

Metoda Bradfordové je jednou z metod používaných k stanovení koncentrace bílkovin. Existuje několik dalších metod, jako je Kjeldahlova metoda, biuretova metoda, BCA metoda nebo Lowryho metoda. V rámci tohoto úkolu jsme se zaměřili právě na metodu Bradfordové.

Princip této metody spočívá ve vazbě barviva Coomassie Brilliant Blue G-250 na molekulu proteinu. Tato vazba způsobuje posun absorpčního maxima z 464 nm na 595 nm. Měření absorbance při 595 nm slouží jako indikátor koncentrace bílkovin v analyzovaném vzorku.

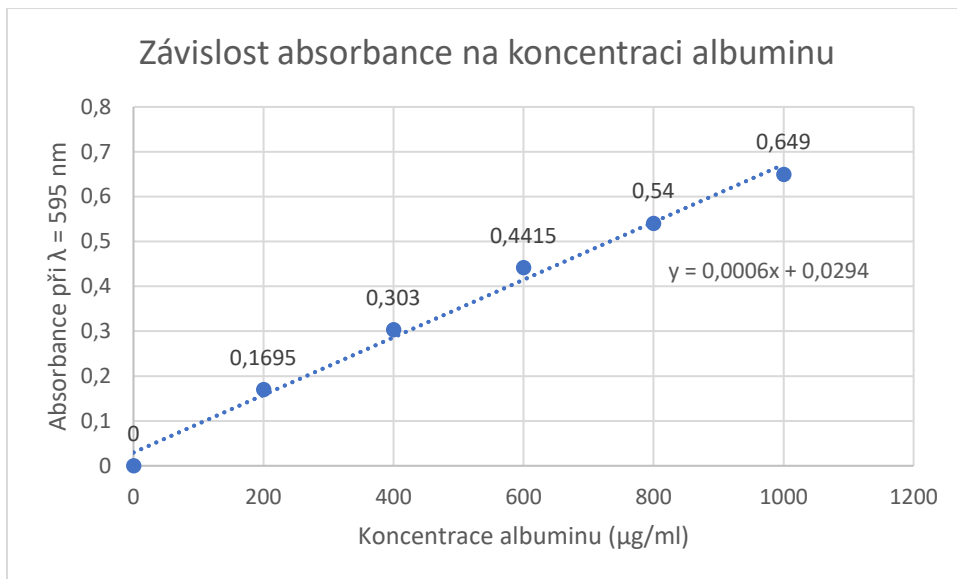
Pro získání co nejpřesnějších výsledků je důležité, aby standardní roztok bílkoviny měl podobné složení jako testovaný vzorek. Citlivost metody Bradfordové se udává jako 1 mg/ml a je ovlivněna obsahem bazických a aromatických aminokyselin.

Je třeba poznamenat, že spolehlivost metody Bradfordové je nižší než u BCA metody, kvůli negativnímu působení detergentů, jako je SDS nebo Triton. Tyto látky mohou ovlivnit výsledky a snížit přesnost měření.

Zákal (%)	Vs (mg)	V (mg)
90	13853,3	13841,3
80	14393,2	14381,3
70	13103,7	13092,0

<i>Bacillus subtilis</i>			
Zákal (%)	Hmotnost bakteriální sušiny (mg/ml) 1. skupina	Hmotnost bakteriální sušiny (mg/ml) 2. skupina	Hmotnost bakteriální sušiny (mg/ml) průměr
90	0,55	0,65	0,60
80	0,50	2,50	1,50
70	0,40	13,6	7,00

Zkumavka č.	Koncentrace albuminu (µg/ml)	Absorbance (1. skupina)	Absorbance (2. skupina)	Absorbance (průměr)
1	0	0,000	0,000	0,000
2	200	0,188	0,151	0,1695
3	400	0,321	0,285	0,303
4	600	0,433	0,450	0,4415
5	800	0,585	0,495	0,540
6	1000	0,687	0,611	0,649



Průměrná hmotnost bakteriální sušiny *Bacillus subtilis* při různých stupních zákalu je následující: při 90% zákalu je 0,60 mg/ml, při 80% zákalu je 1,50 mg/ml a při 70% zákalu je 7,00 mg/ml. Rozdíly mezi hodnotami v první a druhé skupině mohou být způsobeny nepřesným pipetováním kultury do váženek nebo chybou při vážení.

Koncentrace bílkovin stanovená pomocí metody Bradfordové při různých stupních zákalu je následující: při 90% zákalu je 130,167 µg/ml, při 80% zákalu je 74,334 µg/ml a při 70% zákalu je 48,500 µg/ml. Rozdíly mezi skupinami mohou být způsobeny chybou při pipetování vzorku.

<i>Bacillus subtilis</i>					
Zákal (%)	Absorbance 1. skupina	Absorbance 2. skupina	Koncentrace bílkovin (µg/ml) 1. skupina	Koncentrace bílkovin (µg/ml) 2. skupina	Koncentrace bílkovin (µg/ml) průměr
90	0,132	0,083	171,000	89,333	130,167
80	0,106	0,042	127,667	21,000	74,334
70	0,080	0,037	84,333	12,667	48,500