

9_UV-VIS (vejce)

1) Zásobní roztok BSA o $c = 10 \text{ g.l}^{-1}$ (10 mg.ml^{-1})

0.5g 50ml odm.baňky

2) Kalibrační závislost

Kalibrační řada 1

$V_0 =$ 50 ml

$\lambda =$ 280 nm

roztok č.	V_{pip} (ml)	c (mg/ml)	A
1	0.5	0.1	0.051
2	1	0.2	0.112
3	1.5	0.3	0.168
4	2	0.4	0.22
5	2.5	0.5	0.276
6	3	0.6	0.341
7	3.5	0.7	0.397
8	4	0.8	0.447
9	4.5	0.9	0.513
10	5	1	0.556

Kalibrační řada 2

$V_0 =$ 10 ml

$\lambda =$ 280 nm

roztok č.	V_{pip} (ml)	c (mg/ml)	A
1	5	0.16	0.087
2	5	0.31	0.186
3	5	0.63	0.369
4	5	1.25	0.734
5	5	2.5	1.436
6	5	5	2.5
7	5	10	2.5

3) Stanovení absorpčního spektra

λ (nm)	A_{BSA}	$A_{\text{vaj.bílek}}$
200	2.5	2.5
210	2.5	2.5
220	2.5	2.5
230	2.415	2.318
240	0.511	0.661
250	0.152	0.412
260	0.18	0.431
270	0.257	0.515
280	0.307	0.554
290	0.17	0.379
300	0.032	0.179
310	0.011	0.109
320	0.008	0.094
330	0.006	0.085
340	0.005	0.077
350	0.004	0.073

4) Stanovení neznámého vzorku

0,5 ml vaječného bílku odpipetovat do suché zvážené kádinky ($V = 25\text{ml}$)

Přidat cca 20ml destilované vody a protřepat

Zfiltrvat přes gázu do 100ml odměrné baňky.

$V_0 =$ 100 ml

$m_{\text{N (vaj.bílku)}} =$ 723.5 mg

$V_{\text{pip(vaj.bílku)}} =$ 0.5 ml

vaj.bílek		A
280nm	1.měření	0.405
	2.měření	0.406
	3.měření	0.405

5) Stanovení neznámého vzorku při 4 vlnových délkách

Pracovní roztok 0,5 ml vaječného bílku zředit 4x, tj. 1ml vz + 3ml vody

a) $c = 1.45 \cdot A_{280} - 0.74 \cdot A_{260}$

b) $c = (A_{235} - A_{280}) / 2.51$

c) $c = A_{235} \cdot (0.27 + 0.12 \cdot A_{280}/A_{205})$

λ	A		
	1	2	3
205	2.133	2.138	2.13
235	0.245	0.246	0.238
260	0.170	0.171	0.174
280	0.118	0.116	0.118

5) Stanovení neznámého vzorku Biuretovou metodou

Z každého roztoku kal. řady 2 pipetovat do suchých zkumavek 1ml bílku

Přidat 1ml biuretového činidla

Nechat 30 min inkubovat ve tmě

Blank - 1 ml dest.vody a 1 ml biuretového činidla, nechat inkubovat 30 min ve tmě (2x).

Neznámý vzorek - 1 ml dest.vody a 1 ml biuretového činidla, nechat inkubovat 30 min ve tmě (3x).

$V_0 =$

10 ml

$\lambda =$

545 nm

Kalibrační řada

roztok č.	V_{pip} (ml)	c (mg/l)	A1	A2	A3
1	5	0.16	0.038	0.037	0.04
2	5	0.32	0.06	0.063	0.064
3	5	0.63	0.118	0.12	0.12
4	5	1.25	0.201	0.202	0.199
5	5	2.5	0.416	0.417	0.417
6	5	5	0.854	0.856	0.857
7	5	10	x	x	x

Neznámý vzorek

roztok č.	A		
	1	2	3
1	0.144	0.144	0.144
2	0.144	0.144	0.144
3	0.145	0.145	0.145
Blank 1	0.026	0.028	0.027
Blank 2	0.026	0.026	0.029