Úkoly

Cvičení (datum vaší skupiny)

1) Vypočítat rovnici kalibrační přímky TBARs
2) Vypočítat limit detekce (LOD) a limit kvantifikace (LOQ) z kalibrační křivky standardů (například viz lis
3) Graficky znázornit rovnici kalibrační přímky s vyznačením příslušných SD (směrodatných odchylek)
4) Porovnat retenční čas (rf) píku ve standardním roztoku a v extraktu vzorku a rozhodnout, zda se TBA
5) Pokud se shodují rf píku ve vzorku a standardu, ale vypočtená koncentrace ve vzorku je menší než k
6) Pokud se shodují rf píku ve vzorku a v standardu a vypočtená koncentrace ve vzorku je větší než kor
7) Z určené koncentrace (μM) z kalibrační přímky vypočtěte množství TBARs ve vašem vzorku s přihléd
8) Pokuste se o krátkou diskuzi, zhodnocení cvičení

Otázky & Odpovědi

	Jméno		
	Datum cvičení		
	Název vzorku		
1)	Směrnice (slope) kalibrační přímky TBARs?		
2)	Intercept kalibrační přímky TBARs?		
3)	LOD		μM
4)	LOQ		μM
5)	Koncentrace TBARs v reakční směsi		μM
6)	Koncentrace TBARs ve vzorku		nmol / mg r

7) Diskuze vašich výsledků (srovnání s podobnými tkáněmi; rozdíly rostlina vs. živočišná tkáň; (

st "jak vypočítat LOD, LOQ")

ıRs ve vzorku nachází (rf std +-0.1min)
oncentrace označená jako LOQ (limit kvantifikace), počítejte koncentraci TBARs ve vašem vzorku jako
ıcentrace určená jako LOQ, výsledkem je koncentrace TBARs v roztoku podle kalibrační přímky (μM)
ılnutím k ředěním a vyjádřete v jednotkách (nmol / mg mokré váhy)

ınokré váhy tkáně

orientační podíl vody, tuku mezi vzorky; vzorky pod LOQ a změna jejich ředění)

hodnotu rovnou 1/2 LOQ

Výsledky měření

Instrument	Agilent 1100
Software	Agilent ChemStation for LC and LC/MS system
Column	SUPELCO ABZ+Plus (15cmx4.6mm; 5μm)
LC-file	C:\HPCHEM\1\DATA\Cviko_TBARS_2014
Date	10-Nov-14
Method	MDA_I.m
Analysis time	5min

ORIENTAČNÍ - slouží pro diskuzi - k výpočtu použijte plochu a rf, které jste sami odečetli z chromatogramu

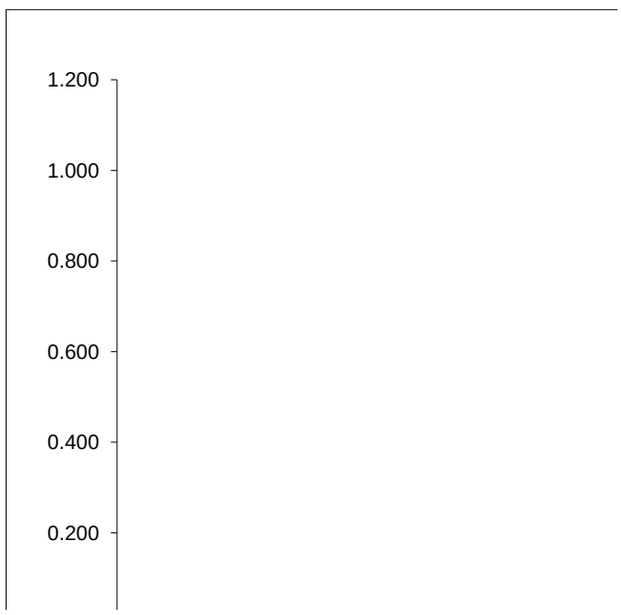
vzorek	rf	plocha píku
LŠ_kapusta		25.9
LŠ_ srdce		x
MM_ játra smažená		45.0
VM_ játra potkan		36.8
NN_ kapr		58.6
OB_ rostlina		318.3
ER_kapr		51.2
EŠ_jablko		41.6
ES_kapr		49.9
ZN_kobliha		48.7

