

# O B S A H

	strana	
Úvod . . . . .	11	
Organizace cvičení . . . . .	13	
<hr/>		
Téma	Název úlohy	strana
<hr/>		
1. ZÁKLADNÍ PRÁCE V LABORATORIÍ . . . . .	15	
Božena Procházková, Karel Hátle		
1 - Bezpečnost práce v laboratoři (instruktáž) . . . . .	15	
2 - Práce s kahanem . . . . .	15	
3 - Práce se sklem . . . . .	16	
4 - Základní laboratorní sklo, porcelán a vybavení pracovního stolu . . . . .	18	
5 - Odměřování objemů . . . . .	28	
6 - Krystalizace, filtrace . . . . .	29	
7 - Pyroreakce některých látek . . . . .	30	
8 - Destilace směsi kapalin . . . . .	31	
9 - Způsob práce s reagenčními lahvičkami a provádění reakcí ve zkumavkách . . . . .	32	
<hr/>		
2. REAKCE A VLASTNOSTI NĚKTERÝCH BIOLOGICKY A TOXIKOLOGICKY VÝZNAMNÝCH PRVKŮ A JEJICH SLOUČENIN I . . . . .	35	
Bohuslav Matouš, Stanislav Štípek		
1 - 5 Důkaz kationtů I. - V. třídy . . . . .	37	
<hr/>		
3. REAKCE A VLASTNOSTI NĚKTERÝCH BIOLOGICKY A TOXIKOLOGICKY VÝZNAMNÝCH PRVKŮ A JEJICH SLOUČENIN II . . . . .	43	
Jaromír Křemen, Karel Hátle		
1 - Speciální reakce nejdůležitějších aniontů . . . . .	43	
2 - Jednoduchá analýza neznámých anorganických sloučenin . . . . .	44	
3 - Analýza živočišného popela . . . . .	48	
<hr/>		
4. ODMĚRNÁ ANALÝZA I		
(Titrační křivky silných a slabých kyselin a zásad. Acidi- a alkaliometrie) . . . . .	49	
Jaroslava Hrušková, Božena Procházková		
Vyjadřování veličin a koncentrací v chemii . . . . .	54	
1 - Konstrukce titračních křivek z naměřených hodnot pH . . . . .	56	
2 - Příprava odměrného roztoku NaOH o přesné látkové koncentraci . . . . .	56	
3 - Stanovení látkové koncentrace $H_2SO_4$ . . . . .	57	

Téma	Název úlohy	strana
<b>5. ODMĚRNÁ ANALÝZA II</b>		
(Výpočty pH pufrů, zjištování pufrovací kapacity, jodometrie, argentometrie, merkurimetrie, komplexometrie) . . . . .	59	
Jaroslava Hrušková, Božena Procházková		
1 - Výpočty pH pufru dle Henderson-Hasselbalchovy rovnice a zjištování pufrovací kapacity . . . . .	63	
2 - Stanovení látkové koncentrace roztoku chloridů argentometricky . . . . .	64	
3 - Stanovení látkové koncentrace chloridů v moči merkurimetricky . . . . .	64	
4 - Stanovení látkové koncentrace vápníku v séru komplexometricky . . . . .	65	
5 - Stanovení hmotnostní koncentrace jodu v Lugolově roztoku . . . . .	65	
6 - Stanovení hmotnostní koncentrace formaldehydu (nepřímá titrace) . . . . .	65	
7 - Stanovení faktoru $KMnO_4$ pomocí přesného roztoku kyseliny šťavelové	66	
<b>6. REAKCE CHARAKTERISTICKÝCH SKUPIN ORGANICKÝCH SLOUČENIN DŮLEŽITÝCH PRO STUDIUM BIOCHEMIE I</b>	67	
Alena Buděšínská, Miloš Ledvina		
1 - 7 Alkoholy, aldehydy, ketony . . . . .	67	
8 - 13 Fenoly . . . . .	72	
<b>7. REAKCE CHARAKTERISTICKÝCH SKUPIN ORGANICKÝCH SLOUČENIN DŮLEŽITÝCH PRO STUDIUM BIOCHEMIE II</b>	77	
Eva Bubnová, Miloš Ledvina		
1 - 7 Karboxylové kyseliny . . . . .	77	
8 - 10 Aminy . . . . .	77	
<b>8. AMINOKYSELINY - PRINCIPY CHROMATOGRAFICKÝCH METOD</b>	85	
Miloš Ledvina, Alena Buděšínská		
1 - Barevné reakce aminokyselin . . . . .	86	
2 - Dělení aminokyselin chromatografií na tenké vrstvě (=TLC) . . . . .	90	
3 - Adsorpce . . . . .	92	
4 - Výměna iontů (ionexová chromatografie) . . . . .	94	
<b>9. CHOVÁNÍ MAKROMOLEKULÁRNÍCH DISPERZÍ (DIFUZE, DIALÝZA, GELOVÁ CHROMATOGRAFIE)</b>		
BÍLKOVINY I (Srážecí reakce) . . . . .	97	
Jiří Kraml, Petr Pohlreich		
1 - Difuze . . . . .	99	
2 - Dialýza . . . . .	100	
3 - Odstranění hexakyanoželezitanu z roztoku ferrihemoglobinu gelovou chromatografií . . . . .	101	

