الجلسة العملية الثانية عشرة

معايرة شاردة الزنك في مصل الدم

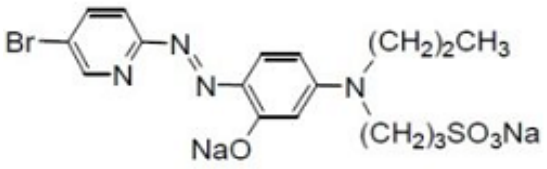
مبدأ المعايرة :

تتفاعل شاردة الزنك مع مركب 5-Br-PAPS لتعطي معقد ملون عند درجة حموضة 9.8

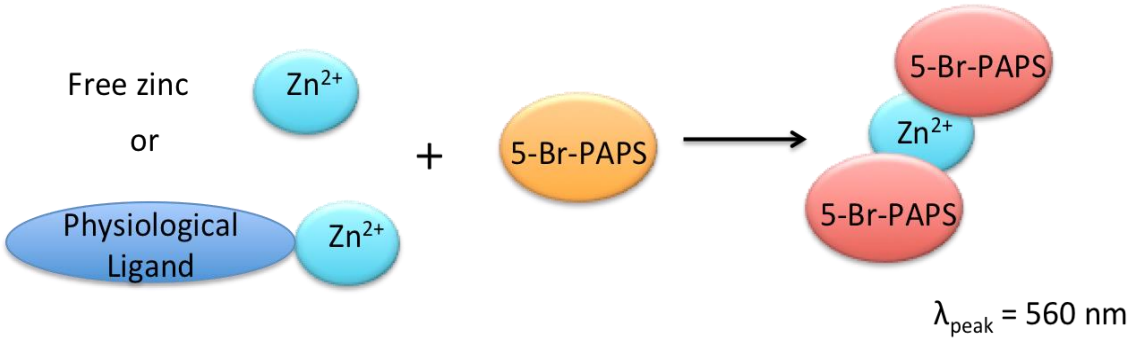
تقاس امتصاصية المحلول التي تتعلق بتركيز شاردة الزنك بطول موجة 560نم و بدرجة حرارة الغرفة (20-25) او 37 درجة مئوية .

تطبق هذه الطريقة على المصل , أو البلاسما المأخوذة على الهيبارين , و على البول

5-Br-PAPS, a water-soluble derivative of 5-Br-PADAP, is a highly sensitive colorimetric reagent for zinc detection. This reagent forms a red chelate with zinc at pH 7.5-9.5 (λmax=552 nm, λ=13.3 x 10^4). 5-Br- PAPS is also utilized for the determination of Cu(II), Fe(II), Ni(II), Co(II), Pt(II), Ru(II), and Rh(II). 5-Br-PAPS is utilized to determine serum levels of Zn, Cu, Fe, Ni, and Co. For serum Zn levels,



2-(5-Bromo-2-pyridiylazo)-5-[N-n-propyl-N-(3-sulfopropyl)amino]phenol, disodium salt, dehydrate



Metallo Assay Zinc Assay kit is intended for the quantitative determination of zinc in biological sample by 96-well reader use. Target: zinc (Zn2+) Measuring range: 4 -1,000 µg/Dl Species: all. Sample: serum, plasma, urine, saliva, tissue extract, cell lysate, biological fluid, food, beverage etc. Apparatus: UV/Vis 96-well reader or spectrophotometer. Wavelength: 560 nm (550-580nm) Procedure: 10 mi

تركيب الكاشف :

- وقاء البيكربونات (لتأمين PH = 9.8)
- 5-Br-PAPS

- **Storage conditions:** Store at 2-8°C. Don't freeze.
  Expiration: 1 year from the date of manufacture. After the bottles are opened, the kit should be used in 1 month
  - سيترات الصوديوم (حجب باقي الشوارد الموجودة في المصل)
  - دي ميتيل غليوكسيم (حجب باقي الشوارد الموجودة في المصل)

[Contents of this kit]

R-1 Buffer (ready to use):	24 mL
R-2 Chelate color (ready to use):	0.5 mL
Zinc standard 200 µg/dL (ready to use):	1.2 mL

Operation
1. Sample preparation
◇Serum or Plasma
Insoluble substances in serum and plasma samples should be removed by filtration or centrifugation. EDTA-plasma cannot be used
2. Assay preparation
(1)Bring all reagents to room temperature before use.
(2)Prepare enough working Reagent (WR).
3. Assay procedure.
Procedure using microplate reader.
(1 assay sample 242µL)
?Assay
(1) Add 230 µL of Working Reagent (WR) to each well.
(2) Add 12 µL of Distilled water (Blank) / STD (Standard)/ sample into each well and incubate at room temperature for 5 min.
(3) Read the absorbance at 560 nm (main) and 700nm(sub).
--> OD
(Sensitivity: 550nm max, 570nm 60%, 580nm 20% or less)

طريقة العمل :

يحضر كل من محلول العينة و المحلول العياري و الشاهد كما يلي :

	محلول العينة	محلول العياري	الشاهد
ماء ثنائي التقطير	-	-	50ميكروليتر
عياري	-	50ميكروليتر	-
عينة	50ميكروليتر	-	-
كاشف	1000 ميكروليتر	1000 ميكروليتر	1000 ميكروليتر

تمزج الكميات حسب الجدول السابق و تترك لمدة 8 دقائق بدرجة حرارة الغرفة أو 5 دقائق بدرجة 37
تقرأ الامتصاصية لكل من محلول العينة و العياري بطول موجة 560نم بالمقارنة مع الشاهد
يمكن اجراء القياس خلال نصف ساعة اضافية

الحساب :

يحسب تركيز شاردة الزنك في العينة مقدرا ب مكغ/دل

Calculate concentration.

$\Delta OD_{Std} = OD_{Std} - OD_{Bl}$

$\Delta OD_{S} = OD_{S} - OD_{Bl}$

Zinc (µg/dL) = $\Delta OD_S/\Delta OD_{Std}$ X 200

Zinc (µM) = $\Delta OD_S/\Delta OD_{Std}$ X 30.6

OD_S : OD sample, OD_{Bl} : OD blank,

OD_{Std} : OD Standard

الخطية :

حتى 400مكغ/دل (61,2 ميكرومول / ل)

العينة ذات النتيجة اعلى من 400 مكغ/دل يجب ان تمدد بمحلول كلوريد الصوديوم 9,. % بنسبة (2+1)و باعادة التحليل تضرب النتيجة ب 3 .

التداخلات :

- الشحوم في الدم بتركيز 400ملغ/دل تتداخل بشكل ملحوظ في التحليل
- لمنع التداخل مع الملوثات الخارجية يجب ان تكون الادوات خالية من شوارد الزنك لذلك يجب الغسل بحمض كلور الماء الممدد بنسبة (1+2) او حمض الازوت ثم الغسل بماء مقطر خالي من الحديد .
- تثبط الشوائب التي يمكن تواجدها في العينة من امتصاصية الزنك

القيم الطبيعية :

البالغون :

في المصل : 46-150 مكغ/دل

في البول : بول 24 ساعة 300-800 مكغ

في السائل المنوي : 2-10مكغ/دل

تحذير :

يحتوي الكاشف على آزيد الصوديوم كمادة حافظة , و من المحتمل ان يرتبط كمع املاح النحاس او الرصاص ليشكل آزيدات المعادن المتفجرة ' لذلك بعد رمي الكاشف المستخدم يجب الغسل بكمية كبيرة من الماء لمنع ارتباط الازيد .

معلومات نظرية :

- يستخدم معدن الزنك في الصناعات المعدنية
- يستخدم كلوريد الزنك ZnCl2 في اللحام و في صناعة البطاريات , كما يستخدم كمطهر
- اوكسيد الزنك ZnO يستخدم في الصناعات الصيدلانية و في صناعة البلاستر , و الدهانات
- يستعمل فوسفيد الزنك Zn3P2 كقاتل للفئران
- التسمم الحاد بكلوريد الزنك قليل لانه يسبب الاقياء
- يستخدم الزنك مقبض و مضاد للحكة
- يعتبر الزنك متمم انزيمي و يدخل في تركيب اكثر من 200 انزيم , و يعد نقص فعالية بعض الانزيمات مشعر لعوز الزنك

- العضلات و الكلية غنية بالزنك
- يعد السائل المنوي و البروستات غنية جدا بالزنك و تنخفض فعالية الحيوانات المنوية بانخفاض تركيز الزنك
- مستوى الزنك في المصل أعلى بشكل من مستواه في البلاسما بمعدل 5-15% و يعزى ذلك الى انتقاله من الصفيحات و كريات الدم الى المصل اثناء التخثر .
- يعتمد استتباب الزنك على اعادة امتصاص جزء هام من الزنك الداخلي المنشا بعد طرحه عبر المعثكلة .
- يعمل الزنك مكونا لعوامل الانتساخ المعروفة باصابع الزنك التي ترتبط ب DNA لتنشط انتاج الرسالة الوراثية , لذلك التسمم بالزنك يسبب طفرات .

التسمم بالزنك :

اعراض التسمم الحاد :

- طعم معدني قابض في الفم
- حمى , غثيان , اسهال , اقفياء
- خمول , وهن عضلي و الم
- ازرقاق و اختلاج
- انخفاض ضغط الدم
- ةذمة رئوية
- التهاب بنكرياس حاد
- قصور كلوي حاد و قلة افراز البول

المعالجة :

- غسيل المعدة
- اعطاء مسكنات الالم
- تخليص الجسم من الزنك عن طريق الاستخلاب , و يمكن استعمال BAL أو EDTA حقن عضلي .

التقرير و الملاحظات

ملاحظات المشرف :

توقيع المشرف :