

Optické metody

The title 'Optické metody' is centered at the top. Below it, there are five light purple circles arranged in two rows: three in the top row and two in the bottom row. The circles are semi-transparent and overlap slightly.

Denzitometrie

Reflexní fotometrie

Denzitometrie



- Optická metoda, která se zabývá měřením absorbance – vyhodnocení hustoty zbarvení v plošném uspořádání
- přímá denzitometrie – v procházejícím světle (průhlednou podložkou)

Denzitometr



- Příklad, který slouží k vyhodnocení hustoty zbarvení v plošném uspořádání.
- Jedná se o postup, který je podobný fotometrickému stanovení (liší se v uspořádání), zaznamenává měnící se hodnotu absorbance v závislosti na intenzitě zbarvení.

Denzitometr



Hlavní komponenty přístroje:

- Zdroj světelného záření: halogenová žárovka
- Monochromátor: interferenční filtry
- Detektor: fotonásobič

Přímá denzitometrie



Princip:

- měření intenzity záření procházejícího průhlednou plochou, získává se grafický záznam fotometrovaného úseku.
- Jednotlivé frakce dělené směsi tvoří na záznamu v ideálním případě souměrné křivky zvonovitého tvaru.
- Plocha těchto píků připadající jednotlivým frakcím, je úměrná relativnímu zastoupení jednotlivých frakcí v dělené směsi.

Použití: při hodnocení elektroforeogramů

Denzitometr



- Elektroforeogram se automaticky posunuje nad štěrbinou, kterou prochází světlo zvolené vlnové délky (400-700 nm)
- V místě frakcí dochází k částečné absorpci záření – to se projeví při dopadu na detektor
- Po zpracování signálu integrátorem získáme číselné výsledky jednotlivých frakcí
- Na jedné podložce je současně vyhodnocováno až 30 elektroforetických drah

