

Определение концентрации общего и прямого билирубина в сыворотке крови

ПРИНЦИП МЕТОДА

Общий билирубин определяется на основе реакции с диазотированной сульфаниловой кислотой, после диссоциации неконъюгированного (непрямого, свободного) билирубина при участии кофеинового реагента. Для определения содержания конъюгированного (прямого, связанного) билирубина, из реакционной смеси исключается кофеиновый реагент. Концентрацию неконъюгированного билирубина можно рассчитать по разнице концентрации между общим и конъюгированным билирубином. Интенсивность окраски при длине волны 535 нм прямо пропорциональна концентрации билирубина в пробе.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ

Длина волны: 535 нм

Длина оптического пути: 1 см.

Температура инкубации: комнатная – 18-25°C.

Проведение анализа. В две пробирки приливают реактивы по схеме:

Реактивы (мл)	общий билирубин	связанный билирубин
Сыворотка	0,5	0,5
Кофеиновый реагент	2,0	-
0,9% NaCl	-	2,0
пробы стоят 10 минут		
Диазореактив	1,0	1,0

Через 10 минут после добавления диазореактива колориметрируют пробу на связанный билирубин и на общий билирубин. Колориметрирование производят при $\lambda = 535$ нм, в кювете на 1 см, против воды.

Расчеты

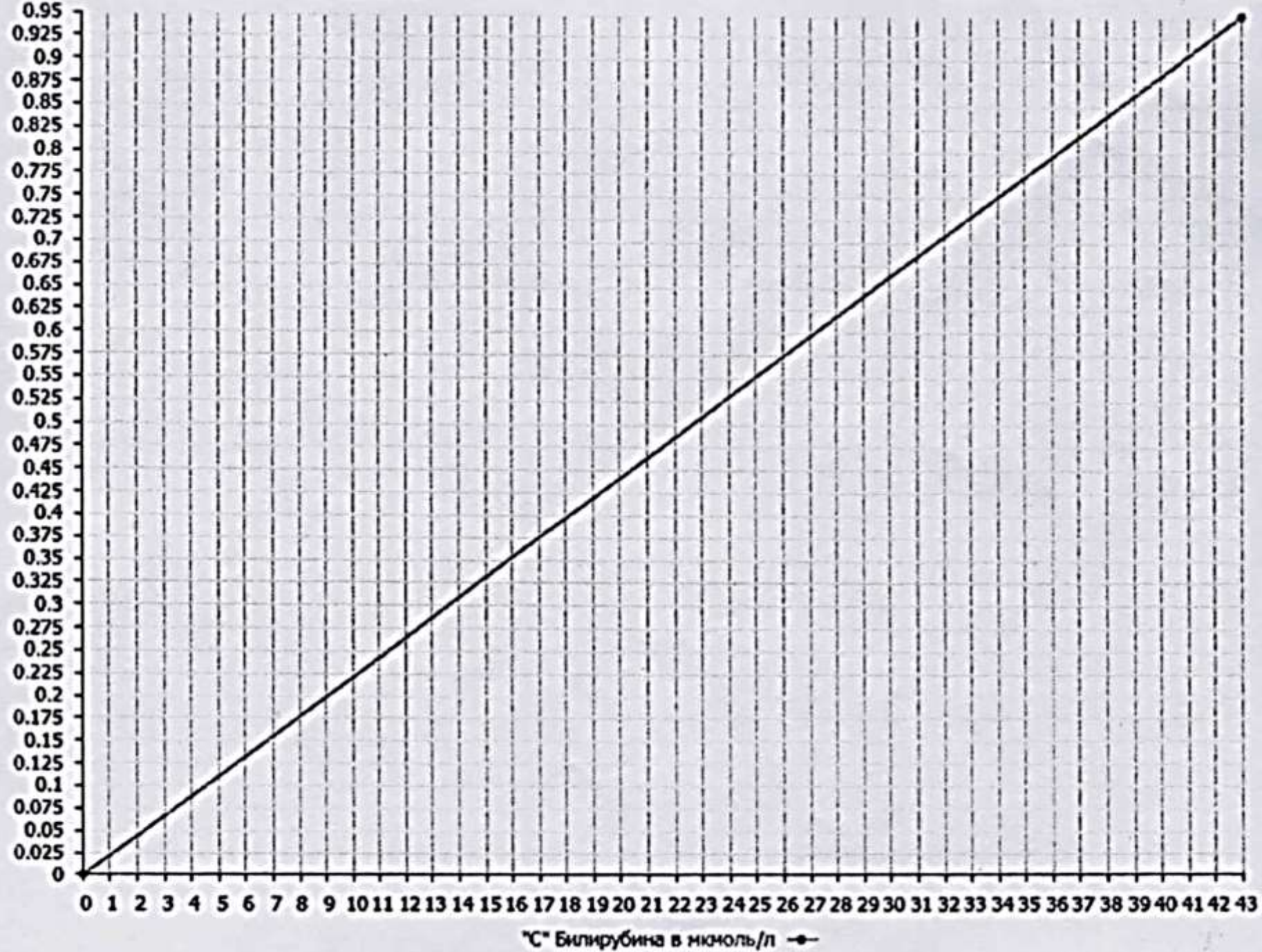
Концентрацию общего и связанного билирубина определяют по калибровочному графику

