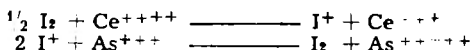


## DOZAREA PERFECTIONATĂ A IODULUI LEGAT ORGANIC DIN SER

Eva Kótay, E. Módy

Metodele utilizate în general pentru microdozarea iodului se bazează pe reacţia Sandell-Kolthoff:



Cantitatea iodului se calculează pe baza determinării vitezei de transformare a ceri-ionilor, urmărind timpul de înjumătăţire, sau pe baza determinării scăderii intensităţii de culoare ce se instalează în cursul unei perioade de incubaţie stabilită. Maximul curbei de absorbţie a ceri-ionilor se află la 315 milimicroni. Această lungime de undă aparţine teritoriului ultraviolet, deci ea nu poate fi citită cu ajutorul fotometrelor obişnuite. Din această cauză, intensitatea culorii de galben-palid a ceri-ionilor se urmăreşte, în general, în jurul lungimii de undă de 420 milimicroni. O corelaţie lineară, între gradul de extincţie şi concentraţia ceri-ionilor poate fi obţinută însă, numai în cazul determinărilor efectuate, cu ajutorul unor spectrofotometre prevăzute cu monocromator.

Pentru înlăturarea acestui inconvenient tehnic, s-a trecut la utilizarea produşilor coloraţi ai ceri-ionilor, formaţi cu diferite substanţe (acidul sulfanic, morfina, brucina etc.). Astfel, de exemplu ceri-ionii oxidează brucina, ducînd la formarea unui complex colorat. Intensitatea culorii acestui complex este de 4—5 ori mai mare decît cea a ceri-ionilor, iar la 430 milimicroni, valorile de extincţie sînt într-o corelaţie lineară cu concentraţia. Cu ajutorul reacţiei de culoare stabilă dată cu brucină, pot fi efectuate analize în serii, bine reproductibile, intensitatea culorii putînd fi citită şi cu ajutorul fotometrului JOR FC—4, de tip Pulfrich.

Esenţa metodei perfectionate constă în transformarea cantitativă a iodului legat de proteine în ioduri prin ardere în prezenţa carbonatului de sodiu şi sulfatului de zinc. După efectuarea reacţiei lui Sandell-Kolthoff, cantitatea reziduală a ceri-ionilor se transformă cu brucină într-un complex de culoare portocalie, intensitatea căruia este invers proporţională cu conţinutul de iod al probei.

### Reactivi necesari

1. Sulfat de zinc, soluţie 10%.
2. Carbonat de sodiu, 2 N (106 g carbonat de sodiu anhidru în 1.000 ml apă bidistilată).
3. Amestec de acizi: un volum de 120.5 ml acid sulfuric concentrat se amestecă cu 500 ml apă bidistilată. 58.5 g ClNa se dizolvă în 200 ml apă bidistilată; 4.545 g trioxid de arsen se dizolvă în 20 ml soluţie de KOH 7.0 g%. Ambele soluţii se adaugă la soluţia de acid sulfuric diluată, iar volumul se completează cu apă bidistilată la 1.000 ml.
4. Sulfat ceri-amoniacal 0.005 M (3.163 g sulfat ceri-amoniacal sau 2.021 g sulfat de ceriu) se suspendează într-un volum de 500 ml apă bidistilată, se adaugă 40.4 ml acid sulfuric concentrat, amestecînd mereu. Soluţia se filtrează cu ajutorul unui filtru poros din sticlă sau se sedimentează, iar soluţia clară se decantează, volumul fiind completat la 1.000 ml cu apă bidistilată.
5. Acetat de brucină, soluţie de 1 g%, 5 g brucină se suspendează în 200 ml apă bidistilată şi se adaugă 6.0 ml acid acetic glacial. După dizolvare, ames-

tecul se filtrează cu ajutorul unui filtru poros din sticlă, iar volumul se completează la 500 ml.

6. Soluție-mamă de iod 10.0 mg%. 130.8 mg IK (sau 118.1 mg INa) se dizolvă în 1.000 ml apă bidistilată (1 ml din această soluție conține 100 ng I<sup>-</sup>). Soluția se prepară din 6 în 6 luni.

a) Soluția intermediară de iod: 2,5 ml din soluția de bază se diluează la 1.000 ml.

b) Soluția de calibrare: la un volum de 8.3 ml carbonat de sodiu 2 N se adaugă succesiv 0.25—0.50—1.00—1.50—2.00 ml din soluția intermediară, și volumul final se aduce la 25 ml cu apă bidistilată. 2,0 ml din aceste soluții conțin 5—10—20—30 și 40 ng de iodură, care corespund la cantitățile de 1.50—3.00—6.00—9.00 și 12,00 ng % iod legat organic din ser. Pentru proba oarbă, volumul de 8,3 ml carbonat de sodiu 2 N se aduce cu apă bidistilată la volumul de 25 ml. Același amestec se utilizează pentru diluarea probelor, în cazuri, când conținutul de iod legat organic înțrece limita de 15 ng%.

