Obsah

1 Laboratorní řád, bezpečnost práce v chemické laboratoři, první pomoc při nehodě 10

1.1 Laboratorní řád 10

1.2 První pomoc při nehodě 14

2 Měření objemů kapalin, zásady správného pipetování 15

2.1 Odměřování objemů kapalin 15

2.2 Automatická pipeta 15

2.2.1 Techniky pipetování 17

2.2.2 Faktory ovlivňující správnost pipety 18

2.2.3 Zásady správného pipetování automatickou pipetou 18

3 Přístroje používané v základním cvičení 19

3.1 Váhy 19

3.2 Spektrofotometr 19

3.3. Centrifugy 21

3.4 Přístroje a zařízení používané v základní části úloh 21

3.5 Přístroje používané v rozšířené části úloh 23

4 Aminokyseliny 24

4.1 Teoretický úvod 24

4.2 Vybavení 28

4.2.1 Materiál 28

4.2.2 Přístroje 28

4.2.3 Chemikálie 28

4.2.4 Roztoky 28

4.3 Postup 30

4.3.1 Identifikace aminokyselin 30

4.3.2 Dělení směsi aminokyselin chromatografií na tenké vrstvě silikagelu 35

4.4 Vyhodnocení 36

4.4.1 Identifikace aminokyselin 36

4.4.2 Dělení směsi aminokyselin chromatografií na tenké vrstvě silikagelu 36

5 Stanovení proteinů 37

5.1 Teoretický úvod 37

5.1.1 Přímé metody 37

5.1.2 Nepřímé metody 38

5.1.3 Porovnání metod stanovení proteinů 42

5.2 Vybavení 44
5.2.1 Materiál 44
5.2.2 Přístroje 44
5.2.3 Chemikálie 44
5.2.4 Roztoky 44
5.3 Postup 45
5.3.1 Příprava vzorků pro stanovení proteinů 45
5.3.2 Měření v kyvetě 46
5.3.3 Měření v mikrodestičkovém uspořádání 48
5.4 Vyhodnocení 49
5.5 Možné problémy 51
6 Gelová chromatografie barevného derivátu albuminu (chemické modifikace proteinů) 52
6.1 Teoretický úvod 52
6.2 Vybavení 56
6.2.1 Přístroje 56
6.2.2 Chemikálie 57
6.2.3 Roztoky 57
6.3 Postup 57
6.3.1 Příprava barevného derivátu bílkoviny (azoderivát albuminu připravený kopulací s diazotovanou kyselinou sulfanilovou) 57
6.3.2 Gelová chromatografie (oddělení vedlejších autokopulačních produktů kyseliny sulfanilové od albuminu gelovou chromatografií) 58
6.4 Vyhodnocení 58
6.5 Možné problémy 59
7 Stanovení isoenzymového zastoupení rostlinných peroxidas metodou diskontinuální elektroforézy v polyakrylamidovém gelu za nativních podmínek 60
7.1 Teoretický úvod 60
7.2 Vybavení 64
7.2.1 Materiál 64
7.2.2 Přístroje 64
7.2.3 Chemikálie 64
7.2.4 Roztoky 64
7.3 Postup 65
7.3.1 Příprava vzorků pro nativní elektroforézu 65
7.3.2 Příprava polyakrylamidového gelu 65

7.3.3 Aplikace vzorků 66
7.3.4 Vlastní elektroforetické dělení 67
7.3.5 Barvení gelu – detekce enzymů s peroxidasovou aktivitou 67
7.3.6 Dokumentace gelu 67
7.4 Vyhodnocení 68
7.5 Možné problémy 68
8 Enzymy 70
8.1 Teoretický úvod 70
8.1.1 Enzymy – biokatalyzátory 70
8.1.2 Diastasa 72
8.1.3 Sacharasa 73
8.1.4 Katalasa 74
8.1.5 Charakteristická vlastnost enzymů "substrátová specifita" na příkladu α-amylasy a sacharasy 74
8.2 Vybavení 75
8.2.1 Materiál 75
8.2.2 Přístroje 75
8.2.3 Chemikálie 75
8.2.4 Roztoky 75
8.3 Postup 76
8.3.1 Aktivita diastasy 76
8.3.2 Substrátová specifita α-amylasy a sacharasy 76
8.3.3 Štěpení škrobu rostlinnými amylasami 77
8.3.4 Katalasa v potravinách 78
8.3.5 Vliv pH na účinnost enzymu katalasy 78
8.4 Vyhodnocení 78
8.4.1 Stanovení aktivity diastasy 78
8.4.2 Substrátová specifita α-amylasy a sacharasy 78
8.4.3 Štěpení škrobu rostlinnými amylasami 79
8.4.4 Katalasa v potravinách 79
8.4.5 Vliv pH na účinnost katalasy 79
9 Izolace aminoxidasy ze semenáčků hrachu, stanovení kinetických parametrů aminoxidasy 80
9.1 Teoretický úvod 80
9.1.1 Základní konstanty enzymové kinetiky 81

