

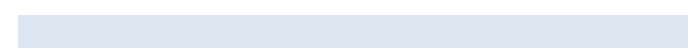
Úkoly

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 list "jak vypočítat LOD, LOQ"), pokud využijete jiný způsob určení LOD/LOQ, popište postup.
- 3) Graficky znázornit rovnici kalibrační přímky s vyznačením příslušných SD (směrodatných odchylek)
- 4) Porovnat retenční čas (rt) píku ve standardním roztoku a v extraktu vzorku a rozhodnout, zda se TBARS ve vzorku nachází (rt std +0.1min)
- 5) Pokud se shodují rt píku ve vzorku a standardu, ale vypočtená koncentrace ve vzorku je menší než koncentrace označená jako LOQ (limit kvantifikace) nebo LOD (limit detekce), počítejte pro CVIČNÉ účely koncentraci TBARS ve vašem vzorku jako hodnotu rovnou 1/2 LOQ
- 6) Pokud se shodují rt píku ve vzorku a v standardu a vypočtená koncentrace ve vzorku je větší než koncentrace určená jako LOQ, je výsledkem koncentrace TBARS v roztoku určená podle kalibrační přímky (μM)
- 7) Z určené koncentrace (μM) z kalibrační přímky vypočtete celkové množství TBARS ve vašem vzorku s přihlédnutím k ředění kalibračních roztoků a vašeho analyzovaného vzorku a vyjádřete v jednotkách (nmol / g mokré váhy). K tomuto výpočtu je třeba přečíst postup, jakým byly připraveny vzorky.
- 8) Pokuste se alespoň o krátkou diskusi k obsahu TBARS ve vašich vzorcích, ve vzorcích kolegů, o zhodnocení cvičení a o připomínky ke cvičení. Jaké látky reagují s TBA? Co znamená vysoká/nízká koncentrace TBARS?

Otázky & Odpovědi

	Jméno	
	Datum cvičení	
	Název vzorku	
1)	Směrnice (slope) kalibrační přímky TBARS?	μM
2)	Intercept kalibrační přímky TBARS?	μM
3)	LOD	ANO-NE
4)	LOQ	ANO - μM
5)	TBARS v reakční směsi	NE-1/2 LOQ
		ANO-NE
6)	TBARS v analyzovaném vzorku	ANO - nmol / mg mokré váhy tkáně
		NE-1/2 LOQ nmol / mg mokré váhy tkáně



veny roztoky ke konstrukci kalibrační křivky



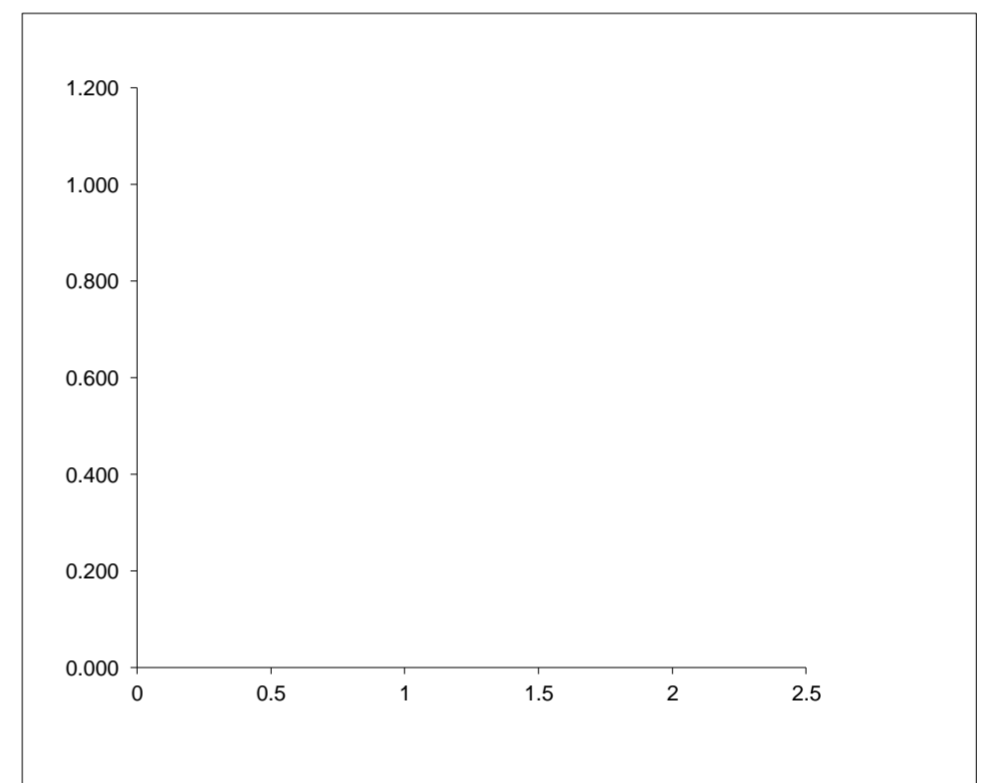
Výsledky měření

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_2015
 Date 07-Dec-15
 Method MDA_I.m
 Analysis time 5min

student	vzorek	rf	plocha píku

Vyhodnocení

kalibrační roztok dle protokolu	Ředění	koncentrace std MDA-TBA (TBARS) µM	A1	A2	A3	Průměr A	SD	Cv%	rf průměr (min)
K0	0	0	29.0	28.4	26.8				2.386
	0.01	0.01	28.5	29.1	29.9				2.377
	0.02	0.02	32.1	31.8	31.4				2.388
	0.04	0.04	40.1	42.5	41.9				2.392
K1	0.1	0.1	48.3	51.0	49.9				2.409
K2	0.2	0.2	75.6	75.6	74.2				2.399
K3	0.4	0.4	141.6	140.8	142.7				2.308
	0.8	0.8	280.0	293.8	288.3				2.397
K4	1	1	358.6	325.3	340.2				2.399
	2	2	688.0	606.6	649.3				2.410
Kalibrační přímka: Plocha(532nm) = SLOPE * c (µM) + INTERCEPT									
SLOPE (Směrnice):						#DĚLENÍ_NULOU!			
Intercept:						#DĚLENÍ_NULOU!			
Vzorek	Ředění tkáně	Ředění homogenního	A	C µM	rf (min)	vzorek	pzn.	finální C nmol/g tkáně	



Návrh postupu:

	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		

1. vytvořit soubor (koncentrace kalibračních roztoků x plocha píku) ve statistice (import z .xls)
2. vybrat "vícenásobná regrese"
3. zadat "závislé a nezávislé proměnné"
4. vybrat "výsledky regrese se závislou proměnnou"
5. určit směrodatnou chybu interceptu
6. LOD (LOQ) určit **například** ze vztahu: s_a (směrodatná odchylka interceptu "a" lineární závislosti $y = a + bx$); m (slope, b)

$$LOD = \frac{3 \cdot s_a}{m}$$

$$LOQ = \frac{10 \cdot s_a}{m}$$

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.
Abs.člen			48.7615	21.87818	2.22877	0.033741
finální c std MDA-TBA (TBARS) mM	0.945125	0.060668	276.2271	17.73120	15.57859	0.000000

7. LOD (LOQ) lze určit i dalšími různými způsoby (např. trojnásobek šumu baseline, aj.)