

Optické metody

The title 'Optické metody' is centered at the top. Below it, there are five light purple circles arranged in two rows. The top row has three circles, and the bottom row has two circles. The first circle in the top row is an outline, while the others are solid. The first two circles in the bottom row are solid, and the third one is an outline.

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

The title 'Denzitometr' is positioned at the top left. To its right, there are five circles arranged horizontally. The first circle is solid light purple. The second circle is white with a light purple outline. The third circle is solid light purple. The fourth circle is white with a light purple outline. The fifth circle is solid light purple.

- 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

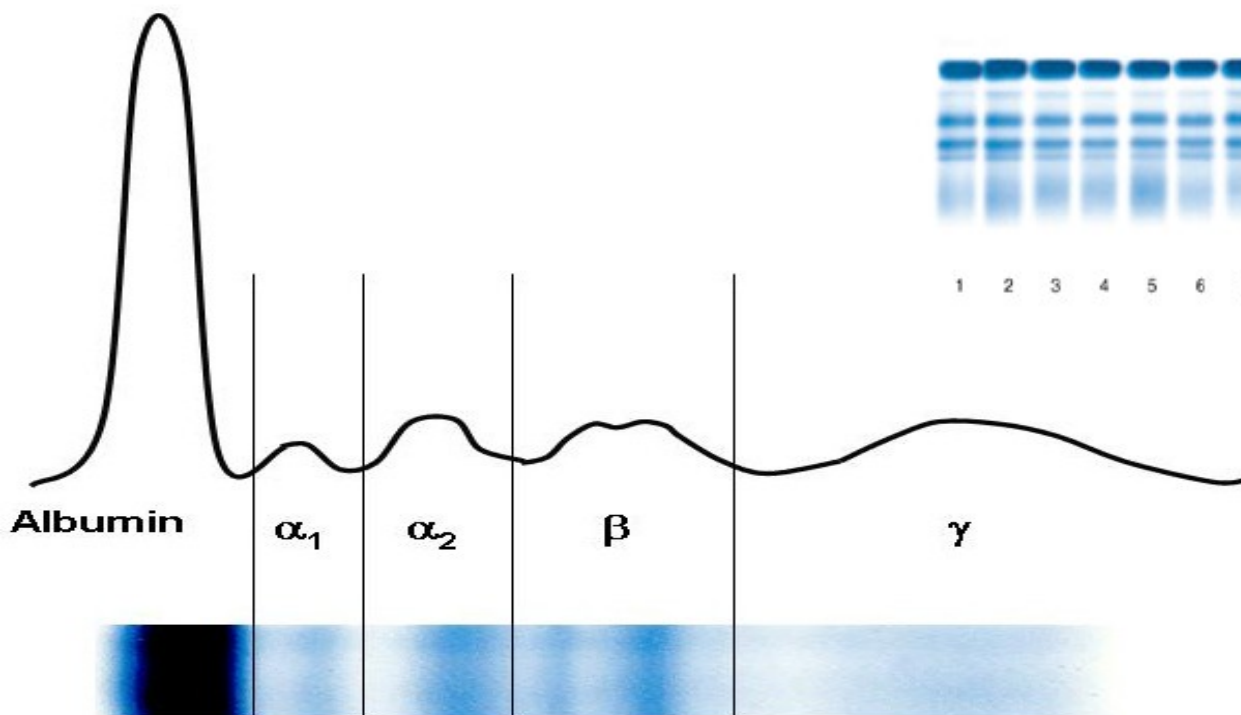
HYDRAGEL B1-B2 15/30

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



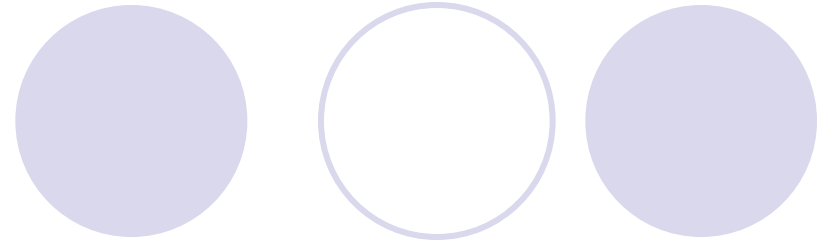
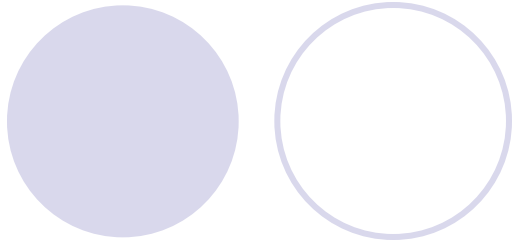
Denzitometr HYRYS (fy SEBIA)