Téma	Název úlohy	strana
	4 - Soly a gely - Stanovení izoelektrického bodu želatiny . . . . .	102
	5 - Reverzibilní srážení proteinů - Frakcionace a izolace bílkovin . . . . .	104
	6 - Srážení bílkovin spojené s denaturací . . . . .	105
10. BÍLKOVINY II (Prvkové složení bílkovin, barevné reakce bílkovin, stanovení koncentrace bílkovin)		
	Elektroforéza sérových bílkovin . . . . .	109
	Jiří Kraml, Jaromír Křemen	
	1 - Prvkové složení bílkovin . . . . .	110
	2 - Barevné reakce bílkovin . . . . .	111
	3 - Stanovení dusíku v bílkovině . . . . .	115
	4 - Stanovení celkové bílkoviny v séru biuretovou reakcí . . . . .	116
	5 - Elektroforéza sérových bílkovin na celulosaacetátových proužcích . . . . .	117
11. ENZYMY I		
	(Obecné vlastnosti - bílkovinná povaha, specifičnost, fyzikálně-chemické vlivy - teplota, pH, iontová síla) . . . . .	121
	Jiří Kraml, Petr Čechák, Petr Schneiderka	
	1 - Důkaz bílkovin v preparátu sacharasy . . . . .	122
	2 - Důkaz specifičnosti enzymů (sacharasa a $\alpha$ -amylasa) . . . . .	122
	3 - Purifikace trypsinu afinitní chromatografií . . . . .	124
	4 - Důkaz trypsinové aktivity kvalitativně in vitro . . . . .	126
	5 - Fyzikálně-chemické vlivy působící na činnost enzymů ( $\alpha$ -amylasa, pepsin) . . . . .	127
12. ENZYMY II		
	(Kinetika enzymových reakcí - Vliv koncentrace enzymu a substrátu; $K_m$ ; optický test; oxidoredukční enzymy) . . . . .	133
	Jiří Kraml, Petr Čechák	
	1 - Vliv koncentrace enzymu na rychlosť enzymové reakcie; kinetika nultého řádu; jednotka enzymové aktivity (laktátdehydrogenasa) . . . . .	136
	2 - Vliv koncentrace substrátu na rychlosť enzymové reakce - Michaelisova konstanta (laktátdehydrogenasa) . . . . .	139
	3 - Demonstrace Warburgova optického testu . . . . .	142
	4 - Oxidace glukosy vzdušným kyslíkem (modelový pokus) . . . . .	144
	5 - Dehydrogenace xanthinoxidasou . . . . .	144
	6 - Cytochromoxidasa . . . . .	146
	7 - Peroxidasa a katalasa . . . . .	147