Vyhodnocení

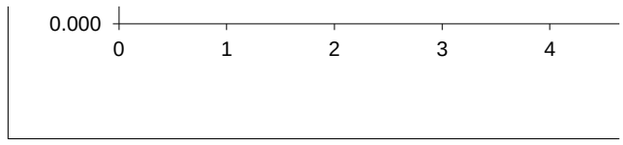
c std MDA-TBA (TBARS) μM	**Ředění**	**finální c std MDA-TBA (TBARS) μM**	**A1**	**A2**	**A3**	**Průměr A**	**SD**	**Cv%**
0.0 (Blank)	1	0	19.0	21.1	20.4			
	1	0.01	27.5	27.1	28.9			
	1	0.02	26.1	27.8	28.4			
	1	0.04	30.1	36.5	31.9			
	1	0.1	45.3	46.0	40.1			
	1	0.2	65.6	60.6	64.2			
	1	0.4	105.6	100.8	106.7			
	1	0.8	200.0	193.8	189.3			
	1	1.2	278.6	295.3	280.2			
	1	2.4	488.0	506.6	458.3			
	1	4.8	998.8	971.8	903.3			
Kalibrační přímka: Plocha(532nm) = SLOPE * c (μM) + INTERCEPT								
		SLOPE (Směrnice):				**#DIV/0!**		

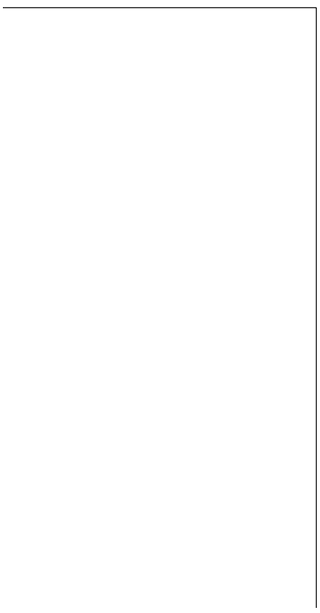
					Intercept:	#DIV/0!		
Vzorek	**Ředění tkáně**	**Redění homogenátu**	**A**	**C μM**	**finální C nmol/mg tkáně**	**SD**	**Cv%**	**rf (min)**
LŠ_kapusta								
LŠ_ srdce								
MM_ játra smažená								
VM_ játra potkan								
NN_ kapr								
OB_rostlina								
ER_kapr								
EŠ_jablko								
ES_kapr								
ZN_kobliha								

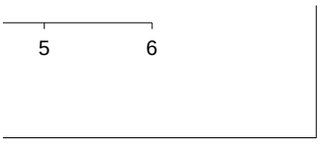
rf průměr (min)	
2.645	
2.633	
2.637	
2.642	
2.638	
2.648	
2.619	
2.665	
2.652	
2.534	
2.567	



A orientační
25.9
x
45.0
36.8
58.6
318.3
51.2
41.6
49.9
48.7






5
6

Výsledky měření

Instrument	Agilent 1100
Software	Agilent ChemStation for LC and LC/MS system
Column	SUPELCO ABZ+Plus (15cmx4.6mm; 5μm)
LC-file	C:\HPCHEM\1\DATA\Cviko_TBARS_2014
Date	14-Nov-14
Method	MDA_I.m
Analysis time	5min

ORIENTAČNÍ - slouží pro diskuzi - k výpočtu použijte plochu a rf, které jste sami odečetli z chromatogramu

vzorek	rf	plocha píku
MB_Echynka		292.1
KJ_srdce		x
JJ_such.jedle		731.0
HK_hruška		68.3
ZM_smaž.játra		68.1
AS_sýr		27.8
MS_fikus		x
JT_kaktus		309.0

