

# Vliv pH a teploty na spektrální vlastnosti fluorescenčních sond

V tomto experimentu je ukázán vliv pH na fluorescenci a absorpci fluorescenční značky fluoresceinu rozpuštěné ve stejné koncentraci v roztocích o různém pH. Je rovněž demonstrován vliv teploty na intenzitu fluorescence.

## Materiál

- fluorescein - NIST-traceable standard - 50  $\mu\text{M}$  (Molecular Probes, Invitrogen)
- mikrokvyeta
- pufr 5 (20 mM MES, pH 5.5)
- pufr 7 (50 mM fosfát sodný, pH 7.0)
- spektrofluorometr vybavený kryostatem

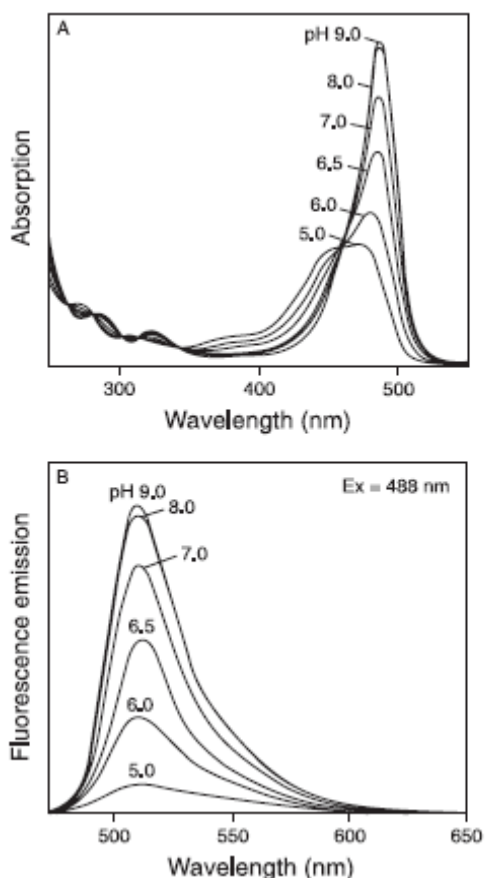
## Postup

Připravte vzorky fluoresceinu 1000x naředěním roztoku NIST standardu jeho přidáním 1  $\mu\text{L}$  do 999  $\mu\text{L}$  roztoku pufru 5 a pufru 7.

Změřte excitační spektra vzorků při  $\lambda(\text{em}) = 515 \text{ nm}$

Změřte emisní spektra vzorků při  $\lambda(\text{ex}) = 488 \text{ nm}$

Změřte spektra při 20°C, 25°C a při 30°C.



**Obr. 1.** Vliv pH na absorpční a fluorescenční emisní spektrum fluoresceinu.

## Výsledky

Při změně pufru z pH 7 na pH 5 a při zvýšení teploty dochází ke snížení intenzity fluorescence fluoresceinu.