Téma	Název úlohy	strana
13. ENZYMY III	(Základní rutinně prováděná klinicko-biochemická vyšetření katalytických aktivit vybraných enzymů) . . . . .	151
	Petr Čechák, Karel Hátle	
1 - Stanovení aktivity aminotransferas v séru . . . . .	152	
2 - Stanovení aktivity laktátdehydrogenasy v séru . . . . .	155	
3 - Stanovení aktivity $\gamma$ -glutamyltransferasy v séru . . . . .	156	
4 - Stanovení aktivity alkalifosfatasy v séru . . . . .	158	
5 - Stanovení aktivity acidfosfatasy v plazmě . . . . .	159	
6 - Stanovení aktivity kreatinkinasy v séru . . . . .	161	
14. MONOSACHARIDY . . . . .		165
	Miloš Ledvina, Jana Stříbrná	
1 - Reakce monosacharidů . . . . .	168	
2 - Mutarotace . . . . .	169	
3 - Stanovení krevního cukru . . . . .	169	
15. DISACHARIDY A POLYSACHARIDY . . . . .		175
	Miloš Ledvina, Jana Stříbrná	
1 - Reakce disacharidů a polysacharidů . . . . .	177	
2 - Inverze sacharosy . . . . .	177	
3 - Kyselá hydrolýza škrobu . . . . .	177	
4 - Škrob - fyzikální a chemické vlastnosti . . . . .	178	
5 - Stanovení $\alpha$ -amylasy pomocí barevného preparátu škrobu . . . . .	178	
16. LIPIDY I . . . . .		181
	Bohuslav Matouš, Jiří Kraml	
1 - Akroleinová reakce . . . . .	181	
2 - Zmýdelnění a srážení vápenatých a olovnatých mýdel . . . . .	181	
3 - Jodové číslo tuků . . . . .	182	
4 - Hydrolytické štěpení tuků účinkem lipasy . . . . .	183	
5 - Emulgační schopnost žlučových kyselin . . . . .	184	
6 - Vliv žluči na štěpení tuku lipasou . . . . .	185	
17. LIPIDY II . . . . .		187
	Jana Stříbrná, Jiří Kraml	
1 - Stanovení celkových lipidů v séru . . . . .	187	
2 - Stanovení tuků (triacylglycerolů) v séru (acetylacetonová metoda) . . . . .	188	
3 - Stanovení tuků (triacylglycerolů) v séru enzymově . . . . .	189	
4 - Stanovení koncentrace $\beta$ -lipoproteinů v séru . . . . .	190	

Téma	Název úlohy	strana
18. LIPIDY III . . . . .	Bohuslav Matouš, Karel Hátle	193
1 - Stanovení celkového cholesterolu v séru . . . . .		193
2 - Stanovení cholesterolu a cholesterolových frakcí v séru . . . . .		194
3 - Rozbor žlučových kamenů . . . . .		195
19. DUSÍKATÉ PRODUKTY PŘEMĚNY BÍLKOVIN . . . . .	Petr Schneiderka, Bohuslav Matouš	199
1 - Transaminace aminokyselin . . . . .		200
2 - Spektrofotometrie aktivity aminotransferas . . . . .		201
3 - Stanovení obsahu močoviny v séru (diacetylmonoximová metoda) . . . . .		203
4 - Stanovení močoviny v séru (o-ftaldialdehydová metoda) . . . . .		205
20. TETRAPYRROLOVÁ BARVIVA . . . . .	Miloš Lédvina, Bohuslav Matouš	207
1 - Spektroskopie krevního barviva a karbonylhemoglobinu - Důkaz carbonylhemoglobinu . . . . .		210
2 - Spektroskopie methemoglobinu . . . . .		211
3 - Příprava porfyrinu . . . . .		211
4 - Důkaz enzymové aktivity krve - katalasa . . . . .		211
5 - Stanovení hemoglobinu v krvi kyanidovým činidlem . . . . .		211
6 - Stanovení bilirubinu v séru . . . . .		212
21. NUKLEOVÉ KYSELINY . . . . .	Stanislav Štípek, Jaromír Křemen	215
1 - Příprava kyseliny deoxyribonukleové . . . . .		216
2 - Hydrolýza nukleových kyselin . . . . .		217
3 - Absorpční spektrum roztoku nukleových kyselin . . . . .		219
4 - Chromatografie nukleosidfosfátů adeninu . . . . .		220
5 - Kyselina močová - urikémie, důkaz . . . . .		222
6 - Důkaz složek nukleových kyselin . . . . .		224
22. VYŠETŘENÍ MOČI I (Fyzikální vlastnosti, normální a patologické součásti)	Jaromír Křemen, Miloš Lédvina	227
1 - Fyzikální vyšetření moči . . . . .		230
2 - Chemické vyšetření moči . . . . .		239
2.1 - Vyšetření fiziologických součástí . . . . .		239
2.2 - Důkaz patologických součástí moči . . . . .		240
2.2.1 - Bílkovina . . . . .		242
2.2.2 - Krev a krevní barvivo . . . . .		246

