

DOLOČANJE KONCENTRACIJE CELOTNEGA IN DIREKTNEGA BILIRUBINA V SERUMU Z METODO PO JENDRASSIK - GROFU

Princip:

Po dodatku akceleratorja reagira z albumina sproščeni bilirubin in vse ostale oblike bilirubina (konjugirani, δ , idr.) z diazotirano sulfanilno kislino, da nastane rožnato obarvan azobilirubin. Askorbinska kislina razgradi prebitni diazonijev klorid in zaustavi reakcijo. Z dodatkom alkalnega Fehlingovega reagenta nastane modro-zelen azobilirubin, katerega absorbanco merimo.

Koncentracijo direktnega* bilirubina določamo po istem principu, vendar akcelerator dodamo šele na koncu, ko je diazonijev klorid že razgrejen.

Postopek:

V 10mL epruvete pipetiramo reagente v mL:

	Vz (cel. blr.)	Vz (dir. blr.)	Vz-sl	K (cel. blr.)	K-sl
akcelerator	0,4	—	0,4	0,4	0,4
serum (vz.)	0,2	0,2	—	—	—
kontr. vz.	—	—	—	0,2	—
reagent 1	—	—	0,02	—	0,02
diazoreagent	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
serum (vz.)	—	—	0,2	—	—
kontr. vz.	—	—	—	—	0,2

Premešamo, pustimo 10 min na sobni temperaturi in dodamo:

reagent 1	0,02	0,02	—	0,02	—
akcelerator	—	0,4	—	—	—
Fehling II r.	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3

Dobro premešamo in izmerimo absorbanco pri 600 nm v roku 60 min.

Reagenti:

- *Akcelerator:* vodna raztopina kofein benzoata (kofein 260 mmol/L, Na-benzoat 520 mmol/L, Na-acetat 914 mmol/L).
- *Reagent I:* raztopina askorbinske kisline (227 mmol/L).
- *Diazo reagent I:* raztopina sulfanilne kisline (29 mmol/L) v HCl (175 mmol/L).
- *Diazo reagent II:* raztopina Na-nitrita (72 mmol/L).
- *Diazo reagent:* tik pred uporabo zmešamo 10 mL diazo reag I in 0,25 mL diazo reag. II.
- *Raztopina Fehling II:* raztopina K, Na-tartrata (1,24 mmol/L) in Na-hidroksida (2,5 mmol/L)

Referenčne vrednosti:

S: celotni bilirubin: do 17 $\mu\text{mol/L}$

S: direktni bilirubin: do 5 $\mu\text{mol/L}$

* Direktni bilirubin ali direktno reagirajoči bilirubin obsega vse oblike bilirubina razen tiste, nekovalentno vezane na albumin, t.j. konjugirani, δ in prosti bilirubin, ter njegove fotoizomere.

Rezultati praktičnega dela

Številka vzorca:

1. Opis vzorcev, materiala in opreme

2. Meritve:

a) pogoji merjenja:

b) rezultati meritev:

	Vz (cel. BLR)	Vz (dir. BLR)	Vz-sl	K (cel. BLR)	K-sl
absorbanca					

c) podane vrednosti:

kontrolni vzorec:

3. Izračuni:

$$\varepsilon_{(600 \text{ nm})} = 69400 \text{ L/mol cm}$$

4. Rezultati:

Komentar rezultatov

Pregledal-a:

Datum:

Pripombe: