

Datum ..... Jméno ..... Kroužek.....

## Protokol z praktického cvičení z biochemie

### Téma: Separační techniky

---

## Úloha 1: Dělení směsi hemoglobinu a ferrikyanidu gelovou filtrací.

### Úkoly:

- Z absorpčního spektra ferrikyanidu určete vlnovou délku vhodnou k jeho spektrofotometrickému stanovení.
- Sestrojte kalibrační přímkou pro ferrikyanid.
- Vysvětlíte, proč nelze změřit koncentraci obou analytů jednoduše spektrofotometricky? (*Podívejte se na absorpční spektrum obou látek.*)
- Separujte obě látky gelovou filtrací a určete jejich koncentraci.
- Určete eluční objem obou látek.

### Princip:

### Pozorování/Výsledky:

Kalibrace:

Ferrikyanid,  $\lambda =$

$c_1 =$                        $A =$

$c_2 =$                        $A =$

$c_3 =$                        $A =$

$c_4 =$                        $A =$

$c_5 =$                        $A =$

$c_6 =$                        $A =$

### Závěr:

## Úloha 2: Tenkovrstevná chromatografie rostlinných barviv

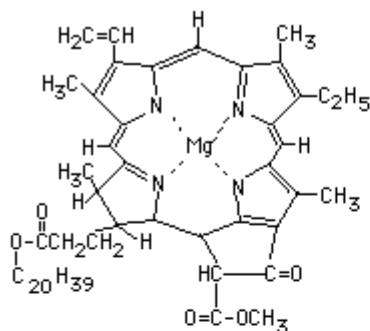
### Úkoly:

- Pomocí tenkovrstevné chromatografie rozdělte směs rostlinných barviv. Použijte dva různé systémy mobilních fází (vysoce nepolární hexan a částečně polární směs hexanu s acetonem).
- S pomocí kroužkového asistenta identifikujte jednotlivé pigmenty na chromatogramu, který jste vyvíjeli v částečně polární mobilní fázi. Spočítejte  $R_f$  pro všechny pigmenty.
- Identifikujte jednotlivé pigmenty na chromatogramu vyvíjeném v hexanu (to udělejte bez pomoci asistenta).
- Rozhodněte, která ze zelených skvrn patří chlorofylu a a která představuje chlorofyl b. Svůj závěr zdůvodněte. Potřebné vzorce obou chlorofylů najdete níže.
- Zvýrazněte rozdíl(y) mezi luteinem a  $\beta$ -karotenem (využijte vzorců níže) a rozhodněte, který z nich je polárnější. Je tento rozdíl v souladu s odlišnou pohyblivostí těchto pigmentů v částečně polární mobilní fázi?
- Vysvětlete, proč nedošlo k separaci většiny pigmentů v hexanu.

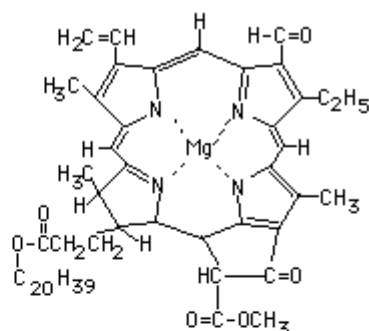
### Princip:

### Pozorování:

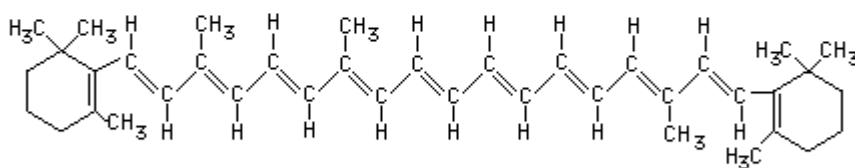
### Závěr:



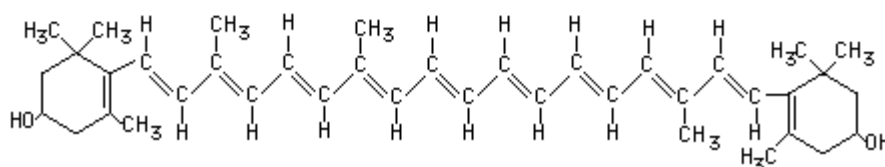
**Chlorophyll a**



**Chlorophyll b**



**$\beta$ -Carotene**



**Lutein**

## Úloha 3: Dialýza

**Úkol:** Ověřte polopropustnost dialyzační membrány.

**Princip:**

**Pozorování:**

**Závěr:**