

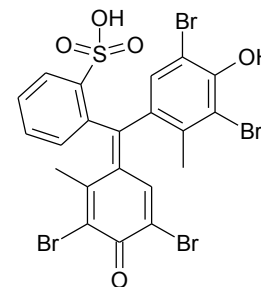
Albumiini fotomeetriline määramine.

31.08.15

<http://tera.chem.ut.ee/~koit/arstpr/albu.pdf>

1 Sissejuhatus

Albumiin on vereplasma valk, mida toodetakse maksas ja mis on kõige kõrgema kontsentratsiooniga valk vereplasmas. Albumiini leidub ka munavalges. Normaalne albumiini sisaldus inimese vereplasmas on 3,5 kuni 5,0 g/dl. Puhverlahuses, mille pH on 4, tekib albumiini reaktsioonil broomkresoolroheline (Joonis 1) sinise värvusega ühend. Sinise värvuse intensiivsus ja lahuse optiline tihedus 670 nm juures on võrdelises seoses albumiini kontsentratsiooniga lahuses (Beeri seadus). Albumiini sisaldus analüüsitavas proovis leitakse arvutusmeetodil, tuginedes nn. null-lahuse, teadaoleva albumiinikontsentratsiooniga standardlahuse ja analüüsitava proovi lahuse optilise tiheduse mõõtmisele.



Joonis 1. Broomkresoolroheline

2 Töö eesmärk

Albumiini kontsentratsiooni määramine (kvantitatiivne analüüs) analüüsitavas proovis kolorimeetrilisel meetodil kasutades kahe punkti järgi kalibreerimist.

3 Vajalikud aparaadid, reaktiivid ja töövahendid

- Fotomeeter (fotoelektriline kolorimeeter) ja küvetid lahusekihi paksusega 1,0 cm.
- Reagent albumiini määramiseks: 0,01 % broomkresoolroheline lahus puhverlahuses pH=4. (Puhverlahus on valmistatud 0,05 M kaaliumvesinikftalaadist. 25°C juures on lahuse pH 4,008.)
- Albumiini standardlahus: 50,00 g albumiini on lahustatud 1 liitris destilleeritud vees.
- Füsioloogiline lahus: 9,00 g analüütiliselt puhast NaCl on lahustatud 1 liitris destilleeritud vees.
- Töös kasutatakse 10 cm³ mahuga katseklaase, 5 cm³ ja 1,0 cm³ gradueeritud pipette.

4 Analüüsi käik

4.1 Lahuste valmistamine

Katseklaasidesse valmistatakse lahused vastavalt järgnevale tabelile (kõige viimasena lisatakse kõigile proovidele reagenti lahus). Peale valmistamist lastakse lahustel seista 15 min. Samal ajal saab valmis seada kolorimeetri (p 4.2).

| Reagentid | Null-lahus | Albumiini standard | | | | Analüüsitav proov | | |
|--|------------|--------------------|-------|-------|-------|-------------------|-------|--|
| | No. 1 | No. 2 | No. 3 | No. 4 | No. 5 | No. 6 | No. 7 | |
| Proov, cm ³ | - | - | - | - | 0,2 | 0,2 | 0,2 | |
| Albumiini standardlahus, cm ³ | - | 0,2 | 0,2 | 0,2 | - | - | - | |
| Füsioloogiline lahus, cm ³ | 0,2 | - | - | - | - | - | - | |
| Reagent albumiini määramiseks, cm ³ | 5,00 | 5,00 | 5,00 | 5,00 | 5,00 | 5,00 | 5,00 | |

4.2 Kolorimeetriga КФК-2МП mõõtmine

Kõigi lahuste optiline tihedus (A) mõõdetakse fotoelektrilisel kolorimeetril 670 nm juures destilleeritud vee suhtes (viiakse läbi 3 paralleelmõõtmist). Mõõdetud optilise tiheduse väärtustest leitakse aritmeetiline keskmine.

1. Sisselülitamine:
 - 1.1. Ühendada võrku ja lülitada sisse (tabloole võivad ilmuda sümbolid).
 - 1.2. Vajutada nupule ПУСК (hakkab vilkuma koma ja põleb indikaator P). Kui ei ilmu, vajutada uuesti ПУСК.
 - 1.3. Avada küvetiruumi kaas, oodata u 15 min.
 - 1.4. Sulgeda kaas, avada uuesti, 5 sek pärast vajutada nupule III(O). Tabloole vilkuvast komast paremale ilmub n_0 väärtus suurusega 0,001-1,000.
 - 1.5. Kui n_0 väärtus ei lange nimetatud piirkonda, siis kutsu juhendaja (aparaati reguleeritakse tema paremas otsas oleva nulli reguleerimise augu kaudu).
2. Mõõtmise alustamine:
 - 2.1. Esipaneeli vasakpoolse nupu pööramisega valitakse sobiv filter (670 nm), parempoolsega sellele filtrile vastav fotoelement.
 - 2.2. Küvetiruumi kaugemasse hoidjasse pannakse küvett lahustiga (destilleeritud vesi), lähemasse hoidjasse uuritav lahus.
 - 2.3. Küveti liigutamise käepide asetatakse asendisse 1 (valguskiir läbib lahustit).
 - 2.4. Panna küvetiruumi kaas kinni.
 - 2.5. Vajutada nupule K(I). Tabloole vasakule ilmub 1.
3. Optilise tiheduse mõõtmine:
 - 3.1. Küveti liigutamise käepide viiakse asendisse 2 (valguskiir läbib uuritavat lahust).
 - 3.2. Vajutada nupule D(5). Komast vasakule ilmub 5, see näitab, et mõõdeti ära lahuse optiline tihedus (A), selle väärtus ilmub tabloole vilkuvast komast paremale.
 - 3.3. Seda mõõtmist (p 3.2) teha 3-5 korda. Tulemused märkida üles ning leida nende aritmeetiline keskmine.
 - 3.4. Avada küvetiruumi kaas.
 - 3.5. Küvett uuritava lahusega võtta välja ja asendada uue uuritava lahusega.
 - 3.6. Suletakse küvetiruumi kaas.
 - 3.7. Teha läbi manipulatsioonid 3.2-3.5 kuni kõikide lahuste optilised tihedused on leitud.
 - 3.8. Saadud optilise tiheduse andmete järgi leitakse albumiini kontsentratsioon analüüsitava proovis kasutades järgmist valemit:

$$c_x \left[\frac{\text{mg}}{\text{cm}^3} \right] = \frac{\bar{A}_x - \bar{A}_0}{\bar{A}_{st} - \bar{A}_0} \cdot c_{st}$$

kus \bar{A} – vastava lahuse optilise tiheduse aritmeetiline keskmine (nulllahus, standardlahus, analüüsitav proov),

c_{st} – albumiini sisaldus standardlahuses, mg/cm^3

5 Töö tulemus

Albumiini kontsentratsioon analüüsitava proovis [mg/cm^3].