

# KVANTITATIVNÍ STANOVENÍ AMINOKYSELIN

## Úloha 1: Stanovení absorpčního maxima a molárního absorpčního koeficientu

### **Roztoky a pomůcky:**

0,1% roztoky aminokyselin

0,5% roztok ninhydrinu v ethanolu

stojánek na zkumavky

umělohmotné uzavíratelné zkumavky

pístové mikropipety

sušárna

### **Postup:**

Do uzavíratelné zkumavky odpipetujte 100  $\mu$ l vodného roztoku aminokyseliny, přidejte 300  $\mu$ l 0,5% roztoku ninhydrinu v ethanolu a 2 ml demineralizované vody. Do druhé zkumavky místo aminokyseliny odpipetujte 100  $\mu$ l vody. Zkumavky vložte na 15 min do sušárny vyhřáté na 120°C. Následně zkumavky ochlaďte během 5 min na laboratorní teplotu a proměřte spektrum proti blanku. Zjistěte vlnovou délku absorpčního maxima a vypočtete molární absorpční koeficient podle vztahu:

$$\varepsilon = \frac{A}{c \cdot l}$$

c – koncentrace (mol/l); l – délka kyvety (cm); A – absorbance;  $\varepsilon$  - molární absorpční koeficient (l/mol.cm)

## Úloha 2: Kvantitativní analýza

### **Roztoky a pomůcky:**

viz. Úloha 1

### **Postup:**

Ze zásobního roztoku známé aminokyseliny odpipetujte do uzavíratelných zkumavek následující objemy: 40, 60, 80, 100, 120, 140 a 160  $\mu$ l. Do další zkumavky 100  $\mu$ l neznámého vzorku. Doplňte všechny zkumavky demineralizovanou vodou na objem 200  $\mu$ l a do poslední zkumavky (blank) napipetujte 200  $\mu$ l vody. Do všech zkumavek přidejte 300  $\mu$ l 0,5% roztoku ninhydrinu v ethanolu a 2 ml demineralizované vody. Zkumavky vložte na 15 min do sušárny vyhřáté na 120°C. Následně zkumavky ochlaďte během 5 min na laboratorní teplotu a měřte absorbanci jednotlivých roztoků proti blanku při vlnové délce absorpčního maxima. Vypočtete koncentraci aminokyseliny v neznámém vzorku pomocí kalibrační křivky. Do závěru uveďte molární absorpční koeficient a obsah aminokyseliny v neznámém vzorku.

### **Závěr:**