9.1.2 Inhibice a inhibitory 84
9.1.3 Stanovení kinetických parametrů a charakteru inhibice 86
9.1.4 Aminoxidasa 90
9.2 Vybavení 92
9.2.1 Materiál 92
9.2.2 Přístroje 92
9.2.3 Chemikálie 92
9.2.4 Roztoky 92
9.3 Postup 93
9.3.1 Izolace aminoxidasy 93
9.3.2 Stanovení aktivity aminoxidasy 93
9.3.3 Stanovení obsahu bílkoviny metodou Bradfordové 94
9.3.4 Stanovení základních kinetických parametrů a typu inhibice 94
9.4 Vyhodnocení 96
9.4.1 Izolace aminoxidasy 96
9.4.2 Stanovení základních kinetických parametrů a typu inhibice 96
10 Lipidy 97
10.1 Teoretický úvod 97
10.2 Vybavení 104
10.2.1 Materiál 104
10.2.2 Přístroje 104
10.2.3 Chemikálie 105
10.2.4 Roztoky 105
10.3 Postup 105
10.3.1 Preparace lipidových frakcí z vaječného žloutku a identifikace lipidů 105
10.3.2 Stanovení cholesterolu 107
10.3.3 Stanovení jodového čísla tuků podle Hanuše 108
10.4 Vyhodnocení 109
10.4.1 Preparace lipidových frakcí z vaječného žloutku a identifikace lipidů 109
10.4.2 Stanovení cholesterolu 109
10.4.3 Stanovení jodového čísla tuků podle Hanuše 109
11 Rostlinná barviva 110
11.1 Teoretický úvod 110
11.2 Vybavení 113

11.2.1 Materiál 113
11.2.2 Přístroje 113
11.2.3 Chemikálie 114
11.2.4 Roztoky 114
11.3 Postup 114
11.3.1 Stanovení lipofilních listových barviv a jejich rozdělení adsorpční chromatografií 114
11.3.2 Duha z rajčatové šťávy 116
11.3.3 Fluorescence 117
11.3.4 Červená rostlinná barviva jako indikátory pH 118
11.4 Vyhodnocení 118
11.4.1 Stanovení lipofilních listových barviv a jejich rozdělení adsorpční chromatografií 118
11.4.2 Duha z rajčatové šťávy 118
11.4.3 Fluorescence 118
11.4.4 Červená rostlinná barviva jako indikátory pH 119
12 Kvalitativní a kvantitativní reakce sacharidů 120
12.1 Teoretický úvod 120
12.2 Vybavení 129
12.2.1 Materiál 129
12.2.2 Přístroje 129
12.2.3 Chemikálie 130
12.2.4 Roztoky 130
12.3 Postup 133
12.3.1 Kvalitativní reakce sacharidů 133
12.3.2 Kvantitativní stanovení sacharidů 140
12.4 Vyhodnocení 144
12.4.1 Kvalitativní reakce sacharidů 144
12.4.2 Kvantitativní stanovení sacharidů 144
13 Izolace nukleových kyselin 145
13.1 Teoretický úvod 145
13.2 Vybavení 148
13.2.1 Materiál 148
13.2.2 Přístroje 148
13.2.3 Chemikálie 148
13.2.4 Roztoky 148

13.3 Postup 149
13.3.1 Izolace DNA, RNA 149
13.3.2 Fenol-chloroformová izolace RNA 150
13.3.3 Izolace DNA s použitím silikátu 151
13.3.4 Důkaz nukleových kyselin 152
13.3.5 Stabilita nukleových kyselin 152
13.3.6 Spektrální stanovení nukleových kyselin 153
13.4 Vyhodnocení 153
13.5 Možné problémy 154