

TBT4107 Biokjemi 2

Oppgave 1: Innføring i bruk av automatpipette og spektrofotometri

Ove Øyås

NTNU, 9. februar 2012

1 Resultater

En standardkurve ble framstilt basert på data fra Tabell 1. Kurven er vist i Figur 1 og beskrives av det lineære uttrykket

$$y = 0,0473x + 0,0335 \quad (1)$$

med bestemmelseskoeffisient $R^2 = 0,99118$.

Videre ble absorbansen målt i tre ulike paralleller for en prøve med ukjent konsentrasjon av stock-løsning. Resultatet fra disse målingene er gitt i Tabell 2. En gjennomsnittsverdi ble benyttet og ga ved innsetting i ligning (1) en stock-løsningkonsentrasjon på 46,2 µg/mL (multiplisert med 10 for å ta hensyn til fortynning 1:10).

Tabell 1: Rådata for framstilling av standardkurve. Absorbans ved 595 nm er målt for ulike konsentrasjoner av stock-løsning, C_{stock} . Absorbansen ble målt i tre ulike paralleller for hver konsentrasjon og en gjennomsnittsverdi ble beregnet.

C_{stock} [µg/ml]	Absorbans, 595 nm			Gjennomsnittlig absorbans, 595 nm
	Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	
0	0,000	0,019	0,031	0,017
2	0,123	0,135	0,130	0,129
4	0,223	0,234	0,246	0,234
6	0,339	0,334	0,328	0,334
8	0,419	0,428	0,424	0,424
10	0,494	0,476	0,478	0,483

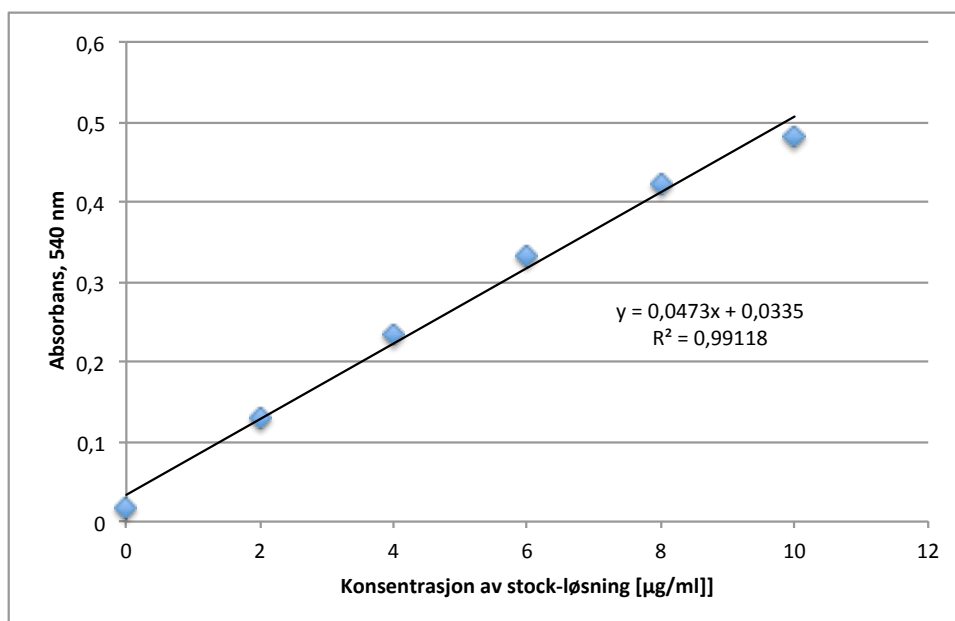
Standardavviket for målingene av absorbans i den ukjente prøven ble beregnet fra uttrykket

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{N - 1}} \quad (2)$$

der x er verdi fra én måling, \bar{x} er gjennomsnittlig verdi for alle målinger og N er antall paralleller. Standardavviket for gjennomsnittet ble beregnet fra

$$SDOM = \frac{1}{\sqrt{N}} \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{N - 1}} = \frac{SD}{\sqrt{N}} \quad (3)$$

Fra verdier i 2 ble standardavviket bestemt til 0,00321 for enkeltmålingene og 0,00186 for gjennomsnittet.



Figur 1: Standardkurve. Absorbans ved 595 nm som funksjon av konsentrasjon av stock-løsning.

Tabell 2: Absorbans ved 595 nm målt i tre ulike paralleller for en prøve med ukjent konsentrasjon av stockløsning.

Absorbans, 595 nm			Gjennomsnittlig absorbans, 595 nm
Parallell 1	Parallell 2	Parallell 3	
0,256	0,251	0,250	0,252

2 Spørsmål til innlevering

1. Gi en kort forklaring på hvordan man pipetterer.

Før pipettering stilles ønsket volum inn på automatspipetten. Sett på spiss og pass på å ikke ta på tuppen som skal ned i løsningen. Trykk stampelet ned til første positive stopp, og hold stampelet der. Hold pipetten vertikalt og dypp pipettespissen ned i prøveløsningen. Spissen skal ikke stikke dypt, kun litt under overflaten. Slipp stampelet sakte opp og vent 1-2 sekunder for å være sikker på at hele prøvevolumet er trukket inn i pipettespissen. Ta pipetten ut av prøveløsningen. Eventuelle dråper av løsning utenpå spissen etterlates ved å føre spissen langs veggen i beholderen. For å få ut løsningen trykkes stampelet sakte ned til første stopp. Vent 1-2 sekunder. Press stampelet videre ned til andre stopp. Dette kan gjentas til all løsningen er kommet ut. Ta pipetten opp fra beholderen du har tilført væske til. Eventuelle dråper av løsning utenpå spissen etterlates ved å føre spissen langs veggen i beholderen. Spissen tas av med et stempel på siden av pipetten.

2. Hvordan skal man holde pipetten når man pipetterer?

Pipetten holdes i én hånd med tommelen på stampelet. Det er viktig å holde pipetten vertikalt.

3. Hvorfor skal man aldri legge ned pipetten med løsning i spissen?

Dersom man legger ned pipetten med løsning i spissen, kan løsning komme inn i pipetten. Pipetten må da renses før videre bruk.

4. Hvorfor er det viktig å alltid se på pipettespiss/løsning når man pipetterer?

Det er viktig å følge med på pipettespissen ved pipettering for å passe på at den hele tiden stikker ned i løsningen.

5. Hvilke konsekvenser kan det få hvis man ikke følger med underveis og ikke pipetterer riktig?

Dersom man ikke pipetterer riktig vil man kunne få betydelige feil i utmålt volum, noe som vil påvirke de eksperimentelle resultatene. Små volumfeil kan ha stor innvirkning på kvaliteten på resultatene.