

Ú v o d . . . . .	3
1. Obecné pokyny	
1.1. Organizace práce v laboratoři . . . . .	5
2. <u>Základní pomocné práce</u>	
2.1. Čistota laboratorních pomůcek . . . . .	5
2.2. Kvalita destilované vody . . . . .	6
2.3. Příprava roztoků . . . . .	6
3. <u>Základní biochemické operace, metody, přístroje</u>	
3.1. Odběr vzorků a jejich předběžná úprava . . . . .	7
3.1.1. Úprava biologického materiálu pro izolace . . . . .	7
3.1.2. Úprava biologického materiálu pro metabolické studie .	10
3.2. Extrakce směsí látek a dělení . . . . .	11
3.2.1. Srážecí metody . . . . .	13
3.2.2. Oddělení látek na základě velikosti jejich molekul .	15
3.2.3. Zvyšování koncentrace získaných extraktů . . . . .	16
3.2.4. Chromatografické metody . . . . .	17
3.2.4.1. Chromatografie adsorpční . . . . .	18
3.2.4.2. Chromatografie rozdělovací . . . . .	22
3.2.4.3. Chromatografie na měničích iontů . . . . .	35
3.2.4.4. Chromatografie plynová . . . . .	40
3.2.4.5. Afinitní chromatografie . . . . .	43
3.2.5. Elektroforetické metody . . . . .	44
3.3. Optické metody . . . . .	55
3.3.1. Metody založené na absorpci záření . . . . .	58
3.3.2. Ostatní optické metody . . . . .	63
3.4. Kontinuální měření rozpustného kyslíku . . . . .	68
4. <u>Část speciální</u>	
4.1. Bílkoviny . . . . .	69
4.1.1. Izolace krystalické bílkoviny . . . . .	71
4.1.2. Izolace jednoduchých bílkovin na základě jejich rozpustnosti . . . . .	74
4.1.2.1. Fyzikálně chemické vlastnosti bílkovin vína . . . . .	75
4.1.2.2. Izolace jednoduchých bílkovin z obilovin . . . . .	78
4.1.3. Identifikační reakce bílkovin a aminokyselin . . . . .	80
4.1.3.1. Biuretová reakce . . . . .	80

4.1.3.2.	Ninhydrinová reakce . . . . .	81
4.1.3.3.	Xanthoproteinová reakce . . . . .	82
4.1.3.4.	Reakce Adamkiewiczova - Hopkinsova - Coleova . . . . .	82
4.1.3.5.	Důkaz síry v bílkovinách . . . . .	83
4.1.4.	Stanovení bílkovin . . . . .	83
4.1.4.1.	Refraktometrické stanovení obsahu bílkovin . . . . .	83
4.1.4.2.	Spektrofotometrické stanovení bílkovin . . . . .	84
4.1.4.3.	Stanovení bílkovin biuretovou reakcí . . . . .	84
4.1.4.4.	Stanovení bílkovin metodou Lowryho . . . . .	84
4.1.4.5.	Stanovení bílkovin s oranžím G . . . . .	85
4.1.4.6.	Stanovení bílkovin na základě obsahu dusíku . . . . .	85
4.2.	Vitamíny . . . . .	88
4.2.1.	Karotenoidy . . . . .	88
4.2.2.	Kyselina L - askorbová a L - dehydroaskorbová . . . . .	90
4.2.3.	Adsorpční chromatografie některých ve vodě rozpustných vitaminů na tenké vrstvě . . . . .	93
4.3.	Enzymy . . . . .	94
4.3.1.	Faktory ovlivňující aktivitu enzymů . . . . .	94
4.3.1.1.	Stanovení aktivity dehydrogenáz . . . . .	100
4.3.1.2.	Stanovení Michaelisovy konstanty a typu inhibice. . . . .	102
4.3.1.3.	Stanovení aktivity peroxidázy . . . . .	104
4.4.	Sacharidy . . . . .	105
4.4.1.	Izolace sacharidů . . . . .	106
4.4.2.	Čištění extraktů . . . . .	106
4.4.3.	Obecné vlastnosti a reakce cukrů . . . . .	106
4.4.3.1.	Redukční vlastnosti cukrů . . . . .	107
4.4.3.2.	Reakce cukrů s kyselinami . . . . .	108
4.4.3.3.	Reakce cukrů s fenyldiazinem . . . . .	108
4.4.3.4.	Důkaz aminocukrů . . . . .	109
4.4.4.	Chromatografické rozdělení sacharidů . . . . .	109
4.4.5.	Kvantitativní stanovení sacharidů . . . . .	111
4.4.5.1.	Metoda Kjeldahl - Bertandova . . . . .	111
4.4.5.2.	Metody spektrofotometrické . . . . .	114
4.5.	Alkoholy . . . . .	116
4.5.1.	Stanovení ethanolu ve víně nebo moštu refraktometricky . . . . .	116
4.6.	Organické kyseliny . . . . .	119
4.6.1.	Organické kyseliny ve víně a moštu . . . . .	119
4.7.	Aminokyseliny . . . . .	120
4.7.1.	Chromatografické rozdělení aminokyselin . . . . .	120
4.7.2.	Stanovení aminokyselin . . . . .	123
4.8.	Nukleové kyseliny . . . . .	124
4.8.1.	Izolace kyseliny ribonukleové z kvasnic . . . . .	124
4.8.2.	Stanovení čistoty nukleových kyselin . . . . .	125
4.8.2.1.	Mineralizace organické hmoty/mokrou cestou / . . . . .	125
4.8.2.2.	Určení čistoty nukleových kyselin na základě fosfor.složky . . . . .	125
4.8.2.3.	Stanovení nukleových kyselin na základě cukerné složky . . . . .	126
4.8.2.4.	Stanovení nukleových kyselin na základě pyrimidinových a purinových bází . . . . .	127
Přílohy:	I. Příprava náročnějších roztoků pro laboratorní pokusy . . . . .	128
	II. Příprava tlumivých roztoků používaných ve cvičení . . . . .	129
Pomocné tabulky . . . . .		130 - 136