23
5	WORKSHOP.....	27
5.1	Didaktická část .....	27
5.1.1	Program workshopu.....	27
5.1.2	Pracovní listy a pracovní postupy.....	27
5.2	Praktická část.....	28
5.3	Hodnocení workshopu .....	29
6	NOC VĚDCŮ .....	31
7	ZÁVĚR.....	33
8	CITOVANÁ LITERATURA .....	34
9	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....	38
10	PŘÍLOHY .....	39
10.1	Příloha A – linearita vápník.....	39
10.2	Příloha B – linearita hořčík.....	41
10.3	Příloha C – mez detekce a mez stanovitelnosti vápník .....	43
10.4	Příloha D – mez detekce a mez stanovitelnosti hořčík.....	44
10.5	Příloha E – zadání (workshop) .....	45
10.6	Příloha F – pracovní list (workshop).....	53
10.7	Příloha G – zadání „Důkazové reakce“ .....	66
10.8	Příloha H – zadání + řešení „Názvosloví“ .....	67
10.9	Příloha I – fotografie z workshopu .....	69
10.10	Příloha J – dotazník .....	71
10.11	Příloha K – tabulky koncentrací pro danou spotřebu Chelatonu 3.....	72
10.12	Příloha L – fotografie z Noci vědců .....	73

# 1 ÚVOD

Neustále dochází k vývoji lidské společnosti, mění se způsoby užívání a využívání vody, které jsou též dány teritoriálními a klimatickými podmínkami. Dostatek vody, zejména pitné, představuje pilíř podmiňující existenci života. Již několik desetiletí se stala dodávka pitné vody pro přibližně 75 % populace světa samozřejmostí, čas od času však dojde k výpadku dodávky, způsobené např. havárií nebo kontaminací nebezpečnými látkami. Vlivem oteplování planety dochází k úbytku vody a zvyšuje se tak pravděpodobnost výskytu války o vodu. Pitná voda ve vyspělých zemích musí splňovat přísná kritéria, je neustále sledována dle platné legislativy. Kromě laboratorních analýz vzorků je kvalita vody sledována řadou kontinuálních analyzátorů a vyhláškou jsou stanoveny hygienické limity. Voda může svými vlastnostmi ovlivňovat i kvalitu pokrmů a cenu, za kterou jsme schopni pokrm připravit.

Čím dál více se lidé zajímají o parametry kvality pitné vody, mezi které se řadí i tvrdost vody a s ní související obsah vápníku a hořčíku, pH, teplota, obsah  $\text{CO}_2$  a další. Tyto vlastnosti mohou pozitivně ale i negativně ovlivnit nejen životy všech organismů, účinnost mycích přípravků, ale také životnost spotřebičů. Tvrdost vody lze stanovit několika způsoby, které se liší rychlostí stanovení a cenou, jako příklady lze uvést stanovení fotometricky, pomocí testovacích proužků, spektrofotometricky, potenciometricky pomocí selektivních elektrod (ISE), iontovou chromatografií anebo titrační (chelatometrickou) metodou.

Tématem diplomové práce je stanovení tvrdosti vody ve vybraných vzorcích pitné, minerální, či užitkové vody odebrané na různých místech v České republice. Práce je zaměřena na přípravu workshopu pro žáky středních škol. Workshopu předcházela teoretická příprava žáků, následoval laboratorní program ve vysokoškolských laboratořích. Na závěr workshopu proběhlo shrnutí s poskytnutím zpětné vazby a vyhodnocením výsledků. Žáci si vyzkoušeli, jakými metodami lze stanovit tvrdost vody, funkci tlumivého roztoku, důkazové reakce vápenatých a hořečnatých iontů a také měli možnost seznámit se a procvičit „nové“ názvosloví anorganické chemie dle IUPAC. Zpracované materiály k daným úlohám byly žákům zaslány před samotným workshopem a jsou k nahlédnutí na webu [prirodoveda.cz](http://prirodoveda.cz), kde je připravena platforma pro workshopy.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Tvrdá voda

Pojem tvrdá voda není přesný a používá se spíše z tradičních důvodů. Tvrdá voda je voda s vysokým obsahem minerálních látek, zejména iontů vápníku a hořčíku, kdy jsou tedy chybně přisuzovány stejné chemické i biologické vlastnosti oběma prvkům. Přesněji je tvrdost vody vyjádřena koncentrací všech vícemocných kationtů kovů alkalických zemin. Kromě sumy vápenatých a hořečnatých iontů k výsledné koncentraci tvrdosti vody přispívá i obsah hliníku, manganu, zinku, barya, stroncia a železa. V případě, že se jedná pouze o koncentraci vápníku a hořčíku jsou výsledky uvedeny dle normy v mmol/l. Často se však vyskytují i starší jednotky a to např. stupně německé ( $^{\circ}\text{N}$ , příp.  $^{\circ}\text{dH}$ ), které můžeme vidět v návodech k myčkám, pračkám atd. Existují i další jednotky a to francouzské ( $^{\circ}\text{F}$ , příp.  $^{\circ}\text{fH}$ ), americké ( $^{\circ}\text{amer}$ ) nebo anglické ( $^{\circ}\text{angl}$ ). Pozitiva nebo negativa, která způsobuje tvrdá voda však nejsou ve většině případů závislá na celkové koncentraci prvků, ale jen na vyšší koncentraci jednoho z prvků [1–3].

Voda se dle množství rozpuštěných iontů vápníku a hořčíku člení do několika skupin, jak je uvedeno v Tab. 1. V tabulce jsou uvedeny hodnoty klasifikace vody podle celkové tvrdosti pro základní jednotky. Pro převody mezi jednotlivými jednotkami pak platí:  $1 \text{ mmol/l} = 5,6 \text{ }^{\circ}\text{dH} = 7,02 \text{ }^{\circ}\text{angl} = 10 \text{ }^{\circ}\text{fH} = 100 \text{ }^{\circ}\text{amer}$  [4].

Tab. 1: Klasifikace vody podle celkové tvrdosti [4]:

Označení vody	[mmol/l]	$^{\circ}\text{dH}$	$^{\circ}\text{fH}$
velmi měkká	< 0,7	< 3,9	< 7,0
měkká	0,70–1,25	3,9–7,0	7,0–12,5
středně tvrdá	1,26–2,50	7,01–14,00	12,60–25,00
tvrdá	2,51–3,75	14,10–21,00	25,10–37,50
velmi tvrdá	> 3,75	> 21,00	> 37,50

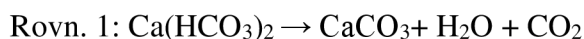
#### 2.1.1 Vápenaté a hořečnaté ionty ve vodě

Vápenaté a hořečnaté ionty se dostávají do vody z přírodních zdrojů anebo činností člověka čili antropogenně. V přírodě jsou oba prvky zastoupeny velmi hojně, většinou ve formě minerálů např. uhličitanu vápenatého ( $\text{CaCO}_3$ ), uhličitanu hořečnatého ( $\text{MgCO}_3$ ),



magnezitu a dalších. Do vody, která funguje jako rozpouštědlo, se tyto ionty dostávají vlivem rozpouštění minerálů. Ve vodách se nachází v podobě dvoumocných kationtů vápníku a hořčíku. Ve většině vod převažuje vápník nad hořčíkem. Pro mineralizované vody je typická přítomnost iontových asociátů, které mohou ovlivňovat dosažitelné zbytkové koncentrace vápníku a hořčíku. Vyšší koncentrace hořečnatých iontů se nachází ve známých minerálních vodách, jako je Magnesia nebo Šaratica [2].

Často se tvrdá voda rozděluje na trvalou a přechodnou, tj. uhličitánovou dle rozpustnosti nerostů. Odstraňování přechodné tvrdosti vody je jednodušší, protože přechodná tvrdost vody je způsobena ionty vápníku a hydrogenuhličitanu ve vodě, které lze odstranit povařením. Přechodná voda obsahuje rozpuštěné hydrogenuhličitanu (rovn.1). Po převaření vzniká bílý nerozpustný uhličitán vápenatý, vodní (kotelní) kámen. Naopak trvalá tvrdost vody je obvykle způsobena sírany, chloridy, dusičnany nebo křemičitany vápenatými (rovn. 2) či hořečnatými, které se s rostoucí teplotou stávají rozpustnější a nelze je proto odstranit varem. Odstraňují se destilací, čímž získáme čistou vodu, bez solí. Změkčení lze také docílit pomocí iontoměniče. Ten funguje na základě iontové výměny, při které dochází k výměně iontů vápníku a hořčíku za ionty sodíku nebo draslíku. Změkčovače však ztrácí svoji účinnost a je třeba je obnovovat, to se provádí pomocí průchodu koncentrovaného roztoku solanky, při kterém dojde opět k iontové výměně. Většina soli, použité při obnově změkčovače, se ale v průběhu dostane ze systému a uvolní se do půdy, což může mít negativní vliv na životní prostředí [5].



### 2.1.2 Negativní důsledky měkké a tvrdé vody

Nižší koncentrace vápenatých a hořečnatých iontů, tedy měkká voda může způsobovat korozi trubek a povrchů. Naopak vyšší hodnota koncentrace těchto iontů ve vodě může zhoršovat sensorické vlastnosti pitné vody. Jedná se především o tvorbu povlaku na hladině kávy nebo čaje, snižuje se obsah aromatických látek v jídlech a nápojích vyvázáním na uhličitán vápenatý. Kvůli vyvázání uhličitánu vápenatého se jídlo vaří déle. Vyšší koncentrace, především vápníku, způsobuje technické problémy, a to konkrétně tvorbu inkrustací, které snižují životnost potrubí. Tento jev se přisuzuje vápníku, jelikož jeho soli jsou méně rozpustné než odpovídající soli hořečnaté. Dále se uvádí, že vyšší koncentrace vápenatých a hořečnatých iontů způsobuje sníženou účinnost pracích a mycích prostředků,

což je znázorněno na obrázku (Obr.1) [1; 2]. Z chemického hlediska je mýdlo sodnou solí vyšší karboxylové kyseliny a obsahuje tedy i kationt sodíku, který může být ve vodě lehce nahrazen hořečnatými či vápenatými ionty. Tím se změní povaha mýdla z dobře rozpustného na sloučeninu obtížně rozpustnou. Tato sloučenina se ve vodě sráží do jemných vloček a netvoří se pěna.

Vyšší koncentrace vápníku ve vodě podporuje růst bakterií, a to především smrtelně nebezpečné gramnegativní bakterie *Legionella pneumophila*. *L. pneumophila* žije mimo jiné ve vodním prostředí a po jejím vdechnutí může způsobit pneumonické onemocnění. Ideální podmínky pro množení této bakterie jsou části rozvodů teplé vody (25–42 °C) v místech, kde voda dostatečně neproudí a tvoří se usazeniny. Při teplotách vyšších než 63 °C bakterie nepřežije. Na zničení bakterie se využívají termodezinfekce nebo chemické dezinfekce [6; 7].



Obr. 1: Znázornění chování mýdla v destilované vodě (vlevo) a minerální vodě Magnesia (vpravo).

### 2.1.3 Fyziologický vliv koncentrace Ca a Mg na lidský organismus

Legislativa nestanovuje limit tvrdosti vody, pouze uvádí doporučenou hodnotu 2,0–3,5 mmol/l. Koncentrace vápníku by měla být minimálně 40–80 mg/l (0,99–1,99 mmol/l) a hořčíku 20–30 mg/l (0,82–1,23 mmol/l). Negativní účinky zvýšené koncentrace těchto iontů v pitné vodě nebyly jednoznačně prokázány. Uvádí se, že vyšší obsah hořečnatých iontů při současném vysokém obsahu síranů může způsobit průjmové onemocnění. V oblastech, kde tvrdost pitné vody překročila 5 mmol/l byl prokázán vyšší výskyt cholelitiázy, urolitiázy, artrózy a artopatií oproti oblastem s měkčí vodou. Tvrdá voda při vnějším užití vysušuje pokožku, což může mít vliv na tvorbu ekzémů [1]. Naopak měkká voda způsobuje ztrátu

mnohých esenciálních prvků z organismu. Podrobněji jsou negativní účinky měkké vody popsány dále v textu.

## **2.2 Vápník**

### **2.2.1 Historie**

Historie objevu vápníku spadá již do dávného starověku. O první izolaci kovů alkalických zemin se zasloužil roku 1808 anglický chemik Humphry Davy. Na izolaci vápníku využil elektrolýzu tavenin kovů alkalických zemin. Další významný rok spjatý s vápníkem je rok 1905, kdy Camille Delezenne popsal roli vápníku při srážení krve [8; 9]. V několika následujících letech byla zjištěna řada biologických funkcí, jako je řízení mnoha buněčných procesů např. metabolismu, proliferace, sekrece nebo kontrakce [8]. Kromě těchto procesů byly zjištěny biogenní vlastnosti např. přítomnost vápníku v kostech, zubech a nervech [10].

### **2.2.2 Fyzikální a chemické vlastnosti**

Vápník se řadí mezi nejvýznamnější prvky kovů alkalických zemin a je velmi měkký, stříbrolesklý, snadno tavitelný s teplotou tání nižší než 1000 °C. Na vzduchu se pokrývá vrstvičkou oxidu, proto se uchovává pod inertním rozpouštědlem. Nízká hodnota ionizační energie (6,113 eV) je dána velkým atomovým poloměrem (197 pm) a nízkou hodnotou elektronegativity (1,00). Vápník se řadí mezi neušlechtilé kovy s velmi nízkým redoxním potenciálem (-2,868 V) [11].

### **2.2.3 Výskyt**

Vápník je velmi zastoupeným prvkem zemské kůry a prvkem na zemi. V přírodě se kvůli své poměrně vysoké reaktivitě vyskytuje pouze vázaný ve sloučeninách. Nachází se v mnoha nerostech jako je např. uhličitan vápenatý ( $\text{CaCO}_3$ ), který je součástí vaječných skořápek, lastur, korálů, plakoidních šupin nebo kostí a zubů. Dalším známým nerostem je mramor, křída a travertin. Významnou sloučeninou je uhličitan vápenatý, který se podílí na vzniku krápníku v krasových jeskyních [12–16].

Kromě přirozeného výskytu v přírodě je vápník používán jako minerální složka krmiv pro zvířata, ve formě vápna ve stavebnictví, v zemědělství při hnojení atd.

#### **2.2.4 Příčiny nedostatku vápníku v lidském těle**

Snížená koncentrace vápníku v krvi (hypokalcemie) může nastat během těhotenství, při nádoru štítné žlázy, popáleninách, Addisonově nemoci, chronických onemocněních jater, onemocněních ledvin, při nedostatku hořčíku nebo vitamínu D, který zvyšuje a reguluje resorpci vápníku ze střeva. Často se nedostatek vápníku objevuje po masivních krevních transfuzích. Nedostatek vápníku se projevuje např. ztrátou paměti, celkovou slabostí, průjmem, suchou pokožkou, depresemi, svalovými křečemi, brněním jazyka a rtů nebo výrazným zhoršením zraku. Deficitem vápníku jsou ohroženy zejména děti ve fázi rychlého růstu, těhotné ve 3. trimestru, starší lidé, nebo lidé s malým příjmem potravy [9; 10].

Zvýšená potřeba vápníku je při nadměrném příjmu alkoholu, kouření, zvýšeném příjmu soli, při konzumaci kofeinu, při příjmu kyselinotvorných potravin (cukr, bílá mouka, nápoje typu Coca - Cola) či při konzumaci šumivých nealkoholických nápojů [9].

### **2.3 Hořčík**

#### **2.3.1 Historie**

Jako první se o hořčíku zmínil v roce 1695 Nehemiah Grew, který izoloval hořečnaté soli z hořce (tzv. hořké soli). Roku 1808 vyizoloval čistý hořčík Humphry Davy. A v následujících letech dochází k mnoha významným objevům, které jsou spjaty s výzkumem různých vlastností hořčíku. Za zmínku ještě stojí rok 1926, ve kterém český profesor J. Bečka zavedl do humánní medicíny přípravek Polysan, který se užíval lokálně především v kožním lékařství v podobě 13 % masti hydroxidu hořečnatého a v podobě 1 % roztoku byl nemocným podáván žilně [17; 18].

#### **2.3.2 Fyzikální a chemické vlastnosti**

Hořčík se v současnosti považuje za nejlehčí prvek používaný pro konstrukční účely, kromě lehkosti se pyšní také střední tvrdostí a stříbrolesklou barvou a řadí se mezi významné prvky kovů alkalických zemin. Díky své dobré tažnosti lze hořčík snadno válcovat na plechy. Teplota tání (uvádí se 650 °C) je o něco nižší, než u vápníku. Hořčík je zařazen mezi kovy alkalických zemin stejně jako vápník a nachází se ve skupině nad ním. Stejně jako vápník se na vzduchu pokrývá vrstvičkou oxidu, která slouží jako ochranná vrstva hořčíku před další oxidací. Hodnota ionizační energie se uvádí 4,64 eV, která je dána atomovým poloměrem (160 pm) a nízkou hodnotou elektronegativity (1,20). Hořčík není tolik reaktivní jak ostatní

kovy alkalických zemin, ale velmi dobře se mísí s jinými kovy. Vzniklé slitiny však nemají široké praktické využití, jelikož se většina snadno oxiduje [11].

### 2.3.3 Výskyt

Hořčík je hojně zastoupený v zemské kůře a ve vesmíru. V přírodě se stejně jako vápník kvůli poměrně vysoké reaktivitě vyskytuje pouze vázaný ve sloučeninách. Nachází se v mnoha nerostech jako je např. dolomit  $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ , nebo magnezit  $\text{MgCO}_3$ .

Hořčík se také vyskytuje v lidském těle, kde funguje jako intracelulární kationt. Významně se podílí na zprostředkování signálu na postsynaptické membráně např. nervosvalovém zakončení [18].

### 2.3.4 Příčiny nedostatku hořčíku v lidském těle

Nedostatek hořčíku v krvi je nejčastěji způsoben zvýšeným vylučováním ledvinami, což může být ovlivněno onemocněním ledvin, *diabetes mellitus*, ztrátou hořčíku do dialyzační tekutiny, příjmem kofeinu nebo deficitem vitamínu B6 [18].

