

BETAGLICEROFOSFATO DE SÓDIO COMO CATALISADOR NEGATIVO NA DOSAGEM DOS FOSFATOS. INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DO ÁCIDO SULFÚRICO

* PROF. HUGO CAIRE DE CASTRO FARIA
DR. ALDEMAR BRASIL DA SILVA

Dos trabalhos de Berenblum e Chain (1) sobre o método de dosagem do fósforo criado por Taylor e Miller, verifica-se que a redução do ácido molíbdico em presença do ácido sulfúrico é acelerada, cataliticamente, pela presença de fósforo sob forma de ânion PO^4 . Concluíram, também, os mesmos autores a influência da acidez sobre a decomposição, fixando as melhores condições de reação, isto é, em que a decomposição é mínima na ausência de fósforo e atingindo um máximo quando em presença deste catalisador após certo tempo.

Trabalhando em dosagens de fosfatase alcalina no soro sanguíneo verificamos que a cor resultante da redução do ácido molíbdico frente a um reativo redutor em presença do fosfato, apresentava algumas alterações que falseavam os resultados. Observamos, também, que o desenvolvimento da cor era mais rápido nos tubos em que se dosava o fósforo livre do soro, sendo bem mais lento nos tubos em que se media a fosfatase. Relacionamos esse

desencontro na estabilização da cor com a presença de betaglicerofosfato de sódio — ou seja — o substrato empregado na avaliação da atividade fosfatásica. Nessas condições surgiram dois problemas:

1 — fixar as condições ótimas de um reativo — o ácido molíbdico;

2 — estabelecer um equilíbrio no desenvolvimento da cor, isto é, tornar iguais as velocidades das reações que se processavam nos tubos dos ensaios e dos padrões.

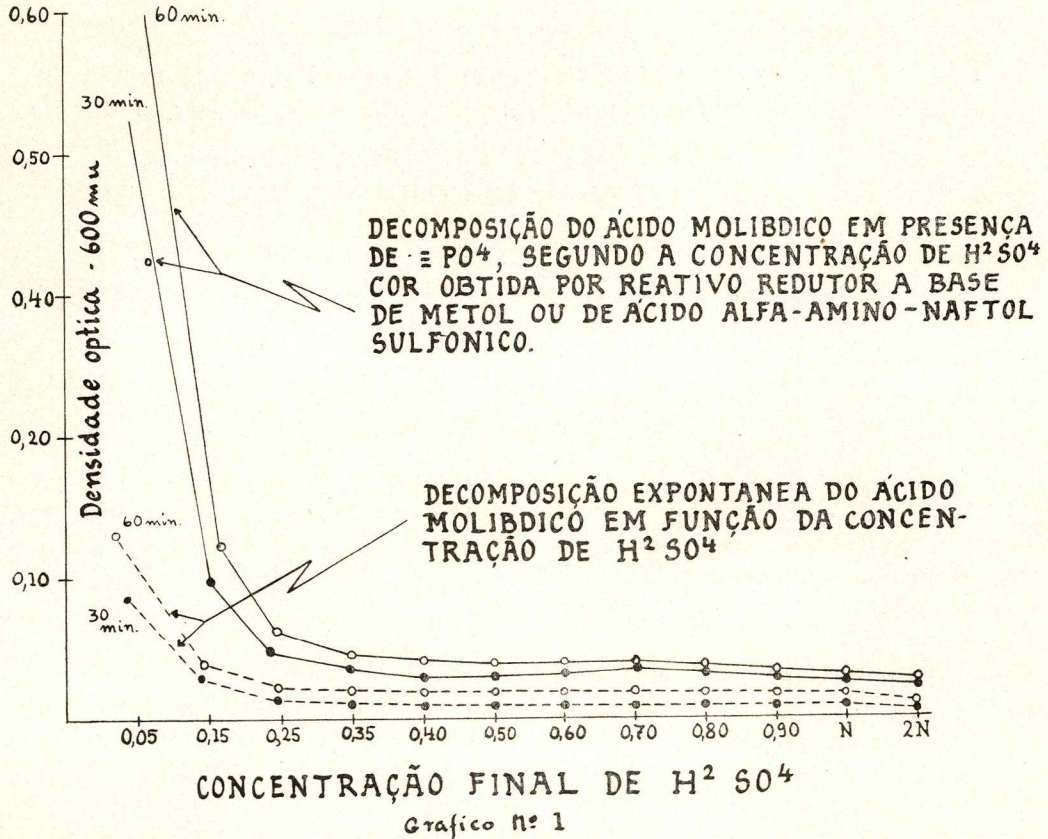
1 — *O Ácido Molíbdico:*

Sabemos que trabalhando em zona ácida em que a redução não específica é diminuta — solução 0,5 N de ácido sulfúrico — o ponto final encontrado em 30 minutos, com determinado agente redutor, é aproximadamente proporcional à cota de fosfato presente (1).

Se juntarmos quantidade fixa de PO^4 e variarmos a concentração de ácido sulfúrico, verificaremos que a

* Serviço de Pesquisas e Experimentação do Instituto Nacional de Câncer. Professor Catedrático de Química Fisiológica da Faculdade de Ciências Médicas.

redução máxima é obtida em 30 minutos entre soluções 0,40 a 0,50 N de H_2SO_4 , conforme mostra a curva abaixo. (Gráfico nº 1)



Logo, a primeira condição de dosagem é o emprêgo do ácido molibdico em solução 0,50 N de H_2SO_4 ; usamos a solução preparada segundo a fórmula clássica:

Molibdato de amônio 0,6 g
Sol. 10 N de ácido sulfúrico 5 ml
Água destilada 5 ml

Esta solução após adição dos diferentes reativos usados para a dosagem do ânion PO_4 tem concentração final de 0,5 N de H_2SO_4 (2).

2 — Influência do betaglicerofosfato de sódio na velocidade da reação:

Na dosagem da fosfatase do sôro sangüíneo empregando o betaglicero-

fosfato de sódio como substrato verificamos que o aparecimento da cor era mais lento nos tubos que continham betaglicerofosfato. Procuramos observar até que ponto ia essa influência, suposta, desde logo, ser conseqüente à ação catalítica negativa desenvolvida pelo sal usado como substrato. Para isso procedemos à confecção de uma curva em que só existisse uma variável — a concentração do betaglicerofosfato de sódio, fixando as concentrações de ácido molibdico, de PO_4 e de reativo redutor. A curva abaixo é bastante mais significativa que qualquer explanação, revelando que a densidade ótica decresce conforme aumenta a concentração do betaglicerofosfato.

(Gráfico nº 2)

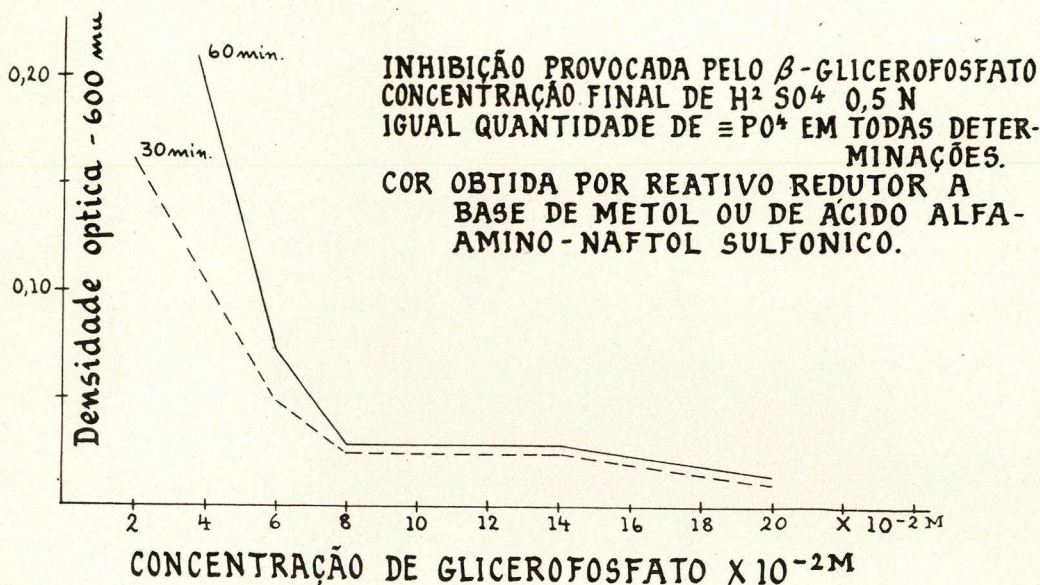


Gráfico nº 2

Vê-se, também, que as leituras realizadas aos 30 e 60 minutos exibem curvas sensivelmente paralelas.

Conclusões:

1) Na dosagem do fósforo pelo processo de Taylor e Miller ou suas variantes (Fiske e Subbarow, etc.) a concentração final de H_2SO_4 é de suma importância, devendo ser empregada a 0,40 - 0,50 N.

2) O tempo para o desenvolvimento da cor deve ser, no mínimo, de 30 minutos.

3) O betaglicerofosfato de sódio retarda o desenvolvimento da cor azul produzida pelo agente redutor sobre o ácido molíbdico junto ao ânion PO_4 em relação aos tubos que não contêm o mesmo sal.

4) O atraso no desenvolvimento da cor é função do teor de betaglicerofosfato.

5) Na dosagem da fosfatase, usando o betaglicerofosfato como substrato, é conveniente juntar esse sal aos tubos em que são dosados o chamado "fósforo livre" e aos tubos dos padrões na mesma concentração encontrada nos tubos em que se dosam as atividades fosfatásicas. Só assim se consegue igualar as velocidades das reações.

RESUMÉ

Les auteurs ont démontré que la concentration de l'acide sulphurique et la présence de bétaglycerophosphate, influencent sur la couleur produite dans le dosage du phosphate minéral.

Le résultat du dosage des phosphatases sera influencé par l'action catalytique du bétaglycérophosphate si l'on ne prend pas les soins proposés par les auteurs.

BIBLIOGRAFIA

- 1 BERENBLUM, I. and CHAIN, E., The Biochem. J. 32, 286 — 1938.
- 2 Trabalho em publicação sobre "Processo de dosagem do fósforo e da fosfatase alcalina do sêro sanguíneo".