

Datum Jméno Kroužek.....

Protokol z praktického cvičení z biochemie

Téma: Separační techniky

Úloha 1: Dělení směsi Blue dextranu a ferrikyanidu gelovou filtrací.

Úkoly:

- Separujte obě látky gelovou filtrací a určete jejich koncentraci v původním vzorku.
- Sestrojte eluční křivku a určete eluční objem obou látek.
(K protokolu přiložte graf s kalibrační přímkou a eluční křivku.)

Princip:

Pozorování/Výsledky:

Zvolené vlnové délky:

Blue dextran , λ =

Ferrikyanid, λ =

Kalibrace:

c_1 = A =

c_1 = A =

c_2 = A =

c_2 = A =

c_3 = A =

c_3 = A =

c_4 = A =

c_4 = A =

c_5 = A =

c_5 = A =

c_6 = A =

c_6 = A =

Výpočty:

Závěr: Vysvětlete, proč v tomto případě nestačilo použít pouze spektrofotometrii a museli jste ji zkombinovat s gelovou filtrací? (*Podívejte se na absorpční spektra obou látek*).

Úloha 2: Tenkovrstevná chromatografie rostlinných barviv

Úkol:

Pomocí tenkovrstevné chromatografie rozdělte směs rostlinných barviv. Použijte dva různé systémy mobilních fází (vysoce nepolární hexan a částečně polární směs hexanu s acetonem). Popište a vysvětlete rozdíly v pohyblivosti jednotlivých pigmentů v obou systémech.

Princip:

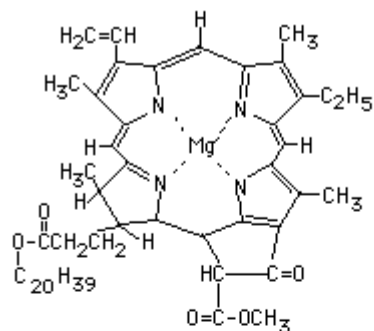
Pozorování+závěr:

Zakreslete polohu všech pozorovaných pigmentů na obou deskách, pojmenujte je (s identifikací pigmentů na destičce vyvíjené v hexan:acetonu vám pomůže asistent) a spočítejte u nich R_f.

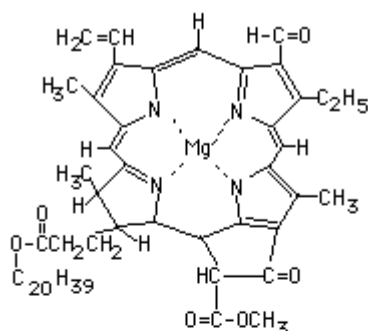
Rozhodněte, která ze zelených skvrn patří chlorofylu a a která představuje chlorofyl b. Svůj závěr zdůvodněte. Potřebné vzorce obou chlorofylů najdete níže.

Zvýrazněte rozdíl(y) mezi luteinem a β -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?

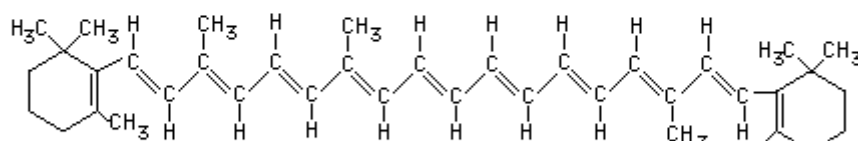
Vysvětlete, proč nedošlo k separaci většiny pigmentů v hexanu.



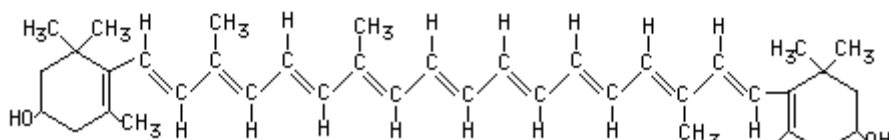
Chlorofyl a



Chlorofyl b



β-karoten



Lutein

Úloha 3: Dialýza

Úkol: Ověřte polopropustnost dialyzační membrány.

Princip:

Pozorování:

Závěr: