

Определение концентрации кальция колориметрическим методом с о-крезолфталейнкомплексом

ПРИНЦИП МЕТОДА

Кальций в щелочной среде образует окрашенный комплекс с о-крезолфталейнкомплексом. Интенсивность окраски при длине волны 570 (540-590) нм прямо пропорциональна концентрации кальция в пробе.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Перед началом работы необходимо довести реагенты до температуры проведения анализа.

Количественный анализ:

Длина волны: 570 нм (540-590) нм.

Длина оптического пути: 1 см (5 мм).

Температура инкубации: комнатная (18 – 25 °С) или 37 °С.

Фотометрирование: против дист. воды.

Внести в пробирки:	Опытная проба	Стандартная проба
Сыворотка	0,5 мл	-
Стандарт	-	0,5 мл
Реагент № 1	2 мл	2 мл
Реагент № 2	1 мл	1 мл

Пробы тщательно перемешать и инкубировать 5 минут при 18 – 25 °С. Измерить оптическую плотность опытной ($E_{\text{об}}$) и стандартной ($E_{\text{ст}}$) проб против воды. Окраска стабильна не менее часа после окончания инкубации при предохранении от прямого солнечного света.

Содержание кальция рассчитывают по формуле:

$$C_{\text{оп}} = \frac{E_{\text{оп}} \cdot C_{\text{ст}}}{E_{\text{ст}}} = \text{ммоль/л},$$

где $C_{\text{оп}}$ и $C_{\text{ст}}$ - концентрации опытной и стандартной проб,
 $E_{\text{оп}}$ и $E_{\text{ст}}$ - оптическая плотность опытной и стандартной проб

Концентрацию кальция (С) в сыворотке крови:

$$C = (E_{\text{оп}} / E_{\text{ст}}) \times C_{\text{ст}}, \text{ где:}$$

$E_{\text{оп}}$ - оптическая плотность опытной пробы, ед. опт. плотн.;

$E_{\text{ст}}$ - оптическая плотность стандартной пробы, ед. опт. плотн.;

$C_{\text{ст}}$ - концентрация кальция в стандарте (2,5 ммоль/л или 100 мг/л);

Нормальные величины:

В сыворотке крови: 2,24-2,64 ммоль/л

Крезолфталеинкомплексон образует с кальцием в щелочной среде комплекс красно-фиолетового цвета, интенсивность окраски пропорциональна концентрации кальция



Различные варианты окраски проб (стандартной и опытной) в данном методе

Варианты	Оптическая плотность стандартной пробы	Оптическая плотность опытной пробы
1 вариант	0,2	0,21
2 вариант	0,1	0,2
3 вариант	0,3	0,1
4 вариант	0,2	0,3
5 вариант	0,5	0,1
6 вариант	0,2	0,2
7 вариант	0,1	0,16

Определение фосфора молибдатным методом

ПРИНЦИП МЕТОДА

Неорганический фосфор образует в растворе серной кислоты при взаимодействии с молибдатом аммония фосфомолибдатный комплекс. Концентрация фосфора в пробе пропорциональна адсорбции, измеряемой при 340 нм.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Перед началом работы необходимо нагреть реагенты до температуры проведения анализа.

Количественный анализ:

Длина волны: 340 нм.

Длина оптического пути: 1 см (5 мм)

Температура инкубации: 18 – 25 °С.

Фотометрирование: против дистиллированной воды.

Внести в пробирки:	Опытная проба	Стандартная проба
Рабочий реагент	3,0 мл	3,0 мл
Образец (<i>сборка</i>)	0,5 мл	-
Стандарт (<i>0,5</i> ммоль/л)	-	0,5 мл

Пробы тщательно перемешать, инкубировать 5 минут при 18 – 25 °С и измерить оптическую плотность опытной ($E_{оп}$) и стандартной ($E_{ст}$) проб против дистиллированной воды при длине волны 340 нм. Оптическая плотность стабильна в течение суток

РАСЧЕТЫ

Концентрацию фосфора (С) в сыворотке крови определить по формуле:

$$C = (E_{\text{оп}} / E_{\text{ст}}) \cdot C_{\text{ст}}, \text{ где:}$$

$E_{\text{оп}}$ – оптическая плотность опытной пробы,;

$E_{\text{ст}}$ – оптическая плотность стандартной пробы,

$$C_{\text{ст}} = 1,5 \text{ ммоль/л};$$

Нормальные величины:

Концентрация фосфора в сыворотке крови: 0,64-1,29 ммоль/л



Различные варианты окраски проб (стандартной и опытной) в данном методе

Варианты	Оптическая плотность стандартной пробы	Оптическая плотность опытной пробы
1 вариант	0,2	0,3
2 вариант	0,2	0,1
3 вариант	0,3	0,1
4 вариант	0,2	0,4
5 вариант	0,5	0,1
6 вариант	0,2	0,12
7 вариант	0,2	0,2

Определение концентрации магния колориметрическим методом

ПРИНЦИП МЕТОДА

Ионы магния образуют окрашенный комплекс с ксилитидиловым синим в щелочной среде, интенсивность окраски которого при длине волны 520 нм прямо пропорциональна концентрации магния в пробе.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Перед началом работы необходимо довести реагенты до выбранной температуры проведения анализа.

Количественный анализ:

Длина волны: 520 нм.

Длина оптического пути: 1 см.

Температура инкубации: комнатная (18 – 25 °С).

Фотометрирование: против воды.

Внести в пробирки:	Опытная проба	Стандартная проба
Образец (сыворотка) (минерализат)	0,5 мл	-
Стандарт на магний	-	0,5 мл
Магний Рабочий реагент	2,5 мл	2,5 мл

Пробы тщательно перемешать. Инкубировать 10 минут при 18 – 25 °С или 5 минут при 37 °С. Измерить оптическую плотность опытной ($E_{оп}$) и стандартной ($E_{ст}$) проб. Оптическая плотность стабильна не менее 1 часа после окончания инкубации при предохранении от прямого солнечного света.

Расчет содержания магния проводят по формуле:

$$C_{on} = \frac{C_{ст} * E_{on}}{E_{ст}} = \text{мг/л или ммоль/л}$$

где $E_{ст}$ - экстинкция стандартного раствора магния (ед. опт. плотности);

E_{on} - экстинкция исследуемого раствора (ед. опт. плотности);

$C_{ст}$ - концентрация стандартного раствора магния (1,0 ммоль/л);

C_{on} - концентрация определяемого вещества.

РАСЧЕТЫ

Расчет концентрации магния в сыворотке крови:

$$C = (E_{on} / E_{ст}) * C_{ст}, \text{ где:}$$

E_{on} - оптическая плотность опытной пробы;

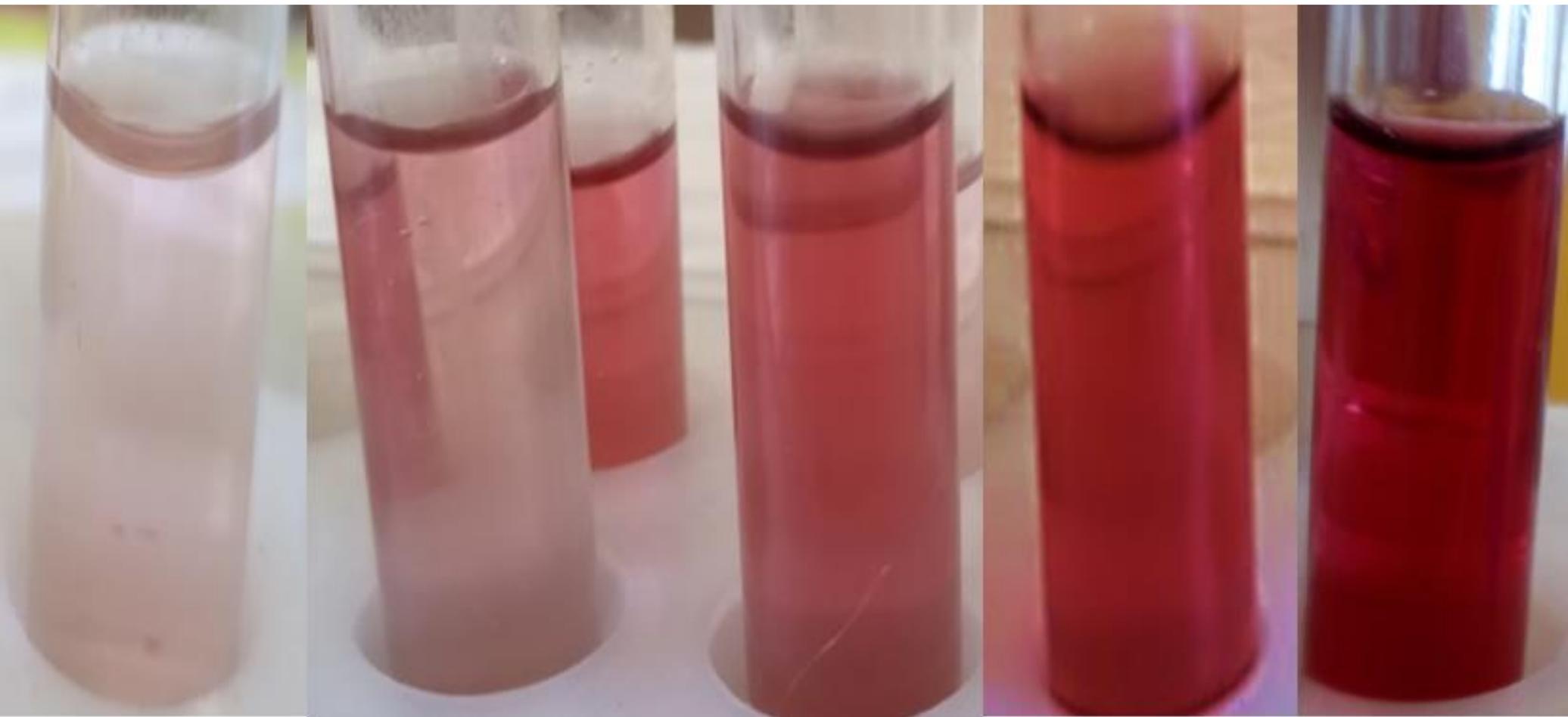
$E_{ст}$ - оптическая плотность стандартной пробы;

$C_{ст}$ - концентрация магния в стандартной пробе равная 1,0 ммоль/л;

Нормальные величины:

В сыворотке крови: 0,7 - 1,0 ммоль/л

Самым чувствительным и специфичным к ионам магния является колориметрический метод определения магния с красителем «ксилидиновым синим». В кислой среде это вещество существует в виде окрашенного в красный цвет недиссоциированного соединения, в слабощелочной — в виде однозарядного иона синего цвета, в сильнощелочной — в виде двухзарядного иона красного цвета. С ионом магния образуется устойчивый окрашенный в красный цвет комплекс.



Различные варианты окраски проб (стандартной и опытной) в данном методе

Варианты	Оптическая плотность стандартной пробы	Оптическая плотность опытной пробы
1 вариант	0,2	0,3
2 вариант	0,1	0,07
3 вариант	0,3	0,1
4 вариант	0,2	0,4
5 вариант	0,3	0,18
6 вариант	0,2	0,2
7 вариант	0,1	0,3

Определение активности щелочной фосфатазы по фосфору

ПРИНЦИП МЕТОДА

Фосфатаза крови расщепляет β -глицерофосфат натрия с освобождением неорганического фосфора. Мерой активности фермента служит количество освободившегося фосфора.

ХОД РАБОТЫ

В пробирку приливают реактивы по схеме

Реактивы (мл)	Опыт
Раствор буфера (pH 8,6)	0,5
Сыворотка	0,5
Диет. вода	-

Пробирку инкубируют при 37°C 15 мин.
Затем в пробирку добавляют по 1 мл 5% молибдата аммония и 1% р-ра аскорбиновой кислоты. Через 15 минут колориметрируют опытную пробу против H_2O в кювете на 1 см при $\lambda = 640$ нм. Количество неорганического фосфора определяют по калибровочному графику.

Количество неорганического фосфора определяют по калибровочному графику.

Активность щелочной фосфатазы выражают в мг неорганического фосфора, образующегося под действием фермента в 100 мл сыворотки (единицы Боданского – ед.).

Для этого используют формулу: $A = C \times 200$,

Где А – активность щелочной фосфатазы в ед. Боданского,

С – концентрация фосфора, определенная по графику,

200 – коэффициент пересчета на 100 мл сыворотки.