Elektroforeogram – elektroforéza v plošném uspořádání na agaróze

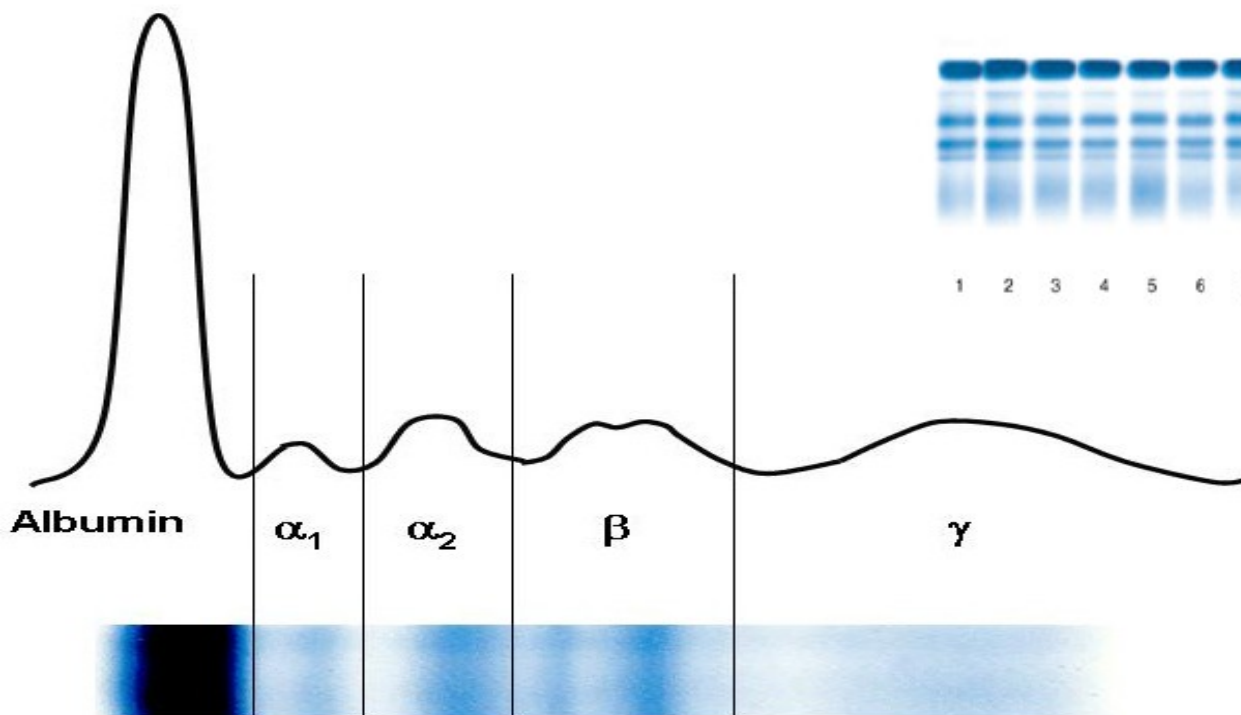
HYDRAGEL 81-82 15/30

sebia

16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15



Denzitometr HYRYS (fy SEBIA)



Význam denzitometrie



- Kvantitativní vyhodnocení jednotlivých frakcí získaných elektroforetickým dělením bílkovin v biologickém materiálu
- Vedle grafického výstupu (křivka elektroforeogramu) , vypočítává software denzitogramu procentuální zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí



Reflexní fotometrie

Reflexní fotometrie



Princip

- měření intenzity záření odraženého od neprůhledné (homogenně zbarvené) podložky. Hodnotí se poměr intenzity dopadajícího světla a světla odraženého od barevné plochy
- Použití: suchá chemie, močová analýza, denzitometrické hodnocení tenkovrstevných chromatografů

Reflexní fotometr

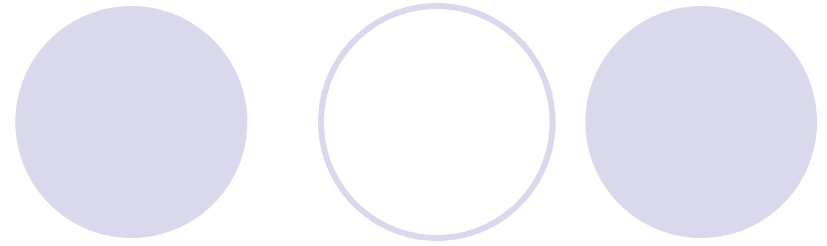


- Přístroj slouží ke kvantitativnímu vyhodnocení reakcí probíhajících na pevné fázi.
- Pevná fáze slouží jako nosič obsahující činidla aktivovaná vodou obsaženou v naneseném vyšetřovaném biologické materiálu (krev, moč).
- Měří se intenzita záření odraženého od homogenně zbarvené podložky.(matrice)

Reflexní fotometr - pevná fáze (matrice)

- Činidla jsou v reagenční zóně proužku impregnována vlákna proužku (fy Roche, Reflektion)
- Činidla jsou nanášena v reagenční zóně proužku jako vícevrstevný film (fy Kodak)

Reflexní fotometr



Odraz světla od reagenční zóny:

- zrcadlový – na reflexní ploše zrcadla
- difuzní - je výsledkem interakce dopadajícího světla s molekulami reakční zóny zahrnuje i absorpci a rozptyl

Hlavní komponenty reflexního fotometru

Zdroj záření:

- halogenová lampa
- xenonová výbojka
- světloemitující dioda

Hlavní komponenty reflexního fotometru

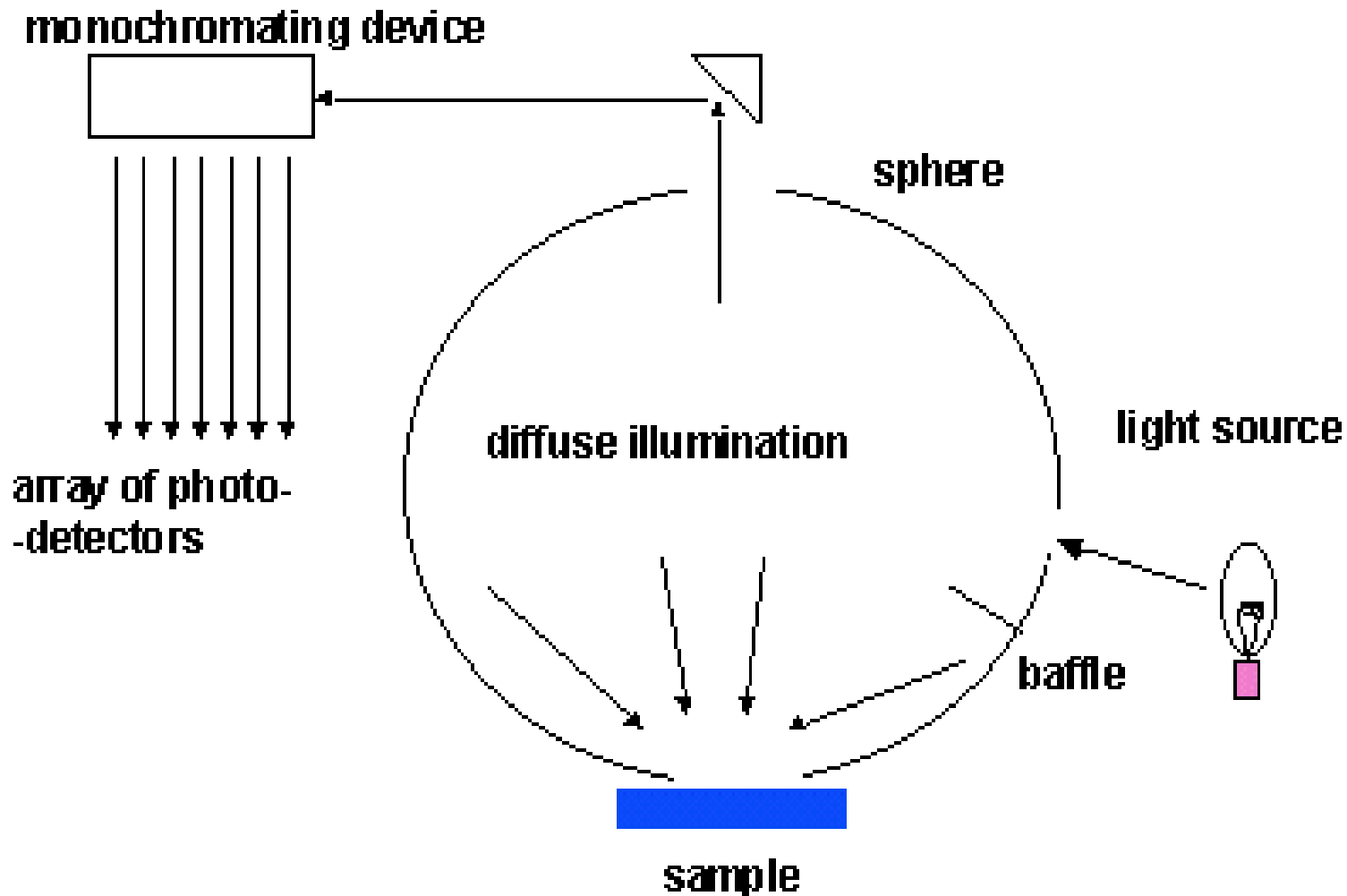
Ulbrichtova koule (jako zdroj difuzního světla):

- dutá koule jejíž vnitřní povrch je potažen vysoce reflexním materiálem (síran barnatý).
- Světlo ze zdroje se po vstupu do koule mnohonásobně odráží od stěn a jako dokonale difuzní dopadá na reagenční plošku

Hlavní komponenty reflexního fotometru

- **Detektor záření:**
- uvnitř koule jsou umístěny dva detektory.
- Jeden měří světlo difuzně odražené od reagenční plošky a druhý je referenční

reflectance spectrophotometer



Reflexní fotometr pro chemické vyšetření moče pomocí diagnostických proužků