Jak je obecně známo, tak půda, která se využívá na pěstování potravin, je stále chudší na některé minerály a jedním z nich je právě hořčík. Proto v lidském organismu dochází k deficitu hořčíku. Příčiny deficitu jsou způsobené dlouho trvajícím nízkým příjmem hořčíku, anorexií, dlouhotrvajícími průjmy a zvracením, nebo např. alkoholismem. Zvýšená potřeba hořčíku je třeba během těhotenství, v době laktace, během intenzivního prolongovaného stresu, při nadměrném pocení, během menstruace nebo píštěle [18].

## 2.4 Kvantitativní analýza

V dnešní době je ke stanovení tvrdosti vody využíváno mnoho analytických metod. V této části jsou shrnuty metody stanovení tvrdosti vody od raných počátků až do současnosti. Dále jsou porovnány různé postupy pro stanovení vápníku a hořčíku pomocí atomové absorpční spektrometrie a chelatometrické titrace.

### 2.4.1 Historie stanovení tvrdosti vody

Již řadu let mají lidé zájem o jakost vody, která se zkoumala zejména v minerálních vodách. Minerální vody byly zkoumány především pro své organoleptické a léčebné vlastnosti. Chemickým složením vod se zabývá hydrochemie. O rozvoj tohoto oboru se zasloužila balneologie, nauka o léčivých vodách a jejich účincích na lidský organismus.

V rámci hydrochemie jsou sledovány veškeré vlivy na chemické složení, vlastnosti a jakost vody. Pan Berzelius analyzoval v první polovině 19. století několik minerálních vod. Jeho postupy se řadu let neměnily a dodnes se považují za nejpřesnější metody. Mezi takovou metodu patří i metoda Thomase Clarka, který se zasloužil o první stanovení tvrdosti vody a tuto metodu si nechal v roce 1841 patentovat [2; 19].

Jelikož není pojem tvrdost vody jednotný, jak je uvedeno v kap. 2.1, může se tato vlastnost hodnotit z hlediska analytického nebo technického. Podle technického hlediska se hodnotí při stanovení tvrdosti vody všechny ionty kovů s vyšším nábojovým číslem. K tomuto pojetí tvrdosti vody se nejvíce blížilo stanovení právě Clarka, který použil titrační stanovení s mýdlovým titračním roztokem. Mýdlový roztok však určoval tvrdost vody látek, které srážely mýdlo např. vápník, hořčík, železo a mangan. Později se prosadilo hledisko analytické, které hodnotí tvrdost vody jako součet koncentrací vápníku, hořčíku, stroncia a barya nebo pouze vápníku a hořčíku. Ve 40. letech minulého století byl mýdlový roztok nahrazen kyselinou ethylendiamintetraoctovou (EDTA). O náhradu mýdlového roztoku a o vznik chelatometrické titrace se zasloužil pan Schwarzenbach [2; 19].

V dnešní době nám informace o vodovodní vodě, kde se můžeme dozvědět i hodnoty potřebné k posouzení tvrdosti vody, poskytuje příslušná vodárenská společnost. V případě, že bychom si chtěli sami doma stanovit kvalitu vody z pohledu její tvrdosti, je několik způsobů. Nejrychlejší metodou je použití rychlotestů, které nám však poskytnou jen orientační výsledky. Tyto testy jsou dostupné v běžných obchodních centrech a jejich cena je relativně nízká. Nevýhodou těchto rychlých diagnostických metod je, že většina těchto testů dokáže stanovit jen celkovou tvrdost vody. Další možností je využití diagnostických měřicích přístrojů. Pomocí těchto přístrojů získáme mnohem přesnější výsledky než pomocí rychlotestů, ale jejich pořizovací cena je vyšší. Náročnější je také odběr a příprava vzorků. V laboratoři se pak vždy využívají pro stanovení tvrdosti vody analytické metody. Ty přinášejí velmi spolehlivé výsledky, a to, jak co se týče celkové tvrdosti vody, tak i koncentrace jednotlivých iontů – vápníku a hořčíku. Tyto metody se od sebe liší cenou, spolehlivostí i rychlostí. Standardní metoda pro stanovení tvrdosti ve vzorcích vody je založena na titrační metodě s EDTA, ale tato metoda je časově náročná a je při ní velmi důležitá jistá manuální preciznost. Dalšími používanými metodami jsou atomová absorpční spektrometrie, potenciometrie pomocí iontově selektivních elektrod (ISE), která je užitečná pro kontinuální a automatickou analýzu, plamenová emisní fotometrie, UV-VIS spektrometrie, atomová

emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, anebo iontová chromatografie [20].

### 2.4.2 Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie s atomizací v plameni (F-AAS) je poměrně běžně a široce používanou technikou prvkové analýzy a lze ji využít i pro stanovení vápníku a hořčíku. Při analýze pomocí F-AAS se většinou vychází z doporučení výrobce, ale jako každá analytická metoda vyžaduje i tato metoda provedení optimalizace a validace v rozsahu dle potřeby. Je potřeba zejména zvolit vhodnou horizontální i vertikální polohu výbojky s dutou katodou a horizontální i vertikální polohu hořáku za účelem dosažení co nejvyšší a co nejstabilnější odezvy detektoru. Dalšími parametry jsou složení palivové směsi, geometrie vnitřních částí zmlžovače a vždy samozřejmě i volba vhodné vlnové délky. V této práci je využívána F-AAS, ale na trhu jsou dostupné i další formy atomové absorpční spektrometrie, jako AAS s elektrotermickou atomizací (ET-AAS) nebo speciální jednoúčelové techniky AAS (např. TMA nebo novější AMA na stanovení rtuti v pevných i kapalných vzorcích).

V tištěném materiálu výrobce [21] jsou uvedeny doporučené parametry pro stanovení vápníku i hořčíku pro daný přístroj. Některé nejdůležitější parametry jsou uvedeny v Tab. 2. Metody pro stanovení vápníku a hořčíku se liší proudem výbojky s dutou katodou, vlnovou délkou, šířkou štěrbin, ale také koncentračním rozsahem a citlivostí, které jsou ovšem dány zvolenou vlnovou délkou.

Tab. 2: Přehled parametrů metod doporučených výrobcem [21].

Prvek	Proud výbojky s dutou katodou	Vlnová délka	Šířka štěrbiny	Typ plamene	Koncentrační rozsah	Citlivost
---	[mA]	[nm]	[nm]	---	[µg/ml]	[µg/ml]
Vápník	10,0	422,7	0,5	oxidující	1–4	0,02
		239,9			180–760	4,0
Hořčík	3,0	285,2	0,5	oxidující	0,1–0,4	0,003
		202,6	1,0		5–20	0,1

### 2.4.3 Postupy chelatometrického stanovení tvrdosti vody

Chelatometrická titrace je využívána pro stanovení tvrdosti vody a postup není jednotný. Níže popsané postupy jsou pro přehlednost shrnuty v Tab. 3. Postupy vychází z návodů Katedry agroenvironmentální chemie a výživy rostlin České zemědělské univerzity v Praze

[22], Katedry chemie Přírodovědecké fakulty Jihočeské Univerzity (PřF JU) [23], Hydrobiologického ústavu Biologického centra AVČR (HBÚ) [24], Mendelovy univerzity v Brně [25], Microchemical Journal [26], Ústavu technologie vody a prostředí VŠCHT [27] a z norem ČSN ISO 6059 (757384) [28] a ČSN ISO 6058 (757416) [29].

Tab. 3: Přehled parametrů stanovení tvrdosti vody pomocí titrace.

<b>Objem vzorku - celková tvrdost</b>	<b>Objem vzorku - stanovení Ca</b>	<b>Koncentrace Chelatonu 3</b>	<b>Hydroxid/objem/koncentrace</b>	<b>Objem pufru</b>	<b>Zdroj</b>
[ml]	[ml]	[mol/l]	Vzorec/[ml]/[mol/l]	[ml]	-
25,0	25,0	0,02	NaOH/2/2	2,0	[22]
100	100	0,05	KOH/8/6	10	[23]
50,0	50,0	0,01	KOH/2/6	2,5	[24]
100	-	0,05	-/-	10	[25]
5,00	-	0,01	-/-	1,0	[26]
100	-	0,05	-/-	-	[28]
-	100	0,05	-/-	-	[29]

V publikacích [22-24] byla stanovena jak celková tvrdost, tak koncentrace vápenatých iontů a diferenční metodou dopočítána koncentrace hořečnatých iontů.

Jednotlivé metody se liší objemy vzorků k titraci, koncentrací titračního činidla Chelatonu 3, použitým hydroxidem i objemem pufru pro úpravu pH.

V citovaných publikacích se ke stanovení celkové tvrdosti používá objem vzorku vody 5–100 ml. Stanovení vápenatých iontů je prováděno pro objemy 25–100 ml. Při hledání nejlepší metody pro žákovský workshop, která byla optimalizována pro fakultní vodu Jihočeské univerzity, byly objemy vzorku voleny dle použité koncentrace Chelatonu 3 a viditelnosti barevného přechodu.

V citovaných publikacích se ke stanovení, jak celkové tvrdosti, tak i stanovení vápenatých iontů využíval Chelaton 3 o koncentraci 0,01–0,05 mol/l. V publikacích nebyl uveden důvod zvolené koncentrace.

Standardizace Chelatonu 3 je dle publikací možné provádět na roztok vápenaté soli připravený kyselým vyluhováním látek v rozpouštědle nebo na roztok CaCl<sub>2</sub> připravený z vysušeného CaCO<sub>3</sub>.

Pro stanovení celkové tvrdosti jsou využívány dva druhy indikátorů, a to ERChČT a indikátorová směs. Příprava indikátorové směsi byla popsána ve dvou publikacích [24; 27].



Návody se liší navážkami jednotlivých chemikálií. V případě stanovení vápníku je v mnoha publikacích uváděn indikátor Murexid, publikace HBÚ uvádí ERChČT. V normě 6058 byl pro stanovení využit indikátor HSN [2-hydroxy-1(2-hydroxy-4-sulfo-1-naftylazo)-3-naftoová kyselina].

Pomocí návodů v publikacích [28; 29] se stanoví koncentrace celkové tvrdosti a vápníku v podzemní, povrchové a pitné vodě. Metodu lze také použít pro surové vody za předpokladu, že obsah těžkých kovů neruší stanovení. Metoda se nehodí pro mořskou vodu, nebo jiné vody s vysokou koncentrací solí. Metoda dovoluje stanovit koncentraci celkové tvrdosti od 5 mmol/l a vápník v koncentracích 2–100 mg/l. Návod v publikaci [23] je směřován na minerální či vodovodní vodu.

#### **2.4.4 Rušivé vlivy ovlivňující chelatometrické stanovení**

V případě chelatometrické titrace je stanovení snadno ovlivnitelné rušivými vlivy. Konkrétně u stanovení vod je často vylučována sloučenina  $\text{CaCO}_3$ , proto se k roztoku přidává kyselina chlorovodíková nebo dusičná, které fungují zároveň i jako konzervanty [30].

Vlastní stanovení bývá také ovlivněno ionty kovů, které reagují s Chelatonem 3 a to jsou např. Sr, Ba, Zn, Pb, Cd, Mn nebo ty, které negativně ovlivňují funkci indikátoru (Co, Ni, Cu, Al, Fe) tím, že způsobují obtížně viditelný přechod barevné změny [27]. Vliv těchto kovů, s výjimkou Ba a Sr, lze odstranit přidáním 10 ml roztoku triethanolaminu (30 %), 0,1 g pevného hydroxylaminhydrochloridu a 2 ml sulfidu sodného o koncentraci 0,2 mol/l na 100 ml zneutralizovaného vzorku. Po přidání tlumivého roztoku o pH 10 se ještě přidá 0,1 g pevného KCN. Rušivý vliv způsobený železem (do 50 mg/l), Co, Ni nebo Cu lze vyloučit ze stanovení maskováním tak, že se k okyselenému vzorku přidá asi 0,3 g hydroxylaminhydrochloridu, roztok se nechá stát asi 10 minut a pak se přidá 5 ml amoniakového tlumivého roztoku o pH 10 a 0,2–0,5 g KCN. Poté se vzorek zahřeje na teplotu 70 °C a titruje se s indikátorem ERChČT. Další prvek, který často ovlivňuje stanovení tvrdosti vody je Mn, který se titruje současně. V případě, že je přítomen ve vzorku i hliník, může být maskován přidáním 10 ml triethanolaminu po přidání KCN. Oxid uhličitý, který se vyskytuje ve vysokých koncentracích, ruší tvorbou málo rozpustných uhličitánů po přidání tlumivého roztoku. Tyto uhličitany lze odstranit povařením, nebo lépe odstranit oxid uhličitý ze vzorku předem probubláním okyseleného vzorku vzduchem nebo dusíkem. Nerozpuštěné látky lze odstranit filtrací nebo odstředěním vzorku [27].

## 3 MATERIÁL A METODY

### 3.1 Atomová absorpční spektrometrie

#### 3.1.1 Použité chemikálie

- Uhličitan vápenatý (CAS: 471-34-1; čistota 100 %)
- Heptahydrát síranu hořečnatého (CAS: 10034-99-8; čistota 99 %)
- Acetylen pro fotometrii (Linde)
- Ultračistá voda vyrobená přístrojem Smart2Pure (Thermo)
- Pitná voda

#### 3.1.2 Instrumentální vybavení, spotřební materiál a software

- Atomový absorpční spektrometr SensAA Dual (GBC Scientific Equipment)
- Výbojka s dutou katodou: P405 (Photron)
- Analytické váhy: MS105DU (Mettler Toledo)
- Výrobek ultračisté vody: Water purification Smart2Pure (Thermo)
- Automatická dávkovací pipeta: BioPettePLUS o objemu 10-100 µl (Labnet)
- Automatická dávkovací pipeta: BioPettePLUS o objemu 100-1000 µl (Labnet)
- Automatická dávkovací pipeta: Transferpette® o objemu 1-10 ml (Brand)
- Odměrné sklo, třída přesnosti A (Fisherbrand)
- Spotřební materiál: plastové špičky
- Plastové odměrné baňky (100 ml)
- Plastové zkumavky se šroubovacím uzávěrem (15 ml)
- Skleněné kádinky (různé objemy)
- Software: Ovládání přístroje: GBC SavantAA Ver 3.02. (GBC Scientific Equipment), vyhodnocování naměřených dat: MS Excel (Microsoft Corporation), validace analytické metody: Effi Validation 4 (EffiChem)

#### 3.1.3 Příprava roztoků standardů a reálných vzorků

##### 3.1.3.1 Příprava zásobních roztoků

Zásobní roztok vápníku o koncentraci prvku 1000 mg/l (ZR-A) byl připraven přesným navážením 0,6243 g uhličitanu vápenatého. Navážka byla kvantitativně převedena do odměrné baňky (250 ml), přidány byly 2 ml kyseliny dusičné a baňka byla doplněna ultračistou vodou po rysku.

Zásobní roztok hořčíku o koncentraci prvku přesně asi 1000 mg/l (ZR-B) byl připraven přesným navážením 2,5593 g heptahydrátu síranu hořečnatého. Navážka byla kvantitativně převedena do odměrné baňky (250 ml), přidány byly 2 ml kyseliny dusičné a baňka byla doplněna ultračistou vodou po rysku.

### ***3.1.3.2 Příprava pracovních roztoků***

Pracovní roztok vápníku (PR-A) o koncentraci prvku 100 mg/l byl připraven odpipetováním 10 ml zásobního roztoku vápníku (ZR-A) do odměrné baňky (100 ml) a doplněn ultračistou vodou po rysku. Pracovní roztok vápníku byl připravován vždy čerstvý a nebyl uchováván déle než 1 den.

Pracovní roztok hořčíku (PR-B) o koncentraci prvku 10 mg/l byl připraven odpipetováním 1 ml zásobního roztoku hořčíku (ZR-B) do odměrné baňky (100 ml) a doplněn ultračistou vodou po rysku. Pracovní roztok hořčíku byl připravován vždy čerstvý a nebyl uchováván déle než 1 den.

### ***3.1.3.3 Příprava směšného pracovního roztoku***

Směšný pracovní roztok (SPR) o koncentraci vápníku 10 mg/l a hořčíku 0,5 mg/l byl připraven odpipetováním 10 ml pracovního roztoku vápníku (PR-A) a 5 ml pracovního roztoku hořčíku (PR-B) do odměrné baňky (100 ml) a doplněním ultračistou vodou po rysku. Směšný pracovní roztok byl připravován vždy čerstvý a nebyl uchováván déle než 1 den.

### ***3.1.3.4 Příprava kalibračních roztoků***

Příprava kalibračních roztoků je shrnuta v Tab. 4. Celkem bylo připraveno 10 koncentračních úrovní. Do plastové centrifugační nesterilní zkumavky (15 ml) byla odpipetována automatickou pipetou voda, poté byl nad hladinu přidán automatickou pipetou směšný pracovní roztok.

Tab. 4: Příprava kalibračních roztoků.

Koncentrační úroveň	Koncentrace vápníku	Koncentrace hořčíku	Objem SPR	Objem vody	Objem celk.
	[mg/l]	[mg/l]	[ml]	[ml]	[ml]
K1	0,250	0,0125	0,250	9,75	10,0
K2	0,500	0,0250	0,500	9,50	10,0
K3	0,750	0,0375	0,750	9,25	10,0
K4	1,00	0,0500	1,00	9,00	10,0
K5	2,50	0,125	2,50	7,50	10,0
K6	5,00	0,250	5,00	5,00	10,0
K7	7,50	0,375	7,50	2,50	10,0
K8	10,0	0,500	10,0	0,00	10,0

### 3.1.3.5 Příprava slepého vzorku

Pro ověření čistoty přístroje i pracovního postupu kvůli případné kontaminaci bylo odpipetováno 10 ml ultračisté vody do plastové centrifugační nesterilní zkumavky (15 ml). Slepý vzorek byl připravován do zkumavek stejného typu, jaký byl použit v případě přípravy roztoků standardů a reálných vzorků.

### 3.1.3.6 Příprava reálných vzorků

Pro zavádění této metody byla jako vzorek k analýze využita vodovodní voda Jihočeské univerzity. Odběr vodovodní vody byl proveden dle doporučeného postupu akreditované laboratoře [31]. Vlastnímu odběru vzorku předcházelo odpouštění vodovodní vody do konstantní teploty (přibližně po dobu 5 minut), následně byla nádoba na vzorek 3x vypláchnuta odebíranou vodou a poté byl odebrán vlastní vzorek. Voda byla odebrána tak, aby případná nečistota z rukou nekontaminovala vzorek.

Ředění vzorku bylo provedeno dle Tab. 5. Každý vzorek byl připraven ve 3 nezávislých opakováních pro každou koncentrační úroveň a byl rovněž připraven jeden vzorek slepého pokusu.

Tab. 5: Shrnutí ředění vzorku vodovodní vody.

Koncentrační úroveň	Označení roztoku	Objem vzorku [ml]	Objem vody [ml]	Objem celk. [ml]
-	-			
NŘ	Vz-1a			
	Vz-1b	10,0	-	10,0
	Vz-1c			
10x	Vz-2a			
	Vz-2b	1,00	9,00	10,0
	Vz-2c			
20x	Vz-3a			
	Vz-3b	0,500	9,50	10,0
	Vz-3c			
50x	Vz-4a			
	Vz-4b	0,200	9,80	10,0
	Vz-4c			
100x	Vz-5a			
	Vz-5b	0,100	9,90	10,0
	Vz-5c			
1000x	Vz-6a			
	Vz-6c	0,0100	9,99	10,0
	Vz-6c			
Sl. pokus	Vz-0	-	10,0	10,0

## 3.2 Chelatometrická titrace

### 3.2.1 Použité chemikálie

- Uhličitan vápenatý (CAS: 471-34-1; čistota 100 %)
- Kyselina chlorovodíková (CAS: 7647-01-0; čistota p. a.)
- Hydroxid amonný (CAS: 1336-21-6; čistota 99,99 %)
- Ethylendiamintetraoctová kyselina (EDTA) (CAS: 6381-92-6; čistota p. a.)
- Chlorid amonný (CAS: 12125-02-9; čistota 99,5 %)
- Hydroxid draselný (CAS: 1310-58-3; čistota 85 %)
- Fluorexon (CAS: 1461-15-0)
- Thymolftalexon (CAS: 125-20-2)

- Murexid (CAS: 3051-09-0)
- Dusičnan draselný (CAS: 7757-79-1; čistota 98 %)
- Ultračistá voda vyrobená přístrojem Smart2Pure (Thermo)
- Erichromová čerň T (CAS: 1787-61-7)
- Pitná voda

### 3.2.2 Instrumentální vybavení a spotřební materiál

- Laboratorní stojan
- Byreta (10 a 25 ml)
- Titrační baňky
- Kopistka
- Odměrný válec
- Třecí miska s tloučkem
- Automatická dávkovací pipeta: Transferpette® o objemu 1-10 ml (Brand)
- Nedělená pipeta o objemu 50 a 100 ml
- Digestoř
- Analytické váhy: MS105DU (Mettler Toledo)
- Výrobník ultračisté vody: Water purification systém Smart2Pure (Thermo)
- Ultrazvuková vodní lázeň USC600THD (VWR)

### 3.2.3 Příprava roztoků a indikátorové směsi

Připravit bylo třeba roztok chloridu vápenatého, Chelaton 3, pufrální roztok, hydroxid draselný a také indikátorová směs. Koncentrace, složení a případně přesné postupy roztoků a indikátorové směsi byly převzaty z návodu HBÚ [24], PřF JU [23] a VŠCHT [27].

#### 3.2.3.1 Chlorid vápenatý

Roztok chloridu vápenatého o koncentraci 0,01 mol/l byl připraven dle návodu HBÚ. Z 1 hodinu sušeného uhličitanu vápenatého při teplotě 110 °C bylo naváženo přesně asi 0,050 g. Tato navážka byla rozpuštěna ve 20 ml 1 mol/l kyselině chlorovodíkové. Poté bylo změřeno pH a v případě potřeby bylo upraveno pomocí NH<sub>4</sub>OH na výslednou hodnotu pH 4. Nakonec byl roztok kvantitativně převeden do odměrné baňky o objemu 500 ml.

### **3.2.3.2 Chelaton 3**

Roztok Chelatonu 3 o koncentraci 0,01 mol/l byl také připraven dle návodu HBÚ. Naváženo bylo přesně asi 0,93 g Na<sub>2</sub>EDTA, navážka byla kvantitativně převedena do odměrné baňky o objemu 250 ml a doplněna ultračistou vodou po rysku.

### **3.2.3.3 Pufrační roztok**

Pufrační roztok o pH 10 byl připraven dle návodu PŘF JU. Bylo naváženo přesně asi 10,8 g chloridu amonného, který byl rozpuštěn ve 20 ml ultračisté vody a rozpouštění bylo podpořeno v ultrazvukové vodní lázni. Následně byl roztok kvantitativně převeden do odměrné baňky o objemu 100 ml, odměrným válcem bylo přidáno 70 ml vodného roztoku amoniaku, a nakonec byla odměrná baňka doplněna po rysku ultračistou vodou.

### **3.2.3.4 Hydroxid draselný**

Roztok hydroxidu draselného o koncentraci 6 mol/l byl připraven dle návodu HBÚ. Naváženo bylo přesně asi 8,416 g hydroxidu draselného, navážka byla kvantitativně převedena do odměrné baňky o objemu 25 ml a doplněna po rysku ultračistou vodou.

### **3.2.3.5 Indikátorová směs**

Indikátorová směs byla připravena dle návodu VŠCHT. Indikátorová směs byla připravena navážením 0,6 g fluorexonu, 0,4 g thymolftalexonu, 0,01 g murexidu a 25 g dusičnanu draselného. Navážky byly smíchány a rozetřeny v třecí misce na jemný prášek.

## **3.2.4 Postupy stanovení**

### **3.2.4.1 Standardizace Chelatonu 3**

Stanovení přesné koncentrace Chelatonu 3 bylo provedeno dle návodu PŘF JU titrací roztoku chloridu vápenatého. Do titrační baňky bylo napipetováno automatickou pipetou 10 ml chloridu vápenatého, bylo přidáno odměrným válcem 90 ml ultračisté vody a nedělenou skleněnou pipetou 2 ml hydroxidu draselného o koncentraci 6 mol/l. Do titrační baňky bylo přidáno kopistkou malé množství indikátoru Murexid. Standardizace Chelatonu 3 pomocí roztoku chloridu vápenatého byla provedena ve třech opakováních. Roztok byl titrován do prvního růžovo-žlutého zbarvení. Rozdíl ve spotřebě Chelatonu 3 nesměl přesáhnout 0,20 ml. Následně byla vypočítána přesná koncentrace titračního činidla. Vzorek pro stanovení byl připraven a chelatometrická titrace byla provedena 3x.

#### **3.2.4.2 Celková tvrdost vody**

Stanovení celkové tvrdosti vody bylo provedeno dle HBÚ. Do titrační baňky bylo napipetováno skleněnou nedělenou pipetou 50 ml vodovodní vody, bylo přidáno 2,5 ml pufrčního roztoku (pH 10) a kopistkou bylo přidáno malé množství indikátoru ERChČT. Roztok k titrování byl připraven 3x. Roztok byl titrován standardizovaným roztokem Chelatonu 3 o koncentraci přesně asi 0,01 mol/l do změny barvy z vínově červené přes fialovou až do jasně modrého odstínu.

#### **3.2.4.3 Obsah vápníku ve vodě**

Stanovení obsahu vápníku bylo provedeno dle návodu PŘF JU a HBÚ. Do titrační baňky bylo napipetováno skleněnou nedělenou pipetou 100 ml vodovodní vody, do které byly přidány automatickou pipetou 2 ml hydroxidu draselného o koncentraci 6 mol/l a kopistkou přidáno malé množství indikátorové směsi do zeleného zbarvení. Připravený vzorek byl titrován standardizovaným roztokem Chelatonu 3 o koncentraci přesně asi 0,01 mol/l do prvního růžovozeleného zbarvení. Následně byla vypočítána přesná koncentrace vápníku. Stanovení bylo provedeno ve třech opakováních.

#### **3.2.4.4 Obsah hořčíku ve vodě**

K chelatometrickému stanovení hořčíku diferenční metodou se využívají výsledky ze stanovení celkové tvrdosti (kap. 3.2.4.2) a z obsahu vápníku (kap. 3.2.4.3).

#### **3.2.4.5 Slepé stanovení**

Každé stanovení (kapitoly 3.2.4) bylo doplněno titrací slepého vzorku, tedy ultračisté vody. Při každém slepém stanovení se postupovalo vždy stejně jako v případě stanovení reálného vzorku vodovodní vody, ale s tím rozdílem, že místo vzorku vody byla použita ultračistá voda.

#### **3.2.4.6 Analyzované vzorky**

Pomocí postupu této diplomové práce byly analyzovány následující vzorky: vodovodní voda, voda z odběru HBÚ (vodní nádrže Slapy a Římov) a komerčně dostupné balené minerální vody (Mattoni neperlivá, Korunní a Dobrá voda).



## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Experimentální část byla v první řadě zaměřena na přípravu laboratorních postupů pro stanovení koncentrace vápníku a hořčíku ve vodě. První metodou byla atomová absorpční spektrometrie, pro níž byly využity a optimalizovány podmínky stanovené výrobcem. Pro chelatometrické stanovení bylo použito několik různých návodů, zejména [23–25; 27]. Získané výsledky stanovení obsahu vápníku a hořčíku ve vzorcích pitné i užitkové vody byly vzájemně porovnávány a rovněž bylo provedeno srovnání s výsledky získanými v laboratořích HBÚ. Pro stanovení vodovodní vody byly výsledky porovnány s hodnotami uváděnými společností Čevak, která stanovení provádí chelatometrickou titrací dle norem [28; 29]. Obě metody stanovení byly využity žáky střední školy, problematika byla zpracována formou workshopu. Při hledání nejvhodnějšího postupu titrace pro žákovský workshop, která byla optimalizována pro vodovodní vodu Jihočeské univerzity, byly objemy vzorku voleny dle použité koncentrace Chelatonu 3 a viditelnosti barevného přechodu. Postup titrace byl rovněž modifikován pro účel použití na akci pro širokou veřejnost „Noc vědců“, které se zúčastnily i děti předškolního věku.

### 4.1 Atomová absorpční spektrometrie

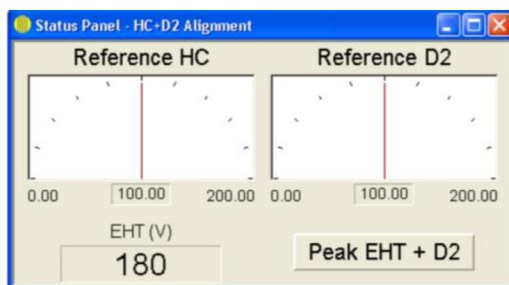
Výchozí podmínky, které významně ovlivňují citlivost metody, byly nastaveny podle doporučení výrobce [21] a jsou uvedeny v Tab. 6. Pro analýzu byla použita víceprvková (Ca, Mg, Cu, Zn, Na, K) výbojka s dutou katodou. Dále bylo optimalizováno nastavení polohy výbojky s dutou katodou, horizontální a vertikální poloha hořáku. Po nalezení optimálních podmínek byla provedena validace analytické metody a následná analýza reálných vzorků.

Tab. 6: Podmínky měření doporučené výrobcem.

Parametr	Jednotka	Vápník	Hořčík
Proud výbojky s dutou katodou	[mA]	10	3
Vlnová délka	[nm]	422,7	285,2
Šířka štěrbin	[nm]	0,5	0,5
Typ plamene	---	oxidující	oxidující

#### 4.1.1 Poloha výbojky s dutou katodou

Nastavení polohy výbojky s dutou katodou se provádí v modulu instrument (nástroj). Na obrazovce se zobrazí dva ukazatele napětí na fotonásobiči, jejichž hodnoty jsou nepřímo úměrné emitovanému světelnému toku každé výbojky (Obr. 2). Levý ukazatel zobrazuje stav výbojky s dutou katodou (pro měření absorpance analytu) a pravý ukazatel zobrazuje stav deuteriové výbojky (pro korekci neselektivní absorpce).



Obr. 2: Stavový panel pro nastavení napětí na fotonásobiči.

Poloha lampy se upravuje pomocí šroubů umístěných na levém boku přístroje, a to do takové polohy, kdy je ukazatel napětí na fotonásobiči „Reference HC“ maximální. Následně je třeba úkon potvrdit tlačítkem Peak EHT + D2, čímž se provede úprava hodnoty napětí na fotonásobiči, označeno na obrázku EHT. Pokud se hodnoty při opatrném otočení šroubu významně změní, je třeba tento úkon zopakovat. Hodnota napětí na fotonásobiči je závislá na stáří výbojky – s postupným opotřebením (stářím) výbojky se tato hodnota postupně zvyšuje.

#### 4.1.2 Vertikální a horizontální poloha hořáku

Vertikální a horizontální poloha hořáku je upravována do takové polohy, při níž paprsky zdroje záření o průměru 2–3 mm prochází celou délkou oblasti s nejvyšším množstvím analytu v atomizovaném stavu. Při správném nastavení dochází k maximální absorpci záření přicházející z výbojky s dutou katodou, což umožňuje dosažení nejnižších mezí stanovitelnosti a zároveň také nejvyšší spolehlivosti stanovení.

Před zapálením plamene se provede předběžná manuální úprava vertikální a horizontální polohy hořáku tak, že se na proužku bílého papíru pozoruje přicházející záření z výbojky. Paprsek by měl procházet přibližně 5–10 mm přímo nad otvorem hořáku po celé jeho délce. Vertikální poloha se upravuje pomocí justačního šroubu UP-DOWN a horizontální poloha se upravuje pomocí justačního šroubu OUT-IN.

### 4.1.3 Validace analytické metody

Validace analytické metody slouží k objektivnímu ověření vhodnosti metody pro daný účel a z principu se provádí až po kompletní optimalizaci metody. Validace musí být provedena v adekvátním rozsahu, aby byla prokázána a zajištěna spolehlivost výsledků analýzy. Mezi základní parametry patří linearita, přesnost, správnost, mez detekce a mez stanovitelnosti.

#### 4.1.3.1 Linearita

Linearita analytické metody představuje její schopnost poskytnout v daném rozsahu přijatelnou lineární korelaci mezi odezvou detektoru (závisle proměnná veličina) a koncentrací analytu (nezávisle proměnná veličina). Vyjádření této závislosti je provedeno pomocí rovnice kalibrační křivky ve tvaru  $y = k \cdot c + q$ , kdy  $y$  je odezva detektoru,  $k$  směrnice kalibrační křivky,  $c$  označuje koncentraci analytu a  $q$  úsek na ose  $y$  (intercept) rovnice kalibrační křivky. Linearita byla hodnocena na základě 2 kritérií přijatelnosti: korelační koeficient  $\geq 0,9900$  a QC koeficient  $\leq 5,00\%$  [32]. Vyhodnocení bylo provedené pomocí programu Effvalidation 4.0 a výsledky jsou uvedeny v příloze (kap. 10.1 resp. 10.2). Na základě vyhodnocení (Tab. 7) bylo zjištěno, že všechna kritéria přijatelnosti byla splněna a že kalibrační křivky pro vápník i hořčík vykazují v daných koncentračních rozsazích dostatečnou linearitu.

Tab. 7: Výsledky hodnocení linearity kalibračních křivek.

Prvek	Konc. rozsah	Korelační koeficient	QC koeficient
	[mg/l]	[%]	[%]
Vápník	0,50–10	0,9995	2,61
Hořčík	0,025–0,50	0,9992	3,65

#### 4.1.3.2 Přesnost a správnost

Pro úspěšné zavedení metody bylo dále kromě linearity nezbytné provést i hodnocení přesnosti a správnosti. Přesnost byla vyjádřena jako opakovatelnost, která představuje těsnost shody mezi navzájem nezávislými experimentálně zjištěnými koncentracemi analytu. Správnost byla vyjádřena jako výtěžnost, která představuje těsnost shody mezi experimentálně zjištěnou hodnotou a referenční hodnotou koncentrace analytu [32; 33]. Kritéria přijatelnosti

byla převzata z publikace [34]. Vyhodnocení bylo provedeno pomocí programu Microsoft Excel.

Na základě výsledků uvedených v Tab. 8 je zřejmé, že hodnoty správnosti a přesnosti vápníku i hořčíku na každé koncentrační úrovni jsou akceptovatelné, avšak hořčík se v koncentraci 0,10 mg/l blíží k hranici přijatelnosti správnosti 110 %. Dále je zřejmý i obecný trend, že s rostoucí koncentrací analytu se přesnost i správnost metody postupně zlepšuje.

Tab. 8: Výsledky hodnocení přesnosti a správnosti.

Konc. úroveň [mg/l]	Přesnost [%]			Správnost [%]		
	Kritérium přijatelnosti	Vápník	Hořčík	Kritérium přijatelnosti	Vápník	Hořčík
0,025		---	9,3		---	73
0,050	21	---	4,0	60–115	---	98
0,075		---	1,9		---	104
0,10		---	0,57		---	109
0,25	15	---	3,7		---	98
0,50		11	1,5		87	100
0,75		4,0			93	---
1,0		1,9		80–110	104	---
2,5		2,8			99	---
5,0	11	0,32			103	---
7,5		0,84			101	---
10	7,3	0,98			99	---

#### 4.1.3.3 Rozsah

Rozsah vyjadřuje interval mezi nejvyšší a nejnižší koncentrací analytu, pro který bylo dosaženo akceptovatelné linearit, správnosti i přesnosti. Z výsledků uvedených v Tab. 8 je patrné, že rozsah, ve kterém lze kvantifikovat vápník činí 0,50–10 mg/l. V případě hořčíku byl rozsah prokázán v rozsahu 0,025–0,50 mg/l.

#### 4.1.3.4 Mez detekce a mez stanovitelnosti

Posledními hodnocenými parametry byly instrumentální mez detekce (IDL) a instrumentální mez stanovitelnosti (IQL). Obě meze byly určeny na základě výběrové směrodatné odchylky absorbance z opakovaného měření slepého pokusu a směrnice kalibrační

křivky [32; 33]. Výsledky těchto parametrů jsou uvedeny v Tab. 9. Vyhodnocení bylo provedeno v programu Effivaldation 4 a veškeré údaje (primární data a výsledky hodnocení) jsou uvedeny v příloze (kap. 10.3 a 10.4). Vzhledem k užšímu rozsahu kalibrační křivky reálně používané pro potřeby workshopu (praktické důvody), výsledkům úspěšné validace, k charakteru matrice vzorku (pitná voda) a používaným ředěním vzorku (analýza i neředěných vzorků) byly ještě určeny meze stanovitelnosti metody (MQL).

Tab. 9: Meze detekce a meze kvantifikace.

<b>Analyt</b>	<b>IDL</b>	<b>IQL</b>	<b>MQL</b>
	<b>[mg/l]</b>	<b>[mg/l]</b>	<b>[mg/l]</b>
Vápník	0,08	0,3	1,0
Hořčík	0,003	0,01	0,050

#### **4.1.3.5 Výsledné podmínky metody**

Na základě výsledků validace metody bylo potvrzeno, že základní podmínky analýzy doporučené výrobcem i následně experimentálně zjištěné nastavení optimální polohy základních částí spektrometru (výbojky i hořáku) jsou pro účely této metody vyhovující. Za těchto podmínek bylo dosaženo pouze jiných koncentračních rozsahů, než jaké uvádí výrobce, a to v obou případech o necelý 1 řád nižších. Důvodem je však skutečnost, že výrobce v tomto případě pro danou vlnovou délku uvádí optimální rozsah, zatímco v této práci je uveden nejširší možný použitelný rozsah se zaměřením na začátek kalibrace v oblasti co nejnižších koncentrací.

Koncentrace analytů v pitné vodě získané pomocí F-AAS byly pro vápník  $29,83 \pm 0,26$  mg/l a pro hořčík  $2,424 \pm 0,035$  mg/l, což je v porovnání s výsledky chelatometrické titrace (kap. 4.2) jen o 3 % méně pro vápník a necelých 19 % pro hořčík. V případě vápníku je rozdíl výsledků zanedbatelný, ale v případě hořčíku je rozdíl výsledků již poměrně značný, což by mohlo být dáno jednak o 1 řád nižší koncentrační úrovni analytu ve vzorku a jednak principiální rozdílností obou analytických metod a z nich vyplývající citlivosti na různé interference.

## **4.2 Chelatometrická titrace**

Výchozí chelatometrická titrace byla provedena dle postupu PřF JU [23]. Postup byl následně upravován a optimalizován s využitím citovaných laboratorních postupů zejména

[23–25; 27]. Cílem bylo zavést takový postup, který povede ke správným a přesným výsledkům stanovení obsahu vápníku a hořčíku ve vodě a současně by byl použitelný pro žáky středních a základních škol. Výsledky odměrné analýzy byly porovnávány s výsledky získanými metodou F-AAS, dále s hodnotami uváděnými společností Čevak a rovněž s daty získanými v laboratořích HBÚ. Na základě validace je patrné, že výsledky získané pomocí F-AAS jsou přesné a správné, a proto byly upravovány metody titrace, aby se dosáhlo co nejbližších výsledků.

Vlastnímu stanovení koncentrace vápníku a hořčíku ve vodě předcházela standardizace odměrného roztoku Chelatonu 3. Postupně byl optimalizován objem vzorku k titrování, objem roztoku hydroxidu a použitý indikátor (Tab. 10).

Tab. 10: Standardizace odměrného roztoku Chelatonu 3.

Metody	CaCl <sub>2</sub>	Destilovaná voda	KOH	Indikátor
	[ml]	[ml]	[ml]	
1	20	80	1,6	Murexid
2	20	-	2,0	
3	20	80	2,0	
4	20	80	1,6	
5	10	40	2,0	Indikátorová směs
<b>6</b>	<b>10</b>	<b>90</b>	<b>2,0</b>	

Metoda 1 byla provedena dle postupu laboratoře PřF JU a v ostatních metodách byly následně upravovány objemy CaCl<sub>2</sub>, destilované vody i KOH. V metodách 1–5 byl problém s obtížně viditelným barevným přechodem v oblasti bodu ekvivalence. V metodě 5 byla použita indikátorová směs dle postupu VŠCHT. Tato indikátorová směs byla využita i v metodě 6, kde byl zvětšený objem titrovaného roztoku a barevný přechod byl zřetelně pozorovatelný, proto byla tato metoda vybrána k další optimalizaci.

Dále byly optimalizovány za stejným účelem (barevný přechod) i metody pro stanovení celkové tvrdosti a koncentrace vápenatých kationtů. Cílem bylo také dosažení optimálních spotřeb - využití jedné byrety pro stanovení různých minerálních vod (Mattoni neperlivá, Korunní a Dobrá voda). Metody jsou shrnuty v Tab. 11.

Tab. 11: Metody stanovení celkové tvrdosti vody a koncentrace vápníku, resp. hořčíku.

Metoda	Objem vzorku	Koncentrace Chelatonu	Použitý hydroxid	Pufr	Výsledky		
					Ca + Mg	Ca	Mg
	[ml]	[mol/l]	-	[ml]	[mol/l]	[mg/l]	[mg/l]
			1,6 ml				
1	100	0,05	KOH	10	1,06	35,0683± 0,0009	4,6017± 0,0009
2	25	0,02	NaOH	10	1,09	41,7± 1,0	1,8± 1,0
3	100	0,02	NaOH	10	0,99	34,48± 0,87	3,23± 0,87
4	100	0,025	KOH	10	1,08	35,1± 0,9	4,9± 0,9
			2 ml				
5	50	0,01	-	2,5	1,01	-	-
	100	0,01	KOH	-	-	32,21± 0,83	5,01± 0,83
6	100	0,01	KOH	10	0,933	32,21± 0,81	3,16± 0,81
7	-	-	-	-	-	29,83±0,26	2,424±0,035
8	-	-	-	-	-	31,0	2,70

Pozn.: Metoda 1-4 představují výsledky titrace, metoda 7 výsledky F-AAS a metoda 8 výsledky Čevak.

Metody 1–4 byly připraveny dle postupu [23]. Pro přípravu metod 5–6 byly využity návody [24; 27].

Z metod 1–4 lze brát v úvahu pouze metodu 3. V této metodě jsou výsledky koncentrací obou prvků nejbližší těm, které byly změřeny metodou F-AAS. U metody 2 byl použit menší objem vzorku, výsledky koncentrací stanovovaných kationtů jsou odlišné od metody 3, která byla až na objem vzorku provedena stejným způsobem. Rozdíl je dán pravděpodobně tím, že v případě metody 2 byl obtížně zřetelný barevný přechod. U ostatních metod, kde byly použity různé objemy vzorků a měněny koncentrace odměrného roztoku, se výsledky koncentrací vápníku a hořčíku značně lišily od výsledků získaných metodou F-AAS. V těchto metodách 1–4 byl využit pro stanovení celkové tvrdosti indikátor ERChČT a pro stanovení koncentrace vápenatých kationtů Murexid. Ze všech metod byla vybrána metoda 6, která poskytla nejbližší výsledky vzhledem k výsledkům změřených F-AAS metodou a barevné přechody byly dobře viditelné. V metodách 5–6 se stanovuje celková tvrdost také na ERChČT, ale koncentrace vápenatých kationtů na indikátorovou směs [27], složené z fluorexonu, thymolftalexonu, murexidu a dusičnanu draselného. Mezi metodou 5–6 je rozdíl v objemu vzorku pro stanovení celkové tvrdosti a v tlumivém roztoku. V případě metody 6 byl použit pufr stejný jako

v metodách 1–4. V metodě 5 byl připravený pufr dle návodu [27]. Výsledky koncentrací titrační metodou mohly být částečně ovlivněny nepřesností při titrování, a to i kvůli obtížně viditelnému přechodu, nebo rušivými vlivy viz. kapitola 3.4.3. Proto byly vybrány takové metody, jak pro standardizaci odměrného roztoku, tak pro určení koncentrace stanovovaných kationtů, u kterých byly dobře viditelné barevné přechody a výsledky se téměř shodovaly s výsledky změřenými pomocí F-AAS metody.

Metoda 6 pro stanovení koncentrace stanovovaných kationtů byla však následně ještě upravena – rozdíl od metody 6 byl v objemu vzorku a pufru pro stanovení celkové tvrdosti (50 ml vzorku a 2,5 ml pufru) a v případě stanovení koncentrace vápenatých kationtů byl změněn objem hydroxidu na 2 ml. Tyto změny byly provedeny za účelem co nejvíce se přiblížit návodu [24], usnadnit dětem a žákům pipetování a snížit spotřeby. Změny neovlivnily výsledky stanovení.

HBÚ poskytl vzorky vody z vodní nádrže Slapy a Římov. Výsledky stanovení obsahu vápenatých a hořečnatých kationtů chelatometricky v laboratořích HBÚ a postupem uvedeném v této diplomové práci (metoda 6), přinesly téměř shodné hodnoty (Tab. 12), proto byla tato metoda zvolena jako finální. Výsledky stanovení tvrdosti vodovodní vody pomocí upravené metody 6 byly stále přibližně shodné s původní metodou 6 v závislosti na přesnosti titrování.

Tab. 12: Porovnání výsledků chelatometrických titrací provedených na dvou pracovištích.

Výsledky HBÚ				Výsledky titrace metoda 6			
Římov		Slapy		Římov		Slapy	
Ca	Mg	Ca	Mg	Ca	Mg	Ca	Mg
[mg/l]				[mg/l]			
13,1	3,39	21,9	6,51	11,98474± 0,00034	3,75125± 0,00034	20,29674± 0,00055	5,43150± 0,00055

Koncentrace vápníku i hořčíku jsou uvedeny v Tab. 11. Koncentrace vápníku zjištěná chelatometrickou metodou činila  $32,21 \pm 0,81$  mg/l a F-AAS metodou (metoda 7) činila  $29,83 \pm 0,26$  mg/l, což je jen o necelé 4 % více a o 3 % méně, než které uvádí společnost Čevak (metoda 8). Koncentrace hořčíku zjištěná chelatometrickou metodou činila  $3,16 \pm 0,81$  mg/l a F-AAS metodou (metoda 7) činila  $2,424 \pm 0,035$  mg/l, což je o 17 % více a o necelých 16 % méně, než uvádí společnost Čevak (metoda 8). Rozdíl v hodnotách v případě chelatometrické titrace může být daný nepřesným titrováním nebo rušivými vlivy, jak je uvedeno v kap. 3.4.4.



## 5 WORKSHOP

### 5.1 Didaktická část

#### 5.1.1 Program workshopu

Workshop, v literatuře uváděno praktické cvičení, by měl být zábavnou formou zkušeností, při níž žáci mají hlavní roli a jsou aktivní. Workshopy jsou náročné na přípravu, je třeba předem promyslet vše do nejmenších detailů, aby v průběhu programu nechyběly např. žádné pomůcky ani vybavení, zároveň je třeba být pohotový a připravit se na to, že se může kdykoliv cokoli přihodit. Důležité je, aby celý program byl vyzkoušen předem a s vybavením a za podmínek, kterých budou využívat žáci. V průběhu přípravy je dobré vnímat celou věc z pohledu žáků a poznamenávat si postup a všechny potřebné pomůcky, co se nemusí povést a co může selhat, kritéria správného postupu a zásady bezpečnosti. Je také třeba mít na paměti, že si musíme vypůjčit vybavení, a to s dostatečným předstihem a v dostatečném množství [35].

Při vymýšlení programu je třeba si stanovit cíl a dle toho celý průběh naplánovat. Zda si mají žáci všimnout něčeho konkrétního, budou si zapisovat výsledky a kam. Nesmíme také zapomenout na bezpečnostní zásady. Je důležité zajistit, aby měli všichni co dělat, a to v průběhu celého programu a myslet na to, že všichni žáci nebudou pracovat stejně rychle a že někteří budou potřebovat více pozornosti, takže dle počtu účastníků zajistit odpovídající počet lektorů. V literatuře od Petteho se uvádí, že instrukce je nejlepší psát na tabuli v přítomnosti žáků [35]. Já jsem ke svému programu, aby se mohl využívat i v následujících letech, připravila pro organizátora pracovní postup k přípravě jednotlivých roztoků a pro žáky pracovní list a pracovní postup. Také jsem připravila teoretické informace o průběhu a jednotlivých metodách workshopu, které jsem žákům pár dní před workshopem elektronicky poskytla.

Na závěr workshopu se doporučuje provést diskuse. Zhodnotit dosažení cíle - co se měli naučit, jaké výsledky měly vyjít, z jakého důvodu nevyšly a také co mohlo výsledky ovlivnit. Žáci ocení, když jim v této části je podáno shrnutí celého programu [35].

#### 5.1.2 Pracovní listy a pracovní postupy

Zásady pro tvorbu vlastních pracovních listů a postupů [35]:

- Obtížnost je třeba správně odstupňovat, pro složitý úkon je lepší připravit k procvičení více než jeden příklad.

- Na začátek zvolit jednodušší úlohy, které žákům dodají sebedůvěru a motivují je.
- Dbát na správné řazení úkolů, jejich správné číslování, aby bylo vše jasné a přehledné, úkoly rozčleňovat na části a jasně formulovat.
- Žáci by měli mít možnost vyzkoušet si nové schopnosti a znalosti na jasných úkolech.
- Alespoň poslední otázka by měla být otevřená, aby rychlí žáci měli možnost se nad otázkou zamyslet a nestalo se, že nebudou mít co dělat.
- Brát v úvahu osobní rozměr, souvislost se životem žáků, hádanky, problémové úlohy atd.
- Snažit se, aby pracovní listy byly zajímavé. Psát je na počítači, používat schémata, grafy, tabulky a fotografie, nepřehlcovat je informacemi.

## 5.2 Praktická část

Zavedená metoda stanovení vápníku i hořčíku ve vzorcích vody pomocí atomové absorpční spektrometrie (kap. 4.1) byla upravena dle potřeb pro samotný workshop. Byly upraveny koncentrační rozsahy kalibračních křivek vápníku i hořčíku pro účely workshopu. Žáci měli v průběhu workshopu k dispozici pouze skleněné nedělené a dělené pipety a jednu automatickou pipetu o objemu 1 ml, proto byly koncentrace jednotlivých kationtů upraveny viz. tabulka (Tab. 13).

Tab. 13: Upravené objemy přípravy roztoků kalibrační křivky.

<b>Koncentrační úroveň</b>	<b>Koncentrace vápníku [mg/l]</b>	<b>Koncentrace hořčíku [mg/l]</b>	<b>Objem SPR [ml]</b>	<b>Objem vody [ml]</b>	<b>Objem celk. [ml]</b>
K1	0,50	0,050	1,00	9,00	10,0
K2	1,0	0,10	2,00	8,00	10,0
K3	1,5	0,15	3,00	7,00	10,0
K4	2,0	0,20	4,00	6,00	10,0
K5	2,5	0,25	5,00	5,00	10,0
K6	3,0	0,30	6,00	4,00	10,0
K7	3,5	0,35	7,00	3,00	10,0
K8	4,0	0,40	8,00	2,00	10,0
K9	4,5	0,45	9,00	1,00	10,0
K10	5,0	0,50	10,0	0,00	10,0

Před samotným workshopem byl celý program odzkoušen se studentem chemického oboru Střední školy obchodní v Českých Budějovicích. Na základě jeho zpětné vazby byly materiály upraveny. Tato zkušenost byla velmi přínosná. Díky studentovi jsem se dokázala ještě více koukat na daný problém očima žáků a celý program jim co nejvíce přizpůsobit, aby bylo vše jasné a srozumitelné.

Dále bylo potřeba připravit laboratoř, chemikálie, zaškolit lektory a zajistit bezpečný a plynulý program. Workshopu se zúčastnili studenti chemického semináře z Gymnázia Trhové Sviny (kap. 10.9). Zpracovaná zadání a pracovní listy jsou k nahlédnutí (kap. 10.5 a 10.6). Pro plynulý průběh programu bez zbytečných prostojů bylo rovněž potřeba připravit doplňková cvičení. Tato cvičení tematicky souvisela s vlastním stanovením vápníku a hořčíku. Žáci se v průběhu workshopu seznámili s funkcí tlumivého roztoku (součást kap. 10.5 a 10.6) a dále byly připraveny důkazové reakce vápenatých a hořečnatých kationtů (kap. 10.7) a procvičení nového názvosloví anorganické chemie (kap. 8). Časový harmonogram programu je uveden na obrázku (obr. 3).

<p style="text-align: center;"><b>Program workshopu</b></p> <p style="text-align: center;">8.11.2022</p> <p style="text-align: center;"><b>10:00 – 14:00 práce v laboratoři</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Chelatometrická titrace</li><li>• Atomová absorpční spektrometrie</li><li>• Tlumivý roztok</li></ul> <p style="text-align: center;"><b>14:00 – 14:30 vyhodnocení výsledků</b></p>
---

Obr. 3: Program workshopu.

### 5.3 Hodnocení workshopu

Na konci programu byl žákům předložen dotazník. V dotazníku byli žáci požádáni o zodpovězení následujících otázek (kap. 10.10):

- Byly pro tebe postupy, návody a pracovní listy srozumitelné? Pokud ne, uveď konkrétní příklad.
- Co ses během workshopu naučil/a a co ti workshop přinesl?
- Přišla ti nějaká úloha zajímavá – jak získané informace využiješ v běžném životě?
- Bylo pro tebe něco opakování a zbytečná ztráta času?

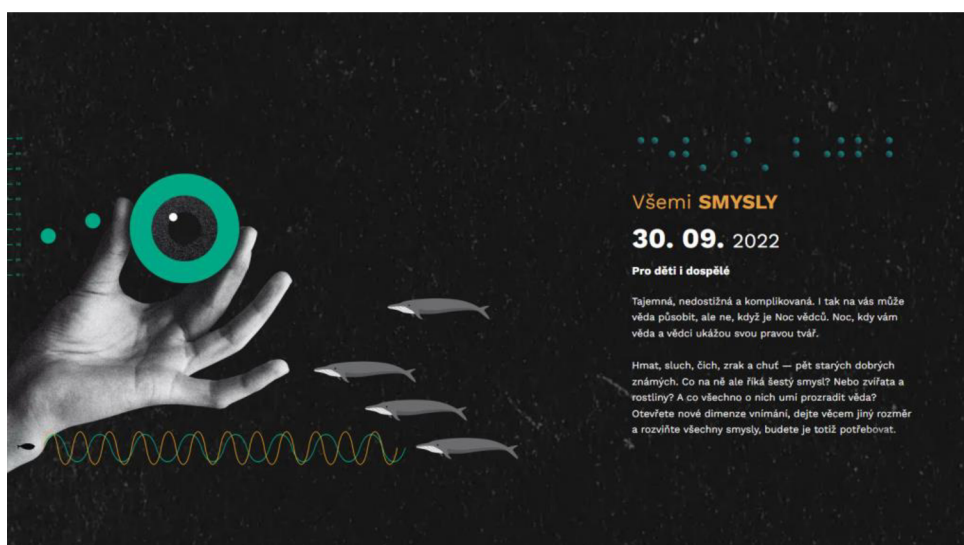
- Co bys zlepšil/a?

Na základě těchto otázek jsem získala zpětnou vazbu, která mi posloužila k hodnocení workshopu. Žáci se během programu hodně ptali a nepracovali souvisle. Na základě mého pozorování a ze zpětné vazby od žáků i lektorů vyplynulo, že výklad principů a postupů jednotlivých metod měl být podrobnější. Určitá neobratnost žáků v laboratoři je jistě dána dlouhou dobou distanční výuky žáků středních škol. Příště bych tedy preferovala větší časové okno pro hladší a klidnější průběh workshopu a před workshopem bych uskutečnila přednášku, která by měla za cíl připravit a seznámit žáky s daným programem. Materiály k prostudování, dostupné na webu [prirodoveda.cz](http://prirodoveda.cz), nebyly dostatečné jako příprava na workshop.

Pracovní listy i postupy pro ně byly srozumitelné. Většina informací a úloh byla pro účastníky nová a ocenili, že si mohli vyzkoušet věci, které pravděpodobně už nikde a nikdy jindy v rámci studia střední školy nevyzkouší.

## 6 NOC VĚDCŮ

Zpracování tématu vápníku a hořčíku bylo rovněž využito a upraveno pro účely Noci vědců na Jihočeské univerzitě s tématem „Všemi smysly“ (Obr. 4). Noc vědců je akce pro veřejnost a do laboratoří zavítaly i malé děti. U chelatometrické titrace byla tak větší pozornost kladena na barevný přechod indikátoru v bodě ekvivalence. Koncentrace Chelatonu 3 (0,01 mol/l) byla zvolena tak, aby bylo možné stanovit koncentraci vápníku a hořčíku v co největším koncentračním rozsahu, a tedy co největším počtu různých značek minerálních vod a spotřeba byla do maximálního objemu titračního činidla 25 ml. Tato byreta byla vybrána kvůli snadnějšímu plnění v porovnání s byretou o objemu 10 ml.



Obr. 4: Plakát Noci vědců.

Účastníci, především děti, určovali na základě spotřeby titračního činidla a s využitím pomocné tabulky přibližné koncentrace vápníku a hořčíku ve vybraných minerálních vodách (Mattoni neperlivá, Korunní, Dobrá voda a vodovodní voda) dle vlastního výběru. Vždy si za asistence mé nebo mojí vedoucí diplomové práce, která mi z důvodu vysoké účasti pomáhala, připravili vzorek pro stanovení celkové tvrdosti. Měření proběhlo v jednom opakování. Na základě spotřebovaného odměrného činidla si dle přiložených tabulek (kap. 10.11) zjistili, jaká je koncentrace vápníku a hořčíku v dané vodě a následně si mohli hodnoty zkontrolovat dle etiket a výsledky s námi zkonzultovat.

Dále si měli, účastníci Noci vědců, možnost vyzkoušet funkčnost mýdla v měkké vs. tvrdé vodě. Měkkou vodu simulovala destilovaná voda a tvrdou vodu simulovala Magnesia neperlivá (Obr. 1).

Také byly do programu přidány dle předchozí domluvy s mou vedoucí důkazové reakce vápenatých a hořečnatých kationtů (kap. 10.7), které byly původně připraveny jako doplňkové cvičení workshopu.

Fotografie z akce jsou k nahlédnutí (kap. 10.12).

## 7 ZÁVĚR

Tato diplomová práce je zaměřena na stanovení koncentrace vápníku a hořčíku ve vodě pomocí chelatometrické titrace a atomové absorpční spektrometrie. Cílem práce bylo zavést a využít obě metody stanovení vápenatých a hořečnatých kationtů pro účely workshopu žáků střední školy a také Noci vědců. První část práce shrnuje teoretické základy potřebné pro zavedení obou metod, přípravu materiálů pro žáky a následné vedení workshopu.

Metoda F-AAS byla zavedena na základě podmínek doporučených výrobcem a po provedení základní optimalizace polohy výbojky i hořáku byla takto zvalidována. Bylo zjištěno, že metoda poskytuje spolehlivé výsledky pro vápník v koncentračním rozmezí 0,50–10 mg/l a pro hořčík v rozmezí 0,025–0,50 mg/l. Postup chelatometrické titrace byl optimalizován za účelem dobře viditelného barevného přechodu a spolehlivosti naměřených dat. Bylo provedeno srovnávací měření koncentrace vápníku a hořčíku v pitné vodě metodou F-AAS a chelatometrickou titrací. Rovněž proběhla srovnávací analýza obsahu těchto kationtů v užitkové vodě mezi laboratoří PŘF JU a laboratoří HBÚ Biologického centra AVČR.

Kromě zavedení a validace obou metod pro použití ke kvantitativní analýze byly připraveny i doplňkové laboratorní úlohy objasňující funkci tlumivého roztoku, možnosti důkazu vápníku a hořčíku či cvičení „nového názvosloví“. Následně byly připraveny materiály pro workshop, konkrétně pracovní postupy a pracovní listy.

Připravený program workshopu i Noci vědců proběhl jednou, a to v roce 2022. Workshop proběhl na začátku listopadu s žáky gymnázia, kterým byly přibližně týden před samotným workshopem poskytnuty návody včetně teoretického úvodu, aby měli představu o náplni práce v laboratoři. Na začátku workshopu proběhlo seznámení žáků s laboratoří a jednotlivými úlohami. Poté žáci samostatně pracovali na přípravě vzorků a následném stanovení celkové tvrdosti, vápníku a hořčíku ve vodě. Na závěr workshopu proběhlo vyhodnocení výsledků a diskuze nad jednotlivými výsledky. Účastníci na závěr programu poskytli i písemnou zpětnou vazbu.

Žáci měli možnost vyzkoušet a porovnat dvě metody stanovení obsahu vápenatých a hořečnatých kationtů ve vzorku pitné vody. Na základě takovéto akce si mohli vyzkoušet práci ve vysokoškolské laboratoři pod vedením budoucích učitelů.

## 8 CITOVANÁ LITERATURA

- [1] KOŽÍŠEK, František. Zdravotní význam tvrdosti pitné vody. In: *Státní zdravotní ústav* [online]. 2016 [cit. 2022-12-06]. Dostupné z: [http://orbis-pictus.cz/id32402/ve\(2da/pr\(2i\(1rodni\(1\\_ve\(2dy/chemie/Voda/Zdravotni\\_vyznam\\_tvrlosti\\_vody.htm](http://orbis-pictus.cz/id32402/ve(2da/pr(2i(1rodni(1_ve(2dy/chemie/Voda/Zdravotni_vyznam_tvrlosti_vody.htm)
- [2] SÝKORA, Vladimír, Hana KUJALOVÁ a Pavel PITTER. *Hydrochemie: pro studenty bakalářského studia* [online]. Vydání: první. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016 [cit. 2022-12-06]. ISBN 978-80-7080-949-5. Dostupné z: [https://vydavatelstvi.vscht.cz/katalog/publikace?uid=uid\\_isbn-978-80-7080-949-5](https://vydavatelstvi.vscht.cz/katalog/publikace?uid=uid_isbn-978-80-7080-949-5)
- [3] *Tvrlost vody- Ravos, s.r.o.: Rakovnická vodárenská společnost* [online]. In: . 2023 [cit. 2022-12-24]. Dostupné z: <https://www.ravos-sro.cz/vse-o-vode/pitna-voda/vlastnosti-vody/tvrlost-vody/>
- [4] *Vodovody a kanalizace Přerov, a.s.* [online]. In: . 2023 [cit. 2023-01-01]. Dostupné z: <https://www.vakprerov.cz/kvalita-pitne-vody/tvrlost-pitne-vody.html>
- [5] TOFIGHY, Maryam a Toraj MOHAMMADI. Permanent hard water softening using carbon nanotube sheets. *Desalination* [online]. 2011, **268**(1-3), 208-213 [cit. 2022-12-06]. Dostupné z: doi:10.1016/j.desal.2010.10.028
- [6] ALLAHYARI, Elaheh, Federica CARRATURO, Arianna DE RISI, Antonio NAPPO, Michela MORELLI, Alessia CAJORA a Marco GUIDA. *A sequential utilization of the UV-A (365 nm) fluence rate for disinfection of water, contaminated with Legionella pneumophila and Legionella dumoffii* [online]. 2022 [cit. 2022-12-06]. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2022.119224
- [7] CIANCIOFFO, Nicholas P. *Patogenita Legionella pneumophila* [online]. 2001 [cit. 2022-12-06]. Dostupné z: doi:10.1078/1438-4221-00139
- [8] JAISWAL, J. K. Calcium — how and why?. *Journal of Biosciences* [online]. 2001, **26**(3), 357-363 [cit. 2022-12-06]. ISSN 0250-5991. Dostupné z: doi:10.1007/BF02703745



- [9] WILHELM, Zdeněk. *Co je dobré vědět o vápníku* [online]. 2007 [cit. 2022-12-06]. Dostupné z: <http://solen.cz/pdfs/lek/2007/04/09.pdf>
- [10] NOVOSAD, Pavel. *Calcium and vitamin D in primary and secondary prevention of osteoporosis* [online]. 2017 [cit. 2022-12-06]. Dostupné z: <http://solen.cz/pdfs/lek/2018/89/02.pdf>
- [11] VOŠICKÝ, Zdeněk, Bohumír KOTLÍK, Vladimír LANK, Květoslava RŮŽIČKOVÁ a ŽKV. *Matematicko, fyzikálně a chemické tabulky: Matematicko, pro SŠ a nižší ročníky víceletých gymnázií*. Havlíčkův Brod: Fragment, 2003. ISBN ISBN 80-7200-521-9.
- [12] TOUŽÍN, Jiří. *Stručný přehled chemie prvků*. Brno: Masarykova Universita, 2001. ISBN ISBN 80-210-2635-9.
- [13] KLIKORKA, Jiří, Bohumil HÁJEK a Jiří VOTINSKÝ. *Obecná a anorganická chemie* [online]. 2. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1989 [cit. 2022-12-06]. Dostupné z: <https://canov.jergym.cz/knihovna/klikorka.pdf>
- [14] COTTON, F a Albert WILKINSON. *Anorganická chemie: souborné zpracování pro pokročilé*. Praha: Academia, 1973.
- [15] REMY, H. *Anorganická chemie*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1972.
- [16] MAREČEK, A a J HONZA. *Chemie: Pro čtyřletá gymnázia*. 3. Olomouc: Olomouc, 2002. ISBN 80-7182-055-5.
- [17] DURLACH, Jean, Michel BARA, Pierre BAC a André GUIET-BARA. *Magnesium research: from the beginnings to today* [online]. 2004 [cit. 2022-12-06]. Dostupné z: [https://www.jle.com/fr/revues/mrh/e-docs/magnesium\\_research\\_from\\_the\\_beginnings\\_to\\_today\\_\\_263868/article.phtml?cle\\_doc=000406BC](https://www.jle.com/fr/revues/mrh/e-docs/magnesium_research_from_the_beginnings_to_today__263868/article.phtml?cle_doc=000406BC)
- [18] WILHELM, Zdeněk. *Co je dobré vědět o hořčíku*. [online]. 2005 [cit. 2022-12-06]. Dostupné z: <https://www.solen.cz/pdfs/lek/2007/03/09.pdf>
- [19] ŠANTRŮČEK, Jaromír. *Chemické rozbory vod a využití jejich výsledků ve vodárenské praxi* [online]. 1-4 [cit. 2022-12-24]. Dostupné z: [https://www.vak.cz/soubory/odborne\\_dokumenty/7\\_Konference\\_Podzemn%C3%AD\\_vody/rok%202018/Chemick%C3%A9\\_rozbory\\_vod\\_a\\_vyu%C5%BEit](https://www.vak.cz/soubory/odborne_dokumenty/7_Konference_Podzemn%C3%AD_vody/rok%202018/Chemick%C3%A9_rozbory_vod_a_vyu%C5%BEit)

%C3%AD\_jejich\_v%C3%BDsledk%C5%AF\_ve\_vod%C3%A1rensk%C3%A9  
\_praxi/Santrucek.pdf

- [20] SHARIATI-RAD, Masound a Saeideh HEIDARI. Classification and determination of total hardness of water using silver nanoparticles. *Talanta* [online]. 2020, **219** [cit. 2022-12-28]. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2020.121297
- [21] ANTANASOPOULOUS, N. *Flame methods manual for atomic absorption by GBC Scientific Equipment PTY LTD*. Part. no.: 01-0019-00.
- [22] *Komplexometrické stanovení obsahu  $Ca^{2+}$  a  $Mg^{2+}$  ve vodě (tvrdost vody)*. Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin.
- [23] *Laboratorní úloha č. 1: Chelatometrické stanovení vápníku a hořčíku v minerální a pitné vodě*. Přírodovědecká fakulta Jihočeské Univerzity v Českých Budějovicích, 2020, 1-5.
- [24] *Stanovení tvrdosti, vápníku a hořčíku*. Hydrobiologický ústav, Biologické centrum akademie věd ČR, 1-2.
- [25] *Celková tvrdost*. Mendelova univerzita v Brně, 1-2.
- [26] FERREIRA, Diogo, Miguel BARROS, Cristina OLIVEIRA a Ricardo DA SILVA. Quantification of the uncertainty of the visual detection of the end-point of a titration: Determination of total hardness in water. *Microchemical Journal* [online]. 2019, **146**, 856-863 [cit. 2023-03-11]. Dostupné z: doi:10.1016/j.microc.2019.01.069
- [27] HORÁKOVÁ, Marta. *Analytika vody* [online]. Vyd. 2., opr. a rozš. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2007 [cit. 2023-01-18]. ISBN 978-80-7080-520-6. Dostupné z: [https://vydavatelstvi.vscht.cz/katalog/publikace?uid=uid\\_isbn-978-80-7080-520-6](https://vydavatelstvi.vscht.cz/katalog/publikace?uid=uid_isbn-978-80-7080-520-6)
- [28] ČSN ISO 6059 (757384). *Jakost vod. Stanovení sumy vápníku a hořčíku. Odměrná metoda s EDTA*. 1996.
- [29] ČSN ISO 6058 (757416). *Jakost vod. Stanovení vápníku. Odměrná metoda s EDTA*. 1996.

- [30] SKÁKAL, Oldřich. *Vliv tvrdosti vody na technologie zpracování pokrmů*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2012. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/23285>
- [31] *Laboratoř Monitoring* [online]. In: . [cit. 2023-02-18]. Dostupné z: <https://www.moni.cz/faq/pitna-voda/jak-odebrat-vzorek>
- [32] KAHOUN, David. *Úloha č.6: Stanovení hořčíku a vápníku v pitné vodě metodou atomové absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací (FA-AAS)*. 2019, 1-18.
- [33] *ICH Topic Q 2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and methodology: CPMP/ICH/381/95* [online]. Londýn: European Medicines Agency, 1995 [cit. 2023-03-26]. Dostupné z: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5_en.pdf)
- [34] *Guidelines for Standard Method Performance Requirements* [online]. B.m.: AOAC International, 2016 [cit. 2023-03-26].
- [35] PETTY, Geoffrey. *Moderní vyučování*. 2. Praha: Portál, 2002. ISBN 80-7178-681-0.


## 9 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

°F, °dF	stupně francouzské
°N, °dH	stupně německé
AVČR	Akademie věd České republiky
CAS	Chemical Abstract Service
Celk.	celkový
EDTA	ethylendiamintetraoctová kyselina
ERChČT	Erichromová čern T
ET-AAS	atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací
F-AAS	atomová absorpční spektrometrie s atomizací v plameni
HBÚ	Hydrobiologický ústav, Biologické centrum AVČR
Chelaton 3	disodná sůl kyseliny etylendiamintetraoctové
IDL	instrumentální mez detekce
Instrument	nástroj
IQL	instrumentální mez stanovitelnosti
Kap.	kapitola
Konc.	koncentrace
L.	<i>Legionella</i>
MQL	koncentrace nejnižšího kalibračního bodu z kalibrační křivky používané pro účely workshopu
Mr	molární hmotnost
Např.	například
Obr.	obrázek
PR	pracovní roztok
PřF JU	Přírodovědecká fakulta Jihočeské univerzity
Rovn.	rovnice
SPR	směsný pracovní roztok
tzv.	takzvaná
UV-VIS	ultrafiolová-viditelná oblast
VŠCHT	Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Vz	vzorek
ZR	zásobní roztok

## 10 PŘÍLOHY

### 10.1 Příloha A – linearita vápník

Obr. 5: Vyhodnocení linearity kalibrační řady roztoků vápníku v destilované vodě – výstup z programu Effvalidation.