Нормальные величины

общий – 1,7 – 20,5 мкмоль/л

связанный – 0,86 – 4,3 мкмоль/л

свободный – 1,7 – 17,1 мкмоль/л



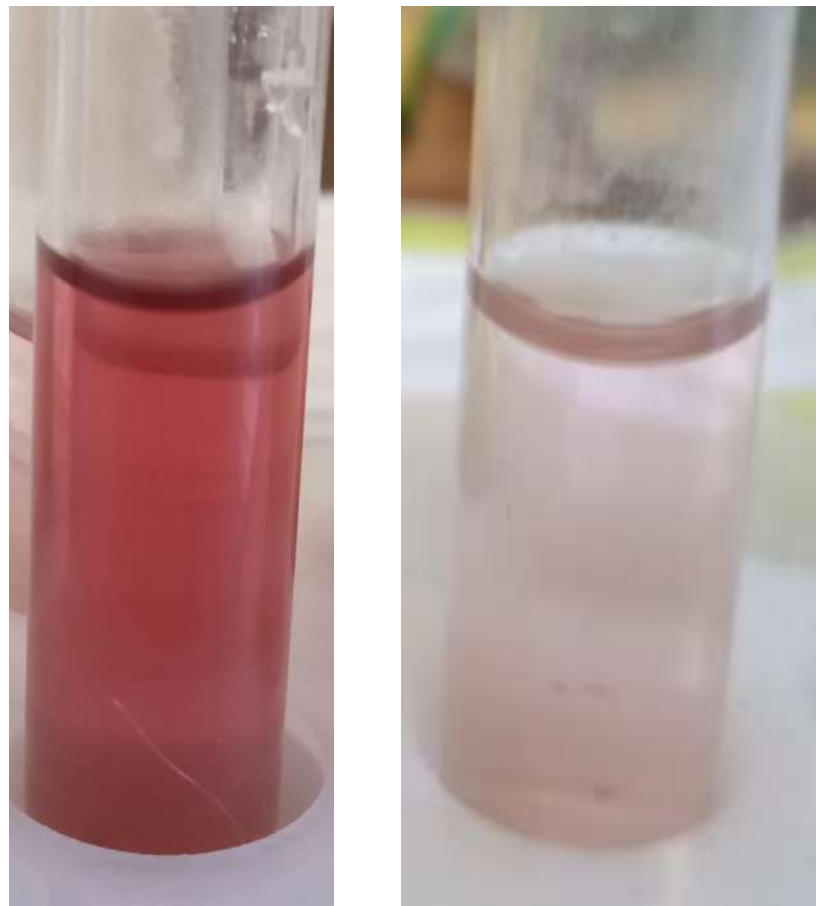
Варианты	Общий билирубин	Связанный билирубин
1 вариант	$E=0,75$	$E=0,4$
2 вариант	$E=0,75$	$E=0,05$
3 вариант	$E=0,43$	$E=0,05$
4 вариант	$E=0,9$	$E=0,125$
5 вариант	$E=0,7$	$E=0,35$
6 вариант	$E=0,6$	$E=0,075$
7 вариант	$E=0,4$	$E=0,25$

1,5,7 варианты



Общий билирубин Связанный билирубин

2,3,4,6 варианты



Общий билирубин Связанный билирубин

Определение остаточного азота в сыворотке крови

ПРИНЦИП МЕТОДА

Остаточный азот – это небелковый азот биологических жидкостей. Гипобромитный метод его определения основан на свойстве гипобромита разрушаться при взаимодействии с азотистыми веществами безбелкового центрифугата. Остаток непрореагировавшего гипобромита определяют йодометрически – титрованием тиосульфатом натрия. Для расчета количества остаточного азота определяют количество разрушенного гипобромита, как разность между титром контрольной пробы (не содержащей остаточного азота) и опытной пробы (с остаточным азотом).

ХОД РАБОТЫ

Для осаждения белков в пробирку наливают 1 мл дистиллированной воды, 0,5 мл сыворотки и 2 мл осаждающего реактива. Через 10 минут смесь центрифугируют 5 минут при 3000 об/мин. В колбу для титрования отбирают 2 мл центрифугата, добавляют 1 мл раствора гипобромита, 1 мл HCl перемешивают и оставляют на 5 минут. Затем добавляют 1 мл раствора KI. Смесь взбалтывают и титруют 0,005н. раствором тиосульфата Na до слабо-желтого цвета. Добавляют 2-3 капли крахмала и дотитровывают до обесцвечивания. Одновременно с опытной, готовят контрольную пробу, содержащую 2 мл осаждающего р-ва, 1 мл раствора гипобромита, 1 мл р-ра KI и 1 мл HCl. Контрольную пробу титруют также до обесцвечивания.

Расчеты

Содержание остаточного азота рассчитывают по формуле:

$(K - O) \times 21,4$ ммоль/л, где K – количество тиосульфата, пошедшего на титрование контрольной пробы;

O – на титрование опытной пробы;

21,4 – коэф. пересчета.

Нормальное содержание остаточного азота – 14,3 - 28,6 ммоль/л.

Варианты	Объем тиосульфата натрия (в мл), пошедший на титрование Контроля	Объем тиосульфата натрия (в мл), пошедший на титрование Опыта
1 вариант	2,3	2,0
2 вариант	4,0	1,0
3 вариант	2,1	1,1
4 вариант	1,3	1,1
5 вариант	3,2	2,2
6 вариант	2,2	1,4
7 вариант	4,4	2,1