Téma	Název úlohy	strana
23. VYŠETŘENÍ MOČI II (Patologické součásti - pokračování)	Petr Pohlreich, Miloš Ledvina	
2.2.3 - Cukry		249
2.2.4 - Ketonové látky		252
2.2.5 - Žlučová barviva		254
2.2.6 - Důkazy dalších patologických součástí moči		257
24. VYŠETŘENÍ MOČI III	Petr Čechák, Karel Hátle	261
A) Vyšetření močového sedimentu a močového kamene		261
1 - Kvalitativní vyšetření močového sedimentu		262
2 - Kvantitativní vyšetření močového sedimentu		263
3 - Analýza močového kamene		264
B) Funkční vyšetření ledvin		265
4 - Stanovení hladiny kreatininu v séru a v moči		266
5 - Stanovení clearance endogenního kreatininu		269
6 - Test tubulární reabsorpce glukosy		269
25. MINERÁLNÍ LÁTKY V KRVI - ŽALUDEČNÍ ŠTÁVA	Jan Borovanský, Stanislav Štípek	271
A) Minerální látky v krvi		273
1a - Stanovení celkové koncentrace vápníku v séru komplexometricky		273
1b - Stanovení celkové koncentrace vápníku v séru fotometricky		274
2 - Stanovení koncentrace železa v séru fotometricky		275
3 - Stanovení chloridů v biologickém materiálu fotometricky		277
4 - Stanovení chloridů v biologickém materiálu titračně		278
5 - Stanovení anorganického fosfátu v séru		279
B) Hydrogenkarbonáty v plazmě		280
6 - Stanovení aktuálního hydrogenuhličitanu		280
C) Vyšetření žaludeční sekrece		281
7 - Titrace žaludeční štávy		281
26. IMUNOCHEMIE	Stanislav Štípek, Jan Borovanský	285
1 - Imunodifuze (dvojitá difuze) v agaru		288
2 - Agaroforéza		289
3 - Imunoelektroforéza		291
4 - Vyhodnocení jednoduché radiální difuze		292

Téma	Název úlohy	strana
27. TOXIKOLOGICKÉ METODY . . . . .	Karel Hátle, Bohuslav Matouš	293
A) Identifikace léčiv v biologickém materiálu . . . . .	294	
1 - Extrakce léčiv ze vzorku moči . . . . .	295	
2 - Nácvik tenkovrstevné chromatografie pomocí barevné testovací směsi . . . . .	296	
3 - Chromatografie látek kyselé povahy . . . . .	296	
4 - Chromatografie látek bazické povahy . . . . .	297	
5 - Chromatografie amidopyrinu a jeho metabolitů . . . . .	298	
B) Stanovení ethanolu a posouzení konkrétních nálezů . . . . .	299	
6 - Semikvantitativní analýza alkoholu (ethanolu) ve vydechovaném vzduchu . . . . .	299	
28. KLINICKÁ BIOCHEMIE (stáž) . . . . .	Petr Pohlreich, Jiří Kraml	301
Mezinárodní soustava jednotek SI . . . . .	301	
Vyjadřování látkového množství a koncentrace . . . . .	304	
Přehled hodnot běžných klinicko-biochemických vyšetření . . . . .	306	
Úloha 1 - 4 . . . . .	308	
FOTOMETRIE . . . . .	Stanislav Štípek, Miloš Ledvina	309
DODATEK . . . . .		311