7. Tampon acetat-acid acetic. 56 ml acid acetic glacial și 118 g acetat de sodiu cristalizat se dizolvă în 1.000 ml apă bidistilată.

8. Soluție saturată de sulfat de amoniu. 370 g sulfat de amoniu se dizolvă în 500 ml apă bidistilată.

### Tehnica

În eprubete de centrifugă groase, având volumul de 50 ml, la 3 ml soluție de tampon se adaugă 1 ml ser, 5 picături (0.25 ml) sulfat de amoniu saturat și se fierbe la baie de apă clocotindă timp de 10 minute, agitând mereu. Precipitatul se centrifughează, se spală de 2 ori cu apă bidistilată, apoi se adaugă la precipitat 2 ml carbonat de sodiu 2 N, 1 ml sulfat de zinc și se agită bine. Pentru proba oarbă utilizăm 2 ml din soluția de carbonat de sodiu amintită mai sus, adăugând reactivii necesari. Amestecul se pune la etuvă la 100° C pînă la uscare, apoi la cuptor timp de 150 de minute la temperatura de 600° C. Dacă probele conțin și după răcire cantități considerabile de carbon, mai adăugăm la fiecare încă 1 ml de soluție de sulfat de zinc, le uscăm la etuvă și le calcinăm la cuptor încă o dată, timp de 60 de minute.

După răcirea tuburilor, reziduul se suspendează în 6 ml apă bidistilată, agitându-le puternic timp de 10 minute, apoi centrifugându-le timp de 10 minute, la o turație de 3.000 T/min. Din supernatantul clar se pipetează câte 2,0 ml în eprubete curate, se adaugă 2,0 ml amestec acid, se agită bine, iar eprubetele se pun apoi într-o baie cu gheață timp de 10 minute. Din soluția cerică refrigerată în mod similar se adaugă apoi câte 2,0 ml la fiecare, punind pe urmă eprubetele în termostate la 37° C timp de 10 minute, după care se așează imediat în baia de gheață. După încă 10 minute se adaugă 0.5 ml soluție de brucină la fiecare probă (inclusiv cea oarbă), se agită bine și se pun la termostat la 100° C timp de 15 minute. După răcire se citesc valorile de extincție în cuve de 1 cm, la 430 milimicroni, față de apa bidistilată. Valorile de iod legat organic se citesc direct, utilizind curba de etalonare. În cazurile, când conținutul de iod legat organic al probelor depășește limita de 15 ng %, supernatantul se diluează la jumătate cu soluția de carbonat de sodiu utilizată pentru proba oarbă și se repetă reacția de culoare, citind încă o dată extincția. La calcularea rezultatelor, este luat în considerare gradul de diluție (înmulțire cu 2!).

### Surse de eroare:

a) Impuritatea vaselor utilizate. Pentru evitarea acestora, sticlăria de laborator utilizată pentru această metodă trebuie să fie curățită anterior cu precauție, utilizind acidul sulfocromic. Tuburile de centrifugă după utili-

zare se spală bine cu apă, apoi se introduce în acid clorhidric, apoi în acid sulfocromic, pentru cel puțin o perioadă de 24 de ore. După scoaterea lor din acidul sulfocromic tuburile de centrifugă (și eprubetele necesare pentru reacția catalitică) se spală bine cu apă de robinet, apoi cu apă bidistilată, cel puțin de trei ori.

b) Menținerea temperaturii de  $600^{\circ}\text{C}$  la calcinare: sistemul de termoreglare al cuptorului trebuie controlat periodic. Este important ca temperatura să nu fie superioară celei de  $600^{\circ}\text{C}$ , iar durata calcinării să nu fie mai lungă de trei ore și treizeci de minute. În cursul efectuării reacției catalitice trebuie să se evite acțiunea luminii puternice (lumină solară, directă). Probele uscate, la fel trebuie ținute la întuneric înainte de dizolvarea lor, dacă aceasta nu poate fi efectuată imediat după răcire.

Metoda a fost utilizată în laboratorul nostru mai mult de un an, efectuând un număr de peste 200 de determinări.

*Sosit la redacție: 12 februarie 1969.*

### *Bibliografie*

1. COMOROȘAN S., MITRICĂ NATALIA: Metodele laboratorului clinic, Ed. Med., București, 1964, 247;
2. BÁLINT P.: Klinikai laboratóriumj diagnosztika, Medicina Kiadó, Budapest, 1962, 575;
3. SOÓS P.: Rev. Med. (1967), XIII, 2, 139;
4. STOLČ V.: Estimation of Iodocompounds in Biological Material, Publishing House of the Slovak Academy of Science, Bratislava, 1966, 82.