

PRÀCTICA 1

DETERMINACIÓ DE PROTEÏNES TOTALS EN SÈRUM PER REFRACTOMETRIA

1. Introducció teòrica

Quan una REM arriba un medi material, el vector camp elèctric de la REM interacciona amb els àtoms i molècules del medi, podent dita REM ser transmesa, absorbida o dispersada.

Experimentalment, s'ha observat que la velocitat amb què es propaga la REM a través d'una substància transparent és menor que la seva velocitat en el buit i depèn a més de les espècies i concentració dels àtoms, ions o molècules, però no observant-se variació en la freqüència de la REM.

Entre els distints mètodes per a la determinació del contingut proteic de fluids biològics (fonamentalment sèrum sanguini) el de refractometria és un dels més utilitzats quan no es precisa una elevada exactitud.

L'índex de refracció de l'aigua a 20°C ($n = 1,3330$) s'incrementa amb una certa proporcionalitat amb la concentració de solut en dissolucions aquoses de concentració moderada. Aquest fet ha trobat aplicació clínica per a la determinació ràpida del contingut total de proteïnes en el sèrum sanguini, per a la qual cosa es parteix del fet de què pràcticament l'índex de refracció d'un sèrum a altre varia vs. el seu contingut en proteïnes i no difereixen entre sí apreciablement en la qual cosa respecta a soluts, electròlits o altres metabolits simples de caràcter orgànic.

Les avantatges d'aquest mètode radiquen en la rapidesa, mínima quantitat de mostra i facilitat operatòria, si bé com queda indicat la seva exactitud no és molt elevada, però cobreix correctament les necessitats clíniques de caràcter rutinari.

L'índex de refracció d'un medi és, en certa manera, una mida de la magnitud de la interacció anterior i es defineix per:

$$n = \frac{c}{v_1}$$

on n és l'índex de refracció a una freqüència determinada, v_1 la velocitat de la REM en el medi considerat i c la seva velocitat en el buit on és màxima.

L'índex de refracció d'una substància es determina mesurant el canvi de direcció d'una REM quan passa d'un medi a altre:

$$\frac{n_2}{n_1} = \frac{v_1}{v_2} = \frac{\sin(\theta_1)}{\sin(\theta_2)}$$

on:

v_1 és la velocitat de propagació en el medi menys dens,

v_2 és la velocitat de propagació en el medi més dens,

n_1 i n_2 els índexs de refracció respectius,

θ_1 i θ_2 els angles d'incidència i de refracció respectivament.

Per a la determinació de l'índex de refracció s'utilitzen els aparells anomenats refractòmetres, essent el més utilitzat el d'Abbé, basat en la mida de l'*angle límit*. Si es fa que l'angle d'incidència siga pràcticament igual a 90° (incidència arrasant), l'angle de refracció aconsegueix el seu valor màxim, rep el nom d'*angle límit de refracció*.

El refractòmetre d'Abbé conté dos prismes rectangulars, oposats per les seves hipotenuses, fix el superior i mòbil l'inferior, sobre el que es col·loca la mostra problema. La llum procedent d'una làmpada es fa incidir, de mode que el feix travesse els prismes amb la mostra problema situada entre ambdós i són enviats cap al tub telescòpic on es troba un reticle marcat amb una creu. Observant per l'ocular i movent el comandament giratori dels prismes, es fa coincidir la divisòria del camp amb el centre del reticle, la qual cosa ocorrerà exactament quan s'observe la meitat del camp clara i l'altra meitat fosca. En aqueix moment, amb ajuda del flexo auxiliar, il·lumina per reflexió una escala graduada en la que directament s'observa l'índex de refracció de la mostra problema.

Quan s'utilitza una llum policromàtica es produeix una dispersió cromàtica en el camp, que cal eliminar mitjançant l'acromatitzador que porta incorporat l'instrument.

La lectura cal realitzar-se en termòstat.

2. Part experimental

a. Instrumentació i reactants

2 Pipetes Pasteur (comptagotes).

2 Pipes per a pipetes Pasteur.

1 Gradeta per a tubs d'assaig.
1 Flascó rentador.
Refractòmetre d'Abbé.
Flexo.
Sèrum problema.

b. Procediment experimental

Col·locar el refractòmetre front a una bona font d'il·luminació. Una vegada comprovat que els prismes estan perfectament nets, amb una pipeta Pasteur i sobre la superfície del prisma inferior (en posició horitzontal), es posen 1 o 2 gotes de sèrum problema i es tanca el prisma. Obrint la finestra es fa incidir un feix de REM. Observant per l'ocular, amb l'acromatitzador (comandament situat a la dreta) corregim l'aberració cromàtica i a continuació ajustem la mida de l'índex de refracció amb el comandament situat baix a la dreta. L'escala de lectura situada en la part inferior del camp s'il·lumina amb el flexo auxiliar.

Dades mesures i càlculs

Taula de lectura d'índexs de refracció corresponents a distintes concentracions proteïques realitzades a 17,5°C.

<u>Índex de refracció</u>	<u>g% de proteïnes</u>
1.3431	3.96
1.3435	4.15
1.3438	4.34
1.3442	4.53
1.3446	4.71
1.3450	4.90
1.3453	5.08
1.3457	5.27
1.3461	5.46
1.3465	5.65
1.3468	5.83
1.3472	6.02
1.3476	6.20
1.3479	6.39
1.3483	6.58
1.3487	6.76
1.3491	6.95
1.3494	7.13
1.3498	7.32
1.3502	7.50
1.3505	7.69
1.3509	7.87
1.3513	8.06
1.3516	8.24
1.3520	8.42
1.3524	8.61
1.3527	8.79