Vyhodnocení

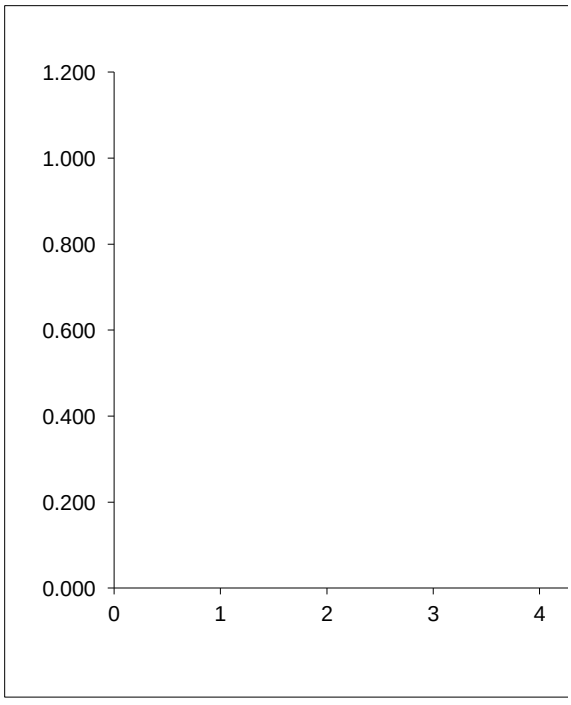
c std MDA-TBA (TBARS) μM	Ředění	finální c std MDA-TBA (TBARS) μM	A1	A2	A3	Průměr A	SD
0.0 (Blank)	1	0	19.0	21.1	20.4		
	1	0.01	27.5	27.1	28.9		
	1	0.02	26.1	27.8	28.4		
	1	0.04	30.1	36.5	31.9		
	1	0.1	45.3	46.0	40.1		
	1	0.2	65.6	60.6	64.2		
	1	0.4	105.6	100.8	106.7		
	1	0.8	200.0	193.8	189.3		
	1	1.2	278.6	295.3	280.2		
	1	2.4	488.0	506.6	458.3		
	1	4.8	998.8	971.8	903.3		
Kalibrační přímka: Plocha(532nm) = SLOPE * c (μM) + INTERCE							
		SLOPE (Směrnice):					
		Intercept:					

Vzorek	Ředění tkáně	Ředění homogenátu	A	C μM	finální C nmol/mg tkáně	SD	Cv%
MB_Echynka							

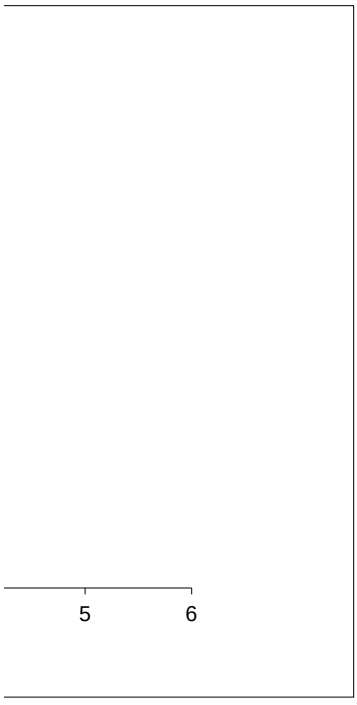
KJ_srdce							
JJ_such.jedle							
HK_hruška							
ZM_smaž.játra							
AS_sýr							
MS_fikus							
JT_kaktus							

Cv%	rf min	
	2.645	
	2.633	
	2.637	
	2.642	
	2.638	
	2.648	
	2.619	
	2.665	
	2.652	
	2.534	
	2.567	
:PT		
#DIV/0!		
#DIV/0!		

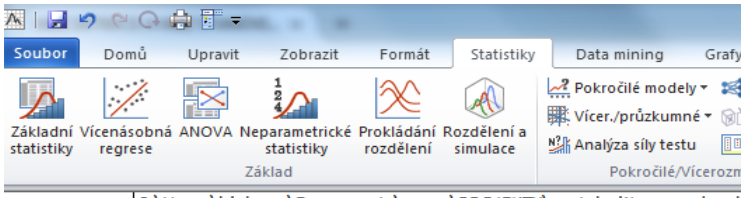
rf min	A
	292.1



	x
	731.0
	68.3
	68.1
	27.8
	x
	309.0


5
6

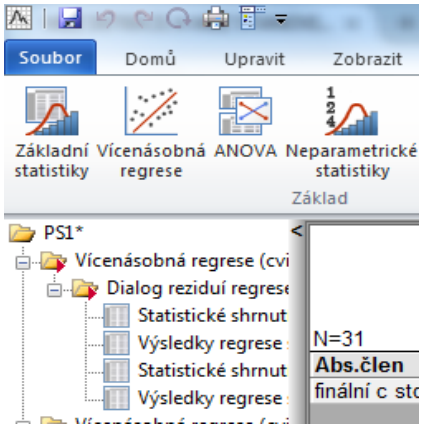
1. vytvořit soubor (koncentrace kalibracnich roztoků x plocha píku) ve statistice (import z .xls)



