

Univerzita Komenského Bratislava, Lekárska fakulta
Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie

LABORATÓRNY PROTOKOL LS07
Stanovenie vápnika v krvnom sére a v moči

Meno, krúžok:	Dátum:
---------------	--------

Cieľom praktického cvičenia je stanoviť hladiny celkového Ca^{2+} vo vzorke séra a Ca^{2+} vo vzorke moču získanej 24-hodinovým zberom, (moč musí byť počas zberu dostatočne acidifikovaný a premiešaný), porovnať namerané hodnoty s fyziologickými a posúdiť zmeny v hladinách Ca^{2+} v súvislosti s mechanizmami regulácie jeho koncentrácie v sére.

Roztoky:

1. Glykoxal-bis-(2-hydroxyanil) – GBHA (Bio-La-test)
2. $0,4 \text{ mol.l}^{-1} \text{ NaOH}$

Princíp:

Glykoxal-bis-(2-hydroxyanil) tvorí s Ca^{2+} v alkalickom prostredí červeno zafarbený komplex vhodný na fotometrické stanovenie.

Postup stanovenia:

	S ₁	S ₂	M ₁	M ₂	slepá vzorka
sérum 1	0,5 ml	---	---	---	---
sérum 2	---	0,5 ml	---	---	---
moč 1	---	---	0,5 ml	---	---
moč 2	---	---	---	0,5 ml	---
voda	---	---	---	---	0,5 ml
reakčná zmes	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml

Necháme postáť 10 minút a meriame absorbanciu oproti slepej vzorke pri 525 nm.

Výpočet:

Diuréza: pacient 1: 1,5 l/24 hod; pacient 2: 1,2 l/24 hod

	Pacient 1		Pacient 2	
	S ₁	M ₁	S ₂	M ₂
absorbancia				
Ca^{2+} (mmol/l)				
Ca^{2+} (mmol/24 hod)	---		---	

Referenčné hodnoty:

v sére: **2,25 – 2,75 mmol/l**

v moči: **2,5 – 7,5 mmol/24 hod**

Stanovenie anorganického fosfátu v sére

Princíp: Anorganický fosfát reaguje s molybdénanom amónnym v kyslom prostredí za vzniku fosfomolybdénu, ktorý sa potom redukuje na modro zafarbené soli molybdénu V.

Príprava séra: 0,3 ml krvného séra + 4,7 ml vody + 1,0 ml 25% TCA

Vyzrážané proteíny sa odstránia centrifugáciou a na stanovenie sa použije supernatant (obsahujúci sérum zriedené 1:20).

	Sérum 1	Sérum 2	Blank
Sérum 1	1,5	-	-
Sérum 2	-	1,5	-
H ₂ O	-	-	1,5
Ammonium molybdate	0,4	0,4	0,4
SnCl ₂	0,3	0,3	0,3
10 minút pri laboratórnej teplote merané pri absorbanzii 660 nm			

Referenčné hodnoty:

Sérum: **0,72 – 1,37 mmol/l**

Záver: