

Experimenty pro přírodovědné kroužky

na téma: Životní prostředí

VLADIMÍR VINTER A KOL.

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta

Olomouc 2013

Oponenti: Mgr. Pavla Dvořáková
Mgr. Ludmila Zbořilová

Spoluautoři: Mgr. Lucie Kubienová
Mgr. Jana Jahnová
doc. RNDr. Petr Hašler, Ph.D.
RNDr. Pavlína Baizová, Ph.D.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Neoprávněné užití tohoto díla je porušením autorských práv
a může zakládat občanskoprávní, správněprávní, popř. trestněprávní odpovědnost.

1. vydání

© Vladimír Vinter a kol., 2013

© Univerzita Palackého v Olomouci, 2013

ISBN 978-80-244-3624-1

Obsah

Předmluva	7
-----------------	---

ANALÝZA VODY

1 Stanovení senzorických vlastností vody	11
1.1 Odběr vzorků	12
1.2 Teplota vody	13
1.3 Posuzování vzorků vody (diskuze)	13
1.4 Chuť vody	13
1.5 Pach vody	14
1.6 Průhlednost vody	14
1.7 Barva vody	15
1.8 pH vody	15
1.9 Orientační zjištění stupně znečištění vody	16
2 Stanovení obsahu Ca, Mg ve vodě chelatometricky (tvrdost vody)	17
2.1 Přibližné zjištění tvrdosti vody	19
2.2 Stanovení Ca^{2+}	20
2.3 Stanovení $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$	20
3 Chloridy ve vodě	22
3.1 Důkaz chloridů ve vodě	22
3.2 Argentometrické stanovení chloridů ve vodě	23
4 Stanovení amoniakálního dusíku a důkaz amoniaku ve vodě	24
4.1 Důkaz amoniaku	25
4.2 Stanovení amoniakálního dusíku s Nesslerovým činidlem	25
4.3 Stanovení amoniakálního dusíku ve formě indofenolu	26
5 Stanovení dusičnanů ve vodě	27
5.1 Důkaz dusičnanů ve vodě pomocí difenylaminu	28
5.2 Stanovení dusičnanů ve vodě pomocí salicylové kyseliny	28

6	Turbidimetrické stanovení síranů ve vodě.....	29
6.1	Stanovení síranů ve vodě spektrofotometricky	29
7	Důkazy kovů a fenolu ve vodě.....	31
7.1	Důkaz hořčíku	31
7.2	Důkaz železa	32
7.3	Důkaz vápníku a sodíku.....	32
7.4	Důkaz fenolu.....	32
8	Důkazové reakce vody	33
8.1	Důkaz vody v různých látkách	33
8.2	Důkaz vody v ethanolu.....	33
9	Stanovení obsahu vody v rostlinném pletivu a v živočišné tkáni	34
9.1	Stanovení obsahu vody v buňkách	34
10	Stanovení neutralizační kapacity vody	35
10.1	Stanovení NK při použití indikátoru.....	36
10.2	Stanovení NK při použití potenciometrické titrace	36
11	Stanovení chemické spotřeby kyslíku.....	37
11.1	Stanovení CHSK manganistanovou metodou.....	38
12	Identifikace fenolů ve vodě	39
12.1	Důkaz fenolů ve vodě tenkovrstevnou chromatografií.....	40
13	Kolorimetrické stanovení iontů ve vodě	42
13.1	Stanovení fosforečnanů	43
13.2	Stanovení dusitanů.....	43
13.3	Stanovení železa	43
13.4	Stanovení manganu	43
13.5	Stanovení zinku	43
13.6	Stanovení mědi	43
	Použitá literatura a informační zdroje.....	44

ANALÝZA PŮDY

1	Stanovení půdní reakce	47
1.1	Stanovení půdní reakce	48
2	Půdní výměnná sorpce.....	49
2.1	Stanovení půdní reakce potenciální hydrolytické.....	50
2.2	Stanovení okamžitého obsahu výměnných kationtů.....	50
3	Aktivita půdních celulas.....	53
3.1	Stanovení aktivity půdních celulas	54
4	Aktivita půdní katalasy.....	56
4.1	Příprava titračního roztoku	57
4.2	Stanovení aktivity katalasy	58
5	Stanovení obsahu uhličitánů v půdě.....	60
5.1	Kvalitativní stanovení obsahu uhličitánů.....	60
5.2	Kvantitativní stanovení obsahu uhličitánů	60
6	Stanovení přijatelných forem fosforu	62
6.1	Stanovení koncentrace fosforu ve vzorku půdy	63
	Použitá literatura a informační zdroje.....	64

ZKOU MÁME A CHRÁNÍME PŘÍRODU V NAŠEM OKOLÍ

1	Zjišťujeme ekologickou stopu školy.....	67
2	Botanický průzkum okolí školy.....	69
3	Dřeviny v našem okolí.....	71
4	Měříme plochu listové čepele	75
5	Fenologická pozorování rostlin.....	81
6	Zkoumáme rozšiřování semen a plodů.....	84

7	Analýza životních forem rostlin v okolí školy	86
8	Chráníme vodní zdroje	89
9	Pozorujeme sinice a řasy	92
PRACUJEME S MIKROSKOPEM.....		99

Předmluva

Cílem projektu Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů – Přírodní vědy v 21. století, řešeného v rámci Operačního programu Vzdělávání pro konkurenceschopnost, je podpořit zájem studentů středních škol o přírodní vědy, především chemii a biologii a zvýšit kvalitu vzdělávání v těchto oborech. Výstupem je sada experimentů z chemie a biologie na tři různá témata pro soutěže školních kolektivů, kolekce experimentů vhodných pro praktická cvičení středoškolských studentů pořádaná na pracovištích vysoké školy a soubor přednášek, které proběhly během projektu pro středoškolské pedagogy.

V rámci projektu byla vytvořena troje skripta na tři různá témata pro práci přírodovědných kroužků na středních školách, dále skriptum experimentů, které mohou studenti provádět v laboratořích vysoké školy, a miniskriptum přednášek pro středoškolské pedagogy. Skripta jsou určena středoškolským pedagogům pro obohacení experimentální výuky v předmětech chemie a biologie a pro práci přírodovědných kroužků.

Olomouc, 2013

doc. RNDr. Ludmila Zajoncová, Ph.D.
hlavní řešitelka projektu

ANALÝZA VODY

Lucie Kubienová,
Ludmila Zajoncová,
Pavlína Baizová

1 Stanovení senzorických vlastností vody

Teoretický úvod

Voda je chemická sloučenina vodíku a kyslíku. Spolu se vzduchem, resp. atmosférou tvoří základní podmínky pro existenci života na Zemi. Za normální teploty a tlaku je to bezbarvá, čirá kapalina bez zápachu, v silnější vrstvě namodralá. V přírodě se voda vyskytuje ve třech skupenstvích: v pevném – sníh a led, v kapalném – voda a v plynném – vodní pára.

Voda má mimořádné fyzikální vlastnosti, které jsou důsledkem struktury její molekuly. V molekule vody je atom kyslíku vázán s dvěma vodíkovými atomy polární kovalentní vazbou. Molekula vody je lomená s vazebným úhlem přibližně 105° a polarita vazeb vodík–kyslík způsobuje polaritu celé molekuly. Voda je polární látka, a tudíž i polární rozpouštědlo, ve kterém se dobře rozpouští polární látky (amoniak, chlorovodík) a iontové látky (soli). Jednotlivé molekuly existují pouze v plynném skupenství. V kapalném a pevném skupenství (led) jsou molekuly vody k sobě poutány slabými vazebnými silami (vodíkové můstky), což má vliv na vysoký bod varu vody ve srovnání s jinými molekulami. Proto je voda na Zemi převážně v tekutém stavu. Z dalších anomálií vody je to fakt, že největší hustotu nemá led, ale voda tekutá (4°C), která se hromadí na dně oceánu a vodních nádrží, což má význam pro vodní organizmy. Voda má vysokou tepelnou kapacitu, které se využívá pro transport tepla.

Destilovaná voda je na rozdíl od vody jako chemické směsi elektricky nevodivá, vodivost způsobují rozpuštěné soli a minerální látky. Nečistoty ve vodě (příměsi) ovlivňují body varu a tuhnutí, tudíž každá voda kromě destilované není chemicky čistá látka. Nečistoty snižují bod tuhnutí (soli) a zvyšují bod varu. Voda jako kapalina se skládá z molekul, které jsou v neustálém pohybu a působí na sebe přitažlivými nebo odpuzivými silami. Proto má kapalná voda některé vlastnosti pevné látky (zachování objemu) a některé vlastnosti plynu (tekutost). Kapalina si zachovává svůj objem i při stlačování a vždy zaujme tvar podle tvaru nádoby. Voda má poměrně malou viskozitu, proto voda teče mnohem rychleji než olej a také tvoří menší kapky na rozdíl od oleje. V horní vrstvě kapaliny vzniká povrchové napětí, které způsobuje, že se povrch kapaliny chová jako pružná blána, která se snaží dát kapce tvar s co nejmenším objemem – tím je koule.

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: nádoby na odběr vody, teploměr, zkumavky, podložní sklíčko, skleněná tyčinka, Erlenmeyerova baňka, hodinové sklo, skleněný válec, univerzální indikátorový pH papírek, papír s nápisem (písmo 3,5 mm), zápalky, síťka, skleněné kuličky či varné kamínky, kuželová baňka, pipeta, byreta.

Chemikálie: vzorky vody, koncentrovaná kyselina sírová, vodný roztok manganistanu draselného (3 g KMnO_4 na 100 ml destilované vody).

Přístroje: vařič, kahan.

Pracovní postupy

1.1 Odběr vzorků

Proveďte odběr následujících vzorků vody, s kterými budete nadále pracovat:

1. pitná voda (z domácí studny/vodovodu v místě bydliště),
2. destilovaná voda,
3. minerální voda (balená z obchodu),
4. čerstvě zachycená dešťová voda,
5. dešťová voda – první liják z okapu,
6. jezerní/říční voda,
7. voda z rour na staveništi,
8. voda s octem,
9. slaná voda,
10. mýdlový roztok po mytí rukou,
11. cokoliv Vás napadne...

Objem odebraného vzorku by měl být alespoň 300 ml. Nádobu, do které bude vzorek odebírán (např. čistá PET láhev od balené pitné vody, dobře vymytá sklenice), je vhodné před vlastním odběrem důkladně propláchnout odebíranou vodou. Vzorek se může odebírat jednorázově, nebo z různých míst. Pokud je voda odebírána z vodovodu, je doporučeno nechat před odběrem vodu odtékat ustáleným proudem asi 5 minut. K dalším pokusům uchováme vzorek v lednici při teplotě 3–4 °C.

Všechny vzorky odebrané z různých zdrojů opatřete řádným štítkem na odběrové nádobě, kde uveďte místo odběru, datum, čas a případně i teplotu, pokud ji měříte ihned při odběru.

1.2 Teplota vody

Teplotu vody měřte ihned při jejím odběru. Měření teploty vody proveďte ponořením teploměru pod vodní hladinu, přičemž vzorek při měření nesmí být na přímém slunečním světle. Teplotu odečítejte po ustálení rtuťového sloupce teploměru. Výsledky udávejte v °C po zaokrouhlení na 0,1 °C a za-
pište do tabulky.

Rozlišení vod podle teploty:

studená	do 25 °C
vlažná	25–35 °C
teplá	35–42 °C
horká	nad 42 °C

1.3 Posuzování vzorků vody (diskuze)

Postavte vedle sebe sklenice s různými vzorky vody (nasbírané viz 1.1). Každý si vezměte jednu sklenici a budete o svojí sklenici vody uvažovat.

Prostřednictvím následujících otázek je pak možno dojít k závěru, jaké vlastnosti by měla mít pitná voda, aby se z jejích vlastností mohlo zpětně vysledovat, odkud asi pochází:

1. Ze které zde vystavené sklenice byste se rádi napili, ze které ne, a proč?
2. Jaké byste měli požadavky na vaši vodárnu, abyste se její vody rádi napili?
3. Jaké požadavky by měly splňovat vodovodní trubky? Slyšeli jste už něco o problémech s vodovodním potrubím? O co šlo?
4. Nač vlastně ve svém všedním životě potřebujeme vodu?
5. Myslíte, že máme pitné vody dostatek nebo jsou s její úpravou problémy?

1.4 Chuť vody

Chuť vody zjišťujte pouze u vzorků pitných vod, které jsou bakteriologicky nezávadné a neobsahují toxické látky.

Chuť stanovíte subjektivně na základě 4 základních chutí: slaná, sladká, kyselá, hořká. Voda také může mít různé příchuti, které vyhodnotíte a slovně popíšete (např. kovová, houbovitá, mdlá, železitá, zatuchlá, zemitá, ...).

1.5 Pach vody

Pach vody je nepříjemnou vlastností vody a působí odpudivě. Pach je způsoben těkavými pachotvornými látkami, které se dostávají do vody přirozenou cestou (rozpuštěné soli, horké plyny v pramenech) nebo odpadními vodami. Mohou být také produktem biologických procesů a rozkladu organických látek (pesticidy, řasy, plísňe). Příčinou také mohou být látky v odpadních vodách z domácností, průmyslu a zemědělství (saponáty, chemikálie) a látky z havárií (ropné produkty).

Pach stanovte u všech nasbíraných vzorků vody smyslovou zkouškou při teplotách 20 a 60 °C. Vzorky k určení pachu není vhodné konzervovat, analýzu je nutno provést co nejdříve od odběru vzorku, nejpozději však do 24 hodin.

Vlastní provedení čichové zkoušky:

Do Erlenmeyerovy baňky se zábrusem o objemu 500 ml odměřte 200 ml zkoumané vody a přikryjte baňku hodinovým sklem. Baňku poté zahřejte na vařiči na požadovanou teplotu (20 nebo 60 °C), obsah baňky promíchejte a čichem zjišťujte přítomnost a druh pachotvorných látek.

Intenzitu pachu vyjadřujte v 6 stupních a запиšte do tabulky: žádný, velmi slabý, slabý, znatelný, zřetelný, velmi silný. Druh pachu povrchové vody se projevuje podle zdroje jako fekální, hnilobný, plísňový, zemitý, travní, rašelinový, atd.

1.6 Průhlednost vody

Průhlednost vody je dána její barvou a zákalem. Měří se výškou sloupce vody, přes něhož lze ještě pozorovat bílou desku (v terénu), nebo přechíst písmo určité velikosti (v laboratoři). Zákal je způsoben obsahem nerozpuštěných solí nebo koloidně rozpuštěných látek organického i anorganického původu, které jsou příčinou i „zdnalivě barevnosti“.

Při laboratorním stanovení určete průhlednost vody ve skleněném válci o průměru 2,5 cm a výšce 50 cm. Pod válec umístěte bílou čtvrtku papíru s nápisem (čitelné písmo vysoké 3,5 mm) a postupně přilévejte do válce promíchaný vzorek vody do té doby, až se písmena stanou nečitelnými. Sledujte, při jaké výšce vrstvy vody ve válci je písmo již nečitelné a údaj zaznamenejte. Výška vody sloupce je měřítkem porovnání znečištění.

1.7 Barva vody

Barva vody může být zapříčiněna látkami rozpuštěnými, ale i nerozpuštěnými. Při hodnocení jakosti vody se stanovuje barva způsobená rozpuštěnými látkami, nerozpuštěné látky se jako rušivé odstraňují.

U povrchových vod se na zbarvení podílejí především huminové látky a železité sloučeniny (Fe^{3+}) – způsobují žluté až červenohnědé zbarvení. Žluté až žlutohnědé zbarvení může být také způsobeno jíly a rašelinou, nazeleňalé a nahnědlé zbarvení je způsobeno fytoplanktonem. Další zbarvení může být způsobeno odpady z provozů a domácností.

Barvu vody vyhodnoťte pouze slovně pojmenováním odstínu barvy (od bezbarvé, přes světlé a tmavé odstíny různých barev až po černou) a запиšte.

1.8 pH vody

Měření pH slouží ke zjištění míry kyselosti nebo zásaditosti vody.

1. Z odběrové lahve odlijte část vzorku do kádinky, ze které ponořením skleněné tyčinky odeberte jednu až dvě kapky na univerzální indikátový papírek.
2. Srovnajte zbarvení papírku s barevnou stupnicí, čímž získáte přibližnou hodnotu pH zkoumané vody. Změny zbarvení indikátoru udávají hodnoty pH, které je možno měřit v rozsahu 0–14. Neutrální bod stupnice je pH 7. Pitná voda by měla mít pH v rozmezí 6,0 až 8,0 z důvodů zdravotních, chuti a současně i zabránění koroze instalace.

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

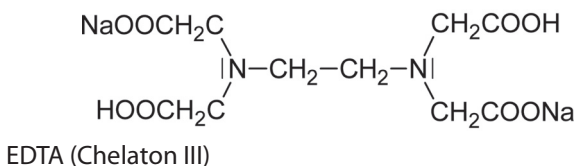
1.9 Orientační zjištění stupně znečištění vody

1. Do kuželové baňky odměřte 100 ml vzorku vody, přikápněte 3 kapky koncentrované H_2SO_4 a opatrně vložte několik skleněných kuliček či kamínků k zamezení vystříknutí obsahu z baňky.
2. Opatrně zahřívejte na síťce nad kahanem.
3. Do vařícího roztoku pomalu přikapávejte z pipety nebo byrety (po kapkách) tolik roztoku manganistanu draselného, dokud vzorek v baňce nezíská trvalé typické růžovořialové zbarvení.
4. Zapište si spotřebu činidla.
5. a) Když zbarvení vytrvá už po přidavku 0,1 ml roztoku KMnO_4 (2 kapky), jedná se o poměrně čistou vodu.
b) Když zbarvení nezmizí po přidání 0,5 ml roztoku (10 kapek), jedná se o mírně znečištěnou vodu.
c) Pokud zbarvení nezmizí po přidání více než 1 ml roztoku (20 kapek), jedná se o silně znečištěnou vodu.

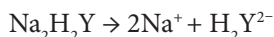
2 Stanovení obsahu Ca, Mg ve vodě chelatometricky (tvrdost vody)

Teoretický úvod

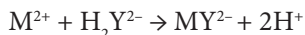
Komplexometrie je odměrná analytická metoda založená na tvorbě komplexních sloučenin s komplexotvorným činidlem. Při komplexometrických (chelatometrických) titracích, kterých se využívá k důkazu a stanovení mnoha látek, je titračním činidlem nejčastěji roztok ethylendiamintetraoctové kyseliny (Chelaton II, zkratka EDTA). Dihydrát disodné soli je nejčastěji dostupný pod komerčním názvem Chelaton III nebo komplexon (zkráceně $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$). Pro přímé komplexometrické titrace se používají speciální indikátory, k těm nepoužívanějším se řadí murexid, eriochromová čerň T a pyrokatechinová violeť.



Ve vodném roztoku dochází k disociaci Chelatonu III:

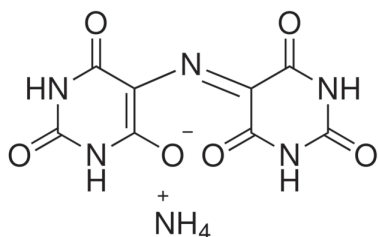
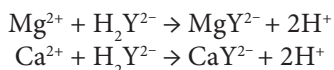


EDTA (Chelaton III) reaguje s kovovými ionty za vzniku komplexní sloučeniny, tzv. chelátu, vždy v molárním poměru 1 : 1 (čímž odpadají potíže s určením titračního faktoru), tedy podle obecného schématu:

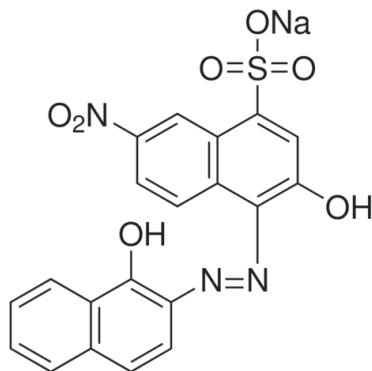


Při reakci se uvolňují protony, proto bude průběh reakce ovlivněn hodnotou pH.

Celkový obsah obou iontů lze stanovit současně titrací Chelatonem III v prostředí amonného tlumivého pufru (pH 10) s použitím metalochromního indikátoru eriochromové černi T (stanoví se suma $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$). Ve vodných roztocích kolem pH 6 přechází eriochromová čern T z vínově červeného zbarvení do modrého a při pH nad 12 do oranžového. Obsah samotného Ca se zjistí Chelatonem III v silně zásaditém roztoku (pH 11 až 12) na indikátor murexid, hořčík se přitom vyloučí jako málo rozpustný hydroxid (průhledná gelovitá sraženina), avšak stanovení Ca jeho sraženina neruší. Roztok murexidu je pod pH 6 červenofialový, v alkaličtějších roztocích je výrazně modrofialový. Obsah Mg^{2+} se poté vypočítá z rozdílu obou titrací. Při stanovení probíhá tato reakce:



MUREXID



ERIOCHROMOVÁ ČERŇ T

Celková tvrdost vody udává množství kationtů kovů alkalických zemin, převážně vápníku a hořčíku ve vodě. Udává se v milimolech na liter (mmol/l) nebo v německých stupních tvrdosti vody ($^{\circ}\text{d}$, $^{\circ}\text{dH}$, $^{\circ}\text{DH}$), pro nějž platí přepočtový vztah $1 \text{ mmol/l} = 5,6^{\circ}\text{d}$. $1^{\circ}\text{dH} = 1$ německý stupeň tvrdosti vody odpovídá 1 mg CaO na 100 ml vody. Pojem tvrdost vody hraje z technologického hlediska důležitou roli, ať již z hlediska čistících procesů (praní) či z hlediska ohřevu vody. Pro slovní charakterizaci tvrdosti vody se užívají různé stupnice:

Tvrdost vody		
počet mmol Ca v 1 litru [mmol/l]	německé stupně [°dH]	slovní charakteristika
0–<0,5	0–<2,8	velmi měkká
0,5–<1,25	2,8–<7	měkká
1,25–<2,5	7–<14	středně tvrdá
2,5–<3,75	14–<21	tvrdá
≥3,75	≥21	velmi tvrdá

Kationty Ca^{2+} a Mg^{2+} jsou velmi důležité pro lidský organizmus, jejich přítomnost je tedy žádoucí. Ze zdravotního hlediska doporučené koncentrace v pitné vodě:

Ca^{2+} 40–80 mg/l

Mg^{2+} 20–30 mg/l

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: pipeta, byreta, odměrný válec, odměrná zkumavka, zkumavky se zátkami, titrační baňka, lžička, magnetické míchadlo, univerzální pH papírek.

Chemikálie: 2 M roztok NaOH, 0,05 M roztok Chelatonu III, směs indikátoru murexidu a NaCl (1 : 100, tj. 0,1 g murexidu + 10 g NaCl), směs indikátoru eriochromová čern T a NaCl (1 : 100, tj. 0,1 g černi + 10 g NaCl), Schwarzenbachův tlumivý pufr (350 ml 25% NH_3 smíchat s 54 g NH_4Cl a doplnit destilovanou vodou do 1 litru), roztok mýdla v ethanolu (15 g nastrouhaného mýdla rozpustit v 250 ml ethanolu a přefiltrovat), destilovaná voda, libovolné vzorky vody (minerální, odpadní, dešťová, ...).

Pracovní postup

2.1 Přibližné zjištění tvrdosti vody

1. Do jedné zkumavky odměřte 10 ml destilované vody a do druhé zkumavky 10 ml vzorku vody.
2. Poté do obou zkumavek přikápněte 10 kapek ethanolového mýdlového roztoku, zkumavky uzavřete zátkami a obě najednou intenzivně třepete po dobu 2 minut.

3. Změřte výšku pěny a výsledky запиšte.
4. Nejvíce pěny se tvoří v destilované vodě, která neobsahuje žádné soli způsobující tvrdost vody. V měkké vodě mýdlo dobře pění (vhodná pro praní, napájení kotlů, ...), v tvrdé vodě se pěna netvoří a mýdlo vyvločkuje.

2.2 Stanovení Ca^{2+}

1. Sestavte titrační aparaturu složenou z byrety připevněné na stojan a titrační baňky.
2. Do titrační baňky odpipetujte 50 ml vzorku vody, přidejte 6 ml NaOH (2 M) a ověřte zásadité pH vzorku (skleněnou tyčinku ponořte do vzorku a dotkněte se jí univerzálního indikátorového pH papírku), které by mělo být přibližně 12.
3. Do titrační baňky přidejte 0,1 g směsi indikátoru murexidu a NaCl (na špičku lžičky), aby vznikl silně červený roztok.
4. Byretu naplňte roztokem Chelatonu III a ihned tímto roztokem titrujeme, titraci ukončíme při změně barvy z červené na modrofialovou.
5. Zapište hodnotu spotřebovaného Chelatonu III.
6. Stanovení proveďte celkem třikrát a vypočítejte průměrnou hodnotu spotřeby Chelatonu.
7. Vypočítejte koncentraci Ca^{2+} v 50 ml vzorku, vyjádřete v mmol/l.

2.3 Stanovení $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$

1. Sestavte titrační aparaturu složenou z byrety připevněné na stojan a titrační baňky.
2. Do titrační baňky odpipetujte 50 ml vzorku vody, přidejte 5 ml Schwarzenbachova tlumivého pufru (pH 10) a na špičku lžičky indikátoru eriochromová čern T, aby vznikl intenzivně vínově červený roztok.
3. Titrujte roztokem Chelatonu III až do modrého zbarvení.
4. Zapište hodnotu spotřebovaného Chelatonu III.
5. Stanovení proveďte celkem třikrát a vypočítejte průměrnou hodnotu spotřeby.
6. Ze zjištěných spotřeb vypočítejte koncentraci Ca^{2+} a Mg^{2+} v 50 ml vzorku, vyjádřete v mmol/l a určete celkový stupeň tvrdosti vody slovně.

Vyhodnocení

Koncentraci iontů Ca^{2+} v mmol/l (c_a) ve vzorku vody vypočtete dle vztahu:

$$c_a = c_t \cdot V_t \cdot 10^3 / V_a$$

Společná koncentrace iontů Ca^{2+} a Mg^{2+} v mmol/l (c_a) ve vzorku vody vypočtete dle vztahu:

$$c_a = c_t \cdot V_t \cdot 10^3 / V_a$$

c_t a V_t koncentrace a spotřebovaný objem odměrného roztoku (Chelatonu)
 V_a stanovovaný objem vzorku vody.

3 Chloridy ve vodě

Teoretický úvod

Vzhledem k poměrně vysokým obsahům chloridů ve všech typech vod lze použít k jejich stanovení metody odměrné – argentometrická či merkurimetrická titrace. Lze však použít i potenciometrické měření za použití iontově selektivní chloridové elektrody. V dnešní době je všeobecně vysoký výskyt chloridů v přírodě a další zvýšení vzniká splachem hnojiv z polí a soli (převážně NaCl) z posypu silnic v zimním období.

Argentometrie je odměrná analytická metoda založená na vzniku málo rozpustných či nerozpustných sloučenin stříbra, tj. sloučenin s velmi malou hodnotou součinu rozpustnosti K_s . Jako odměrný roztok se používá AgNO_3 a základními (standardními) látkami jsou NaCl a KCl. Přímo titrací odměrným roztokem AgNO_3 lze stanovit ionty Cl^- , Br^- , I^- , rhodanidy CNS^- a kyanidy CN^- . K indikaci bodu ekvivalence se jako indikátor často používá 5% roztok K_2CrO_4 . Vznik oranžovo-červeného trvalého zbarvení sraženiny Ag_2CrO_4 nad sedlinou signalizuje ukončení titrace (indikace podle Mohra).

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: zkumavky, držák na zkumavky, titrační baňka, byreta, pipeta, kádinky, lžička.

Chemikálie: indikátor 5% roztok K_2CrO_4 , odměrný roztok 0,01M AgNO_3 , 5% AgNO_3 , zředěná HNO_3 , vzorek vody.

Pracovní postup

3.1 Důkaz chloridů ve vodě

1. Do zkumavky s 10 ml vzorku vody přidejte asi 0,5 ml 5% AgNO_3 a několik kapek zředěné HNO_3 .
2. V závislosti na koncentraci chloridů vznikne opalescence, bílý zákal nebo sraženina chloridu stříbrného. Pokud nevzniká ani zákal, ani sraženina, vzorek vody neobsahuje žádné chloridy.
3. Zapište průběh reakce iontovou rovnicí.

3.2 Argentometrické stanovení chloridů ve vodě

1. Do titrační baňky odměřte 100 ml zkoumané vody a přidejte 20 kapek indikátoru K_2CrO_4 .
2. Titrujte odměrným roztokem $AgNO_3$ až se roztok jednou kapkou trvale zbarví červeno-hnědě (oranžovo-červeně).
3. Vypočítejte celkovou hmotnost Cl^- iontů (chloridů) ve 100 ml zkoumané vody podle níže uvedeného vztahu. Pokud stanovujete obsah chloridů v minerální vodě, výsledek porovnejte s údaji na etiketě na lahvi.

$$m_{Cl} = M_{Cl} \cdot B \cdot c_{Ag}$$

m_{Cl} obsah chloridů ve vzorku (mg)

c_{Ag} koncentrace odměrného roztoku $AgNO_3$ (0,01 M)

M_{Cl} molární hmotnost Cl (g/mol)

B průměrná spotřeba odměrného roztoku $AgNO_3$ při titraci (ml)

4. Dobrá voda obsahuje 8–50 mg/l, podezřelá nad 50 mg/l a špatná nad 100 mg/l chloridů.

4 Stanovení amoniakálního dusíku a důkaz amoniaku ve vodě

Teoretický úvod

Dusík se ve vodách vyskytuje vázaný ve formě amoniaku (N-NH_4), dusitanů (N-NO_2), dusičnanů (N-NO_3), organických látek a jako rozpuštěný plyn N_2 . Důkaz amoniaku indikuje fekální znečištění vod, neboť se uvolňuje rozkladem rostlinných a živočišných zbytků. Jeho dobrá rozpustnost ve vodě je příčinou znečištění vod ve studnách. Mezní hodnota pro výskyt amonných iontů je 0,5 mg/l.

Amoniakální dusík se vyskytuje prakticky ve všech typech vod. Stanovení patří mezi nejběžnější prováděná stanovení vody. Pro přímé stanovení se užívá fotometrická metoda s Nesslerovým činidlem. Metody lze užít pro stanovení amoniakálního dusíku v koncentracích nad 0,05 mg NH_4^+ /litr. Bez ředění lze stanovit maximálně 4 mg NH_4^+ /litr.

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: kyvety do spektrofotometru, skleněná tyčinka, pipety, špachtle, kádinky, zkumavky.

Chemikálie: vzorek vody, Nesslerovo činidlo, chlorid amonný (standardní roztok na sestrojení kalibrační křivky), vinan draselný-sodný (25 g/50 ml vody), fenol, nitroprusid sodný, hydroxid sodný, chlornan sodný (SAVO).

Příprava Nesslerova činidla: Ve 20 ml vody se postupně rozpustí 30 g KI a 25 g jodu. Po rozpuštění se přidá 30 g redestilované kovové rtuti a směs se dobře protřepe (zahřívá-li se směs příliš, chladí se vodou) tak dlouho, až se všechnen jod spotřebuje a roztok se odbarví. Pak se roztok oddekantuje, rtuť a sediment se promyjí malým množstvím destilované vody, která se pak přidá k hlavnímu podílu. Roztok má dávat se škrobem pozitivní reakci na jod. Není-li tomu tak, přidá se po kapkách roztok jodu v KI, až je možné dokázat jeho slabý nadbytek. Pak se roztok zředí na 200 ml, promíchá a přilije k 975 ml 10% NaOH.

Přístroje: spektrofotometr, váhy, termostat.

Pracovní postup

4.1 Důkaz amoniaku

1. K 5 ml vzorku vody ve zkušavce přikápněte několik kapek Nesslerova činidla.
2. Pokud vzorek vody obsahuje amoniak, reakcí s činidlem vzniká žluto-oranžové zabarvení.

4.2 Stanovení amoniakálního dusíku s Nesslerovým činidlem

1. Připravte sérii kalibračních standardů k sestrojení kalibrační křivky pro výpočet koncentrace amoniakálního dusíku.
2. Připravte si standardní roztok chloridu amonného, který bude mít koncentraci 0,1 g/litr (0,1 g rozpustíme v 1 litru vody).
3. Ze standardního roztoku si připravte sadu kádínek obsahujících 50 ml roztoku chloridu amonného o vzrůstající koncentraci 0,5 až 4 mg/litr.
4. K 50 ml standardu přidejte 2 kapky roztoku vinanu draselno-sodného a směs promíchejte.
5. Poté přidejte 1 ml Nesslerova činidla a směs opět promíchejte.
6. Po 10 minutách změřte absorbanci při 425 nm (ze směsi odeberte 2 ml do kyvety).
7. Nyní si připravte 50 ml zkoumaného vzorku vody.
8. K 50 ml vzorku vody přidejte 2 kapky roztoku vinanu draselno-sodného a směs promíchejte.
9. Poté přidejte 1 ml Nesslerova činidla a směs opět promíchejte.
10. Po 10 minutách změřte absorbanci při 425 nm (ze směsi odeberte 2 ml do kyvety).
11. U blanku (slepého vzorku) proveďte přípravu stejným způsobem, pouze s destilovanou vodou prostou amoniaku.
12. Hmotnostní koncentraci amoniakálního dusíku ve vzorku určete z kalibrační křivky.
13. Výsledek vyjádřete v mg NH_4^+ /litr.

4.3 Stanovení amoniakálního dusíku ve formě indofenolu

1. Principem je využití modrého zbarvení indofenolu, který se tvoří reakcí s chlornanem sodným (NaClO) a fenolem.
2. Připravte si standardní roztok chloridu amonného, který bude mít koncentraci 0,1 g/litr a z něj si připravte sadu kádinek obsahujících 50 ml roztoku chloridu amonného o vzrůstající koncentraci 0,5 až 4 mg/litr.
3. Na stanovení použijte 10 ml vzorku vody, ke kterému přidejte směsný roztok fenolu a nitroprusidu sodného a směsný roztok hydroxidu sodného a chlornanu sodného.
4. Směs ponechejte reagovat v termostatu při 50 °C.
5. Pro sadu kádinek s chloridem amonným (k sestrojení kalibračního grafu) proveďte přípravu stejným způsobem.
6. U blanku (slepého vzorku) proveďte přípravu stejným způsobem, pouze s destilovanou vodou prostou amoniaku.
7. Poté změřte absorbanci při 635 nm a z kalibračního grafu stanovte obsah NH_3 .
8. Výsledek vyjádřete v mg NH_4^+ /litr.

5 Stanovení dusičnanů ve vodě

Teoretický úvod

Dusičnany nejsou samy o sobě toxické, zčásti jsou však mikroflórou ústní dutiny, při některých infekcích i střevní mikroflórou (po bakteriální redukci v gastrointestinálním traktu), redukovány na toxické dusitany. Tato skutečnost může být významná při požití většího množství dusičnanů. Přijatelný denní příjem je 4–5 mg NO_3^- /kg tělesné hmotnosti, přitom podíl příjmu NO_3^- pitnou vodou představuje průměrně třetinu. Nejvyšší mezní hodnota NO_3^- v pitné vodě je 50 mg/l. Pro splnění podmínek jakosti pitné vody musí být dodržena následující podmínka:

$$\frac{\text{NO}_3^- \text{ (mg/l)}}{50} + \frac{\text{NO}_2^- \text{ (mg/l)}}{3} \leq 1$$

Voda pro kojence z pohledu prevence dusičnanové alimentární methemoglobinemie může obsahovat jen do 15 mg NO_3^- /l. Při methemoglobinemii dochází reakcí dusitanů s krevním barvivem (hemoglobinem F) ke vzniku methemoglobinu, který není schopen přenášet kyslík. Tudíž bez včasné lékařské pomoci se jedinec udusí.

V potravě je nejvyšší obsah dusičnanů v některých druzích zeleniny, kde často přesahuje hodnotu 1000 mg/kg. Nejméně dusičnanů obsahuje plodová zelenina, nejvíce červená řepa, skleníkové ředkvičky a saláty. Vysoká koncentrace NO_3^- ve vodním zdroji signalizuje zpravidla průnik vody vrstvami se značnou úrovní biologických dějů, a tedy značnou pravděpodobnost bakteriální kontaminace. Zdrojem jsou splachy z polí hnojených dusíkatými hnojivy. Ve volném prostředí vznikají dusičnany při nitrifikaci amoniakálního dusíku.

Při fotometrickém stanovení se kyselina dusičná (uvolněná kyselinou sírovou z dusičnanů obsažených ve vzorku vody) nitruje kyselinou salicylovou. Po zalkalizování roztoku přidávkem NaOH (tj. po ionizaci karboxylové skupiny) se tyto nitroderiváty (nitrosalicylát) žlutě vybarví. Měří se intenzita žlutého zbarvení při $\lambda = 415 \text{ nm}$.

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: zkumavky, stojánek na zkumavky, pipety, kádinky, kyvety do spektrofotometru.

Chemikálie: roztok difenylaminu v koncentrované H_2SO_4 (smíchat 25 ml kyseliny octové, 0,7 ml kyseliny sírové a 0,25 g difenylaminu), 30% NaOH, salicylan sodný (1% vodný roztok), koncentrovaná H_2SO_4 , zásobní kalibrační roztok NO_3^- (100 mg/l) – z něj vytvořit kalibrační standardy o koncentracích 1–60 mg/l.

Přístroje: spektrofotometr, váhy.

Pracovní postup

5.1 Důkaz dusičnanů ve vodě pomocí difenylaminu

1. K 5 ml vzorku vody ve zkumavce přidejte 0,1 ml roztoku difenylaminu v kyselině sírové (pozor žravina!). Vzniká modrý produkt.
2. Dusičnany oxidují v prostředí koncentrované H_2SO_4 difenylamin na modře zbarvený produkt.

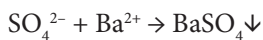
5.2 Stanovení dusičnanů ve vodě pomocí salicylové kyseliny

1. Odpipetujte 10 ml vzorku vody do odpařovací misky a přidejte 0,2 ml 30% NaOH a 1 ml 1% salicylanu sodného.
2. Po promíchání (krouživým pohybem misky) odpařte na plotýnce dosucha. K odparku přidejte 1 ml H_2SO_4 a pokračujte v zahřívání ještě 2–3 minuty.
3. Po mírném ochlazení přidejte asi 20 ml destilované vody a dále 7 ml roztoku NaOH.
4. Promíchejte obsah misky pomalým krouživým pohybem a potom jej kvantitativně převedte do odměrné baňky o objemu 50 ml.
5. Vyčkejte ochlazení na laboratorní teplotu a potom doplňte destilovanou vodou po rysku.
6. Změřte na spektrofotometru absorbanci při $\lambda = 415 \text{ nm}$ proti destilované vodě (blank).
7. Stejným způsobem proveďte stanovení u kalibračních roztoků (NO_3^-) o koncentraci 1–60 mg/l.
8. Do grafu zanešte absorbance kalibračních roztoků (minimálně 5 bodů), body proložte spojnici trendu a z její rovnice vypočtete koncentraci dusičnanů v neznámém vzorku.

6 Turbidimetrické stanovení síranů ve vodě

Teoretický úvod

Stanovení absorpční spektrometrií (turbidimetrické) je založeno na reakci síranů (SO_4^{2-}) s chloridem barnatým za vzniku bílého zákalu síranu barnatého, kdy intenzita zbarvení je úměrná koncentraci síranů ve vzorku. Metoda je spolehlivá do koncentrace síranů 50 mg/l.



Další z metod ke stanovení síranů je vážkové stanovení nebo titrační stanovení. Principem titračního stanovení je reakce síranového aniontu s kationtem Pb^{2+} . Vzniklý síran olovnatý je málo rozpustný a jeho rozpustnost se ještě snižuje, pokud je titrace prováděna v prostředí acetonu nebo ethanolu. Přebytek kationtů Pb^{2+} pak reaguje s indikátorem dithizonem za vzniku nerozpustného komplexu. Konec titrace je indikován změnou barvy ze zelené do fialově červené. Metoda je vhodná pro koncentrace síranů nad 50 mg/l.

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: 1 cm kyvety do spektrofotometru, kádinky, lžička, váženka, magnetická míchadla.

Chemikálie: pevný chlorid barnatý, „roztok na sírany“ (240 g NaCl + 20 ml koncentrované HCl doplněné na 1 litr destilovanou vodou), Na_2SO_4 – roztok o koncentraci 1 g/l pro přípravu kalibračních roztoků (1,478 g vysušeného Na_2SO_4 rozpustíme v 1 litru destilované vody), vzorek vody.

Přístroje: spektrofotometr, stopky, váhy, magnetická míchačka.

Pracovní postup

6.1 Stanovení síranů ve vodě spektrofotometricky

1. Do kádinky odpipetujte 25 ml vzorku vody.
2. Současně přidejte 5 ml roztoku „na sírany“ a 0,1 g pevného BaCl_2 .
3. Směs 45 sekund intenzivně míchejte a poté nechejte stát 4 minuty.
4. Pak opět 30 sekund míchejte a ihned změřte absorbanci vzorku při vlnové délce 570 nm v 1 cm kyvetě.

5. Koncentraci neznámého vzorku stanovte minimálně dvakrát.
6. Stejným způsobem proveďte stanovení u vzorku s destilovanou vodou (slepé stanovení – blank) a u kalibračních roztoků o koncentraci 1–50 mg/l.
7. Do grafu zanešte absorbance kalibračních roztoků (minimálně 5 bodů) zmenšené o absorbanci slepého stanovení, body proložte spojnicí trendu a z její rovnice vypočtete koncentraci síranů v neznámém vzorku.

7 Důkazy kovů a fenolu ve vodě

Teoretický úvod

Cílem této úlohy je seznámit se s možnostmi jednodušších stanovení vybraných škodlivin ve vodě, jako složce životního prostředí. Přesné stanovení kovů (sodíku, draslíku, vápníku, hořčíku, železa, hliníku, mědi, zinku aj.) ve vzorcích vod lze provést např. chelatometricky, emisní plamenovou fotometrií, absorpční spektrofotometrií nebo polarograficky.

Ke znečištění vod fenoly přispívají odpadní vody z provozů tepelného zpracování uhlí, rafinerií ropy, výrob pesticidů a různých organických chemikálií. Fenoly ve vodě zhoršují vlastnosti pitné vody (vnímané smysly), zvláště chuťové.

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: stojánek na zkumavky, zkumavky, zátka na zkumavky, odpařovací miska, Pasteurova pipeta, odměrná zkumavka, skleněná tyčinka, kahan, sítko, tuha do tužky.

Chemikálie: vzorky vody, 10% kyselina chlorovodíková, 10% hydroxid sodný, 0,01% alkoholový roztok chinalizarinu, 10% chlorid železitý, 2% červená krevní sůl (hexakynoželézitan draselný).

Pracovní postup

7.1 Důkaz hořčíku

1. Do zkumavky s 10 ml vzorku vody přidejte 1 ml kyseliny chlorovodíkové.
2. Uzavřete zkumavku zátkou a její obsah intenzivně protřepejte po dobu 2 minut.
3. Poté přilijte 3 ml hydroxidu sodného a 1 ml 0,01% chinalizarinu, vzniká modré zabarvení.
4. Pokud zbarvení nevznikne hned, uložte zkumavku s obsahem do stojanu a vraťte se k výsledku za delší dobu.
5. Různá intenzita modrého zbarvení je závislá na obsahu hořečnatých iontů ve vzorku vody.

7.2 Důkaz železa

1. Do zkumavky nalijte 10 ml vzorku vody a přidejte 1 ml 10% kyseliny chlorovodíkové a 1 ml 2% červené krevní soli.
2. Vzorek se zbarví modře, pokud obsahuje železnaté ionty. Na výsledek je nutné někdy čekat i delší dobu.

7.3 Důkaz vápníku a sodíku

1. Do odpařovací misky nalijte asi 5 ml vzorku vody a odpařte na síťce nad kahanem.
2. Na získaný odparek nakapejte 3 až 5 kapek kyseliny chlorovodíkové.
3. Po reakci proveďte důkaz v plameni, kdy do roztoku ponořte konec tuhy a ten potom vložte do nesvítivé části plamene.
4. Šumění po nakapání kyseliny na odparek dokazuje přítomnost a následující rozklad uhličitánů.
5. Oranžové zbarvení plamene dokazuje ionty vápníku, žluté zbarvení ionty sodíku.

7.4 Důkaz fenolu

1. K 5 ml vzorku vody ve zkumavce přidejte 1 ml 10% chloridu železitého.
2. Reakcí vzniká modrofialové zbarvení vzniklými produkty.

8 Důkazové reakce vody

Teoretický úvod

K důkazu vody v organických kapalinách nebo jako sušidla se používá síran měďnatý (CuSO_4), který je znám také pod triviálním názvem modrá skalice, dříve i jako modrý vitriol. Je to nejběžnější sloučenina mědi. Vzniká reakcí kyseliny sírové s oxidem měďnatým. V bezvodém stavu tvoří bílý prášek, který přijímáním vody modrá.

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: Petriho miska, kapátko, lžička, zkumavky se zátkou.

Chemikálie: bezvodý CuSO_4 , olej, aceton, ocet, pomerančová šťáva, mléko, ethanol, voda.

Pracovní postup

8.1 Důkaz vody v různých látkách

1. Na Petriho misku si rozdělte trochu bezvodého CuSO_4 do šesti oddělených hromádek.
2. Na jednotlivé hromádky naneste kapátkem jednu z následujících látek: kapku oleje, acetonu, vody, octa, pomerančové šťávy a mléka. Zaznamenejte pozorování.
3. Pozorujte, že z bílého bezvodého síranu měďnatého vznikl modrý pentahydrát $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – tato reakce se využívá k důkazu přítomnosti vody. Ocet, šťáva a mléko obsahují také vodu, neboť síran měďnatý váže tuto vodu za vzniku modrého pentahydrátu síranu měďnatého.

8.2 Důkaz vody v ethanolu

1. Do zkumavky s několika mililitry ethanolu přidejte malou lžičku vyžíhaného síranu měďnatého a obsah zkumavky protřepejte.
2. Po chvíli začne síran měďnatý modrat, vzniká pentahydrát síranu měďnatého.
3. V laboratoři užívaný ethanol obsahuje přibližně 4 % vody.

9 Stanovení obsahu vody v rostlinném pletivu a v živočišné tkáni

Teoretický úvod

Nejrozšířenější složkou živých soustav je voda, která tvoří v průměru 60 % hmotnostního obsahu živočišných buněk a 75 % obsahu rostlinných buněk. V některých organizmech může voda dosahovat až 90 % z celkové hmotnosti. Voda vytváří jedinečné prostředí pro existenci a biochemickou aktivitu živých soustav.

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: Petriho miska, čerstvá živočišná tkáň (játra, svaly) a rostlinné pletivo (listí, plody).

Přístroje: váhy, exikátor, sušárna.

Pracovní postup

9.1 Stanovení obsahu vody v buňkách

1. Na Petriho misce odvažte přesně čerstvé rostlinné pletivo nebo živočišnou tkáň (5 g).
2. V sušárně při teplotě okolo 110 °C vysušte vzorek do konstantní hmotnosti.
3. Před vážením nechte sušinu na Petriho misce v exikátoru vychladnout a poté vzorek zvažte.
4. Z rozdílu hmotností vypočítejte hmotnostní zlomek vody ve zkoumaném vzorku.

10 Stanovení neutralizační kapacity vody

Teoretický úvod

Neutralizační kapacita (NK) vody je schopnost vody vázat určité množství kyseliny (kyselinová neutralizační kapacita – KNK) do předem zvolené hodnoty pH. KNK je dána spotřebou jednosytné kyseliny při titraci 1 litru vody do zvolené hodnoty pH. Zvláštním případem KNK vody je kyselinová neutralizační kapacita do pH 4,5 ($KNK_{4,5}$), tzv. celková alkalita (m-hodnota), a kyselinová neutralizační kapacita do pH 8,3 ($KNK_{8,3}$), tzv. zjevná alkalita (p-hodnota). Alkalická (zásadová) neutralizační kapacita (ZNK) je pak dána spotřebou jednosytné zásady při titraci stejného množství vody do zvolené hodnoty pH. Výsledek se vyjadřuje v mmol/l.

Volba hodnoty pH závisí na účelu, ke kterému má neutralizační kapacita sloužit. Např. u průmyslových odpadních vod je vhodné stanovit NK do pH 7. Pak tato hodnota slouží jako technologický parametr, z kterého lze odhadnout spotřebu kyseliny, resp. zásady, pro neutralizaci odpadní vody.

Typ NK	Titrační činidlo	Indikátor
ZNK _{4,5}	0,1M NaOH	methylenová oranž
ZNK _{8,3}	0,1M NaOH	fenolftalein
KNK _{8,3}	0,1M HCl	fenolftalein
KNK _{4,5}	0,1M HCl	methylenová oranž

Indikátor indukuje dosažení určité hodnoty pH. Vzhledem k tomu, že různé indikátory mají různý rozsah pH (funkční oblast indikátoru), v kterém mění svoje zabarvení a různou citlivost indikátoru, dosažení zvolené hodnoty pH mnohem přesněji indikuje potenciometrická titrace.

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: kádinky, byreta, pipety, odměrný válec, magnetická míchadla.

Chemikálie: vzorek vody, methylenová oranž, fenolftalein, 0,1 M NaOH, 0,1 M HCl.

Přístroje: pH metr, magnetická míchačka.

Pracovní postupy

10.1 Stanovení NK při použití indikátoru

1. Do čisté kádinky odměřte 100 ml vzorku vody a přidejte několik kapek indikátoru.
2. Poté z byřety přidávejte titrační činidlo až do požadované změny barvy (v kyselém prostředí je fenolftalein bezbarvý, v bazickém prostředí se zbarví fialově, k přechodu dochází při pH 8,2–9,8; methylenová oranž je v pH > 4 oranžovo-žlutá, při pH < 4 přechází na červenou barvu).
3. Po každém přidání činidla roztok promíchejte.
4. Zapište si spotřebu činidla a vypočtete NK.

10.2 Stanovení NK při použití potenciometrické titrace

1. Do čisté kádinky odměřte takový objem vzorku vody, aby elektrody pH metru byly ponořeny.
2. Přidávejte z byřety titrační činidlo a současně měřte pH.
3. Po každém přidání činidla roztok promíchejte.
4. Při dosažení zvolené hodnoty pH odečtete spotřebu titračního činidla a vypočtete NK.

Vyhodnocení

1. Hodnoty objemu titračního činidla a pH vyneste ve vhodném měřítku do grafu.
2. Vypočtete NK dle vztahu:

$$NK_{\text{pH}} = (V \cdot c \cdot f) / V_0$$

NK_{pH} (mmol/l)	neutralizační kapacita (KNK či ZNK)
V (ml)	spotřeba odměrného činidla při titraci vzorku do zvoleného pH
V_0 (ml)	původní objem vzorku vody
c (mmol/l)	koncentrace titračního činidla (roztoku jednosytné kyseliny či zásady)
f	faktor odměrného činidla.

11 Stanovení chemické spotřeby kyslíku

Teoretický úvod

Při analýze vody se používá odměrná (titrační) analýza zejména pro zjištění stupně znečištění jako tzv. chemická spotřeba kyslíku (CHSK) realizovaná manganistanovou metodou (Kubelova metoda z roku 1866). Přesnější metodou je dichromanová metoda, která je však pracnější a časově náročná, pracuje se navíc s toxickými chemikáliemi. V principu je CHSK redoxní titrací, při níž jsou organické látky ve vzorku vody oxidovány silným oxidačním činidlem. Tento nespecifický ukazatel tedy souvisí s mírou organického znečištění vody.

Manganistanová metoda se nejčastěji používá pro pitné a přírodní vody. Nejvyšší přípustná hodnota CHSK pro pitnou vodu je 3 mg/l a pro ostatní povrchové vody 20 mg/l. Princip této metody spočívá v oxidaci organických látek manganistanem draselným (v přebytku – minimálně 40 %) v kyselém prostředí H_2SO_4 při varu. Úbytek KMnO_4 , tj. množství spotřebované na oxidaci organických látek, se zjistí odměrným stanovením tak, že po ukončené oxidaci se do reakčního roztoku přidá známé množství standardního odměrného roztoku kyseliny šťavelové, která se zpětně titruje KMnO_4 . Výsledek stanovení se udává v mg/l.

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: byreta, pipety, odměrný válec, titrační baňka, hodinové sklo, kádinky, varné kamínky, teploměr, bílý papír.

Chemikálie: vzorek vody, destilovaná voda, odměrný roztok 0,002 M KMnO_4 , odměrný roztok 0,005 M kyseliny šťavelové, roztok H_2SO_4 (zředěný 1 : 2).

Přístroje: vaříč.

Pracovní postup

11.1 Stanovení CHSK manganistanovou metodou

1. Do varné (titrační) baňky vložte několik varných kamínků a přidejte 100 ml vzorku vody.
2. Přidejte 5 ml roztoku kyseliny sírové a 20 ml odměrného roztoku 0,002 M KMnO_4 a vše promíchejte.
3. Na hrdlo baňky položte hodinové sklo a umístěte baňku na vařič.
4. Směs zahřívejte tak, aby se do 5 minut uvedla k varu a var udržujte přesně 10 minut.
5. K horkému roztoku ihned přidejte 20 ml 0,005 M kyseliny šťavelové.
6. Odbarvený horký roztok ihned titrujte roztokem KMnO_4 do stabilního slabě růžového zbarvení (za použití bílého pozadí – bílá čtvrtka papíru). Teplota vzorku při titraci nesmí klesnout pod 80 °C.
7. Zapište hodnotu spotřeby odměrného roztoku KMnO_4 (tzv. slepý pokus).
8. Tímto je odměrný roztok KMnO_4 standardizován titrací s odměrným roztokem kyseliny šťavelové.
9. Ke vzorku, kde byla určena spotřeba na slepý pokus, přidejte znovu 20 ml kyseliny šťavelové a po zahřátí k varu opět titrujte odměrným roztokem KMnO_4 .
10. Zapište hodnotu spotřeby odměrného roztoku KMnO_4 .
11. Stanovení proveďte celkem třikrát a vypočítejte průměrnou hodnotu spotřeby KMnO_4 .

Vyhodnocení

Hodnotu CHSK vypočtete dle rovnice a vyjádřete v jednotkách mg/l O:

$$\text{CHSK} = (V_t - V_s) \cdot 80 / V_v$$

- V_t spotřeba odměrného roztoku KMnO_4
 V_s spotřeba odměrného roztoku KMnO_4 při slepém stanovení
 V_v použitý objem vzorku vody
80 titrační faktor vypočtený z koncentrace odměrného roztoku KMnO_4 a molární hmotnosti kyslíku, na nějž se celkový výsledek analýzy přepočítává.

12 Identifikace fenolů ve vodě

Teoretický úvod

Stanovení organických složek v analyzovaném materiálu je ve srovnání se složkami anorganickými náročnější. Celý postup zahrnuje obvykle několik kroků – izolace složek, jejich zkoncentrování, identifikace a stanovení (určení jejich množství). Izolace se provádí nejčastěji extrakcí materiálu (vody, půdy) do organického rozpouštědla nebo adsorpcí na pevném sorbentu (aktivní uhlí, silikagel, oxid hlinitý). Zkoncentrování většinou nastává již při samotné extrakci nebo adsorpci. Identifikace jednotlivých látek v zkoncentrovaném vzorku se provádí citlivými barevnými reakcemi. Spolehlivější identifikaci a stanovení umožňují instrumentální techniky.

K identifikaci málo těkavých organických sloučenin obsahujících citlivě detekovatelné funkční skupiny se používá tenkovrstevná chromatografie (TLC). Chromatografické metody dovolují dělení složité směsi látek i velmi podobné struktury. Principem dělení je různá velikost interakce látek při jejich rozdělování mezi pohyblivou (mobilní) a nepohyblivou (stacionární) fázi. Tenkovrstevná chromatografie je velmi jednoduchou a účinnou identifikační metodou, protože dovoluje separaci doplnit řadou barevných reakcí provedených přímo na nosiči. Typickým příkladem je identifikace fenolů, aromatických aminů, nitrolátek, polykondenzovaných aromatických uhlovodíků atd. Fenoly jsou slabými kyselinami, a proto se extrahují z okyseleného vzorku vody do rozpouštědla (nemísitelného s vodou). Extrakt se nanáší na tenkou vrstvu silikagelu a jednotlivé složky se separují vztlínajícím rozpouštědlem. Skvrny bezbarvých fenolů se odkryjí postříkem detekčního činidla. Pro fenoly je vhodným detekčním činidlem roztok diazoniové soli (4-nitrobenzendiazoniumchlorid), který s fenoly poskytuje azobarvivo. Roztok 4-nitrobenzendiazoniumchloridu se připraví diazotací 4-nitroanilinu v prostředí HCl těsně před postříkem.

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: chromatografická komora, odměrné válce (10 ml, 100 ml), dělicí nálevka 250 ml, odměrné baňky 10 ml, pipety, nálevka, detekční fixírka, nanášecí mikropipety, deska Silufol.

Chemikálie: standardní roztoky fenolů (10 mg/ml), chloroform, benzen, 4-nitroanilin (0,5% v 2 M HCl), NaNO_2 (5%), octan sodný (20%), 2 M HCl. Pozor s chemikáliemi chloroformem a benzenem pracovat v digestoři bez přítomnosti otevřeného ohně. Benzen je karcinogenní.

Pracovní postup

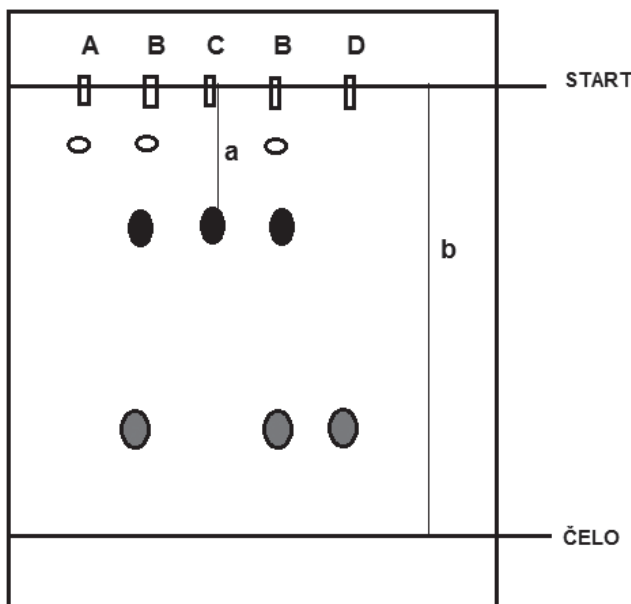
12.1 Důkaz fenolů ve vodě tenkovrstevnou chromatografií

1. 100 ml vzorku (vody) odměřte odměrným válcem do dělicí nálevky a okyselte přidávkem 2 ml 2 M HCl.
2. Do dělicí nálevky přidejte 5 ml chloroformu, protřepte a nechte od-
dělit vrstvy.
3. Oddělenou vrstvu chloroformu odpusťte přes nálevku do 10 ml odměr-
né baňky.
4. Extrakci opakujte ještě jednou s dalšími 5 ml chloroformu a baňku na-
koniec doplňte chloroformem po značku.
5. V průběhu extrakce připravte chromatografickou komoru nalitím 20 ml
benzenu a nechte ji nasytit parami rozpouštědla.
6. Z desky Silufol ustříhnete obdélník podle rozměrů chromatografické
komory. Tužkou vyznačte čáru startu (2,5 cm od okraje desky) a naná-
šecí body. Body nanesení musí být minimálně 2 cm od okraje (potlačení
„okrajových efektů“) a minimálně 1,5 cm vzájemně od sebe.
7. Pomocí mikropipetek naneste extrakt a roztoky standardů (svědků).
Skrvny nechte před vložením do komory dobře vyschnout. Desku
vložte šikmo do dobře nasycené komory. Hladina rozpouštědla ne-
smí být nad startovací čarou. Když čelo rozpouštědla dosáhne 2–3 cm
od horního okraje, desku vyjměte a rychle zaznamenejte stopu čela.
8. Připravte roztok detekčního činidla: do baňky fixírky odměřte vá-
lečkem 5 ml roztoku 0,5% 4-nitroanilinu a přidejte 6,5 ml roztoku
5% NaNO_2 . Za občasného míchání nechte proběhnout diazotaci asi
5 minut. Roztok před reakcí a při reakci musí být chladný (v případě
potřeby chladíme). Odměrným válcem přidejte 15 ml 20% roztoku
octanu sodného a promíchejte.
9. Suchou desku položte na filtrační papír a postříkejte činidlem v dobře
táhnoucí digestoři.
10. Zaznamenejte středy (těžiště). Změřte vzdálenosti skvrn od startu (a)
a vzdálenost čela od startu (b). Vypočtete hodnoty R_f . Porovnáním

hodnot R_f fenolů ve vzorku a standardů proveďte identifikaci fenolů přítomných ve vodě.

Vyhodnocení

V plošné chromatografii je R_f bezrozměrná veličina (poměr vzdálenosti těžiště skvrny od „startu“ a vzdálenosti „čela“ od startu – viz obrázek).



A, C, D jsou srovnávací standardy (svědci), **B** je rozdělená směs látek po detekci.

Pro látku C je $R_f = \frac{a}{b}$

13 Kolorimetrické stanovení iontů ve vodě

Teoretický úvod

Kolorimetrie je optická metoda založená na porovnávání intenzity zabarveného roztoku o neznámé koncentraci s roztokem téže látky o známé koncentraci (standardu). Je to metoda subjektivní, protože k porovnání intenzit používáme oko. Základem měření je Lambert-Beerův zákon, z kterého vyplývá, že při stejné intenzitě zbarvení měřeného vzorku a standardu jsou stejné jejich absorbance A . Pro měření se používají komparátory. V praxi se používají různé druhy komparátorů. Princip stanovení je stejný, mění se jen způsob porovnávání barevné intenzity vzorku a standardu. Jednou z možností je srovnání zbarvení vzorku vody ve dvou kyvetách, přičemž do jedné z kyvet přidáme ke vzorku reakční činidlo (podle iontu, který stanovujeme) a před druhou kyvetou posunujeme barevné filtry s různou intenzitou barvy. V okamžiku, kdy se shoduje barva vzorku s reakčním činidlem s barvou kyvety s předřazeným barevným filtrem, odečteme na komparátoru koncentraci stanovované látky ve vzorku. V případě jiného typu komparátoru se používá speciální dvojkyveta. Do jedné poloviny se nalije vzorek, k němuž se přidá reakční činidlo. Druhá polovina kyvety je opatřena fólií, na které jsou vyznačena políčka s různou intenzitou barvy. Srovnáním intenzity barvy vzorku s reakčním činidlem s odpovídajícím barevným políčkem lze stanovit koncentraci stanovovaného iontu ve vzorku.

Experimentální vybavení

Komparátory se sadou testovacích roztoků.

Pracovní postup

(podle typu komparátoru)

1. Kyvety naplníme vzorkem (vodou).
2. Do jedné z kyvet přidáme reakční činidlo.
3. Kyvety necháme stát po reakční dobu (potřebná reakční doba je dána pro jednotlivé ionty).
4. Po uplynutí potřebné reakční doby srovnáme intenzitu zbarvení roztoku s reakčním činidlem se srovnávacím roztokem s barevnou fólií.
5. Na komparátoru odečteme hodnotu koncentrace stanovovaného iontu.

13.1 Stanovení fosforečnanů

Fosfor se ve vodě vyskytuje především ve formě orthofosforečnanů (PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- , H_3PO_4). Pro stanovení orthofosforečnanů se používá reakce s molybdenanem amonným za vzniku kyseliny molybdátosfosforečné, která má žluté zbarvení.

13.2 Stanovení dusitanů

Dusitany ve vodách vznikají obvykle jako přechodný produkt při biologické redukci dusičnanů nebo biologické oxidaci amoniakálního dusíku. Jejich přítomnost v podzemních a povrchových vodách je důkazem znečištění vod. Dusitany reagují s kyselinou sulfanilovou a 1-naftylaminem za vzniku intenzivně červeného azobarviva.

13.3 Stanovení železa

Železo se vyskytuje v podzemních vodách ve formě Fe^{2+} . V povrchových vodách dochází k oxidaci na Fe^{3+} . Ionty Fe^{2+} reagují s difenylpyridyltriazinem za vzniku intenzivně červeno-fialově zbarveného komplexu. Ionty Fe^{3+} musí být redukovány na Fe^{2+} pomocí kyseliny thiolglykolové.

13.4 Stanovení manganu

Mangan v přírodních vodách běžně doprovází železo. Vyskytuje se v nejrůznějších oxidačních stupních, nejčastěji jako Mn^{2+} . Rozpustné sloučeniny manganu ve vodě se stanoví oxidací na manganistan, který má intenzivně fialové zbarvení. K oxidaci se používá peroxodisíran amonný za přítomnosti Ag^+ .

13.5 Stanovení zinku

Zinek se vyskytuje především v odpadních vodách ve formě Zn^{2+} . Zinečnaté ionty reagují s dithizonem za vzniku červeně zbarveného komplexu.

13.6 Stanovení mědi

Měď se ve vodách vyskytuje ve formě Cu^{2+} . Reakcí s diethyldithiokarbaminem sodným vzniká modrý, intenzivně zbarvený komplex.

Použitá literatura a informační zdroje

Malý J., Malá J. (2000): Chemie a technologie vod – laboratorní cvičení. Akademické nakladatelství CERM, s. r. o.

Šrámek V., Kosina L. (1996): Chemie analytická. FIN. ISBN 8071820059.

Čtrnáťová H. et al. (2000): Chemické pokusy pro školu a zájmovou činnost, Prospektrum.

Klečková M., Šindelář Z. (1993): Školní pokusy z anorganické a organické chemie. Olomouc UP.

Laboratorní návody, Ústav procesní a zpracovatelské techniky. FS ČVUT v Praze.

<http://chemiegjo.webzdarma.cz/>.

<http://cs.wikipedia.org/>.

<http://www.wikiskripta.eu/>.

http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ (Encyklopedie hydrobiologie).

ANALÝZA PŮDY

Jana Jahnová

1 Stanovení půdní reakce

Teoretický úvod

Půdní reakce je základní fyzikálně-chemická vlastnost půd. Je určována koncentrací vodíkových iontů, které ve vodných roztocích tvoří kationty H_3O^+ . Koncentrace vodíkových iontů se vyjadřuje indexem pH (záporný dekadický logaritmus koncentrace vodíkových iontů); pH 0–7 značí kyselou reakci, pH 7 značí neutrální reakci, pH vyšší jak 7–14 značí alkalickou reakci. Vodíkové ionty se v půdě mohou nacházet v půdním roztoku a jsou výměnně sorbovány půdními koloidy. Rozeznáváme tři základní typy půdní reakce. Půdní reakce aktivní ($\text{pH}/\text{H}_2\text{O}$), půdní reakce potenciální výměnná (pH/KCl) a půdní reakce potenciální hydrolytická (Ha , $\text{mmol H}^+/\text{100 g}$ půdy).

Půdní reakce aktivní je dána vodíkovými ionty, které se nachází v roztoku. Zdrojem vodíkových iontů jsou disociované minerální a organické kyseliny. Půdní reakce aktivní má bezprostřední fyziologický význam, protože zásadně ovlivňuje biochemické procesy probíhající v půdě a procesy příjmu živin autotrofními organismy. Aktuální odběr přijímaných živin je vázán na aktuálně probíhající biochemické reakce, které jsou katalyzovány v prostředí specifických koncentrací vodíkových iontů. Půdní reakce aktivní je značně proměnlivá vlivem povětrnosti, obdělávání, hnojení apod.

Půdní reakce potenciální výměnná je tvořena adsorbovanými ionty H^+ a Al^{3+} (Fe^{3+}), které mohou přejít do roztoku výměnou za bazické kationty neutrálních solí z roztoku. Tento typ půdní reakce se zjišťuje měřením H^+ ve výluhu půdy 1 M roztokem KCl . Během roku nedochází k tak výrazným změnám půdní reakce potenciální výměnné ve srovnání s aktivní půdní reakcí, a proto se jedná o důležitější a používanější ukazatel. Oproti aktivní půdní reakci má pH/KCl obvykle nižší hodnoty pH, obvykle o 0,5, pohybuje se v rozmezí rozdílu pH 0,2–1.

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: kádinky 50 ml, skleněná tyčinka, laboratorní lžička, odměrný válec.

Chemikálie: destilovaná H_2O , 0,2 M KCl .

Přístroje: pH metr, digitální předvážky.

Odběr půdních vzorků:

- vzorky se odebírají v jarním (únor–květen) nebo podzimním období (červenec–listopad);
- vzorky se odebírají vždy z plochy jednotně obhospodařované (stejná plodina);
- odebrané vzorky se skladují v papírových sáčcích, které se označí názvem lokality, datem odběru a číslem vzorku.

Pracovní postup

1.1 Stanovení půdní reakce

1. Nakalibrujeme pH metr pomocí nejméně dvou kalibračních pufrů přesného pH.
2. Připravíme si dvě 50 ml kádinky a do každé z nich odvážíme 10 g jemnozemě.
3. Do první kádinky přilijeme 25 ml destilované vody, do druhé kádinky přilijeme 25 ml 0,2 M KCl a zamícháme skleněnou tyčinkou.
4. Vzorky buď necháme 24 h stát, nebo je 1 h intenzivně mícháme.
5. Na pH metru změříme hodnotu pH – po ustálení zapíšeme s přesností na jedno desetinné místo. Hodnota pH v kádince s destilovanou vodou se zapíše jako pH/H₂O, hodnota pH v kádince s KCl se zapíše jako pH/KCl.

Vyhodnocení

Hodnocení půdní reakce odečteme z tabulky podle naměřených hodnot.

pH/KCl	pH/H ₂ O	Typ reakce
více než 7,0	více než 7,2	mírně alkalická
6,1–7,0	6,6–7,2	neutrální
5,1–6,0	5,6–6,5	mírně kyselé
4,1–5,0	4,5–5,5	středně kyselé
3,0–4,0	3,5–4,4	silně kyselé
méně než 3,0	méně než 3,5	velmi silně kyselé

2 Půdní výměnná sorpce

Teoretický úvod

Půdní sorpční komplex je soubor půdních koloidů (pevná půdní částice s průměrem menším než 100 nm), které se podílí na výměnných reakcích. Z funkčního hlediska se rozlišuje aktivní a pasivní část sorpčního komplexu. Aktivní část je vlastní komplex; jeho aniontová část působí na volné ionty v půdním roztoku a vyvolává sorpční procesy. Pasivní část tvoří kationty sorbované aktivní částí sorpčního komplexu. Jednotlivé kationty jsou v půdním sorpčním komplexu vázány různou silou v pořadí od nejslabší k nejsilnější: $\text{Na} - \text{K} - \text{NH}_4 - \text{H} - \text{Ca} - \text{Mg} - \text{Al} - \text{Fe}$.

Půdní výměnná sorpce je schopnost půdy vázat vodu a kationty a anionty minerálních látek. Základní veličina, která ji charakterizuje, je kationtová výměnná kapacita (KVK; při výpočtech procentuálního nasycení sorpčního komplexu půdy kationty se označuje T). KVK je nejvyšší hodnota teoreticky možného součtu všech kationtů, které může sorpční půdní komplex poutat na svém povrchu. Je to hodnota charakterizující celkovou kationtovou výměnnou kapacitu, tedy kapacitu míst pro vazby kationtů bazických (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+) i kyselých (Al^{3+} , H^+ , Fe^{3+}). Další základní veličina je celkový obsah aktuálně vázaných kationtů na výměnných místech sorpčního komplexu – okamžitý obsah výměnných kationtů (S). Hodnota S je ovlivněna mateční horninou stanoviště, obsahem a formou půdní vody a mírou intenzity mineralizace půdní organické hmoty. Kvalita sorpčního komplexu je charakterizována procentuálním stupněm nasycenosti sorpčního komplexu výměnnými kationty (V).

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: Erlenmeyerova baňka 250 ml se zátkou, Erlenmeyerova baňka 100 ml, laboratorní lžička, stojan, filtrační kruh, kádinka 100 ml, nálevka, filtrační papír, odměrný válec, titrační byreta.

Chemikálie: 1 M CH_3COONa , 0,1 M NaOH, fenolftalein, HCl.

Přístroje: digitální předvážky, třepačka.

Pracovní postup

2.1 Stanovení půdní reakce potenciální hydrolytické

1. Do Erlenmeyerovy baňky o objemu 250 ml navážíme 20 g jemnozemě.
2. Přilijeme 50 ml CH_3COONa , baňku uzavřeme a necháme třepat na třepačce po dobu 1 h.
3. Připravíme filtrační soupravu – 100 ml kádinka, nálevka, filtrační papír, stojan, filtrační kruh.
4. Po hodině třepání suspenzi přefiltrujeme.
5. 25 ml filtrátu odebereme do čisté Erlenmeyerovy baňky o objemu 100 ml, přidáme 2–3 kapky fenolftaleinu a titrujeme 0,1M NaOH do slabě růžového zbarvení.

2.2 Stanovení okamžitého obsahu výměnných kationtů

1. Do Erlenmeyerovy baňky o objemu 250 ml navážíme 5 g jemnozemě.
2. Přilijeme 50 ml HCl, baňku uzavřeme a necháme třepat na třepačce po dobu 1 h.
3. Připravíme filtrační soupravu – 100 ml kádinka, nálevka, filtrační papír, stojan, filtrační kruh.
4. Po hodině třepání suspenzi přefiltrujeme.
5. 25 ml filtrátu odebereme do čisté Erlenmeyerovy baňky o objemu 250 ml, přidáme 2–3 kapky fenolftaleinu a titrujeme 0,1 M NaOH do slabě růžového zbarvení.

Vyhodnocení

Půdní reakci potenciální hydrolytickou (Ha) vypočítáme ze vzorce:

$$\text{Ha} = \frac{a \cdot f \cdot M \cdot 1000}{g} \text{ (mmol/kg)}$$

a množství NaOH spotřebované k titraci (ml)

f faktor NaOH (1,08)

M molarita roztoku NaOH (mol/l) přepočet na 1000 g půdy

K korekce na octan sodný (1,75)

g navážka použitá ke stanovení (g); ke stanovení bylo použito 25 ml filtrátu, tedy polovina původní navážky (odebrání 50 ml není možné kvůli

ztrátám, část roztoku zůstane v půdě a filtračním papíru), do jmenovatele tedy dosadíme hodnotu 10 g.

Okamžitý obsah výměnných kationtů (S) vypočítáme ze vzorce:

$$S = \frac{(af_1 - bf_2) \cdot M \cdot 1000}{g} \text{ (mmol/kg)}$$

a množství HCl spotřebovaného ke stanovení (ml)

f₁ faktor HCl (1)

b množství NaOH spotřebovaného k titraci

f₂ faktor NaOH (1,08)

M molarita roztoků (mol/l) přepočet na 1000 g půdy

g navážka použitá ke stanovení (g); ke stanovení bylo použito 25 ml filtrátu, tedy polovina původní navážky (odebrání 50 ml není možné kvůli ztrátám, část roztoku zůstane v půdě a filtračním papíru), do jmenovatele tedy dosadíme hodnotu 2,5 g

Procentuální stupeň nasycenosti sorpčního komplexu výměnnými kationty (V) vypočítáme ze vzorce:

$$V = \frac{S}{T} \cdot 100 \text{ (%)}$$

S okamžitý obsah výměnných bazických kationtů

T maximální sorpční kapacita výměnných bazických kationtů vzorku půdy;

$$T = H_a + S$$

Vypočítané hodnoty srovnáme s tabulkami:

V (%)	Stupeň nasycení bazickými kationty
>90	plně nasycená
75–<90	vysoce nasycená
50–<75	nasycená
30–<50	mírně nenasyčená
10–<30	vysoce nenasyčená
<10	extrémně nenasyčená

T (mmol.100 g ⁻¹)	Sorpční kapacita
>35	velmi vysoká
25–<35	vysoká
12,5–<25	střední
8–<12,5	nízká
<8	velmi nízká

S (mmol.100 g ⁻¹)	Obsah výměnných bazických kationtů
>31,5	velmi vysoký
19–<31,5	vysoký
6,5–<19	střední
2,5–<6,5	nízký
<2,5	velmi nízký

3 Aktivita půdních celulas

Teoretický úvod

Celulóza je polysacharid tvořený lineárními nerozvětvenými řetězci glukózových jednotek, které jsou spojené β -1,4-glykosidovou vazbou. Jednotkou celulózy je disacharid celobióza, tvořený dvěma glukózovými jednotkami. Celulóza je nejrozšířenější biopolymer zemského povrchu. Je to hlavní stavební látka primární buněčné stěny a spolu s hemicelulózou a ligninem je součástí sekundární buněčné stěny. Celulóza je syntetizována enzymem celulózasynthasou, který se nachází v plazmatické membráně.

Celulóza je rozkládána na rozpustné cukry, které mohou sloužit jako zdroj energie, enzymy ze skupiny hydrolas (katalyzují hydrolytické štěpení) celulasami a hemicelulasami. Dochází ke štěpení β -1,4-glykosidové vazby mezi glukózovými jednotkami, a tím k rozkladu celulózy přes kratší řetězce až na glukózu. Tyto enzymy jsou obvykle mikrobiálního původu. Většina živočichů, včetně člověka, celulasu nemá a celulóza je tak pro ně nestrávitelná. V trávicím traktu býložravců se nachází symbiotické bakterie, které celulózu štěpí a umožní tak hostiteli využít energii, která je v ní uložena.

Půdní celulas představují tři skupiny enzymů: endoglukanasa, která štěpí β -1,4-glykosidovou vazbu na náhodných místech; exoglukanasa, která uvolňuje glukózu z neredukujícího konce; celobiasa (β -glukosidasy), která uvolňuje glukózu z celobiosy a hydrolyzuje krátké řetězce uvolněním glukózy z redukujícího i neredukujícího konce. Aktivita celulas v půdě závisí na řadě parametrů: množství enzymu, kvantita koloidů a jejich sorpční vlastnosti, koncentrace substrátu, hodnota půdní reakce, teplota půdy, přítomnost aktivátorů nebo inhibitorů.

Principem metody pro stanovení aktivity půdní celulas je inkubace sterilní celulózy a následně určení úbytku celulózy. Touto metodou není možné rozlišit jednotlivé enzymy, které se na rozkladu podílely, ani jejich producenty.

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: filtrační papír, Petriho misky, laboratorní lžička, skleněná tyčinka, stříčka s destilovanou vodou.

Přístroje: inkubátor.

Pracovní postup

3.1 Stanovení aktivity půdních celulas

1. Filtrační papír nastříháme na proužky o rozměrech 1×5 cm a sterilizujeme.
2. Do sterilní Petriho misky vsypeme půdní vzorek s původní vlhkostí a laboratorní lžičkou jej rovnoměrně rozprostřeme v přibližně 5 mm silné vrstvě.
3. Na vzorek položíme 3 proužky filtračního papíru. Jemně je přitlačíme skleněnou tyčinkou, aby dobře přilnuly k povrchu testovaného půdního vzorku.
4. Petriho misky uzavřeme a uložíme do inkubátoru.
5. Každý sudý týden vzorek pomocí stříčky opatrně provlhčíme destilovanou vodou.
6. V určitý den stanovíme procento úbytku celulózy.

Vyhodnocení

Do výpočtu zahrneme pouze plochu zcela rozložené celulózy. Při kolonizaci půdními houbami celulóza zcela zmizí nebo je zakryta mycelii jednotlivých druhů mikromycet. Při kolonizaci bakteriemi a aktinomycetami zůstává na povrchu vzorku sliznatá mokvatá vrstvička. Částečně rozložená celulóza indikuje neukončený rozklad a do výpočtu se nezahrnuje.

Nakreslíme si rastr 5×1 cm, který rozdělíme na 20 políček 5×5 mm – každé políčko představuje 5 % plochy proužku.

Srovnáním rastru s proužky filtračního papíru stanovíme procento úbytku. Provedeme u všech tří jednotlivých papírků z jedné Petriho misky a vypočteme aritmetický průměr.

Aktivitu vypočteme dosazením do vzorce:

$$A = \frac{P}{T}$$

A aktivita půdních celulas

P aritmetický průměr procentuálních úbytků celulózy

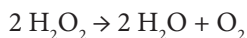
T doba inkubace v týdnech

A	Aktivita půdních celulas
0	žádná
0–1	velmi slabá
>1–2	slabá
>2–5	střední
>5–10	vysoká
>10	velmi vysoká

4 Aktivita půdní katalasy

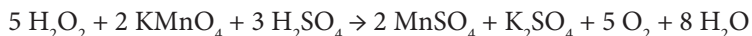
Teoretický úvod

Katalasa je enzym, který řadíme do třídy oxidoreduktas. Katalyzuje přeměnu toxického peroxidu vodíku na vodu a kyslík:

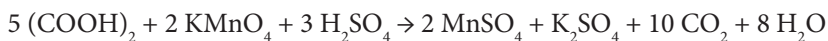


Je přítomen u rostlin, živočichů a aerobních mikroorganizmů. Peroxid vodíku se řadí mezi reaktivní formy kyslíku, jedná se o velice silné oxidační činidlo. V organizmech vzniká jako nežádoucí vedlejší produkt metabolických reakcí. Katalasa je antioxidační enzym, který je do půdy uvolňován s cílem rozložit peroxid vodíku, aby nedošlo k poškození buněk.

Koncentrace peroxidu vodíku může být stanovena manganometrickou nebo volumetrickou metodou. Manganometrická titrace je založena na oxidačních vlastnostech manganistanu draselného. Princip metody lze popsat rovnici:



První nadbytečná kapka titrantu po dosažení bodu ekvivalence se projeví růžovým zbarvením titrovaného roztoku. Pro standardizaci roztoku manganistanu draselného se používá např. kyselina šťavelová jako základní látka. Titrace kyseliny šťavelové lze popsat rovnici:



Půdní enzymy jsou základem půdní biochemie. Enzymová stanovení patří k základním testům biologické aktivity půdy. Aktivita katalasy je tak jedním z ukazatelů intenzity biochemických procesů probíhajících v půdě.

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: laboratorní lžička, váženka, špachtle, odměrná baňka 1000 ml, stříčka s destilovanou vodou, stojan, varný kruh, titrační byreta,

titrační baňka, kahan, síťka, pipeta, Erlenmeyerovy baňky 250 ml, odměrný válec, kádinky, filtrační kruh, filtrační papír, nálevka.

Chemikálie: KMnO_4 , destilovaná voda, $(\text{COOH})_2$, H_2SO_4 , H_2O_2 .

Přístroje: digitální předvážky, analytické váhy.

Pracovní postup

4.1 Příprava titračního roztoku

1. Navážíme 3,2 g KMnO_4 , rozpustíme v destilované H_2O a v odměrné baňce o objemu 1000 ml doplníme vodou po rysku. Roztok je vhodný připravit předem a v zásobní láhvi uchovat nejméně 14 dní.
2. Vypočítáme navážku na přípravu 250 ml 0,05 M roztoku kyseliny šťavelové dosazením do vzorce:

$$m = M \cdot c \cdot V \text{ (g)}$$

M molekulová hmotnost kyseliny šťavelové (126,07)

c požadovaná koncentrace roztoku (mol.l^{-1})

V požadovaný objem (l).

3. Přibližně navážíme vypočítané množství kyseliny šťavelové, přesnou navážku si zapíšeme.
4. Navážku rozpustíme v destilované H_2O v odměrné baňce na 250 ml a doplníme po rysku. Spočítáme přesnou koncentraci kyseliny šťavelové.
5. Sestavíme titrační aparaturu a odměrnou byretu naplníme odměrným roztokem KMnO_4 . Přebytný roztok nad ryskou odpustíme do kádinky a pod titrační baňku dáme bílý papír.
6. Do titrační baňky napipetujeme 20 ml roztoku kyseliny šťavelové a 10 ml 25% H_2SO_4 .
7. Titrační baňku zahřejeme na síťce nad kahanem na teplotu 90°C .
8. Nenecháme vychladnout, krouživými pohyby stále promícháváme a po kapkách titrujeme roztokem KMnO_4 z byrety až do trvale růžového zbarvení (přetrvá alespoň 1 min).

4.2 Stanovení aktivity katalasy

1. Do dvou 250 ml Erlenmeyerových baněk odvážíme po 2 g půdy, do každé přilijeme 20 ml destilované H_2O a jemně protřepeme.
2. Do jedné z baněk, která bude sloužit jako kontrolní vzorek, přilijeme 5 ml 10% H_2SO_4 , protřepeme a necháme stát.
3. Do obou baněk přidáme 5 ml 1% H_2O_2 , lehce protřepeme a necháme stát 15 min při pokojové teplotě.
4. Do baňky se vzorkem (ke kterému na počátku nebyla přidána kyselina sírová) přidáme 5 ml 10% H_2SO_4 .
5. Baňky protřepeme a zfiltrujeme.
6. Do čistých kádinek odebereme 10 ml filtrátu, doplníme 10 ml destilované H_2O a titrujeme 0,1 M KMnO_4 do trvalého růžového zbarvení.

Vyhodnocení

Vypočítáme přesnou koncentraci kyseliny šťavelové dosazením do vzorce:

$$c(\text{COOH})_2 = \frac{m(\text{navážka})}{m(\text{výpočet})} \cdot 0,05 \text{ (mol/l)}$$

Za m dosadíme vypočítanou a naváženou hodnotu kyseliny šťavelové v g.

Vypočítáme faktor titrace pro výpočet koncentrace KMnO_4 (F_{t1}) a pro výpočet koncentrace peroxidu vodíku (F_{t2}). Faktor titrace je dán poměrem stechiometrických koeficientů stanovované složky a odměrného činidla.

Vypočítáme přesnou koncentraci KMnO_4 dosazením do vzorce:

$$c(\text{KMnO}_4) = \frac{V(\text{COOH})_2 \cdot c(\text{COOH})_2 \cdot F_{t1}}{V(\text{KMnO}_4)} \text{ (mol/l)}$$

V použitý objem roztoku kyseliny šťavelové $(\text{COOH})_2$

c přesně vypočtená koncentrace kyseliny šťavelové $(\text{COOH})_2$

V spotřeba odměrného činidla (KMnO_4)

Vypočítáme koncentraci peroxidu vodíku v obou vzorcích půdy dosazením do vzorce:

$$c(\text{H}_2\text{O}_2) = \frac{V(\text{KMnO}_4) \cdot c(\text{KMnO}_4) \cdot F_{t_2}}{V(\text{H}_2\text{O}_2)} \text{ (mol/l)}$$

- V spotřeba odměrného činidla (KMnO_4)
- c přesně vypočtená koncentrace (KMnO_4)
- V použitý objem roztoku vzorku (H_2O_2)

Rozdíl v koncentraci peroxidu vodíku v kontrolním a reálném vzorku půdy odpovídá množství peroxidu vodíku odbouranému katalasou. Aktivitu katalasy vypočítáme dosazením do vzorce:

$$a = \frac{n}{t} = \frac{c \cdot V}{t \text{ (mol/s)}}$$

- a aktivita
- n látkové množství stanovovaného analytu (mol)
- t čas, po který reakce běžela (15 min), udává se v sekundách
- c koncentrace stanovovaného analytu (mol.l^{-1})
- V objem reakční směsi (l)

5 Stanovení obsahu uhličitánů v půdě

Teoretický úvod

Podstata stanovení uhličitánů spočívá v jejich snadném rozkladu kyselinou podle rovnice:



Čím více je v půdě uhličitánů, tím větší množství CO_2 se uvolní a reakce je intenzivnější.

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: miska, laboratorní lžička, odměrný válec nebo pipeta.

Chemikálie: 10% HCl, CaCO_3 .

Přístroje: manometr, digitální předvážky, analytické váhy.

Pracovní postup

5.1 Kvalitativní stanovení obsahu uhličitánů

1. Do mělké misky nalijeme malé množství 10 % HCl.
2. Odvážíme 2 g zeminy a lžičkou přidáme do misky s kyselinou.
3. Podle intenzity šumění lze odhadnout obsah uhličitánů.

5.2 Kvantitativní stanovení obsahu uhličitánů

1. Do vyvíjecí nádoby manometru navážíme 10 g zeminy.
2. Do vratné nádoby odměříme 10 ml 10 % HCl.
3. Uzavřeme vyvíjecí nádobku a přelijeme HCl do vyvíjecí nádoby na ze-
minu. Rozkladu uhličitánů napomáháme občasným protřepáním baňky.
Rozklad je ukončen, jestliže se ručička manometru dále nevychyluje.
4. Na manometru odečteme naměřenou hodnotu tlaku. Ze zjištěného tlaku
vyčteme z kalibračního grafu procentuální obsah uhličitánů.
5. Pro sestrojení kalibračního grafu se proměří tlak CO_2 vzniklý rozkladem
známého množství uhličitánů. Do vyvíjecí nádoby se naváží postupně
50, 100, 200 a 400 mg CaCO_3 , které odpovídají 0,5, 1, 2 a 4 % uhličitánů.

Vyhodnocení

Hodnocení kvalitativní zkoušky:

Šumění	Obsah uhličitánů
sotva znatelné, krátce trvající, nebo žádné	<0,3 %
silnější, krátce trvající	0,3–2,0 %
silné, déle trvající	>2,0 %

Obsahuje-li půda více než 0,3 % uhličitánů, je zásoba uhličitánů v půdě dostačující a není nutné vápnit.

6 Stanovení přijatelných forem fosforu

Teoretický úvod

Fosfor se v přírodě vždy vyskytuje ve svém nejvyšším oxidačním stupni – anion kyseliny fosforečné PO_4^{3-} . Obsah veškerého fosforu v půdách se pohybuje v rozmezí 0,03–0,13 % P (0,07–0,29 % P_2O_5). Převážná část minerálních sloučenin fosforu v půdě je ve formách ve vodě nerozpustných, podíl vodorozpustných sloučenin je velmi malý. Biochemicky nejvýznamnější a nejreaktivnější organické sloučeniny fosforu v půdě jsou fosforylované sacharidy. Představují obrovské množství biochemicky využitelné energie, která je potřebná při mnoha reakcích v půdě. Vazba mezi fosfátem a organickou složkou je energeticky bohatá a zároveň málo stabilní. Fosfátový iont se z těchto látek snadno uvolňuje a stává se pro rostliny dobře využitelným.

Celkový výživný potenciál půdy, pokud jde o fosfor, je dán obsahem přijatelných (labilních) forem fosforu, které se souhrnně vyjadřují jako faktor kapacity. Pro bezprostřední příjem této živiny rostlinami je rozhodující momentální koncentrace fosforečnanových iontů v půdním roztoku, která se obecně označuje jako faktor intenzity (I). Většinou je koncentrace v půdním roztoku velmi nízká.

Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: Erlenmeyerova baňka, laboratorní lžička, stojan, filtrační kruh, kádinka 100 ml, nálevka, filtrační papír, odměrné baňky 25 ml, stříčka s destilovanou vodou, odměrný válec, pipeta.

Chemikálie: dihydrogenfosforečnan sodný, Mehlichovo extrakční činidlo (0,2 M CH_3COOH , 0,015 M NH_4F , 0,013 M HNO_3 , 0,25 M NH_4NO_3 a 0,001 M EDTA), 10% kyselina askorbová, roztok kyseliny amidosulfonové (1 g $\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$ rozpustit v 10 ml destilované H_2O), roztok tetrahydrátu molybdenanu amonného (1,25 g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ rozpustit v 20 ml destilované H_2O), roztok hemihydrátu vinanu antimonylo-draselného (0,0345 g $\text{SbOKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ rozpustit v 10 ml destilované H_2O), roztok kyseliny sírové (14,4 ml koncentrované H_2SO_4 se za chlazení a míchání přidá k 30 ml destilované H_2O).

Přístroje: digitální předvážky, třepačka, spektrofotometr.

Pracovní postup

6.1 Stanovení koncentrace fosforu ve vzorku půdy

1. Do Erlenmeyerovy baňky navážíme 5 g jemnozemě a přelijeme 50 ml Mehlichova extrakčního činidla.
2. Třepeme na třepačce po dobu 10 min a poté přefiltrujeme.
3. Připravíme si zásobní roztok dihydrogenfosforečnanu draselného tak, aby 1 ml roztoku obsahoval 0,005 mg fosforu.
4. Do 25 ml odměrných baněk napipetujeme filtrát a standardy podle následující tabulky:

Objem pracovního roztoku (ml)	Objem destilované vody (ml)
0,0	20,0
0,1	19,9
0,5	19,5
1,0	19,0
1,5	18,5
2,0	18,0
2,5	17,5
3,0	17,0
3,5	16,5
4,0	16,0

5. Připravíme směsný roztok: k roztoku kyseliny sírové se po ochlazení na laboratorní teplotu opatrně přidají roztoky kyseliny amidosulfonové, tetrahydrátu molybdenanu amonného a hemihydrátu vinanu antimonylo-draselného. V odměrné baňce doplníme do 100 ml. Uchováváme v chladu a ve tmě.
6. Do všech baněk přidáme 1,5 ml směsného roztoku, promícháme a přidáme 0,5 ml roztoku kyseliny askorbové.
7. Destilovanou vodou doplníme po rysku a necháme stát 10 min.
8. Změříme absorbanci při vlnové délce 700 nm.

Vyhodnocení

Vynesením absorbancí kalibračních standardů dihydrogenfosforečnanu draselného proti jejich koncentraci vytvoříme kalibrační graf.

Z kalibračního grafu určíme koncentraci fosforu ve vzorku půdy.

Použitá literatura a informační zdroje

Zbíral J. (2002): Analýza půd I. ÚKZÚZ Brno.

Zbíral J. (2003): Analýza půd II. ÚKZÚZ Brno.

Zbíral J. (2004): Analýza půd III. ÚKZÚZ Brno.

Laboratorní cvičení předmětu Principy výživy rostlin. ČZU Praha (www.kavr.agrobiologie.cz), <http://ucebnice.remediace.cz/default.asp?oid=03010700000&-fid=158>.

ZKOUMÁME A CHRÁNÍME PŘÍRODU V NAŠEM OKOLÍ

Vladimír Vinter,
Petr Hašler

1 Zjišťujeme ekologickou stopu školy

Teoretický úvod

Ekologická stopa definované populace (jednotlivec, město, stát) je celková plocha ekologicky produktivní země a vodní plochy využívaná výhradně k zajištění zdrojů a asimilaci odpadů produkovaných danou populací při používání běžných technologií. Ekologická stopa je tedy měřítkem lidského nároku na zemský ekosystém, zahrnuje vše od získání potravin, dopravu až po odpad, který člověk vyprodukuje. Pro výpočty na úrovni města, státu, celé Země se používá jednotka globální hektar.

Koncept ekologické stopy byl vytvořen, aby odpověděl na otázku, zda lidská populace žije v hranicích únosné ekologické kapacity, či nikoliv, a aby odhadl (ve formě plochy) dopad, jaký mají aktivity člověka na přírodu. Každý spotřebovává přírodní zdroje ve formě jídla, energie a materiálů, čímž zatěžuje nosnou ekologickou kapacitu. V posledních desetiletích se stále častěji ozývají varovné hlasy některých vědců upozorňující na skutečnost, že lidský tlak na přírodní zdroje již únosnou kapacitu překračuje.

Podle posledních analýz má každý obyvatel planety v průměru k dispozici 1,8 globálního hektaru, aby nežil na ekologický dluh a vývoj na Zemi byl udržitelný.

Země s největší ekologickou stopou je podle aktuálního žebříčku Katar, který překračuje 11,5 hektaru. Následuje Kuvajt, Spojené arabské emiráty, Dánsko a Spojené státy. Češi si udržují pozici národa, který svým neekologickým chováním zanechává na Zemi jeden z nejvýraznějších otisků. Ekologická stopa jednoho Čecha činí zhruba 5,2 globálního hektaru. V žebříčku více než 150 zemí světa se pohybujeme kolem 18. místa. Český oběd zanechá stopu jako 5 dní Afričana. Praha patří mezi města, která vytvářejí nejvyšší ekologický dluh.

Zajímavým úkolem může být zjištění ekologické stopy vaší školy. Provoz školy je umožněn díky stavebním materiálům, ze kterých byla postavena, a díky elektřině a zemnímu plynu, používaným na svícení, vytápění a napájení. Školní jídelna využívá potraviny z míst blízkých a vzdálených a žáci i jejich učitelé do školy chodí pěšky, jezdí osobním automobilem nebo veřejnou dopravou. K výuce je potřeba spousta učebnic, papíru, sešitů, počítačů a dalších věcí a zařízení. Tyto a mnoho dalších, zdánlivě nesouvisejících věcí

představují nároky na přírodní zdroje. Jejich přepočtením na potřebnou plochu půdy, která umožňuje tyto zdroje (nebo jejich alternativu) vypěstovat a odpady naopak odstranit, získáme EKOLOGICKOU STOPU (EKOSTOPU) ŠKOLY.

K výpočtu ekologické stopy využijte kalkulačtor na <http://kalkulator.ekostopa.cz/> (přihlaste se jako host nebo se zaregistrujte jako škola). Kalkulačtor ekologické stopy školy je kalkulačka, která umožňuje snadno spočítat velikost ekologické stopy školy. Po zadání údajů nezbytných pro výpočet zjistíte, jakou má škola spotřebu přírodních zdrojů a jak zatěžuje životní prostředí. Výsledky jsou zjištěny a srovnávány nejen v celkové hodnotě ukazatele ekologické stopy, ale také v šesti hlavních oblastech výpočtu (rozdělte si úkoly) – budova školy, fosilní energie, obnovitelná energie, voda, doprava, celková spotřeba. Výpočet je možné vyčíslit zvlášť pro školní jídelnu.

Pomůcky

Zápisník, PC internet, kalkulačtor ekologické stopy.

Úkoly

1. Proveďte dotazníkové šetření podle kalkulačtoru ekologické stopy.
2. Vypočtete ekologickou stopu vaší školy.
3. Navrhněte nejméně pět opatření ke snížení ekologické stopy.
4. Pokuste se porovnat ekologické stopy škol ve vaší obci nebo mezi obcemi.

Závěr

Z výsledků vytvořte krátkou prezentaci (nástěnka, článek ve školním časopise, ppt prezentace).

Použitá literatura a informační zdroje

<http://www.hraozemi.cz/ekostopa.html>.

http://cs.wikipedia.org/wiki/Ekologick%C3%A1_stopa.

<http://kalkulator.ekostopa.cz/>.

<http://www.ekologickastopa.cz/ekologicka-stop/>.

2 Botanický průzkum okolí školy

Teoretický úvod

K botanickému průzkumu můžeme přistoupit z různých hledisek:

1. inventarizační průzkum flóry okolí školy – soupis všech cévnatých rostlin, popř. i mechorostů, inventarizace ohrožených druhů flóry ČR;
2. botanický průzkum určité vybrané, botanicky zajímavé lokality (louka, lemová společenstva – ekotony, okolí rybníka, břeh potoka, lom, parky aj.);
3. studium určitých vybraných druhů rostoucích v okolí (např. ohrožené a chráněné druhy).

Metodické poznámky k práci v terénu

- pokud budete pracovat na území, které je předmětem ochrany, nebo s chráněnými taxony, vždy kontaktujte orgány ochrany přírody;
- při floristickém výzkumu doporučujeme pracovat podle následující osnovy:
 - ▷ vymezení zájmové plochy;
 - ▷ získávání informací o vymezené lokalitě;
 - ▷ stanovení výzkumných cílů;
 - ▷ vlastní botanický průzkum;
 - ▷ vyhodnocení výsledků a jejich prezentace;
- pro determinaci rostlin je možno používat osvědčené klíče. K určování cévnatých rostlin se osvědčil moderně zpracovaný Klíč ke květeně České republiky (Kubát K. a kol. 2002). Tato nová příručka zahrnuje všechny planě rostoucí druhy cévnatých rostlin ČR, z pěstovaných pak většinu dřevin a ekonomicky významné a základní okrasné byliny (celkem přibližně 3700 taxonů). Kromě morfologických znaků nutných k identifikaci rostlin obsahuje stručné údaje o rozšíření v ČR, ekologických nárocích, stupni ohrožení a také údaje o chromozómových počtech. Text je doprovázen četnými ilustracemi významných znaků. Klíč navazuje na souběžně vycházející Květenu České republiky. Podle tohoto klíče doporučujeme sjednotit nomenklaturu cévnatých rostlin. K určování cévnatých rostlin lze využít i starších příruček: Josef Dostál (1954), Klíč

k úplné květeně ČSR (Praha, ČSAV) nebo Jan Martinovský a kol. (1959), Naše rostliny: Klíč k určování (Praha, SZN). Využít lze i určovací pomůcky v elektronické podobě, např. <http://www.kvetenacr.cz/index.asp>, kde také naleznete další odkazy;

- základem každého terénního botanického výzkumu je inventarizace druhů. Velmi přehledný manuál pro práci v terénu zpracovali Luděk ČECH, Martin KOČÍ a Romana PRAUSOVÁ Botanické inventarizační průzkumy (floristika, rostl. společenstva, biotopy) – <http://www.vedaje-zabava.upol.cz/docs/botanicke%20inventarizacni%20pruzkumy.pdf>.

Pomůcky

Botanické klíče a atlasy, zápisník, lupa.

Úkoly

1. Proveďte determinaci rostlin, zařazení do čeledí, fotodokumentaci.
2. Vytvořte seznam rostlin, vypočítejte kolik druhů cévnatých rostlin, popř. mechorostů, roste v okolí školy, popř. ve vybrané lokalitě, vyhodnoťte, které druhy jsou ohroženy a jak.
3. Pokuste se přiřadit biotop podle Katalogu biotopů ČR – <http://www.sci.muni.cz/botany/chytry/Katalog.pdf>, pokuste se porovnat druhovou pestrost jednotlivých biotopů.
4. Vytvořte seznam plevelů a invazních rostlin rostoucích ve zkoumané lokalitě.
5. Ve spolupráci s orgány ochrany přírody navrhnete management ochrany zjištěných ohrožených druhů.
6. Pozornost věnujte i dřevinám – viz Dřeviny v našem okolí.

Závěr

Výsledky zpracujte do prezentační formy, publikujte ve školním časopise nebo místním tisku. Připravte přednášku o flóře okolí školy.

3 Dřeviny v našem okolí

Teoretický úvod

Nauka studující dřeviny (stromy a keře) se nazývá dendrologie. Stromy a keře jsou vytrvalé dřevnatějící rostliny, především nahosemenné a dvouděložné krytosemenné. Z hlediska životní formy se jedná o fanerofyty. Typickým znakem dřevin je sekundární tloušťnutí činností kambia, které produkuje sekundární dřevo a lýko. Přírůstek dřeva za vegetační sezónu vytváří u dřevin mírného pásma letokruhů. Počítání letokruhů se využívá při datování stáří stromů, popř. dřevěných historických památek. Některé dřeviny se dožívají vysokého stáří, u nás lípy a duby přes 500 let, z jehličnanů tisy i přes 1000 let.

Při určování stáří stromů či historických dřevěných památek využívají vědci dendrochronologii a radiouhlíkovou analýzu izotopu uhlíku ^{14}C .

Dendrochronologie je metoda datování dřeva založená na měření počtu a šířek letokruhů. Letokruhy vznikají periodickou činností kambia, která je podmíněna střídáním ročních období v temperátním pásmu, ale i pravidelnými záplavami v období dešťů nebo monzuny v tropickém pásmu.

Šířku letokruhu ovlivňují stresy (sucho, mráz, záplavy, škůdci, exhalace aj.) a semenné roky. Obecně platí, že čím je příznivější rok, tím více energie investuje rostlina (dřevina) do produkce dřeva (pokud není semenný rok), a tím jsou letokruhy širší. Někdy se mohou vytvořit dva letokruhy v jednom roce, např. po pozdních jarních mrazech nebo po masivním napadení fytofágním hmyzem. Vzájemnou souhrou všech vlivů se vytváří neopakovatelný sled různě širokých letokruhů.

K odběru vzorků dřeva se používá dutý vrták, který umožňuje získat tenký váleček se vzorkem letokruhů (ke statistickému zpracování alespoň 40–50 letokruhů). Pokud je ve vzorku zachycen poslední vytvořený letokruh (podkorní letokruh) je možné přesně datovat smýcení stromu.

Praktické využití nachází dendrochronologie při zjišťování stáří stromů. Za nejstarší stromy planety (přes 4800 let) je považovaná borovice dlouhověká (*Pinus longaeva*) rostoucí v aridních horských oblastech Severní Ameriky (např. White Mountains, Great Basin), taxonomicky odlišená v roce 1970 od mladší borovice osinaté (*Pinus aristata*) uváděné dříve jako nejstarší rostlina planety. Velmi vysokého stáří dosahují klony vznikající zakořeňe-

ním větví mateřských stromů. Např. původní mateřský exemplář (který však již dávno neexistuje, samotný strom se dožívá 2000–3000 let) tasmanského jehličnanu *Lagarostrobos franklinii* (nazývaný borovice huon) z čeledi *Podocarpaceae* vyklíčil před 10 500 lety. V horských oblastech Švédska bylo radioizotopovou analýzou dřeva zjištěno stáří některých exemplářů smrku ztepilého (*Picea abies*) 9550 let. Jedná se o vegetativně se množící keře, které občas vytvoří nízký kmen dožívající se stáří kolem 600 let.

V poslední době se objevují další zprávy o vysokém stáří stromů, např. *Lomatia tasmanica* (*Proteaceae*) – stáří tohoto stromu (jedná se o klon) je odhadováno na 43 tisíc let, stáří baobabů je odhadováno na snad až 10 tisíc let aj.

Údaje o maximálním věku stromů rostoucích v České republice bývají často nadhodnocovány (tisícileté lípy u nás nerostou). K nejstarším stromům patří tisy (*Taxus*) – snad i přes 1000 let, podobně vysokého stáří dosahují hlohy (*Crataegus*) a jalovce (*Juniperus*). Vysokého stáří mohou dosáhnout i duby (*Quercus*) nebo lípy (*Tilia*) – i přes 500 let. Naopak mezi krátkověké dřeviny dožívající se 100 až 150 let patří břízy (*Betula*), vrby (*Salix*) nebo olše šedá (*Alnus incana*).

Datování dřeva se využívá také při zjišťování stáří staveb a archeologických památek (krovů, hrazení, dřevěných soch). Nejprve je třeba vytvořit standardní dendrochronologickou řadu pro určitý druh a určitou oblast. Využívá se křížového pravidla (vyhledávání překrývajících se shodných sekvencí letokruhů stromů různého kalendářního stáří rostoucích ale po určitou dobu současně). Zkoumaný vzorek dřeva se pak porovnává se standardní řadou. S pokračujícím výzkumem se délky standardních řad neustále prodlužují do minulosti. Největší význam mají v našich zeměpisných šířkách řada jedle a řada dubu, v poslední době i řada smrku a borovice.

- Řada jedle: 70 % středověkých krovů je z jedle, šířka letokruhů se shoduje u geograficky vzdálených jedinců (široká telekonekce), např. na celém území ČR. Řada jedle sahá v České republice do r. 1131.
- Řada dubu: obtížnější datování. Výhodnou vlastností dubového dřeva je jeho trvanlivost v anaerobních podmínkách ve vodě. Na základě analýzy dřev z Mikulčic, Pražského hradu, Karlštejna, Buchlova, Brna aj. sahá řada dubu zatím v České republice do roku 462 n. l. Dále pokrývá dubová dendrochronologie období 271 n. l. až 23 př. n. l. a 289 až 545 př. n. l. Němečtí dendrochronologové vytvořili v Porýní kontinuální chronologickou řadu dubu do období přibližně 5000 let př. n. l.

Významnou metodou využívanou při datování organických zbytků, tedy i dřeva, je uhlíková metoda ^{14}C (radiokarbonová metoda). Izotop uhlíku ^{14}C absorbují do svých buněk všechny živé organizmy a s ním absorbují také stabilní izotopy ^{12}C . Přísun uhlíku je ukončen po smrti organismu a existující ^{14}C se postupně vytrácí díky radioaktivnímu rozpadu (poločas rozpadu uhlíku ^{14}C je přibližně 5730 roků). Každých 5730 ± 40 roků (tzv. Cambridgský poločas rozpadu) se tedy polovina obsahu ^{14}C přemění na ^{12}C . Principem metody je tedy znalost poločasů rozpadu izotopů uhlíku ^{12}C a ^{14}C a skutečnost, že v živém organismu je poměr obou izotopů stejný a konstantní, ale po smrti se tento poměr pozvolna mění díky rozpadu izotopu ^{14}C . Obsah izotopu ^{14}C se zredukuje na $\frac{1}{8}$ přibližně po 17 150 letech, z čehož vyplývá, že tato metoda dává přesné výsledky při určování věku 50 000–60 000 let.

Pomůcky

Metr svinovací, měřicí pásmo, zápisník, botanické klíče a atlasy.

Úkoly

1. Proveďte inventarizační průzkum dřevin v areálu školy (včetně ovocných dřevin), v okolí školy nebo ve vybrané lokalitě (např. zanedbaný zámecký park, lemové pásmo břehu potoka atd.).
2. Vytvořte seznam dřevin, zařaďte jednotlivé druhy do čeledí, proveďte fotodokumentaci dřevin.
3. Po dohodě s vyučujícím biologie vytvořte sbírku pupenů, borky, listů, reprodukčních orgánů (herbarizace), plodů.
4. U cizokrajných dřevin zjistěte místo původního rozšíření.
5. Seznamte se podrobněji s anatomickou stavbou dřeva jehličnanů a listnáčů, pokuste se o determinaci dřev na základě mikroskopických a makroskopických znaků (výborný interaktivní klíč k určování dřev na <http://wood.mendelu.cz/cz/sections/ASD/?q=node/11>, kde jsou i odkazy na další studijní materiály).
6. Vyberte vzácnější, méně často pěstované druhy, staré stromy či jinak zajímavé dřeviny:
 - odhadněte jejich stáří – vyžaduje určitou zkušenost, kterou lze získat při vycházkách do lesa. Počítejte letokruhy poražených stromů a změřte jejich obvod a průměr (tloušťka kmene je v korelaci s počtem letokruhů). Po určité době se naučíte zhruba odhadovat stáří dřevin podle tloušťky kmene;

- u stromů vypočítejte jejich výšku (např. pomocí dílcového pravidla, podobnosti trojúhelníků atd.);
 - proveďte zevrubné posouzení zdravotního stavu dřevin (napadení houbami – fotogalerie patogenních hub na <http://www.mykologie.net/index.php/houby>, fytofágním hmyzem, okus herbivory, poranění, stav foliace, růstové defekty);
7. Připravte přednášku na téma „Jak staré jsou stromy a jak zjišťujeme jejich stáří?“

Závěr

Výsledky dendrologického pozorování shrňte do jednoduché názorné ppt prezentace a ve školním časopise či v místním tisku publikujte krátký článek o zajímavých dřevinách a stavu zeleně ve vašem okolí.

Použitá literatura a informační zdroje

- Horáček P. (2007): Encyklopedie listnatých stromů a keřů. Computer Press, Brno.
- Koblížek J. (2000): Jehličnaté a listnaté dřeviny našich zahrad a parků. Sursum, Tišnov.
- Kremer B. P. (1995): Stromy: V Evropě zdomácnělé a zavedené druhy. Ikar, Praha.
- Krüssmann G. (1978): Evropské dřeviny. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Kyncl J. et Kyncl T. (2002): Principy dendrochronologie. Živa, Academia, Praha, (6), 249–252.
- Míkula A. (1976): Naše stromy a keře. Mladá fronta, Praha.
- Musil I. (2005): Listnaté dřeviny: Přehled dřevin v rámci systému rostlin krytosemenných (Lesnická dendrologie 2). Česká zemědělská univerzita, Praha.
- Slávik M. (2004): Lesnická dendrologie. Česká zemědělská univerzita, Praha.
- Vinter V. (2009): Rostliny pod mikroskopem (Základy anatomie cévnatých rostlin). Univerzita Palackého, Olomouc.
- Úradníček L., Chmelař J. (1998): Dendrologie lesnická, Část 2 Listnáče 1. (Angiospermae). Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno.
- Úradníček L., Maděra P. (2009): Dřeviny České republiky. LESNICKÁ PRÁCE, s. r. o., Brno.
- <http://www.dendrochronologie.cz/mzlu>.

4 Měříme plochu listové čepele

Teoretický úvod

List představuje nejplastičtější rostlinný orgán – působení vnějších podmínek prostředí (především světla) vyvolává u listů výraznější adaptační změny než u jiných rostlinných orgánů. Vedle světla ovlivňují anatomicko-morfologické utváření listů i další vlivy prostředí, např. teplota, vlhkost, pořadí inzerce listů na větvích – kompetice listů o vodu, živiny aj.

Listy vyšších inzercí jsou vystaveny intenzivnějšímu záření a mají proto více xeromorfních znaků než listy nižších inzercí (Zalenského zákon, 1904).

Heliofilní (slunné) listy na obvodu koruny (především z JV, J až JZ strany) mají, na rozdíl od **sciofilních (stinných) listů** uvnitř koruny, větší tloušťku listu (především vyšší buňky palisádového parenchymu a také více vrstev palisádového parenchymu), delší a rozvětvenější žilnatinu, více sklerenchymatických pletiv, menší epidermální buňky, silnější kutikulu a epidermis, větší počet chloroplastů, ale nižší obsah chlorofylu na jednotku sušiny, menší objem intercelulár, větší hustotu stomat, menší délku stomat. Heliofilní listy mají často také menší plochu než listy sciofilní.

Všechny uvedené znaky jsou znaky kvantitativní, které lze stručně charakterizovat takto:

- mají kontinuální proměnlivost (= variabilitu), nejčastěji podle Gaussovy křivky (tzv. normální rozdělení);
- jsou vedeny mnoha geny malého účinku (polygeny);
- jsou ovlivnitelné prostředím.

Ke zpracování naměřených hodnot kvantitativních znaků slouží biostatistika (biometrika).

Pomůcky

Nasbírané listy, botanické klíče a atlasy, průsvítka formátu A4 s bodovým rastrem $0,5 \times 0,5$ cm, kalkulačka, statistické tabulky.

Úkoly

1. Porovnejte plochy listové čepele heliofilních a sciofilních listů.
2. Výsledky statisticky vyhodnoťte.

Postup

K odběru listů vybíráme vhodné stromy nebo keře nižšího vzrůstu (bezpečnost při odběru listů) s hustou korunou. Odebereme 20 listů z obvodu koruny osluněné strany stromu a 20 listů z vnitřní části koruny. K přesnější analýzám je nutno stanovit počet odebraných listů (reprezentativní vzorek) pomocí biostatistických metod. Obecně platí, že čím jsou zkoumané znaky (např. listová plocha) proměnlivější, tím větší počet vzorků musíme odebrat a proměřit.

K měření plochy listů využijeme rychlou, jednoduchou a poměrně přesnou bodovou (zásahovou) metodu. Nejprve si připravíme systém bodů na průsvitnou fólii používanou k projekci na Meotaru. Pod fólii podložíme milimetrový papír a nesmazatelnou fixou vytvoříme síť bodů $0,5 \text{ cm} \times 0,5 \text{ cm}$. List překryjeme fólií a spočítáme zásahy. Zásahy na okraji listové čepele počítáme pouze každý druhý nebo jenom zásahy na polovině obvodu čepele. Chceme-li dosáhnout přesnějších výsledků, proměříme každý list 3×, vždy pootočený zhruba o 30° , a vypočteme aritmetický průměr. Každý zásah představuje $0,25 \text{ cm}^2$ listové plochy. Výslednou plochu listu vypočteme jako celkový počet zásahů $\times 0,25$.

Vzhledem k tomu, že měření kvantitativních znaků je časově poměrně náročné, je výhodné, když každý student proměřuje vlastní soubor – získáme tak více naměřených hodnot ke statistickému zpracování.

Na závěr provedeme statistické vyhodnocení naměřených hodnot. Pro každý měřený soubor vypočteme **základní statistické charakteristiky**.

Aritmetický průměr:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad [\text{v měřených jednotkách}]$$

Míry variability vyjadřují proměnlivost (variabilitu) měřených znaků:

- **Variační rozpětí** – rozdíl mezi maximální a minimální hodnotou souboru. Pokud se v měřeném souboru vyskytuje extrémní hodnota odlišná od ostatních hodnot (odlehle pozorování) je hodnota variačního rozpětí velmi zkreslující.

$$R = x_{\max} - x_{\min} \quad [\text{v měřených jednotkách}]$$

- Směrodatná odchylka – charakterizuje variabilitu souboru v původních měrných jednotkách. V případě normálního rozdělení četností hodnot souboru se v intervalu aritmetický průměr ± 1 směrodatná odchylka nachází přibližně 68 % měřených vzorků.

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad [\text{v měřených jednotkách}]$$

- Variační koeficient (relativní směrodatná odchylka): umožňuje porovnávat variabilitu mezi soubory.

$$V_x = \frac{s_x}{\bar{x}} \cdot 100 \quad [\%]$$

Ilustrační modelový příklad na výpočet základních statistických charakteristik:

Bodovou metodou byla proměřena plocha deseti listových čepelí dubu červeného. Vypočtete základní statistické charakteristiky.

n	x_i [cm ²]	$x_i - \bar{x}$ [cm ²]	$(x_i - \bar{x})^2$ [cm ²]
1.	101	-3	9
2.	90	-14	196
3.	110	6	36
4.	108	4	16
5.	98	-6	36
6.	113	9	81
7.	102	-2	4
8.	93	-11	121
9.	118	14	196
10.	107	3	9
	$\Sigma 1040$		$\Sigma 704$

Jednotlivé statistické charakteristiky se vypočítají dosazením naměřených hodnot do vzorců:

$$\bar{x} = \frac{1040}{10} = 104 \text{ [cm}^2\text{]}$$

$$R = 118 - 90 = 28 \text{ [cm}^2\text{]}$$

$$s_x = \sqrt{\frac{704}{9}} = 8,8 \text{ [cm}^2\text{]}$$

$$V_x = \frac{8,8}{104} \cdot 100 = 8,46 \text{ [%]}$$

Aritmetický průměr a variační koeficient umožňují pouze orientační porovnání souborů. Chceme-li s jistou pravděpodobností (nejčastěji 95 %) prokázat, zda má sluneční záření vliv na velikost listové čepele a zda tedy existuje statisticky průkazný (signifikantní) rozdíl mezi aritmetickými průměry měřených souborů, musíme využít testu průkaznosti rozdílnosti aritmetických průměrů.

Zjednodušený postup při testování (objasnění teoretických principů testování hypotéz lze nalézt v odborné literatuře):

1. Stanovíme nulovou hypotézu H_0 : neexistuje signifikantní rozdíl mezi testovanými průměry (sluneční záření nemá vliv na velikost listové plochy, zjištěné rozdílné hodnoty aritmetických průměrů testovaných souborů jsou statisticky neprůkazné, tedy náhodné). V případě zamítnutí H_0 přijímáme alternativní hypotézu H_1 : zjištěné rozdíly jsou statisticky průkazné.
2. Vypočteme testové kritérium podle vzorce (zjednodušený matematický zápis). Při použití tohoto vzorce je nutný stejný rozsah souborů.

$$t_{(2n-2)} = |\bar{x}_A - \bar{x}_B| \cdot \sqrt{\frac{n \cdot (n-1)}{\sum (x_A - \bar{x}_A)^2 + \sum (x_B - \bar{x}_B)^2}}$$

3. Test vyhodnotíme. Vypočtené testové kritérium porovnáme s tabulkovou hodnotou pro stanovenou pravděpodobnost (95 %, tzn., že vyhledáváme

hodnotu na hladině významnosti $P = 0,05$) a pro odpovídající počet stupňů volnosti $(2n-2)$.

t vypočítaná $< t$ tabulková přijímáme H_0

t vypočítaná $> t$ tabulková zamítáme H_0 a přijímáme H_1 .

Stupeň volnosti	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Hodnota t-rozdělení	2,23	2,20	2,18	2,16	2,14	2,13	2,12	2,11	2,10	2,09	2,09	2,08	2,07

Stupeň volnosti	23	24	25	26	27	28	29	30	40	50	60	100	∞
Hodnota t-rozdělení	2,07	2,06	2,06	2,06	2,05	2,05	2,05	2,04	2,02	2,01	2,00	1,98	1,96

Tabulka kritických hodnot t -rozdělení na hladině významnosti $P = 0,05$

Ilustrační modelový příklad na testování průkaznosti rozdílů aritmetických průměrů mezi dvěma soubory. Z koruny stromu slivoně meruňky bylo odebráno 10 heliofilních a 10 sciofilních listů. Bodovou metodou byly proměřeny plochy listových čepelí. Existuje mezi aritmetickými průměry testovaných souborů statisticky průkazný rozdíl?

n	Plocha heliofilního listu [cm ²]	Plocha sciofilního listu [cm ²]	$(x_A - \bar{x}_A)^2$	$(x_B - \bar{x}_B)^2$
1.	40	51	49	1
2.	48	48	1	4
3.	54	52	49	4
4.	42	58	25	64
5.	46	43	1	49
6.	47	45	0	25
7.	50	46	9	16
8.	53	53	36	9
9.	45	56	4	36
10.	45	48	4	4
	$\bar{x} = 47$	$\bar{x} = 50$	$\Sigma 158$	$\Sigma 212$

$$t_{18} = |47 - 50| \cdot \sqrt{\frac{10 \cdot 9}{158 + 212}} = 1,48$$

1,48 (vypočítaná hodnota) < 2,10 (tabulková hodnota, $P = 0,05$; stupeň volnosti = 18) → přijímáme H_0 (s 95% pravděpodobností) → mezi aritmetickými průměry testovaných souborů neexistuje statisticky průkazný rozdíl (rozdíl je náhodný). Poloha listu v listové koruně (vliv slunečního záření) nemá vliv na plochu listové čepele.

Je třeba zdůraznit, že výše uvedený příklad je pouze ilustrační – pro zjednodušení předpokládáme nezávislost testovaných souborů (jistý stupeň závislosti je však daný tím, že všechny listy koruny jsou napojeny na společný kořenový systém), rovněž rozsah výběrových souborů je velmi malý, a tedy nereprezentativní, nejsou exaktně ověřeny podmínky pro použití t-testu aj.

Závěr

Naučíte-li se měřit listovou plochu, můžete snadno stanovit různé relativní indexy, např. naměřené hodnoty vztáhnout na hmotnost biomasy rostliny, hmotnost sušiny celé rostliny nebo jenom listů, určitou plochu (pokryvnost) atd. Tyto hodnoty můžete porovnávat např. u rostlin pěstovaných v různých podmínkách (vlhkost, sucho, minerální živiny, světlo, herbicidy, posypové soli, hnojiva, insekticidy, prací a čistící prostředky, pohonné hmoty atd.) nebo u rostlin rostoucích na různých, ekologicky odlišných stanovištích.

Všechny výsledky vyhodnoťte, připravte jednoduchou ppt prezentaci, uspořádejte seminář na téma Listy rostlin.

Použitá literatura a informační zdroje

Dufek J. (1992): Biometrika. VŠZ, Brno.

Slavíková Z. (2002): Morfologie rostlin. Univerzita Karlova, Praha.

Strasburger E., Noll F., Schenk H. et Schimper A. F. W. (1991): Lehrbuch der Botanik für Hochschulen. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York.

5 Fenologická pozorování rostlin

Teoretický úvod

Nauka zabývající se studiem časového průběhu periodicky se opakujících vývojových fází rostlin během roku, tzv. fenofází, se nazývá fenologie. Každá rostlina se během roku mění. Můžeme např. pozorovat fenofáze rašení pupenů, růst listů, poupat, kvetení, opad okvětních lístků, vývin plodů apod. Jednotlivé druhy se liší nástupem a dobou trvání jednotlivých fenofází. Nástup jednotlivých fenofází také ovlivňují ekologické podmínky stanoviště, např. počasí (velmi vhodným zařízením je meteorologická budka), nadmořská výška, směr a sklon k určité světové straně.

Obdobím nástupu vegetace je fenologické předjaří, které je charakterizováno kvetením sněženky (*Galanthus nivalis*), podběle (*Tussilago farfara*), rozkvětem některých stromů a keřů před olistěním – lísky obecné (*Corylus avellana*), vrby jívy (*Salix caprea*), olše lepkavé (*Alnus glutinosa*). Naopak konec fenologického podzimu se shoduje s ukončením hlavního vegetačního období a je dán opadáváním listů – končí opadem jehlic modřínu opadavého (*Larix decidua*).

Fenologická pozorování mají význam např. při zjišťování změn klimatu, při zjišťování dopadů znečištění životního prostředí na rostliny, v zemědělství a sadařství je na sledování fenofází pěstovaných rostlin závislé dodržování agrotechnických lhůt aplikací postřiků, hnojiv, termínů sklizně. Jako příklad lze uvést zjednodušenou fenologickou stupnici u obilnin – vzházení, odnožování, sloupkování (intenzivní dělení buněk apikálních meristémů spojené s prodlužovacím růstem internodií stébel), metání (květenství opouští listovou pochvu), kvetení, zrání (zralost mléčná, vosková, plná).

Fenologické značky:

- | | |
|--|--|
|  1. pupen v zimním stavu |  20. skrytá poupata |
|  2. pupen rostoucí |  21. nahloučená poupata |
|  3. pupen na konci zelený |  22. poupata s prodlouženým květenstvím |
|  4. pupen rozpuknutý |  23. poupata s částečně vyniklou korunou |
|  5. list mladý nevyvinutý |  24. poupata s vyniklou korunou |
|  6. list zelený |  25. květenství s mladými poupaty a květy |
|  7. list usychající |  26. květenství s poupaty a květy |
|  8. list uschlý |  27. rozkvétající květenství |
|  9. list přezimující |  28. kvetoucí květenství |
|  10. rostlinka klíčící |  29. dokvétající květenství |
|  11., 12. lodyha, uschlé listy |  30. částečně odkvetlé květenství |
|  13. skryté poupě |  31. odkvetlé květenství |
|  14. mladé poupě |  32. nezralý plod |
|  15. poupě s viditelnou korunou |  33. zralý plod |
|  16. květ rozvíjející |  34. prázdný plod |
|  17. květ | |
|  18. odkvétající květ | |
|  19. odkvetlý květ | |

Pomůcky

Zápisník, kalendář, lupa, určovací klíče, fenologické tabulky, fotoaparát.

Úkoly

1. Ve vašem okolí vyberte několik druhů rostlin, které se liší v nástupu fenofázi (např. ovocné dřeviny, různé druhy zeleniny, okrasné rostliny, trávy, keře, skalničky, ohrožené rostliny). Tyto rostliny pozorujte od jara do podzimu (podle vegetační doby zvolených druhů).
2. Sledujte vždy více rostlin zvoleného druhu. Zapisujte si fenofáze, které zjistíte u více jedinců téhož druhu. V jednom pozorování se může objevit i několik fenofází současně.
3. Svá pozorování zapisujte pomocí fenologických značek do tabulky, popř. doplňte fotografiemi pozorovaných struktur.

4. Porovnejte nástup fenofází sledovaných druhů (pozor na rozdílné nástupy rozkvétání rostlin během dne), sestavte fenologický kalendář sledovaných druhů.
5. Při každém pozorování pokud možno запиšte i teplotu, stav oblačnosti, relativní vlhkost vzduchu – při dlouhodobějším pozorování tak získáte velmi cenná data, která umožňují sledovat korelace mezi počasím a fenofázemi a sledovat dlouhodobější trendy ve vývoji počasí.

Závěr

Vlastní výsledky pozorování porovnejte s výsledky uváděnými v odborné literatuře, např. v publikaci Atlas fenologických poměrů Česka. Pokuste se navázat kontakt s některou fenologickou stanicí ČHMÚ. O výsledcích svých pozorování pravidelně informujte spolužáky (např. zprávy na nástěnce či ppt prezentace) nebo i širší veřejnost, např. krátkými sděleními v místním tisku.

Použitá literatura a informační zdroje

- Adresová J. (2002): <http://www.biologickaolympiada.cz/files/dokumenty/N%C3%A1m%C4%9Bty%20samostatn%C3%BDch%20prac%C3%AD%20BiO%20C.pdf>
- Hájková L., Kohut M., Novák M. a Richterová D. (2011): <http://www.cbks.cz/Upice2011/92.pdf>
- Tolasz R., Hájková L., Voženílek V. (2012): Atlas fenologických poměrů Česka. ČHMÚ, Vydavatelství UP v Olomouci.