C:\Users\blahova\Documents\prace\PROJEKTY\metabolites_prednask

	finální c std MDA-TBA (TBARS) mM	A1	A2	A3
1	0	1		
2	0.01	10		
3	0.02	20		
4	0.04	30		
5	0.1	40		
6	0.2	80		
7	0.4	160		
8	0.8	320		
9	1.2	480		
10	2.4	900		
11	0	1		
12	0.01	10		
13	0.02	20		
14	0.04	30		
15	0.1	40		
16	0.2	80		
17	0.4	160		
18	0.8	320		
19	1.2	480		
20	2.4	900		
21	0	1		
22	0.01	10		
23	0.02	20		
24	0.04	30		
25	0.1	40		
26	0.2	80		
27	0.4	160		
28	0.8	320		
29	1.2	480		
30	2.4	900		

2. vybrat "vícenásobná regrese"
3. zadat "závislé a nezávislé prom
4. vybrat "výsledky regrese se záv
5. určit směrodatnou chybu interce
6. LOD (LOQ) určit **například** ze v

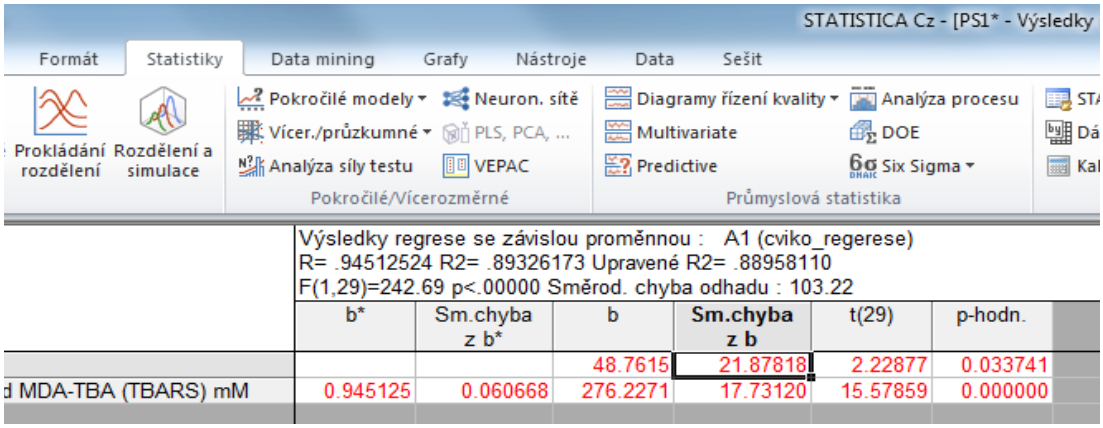


7. LOD (LOQ) lze určit i dalšími rů

ěnné"
islou proměnnou"
eptu
ztahu: sa (směrodatná odchylka interceptu "a" lineární závislosti y = a + bx); m (slope, b)

$LOD =$

$LOQ =$



Výsledky regrese se závislou proměnnou : A1 (cviko_regerese)
R= .94512524 R2= .89326173 Upravené R2= .88958110
F(1,29)=242.69 p<.00000 Směrod. chyba odhadu : 103.22

	b*	Sm.chyba z b*	b	Sm.chyba z b	t(29)	p-hodn.
			48.7615	21.87818	2.22877	0.033741
d MDA-TBA (TBARS) mM	0.945125	0.060668	276.2271	17.73120	15.57859	0.000000

známými způsoby (trojnásobek šumu baseline)

$$= \frac{3.s_a}{m}$$

$$= \frac{10.s_a}{m}$$