

ANALYTICKÉ METODY

Klinická biochemie

OPTICKÉ METODY

- **Spektrofotometrie**
- Turbidimetrie
- Nefelometrie

- Fluorimetrie
- Delfia

- Chemiluniniscence

- Vertikální fotometrie (reader)
- Denzitometrie
- Reflexní spektrofotometrie

- Atomová emisní spektrofotometrie
- Atomová absorpční spektrofotometrie

Lambertův-Beerův zákon

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon l c}$$

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda l c$$

Limitace (omezení) platnosti Lambertova-Beerova zákona způsobená chemickými a instrumentálními (technickými) vlivy - příčiny nelinearity:

- Odchylka absorpčního koeficientu při vysokých koncentracích (>0.01 mol/l) vlivem elektrostatických interakcí mezi molekulami
- Rozptyl světla na částicích přítomných ve vzorku
- Fluorescence nebo fosforescence vzorku
- **Nedokonale monochromatické světelné záření**
- Nekoherentní světelné záření

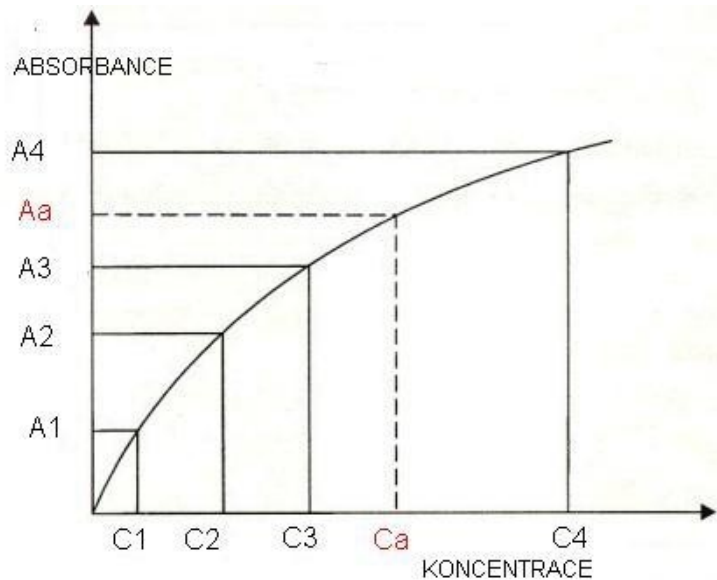
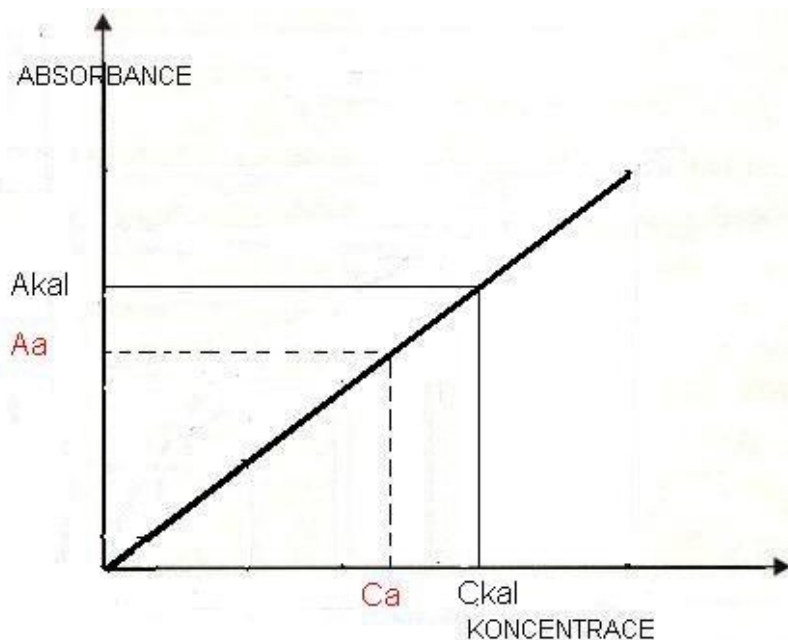
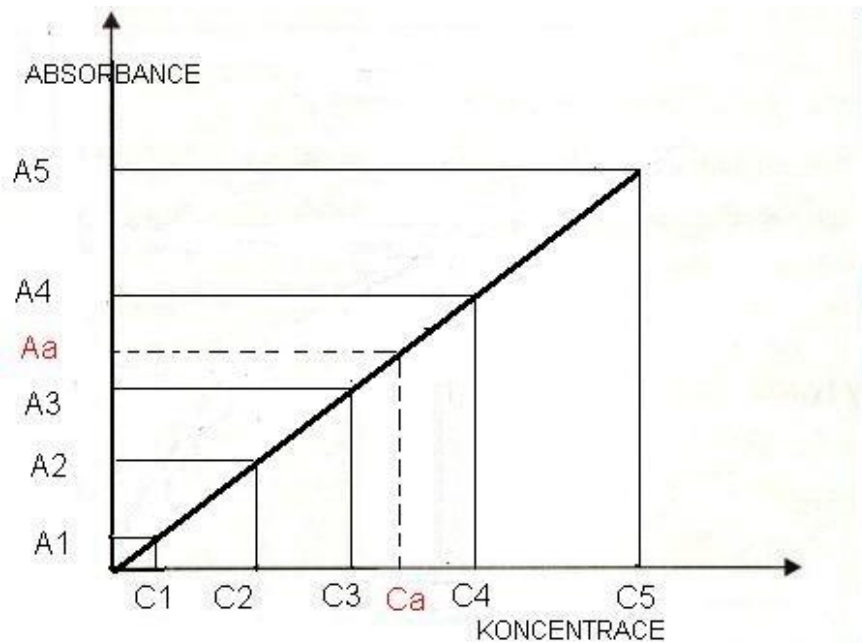
Kalibrační křivka

Citlivost metody

Linearita metody

Měřicí rozsah metody

Kalibrační faktor



$$\text{Kalibrační faktor} = C_{\text{kal}} / A_{\text{kal}}$$

$$C_{vz} = \frac{A_{vz}}{A_{st}} \cdot C_{st}$$

$$C_{vz} = A_{vz} \cdot F$$

Měření End – point

Kinetické měření

ENZYMY

Stanovení aktivity enzymů
Enzymatické stanovení substrátů

$-\Delta / t$ substrát

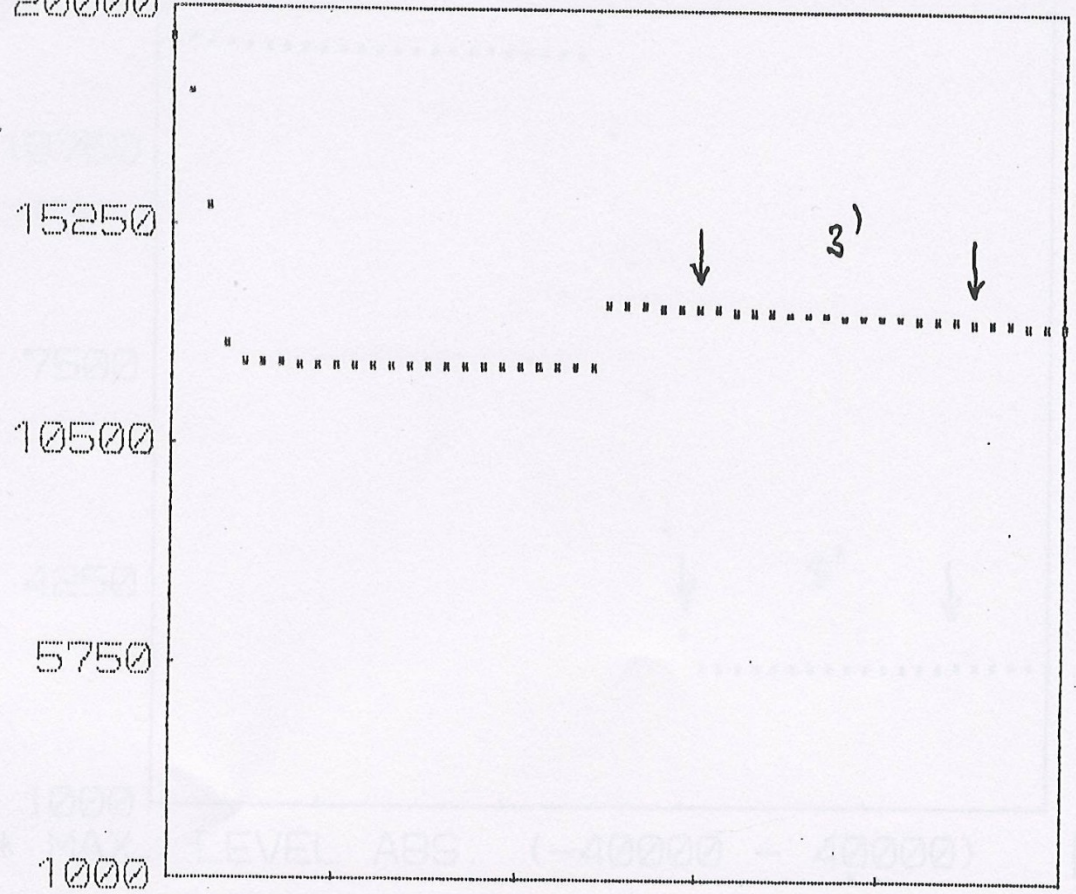
$+\Delta / t$ produkt

rychlost průběhu reakce

REACTION MONITOR
SAMPLE [NORM]-[282]
SCALE [1000]-[20000]

TEST [ALT]
PRINT []

20000



*** TEST CODE 1-40



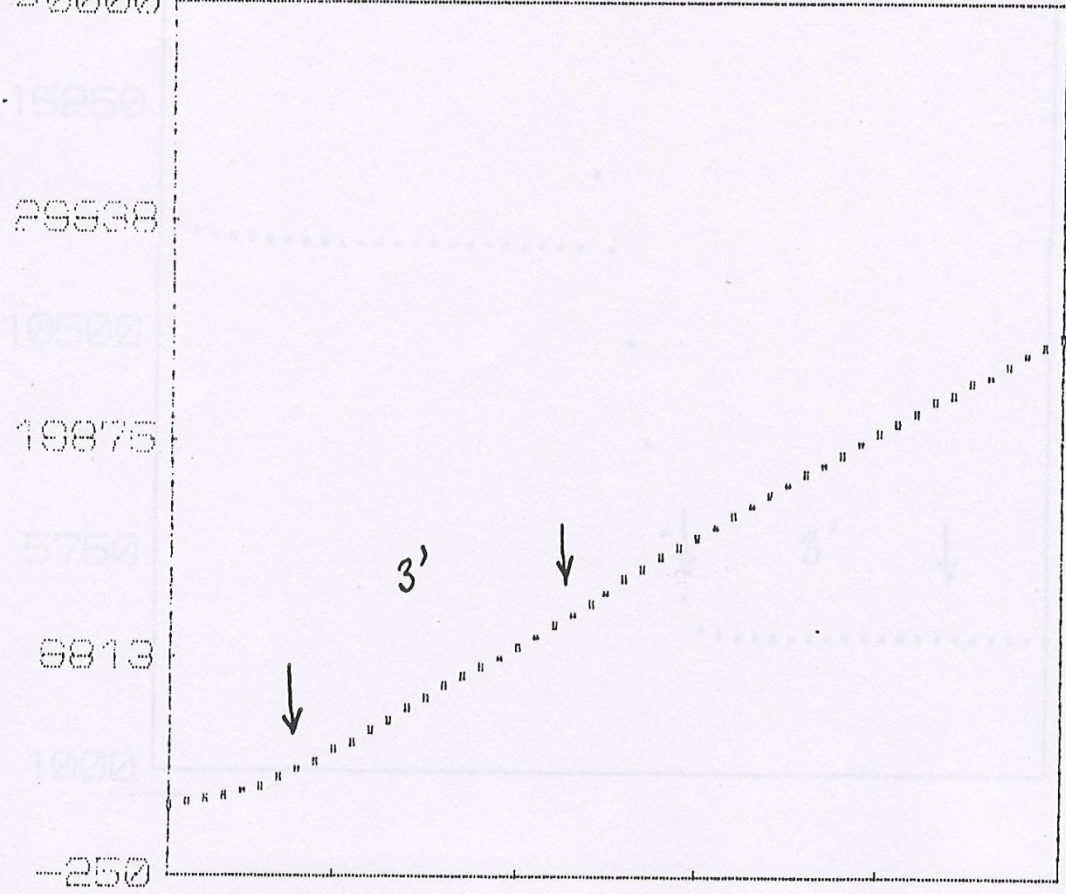
REACTION MONITOR

SAMPLE [STAT 1]-[68]
SCALE [-250]-[40000]

TEST
PRINT

[AMS]

