

Catedra de fizică a I.M.F. din Tîrgu Mureş. (cond. conf. L. Balogh)

DETERMINAREA INDICELUI DE PEROXID AL FOSFOLIPIDELOR PRIN TITRARE POTENȚIOMETRICĂ

B. Tökés, B. Barabás

Fosfolipidele joacă un rol foarte important în organismul viu; acest rol nu este încă în întregime elucidat (1). *B. Barabás* și *L. Balogh* (2), ca și *Schauenstein* și colab. (3) susțin că fosfatidele, fiind unele dintre formele biochimice cele mai

B. TÖKÉS, B. BARABÁS: DETERMINAREA INDICELUI DE PEROXID
AL FOSFOLIPIDELOR...

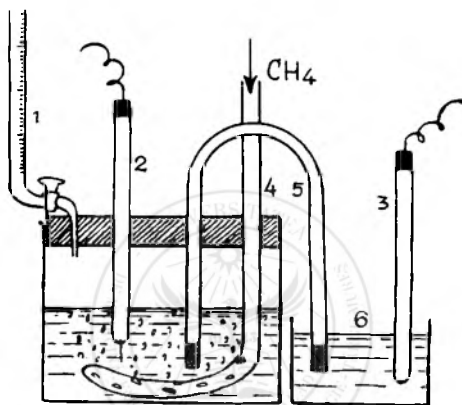


Fig. nr. 1.

1 - biuretă; 2 - electrod de platină; 3 - electrod de calomel; 4 - agitator cu gaz metan; 5 - sifon electrolic; 6 - soluție saturată de clorură de potasiu

uşor oxidabile, iau parte ca factor important în transportul oxigenului prin membrana celulară. Coroborînd această observaţie cu faptul că în ţesuturile canceroase valoarea potenţialului de oxido-reducere se micşorează, este evidentă necesitatea cercetării multilaterale a proceselor de oxido-reducere a fosfolipidelor din organism. Numeroase teorii şi date experimentale concordante arată că autooxidarea acizilor graşi - in vitro - începe cu adăptia oxigenului la legăturile nesaturate, dînd naştere peroxizilor, iar în cazul olefinelor izolate oxidarea, la temperatură, joasă, continuă cu formarea hidroperoxizilor (4). Acest proces se poate urmări prin determinarea cantitativă a peroxizilor şi hidroperoxizilor.

Determinările peroxizilor organici, deci şi dozarea lipoperoxizilor, relatate pînă în prezent, au fost efectuate prin metoda iodometrică, stanometrică, iar unele din ele prin diferite metode colorimetrice (5—11). Comparînd aceste metode rezultă că mulţi factori micşorează aplicabilitatea lor generală, măresc nesiguranţa rezultatelor, ca: imprecizia punctului de viraj al soluţiilor colorate; eroarea negativă în cazul metodei cu tiocianură ferică, dată de reacţia dintre Fe^{3+} şi gruparea acidului fosforic, sensibilitatea scăzută şi „eroarea de oxigen”, mărită a metodei colorimetrice cu indofenol, etc. (5).

În cercetările noastre, indicarea punctului final al titrării iodometrice am realizat-o potenţiometric. La determinarea conţinutului în peroxid al combinaţiilor cu greutatea moleculare mari din ţitei, metoda potenţiometrică a fost deja utilizată (12), dar în domeniul fosfolipidelor nu am găsit date referitoare la această problemă.

Mersul determinării

Determinările le-am efectuat cu un potenţiommetru LP-5, prevăzut cu amplificator electronic.

Substanţa cercetată am dizolvat-o în 30 ml alcool-izopropilic, abs.-acid acetic glacial (6:1); am adăugat 10 ml soluţie saturată de Nal în alcool-izopropilic; am încălzit-o pe baie de apă timp de 10 minute, necesar pentru totala punere în libertate a iodului şi din partea peroxizilor dialchilici (13). Am adăugat 5 ml apă dist., şi imediat am efectuat titrarea cu o soluţie de $Na_2S_2O_3$ 0,01 n. Ca electrod indicator am folosit unul de platină, neted, iar ca electrod de comparaţie am folosit unul de calomel saturat. Cei doi electrozi au fost uniţi cu un sifon electrolitic umplut cu o soluţie de KCl saturată, iar capetele sifonului închise cu tamponane de vată (Fig. 1.).

Soluţia de $Na_2S_2O_3$ am adăugat-o soluţiei cercetate în cantităţi mici, agitînd permanent. Dacă valoarea indicelui de peroxid este cunoscută, cu aproximaţie, titrarea se poate efectua şi cu cantităţi mai mari pînă în apropierea punctului de echivalenţă. Întrucît fosfatidele sînt emulgatori foarte buni, deşi conţinutul lor în peroxizi este relativ mic, concentraţia soluţiei titrante $Na_2S_2O_3$ nu am redus-o sub 0,01 n, fiindcă o cantitate mai mare din soluţia apoasă duce la formarea unei emulsii stabile, fapt care micşorează reproductibilitatea măsurătorii.

Este importantă excluderea oxigenului atmosferic din soluţie, deoarece în caz contrar, rezultatele vor prezenta o „eroare de oxigen”. Noi am realizat aceasta prin barbotare de metan purificat, înlocuind astfel şi agitatorul.

În cursul titrării potenţialul electrodului indicator a fost aproape constant pînă la punctul de echivalenţă: la început a crescut puţin, iar în apropierea punctului de echivalenţă a început să scadă, şi apoi a căzut brusc la zero (± 15 mV), cu o variaţie a potenţialului de 60—80 mV. Volumul soluţiei titrante, corespunzător punctului de echivalenţă, l-am determinat grafic şi indicele de peroxid P l-am calculat pe baza formulei următoare:

$$P = \frac{(a-b) \cdot 10}{m}$$

În care: a = volumul soluţiei $Na_2S_2O_3$ în ml, consumat la titrarea probei; b = volumul soluţiei titrante în ml, consumat la proba martor; m = masa probei în g.

Rezultate

Controlul metodei descrise l-am efectuat pe baza determinărilor indicelui de peroxid al peroxidului de benzoil, obținind rezultatele cuprinse în tabelul nr. 1. Din tabel reiese că eroarea determinărilor nu depășește în nici un caz, valoarea $\pm 2\%$, în cele mai multe cazuri rămânând sub $\pm 1\%$. Dacă o astfel de precizie este suficientă, putem renunța la evaluarea datelor titrării și la reprezentarea grafică.

Tabelul nr. 1.
Determinarea indicelui de peroxid al peroxidului de benzoil
prin titrare potențiometrică

Nr. crt.	Cant. luată în lucru, în g	Consumul în ml	Indicele de calculat	Peroxid găsit	Eroare rel. %
1.	0,0056	4,61	8265	8230	-0,4
2.	0,0116	9,53		8215	-0,6
3.	0,0065	5,46		8400	+1,6
4.	0,0127	10,41		8197	-0,8
5.	0,0112	9,24		8250	-0,2
6.	0,0133	11,18		8406	+1,7
7.	0,0160	13,22		8262	0,0
8.	0,0139	11,53		8295	+0,4
9.	0,0168	13,88		8262	0,0
10.	0,0103	8,65		8398	+1,6
11.	0,0159	13,21		8251	-0,2
12.	0,0144	11,86		8236	-0,4
13.	0,0136	11,13		8184	-1,0
14.	0,0117	9,70		8290	+0,3
15.	0,0142	11,84		8338	+0,9

Tabelul nr. 2.
Determinarea indicelui de peroxid al fosfolipidelor
prin titrare potențiometrică

Nr. crt.	Substanța cercetată	Indicele de peroxid	Observații
1.	Lecitină „Merck”, veche de mai mulți ani	10,9	
2.	Idem	17,3	Expusă radiației u. v. timp de 15 min.
3.	Amestec de fosfatide, extras din creier de bovine, de oca. 5 ani	16,7	Ferit de lumină și de aer
4.	Amestec de fosfatide din ou, cu o vechime de 1 zi	0,0 3,7	„
5.	Idem, cu o vechime de 3 luni		
6.	Idem	28,0	Substanța nr. crt. 5 expusă și efectului aerului timp de 10 zile
7.	Un alt amestec de fosfatide din ou, cu o vechime de oca. 4 ani	55,6	În tot timpul păstrat ferit de aer și de lumină

Am aplicat metoda elaborată de noi, la amestecuri de fosfolipide, respectiv la lecitine. Indicii de peroxid sînt trecuți în tabelul nr. 2 Fosfolipidele trecute sub nr. crt. 3—7, au fost preparate la catedra noastră, printr-o metodă personală de extracție eterică și păstrate pînă la executarea determinării — cu excepția probei nr. 6 — ferite de aer și de lumină. Creșterea indicelui de peroxid este cu mult mai rapidă, dacă lipidele sînt expuse efectului aerului și luminii — după cum

arată și determinarea nr. 6—, mai ales în soluție. Din această cauză cântărirea și dizolvarea substanței de determinat se recomandă a se executa imediat înaintea măsurătorii.

În cazul lipoperoxizilor, indicarea potențiometrică a punctului final al titrării iodometrice, reduce apreciabil erorile subiective, provenite în primul rând din imprecizia constatării punctului de viraj. Erorile în general au depășit valoarea de 10%, la substanțele cu culoare mai închisă, ca de ex. lecitina „Merck“, sau în cazul altor fosfatide într-o fază de oxidare mai avansată, punctul final a fost cu totul nesigur, eroarea relativă depășind chiar valoarea de 100%.

Experiențele noastre, ca și unele date din literatură (14) arată că executarea acestei metode de determinare exclude adiția iodului la legăturile nesaturate, fapt care ar pricinui scăderea aparentă a indicelui de peroxid. Acest fapt merită să fie menționat, deoarece fosfatidele organismului viu conțin totdeauna legături duble.

Sosit la redacție: 18 iunie 1962.

Bibliografie

1. Dr. BEROINADE V., Dr. CONDACSE A., Dr. RADULESCU E.: Lipidele. Editura Medicală, București, 1960;
2. BARABAS B., și BALOGH L.: Studii și Cercetări de Chimie, 3 (1957) 443—450;
3. SCHAUENSTEIN E., WENNIG F., DOUJAK H., KRINGS H.: Klin. Wochenschrift, 3 (1959) 116—126;
4. HASKO L.: Zsirok és olajok kémiaja és technológiája;
5. GLAVIND J., HARTMANN S.: Acta Chemica Scandinavica, 9 (1955) 497—508;
6. GLAVIND J., HARTMANN S.: Acta Chemica Scandinavica, 10 (1956) 1298—1302.
7. SCHAUENSTEIN E., WENNIG F., KRONEGGER K.: Klin. Wochenschrift, 16 (1957) 832—839;
8. HOCK H., KNOPF H.: Chem. Berichte, 92,5 (1959) 1115—1117;
9. ÜBERREITER K., SORGE G.: Angew. Chem., 68 (1956) 352—354;
10. BARNARD D., HARGRAVE K. R.: Anal. Chim. Acta, 5 (1951) 476. J. Amer. Chem. Soc., 81 (1959) 4548—4552;
11. LOFTUS HILIS G., THIEL C. C.: J. Dairy Research, 14 (1946) 340;
12. SERGIENKO S. P., GALICI P. N., SPIVAK L. L.: Jurnal. Anal. Himii, 1 (1957) 139—142;
13. FOK N. V., NALBANDIN A. B.: Probleme de cinetică chimică, II. Acad. U.R.S.S. 365—387;
14. KOLTHOFF I. M., BELCHER R., STRENGER V. A., MATSUYAMA G.: Obiemi analiz. III. 479, Moscova, 1961.