Význam denzitometrie

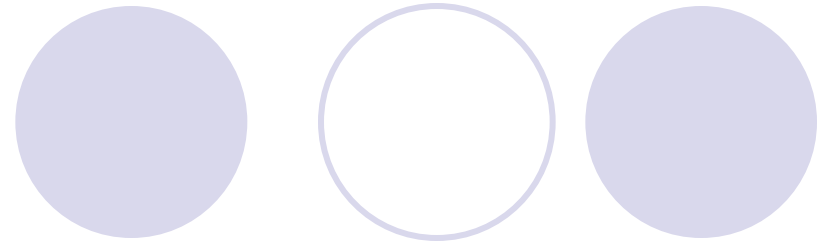


- Kvantitativní vyhodnocení jednotlivých frakcí získaných elektroforetickým dělením bílkovin v biologickém materiálu
- Vedle grafického výstupu (křivka elektroforeogramu) , vypočítává software denzitogramu procentuální zastoupení jednotlivých bílkovinných frakcí



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 nanoseném 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

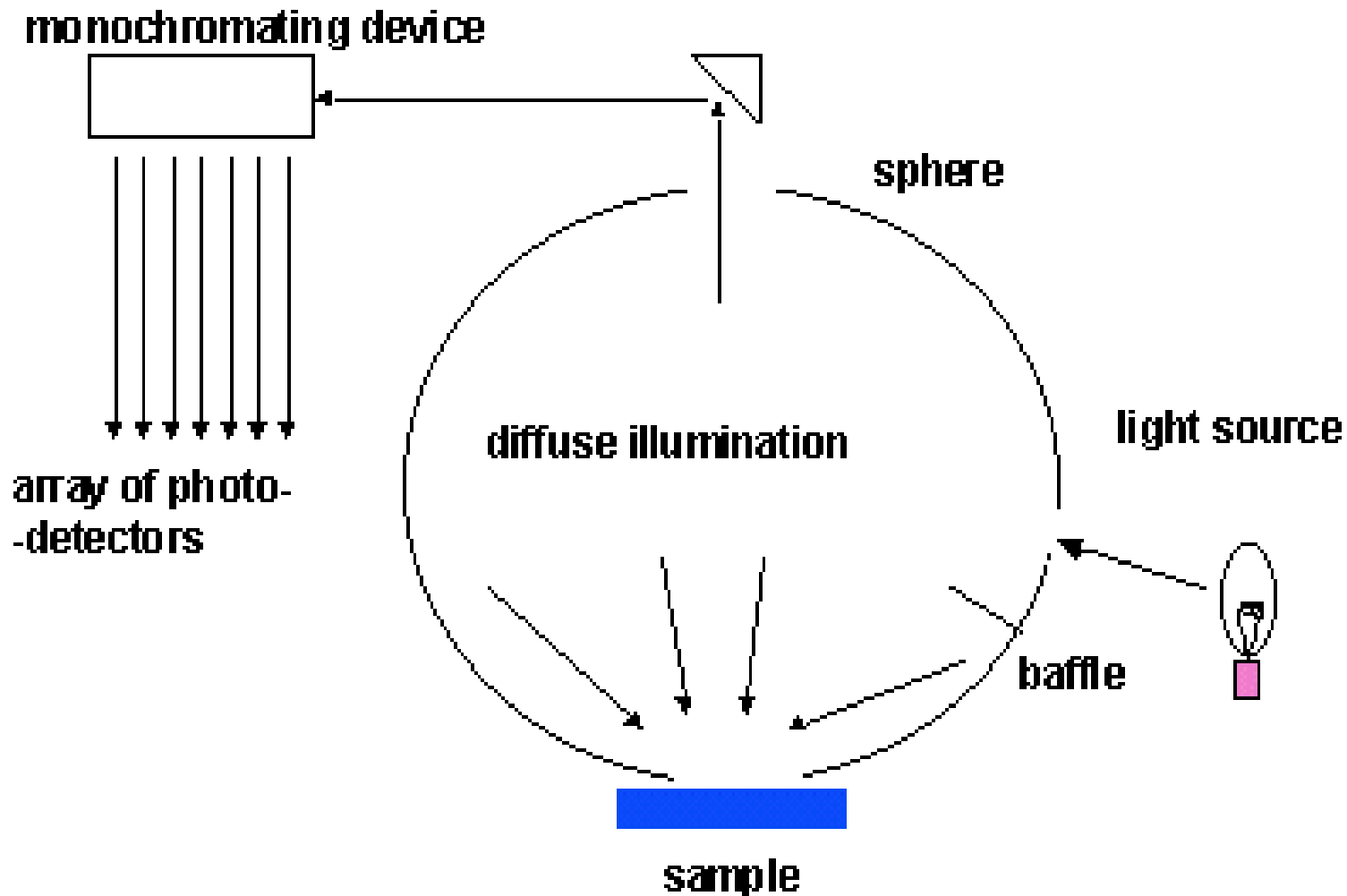
Ulbrichtova koule (jako zdroj difuzního světla):

- 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

