

Úloha 1. Základní optické metody. Konduktometrie.

Požadované znalosti: Optické laboratorní metody, konduktometrie, bioelektrické vlastnosti membrán a rovnice jej popisující, zrak.

1. Spektrofotometrie – Absorpční křivka eosinu a stanovení jeho koncentrace

Cíl úlohy:

Určení absorpčního maxima eosinu z absorpční křivky.

Úkol 1

Měření absorpční křivky eosinu a určení maxima v oblasti viditelného spektra.

Potřeby k měření:

Spektrofotometr Specol, automatická pipeta, roztoky pro měření, destilovaná voda.

Pracovní postup:

- 1) Zapněte spektrofotometr. Nastavte pomocí voliče vlnových délek vlnovou délku 450nm.
- 2) Zkontrolujte čistotu kyvet (pozor: každá kyveta má 2 stěny čiré a 2 matné). Kyvetu uchopte vždy pouze za matné stěny.
- 3) Spektrofotometr Specol má pohyblivý držák měřicího nástavce pro 2 kyvety, vložte nejprve kyvetu s destilovanou vodou do jednoho úchytu, do druhého úchytu kyvetu s měřeným roztokem. Kyvety musí být naplněny nejméně do dvou třetin. Tlačítkem zvolte režim „E“ a pro destilovanou vodu zmáčkněte reset tlačítko „R“.
- 4) Změřte hodnotu absorbance. Pro destilovanou vodu se na displeji spektrofotometru musí ukázat hodnota 0,000. To znamená, že pro destilovanou vodu se automaticky nastavila hodnota absorbance 0,000. Nyní do měřicího prostoru zasuňte kyvetu s měřeným roztokem a odečtěte jeho absorbanci A.
- 5) Poté do měřicího prostoru zasuňte opět kyvetu s destilovanou vodou a hodnotu vlnové délky zvětšete o 5 nm. Po vynulování displeje (absorbance pro destilovanou vodu opět 0,000) vložte do měřicího prostoru kyvetu se zkoumaným roztokem a odečtěte jeho absorbanci A.
- 6) Uvedený postup opakujte a vlnovou délku světla zvyšte při každém kroku o 5 nm. Při proměrování absorpční křivky postupujeme do vlnové délky 550 nm.
- 7) Do grafu vyneste závislost absorbance na vlnové délce a odečtěte absorpční maximum, což je vlnová délka, při které je absorbance měřeného roztoku nejvyšší.

2. Refraktometrie – Stanovení koncentrace NaCl

Cíl úlohy:

Stanovení koncentrace NaCl v neznámém vzorku.

Potřeby k měření:

Refraktometr (v případě použití Abbeova refraktometru je nutná také osvětlovací lampa), krystalický NaCl, stojan se zkumavkami, automatické pipety, destilovaná voda, buničitá vata, váhy nebo předvážky, váženka.

Pracovní postup:

1. Předpokládejte, že koncentrace neznámého vzorku není vyšší než 200g/l. Proto 10ml základního roztoku připravte právě o této koncentraci z krystalického NaCl a destilované vody. **Ředěním připraveného základního roztoku** si připravte koncentrace NaCl 50, 100, 150g/l.
2. Osvětlovací hranol refraktometru oddělte od měřicího hranolu. Přesvědčte se o čistotě obou hranolů. Pokud uvidíte zbytky nečistot, opláchněte je destilovanou vodou a vysušte buničitou vatou.
3. Na plochu hranolu kápněte kapku zkoumané kapaliny a hranoly opět přiklopte.
4. Nyní otáčejte spodním knoflíkem přístroje tak, až se v zorném poli okuláru objeví rozhraní „světlé – tmavé“. Může být barevné díky rozdílným indexům lomu kapaliny a skla hranolů a tedy neostré. Kompenzací, tj. „odbarvení“ a zároveň „zaostření“ proveďte otáčením horního knoflíku přístroje (uvnitř se otáčí dvojice kompenzačních hranolů, které při vhodném natočení eliminují barevnost rozhraní, které se stane černo-bílým a tedy i ostrým). Takto vykompenzované rozhraní nastavte na střed kříže.
Pozn.: Otáčením knoflíku pro vyhledání rozhraní otáčíme systémem hranolů a de facto vyhledáváme oblast osvětlenou světlem, které se láme pod úhlem maximálně rovným úhlu meznímu pro aktuálně použitou kapalinu.
5. Ve spodní části odečtěte hodnotu indexu lomu kapaliny (s přesností nejméně na tři desetinná místa).
6. Postupně proměřte indexy lomu všech kalibračních roztoků, včetně základního. Nejprve změřte index destilované vody, dále postupujte od roztoku s nejnižší koncentrací k roztoku o nejvyšší koncentraci. Všechny naměřené hodnoty запиšte do tabulky a poté vytvořte graf závislosti indexu lomu na koncentraci.
7. Nakonec změřte index lomu neznámého vzorku, a z grafu odečtěte jeho koncentraci.
8. Po skončení měření otřete plochy obou hranolů buničinou zvlhčenou destilovanou vodou nebo opláchněte destilovanou vodou a otřete buničinou a nechte hranoly odklopeny.

