

Datum Jméno Kroužek

Protokol z praktického cvičení z biochemie

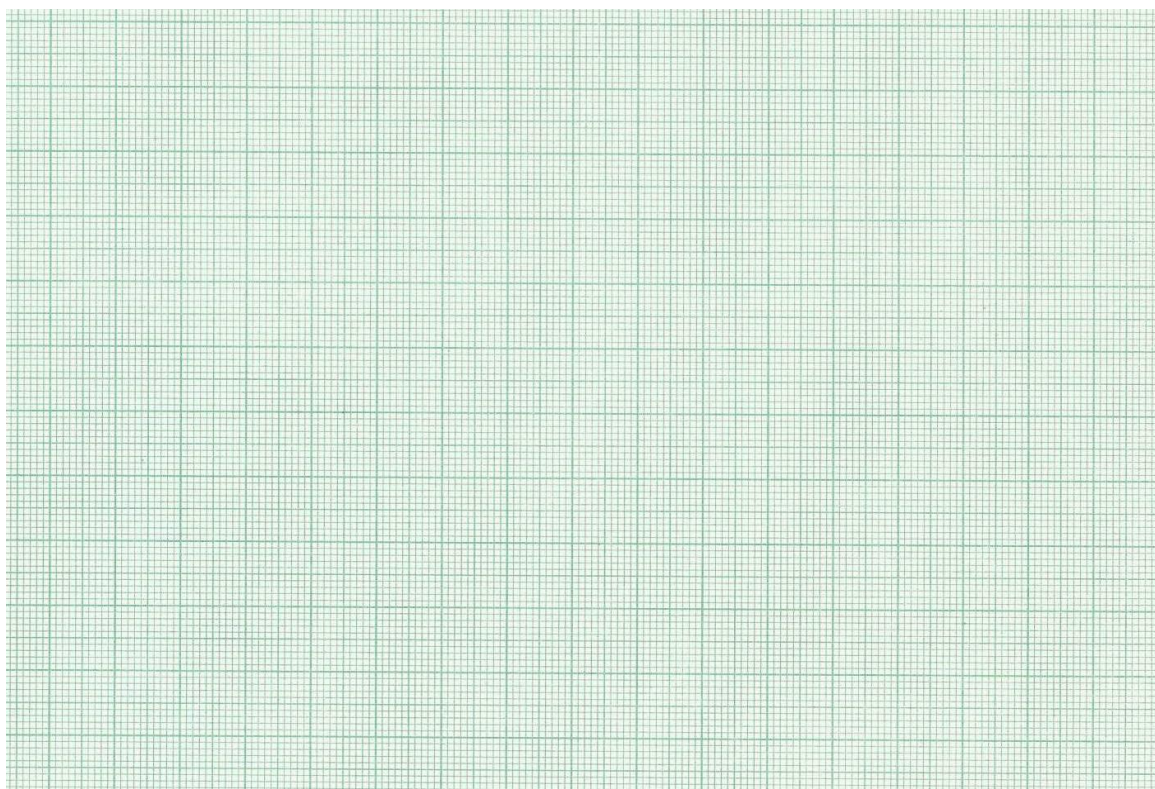
Téma: **Spektrofotometrie**

Úloha 1 – Stanovení celkové bílkoviny v séru biuretovou reakcí

Princip:

Výsledky:

Absorpční spektrum barevné komplexní sloučeniny Cu^{2+} s bílkovinou



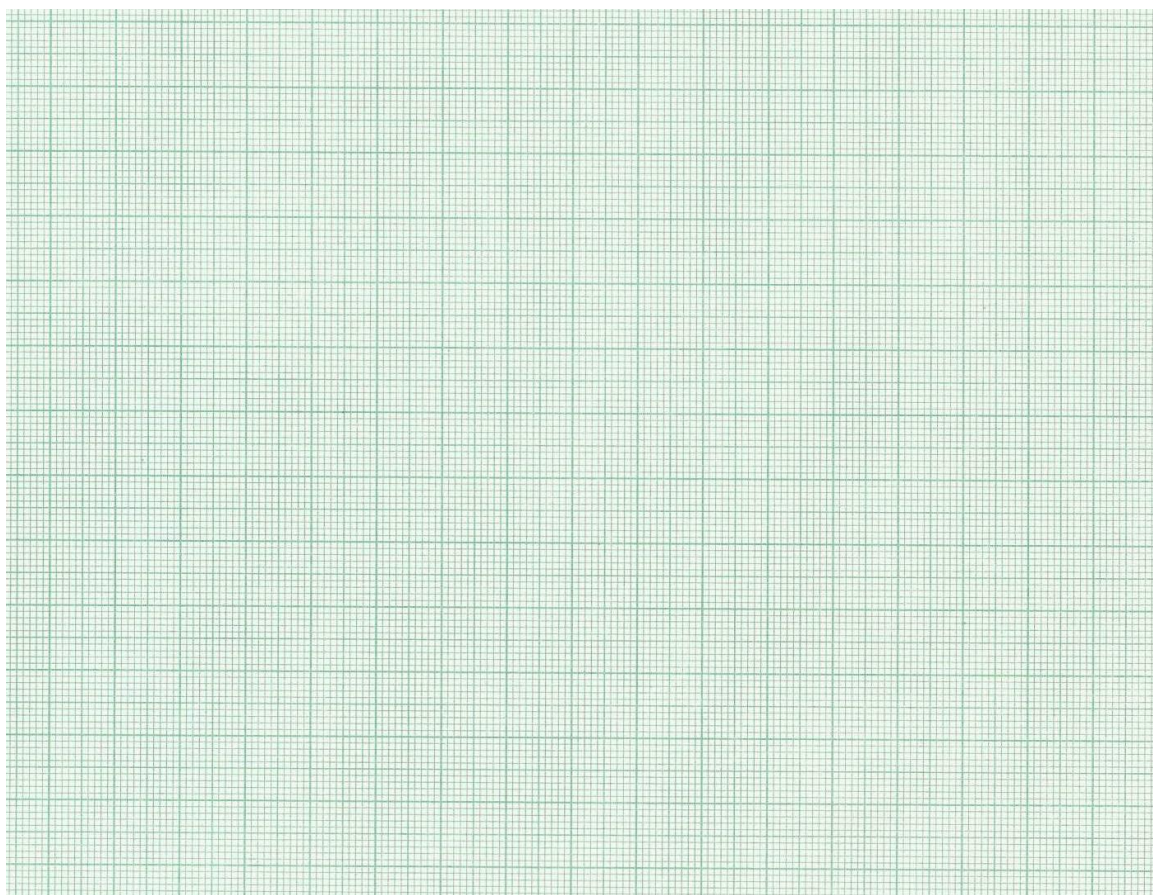
Absorpční maximumnm

Do tabulky doplňte hodnoty absorbancí a spočítejte kalibrační faktory pro jednotlivé standardy a průměrný kalibrační faktor:

	Zkumavka 1	Zkumavka 2	Zkumavka 3	Zkumavka 4	Zkumavka 5	Zkumavka 6
	Standard 1 20 g/l	Standard 2 40 g/l	Standard 3 60 g/l	Standard 4 80 g/l	Standard 5 100 g/l	Neznámý vzorek
A						
Kalibrační faktor						

Průměrný kalibrační faktor F:

Kalibrační křivka pro stanovení celkové bílkoviny biuretovou reakcí



Určete koncentraci celkové bílkoviny v neznámém vzorku séra:

1. Pomocí kalibračního faktoru

Výpočet:

2. Odečtením z kalibrační křivky

3. Pomocí jednoho standardního roztoku, použijte hodnoty standardu 3

Výpočet:

Koncentrace celkové bílkoviny v neznámém vzorku – porovnání výsledků

Způsob výpočtu	Hodnota koncentrace
Koncentrace celkové bílkoviny vypočtená pomocí kalibračního faktoru	
Koncentrace celkové bílkoviny ve vzorku odečtená z kalibrační křivky	
Koncentrace celkové bílkoviny ve vzorku vypočtená pomocí jednoho standardního roztoku	

Závěr:

Porovnejte výhody a nevýhody různých způsobů použitých pro určení koncentrace látky spektrofotometricky.

Úloha 2 – Stanovení katalytické aktivity laktátdehydrogenasy v séru Warburgovým optickým testem

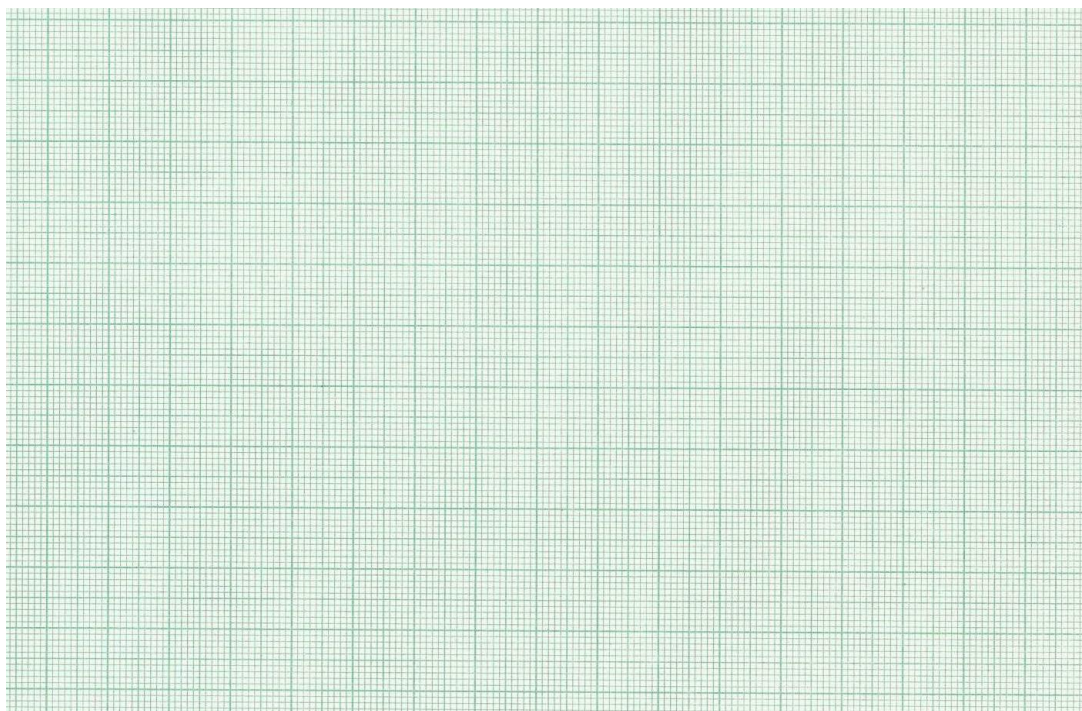
Princip:

Výsledky:

Minuta	A ₃₄₀	Δ A ₃₄₀
1.		–
2.		
3.		
4.		
5.		
6.		

Vyhodnocení:

1. Vyneste naměřené hodnoty absorbancí při 340 nm do grafu jako závislost na čase (zvolte vhodné měřítko!).



2. Vypočítejte katalytickou aktivitu LD a srovnajte s referenčními hodnotami.

Úloha 3 – Spektrofotometrické vyšetření mozkomíšního moku

Princip:

Výsledky:

Spektrum vzorku 1

Absorpční maxima (nm):

Zhodnocení:

Spektrum vzorku 2

Absorpční maxima (nm):

Zhodnocení:

Spektrum vzorku 3

Absorpční maxima (nm):

Zhodnocení: