

M. S.



D. N. S.

SERVIÇO NACIONAL DE MALÁRIA
Diretor Dr. MANOEL FERREIRA

PUBLICAÇÕES AVULSAS

DO

INSTITUTO AGGEU MAGALHÃES

Recife (Pe.)

BRASIL

SÔBRE UM MÉTODO DE DOSAGEM SIMULTÂNEA DO CÁLCIO E DO FÓSFORO MINERAL NO SANGUE

Bento Magalhães Neto

O metabolismo do cálcio e o do fósforo são intimamente relacionados, de modo que o estudo de um deles não pode de maneira alguma excluir o do outro.

As modificações fisiológicas ou patológicas apresentadas refletem-se de certa maneira na composição do sangue e a determinação quantitativa destes íons permite avaliar as alterações do seu metabolismo.

O método clássico de dosagem do cálcio consiste em sua precipitação pelo oxalato e subsequente determinação do oxalato de cálcio formado, por manganimetria

A insolubilidade do oxalato de cálcio reconhecida desde 1787 por Brugnatelli, tem sido aproveitada por diversos investigadores, para a determinação do cálcio no sôro sangüíneo. Marenzi & cols. (1947) afirmam que é a técnica que oferece maiores garantias de segurança nos resultados. Recentemente, Grette (1953) descreve um método de dosagem do cálcio e do magnésio no sôro, usando o tetracetado de etileno-diamina, no qual se torna possível determinar êstes íons, separadamente, por meio da precipitação prévia do cálcio pelo oxalato.

Ainda baseado no mesmo princípio, Lehman (1953) descreve um micrométodo foto-elétrico para a determinação do cálcio no sangue.

Entre os processos assinalados foi dada preferência ao descrito por Clark & Collip (1925), modificação da técnica de Kramer & Tisdall (1921) e que já foi utilizada com sucesso (Magalhães Neto, 1944).

Na determinação do fósforo, a maior parte dos processos são baseados na formação do ácido fosfo-molibdico e sua posterior redução sendo o aparecimento de uma coloração azul, resultante desta redução, proporcional à concentração do fósforo.

Segundo Denigès (1927) o composto azul seria um fosfo-molibdato de molibdenilo e para o qual propôs a denominação de fosfo-conjugado cerúleo-molibdico. Para Kuttner & Lichtenstein (1930) a cor é produzida por uma mistura de óxidos de molibdênio reduzidos, em estado coloidal.

As variações do método consistem no emprego de redutores os mais diversos.

Magalhães Neto, (1954) teve ocasião de verificar que o método de Pereira (1939), modificado por Rabinovitch (1951), apresentava resultados muito bons e por isso seria o método de eleição. Em razão, porém, das dificuldades apresentadas por este processo, entre as quais a destruição prévia da matéria orgânica, procurou-se obter um método seguro, no qual fôsse possível eliminar esta destruição tão trabalhosa. Para isso foi preferido o método Gomori (1942) usado por Villela (1951) e que se mostra bastante satisfatório.

Assim, a modificação proposta neste trabalho consiste no aproveitamento da mesma amostra de sêro para a determinação do cálcio pela técnica de Clark & Collip (1925) e a dosagem colorimétrica do fósforo pelo método de Gomori (1942).

A técnica utilizada foi a seguinte:

Colocar em um tubo de centrífuga, cônico de 15 ml.

2.0 ml de sêro sangüíneo

2.0 ml de água

1.0 ml de solução saturada de oxalato de amônio

Misturar, deixar em repouso durante trinta minutos e centrifugar. O líquido sobrenadante é transferido para um tubo e usado na determinação do fósforo, como se vê mais adiante.

O tubo é colocado de boca para baixo sobre um papel de filtro, durante cinco minutos e, depois de enxugar a boca do tubo, lava-se o precipitado com 1 ml de solução de amônia a 2%. Centrifuga-se e repete-se a lavagem. A seguir o precipitado é dissolvido em 1 ml de solução normal de ácido sulfúrico á temperatura de 70% c/c e titulado com uma solução n/100 de permanganato de potássio.

Do líquido sobrenadante são transportados, para um becher pequeno 2.5 ml, acrescentando-se 2.5 ml de água. A seguir juntam-se 5.0 ml de solução ácido tricloracético a 20%, pouco a pouco, com agitação constante do tubo. Mistura-se, então, com um bastão de vidro e deixa-se em repouso durante 15 a 20 minutos e filtra-se.

Retira-se 1 ml do filtrado, transporta-se para um tubo de colorímetro, juntam-se 2,5 do reativo sulfo-molibdico, 1.0 de solução redutora de elon, completa-se o volume de 5.0 ml com água e faz-se a leitura colorimétrica segundo o processo de Gomori (1942).

No sentido de verificar a exatidão da modificação proposta foram feitas algumas provas de reprodutibilidade dos resultados, sendo determinados nove vêzes o cálcio e o fósforo mineral de uma única amostra de sangue. Os resultados estão colocados no Quadro I.

QUADRO I

N.	CÁLCIO (mg%)	FÓSFORO (mg%)
1	8.03	5.41
2	8.03	5.70
3	8.88	5.78
4	8.99	5.55
5	8.88	5.48
6	8.88	5.41
7	8.99	5.55
8	8.45	5.41
9	8.24	5.55
Média	8.60	5.54
Desvio padrão	0.409	0.131
Desvio médio	0.363	0.098
Erro padrão da média	0.136	0.044

Para provar se a média obtida nas determinações levadas a cabo seria ou não significativa, fez-se um tratamento estatístico do material, determinando-se o desvio padrão, o desvio médio e o erro padrão da média.

Os resultados obtidos indicam que a média pode ser utilizada como representativa da amostra, por isso que atinge um valor superior a 3 vezes o respectivo erro padrão.

SUMMARY

The author describes a micro-method for the determination of calcium and inorganic phosphorus using the same blood serum sample.

BIBLIOGRAFIA

- CLARKE, E. P. & COLLIP, J. B. — 1925 — A study of the Tisdall method for the determination of blood calcium with a suggested modification. *J. Biol. Chem.*, 63: 461-464.
- DENIGÈS, G. — 1927 — Bleus de molybdene stables et instables. Application analytique à la recherche des ions phosphorique et arsenique. *Comp. Rend. Acad. D. Sc.* 184: 687.
- GOMORI, G. — 1942 — A modification of the colorimetric phosphorus determination for use with the photoelectric colorimeter. *J. Lab. & Clin. Med.*, 27: 955 - 960.
- GRETT, K. — 1953 — Micromethod for the determination of calcium and magnesium in serum. Titration with ethylene-diamine tetra-acetate. *Scand. J. Clin. & Labor. Invest.*, 5: 151-154.
- KRAMER, B. & TISDALL, F. F. — 1921 — A simple technique for the determination of calcium and magnesium in small amounts of serum. *J. Biol. Chem.*, 47: 475-481.
- KUTTNER, T. LICHTENSTEIN, L. — Microcolorimetric studies. II. Estimation of phosphorus: molybdic acid — stannous chloride reagent. *J. Biol. Chem.*, 86: 671.
- LEHMAN, J. — 1953 — A photoelectric micromethod for the direct titration of calcium in serum with ethylene-diamine tetra-acetate. *Scand. J. Clin. & Labor. Invest.*, 5: 203-204.
- MAGALHAES NETO, 1944 — Relação entre a calcemia e a calcirraquia do homem. *An. Soc. Biol. Pernambuco*, 5: 3-6.



- MAGALHÃES NETO, B. — 1954 — Ação da colchicina sôbre os ácidos nucleicos do figado. Tese — Recife.
- MARENZI, A. D., CARDINI, C. E. — BANFI, R. F. & VILALLONGA, F. A. S. — 1947 — Bioquímica Analítica Quantitativa, Buenos Aires. El Ateneo.
- PEREIRA, B. S. — 1939 — Sur la détermination spectrophotométrique de l'acide phosphorique au moyen de la réaction céruleomolybdique de Denigès. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 21: 827-835.
- RABINOVITCH, M. — 1951 — Influência da ligadura do duto da glândula sub-maxilar (*Mus musculus*) sôbre seu teor de fósforo ribo e desoxiribonucleico. Tese. São Paulo.
- VILLELA, G. G. — 1951 — Ácidos nucleicos do figado em algumas condições experimentais. Tese. Rio de Janeiro.