6 Zkoumáme rozšiřování semen a plodů

Teoretický úvod

Semena a plody se mohou rozšiřovat (chorie, disseminace) následujícími způsoby:

1. **anemochorie:** šíření vzduchem. Semena některých rostlin jsou velmi drobná a lehká, řádově miliontiny gramu – orchideje, hnilák (*Monoropa*). Plody mohou být opatřeny létacím zařízením, např. chmýrem – nažky pampelišky (*Taraxacum*), křídly – dvojnažky javoru (*Acer*) atd. Kutálením celých rostlin hnaných větrem se rozšiřují stepní běžci, např. choulivka jerišská (růže z jericha, *Anastatica hierochuntica*) rostoucí v jihozápadní Asii a severní Africe;
2. **barochorie:** šíření vlastní hmotností;
3. **autochorie:** šíření vlastními silami. Semena některých rostlin jsou na základě nestejného napětí v oplodí vymršťována do okolí (balistochorie), např. u netýkavky (*Impatiens*), šťavelu (*Oxalis*), tykvice stříkavé (*Echallium elaterium*). Plody se mohou zavrtávat do půdy pomocí hygroskopických pohybů – pumpava (*Erodium*), kavyl (*Stipa*);
4. **hydrochorie:** šíření vodou. U vodních, bahenních a pobřežních rostlin, např. kotvice plovoucí (*Trapa natans*), leknínu (*Nymphaea*), kosatce žlutého (*Iris pseudacorus*), kokosovníku (*Cocos nucifera*);
5. **zoochorie:** šíření živočichy. **Endozoochorie** – plody (semena) procházejí trávicím traktem, např. bez černý (*Sambucus nigra*). **Epizoochorie** – plody opatřené různými přichytnými zařízeními jsou přenášeny na srsti zvířat, popř. peří ptáků, svízel přítula (*Galium aparine*). Ostré kotvičkovitě plody kotvičníku (*Tribulus*) se mohou zabodávat do kopyt a paznehtů velkých savců. **Myrmekochorie** – šíření plodů mravenci, např. sasanky (*Anemone*), kopytník (*Asarum*), vlaštovičník (*Chelidonium*), violky (*Viola*);
6. **antropochorie:** rozšiřování rostlin člověkem – užitkové rostliny, plevele aj.

Pomůcky

Botanické klíče a atlasy, zápisník, fotoaparát.

Úkoly

1. Během vycházek (nejlépe na podzim) sbírejte semena a plody bylin a dřevin, usušte je, popište stanoviště – lokální štítek, rostliny určete, zařadte do čeledí.
2. Určete typ plodu, plod či semeno popište.
3. Semena a plody roztrďte podle způsobu jejich rozšiřování (např. vodou, větrem, živočichy v srsti, ptáky v peří, trusem apod.). U některých druhů rostlin můžete pozorovat i zařízení, které slouží k aktivnímu vymrštění semen z plodů.
4. Jednotlivé typy plodů a semen nakreslete nebo vyfotografujte.
5. Vysušené plody a semena upravte do sbírky. Můžete je např. zatavit nebo zašít do malých sáčků z folie nebo celofánu. Do každého sáčku vložte lokální štítek.
6. Údaje zpracujte do tabulky a sestavte pořadí četností způsobů rozšiřování semen a plodů. Plody zakreslete, popř. vyfotografujte.

Rostlina	Typ plodu	Způsob rozšiřování	Přizpůsobení k rozšiřování

Závěr

Připravte malou výstavku plodů a semen rostoucích ve vašem okolí. U každého exponátu uveďte název rostliny, čeleď, popis plodu a způsob jeho rozšiřování.

Použitá literatura a informační zdroje

- Andresová J. (2002): Rozšiřování semen a plodů. <http://www.biologickaolympiada.cz/>
- Lhotská M. a kol. (1984): Kapesní atlas semen, plodů a klíčnicích rostlin. SPN, Praha.
- Opravil E., Drchal K. (1972): Jak rostliny cestují. Albatros, Praha.
- Kubát K. et al. [eds.] (2002): Klíč ke květeně České republiky. Academia, Praha.
- Slavíková Z. (2002): Morfologie rostlin. Univerzita Karlova, Praha.
- Vinter V. (2009): Rostliny pod mikroskopem (Základy anatomie cévnatých rostlin). Univerzita Palackého, Olomouc.

7 Analýza životních forem rostlin v okolí školy

Teoretický úvod

Životní formy rostlin jsou morfologicko-funkční typy rostlin, které se vyvinuly konvergentním vývojem jako adaptace na vnější podmínky prostředí. V oblastech s podobnými ekologickými podmínkami (především klimatickými) se setkáváme se stejnými životními formami. Základní kritéria klasifikace životních forem jsou adaptace rostlin k překonání nepříznivého ročního období (zimy, sucha) s ohledem na umístění a způsob ochrany pupenů (meristémy), z nichž se vyvíjejí nové výhony nebo listy. Cévnaté rostliny vytvářejí následující životní formy:

- **chamaefyty:** drobné keře, polokeře i byliny s obnovovacími pupeny do výšky 30 cm, např. vřes (*Calluna vulgaris*), borůvka (*Vaccinium myrtillus*), jetel plazivý (*Trifolium repens*);
- **fanerofyty:** rostliny s obnovovacími pupeny uloženými alespoň ve výšce 30 cm nad zemí. Pupeny zimu obvykle přečkávají nad sněhovou příkryvkou a jsou chráněny pouze tlustými šupinami či odumřelými částmi rostliny. Podle vzrůstu se fanerofyty rozlišují na **makrofanerofyty** (stromy) a **nanofanerofyty** (keře). Fanerofyty jsou i liány, kaktusy, mohutné byliny, např. největší bylina banánovník (*Musa*) aj.;
- **hemikryptofyty:** dvouleté až vytrvalé rostliny, které mají obnovovací pupeny uloženy těsně při povrchu půdy. Pupeny jsou chráněné šupinami, odumřelými listy apod., přes zimu jsou pupeny ukryté pod sněhem. Typickým hemikryptofytem je např. kaprad' samec (*Dryopteris filix-mas*), pampeliška (*Taraxacum*), violka vonná (*Viola odorata*), lomikámen zrnatý (*Saxifraga granulata*) či zvonek okrouhlolistý (*Campanula rotundifolia*);
- **kryptofyty:**
 - ▷ **geofyty** – vytrvalé rostliny, které mají obnovovací pupeny uloženy pod povrchem půdy. Zimu rostliny přežívají většinou pouze ve formě zásobních orgánů, jako jsou oddenky, cibule nebo hlízy. Většina geofytů vykvétá brzy na jaře, před olistěním stromů (jarní geofyty), např. sněženka podsněžník (*Galanthus nivalis*), křivatec žlutý (*Gagea lutea*), dymnivka dutá (*Corydalis cava*);

- ▷ **helofyty** – bahenní rostliny. Jejich kořeny, popř. oddenky, kotví v bahnitém dně mělkých vod, stonky s listy a květy prorůstají nad hladinu vody, např. šmel (*Butomus*), rákos (*Phragmites*), zblochan (*Glyceria*), karbinec evropský (*Lycopus europaeus*), vachta třílistá (*Menyanthes trifoliata*), ďáblík bahenní (*Calla palustris*);
- ▷ **hydrofyty** – vodní rostliny. Jejich obnovovací pupeny jsou přes zimu ukryty pod vodní hladinou či v bahně na dně, např. stulík žlutý (*Nuphar lutea*), vodní mor kanadský (*Elodea canadensis*);
- **epifyty**: vytrvalé rostliny, rostoucí na tělech jiných rostlin, nejčastěji na fanerofytech, např. orchideje, bromélie. Epifyty na svých hostitelích obvykle neparazitují a používají je jen jako podklad pro růst. Tato růstová forma je v našich zeměpisných šířkách poměrně vzácná. Nejvíce je rozšířena v tropech;
- **terofyty**: jednoleté byliny, které nemají obnovovací pupeny ani žádné jiné přezimovací orgány. Zimu, popř. období sucha, překonávají diaspory v podobě výtrusů, např. sleziník tuhý (*Asplenium onopteris*), anograma jemnolistá (*Anogramma leptophylla*), či semen, např. jednoleté plevy penízek rolní (*Thlaspi arvense*), kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa-pastoris*), jednoleté merlíky (*Chenopodium*), svízel přítula (*Galium aparine*). K terofytům bývají řazeny i ozimy, např. ozimé obilniny, které přezimují v podobě juvenilních fenologických fází (odnožování).

Pomůcky

Určovací klíče a atlasy, poznámkový blok.

Úkoly

1. Vyberte vhodný biotop (lehčí varianta) nebo více biotopů (náročnější varianta) v okolí školy (školní botanická zahrada, hřiště, zanedbané ruderalní stanoviště, břeh potoka či rybníka, fragment lesa, park, louka atd.).
2. Pokuste se o klasifikaci biotopu podle Katalogu biotopů ČR – <http://www.sci.muni.cz/botany/chytry/Katalog.pdf>.
3. Vytvořte seznam rostlin na sledovaném stanovišti (více stanovištích) – výhodou analýzy životních forem je, že taxony nemusí být určeny do druhu, u obtížně určitelných taxonů stačí rod či jenom čeleď.

4. Proveďte klasifikaci životních forem zjištěných taxonů, výsledky upravte do tabulky.
5. Porovnejte zastoupení jednotlivých životních forem na různých staništích, pokuste se vysvětlit zjištěné rozdíly.

Závěr

Připravte krátkou prezentaci na téma „Životní formy rostlin“ a jednotlivé životní formy ilustrujte na příkladech rostlin z vašeho okolí.

Použitá literatura a informační zdroje

Kubát K. et al. [eds.] (2002): Klíč ke květeně České republiky. Academia, Praha.
Slavíková Z. (2002): Morfologie rostlin. Univerzita Karlova, Praha.

8 Chráníme vodní zdroje

Teoretický úvod

Pitná voda se získává úpravou surové vody. Surová voda se získává v Česku z podzemních vod (asi 45–55 %) nebo povrchových vod (asi 45–55 %). Z některých zdrojů – zejména podpovrchových – je možné získat pitnou vodu bez úpravy. K úpravě surové vody na vodu pitnou se používají metody fyzikální (např. filtrace) i chemické. Veškeré chemikálie používané pro úpravu vody musejí splňovat přísné zákonné normy. Posledním krokem výroby pitné vody je její hygienické zabezpečení – dezinfekce, jejímž cílem je zničení případných patogenů a vytvoření dezinfekčního rezidua, které má za úkol bránit sekundárnímu nárůstu mikroorganismů ve vodovodní distribuční síti. Dezinfekce se provádí přidáním oxidačního činidla (prostředky na bázi chlóru, ozón) nebo ozářením vody UV zářením.

Pitná voda musí splňovat kvalitativní parametry stanovené vyhláškou 252/2004 Sb., a to v místě, kde je spotřebovávána. V Česku je kvalita pitné vody dodávané vodárenskými společnostmi na velmi vysoké světové úrovni. Eventuální pachutí, zákal či zabarvení vody je způsobeno reakcí dopravované vody s vnitřním povrchem potrubí (které bývá někdy i přes sto let staré) a v drtivé většině případů se jedná pouze o estetickou, nikoli zdravotní, závadu. Spotřeba vody domácnostmi v Česku postupně klesá, v r. 1990 byla průměrná spotřeba 171 l vody na osobu a den, v současnosti se spotřeba vody pohybuje těsně pod hranicí 100 l vody na osobu a den.

V důsledku lidské činnosti se ve vodě vedle přirozených příměsí mohou vyskytovat i další látky nebo se obsah jinak přirozených látek neúměrně zvyšuje. Nejčastější příčinou znečištění vod jsou průsaky z půdy, vypouštění odpadních vod z průmyslu nebo havárie nádrží s nebezpečnými kapalinami. Velmi vážná znečištění způsobuje ropa unikající při těžbě či při haváriích tankerů.

Znečištěná voda působí nepříznivě na zdraví člověka a také na skladbu a životaschopnost společenstev organismů.

Toxické látky obsažené ve vodě nemusí vždy působit akutní otravy člověka. Mohou se v tělech rostlin a živočichů kumulovat a postupně v potravním řetězci vedoucím k člověku zvyšovat svou koncentraci. Následky se projeví až za delší čas. Vodou se šíří i řada nakažlivých chorob a parazitů.

Některé vody trpí nadměrným přísunem živin, látek potřebných pro růst rostlin. Jde většinou o rozpustné soli – dusičnany a fosforečnany, které vznikají jako produkt rozkladu organických zbytků těl rostlin a živočichů a jsou součástí zemědělských hnojiv. Tyto látky se dostávají do vod v podobě splachů z polí a pastvin. Významným zdrojem látek obsahujících fosfor a dusík jsou i splaškové vody z lidských sídel. Dusičnany mají svůj původ v odpadu ze septiků a hnojišť, významným zdrojem látek obsahujících fosfor jsou mycí a prací prostředky. Proces, při němž se obohacuje voda o nadměrné množství živin, se označuje jako eutrofizace. Ve vodách s nadměrným obsahem živin postupně narůstá spotřeba kyslíku potřebného jak k dýchání organismů, tak i k bakteriálnímu rozkladu odumírajících těl těchto organismů. V takto znečištěných vodách dochází ke vzniku anaerobních (= bezkyslíkatých) podmínek a k omezení života ve vodě. Přebytkem množství jinak potřebných živin tak může přivodit vlivem nedostatku kyslíku i zhroucení původních ekosystémů.

V poslední době byl prokázán negativní vliv zbytků antikoncepčních přípravků (být ve velmi nepatrných dávkách) na reprodukční schopnosti vodních živočichů.

V obecné rovině shrnuje význam vody a nutnost její ochrany Evropská vodní charta vyhlášená **6. května 1968 ve Štrasburku**:

- I. Bez vody není života. Voda je drahocenná a pro člověka ničím nenahraditelná surovina.
- II. Zásoby sladké vody nejsou nevyčerpatelné. Je proto nezbytné tyto udržovat, chránit a podle možnosti rozhojňovat.
- III. Znečišťování vody způsobuje škody člověku a ostatním živým organismům, závislým na vodě.
- IV. Jakost vody musí odpovídat požadavkům pro různé způsoby jejího využití, zejména musí odpovídat normám lidského zdraví.
- V. Po vrácení použité vody do zdroje nesmí tato zabránit dalšímu jeho použití pro veřejné i soukromé účely.
- VI. Pro zachování vodních zdrojů má zásadní význam rostlinstvo, především les.
- VII. Vodní zdroje musí být zachovány.
- VIII. Příslušné orgány musí plánovat účelné hospodaření s vodními zdroji.
- IX. Ochrana vody vyžaduje zintenzivnění vědeckého výzkumu, výchovu odborníků a informování veřejnosti.

- X. Voda je společným majetkem, jehož hodnota musí být všemi uznávána. Povinností každého je užívat vodu účelně a ekonomicky.
- XI. Hospodaření s vodními zdroji by se mělo provádět v rámci přírodních povodí a ne v rámci politických a správních hranic.
- XII. Voda nezná hranic, jako společný zdroj vyžaduje mezinárodní spolupráci.

Úkoly

Prostudujte Evropskou vodní chartu, seznamte se s místními vodními zdroji a způsobem čištění odpadních vod:

1. Zjistěte zdroj vody pro vaši domácnost.
2. Změřte měsíční spotřebu vody vaší domácnosti.
3. Vypočítejte průměrnou spotřebu vody na jednoho člena domácnosti, porovnejte s celostátním průměrem (98 litrů na osobu a den).
4. Vystopujte, kam kanalizací odtéká odpadní voda z vaší domácnosti.
5. Popište, jak je ve vaší obci zabezpečeno čištění odpadních vod.
6. Navrhněte opatření, která by podle vašeho názoru zabránila znečišťování vod přímo v místě svého bydliště.

Závěr

Výsledky průzkumu a návrhy na opatření sestavte do přehledné prezentace (tabulky, grafy, fotodokumentace). Porovnejte své výsledky a návrhy s ostatními skupinami. Pokuste se některé návrhy na zlepšení stavu znečištění vod (ve spolupráci s příslušnými organizacemi a úřady) realizovat v praxi.

Použitá literatura a informační zdroje

Dančák M. (2008): Rozmanitost přírody – pracovní sešit pro 4. a 5. ročník ZŠ. Prodos, Olomouc.

<http://encyklopedie.seznam.cz/?q=spot%C5%99eba+pitn%C3%A9+vody>.

http://www.enviwiki.cz/wiki/Zne%C4%8Di%C5%A1t%C4%9Bn%C3%AD_vody.

9 Pozorujeme sinice a řasy

Teoretický úvod

V praktické výuce sinic a řas na základních a středních školách je možné zařadit pozorování přírodních vzorků zástupců jednotlivých probíraných skupin. Mnohé řasy a sinice lze v přírodě snadno nalézt a po určitou dobu udržovat ve škole jako demonstrační materiál. Tyto semikultury je však nutné mikroskopicky kontrolovat, protože při delší kultivaci za umělých podmínek dochází ke zjevným degenerativním změnám na struktuře buňky a takový materiál již není vhodný k demonstraci. Obvykle lze řasy uchovávat po dobu několika dnů až týdnů. Všechny přírodní vzorky udržujeme na okenním parapetu na severní straně budovy, kde řasy nejsou stresovány extrémním slunečním zářením a vysokou teplotou za oknem. Správným uchováním našich kultur výrazně zpomalíme proces degenerativních změn v buňkách, který je nápadný degradací chloroplastu ve formě drobných zelenavých vakuol. Z některých typů lze vytvořit trvalé preparáty, nicméně ani ty nemohou nahradit čerstvé přírodní vzorky.

Mnohé vzorky sinic a řas můžeme nalézt v těsném okolí školy. Pro většinu vyučovaných položek není obvykle nutné cestovat do velkých vzdáleností.

V kalužinách se nachází bohatě rozvinutá společenstva rozsivek a sinic. Tyto můžeme sbírat pipetou ze dna kalužiny ve formě sedimentu do skleněných Petriho misek a uchovávat po dobu několika týdnů. Rozsivky jsou citlivější na umělé podmínky. Velmi často se zde vyskytují člunovky (*Navicula*). Vzorek je po delší době obvykle přerůstán sinicemi, zejména vláknitými typy ze skupiny drkalek (*Oscillatoria* a *Phormidium*).

Další a druhově bohatší sedimenty nacházíme na dně rybníků. Tyto vzorky získáme plastovou trubicí. Kapilárním efektem nasáváme vzorky bahna do sběrné nádoby. V učebně bahno přelijeme do plastové nádoby a necháme přes noc usadit. Ráno odsajeme vodu a na sediment položíme propustnou membránu. Osvědčila se dětská separační plena, kterou koupíme v lékárně (cena 30–50 Kč za 100 ks). Na separační plenu položíme krycí sklíčka a lehce našikmenou nádobu položíme na okno. Necháme zde asi 24 h. Za tuto dobu řasy migrují aktivním pohybem za světlem a zachytávají se na krycím skle. Získáme tak čisté vzorky bez bahna přímo k pozorování.

Na skle je velké množství rozsivek, sinic, krásnooček a zelených řas. Pozor, druhové složení závisí na typu rybníka. Takový materiál jsme schopni udržet po dobu asi 3 dnů. Poté obvykle dochází k značnému rozvoji bakterií a degradaci vzorku.

U školy na kůře stromů nacházíme bohaté populace řasy zrněnky (*Apatococcus*). Jedná se o souvislé zelené pásy. Sbíráme je i s kusem kůry, kterou asi 24 h před pozorováním dobře navlhčíme destilovanou vodou. Tyto řasy můžeme sbírat i v zimním období. Zde doporučuji delší dobu aklimatizace vzorku na pokojovou teplotu a vlhkost. Jiné vzdušné řasy sbíráme ze skal. Vhodné jsou zejména stinné partie vápencových masivů. Nožem odebereme části zelených povlaků, které v učebně rozvlhčíme dešťovou vodou v Petriho misce. Obvykle zde nalézáme kokální zelené řasy a sinice s výraznými slizovými obaly. V rybnících sbíráme **planktonní vzorky** pomocí planktonní sítky. Jedná se nálevkovitou sítku, na horním konci s kovovým kruhem, na dolním konci s kovovým vypouštěcím ventilem. Materiál sítky je z mlynářského hedvábí (uhelonu) o průměru ok 20–40 mm. Sítka zajistí dostatečné přefiltrování vody a zahuštění vzorku pro pozorování. Planktonní vzorky uchováváme v řádu několika dnů. Mají bohatou druhovou rozmanitost a nalezneme v nich řadu zástupců vhodných pro výuku. Kolem rybníků sbíráme nárostová společenstva sinic a řas.

Z ponořených rostlin odebereme části epidermis a v učebně je umístíme do kultivačních nádobek spolu s chomáčkem vaty. Epifytické řasy začnou porůstat nabídnutý substrát. Kousky vaty se pak snadno pozorují v mikroskopu.

Pevné substráty, jako jsou kameny, kousky dřeva apod., sbíráme také a kultivujeme na nich přítomné populace. V jarním období (duben až květen) se kolem břehů rybníků vyskytují v hojných masách řasy šroubatky (*Spirogyra*). Vidíme je jako světle zelené chomáčovité shluky. Na omak jsou slizovité. Jedná se o výborné objekty pro pozorování. Můžeme v nich vidět i buněčná jádra. Populace šroubatek za vhodných podmínek můžeme udržovat po dobu několika týdnů. Na kamenech v tekoucích vodách sbíráme zelené závojovité kolonie žabího vlasu (*Cladophora*). Typickým znakem je typ větvení. Postranní větvička vzniká vždy u příčné přehrádky. Žabí vlas je poměrně nenáročná řasa. Můžeme ji udržet delší dobu.

Ve výuce můžeme pozorovat symbiotické sinice a řasy v lišejnících. Vzorky lišejníků se snadno uchovávají. Stačí občasné navlhčení destilovanou nebo dešťovou vodou. Připravíme roztlačkové preparáty. Lišejníky jsou snadno dostupné, nalezneme je i v zimním období.

Všechny vzorky sinic a řas můžeme podrobit různým typům vitálního barvení pro zlepšení viditelnosti v mikroskopu. Tuší zvýrazníme rozsah slizových obalů. Methylenovou modří dobře probarvíme strukturu slizu a zvýrazníme buněčné organely. Podobně pracujeme např. s genciánovou violetí.

Pomůcky

Základní vybavení pro mikroskopii (školní světelný mikroskop, mikroskopická sklíčka, kádinky, pipety).

Úkoly

1. Proveďte vyhodnocení výskytu vodních květů sinic v okolí školy nebo vašeho města.
2. Vysvětlete podstatu pojmu eutrofizace vod.
3. Vytvořte nástěnku na téma řasy ve výživě člověka.
4. Vytvořte nástěnku na téma vodní květy sinic, jejich vznik a negativní dopady v ekosystému.
5. Za pomoci kompaktního digitálního fotoaparátu vyfotografuje (přes okulár) řasy, které se vyskytují v okolí vaší školy (např. sběry z kalužin, povrchu stromů atd.).

Závěr

Z vašich zjištění vytvořte PowerPointovou prezentaci, kde zdůrazníte význam sinic a řas v přírodě a představíte ukázky diverzity sinic a řas ve vašem okolí. Uspořádejte přednášku na toto téma.

Použitá literatura a informační zdroje

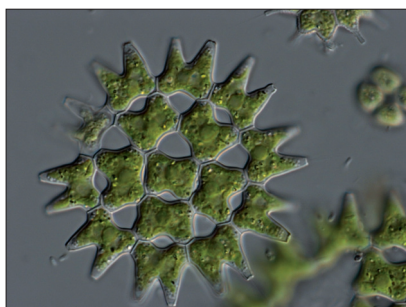
- Jurčák J., Pouličková A. (2001): Malý obrazový atlas našich sinic a řas. VUP Olomouc, 81 pp.
- Kalina T., Váňa J. (2005): Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii. Praha, Karolinum, 608 pp.



Planktonní sinice – růžencovka
(*Anabaena*)



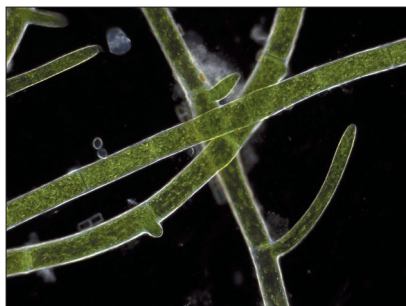
Kokální sinice
(*Chroococcus*)



Planktonní řasa
(*Pediastrum*)



Zelená spájkivá řasa šroubatka
(*Spirogyra*)



Žabí vlas
(*Cladophora*)



Zelená řasa
(*Chlorokybus*)

PRACUJEME S MIKROSKOPEM

Vladimír Vinter

Pracujeme s mikroskopem

Složení mikroskopu (pro světelnou mikroskopii):

- mechanická část – stativ, tubus, binokulární hlavice, pracovní stolek;
- optická část – objektiv, okulár;
- osvětlovací část – světelný zdroj s clonou, kondenzor (soustava čoček soustřeďující světlo na pozorovaný objekt), irisová clona.

Zobrazení mikroskopem: objektiv tvoří skutečný (reálný), zvětšený a převrácený obraz objektu v přední ohniskové rovině okuláru. Tento obraz pozorujeme okulárem jako lupou (okulár tedy již pouze zvětšuje obraz vytvořený objektivem). **Výsledný obraz** pozorovaný okulárem je **neskutečný (virtuální), převrácený a ještě více zvětšený**.

Důležitá data mikroskopu:

- **zvětšení mikroskopu (M)** vypočítáme jako **součin zvětšení použitého objektivu** (údaj uveden na objektivu) $\times$ **zvětšení okuláru** (údaj uveden na okuláru) $\times$ případné zvětšení binokulární hlavice (pokud se podílí na zvětšení, je tento údaj na hlavici uveden). V případě, že provádíme fotodokumentaci, je vhodné vyfotografovat při stejném zvětšení mikrometrické měřítko a přiložit je do pravého dolního rohu k mikrofotografii. Moderní mikroskopy pracující s digitálním obrazem zobrazují měřítko automaticky;
- **rozlišovací schopnost mikroskopu (d)** je dána vzdáleností dvou blízko sebe ležících bodů, které lze ještě rozlišit jako dva body. Závisí na numerických aperturách objektivu (A_{obj}) a kondenzoru (A_{kon}), (jsou uvedeny na mikroskopu – vyjadřují rozlišovací schopnost objektivu), a vlnové délce použitého světla (λ) – vlnová délka bílého světla je 0,55 μm . Modré světlo poskytuje objektivu lepší rozlišovací schopnost než světlo bílé (má kratší vlnovou délku):

$$d = \frac{\lambda}{A_{\text{obj}} + A_{\text{kon}}}$$

Objektiv rozlišuje nejlépe, má-li s kondenzorem stejnou hodnotu aper-
tury – aperturu kondenzoru je nutné přizpůsobovat apertuře objektivu.
Hranicí rozlišovací schopnosti světelného mikroskopu je $0,2 \mu\text{m}$ ($1 \mu\text{m} =$
 $0,001 \text{ mm} = 1000 \text{ nm}$).

Z praktického hlediska je vhodné vědět, jaké minimální rozměry musí
mít předmět, abychom jej při určitém celkovém zvětšení v mikroskopu
spolehlivě rozlišili svými očima (minimální rozlišivost – $d_{\min}$):

$$d_{\min} = \frac{327}{M} [\mu\text{m}]$$

M celkové zvětšení mikroskopu
 $327 \mu\text{m}$ (= $0,327 \text{ mm}$) vzdálenost dvou bodů, které je průměrně unavené
lidské oko schopno rozlišit jako dva body ze vzdá-
lenosti 250 mm ;

- **hranice užitečného (prospěšného) zvětšení** je 500–1000 násobek A_{obj} .
Pokud je celkové zvětšení menší než $500 A_{\text{obj}}$, nevyužíváme plně rozlišo-
vací schopnosti objektivu, pokud je větší než $1000 A_{\text{obj}}$, jedná se o zvět-
šení prázdné, které nepřináší další informace o pozorovaném objektu.
V případě většího rozdílu mezi celkovým a užitečným zvětšením může
dojít ke ztrátě obrysové ostroty pozorovaných struktur. Uvedené nedo-
statky korigujeme vhodnou volbou okuláru;
- **hloubku ostroty** měníme kondenzorem a popř. i cloněním.

Příklad: pozorujeme preparát objektivem zvětšujícím $40\times$ ($A_{\text{obj}} = 0,65$), oku-
larem zvětšujícím $10\times$. Vypočítejte celkové zvětšení (M), rozlišovací schop-
nost (d), minimální rozlišivost ($d_{\min}$) a stanovte hranice užitečného zvětšení.

$$M = 10 \times 40 = 400\times$$

$d = 0,55/0,65 + 0,65 = 0,43 \mu\text{m}$
(při daném nastavení rozlišíme body vzdálené $0,43 \mu\text{m}$)

$d_{\min} = 327/400 = 0,82 \mu\text{m}$
(při daném nastavení rozlišíme objekty velké $0,82 \mu\text{m}$)
hranice užitečného zvětšení = $500 \times 0,65$ až $1000 \times 0,65 =$ zvětšení $325\times$
až $650\times$.

Pomůcky pro mikroskopování:

- krabička na mikroskopickou soupravu;
- podložní a krycí sklíčka;
- preparační jehla, pinzeta, jemný štěteček na přenášení pozorovaných objektů (např. tenkých řezů), skalpel a nůžky k hrubší přípravě rostlinného materiálu, žiletky ke zhotovení jemných tenkých řezů, válečky bezové duše (získáme z odumřelých větví bezu černého);
- hodinová sklíčka k barvení preparátů, Petriho misky na vodu, popř. glycerol, skleněná tyčinka, kapátko, pipetka;
- sepraný plátěný hadřík, filtrační papír;
- bezbarvý lak na nehty ke zhotovení otiskových preparátů, izolepa;
- nelinkované papíry formátu A4, středně tvrdé tužky, guma, propisky, nesmazatelné fixy k popisu podložních sklíček aj.

Preparáty

Preparáty, tj. vhodně upravené části rostlin k mikroskopickému pozorování, mohou být **dočasné (přechodné)** nebo **trvalé**. Přechodné preparáty obsahující živý, nefixovaný objekt, se označují jako **nativní**. Trvalé preparáty bývají většinou kvalitnější (zalití objektu do parafinu či jiného média umožňuje zhotovení tenkých řezů speciálními přístroji, tzv. mikrotomy), výhodou je také jejich trvanlivost (kvalitní preparát vydrží desítky let). Příprava trvalých preparátů je však časově náročná a vyžaduje speciální přístrojové vybavení.

Postup při zhotovení jednoduchého dočasného preparátu

Odběr materiálu → (fixace a konzervace materiálu) → příprava objektu k mikroskopování – např. zhotovení řezů → (barvení) → uzavření objektu mezi podložní a krycí sklíčko ve vodě nebo glycerolu.

Odběr materiálu: malé kousky pletiv přeneseme do skleněných nebo polyetylenových lahviček s fixáží nebo přímo připravíme k mikroskopování. Pečlivě popíšeme.

Fixace (šetrné usmrcení buněk) a konzervace materiálu: k fixaci použijeme 70% roztok ethanolu, k následné konzervaci glycerol-ethanol (3 díly 70% ethanolu : 1 díl glycerolu). Toto konzervační médium změkčuje materiál (výhodné při řezání tvrdších objektů, např. dřeva nebo sklerenchymatických pletiv) a nemusí se vypírat. Fixaci je třeba provést rychle a minimalizovat tak vznik artefaktů.

Způsoby přípravy objektů k mikroskopování:

- objekt neupravujeme a pozorujeme **in toto** (lístek mechu, pylové zrno aj.);
- **výřez pletiva** (např. pozorování buněk suknice cibule);
- **vytlačení**, popř. **roztlačení** pletiva (dužnatá pletiva, chromozomy);
- zhotovení tenkých **řezů** v ruce pomocí bezové duše (Obr. 1) – malý kousek pletiva upevníme do podélně rozkrojené bezové duše, provedeme první srovnávací řez a potom několik co nejtenčích řezů (řežeme jedním tahem zešikma), řezy přeneseme štětečkem do kapky vody, popř. glycerolu, na podložní sklíčko nebo na hodinové sklíčko k barvení. Zhotovení tenkých řezů vyžaduje určitou zručnost, je tedy nutný trénink a praxe. Řezy objekty mohou být **příčné (transverzální)** nebo **podélné (longitudinální)**. Longitudinální řezy mohou být **radiální** (vedené přibližně středovou osou orgánu) nebo **tangenciální** (vedené mimo středovou osu orgánu);
- zhotovení **otiskových preparátů** pomocí laku na nehty (mikroreliefová metoda) – metoda vhodná k pozorování buněk epidermis a stomat listů. Na plochu listové čepele (přibližně $1 \times 1,5$ cm) nanese tenkou vrstvu bezbarvého laku na nehty, necháme zaschnout, stáhneme pomocí bezbarvé izolepy a přilepíme na podložní sklíčko. Pozorujeme při silnějším zaclonění. Příprava otiskových preparátů je rychlá a jednoduchá, preparáty bývají přehledné, především u listů s tenkou kutikulou na povrchu epidermis. Otiskové preparáty však neumožňují, na rozdíl od nativních preparátů zhotovených stažením malého kousku epidermis, pozorovat vnitřní struktury buněk, např. jádro, cytoplazmu, chloroplasty.

Barvení: slouží ke zvýraznění pozorovaných struktur. Pozorovaný objekt (např. řez) barvíme na hodinovém sklíčku, popř. přímo na podložním sklíčku. Pro základní biologické praktikum jsou vhodná následující jednoduchá barvení:

- **barvení Lugolovým roztokem** (jodjodkalium – roztok 1g jodidu draselného KI + 0,2 g jódu v 50 ml destilované vody) – cytoplazmu barví hnědě, škrob tmavě fialově;
- **barvení floroglucinolem** (roztok 1 g floroglucinu v 70% etanolu) – barví intenzivně červeně lignifikované buněčné stěny, výborné činidlo k barvení dřeva. Barevná reakce je urychlena v kyselém prostředí – k barvenému objektu přikápneme kapku 10–20% kyseliny chlorovodíkové HCl;

- **barvení safraninem** (růžový roztok safraninu na hodinovém sklíčku) – barví červeně sklerifikované a lignifikované buněčné stěny, při vyšší koncentraci i celulózní buněčné stěny a buněčné organely;
- **barvení chlórzinkjódem** (roztok 20 g chloridu zinečnatého ZnCl_2 + 7 g jodidu draselného KI + 1,5 g jódu v 10 ml destilované vody) – barví celulózu a škrob fialově, zdřevnatělé buněčné stěny žlutohnědě.

Uzavření objektu mezi podložní a krycí sklíčko ve vodě nebo glycerolu: krycí sklíčko položíme na hranu a zvolna sklápíme – omezíme tak přítomnost nežádoucích bublin. Voda nebo glycerin se nesmí dostat na svrchní plochu krycího sklíčka. Glycerinové preparáty vydrží i několik měsíců až let. Vodní preparáty pouze několik minut.



Obr. 1 Zhotovení řezů pomocí bezové duše

Hlavní zásady při mikroskopování, postup při mikroskopování:

- při mikroskopování dbáme na čistotu podložních a krycích sklíček (čistíme ethanolem nebo saponátem) a čistotu mikroskopu (čelní čočky objektivu lze čistit benzinem, nikdy ethanolem), mikroskop chráníme před prachem;
- zvolíme vhodný okulár a nastavíme nejméně zvětšující objektiv;
- pomocí kondenzoru a clony nastavíme vhodné osvětlení;
- preparát upevníme do svorek křížového vodiče a pozorovaný objekt umístíme nad střed horní kondenzorové čočky;
- makrometrickým šroubem přiblížíme čelní čočku objektivu na minimální vzdálenost k preparátu (sledujeme ze strany), upravíme aperturu kondenzoru tak, aby souhlasila s aperturou objektivu, makrometrickým

šroubem nahrubo zaostříme, doostříme mikrometrem a popř. upravíme clonou osvětlení. Meandrovitým posouváním preparátu vybereme vhodné místo k pozorování a umístíme je do středu zorného pole;

- nastavíme rozestup okulárů, pootočením zaostřovacího kroužku okuláru vyrovnáme případnou oční vadu, takže pozorovaný objekt vidíme oběma očima stejně;
- nastavíme silněji zvětšující objektiv, upravíme aperturu kondenzoru, doostříme a popř. upravíme osvětlení;
- potřebujeme-li největší zvětšení a nejlepší rozlišení, používáme imerzní objektiv – na krycí sklíčko kápneme imerzní olej a v něm ponoříme čelní čočku imerzního objektivu. Imerzní olej má stejný index lomu jako sklo – do imerzního objektivu tak vstupuje větší část světelného kužele;
- o pozorování vedeme pracovní protokol, pozorované struktury dokumentujeme kresbou, popř. mikrofotografií.

Pracovní protokoly pořizujeme na nelinkovaný papír formátu A4 a zakládáme do složky. Protokol obsahuje záhlaví (jméno studenta, ročník, studijní obor, datum, číslo a téma cvičení), číslované úkoly (číslo a název úkolu, rostlinný materiál, potřeby, postup, pozorování včetně nákresu, vyhodnocení, závěr).

Zhotovení grafické dokumentace kresbou vyžaduje cvik. Kreslíme tužkou, pokud možno jedním tahem bez stínování, šrafování omezuje na nejnutnější případy, vybíráme pouze podstatné struktury, dbáme na proporcionality a názornost, obrázky zhotovujeme přiměřeně velké. Popisujeme popiskou nebo tenkou fixou;

- po ukončení mikroskopování nastavíme nejméně zvětšující objektiv;
- všechny činnosti související s mikroskopováním vyžadují praxi a cvik!

Měření délky stomat

K zajištění výměny plynů mezi ovzduším a mezofylem listů slouží **stomata (průduchy)**. Umožňují **příjem oxidu uhličitého** potřebného k fotosyntéze a **příjem kyslíku** potřebného k respiraci. Průduchovými štěrbinami stomat také difunduje vodní pára z listu do ovzduší – **stomatární transpirace**. Stomatární transpirace uvádí do pohybu transpirační proud a ochlazuje listy. **Anatomicky tvoří stoma dvě svěrací buňky (cellulae claudentes)** uzavírající **průduchovou štěrbinu (porus stomatalis)**. Průduchové štěrbinu vytvářejí v epidermis multiperforátní septum, jehož plocha tvoří jen asi 1 % povrchu listové čepele.

Základní kvantitativní znaky stomat jsou **délka stomat** (nejčastěji 10–60 μm) a **hustota stomat** (nejčastěji 50–300 stomat/ mm^2). Tyto znaky jsou ovlivněny ekologickými podmínkami prostředí. U zastíněných listů (sciofilní listy) jsou stomata delší a méně četná než u slunných listů (heliofilní listy). Délka stomat je často v pozitivní korelaci se stupněm ploidie.

K měření délky stomat použijeme okulárový mikrometr – skleněná kruhovitá destička s měřítkem, která se vkládá do okuláru (měřítkem dolů). Měřením okulárovým mikrometrem dostáváme velikost objektu v dílcích okulárového měřítka – při různých zvětšeních, tj. při použití různých objektivů, naměříme různou velikost objektu (různý počet dílků). Ke zjištění skutečné velikosti objektu (délky stomat) musíme vypočítat mikrometrický koeficient, který udává, kolika mikrometrům odpovídá jeden dílek okulárového měřítka při daném zvětšení. Použijeme objektivový mikrometr – podložní sklíčko s měřítkem 1 mm rozděleným na 100 dílků (1 dílek = 0,01 mm = 10 μm). Měřítka okulárového mikroskopu umístíme tak, aby bylo rovnoběžné s měřítkem objektivového mikrometru (Obr. 2). Vyhledáme překrývající se rysy v levé a pravé části zorného pole. V tomto úseku spočítáme dílky okulárového a objektivového měřítka a vypočteme mikrometrický koeficient (k):

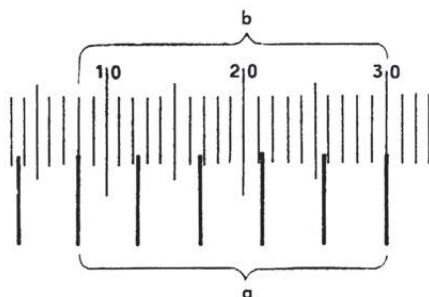
$$k = \frac{\text{počet dílků objektivového mikrometru} \cdot 10}{\text{počet dílků okulárového mikrometru}}$$

Skutečnou velikost měřeného objektu (délku stomat) při daném zvětšení vypočteme tak, že naměřený počet dílků okulárovým mikrometrem vynásobíme mikrometrickým koeficientem.

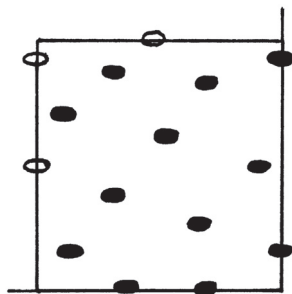
Podobným způsobem měříme další délkové rozměry, např. průměr cév, velikost pylových zrn aj.

Měření hustoty stomat (počet stomat/ mm^2)

K měření hustoty stomat využijeme preparáty připravené pro měření délky stomat. Do okuláru vložíme kruhovou destičku s vyrytým čtvercem (měřítka, Obr. 3). Tento čtverec překryje náhodně část preparátu. Ve čtverci spočítáme stomata, stomata na obvodu zasahující mimo čtverec počítáme pouze na dvou stranách. Objektivovým mikrometrem změříme stranu čtverce, vypočítáme plochu (μm^2) a trojčlenkou přepočteme počet stomat na 1 mm^2 .



Obr. 2 Stanovení mikrometrického koeficientu. V tomto případě 5 (počet dílků objektivového mikrometru) $\times$ 10/22 (počet dílků okulárového mikrometru) = 2,46. Skutečnou délku objektu získáme tak, že naměřený počet dílků okulárovým mikrometrem vynásobíme 2,46.



Obr. 3 Rastr k počítání struktur.

Hraniční zásahy počítáme pouze na dvou stranách (v tomto případě 12 zásahů).

PaedDr. Ing. Vladimír Vinter, Dr., a kol.

Experimenty pro přírodovědné kroužky na téma: Životní prostředí

Výkonný redaktor prof. RNDr. Tomáš Opatrný, Dr.
Odpovědná redaktorka Mgr. Hana Pochmanová
Technická redakce VUP
Návrh a grafické zpracování obálky Jiří Jurečka

Vydala a vytiskla Univerzita Palackého v Olomouci
Křížkovského 8, 771 47 Olomouc
www.vydavatelstvi.upol.cz
www.e-shop.upol.cz
vup@upol.cz

1. vydání

Olomouc 2013

ISBN 978-80-244-3624-1

Neprodejná publikace

VUP 2013/450