	Linearita - Korelační a QC koeficient - AAS - Vápník	EffChem s.r.o. Purkyňova 649/127 Brno
---	---	--

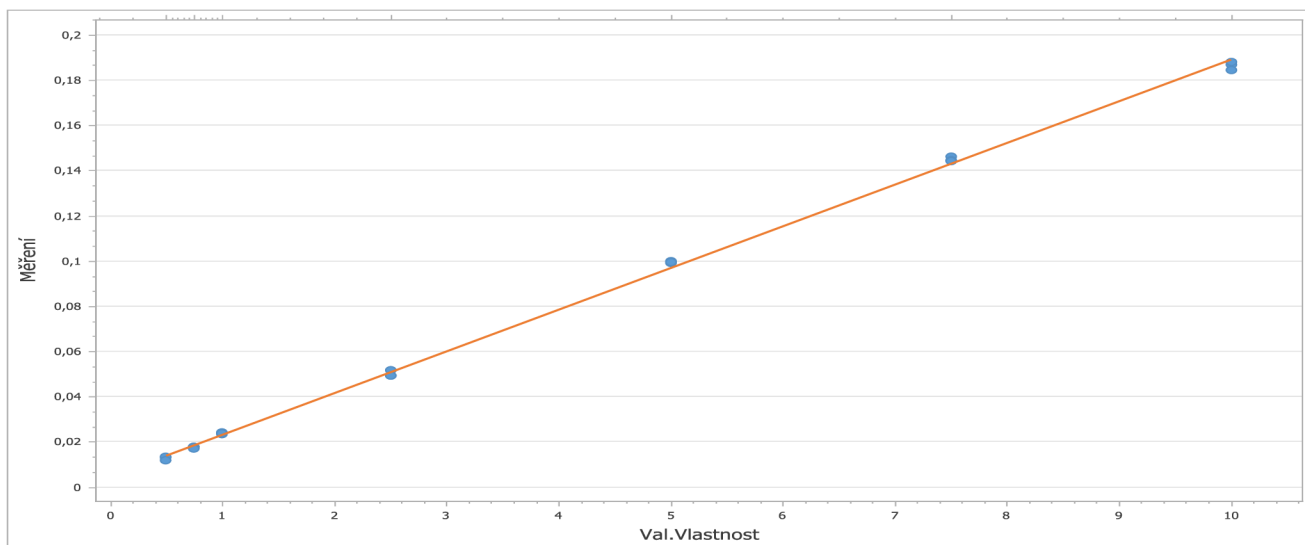
#### Vstupní data

Popis	Val. vlastnost [mg/l]	Měření [1]
Ca_0,5mgL_a	0,5	0,0131
Ca_0,5mgL_b	0,5	0,0132
Ca_0,5mgL_c	0,5	0,0116
Ca_0,75mgL_a	0,75	0,0178
Ca_0,75mgL_b	0,75	0,0178
Ca_0,75mgL_c	0,75	0,0169
Ca_1,0mgL_a	1,0	0,0234
Ca_1,0mgL_b	1,0	0,0241
Ca_1,0mgL_c	1,0	0,0239
Ca_2,5mgL_a	2,5	0,0515
Ca_2,5mgL_b	2,5	0,0492
Ca_2,5mgL_c	2,5	0,0494
Ca_5,0mgL_a	5,0	0,0993
Ca_5,0mgL_b	5,0	0,0999
Ca_5,0mgL_c	5,0	0,0996
Ca_7,5mgL_a	7,5	0,1462
Ca_7,5mgL_b	7,5	0,1444
Ca_7,5mgL_c	7,5	0,144
Ca_10,0mgL_a	10,0	0,1868
Ca_10,0mgL_b	10,0	0,188
Ca_10,0mgL_c	10,0	0,1845

## Vyhodnocení

Vypočteny R	R <sup>2</sup>	R k testování	Vypočteny QC	QC k testování	Max. hodnota pro úsek (absolutní)	Vypočtená hodnota úseku	Hypotéza
[1]	[1]	[1]	[%]	[%]	[1]	[1]	
0,9995	0,9991	0,99	2,612	5	20	0,0046	Přijata

## Graf



Závěr: Linearita byla prokázána na základě hodnot korelačního a QC koeficientu. Vypočtená hodnota úseku pro danou přímku vyhovuje kritériu přijatelnosti pro úsek. Rovnice přímky:  $y=0,0046+0,0184*x$ .

Podpurná statistika: Úsek (odhad)= 0,004616

Směrnice (odhad)= 0,018442

Směrodatná odchylka úseku (odhad)= 0,000691

Směrodatná odchylka směrnice (odhad)= 0,00013

Interval spolehlivosti pro úsek= (0,003171) - (0,006061)

Interval spolehlivosti pro směrnici= (0,018171) - (0,018714)

Reziduální rozptyl (odhad)= 4E-06

Směrodatná odchylka reziduí (odhad)= 0,002048


Korelační koeficient= 0,999531

R<sup>2</sup>= 0,999063

QC Koeficient= 2,611971

## 10.2 Příloha B – linearita hořčík

Obr. 6: Vyhodnocení linearity kalibrační křivky hořčíku v destilované vodě – výstup z programu Effvalidation.

	Linearita - Korelační a QC koeficient - AAS - Hořčík	EffiChem s.r.o. Purkyňova 649/127 Brno
---	---	---

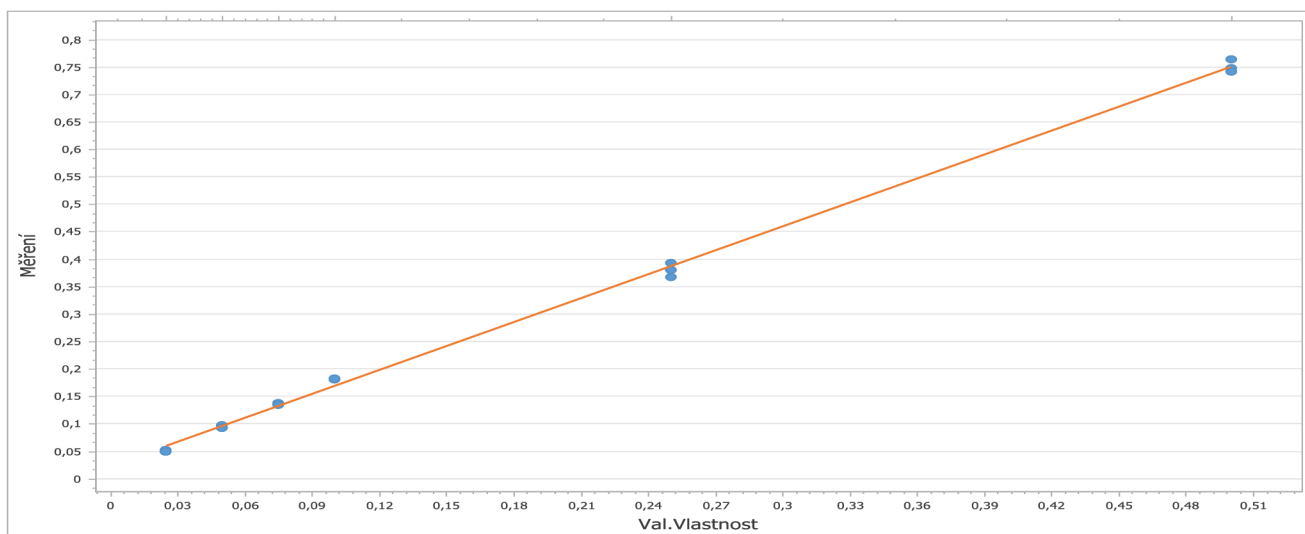
### Vstupní data

Popis	Val. vlastnost [mg/l]	Měření [1]
Mg_0,025mgL_a	0,025	0,0528
Mg_0,025mgL_b	0,025	0,0487
Mg_0,025mgL_c	0,025	0,0484
Mg_0,05mgL_a	0,05	0,093
Mg_0,05mgL_b	0,05	0,0979
Mg_0,05mgL_c	0,05	0,093
Mg_0,075mgL_a	0,075	0,1374
Mg_0,075mgL_b	0,075	0,1383
Mg_0,075mgL_c	0,075	0,1343
Mg_0,1mgL_a	0,1	0,1808
Mg_0,1mgL_b	0,1	0,1816
Mg_0,1mgL_c	0,1	0,1826
Mg_0,25mgL_a	0,25	0,3936
Mg_0,25mgL_b	0,25	0,3674
Mg_0,25mgL_c	0,25	0,3801
Mg_0,5mgL_a	0,5	0,7632
Mg_0,5mgL_b	0,5	0,7474
Mg_0,5mgL_c	0,5	0,7419

## Vyhodnocení

Vypočteny R	R <sup>2</sup>	R k testování	Vypočteny QC	QC k testování	Max. hodnota pro úsek (absolutní)	Vypočtená hodnota úseku	Hypotéza
[1]	[1]	[1]	[%]	[%]	[1]	[1]	
0,9992	0,9985	0,99	3,6496	5	20	0,0234	Přijata

## Graf



Závěr: Linearita byla prokázána na základě hodnot korelačního a QC koeficientu. Vypočtená hodnota úseku pro danou přímku vyhovuje kritériu přijatelnosti pro úsek. Rovnice přímky:  $y=0,0234+1,4535*x$ .

Podpurná statistika: Úsek (odhad)= 0,023444

Směrnice (odhad)= 1,45347

Směrodatná odchylka úseku (odhad)= 0,003439

Směrodatná odchylka směrnice (odhad)= 0,014224

Interval spolehlivosti pro úsek= (0,016153) - (0,030735)

Interval spolehlivosti pro směrnici= (1,423315) - (1,483626)

Reziduální rozptyl (odhad)= 0,0001

Směrodatná odchylka reziduí (odhad)= 0,009995

Korelační koeficient= 0,999235


R<sup>2</sup>= 0,99847

QC Koeficient= 3,649609



### 10.3 Příloha C – mez detekce a mez stanovitelnosti vápník

Obr. 8: Vyhodnocení meze detekce a meze stanovitelnosti vápníku v destilované vodě – výstup z programu Effvalidation.

	Meze - 3s - IUPAC - AAS -	EffiChem s.r.o.
	Vápník	Purkyňova 649/127 Brno

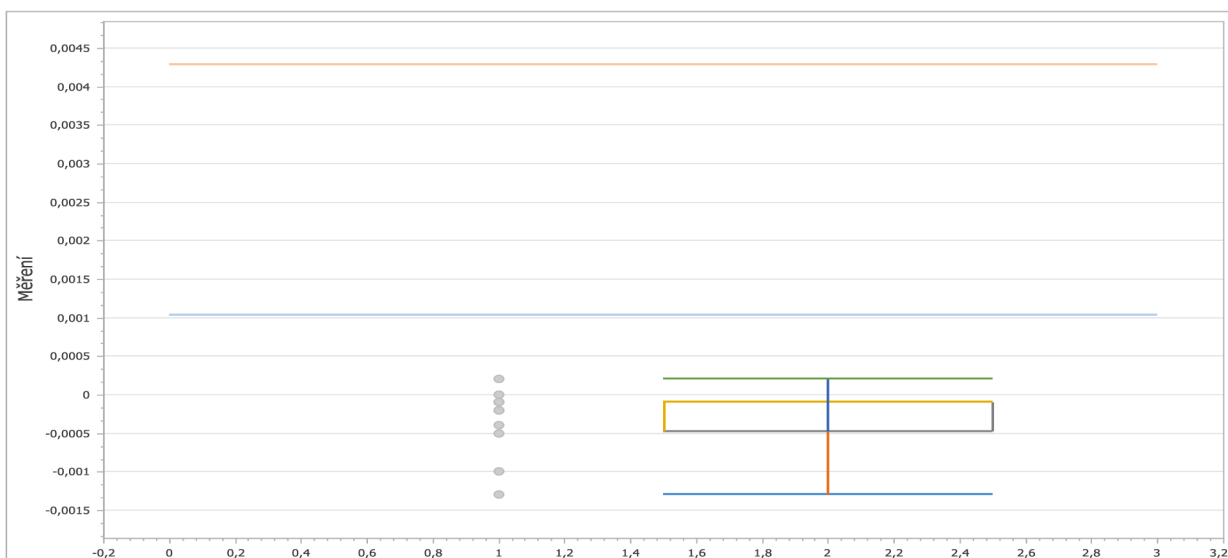
#### Vstupní data

Popis	Měření 1	Měření 2	Měření 3	Měření 4	Měření 5	Měření 6	Měření 7	Měření 8	Měření 9	Měření 10
	-0,0013	-,0005	-0,001	-0,0004	0	-0,0002	0,0002	-0,0001	-0,0002	-0,0001

#### Vyhodnocení

Měření na mezi detekce	Měřené na mezi stanovitelnosti	Validovaná vlastnost na mezi detekce	Validovaná vlastnost na mezi stanovitelnosti
0,001	0,0043	0,0756	0,252


#### Graf



Závěr: Mez det./stanovit. je 0,001 resp. 0,0043. Val.vlastnost na mezi det./stanovit. je 0,0756 resp. 0,252.

## 10.4 Příloha D – mez detekce a mez stanovitelnosti hořčík

Obr. 8: Vyhodnocení meze detekce a meze stanovitelnosti hořčíku v destilované vodě – výstup z programu Effvalidation.

	<b>Meze - 3s - IUPAC - AAS -</b>  <b>Hořčík</b>	EffiChem s.r.o.  Purkyňova 649/127 Brno
---	---	---

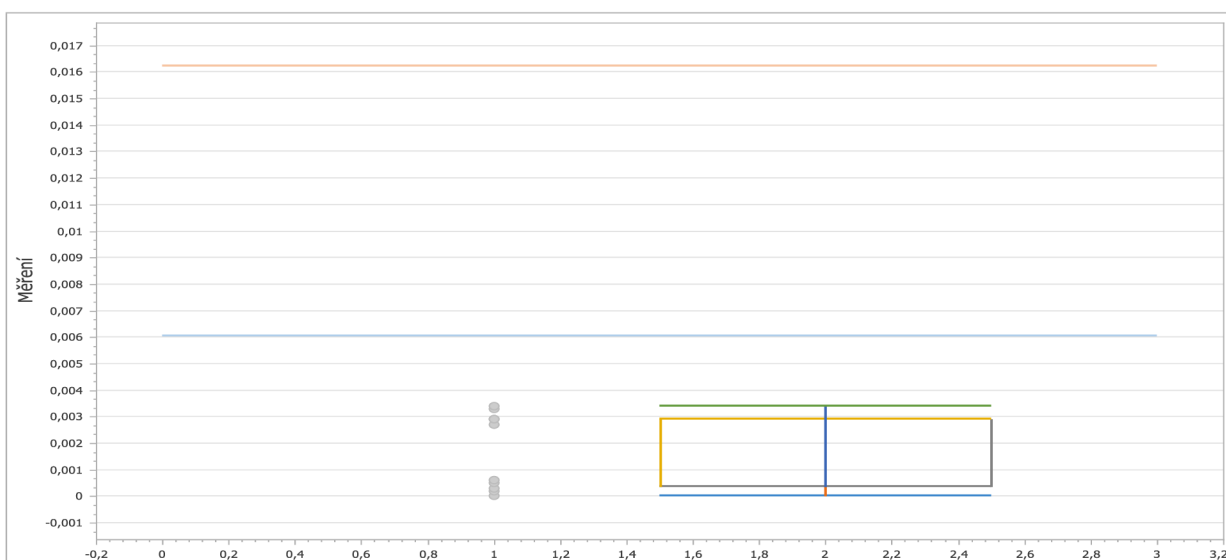
### Vstupní data

Popis	Měření 1	Měření 2	Měření 3	Měření 4	Měření 5	Měření 6	Měření 7	Měření 8	Měření 9	Měření 10
	0,0005	0,0033	0,0029	0,0027	0,0029	0,006	0,0003	0	0,0034	0,0002

### Vyhodnocení

Měření na mezi detekce	Měřené na mezi stanovitelnosti	Validovaná vlastnost na mezi detekce	Validovaná vlastnost na mezi stanovitelnosti
0,006	0,0162	0,003	0,01

### Graf



Závěr: Mez det./stanovitel. je 0,006 resp. 0,0162. Val.vlastnost na mezi det./stanovitel. je 0,003 resp. 0,01.

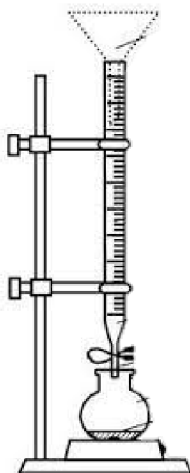
## 10.5 Příloha E – zadání (workshop)

### POSTUP PRÁCE

## Chelatometrická titrace - stanovení vápenatých a hořečnatých iontů

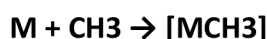
Základní informace k postupu stanovení vápenatých a hořečnatých iontů pomocí chelatometrické titrace:

- Veškeré nádoby (kádinky, titrační baňky) si popište názvem chemikálie. Titrační baňky si očísľujte a uveďte i své iniciály.
- Dle obrázku sestavte titrační aparaturu a v pracovním listu pojmenujte jednotlivé části.



- Před samotnou titrací promyjte byretu – naplňte byretu odměrným roztokem chelatonu 3 a vypusťte celý objem do kádinky označené jako „odpad“.
- Před každou následující titrací doplňte vždy byretu odměrným roztokem na nulu. Nezapomeňte poté odstranit nálevku z byrety. Přebytečné množství odměrného roztoku odpusťte do kádinky označené jako „odpad“.
- Pokud budete mít v byretě bublinu, je třeba ji odstranit např. opatrným poklepáním, nebo odpuštěním odměrného roztoku do kádinky označené jako „odpad“.
- Tlumivý roztok pipetujte do titrační baňky v zapnuté digestoři.
- Roztok KOH pipetujte také v zapnuté digestoři a pod dohledem lektora.
- Před vlastní titrací napipetujte vzorek do titrační baňky a kopistkou přidejte malé množství indikátoru.

- Titrační baňku s připraveným vzorkem umístěte pod byretu a poté titrujte do barevného přechodu.
- Titraci proveďte třikrát, pokud se jednotlivá měření neliší více než o 0,20 ml, můžete měření ukončit a pro výpočet použijete průměrnou hodnotu těchto měření. V případě větších rozdílů výsledků proveďte raději titraci ještě jednou.
- Důležitá informace pro správný výpočet obsahu Ca a Mg: Základem chelatometrie - jedna molekula chelatonu 3 reaguje s jedním kovovým iontem bez ohledu na druh a náboj kovu (výjimka: lanthanoidy a aktinoidy).



Pozn: *M* – kationt kovu (bez ohledu na náboj), *CH3* – chelaton 3


### Úkoly pro jednotlivé dvojice.

- V každé dvojici jeden provede stanovení celkového obsahu vápenatých a hořečnatých iontů (celkové tvrdosti vody), druhý stanovení vápenatých iontů. Poté si oba poskytněte výsledky a na základě nich určete koncentraci v mg/l hořečnatých iontů.

### Stanovení celkového obsahu vápenatých a hořečnatých iontů

- Skleněnou nedělenou pipetou odpipetujte 50 ml vzorku vody do titrační baňky. Ke vzorku v titrační baňce přidejte skleněnou pipetou v digestoři 2,5 ml pufračního roztoku (pH 10). Po dokonalém promíchání přidejte tolik indikátoru Eriochromová čern T, aby se roztok zbarvil právě zřetelně vínově.
- Titrujte odměrným roztokem chelatonu 3 do změny barvy z vínové až do jasně modrého odstínu. Spotřebovaný objem odměrného roztoku si zapisujte do pracovních listů.

### Stanovení vápenatých iontů – rukavice a brýle při práci s 6M roztokem KOH

- Skleněnou nedělenou pipetou odpipetujte do titrační baňky 100 ml vzorku vody, přidejte skleněnou pipetou v digestoři 2 ml 6 M KOH  pod přímým dohledem lektora – jde o žíravou látku! Po dokonalém promíchání přidejte opatrně kopístkou indikátorovou směs, aby se roztok zbarvil zeleně.

- Titrujte odměrným roztokem chelatonu 3 do změny barvy ze zelené do růžovozelené. Spotřebovaný objem odměrného roztoku si zapisujte do pracovních listů.

#### **Stanovení hořčnatých iontů diferenční metodou**

K chelatometrickému stanovení hořčíku diferenční metodou použijte výsledky chelatometrického stanovení celkové tvrdosti vody a výsledky chelatometrického stanovení vápníku. Obsah hořčíku vypočítejte z rozdílu obou stanovení.

# Atomová absorpční spektrometrie – stanovení vápenatých a hořečnatých iontů

**Základní informace k postupu stanovení vápenatých a hořečnatých iontů pomocí atomové absorpční spektrometrie:**

- Veškeré nádoby (zkumavky, kádinky) si popište názvem chemikálie.
- Roztoky před pipetováním a před měřením důkladně promíchejte.
- Kalibrační funkce je závislost odezvy detektoru (měřené veličiny) na koncentraci sledovaného analytu. Cílem kalibrace je určení této závislosti. Kalibrace se provádí postupným proměřením kalibračních roztoků o známé koncentraci. Koncentrace stanovovaných iontů v jednotlivých kalibračních roztocích postupně roste ve zvoleném rozsahu. Pro analytickou metodu je nezbytné pracovat v lineární oblasti, tedy v oblasti, ve které platí lineární vztah mezi koncentrací analytu a odezvou detektoru. Koncentrace analytu je hodnota, kterou známe a měříme odezvu detektoru, následným vyhodnocením získáme kalibrační funkci.

**Úkoly pro jednotlivé skupiny.**

- V každé dvojici jeden provede přípravu kalibračních roztoků, druhý ředění vzorků vody k analýze. Po změření společně sestrojte graf závislosti absorbance na koncentraci kalibračních roztoků na mm papír a určete koncentraci analyzovaných vzorků vody.

**Příprava kalibračních roztoků**

1. Pracovní roztoky solí obou stanovovaných prvků o koncentraci vápníku 100 mg/l a koncentraci hořčíku 10 mg/l jsou již připraveny od lektora.
2. **Příprava směsného pracovního roztoku Ca + Mg**  
Do odměrné baňky o objemu 100 ml odpipetujte pomocí 10 ml pipety 5 ml pracovního roztoku vápníku označeného jako „pracovní roztok Ca“. Čistou pipetou o objemu 5 ml odpipetujte do stejné baňky 5 ml pracovního roztoku hořčíku označeného jako „pracovní roztok Mg“. Následně doplňte odměrnou baňku destilovanou vodou po rysku a důkladně promíchejte. Do pracovního listu vypočítejte koncentraci Ca a Mg v směsném pracovním roztoku.

### 3. Příprava směsných kalibračních roztoků o celkovém objemu 10 ml

Připravte si 10 plastových zkumavek a označte si je K1 – K10. Pomocí 10 ml pipety odpipetujte nejprve příslušné množství destilované vody - rozpouštědla ( $V_{ROZP}$ ) do všech označených zkumavek, poté odpipetujte příslušné množství směsného pracovního roztoku ( $V_{PR}$ ) do všech označených zkumavek dle tabulky. Dávejte pozor a pipetujte do všech zkumavek nejprve destilovanou vodu, poté směsný pracovní roztok. Pro přehlednost jsou pipetované objemy shrnuty v tabulce 1. Zkumavky uzavřete a důkladně promíchejte.

Tab. 1: Přehled objemů (destilované vody, směsného pracovního roztoku a celkového objemu) pro přípravu kalibračních roztoků.

Koncentrační úroveň	Příprava		
	$V_{ROZP}$	$V_{PR}$	$V_{CELK}$
	[ml]	[ml]	[ml]
K1	9	1	10
K2	8	2	10
K3	7	3	10
K4	6	4	10
K5	5	5	10
K6	4	6	10
K7	3	7	10
K8	2	8	10
K9	1	9	10
K10	0	10	10

Pozn.: K1-K10 – kalibrační roztok o určité koncentraci, která je dána objemem směsného pracovního roztoku a destilované vody,  $V_{ROZP}$  – objem destilované vody,  $V_{PR}$  – objem směsného pracovního roztoku,  $V_{CELK}$  – celkový objem připraveného kalibračního roztoku.

#### Příprava pro ředění analyzovaných vzorků

- Každý vzorek k analýze se připraví příslušným ředěním původního vzorku vody pomocí destilované vody v 15 ml zkumavce na **celkový objem 10 ml**.
- Každý vzorek k analýze je třeba připravit ve 3 nezávislých opakováních pro každou koncentrační úroveň (na každé ředění). Jednotlivé vzorky je třeba řádně označit (dle označení v pracovním listu). V průběhu práce vyplňujte příslušnou tabulku v pracovním listu, ať máte pro pozdější výpočty přesné informace o ředění.

- Doporučení na ředění vzorku pitné vody – nenaředit, naředit 10x, 20x, 50x, 100x, 1000x. K ředění použijte automatické pipety o maximálním nominálním objemu 10  $\mu$ l, 50-200  $\mu$ l a skleněné dělené pipety o rozsahu (5 ml a 10 ml). Dodržuje správnou laboratorní praxi při pipetování, nezaměňujte špičky pipet pro vzorek a pro rozpouštědlo (destilovaná voda). Nejprve pipetujte do všech zkumavek rozpouštědlo (destilovanou vodu), poté přidejte daný objem vzorku.
- Také připravte 1 slepý vzorek (10 ml destilované vody používané na ředění vzorků i kalibraci).
- Zkumavky s naředěnými vzorky důkladně promíchejte.
- Před měřením si zkontrolujte celkový objem (10 ml).



## POSTUP PRÁCE – TLUMIVÝ ROZTOK (PUFR)

### Základní informace k postupu měření pH roztoku

- pH elektroda musí být neustále ponořena v měřeném či skladovacím roztoku (roztok KCl). Mimo roztok smí být elektroda jen po nezbytně nutnou dobu max. přibližně v řádu desítek sekund.
- Při manipulaci s pH elektrodou dávejte pozor, aby se elektroda nerozbila.
- V případě přesunu pH elektrody mezi roztoky – elektrodu vždy omyjte destilovanou vodou a opatrně osušte buničinou.

#### 1. Kalibrace pH metru

- Kalibraci proveďte za použití kalibračních roztoků o pH 7 a pH 10.
- Vyjměte elektrodu z roztoku KCl, opláchněte ji destilovanou vodou, osušte buničinou a vložte do neutrálního kalibračního roztoku o pH 7. Pokud displej neukazuje pH rovno 7,00, pomocí přiloženého šroubováčku hodnotu upravte. Srovnání proveďte točením šroubku v dolní části pH metru u písmene N.
- Vložte elektrodu do zásaditého kalibračního roztoku o pH 10 (opět nezapomeňte omýt destilovanou vodou a osušit buničinou). Pokud není pH rovno 10,00, srovnejte opět pomocí šroubku, tentokrát u písmene S.
- Elektrodu opět opláchněte a osušte buničinou.
- Po kalibraci vložte elektrodu do připravené kádinky s destilovanou vodou a pokračujte dalším úkolem.

#### 2. Změny pH v roztoku s přidavkem pufru

- Odměrným válcem odlijte 50 ml destilované vody do vyšší (75 ml) kádinky. K roztoku přidejte v zapnuté digestoři skleněnou pipetou 2,5 ml pufru. Kádinku následně umístěte na magnetickou míchačku, přidejte míchadélko a opatrně na malé otáčky zapněte.
- Poté míchačku vypněte a vložte pH elektrodu. Změřené pH si zapište. Následně do kádinky přidejte automatickou pipetou 20 µl 5% HCl a opatrně na chvíli zapněte míchačku. Po vypnutí míchačky a ustálení pH si údaj zase zapište. Opakujte 5x a sledujte, jak se mění pH a hodnoty zapisujte. Po změření elektrodu pečlivě omyjte,

- osušte buničinou a vložte do připravené kádinky s destilovanou vodou - poté máte čas na přípravu dalšího roztoku.

### 3. Změny pH v roztoku s hydroxidem

- Odměrným válcem odlijte 50 ml destilované vody do vyšší (75 ml) kádinky. K roztoku přidejte skleněnou pipetou 2,5 ml lektorem připraveného roztoku NaOH o koncentraci 0,16 mg/ml. Kádinku následně umístěte na magnetickou míchačku, přidejte míchadélko a opatrně na malé otáčky zapněte.
- Poté míchačku vypněte a vložte pH elektrodu. Změřené pH si zapište. Následně do kádinky přidejte automatickou pipetou 20  $\mu$ l 5% HCl a opatrně na chvíli zapněte míchačku. Po vypnutí míchačky a ustálení pH si údaj zase zapište. Opakujte 5x a sledujte, jak se mění pH a hodnoty zapisujte.
- Po změření všech vzorků elektrodu opět omyjte, osušte buničinou a vložte do roztoku KCl.

## 10.6 Příloha F – pracovní list (workshop)

### PRACOVNÍ LIST

Jméno:.....

Třída:.....

Datum:.....

### BEZPEČNOST PRÁCE

K jednotlivým piktogramům přiřadte význam dle výběru.

VYSOCE TOXICKÁ LÁTKA, DRÁŽDIVÁ LÁTKA, LÁTKA VYSOCE NEBEZPEČNÁ PRO ZDRAVÍ, LÁTKA NEBEZPEČNÁ PRO ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ, HOŘLAVÁ LÁTKA, VÝBUŠNÁ LÁTKA, OXIDUJÍCÍ LÁTKA, ŽÍRAVÁ LÁTKA



Uveďte k vybraným přípravkům, jaké hrozí při jejich používání nebezpečí v závislosti na obsažených látkách, které jsou uvedené v závorkách:

- Domestos (chlornan sodný <u>5%</u>) -
- Savo proti plísním (chlornan sodný 4,7%, hydroxid sodný) -
- Fixinela (kyselina fosforečná 5-15%) -
- Osvěžovač vzduchu Ozon (propan, butan, isobutan, parfém) -
- Jar Lemon (Sodium Laureth Sulfate 10-20%, Lauramine Oxide 1-5%) -

Při laboratorním cvičení chelatomrické titrace a AAS metody jsou používána také nebezpečná činidla. K jednotlivým činidlům napište, o jaké látky se z hlediska bezpečnosti práce jedná.

- Kyselina chlorovodíková -
- Amoniak -
- Pufruční roztok -
- Hydroxid draselný -

## Chelatometrická titrace – stanovení vápenatých a hořečnatých iontů

**Úkol: Pomocí titrace určete koncentraci vápenatých a hořečnatých iontů v analyzovaném vzorku.**

### 1. Doplněte vynechaná slova.

Chelatometrické titrace se využívají ke stanovení tvrdosti vody, konkrétně k určení přesné koncentrace ..... a ..... iontů. Při těchto titracích reaguje odměrný roztok (.....) se stanovovaným kovem v molárním poměru..... . Probíhající chemická reakce vede k uvolňování vodíkových kationtů, což ovlivňuje pH roztoku, a tím i stabilitu komplexu. Při určování celkové tvrdosti je proto třeba ke stanovovanému roztoku přidávat ....., aby se zabránilo změně ..... prostředí.

Při titraci vápenatých iontů se pracuje při pH 12 až 13. V takto alkalickém prostředí se ..... ionty odměrného stanovení neúčastní, tvoří totiž stabilní bezbarvou sraženinu hydroxidu .....

Koncentraci hořečnatých iontů vypočítáme z ..... stanovení celkové tvrdosti vody a stanovení vápenatých iontů.

K určení bodu ekvivalence se využívají ....., které po přidání k roztoku vytváří s kovovými ionty ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) komplex, ten je však méně stabilní než komplex chelaton – kov. Komplex indikátor – kov má ..... zbarvení, než volný (na konci titrace vytěsněný) indikátor.

### 2. Tabulka tvrdosti vody – rozdělení dle množství rozpuštěných látek

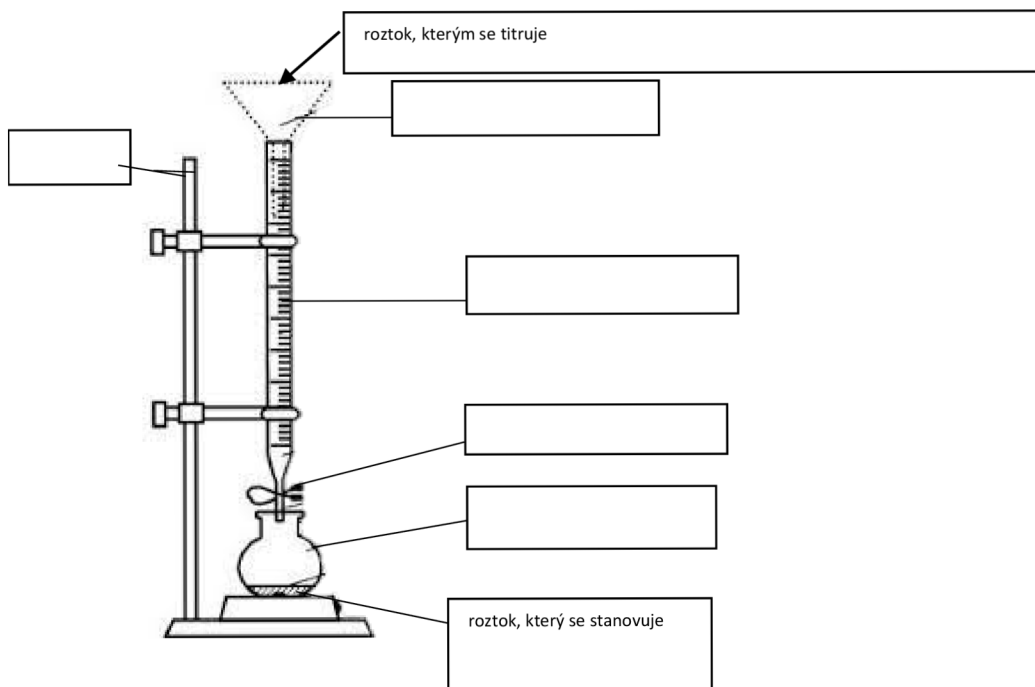
Označení vody	[mmol/l]
měkká	0,7 – 1,25
středně tvrdá	1,26 – 2,5
tvrdá	2,51 – 3,75

Tvrdá voda je označení, které zejména charakterizuje sumu ..... a .....

V tomto případě se koncentrace vyjadřuje v .....

### Schéma titrační aparatury:

Přiřaďte následující názvy do příslušných rámečků v obrázku: STOJAN, NÁLEVKA, BYRETA, TITRAČNÍ ROZTOK, TITRAČNÍ BAŇKA, KOHOUT, ODMĚRNÝ ROZTOK



### Chelatometrické stanovení celkového obsahu vápenatých a hořečnatých iontů

Přesná koncentrace titračního roztoku chelatonu 3: .....**mol/l** (hodnotu si opište ze zásobní láhve)

Objem vzorku ke stanovení .....**ml**

Spotřeba titračního roztoku v průběhu titrace vzorku vody:

1. měření: **V<sub>1</sub>** .....**ml**

2. měření: **V<sub>2</sub>** .....**ml**

3. měření: **V<sub>3</sub>** .....**ml**

(4. měření: **V<sub>4</sub>** .....**ml**)

Průměrná hodnota spotřeby: **V<sub>prum</sub>** = .....**ml**

Na základě průměrné spotřeby a přesné koncentrace titračního roztoku chelatonu 3 vypočítejte celkovou tvrdost stanovované vody. Tvrdost vody je dána množstvím vápenatých a hořečnatých iontů. Výsledek uveďte v mol/l a mmol/l.

Výpočet celkové tvrdosti vody v mol/l a mmol/l:

#### Chelatometrické stanovení vápenatých iontů

Přesná koncentrace titračního roztoku chelatonu 3: .....mol/l (hodnotu si opište ze zásobní láhve)

Objem vzorku ke stanovení .....ml

Spotřeba titračního roztoku:

1. měření:  $V_1$  .....ml

2. měření:  $V_2$  .....ml

3. měření:  $V_3$  .....ml

(4. měření:  $V_4$  .....ml)

Průměrná hodnota spotřeby:  $V_{prum} =$ .....ml

Na základě průměrné spotřeby a přesné koncentrace titračního roztoku chelatonu 3 vypočítejte celkový obsah vápníku ve vodě. Výsledek nejprve uveďte v mol/l a následně přepočítejte pomocí molární hmotnosti na g/l a poté převedte na mg/l.

$M_{Ca} = 40,08 \text{ g/mol}$

Celkový obsah vápníku ve vodě v mol/l:

Výpočet celkového obsahu vápníku v g/l a mg/l:

**Stanovení hořečnatých iontů diferenční metodou**

Určete celkový obsah hořčíku ve vodě. Výsledek nejprve uveďte v mol/l a následně přepočítejte pomocí molární hmotnosti na g/l a poté převedte na mg/l.

$$M_{\text{Mg}} = 24,32 \text{ g/mol}$$

Celkový obsah hořčíku v mol/l:

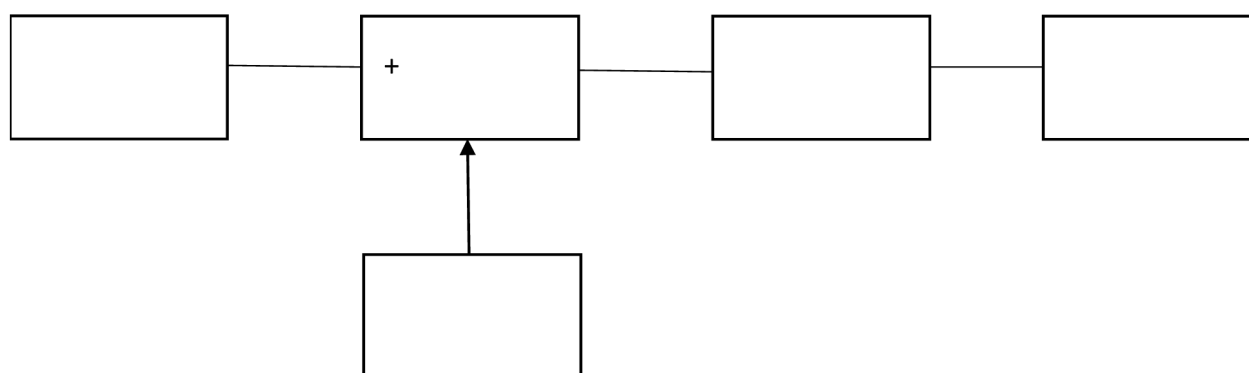
Výpočet celkového obsahu hořčíku v g/l a mg/l:

Atomová absorpční spektrometrie – stanovení vápenatých  
a hořečnatých iontů

**Úkol: Určete koncentraci analyzovaného prvku v roztoku pomocí atomové absorpční spektrometrie.**

**1. Blokové schéma atomového absorpčního spektrometru s atomizací v plameni.**

Do příslušných rámečků, které znázorňují blokové schéma AAS doplňte následující slova: ATOMIZÁTOR, DETEKTOR, ZMLŽOVAČ, MONOCHROMÁTOR, ZDROJ ZÁŘENÍ, VZOREK



**2. Vyberte z možností správné slovo.**

- Atomová absorpční spektrometrie využívá platnosti Lambert-Beerova zákona pro **absorpci/desorpci/adsorpci** záření **volnými/vázanými** atomy stanovovaného prvku v **plynném/kapalném/pevném** stavu. Využívaná spektrální oblast je 190 až 900 nm. Po absorpci záření z této oblasti dochází k **excitaci/emisi** valenčních elektronů.
- Zdrojem čárového záření je výbojka s dutou **katodou/anodou**. Výbojka je složena z anody ze žáruvzdorných kovů a z katody, která je obvykle vyrobená přímo ze stanovovaného prvku a svým tvarem připomíná dutý váleček. Vnitřek výbojky je vyplněn plynem o nízkém tlaku. Když se na elektrody vloží napětí, vytvoří se mezi elektrodami **elektrický/jiskrový** výboj, který obsahuje kladně nabitě ionty plnicího plynu a volné **protony/elektrony**. Ionty plnicího plynu se pohybují směrem ke **katodě/anodě**, narážejí do jejího povrchu a vyrážejí z ní **volné/vázané** atomy stanovovaného prvku. Valenční elektrony vyražených **atomů/molekul** získají díky srážkám energii a jsou excitovány, při návratu do základního stavu **emitují/absorbují** záření charakteristické pro materiál katody.



- Ve zmlžovači prouděním plynu (oxidovadla) dojde ke snížení tlaku a díky tomuto sníženému tlaku se nasává kapalný vzorek, vzniká aerosol, dojde ke tříštění velkých kapek na skleněné kuličky a aerosol je NÁSLEDNĚ smísen s palivem. Těsně nad výstupem z hořáku dojde k úplnému shoření **kapalné/plynné/pevné** složky a do plamene (atomizátoru) tak vstupují pouze volné **atomy/elektrony**, které absorbují záření přicházející z výbojky. Platí Kirchhoffův zákon (volné atomy daného prvku absorbují záření těch vlnových délek, které jsou schopny samy vyzařovat).
- Záření, které je po průchodu zónou obsahující atomy v atomizovaném stavu sníženo o absorbovanou část záření, přechází na **monochromátor/detektor**, který slouží k izolaci úzkého pásu vlnových délek z polychromatického záření. Izolovaný pás vlnových délek je dále veden systémem zrcadel do detektoru, v němž je tento optický signál převedený na elektrický signál, který je dále zpracováván vyhodnocovacím zařízením (počítač).
- Vyhodnocování výsledků se provádí metodou kalibrační křivky sestavené proměřením absorbancí kalibračních roztoků o **známé/neznámé** koncentraci.

### 3. Připravte kalibrační roztoky a proveďte jejich AAS analýzu

- Držte se pracovního postupu (*PŘÍPRAVA KALIBRAČNÍCH ROZTOKŮ*)

Výpočet koncentrace Ca a Mg v směsném pracovním roztoku v mg/l:

#### Příprava kalibračních roztoků

Do tabulky doplňte vypočtené koncentrace analytů (Ca a Mg) a v průběhu AAS měření zapisujte naměřené absorbance.

Směsné kalibrační roztoky Ca+Mg	Koncentrační úroveň	Vápník		Hořčík	
		c	A	c	A
		[mg/l]	[AU]	[mg/l]	[AU]
	K01				
	K02				
	K03				
	K04				
	K05				
	K06				
	K07				
	K08				
	K09				
	K10				

- Na základě hodnot v tabulce sestrojte na milimetrový papír graf závislosti absorbance na koncentraci.
- Návod k sestrojení grafu:  
Vápník: koncentrace (1 díl = 1 cm = 0,5 mg/l), absorbance (1 díl = 1 cm = 0,01 AU)  
Hořčík: koncentrace (1 díl = 1 cm = 0,05 mg/l), absorbance (1 díl = 1 cm = 0,1 AU)

#### 4. Určete koncentraci hořčíku a vápníku v analyzovaném vzorku.

- Držte se pracovního postupu (*PŘÍPRAVA PRO ŘEDĚNÍ ANALYZOVANÝCH VZORKŮ*)

#### Ředěné vzorky

1. Do tabulky doplňte vypočtené objemy rozpouštědla a vzorku pro dosažení příslušného ředění.

Ředění	Příprava		
	$V_{\text{ROZP}}$	$V_{\text{VZOREK}}$	$V_{\text{CELK}}$
	[ml]	[ml]	[ml]
1000x			10
100x			10
50x			10
20x			10
10x			10
NŘ			10

Výpočet objemů rozpouštědla a vzorků v ml:

2. Do tabulky si v průběhu analýzy vzorků pomocí AAS vyplňujte naměřené hodnoty absorbancí. Následně pomocí grafu kalibrační křivky určete koncentraci iontů v analyzovaném vzorku. Nezapomeňte, že je roztok ředěný – skutečnou koncentraci vápníku a hořčíku zapište do tabulky. Na základě grafu kalibrační křivky se rozhodněte, zda se roztok v příslušném ředění vešel/nevešel do kalibračního rozsahu (vždy udělejte průměr z třech naměřených hodnot).

Vzorek	Ředění	Vápník		Hořčík		Ano/Ne
		A	c	A	c	
		[AU]	[mg/l]	[AU]	[mg/l]	
1A	1000x					
1B						
1C						
2A	100x					
2B						
2C						
3A	50x					
3B						
3C						
4A	20x					
4B						
4C						
5A	10x					
5B						
5C						
6A	NŘ					
6B						
6C						

Na závěr dle tabulky uveďte skutečné koncentrace obou stanovovaných prvků:

- Skutečná koncentrace vápníku ve vzorku .....mg/l
- Skutečná koncentrace hořčíku ve vzorku .....mg/l

## ZÁVĚR:

Zkuste se zamyslet a odpovědět na otázky:

1. **Vysvětlete pojem tvrdost vody.**

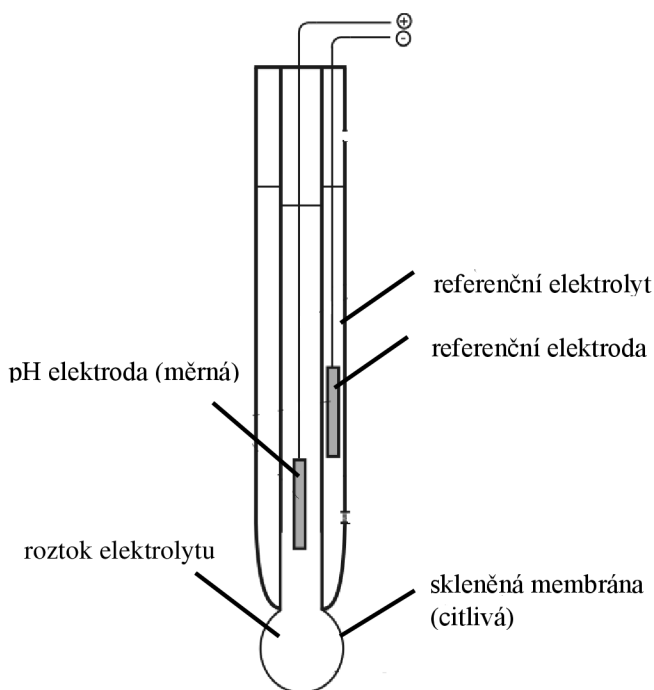
2. **Zhodnoťte tvrdost vody v případě vašeho vzorku, který jste analyzovali.**

3. **Porovnejte výsledky obou stanovení (titračně a spektrometricky), v případě, že se budou výsledky výrazně lišit, zkuste zdůvodnit, co mohlo výsledek ovlivnit.**

4. **Byli byste radši, kdyby Vám doma z kohoutku tekla velmi tvrdá, nebo velmi měkká voda? A proč?**

## Tlumivý roztok (pufr)

Zařízení, pomocí kterého se měří zásaditost a kyselost roztoku, musí být citlivé na vodíkové ionty  $H^+$  ( $H_3O^+$ ), jejichž koncentrace v roztoku udává hodnotu ..... . Pro tato měření se v praxi používá **skleněná/kovová** kombinovaná elektroda (Obr. 1). Tenkostěnná skleněná membrána, tvořící baničku na konci skleněné elektrody, je citlivá na  $H^+/OH^-$  ionty. Při ponoření elektrody do měřeného roztoku dojde ke vzniku potenciálového rozdílu. Pokud bychom sledovali pouze potenciál měrné elektrody, nemůžeme určit pH roztoku. Pro určení je potřeba další elektroda, tzv. referenční elektroda. Pro stanovení je třeba rozdílný (diferenční) potenciál obou elektrod. Odezva měrné elektrody je závislá na koncentraci vodíkových iontů  $H^+$ , čímž poskytuje informaci o kyselosti či zásaditosti roztoku. Naopak referenční elektroda tuto informaci neposkytuje. Referenční elektroda je zdrojem konstantního potenciálu, ke kterému se pak vztahuje potenciál měrné elektrody. Potenciál mezi dvěma elektrodami určuje množství vodíkových iontů  $H^+/OH^-$ , který pak definuje ..... roztoku.



Obr. 1: Schéma kombinované skleněné elektrody.

Do tabulky vyplňte změřené hodnoty pH metrem.

	Roztok s pufrům - pH	Roztok s hydroxidem - pH
0 x 20 $\mu$ l 5 % HCl		
1 x 20 $\mu$ l 5 % HCl		
2 x 20 $\mu$ l 5 % HCl		
3 x 20 $\mu$ l 5 % HCl		
4 x 20 $\mu$ l 5 % HCl		
5 x 20 $\mu$ l 5 % HCl		

**ZÁVĚR:**

1. Na základě změřených hodnot vysvětlete, jakou funkci má tlumivý roztok.

2. Jak se měnilo pH v obou roztocích po přidání kyseliny?

3. Znáte nějakou látku z běžného života, která se chová stejně jako tlumivý roztok?

## 10.7 Příloha G – zadání „Důkazové reakce“

### Důkazy vápenatých a hořečnatých kationtů

Máte k dispozici 6 odměrných baněk označených X1, X2, 1, 2, 3, 4. Jde o roztok vápenatého kationtu a hořečnatého kationtu (X1 a X2) a roztoky  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , NaOH a  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  (roztoky 1-4). Příslušný roztok kationtu a roztok sloučeniny spolu reagují dle tabulky reaktivity. Vaším úkolem je zjistit, co se, v jaké odměrné baňce nachází za roztok.

Tabulka reaktivity.

Kationt	$\text{Na}_2\text{CO}_3$	$\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	NaOH	$(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$
$\text{Ca}^{2+}$	Bílá sraženina – rozpustná a vznikají bublinky	Bílá sraženina	Bílá sraženina – rozpustná	Bílá sraženina – rozpustná a vznikají bublinky
$\text{Mg}^{2+}$	Bílá sraženina – rozpustná a vznikají bublinky	-----	Bílá sraženina – rozpustná	-----

#### Postup:

1. Do čtyř zkumavek pomocí kapátka odpipetujte cca 0,5 ml roztoku kationtu (X1).
2. Do každé zkumavky přidejte stejné množství roztoku jednoho z činidel (roztoky 1-4).  
Obsah každé zkumavky po přidání činidla opatrně promíchejte. Sledujte vznik sraženiny v reakční směsi. Dále pozorujte chování vzniklé sraženiny v nadbytku rozpouštědla – zředěné HCl. Vše zapište do záznamové tabulky.
3. Celý postup opakujte pro druhý kation (X2).
4. Pomocí vašich záznamů a vzorové tabulky reaktivity určete, jaký roztok se, pod kterým označením nachází, a výsledky si zaznamenejte do záznamového archu.

Záznamová tabulka.

Kationt	1-.....	2-.....	3-.....	4-.....
X1-.....				
X2-.....				



## 10.8 Příloha H – zadání + řešení „Názvosloví“

### Názvosloví

V této úloze si zkusíte nové názvosloví formou spojovačky. Máte za úkol spojit níže uvedené vzorce s názvy sloučenin, se kterými pracujete dnes v laboratoři.

HCl	Azan
Ca <sup>2+</sup>	Dicarbon-dihydrogen-tetraoxygen dioxidan
Mg <sup>2+</sup>	Dinatrium-trioxidokarbonát
NaOH	Hydrogen-chlorid
KOH	Kalcium(2+)
NaCl	Kalcium-trioxidokarbonát
NH <sub>3</sub>	Kalcium-dichlorid
CaCl <sub>2</sub>	Kalium-hydroxid
H <sub>2</sub> O	Magnesium(2+)
CaCO <sub>3</sub>	Magnesium-tetraoxidosulfát heptaoxidán
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	Natrium-hydroxid
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Natrium-chlorid
C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	Oxidán

## Názvosloví - řešení

Spojte níže uvedené vzorce s příslušnými názvy.

HCl	Hydrogen-chlorid
Ca <sup>2+</sup>	Kalcium(2+)
Mg <sup>2+</sup>	Magnesium(2+)
NaOH	Natrium-hydroxid
KOH	Kalium-hydroxid
NaCl	Natrium-chlorid
NH <sub>3</sub>	Azan
CaCl <sub>2</sub>	Kalcium-dichlorid
H <sub>2</sub> O	Oxidán
CaCO <sub>3</sub>	Kalcium-carbon-trioxygen
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	Magnesium-sulfur-tetraoxygen hepta-oxidán
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Dinatrium-carbon-trioxygen
C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	Dicarbon-dihydrogen-tetraoxygen dioxidán

## 10.9 Příloha I – fotografie z workshopu





## 10.10 Příloha J – dotazník

Dotazník

Byly pro tebe postupy, návody a pracovní listy srozumitelné? Pokud ne, uveď konkrétní příklad.

Co ses během workshopu naučil/a, a co ti workshop přinesl?

Přišla ti nějaká úloha zajímavá – získané informace využiješ i v běžném životě?

Bylo pro tebe něco opakování a zbytečná ztráta času?

Co bys zlepšil/a?

Děkuji!  
Nela Pazderková

## 10.11 Příloha K – tabulky koncentrací pro danou spotřebu Chelatonu 3

Mattoni neperlivá		
Spotřeba CH III	koncentrace vápníku	koncentrace hořčíku
[ml]	[mg/l]	[mg/l]
15	76	21
15,2	77	21
15,4	78	22
15,6	79	22
15,8	80	22
16	81	22
16,2	82	23
16,4	83	23
16,6	84	23
16,8	85	24
17	86	24
17,2	87	24
17,4	88	24
17,6	89	25
17,8	90	25
18	91	25

Dobrá voda		
Spotřeba CH III	koncentrace vápníku	koncentrace hořčíku
[ml]	[mg/l]	[mg/l]
1,2	3,4	3,1
1,4	4,0	3,7
1,6	4,6	4,2
1,8	5,1	4,7
2	5,7	5,2
2,2	6,3	5,8
2,4	6,8	6,3
2,6	7,4	6,8
2,8	8,0	7,3
3	8,5	7,8
3,2	9,1	8,4
3,4	9,7	8,9
3,6	10,2	9,4
3,8	10,8	9,9
4	11,4	10,5
4,2	12,0	11,0

Vodovodní voda		
Spotřeba CH III	koncentrace vápníku	koncentrace hořčíku
[ml]	[mg/l]	[mg/l]
3,6	24	1,9
3,8	25	2,1
4	26	2,2
4,2	27	2,3
4,4	29	2,4
4,6	30	2,5
4,8	31	2,6
5	33	2,7
5,2	34	2,8
5,4	35	2,9
5,6	37	3,0
5,8	38	3,1
6	39	3,2
6,2	41	3,3
6,4	42	3,5
6,6	43	3,6

Korunní		
Spotřeba CH III	koncentrace vápníku	koncentrace hořčíku
[ml]	[mg/l]	[mg/l]
11,6	58	17
11,8	59	17
12	60	17
12,2	61	18
12,4	62	18
12,6	63	18
12,8	64	19
13	65	19
13,2	66	19
13,4	67	19
13,6	68	20
13,8	69	20
14	70	20
14,2	71	21
14,4	72	21
14,6	73	21



## 10.12 Příloha L – fotografie z Noci vědců



