

C6200–Biochemické metody

08D_ZÁKALOVÉ METODY

Petr Zbořil

Speciální metody

- Turbidimetrie
- Nefelometrie
- Reflexní fotometrie

Rozptyl světla

- Rozptyl – koloidní roztoky, suspence (Tyndallův efekt)
 - lom a odraz na částicích
 - λ se nemění, ale ovlivňuje intenzitu rozptylu
 - světlo se polarizuje
- Prošlé světlo se zeslabí jak absorpcí (nemusí být žádná), tak rozptylem ($\Sigma E_o = \Sigma E_p + \Sigma E_r + \Sigma E_a$)
- $I_r = f(v^4)$ Rayleigh
- modré se rozptyluje víc – bílé světlo mění barvu

Turbidimetrie

- **Turbidimetrie** – měření prošlého světla

$$\text{turbidance} \quad T = \log (I_0/I) = k \cdot c \cdot l \cdot d^3 / (d^4 + \alpha \cdot \lambda^4)$$

k – povaha částic, způsob měření, d – průměr částic, α – závisí na metodě

- Obdoba L-B zákona (parametry konstantní)
 - odchylka k ose c, není-li monochromatické světlo
- Měření spektrofotometry
 - vysoká citlivost, obtížná reprodukovatelnost

Nefelometrie

- **Nefelometrie** – měření rozptýleného světla
 - jednoduché
 - složité provedení (určování velikosti a tvaru částic)
- Měření
 - nefelometrický nástavec k fotometru, světlo se sleduje pod úhlem 90°
 - speciální přístroje - nefelometry – automatická měření

Nefelometrie

- **Konvenční nefelometry**

- zdrojem halogenová žárovka nebo xenonová výbojku
- interferenční filtr
- detektor je nastaven pod úhlem 70 až 90° (stupeň směrovosti světla z konvenčního zdroje je nízký)

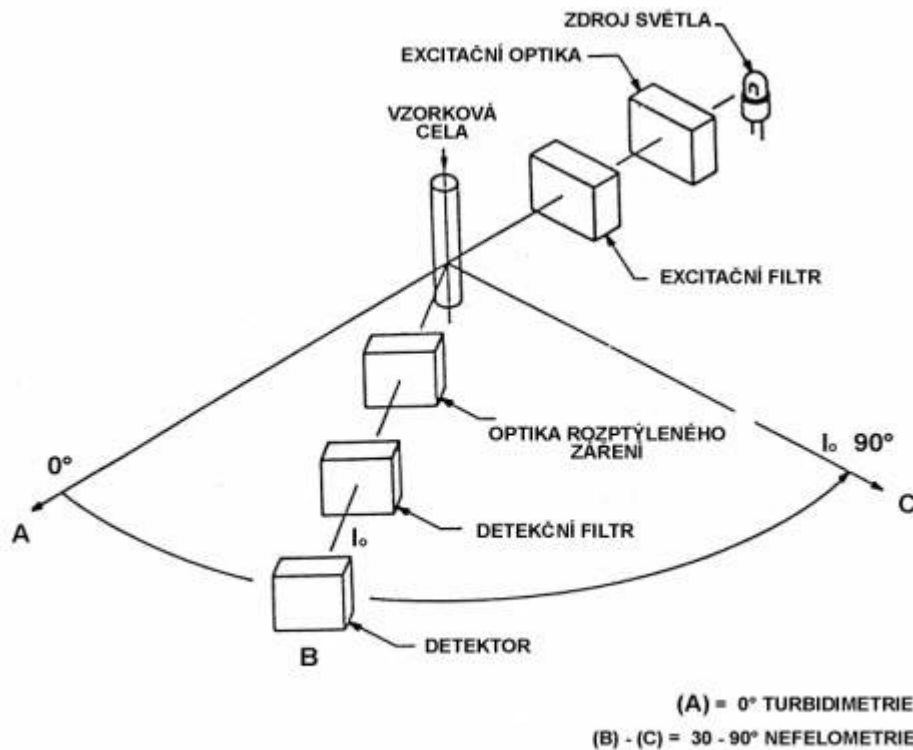
- **Laserový nefelometr**

- zdrojem je helium-neonový laseru
- monochromatické světlo mimořádně intenzivní a má vysoký stupeň směrovosti
- detektor nastaven pod úhlem 5 až 35°

- Nefelometry mohou měřit také rychlost změny rozptylu světla - **kinetiku**, která je přímo úměrná rychlosti vzniku imunokomplexu antigen-protilátka.

Schema přístroje

- Turbidimetr a nefelometr



Reflexní fotometrie

- Měření odraženého světla
- Reflektance
 - $R = I_o/I_d$
 - Závisí na n , k (absorpce), Θ , polarizaci
- Densitometry
 - Žárovka s filtrem, LED
 - Vyduuté zrcadlo – soustředění paprsků na detektor
- Využití
 - Semikvantitativní analýza
 - Vyhodnocení neprůhledných matric (elfo, papír)
 - Reakce suché chemie

Reflexní denzitometr

- Příklad na vyhodnocení proužků – analýza moči
- Využití
 - urobilinogen
 - bilirubin
 - ketolátky
 - krev
 - bílkovina
 - nitrity
 - leukocyty
 - glukóza
 - specifická hmotnost
 - pH
 - kyselina askorbová - pouze proužky URISTIK H11
 - mikroalbumin - pouze proužky URISTIK H11-MA

