Obsah

Předmluva 7

1 ÚVOD DO PRAKTICKÝCH CVIČENÍ 8

1.1 Laboratorní řád 8

1.2 Bezpečnost práce v laboratoři 9

1.3 První pomoc při nehodě 10

2 ZÁKLADNÍ ÚKONY V CHEMICKÉ LABORATOŘI 11

2.1 Zpracování biologického materiálu 11

2.2 Princip a přesnost pipetování 12

3 CHROMATOGRAFICKÉ METODY 17

3.1 Chromatografie na tenké vrstvě 18

3.1.1 Důkaz purinových a pyrimidinových bází chromatografií na tenké vrstvě 20

3.2 Gelová permeační chromatografie 22

3.2.1 Gelová permeační chromatografie hemolyzované krve 23

4 FOTOMETRICKÁ ANALÝZA 25

4.1 Stanovení salicylátů fotometricky 28

5 PROTEINY 31

5.1 Elektroforéza sérových proteinů na agarosovém gelu 31

5.2 Stanovení celkových proteinů biuretovou reakcí 33

5.3 Dialýza krve 35

5.4 Osmóza 36

6 ENZYMY I 37

6.1 Průkaz enzymového charakteru peroxidasové reakce 37

6.2 Průkaz substrátové specifity α-amylasy a sacharasy 38

6.3 Inhibice katalasy thiokyanatanem draselným 41

7 ENZYMY II 42

7.1 Stanovení Michaelisovy konstanty modelového enzymu 42
7.1.1 Stanovení Michaelisovy konstanty alkalické fosfatasy 43
8 ENZYMY III 46
8.1 Stanovení aktivity laktátdehydrogenasy v krevním séru 51
8.2 Stanovení aktivity alaninaminotransferasy v krevním séru 52
8.3 Stanovení aktivity alkalické fosfatasy v krevním séru 54
8.4 Stanovení aktivity kreatinkinasy v krevním séru 55
9 SACHARIDY 58
9.1 Chemické reakce sacharidů 58
9.1.1 Redukční vlastnosti sacharidů 58
9.1.2 Reakce sacharidů se silnými kyselinami 59
9.1.3 Reakce polysacharidů 61
9.2 Stanovení glukosy v séru a moči nalačno a po provedení orálního glukosového tolerančního testu (oGTT) 62
9.3 Stanovení glukosy v krvi osobním glukometrem 65
9.4 Detekce glukosy a ketolátek v moči pomocí diagnostických proužků 66
10 LIPIDY 68
10.1 Chemické reakce lipidů 68
10.2 Stanovení celkového cholesterolu, HDL- a LDL-cholesterolu a triacylglycerolů v krevním séru 70
10.2.1 Stanovení celkového cholesterolu v krevním séru 72
10.2.2 Stanovení HDL-cholesterolu v krevním séru 74
10.2.3 Stanovení triacylglycerolů v krevním séru 75
10.2.4 Stanovení LDL-cholesterolu v krevním séru 77
10.2.5 Elektroforéza sérových lipoproteinů na agarosovém gelu 79
11 AMINOKYSELINY 82
11.1 Separace aminokyselin chromatografií na tenké vrstvě 82
11.2 Stanovení močoviny v krevním séru a moči 83
12 BIOCHEMICKÉ POCHODY V GASTROINTESTINÁLNÍM TRAKTU 86

12.1 Analýza žaludeční šťávy 86
12.1.1 Kvalitativní vyšetření žaludeční šťávy 86
12.1.2 Kvantitativní vyšetření žaludeční šťávy 87
12.2 Vliv pH na aktivitu pepsinu 90
12.3 Stanovení optimální teploty pro činnost trypsinu 92

13 VITAMINY 95

13.1 Dělení směsi vitaminů skupiny B gelovou chromatografií 95

14 XENOBIOTIKA 98

14.1 Stanovení kyseliny acetylsalicylové 98
14.2 Stanovení paracetamolu 99

15 AKTIVNÍ LÁTKY V ÚSTNÍ HYGIENĚ 101

15.1 Stanovení sanguinarinu a chelerythrinu v přípravcích ústní hygieny 101
15.2 Stanovení fluoridů v přípravcích ústní hygieny pomocí iontově selektivních elektrod 103

16 BIOCHEMIE DUTINY ÚSTNÍ 106

16.1 Anorganické látky ve slinách 106
16.1.1 Kvalitativní důkaz anorganických látek ve slinách 106
16.1.2 Demineralizace pevných tkání v dutině ústní 108
16.1.3 Stanovení fosforu ve slinách 111
16.1.4 Stanovení vápníku ve slinách 112
16.1.5 Stanovení hořčíku ve slinách 115
16.2 Organické látky ve slinách 117
16.2.1 Kvalitativní důkaz organických látek ve slinách 117
16.2.2 Elektroforéza proteinů slin na agarosovém gelu 119
16.2.3 Stanovení aktivity enzymů ve slinách 121
16.2.3.1 Stanovení aktivity α-amylasy ve slinách 122
16.2.3.2 Stanovení aktivity laktátdehydrogenasy ve slinách 124
16.2.3.3 Stanovení aktivity aspartátaminotransferasy ve slinách 125
16.2.3.4 Stanovení aktivity alkalické fosfatasy ve slinách 126
16.3 Pufrační kapacita slin 127

17 OXIDAČNÍ STRES A ANTIOXIDAČNÍ KAPACITA.....130

17.1 Stanovení celkové antioxidační kapacity slin 130

17.2 Stanovení kyseliny močové ve slinách.....132

17.3 Stanovení vitaminu C (kyseliny askorbové) ve vitaminových přípravcích a ovocných šťávách.....134