

Deriváty hemoglobinu/Spektrofotometrie derivátů hemoglobinu

Hemoglobin a jeho deriváty mají ve viditelné oblasti světla charakteristická absorpční spektra, kterých se využívá k jejich analýze a rychlé identifikaci. Pro všechny hemoproteiny jsou typická výrazná absorpční maxima v oblasti 400–430 nm, tzv. Soretův pás. Další absorpční vrcholy jsou podstatně nižší. **Oxyhemoglobin** je charakterizován dvěma neúplně oddělenými maximy v oblasti 540 a 578 nm. **Deoxyhemoglobin** má jedno absorpční maximum při 555 nm. Hlavní absorpční maximum **methemoglobinu** je při 630 nm a druhý nevýrazný vrchol při 500 nm je závislý na pH. Reakcí methemoglobinu s kyanidem draselným mizí maximum při 630 nm, neboť vzniká kyanmethemoglobin. Pokles absorbance při 630 nm je úměrný koncentraci methemoglobinu. **Kyanmethemoglobin** vykazuje široké absorpční maximum při 540 nm, kterého se využívá při stanovení koncentrace hemoglobinu v krvi. Spektrum **karbonylhemoglobinu** se podobá spektru oxyhemoglobinu, ale poloha vrcholů je posunuta směrem k nižším vlnovým délkám.

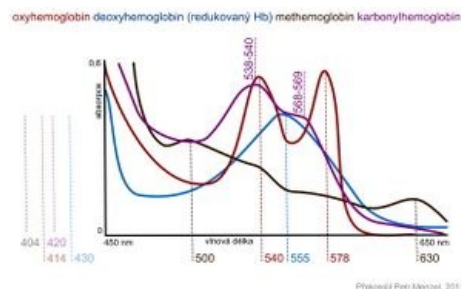
Absorpční maxima hemoglobinu a jeho derivátů

Derivát hemoglobinu	Absorpční maxima [nm]
Hemoglobin redukovaný	431, 555
Oxyhemoglobin	414, 540, 578
Methemoglobin	404, 500, 630
Karbonylhemoglobin	420, 538–540, 568–569
Kyanmethemoglobin	421, 540

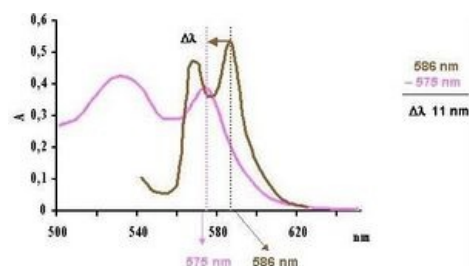
Stanovení karbonylhemoglobinu:

Stanovení karbonylhemoglobinu v krvi patří mezi základní toxikologická vyšetření. Je objektivním kritériem při hodnocení akutních i chronických otrav oxidem uhelnatým.

- **Spektrofotometrické hodnocení.** Karbonylhemoglobin lze stanovit rychle spektrofotometricky na základě odečtení posunu absorpčního maxima ředěné krve od 586 nm^[1]. Posun maxima ve spektru je závislý na poměru COHb a O₂Hb ve vzorku.
- **Reakce s taninem.** Orientačně lze karbonylhemoglobin stanovit reakcí s taninem nebo Ajatinem (asi od 10 % COHb). Tanin vytváří v přítomnosti karbonylhemoglobinu jahodově červenou sraženinu. V nepřítomnosti karbonylhemoglobinu je zbarvení sraženiny hnědošedé.
- **Analyzátory acidobazické rovnováhy.** Analýzu toxikologicky nejdůležitějších derivátů hemoglobinu COHb a metHb umožňují rovněž moderní analyzátory acidobazické rovnováhy, které mají zabudovaný fotometrický systém pro jejich měření.



Absorpční spektra hemoglobinu a jeho derivátů



Stanovení karbonylhemoglobinu spektrofotometrie

Odkazy

Související články

- Spektrofotometrie
- Acidobazická rovnováha

Reference

1. LEDVINA, M. Rychlé spektrofotometrické stanovení karbonylhemoglobinu v krvi. *Biochem Clin Bohemoslov.* 1987, vol. 16, s. 493-495, ISSN 0139-9608.