**ćw. 2a. OZNACZANIE KWASU DELTA-AMINOLEWULINOWEGO**

**(ALA) JAKO WSKAŹNIK NARAŻENIA NA OŁÓW**

**ZASADA OZNACZANIA**

Kwas delta-aminolewulinowy podczas ogrzewania tworzy z acetyloacetonem związek pirolowy, dający z odczynnikiem Ehrlicha czerwony związek barwny.

**ODCZYNNIKI**

1. 0,5M octan sodu – CH3COONa ∙ 3H2O.
2. Acetyloaceton
3. Odczynnik Ehrlicha:

1 g p-dimetyloaminobenzaldehydu rozpuścić w 35 ml kwasu octowego lodowatego, dodać 9,3 ml 70% kwasu nadchlorowego i uzupełnić do 50 ml kwasem octowym lodowatym.

1. Roztwór standardowy ALA: 5 mg ALA/100 ml wody.

**WYKONANIE OZNACZENIA**

1. Do 0,5 ml otrzymanej próbki dodać 4,5 ml roztworu 0,5M octanu sodu i dokładnie wymieszać.
2. Odmierzyć po 1 ml powyższego roztworu do dwóch probówek (badanej i kontrolnej).
3. Do jednej probówki dodać 0,05 ml acetyloacetonu (próbka badana).
4. Obydwie probówki ogrzewać przez 20 min. we wrzącej łaźni wodnej (100°C).
5. Po ochłodzeniu do każdej probówki dodać 1 ml odczynnika Ehrlicha, wymieszać.
6. Po 15 minutach odczytać absorbancję próby badanej (zawierającej acetyloaceton) wobec próby kontrolnej (niezawierającej acetyloacetonu) przy długości fali 553 nm.
7. Ilość ALA odczytać z krzywej kalibracji.

**WYKONANIE KRZYWEJ KALIBRACJI**

Przygotować roztwory wzorcowe ALA o następujących stężeniach: 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 mg/100 ml, według poniższej tabeli:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Otrzymane stężenia ALA (mg/100 ml) | r-r stand. ALA(5 mg/100 ml) [ml] | H2O [ml] |
| 0,5 | 0,05 | 0,45 |
| 1,0 | 0,1 | 0,4 |
| 2,0 | 0,2 | 0,3 |
| 3,0 | 0,3 | 0,2 |
| 4,0 | 0,4 | 0,1 |

Do 0,5 ml roztworu o odpowiednim stężeniu dodać 4,5 ml roztworu 0,5M octanu sodu i wymieszać dokładnie. Odmierzyć po 1 ml do dwóch probówek i oznaczyć stężenie kwasu ALA według podanej powyżej metody (od punktu 3-6). Wykreślić krzywą kalibracji zależności stężenia ALA od absorbancji przy długości fali 553 nm. Odczytać badane stężenie ALA (w mg/100 ml).

**Normy ALA - dla moczu w przeliczeniu na dobowa zbiórkę:** dobowa zbiórka 2000ml

Fizjologicznie ilość wydalanego ALA z moczem : około 2 mg/24 godz.

W zatruciu ołowiem ilość wydalanego ALA z moczem: 11-100 mg/24 godz.