40000

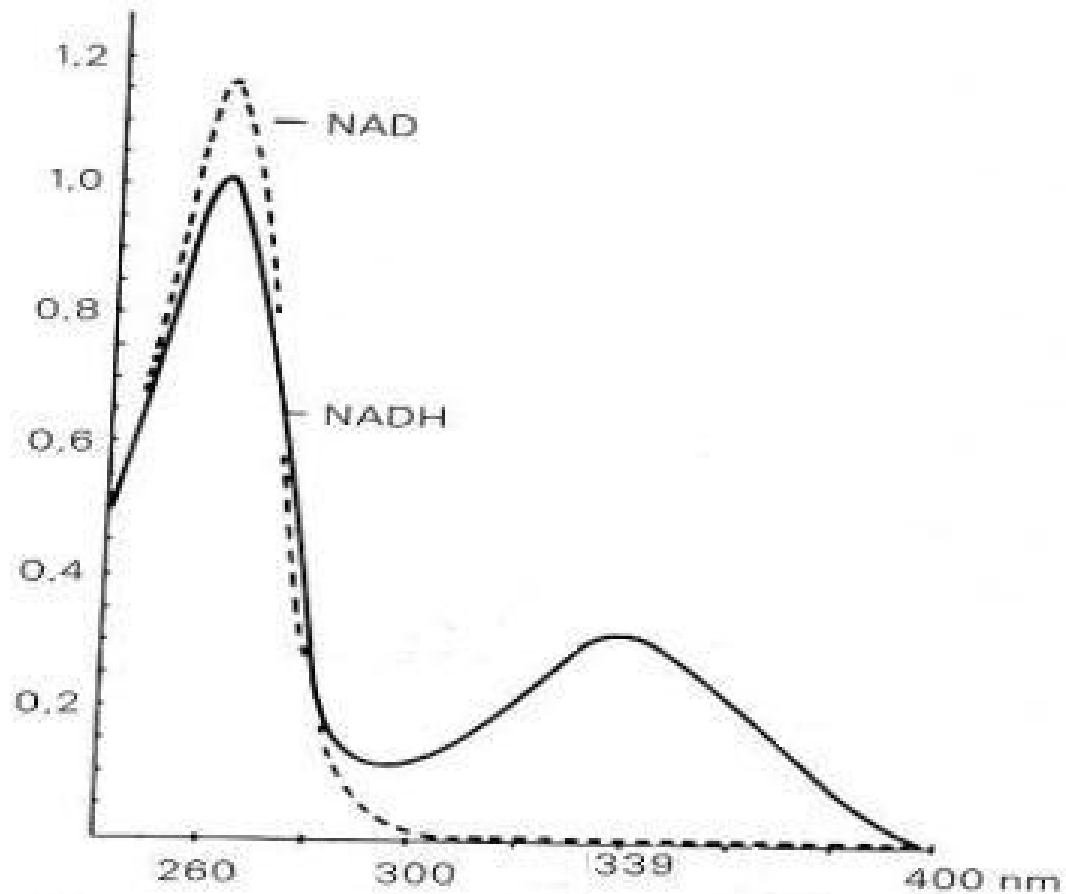


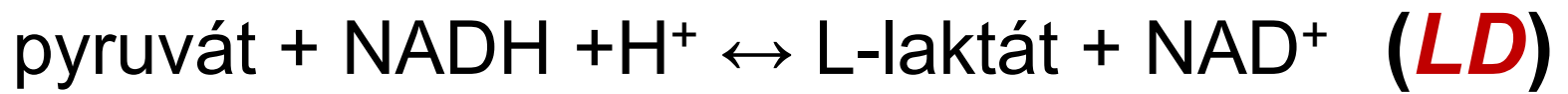
*** TEST CODE 1-40





OPTICKÝ TEST

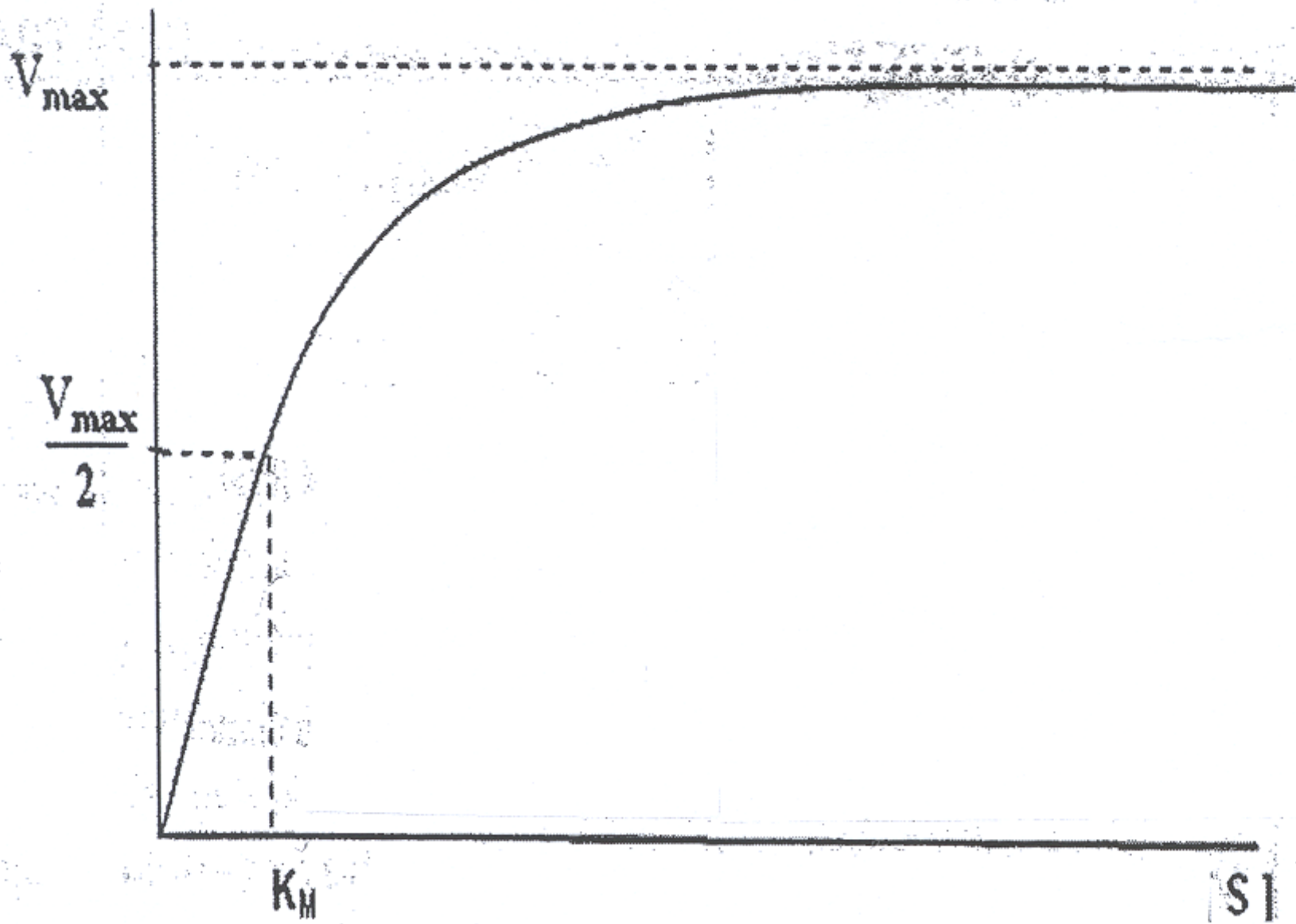




KONSTANTA MICHAELISE-MENTENOVÉ

$$[K_m]$$

K_m je koncentrace substrátu, při které probíhá reakce polovinou maximální rychlosti



LUMINISCENCE

Fotoluminiscence

Fluorescence

Fosforescence

Chemiluminiscence

FLUORESCENCE



excitační

primární

emisní

sekundární

Stokesův posun

CHEMILUMINISCENCE



A a **B** jsou reaktanty

X* je excitovaný meziprodukt

P je produkt v základním stavu

hν je energie emitovaného světelného záření

DELFA

Tento systém využívá jako fluorescenční značky **cheláty lanthanidů europia, samaria a terbia.**

Cheláty lanthanidů vykazují velký Stokesův posun (až 300 nm) a delší dobu emise než ostatní běžné fluorofóry. Tyto dvě vlastnosti výrazně zvyšují citlivost a specifičnost.

Emitované záření může být měřeno až v době, kdy nespecifická fluorescence matrice vzorku pohasla. Tato nespecifická fluorescence má trvání pouze 10 ns.

Vzorek je ozařován tisíci pulzy za sekundu excitačním zářením o vlnové délce 340 nm.

V intervalu mezi záblesky je měřena fluorescence vzorku po dobu 400 μ s vždy po časové prodlevě v délce 400 μ s.

IMUNOCHEMICKÉ REAKCE

Kompetitivní / nekompetitivní

Homogenní / nehomogenní