21.
Quantitative Analysis of Creatinine

- 肌酸酐和尿素氮及尿酸一樣，都是在體內當作能源使用的蛋白質殘渣。
- 肌酸酐（creatinine）是臨床上最常見的腎功能指標，它主要是肌肉代謝之後的產物經由腎臟代謝，隨著尿液排出；當腎功能異常時，肌酸酐的排出量會減少，血中數值就會增加，因此長期以來就被當作是腎功能的指標。
- 肌酸酐的值會受到許多因素影響:性別、年齡，肌肉量、飲食、營養狀況等

- 在本實驗中我們將測定人體尿液中肌酸酐的含量。
- 肌酸酐（Creatinine）為人體運動代謝後產物，其測定數據用於診斷和治療腎臟疾病（尿毒症），監控腎透析（尿毒監控），以及作為其他尿液分析物測定資料的計算基礎（其他疾病診斷）。
- 正常男性尿液：800 ~ 2000 mg/24hr或7.1 ~ 17.7 mmoL/24hr
- 正常女性尿液：600 ~ 1800 mg/24hr或5.3 ~ 15.9 mmoL/24hr
- 正常人尿液濃度：約在171 ~ 3915 ppm 之範圍內
- 採用Jaffe's法測定肌酸酐濃度，利用肌酸酐與苦味酸在鹼性溶液（pH>13.3）中結合成肌酸酐-苦味酸複合物呈橘紅色或橙色。

Reagents:

- 1. 0.75 M NaOH
- 2. 0.04 M picric acid
- 3. 20 ppm creatinine

Procedure:

- **稀釋25倍的尿液樣品:**取2 ml原始尿液以定量瓶稀釋至50 ml
- 準備7支試管，如下表配置溶液，旋緊蓋子並混和均勻，靜置15分鐘。

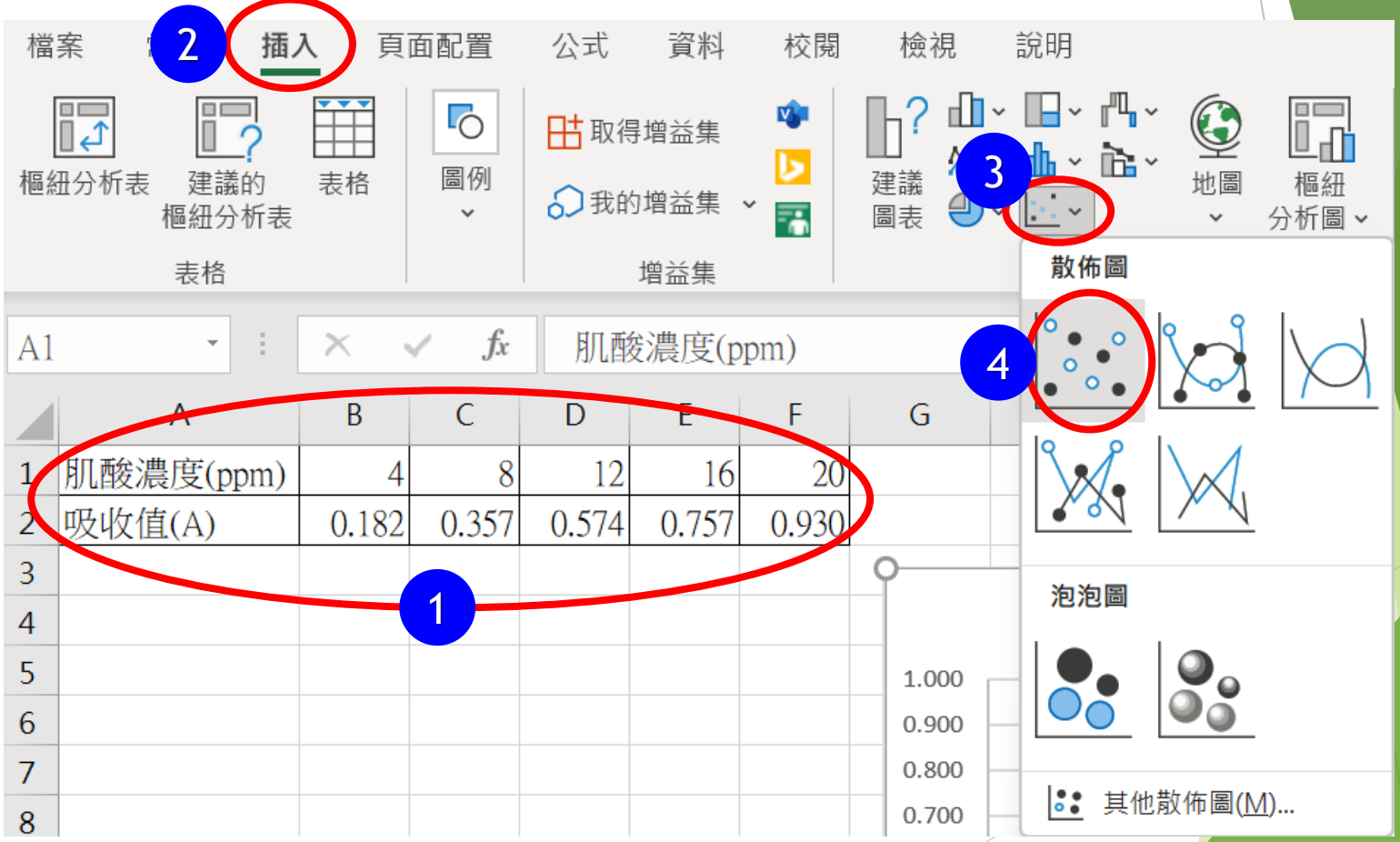
	Blank	Calibration curve					Sample
creatinine concentration (ppm)	0	4	8	12	16	20	Sample/25
20 ppm creatinine (ml)	0	1	2	3	4	5	urine sample 1 ml
H_2O	5	4	3	2	1	0	4
0.04 M picric acid (ml)	2	2	2	2	2	2	2
0.75 M NaOH (ml)	2	2	2	2	2	2	2

- 調整波長至500nm，放置Blank溶液吸收值歸零。
- 放置creatinine濃度，4、8、12、16、20ppm、sample，測量吸收值。

- ※ 可見光分光光度計操作流程:
  1. 熱機(warm up)30分鐘以上。
  2. 設定波長500 nm
  3. 按 A/T/C，選擇A 吸收值。
  4. 歸零(auto zero)：將空白溶液(blank)放入樣品槽中，按blank
  5. 樣品測定：取出空白溶液，依次放入樣品溶液讀取吸收值。

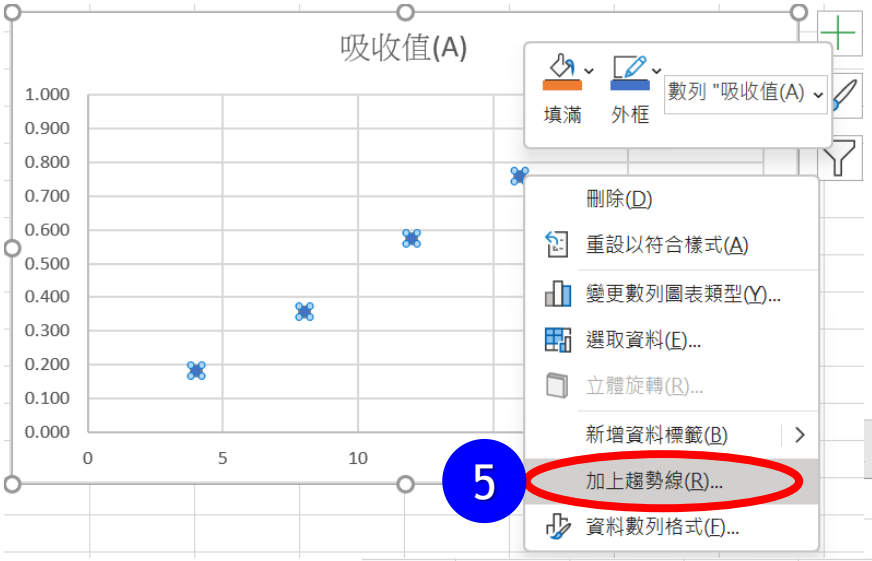
線性回歸圖

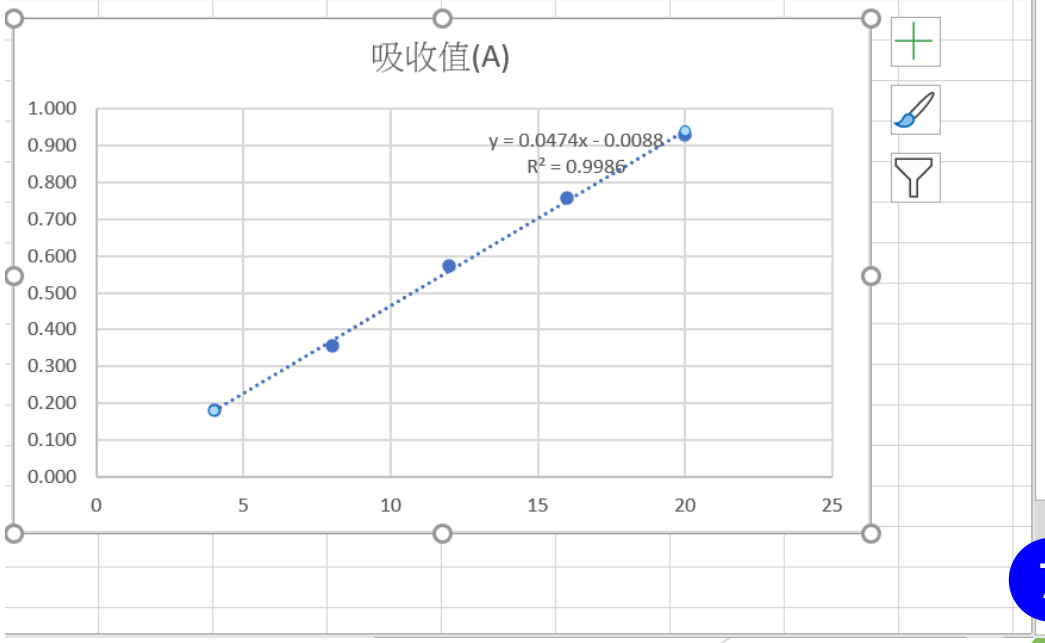
- 插入→ 散佈圖

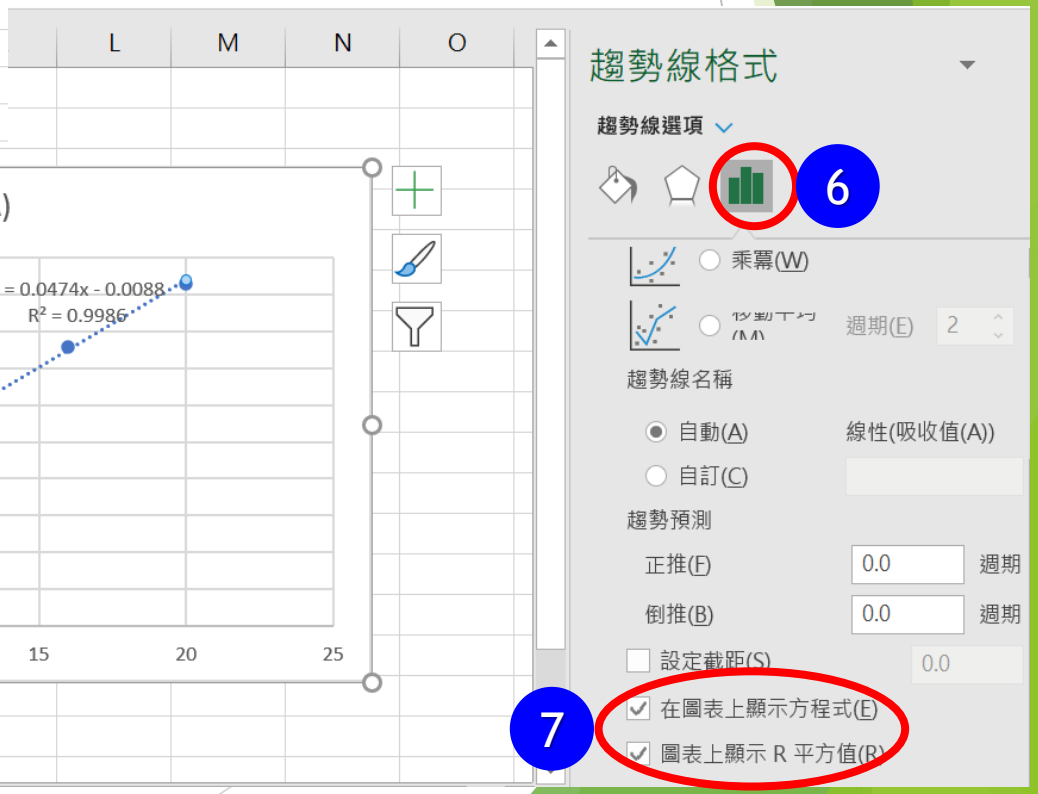


	A	B	C	D	E	F
1	肌酸濃度(ppm)	4	8	12	16	20
2	吸收值(A)	0.182	0.357	0.574	0.757	0.930

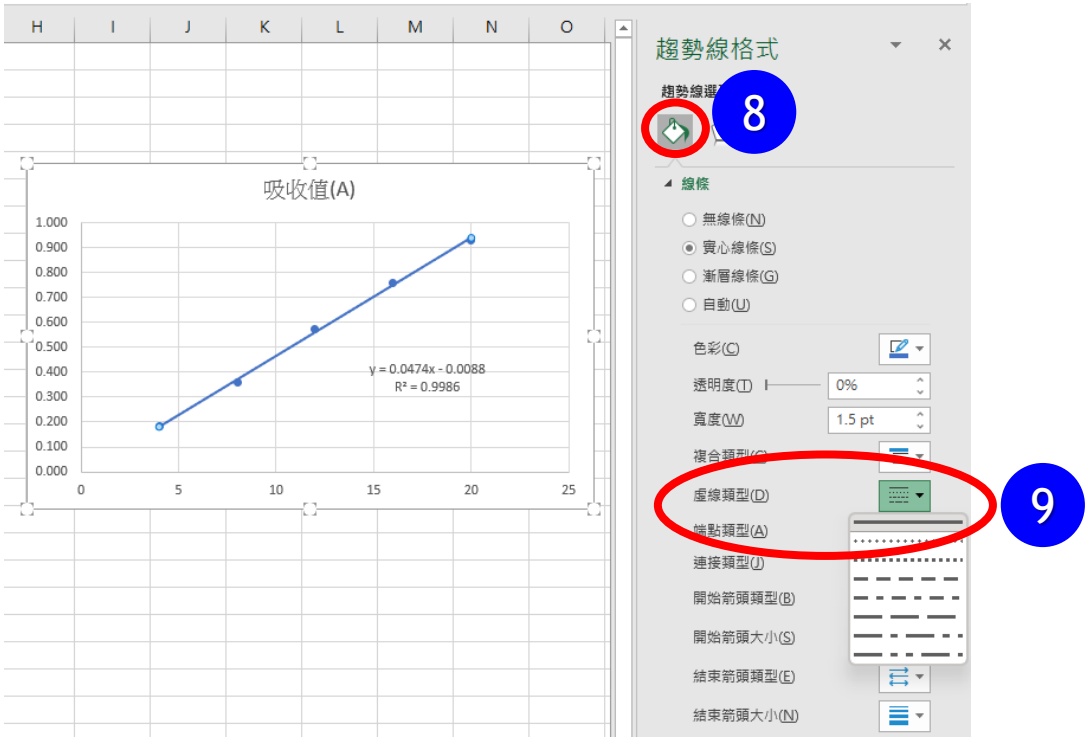
- 在“數據點”上按右鍵→加上趨勢線→圖表上顯示公式與圖表上顯示R平方值打勾



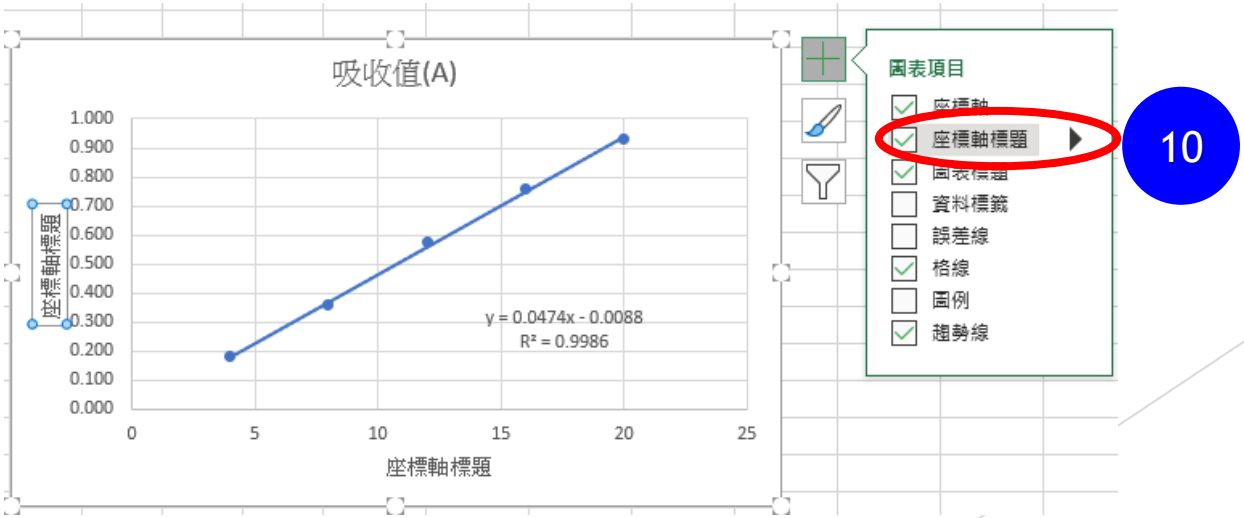




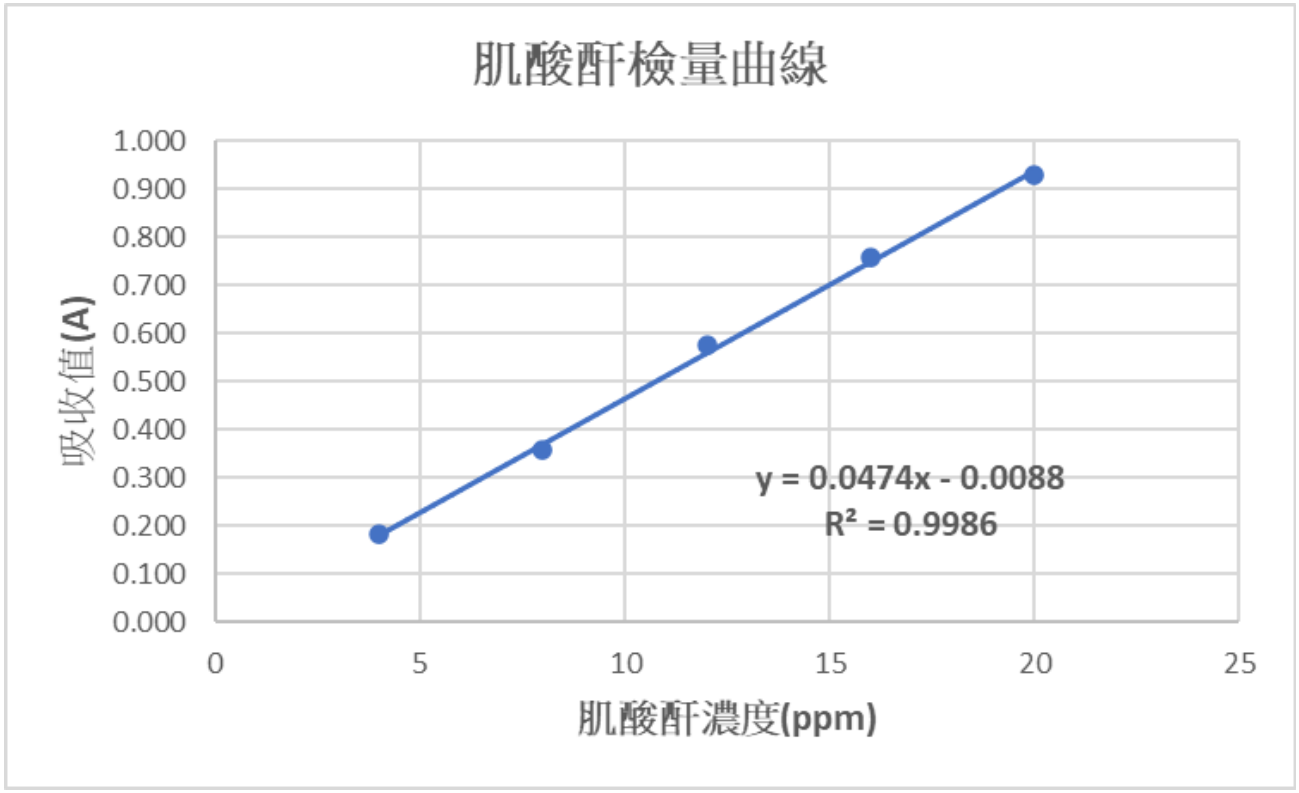
- 點選線性，將虛線改為實線



- 圖表項目→勾選座標軸標題



- 加上X軸、Y軸單位、名稱以及圖表標題，得到類似下面的圖形



- 代入測量得出的Sample吸收值:0.432至檢量曲線，如上圖(y=0.0474x-0.0088)，得出其濃度9.300ppm，因為原始尿液共稀釋25倍，所以原始尿液中肌酸酐的濃度需乘25，故得232ppm