ETH zürich

ETH Library

Entwicklung einer enzymatisch-potentiometrischen Methode zur Erfassung von Harnstoff in Blutseren

Doctoral Thesis

Author(s):
Thanei-Wyss, Ursula M.

Publication date:
1982

Permanent link:
https://doi.org/https://doi.org/10.3929/ethz-a-000278418

Rights / license:
In Copyright - Non-Commercial Use Permitted

This page was generated automatically upon download from the ETH Zurich Research Collection.
For more information, please consult the Terms of use.

Diss. ETH Nr. 7114

Entwicklung einer enzymatisch-potentiometrischen Methode zur Erfassung von Harnstoff in Blutseren

ABHANDLUNG
zur Erlangung des Titels eines
DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN
der
EIDGENOESSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZUERICH

vorgelegt von
URSULA M. THANEI-WYSS
Dipl. Natw. ETH
geboren am 12. Dezember 1955
von Zürich

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. W. Simon, Referent
PD Dr. W.E. Morf, 1. Korreferent
Prof. Dr. Z. Stefanac, 2. Korreferentin

Zürich 1982

9. ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird die Entwicklung einer enzymatisch-potentiometrischen Methode zur Bestimmung der Harnstoffkonzentration in Blutserum beschrieben. Das Analyseverfahren beruht auf einer indirekten Messung der Harnstoffkonzentration. Dabei wird die Serumprobe in einen Ureasereaktor eingespritzt und dort unter Freisetzung von Ammoniumionen hydrolytisch umgesetzt. Anschliessend wird der Gehalt des Eluats an Ammoniumionen mit Hilfe einer ammoniumselektiven Flüssigmembranelektrode bestimmt und daraus der Serum-Harnsstoffspiegel ermittelt.
Dank einem speziellen Messverfahren [473] konnte der direkte Kontakt zwischen Serumprobe und ionenselektiver Flüssigmembran vermieden werden.
Die an 90 Serumproben ermittelten Harnstoffkonzentrationswerte stimmten ausgezeichnet mit entsprechenden Vergleichswerten überein, die in einem klinisch-chemischen Laboratorium nach der Diacetylmonooxim-Methode gemessen worden waren.

Als ionenselektive Komponenten in der Membran der Ammoniumelektroden wurden die Makrotetrolide Nonactin und Monactin verwendet. Diese Elektroden konnten trotz der Anwesenheit eines komplexen Störionenhintergrundes erfolgreich eingesetzt werden, da die im Elektrolytanteil von Blutserum enthaltenen Störionen (Natrium- und Kaliumionen) auch den verwendeten Eichlösungen in mittleren physiologischen Konzentrationen zugesetzt wurden.

Als Ausblick wurde die Eignung des Bestimmungsverfahrens zur Automatisierung und damit die Möglichkeit eines Einbaus in klinisch-chemische Durchflussanalysatoren erörtert. Als besondere Kriterien wurden das benötigte Probevolumen, der Arbeitsaufwand und die Analysendauer diskutiert.

Im Rahmen eines Ueberblicks über verschiedene Harnstoffbestimmungsmethoden wurden allgemeine Anforderungen, wie sie an derartige Routineverfahren gestellt werden, umrissen. Diese Anforderungen werden vom hier beschriebenen Harnstoff-

bestimmungsverfahren in bezug auf die Richtigkeit und die Präzision der erhaltenen Resultate erfüllt.

Der katalytische Wirkungsgrad eines Ureasereaktors wurde auf der Grundlage theoretischer Betrachtungen [702] eingehend untersucht. Das angewendete Modell erlaubt es, die Gesetzmässigkeit des zeitlichen Aktivitätsverlusts zu erkennen und somit die Lebensdauer eines Enzymreaktors zu beurteilen.

SUMMARY

The development of an indirect enzymatic-potentiometric method for the determination of urea in blood serum is described. The serum sample is injected into a urease reactor where the urea is hydrolysed to ammonium ions. The eluate is analyzed using an ammonium-selective electrode; the urea concentration of the sample is derived via the ammonium content.
A particular technique helps avoid a direct contact between the sample and the liquid membrane of the ion-selective electrode.

90 serum samples were analyzed for urea; the results correlate perfectly with those obtained on the same samples by the diacetylmonooxime method in a clinical laboratory.

Nonactin and monactin were incorporated as ion-selective compounds into the ammonium electrode membranes. These electrodes could be used despite the presence of a complex ionic background because the calibration solution contained sodium and potassium in physiological concentrations.

The feasibility of an automation of this urea determination is discussed. A comparison is made with a routine method (diacetylmonooxim method) in terms of sample volumes, duration of analysis, and the necessary over-all effort.
Together with a survey over a number of different urea-determination methods the general requirements that govern such routine methods are sketched. The indirect urea-assay presented here meets these criteria in terms of accuracy and precision.

Within a given theoretical framework [702] the catalytic efficiency of an urease reactor was investigated in detail. This model permits the loss of enzymatic activity and the probable life time of a reactor to be estimated.