Diskutujte výhody a nevýhody této metody ve srovnání s jinými optickými metodami.

3. Konduktometrie.

Cíl úlohy:

Měření membránového potenciálu pomocí laboratorního konduktometru

Potřeby k měření:

NaCl, semipermeabilní membrána (mikrotenový sáček), konduktometr.

Postup měření:

- 1) V kádince připravte 300 ml nasyceného roztoku NaCl
- 2) Do velké kádinky nalijte destilovanou vodu (300 ml) a do ní ponořte model propustné membrány
- 3) Naplňte model membrány připraveným roztokem NaCl
- 4) Změřte měrnou vodivost (γ) a teplotu (t) roztoku přístrojem **COND 720**
- 5) Destilovanou vodou (ze stříčky) důkladně opláchněte měřící celou přístroje
- 6) Měřte měrnou vodivost (γ) a teplotu (t) v prostředí destilované vody v čase **0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 min.** Před odečtením hodnoty důkladně promíchej roztoky pohybem kádinky a vyčkejte do ustálení hodnoty na přístroji.
- 7) Sestrojte graf závislosti měrné vodivosti na čase
- 8) V diskuzi okomentujte děje probíhající v elektrolytu a na modelu membrány včetně použití rovnice, která by nejlépe popisovala stav v rovnováze.

POZOR!!

V případě, že osoba pracující před Vámi již pro svoje měření namíchala nasycený roztok NaCl a model membrány je neporušený, pouze připravte novou kádinku naplněnou destilovanou vodou (cca 300 ml) a vlastní měření proved'te s již připraveným modelem membrány obsahujícím namíchaný roztok NaCl (tj. vynechejte bod 1 a 3). Po ukončení měření ponechte roztok pro další měření.

Diskutujte příčiny vzniku klidového membránového potenciálu a jeho možné biologické důsledky.

4. Určení zrakové ostrosti

Cíl úlohy:

Stanovení hodnoty naturálního vízu pro oko pravé, levé, binokulárně.

Potřeby k měření:

LCD optotyp.

Pracovní postup:

1. Digitální optotyp se nachází na stěně v poslední místnosti laboratoří.
2. Na spodní straně zapněte optotyp. Nutné je zapnout i dálkový ovladač. Po spuštění zvolte na ovladači příslušný režim (pro měření zrakové ostrosti zvolte režim „ETDRS“)
3. Vyšetřovaný se postaví do předepsané vzdálenosti od optotypu tak, aby optotyp byl přibližně v úrovni jeho očí (případně brýle sundejte, čočky nevytahujte, ale uveďte v diskusi!)
4. Zakryje si levé oko okluzorem nebo destičkou či dlaní – zde je třeba dbát, aby si prsty netlačil na oko, které bude vyšetřeno následně anebo ho nezakrýval prsty od sebe roztaženými z důvodu disimulace
5. Vyšetřující vyzve vyšetřovaného ke čtení písmen, resp. rozlišení předkládaných znaků
6. Nejmenší přečtený řádek znamená maximální dosaženou zrakovou ostrost
7. Vyšetřující zaznamená dosaženou zrakovou ostrost zlomkem (desetinným číslem)
8. Stejný postup je opakován pro vyšetření oka levého, resp. pro binokulární měření
9. Porovnání výsledků

Diskutujte zejména dosažené výsledky, zamyslete se nad příčinami zrakových vad.

5. Polarimetrie

Úloha se prakticky neprování, je třeba se však připravit teoreticky. V praktiku si můžete polarimetr prohlédnout.