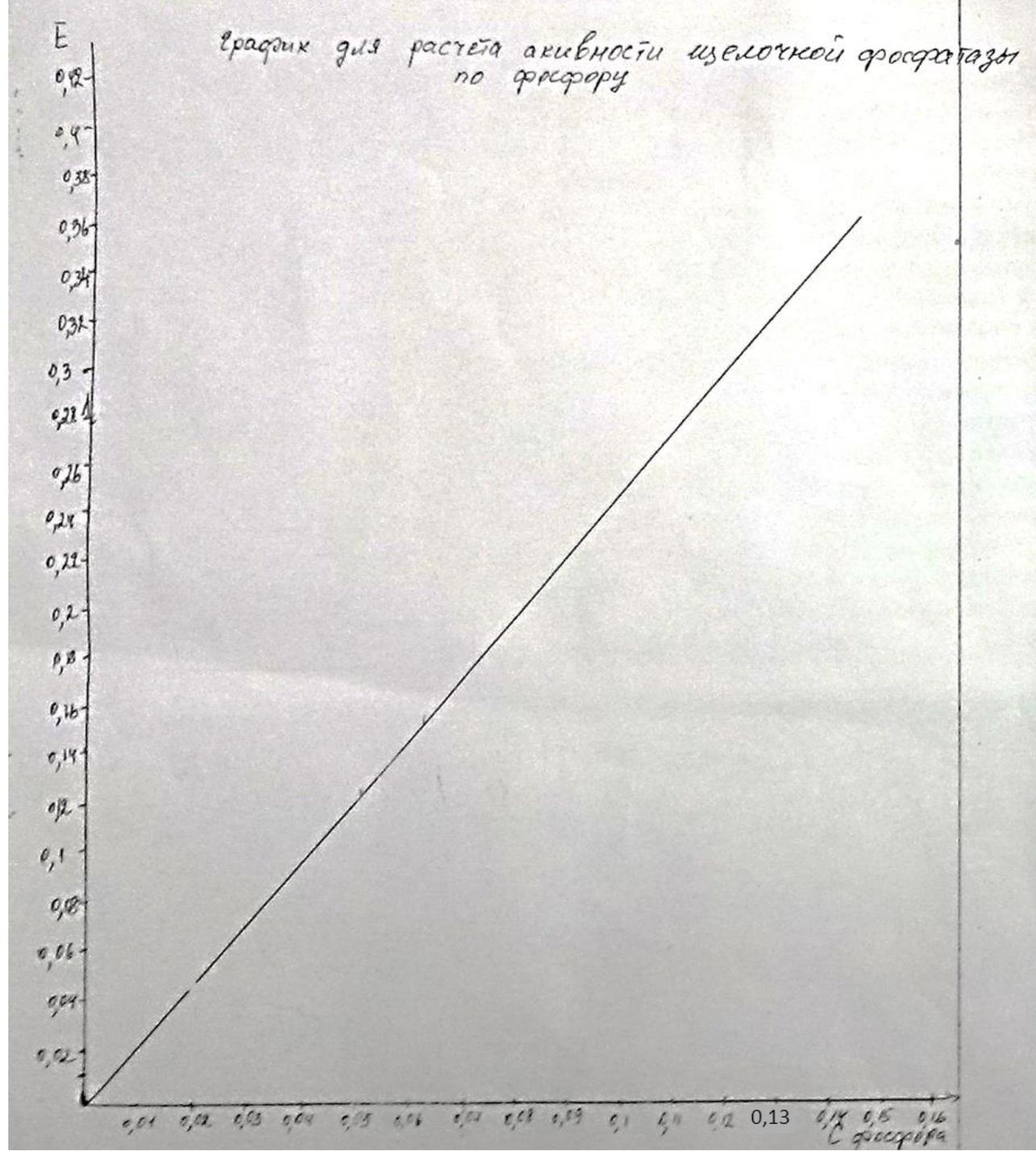
Нормальные величины:

У детей 5-15 ед.,

У взрослых 2-5 ед.



опытный образец



Варианты	Оптическая плотность опытной пробы
1 вариант	0,02
2 вариант	0,01
3 вариант	0,06
4 вариант	0,04
5 вариант	0,1
6 вариант	0,01
7 вариант	0,2