

ćwiczenie 9

„Turbidymetryczne oznaczanie białka.”

Metoda oznaczenia:

Oznaczenie białek następuje poprzez ich denaturację i wytrącenie za pomocą kwasu 5-sulfosalicylowego. Powstałe zmętnienie jest proporcjonalne do stężenia białek w badanej próbce.

Aparatura:

Mętnościomierz MI 415 (MARTINI INSTRUMENTS)

Wykonanie ćwiczenia:

Przygotowanie 10% (w/v) roztworu kwasu 5-sulfosalicylowego

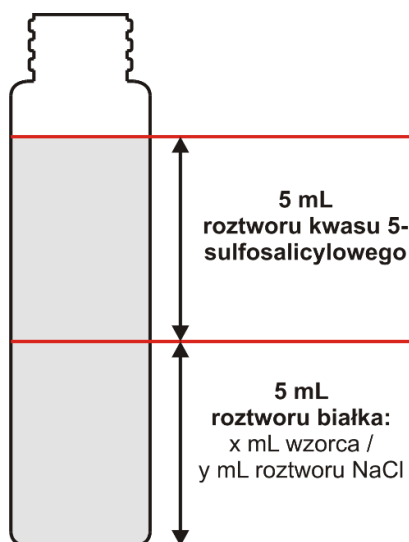
Rozpuścić określoną ilość kwasu 5-sulfosalicylowego (SIGMA) w 200 mL kolbie miarowej a następnie dopełnić do kreski. Taka objętość odczynnika powinna wystarczyć na potrzeby jednej grupy.

Przygotowanie 0,15 mol/L roztworu NaCl.

Rozpuścić określoną ilość chlorku sodu (POCH) w 200 mL kolbie miarowej a następnie dopełnić do kreski. Taka objętość odczynnika powinna wystarczyć na potrzeby jednej grupy.

Przygotowanie roztworów wzorcowych

Roztwory wzorcowe do wyznaczenia krzywych kalibracyjnych są **osobne** dla γ -globulin i albumin. Kolejne wzorce do analizy należy przygotować poprzez odpowiednie rozcieńczenie wyjściowych roztworów białek (1 g/L; 0,15 mol/L NaCl) w 10 mL szklanych kuwetach według schematu pokazanego na rysunku:



Stężenia roztworów białka powinny być następujące: 20, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600 [mg/L].

Kalibracja aparatury

Przed rozpoczęciem pomiarów należy skalibrować urządzenia pomiarowe zgodnie z informacjami zamieszczonymi w dołączonej instrukcji mętnościomierza.

Przeprowadzenie pomiarów

Pomiary przeprowadzić zgodnie z informacjami zamieszczonymi w dołączonej instrukcji mętnościomierza. Dla każdego wzorca należy wykonać pomiar trzykrotnie.

Analiza próbek syntetycznych

Do analizy zostaną przygotowane dwie próbki. Ich analiza będzie wymagała od studentów samodzielnego ustalenia procedury pomiarowej. Dla każdej próbki należy obliczyć stężenie posługując się metodą krzywej kalibracyjnej oraz metody dodatku wzorca. Dla każdej próbki należy wykonać pomiar trzykrotnie.

Opracowanie wyników:

1. Krótki opis teoretyczny wykonywanego ćwiczenia.
2. Sporządzić poglądowy wykres **Sygnal [FNU] = f (stężenie [mg/L])**. Wyznaczyć współczynniki prostej oraz ich niepewności za pomocą metody regresji liniowej:

$$\text{dla } y = ax + b$$

$$a = \frac{\overline{xy} - \bar{x} \cdot \bar{y}}{\overline{x^2} - \bar{x}^2}$$

$$b = \bar{y} - a \cdot \bar{x}$$

$$S_a = \sqrt{\frac{1}{n-2} \left(\frac{\overline{y^2} - \bar{y}^2}{\overline{x^2} - \bar{x}^2} - a^2 \right)}$$

$$S_b = S_a \sqrt{\bar{x}^2}$$

3. Obliczyć stężenie albumin i γ -globulin w próbkach (metoda krzywej kalibracyjnej oraz metoda dodatku wzorca). Obliczyć maksymalną niepewność pomiarową ΔC metodą różniczki zupełnej (należy wziąć pod uwagę nie tylko błąd wynikający z pomiaru wartości zmętnienia dla próbek ale również uwzględnić błąd wyznaczonych parametrów prostej).

dla funkcji dwóch zmiennych x_1 i x_2 , gdzie $y = f(x_1, x_2)$

$$\Delta y = \left| \frac{\partial f}{\partial x_1} \right| \Delta x_1 + \left| \frac{\partial f}{\partial x_2} \right| \Delta x_2$$

4. Czy przedstawiona metoda Extona może być stosowana w rutynowej analizie klinicznej? Dlaczego?
5. Komentarze i wnioski.